

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA*
DE CHALCONAS DERIVADAS DO 1-NAFTALDEÍDO**

Alessandra Mascarello

FLORIANÓPOLIS – SC
2006

Alessandra Mascarello

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA*
DE CHALCONAS DERIVADAS DO 1-NAFTALDEÍDO**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para o título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes

Co-Orientador: Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes

Florianópolis – SC
Universidade Federal de Santa Catarina
2006

AGRADECIMENTOS

A Deus.

A família, pelo amor e carinho dedicados nos poucos momentos que pude ficar perto, ou mesmo à distância, com palavras de incentivo e conforto, especialmente a minha avó Graciosa, minha tia Rose e meu irmão Luís.

Aos meus pais, Salete e Valdecir, por serem meus alicerces mais sólidos e por estarem presente em todas as fases de minha vida e sonharem junto comigo os meus sonhos.

Ao professor Dr. Ricardo José Nunes, pela orientação, pela amizade e pelo carinho.

Ao professor Dr. Rosendo Augusto Yunes, pela compreensão e atenção conferida no período de iniciação científica.

Aos amigos do laboratório, que contribuíram braçal e/ou intelectualmente para este trabalho: Louise Domeneghini Chiaradia (especialmente), Paulo César Leal, Anderson Moreatti Sewald e Juliana Schappo, minha sincera e eterna gratidão.

Aos amigos que sempre estiveram presente apoiando, consolando, discutindo e compartilhando ideais, e que contribuíram direta ou indiretamente ao meu crescimento pessoal, dentro ou fora da faculdade, em especial e, em nome das minhas amigas/irmãs Samara e Isadora Dalla Vecchia, agradeço à todos.

Aos companheiros da Comissão de Formatura 2006/1, pela amizade, apoio e perseverança nestes últimos tempos.

Aos professores do curso de graduação em Química da UFSC, pelo esforço e determinação na condução das disciplinas.

A Central de Análises do Departamento de Química da UFSC pelas análises espectroscópicas.

Ao Laboratório de Protozoologia da UFSC pelas análises biológicas.

Ao Departamento de Química da UFSC.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

“Meditai se só as nações fortes podem fazer ciência,
ou se é a ciência que as fazem fortes”
(Oswaldo Cruz)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Química Medicinal.....	1
1.2. Produtos naturais.....	2
1.3. Fármacos Sintéticos e Semi-Sintéticos.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Flavonóides.....	5
2.2. Chalconas.....	5
2.3. Leishmanioses.....	7
2.4. Chalconas e sua relação com Leishmanioses.....	10
3. OBJETIVOS.....	14
3.1. Objetivos Gerais.....	14
3.2. Objetivos Específicos.....	14
4. JUSTIFICATIVA.....	15
5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	17
5.1. Materiais e Métodos.....	17
5.2. Preparação das Chalconas.....	17
5.3. Avaliação da Atividade anti- <i>Leishmania</i>	24
5.3.1. Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antiparasitária dos compostos contra formas promastigotas de <i>Leishmania</i> spp.	24
5.3.2. Análise Estatística.....	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
6.1. Síntese das Chalconas.....	26
6.2. Atividade Anti- <i>Leishmania</i>	34
7. CONCLUSÕES.....	37
8. PERSPECTIVAS.....	38
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
Anexo I.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas da salicilina 1 , ácido salicílico 2 e ácido acetilsalicílico 3	3
Figura 2: Representação geral dos estágios de desenvolvimento de um novo fármaco.....	4
Figura 3: Núcleo fundamental das chalconas.....	6
Figura 4: Mecanismo geral de uma reação de condensação aldólica.....	7
Figura 5: Distribuição das Leishmanioses cutânea e visceral no mundo.....	8
Figura 6: Leishmaniose Visceral em paciente infantil (A), Leishmaniose visceral em paciente adolescente(B).....	9
Figura 7: Leishmaniose cutânea, cutânea-difusa e muco-cutânea.....	9
Figura 8: Ciclo de vida da <i>Leishmania</i> sp.	10
Figura 9: Estrutura química da Licochalcona A 4	11
Figura 10: Estrutura química da (2E)-1-(2,6-dihidróxi-4-metóxfenil)-3-(4-hidroxifenil)prop-2-em-1-ona 5	11
Figura 11: Estrutura química da xantoxilina 6 e das chalconas 7 , 8 e 9	12
Figura 12: Estrutura química das chalconas derivadas do 1-naftaldeído (12 , 13) e do 2-naftaldeído (10 , 11)	12
Figura 13: Estrutura química das chalconas derivadas da 2,4,6-trimetóxi-acetofenona com o 1-naftaldeído 14 e com o 2-naftaldeído 15	13
Figura 14: Síntese das chalconas derivadas do 1-naftaldeído.....	26
Figura 15: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da chalcona 17	29
Figura 16: Espectro de IV (pastilha KBr) da chalcona 17	29
Figura 17: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da chalcona 21	30
Figura 18: Espectro de IV (pastilha KBr) da chalcona 21	30
Figura 19: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da chalcona 24	31
Figura 20: Espectro de IV (pastilha KBr) da chalcona 24	32
Figura 21: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da chalcona 25	33
Figura 22: Espectro de IV (pastilha KBr) da chalcona 25	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Rendimentos e pontos de fusão das chalconas sintetizadas.....	27
TABELA 2: Atividade anti-promastigota das chalconas testadas nas concentrações de 50 e 500 μ M, em triplicata.....	34
TABELA 3: IC ₅₀ das chalconas 16 , 22 , 25 , 26 e 27 (em comparação com a Anfotericina B e a Pentamidina).....	36

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

QSAR	Quantitative activity relationships
δ	Deslocamento químico em ppm
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
COX	Ciclooxygenase
d	Dubleto
dd	Duplodubleto
Hz	Hertz
IC_{50}	Concentração inibitória de 50%
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de Potássio
KOH	Hidróxido de Potássio
LC	Leishmaniose Cutânea
LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa
LMC	Leishmaniose Muco-Cutânea
LV	Leishmaniose Visceral
m	Multiplete
MeOH	Álcool Metílico
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.f.	ponto de fusão
PBS	Tampão Salina Fosfato
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
ROS	Seqüestradores de radicais livres de oxigênio
s	Singleto
SBF	Soro Bovino Fetal
t.a.	temperatura ambiente
TMS	Tetrametilsilano

RESUMO

Este trabalho envolveu a síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de chalconas polissubstituídas, que têm suas estruturas relacionadas a produtos naturais já isolados. Sintetizou-se uma série de compostos, por meio de reações de condensação aldólica entre o 1-naftaldeído com diferentes acetofenonas sintéticas. Foram obtidas 13 chalconas, sendo 4 inéditas, e as demais descritas na literatura mas sem suas propriedades biológicas conhecidas. As estruturas foram caracterizadas por RMN de ^1H e espectroscopia no IV, e foram testadas *in vitro* quanto à sua atividade anti-*Leishmania*, contra formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis*. As estruturas que possuem no anel A uma hidroxila na posição 3, ou grupos metoxila especificamente na posição 4; 2,5 e 2,4, bem como o anel A sem substituintes, apresentaram forte atividade inibitória do crescimento do parasita. Analisando a estrutura-atividade, observamos que a ação depende predominantemente de fatores conformacionais, o que poderia indicar uma possível interação destes compostos na atividade de alguma enzima do protozoário. Os valores de IC_{50} obtidos para as chalconas mais ativas apresentaram-se promissoras, o que nos proporcionará a continuidade da pesquisa com estas moléculas.

Palavras-chave: leishmaniose, chalconas, síntese orgânica

1 INTRODUÇÃO

1.1. Química Medicinal

Devido à complexidade para a elucidação das estruturas químicas dos fármacos e a correlação entre propriedades físico-químicas, determinação da atividade biológica e estudo das relações estrutura-atividade, tornou-se necessário a interação entre diversas áreas, como: química orgânica, química quântica, físico-química, farmacologia, biologia molecular, entre outras, com o intuito de obter fármacos mais específicos, com atividades e aplicações bem definidas. Desta interação e multidisciplinaridade surgiu a Química Medicinal, que inclui o planejamento de fármacos, a determinação de suas estruturas, ensaios farmacológicos e estudos das relações estrutura química-atividade biológica.¹

No início do século XX, os métodos de descobrimento de novos fármacos eram empíricos ou estavam quase dominados pelo acaso. O sucesso da equação de Hammett, entretanto, possibilitou a racionalização química de pequenas regiões subestruturais, que permitiu o aparecimento das relações quantitativas entre estrutura e atividade (do inglês QSAR), na década de 1960. Desde então, a busca reducionista de informações capazes de descreverem biomacromoléculas ou sistemas biológicos mais complexos, tornou-se atividade comum em inúmeros centros de pesquisas em todo o mundo. Mais recentemente, contudo, o advento da química combinatória trouxe um novo avanço na busca e identificação em massa de novas substâncias químicas bioativas ou na otimização delas.²

A grande maioria dos fármacos deve seus efeitos à sua ligação específica a uma biomacromolécula ou alvo molecular, geralmente uma enzima ou um receptor. Porém, quando a estrutura do biorreceptor não é conhecida, o desenho molecular do candidato a novo fármaco inicia-se pela estrutura da micromolécula endógena envolvida na patologia do processo em questão, variando-se o índice de similaridade molecular, de tal forma que se identifique um análogo ativo, e neste ponto a intuição química tem papel fundamental.³ Desta forma, é imprescindível a estreita ligação entre a química e a farmacologia para o desenvolvimento de novas substâncias ativas.⁴

1.2. Produtos naturais

Além do metabolismo primário, responsável pela produção de celulose, lignina, proteínas, entre outras substâncias, que realizam suas principais funções vitais, as plantas também apresentam o chamado metabolismo secundário, do qual resultam compostos de baixo peso molecular, às vezes produzidos em pequenas quantidades. Considera-se que uma das principais funções do metabolismo secundário seja a biossíntese de estruturas complexas como alcalóides, terpenóides e derivados de fenilpropanóides, que podem funcionar como agentes defensivos contra predadores e/ou atrativo para reprodução.³

Como a diversidade estrutural é fundamental na pesquisa para atingir diferentes alvos biológicos, os estudos dos produtos naturais ganharam destaque, visto que a seleção natural realizou um processo de química combinatória realmente inigualável. Assim, embora cerca de 100 mil compostos oriundos de plantas e, aproximadamente 20 mil obtidos de microrganismos, tenham sido determinados, as fontes de metabólitos secundários parecem ser inesgotáveis em relação às possibilidades de se encontrar novas e diferentes estruturas com atividades terapêuticas.⁴

Desde tempos remotos a humanidade utiliza as plantas com finalidade terapêutica. Esse conhecimento etnofarmacológico, acumulado ao longo da nossa evolução, culminou com o desenvolvimento de fármacos de grande importância na terapêutica atual, tais como o ácido salicílico, a atropina, a pilocarpina, a quinina, a artemisinina, o taxol, a digoxina e a morfina.⁵

Uma das plantas mais antigas empregadas pelo homem é a *Papaver somniferum*, que originou o ópio e contém alcalóides e substâncias naturais de caráter básico como a morfina. O ópio era conhecido das civilizações antigas, havendo relatos que confirmam seu uso desde 400 a.C. Galeno prescrevia o ópio para dores de cabeça, epilepsia, asma, cólicas, febre e até mesmo para estados melancólicos. Os estudos químicos sobre o ópio começaram no século XIX, e em 1804 Armand Séquin isolou seu principal componente, a morfina, que tornou-se o mais poderoso e potente analgésico conhecido. Em 1923 sua estrutura química foi elucidada por Robert Robinson e colaboradores. Devido ao fato de provocar dependência, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda seu uso apenas

em casos de doença terminal, entretanto, a partir de sua estrutura, identificaram-se potentes analgésicos centrais de uso mais seguro.⁶

Atualmente, metade dos 25 medicamentos mais vendidos no mundo tem sua origem em metabólitos secundários de origem vegetal.

1.3. Fármacos Sintéticos e Semi-Sintéticos

Os fármacos de origem sintética representam significativa parcela do mercado farmacêutico, estimado, em 2000, em 390 bilhões de dólares. Até 1991, dentre 866 fármacos usados na terapêutica, 680 (79%) eram de origem sintética e o restante (21%) correspondia àqueles de origem natural ou semi-sintética.³

A Aspirina[®], que tem como substância ativa o ácido acetil salicílico (AAS) **3**, é o analgésico mais consumido e vendido no mundo. Em 1994, somente nos Estados Unidos, foram vendidos cerca de 80 bilhões de comprimidos. Muito embora derive do produto natural salicilina **1**, foi o primeiro fármaco sintético empregado em terapêutica, tendo sua síntese concluída em 1897 pelo químico alemão Felix Hoffman, do laboratório Bayer.

