

**Planejamento, Síntese e Atividade contra *Trichomonas vaginalis* de
Hidroxichalconas e Ferrocenilchalconas**

LÍGIA RODRIGUES E OLIVEIRA

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2017

LÍGIA RODRIGUES E OLIVEIRA

**Planejamento, Síntese e Atividade contra *Trichomonas vaginalis* de
Hidroxichalconas e Ferrocenilchalconas**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
do Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas como parte do requisito para
obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luis Octávio Regasini

Coorientadora: Profa. Dra. Tiana Tasca

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2017

Oliveira, Lígia Rodrigues e.

Planejamento, síntese e atividade contra *Trichomonas vaginalis*
de Hidroxichalconas e Ferrocenilchalconas / Lígia Rodrigues e
Oliveira. -- São José do Rio Preto, 2017
127 f. : il., tabs.

Orientador: Luis Octavio Regasini

Coorientador: Tiana Tasca

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

1. Química farmacêutica. 2. Antibacterianos. 3. *Trichomonas*
vaginalis. 4. Calcona. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas.
II. Título.

CDU – 615.07

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

LÍGIA RODRIGUES E OLIVEIRA

Planejamento, Síntese e Atividade contra *Trichomonas vaginalis* de
Hidroxichalconas e Ferrocenilchalconas

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 Octávio Regasini - Orientador
Departamento de Química e Ciências Ambientais - UNESP - IBILCE

Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini
Departamento de Farmácia - Universidade de São Paulo - USP

Profa. Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida
Departamento de Ciências Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2017

Dedico à minha mãe Jurema Rodrigues, ao meu orientador Luis Octávio Regasini, ao LQVM, à Tiana Tasca, à Márcia Rodrigues Trein, e ao meu companheiro Márcio Justi Laranja, por todo o incentivo e ajuda para que isso fosse possível.

*“Você não pode mudar o vento, mas pode
ajustar as velas do barco para chegar onde
quer.”*

(Confúcio)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, família, amigos e pela oportunidade de poder realizar um mestrado em Química.

Ao meu orientador e pai acadêmico Luis Octávio Regasini, por estar sempre presente e norteando a aprendizagem no laboratório, nos momentos de reflexões, na produção escrita, sempre mostrando as dificuldades e nos incentivando a superá-las com êxito.

À minha mãe, Jurema Rodrigues, por todo o amor, carinho e apoio aos estudos, desde sempre investiu na minha formação profissional e pessoal, sendo o meu exemplo de determinação.

À minha querida vó Isméria Paulina de Souza por sempre ter me incentivado a ser uma pessoa mais forte e preparada para enfrentar as dificuldades, tendo fé e coragem.

Ao meu melhor amigo e namorado, Márcio J. Laranja por todo o amor, carinho e companheirismo tanto nos momentos felizes, bem como nas horas difíceis, disposto a me ouvir e dar conselhos, lembrando a importância de acreditarmos em nós mesmos.

À Prof. Dra. Tiana Tasca e Ms. Márcia Rodrigues Trein, por todo o suporte e apoio na realização dos ensaios biológicos.

Ao Fábio Moraes pela realização dos espectros de RMN e prontidão em nos atender.

Ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Pró-Reitoria de Pesquisa da Unesp (PROPe-Unesp) e a Pró-Reitoria de Pós Graduação (PROPG-Unesp).

A todos os meus amigos e colegas do Laboratório de Química Verde e Medicinal (LQVM), por toda ajuda no cotidiano laboratorial, especialmente, à Mayara Rocha e Letícia Ribeiro, pela amizade, carinho e ajuda durante esses dois anos.

Aos que colaboraram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

A tricomoníase, causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis*, é considerada a doença sexualmente transmissível (DST) não-viral mais comum do mundo. Para o tratamento da tricomoníase, nitrocompostos como o metronidazol são os mais prescritos, embora existam cepas resistentes e severos efeitos adversos. Dessa forma, é premente a busca de novos agentes tricomonicidas. No presente trabalho, foram planejadas hidroxichalconas (série I) avaliando a importância da posição da hidroxila no anel A e o anel B substituído por grupos preconizados pelo Método Manual de Topliss, além da substituição do anel B fenílico por anéis π -isoeletrônicos e hidrofóbicos. A série II foi composta por ferrocenilchalconas, avaliando a importância do ferroceno como grupo doador de ferro como anel B, tendo o anel A substituído por grupos preconizados pelo Método Manual de Topliss e anéis π -isoeletrônicos. As chalconas das séries I e II foram sintetizadas por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, com rendimentos que variaram de 17 a 98%. Em linhas gerais, as ferrocenilchalconas foram sintetizadas com rendimentos superiores às hidroxichalconas, devido às últimas serem purificadas por etapas adicionais de recristalização e cromatográficas. As estruturas das substâncias foram confirmadas por Ressonância Magnética Nuclear. As chalconas com hidroxila no anel A exibiram atividade contra *Trichomonas vaginalis* (ATCC 30236) superior àquelas com hidroxila no anel B, sendo utilizadas para etapas de otimização da bioatividade. Dentre essas, a 4'-hidroxichalcona (**4**) e a 3'-hidroxichalcona (**3**) exibiram maior atividade antiprotozoária, demonstrando valores de CI_{50} iguais a 27,5 e 49,4 μ M, respectivamente, enquanto a 2'-hidroxichalcona (**2**) exibiu CI_{50} igual a 76,4 μ M. Contudo, as hidroxichalconas não apresentaram seletividade, sendo tóxicas às células do hospedeiro (HMVII – células epiteliais vaginais ECACC), em concentrações similares. As otimizações por meio do Método Manual de Topliss conduziram a análogos mais potentes, as 2'-hidroxichalconas **8** e **9**, que apresentaram CI_{50} iguais a 24,4 e 24,7 μ M, respectivamente, demonstrando que os efeitos eletrônico e hidrofobicidade foram importantes na bioatividade. As chalconas 2-tiofênicas **21** e **28** exibiram atividade tricomonicida similar aos seus análogos fenílicos **2** e **4**,

respectivamente, sugerindo uma relação bioisostérica de anéis. As naftilchalconas **22**, **25**, **26**, **29** e **30** foram inativas ($CI_{50} > 100 \mu M$), apesar de apresentarem hidrofobicidade superior aos seus análogos fenílicos **2–4**, podendo a perda da atividade estar relacionada ao efeito estérico promovido por uma fenila adicional. Todas as ferrocenilchalconas (**31 – 37**) foram inativas contra *T. vaginalis* ($CI_{50} > 100 \mu M$).

Palavras-chave: tricomoníase; método manual de Topliss; bioisosterismo; hidroxichalconas; ferrocenilchalconas;

ABSTRACT

Trichomoniasis, caused by the protozoa *Trichomonas vaginalis*, is considered the most common non-viral sexually transmitted disease (STD) around the world. For the treatment of trichomoniasis, nitro-compounds such as metronidazole are the most prescribed, although there are resistant strains and severe adverse effects. Thus, search for new trichomonocidal agents is urgent. In the present work, hydroxychalcones (series I) were designed, evaluating importance of hydroxyl position on rings A and B, as well as ring B substituted by groups recommended by the Manual Method of Topliss, ring B replaced by π -isoelectronic and hydrophobic rings. Series II was composed by ferrocenylchalcones, assessing the importance of ferrocene as an iron donor group as ring B and ring A substituted by groups recommended by Manual Method of Topliss and replaced by π -isoelectronic rings. Chalcones of series I and II were synthesized via aldol condensation reaction of Claisen-Schmidt, in yields ranging from 17 to 98%. In general, the ferrocenylchalcones were synthesized in higher yields than the hydroxychalcones, because these last were purified by recrystallization and additional chromatographic steps. The structures of the substances were confirmed by Nuclear Magnetic Resonance. Chalcones with hydroxyl on ring A exhibited activity against *T. vaginalis* (ATCC 30236) higher than those with hydroxyl on ring B, being the first used for bioactivity optimization steps. Among these, the 4'-hydroxychalcone (**4**) and 3'-hydroxychalcone (**3**) showed higher antiprotozoal activity, displaying IC_{50} values of 27.5 and 49.4 μ M, respectively. On the other hand, 2'-hydroxychalcone (**2**) exhibited IC_{50} of 76.4 μ M. However, hydroxychalcones showed no selectivity and were toxic to host cells (HMVII - ECACC vaginal epithelial cells) in similar concentrations. Optimizations through the Manual method of Topliss conducted to more potent analogues, 2'-hydroxychalcones **8** and **9**, which showed values of IC_{50} of 24,4 e 24,7 μ M, respectively, demonstrating the importance of electronic and hydrophobic effects over bioactivity. 2-Thiophenylchalcones **21** and **28** showed similar trichomonocidal activity to their phenyl analogues **2** and **4**, respectively, suggesting a ring bioisosteric relationship of rings. Naphthylchalcones **22**, **25**, **26**, **29** and **30** were inactive ($IC_{50} > 100 \mu$ M), despite higher hydrophobicity than phenyl analogues **2** – **4**, indicating lack of activity may be correlated

to steric effect caused by an additional and fused phenyl ring. All ferrocenylchalcones (**31–37**) were inactive against *T. vaginalis* ($IC_{50} > 100 \mu M$).

Keywords: trichomoniasis; manual method of Topliss; bioisosterism; hydroxychalcones; ferrocenylchalcones;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Considerações Iniciais	18
1.2. <i>Trichomonas vaginalis</i>	20
1.3. Metronidazol (MTZ)	24
1.4. Hidroxichalconas Bioativas	27
1.5. Ferrocenilchalconas Bioativas	30
1.6. Métodos de Topliss	32
1.7. Bioisosterismo	35
2. OBJETIVOS	38
2.1. Objetivo Geral	38
2.2. Objetivos Específicos	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1. Planejamento, Síntese e Identificação das Chalconas das Séries I e II	39
3.2. Atividade contra <i>Trichomonas vaginalis</i> de Hidroxichalconas (Série I) e Ferrocenilchalconas (Série II)	49
A. Hidroxichalconas (Série I)	49
B. Ferrocenilchalconas (Série II)	55
3.3. Toxicidade em Células Vaginais e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas	56
4. PARTE EXPERIMENTAL	57
A. Série I	58
4.1. Procedimento para a Obtenção da Chalcona 1 e Hidroxichalconas 2 – 7 ...	58
4.1.1. Dados de caracterização da chalcona 1 e hidroxichalconas (2 – 7)	59
4.2. Procedimento para a Obtenção de 2'-Hidroxichalconas (8–11 e 20–22)	63
4.2.1. Dados de caracterização das 2'-hidroxichalconas (8–11 e 20–22)	63
4.3. Procedimento para a Obtenção de 3'-Hidroxichalconas (12–15 e 23–26)	67
4.3.1. Dados de caracterização das 3'-hidroxichalconas (12–15 e 23–26)	67

4.4. Procedimento para a Obtenção de 4'-Hidroxichalconas (16–19 e 27–30)....	71
4.4.1. Dados de caracterização das 4'-hidroxichalconas (16–19 e 27–30)	72
B. Série II	76
4.5. Procedimento para a Obtenção de Ferrocenilchalconas (31–37).....	76
4.5.1. Dados de caracterização das ferrocenilchalconas (31–37)	76
4.6. Ensaios Biológicos.....	80
4.6.1. Cultivo <i>In vitro</i> de <i>Trichomonas vaginalis</i> (ATCC 30236)	80
4.6.2. Ensaio de Atividade contra <i>Trichomonas vaginalis</i>	80
4.6.3. Atividade Tóxica sobre Células Vaginais HMVII (ECACC 92042701).....	81
4.6.4. Índice de Seletividade (IS)	82
5. CONCLUSÕES	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	91

ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H da substância 1 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	91
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 1 (CDCl_3 ; 100 MHz)	91
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H da substância 2 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	92
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 2 (CDCl_3 ; 100 MHz)	92
Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H da substância 3 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	93
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 3 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	93
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H da substância 4 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	94
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 4 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	94
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H da substância 5 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	95
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 5 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	95
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H da substância 6 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	96
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 6 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	96
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H da substância 7 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	97
Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 7 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	97
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H da substância 8 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	98
Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 8 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	98
Anexo 17. Espectro de RMN de ^1H da substância 9 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	99
Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 9 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	99
Anexo 19. Espectro de RMN de ^1H da substância 10 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz)	100
Anexo 20. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 10 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	100
Anexo 21. Espectro de RMN de ^1H da substância 11 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz)	101
Anexo 22. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 11 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	101
Anexo 23. Espectro de RMN de ^1H da substância 12 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	102
Anexo 24. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 12 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	102
Anexo 25. Espectro de RMN de ^1H da substância 13 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	103
Anexo 26. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 13 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	103
Anexo 27. Espectro de RMN de ^1H da substância 14 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	104
Anexo 28. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 14 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	104
Anexo 29. Espectro de RMN de ^1H da substância 15 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	105
Anexo 30. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 15 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	105
Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H da substância 16 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)	106
Anexo 32. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 16 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	106
Anexo 33. Espectro de RMN de ^1H da substância 17 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz).....	107
Anexo 34. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 17 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	107
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H da substância 18 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz).....	108
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 18 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	108
Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H da substância 19 ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz).....	109
Anexo 38. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 19 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	109
Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H da substância 20 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	110
Anexo 40. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 20 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	110
Anexo 41. Espectro de RMN de ^1H da substância 21 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	111
Anexo 42. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 21 ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)	111
Anexo 43. Espectro de RMN de ^1H da substância 22 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	112

Anexo 44. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 22 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	112
Anexo 45. Espectro de RMN de ^1H da substância 23 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	113
Anexo 46. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 23 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	113
Anexo 47. Espectro de RMN de ^1H da substância 24 (DMSO- d_6 ; 600 MHz).....	114
Anexo 48. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 24 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	114
Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H da substância 25 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	115
Anexo 50. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 25 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	115
Anexo 51. Espectro de RMN de ^1H da substância 26 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	116
Anexo 52. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 26 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	116
Anexo 53. Espectro de RMN de ^1H da substância 27 (DMSO- d_6 ; 300 MHz).....	117
Anexo 54. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 27 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	117
Anexo 55. Espectro de RMN de ^1H da substância 28 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	118
Anexo 56. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 28 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	118
Anexo 57. Espectro de RMN de ^1H da substância 29 (DMSO- d_6 ; 300 MHz).....	119
Anexo 58. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 29 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	119
Anexo 59. Espectro de RMN de ^1H da substância 30 (DMSO- d_6 ; 300 MHz).....	120
Anexo 60. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 30 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)	120
Anexo 61. Espectro de RMN de ^1H da substância 31 (CDCl ₃ ; 300 MHz)	121
Anexo 62. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 31 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	121
Anexo 63. Espectro de RMN de ^1H da substância 32 (CDCl ₃ ; 300 MHz)	122
Anexo 64. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 32 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	122
Anexo 65. Espectro de RMN de ^1H da substância 33 (CDCl ₃ ; 300 MHz)	123
Anexo 66. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 33 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	123
Anexo 67. Espectro de RMN de ^1H da substância 34 (CDCl ₃ ; 300 MHz)	124
Anexo 68. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 34 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	124
Anexo 69. Espectro de RMN de ^1H da substância 35 (CDCl ₃ ; 300 MHz)	125
Anexo 70. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 35 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	125
Anexo 71. Espectro de RMN de ^1H da substância 36 (CDCl ₃ ; 600 MHz)	126
Anexo 72. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 36 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	126
Anexo 73. Espectro de RMN de ^1H da substância 37 (CDCl ₃ ; 600 MHz)	127
Anexo 74. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 37 (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia de <i>Trichomonas vaginalis</i>	21
Figura 2. Metabolismo Energético de <i>Trichomonas vaginalis</i>	22
Figura 3. Estrutura do metronidazol (MTZ).....	25
Figura 4. Ativação do MTZ nos Hidrogenossomos.....	25
Figura 5. Biorredução do Metronidazol em Condições Anaeróbias.....	26
Figura 6. Formação de Espécies Reativas de Oxigênio em Condições de Aerobiose ..	26
Figura 7. Núcleo Chalcônico	27
Figura 8. Hidroxichalconas Bioativas	30
Figura 9. Configurações do Ferroceno	31
Figura 10. Análogos Ferrocênicos (50, 51, 52, 53, 54 e 56) e Ferrocenilchalcona (55) Bioativos.....	32
Figura 11. Árvore de Decisão de Topliss (Topliss, 1972)	33
Figura 12. Bioisosterismo de Anéis Aplicado por Binder (1987) no Planejamento do tenoxicam (LIMA E BARREIRO, 2005)	36
Figura 13. Heteroarilchalconas (59, 60 e 61) e Homoarilchalcona (62) com Atividade Anti-angiogênica.....	36
Figura 14. Isosterismo de Anéis Aplicado por BOECK (2006) em uma Série de Hidroxichalconas Leishmanicidas (63 e 64)	37
Figura 15. Espectro de RMN de ^1H da Hidroxichalcona 8.....	46
Figura 16. Espectro de RMN ^1H da Ferrocenilchalcona 36	47
Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C da Hidroxichalcona 8	48
Figura 18. Espectro de RMN ^{13}C da Ferrocenilchalcona 36.....	49

ESQUEMAS

Esquema 1. Bioisosterismo Clássico e Não-Clássico (BARREIRO e FRAGA, 2008) ..	35
Esquema 2. Planejamento Estrutural de Hidroxichalconas (Série I) e Ferrocenilchalconas (Série II).....	38
Esquema 3. Reação de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a Obtenção de Chalconas da Série I (1–30).....	40
Esquema 4. Reação de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a Obtenção de Chalconas da Série II (31–37).....	41
Esquema 5. Proposta para o mecanismo de reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ordem de potência para cinco primeiros congêneres do Método Manual de Topliss (TOPLISS, 1977)	34
Tabela 2. Seleção de novos substituintes presentes nos congêneres posteriores do Método Manual de Topliss (TOPLISS, 1977)	34
Tabela 3. Rendimentos da Preparação da Chalcona Não-Substituída (1) e Hidroxichalconas 2–7 (Série I)	42
Tabela 4. Rendimentos da Preparação de Hidroxichalconas 8–19 (Série I)	43
Tabela 5. Rendimentos da Preparação de Análogos Arílicos de Hidroxichalconas 20–30 (Série I)	44
Tabela 6. Rendimentos das Ferrocenilchalconas (31–37) da Série II	45
Tabela 7. Porcentagem de Viabilidade de Trofozoítos Expostos a 100 µM de Chalconas 1 – 7	50
Tabela 8. Atividade contra <i>Trichomonas vaginalis</i> , Toxicidade em Células Vaginais e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas 2–7	51
Tabela 9. Atividade contra <i>Trichomonas vaginalis</i> das 2', 3' e 4'-Hidroxichalconas 8–19 Planejadas pelo Método Manual de Topliss	52
Tabela 10. Atividade contra <i>Trichomonas vaginalis</i> de Análogos Arílicos de Hidroxichalconas (20–30).....	54
Tabela 11. Porcentagem de Viabilidade de Trofozoítos Expostos a 100 µmol L ⁻¹ das Ferrocenilchalconas 31–37	55
Tabela 12. Atividade Citotóxica e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas 8–14, 16, 17, 21 e 28 Ativas contra <i>T. vaginalis</i>	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC – American Type Culture Collection

CCDA – Cromatografia de Camada Delgada Analítica

CC-FN – Cromatografia em Coluna de Fase Normal

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CI₅₀ – Concentração Capaz de Inibir em 50% o Crescimento de *Trichomonas vaginalis*

CL₅₀ – Concentração Letal para 50% das células HMV-II

CN - Controle Negativo

CPG – Cromatografia de Permeação em Gel

CP – Controle Positivo

CV – Controle Veículo

d – Duplete

dd – Duplo duplete

ddd – Duplo duplo duplete

DSTs/STDs– Doenças Sexualmente Transmissíveis/ Sexually Transmitted Diseases

DMSO – dimetilsulfóxido

d₆ –hexadeuterado

E – configuração trans

E1cb – Eliminação Unimolecular *via* Base Conjugada

ECACC – European Collection of Authenticated Cell Cultures

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

FDA– *Food and Drug Administration*

GA-3P – Gliceraldeído-3-Fosfato

HMV-II – Human vaginal malignant melanoma

IS– Índice de Seletividade

ISTs/STIs – Infecções Sexualmente Transmissíveis/ Sexually Transmitted Infections

J – Constante de Acoplamento

MTT – (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio)

MTZ – Metronidazol

mult – multiplicidade

m – Multiplete

NC – não calculado

OAA – Oxaloacetato

ox – oxidado

PEP – Fosfoenolpiruvato

PFO – piruvato-ferredoxina-oxirredutase

red – reduzido

Rf – Fator de Retenção

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

s – Simpleto

SBA –Soro Bovino Adulto

TYM– Trypticase-extrato de levedo-maltose

σ – Efeito Eletrônico

π – Hidrofobicidade

Es – Efeito Estérico

δ – Deslocamento Químico

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações Iniciais

A IUPAC conceitua a Química Medicinal como uma disciplina que envolve conhecimentos da química, ciências biológicas, médicas e farmacêuticas, cujo objetivo é o planejamento, descoberta, invenção, identificação e preparação de substâncias biologicamente ativas, incluindo o estudo do metabolismo, interpretação do mecanismo de ação em nível molecular, bem como as relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica (AUGUSTYNS; ECKER; 2010).

Segundo WERMUTH (2003), um amplo estudo de Química Medicinal, envolve as etapas de descoberta, otimização e desenvolvimento do protótipo. A etapa de descoberta se inicia a partir da seleção do alvo terapêutico, podendo este ser molecular, celular, tecidual ou animal.

Particularmente, as doenças infecciosas apresentam elevada necessidade de serem investigadas pela Química Medicinal, visando o planejamento e descoberta de fármacos anti-infecciosos inovadores. Nesse contexto, as doenças ou infecções sexualmente transmissíveis (DSTs e ISTs) representam graves problemas de saúde pública, afetando uma fração significativa da população mundial, principalmente nas regiões de baixo desenvolvimento socioeconômico (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2011, apresentou um levantamento estatístico global sobre ISTs não-virais em mulheres de 15 a 49 anos. Foram analisados, para o ano de 2005, tanto os casos existentes como os novos, obtendo-se os seguintes resultados de prevalência: clamídia, 98 milhões de casos; gonorreia, 31 milhões; sífilis, 36 milhões; e tricomoníase, 153 milhões; totalizando 318 milhões de casos. Além disso, a OMS realizou o levantamento anual sobre a incidência de novos casos, obteve-se os seguintes resultados: clamídia, 101 milhões; gonorreia, 88 milhões; sífilis, 11 milhões; tricomoníase, 248 milhões; totalizando em 448 milhões de novos casos (WHO, 2011).

Foi constatada, de acordo com os dados da OMS em 2008, a seguinte prevalência: clamídia, 100,4 milhões; gonorreia, 36,4 milhões; sífilis, 36,4 milhões; e 187,0 milhões de casos de tricomoníase. A incidência de 2008 para ISTs, estimada pela OMS, para clamídia foi de 105,7 milhões; gonorreia, 106,1 milhões; sífilis, 10,6 milhões; e para a tricomoníase, 276,4 milhões de casos novos (WHO, 2008).

Em virtude das estimativas realizadas pela OMS, a infecção sexualmente transmissível que apresentou o maior número de casos, tanto a prevalência quanto a incidência, foi a tricomoníase. Dessa forma, infere-se que o *Trichomonas vaginalis*, agente etiológico da tricomoníase, apresenta grande potencial para ser selecionado como alvo celular para o desenvolvimento de fármacos antiprotozoários.

T. vaginalis é considerado um dos principais patógenos sexualmente transmissíveis por estar associado a sérias complicações de saúde, incluindo a facilitação da transmissão do HIV; por ser a causa de baixo peso em bebês, bem como de nascimentos prematuros; pela predisposição das mulheres a doença inflamatória pélvica atípica, câncer cervical e infertilidade (MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004).

O tratamento convencional da tricomoníase envolve a utilização do nitroimidazóis, incluindo o metronidazol e o tinidazol. O metronidazol (MTZ) é o fármaco de primeira escolha para o tratamento da tricomoníase, seguido do tinidazol (WENDEL E WORKOWSKI, 2007). No entanto, existem algumas desvantagens na administração do MTZ, incluindo os efeitos adversos como: náuseas, urticária, vermelhidão na pele, febre, choque anafilático, diarreia e desordens no sistema nervoso central. Porém, a maior barreira terapêutica é a resistência adquirida pelo *T. vaginalis* ao fármaco MTZ (HELMS *et al*, 2008). Por essas razões, torna-se premente a busca por substâncias ativas contra o *T. vaginalis*.

Nesse contexto, o amplo espectro de bioatividades apresentado por chalconas, tais como: antimalárica, antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antiparasitária, anti-hiperglicêmica e anti-HIV (ATTAR *et al*, 2011) nos impulsionaram à avaliar sua atividade contra *T. vaginalis*.

Quimicamente, as chalconas são classificadas como flavonoides de cadeia aberta, constituídas por dois anéis fenílicos (A e B) separados por uma cetona α,β -insaturada (NOWAKOWSKA, 2007). Os anéis aromáticos e a cetona α,β -insaturada

constituem subunidades-chave para transformações químicas, visando a síntese de análogos. Tendo em vista investigações iniciais de descoberta e otimização em Química Medicinal, duas séries de chalconas foram planejadas, sendo as séries I e II compostas por hidroxichalconas e ferrocenilchalconas, respectivamente.

1.2. *Trichomonas vaginalis*

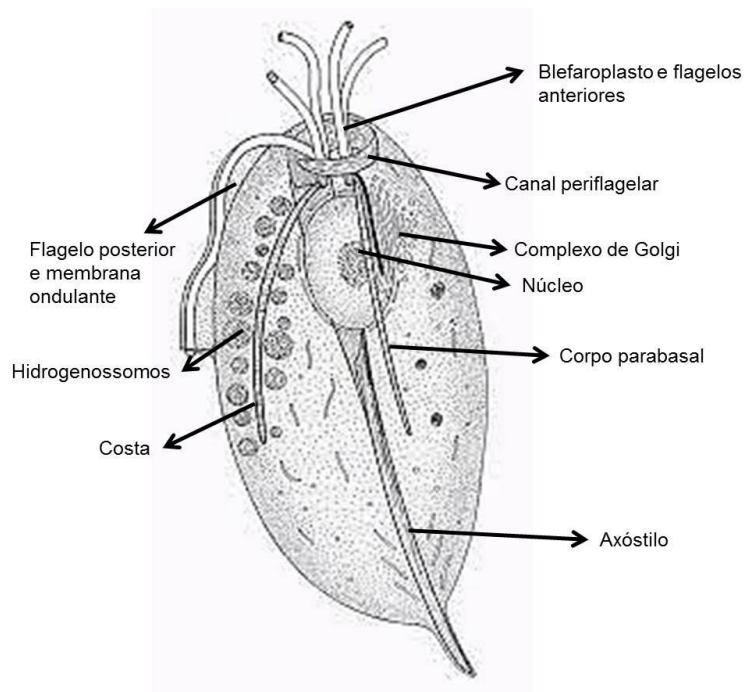
T. vaginalis foi descrito pela primeira vez em 1836, por Donné, que o isolou de uma paciente com vaginite e, em 1894, por Marchand, Miura e Dock, de um homem com uretrite (DE CARLI, 2000).

T. vaginalis é pertencente ao Reino Protista, filo Sarcomastigophora, classe Zoomastigophorea, ordem Trichomonadida, família Trichomonadidae, subfamília Trichomonadinae (FILLIPPIS e NEVES, 2010).

A célula de *T. vaginalis* é considerada polimorfa, de modo que é possível visualizar diferentes dimensões, com comprimentos de 4,5 a 19,0 μm e larguras de 2,5 a 12,5 μm , bem como variáveis formas: piriforme, elipsoides, ovais e esféricas. Também é capaz de emitir pseudópodes para a captura de nutrientes por fagocitose e fixação de partículas sólidas (DE CARLI, 2000).

De acordo com PETRIN e colaboradores (1998), o citoesqueleto de *T. vaginalis*, é constituído por microfilamentos de actina e microtúbulos de tubulina. Segundo REY (2010), a morfologia do *T. vaginalis* (Figura 1, p. 21) compreende as seguintes partes: axóstilo, hidrogenossomos, costa, corpo parabasal, complexo de Golgi, núcleo, flagelo posterior junto com a membrana ondulante, canal periflagelar, blefaroplasto e flagelos anteriores.

Figura 1. Morfologia de *Trichomonas vaginalis*



Adaptado de REY (2010)

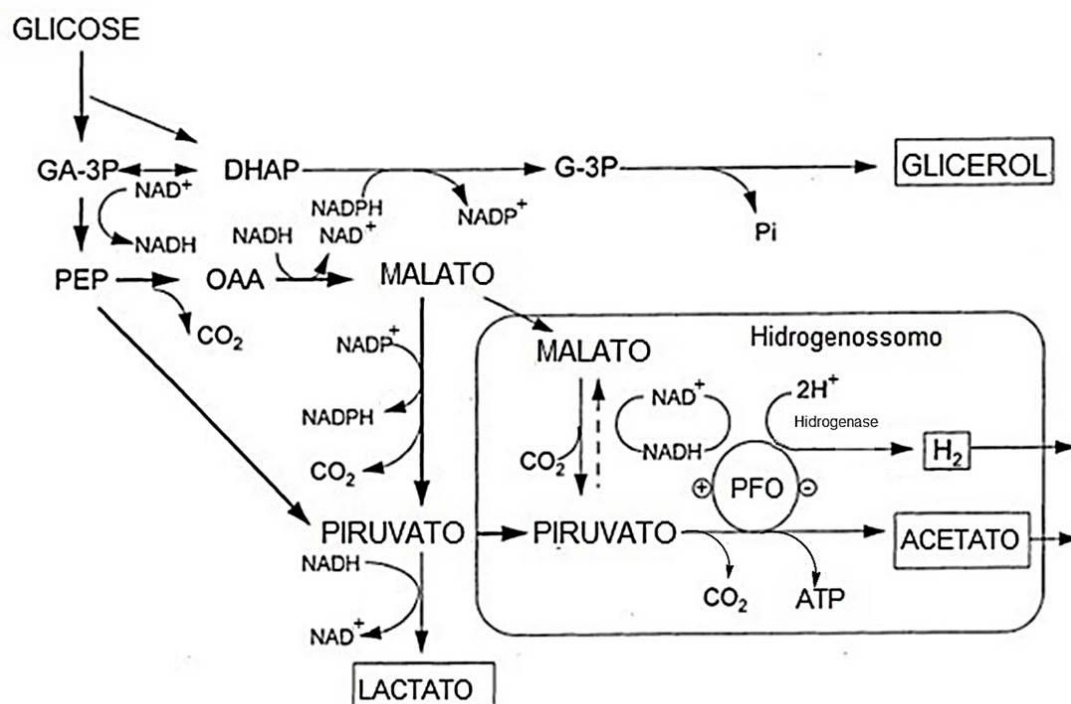
Segundo DE CARLI (2000), como observado em todos os tricomonalídeos, a reprodução do *T. vaginalis* ocorre por divisão binária longitudinal, e a divisão nuclear é do tipo criptopleuromitótica (cripto = oculto; pleuro = costa).

Além da transmissão sexual, a transmissão não-sexual do protozoário *via* água tem sido reportada, à medida que indivíduos diferentes utilizam a mesma água para a higiene íntima, podendo ocorrer principalmente em países em desenvolvimento socioeconômico (CRUCITTI *et al* 2011).

Fisiologicamente, o *T. vaginalis* é descrito como um organismo anaeróbio facultativo, capaz de crescer na ausência de oxigênio, em pH de 5 a 7,5, em temperaturas entre 20 a 40 °C. Como fonte de energia utiliza a glicose, maltose e a galactose, porém na ausência desses carboidratos, torna-se essencial o uso de aminoácidos como: arginina, treonina e leucina, bem como é capaz de armazenar glicogênio (MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004). Dessa forma, o metabolismo é considerado como fermentativo tanto em condições anaeróbias como aeróbias, devido à incompleta oxidação da glicose, a qual ocorre no citoplasma e nos hidrogenossomos (Figura 2, p. 22).

No citoplasma, a glicose é convertida em gliceraldeído-3-fosfato (GA-3P), o qual se converte em fosfoenolpiruvato (PEP) e, subsequentemente, em piruvato via mecanismo clássico de Embden-Meyerhoff-Parnas. Após essa conversão, o piruvato é transportado para o interior dos hidrogenossomos. Outra possibilidade é a conversão de PEP em oxaloacetato (OAA), o qual é transformado em malato, sendo posteriormente convertido em piruvato nos hidrogenossomos (KULDA, 1999).

Figura 2. Metabolismo Energético de *Trichomonas vaginalis*



Adaptado de KULDA (1999)

O metabolismo que ocorre nos hidrogenossomos (Figura 2) envolve a piruvato-ferredoxina-oxirredutase (PFO), a qual converte o piruvato, produto da glicólise, em acetato, pela oxidação fermentativa, liberando acetato, ATP, CO₂ e H₂ (PETRIN *et al*, 1998; MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004).

Devido à incapacidade de sintetizar os nutrientes necessários ao seu metabolismo, *T. vaginalis* capta estas substâncias das secreções vaginais, células hospedeiras e bactérias, por meio de fagocitose. Dentre esses nutrientes, o ferro é

necessário para manter níveis máximos de ferredoxina ([2Fe - 2S]), proteína transportadora de elétrons, bem como de PFO (GORRELL, 1985).

O ferro é um metal de grande importância para muitos protozoários, mas principalmente para *T. vaginalis*, que tem expressado múltiplos sistemas de captação, como receptores para as seguintes proteínas consideradas fontes de ferro: holo-lactoferrina, hemoglobina e as adesinas que se ligam aos eritrócitos e às células epiteliais (MORENO-BRITO *et al*, 2005; ARDALAN *et al*, 2009). Consequentemente, após a intensa captação de ferro pelo *T. vaginalis*, inúmeras manifestações clínicas surgem como: secreção vaginal com cor anormal e mau odor, irritação e queimadura vaginal, vaginite e um aumento de pH vaginal superior a 5. Esses sintomas são expressões da virulência do parasito, as quais se iniciam a partir da interação com o hospedeiro, considerada complexa de modo que envolvem os componentes associados à superfície celular do parasito, células epiteliais e componentes solúveis encontrados nas secreções vaginal e uretral (MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004).

A virulência tem como pré-requisito a cito-aderência do parasito, etapa essencial para a estabilização e manutenção de uma infecção crônica no trato urogenital humano. Em seguida, ocorrem os mecanismos de citotoxicidade que são: citólise, fagocitose e desintegração das monocamadas celulares (PETRIN *et al*, 1998).

A aderência envolve proteínas de superfície denominadas de adesinas, sendo que sua biossíntese é regulada principalmente pelo ferro, além de glicoconjugados, proteínas do citoesqueleto (microtúbulos e microfilamentos), receptores para as proteínas da matriz extracelular e processos de transdução de sinal e autofagia (MORENO-BRITO *et al*, 2005).

Após a aderência do parasito, são iniciados os mecanismos de citotoxicidade, os quais incluem: hemólise, fagocitose e desintegração das monocamadas epiteliais. A hemólise consiste na lise de eritrócitos sendo importante, pois, os eritrócitos contêm os nutrientes necessários para o parasita, principalmente o ferro, aminoácidos e ácidos graxos. Em seguida, o ferro e outros nutrientes se encontram disponíveis para o metabolismo parasitário. Dessa forma, a célula hospedeira entra em processo de morte por apoptose (FIGUEROA-ÂNGULO *et al*, 2012).

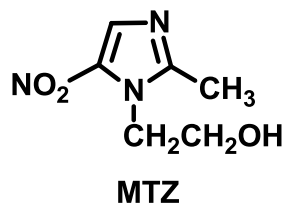
Homens e mulheres são infectados na mesma proporção, porém nas mulheres, a tricomoníase pode ser assintomática até uma séria vaginite, enquanto em homens, é na maioria dos casos assintomática (LECKE *et al*, 2003). A prevalência do parasito é 10 vezes maior na mulher do que no homem (WHO, 2008).

Apesar dos aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos descritos para *T. vaginalis*, pode-se observar a necessidade de estudos mais específicos, pois pouco se conhece sobre a sua variabilidade biológica, a qual merece destaque por ser um dos principais patógenos associado a sérias complicações de saúde, como por exemplo, facilitar a transmissão do vírus HIV; por ser a causa de baixo peso em recém-nascidos, bem como de nascimentos prematuros; pela predisposição das mulheres a doença inflamatória pélvica atípica, câncer cervical e infertilidade (MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004).

1.3. Metronidazol (MTZ)

Em 1953, MAEDA e colaboradores isolaram a azomicina (2-nitroimidazol) de uma cultura de estreptomiceto e, após terem confirmado sua atividade tricomonocida, investiu-se na síntese e ensaios biológicos de uma série de nitroimidazóis (MAEDA *et al*, 1953). Assim, em 1957 o metronidazol (MTZ) (figura 3, p. 25) foi sintetizado por Anon, no laboratório Rhône- Poulenc em Paris, e introduzido em 1959 por Cosar e Julou para o tratamento da tricomoníase vaginal (COSAR e JULOU, 1959; KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1988). Também vem sendo utilizado no tratamento de diversas infecções causadas por micro-organismos anaeróbicos, incluindo os protozoários: *Trichomonas*, *Giardia* e *Entamoeba*; bem como as bactérias: *Helicobacter*, *Bacteroides* e *Clostridium*. Além disso, o MTZ apresenta seletividade para organismos anaeróbios, devido à presença de enzimas ativas em baixas pressões de oxigênio molecular, capazes de reduzir o grupo nitroimidazólico, gerando metabólitos tóxicos (LAND, CLEMENS e JOHNSON, 2001).

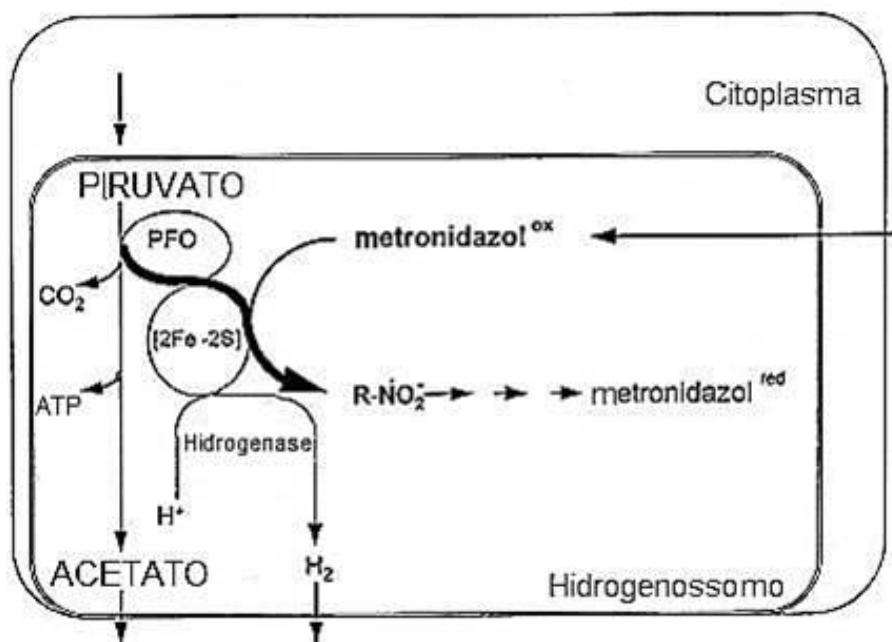
Figura 3. Estrutura do metronidazol (MTZ)



(LEMKE, 2008)

O mecanismo de ação do MTZ envolve transformações em condições anaeróbicas no interior dos hidrogenossomos, Figura 4, as quais consistem em biorreduções do grupo nitro a amino com produção de espécies radicalares e não-radicalares, ambas altamente reativas e tóxicas ao tricomonas.

Figura 4. Ativação do MTZ nos Hidrogenossomos

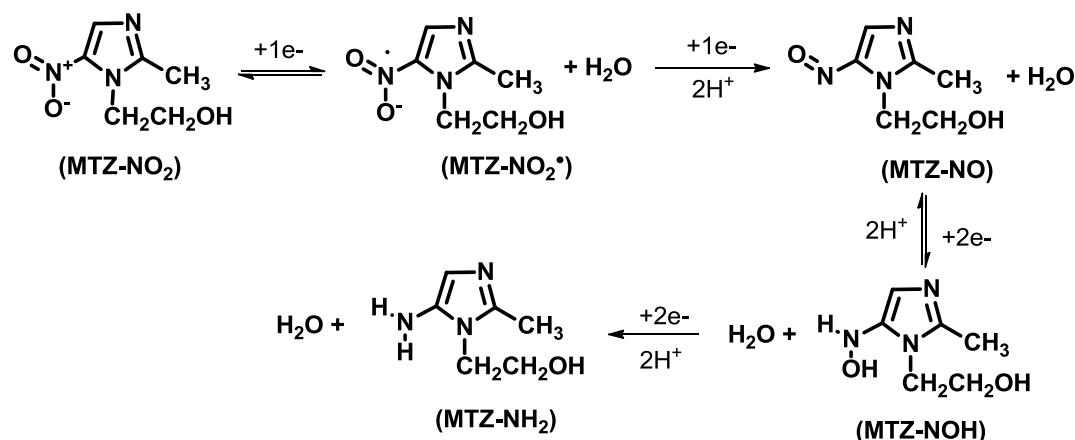


Adaptado de KULDA (1999)

O grupo nitro do MTZ (**MTZ—NO₂**) é reduzido pela PFO e outras redutases (Figura 5, p. 26) por apresentar um potencial redox negativo o suficiente para doar elétrons, formando o derivado hidroxilamínico (**MTZ—NOH**), o qual, posteriormente,

também sofrerá redução gerando o aminoderivado (**MTZ—NH₂**) (PAULA *et al*, 2009; LAND, CLEMENS e JOHNSON, 2001; LEMKE, 2008).

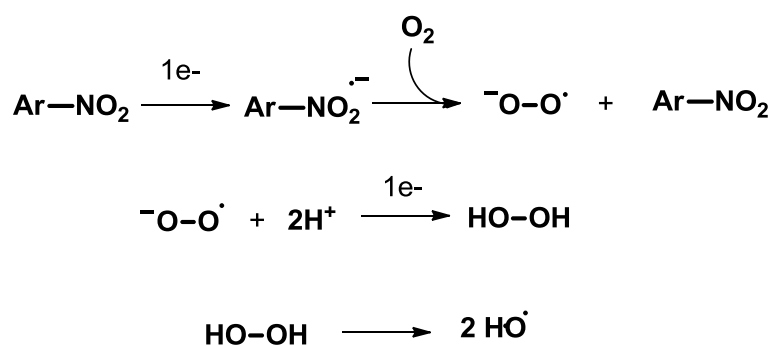
Figura 5. Biorredução do Metronidazol em Condições Anaeróbias



(PAULA *et al*, 2009; LEMKE, 2008)

Durante o processo de biorredução do metronidazol (**MTZ-NO₂**), os intermediários como o nitro-radical aniônico (**MTZ-NO₂[·]**) e o **MTZ—NOH** possuem a capacidade de reagir covalentemente com o DNA celular do parasito. Além disso, a redução do **MTZ-NO₂** em **MTZ-NO₂[·]** em meio aeróbio culmina na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), as quais inibem o metabolismo e replicação, causando a morte celular do parasito (LAND, CLEMENS e JOHNSON, 2001). Esse conjunto de reações de biorredução corroboram a classificação do MTZ como um pró-fármaco, da subclasse dos bioprecusores.

Figura 6. Formação de Espécies Reativas de Oxigênio em Condições de Aerobiose



(LEMKE, 2008)

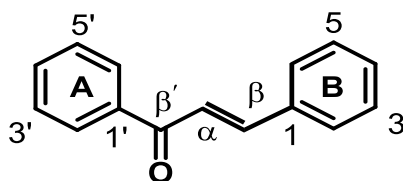
Embora o MTZ seja o fármaco de primeira escolha para o tratamento da tricomoniase (WENDEL e WORKOWSKI, 2007), inúmeras cepas do *T. vaginalis* têm demonstrado resistência. Estudos de KULDA e colaboradores (1993) relataram que a resistência em meio aeróbico seja causada pela competição do oxigênio com o MTZ, de forma que a eliminação do oxigênio tenha sido debilitada e que esse oxigênio intracelular interfira na via de ativação, provocando a perda da atividade da PFO e ferredoxina e, conseqüentemente, limitando a capacidade da ativação do MTZ. Enquanto que, em meio anaeróbico, a resistência pode ser causada pela perda da atividade catalítica da PFO, inibindo assim a ativação do MTZ (LAND, CLEMENS e JOHNSON, 2001).

Outra grande complicação terapêutica da administração do MTZ são suas severas reações adversas incluindo: náuseas, urticária, vermelhidão cutânea, febre, choque anafilático, diarreia e distúrbios no sistema nervoso central (HELMS *et al*, 2008). Além desses, há relatos sobre seu potencial mutagênico e carcinogênico. Também é contraindicado para o tratamento de mulheres no primeiro trimestre de gravidez, por atravessar a barreira placentária (MACIEL, TASCA e DE CARLI, 2004; PAULA *et al*, 2009).

1.4. Hidroxichalconas Bioativas

As chalconas são cetonas α - β -insaturadas de esqueleto 1,3-diaryl-2-propen-1-ona, Figura 7, p. 30 (NOWAKOWSKA, 2007). A numeração do anel A utiliza números ordinários seguidos de uma linha ('), enquanto a numeração do anel B emprega números ordinários.

Figura 7. Núcleo Chalcônico



As chalconas, em especial as hidroxiladas, metoxiladas e preniladas, despertam interesse científico devido ao amplo espectro de bioatividades, tais como: antimalárica, antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antiparasitária, anti-hiperglicêmica e anti-HIV (ATTAR *et al*, 2011; NOWAKOWSKA, 2007). Tais atividades vêm sendo atribuídas à subunidade cetônica α,β -insaturada, a qual pode funcionar comoceptor de Michael, de modo que a remoção desta subunidade atenua ou elimina a bioatividade (SINGH, ANAND e KUMAR, 2014).

A licochalcona A (**38**) (figura 8, p. 30) é metabólito secundário de *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae), espécie medicinal popularmente conhecida como alcaçuz. Esta hidroxichalcona tem demonstrado potente atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*. TSUKIYAMA e colaboradores (2002) descreveram a atividade antibacteriana de **38**, a qual demonstrou valores de concentração inibitória mínima (CIM) de 2 a 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra bactérias Gram-positivas incluindo *B. subtilis* e Gram-negativas, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Baseados nos estudos de TSUKIYAMA e colaboradores, SIVAKUMAR e coautores (2009) sintetizaram análogos chalcônicos, incluindo as hidroxichalconas **39** e **40**, (figura 8, p. 30) as quais foram ativas contra *Phaseolus vulgaris* (Gram-negativa) e *S. aureus* (Gram-positiva), pois apresentaram CIM de 0,123 e 0,061 μM (**39**) e 0,008 e 0,004 μM (**40**), respectivamente, comparadas à ampicilina (CIM de 0,168 e 0,084 μM , respectivamente). A substância **40** também foi potente contra *Enterobacter aerogenes* (Gram-negativa) e *B. subtilis* (Gram-positiva), visto que obteve CIM de 0,060 e 0,004 μM , enquanto a ampicilina teve CIM de 0,084 e 0,168 μM , respectivamente. Embora não tenham sido mais potentes contra *E. coli*, comparadas à ampicilina (CIM = 0,05 μM), **39** e **40** apresentaram CIM de 0,123 e 0,121 μM , respectivamente.

SVETAZ e colaboradores (2004) descreveram que o extrato metanólico de *Zuccagnia punctata* (Fabaceae), continha a 2',4'-dihidroxichalcona (**41**) (figura 8, p. 30) a qual exibiu potente atividade antifúngica, demonstrando um valor de CIM de 3,12 e 6,25 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, contra *Phomopsis longicolla* e *Colletotrichum truncatum*, respectivamente, embora tenha obtido valores de CIM maiores que cetoconazol (CIM de 0,50 e 1,50 $\mu\text{mol mL}^{-1}$).