A salicilina **1** foi isolada pela primeira vez em 1829 pelo farmacêutico francês H. Leurox. Em 1838, o químico italiano Raffaele Piria obteve o ácido salicílico **2** sintético, através de hidrólise oxidativa da salicilina **1**. Posteriormente, Kolbe e Dresden, em 1859, passaram a sintetizar os salicilatos, que antecederam a Aspirina[®]. O emprego da salicilina **1**, bem como de seus derivados salicilatos, não teve êxito na terapêutica, devido ao seu perfil gastro-irritante e sabor desagradável, característica comum às substâncias que apresentam hidroxilas fenólicas. (Figura 1)⁶

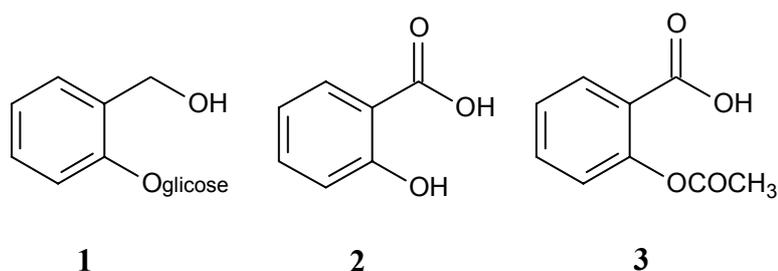


Figura 1: Estruturas químicas da salicilina **1**, ácido salicílico **2** e ácido acetilsalicílico **3**.

O mecanismo de ação do AAS 3 foi descoberto somente mais tarde pelo farmacologista britânico John Vane, que observou a inibição da liberação de prostaglandinas, dessa forma, interferindo no processo inflamatório e na dor. Atualmente, sabe-se que o ASS 3 bloqueia a produção de prostaglandinas através da inibição da enzima ciclooxigenase (COX).⁷

O processo de descoberta de um novo fármaco segue, geralmente, algumas etapas bem estabelecidas, como a escolha do alvo molecular, a seleção de uma ou mais moléculas líder, a otimização da molécula, a escolha da molécula candidata ao desenvolvimento, os ensaios clínicos, para enfim, ser considerada um medicamento (figura 2).^{2,5}

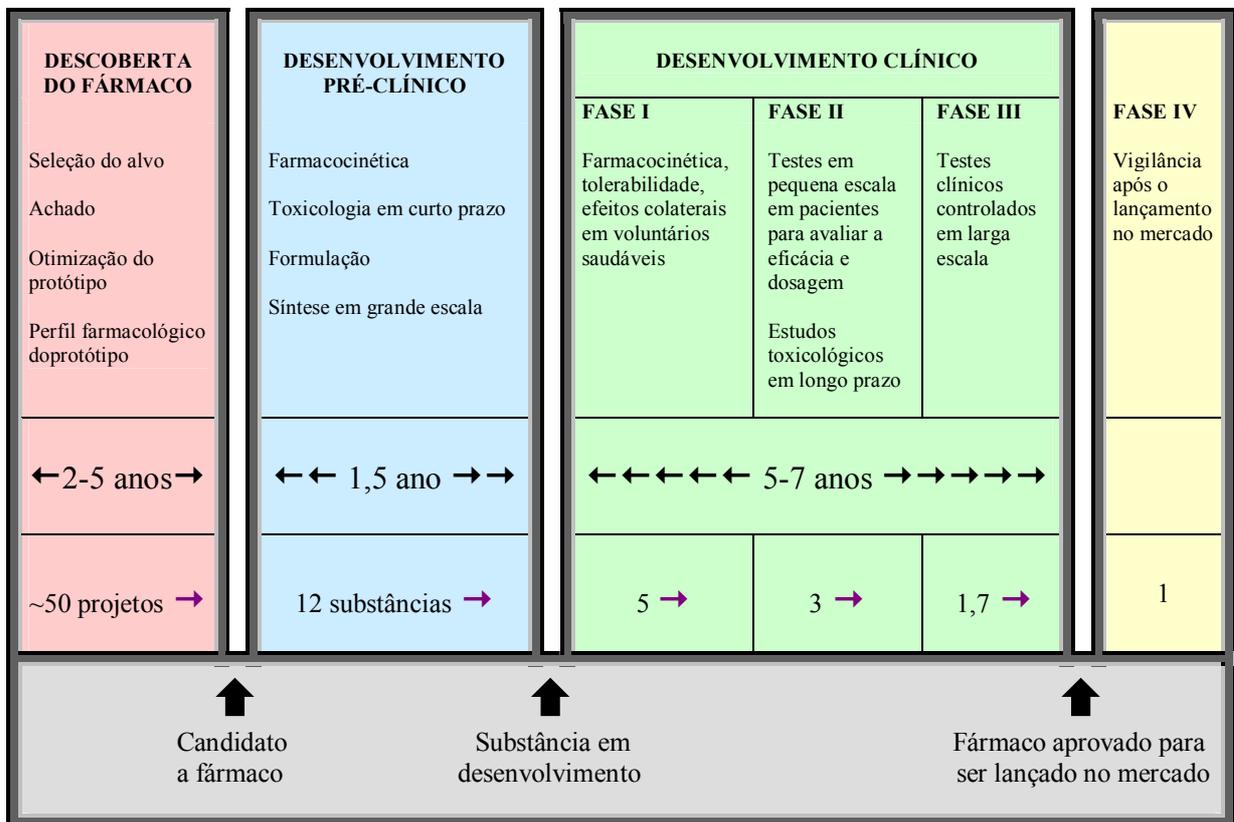


Figura 2: Representação geral dos estágios de desenvolvimento de um novo fármaco.⁵

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Flavonóides

A coloração dos frutos e das flores é utilizada para chamar a atenção de mamíferos, insetos e aves, e é provocada pela presença de pigmentos que absorvem radiação luminosa na região do ultra-violeta e do visível. Estas substâncias localizam-se nos vacúolos das células vegetais¹, destacando-se as porfirinas, carotenóides e flavonóides.⁴

Flavonóide é o nome dado a um grande grupo de fitoquímicos ou fitonutrientes, que são polifenóis de baixo peso molecular, encontrados em diversas plantas, frutas e vegetais em geral, assim como, em alimentos processados como chá e vinho. Nos últimos anos, o interesse pelas propriedades bioquímicas e farmacológicas destes compostos tem crescido bastante, principalmente pela sua atividade antiinflamatória. Para explicá-la, têm-se estudado suas propriedades antioxidantes pela atuação como seqüestradores de radicais livres de oxigênio (ROS), tais como a ação inibitória de enzimas, a excelente capacidade de quelar metais como o ferro, uma vez que a presença destes têm sido relacionada a certas doenças crônicas, como artrite reumatóide, lupus, câncer, doença de Parkinson.²¹

Outras atividades biológicas referentes aos flavonóides são antibiótica e antitumoral.⁸⁻¹⁰

2.2. Chalconas

Chalconas são precursores dos flavonóides nas plantas e possuem como núcleo fundamental o 1,3-diarilpropano modificado pela presença de uma ligação olefínica, grupamento cetona e/ou hidroxila.¹¹ São caracterizadas pela abertura do anel oxigenado, levando à formação de uma ligação dupla com os carbonos denominados α e β em função da carbonila.¹²

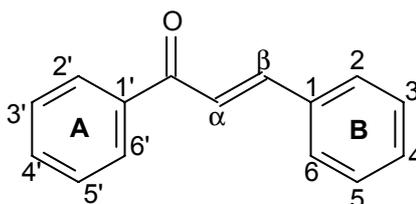
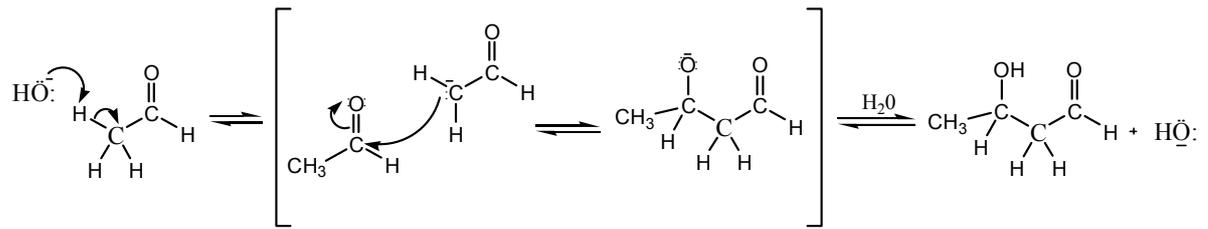


Figura 3: Núcleo fundamental das chalconas.

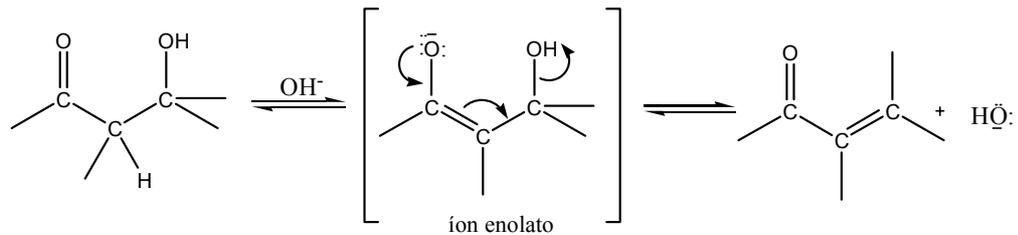
Quimicamente, as chalconas (Figura 3) podem ser definidas como cetonas α - β -insaturadas, onde tanto a carbonila quanto a porção olefínica estão ligadas a grupamentos aromáticos. Apresentando um amplo espectro de atividade biológica, as chalconas são alvo de vários estudos de isolamento, identificação e investigação de suas propriedades. São referenciados efeitos antibacteriano¹³ e bacteriostático¹⁴, antiviral¹⁵ (também contra HIV¹⁶), antifúngico¹⁷, antimalárico¹⁸, tripanossomicida¹⁹, anti-leishmania^{19,20}, antiulcerogênico²¹, antioxidante²², imunomodulatório²³, citotóxico²², antitumoral^{10,22}, antileucêmico^{10,24}, antiinflamatório^{25,26}, antinociceptivo^{27,28} e antiedematogênico²⁷.

Uma das características das chalconas é a pigmentação amarela, passando a vermelho em meio alcalino, que tem papel importante em ciclos biológicos por estarem envolvidas na polinização como atraentes de insetos e pássaros.¹¹

As chalconas podem ser obtidas sinteticamente através de vários métodos, como o de Suzuki²⁹ ou a condensação de Claisen-Schmidt (com irradiação ultrassom³⁰ ou $\text{NaNO}_3/\text{NP}^{31}$), porém a reação de condensação aldólica entre aldeídos e acetofenonas é a forma mais simples e geral para obter estes compostos. A reação ocorre quando uma base remove um hidrogênio alfa ácido de uma molécula de aldeído ou cetona para formar o íon enolato, que se estabiliza por ressonância. O enolato ataca uma outra molécula de aldeído ou cetona por adição nucleofílica e forma um íon alcóxido (intermediário tetraédrico). A protonação do íon alcóxido gera o produto de condensação e regenera o catalisador básico. A formação da enona conjugada ocorre por desidratação, que pode ser catalisada por base ou por ácido. Em condições básicas, um hidrogênio ácido é abstraído da posição α para dar um íon enolato que elimina o grupo de saída $-\text{OH}$. Em condições ácidas, forma-se o enol, o grupo $-\text{OH}$ é protonado e a água eliminada (Figura 4).³²



Catalisada por base



Catalisada por ácido

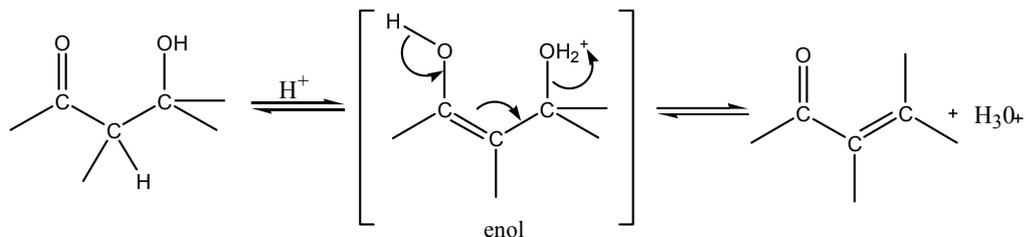


Figura 4: Mecanismo geral de uma reação de condensação aldólica.

2.3 Leishmanioses

A Organização Mundial da saúde (OMS) estima que 12 milhões de pessoas sofram desta doença, com incidência anual de 1-1,5 milhão de casos de leishmaniose cutânea e 500 mil de leishmaniose visceral.²⁰ Espalhadas pelo mundo, com maior prevalência na África, Ásia e América Latina, as leishmanioses apresentam-se distribuídas nos países afetados da seguinte forma: 90% dos casos de leishmaniose visceral em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão; 90% dos casos de leishmaniose muco-cutânea na Bolívia, Brasil e Peru; e 90% dos casos de leishmaniose cutânea no Afeganistão, Arábia Saudita, Brasil, Irã, Peru e Síria³³ (Figura 5).

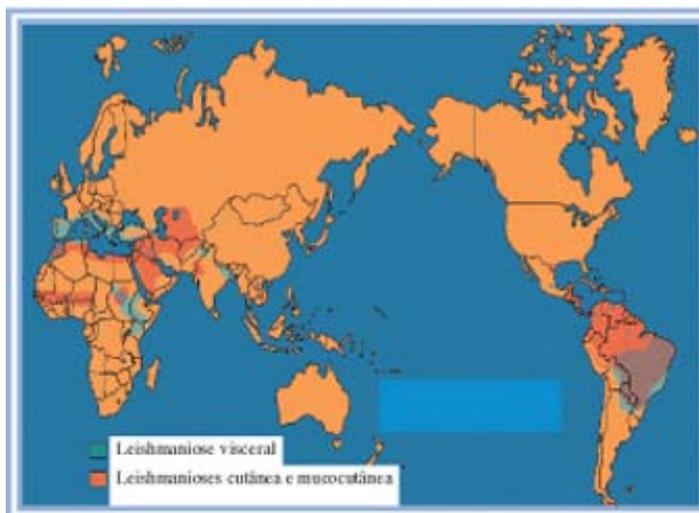


Figura 5: Distribuição das leishmanioses cutânea e visceral no mundo.³⁴

Nas Américas, o protozoário *Leishmania* sp. é encontrado desde os Estados Unidos da América até o norte da Argentina, e casos humanos da doença ocorrem do México até a Argentina. No Brasil, está distribuída em 17 dos 27 estados da federação. É uma doença endêmica, mas ocorrem surtos com alguma frequência. A maior incidência encontra-se no Nordeste (92% do total de casos), seguido pela região Sudeste (4%), a região Norte (3%), e, finalmente, a região Centro-Oeste (1%). Apesar de ser uma doença, inicialmente, de distribuição rural e de pequenos centros urbanos, encontra-se em franca expansão para focos urbanos no Brasil, tendo sido registrados em média cerca de 1.980 casos por ano. O coeficiente de incidência das leishmanias tem alcançado 20,4 casos/100.000 habitantes em algumas localidades de estados nordestinos, como Piauí, Maranhão e Bahia. As taxas de letalidade, que vêm sendo anotadas, chegam a 10% em alguns locais.³⁵

Existem 20 espécies patogênicas causadoras da doença, entre elas: *Leishmania chagasi*, *Leishmania brasiliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis*.³⁶

Na forma visceral, as manifestações clínicas refletem o equilíbrio entre a multiplicação dos protozoários nas células do sistema fagocítico-mononuclear, a resposta imunitária do indivíduo e as alterações degenerativas resultantes desse processo. As células parasitadas mostram forte tendência a invadir baço, fígado e medula óssea. Muitas vezes, o agente provoca um quadro assintomático, ou com sintomatologia bastante inespecífica (Figura 6).



Figura 6 – Leishmaniose visceral em paciente infantil (A)³⁵, leishmaniose visceral em paciente adolescente (B)³⁷

Na forma tegumentar, há o aparecimento de lesão eritemato-papulosa no local da picada do vetor, onde há multiplicação do protozoário. Podem ocorrer lesões mucosas, na maioria das vezes secundária às lesões cutâneas, surgindo geralmente meses ou anos após a resolução das lesões de pele. Às vezes, porém, não se identifica a porta de entrada, supondo-se que as lesões sejam originadas de infecção subclínica. São mais freqüentemente acometidas as cavidades nasais, seguidas da faringe, laringe e cavidade oral (Figura 7).



Figura 7 – Leishmaniose cutânea, cutânea-difusa e muco-cutânea.⁴²

O ciclo de vida dos protozoários inicia-se quando uma fêmea do vetor pica um reservatório humano ou animal, contaminando-se pela ingestão das formas amastigotas de *Leishmania* sp. Durante 4 a 5 dias, ocorre o desenvolvimento do protozoário dentro do mosquito, transformando-se nas formas promastigotas. A fêmea, ao picar outro humano, inocula as formas promastigotas, que entram na circulação sanguínea e, em conseqüência são ingeridas por macrófagos, sofrendo

transformação para formas amastigotas, que se reproduzem até destruição da célula.³⁶

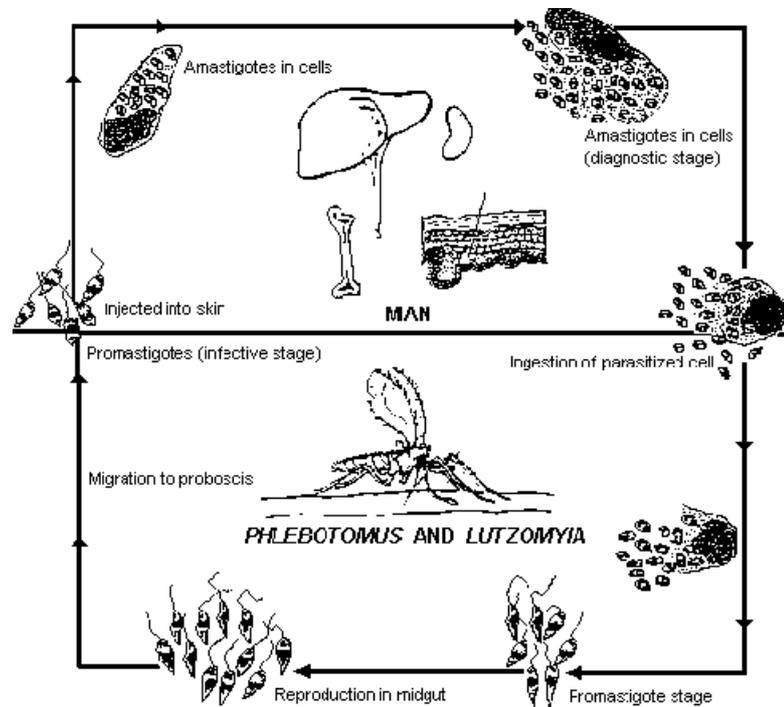


Figura 8 – Ciclo de vida da *Leishmania sp.*³⁶

2.4. Chalconas e sua relação com Leishmanioses

A grande maioria dos produtos naturais ativos contra *Leishmania spp.* são de origem vegetal, como por exemplo as quinonas, chalconas, flavonóides, derivados de acetogeninas, alcalóides quinolínicos e isoquinolínicos, alcalóides indólicos e derivados, iridóides, mono-, sesqui-, di- e triterpenos, saponinas triterpênicas, bem como um derivado poliacetilênico³.

Os estudos da relação entre as chalconas e a leishmaniose tiveram início com o isolamento da licochalcona A 4 (Figura 9) da planta *Glycyrrhiza inflata*, que apresentou um grande efeito inibitório no crescimento das formas amastigota e promastigota das espécies *Leishmania major* e *Leishmania donovani*.³⁸ A redução da carga parasitária foi de 65-85% para a administração oral e 96% para a intraperitoneal, em ratos parasitados, e seu mecanismo de ação é baseado na alteração estrutural e funcional das mitocôndrias dos protozoários.³⁹

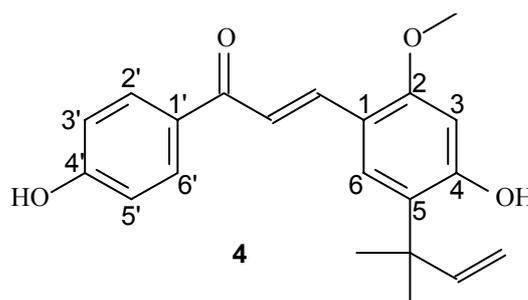


Figura 9 – Estrutura química da licochalcona A 4.

Outro estudo, com a 2',6'-dihidroxi-4-metoxi-chalcona 5 (Figura 10), isolada da planta *Piper aduncum*, apresentou significativa atividade *in vitro* contra formas promastigotas e amastigotas intracelulares de *Leishmania amazonensis*.⁴⁰. A descoberta da ação seletiva desta chalcona e a sua relativa simplicidade estrutural, tornou-a modelo de síntese para novos análogos.

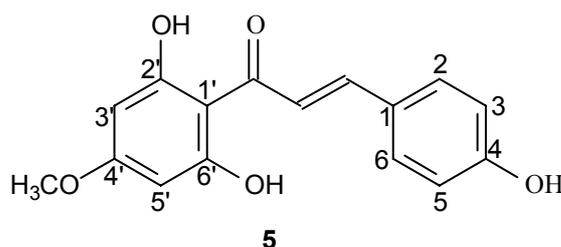


Figura 10 – Estrutura química da (2E)-1-(2',6'-dihidroxi-4'-metoxifenil)-3-(4-hidroxifenil) prop-2-en-1-ona 5.

Estruturas similares a (2E)-1-(2',6'-dihidroxi-4'-metoxifenil)-3-(4-hidroxifenil) prop-2-en-1-ona 5 foram desenvolvidas e patenteadas no Brasil pelo nosso grupo de pesquisa, através da síntese de uma série de dezoito chalconas derivadas da xantoxilina 6 (2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-acetofenona) (Figura 11), que foram testadas *in vitro* contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*. As estruturas 7, 8 e 9 apresentaram excelente atividade, através da inibição da síntese de esteróis da membrana do parasita.⁴⁰

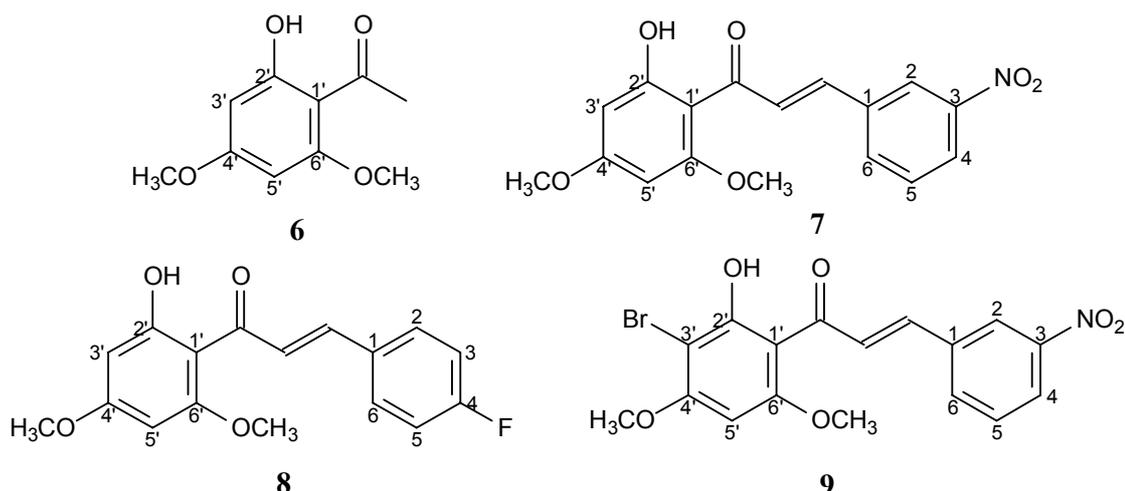


Figura 11 – Estruturas químicas da xantoxilina **6**, e das chalconas **7**, **8** e **9**.

Estruturas promissoras referenciadas na literatura são as chalconas derivadas da bromo-xantoxilina. A estas são conferidas atividades anti-leishmania, antibacteriana e antifúngica⁴¹. A inserção do bromo no anel A da molécula aumenta a atividade anti-leishmania do composto, promovendo a permeabilidade da molécula na membrana do macrófago.

Outro trabalho mostra os resultados de atividade anti-leishmania para chalconas derivadas do 1-naftaldeído e do 2-naftaldeído. Segundo o estudo, as chalconas com grupos hidroxila no anel A são bons agentes anti-leishmania, onde as estruturas *para* substituídas apresentaram melhores resultados. Em comparação com os compostos derivados do 2-naftaldeído (estruturas **10**, **11**), os compostos derivados do 1-naftaldeído (estruturas **12**, **13**) apresentaram maior atividade contra *Leishmania* sp.⁴²

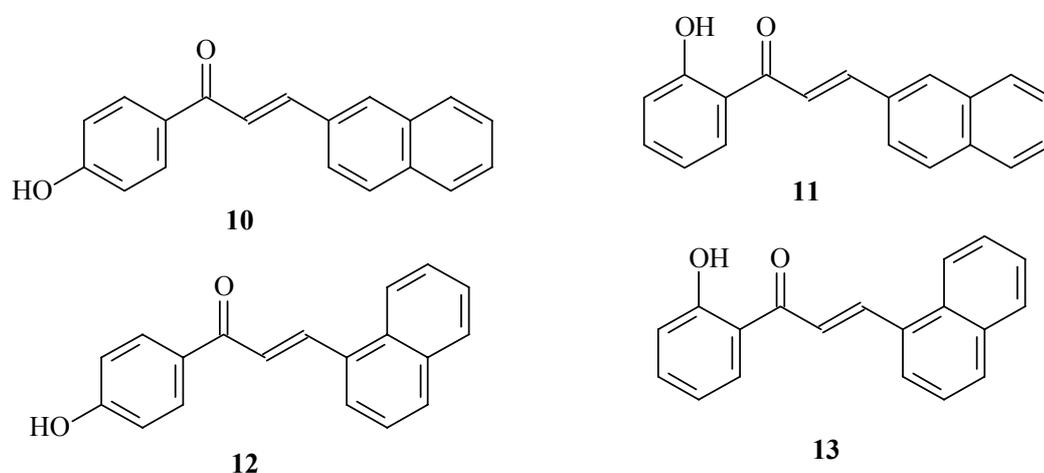


Figura 12 – Estruturas químicas das chalconas derivadas do 1-naftaldeído (**12**, **13**) e do 2-naftaldeído (**10**, **11**).