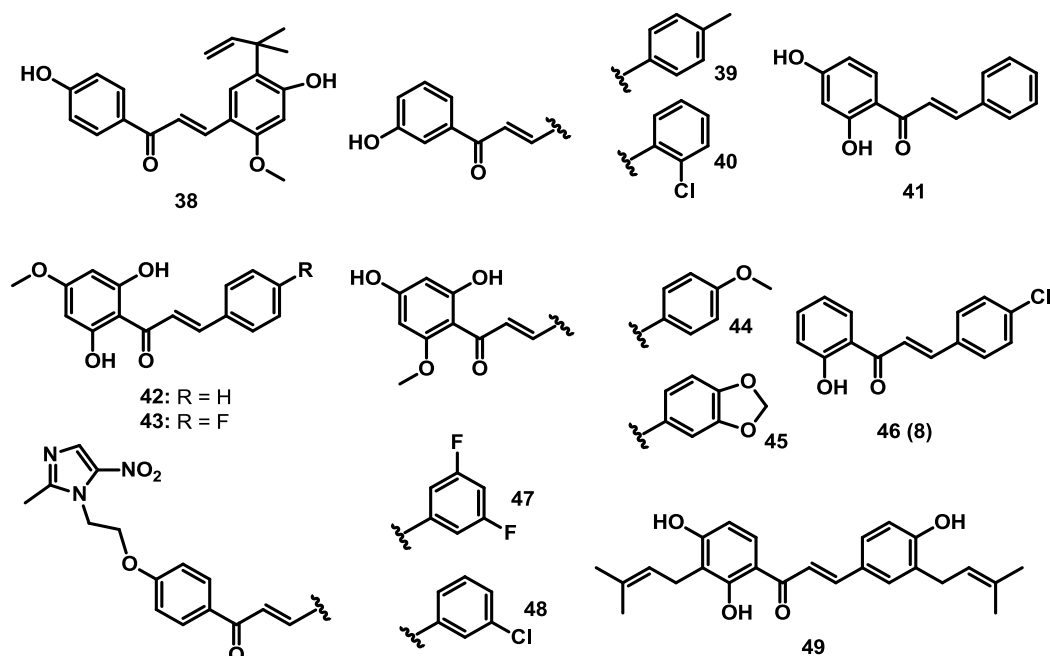
Em estudos de BOECK e colaboradores (2006), a 2',6'-dihidroxi-4'-metoxichalcona **42** (figura 8, p. 30) mostrou uma potente atividade contra as formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis*, com CI_{50} de 4,0 μM e 25,3 μM , respectivamente, utilizando estibogluconato sódico (CI_{50} = 4,4 μM) e pentamidina (CI_{50} = 6,0 μM) contra amastigotas e promastigotas, respectivamente. Nesse mesmo estudo, utilizou-se a **42** como protótipo e foram realizadas modificações no anel B, sendo sintetizada a substância **43** (figura 8, p. 30), a qual foi igualmente ativa contra amastigotas (CI_{50} = 4,3 μM) e promastigotas (CI_{50} = 0,8 μM), respectivamente, contudo foi relativamente atóxica contra macrófagos (CI_{50} > 100 μM).

APONTE e colaboradores (2008) relataram que a presença das hidroxilas nas hidroxichalconas **44** e **45** (figura 8, p. 30), está relacionada a maior atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, em comparação com os outros análogos metoxilados e aliloxilados, evidenciando que o efeito tripanosida de **44** e **45** foi correlacionado à inibição da mitose.

LIU e coautores (2003) avaliaram a atividade antimalárica de hidroxichalconas e chalconas alcoiladas. Embora tenha sido menos potente em relação aos análogos alcoilados, a hidroxichalcona **46** (figura 8, p. 30) apresentou um valor de CI_{50} de 12,85 μM contra cepas de *Plasmodium falcifarum* resistentes à cloroquina (CI_{50} de 0,27 μM), fármaco empregado na terapia antimalárica.

ANTHWAL e colaboradores planejaram híbridos metronidazol-chalcona e avaliaram sua atividade contra *T. vaginalis*. Dentre os híbridos sintetizados, **47** e **48** (figura 8, p. 30), se destacaram por exibir maior atividade contra cepas resistentes ao MTZ, apresentando CIM de 3,125 $\mu g mL^{-1}$, comparadas ao MTZ por exibir CIM de 12,5 $\mu g mL^{-1}$.

SETZER e colaboradores (2017) realizaram uma triagem *in silico* de produtos naturais e, investigaram a interação desses com proteínas consideradas alvos moleculares de *T. vaginalis*, por meio de docagem molecular. Foram considerados como potentes ligantes à purina-nucleosídeo-fosforilase diversos compostos polifenólicos, destacando-se a 2',4,4'-trihidroxi-3,3'-diprenilchalcona **49** (figura 8, p. 30).

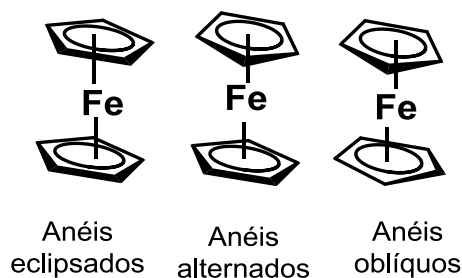
Figura 8. Hidroxichalconas Bioativas

1.5. Ferrocenilchalconas Bioativas

As ferrocenilchalconas são chalconas que possuem um ou dois dos anéis fenílicos A ou B permutados por um ferroceno, composto organometálico do tipo sanduíche, constituído por dois anéis ciclopentadienilas e um átomo de ferro central. Assim como as hidroxichalconas, as ferrocenilchalconas têm sido investigadas quanto suas propriedades biológicas.

O ferroceno foi sintetizado acidentalmente em 1951 por Pauson, e teve sua estrutura confirmada posteriormente por Woodward (PEREIRA *et al*, 2013; WERNER, 2012). O ferroceno, figura 9 (p. 31), pode apresentar três diferentes conformações, as quais surgem da rotação livre ciclopentadienila-ferro (MIESSLER, FISCHER E TARR, 2014).

Figura 9. Configurações do Ferroceno



EDWARDS e colaboradores (1975) sintetizaram derivados de penicilina e cefalosporina contendo o grupo ferroceno. Os derivados **50** – **52** (figura 10, p. 32) demonstraram ação atividade antibacteriana (PEREIRA *et al*, 2013).

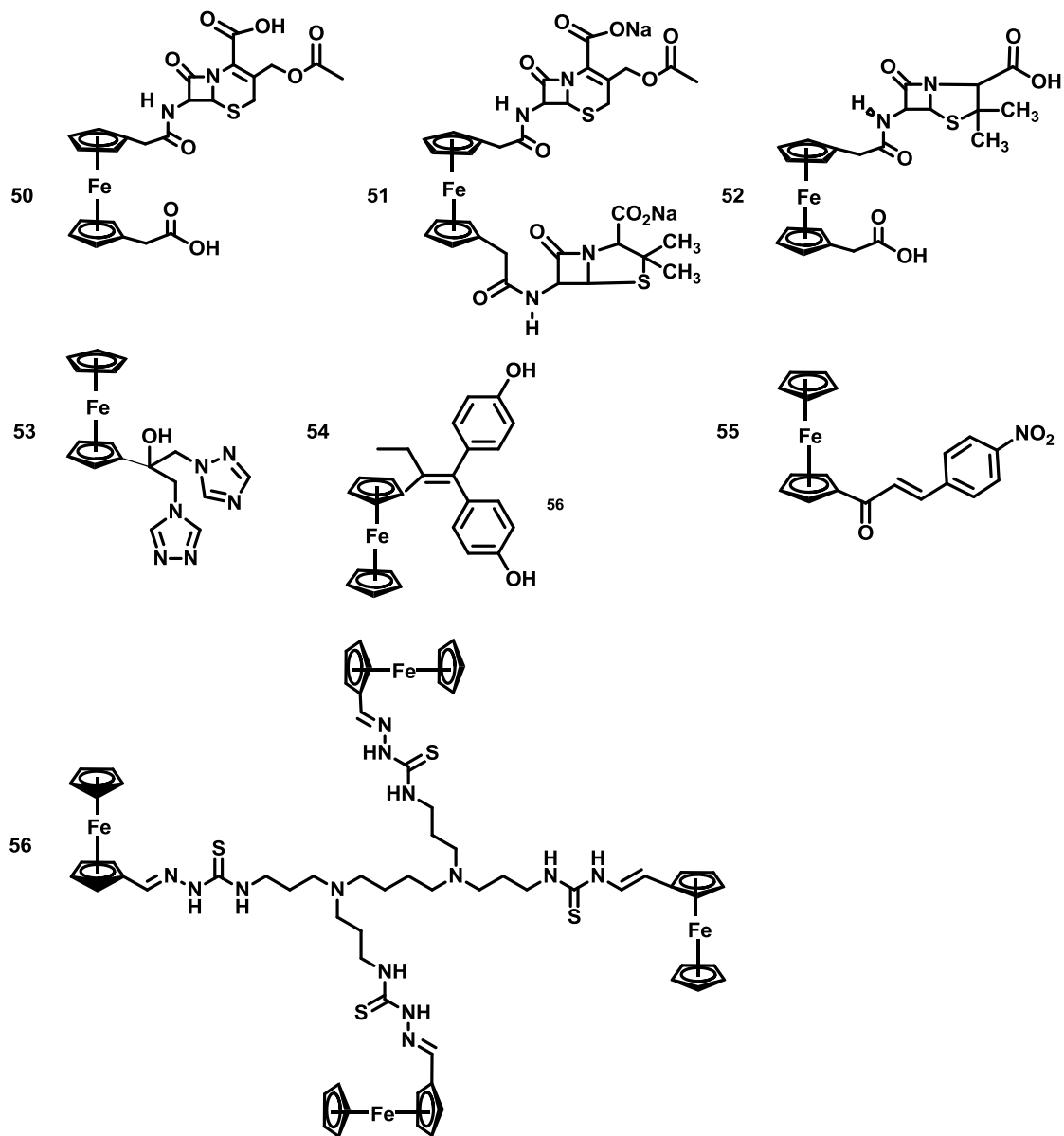
Além da busca por novos compostos antibacterianos, o grupo ferroceno também foi inserido na busca por compostos com atividade antifúngica, sendo assim sintetizado o análogo do fluconazol, o ferroceno-fluconazol (**53**) (figura 10, p. 32) (PEREIRA *et al*, 2013).

JAOUEN e colaboradores (2004) sintetizaram vários análogos ferrocênicos do resveratrol e avaliaram sua atividade citotóxica utilizando linhagens celulares de células de câncer de mama. Os resultados mostraram que 1,1-*bis*(4-hidroxifenil)-2-ferrocenil-but-1-eno (**54**), (figura 10, p. 32) apresentou potente atividade antiproliferativa contra linhagens de células tumorais de mama.

WU e colaboradores (2002) prepararam uma série de ferrocenilchalconas para avaliar a atividade *in vitro* contra *P. falciparum*. Dentre essas, a mais potente foi 1-ferrocenil-3-(4-nitrofenil)-prop-2-en-1-ona (**55**) (figura 10, p. 32), demonstrando CI_{50} de 5,1 μ M, embora sendo menos ativa que a cloroquina ($CI_{50} = 0,25 \mu$ M).

STRINGER e coautores (2013) investigaram a atividade de uma série de conjugados tioureia-ferroceno contra *T. vaginalis*, em que a ferrocenil-tioureia (**56**) se destacou por apresentar maior porcentagem de inibição do crescimento ($61,5 \pm 11 \%$) da série, embora menor comparada à porcentagem apresentada pelo MTZ (100 %).

Figura 10. Análogos Ferrocênicos (**50**, **51**, **52**, **53**, **54** e **56**) e Ferrocenilchalcona (**55**) Bioativos



1.6. Métodos de Topliss

Topliss desenvolveu dois métodos não-estatísticos para potencializar a atividade biológica de séries de congêneres aromáticos, os quais são: Árvore de Decisão e Método Manual, descritos em 1972 e 1977, respectivamente (Topliss, 1972, 1977).

Tabela 1. Ordem de potência para cinco primeiros congêneres do Método Manual de Topliss (TOPLISS, 1977)

Cinco congêneres iniciais	π	$2\pi - \pi^2$	σ	$-\sigma$	$\pi + \sigma$	$2\pi - \sigma$	$\pi - \sigma$	$\pi - 2\sigma$	$\pi - 3\sigma$	E_4^a
3,4-diCl	1	1-2	1	5	1	1	1-2	3-4	5	2-5
4-Cl	2	1-2	2	4	2	2-3	3	3-4	3-4	2-5
4-Me	3	3	4	2	3	2-3	1-2	1	1	2-5
4-OMe	4-5	4-5	5	1	5	4	4	2	2	2-5
H	4-5	4-5	3	3	4	5	5	5	3-4	1

(a) efeito estérico desfavorável dos substituintes *para*-posicionados.

Tabela 2. Seleção de novos substituintes presentes nos congêneres posteriores do Método Manual de Topliss (TOPLISS, 1977)

Possíveis Parâmetros	Seleção de Novos Substituintes após avaliação dos cinco congêneres iniciais
π , $\pi + \sigma$, σ	3-CF ₃ ; 4-Cl; 4-NO ₂ ; 4-CF ₃ ; 2,4-di-Cl; 4-C ₆ H ₉ ; 4-C ₆ H ₁₁
π , $2\pi - \sigma$, $\pi - \sigma$	4-CH(CH ₃) ₂ ; 4-C(CH ₃) ₃ ; 3,4-(CH ₃) ₂ ; 4-O(CH ₂) ₃ CH ₃ ; 4-OCH ₂ Ph; 4-N(C ₂ H ₅) ₂ ;
$\pi - 2\sigma$, $\pi - 3\sigma$, $-\sigma$,	4-N(C ₂ H ₅) ₂ ; 4-N(CH ₃) ₂ ; 4-NH ₂ ; 4-NHC ₄ H ₉ ;
	4-OCH(CH ₃) ₂ ; 4-CH ₃ ; 4-OCH ₃
$2\pi - \pi^2$	4-Br; 3-CF ₃ ; 3,4-diCH ₃ ; 4-C ₂ H ₅ ; 3-Cl; 3-CH ₃ ; 3-N(CH ₃) ₂ ;
	3,5-di-Cl
Efeito <i>orto</i>	2-Cl; 2-CH ₃ ; 2-OCH ₃ ; 2-F;
Outro	4-F; 4-NHCOCH ₃ ; 4-NHSO ₂ CH ₃ ; 4-NO ₂ ;
	4-COCH ₃ ; 4-SO ₂ CH ₃ ; 4-CONH ₂ ; 4-SO ₂ NH ₂

Comparando os dois métodos de Topliss, Figura 11 e tabelas 1 e 2, o Método Manual apresenta como vantagem a possibilidade de sintetizar os primeiros cinco compostos sem a necessidade inicial de comprovar suas atividades biológicas. Destaca-se que a seleção pelos congêneres não-substituídos e substituídos (4-Cl, 4-OMe, 4-Me, 3,4-diCl) deve-se à alta acessibilidade sintética, isto é, os reagentes com

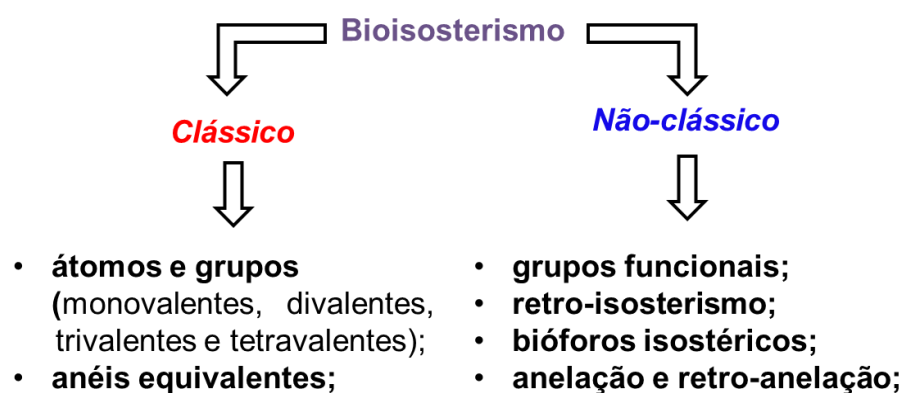
esses substituintes são comercialmente disponíveis, e em geral de baixo custo econômico (TOPLISS, 1977; TOPLISS, 1972).

1.7. Bioisosterismo

O bioisosterismo pode ser definido como uma estratégia de modificação molecular em que fragmentos moleculares são permutados por subunidades estruturais similares em volumes, formas, distribuições eletrônicas e propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, capazes de apresentar propriedades biológicas semelhantes (BARREIRO e FRAGA, 2008).

Em 1970, o bioisosterismo foi classificado e subdividido por Alfred Burger em duas categorias: clássico e não-clássico, Esquema 1. O bioisosterismo clássico consiste na permuta de átomos de mesma valência, grupos ou substituintes, incluindo nesta categoria anéis aromáticos equivalentes, e o não-clássico abrange as demais possibilidades (BURGER, 1991 *apud* BARREIRO e FRAGA, 2008).

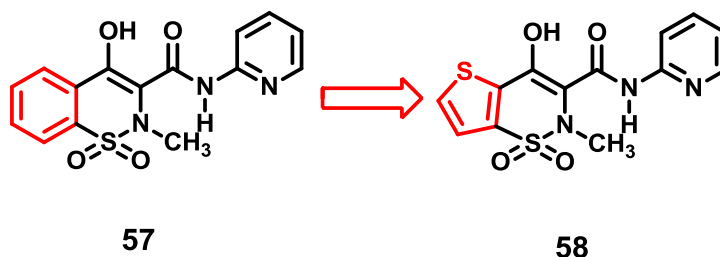
Esquema 1. Bioisosterismo Clássico e Não-Clássico (BARREIRO e FRAGA, 2008)



O bioisosterismo clássico de anéis equivalentes é empregado para o planejamento séries congêneras de compostos líderes, visando investigações detalhadas sobre as diferentes contribuições físico-químicas resultantes da permutação de anéis equivalentes e por essa ser ferramenta fundamental no desenvolvimento de fármacos *me-too* (LIMA e BARREIRO, 2005).

Aplicando a ferramenta de bioisosterismo, BINDER (1987) propôs o fármaco tenoxicam (**58**) da classe dos ariltiazínicos, Figura 12, no qual o núcleo benzotiazínico foi permutado pelo anel tienotiazínico.

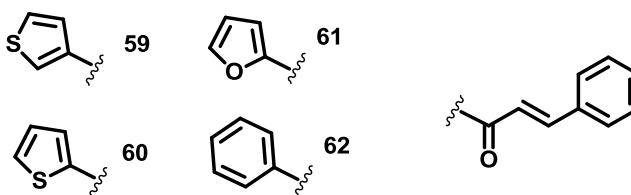
Figura 12. Bioisosterismo de Anéis Aplicado por Binder (1987) no Planejamento do tenoxicam (LIMA E BARREIRO, 2005)



Segundo LIMA e BARREIRO (2005), o exemplo do desenvolvimento do tenoxicam representa uma correlação bioisostérica autêntica entre anéis π -isoeletrônicos, para os quais a atividade terapêutica de **58** foi similar a de **57**, podendo **58** ser administrado em doses únicas diárias de 20 mg. Ambos os bioisósteros exibem o mesmo mecanismo de ação, inibindo a ciclooxygenase, enzima envolvida na cascata do ácido araquidônico, a qual é fundamental ao processo inflamatório (BINDER *et al*, 1987).

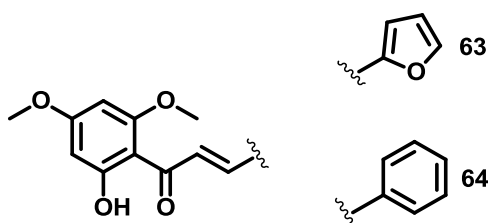
LEE e colaboradores (2012) realizaram a triagem de heteroarilchalconas 3-fenil-1-tiofen-3-il-propenona (**59**), 3-fenil-1-tiofen-2-il-propenona (**60**), 1-furan-2-il-3-fenil-propenona (**61**) e 1,3-difenil-2-propenona (**62**) (figura 13), para avaliar o efeito inibitório *in vitro* sobre células relacionadas à angiogênese. Nesse estudo, eles compararam a atividade anti-angiogênica dessa série com derivados de chalconas, e claramente demonstraram seguinte ordem de atividade anti-angiogênica: **62** > **61** > **59** > **60**, respectivamente.

Figura 13. Heteroarilchalconas (**59**, **60** e **61**) e Homoarilchalcona (**62**) com Atividade Anti-angiogênica



Além das hidroxichalconas **42** e **43**, p. 30, BOECK e colaboradores (2006) utilizaram o isosterismo de anéis em uma série de hidroxichalconas leishmanicidas. A hidroxichalcona dimetoxilada furânica (**63**) demonstrou ser mais ativa com valores de Cl_{50} de 5,0 e 3,4 μM contra promastigotas e amastigotas, respectivamente, em relação ao seu análogo fenílico **64**, figura 14, o qual obteve Cl_{50} de 21,4 e 8,4 μM , contra promastigotas e amastigotas, respectivamente.

Figura 14. Isosterismo de Anéis Aplicado por BOECK (2006) em uma Série de Hidroxichalconas Leishmanicidas (**63** e **64**)

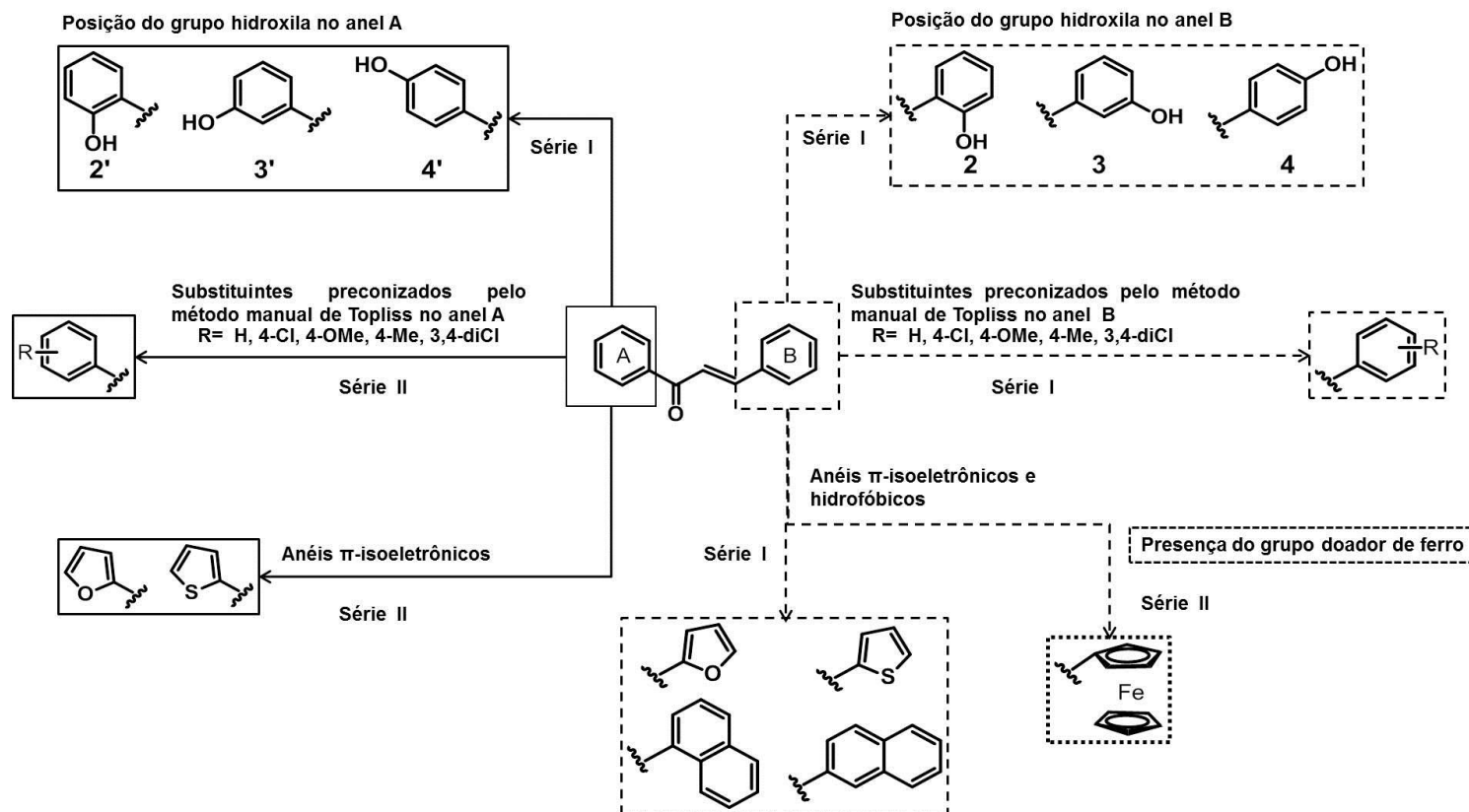


2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral o planejamento e a síntese de hidroxichalconas (série I) e ferrocenilchalconas (série II), bem como a avaliação da atividade contra *Trichomonas vaginalis*, Esquema 2.

Esquema 2. Planejamento Estrutural de Hidroxichalconas (Série I) e Ferrocenilchalconas (Série II)



2.2. Objetivos Específicos

O presente trabalho teve os seguintes objetivos específicos:

- a) Planejamento das chalconas das séries I e II empregando o Método Manual de Topliss e isosterismo de anéis;
- b) Síntese das chalconas das séries I e II por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt;
- c) Avaliação da atividade contra *Trichomonas vaginalis* das chalconas contra cepa sensível ao metronidazol (ATCC - 30236); sendo que a potência antiprotozoária foi expressa em valores de CI_{50} , concentração capaz de inibir em 50% o crescimento do parasito;
- d) Avaliação da toxicidade das chalconas antiprotozoárias ($CI_{50} < 100 \mu M$) contra células epiteliais vaginais humanas (HVMII, ECACC 92042701), sendo que a potência citotóxica foi expressa em valores de CL_{50} , concentração letal para 50% das células humanas;
- e) Determinação do índice de seletividade (IS) das chalconas utilizando os valores de CI_{50} e CL_{50} (itens **c** e **d**), por meio da razão: $IS = CL_{50}/CI_{50}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

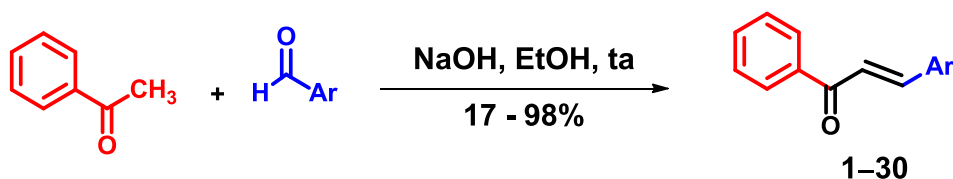
3.1. Planejamento, Síntese e Identificação das Chalconas das Séries I e II

Foram planejadas duas séries de chalconas, sendo as séries I e II constituídas por hidroxichalconas e ferrocenilchalconas, respectivamente.

A. Hidroxichalconas (Série I)

Inicialmente, a série I foi planejada visando mensurar a importância da posição do grupo hidroxila nos anéis A e B, sobre a atividade contra *T. vaginalis*. Posteriormente, a série I foi composta por 2'-, 3'- e 4'-hidroxichalconas com anel B substituído por grupos preconizados pelo Método Manual de Topliss (4-Cl, 4-OCH₃, 4-CH₃ e 3,4-diCl). Finalmente, os últimos congêneres da série I foram planejados por substituições do anel B fenílico por anéis π -isoeletrônicos e naftilas, permitindo avaliar a influência dos parâmetros estereoeletrônicos e hidrofobicidade sobre a atividade antiprotozoária. As chalconas da série I foram sintetizadas por meio da condensação aldólica de Claisen-Schmidt, Esquema 3 (ZACCHINO *et al*, 2005).

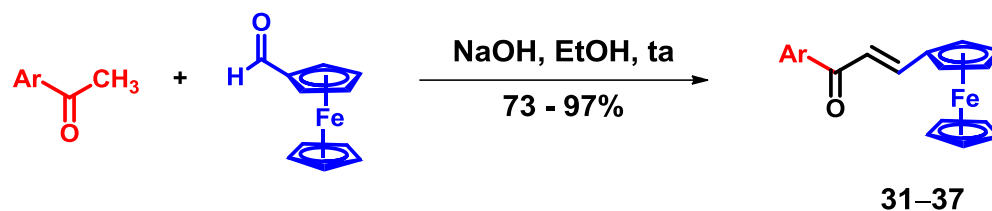
Esquema 3. Reação de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a Obtenção de Chalconas da Série I (1–30)



B. Ferrocenilchalconas (Série II)

A série II foi constituída por chalconas com anel B ferrocênico e anel A substituído por grupos preconizados pelo Método Manual de Topliss (4-Cl, 4-OCH₃, 4-CH₃ e 3,4-diCl). O uso de um anel organoferro como anel B chalcônico pode ser justificado pela elevada necessidade do ferro para o metabolismo energético do *T. vaginalis*, capacitando as ferrocenilchalconas a atuarem como potenciais antimetabólitos do grupo heme (ARDALAN *et al*, 2009). As chalconas da série II foram sintetizadas por meio da condensação aldólica de Claisen-Schmidt, Esquema 4, p. 41 (WU *et al*, 2002; ATTAR *et al*, 2011).

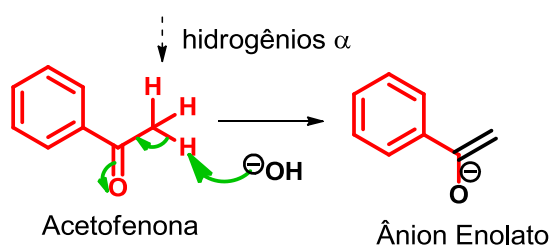
Esquema 4. Reação de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a Obtenção de Chalconas da Série II (31–37)



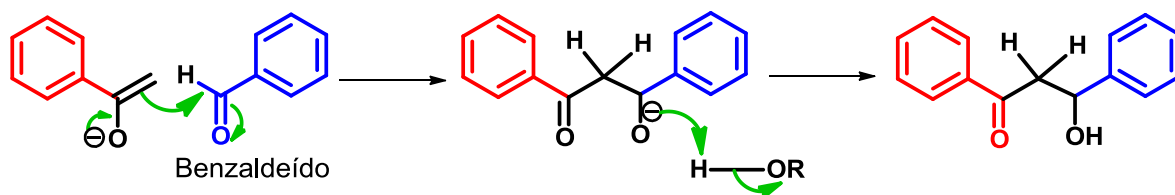
O mecanismo de reação da condensação aldólica de Claisen-Schmidt apresenta três etapas, Esquema 5.

Esquema 5. Proposta para o mecanismo de reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt

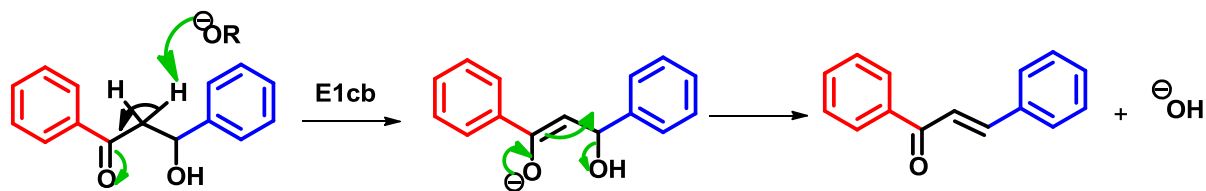
Etapa 1



Etapa 2



Etapa 3



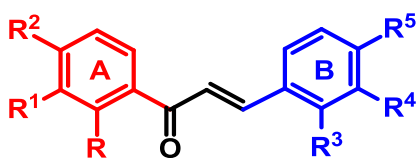
(CLAYDEN *et al*, 2012)

Etapa 1) inicia-se pela formação do ânion enolato a partir da captura de um hidrogênio α da acetofenona por uma base (OH^- ou ^-OEt ; **Etapa 2)** o ânion enolato atua como um nucleófilo atacando o carbono aldoxílico formando um íon alcóxido, o qual

atua como uma base, retirando um próton da molécula do etanol (solvente prótico), formando um íon etóxido e um aldol; **Etapa 3**) um próton α -carbonílico é retirado pelo íon etóxido, o qual é estabilizado por ressonância; e finalmente a liberação de um hidróxido como grupo abandonador, por eliminação unimolecular *via* base conjugada (E1cb), formando uma cetona α,β -insaturada e, conseqüentemente, o núcleo chalcônico (CLAYDEN *et al*, 2012).

A chalcona não-substituída **1** e as chalconas hidroxiladas no anel A (**2–4**) e anel B (**5–7**), pertencentes a série I, foram obtidas com rendimentos que variaram de 52 a 90%, tabela 3, sendo que as hidroxiladas no anel A (63 – 90%) demonstraram rendimentos superiores que as hidroxiladas no anel B (52 – 80%).

Tabela 3. Rendimentos da Preparação da Chalcona Não-Substituída (**1**) e Hidroxichalconas **2–7** (Série I)

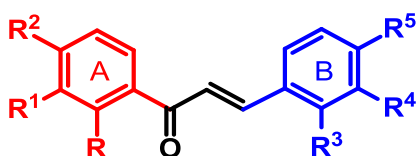


Chalcona	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Rendimento (%)
1	H	H	H	H	H	H	78
2	OH	H	H	H	H	H	63
3	H	OH	H	H	H	H	90
4	H	H	OH	H	H	H	85
5	H	H	H	OH	H	H	52
6	H	H	H	H	OH	H	80
7	H	H	H	H	H	OH	75

A tabela 4 resumiu os rendimentos obtidos da preparação de hidroxichalconas **8–19** (Série I), reiterando a importância da hidroxila na posição 3' para rendimentos sintéticos elevados. A síntese de 3'-hidroxichalconas **12–15** obtiveram maiores rendimentos, destacando-se **15** (78%), seguida das 4'-hidroxichalconas **16–19** e, por último, as 2'-hidroxichalconas **8–11**, as quais apresentaram rendimentos pouco apreciáveis de síntese, principalmente **11** (17%).

As hidroxichalconas substituídas por grupos eletrodoadores, incluindo 4-Me e 4-OMe (**10**, **11**, **14**, **15**, **18** e **19**) foram obtidas com menores rendimentos que as mono- e dissustituídas por cloro, um átomo eletroatrator (**8**, **9**, **12**, **13**, **16** e **17**).

Tabela 4. Rendimentos da Preparação de Hidroxichalconas **8–19** (Série I)



Chalcona	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Rendimento (%)
8	OH	H	H	H	H	Cl	49
9	OH	H	H	H	Cl	Cl	55
10	OH	H	H	H	H	CH ₃	34
11	OH	H	H	H	H	OCH ₃	17
12	H	OH	H	H	H	Cl	75
13	H	OH	H	H	Cl	Cl	55
14	H	OH	H	H	H	CH ₃	43
15	H	OH	H	H	H	OCH ₃	78
16	H	H	OH	H	H	Cl	67
17	H	H	OH	H	Cl	Cl	57
18	H	H	OH	H	H	CH ₃	54
19	H	H	OH	H	H	OCH ₃	23

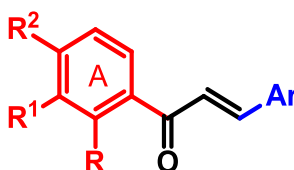
De forma análoga à tabela 4, a tabela 5 indicou que os análogos arílicos 3'-hidroxilados (**23–26**) tiveram maiores rendimentos de síntese, evidenciando a preparação de **23** (98%), seguida pelos análogos arílicos 4'-hidroxilados (**27–30**), destaque para a substância **27** (94%), e por último, os análogos arílicos 2'-hidroxilados (**20 – 22**).

Dentre os análogos arílicos com anel B π -isoeletrônico, os derivados furânicos foram obtidos com rendimentos superiores àqueles apresentados pelos derivados tiofênicos, o que pode estar relacionado ao aumento da eletrofilicidade do carbono

aldoxílico, provocado pelo efeito indutivo eletroatrator mais potente do oxigênio em relação ao enxofre.

Dentre os análogos arílicos com anel B hidrofóbico, os derivados 2-naftalênicos (β) foram sintetizados com maiores rendimentos que os derivados 1-naftalênicos (α), o que pode estar relacionado ao efeito estérico maior do anel naftalênico sobre o carbono aldoxílico de α -naftilas.

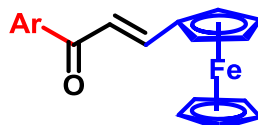
Tabela 5. Rendimentos da Preparação de Análogos Arílicos de Hidroxichalconas **20–30** (Série I)



Chalcona	R	R ¹	R ²	Ar	Rendimento (%)
20	OH	H	H	2-furanila	70
21	OH	H	H	2-tiofenila	50
22	OH	H	H	2-naftila	52
23	H	OH	H	2-furanila	98
24	H	OH	H	2-tiofenila	74
25	H	OH	H	1-naftila	60
26	H	OH	H	2-naftila	87
27	H	H	OH	2-furanila	94
28	H	H	OH	2-tiofenila	50
29	H	H	OH	1-naftila	35
30	H	H	OH	2-naftila	85

A tabela 6 sumarizou os rendimentos da preparação de ferrocenilchalconas **31–37**. As ferrocenilchalconas tiveram rendimentos altamente satisfatórios (73 – 97%), destacando-se as substâncias **32** e **35**, mono- e dissustituídas, por cloro, respectivamente, obtidas com maiores rendimentos.

Tabela 6. Rendimentos das Ferrocenilchalconas (**31–37**) da Série II



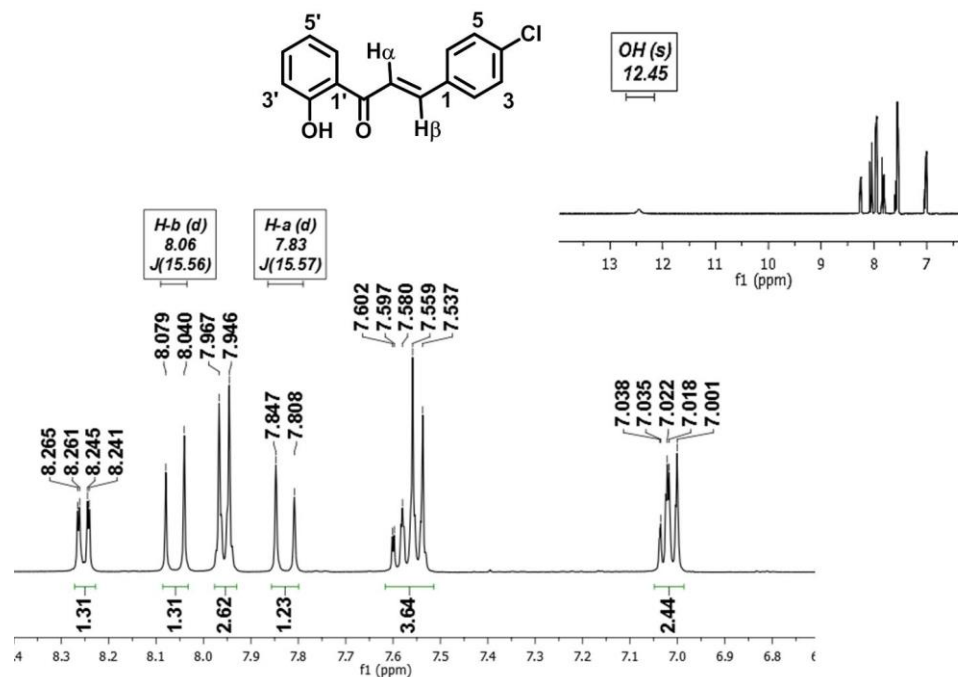
Chalcona	Ar	Rendimento (%)
31	Fenila	82
32	4-clorofenila	97
33	4-metilfenila	77
34	4-metoxifenila	73
35	3,4-diclorofenila	85
36	2-furanila	80
37	2-tiofenila	81

As chalconas das séries I e II tiveram sua estrutura confirmada com base na análise dos dados espectrais de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) incluindo deslocamento químico (δ_{H}) em ppm, multiplicidade (mult) e constante de acoplamento (J) em Hz, e RMN de ^{13}C .

A observação de sinais atribuídos aos hidrogênios H- α e H- β confirmaram a reação de condensação aldólica entre os derivados acetofenônicos e derivados benzaldeídicos, formando cetonas α,β -insaturadas (chalconas). Nesse sentido, buscou-se identificar a presença de um par de dupletos com constante de acoplamento de 15 a 16 Hz, o que corrobora a presença de uma olefina com configuração *trans*. Este par de dupletos apresenta-se bem espaçados no espectro de RMN de ^1H (figura 15, p. 46), pois o efeito de ressonância, indutivo e o cone de desblindagem da carbonila reduzem

a densidade de elétrons sobre o núcleo do hidrogênio H- β , o que pode ser notado por valores de δ_H superiores aos atribuídos para o hidrogênio H- α .

Figura 15. Espectro de RMN de ^1H da Hidroxichalcona **8**

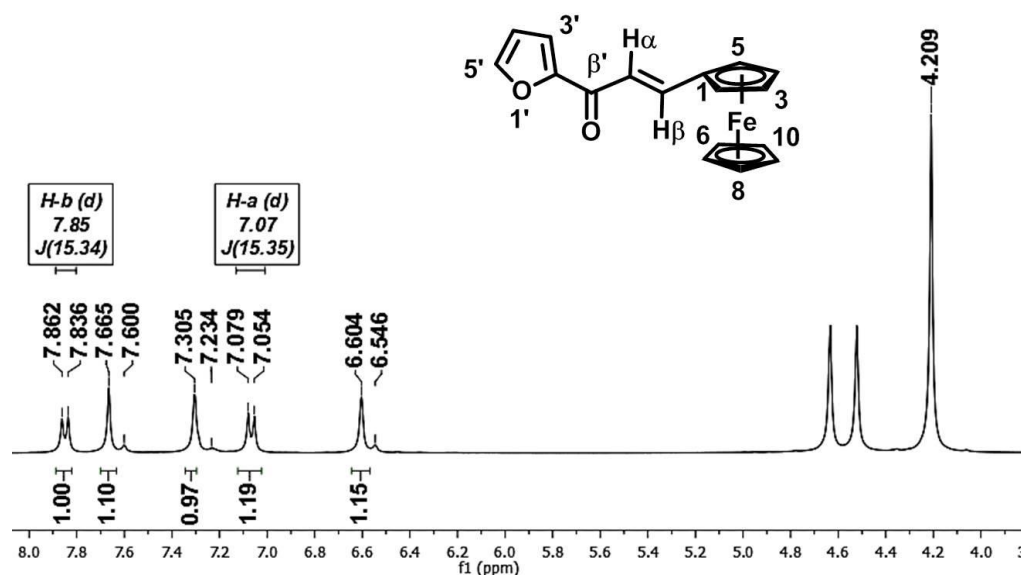


O fator estrutural característico das hidroxichalconas é o efeito doador de elétrons da hidroxila sobre os núcleos de hidrogênio *orto*- e *para*-posicionados. Embora o oxigênio promova o efeito indutivo-eletroatrator, o efeito mesomérico (ressonância) predomina fazendo com que os hidrogênios *orto*- e *para*-posicionados à hidroxila apresentem δ_H inferiores aos correlacionados aos hidrogênios *meta*-posicionados, o mesmo ocorre para os substituintes cloro e metoxila.

O sinal correspondente do hidrogênio da hidroxila de fenóis é, usualmente, um simpleto, porém o seu valor de δ_H e forma variam segundo a concentração do analito, do solvente e da temperatura. Esse sinal pode ocorrer na faixa de 10,0 a 12,0 ppm, um valor relativamente alto, pois as hidroxilas *orto*-posicionadas a uma carbonila formam uma ligação de hidrogênio intramolecular (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2015).

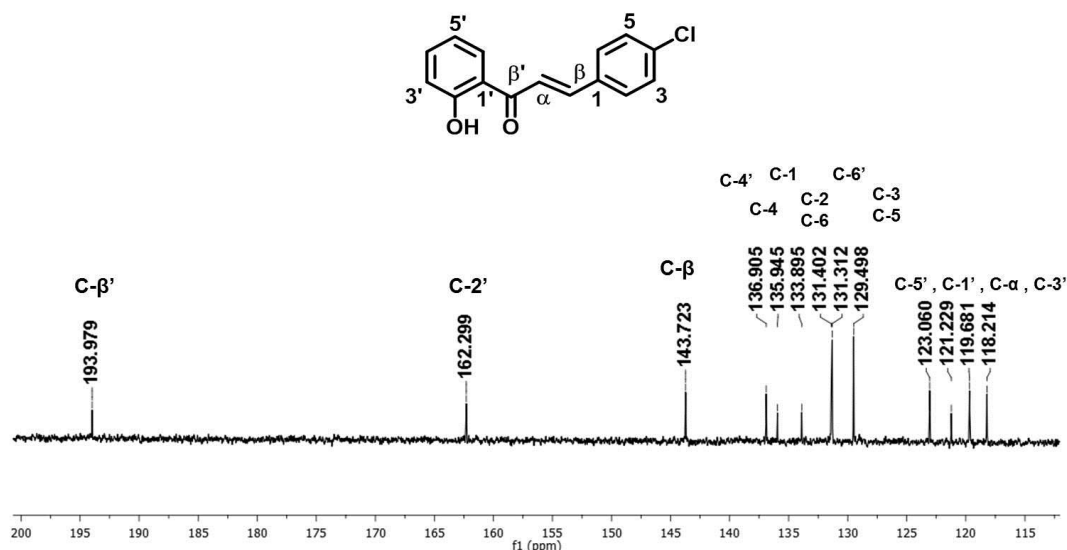
Três sinais típicos dos hidrogênios do ferroceno podem ser observados em ferrocenilchalconas (Figura 16): **a)** um simpleto largo em δ_H 4,2 ppm, o qual pode ser integrado aos 5 hidrogênios correspondente ao anel ciclopentadienila não-substituído; **b)** um par de sinais largos, com multiplicidade variada (comumente simpletos), os quais são integrados para 2 hidrogênios cada um, correspondendo ao anel ciclopentadienila monosubstituído (NESMEYANOV *et al*, 1974; SUN *et al*, 2006; ATTAR *et al*, 2011; MULLER *et al*, 2012).

Figura 16. Espectro de RMN ^1H da Ferrocenilchalcona **36**



No espectro de RMN de ^{13}C de hidroxichalconas, a observação dos sinais atribuídos aos carbonos carbonílico (C- β'), C- α e C- β confirmaram a condensação de derivados acetofenônicos e derivados benzaldeídicos em chalconas (cetona α,β -insaturada). Os sinais dos carbonos C- α e C- β apresentam-se bem resolvidos no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17, p. 48), pois o efeito de ressonância e indutivo da carbonila reduz a densidade de elétrons sobre o núcleo do carbono C- β , o que pode ser notado por valores de δ_C atribuído para C- β superiores aos atribuídos para o C- α .

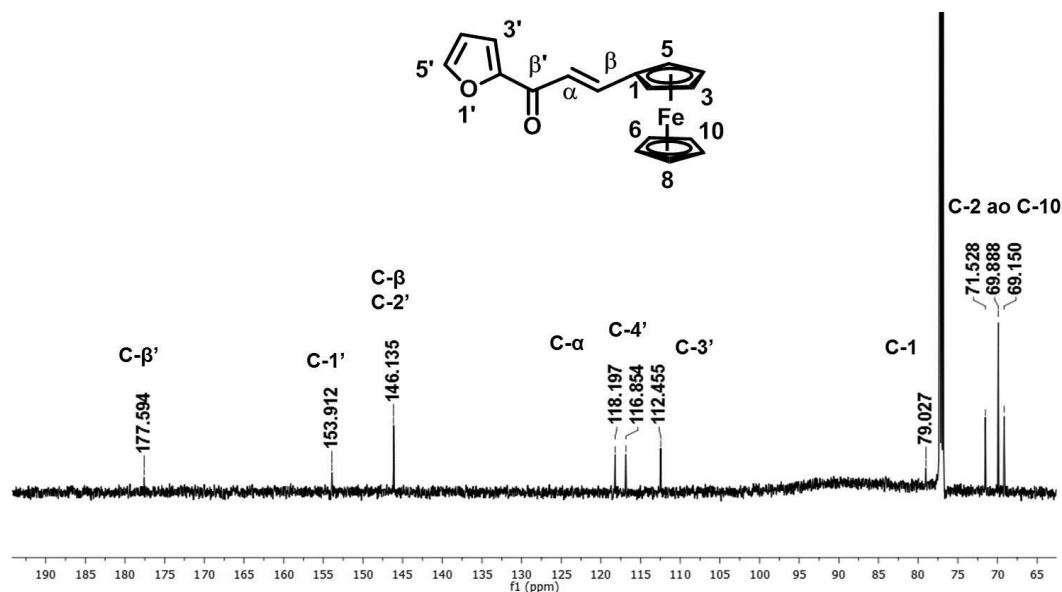
Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C da Hidroxichalcona **8**



O grupo hidroxila exerce efeito indutivo eletroatrator sobre o núcleo de carbono *ipso* desblindando-o. Por outro lado, a hidroxila proporciona blindagem dos carbonos *orto*- e *para*-posicionados.