Também foram obtidas por nosso grupo de pesquisa as chalconas **14** e **15**, derivadas do 1-naftaldeído e 2-naftaldeído, respectivamente com a 2',4',6'-trimetoxiacetofenona (Figura 13), as quais apresentaram potente inibição das formas amastigotas de *Leishmania amazonensis*, com reduzida citotoxicidade, quando comparadas ao fármaco referência (Pentostan[®])⁷.

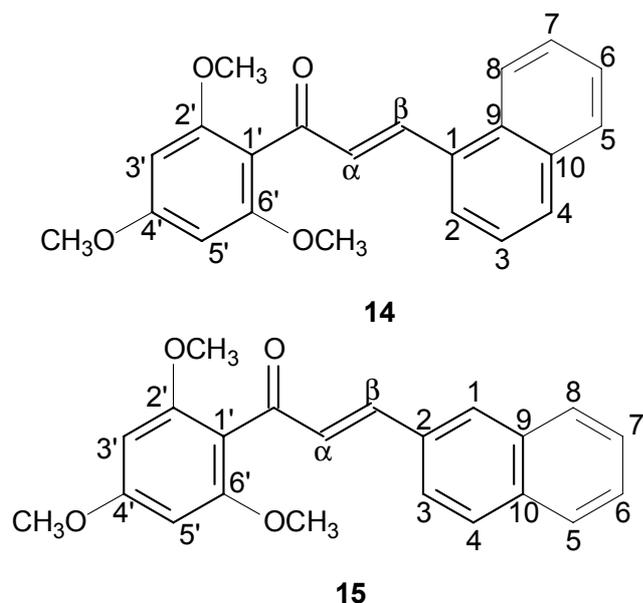


Figura 13 – Estrutura química das chalconas derivadas da 2',4',6'-trimetoxiacetofenona com o 1-naftaldeído **14** e com o 2-naftaldeído **15**.

Entretanto, estudos de correlação estrutura-atividade das chalconas demonstraram que a atividade dos derivados do 1-naftaldeído é maior, em relação aos derivados do 2-naftaldeído, em teste *in vitro* contra amastigotas de *Leishmania donovani*.⁴²

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho visa a obtenção de chalconas para serem submetidas a testes de avaliação de sua atividade anti-leishmania.

3.2. Objetivos específicos

Sintetizar e caracterizar chalconas derivadas do 1-naftaldeído a partir de sua condensação aldólica com diferentes acetofenonas, utilizando hidróxido de potássio como base e metanol como solvente.

Avaliar a atividade anti-leishmania das estruturas derivadas do 1-naftaldeído nas formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis*.

4 JUSTIFICATIVA

A busca pelo tratamento de inúmeras patologias tem impulsionado a pesquisa científica na área da química medicinal, com o intuito da obtenção de novos fármacos, mais eficientes e seguros, de menor custo e com menores efeitos secundários.

A utilização de produtos naturais ativos como modelo para a síntese de análogos mais potentes e seletivos têm contribuído significativamente para a obtenção de novos agentes terapêuticos, que podem, muitas vezes, ser obtidos mais facilmente e a custos menores. Cerca de 75% do total de fármacos disponíveis atualmente no mercado foram obtidos sinteticamente baseados em estruturas ativas de fontes naturais. Desta forma, a síntese total de análogos também representa um alvo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos. A obtenção de análogos de produtos naturais com potencial atividade terapêutica, por meio da síntese orgânica, tem sido o objeto de estudo do nosso grupo de pesquisa.

Em 2000, a Organização Mundial da Saúde definiu a leishmaniose como a segunda doença causada por protozoário de importância em saúde pública, superada apenas pela malária. Infelizmente, pelo fato da leishmaniose ser uma doença tipicamente de países sub-desenvolvidos, as pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos fármacos para esta infecção não são de interesse primordial para as grandes indústrias farmacêuticas.

Os fármacos atualmente disponíveis no mercado para o tratamento das leishmanioses foram desenvolvidos há mais de 40 anos, e por serem compostos antimoniais pentavalentes apresentam sérios efeitos colaterais, como hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e alterações na função cardíaca. Fármacos como a Anfotericina B e a Anfotericina B conjugada a lipossomas são utilizadas como terapia de segunda escolha, porém os altos custos e a elevada toxicidade também impossibilitam seu uso em grande escala. Desta forma, a procura por agentes terapêuticos que facilitem o tratamento desta doença merece atenção especial.

Com o intuito de obter protótipos de novos fármacos anti-leishmania, optamos pela síntese de chalconas da série do 1-naftaldeído, por serem estruturas análogas às já sintetizadas pelo nosso grupo de pesquisa e que apresentaram notável atividade contra as formas amastigotas de *L. amazonensis*. Citamos como exemplo,

a estrutura **15**⁴⁰ que nos estudos apresentou maior eficácia e menores efeitos colaterais que os fármacos existentes no mercado.

5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1. Materiais e métodos

Todas as reações realizadas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de alumínio com sílica gel 60 GF 254 da Merck, visualização em luz ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm) e revelação com pulverização de anisaldeído sulfúrico.

O tratamento dos compostos impuros foi feito através de cromatografia em coluna (CC), com sílica gel (0,063-0,200) Merck como suporte, e solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade como eluentes, onde as frações foram monitoradas por CCD. Alternativamente, os compostos foram purificados com a utilização do *Chromatotron*, com sílica gel Sigma-Aldrich, TLC standard grade (254 nm fluoreced indicator), placas de 4 mm e fluxo do solvente (hexano/diclorometano em ordem crescente de polaridade) de 8-10mL/min.

Os espectros de absorção no infravermelho (IV) foram obtidos através do espectrômetro Abb Bomen FTLA 2000, utilizando pastilha de KBr.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) (400 MHz) foram realizados em equipamento VARIAN OXFORD AS-400, tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente, clorofórmio deuterado (CDCl_3).

O ponto de fusão não corrigido dos compostos foi determinado em aparelho digital MGAPF-301, Microquímica Equipamento Ltda.

Os reagentes e solventes utilizados nas reações foram das marcas comerciais: Aldrich, Merck, Sigma, Fluka e Vetec.

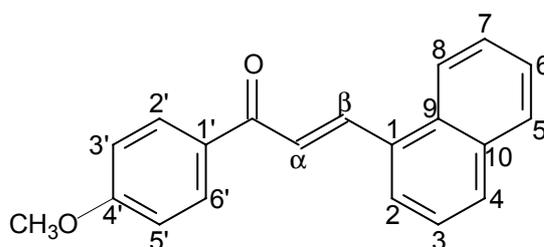
5.2. Preparação das chalconas

Em um balão de 100 mL, colocou-se o 1-naftaldeído (0,7809 g; 5 mmol), a 4-metoxiacetofenona (0,7509g; 5 mmol) e metanol (30 mL). Dissolveu-se os reagentes sob agitação magnética com posterior adição de KOH 50% v/v (5 mL). Deixou-se a reação sob agitação magnética, a temperatura ambiente, por 24 horas. Após,

adicionou-se água destilada e ácido clorídrico 10% para acidificar o meio e precipitar os compostos. Filtrou-se em funil de Büchner, verificou-se a pureza por CCD. Todas as chalconas foram obtidas de forma semelhante e, quando necessário, os compostos foram purificados por recristalização com hexano e diclorometano ou submetidos à coluna cromatográfica ou *Chromatotron*.

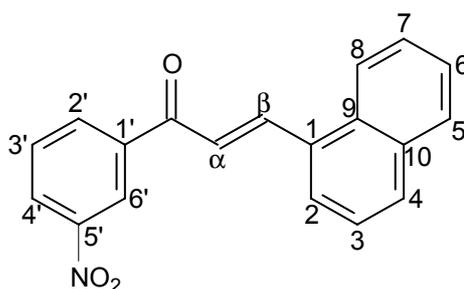
Foram adotadas numerações para designar os deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H , para diferenciar os hidrogênios aromáticos (anel A e anel B) dos alifáticos. Porém, as nomenclaturas das chalconas seguem as regras IUPAC.

16 - (2E)-1-(4-METOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



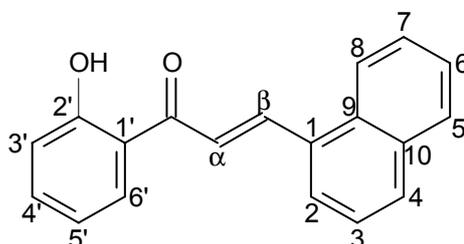
$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_2$, sólido amarelo claro, 58% de rendimento (0,842g); p.f.: 89-91°C; IV $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 1649, 1306 (C=O), 1597 (C=C), 1251, 1013 (C-O), 2928, 2830, 1174, 839, 799 (Ar) (KBr). RMN ^1H (CDCl_3) δ 3,89 (s, 3H, OCH_3), 7,00 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{3'}$, $\text{H}_{5'}$), 7,50-7,61 (m, 3H, H_3 , H_6 , H_7), 7,64 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, H_α), 7,88-7,93 (m, 3H, H_4 , H_5 , H_8), 8,10 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{6'}$), 8,27 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_2), 8,66 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, H_β).

17 – (2E)-1-(3-NITROFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



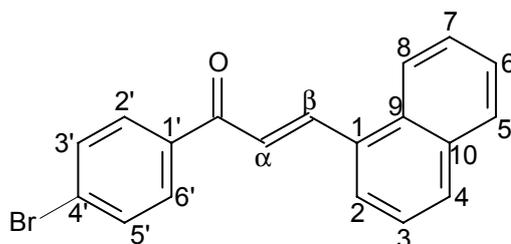
$C_{19}H_{13}NO_3$, sólido bege, 54% de rendimento (0,817g); p.f.: 151,1-153°C; IV v_{max}/cm^{-1} 1658 (C=O), 1590 (C=C), 1518, 1341, 974 (N-O), 3073, 1430, 1038, 782, 695 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 7,54-7,58 (m, 3H, H3, H6, H7), 7,63 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $H\alpha$), 7,73 (dd, 1H, $H3'$), 7,91 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H4), 7,96-7,98 (m, 2H, H5, H8), 8,25 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H2), 8,40 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, $H2'$), 8,45 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, $H4'$), 8,77 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, $H\beta$), 8,89 (s, 1H, $H6'$).

18 – (2E)-1-(2-HIDROXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



$C_{19}H_{14}O_2$, sólido amarelo, 36% de rendimento (0,911g); p.f.: 106-108°C (lit. p.f.: 108°C)⁴⁴; IV v_{max}/cm^{-1} 3451 (OH), 1635, 1351 (C=O), 1576 (C=C), 1203, 1015 (C-O), 3047, 1435, 1162, 972, 760 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 6,97 (dd, 1H, $J = 7,4$ Hz, $H5'$), 7,06 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, $H3'$), 7,51-7,62 (m, 4H, H3, H6, H7, $H4'$), 7,76 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, $H\alpha$), 7,90-7,99 (m, 4H, $H6'$, H4, H5, H8), 8,29 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H2), 8,79 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, $H\beta$), 12,88 (s, 1H, OH).

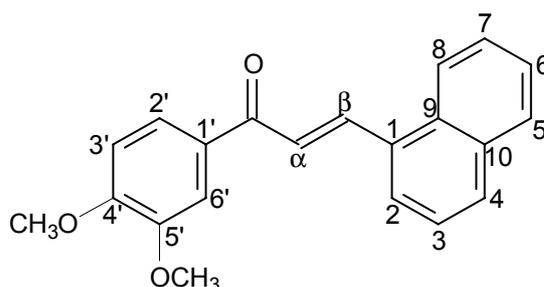
19 – (2E)-1-(4-BROMOFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



$C_{19}H_{13}BrO$, sólido amarelo, 63% de rendimento (1,049g); p.f.: 110-111°C; IV v_{max}/cm^{-1} 1651, 1349 (C=O), 1588 (C=C), 3047, 1061, 994, 778, 727 (Ar) (KBr). RMN 1H

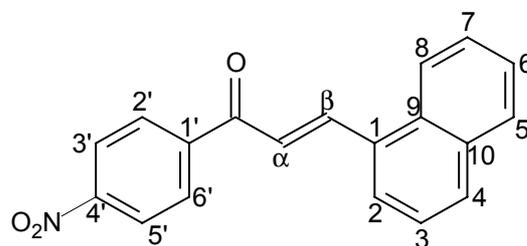
(CDCl₃) δ 7,53-7,62 (m, 3H, H₃, H₆, H₇), 7,66-7,69 (m, 3H, H_{3'}, H_{5'}, H₄), 7,90-7,96 (m, 3H, H α , H₅, H₈), 7,91 (d, 2H, J = 7,2 Hz, H_{2'}, H_{6'}), 8,25 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, H₂), 8,69 (dd, 1H, J = 15,6 Hz, H β).

20 – (2E)-1-(3,4-DIMETOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



C₂₁H₁₈O₃, sólido amarelo intenso, 52% de rendimento (0,456g); p.f.: 61-62°C; IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1651, 1344 (C=O), 1582 (C=C), 1263, 1016 (C-O), 2938, 1454, 968, 767 (Ar) (KBr). RMN ¹H (CDCl₃) δ 3,98 (s, 3H, OCH₃), 3,99 (s, 3H, OCH₃), 6,95 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H₄), 7,53 (d, 1H, J = 15,2 Hz, H α), 7,68-7,57 (m, 5H, H₃, H₅, H₆, H₇, H₈), 7,74 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{3'}), 7,94-7,89 (m, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 8,28 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H₂), 8,66 (d, 1H, J = 15,2 Hz, H β).