Os espectros de RMN de ^{13}C de ferrocenilchalconas, Figura 18 (p. 49), apresentam quatro sinais característicos, sendo um em torno de δ_{C} 69,8 com elevada amplitude, o qual pode ser atribuído a 5 carbonos equivalentes de uma ciclopentadienila não-substituída. Os três sinais restantes correspondem a uma ciclopentadienila monossustituída, destacando-se o sinal deslocado com δ_{C} 79,0 (C-1); resultante do C- β altamente eletrofílico.

Figura 18. Espectro de RMN ^{13}C da Ferrocenilchalcona **36**

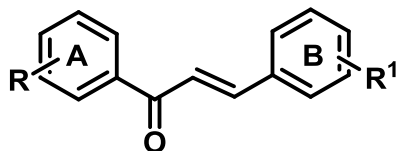


3.2. Atividade contra *Trichomonas vaginalis* de Hidroxichalconas (Série I) e Ferrocenilchalconas (Série II)

A. Hidroxichalconas (Série I)

Seis chalconas substituídas por um grupo hidroxila em diferentes posições dos anéis A e B (**2–7**) e a chalcona não-substituída (**1**) tiveram sua atividade contra *T. vaginalis* avaliada contra cepas sensíveis ao metronidazol (ATCC 30236). Os resultados de porcentagem de viabilidade dos trofozoítos quando expostos a 100 μM das chalconas **1–7** foram apresentados na tabela 7, p. 50.

Tabela 7. Porcentagem de Viabilidade de Trofozoítos Expostos a 100 μ M de Chalconas **1** – **7**



Controles e Chalconas	R	R ¹	Viabilidade de Trofozoítos (%)
CN	-	-	100
CV	-	-	98
1	H	H	122 $\pm$ 21
2	2'-OH	H	< 5
3	3'-OH	H	< 5
4	4'-OH	H	< 5
5	H	2-OH	< 5
6	H	3-OH	< 5
7	H	4-OH	< 5

CN = Controle Negativo; CV = Controle veículo;

A chalcona não-substituída **1** não exibiu atividade contra *T. vaginalis*, sendo portanto, considerada atóxica aos trofozoítos a 100 μ M. Por outro lado, as chalconas com grupo hidroxila em diferentes posições dos anéis A e B (**2–7**) apresentaram atividade antiprotozoária, quando testadas a 100 μ M, exibindo porcentagem de viabilidade dos trofozoítos inferiores a 5%. Assim, os dados iniciais de triagem comparativa entre a chalcona não-substituída (**1**) e as hidroxichalconas (**2–7**) indicaram que o grupo hidroxila promoveu o recrudescimento da atividade antiprotozoária.

Para avaliar a potência tricomonocida, as hidroxichalconas **2–7** foram submetidas a ensaios, em diferentes concentrações, com o intuito de determinar a concentração capaz de inibir 50% do crescimento dos trofozoítos (Cl₅₀). Os valores de Cl₅₀ foram sumarizados na tabela 8, p. 51.

As chalconas com hidroxila no anel A foram mais potentes que as chalconas hidroxiladas no anel B. Dentre essas, 4'-hidroxichalcona **4** foi a mais ativa, exibindo uma Cl_{50} de 27,5 μ M. A ordem de potência antiprotozoária para o anel A foi dependente da posição da hidroxila sendo a seguinte: *orto* < *meta* < *para*. Enquanto, para o anel B o padrão de hidroxilação promoveu efeito inverso sobre a atividade antiprotozoária: *para* < *meta* < *orto*. A 4-hidroxichalcona **7** foi inativa exibindo uma Cl_{50} superior a 100 μ M.

Por serem mais potentes, as chalconas com hidroxila no anel A (**3** e **4**) tiveram sua toxicidade avaliada contra células vaginais humanas. Os valores de CL_{50} (concentração letal para 50% das células), indicaram alta toxicidade contra as células do hospedeiro (Tabela 8). A 4'-hidroxichalcona exibiu CL_{50} igual a 29,7 μ M, valor similar à sua Cl_{50} (27,5 μ M), indicando ausência de seletividade, ou seja, **4** promoveu efeitos letais no parasito e nas células do hospedeiro em concentrações similares. Os valores de índice de seletividade (IS) calculados a partir da razão: $IS = CL_{50}/Cl_{50}$, iguais ou inferiores a 1,0 corroboraram a ausência de seletividade para as hidroxichalconas.

Tabela 8. Atividade contra *Trichomonas vaginalis*, Toxicidade em Células Vaginais e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas **2–7**

Hidroxichalconas	R	R ¹	Cl_{50} (μ M)	CL_{50} (μ M)	IS
2	2'-OH	H	76,4	41,6	0,5
3	3'-OH	H	49,4	31,3	0,6
4	4'-OH	H	27,5	29,7	1,0
5	H	2-OH	56,2	ND	ND
6	H	3-OH	68,2	ND	ND
7	H	4-OH	> 100	ND	ND
MTZ	-	-	1,14 ^a	>100 ^b	NC

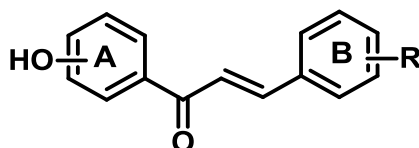
ND = Não determinado; a = Concentração (em μ M) capaz de inibir 90% o crescimento dos trofozoítos (Becker *et al*, 2015); b = JARRAD *et al*, 2016; nc = não calculado.

A elevada atividade antiprotozoária e baixa seletividade das hidroxichalconas nos encorajaram na continuidade da investigação químico-biológica, objetivando análogos mais potentes e mais seletivos.

Inicialmente, buscou-se análogos de chalconas com hidroxila nas posições 2', 3' e 4' (anel A) e anel B substituído por grupos preconizados pelo método manual de Topliss, sendo avaliados os congêneres substituídos por 4-Cl, 4-Me, 4-OMe e 3,4-diCl.

Dessa forma, após serem confirmadas estruturalmente por RMN, as 2'-hidroxichalconas (**8–11**), 3'-hidroxichalconas (**12–15**) e 4'-hidroxichalconas (**16–19**) foram submetidas à avaliação de atividade antiprotozoária, a qual foi expressa por meio dos valores de CI_{50} (Tabela 9).

Tabela 9. Atividade contra *Trichomonas vaginalis* das 2', 3' e 4'-Hidroxichalconas **8–19** Planejadas pelo Método Manual de Topliss



Hidroxichalconas	Posição da Hidroxila	R	CI_{50} (μM)
8	 2'	4-Cl	24,4
9		3,4-diCl	24,7
10		4-Me	30,5
11		4-OMe	43,7
12	 3'	4-Cl	48,6
13		3,4-diCl	75,9
14		4-Me	76,5
15		4-OMe	>100
16	 4'	4-Cl	46,9
17		3,4-diCl	56,0
18		4-Me	>100
19		4-OMe	>100
MTZ	-	-	1,14*

*Concentração (em μM) capaz de inibir 90% o crescimento dos trofozoítos

Os valores de Cl_{50} sumarizados na tabela 9 corroboraram quatro importantes dados de relação estrutura-atividade:

a) as chalconas com hidroxila na posição 2' (**8–11**) foram mais ativas que as 3'-hidroxichalconas (**12–15**) e 4'-hidroxichalconas (**16–19**);

b) a presença do átomo de cloro na posição 4 do anel B hidroxichalconas **8**, **12** e **16**, respectivamente, proporcionaram os menores valores de Cl_{50} dentro das subséries 2', 3' e 4';

c) a presença de átomos de cloro nas posições 3 e 4 do anel B das 2', 3' e 4'-hidroxichalconas **9**, **13** e **17**, respectivamente, conduziram a compostos com atividade similar ou inferior a congêneres monoclorados **8**, **12** e **16**, dentro das subséries 2', 3' e 4';

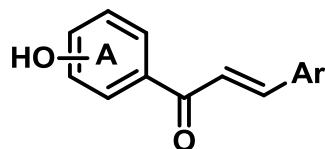
d) as metilchalconas **10**, **14** e **18** e metoxichalconas **11**, **15** e **19** exibiram os maiores valores de Cl_{50} , exceto a 2'-hidroxichalcona **10** ($Cl_{50} = 30,5 \mu M$);

A reunião das observações de relação estrutura-atividade dos itens **b–d** sugeriram que a presença de substituintes, simultaneamente, eletroatratores e hidrofóbicos (4-Cl e 3,4-diCl) no anel B chalcônico conduziram a compostos mais potentes que chalconas com substituintes hidrofóbico e eletrodoador (4-Me) e hidrofílico e eletrodoador (4-OMe).

A ordem de potência antiprotozoária para as 2'-hidroxichalconas (subsérie mais ativa) foi: **8** (4-Cl) $\approx$ **9** (3,4-diCl) > **11** (4-OMe) > **10** (4-Me) > **2** (não-substituído) (Tabela 8, p. 51). Dessa forma, a aplicação do Método Manual de Topliss corroborou os parâmetros $2\pi - \pi^2$ ou $\pi + \sigma$ como essenciais para bioatividade, guiando a série de chalconas com anel B substituído por outros grupos hidrofóbicos e eletroatratores como: 4-Br, 4-I, 3-CF₃, 4-CF₃, 4-NO₂, e 2,4-diCl (Tabelas 1 e 2, p. 35).

Tendo em vista a influência clara e positiva do parâmetro eletrônico para atividade tricomonicida, decidiu-se permutar o anel B fenílico por anéis π -isoeletrônicos (2-furanila e 2-tiofenila), hipotetizando uma relação bioisostérica de anéis. Contudo, a hidrofobicidade, também, foi um parâmetro importante para a atividade tricomonicida. Assim, foram avaliadas chalconas com anel B fenílico substituído por α e β -naftilas, as quais possuem duas fenilas fundidas (Tabela 10, p. 55).

Tabela 10. Atividade contra *Trichomonas vaginalis* de Análogos Arílicos de Hidroxichalconas (20–30)



Hidroxichalconas	Posição da Hidroxila	Ar	CI ₅₀ (μM)
20		2-furanila	>100
21		2-tiofenila	52,5
22		2-naftila	>100
23		2-furanila	>100
24		2-tiofenila	>100
25		1-naftila	>100
26		2-naftila	>100
27		2-furanila	>100
28		2-tiofenila	53,7
29		1-naftila	>100
30		2-naftila	>100
MTZ	-	-	1,14*

*Concentração (em μM) capaz de inibir 90% o crescimento dos trofozoítos

Interessantemente, as chalconas 2-tiofênicas **21** e **28**, exibiram atividade tricomonicida similar aos seus análogos fenílicos **2** e **4** (Tabela 8, p. 51), respectivamente, inferindo uma relação bioisostérica de anéis.

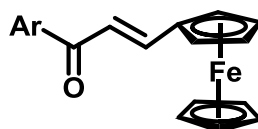
As naftilchalconas **22**, **25**, **26**, **29** e **30** foram inativas (CI₅₀ > 100 μM), apesar de apresentarem hidrofobicidade superior aos análogos fenílicos **2** – **4** (Tabela 8, p. 51). Tal redução drástica na ação tricomonicida pode estar relacionada ao efeito estérico promovida pela presença de uma fenila adicional.

B. Ferrocenilchalconas (Série II)

Foram avaliadas, biologicamente, sete ferrocenilchalconas, incluindo aquelas com anel A não-substituído **31** e substituído por grupos preconizados pelo Método Manual de Topliss (4-Cl, 4-Me, 4-OMe e 3,4-diCl) (**32–35**), bem como anel A permutado por anéis π -isoeletrônicos da fenila (tiofeno e furano) (**36–37**).

Os resultados de porcentagem de viabilidade dos trofozoítos quando expostos a 100 μM das ferrocenilchalconas foram apresentados na tabela 11. Todas as ferrocenilchalconas foram inativas contra *T. vaginalis*.

Tabela 11. Porcentagem de Viabilidade de Trofozoítos Expostos a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ das Ferrocenilchalconas **31–37**



Ferrocenilchalconas	Ar	Viabilidade de trofozoítos (%)	Cl ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
CN	-	100	> 100
CV	-	98	> 100
31	Fenila	72 $\pm$ 5,8	> 100
32	4-clorofenila	68 $\pm$ 3,5	> 100
33	4-metilfenila	68 $\pm$ 4,3	> 100
34	4-metoxifenila	72 $\pm$ 5,2	> 100
35	3,4-diclorofenila	75 $\pm$ 3,5	> 100
36	2-furanila	51 $\pm$ 1,0	100
37	2-tiofenila	60 $\pm$ 3,3	> 100

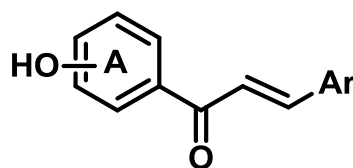
CN = Controle Negativo; CV = Controle veículo;

Salienta-se que foram avaliadas 37 chalconas das séries I e II contra os trofozoítos de *T. vaginalis*, contudo todas as substâncias foram menos potentes que o metronidazol, o qual foi empregado como antiprotozoário de referência.

3.3. Toxicidade em Células Vaginais e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas

As hidroxichalconas **8–14**, **16**, **17**, **21** e **28**, as quais foram consideradas antiprotozoárias ($CL_{50} < 100 \mu M$), tiveram sua atividade tóxica avaliada contra células epiteliais vaginais humanas, sendo esta expressa em valores de CL_{50} , concentração letal para 50% das células. Dessa forma, por meio da razão $IS = CL_{50}/CI_{50}$, foram determinados os índice de seletividade (IS) das hidroxichalconas, Tabela 12.

Tabela 12. Atividade Citotóxica e Índice de Seletividade de Hidroxichalconas **8–14**, **16**, **17**, **21** e **28** Ativas contra *T. vaginalis*



Hidroxichalcona	Posição da Hidroxila	Ar	CL_{50} (μM)	CI_{50} (μM)	IS
8		4-clorofenila	48,4	24,4	2,0
9		3,4-diclorofenila	47,2	24,7	1,9
10		4-metilfenila	> 100	30,5	> 3,3
11		4-metoxifenila	52,2	43,7	1,2
21		2-tiofenila	> 100	52,5	> 1,9
12		4-clorofenila	31,6	48,6	0,6
13		3,4-diclorofenila	25,7	75,9	0,3
14		4-metilfenila	34,8	76,5	0,4
16		4-clorofenila	38,6	46,9	0,8
17		3,4-diclorofenila	21,8	56,0	0,4
28		2-tiofenila	> 100	53,7	> 1,9
MTZ			> 100	1,14*	NC

*Concentração (em μM) capaz de inibir 90% o crescimento dos trofozoítos

NC = não calculado

As 2'-hidroxichalconas planejadas pelo Método Manual de Topliss ativas contra *T. vaginalis* (**8–11**) (Tabela 9, p. 52) foram menos tóxicas contra células epiteliais vaginais humanas, apresentando maiores valores de CL_{50} , e portanto, mais seletivas,

comparadas ao análogo não-substituído **2**, bem como às 3'-hidroxichalconas (**12–14**) e 4'-hidroxichalconas (**16 e 17**), sendo essas 3'-hidroxichalconas ainda menos seletivas que as 4'-hidroxichalconas.

Os análogos monoclorados **8, 12 e 16** e diclorados **9, 13 e 17**, apesar de terem sido ativos contra o *T. vaginalis*, não foram os compostos que apresentaram maiores valores de CL₅₀, e conseqüentemente, não sendo considerados seletivos, dentro das subséries 2', 3' e 4'-hidroxichalconas.

A 2'-hidroxichalcona metoxilada **11** foi a 2'-hidroxichalcona menos ativa contra *T. vaginalis* além de apresentar o menor valor de CL₅₀, sendo considerada a menos seletiva dentro da subsérie de 2'-hidroxichalconas.

A 2'-hidroxichalcona **10**, apesar de não ter sido a mais ativa das 2'-hidroxichalconas, comparada aos análogos monoclorado **8** e diclorado **9**, foi a que apresentou valor de CL₅₀ > 100 µM), sendo assim considerada a hidroxichalcona mais seletiva (Tabela 12, p. 56).

A 2'-hidroxichalconas **21** e a 4'-hidroxichalcona **28**, análogos tiofênicos das hidroxichalconas **2** e **4**, respectivamente, apresentaram valores de CL₅₀ > 100 µM (Tabela 12, p. 56), indicando uma relativa diminuição na toxicidade contra células epiteliais vaginais humanas, comparadas aos análogos fenílicos **2** e **4** (Tabela 8, p. 51), respectivamente.

4. PARTE EXPERIMENTAL

A confirmação estrutural das chalconas das séries I e II foi realizada por meio da análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹H) e Carbono Treze (RMN de ¹³C). Os espectros foram obtidos nas dependências do Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular (CMIB), no Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP de São José do Rio Preto, em Espectrômetro

Bruker Avance III, de 9,4 Tesla com frequência de 400 MHz para o núcleo de ^1H e 100 MHz e para o núcleo de ^{13}C .

As substâncias foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO}-d_6$).

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para o acompanhamento de reações e análise de pureza. Foram utilizadas placas de gel de sílica 60 em base de alumínio, 8,0 a 12,0 μm , 200 μm , Supelco[®]. As cromatoplasas foram reveladas sob inspeção no ultravioleta (254 e 365 nm) e anisaldeído sulfúrico (2,0 mL de anisaldeído em 20,0 mL de ácido acético, 10 mL de ácido sulfúrico e 170 mL de etanol) seguida de aquecimento intenso.

Para a síntese das chalconas das séries I e II, foram utilizados derivados acetofenônicos e benzaldeídicos (Sigma Aldrich[®]), etanol e hidróxido de sódio da marca Synth[®]. Para as purificações, os solventes utilizados foram: acetato de etila, etanol e hexano, os quais foram adquiridos da marca Synth[®]. As purificações em coluna cromatográfica de fase normal (CC-FN) foram realizadas em colunas de vidros de diâmetro de 2,5 cm e altura de 30 cm, utilizando gel de sílica (100 a 200 Mesh) (Sigma Aldrich[®]) como fase estacionária, e misturas de hexano e acetato de etila como fases móveis, em proporções indicadas pelo fator de retenção (R_f), demonstrado pelas análises CCDA. As purificações de permeação em gel (CPG) foram realizadas em coluna com diâmetro de 3,0 cm e altura de 150 cm, e a fase estacionária utilizada foi o biopolímero de dextrana hidroxipropilada - LH-20 (Sephadex[®]) e como fase móvel, etanol.

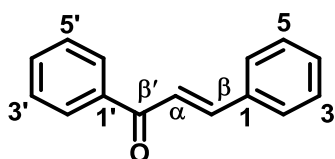
A. Série I

4.1. Procedimento para a Obtenção da Chalcona 1 e Hidroxichalconas 2 – 7

Em um balão reacional, foram adicionados 5 mmol dos respectivos derivados acetofenônicos dissolvidos em solução etanólica de hidróxido de sódio (1 mol L^{-1}). Em seguida, adicionou-se 5 mmol dos respectivos derivados benzaldeídicos solubilizados em 10 mL de etanol. O meio reacional foi mantido sob agitação constante, à

temperatura ambiente, sendo a conversão acompanhada por Cromatografia de Camada Delgada Analítica (CCDA). Constatado o consumo dos reagentes, verteu-se o meio reacional em gelo triturado, sendo a solução acidificada com solução de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até pH 2 (ZACCHINO *et al*, 2005). Formou-se um precipitado, o qual foi mantido a 7°C por 24 horas. O precipitado foi submetido à filtração simples, sendo seco à temperatura ambiente por 48 horas. Nos casos em que não houve a formação de precipitado em quantidades apreciáveis, o produto bruto foi submetido à extração líquido-líquido, empregando acetato de etila e água destilada como contra-fases. A fase orgânica foi seca em evaporador rotativo. A hidroxichalcona **2** foi purificada por cromatografia em coluna de fase normal, empregando hexano:acetato de etila (9:1) como eluente. A chalcona **1** e as hidroxichalconas **3–7** foram purificadas por recristalização, utilizando etanol ou acetato de etila.

4.1.1. Dados de caracterização da chalcona **1** e hidroxichalconas (**2–7**)



Nome da substância: (*E*)-1,3-difenil-2-propen-1-ona (**1**)

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}$

Massa molar: 208,26 g/mol

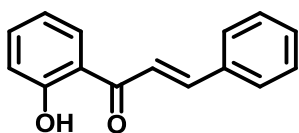
Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 78%

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,45 (m; H-3, H-4 e H-5), 7,55 (m; H-2 e H-6), 7,60 (d; 15,7; H- α), 7,65 (m; H-3', H-4' e H-5'), 7,80 (d; 15,7; H- β) e 8,05 (m; H-2' e H-6').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (posição): 122,1 (C- α), 128,5 (C-2', C-2 e C-6), 128,6 (C-3, C-5 e C-6'), 129,0 (C-3' e C-4), 130,6 (C-5'), 132,8 (C-4'), 134,9 (C-1), 138,2 (C-1'), 144,9 (C- β) e 190,6 (C- β').

Nome da substância: (*E*)-1-(2-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (2)



Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

Massa molar: 224,25 g/mol

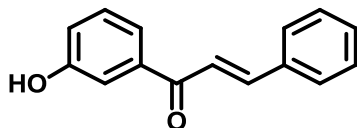
Característica: sólido amarelo

Rendimento: 63%

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 6,98 (ddd; J = 1,1; 7,2 e 8,2; H-3'), 7,06 (dd; J = 0,8 e 8,4; H-4), 7,47 (m; H-3, H-5 e H-5'), 7,53 (ddd; J = 1,6, 7,2 e 8,0; H-4'), 7,70 (m; H-2 e H-6), 7,70 (d; J = 15,3; H-α), 7,96 (dd; J = 1,6 e 8,0; H-6'), 7,96 (d; J = 15,3; H-β) e 12,8 (s; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 118,7 (C-3'), 118,9 (C-α), 120,0 (C-1'), 120,1 (C-5'), 128,7 (C-2 e C-6), 129,1 (C-3 e C-5), 129,7 (C-4), 130,9 (C-6'), 134,6 (C-1), 136,4 (C-4'), 145,5 (C-β), 163,6 (C-2') e 193,8 (C-β').

Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (3)



Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

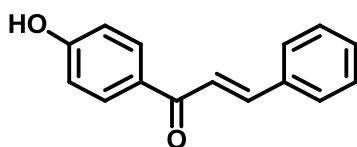
Massa molar: 224,25 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 90%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 7,07 (ddd; J = 0,9, 2,0 e 8,0; H-4'), 7,39 (dd; J = 8,0 e 0,9; H-5'), 7,47 (m; H-3, H-4, H-5 e H-6'), 7,64 (ddd; J = 0,9, 2,0 e 9,0; H-2'), 7,72 (d; J = 15,7; H-α), 7,86 (d; J = 15,7; H-β), 7,88 (dd; J = 2,9 e 6,7; H-2 e H-6) e 9,82 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,1 (C-2'), 120,1 (C-α), 120,8 (C-4'), 122,6 (C-4), 129,3 (C-3 e C-5), 129,4 (C-2 e C-6), 130,4 (C-6'), 131,1 (C-5'), 135,1 (C-1), 139,4 (C-1'), 144,3 (C-β), 158,2 (C-3') e 189,6 (C-β').



Nome da substância: (E)-1-(4-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (4)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

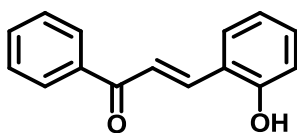
Massa molar: 224,25 g/mol

Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 85%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 6,91 (d; J = 8,0; H-3' e H-5'), 7,46 (m; H-3, H-4 e H-5), 7,68 (d; J = 15,6; H-α), 7,87 (m; H-2 e H-6), 7,92 (d; J = 15,6; H-β), 8,09 (d; J = 8,0; H-2' e H-6') e 10,44 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,8 (C-3' e C-5'), 122,5 (C-α), 129,2 (C-3 e C-5), 129,4 (C-2 e C-6), 129,5 (C-1), 130,8 (C-4), 131,7 (C-2' e C-6'), 135,3 (C-1'), 143,2 (C-β), 162,7 (C-4') e 187,6 (C-β'),



Nome da substância: (E)-3-(2-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (5)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

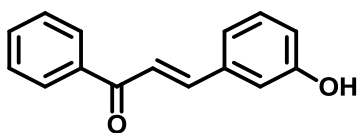
Massa molar: 224,25 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 52%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 6.89 (d; J = 7.5; H-3), 6.95 (dd; J = 0.8 e 8.2; H-4), 7.29 (m; H-5), 7.57 (dd; J = 4.64 e 10.33, H-3' e H-5'), 7.67 (m; H-6), 7.87 (dd; J = 1.6 e 7.8; H-4'), 7.86 (d; J = 15.8; H-α), 8.06 (d; J = 15.8; H-β), 8.10 (m; H-2' e H-6') e 10.29 (s; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 116.7 (C-3), 119.9 (C-5), 121.3 (C-α), 121.8 (C-1), 128.8 (C-3' e C-5'), 129.2 (C-6), 129.3 (C-2' e C-6'), 132.6 (C-4), 133.4 (C-4'), 138.4 (C-1'), 140.0 (C-β), 157.7 (C-2) e 190.0 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-3-(3-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (**6**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

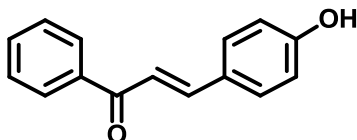
Massa molar: 224,25 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 80%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,89 (ddd; 1,0, 2,3 e 7,8; H-2), 7,29 (m; H-4, H-5 e H-6), 7,61 (m; H-3', H-4' e H-5'), 7,66 (d; *J* = 15,6, H-α), 7,84 (d; *J* = 15,6; H-β), 8,14 (m; H-2' e H-6') e 9,65 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,7 (C-4), 118,3 (C-2), 120,3 (C-6), 122,4 (C-α), 129,0 (C-2' e C-6'), 129,3 (C-3' e C-5'), 130,4 (C-5), 133,6 (C-4'), 136,4 (C-1), 138,0 (C-1'), 144,7 (C-β), 158,2 (C-3) e 189,7 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-3-(4-hidroxifenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (**7**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂O₂

Massa molar: 224,25 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 75%

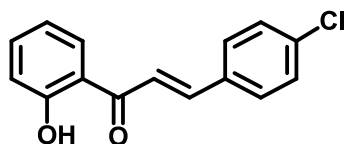
RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,85 (d; *J* = 8,7; H-3 e H-5), 7,56 (s; H-2), 7,56 (d; *J* = 15,4; H-α), 7,65 (m; H-6), 7,73 (m; H-3', H-4' e H-5'), 7,73 (d; *J* = 15,4; H-β), 8,12 (dd; *J* = 1,3 e 8,3; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 116,3 (C-3 e C-5), 118,9 (C-α), 126,2 (C-1), 128,8 (C-2 e C-6), 129,2 (C-3' e C-5'), 131,5 (C-2' e C-6'), 133,3 (C-4'), 138,4 (C-1'), 145,1 (C-β), 160,6 (C-4) e 189,1 (C-β').

4.2. Procedimento para a Obtenção de 2'-Hidroxichalconas (**8–11** e **20–22**)

Em um balão reacional, foram adicionados 5 mmol de 2'-hidroxiacetofenona dissolvidos em solução etanólica de hidróxido de sódio ($0,125 \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida, adicionou-se 5 mmol dos respectivos derivados benzaldeídicos (4-clorobenzaldeído, 4-metilbenzalaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 3,4-diclorobenzaldeído, 2-furaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído ou 2-naftaldeído) solubilizados em 10 mL de etanol. O meio reacional foi mantido sob agitação constante, à temperatura ambiente, sendo a conversão acompanhada por CCDA. Constatado o consumo total dos reagentes, verteu-se o meio reacional em gelo triturado, sendo a solução acidificada com solução de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até pH 8 e o precipitado foi mantido na geladeira a 7°C por 24 horas. Após esse período, o precipitado foi submetido à filtração simples, sendo seco à temperatura ambiente por 48 horas. Com exceção da hidroxichalcona **22**, purificada por recristalização utilizando etanol e hexano como solventes, as 2'-hidroxichalconas **8–11**, **20** e **21**, foram purificadas por cromatografia em coluna de fase normal, empregando eluição com hexano e acetato de etila (49:1) como fase móvel.

4.2.1. Dados de caracterização das 2'-hidroxichalconas (**8–11** e **20–22**)



Nome da substância: (E)-3-(4-clorofenil)-1-(2-hidroxifenil)-propen-1-ona (**8**)

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClO}_2$

Massa molar: 258,70 g/mol

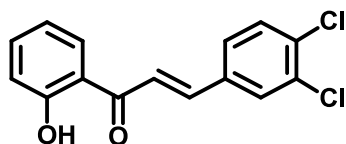
Característica: sólido amarelo

Rendimento: 49%

RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (multiplicidade; J em Hz): 7,02 (m; H-3' e H-5'), 7,58 (m; H-4', H-3 e H-5), 7,83 (d; $J = 15,6$; H- α), 7,96 (d; $J = 8,5$; H-2 e H-6), 8,06 (d; $J = 15,6$; H- β), 8,25 (dd; $J = 1,6$ e $8,3$; H-2 e H-6) e 12,45 (sl; OH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (posição): 118,2 (C-3'), 119,7 (C- α), 121,2 (C-1'), 123,0 (C-5'), 129,5 (C-3 e C-5), 131,3 (C-2 e C-6), 131,4 (C-6'), 133,9 (C-1), 135,9 (C-

4), 136,9 (C-4'), 143,7 (C- β), 162,3 (C-2') e 194 (C- β').



Nome da substância: (E)-3-(3,4-diclorofenil)-1-(2-hidroxifenil)-propen-1-ona (**9**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₀Cl₂O₂

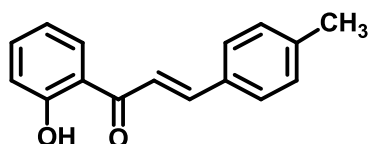
Massa molar: 293,14 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 55%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,03 (m; H-3' e H-2), 7,59 (m; H-5), 7,73 (d; *J* = 8,35; H-5'), 7,79 (d; *J* = 15,6; H- α), 7,89 (dd; *J* = 2,0 e 8,4; H-6'), 8,13 (d; *J* = 15,6; H- β), 8,28 (m; H-4' e H-6) e 12,42 (sl; OH)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 118,2 (C-3'), 119,7 (C- α), 121,1 (C-1'), 124,3 (C-5'), 129,8 (C-6), 130,8 (C-2), 131,3 (C-6' e C-5), 132,4 (C-4), 133,5 (C-3), 135,8 (C-1), 137,0 (C-4'), 142,3 (C- β), 162,4 (C-2') e 193,9 (C- β').



Nome da substância: (E)-1-(2-hidroxifenil)-3-(4-metilfenil)-propen-1-ona (**10**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₂

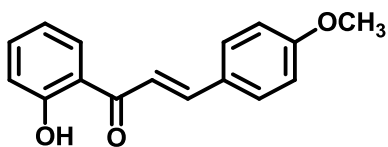
Massa molar: 238,28 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 38%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 2,37 (s; CH₃), 7,02 (dd; *J* = 4,4 e 12,0; H-3' e H-5'), 7,30 (d; *J* = 8,0; H-3 e H-5), 7,58 (m; H-4'), 7,83 (d; *J* = 15,5; H- α), 7,83 (s; H-2 e H-6), 8,01 (d; *J* = 15,5; H- β), 8,27 (d; *J* = 7,9; H-6'), 12,61 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 21,6 (CH₃), 118,2 (C-3'), 119,6 (C- α), 121,0 (C-1'), 121,3 (C-5'), 129,7 (C-2 e C-6), 130,1 (C-3 e C-5), 131,3 (C-6'), 132,2 (C-1), 136,8 (C-4'), 141,7 (C-4), 145,5 (C- β), 162,4 (C-2') e 194,1 (C- β').



Nome da substância: (*E*)-1-(2-hidroxifenil)-3-(4-metóxfenil)-propen-1-ona (**11**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₃

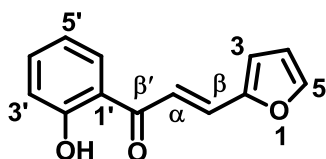
Massa molar: 254,28 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 17%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 3,84 (s; OCH₃), 7,02 (m; H-3', H-5', H-3 e H-5), 7,57 (m; H-4'), 7,85 (d; *J* = 15,5; H-α), 7,91 (d; *J* = 8,6; H-2 e H-6), 7,93 (d; *J* = 15,5; H-β), 8,28 (d; *J* = 8,0; H-6') e 12,75 (s; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 55,9 (OCH₃), 114,9 (C-3 e C-5), 118,2 (C-3'), 119,3 (C-α), 119,6 (C-1'), 121,0 (C-5'), 127,5 (C-1), 131,2 (C-6'), 131,8 (C-2 e C-6), 136,7 (C-4'), 145,6 (C-β), 162,2 (C-4), 162,5 (C-2') e 194,1 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(2-hidroxifenil)-propen-1-ona (**20**)

Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₃

Massa molar: 214,22 g/mol

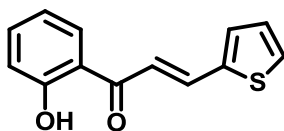
Característica: sólido amarelo

Rendimento: 70%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,72 (dd; *J* = 1,7 e 3,4; H-4), 6,99 (d; *J* = 15,5; H-α), 6,99 (m; H-3'), 7,17 (d; *J* = 3,4; H-3), 7,55 (d; *J* = 15,5; H-β), 7,66 (s; H-3' e H-4'), 7,96 (s; H-6'), 8,05 (dd; *J* = 1,2 e 7,9; H-5) e 12,35 (sl; OH)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 113,8 (C-4), 118,2 (C-3), 118,4 (C-3'), 119,2 (C-β), 119,8 (C-1'), 121,5 (C-5'), 130,9 (C-α), 131,3 (C-6'), 136,5 (C-4'), 147,2 (C-5), 151,5 (C-2), 161,8 (C-2'), 193,0 (C-β').

Nome da substância: (*E*)-1-(2-hidroxifenil)-3-(tiofen-2-il)-propen-1-ona (**21**)



Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₂S

Massa molar: 230,28 g/mol

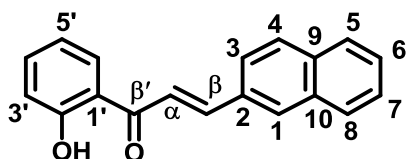
Característica: sólido amarelo

Rendimento: 50%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,00 (ddd; *J* = 1,2, 3,5 e 5,65; H-3' e H-5'), 7,22 (dd; *J* = 3,7 e 5,0; H-4), 7,56 (m; H-4'), 7,68 (d; *J* = 15,2; H-α), 7,74 (d; *J* = 3,5; H-3), 7,84 (d; *J* = 5,0; H-5), 8,01 (d; *J* = 15,2; H-β), 8,12 (dd; *J* = 1,6 e 8,2; H-6') e 12,40 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 118,2 (C-3'), 119,7 (C-1'), 120,7 (C-5'), 121,4 (C-α), 129,4 (C-4), 131,1 (C-3), 131,7 (C-6'), 134,0 (C-5), 136,6 (C-β), 137,8 (C-4'), 140,0 (C-2), 161,9 (C-2'), 193,2 (C-β').

Nome da substância: (*E*)-1-(2-hidroxifenil)-3-(naftalen-2-il)-2-propen-1-ona (**22**)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₂

Massa molar: 274,31 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 52%

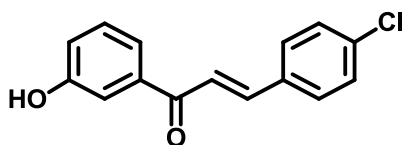
RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,05 (m; H-3' e H-5'), 7,60 (m; H-3, H-4 e H-4'), 7,99 (m; H-5, H-6 e H-7), 8,02 (d; *J* = 15,5; H-α), 8,15 (m; H-8), 8,18 (d; *J* = 15,5; H-β), 8,32 (dd; *J* = 1,3 e 8,0; H-6'), 8,39 (s; H-1) e 12,6 (s; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 118,2 (C-3'), 119,7 (C-5'), 121,2 (C-3), 122,5 (C-α), 124,9 (C-1'), 127,4 (C-6), 128,2 (C-7 e C-1), 129,0 (C-5), 129,1 (C-8), 131,4 (C-4), 131,8 (C-6'), 132,6 (C-10), 133,4 (C-9), 136,4 (C-2 e C-4'), 145,4 (C-β), 163,4 (C-2') e 194,1 (C-β').

4.3. Procedimento para a Obtenção de 3'-Hidroxichalconas (**12–15** e **23–26**)

Em um balão reacional, foram adicionados 3 mmol de 3'-hidroxiacetofenona dissolvidos em solução etanólica de hidróxido de sódio ($0,25 \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida, adicionou-se 3 mmol dos respectivos derivados benzaldeídicos (4-clorobenzaldeído, 4-metilbenzaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 3,4-diclorobenzaldeído, 2-furaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, 1-naftaldeído ou 2-naftaldeído) solubilizados em 10 mL de etanol. O meio reacional foi mantido sob agitação constante, à temperatura ambiente, sendo a conversão dos reagentes acompanhada por CCDA. Constatado o consumo total dos reagentes, verteu-se o meio reacional em gelo triturado, sendo a solução acidificada com solução de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até pH 2 e o precipitado foi mantido na geladeira a 7°C por 24 horas. Após esse período, o precipitado foi submetido à filtração simples, sendo seco à temperatura ambiente por 48 horas. As 3'-hidroxichalconas foram purificadas por recristalização utilizando etanol e hexano como solventes.

4.3.1. Dados de caracterização das 3'-hidroxichalconas (**12–15** e **23–26**)



Nome da substância: (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-(3-hidroxifenil)-propen-1-ona (**12**)

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClO}_2$

Massa molar: 258,70 g/mol

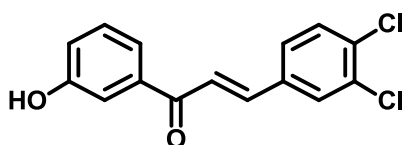
Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 75%

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,08 (ddd; *J* = 0,9; 2,0 e 8,0; H-4'), 7,39 (m; H-2'), 7,49 (m; H-3, H-5 e H-6'), 7,63 (dd; *J* = 1,2 e 7,9; H-5'), 7,70 (d; *J* = 15,7; H- α), 7,87 (d; *J* = 15,7; H- β), 7,91 (d; *J* = 8,6; H-2 e H-6) e 9,86 (sl; OH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (posição): 115,1 (C-2'), 120,1 (C- α), 120,9 (C-4'), 123,3 (C-1'), 129,4 (C-3 e C-5), 130,4 (C-6'), 131,0 (C-2 e C-6), 134,0 (C-1), 135,6 (C-

4), 139,3 (C-5'), 142,8 (C- β), 158,2 (C-3') e 189,5 (C- β').



Nome da substância: (E)-3-(3,4-diclorofenil)-1-(3-hidroxifenil)-propen-1-ona (**13**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₀Cl₂O₂

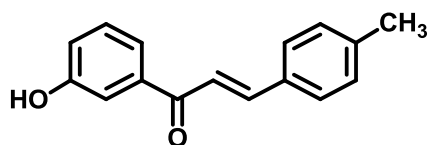
Massa molar: 293,14 g/mol

Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 55%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,08 (dd; *J* = 0,8 e 8,0; H-4'), 7,38 (m; H-2), 7,49 (m; H-5), 7,68 (d; *J* = 15,7; H- α), 7,68 (m; H-2'), 7,72 (d; *J* = 8,4; H-6'), 7,88 (dd; *J* = 2,0 e 8,4; H-6), 7,99 (d; *J* = 15,7; H- β), 8,28 (d; *J* = 2,0; H-5') e 9,86 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,1 (C-2'), 120,3 (C- α), 121,0 (C-4'), 124,6 (C-1'), 129,6 (C-6), 130,4 (C-2'), 130,6 (C-5), 131,4 (C-6'), 132,3 (C-4), 133,2 (C-3), 136,0 (C-1), 139,1 (C-5'), 141,5 (C- β), 158,2 (C-3') e 189,4 (C- β').



Nome da substância: (E)-3-(4-metilfenil)-1-(3-hidroxifenil)-propen-1-ona (**14**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₂

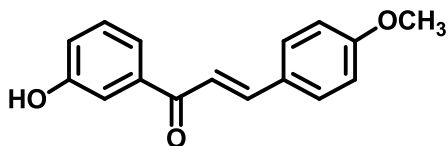
Massa molar: 238,28 g/mol

Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 43%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 2,35 (s; CH₃), 7,06 (dd; *J* = 2,0 e 8,0; H-4'), 7,28 (d; *J* = 8,0; H-3 e H-5), 7,38 (m; H-2'), 7,44 (m; H-6'), 7,61 (d; *J* = 7,7; H-5'), 7,68 (d; *J* = 15,6; H- α), 7,76 (d; *J* = 8,0; H-2 e H-6), 7,78 (d; *J* = 15,6; H- β) e 9,91 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 21,5 (CH₃), 115,0 (C-2'), 120,0 (C- α), 120,7 (C-4'), 121,6 (C-1'), 129,3 (C-2 e C-6), 130,0 (C-3 e C-5), 130,7 (C-6'), 132,3 (C-1), 139,5 (C-5'), 141,2 (C-4), 144,5 (C- β), 158,1 (C-3') e 189,0 (C- β').



Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-(4-metóxfenil)-propen-1-ona (**15**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₃

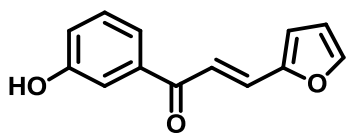
Massa molar: 254,28 g/mol

Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 78%

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 3,89 (s; OCH₃), 6,96 (d; J = 8,7; H-3 e H-5), 7,11 (dd; J = 2,2 e 8,0; H-4'), 7,40 (m; H-2'), 7,41 (d; J = 15,6; H-α), 7,58 (m; H-5' e H-6'), 7,63 (d; J = 8,7; H-2 e H-6) e 7,82 (d; J = 15,6; H-β).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 55,8 (OCH₃), 114,9 (C-3 e C-5), 115,2 (C-2'), 119,9 (C-α), 120,0 (C-4'), 120,6 (C-1'), 127,7 (C-1), 130,3 (C-6'), 129,3 (C-2 e C-6), 131,2 (C-2 e C-6), 139,7 (C-5'), 144,4 (C-β), 158,1 (C-4), 161,8 (C-3') e 189,5 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-(furan-2-il)-propen-1-ona (**23**)

Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₃

Massa molar: 214,22 g/mol

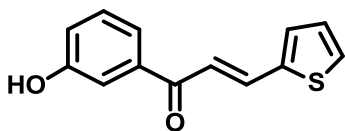
Característica: sólido amarelo escuro

Rendimento: 98%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 6,70 (dd; J = 1,8 e 3,4; H-4), 7,05 (ddd; J = 1,0, 2,5 e 8,0; H-4'), 7,11 (d; J = 3,5; H-3), 7,36 (d; J = 7,8; H-2'), 7,39 (m; H-6'), 7,45 (d; J = 15,4; H-α), 7,51 (ddd; J = 1,0, 1,6 e 7,7; H-5'), 7,55 (d; J = 15,4; H-β), 7,92 (d; J = 1,4; H-5) e 9,83 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 113,6 (C-4), 114,8 (C-3), 117,6 (C-2'), 119,2 (C-β), 119,7 (C-4'), 120,7 (C-1'), 130,5 (C-α), 130,8 (C-6'), 139,4 (C-5'), 146,7 (C-5), 151,5 (C-2), 158,2 (C-3') e 189,0 (C-β').

Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-(tiofen-2-il)-propen-1-ona (**24**)



Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₂S

Massa molar: 230,28 g/mol

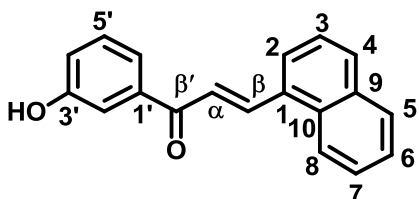
Característica: sólido amarelo

Rendimento: 74%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,05 (ddd; *J* = 0,8, 2,5 e 8,0; H-4'), 7,19 (dd; *J* = 3,6 e 5,0; H-4), 7,37 (m; H-2'), 7,40 (m; H-6'), 7,47 (d; *J* = 15,3; H-α), 7,54 (m; H-5'), 7,68 (d; *J* = 3,5; H-3), 7,78 (d; *J* = 5,0; H-5), 7,89 (d; *J* = 15,3; H-β) e 9,89 (s; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 114,9 (C-2'), 119,8 (C-4'), 120,7 (C-1'), 120,8 (C-α), 129,2 (C-4), 130,4, 130,9 (C-5), 133,4 (C-6'), 137,1 (C-β), 139,3 (C-5'), 140,1 (C-2), 158,2 (C-3') e 189,0 (C-β').

Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-(naftalen-1-il)-2-propen-1-ona (**25**)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₂

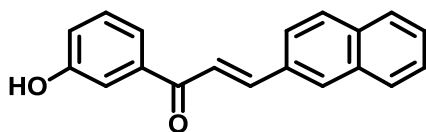
Massa molar: 274,31 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 60%

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 7,10 (ddd; *J* = 1,0, 2,5 e 8,0; H-4'), 7,41 (m; H-2'), 7,52 (dd; *J* = 1,8 e 2,3; H-6'), 7,65 (m; H-7, H-6, H-3 e H-5'), 7,92 (d; *J* = 15,4; H-α), 8,04 (dd; *J* = 8,0 e 18,5; H-8 e H-4), 8,26 (dd; *J* = 7,7 e 19,7; H-5 e H-2), 8,55 (d; *J* = 15,4; H-β) e 9,88 (sl; OH)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,1 (C-2'), 120,2 (C-α), 120,9 (C-4'), 123,4 (C-2), 125,1 (C-1'), 126,2 (C-8 e C-6), 126,8 (C-7), 127,8 (C-3), 129,3 (C-4), 130,4 (C-5), 131,3 (C-6'), 131,6 (C-10), 131,7 (C-9), 133,8 (C-1), 139,4 (C-β), 140,2 (C-5'), 158,2 (C-3') e 189,5 (C-β').



Nome da substância: (E)-1-(3-hidroxifenil)-3-(naftalen-2-il)-2-propen-1-ona (**26**)

Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₂

Massa molar: 274,31 g/mol

Característica: sólido amarelo claro

Rendimento: 87%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 7,09 (ddd; J = 0,9, 2,5 e 8,0; H-4'), 7,41 (m; H-2'), 7,52 (m; H-6'), 7,58 (m; H-6 e H-7), 7,69 (ddd; J = 1,0, 1,5 e 7,7; H-3), 7,89 (d; J = 15,6; H-α), 7,97 (m; H-4, H-1 e H-5'), 7,99 (d; J = 15,6; H-β), 8,11 (dd; J = 1,7 e 8,7; H-5), 8,34 (s; H-8), e 9,88 (sl; OH).

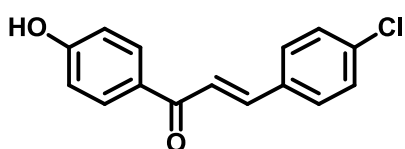
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,1 (C-2'), 120,1 (C-α), 120,8 (C-4'), 122,9 (C-1'), 124,9 (C-3), 127,3 (C-6), 127,9 (C-7), 128,2 (C-5), 129,0 (C-1 e C-8), 130,4 (C-4), 131,1 (C-6'), 132,8 (C-9), 133,4 (C-2), 134,4 (C-10), 139,5 (C-5'), 144,3 (C-β), 158,2 (C-3') e 189,5 (C-β').

4.4. Procedimento para a Obtenção de 4'-Hidroxichalconas (**16–19** e **27–30**)

Em um balão reacional, foram adicionados 3 mmol de 4'-hidroxiacetofenona dissolvidos em solução etanólica de hidróxido de sódio (0,3 mol L⁻¹). Em seguida, adicionou-se 3 mmol dos respectivos derivados benzaldeídicos (4-clorobenzaldeído, 4-metilbenzaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 3,4-diclorobenzaldeído, 2-furaldeído, 2-tiofenocarboxaldeído, 1-naftaldeído ou 2-naftaldeído) solubilizados em 10 mL de etanol. O meio reacional foi mantido sob agitação constante, à temperatura ambiente, sendo a conversão dos reagentes acompanhada por CCDA. Constatado o consumo dos reagentes, verteu-se o conteúdo dos balões em gelo triturado, sendo a solução acidificada com solução de ácido clorídrico (0,1 mol L⁻¹) até pH 2, formando um precipitado, o qual foi mantido a 7 °C por 24 horas. Após esse período, o precipitado foi submetido à filtração simples. O pó foi seco à temperatura ambiente por 48 horas. As 4'-hidroxichalconas **16**, **18** e **19** foram purificadas por cromatografia de permeação em

gel utilizando etanol como eluente. As 4'-hidroxichalconas **17** e **27–30** foram recristalizadas em etanol e hexano.

4.4.1. Dados de caracterização das 4'-hidroxichalconas (**16–19** e **27–30**)



Nome da substância: (*E*)-3-(4-clorofenil)-1-(4-hidroxifenil)-propen-1-ona (**16**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂ClO₂

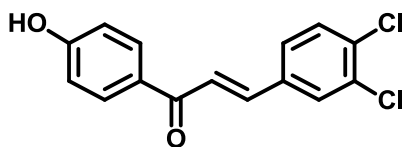
Massa molar: 258,70 g/mol

Característica: sólido amarelo claro

Rendimento: 67%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,90 (d; *J* = 8,7; H-3' e H-5'), 7,51 (d; *J* = 8,5; H-3 e H-5), 7,66 (d; *J* = 15,6; H-α), 7,90 (d; *J* = 8,5; H-2 e H-6), 7,93 (d; *J* = 15,6; H-β) e 8,07 (d; *J* = 8,7; H-2' e H-3')

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,9 (C-3' e C-5'), 123,3 (C-α), 129,4 (C-2, C-3 e C-5), 130,9 (C-6 e C-1'), 131,7 (C-2' e C-6'), 134,3 (C-1'), 135,2 (C-4), 141,7 (C-β), 162,8 (C-4') e 187,5 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-3-(3,4-diclorofenil)-1-(4-hidroxifenil)-propen-1-ona (**17**)

Fórmula molecular: C₁₅H₁₀Cl₂O₂

Massa molar: 293,14 g/mol

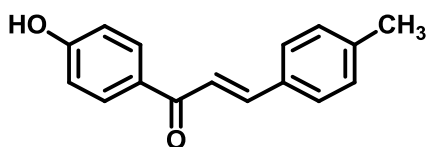
Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 57%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,90 (d; *J* = 8,8; H-3' e H-5'), 7,63 (d; *J* = 15,5; H-α), 7,70 (d; *J* = 8,4; H-2), 7,85 (dd; *J* = 1,8 e 8,4; H-5), 8,02 (d; *J* = 15,6; H-β), 8,10 (d; *J* = 8,8; H-2' e H-6') e 8,25 (d; *J* = 1,8; H-6).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,9 (C-3' e C-5'), 124,7 (C-α), 129,3 (C-6), 129,4 (C-2), 130,5 (C-5), 131,4 (C-1'), 131,9 (C-2' e C-6'), 132,3 (C-4), 132,9 (C-3),

136,3 (C-1), 140,4 (C-β), 162,9 (C-4') e 187,4 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-3-(4-metilfenil)-1-(4-hidroxifenil)-propen-1-ona (**18**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₂

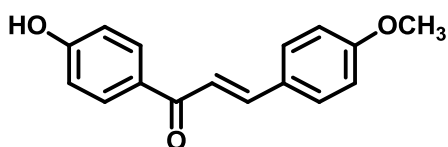
Massa molar: 238,28 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 54%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 2,35 (CH₃), 6,88 (d; *J* = 8,8; H-3' e H-5'), 7,27 (d; *J* = 8,0; H-3 e H-5), 7,65 (d; *J* = 15,6; H-α), 7,75 (d; *J* = 8,2; H-2 e H-6), 7,85 (d; *J* = 15,6; H-β) e 8,05 (d; *J* = 8,8; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 21,5 (CH₃), 116,0 (C-3' e C-5'), 121,5 (C-α), 129,1 (C-2, C-3 e C-6), 130,0 (C-5 e C-1'), 131,6 (C-2' e C-6'), 132,6 (C-1), 140,7 (C-4), 143,0 (C-β), 163,5 (C-4') e 187,5 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-1-(3-hidroxifenil)-3-(4-metóxfenil)-propen-1-ona (**19**)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₄O₃

Massa molar: 254,28 g/mol

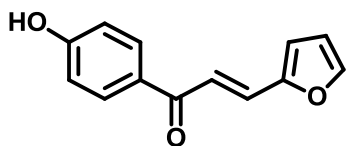
Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 23%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 3,89 (OCH₃), 6,89 (d; *J* = 8,7; H-3 e H-5), 7,01 (d; *J* = 8,8; H-3' e H-5'), 7,65 (d; *J* = 15,5; H-α), 7,77 (d; *J* = 15,5; H-β), 7,82 (d; *J* = 8,8; H-2 e H-6) e 8,05 (d; *J* = 8,7; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 55,8 (OCH₃), 114,8 (C-3 e C-5), 115,8 (C-3' e C-5'), 120,0 (C-α), 128,0 (C-1), 129,8 (C-1'), 131,0 (C-2 e C-6), 131,5 (C-2' e C-6'), 143,2 (C-β), 161,6 (C-4), 162,5 (C-4') e 187,5 (C-β').

Nome da substância: (E)-1-(4-hidroxifenil)-3-(furan-2-il)-propen-1-ona (27)



Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₃

Massa molar: 214,22 g/mol

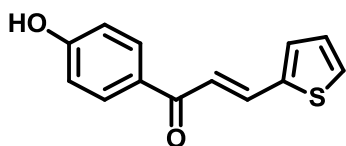
Característica: sólido amarelo escuro

Rendimento: 94%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 6,67 (dd; J = 1,3 e 3,4; H-4), 6,82 (d; J = 8,7; H-3' e H-5'), 7,04 (J = 3,4; H-3), 7,47 (d; J = 15,4; H-α), 7,54 (d; J = 15,4; H-β), 7,88 (d; J = 0,7; H-5) e 7,94 (d; J = 8,7; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 133,4 (C-4), 116,34 (C-3' e C-5'), 116,5 (C-3), 119,4 (C-β), 128,7 (C-α), 129,5 (C-1'), 131,5 (C-2' e C-6'), 146,2 (C-5), 151,8 (C-1), 164,0 (C-4') e 186,7 (C-β').

Nome da substância: (E)-1-(4-hidroxifenil)-3-(tiofen-2-il)-propen-1-ona (28)



Fórmula molecular: C₁₃H₁₀O₂S

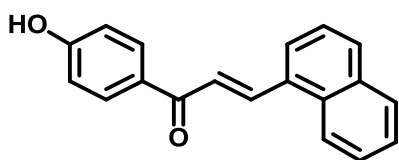
Massa molar: 230,28 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 50%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; J em Hz): 6,90 (d; J = 8,8; H-3' e H-5'), 7,19 (dd; J = 3,5 e 5,0; H-4), 7,54 (d; J = 15,3; H-α), 7,65 (d; J = 3,5; H-3), 7,76 (d; J = 5,0; H-5), 7,85 (d; J = 15,3; H-β), 8,01 (d; J = 8,7; H-2' e H-6') e 10,44 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,9 (C-3' e C-5'), 120,8 (C-α), 129,1 (C-4), 129,4 (C-3), 130,4 (C-5), 131,5 (C-2' e C-6'), 132,8 (C-1'), 136,0 (C-β), 140,4 (C-1), 162,6 (C-4') e 187,1 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-1-(4-hidroxifenil)-3-(naftalen-1-il)-2-propen-1-ona (**29**)

Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₂

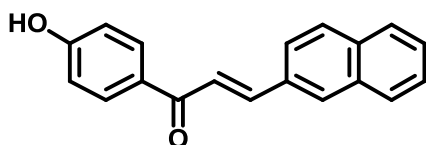
Massa molar: 274,31 g/mol

Característica: sólido amarelo

Rendimento: 35%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,84 (d; *J* = 8,3; H-3' e H-5'), 6,92 (d; *J* = 8,4; H-3), 7,63 (m; H-7, H-6), 7,83 (d; *J* = 8,3; H-2' e H-6'), 7,98 (d; *J* = 15,1; H-α), 8,05 (d; *J* = 8,2; H-8), 8,12 (d; *J* = 8,6; H-4), 8,25 (dd; *J* = 7,7 e 16,7; H-5 e H-2), 8,51 (d; *J* = 15,1; H-β) e 10,41 (sl; OH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,9 (C-3' e C-5'), 122,8 (C-α), 124,9 (C-2), 127,2 (C-8), 127,8 (C-6), 128,2 (C-7), 129,0 (C-3), 129,6 (C-4), 130,8 (C-5), 131,2 (C-1'), 131,7 (C-2' e C-6'), 133,0 (C-10), 133,5 (C-1), 134,3 (C-9), 143,2 (C-β), 162,7 (C-4') e 187,5 (C-β').



Nome da substância: (*E*)-1-(4-hidroxifenil)-3-(naftalen-2-il)-2-propen-1-ona (**30**)

Fórmula molecular: C₁₉H₁₄O₂

Massa molar: 274,31 g/mol

Característica: sólido amarelo pálido

Rendimento: 85%

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 6,92 (d; *J* = 8,7; H-3' e H-5'), 7,58 (dd; *J* = 3,2 e 6,3; H-6 e H-7), 7,84 (d; *J* = 15,6; H-α), 7,97 (m; H-3, H-4 e H-1), 8,05 (d; *J* = 15,6; H-β), 8,12 (m; *J* = 8,8; H-2', H-6' e H-5), 8,32 (s; H-8) e 10,45 (sl; OH).

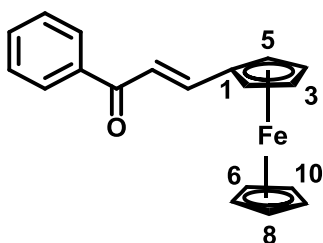
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (posição): 115,9 (C-3' e C-5'), 122,8 (C-α), 124,9 (C-3), 127,3 (C-6), 127,8 (C-7), 128,2 (C-5), 128,9 (C-1), 129,0 (C-8), 129,6 (C-4), 130,8 (C-1'), 131,7 (C-2' e C-6'), 133,0 (C-9), 133,5 (C-2), 134,3 (C-10), 143,3 (C-β), 162,7 (C-4') e 187,6 (C-β').

B. Série II

4.5. Procedimento para a Obtenção de Ferrocenilchalconas (**31–37**)

Em um balão reacional, adicionou-se 1 mmol dos respectivos derivados acetofenônicos (acetofenona, 4-cloroacetofenona, 4-metilacetofenona, 4-metóxiacetofenona, 3,4-dicloroacetofenona), 2-acetilfurano ou 2-acetiltiofeno solubilizados em uma solução etanólica de hidróxido de sódio ($0,35 \text{ mol L}^{-1}$). Em seguida, adicionou-se 1 mmol de ferrocenocarboxaldeído solubilizado em 10 mL de etanol, gota a gota. O meio reacional mantido sob atmosfera inerte com gás nitrogênio, por 30 minutos, mantido sob agitação constante, à temperatura ambiente. Constatado o consumo total dos reagentes, verteu-se o meio reacional em gelo triturado, sendo a solução acidificada com solução de ácido clorídrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) até pH 7, formando um precipitado, o qual foi mantido a 7°C por 24 horas (Wu *et al*, 2002). O precipitado foi submetido à filtração simples, sendo seco à temperatura ambiente por 48 horas. As ferrocenilchalconas **31–37** apresentaram pureza apreciável segundo análises por CCDA, não necessitando de técnicas de recristalização e cromatográficas adicionais.

4.5.1. Dados de caracterização das ferrocenilchalconas (**31–37**)



Nome da substância: (*E*)-3-Ferrocenil-1-fenil-2-propen-1-ona

Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{FeO}$

Massa molar: 316,17 g/mol

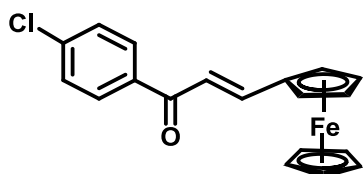
Característica: sólido vermelho

Rendimento: 82%

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (multiplicidade; *J* em Hz): 4,20 (s; H-6 – H-10), 4,50 (s; H-3 e H-4), 4,62 (s; H-2 e H-5), 7,15 (d; *J* = 15,2; H- α), 7,52 (m; H-3', H-4' e H-5'), 7,70 (d; *J* = 15,2; H- β) e 7,99 (H-2' e H-6').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (posição): 69,0 (C-3 e C-4), 69,9 (C-6 – C-10), 71,4 (C-2 e C-5), 79,2 (C-1), 119,4 (C- α), 128,4 (C-2' e C-6'), 128,5 (C-3' e C-5'), 132,4 (C-4'),

138,6 (C-1'), 146,9 (C- β) e 189,9 (C- β').



Nome da substância: (E)-1-(4-clorofenil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona

Fórmula molecular: C₁₉H₁₅ClFeO

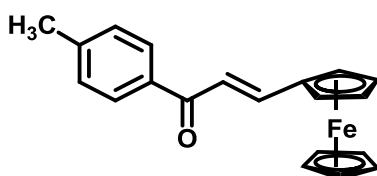
Massa molar: 350,62 g/mol

Característica: sólido vermelho

Rendimento: 97%

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 4,19 (s; H-6 – H-10), 4,53 (s; H-3 e H-4), 4,62 (s; H-2 e H-5), 7,09 (d; J = 15,6; H- α), 7,48 (d; J = 7,7; H-3'e H-5'), 7,78 (d; J = 15,6; H- β) e 7,94 (d; J = 7,4; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 69,1 (C-3 e C-4), 69,9 (C-6 – C-10), 71,6 (C-2 e C-5), 79,0 (C-1), 118,4 (C- α), 128,8 (C-3' e C-5'), 129,7 (C-2' e C-6'), 136,9 (C-1'), 138,7 (C-4'), 147,6 (C- β) e 188,5 (C- β').



Nome da substância: (E)-1-(4-metilfenil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona

Fórmula molecular: C₂₀H₁₈FeO

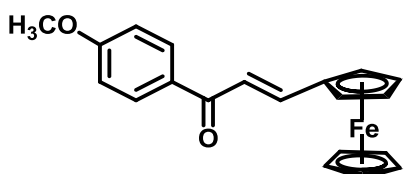
Massa molar: 330,20 g/mol

Característica: sólido vermelho

Rendimento: 77%

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 2,45 (CH₃), 4,19 (s; H-6 – H-10), 4,49 (s; H-3 e H-4), 4,61 (s; H-2 e H-5), 7,14 (d; J = 15,8; H- α), 7,31 (d; J = 8,1; H-3'e H-5'), 7,75 (d; J = 15,8; H- β) e 7,91 (d; J = 7,0; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 21,7 (CH₃), 69,0 (C-3 e C-4), 69,8 (C-6 – C-10), 71,3 (C-2 e C-5), 79,3 (C-1), 118,4 (C- α), 128,8 (C-3' e C-5'), 129,7 (C-2' e C-6'), 136,9 (C-1'), 138,7 (C-4'), 147,6 (C- β) e 188,5 (C- β').



Nome da substância: (*E*)-1-(4-metóxfenil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona

Fórmula molecular: C₂₀H₁₈FeO₂

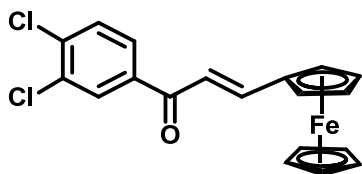
Massa molar: 346,20 g/mol

Característica: sólido vermelho

Rendimento: 73%

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 3,90 (OCH₃), 4,19 (s; H-6 – H-10), 4,48 (s; H-3 e H-4), 4,61 (s; H-2 e H-5), 6,99 (m; H-3'e H-5'), 7,16 (d; J = 15,7; H-α), 7,75 (d; J = 15,7; H-β) e 8,01 (m; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 55,5 (OCH₃), 68,9 (C-3 e C-4), 69,8 (C-6 – C-10), 71,2 (C-2 e C-5), 79,4 (C-1), 113,7 (C-3' e C-5'), 118,9 (C- α), 130,6 (C-2' e C-6'), 131,4 (C-1'), 145,8 (C-β), 163,0 (C-4') e 188,5 (C- β').



Nome da substância: (*E*)-1-(3,4-diclorofenil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona

Fórmula molecular: C₁₉H₁₅Cl₂FeO

Massa molar: 385,06 g/mol

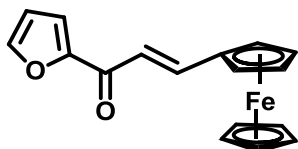
Característica: sólido vermelho escuro

Rendimento: 85%

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 4,19 (s; H-6 – H-10), 4,48 (s; H-3 e H-4), 4,61 (s; H-2 e H-5), 6,99 (m; H-3'e H-5'), 7,16 (d; J = 15,2; H-α), 7,75 (d; J = 15,2; H-β) e 8,01 (m; H-2' e H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 69,3 (C-3 e C-4), 70,0 (C-6 – C-10), 71,9 (C-2 e C-5), 78,8 (C-1), 117,8 (C- α), 127,4 (C-6'), 130,3 (C-5'), 130,6 (C-2'), 133,1 (C-3'), 136,8 (C-1'), 138,3 (C-4'), 148,5 (C-β) e 188,5 (C- β').

Nome da substância: (E)-1-(2-furanil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona



Fórmula molecular: C₁₇H₁₄FeO₂

Massa molar: 306,14 g/mol

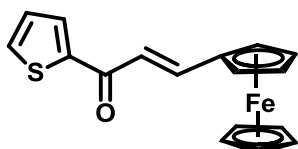
Característica: sólido vermelho arroxeado

Rendimento: 80%

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 4,21 (s; H-6 – H-10), 4,52 (s; H-3 e H-4), 4,63 (s; H-2 e H-5), 6,60 (s; H-3'), 7,07 (d; J = 15,3; H-α), 7,31 (s; H-4'), 7,67 (s; H-2') e 7,85 (d; J = 15,3; H-β).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 69,1 (C-3 e C-4), 69,9 (C-6 – C-10), 71,5 (C-2 e C-5), 79,0 (C-1), 112,5 (C-4'), 116,9 (C-3'), 118,2 (C- α), 146,1 (C-5' e C-β), 153,9 (C-2') e 181,5 (C- β').

Nome da substância: (E)-1-(2-tiofenil)-3-ferrocenil-2-propen-1-ona



Fórmula molecular: C₁₇H₁₄FeOS

Massa molar: 322,20 g/mol

Característica: sólido vermelho arroxeado

Rendimento: 81%

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidade; J em Hz): 4,22 (s; H-6 – H-10), 4,52 (s; H-3 e H-4), 4,63 (s; H-2 e H-5), 7,05 (d; J = 15,2; H-α), 7,20 (s; H-3'), 7,68 (d; J = 4,3; H-4'), 7,82 (d; J = 15,3; H-β) e 7,84 (s; H-2').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (posição): 69,1 (C-3 e C-4), 69,9 (C-6 – C-10), 71,5 (C-2 e C-5), 79,0 (C-1), 118,6 (C- α), 128,2 (C-4'), 131,2 (C-3'), 133,3 (C-5'), 145,9 (C-2'), 146,1 (C-β) e 177,6 (C- β').

4.6. Ensaios Biológicos

Os ensaios biológicos foram, integralmente, desenvolvidos na Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pela mestranda Márcia Rodrigues Trein, sob a supervisão da Profa. Dra. Tiana Tasca.

4.6.1. Cultivo *In vitro* de *Trichomonas vaginalis* (ATCC 30236)

Foram utilizadas cepas autenticadas de *Trichomonas vaginalis* (ATCC 30236), as quais são sensíveis ao metronidazol. Essas cepas encontram-se depositadas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Os parasitos foram mantidos e preservados em temperaturas baixas compreendidas entre – 80 e – 196 °C, sendo descongelados apenas no momento dos experimentos, e sendo cultivados por no máximo uma semana. Para o cultivo *in vitro* dos parasitos, utilizou-se o meio de *trypticase*-extrato de levedo-maltose (TYM), pH 6,0 suplementado com 10% de soro bovino adulto (SBA) estéril e inativado a 37 °C, de acordo com metodologia de DIAMOND (1957).

4.6.2. Ensaio de Atividade contra *Trichomonas vaginalis*

Os parasitos (10^5 trofozoítos mL^{-1}) foram incubados em microplacas de 96 poços na presença das substâncias na concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$; 37 °C / atmosfera umidificada com 5% de dióxido de carbono por 24 horas. Utilizou-se o dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente até alcançar teor de 0,6% da solução-estoque.

Dessa forma, a avaliação da viabilidade dos trofozoítos foi realizada por meio de contagens em hemocítômetro (câmara de Neubauer), utilizando azul de trypan como corante de exclusão (VIEIRA *et al*, 2014).

Três controles foram utilizados: **a)** controle negativo (CN) - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura; **b)** controle veículo (CV) - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura e DMSO; **c)** controle positivo (CP) - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura com metronidazol ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) solubilizado em DMSO.

A concentração capaz de inibir 50% do crescimento (CI_{50}) foi obtida a partir das menores viabilidades celulares em diferentes concentrações de chalconas, utilizando software para o cálculo do valor de R^2 (regressão linear).

4.6.3. Atividade Tóxica sobre Células Vaginais HMVII (ECACC 92042701)

Para o ensaio de citotoxicidade foram utilizadas células epiteliais vaginais humanas (HMVII, ECACC 92042701), cultivadas em meio RPMI.

Para o teste de citotoxicidade, foram utilizados três controles: **a)** CN - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura; **b)** CV - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura e DMSO; **c)** CP - crescimento dos trofozoítos em meio de cultura com Triton 0,2% solubilizado em DMSO 0,6%. A viabilidade celular de HMVII foi quantificada pelo ensaio do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) a $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$, no qual produto púrpura e insolúvel, formazana, foi solubilizado em DMSO e mensurado em espectrofotômetro (570 nm). A produção de formazana foi diretamente proporcional à atividade catalítica de desidrogenases presentes em células metabolicamente ativas (VIEIRA *et al*, 2014).

A concentração letal para 50% das células vaginais (CL_{50}) foi obtida a partir das menores viabilidades celulares, que apresentam atividade contra *T. vaginalis*. Foi plotado um gráfico que correlacionou porcentagem de viabilidade celular *versus* concentração, a fim de realizar o cálculo do valor de R^2 (regressão linear).

4.6.4. Índice de Seletividade (IS)

O índice de Seletividade das substâncias que apresentaram atividade contra *T. vaginalis* ($CI_{50} < 100 \mu M$, item 4.6.2., p. 80) foi estabelecido por meio da razão entre os valores de CL_{50} (item 4.6.3., p. 81) e CI_{50} . Dessa forma: $IS = CL_{50}/CI_{50}$.

5. CONCLUSÕES

O trabalho químico conduziu à síntese de 30 hidroxichalconas (série I) e 7 ferrocenilchalconas (série II), com rendimentos que variaram de 17 a 98%. A síntese de ferrocenilchalconas mostrou maiores rendimentos que as hidroxichalconas, pois tiveram produtos brutos aparentemente puros, segundo análise por CCDA, não necessitando de etapas adicionais de purificação, tais como: recristalização e cromatográficas (CC-FN e CPG). Dentre as hidroxichalconas, as 3'-hidroxichalconas foram sintetizadas com maiores rendimentos que as 2'- e 4'-hidroxiladas, demonstrando rendimentos que variaram de 43% (**13**) a 90% (**3**).

As estruturas das chalconas foram confirmadas por análises de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono Treze, as quais confirmaram a obtenção de uma cetona α,β -insaturada com configuração *E* (*trans*), evidenciando a obtenção das substâncias planejadas.

As avaliações de atividade antiprotozoária da série I indicaram potente efeito das hidroxichalconas **2–7** em relação à chalcona não-substituída **1**, indicando a essencialidade da hidroxila para a bioatividade. Por serem mais potentes, as chalconas com hidroxila no anel A foram submetidas à avaliação da atividade tóxica contra células epiteliais vaginais humanas, a qual apontou a ausência de seletividade das substâncias conduzindo a investigação acerca da otimização da potência e redução da toxicidade. Buscou-se utilizar o Método Manual de Topliss, isosterismo clássico de anéis π -isoeletrônicos e anéis hidrofóbicos, como planejamento de análogos chalcônicos.

Dentre as hidroxichalconas planejadas aplicando o Método Manual de Topliss, as avaliações de atividade antiprotozoária contra trofozoítos de *T. vaginalis* indicaram potente efeito das 2'-hidroxichalconas (**8–11**) em relação às 3'-hidroxichalconas (**12–**

15) e 4'-hidroxichalconas (**16–19**). Destacando-se as 2'-hidroxichalconas **8** e **9**, análogo *para*-monoclorado e *meta,para*-diclorado respectivamente, as quais exibiram valores de Cl_{50} iguais a 24,4 e 24,7 μM , respectivamente, corroborando a importância dos efeitos eletrônico e hidrofobicidade para a atividade tricomonicida.

Considerando a importância desses parâmetros na bioatividade, foi realizada a permuta do anel B fenílico por anéis π -isoeletrônicos (2-furanila e 2-tiofenila) bem como anéis hidrofóbicos (α - e β -naftilas), para a otimização da potência e diminuição da toxicidade. A avaliação da atividade contra *T. vaginalis* desses análogos arílicos, permitiu inferir uma relação bioisostérica de anéis entre a 2'-hidroxichalcona **21** e seu análogo fenílico **2**, bem como entre a 4'-hidroxichalcona **28** e seu análogo fenílico **4**, visto que o anel π -isoeletrônico 2-tiofenila apresenta maior hidrofobicidade em relação ao 2-furanila. As naftilchalconas **22**, **25**, **26**, **29** e **30** foram inativas ($Cl_{50} > 100 \mu M$), apesar de apresentarem hidrofobicidade superior aos análogos fenílicos **2–4**, o que sugeriu a influência do efeito estérico sobre a bioatividade.

A avaliação da atividade contra *T. vaginalis* das ferrocenilchalconas (série II) demonstrou que essas foram inativas, exibindo $Cl_{50} > 100 \mu M$.

A avaliação da atividade tóxica em células epiteliais vaginais, indicou que além da potência contra *T. vaginalis*, as 2'-hidroxichalconas **8–11**, planejadas por meio do Método Manual de Topliss, foram ainda mais seletivas em relação às 3' e 4'-hidroxichalconas, destacando-se a 2'-hidroxichalcona *para*-metilada **10** por ter apresentado valor de $CL_{50} > 100 \mu M$ e $IS > 3,3$.

A avaliação da atividade tóxica também demonstrou que as 2'- e 4'-hidroxichalconas **21** e **28**, respectivamente, exibiram valores de $CL_{50} > 100 \mu M$ e valores de $IS > 1,9$.

Concluiu-se que o planejamento pelo Método Manual de Topliss bem como a utilização do anel π -isoeletrônico 2-tiofenila tiveram influências claras e positivas na otimização do desempenho farmacológico das hidroxichalconas, para o qual obteve-se um aumento na potência tricomonicida e diminuição da toxicidade contra células epiteliais vaginais humanas.

O conjunto de resultados corroboraram o potencial terapêutico das hidroxichalconas para o tratamento de ISTs, principalmente tricomoníase, o qual ainda é pouco explorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTHWAL, A., RAJESH, U.C., RAWAT, M.S.M., KUSHWAHA, B., MAIKHURI, J.P., SHARMA, V.L., GUPTA, G., RAWAT, D. S., Novel metronidazole-chalcone conjugates with potential to counter drug resistance in *Trichomonas vaginalis*, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 79, 89–94, 2014.

APONTE, J. C., VERASTEGUI, M., MALAGA, ZIMIC, E. M., QUILIANO, M., VAISBERG, A. J., GILMAN, R. H., HAMMOND, G. B., Synthesis, Cytotoxicity, and Anti-*Trypanosoma cruzi* Activity of New Chalcones. **Journal of Medicinal Chemistry**, 51, 6230–6234, 2008.

ARDALAN, S., LEE, B. C., GARBER G.E., *Trichomonas vaginalis*: the adhesins AP51 and AP65 bind heme and hemoglobin. **Experimental Parasitology**, 121, 300–306, 2009.

ATTAR, S., O'BRIEN, Z., ALHADDAD, H., GOLDEN, M. L., CALDERÓN-URREA, A., Ferrocenylchalcones versus organic chalcones: A comparative study of their nematocidal activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 19, 2055–2073, 2011.

AUGUSTYNS, K., ECKER, G., Medicinal Chemistry in the 21st Century. MedChem Watch - **The official EFMC e-newsletter**, 2: 5–7, 2010.

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 608 p.

BECKER, D.L., SANTOS, O., FRASSON, A.P., RIGO, G.V., MACEDO, A.J., TASCA, T., High rates of double-stranded RNA viruses and Mycoplasma hominis in

Trichomonas vaginalis clinical isolates in South Brazil, **Infection, Genetics and Evolution**, 34, 181–187, 2015.

BINDER, D., HROMATKA, O., GEISSLER, F., SCHMIED, K., NOE, C. R., BURRI, K., PFISTER, R., STRUB, K., ZELLER, P. Analogues and derivatives of tenoxicam. 1. Synthesis and antiinflammatory activity of analogues with different residues on the ring nitrogen and the amide nitrogen. **Journal of Medicinal Chemistry**, 30, 678 – 682, 1987.

BOECK, P., FALCÃO, C.A.B., LEAL, P.C., YUNES, R.A., FILHO, V.C., TORRES-SANTOS, E.C., ROSSI-BERGMANN, B., Synthesis of Chalcone Analogues with Increased Antileishmanial Activity, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 14, 1538–1545, 2006.

CLAYDEN, J., GEEVES, N., WARREN, S., **Organic Chemistry**. Paperback, 2nd Edition, Oxford University Press, 2012, 1234.

COSAR, C., JULOU, L., The activity of 1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole (R. P. 8823) against experimental *Trichomonas vaginalis* infections, **Annals of Journal of Institute Pasteur (Paris)**, 96, 238–241, 1959.

CRUCITTI, T., JESPERS, V., MULENGA, C., KHONDOWE, S., VANDEPITTE, J., BUVE, A., Non-Sexual Transmission of *Trichomonas vaginalis* in Adolescent Girls Attending School in Ndola, Zambia, **PLoS ONE**, 6, 1–5, 2011.

DIAMOND, L.S. The establishment of various *Trichomonas* of animals and man in axenic cultures, **Journal of Parasitology**, 43, 488–490, 1957.

DE CARLI, G. A., *Trichomonas*. In: NEVES, D. P., **Parasitologia Humana**, 10^a Edição, São Paulo: Editora Atheneu, 2000.

EDWARDS, E.I., EPTON, R., MARR, G., A New Class of Semi-Synthetic Antibiotics: Ferrocenyl-Penicillins and -Cephalosporins, **Journal of Organometallic Chemistry**, 107, 351–357, 1976.

FIGUEROA-ÂNGULO, E. E., RENDÓN-GANDARILLA, F. J., PUENTE-RIVERA, J., CALLA-CHOQUE, J. S., CARDENAS-GUERRA, R. E., ORTEGA-LÓPEZ, J., QUINTAS-GRANADOS, L. I., ALVAREZ-SÁNCHEZ, M. E., ARROYO, R. The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. **Institut Pasteur – Microbes and Infection**, 14, 1411–1427, 2012.

GORRELL, T. E., Effect of Culture Medium Iron Content on the Biochemical Composition and Metabolism of *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Bacteriology**, 161, 1228–1230, 1985.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G., Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, São Paulo, 24, 81–98, 2010.

HELMS, D. J., MOSURE, D. J., SECOR, W. E., WORKOWSKI, K. A., Management of *Trichomonas vaginalis* in women with suspected metronidazole hypersensitivity, **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 198, 370–377, 2008.

JAOUEN, G., TOP, S., VESSIÈRES, A., LECLERCQ, G., MCGLINCHEY, M. J. The first organometallic selective estrogen receptor modulators (SERMs) and their relevance to breast cancer. **Current Medicinal Chemistry**, 11, 2505–2517, 2004.

JARRAD, A.M., DEBNATH, A., MIYAMOTO, Y., HANSFORD, K.A., PELINGON, R., BUTLER, M.S., BAINS, T., KAROLI, T., BLASKOVICH, M.A.T., ECKMANN, L., COOPER, M.A., Nitroimidazole carboxamides as antiparasitic agents targeting *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 120, 353–362, 2016.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 783 p.

KULDA, J., Trichomonad, hydrogenosomes and drug resistance. **International Journal for Parasitology**, 29, 199–212, 1999

KULDA, J., TACHEZY, J., ČERKASOVOVA, A., Aerobic resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole induced in vitro. **Parasitology**, 106, 31–37, 1993.

LAND, K. M., CLEMENS, D. L., JOHNSON, P.J., Loss of multiple hydrogenosomal proteins associated with organelle metabolism and high-level drug resistance in trichomonads. **Experimental Parasitology**, 97, 102–111, 2001.

LECKE, S. B., TASCA, T., SOUTO, A. A., DE CARLI, G. A., Perspective of a New Diagnostic for Human Trichomonosis, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 98, 273–276, 2003.

LEE, J. S., KANG, Y., KIM, J. T., THAPA, D., LEE, E. S., KIM, J. E. The anti-angiogenic and antitumor activity of synthetic phenylpropenone derivatives is mediated through the inhibition of receptor tyrosine kinases. **European Journal of Pharmacology**, 67, 22–30, 2012.

LEMKE, T. L., Antiparasitic Agents. In: LEMKE, T. L., WILLIAMS, D. A., **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**, Editora Lippincott Williams & Wilkins, 2008, 1377 p.

LIMA, L. M., BARREIRO, E. J., Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design, **Current Medicinal Chemistry**, 12, 23–49, 2005.

LIU, M., WILAIRAT, P., CROFT, S., GO, M-L., Structure-activity Relationships of Antileishmanial and Antimalarial Chalcones, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 11, 2729–2738, 2003.

MACIEL, G. P., TASCA, T., DE CARLI, G. A., Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*, **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 4, 152–160, 2004.

MAEDA, K., OSATO, T., UMEZAWA, H., A new antibiotic, azomycin. **Journal of Antibiotic (Tokyo)**, 6, 182, 1953.

MESSLER, G. L., FISCHER, P. J., TARR, D. A., **Química Inorgânica**, Ed. Pearson, 666 páginas.

MORENO-BRITO, V., YÁÑEZ-GÓMEZ, C., MEZA-CERVANTEZ, P., ÁVILA-GONZÁLEZ, L., RODRÍGUEZ, M. A., ORTEGA-LÓPEZ, J., GONZÁLEZ-ROBLES, A., ARROYO, R. A *Trichomonas vaginalis* 120 kDa protein with identity to hydrogenosome pyruvate: ferredoxin oxidoreductase a surface adhesin induced by iron. **Cellular Microbiology** 2, 245–258, 2005.

MULLER, T.J., Conradie, J., Erasmus, E., A spectroscopic, electrochemical and DFT study of *para*-substituted ferrocene-containing chalcone derivatives: Structure of $\text{FcCOCHCH}(\text{p-}^t\text{BuC}_6\text{H}_4)$, **Polyhedron**, 33, 257–266, 2012.

NESMEYANOV, A.N., SHUL'PIN, G.B., FEDOROV, L.A., P.V. PETROVSKY, P.V., RYBINSKAYA, M., ^{13}C and ^1H NMR Spectra of Monosubstituted Ferrocenes Containing a Chiral Centre in the Substituent, **Journal of Organometallic Chemistry**, 69, 429–435, 1974.

NOWAKOWSKA, Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 42, 125–137, 2007.

PAULA, F.R., SERRANO, S.H.P., TAVARES, L.C., Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, 32, 1013–1020, 2009.

PEREIRA, C.M.P., VENZKE, D., TROSSINI, G.H.G., Síntese de Heterociclos Bioativos Derivados do Ferroceno, **Química Nova**, 36, 143–152, 2013.

PETRIN, D., DELGATY, K., BHATT, R., GARBER, G., Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. **Clinical Microbiology Reviews**, 11, 300–317, 1998.

REY, L. **As Bases da Parasitologia Médica**. 3ª. edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2010, 391 p.

SETZER, M.S., BYLER, K.G., OGUNGBE, I.V., SETZER, W.N., Natural Products as New Treatment Options for Trichomoniasis: A Molecular Docking Investigation, **Scientia Pharmaceutica**, 85, 1–28, 2017.

SILVERSTEIN, R.M., **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos/** Robert. M. Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemble ; tradução Ricardo Bicca de Alencastro – [Reimpr.]. - Rio de Janeiro : LTC, 2015.

SINGH, P., ANAND, A., KUMAR, V., Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 85, 758–777, 2014.

SIVAKUMAR, P.M., PRYA, S., DOBLE, M., Synthesis, Biological Evaluation, Mechanism of Action and Quantitative Structure-Activity Relationship Studies of Chalcones as Antibacterial Agents, **Chemical Biology & Drug Design**, 73, 403–415, 2009.

SUN, M., SHI, Q., HUANG, G., LIANG, Y., MA, Y., A Novel, Simple and Efficient Synthesis of Ferrocenyl Enones and Alkynols, **Synthesis**, 2005, 2482–2486, 2005.

SVETAZ, L., TAPIA, A., LOPEZ, S. N., FURLAN, R. L. E., PETENATTI, E., PIOLI, R., SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., ZACCHINO, S. A., Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against soybean infecting fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 3297–3300, 2004

TOPLISS, J. G., A manual method for applying the Hansch approach to drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, 20, 463-469, 1977.

TOPLISS, J. G., Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, 15, 1006-1011, 1972.

TSUKIYAMA, R., KATSURA, H., TOKURIKI, N., KOBAYASHI, M., Antibacterial Activity of Licochalcone A against Spore-Forming Bacteria, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46, 1226–1230, 2002.

VIEIRA, P. B., INNOCENTE, A. M., FRASSON, A. P., CASANOVA, B. B., GRACE GOSMANN, G., GNOATTO, S. C. B., TASCA, T., Anti-*Trichomonas vaginalis* activity from triterpenoid derivatives. **Parasitology Research**, 113, 2933–2940, 2014.

ZACCHINO, S., BOECK, P., LEAL, P. C., YUNES, R. A., FILHO, V. C., LÓPEZ, S., SORTINO, M., ESCALANTE, A, FURLÁN, R. L. Antifungal Activity and Studies on Mode of Action of Novel Xanthoxylene-Derived Chalcones. **Archiv der Pharmazie, Chemistry in Life Sciences**, 338, 87–95, 2005.

WENDEL, K.A., WORKOWSKI K.A., Trichomoniasis: challenges to appropriate management, **Clinical Infectious Diseases**, 44, 123–129, 2007.

WERMUTH, C. G., **The Practice of Medicinal Chemistry**, editora C. G. Wermuth, Academic Press, London, 2ª Edição, 81, 219, 2003.

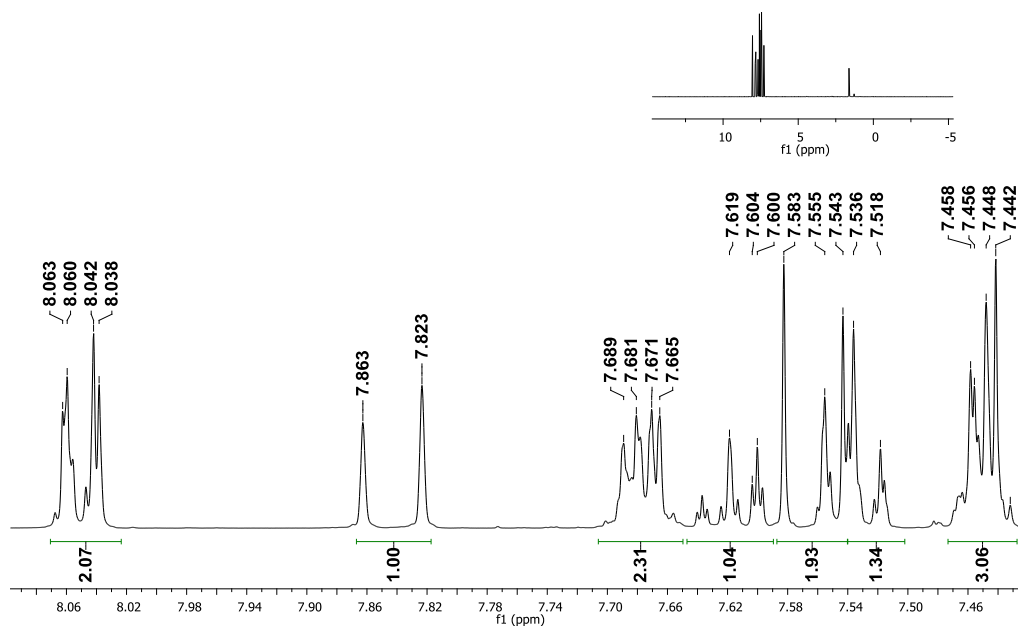
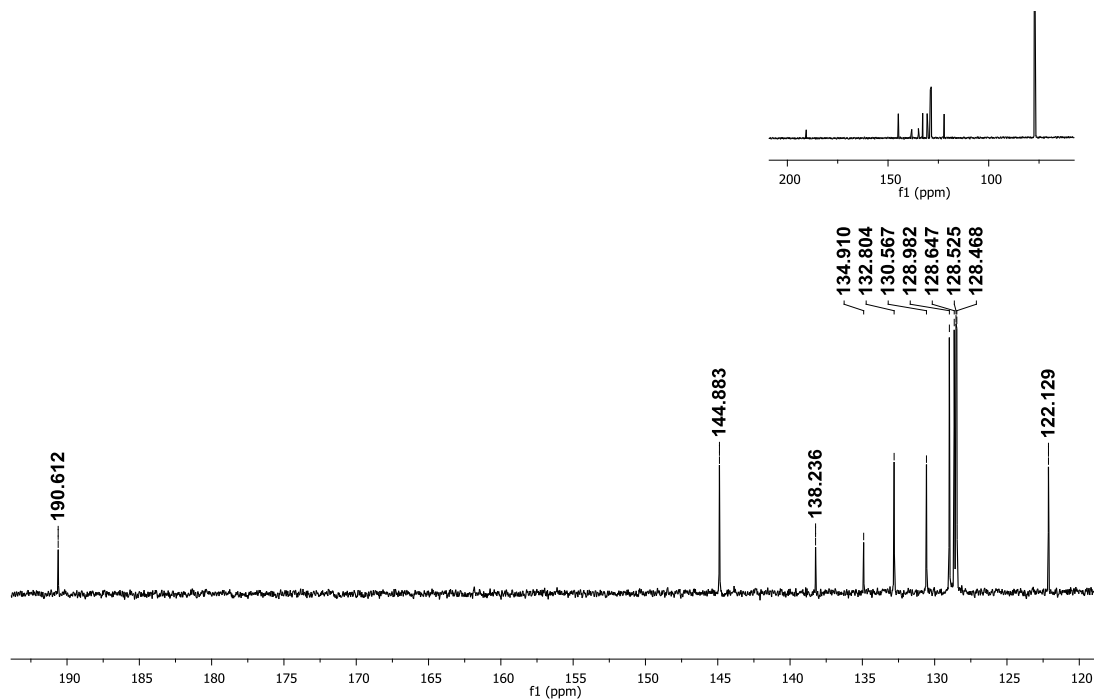
WERNER, H., At Least 60 Years of Ferrocene: The Discovery and Rediscovery of the Sandwich Complexes, **Angewandte Chemie International Edition**, 51, 6052–6058, 2012.

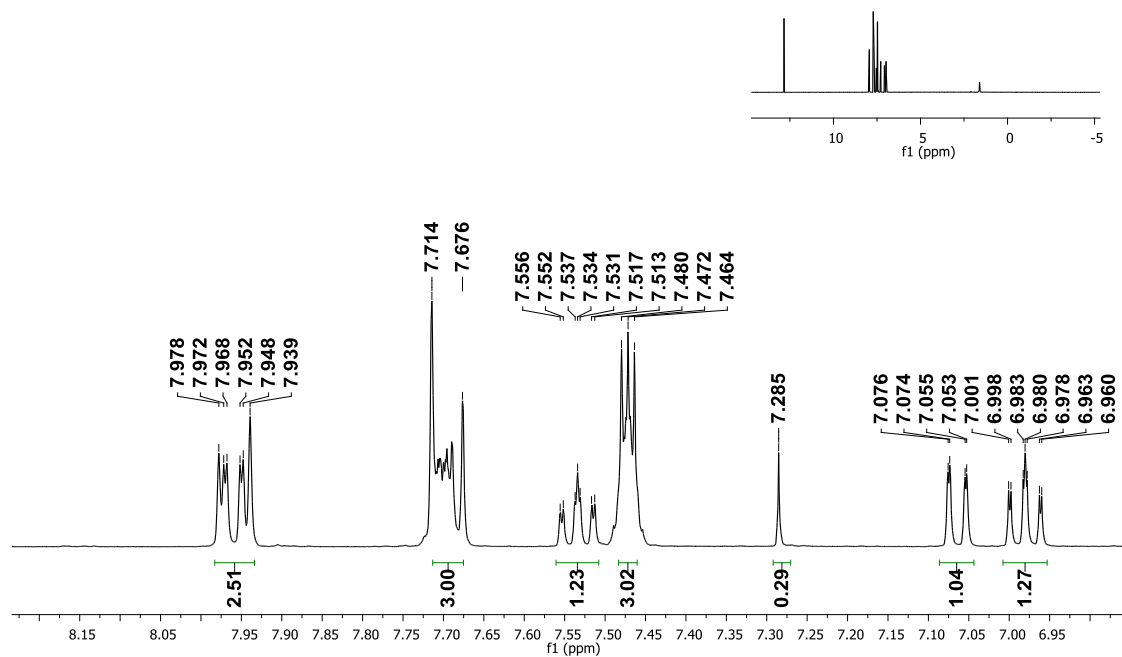
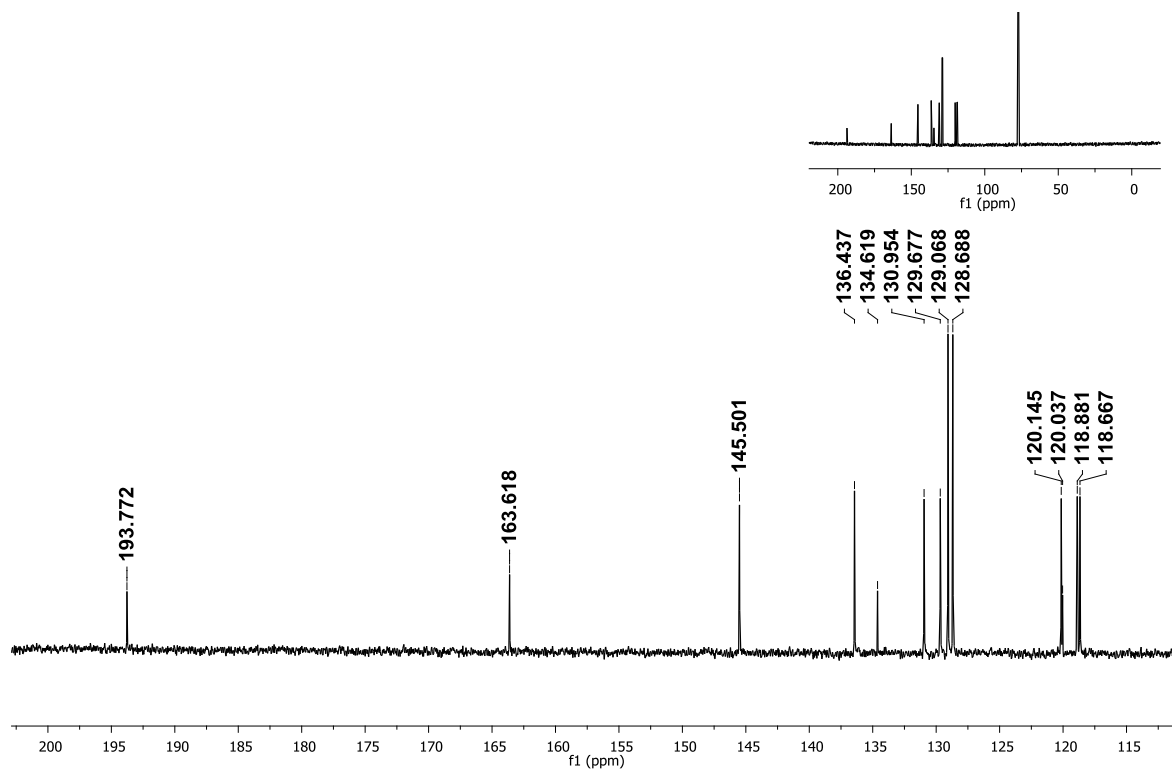
WHO - World Health Organization, **Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections – 2008**. Geneva, Switzerland: WHO, 2008, 28 p.