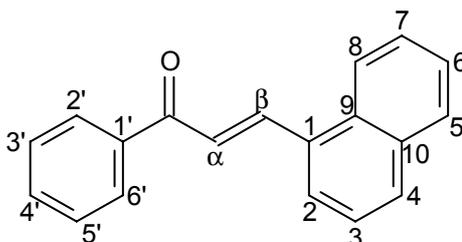
21 – (2E)-1-(4-NITROFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



C₁₉H₁₃NO₃, sólido amarelo intenso, 57% de rendimento (0,862g); p.f.: 144-146°C; IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1683 (C=O), 1595 (C=C), 1519, 1341, 849 (N-O), 3041, 1102, 1013, 775, 699 (Ar) (KBr). RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,53-7,66 (m, 3H, H₃, H₆, H₇), 7,55 (d, 1H, J =

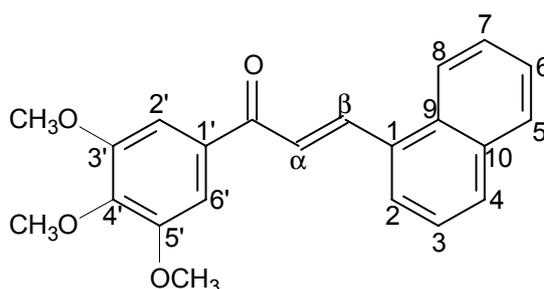
15,6 Hz, H α), 7,91-7,99 (m, 3H, H4, H5, H8), 8,21 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H2', H6'), 8,23 (d, 1H, H2), 8,38 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H3', H5'), 8,73 (d, 1H, J = 15,6 Hz, H β).

22 – (2E)-1-(FENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



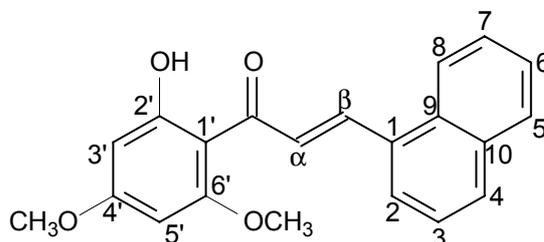
C₁₉H₁₄O, sólido amarelo, 65% de rendimento (0,836g); p.f.: 81-82°C; IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1657, 1339 (C=O), 1594 (C=C), 3012, 1436, 1007, 775, 688 (Ar) (KBr). RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,51-7,62 (m, 6H, H4', H3', H5', H3, H6, H7), 7,64 (d, 1H, J = 15,6 Hz, H α), 7,95-7,89 (m, 3H, H4, H5, H8), 8,09 (d, 2H, J = 8,0 Hz, H2', H6'), 8,26 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H2), 8,68 (d, 1H, J = 15,6 Hz, H β).

23 – (2E)-1-(3,4,5-TRIMETOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



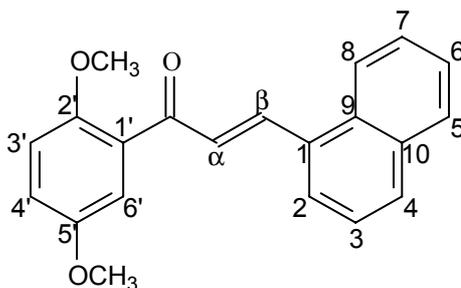
C₂₂H₂₀O₄, sólido amarelo, 70% de rendimento (1,020g); p.f.: 132-133°C; IV $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1652 (C=O), 1577 (C=C), 1231 (C-O), 2931, 1499, 1454, 988, 788 (Ar) (KBr). RMN ¹H (CDCl₃) δ 3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,96 (s, 6H, OCH₃), 7,33 (s, 2H, H2', H6'), 7,52-7,57 (m, 4H, H3, H4, H6, H7), 7,89-7,92 (m, 2H, H5, H8), 7,94 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H α), 8,26 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H2), 8,66 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H β).

24- (2E)-1-(2-HIDROXI-4,6-DIMETOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



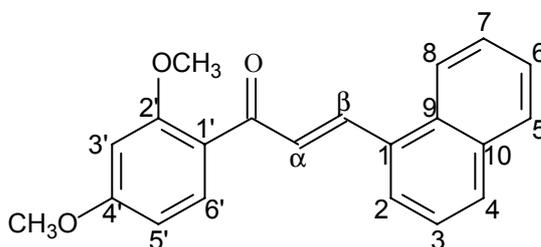
$C_{21}H_{18}O_4$, sólido amarelo intenso, 58% de rendimento (0,823g); p.f.: 116-117°C; IV v_{max}/cm^{-1} 3450 (OH), 1627, 1341 (C=O), 1571 (C=C), 1215, 1109 (C-O), 1440, 1153, 975, 810, 768 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 3,85 (s, 3H, OCH₃), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 5,98 (s, 1H, H3'), 6,14 (s, 1H, H5'), 7,50-7,61 (m, 3H, H3, H6, H7), 7,83-7,92 (m, 3H, H4, H5, H8), 7,97 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, H α), 8,31 (d, 1H, H2), 8,61 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz, H β).

25 – (2E)-1-(2,5-DIMETOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



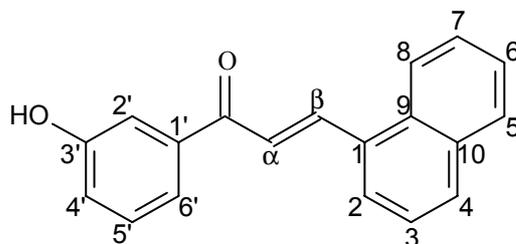
$C_{21}H_{18}O_3$, sólido amarelo intenso, 65% de rendimento (0,901g); p.f.: 89-90°C; IV v_{max}/cm^{-1} 1657 (C=O), 1588 (C=C), 1223, 1043 (C-O), 2947, 1493, 977, 807, 787 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 6,96 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H4'), 7,06 (dd, $J = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,49-7,59 (m, 5H, H3, H5, H6, H7, H8), 7,85 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H3'), 7,89 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H α), 7,89 (s, 1H, H6'), 8,24 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H2), 8,50 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H β).

26 – (2E)-1-(2,4-DIMETOXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



$C_{21}H_{18}O_3$, sólido amarelo escuro, 59% de rendimento (0,745g); p.f.: 114-115°C (lit. p.f.: 116)⁵¹; IV ν_{max}/cm^{-1} 1647 (C=O), 1599 (C=C), 1251, 1017 (C-O), 2938, 1460, 965, 828, 776 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 6,52 (s, 1H, H_{3'}), 6,60 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz, H_{5'}), 7,48-7,59 (m, 3H, H₃, H₆, H₇), 7,60 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, H α), 7,81-7,90 (m, 4H, H₄, H_{6'}, H₅, H₈), 8,28 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H₂), 8,52 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, H β).

27 – (2E)-1-(3-HIDROXIFENIL)-3-(1-NAFTIL)PROP-2-EN-1-ONA



$C_{19}H_{14}O_2$, sólido amarelo intenso, 51% de rendimento (0,819g); p.f.: 170-172°C (lit. p.f.: 174-175)⁵²; IV ν_{max}/cm^{-1} 3176 (OH), 1642, 1351 (C=O), 1571 (C=C), 1273 (C-O), 1475, 1172, 962, 772, 707 (Ar) (KBr). RMN 1H ($CDCl_3$) δ 7,10 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H_{4'}), 7,40 (dd, 1H, H_{5'}), 7,51-7,65 (m, 5H, H₃, H₄, H₆, H₇, H_{2'}), 7,60 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, H α), 7,90 (d, 2H, H₅, H₈), 7,94 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{6'}), 8,26 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H₂), 8,67 (d, 1H, $J = 15,6$ Hz, H β).

5.3. Avaliação da atividade anti-leishmania

5.3.1. Avaliação *in vitro* da atividade antiparasitária dos compostos contra formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis*

As chalconas foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 0,3 M e mantidos a 4°C até o uso. Para os testes de atividade anti-*Leishmania*, utilizou-se como controle a Anfotericina B.

Neste estudo foram utilizadas formas promastigotas de *L. brasiliensis* mantidos no Laboratório de Protozoologia da UFSC. Esses protozoários, obtidos na fase exponencial de crescimento em meio Schneider suplementado com 5% de SBF (Soro Bovino Fetal) foram lavados 2 vezes em PBS (Tampão Salina Fosfato) pH=7,2 a 1.500xg/10 minutos a 4°C e o número de protozoários foi determinado em câmara de Neubauer. A seguir foram suspensos em meio Schneider acrescido de 5% de SBF e a concentração ajustada para 5×10^6 promastigotas/mL e mantidos a 4°C até o uso.

Para a avaliação da atividade das chalconas, os ensaios foram realizados em placas de cultura de 96 orifícios Nunc[®], contendo concentrações de 500 e 50 μ M dos compostos (20 μ L) na presença de 180 μ L de uma suspensão de 5×10^6 promastigotas/mL. Como controle, os protozoários foram incubados na ausência dos compostos, em presença de 1% de DMSO e 5 μ g/mL de Anfotericina B. As placas foram homogeneizadas e incubadas a 28°C por 72 horas e a seguir avaliadas visualmente em microscópio invertido para verificação da motilidade dos protozoários. A atividade dos compostos foi determinada por contagem do número de parasitos vivos em câmara de Neubauer. Todos os ensaios foram realizados em triplicata com o objetivo de avaliar a estabilidade das chalconas.

Para determinação das IC₅₀, os compostos que mostraram atividade na concentração de 500 μ M foram novamente testados em concentrações decrescentes: 100, 50, 25, 10, 5 e 1 μ M, conforme descrito anteriormente. Os ensaios foram realizados em triplicata e a atividade antiparasitária foi determinada pela contagem do número de protozoários em câmara de Neubauer.

5.3.2. Análise Estatística

Os valores de IC₅₀ (concentrações dos compostos que reduziram a resposta a 50% em relação ao grupo controle) foram estimados a partir dos valores médios de 3 experimentos por interpolação gráfica utilizando o programa Graph Prism InStat[®]. Os resultados foram expressos como média das IC₅₀ (μM) de pelo menos três experimentos independentes acompanhados de seus respectivos limites de confiança em nível de 95%. A análise estatística dos resultados foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de múltipla comparação utilizando-se o método de Dunnett, quando apropriado. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados como indicativo de significância.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Síntese de chalconas derivadas do 1-naftaldeído

Foram sintetizadas 12 chalconas a partir da reação de condensação aldólica entre o 1-naftaldeído e diferentes acetofenonas, usando como base o hidróxido de potássio e como solvente o metanol, por 24 horas a temperatura ambiente²⁶ (Figura 14). Obtiveram-se 8 compostos já descritos na literatura (**16**, **18**, **19**, **20**, **22**, **23**, **26**, **27**)⁴³⁻⁵² e 4 inéditos (**17**, **21**, **24**, **25**).

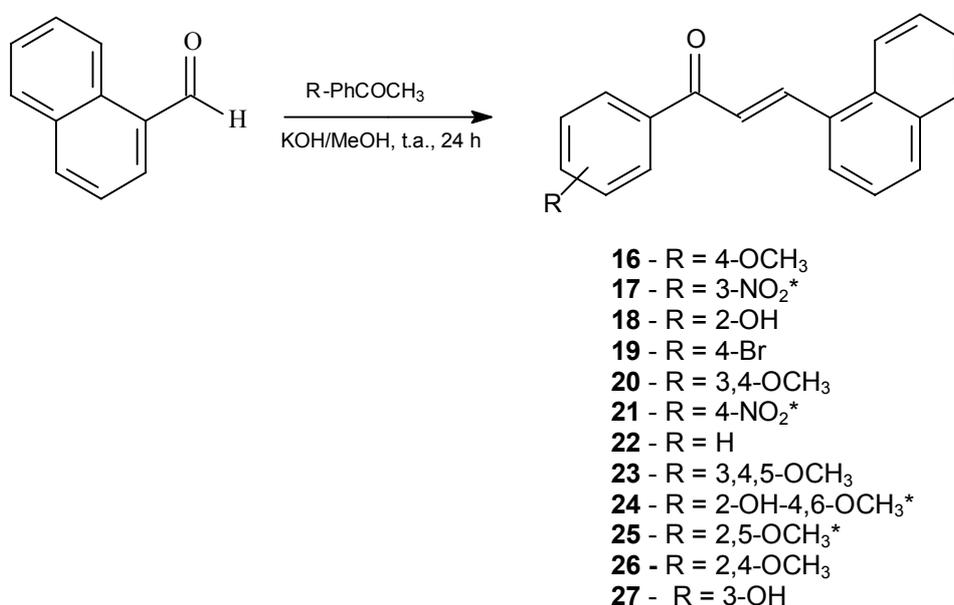


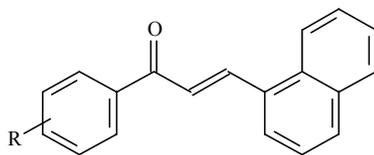
Figura 14 – Síntese de chalconas derivadas do 1-naftaldeído. (* inéditas)

Na Tabela 1 encontram-se os rendimentos e pontos de fusão obtidos para os compostos sintetizados. Exceto para a chalcona **18**, as demais apresentaram bons rendimentos: entre 51% (**27**) e 70% (**23**).