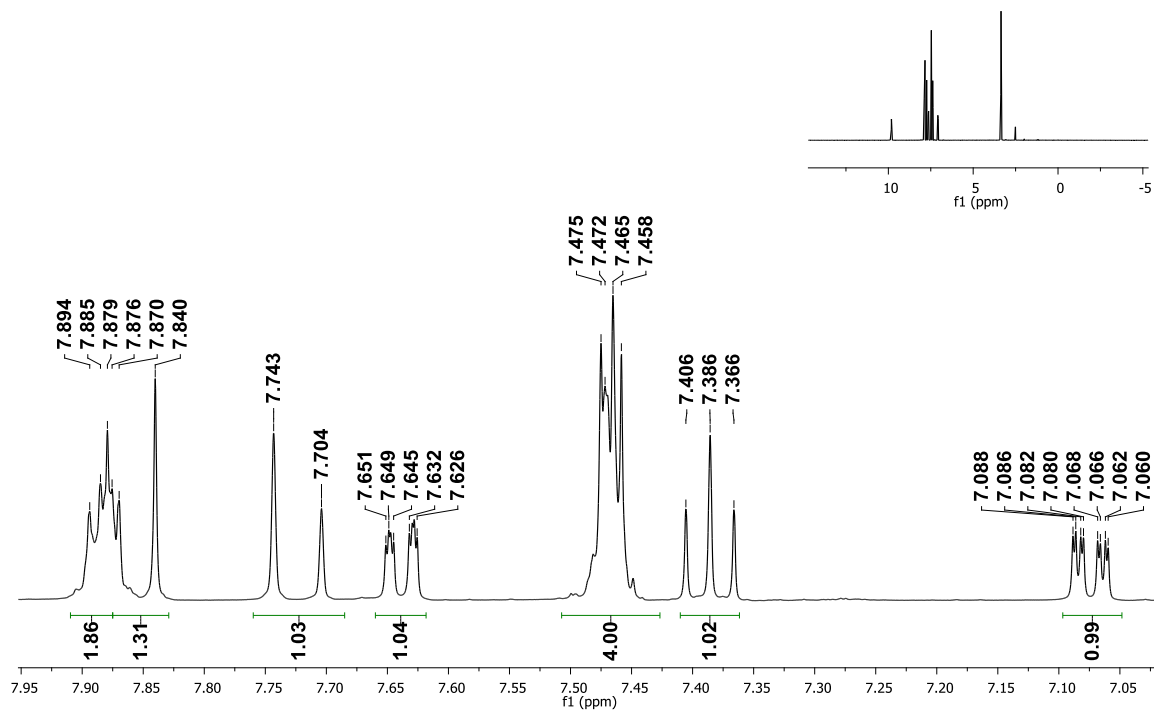
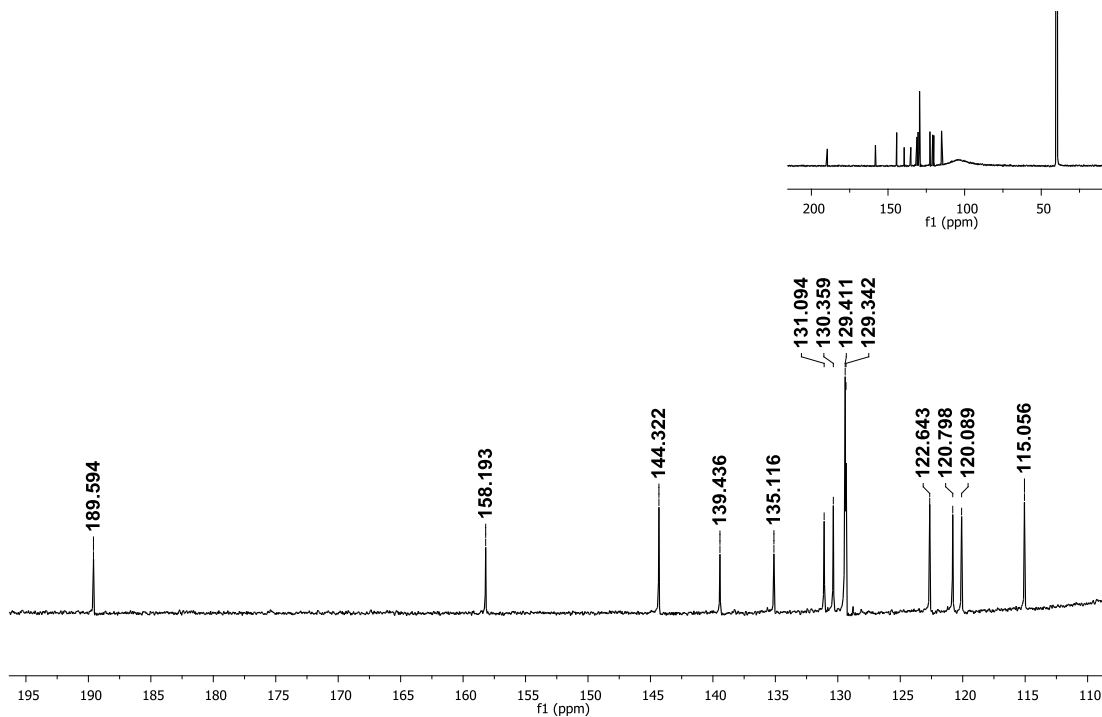
WHO - World Health Organization, Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections. Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, syphilis and *Trichomonas vaginalis*: **Methods and results used by WHO to generate 2005 estimates**. Geneva, Switzerland: WHO, 2011.

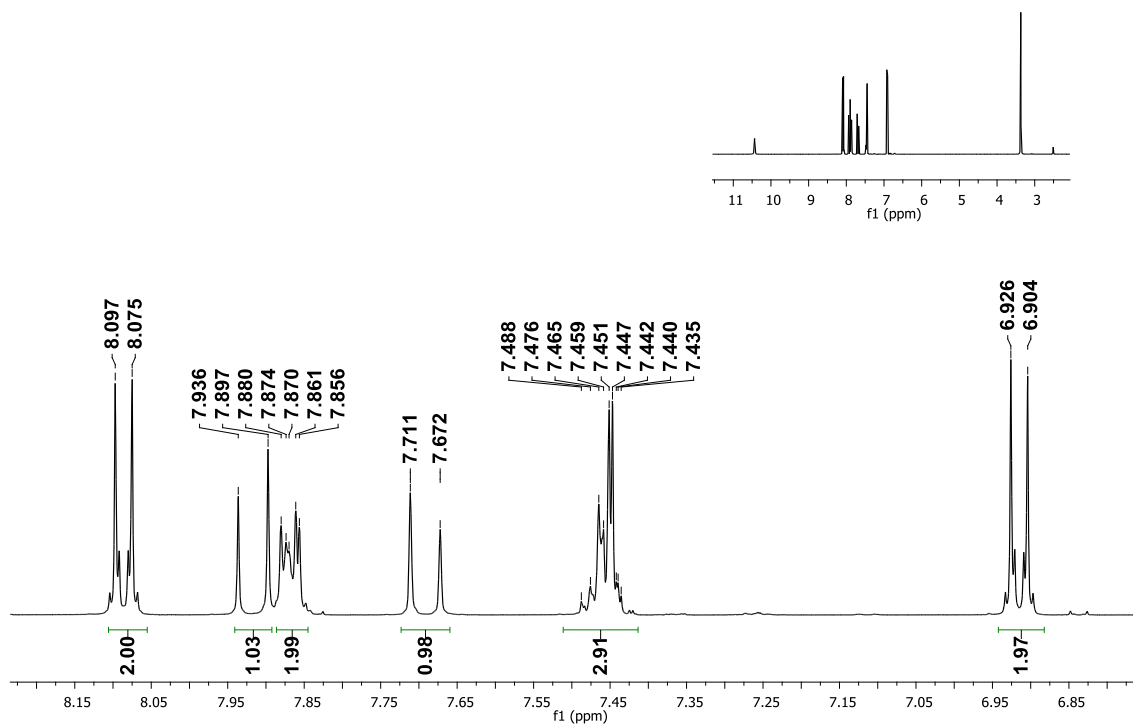
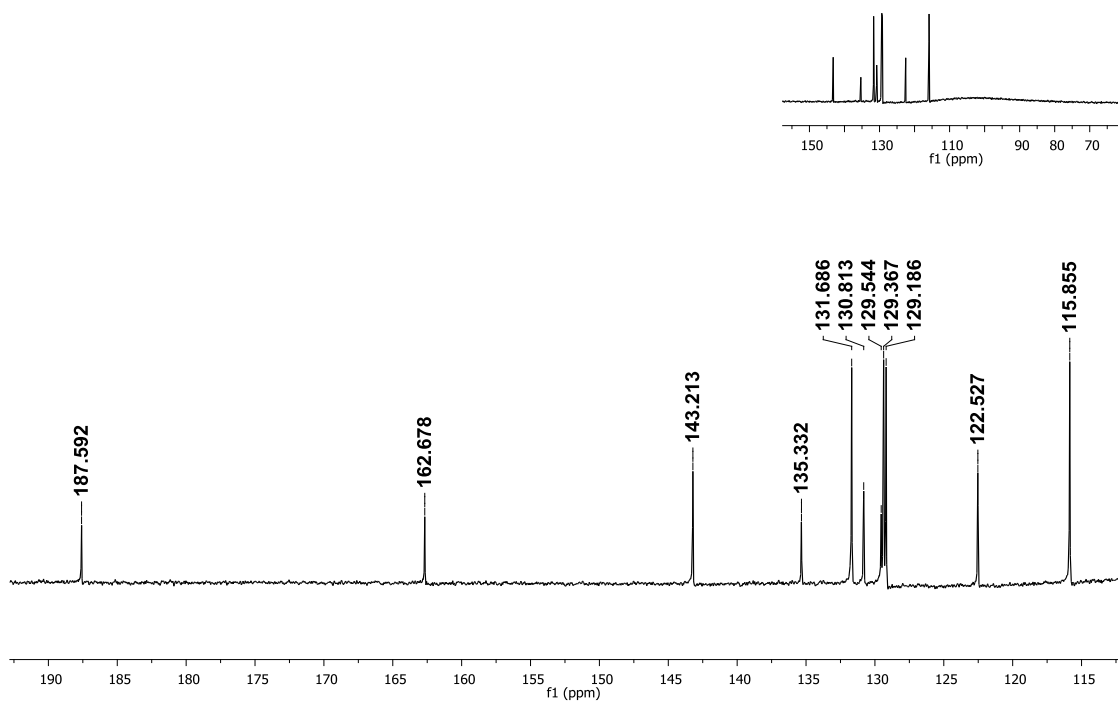
WU, X., WILAIRAT, P., GO, M-L., Antimalarial Activity of Ferrocenyl Chalcones, **Biorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 12, 2299–2302, 2002.

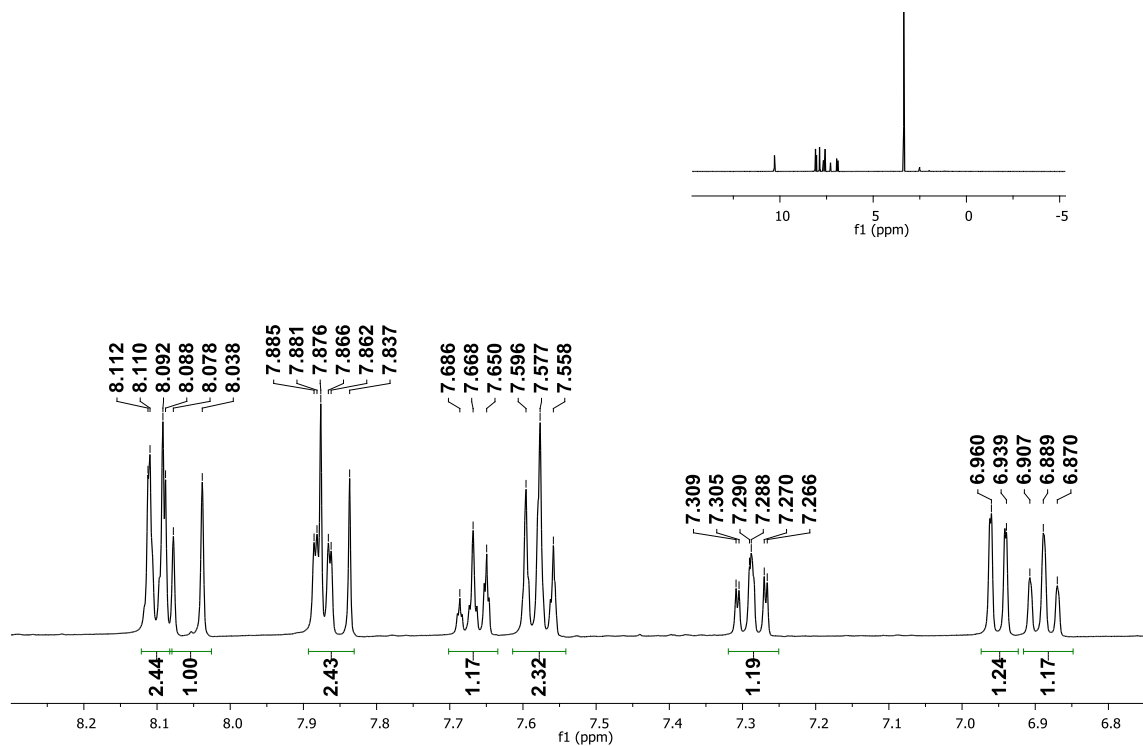
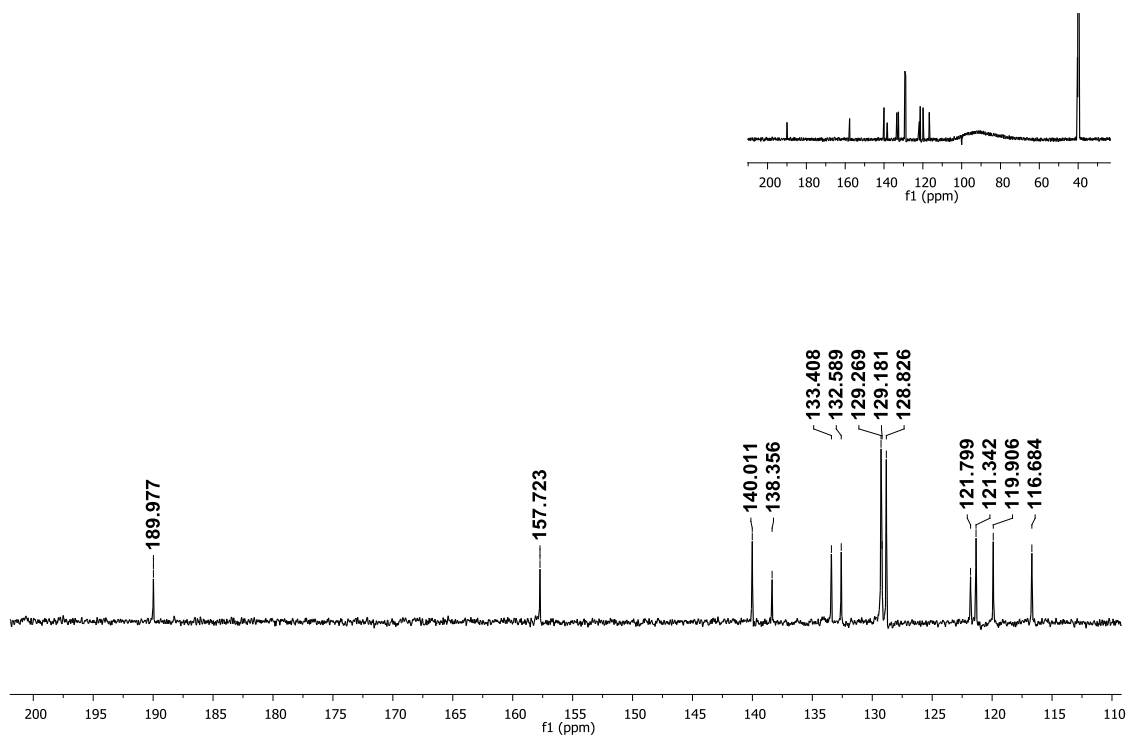
ANEXOS

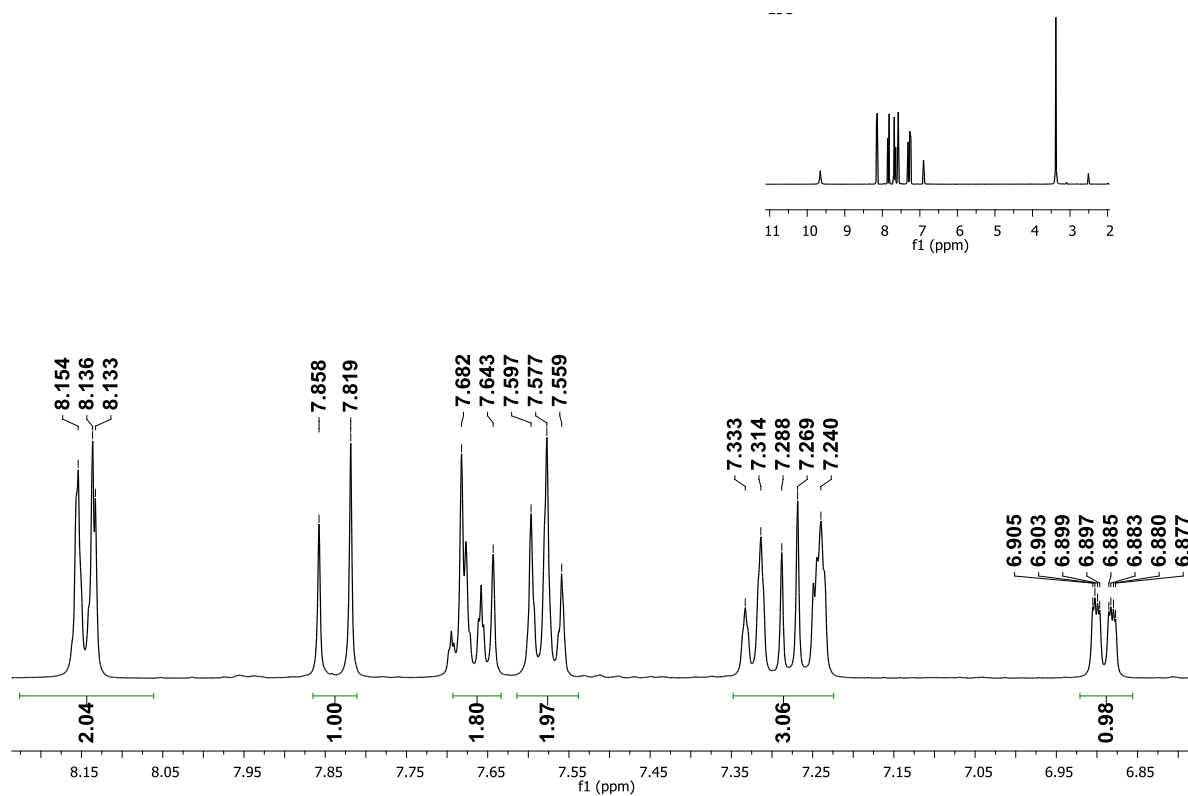
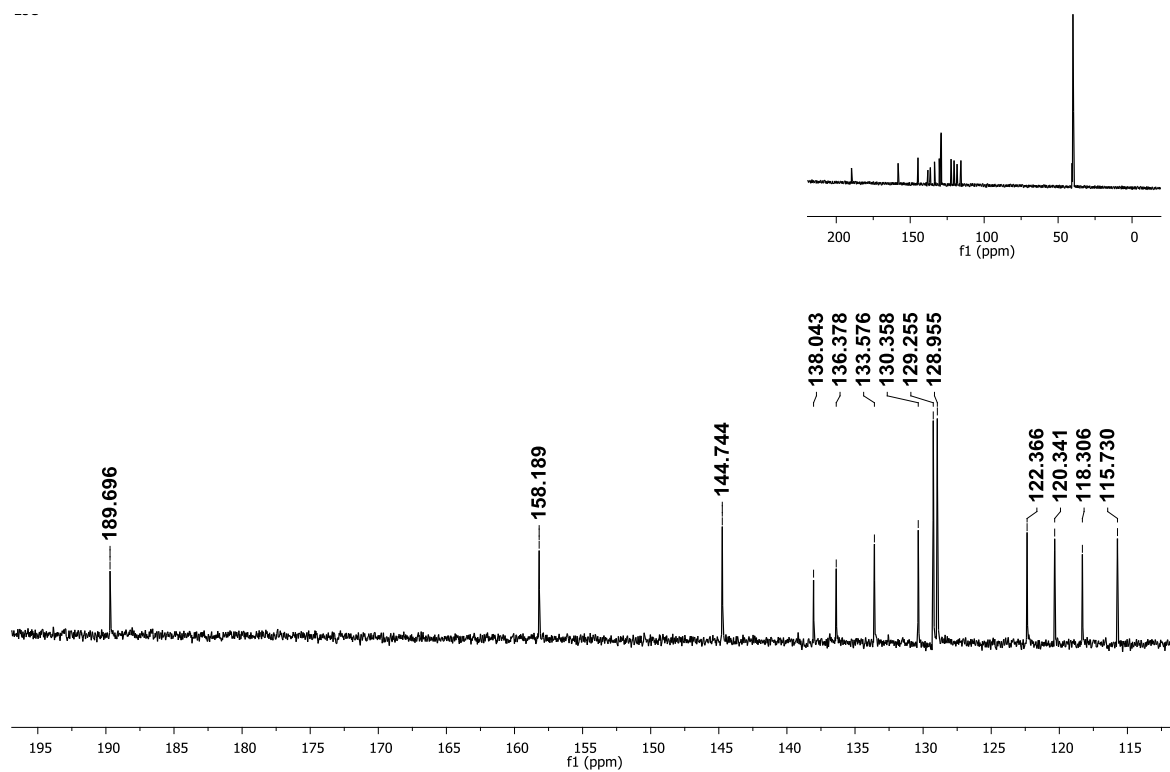
Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H da substância **1** (CDCl_3 ; 400 MHz)Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **1** (CDCl_3 ; 100 MHz)

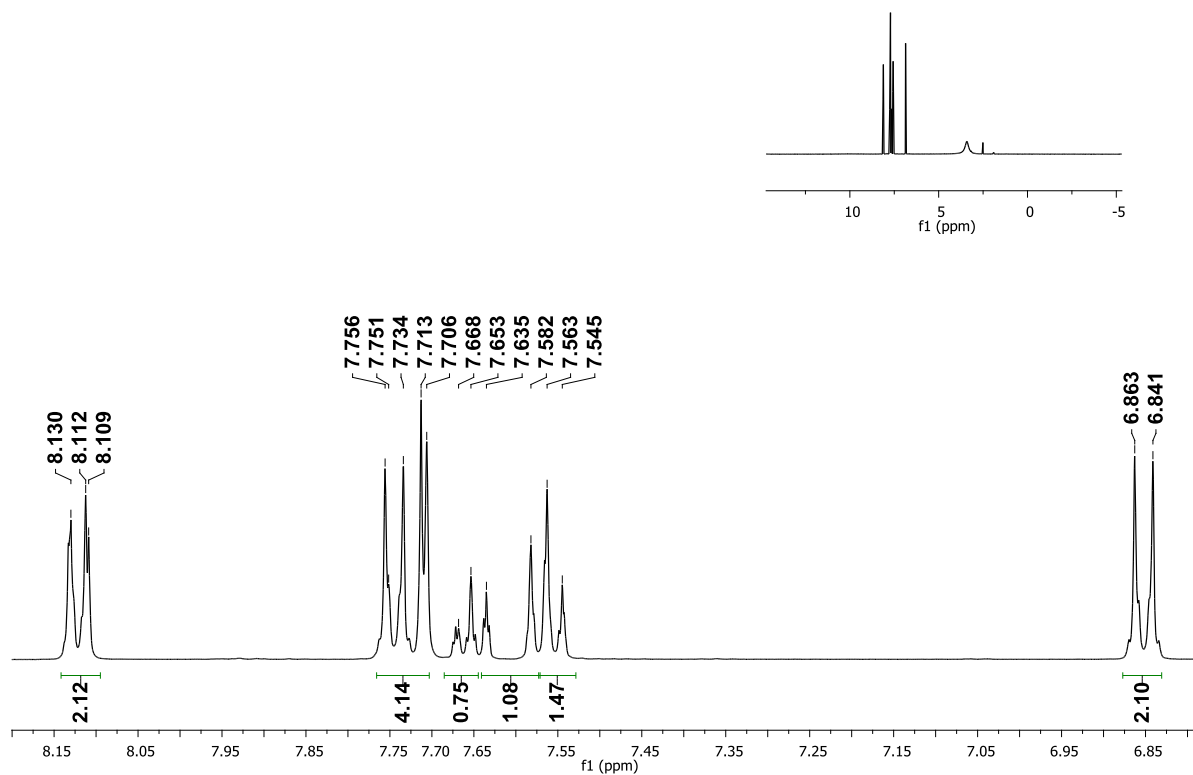
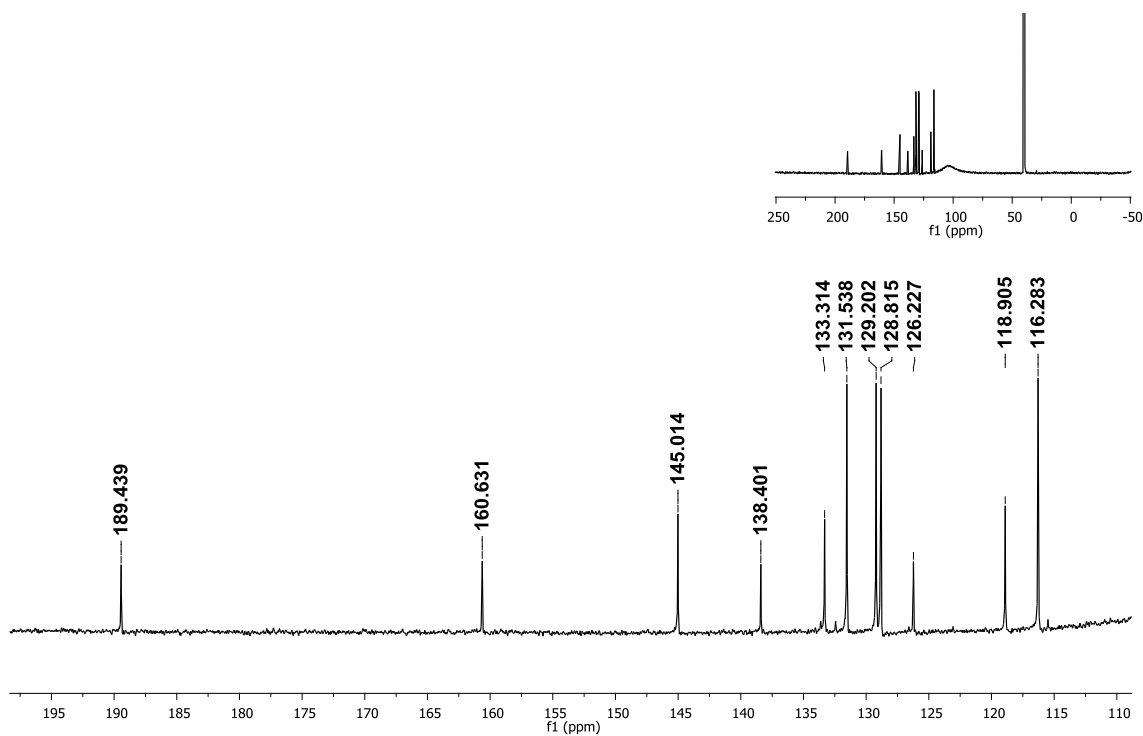
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H da substância **2** (CDCl_3 ; 400 MHz)**Anexo 4.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **2** (CDCl_3 ; 100 MHz)

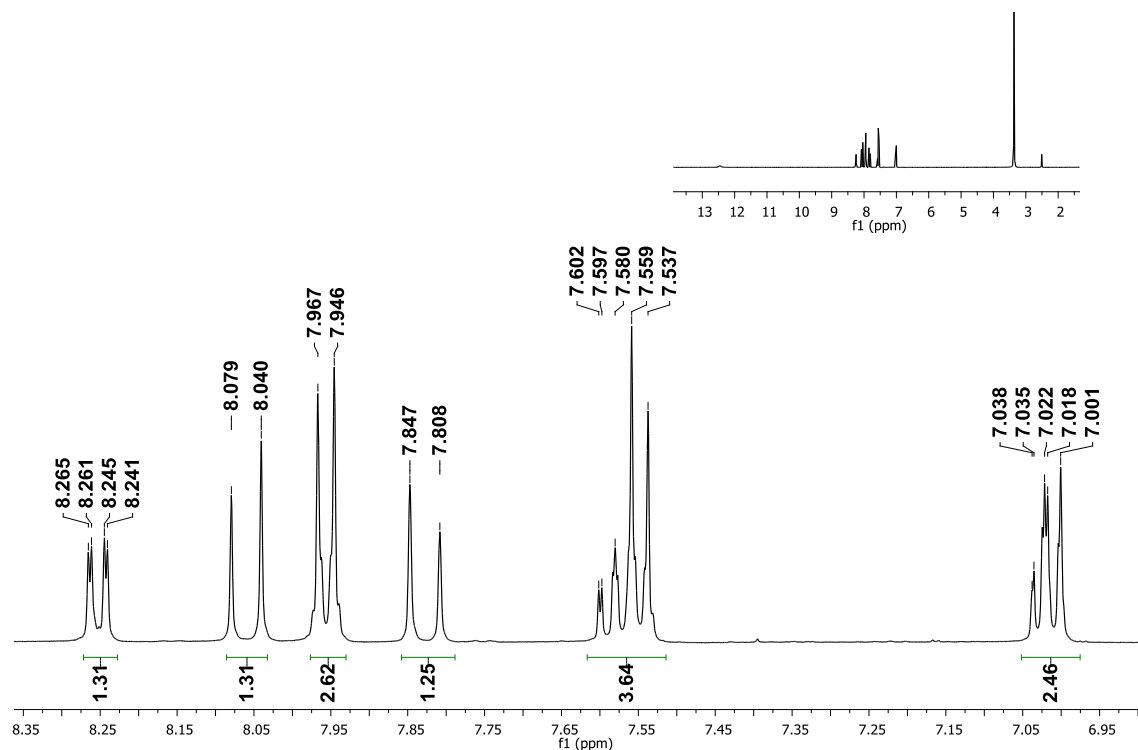
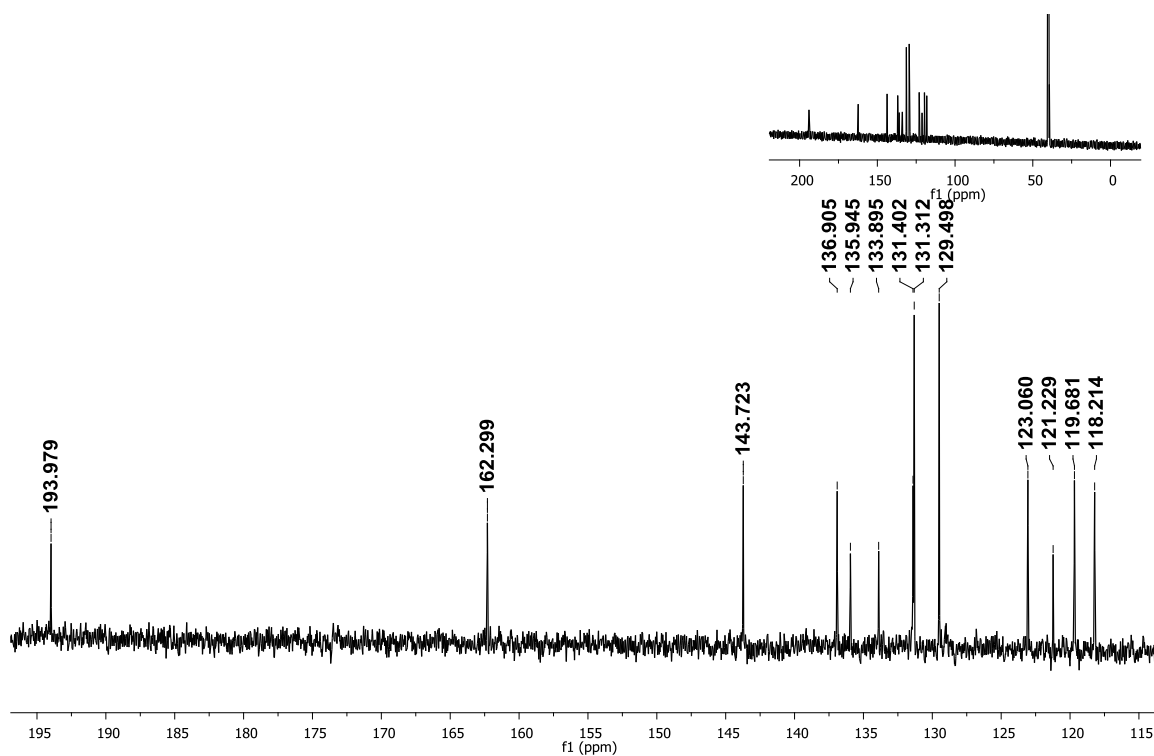
Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H da substância **3 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)****Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **3** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)**

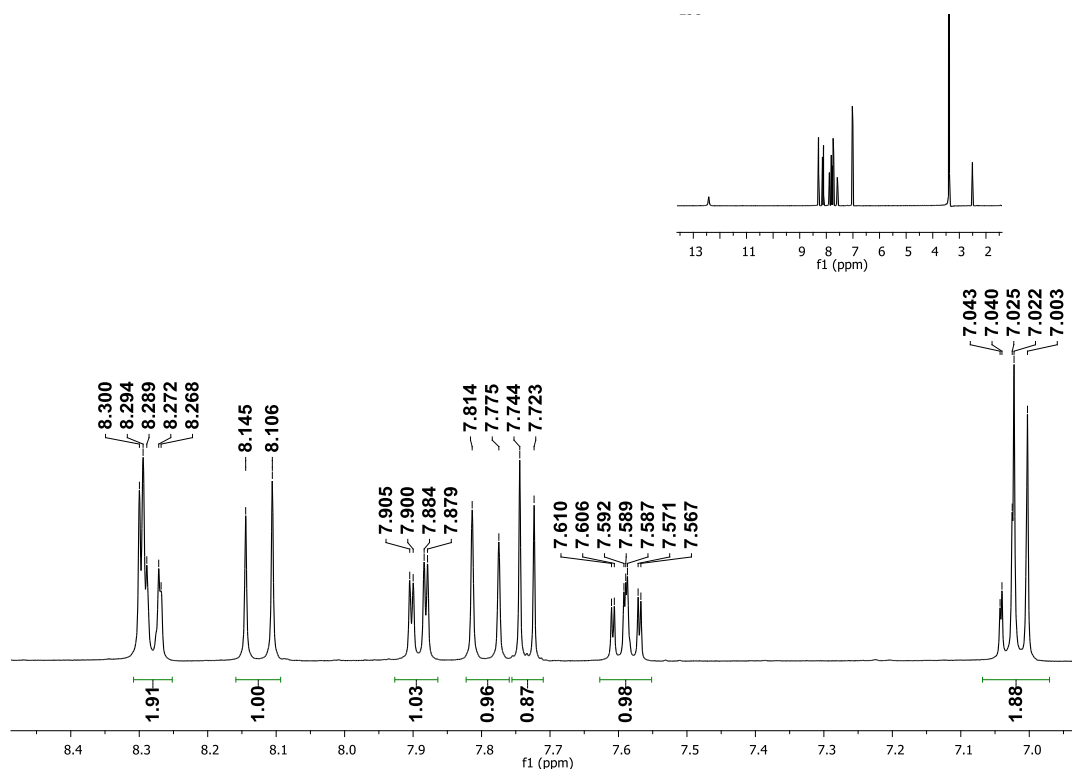
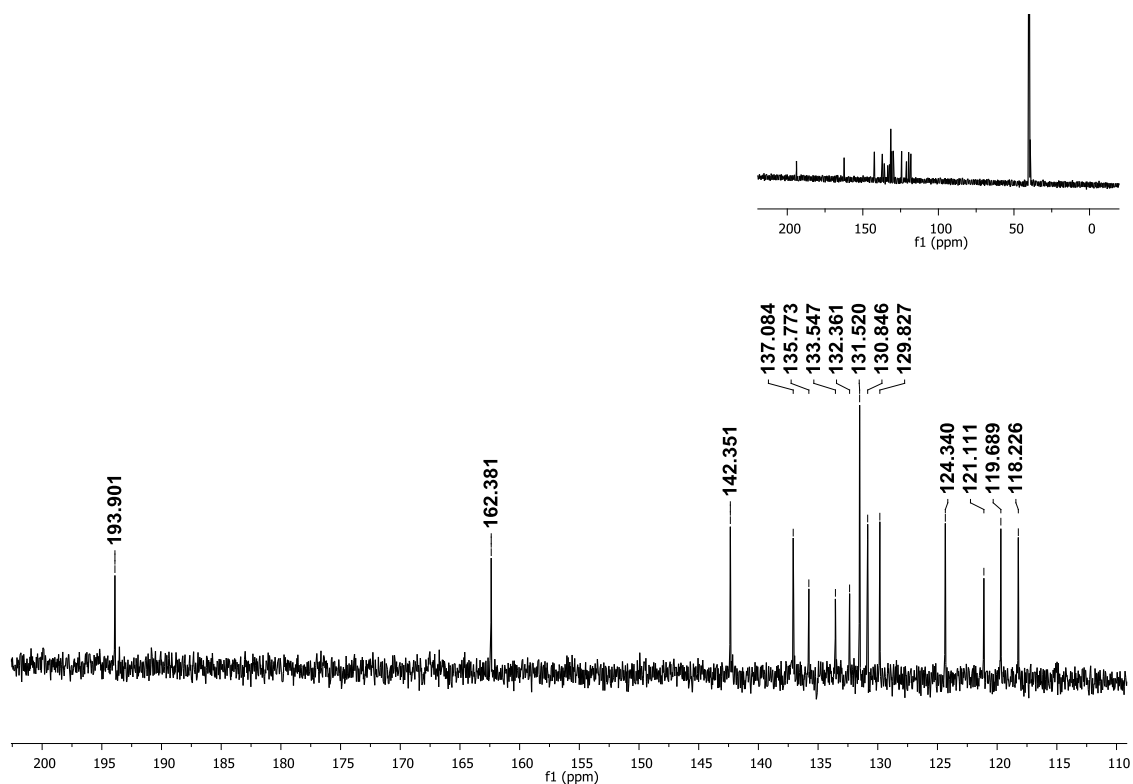
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H da substância **4** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 8.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **4** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

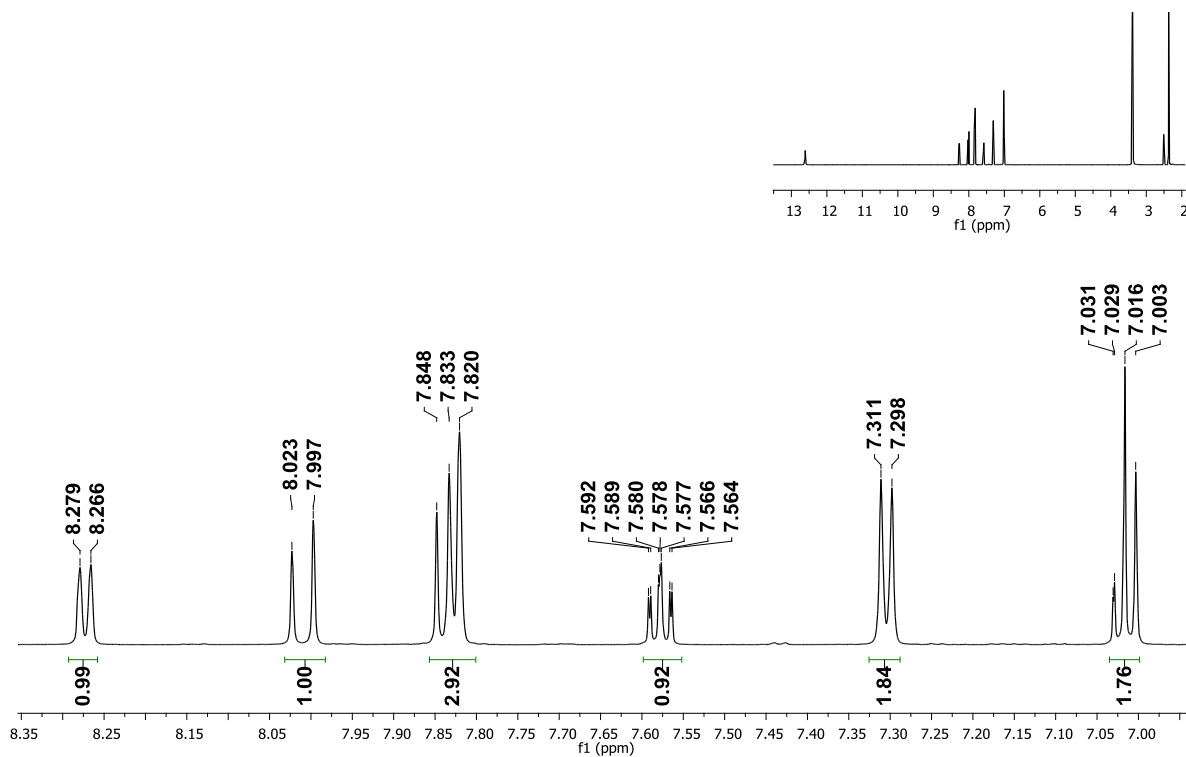
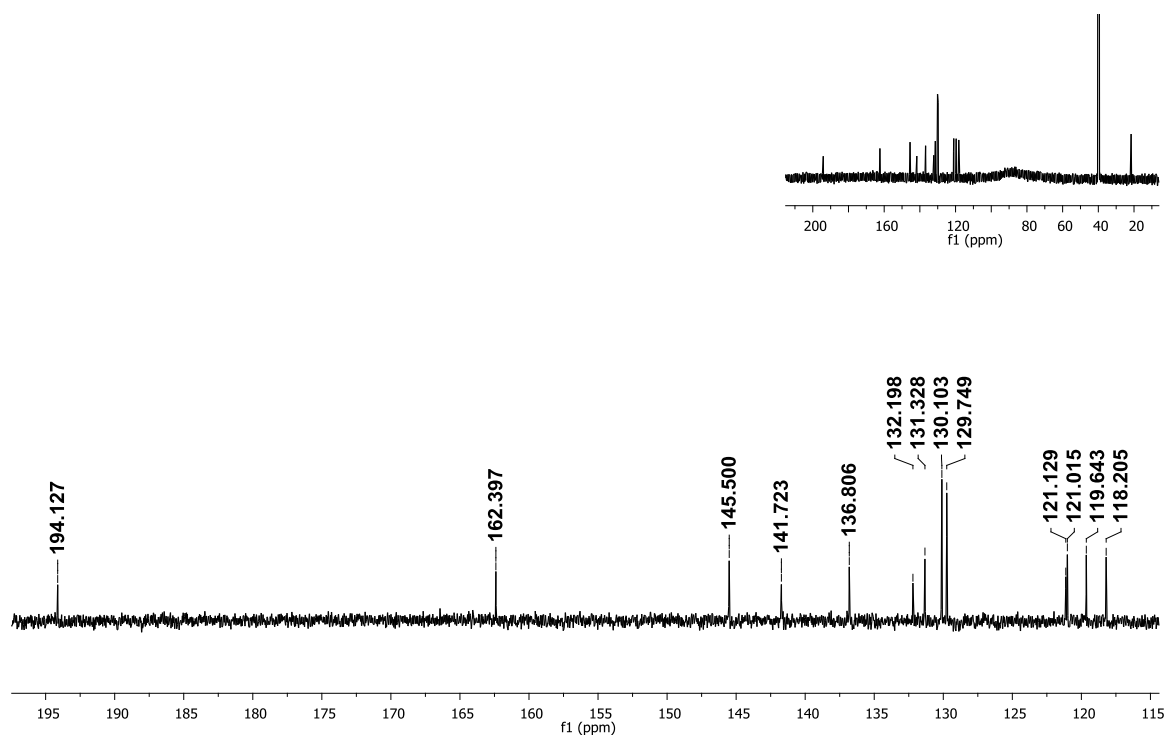
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H da substância **5** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 10.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **5** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