Estes rendimentos observados para os compostos (<70%) podem ser explicados pelo fato da maioria das chalconas necessitarem de recristalização (com diclometano/hexano) e/ou purificação por coluna (alternativamente, foi usado o *Chromatotron*), levando a uma diminuição, por vezes considerável, de produto. Outro aspecto importante que deve ser salientado é que o aldeído utilizado possui o radical

naftil, o que pode tornar as reações menos favorecidas, por este ser mais impedido estericamente que outros radicais de menor estrutura carbônica.

Tabela 1 – Rendimentos e pontos de fusão das chalconas sintetizadas.



Chalcona	R	Rendimento (%)	P.F. (°C) Exp.	P.F. (°C) Lit.
16	4-OCH ₃	58	89-91	*
17	3-NO ₂	54	151-153	-
18	2-OH	36	106-108	108
19	4-Br	63	110-111	*
20	3,4-di-OCH ₃	52	61-62	*
21	4-NO ₂	57	144-146	-
22	H	65	81-82	*
23	3,4,5-tri-OCH ₃	70	132-133	*
24	2-OH-4,6-di-OCH ₃	58	116-117	-
25	2,5-di-OCH ₃	65	89-90	-
26	2,4-di-OCH ₃	59	114-115	116
27	3-OH	51	170-172	174-175

* P.F. não encontrado na literatura.

É possível perceber uma diferença significativa quando comparamos os rendimentos das chalconas **16** a **23** com os obtidos para estruturas análogas derivadas do 2-naftaldeído, desenvolvidas por nosso grupo de pesquisa, onde o 2-naftaldeído condensado a acetofenonas apresenta maiores rendimentos: R = 4-OCH₃ (90%), R = 3-NO₂ (71%), R = 2-OH (66%), R = 4-Br (88%), R = 3,4-OCH₃ (96%), R = 4-NO₂ (73%), R = H (95%), R = 3,4,5-OCH₃ (97%).⁷

Além da carbonila do 1-naftaldeído estar mais impedida estericamente que no 2-naftaldeído, a diferença de reatividade dos dois compostos pode ser explicada pelo fato do primeiro apresentar duas estruturas importantes de ressonância com energias equivalentes, com um anel benzênico intacto, deixando a carbonila menos eletrofílica e o composto, conseqüentemente, mais estável. No segundo caso, só

existe uma estrutura de ressonância em que o anel benzênico fica intacto, e isso faz com que a carbonila fique mais eletrofílica. Desta forma, o 2-naftaldeído é mais reativo e, aparentemente, resultará em compostos com maior rendimento que o 1-naftaldeído.⁵³

Dentre as chalconas não inéditas (**16**, **18**, **19**, **20**, **22**, **23**, **26**, **27**), apenas três (**18**, **26** e **27**)^{44,51,52} têm seus pontos de fusão descritos na literatura. A maioria destes compostos existe comercialmente, pois informações referentes a estes são encontradas em bancos de dados disponíveis quando utilizamos o *Scifinder* como ferramenta de busca. No entanto, não estão disponíveis dados como pontos de fusão, pois não é de interesse das indústrias informar todas as características de seus produtos. Desta forma, para comprovação estrutural dos compostos não inéditos que não tiveram seus pontos de fusão encontrados na literatura para comparação com o valor experimental, estão apresentados no Anexo 1 os espectros de RMN ¹H e espectroscopia no IV, bem como, dos compostos **18**, **26** e **27**.

Serão discutidos os espectros de RMN ¹H e de espectroscopia no IV das chalconas inéditas **17**, **21**, **24** e **25**.

As integrações de todos os espectros de RMN ¹H estão de acordo com as proporções de hidrogênios aromáticos e alifáticos dos compostos.

No espectro de RMN ¹H do composto **17** (Figura 15), observamos os deslocamentos dos hidrogênios α e β na forma de dois dubletos acoplados entre si em 7,63 e 8,77 ppm, respectivamente, com $J = 15,6$ Hz, evidenciando a configuração *E* da molécula. Os deslocamentos dos hidrogênios 3, 6 e 7 aparecem na forma de um multiplete entre 7,54 e 7,58 ppm, e os hidrogênios 5 e 8 como um multiplete entre 7,96 e 7,98 ppm. O hidrogênio 2 encontra-se como um dubleto ($J = 8,4$ Hz), em 8,25 ppm, e os hidrogênios 4, 2', 4' como dubletos em 7,91, 8,40 e 8,45 ppm, respectivamente ($J = 8,0$ Hz). O deslocamento do hidrogênio 6', na forma de um singleto, aparece em 8,89 ppm, e o 3' em 7,73, na forma de um duplo-dubleto.

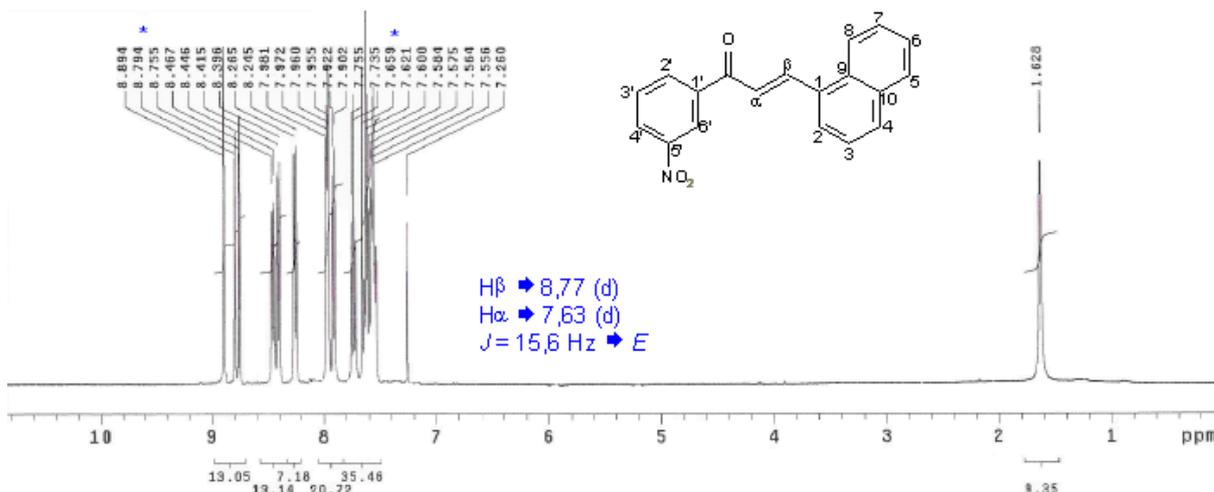


Figura 15 – Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da chalcona **17**.

No espectro de absorção no IV (Figura 16), as absorções mais características do composto **17** são as da cetona conjugada ($\text{C}=\text{O}$) em 1658, da dupla ligação ($\text{C}=\text{C}$) em 1590 e do grupo NO_2 em 1518, 1341 e 974 cm^{-1} .

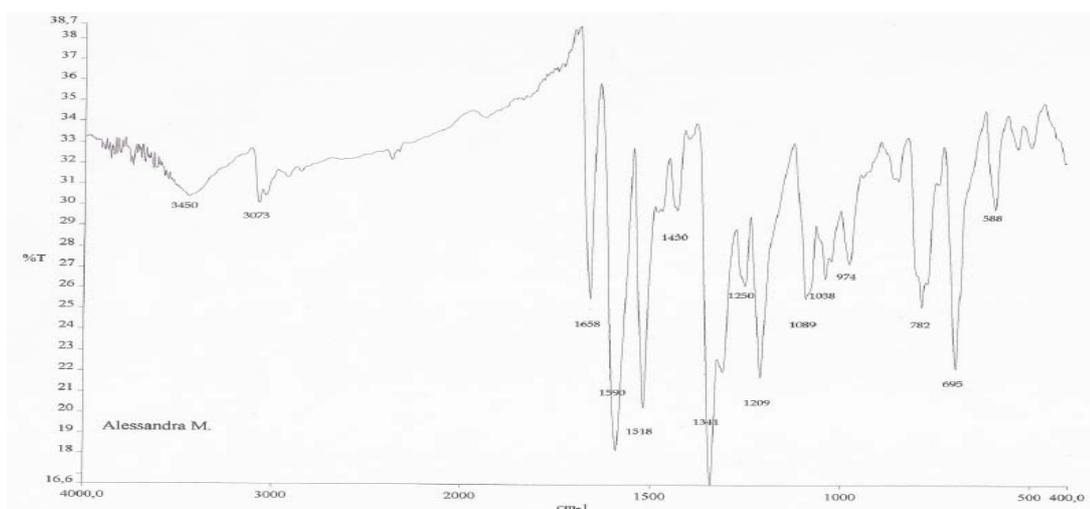


Figura 16 – Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **17**

No espectro de RMN ^1H do composto **21** (Figura 17), observamos os deslocamentos dos hidrogênios α e β na forma de dois dubletos acoplados entre si em 7,55 e 8,73 ppm, respectivamente, com $J = 15,6$ Hz, evidenciando a configuração *E* da molécula. Os deslocamentos dos hidrogênios 3, 6 e 7 como um multipletto entre 7,53 e 7,66 ppm, e os hidrogênios 4, 5 e 8 aparecem na forma de um multipletto entre 7,91-7,99 ppm. Os hidrogênios 3' e 5' encontram-se como dois dubletos acoplados entre si, com $J = 8,4$ Hz, em 8,38 ppm, e os hidrogênios 2' e 6'

também como dois dubletos acoplados entre si, com $J = 8,4$ Hz, em 8,21 ppm. E o hidrogênio 2 na forma de um dubleto em 8,23 ppm.

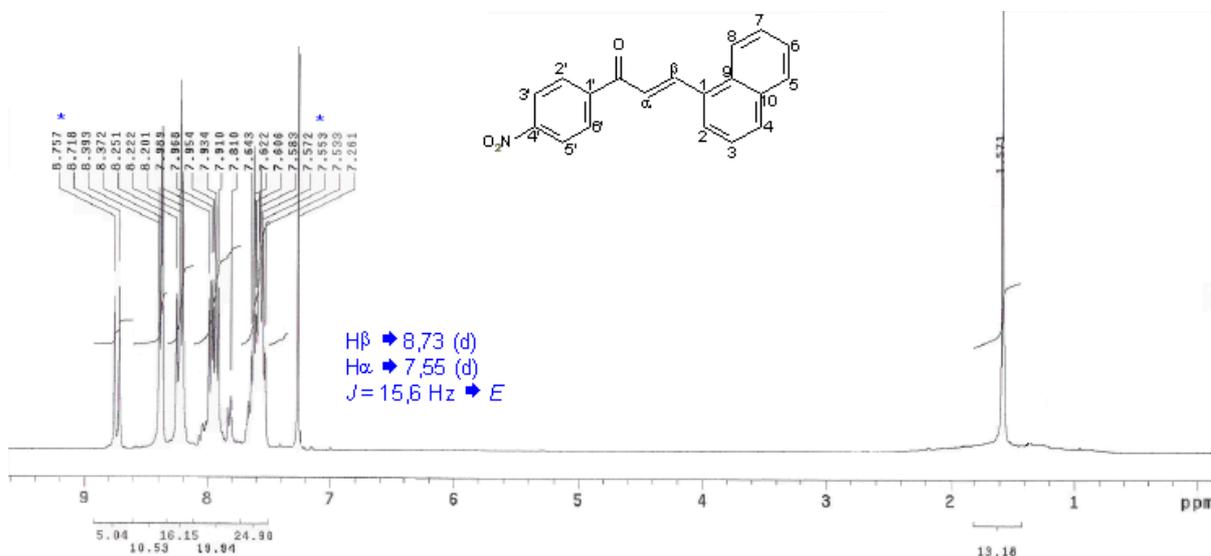


Figura 17 – Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da chalcona **21**

No espectro de absorção no IV (Figura 18), as absorções mais características do composto **21** são as da cetona conjugada ($\text{C}=\text{O}$) em 1683, da dupla ligação ($\text{C}=\text{C}$) em 1595 e do grupo NO_2 em 1519, 1341 e 849 cm^{-1} .