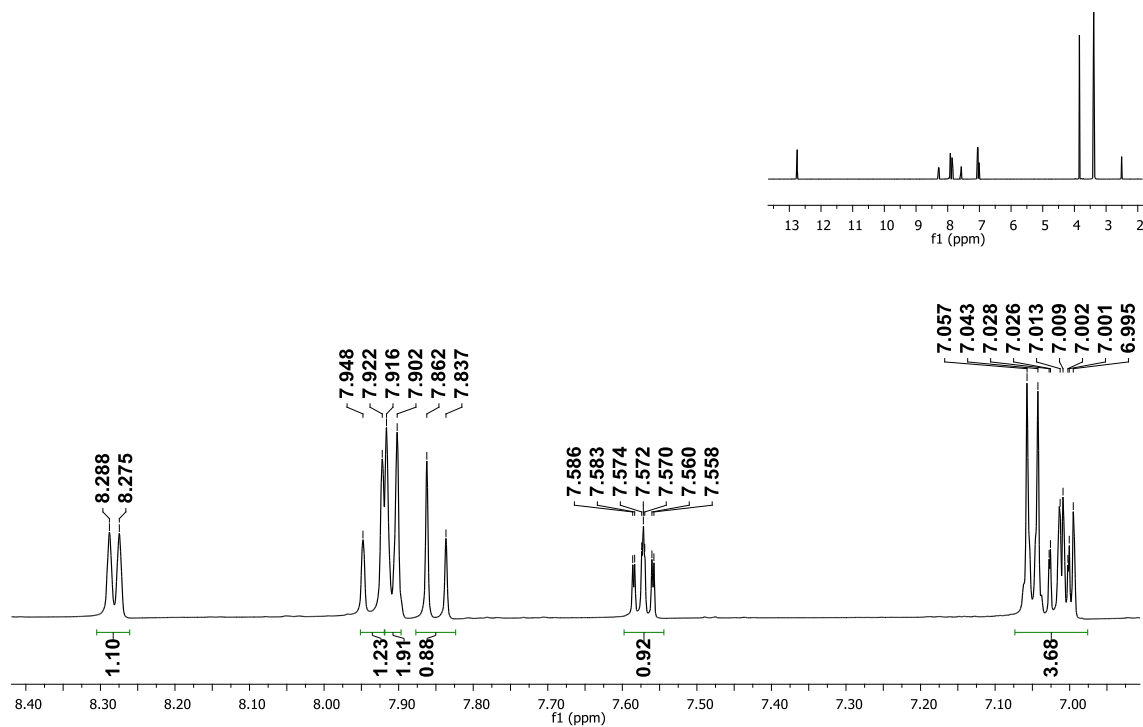
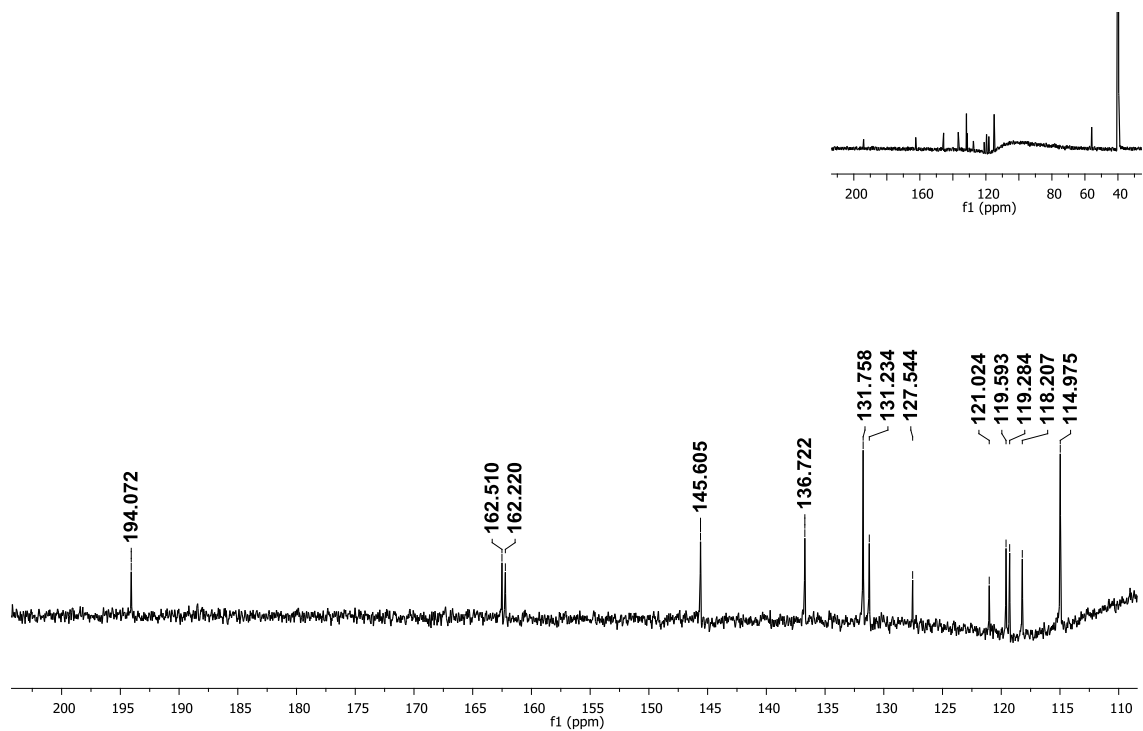
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H da substância 6 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 6 (DMSO- d_6 ; 100 MHz)**

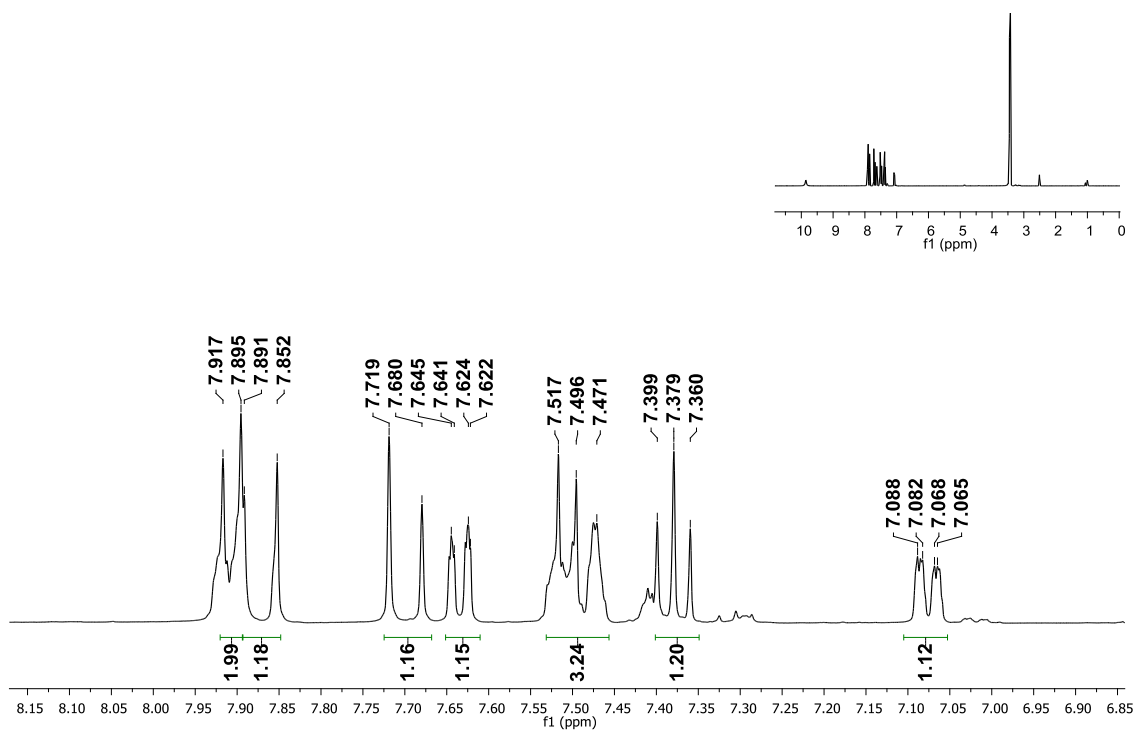
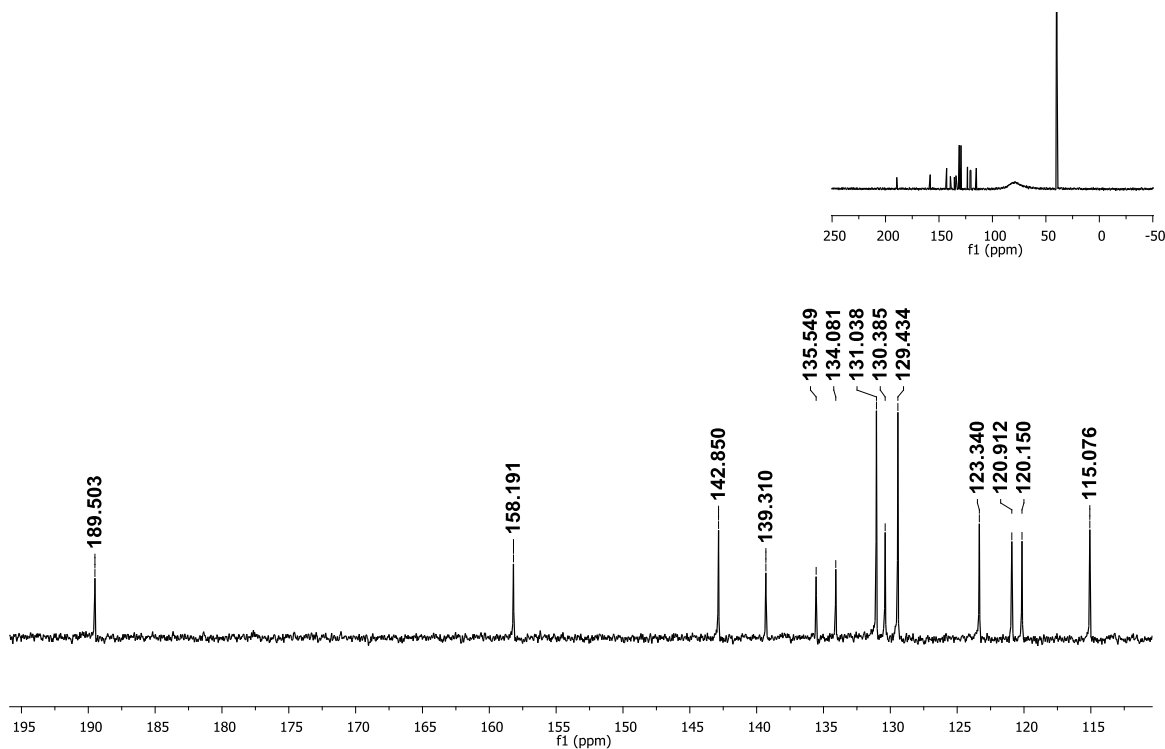
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H da substância **7** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 14.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **7** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

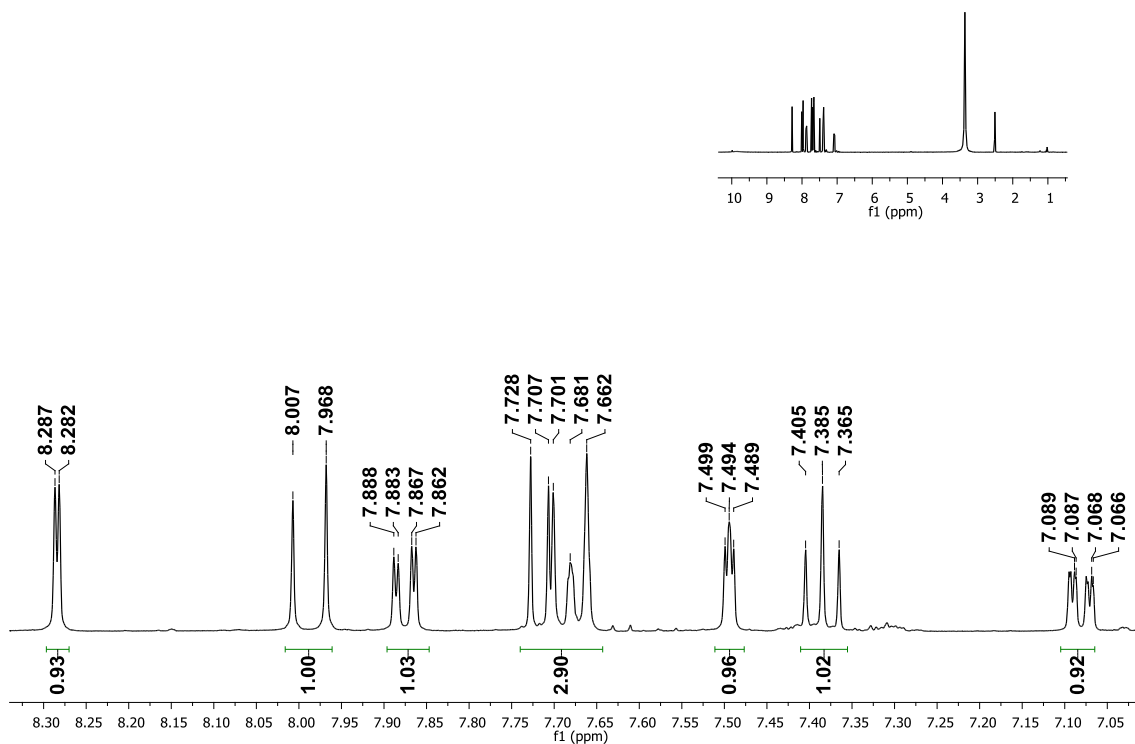
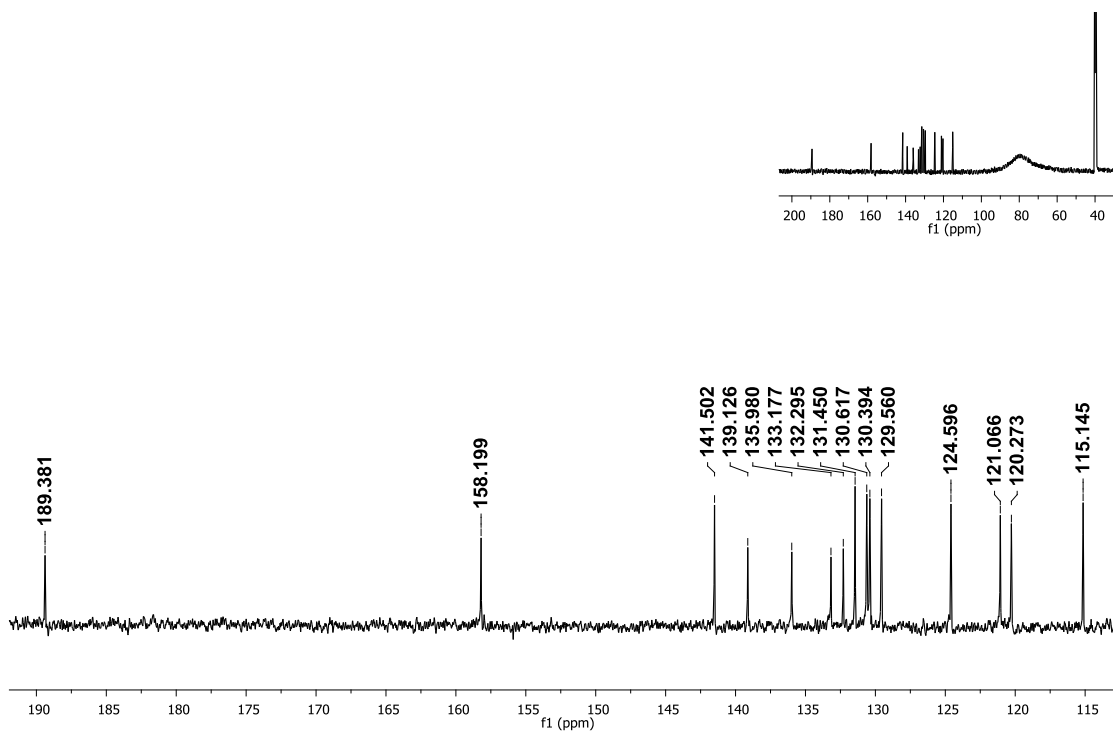
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H da substância **8** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 16.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **8** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

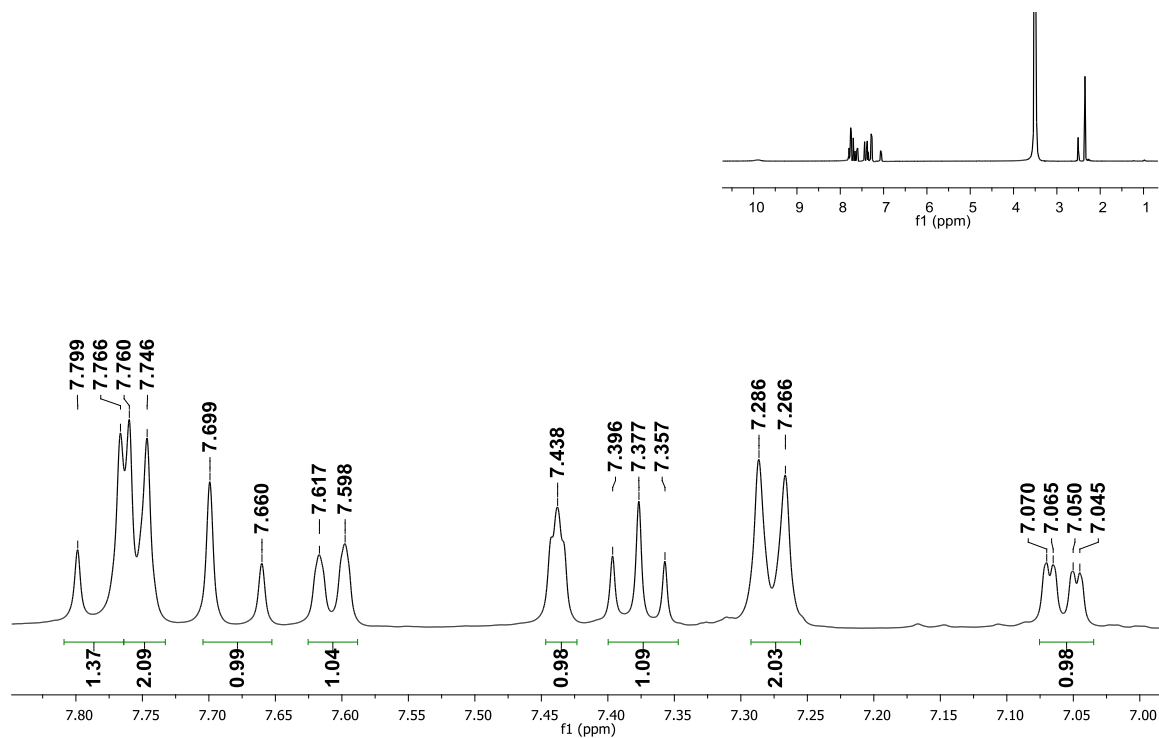
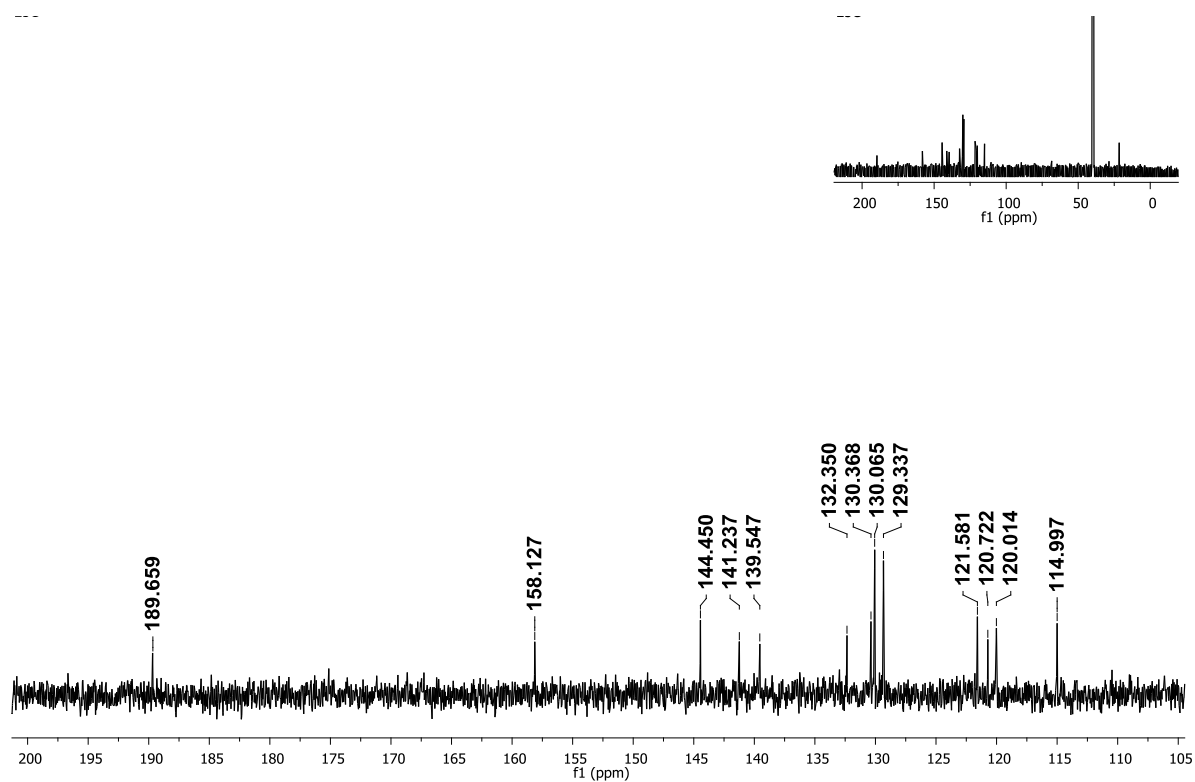
Anexo 17. Espectro de RMN de ^1H da substância **9 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)****Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **9** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)**

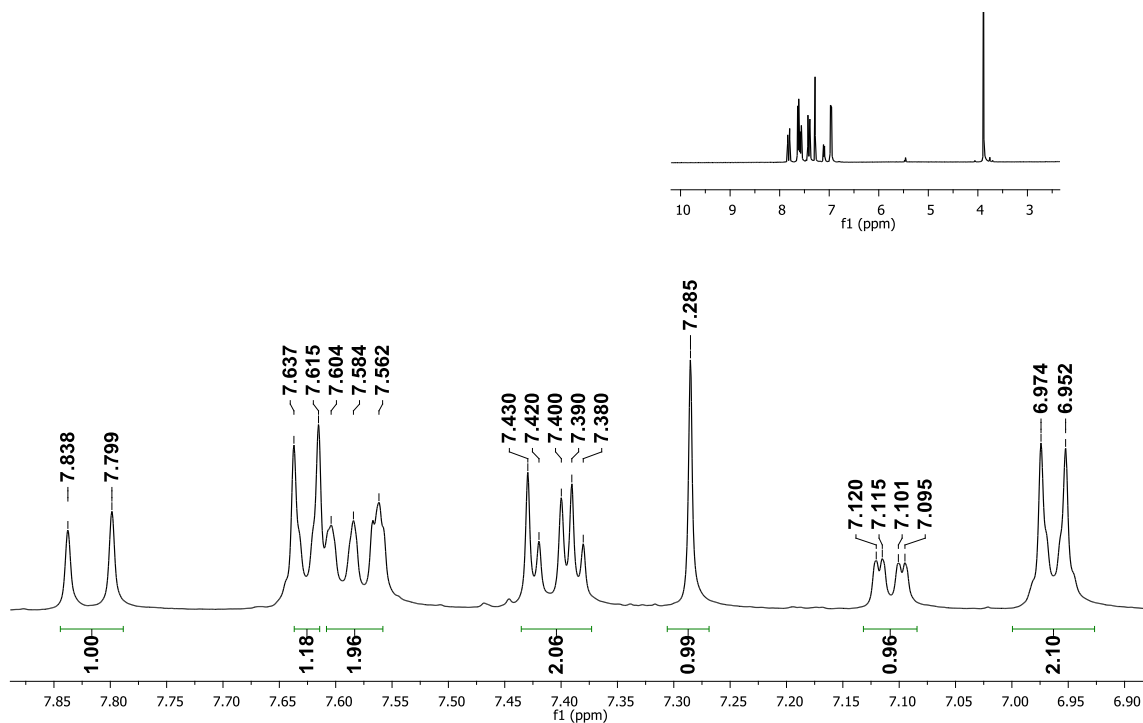
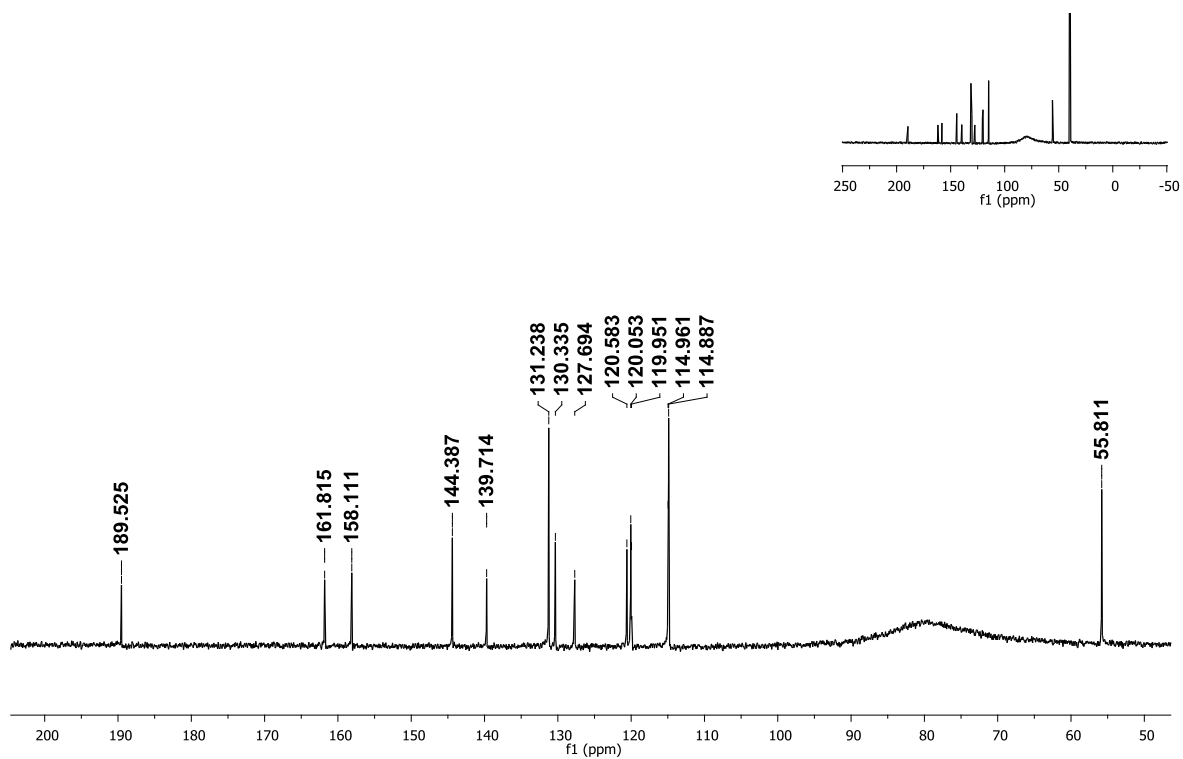
Anexo 19. Espectro de RMN de ^1H da substância **10** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)**Anexo 20.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **10** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

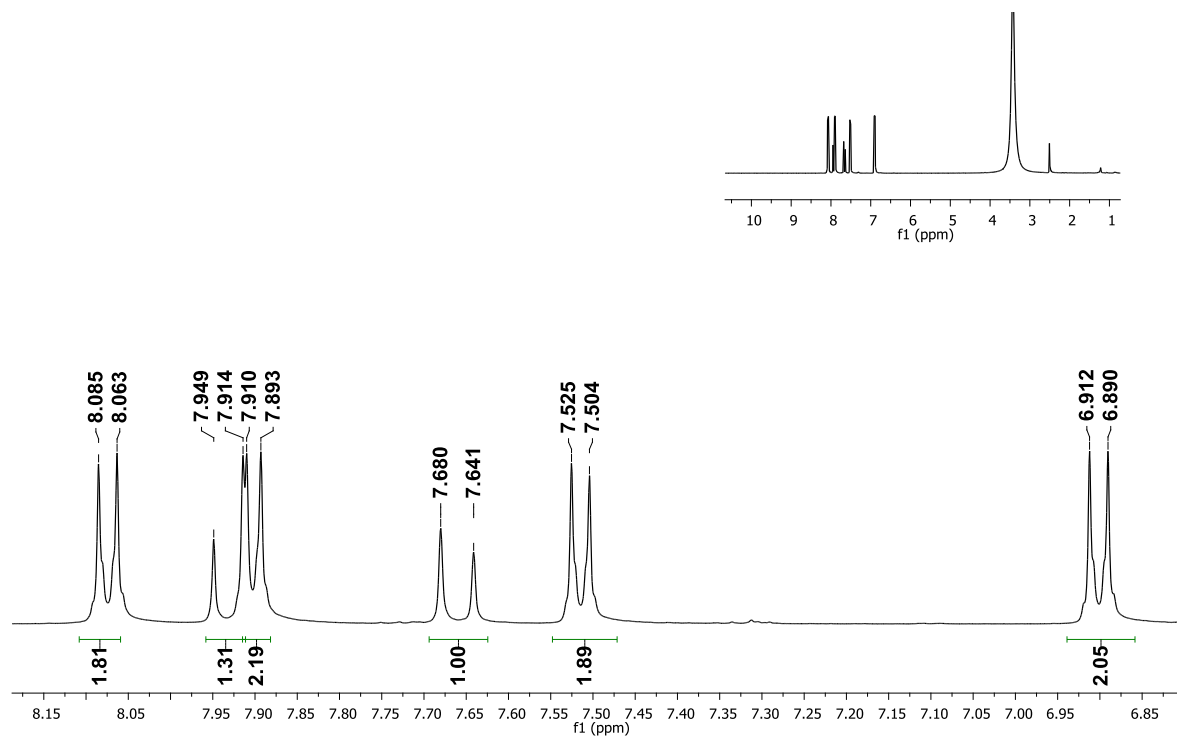
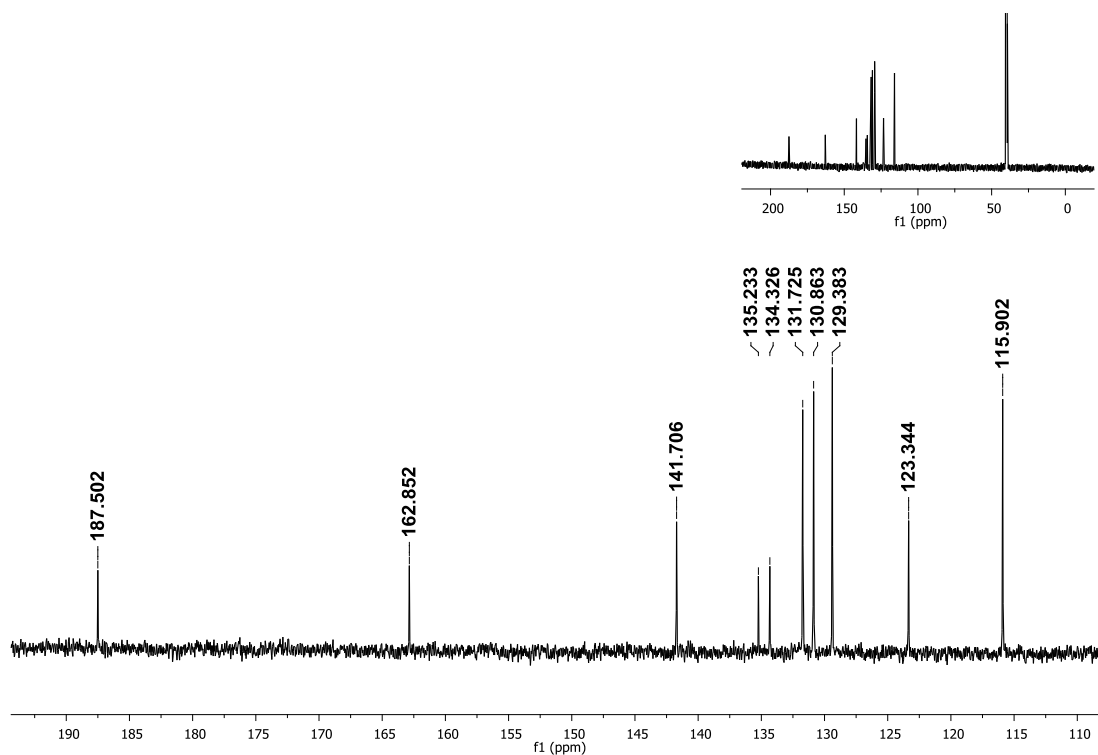
Anexo 21. Espectro de RMN de ^1H da substância **11** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)**Anexo 22.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **11** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

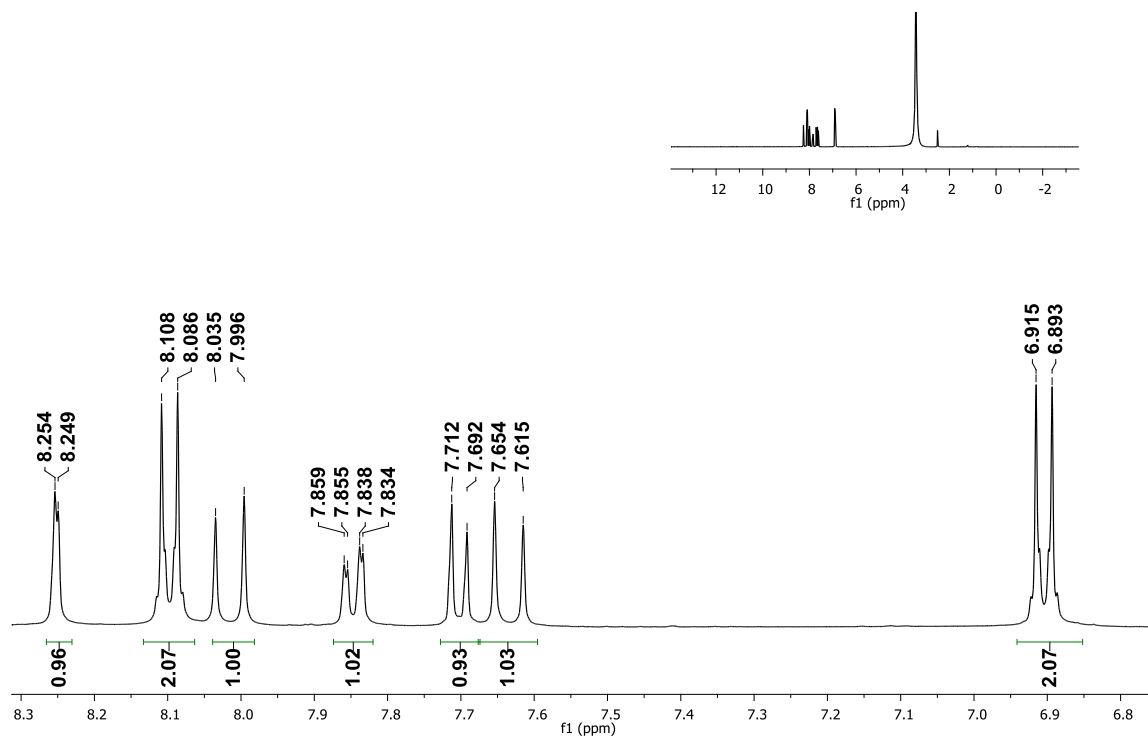
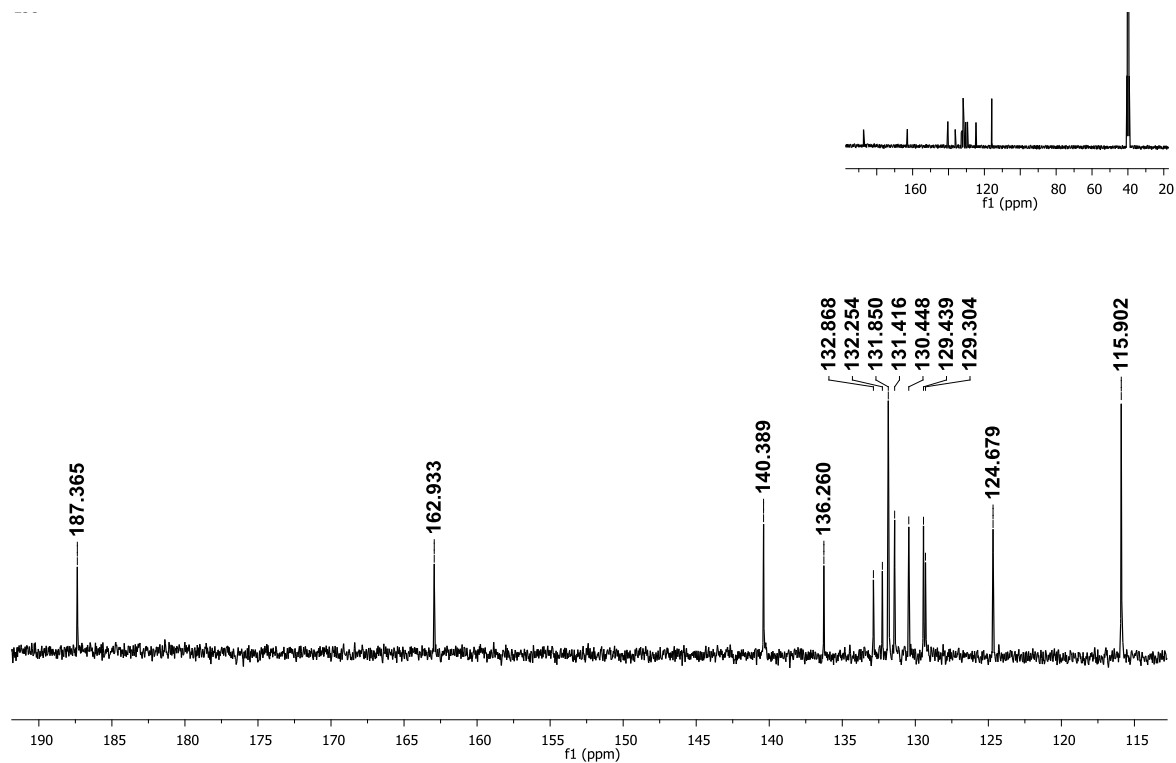
Anexo 23. Espectro de RMN de ^1H da substância **12** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 24.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **12** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

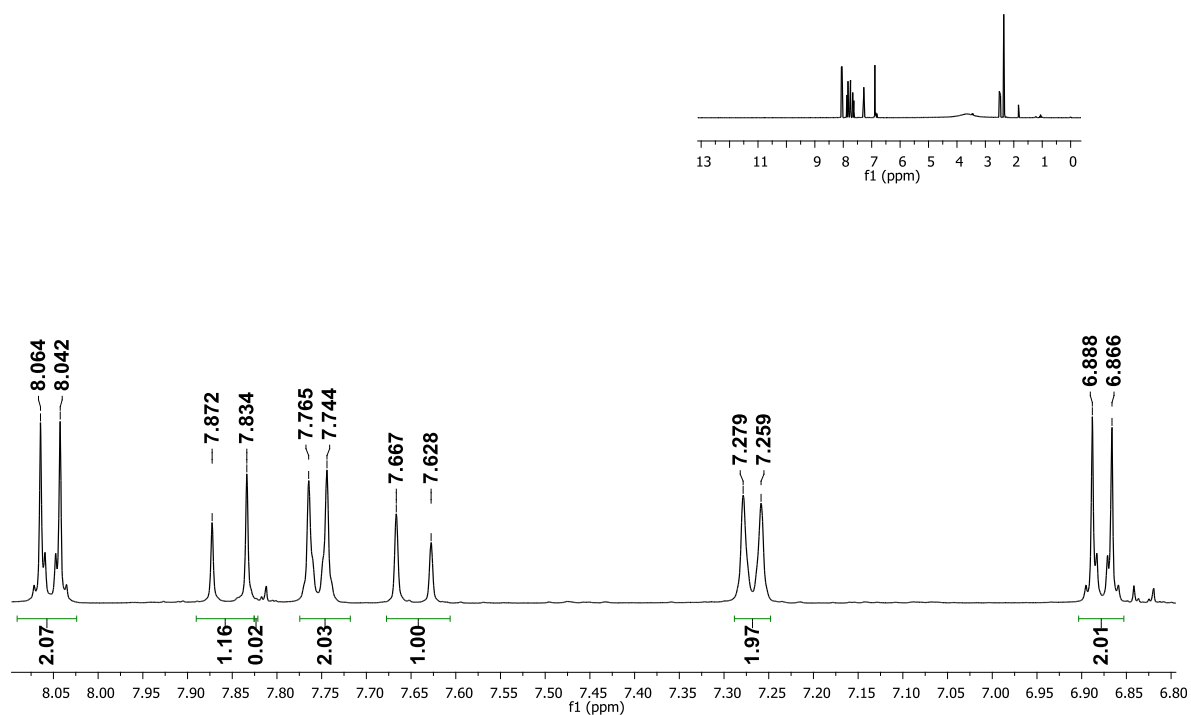
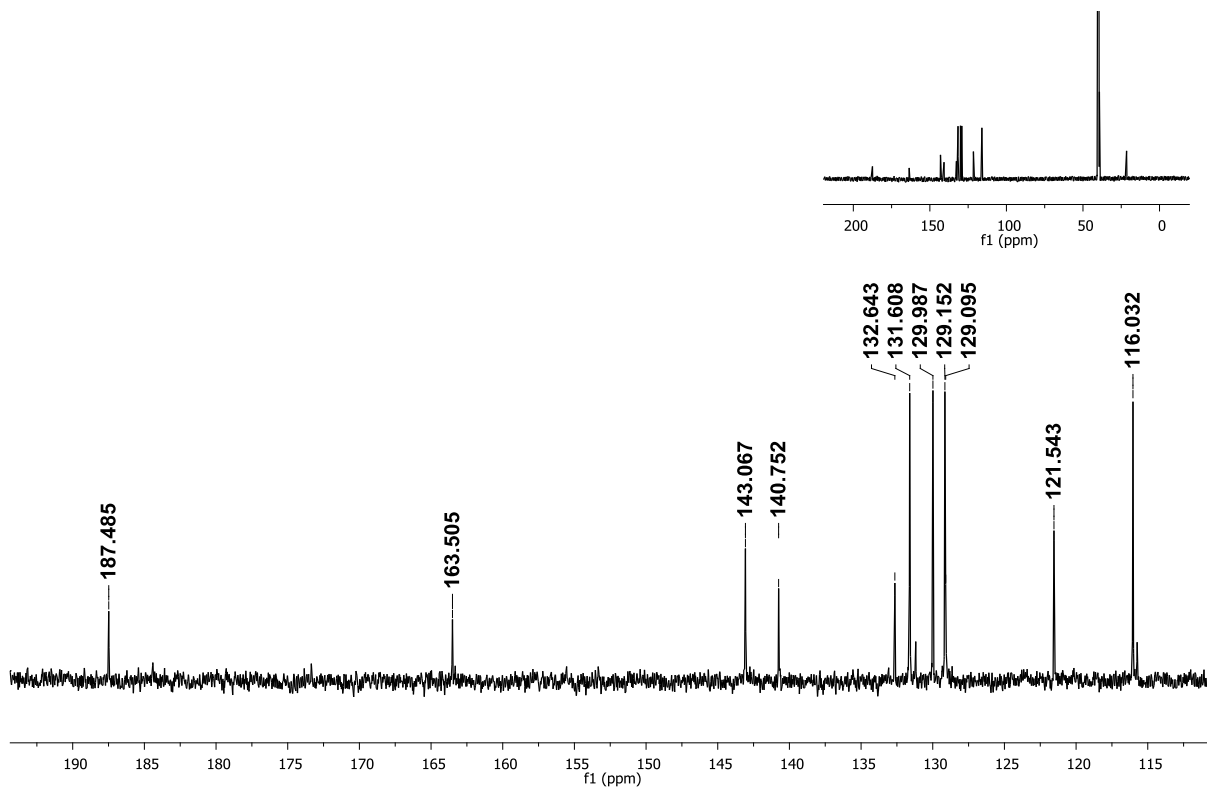
Anexo 25. Espectro de RMN de ^1H da substância **13 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)****Anexo 26. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **13** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)**

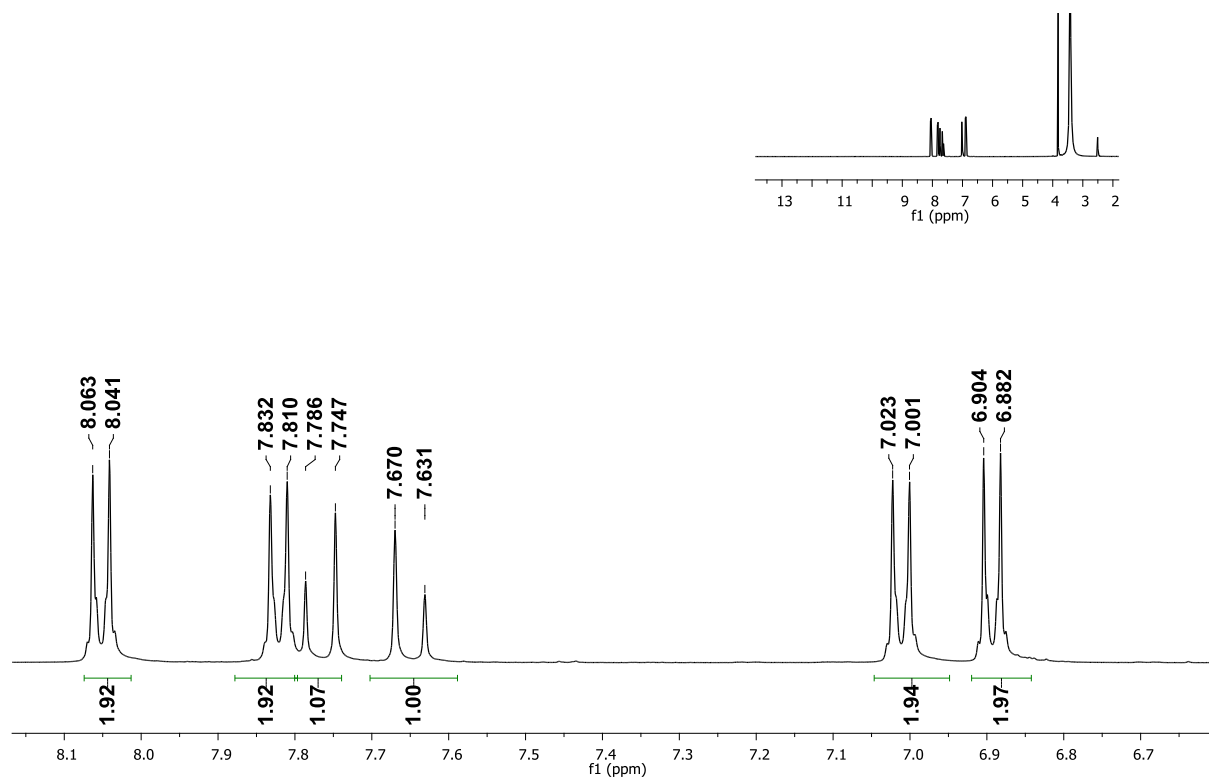
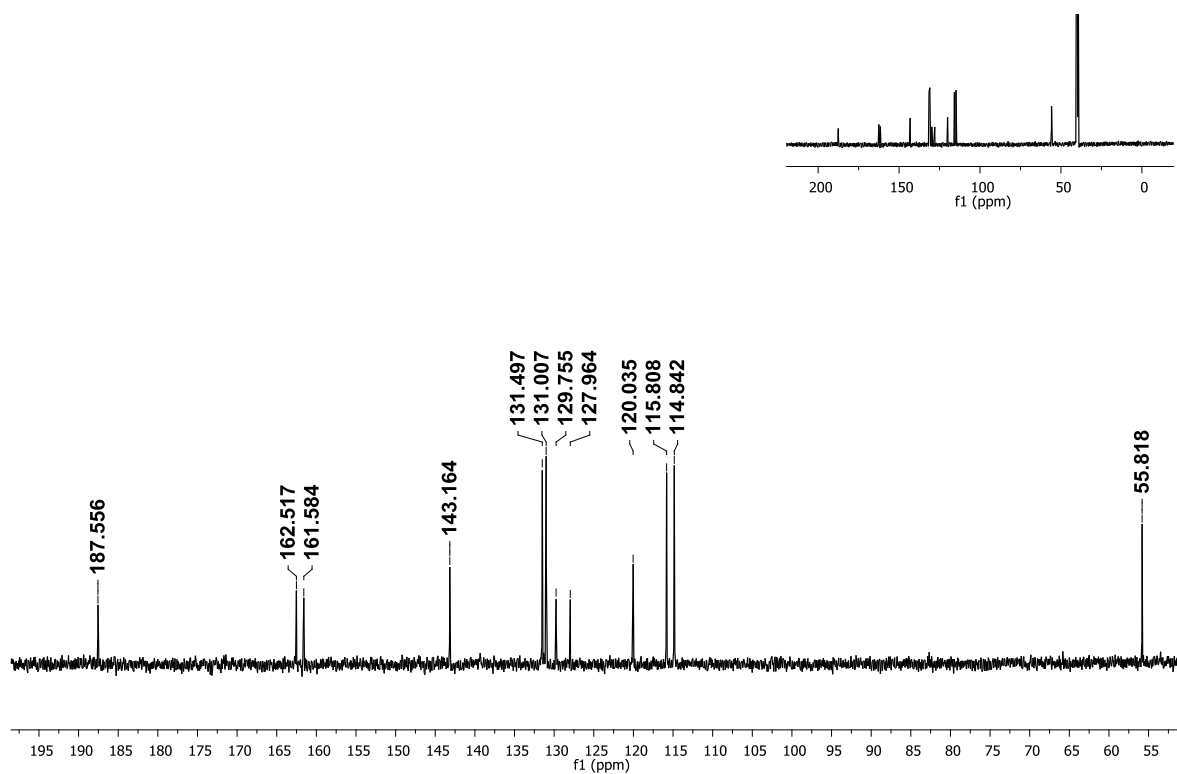
Anexo 27. Espectro de RMN de ^1H da substância **14** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)**Anexo 28.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **14** ($\text{DMSO-}d_6$; 100 MHz)

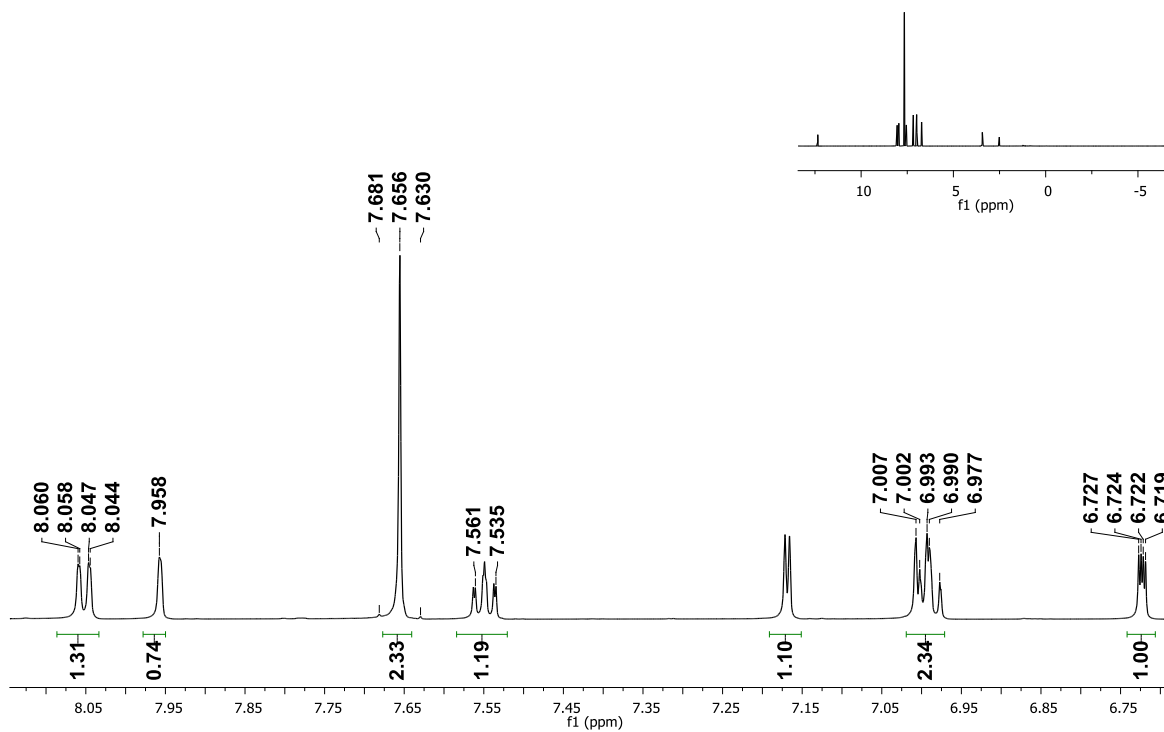
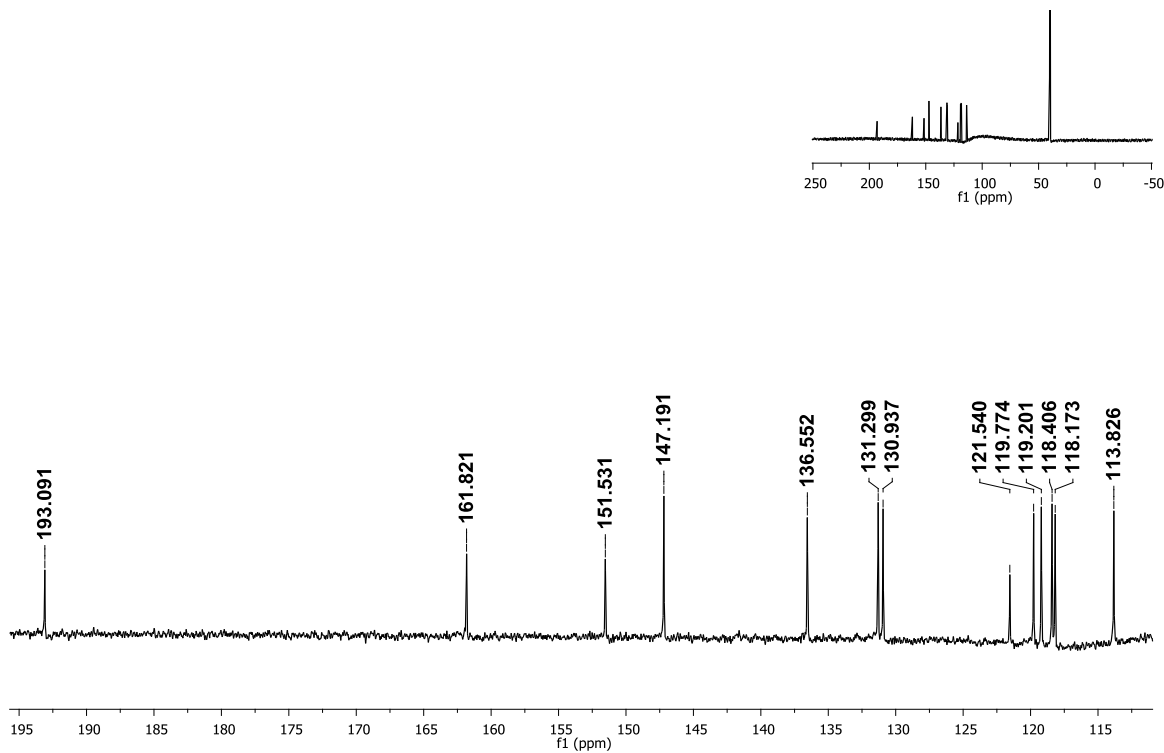
Anexo 29. Espectro de RMN de ^1H da substância **15** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 30.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **15** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

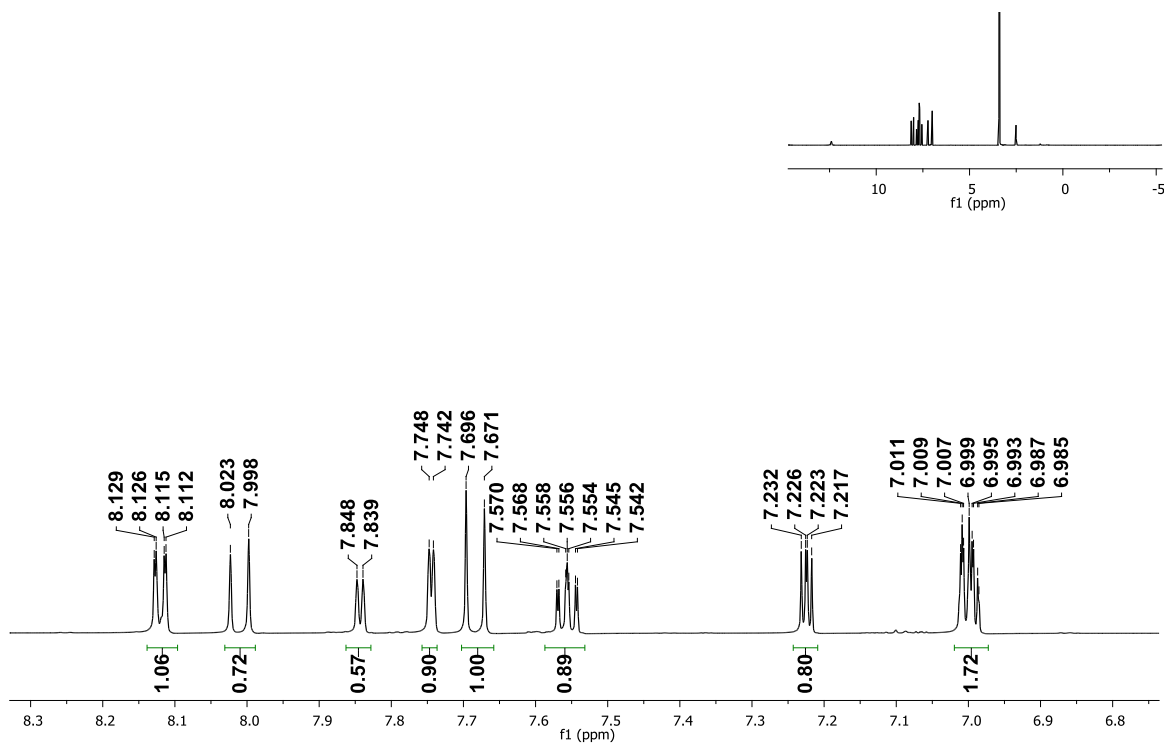
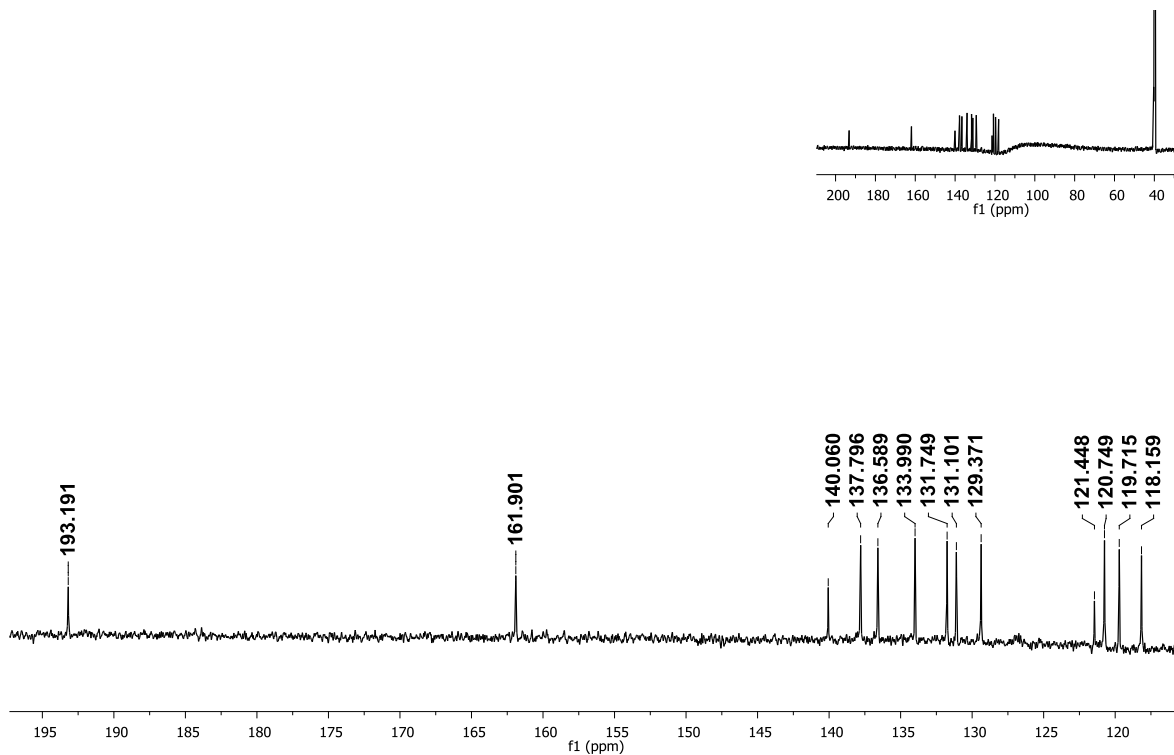
Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H da substância **16** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 32.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **16** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

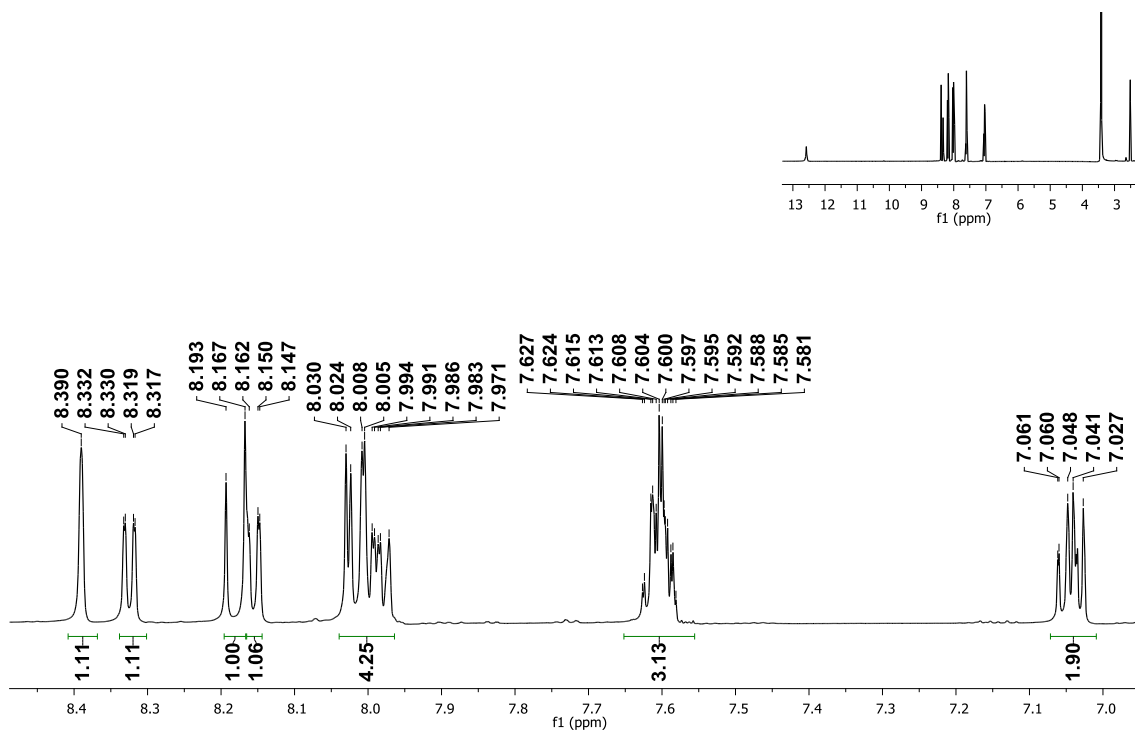
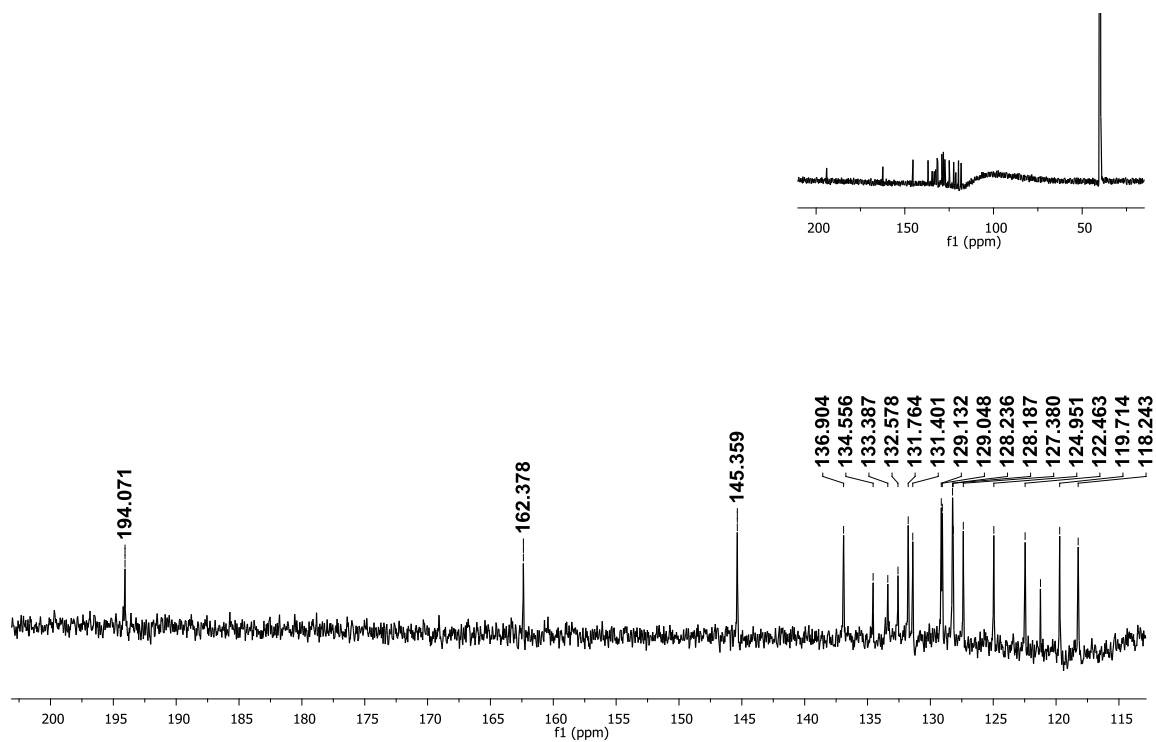
Anexo 33. Espectro de RMN de ^1H da substância **17** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 34.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **17** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

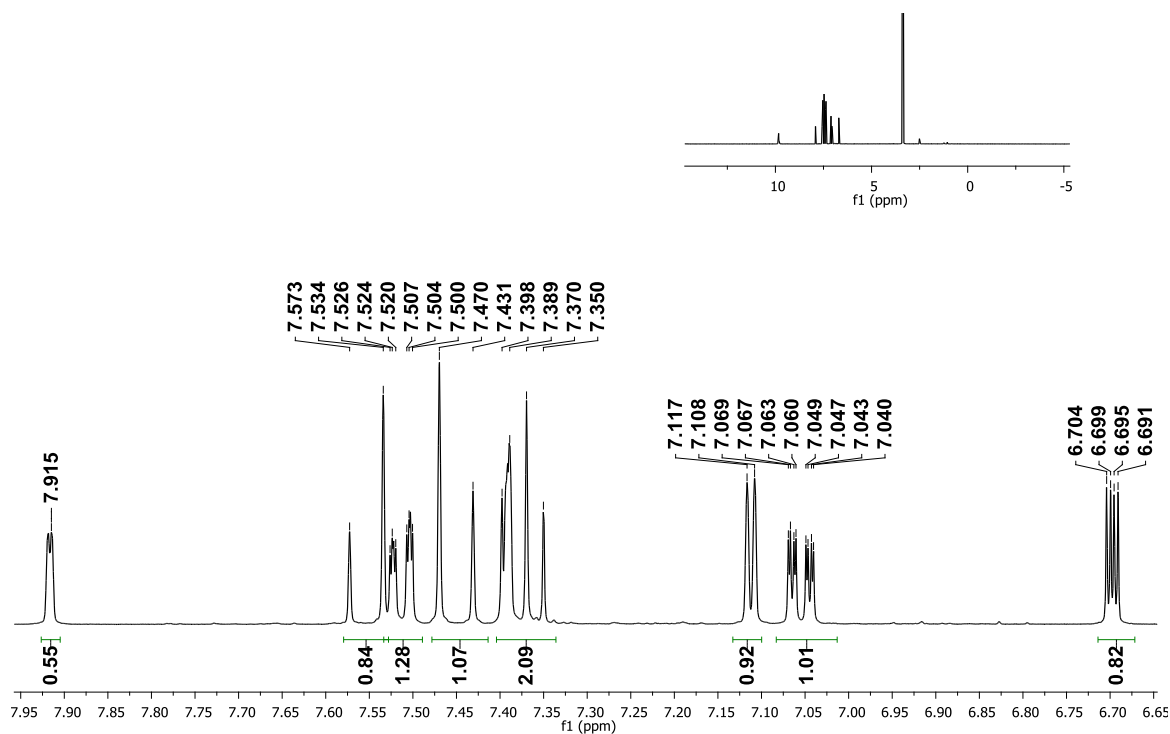
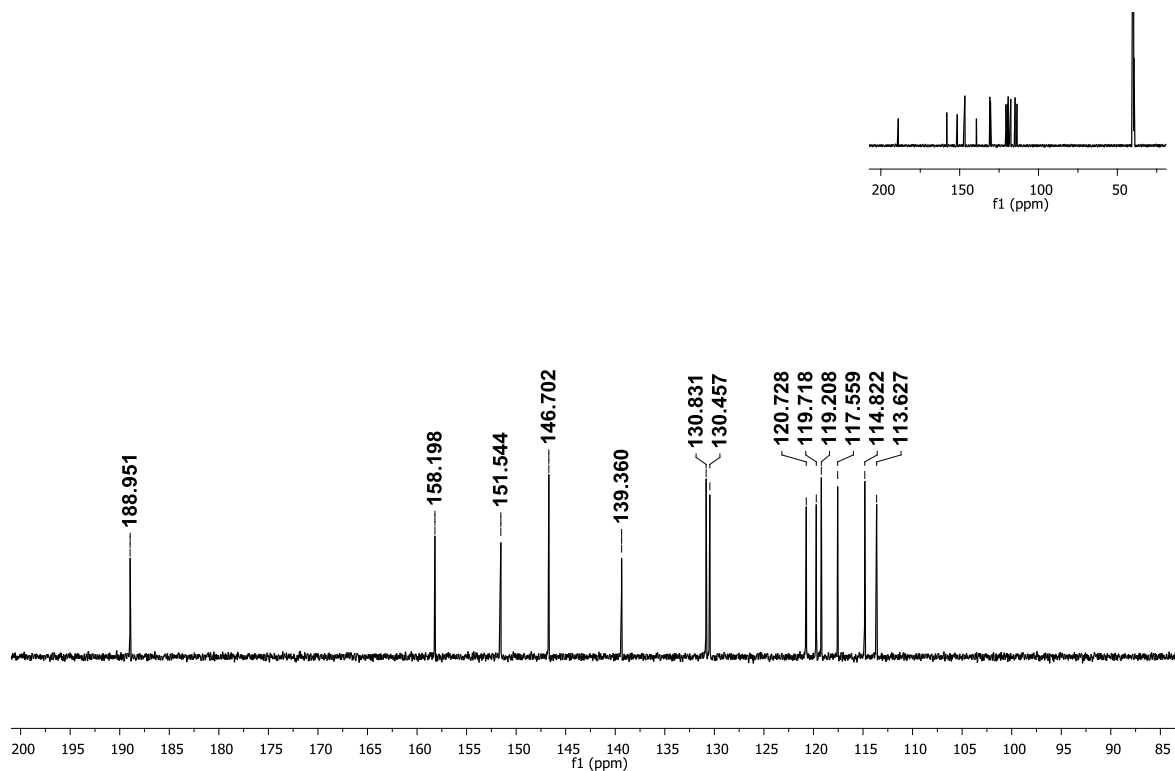
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H da substância **18** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 36.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **18** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

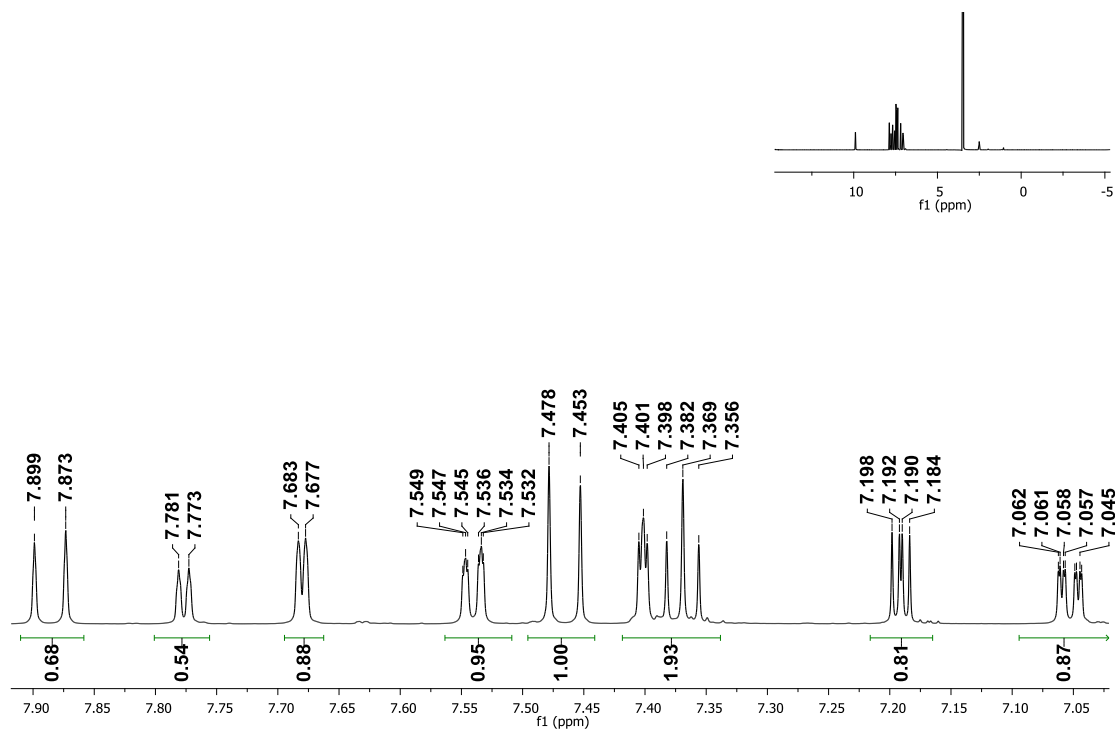
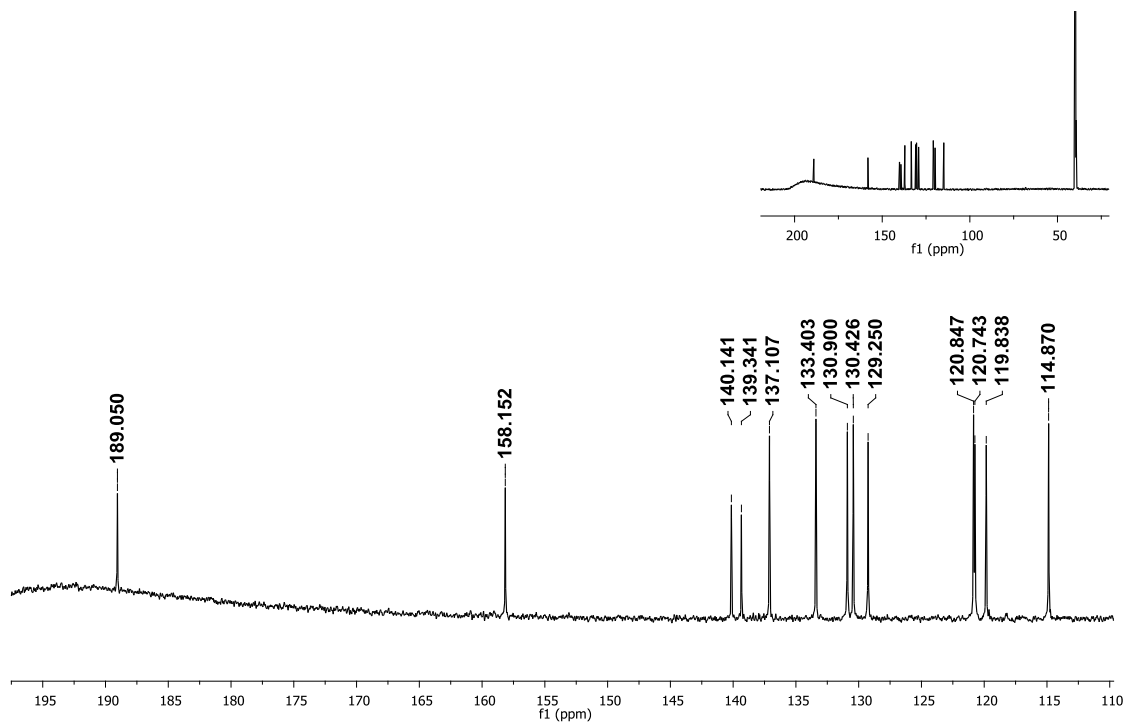
Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H da substância **19** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 38.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **19** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

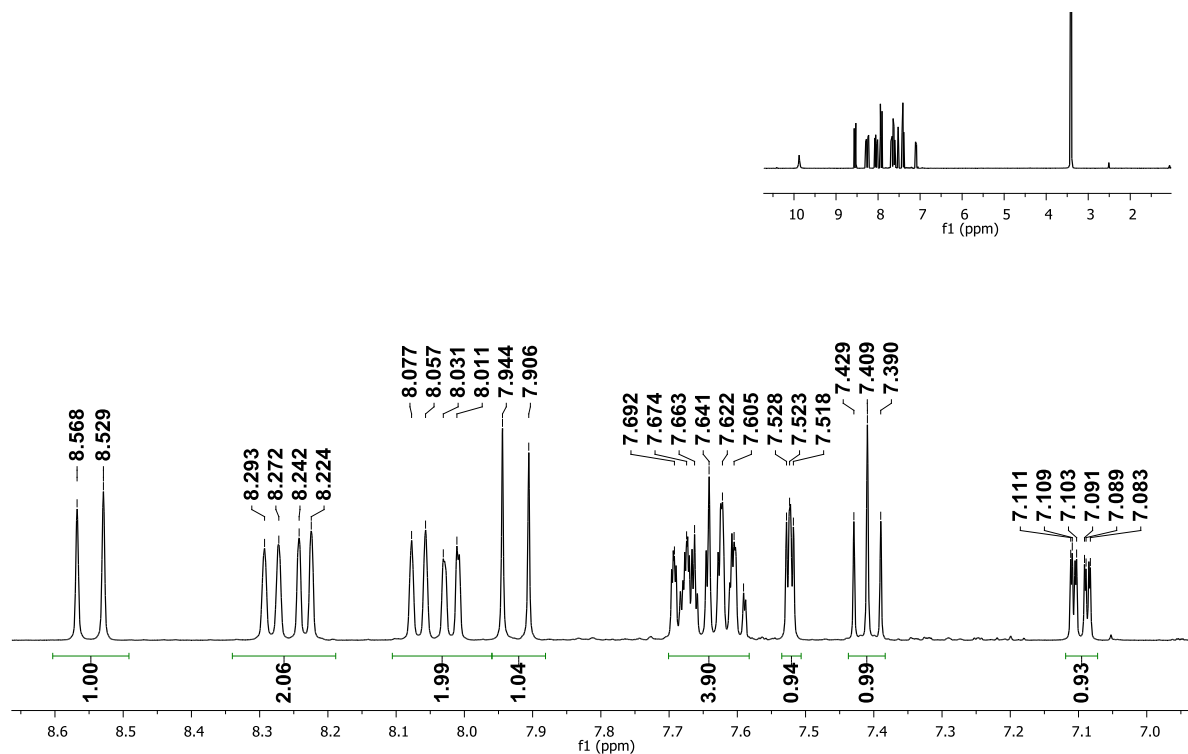
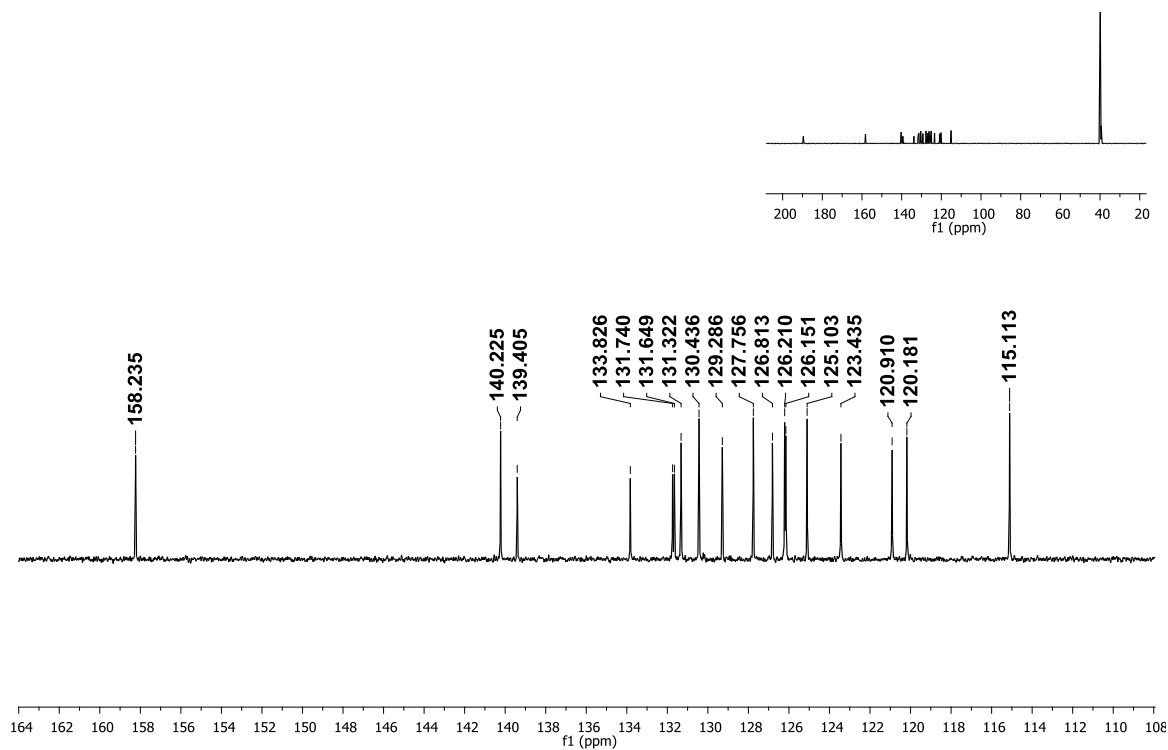
Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H da substância **20** ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz)**Anexo 40.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **20** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

Anexo 41. Espectro de RMN de ^1H da substância **21** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)**Anexo 42.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **21** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

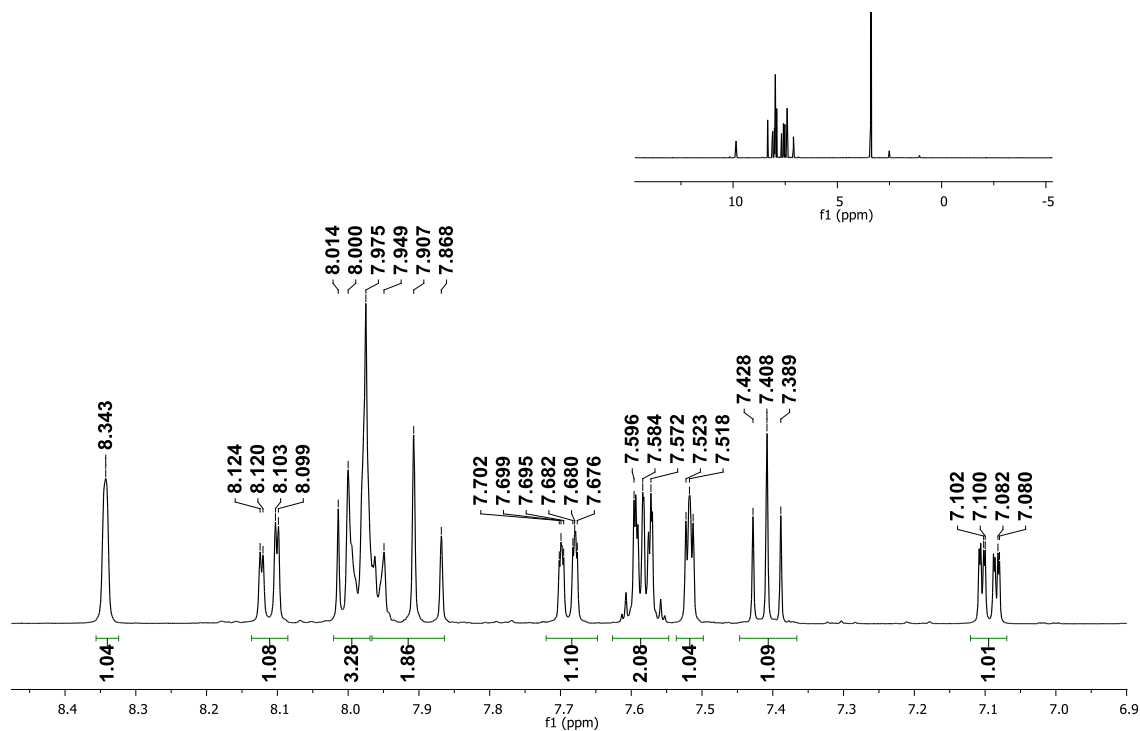
Anexo 43. Espectro de RMN de ^1H da substância **22** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)**Anexo 44.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **22** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

Anexo 45. Espectro de RMN de ^1H da substância **23** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 46.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **23** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

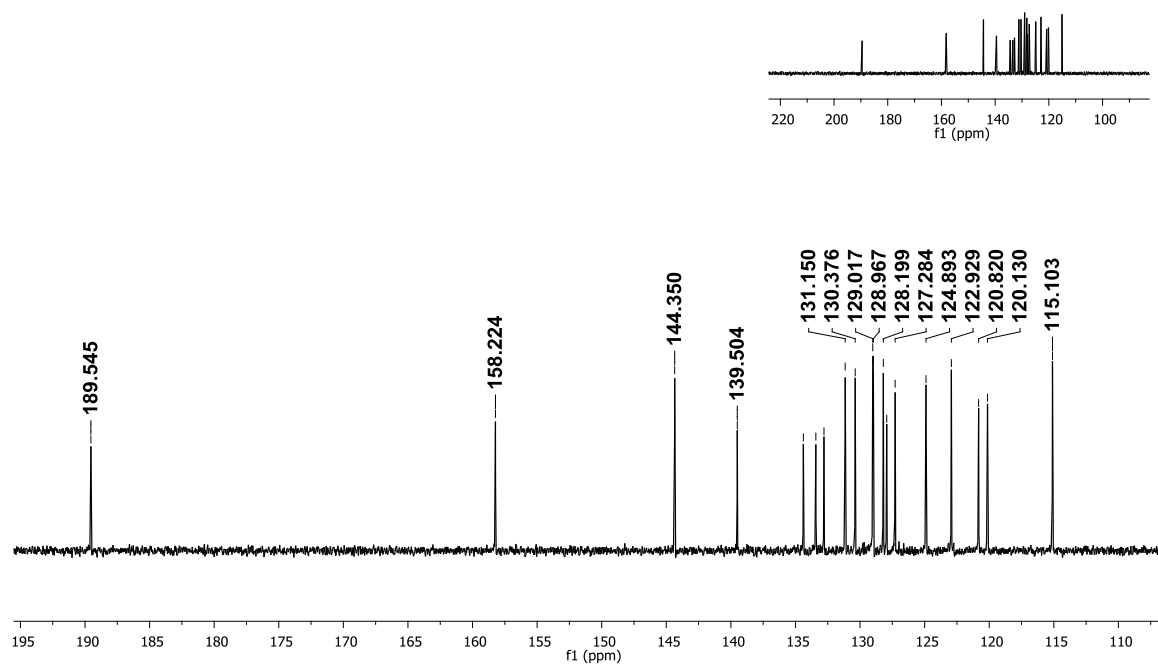
Anexo 47. Espectro de RMN de ^1H da substância **24** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)**Anexo 48.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **24** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

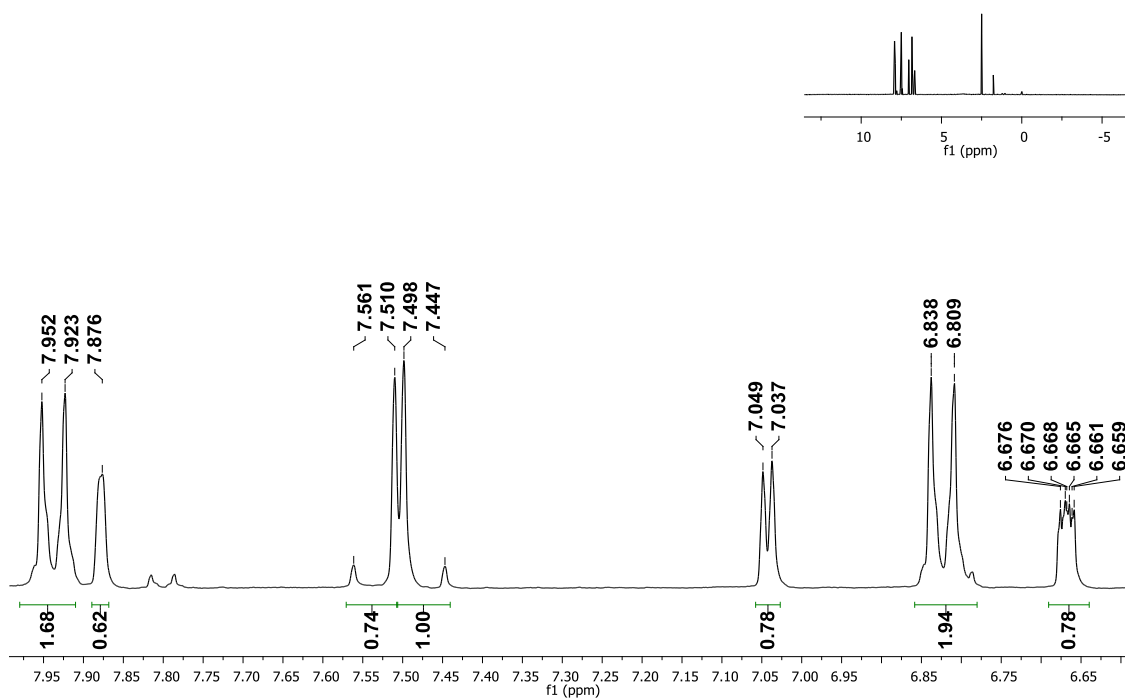
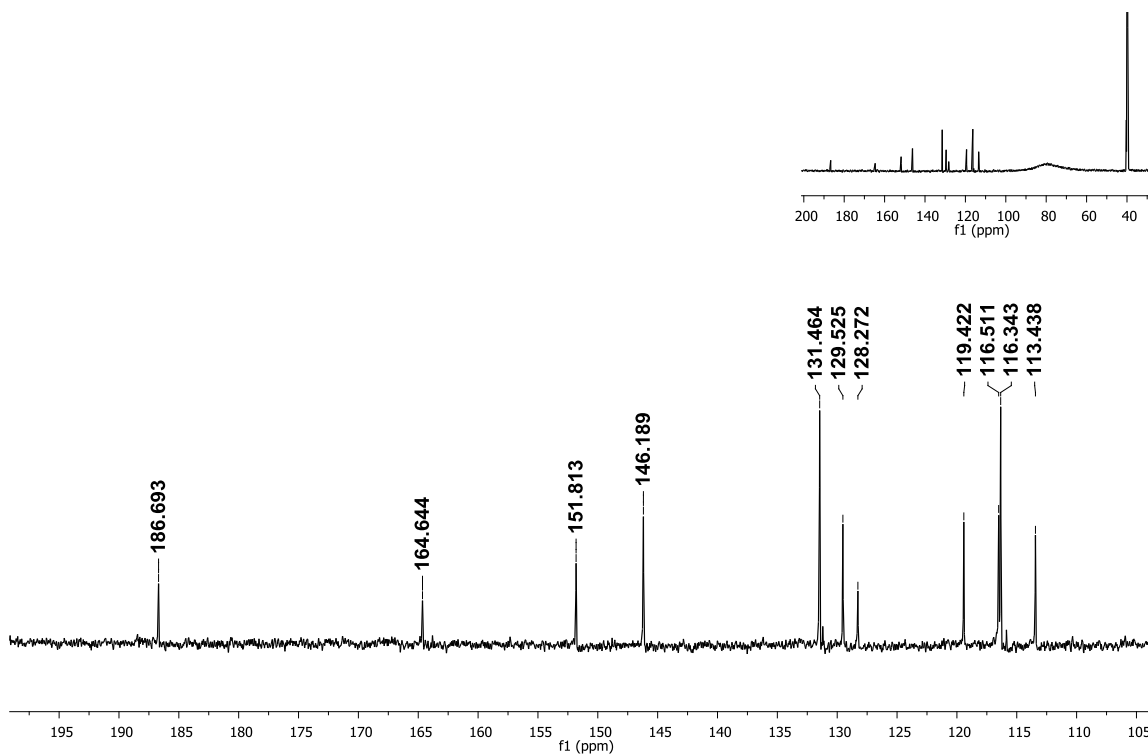
Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H da substância **25** ($\text{DMSO}-d_6$; 400 MHz)**Anexo 50.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **25** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

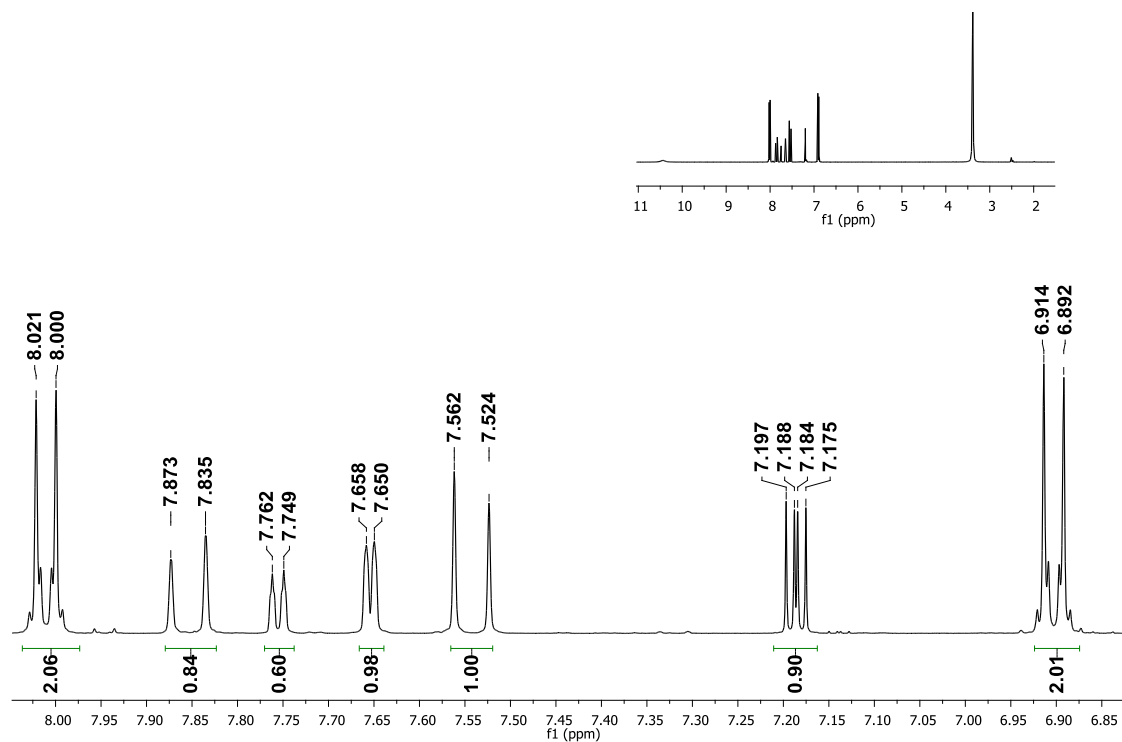
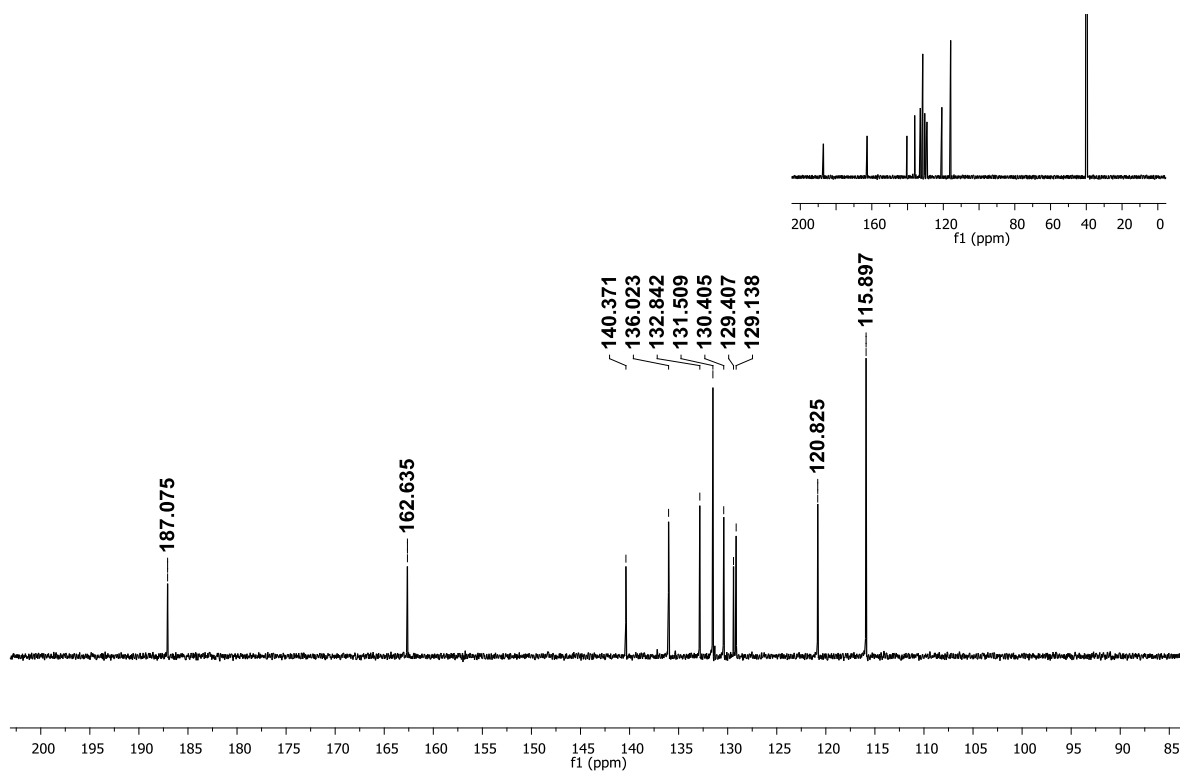
Anexo 51. Espectro de RMN de ^1H da substância **26** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