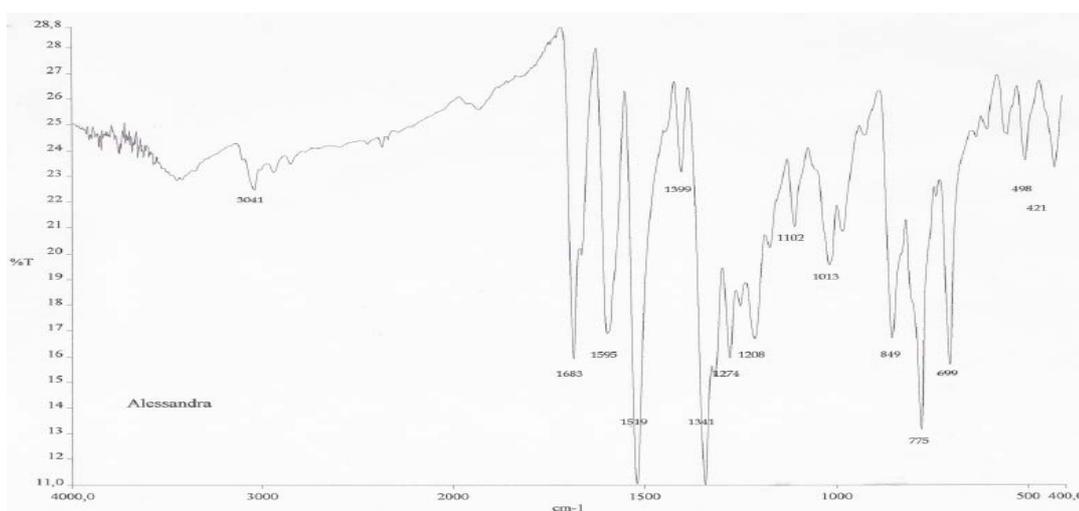


Figura 18 – Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **21**

No espectro de RMN ^1H do composto **24** (Figura 19), observamos os deslocamentos dos hidrogênios α e β na forma de dois dubletos acoplados entre si em 7,97 e 8,61 ppm, respectivamente, com $J = 15,2$ Hz, evidenciando a

configuração *E* da molécula. Os deslocamentos dos hidrogênios 3, 6 e 7 aparecem na forma de um multipletto entre 7,50 e 7,61 ppm, e os hidrogênios das metilas aparecem em 3,85 e 3,92 ppm, na forma de singletes. O hidrogênio 2 encontra-se como um dubleto em 8,31 ppm, e os hidrogênios 4, 5 e 8 em 7,92 ppm, como multipletos. Os hidrogênios 5' e 3', aparecem em 6,14 e 5,98 ppm, respectivamente, como singletos.

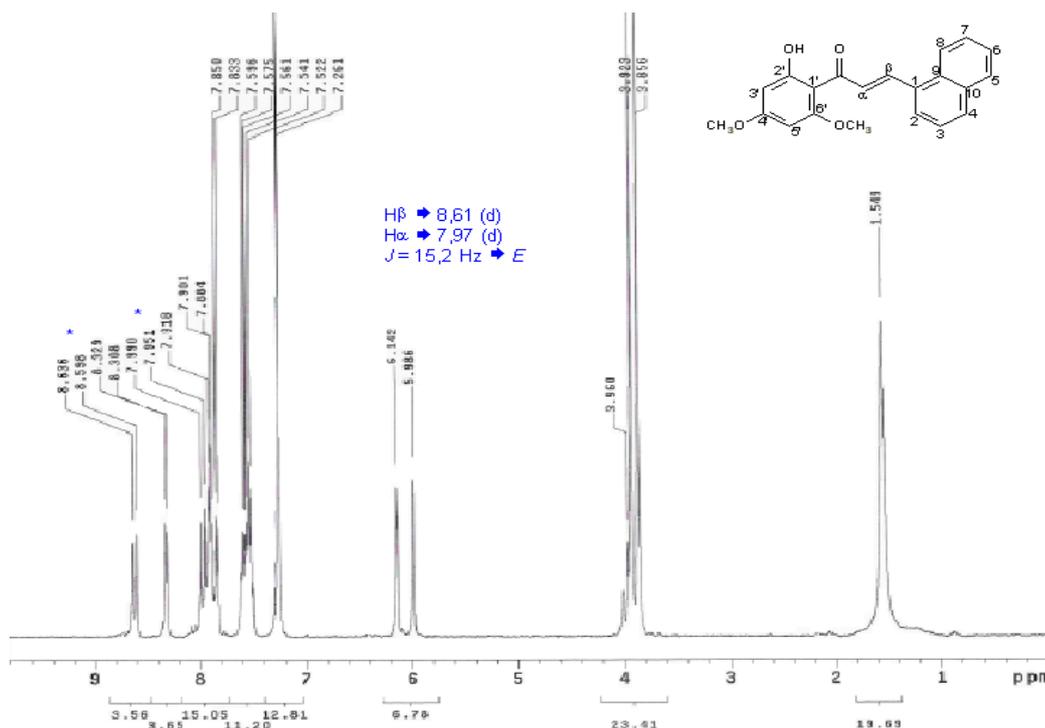


Figura 19 – Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) da chalcona **24**

No espectro de absorção no IV (Figura 20), as absorções mais características do composto **24** são as da hidroxila (OH) em 3450, da cetona conjugada (C=O) em 1627, da dupla ligação (C=C) em 1571 e d ligação C-O em 1257 e 1109 cm^{-1} .

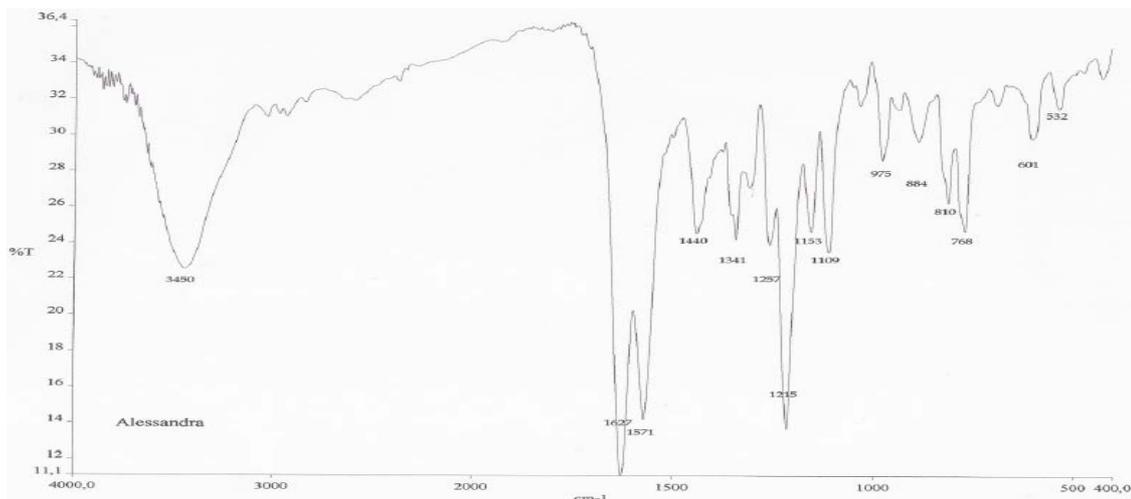


Figura 20 – Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **24**

No espectro de RMN ^1H do composto **25** (Figura 21), observamos os deslocamentos dos hidrogênios α e β na forma de dois dubletos acoplados entre si em 7,89 e 8,50 ppm, respectivamente, com $J = 16,0$ Hz, evidenciando a configuração *E* da molécula. Os deslocamentos dos hidrogênios 3, 5, 6, 7 e 8 aparecem na forma de um multipletto entre 7,49 e 7,59 ppm. Os hidrogênios das metilas aparecem em 3,88 e 3,83 ppm, na forma de singletes. O hidrogênio 2 encontra-se como um dubleto em 8,24 ppm, assim como o hidrogênio 4', em 6,96 ppm ($J = 8,2$ Hz). Os deslocamentos dos hidrogênios 6' (na forma de um singlete) e 3' (na forma de um dubleto) aparecem em 7,89 e 7,85 ppm, respectivamente. E o hidrogênio 4, como um duplo-dubleto em 7,06 ppm, com $J = 8,0$ Hz.

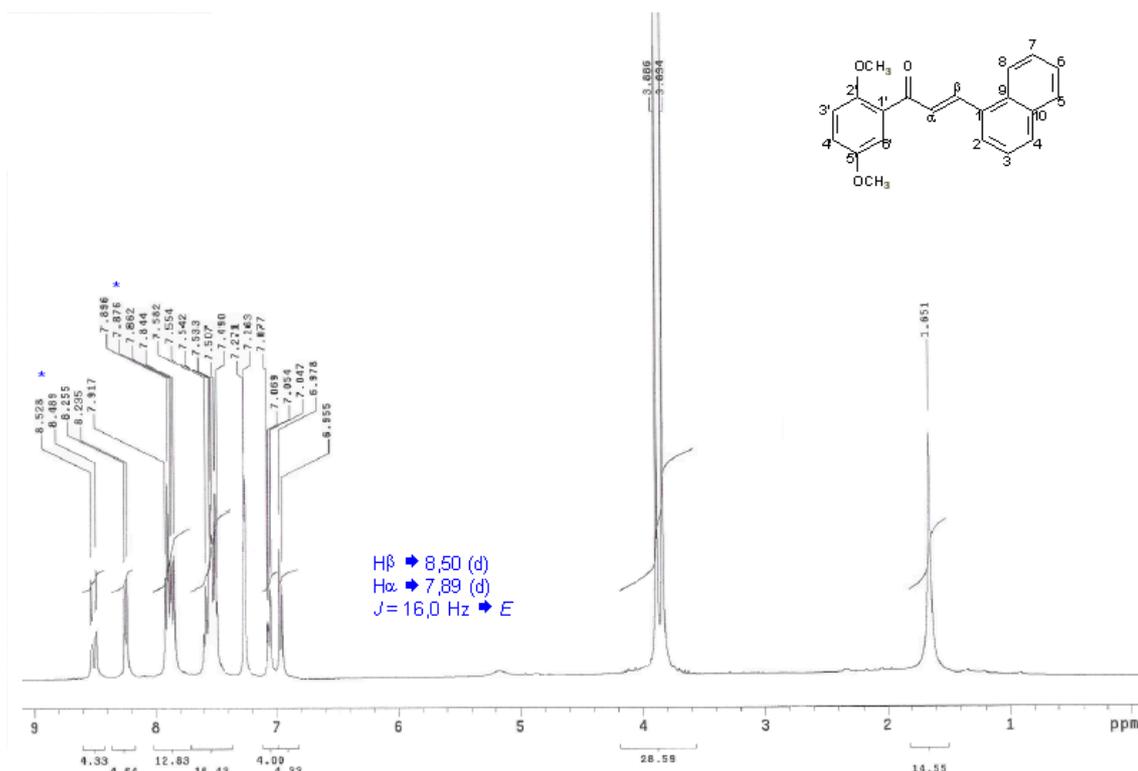


Figura 21 – Espectro de RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$) da chalcona **25**

No espectro de absorção no IV (Figura 22), as absorções mais características do composto **25** são as da cetona conjugada (C=O) em 1657, da dupla ligação (C=C) em 1588 e da ligação C-O em 1223 e 1043 cm^{-1} .

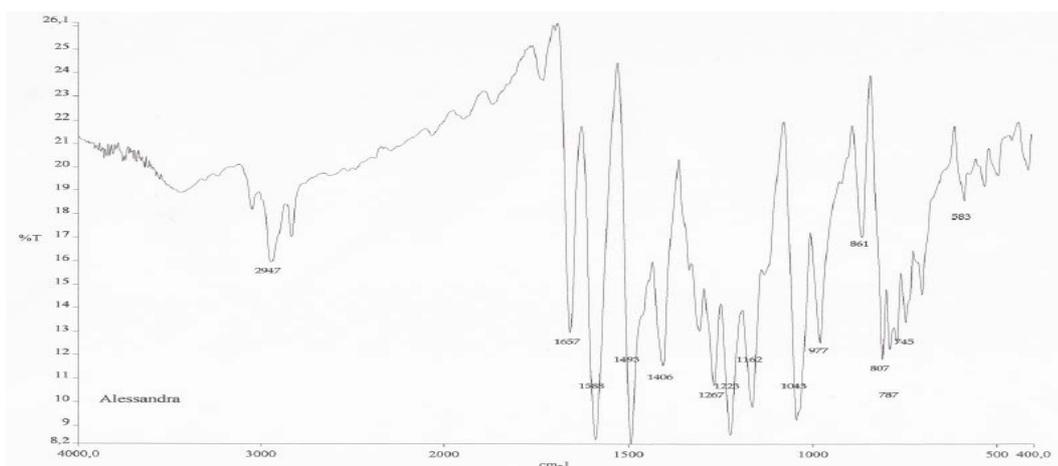


Figura 22 – Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **25**

Os espectros dos compostos **24** e **27** não apresentaram os deslocamentos referentes aos hidrogênios das hidroxilas, pois estes são trocados em solução com o clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) utilizado nas análises.

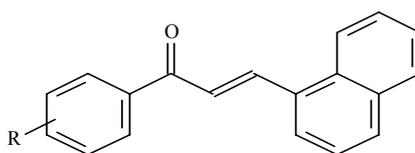
6.2. Atividade anti-leishmania

As chalconas sintetizadas foram testadas *in vitro* contra formas promastigotas da espécie *L. brasiliensis*. A atividade dos compostos foi determinada por contagem do número de parasitos vivos avaliada visualmente em microscópio invertido para verificação da motilidade dos mesmos. Os resultados dos testes estão apresentados na Tabela 2.

Analisando as estruturas que apresentaram melhor atividade anti-*Leishmania*, observou-se que as chalconas que possuem no anel A uma hidroxila na posição 3 (**27**), ou grupos metoxilas especificamente nas posições 4 (**16**); 2,5 (**25**) e 2,4 (**26**), bem como o anel A sem substituintes (**22**), apresentaram atividade inibitória do crescimento do protozoário. Os grupos hidroxila e metoxila presentes nestes compostos contribuem para o aumento da hidrofiliicidade das estruturas, o que mostra uma tendência dos mesmos a não se acumularem nos tecidos adiposos.