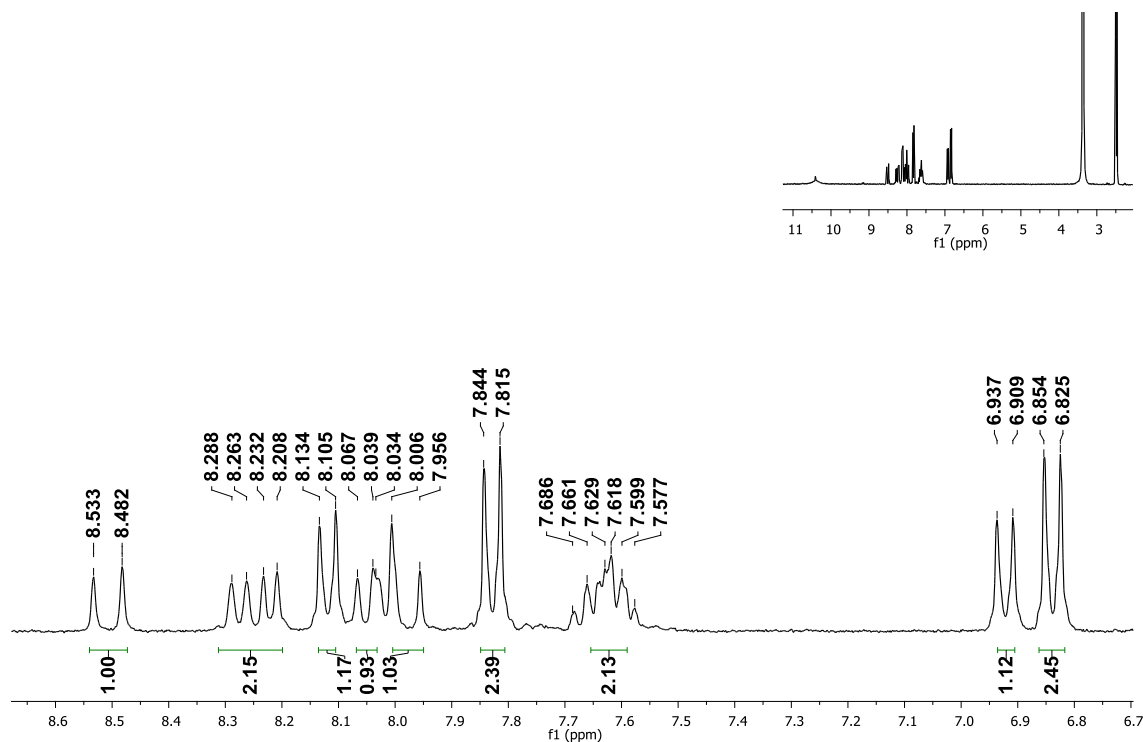
Anexo 52. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **26** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)



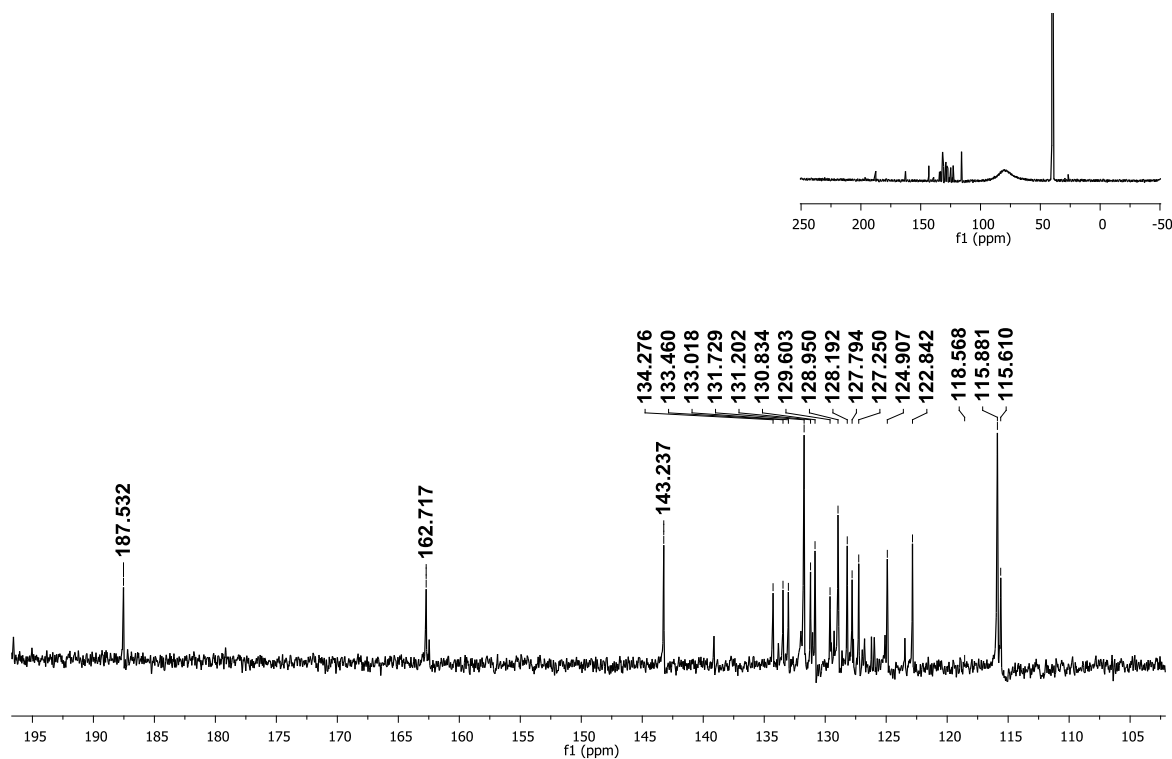
Anexo 53. Espectro de RMN de ^1H da substância **27** (DMSO- d_6 ; 300 MHz)**Anexo 54.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **27** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

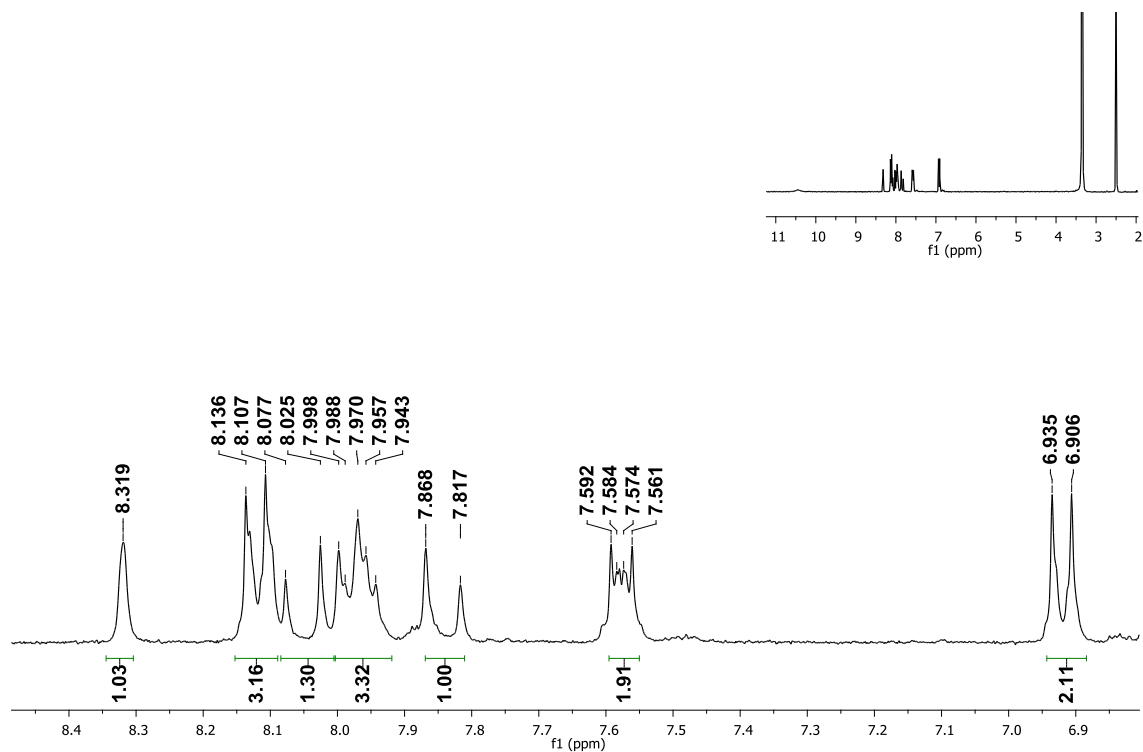
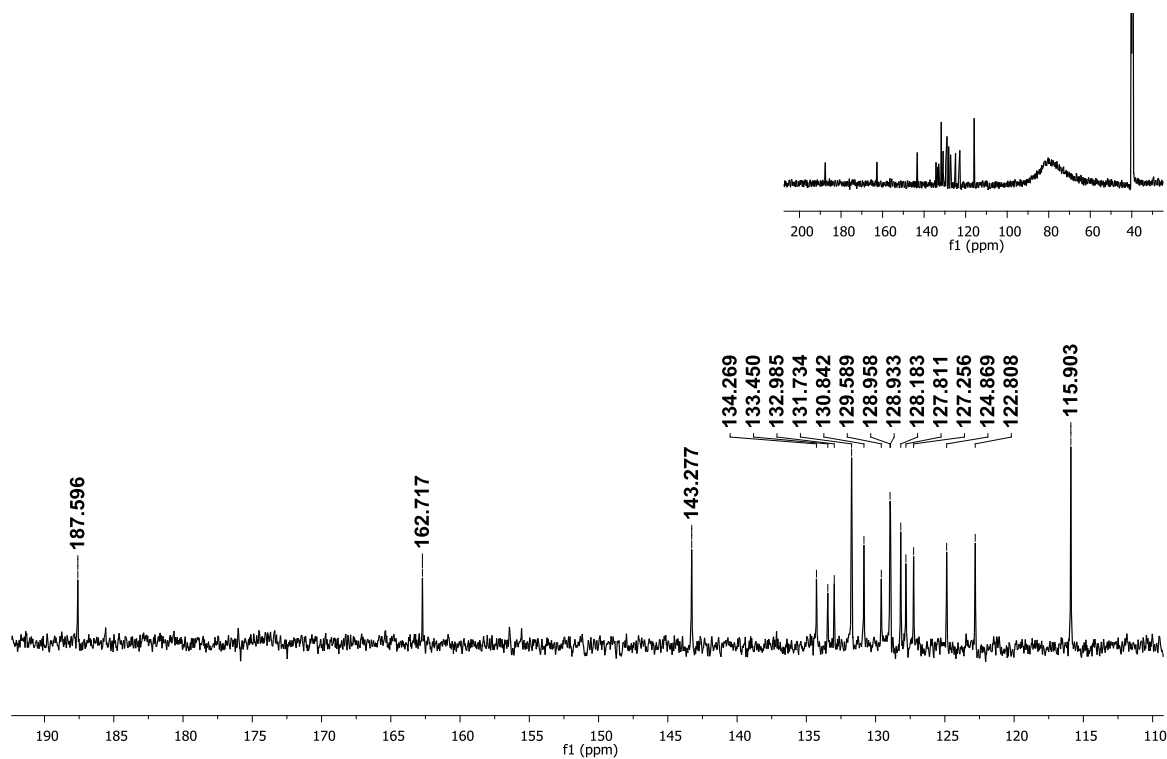
Anexo 55. Espectro de RMN de ^1H da substância **28** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)**Anexo 56.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **28** (DMSO- d_6 ; 100 MHz)

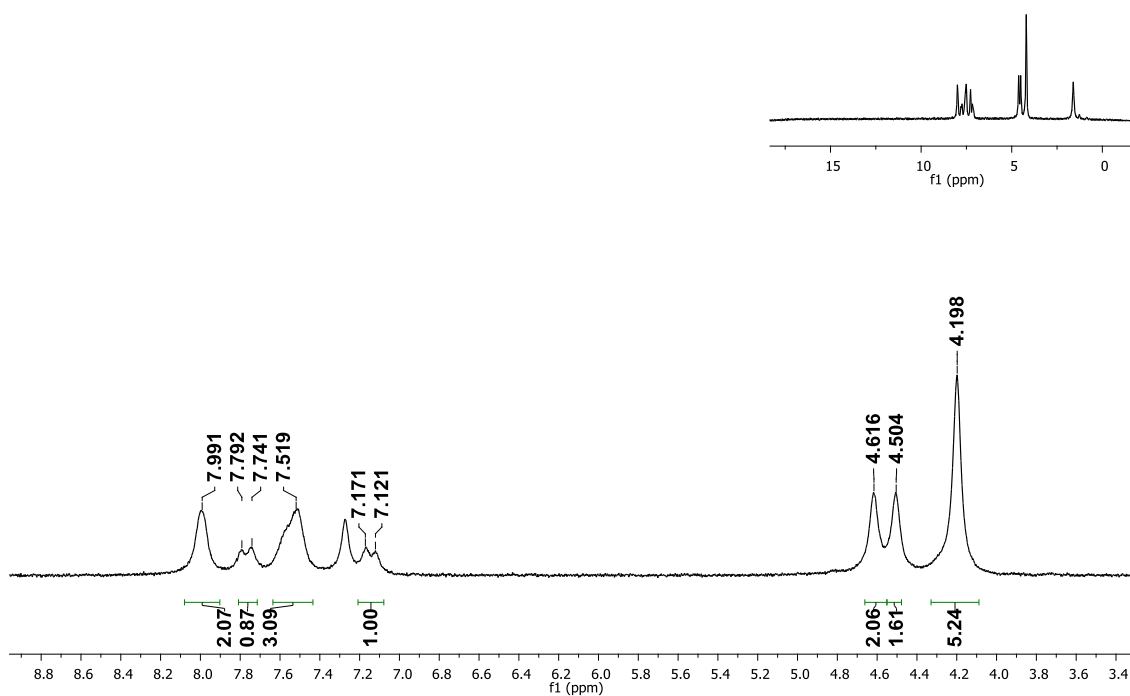
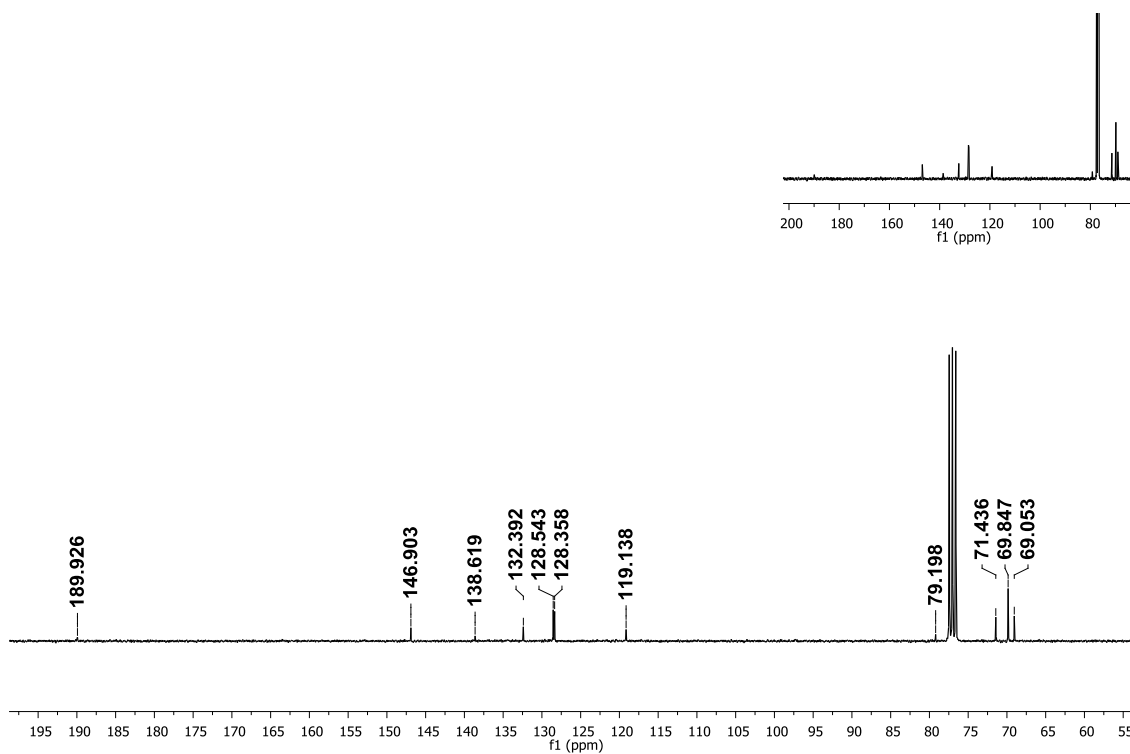
Anexo 57. Espectro de RMN de ^1H da substância **29** ($\text{DMSO}-d_6$; 300 MHz)

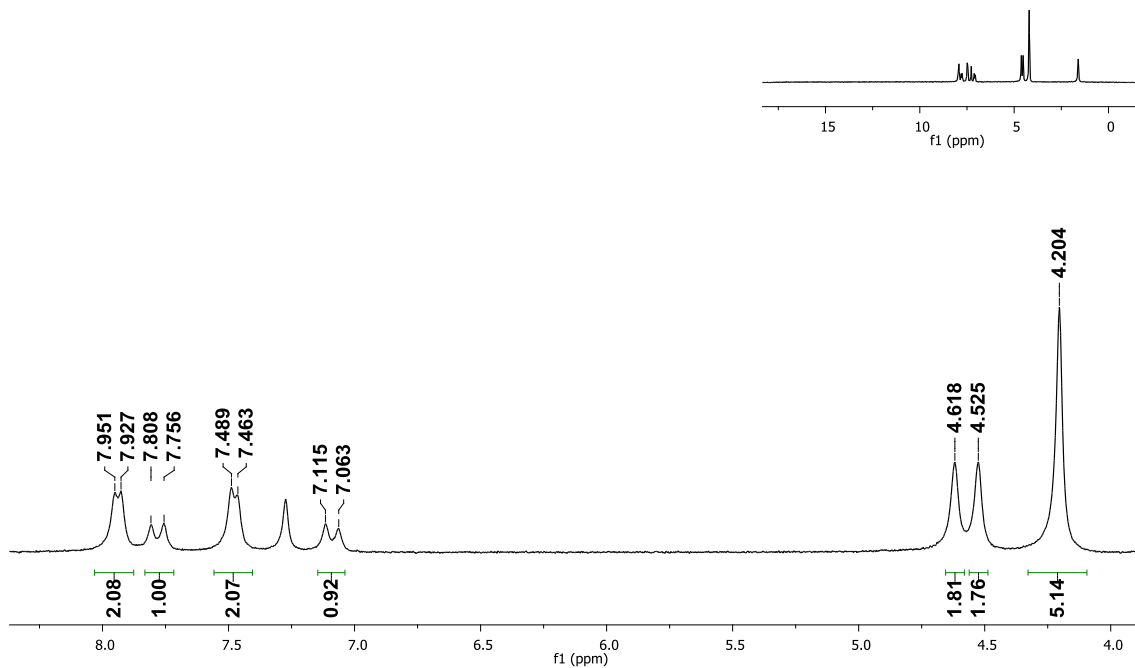
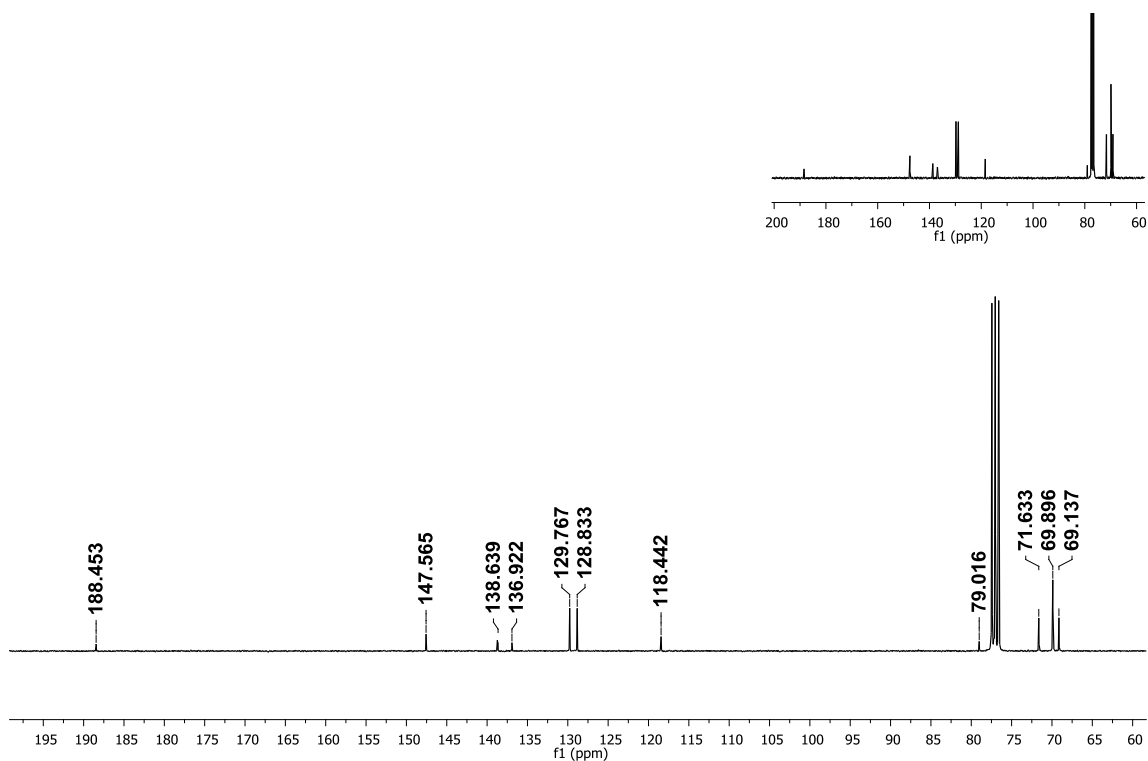


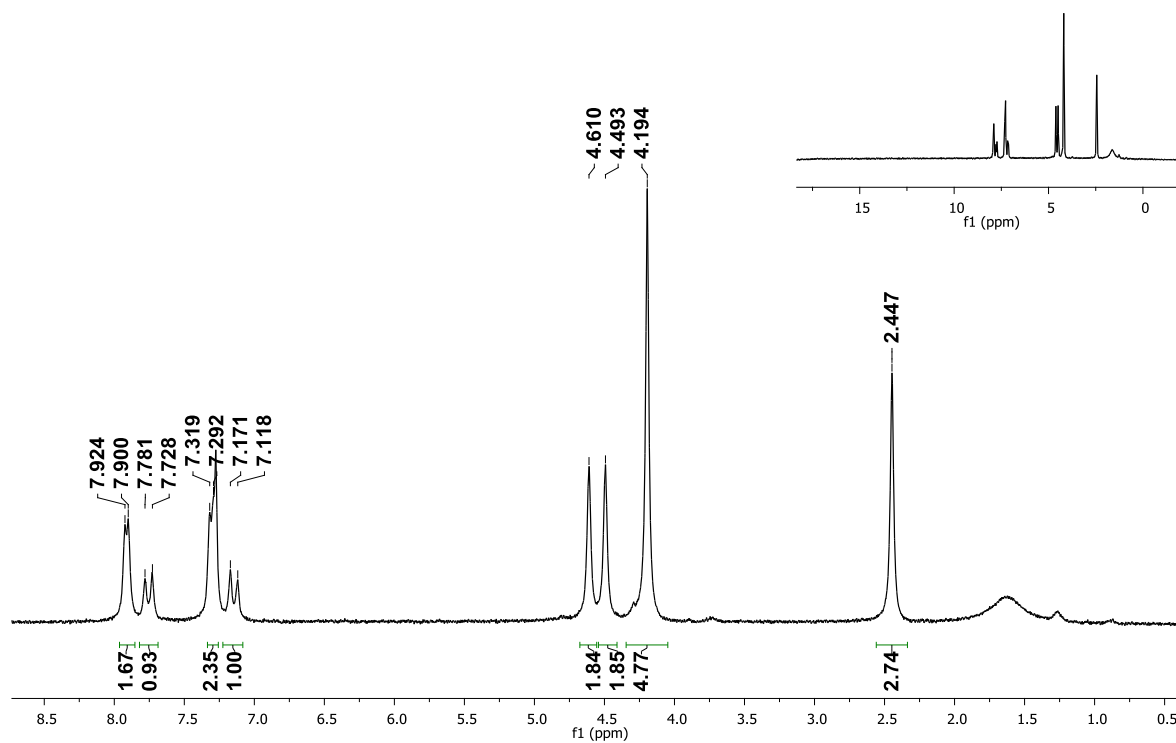
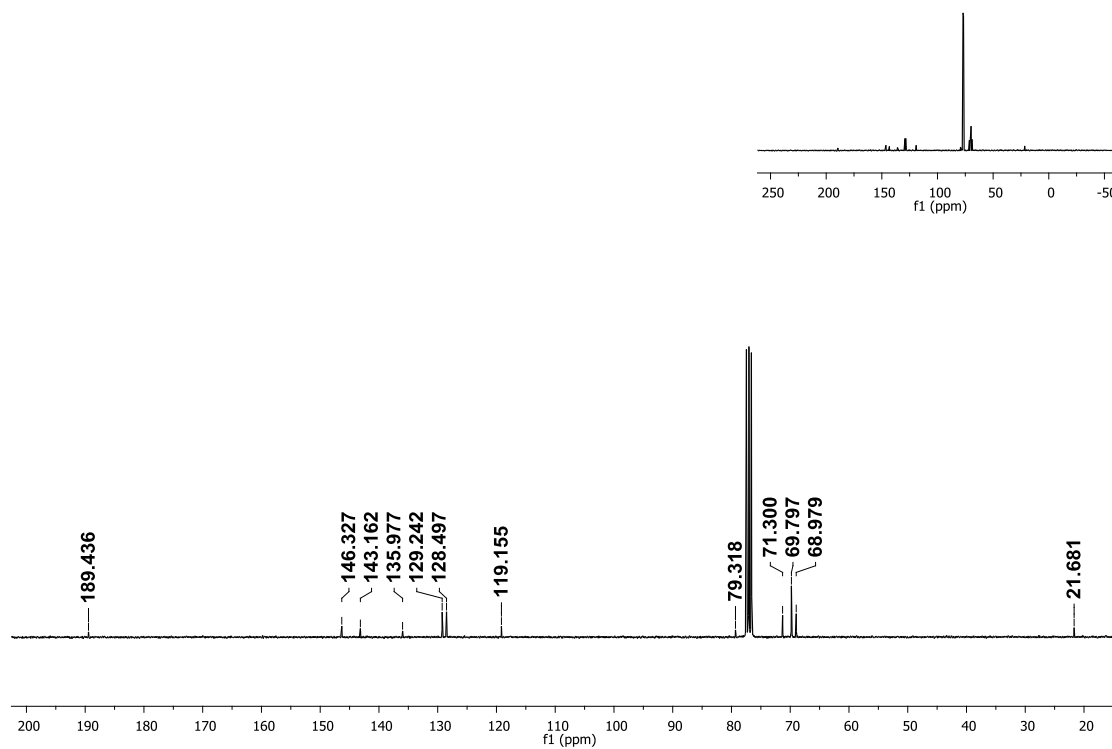
Anexo 58. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **29** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

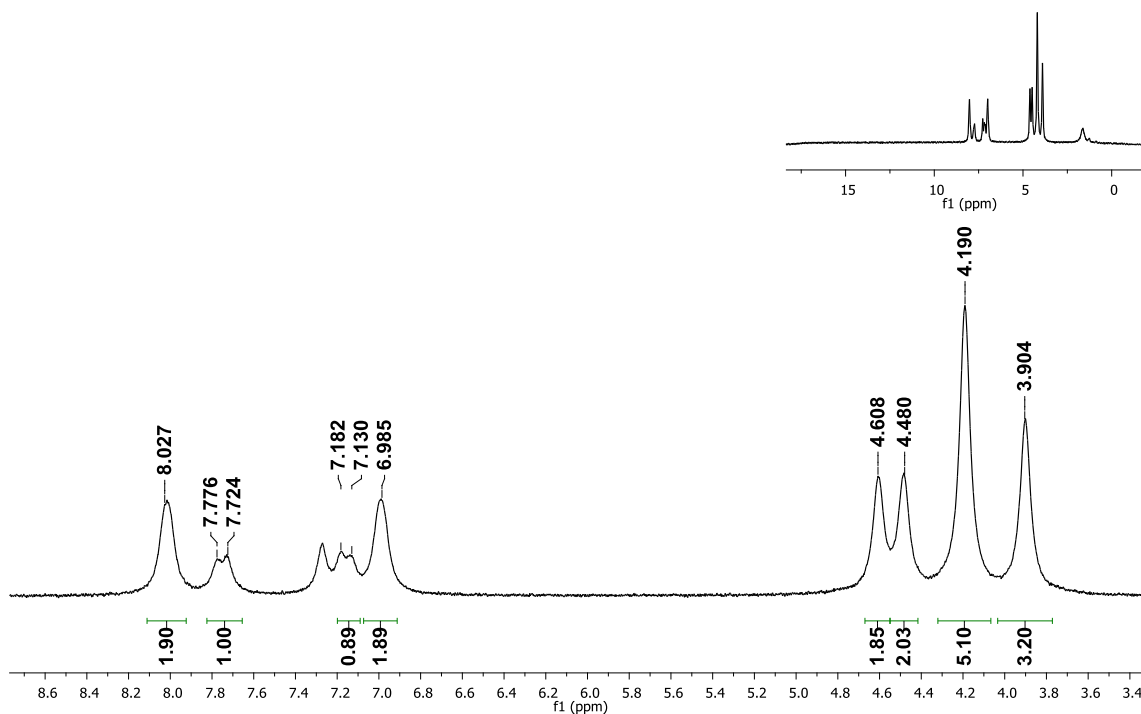
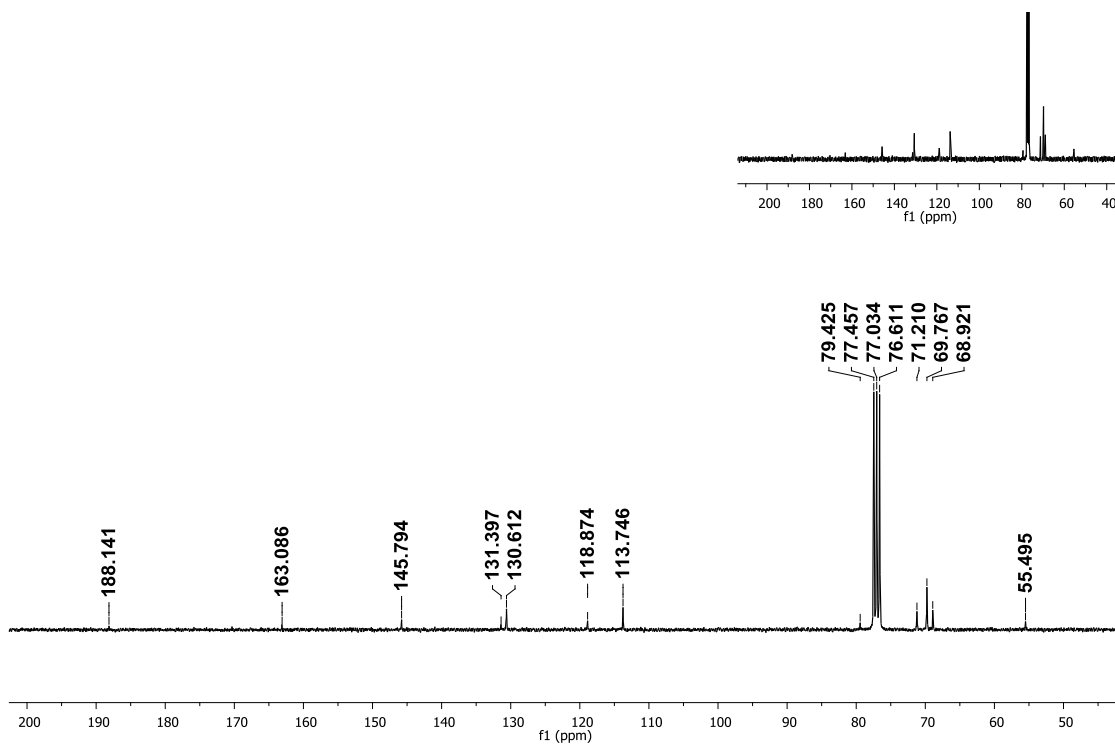


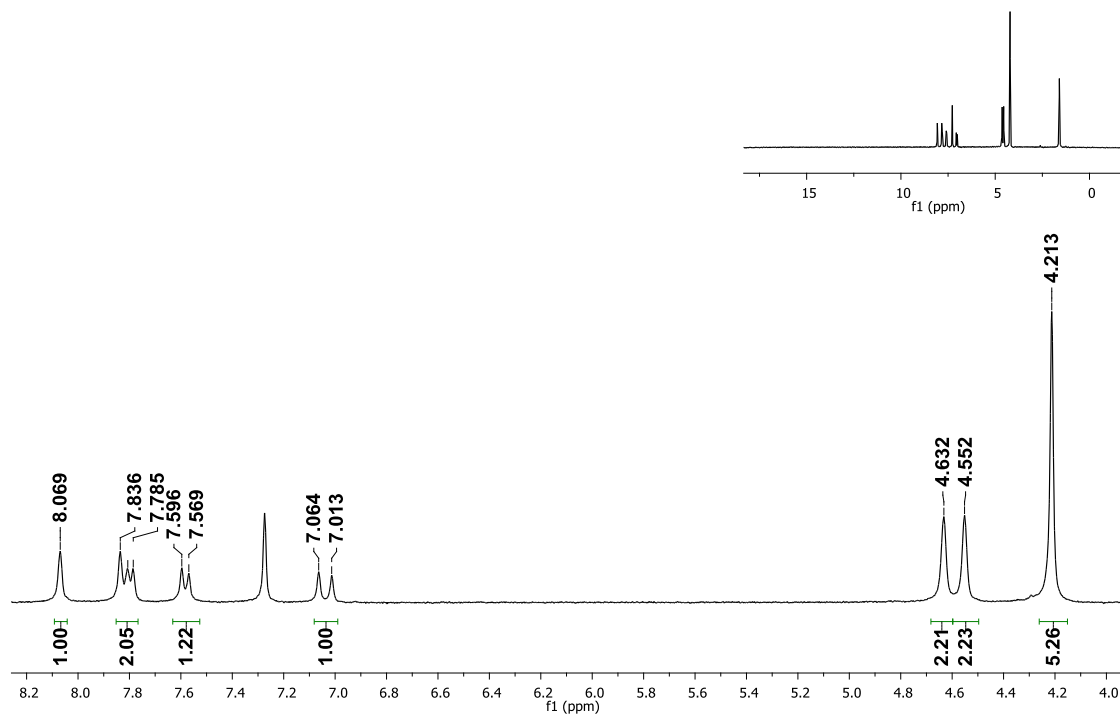
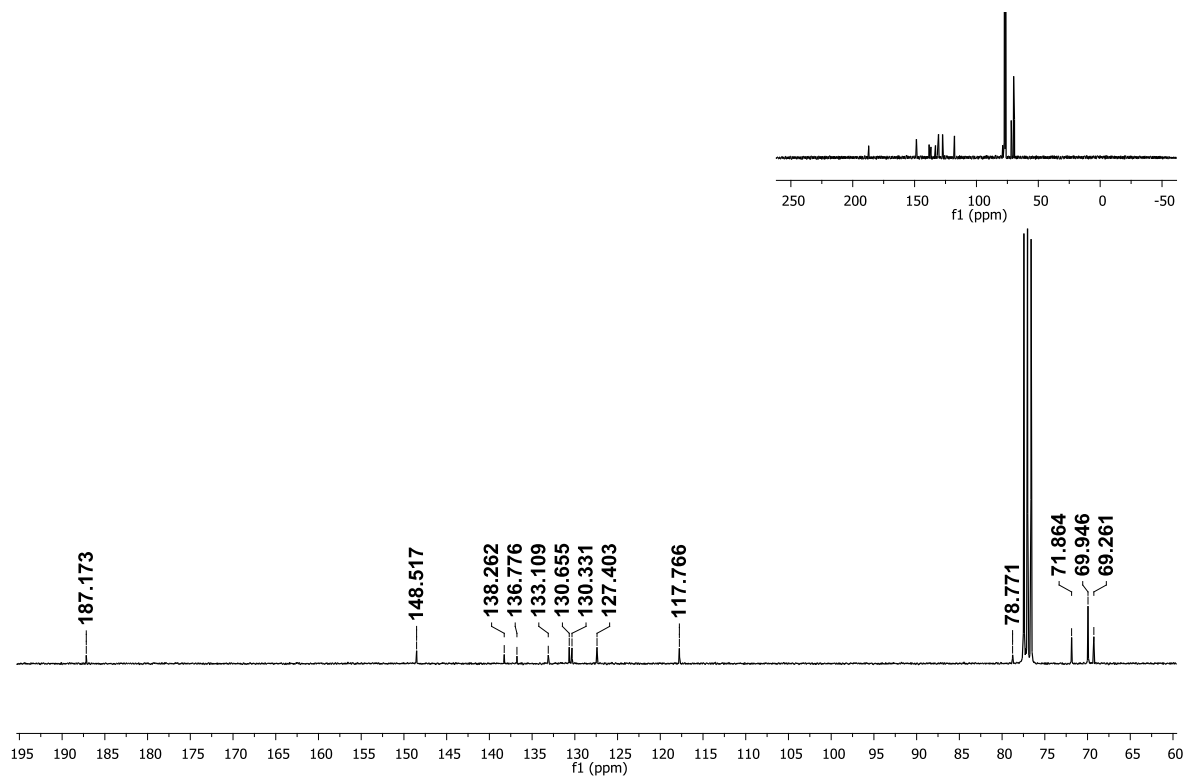
Anexo 59. Espectro de RMN de ^1H da substância **30** ($\text{DMSO}-d_6$; 300 MHz)**Anexo 60.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **30** ($\text{DMSO}-d_6$; 100 MHz)

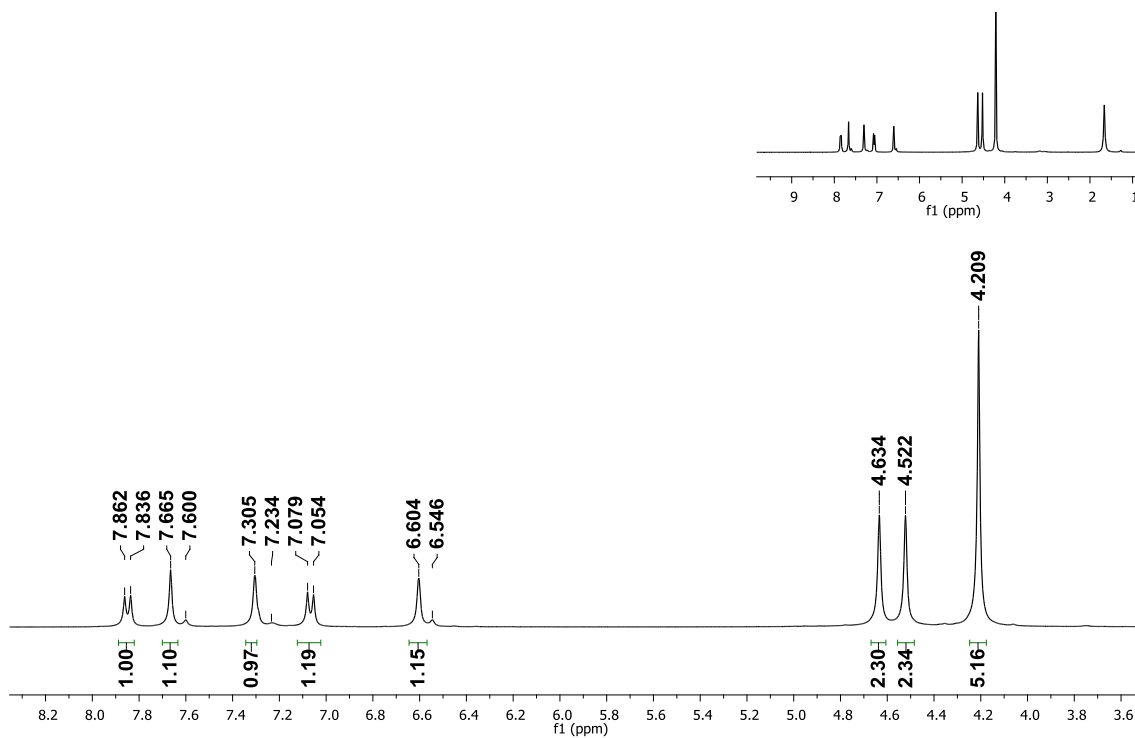
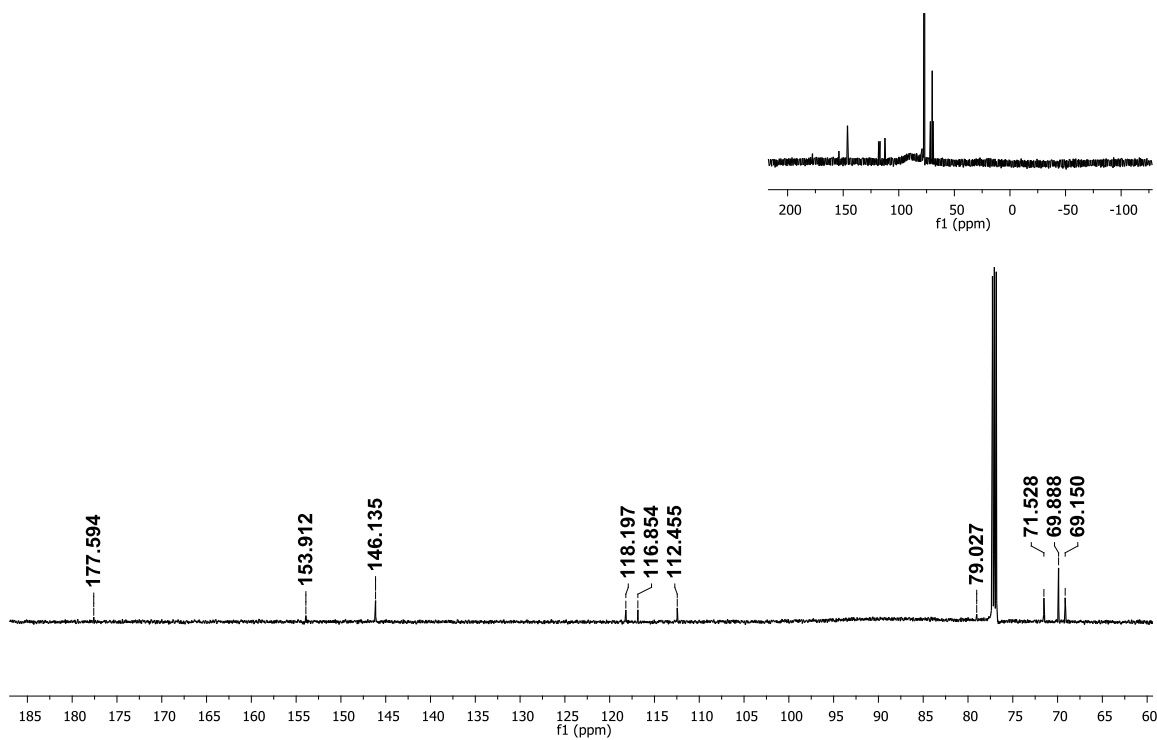
Anexo 61. Espectro de RMN de ^1H da substância **31** (CDCl_3 ; 300 MHz)**Anexo 62.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **31** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Anexo 63. Espectro de RMN de ^1H da substância **32** (CDCl_3 ; 300 MHz)**Anexo 64.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **32** (CDCl_3 ; 100 MHz)

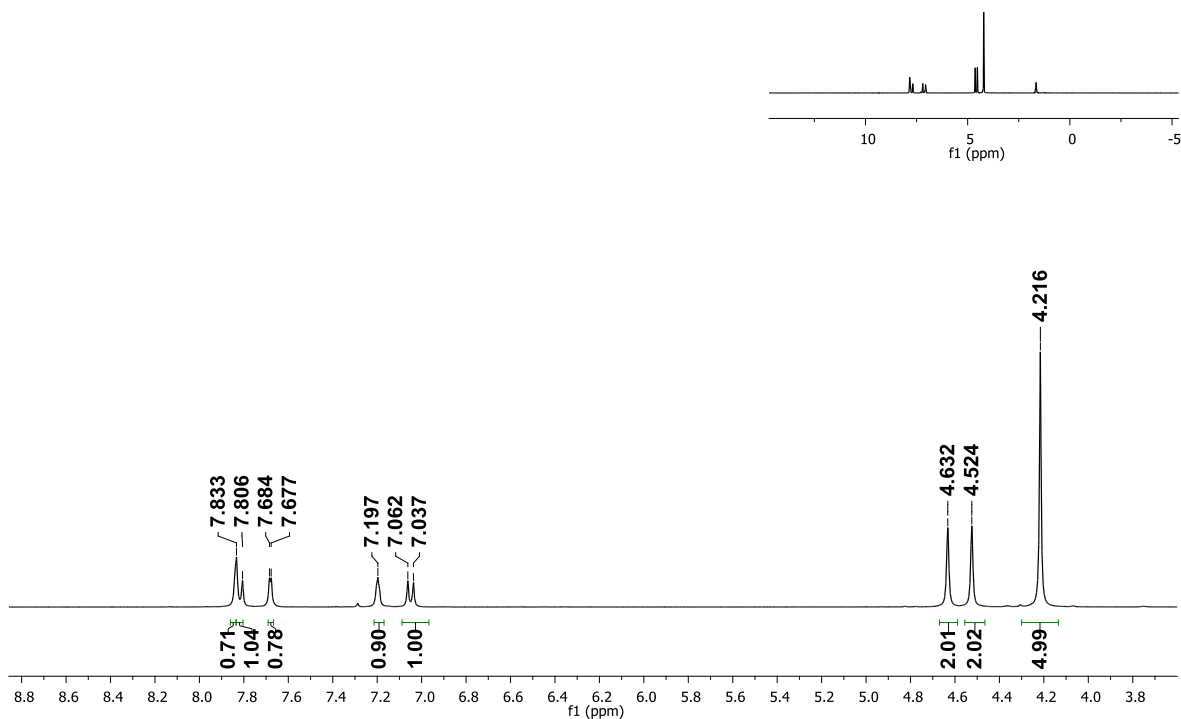
Anexo 65. Espectro de RMN de ^1H da substância **33** (CDCl_3 ; 300 MHz)**Anexo 66.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **33** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Anexo 67. Espectro de RMN de ^1H da substância **34** (CDCl_3 ; 300 MHz)**Anexo 68.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **34** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Anexo 69. Espectro de RMN de ^1H da substância **35** (CDCl_3 ; 300 MHz)**Anexo 70.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **35** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Anexo 71. Espectro de RMN de ^1H da substância **36** (CDCl_3 ; 600 MHz)**Anexo 72.** Espectro de RMN de ^{13}C da substância **36** (CDCl_3 ; 100 MHz)

Anexo 73. Espectro de RMN de ^1H da substância **37** (CDCl_3 ; 600 MHz)



Anexo 74. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **37** (CDCl_3 ; 100 MHz)