A localização dos grupos metoxila (doador de elétrons, que aumenta a densidade eletrônica do anel aromático) no anel A das chalconas **16**, **25** e **26**, as destaca como as de melhor atividade anti-promastigota por zerar a motilidade dos protozoários.

Tabela 2 – Atividade anti-promastigota das chalconas derivadas do 1-naftaldeído, testadas nas concentrações de 500 e 50µM, em triplicata.



Chalcona	R	Inibição da motilidade do parasita (500 e 50µM)
16	4-OCH ₃	100%
17	3-NO ₂	-
18	2-OH	-
19	4-Br	-
20	3,4-di-OCH ₃	-
21	4-NO ₂	-
22	H	100%

23	3,4,5-tri-OCH ₃	-
24	2-OH-4,6-di-OCH ₃	-
25	2,5-di-OCH ₃	100%
26	2,4-di-OCH ₃	100%
27	3-OH	100%

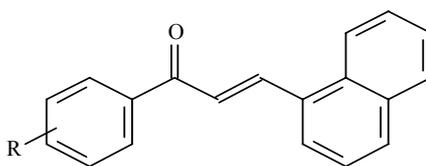
A presença da hidroxila na posição *meta* do anel A no composto **27** também pode ser fundamental para a interação molecular da chalcona com o parasita ou célula alvo. A estrutura **22**, que não possui substituintes no anel A, também conferiu atividade considerável contra as formas promastigotas de *L. brasiliensis*.

Analisando a estrutura-atividade dos compostos ativos, percebemos que a ação pode depender de fatores eletrônicos, mas depende predominantemente de fatores conformacionais das moléculas, por apresentarem efeitos muito específicos, o que poderia indicar uma possível ação destes compostos na atividade de alguma enzima do protozoário.

A boa atividade dos derivados naftalênicos sugere que existe uma tolerância considerável para o tamanho do anel B, conforme observado em estudos de relação estrutura-atividade citados na literatura. Ainda, estudos estéricos afirmam que as características do anel A parecem ser menos importantes que as do anel B.⁴⁶ Entretanto, há citações de que os substituintes no anel A são os principais responsáveis pelas diferenças, onde os grupos volumosos nas posições 2' e 3' aumentam, e na posição 4' reduzem a atividade anti-leishmania.²⁰

A partir da análise dos dados da Tabela 2, foram selecionadas as 5 chalconas ativas (16, 22, 25, 26 e 27) para obtenção do IC₅₀, determinado pela contagem do número de protozoários em câmara de Neubauer, nas concentrações de 100, 50, 25, 10, 5 e 1µM. Os valores de IC₅₀ obtidos estão na Tabela 3.

Tabela 3: IC₅₀ das chalconas **16**, **22**, **25**, **26** e **27**, em comparação aos fármacos Anfotericina B e Pentamidina.



Chalcona	R	IC ₅₀ (μM)	Varição da IC ₅₀
16	4-OCH ₃	48,10	20,97 – 79,88
22	H	31,85	17,41 – 58,27
25	2,5-di-OCH ₃	19,41	15,34 – 24,56
26	2,4-di-OCH ₃	20,90	15,29 – 28,56
27	3-OH	21,21	15,47 – 29,09
Anfotericina B		0,30	
Pentamidina		6,00	

Os análogos 25 e 26, com dois grupos substituintes (-OCH₃), apresentaram-se mais ativos que o composto 16 (com apenas um grupo metoxila). Isso demonstra que a presença de mais de um grupo substituinte pode ser importante na ação da molécula.

Mesmo os fármacos referência apresentando IC₅₀ menor que o dos compostos, temos que considerar que os primeiros apresentam alta toxicidade e efeitos colaterais, e as chalconas, como já relatado na literatura, apresentam baixa toxidez. Desta forma, testes de citotoxicidade serão realizados, e o composto 25, que apresentou melhor atividade contra as formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis* pode vir a ser um protótipo de fármaco para uso contra leishmanioses.

7 CONCLUSÕES

A presente pesquisa, desenvolvida em duas frentes complementares: síntese e avaliação biológica, permite considerar os seguintes aspectos:

- As 12 chalconas sintetizadas a partir da reação entre o 1-naftaldeído e diferentes acetofenonas foram obtidas a partir de reações simples e com bons rendimentos. Foram obtidos quatro compostos inéditos **17**, **21**, **24** e **25**.
- Na avaliação da atividade anti-leishmania, as chalconas **16**, **22**, **25**, **26** e **27** apresentaram-se ativas, indicando que a presença de grupos OH e OCH₃ em posições específicas do anel A pode ser fundamental contra as formas promastigotas de *Leishmania brasiliensis*. Analisando a estrutura-atividade, observamos que as chalconas podem estar agindo em alguma enzima específica do parasita, pois fatores conformacionais são predominantes em relação aos fatores eletrônicos.

8 PERSPECTIVAS

Os resultados promissores obtidos até o momento mostram a importância da continuidade dos estudos destas chalconas sintéticas. Estão em andamento testes de atividade citotóxica, antifúngica, antitumoral, antileucêmica e anti-*Trypanossoma cruzi*.

Também é interessante a avaliação de outras atividades biológicas destas chalconas, como analgésica, antiinflamatória e antibacteriana, através de métodos bioquímicos e farmacológicos, assim como testes contra as formas amastigotas de *Leishmania amazonensis* e experimentos para determinar o mecanismo de ação das estruturas mais ativas.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – AMARAL, A. T. do; MONTANARI, C. A. Química Medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Química Nova**, v.25, n 1, p. 39-44, 2002.
- 2 – CALIXTO, J. B. Estudo Farmacológico Pré-clínico de Plantas Medicinais. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). **Plantas Medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001. Cap. 3, p. 78.
- 3 – BARREIRO, E. J. Desenho de Fármacos a partir de Produtos Naturais, In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). **Plantas Medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001. Cap. 7, p. 238-260.
- 4 – CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Estudo Químico de Plantas Medicinais orientado para a Análise Biológica. Obtenção, Determinação e Modificação Estrutural de Compostos Bioativos. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). **Plantas Medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001. Cap. 2, P. 59-69.
- 5 – RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. Cap. 54, p. 851-856.
- 6 – BARREIRO, E. J. A importância da síntese de fármacos na produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 14, n. 3, p. 179-188, 1991.
- 7 – CHIARADIA, L. D. Obtenção de Chalconas Sintéticas com Potencial Atividade Biológica. Florianópolis, 2006. 168 p. Dissertação de Mestrado em Química – Programa de Pós-Graduação em Química, UFSC.
- 8 – COTELLE, N.; BERNIER, J. L.; CATTEAU, J. P.; POMMERY, J.; WALLET, J. C.; GAYDOU, E. M. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, n. 1, p. 35-43, 1996.

- 9 – MIDDLETON Jr., E.; KANDASWAMI, C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. **Biochemical pharmacology**, v. 43, n. 6, p. 1167-1179, 1992.
- 10 – HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 2000.
- 11 – ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; *et al.* (orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Florianópolis: Ed. da UFSC, Porto Alegre: Ed. da UFRGS. Cap. 23, p. 499-526, 2001.
- 12 – WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of Phenolic Plant Metabolites**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, p. 11, 1994.
- 13 – NIELSEN, S. F.; BOESEN, T.; LARSEN, M.; SCHONNING, K.; KROMANN, H. Antibacterial chalcones – bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 3047-3054, 2004.
- 14 – PAPPANO, N. B.; PUIG de CENTORBI, O.; DEBASTTISTA, N. B.; CALLERI de MILAN, C.; BRORKOWSKI, E. J.; FERRETTI, F. H. Kinetics of the bacteriostatic effects of synthetic and natural chalcones on a *Staphylococcus aureus* strain. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 17, n. 1, p. 27-32, 1985.
- 15 – NINOMIYA, Y.; SHIMMA, N.; ISHITSUKA, H. Comparative studies on the antirhinovirus activity and the mode of action of the rhinovirus capsid binding agents, chalcone amides. **Antiviral Research**, v. 13, n. 2, p. 61-74, 1990.
- 16 – WU, J. H.; WANG, X. H.; YI, Y. H.; LEE, K.H. Anti-AIDS Agents 54. A Potent Anti-HIV Chalcone and Flavonoids from Genus *Desmos*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, p. 1813-15-815, 2003.
- 17 – BOECK, P.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V.; LÓPEZ, S.; SORTINO, M.; ESCALANTE, A.; FURLÁN, R. L. E.; ZACCHINO, S. Antifungal

Activity and Studies on Mode of Action of Novel Xanthoxyline-Derived Chalcones. **Archiv der Pharmazie Chem. Life Sci.**, v. 338, p. 87-95, 2005.

18 – LI, R.; KENYON, G. L.; COHEN, F. E.; CHIEN, X.; GONG, B.; DOMINGUEZ, J.; DAVIDSON, E.; KURZBAN, G.; MILLER, R. E.; NUZUM, E. O.; ROSENTHAL, P.; MCKERROW, J. H. *In vitro* Antimalarial Activity of Chalcones and Their Derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, p. 5031-5037, 1995.

19 – LUNARDI, F.; GUZELA, M.; RODRIGUES, A. T.; CORRÊA, R.; EGERMANGRICH, I.; STEINDEL, M.; GRISARD, E. C.; ASSREUY, J.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S. Trypanocidal and Leishmanicidal Properties of substitution-Containing Chalcones. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 47, n. 4, p. 1449-1451, 2003.

20 – NIELSEN, S. F.; CHRISTENSEN, S. B.; CRUCIANI, G.; KHARAZMI, A.; LILJEFORS, T. Antileishmanial Chalcones: Statistical Design, Synthesis, and Three-Dimensional Quantitative Structure – Activity Relationship Analysis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 4819-4832, 1998.

21 – SASAJIMA, M.; NAKANE, S.; SAZIKI, R.; SAOTOME, H.; HATAYAMA, K.; KYOGOKU, K.; TANAKA, I. Studies on the anti-ulcer effects of isoprenyl flavonoids. 1. The anti-ulcer effects of isoprenyl chalcone extracted from *Sophora subprostrata*. **Nippon Yakurigaku Zasshi**, v. 74, n. 5, p. 897-905, 1978.

22 – ANTO, R. J.; SUKUMARAN, K.; KUTTAN, G.; RAO, M. N. A.; SUBBARAJU, V.; KUTTAN, R. Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. **Cancer Letters**, v. 97, p. 33-37, 1995.

23 – BARFORD, L.; KEMP, K.; HANSEN, M.; KHARAZMI, A. Chalcones from Chinese liquorice inhibit proliferation of T cells and production of cytokines. **International Immunopharmacology**, v. 2, p. 545-555, 2002.

24 – SAYDAM, G.; AYDIN, H. H.; SAHIN, F.; KUCUKOGLU, O.; ERCIYAS, E.; TERZIOGLU, E.; BUYUKKECECI, F.; OMA, S. B. Cytotoxic and inhibitory effects of

4,4'-dihydroxy chalcone (RVC-588) on proliferation of human leukemic HL-60 cells. **Leukemia Research**, v. 27, p. 57-64, 2003.

25 – POTTER, G. A.; BUTLER, P. C. 3,4-methylenedioxy-substituted chalcones as therapeutic agents. UK **WO 03/028713**, 2003. 100 pp.

26 – WON, C. J.; LIU, C. T.; TSAO, L.T.; WENG, J. R.; KO, H. H.; WANG, J. P.; LIN, C. N. Synthetic chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 103-112, 2005.

27 – CECHINEL-FILHO, V.; VAZ, Z. R.; ZUNINO, L.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Synthesis of xanthoxylone derivatives with antinociceptive and antiedematogenic activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 31, p. 833-839, 1996.

28 – CORRÊA, R.; PEREIRA, M. A. S.; BUFFON, D.; DOS SANTOS, L.; CECHINEL-FILHO, V.; SANTOS, A. R. S.; NUNES, R. J. Antinociceptive properties of chalcones. Structure-activity relationships. **Arch. Pharm. Méd. Chem.**, v. 334, p. 332-334, 2001.

29 – EDDARIR, S.; COTELLE, N.; BAKKOUR, Y.; ROLANDO, C. An Efficient synthesis of chalcones base don the Suzuki reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p. 5359-5363, 2003.

30 – LI, J. T.; YANG, W. Z.; WANG, S. X.; LI, S. H.; LI, T.S. improved synthesis of chalcones under ultrasond irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 9, p. 237-239, 2002.

31 – SEBTI, S.; SOLHY, A.; TAHIR, R.; BOULAAJAD, S.; MAYORAL, J. A.; FRAILE, J. M.; KOSSIR, A.; OUMIMOUN, H. Calcined sodium nitrate/natural phosphate: an extremely active catalyst for the easy synthesis of chalcones in heterogeneous media. **Tetrahedron Letters**, v. 42, p. 7953-7955, 2001.

32 – MC MURRY, J. **Química Orgânica**, v. 2, 4 ed. Rio de Janeiro: LTC, 1197. Cap 23. p. 262-267.

33 – **WHO**. Leishmaniasis: background information. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>>. Acesso em: 29 maio 2006.

34 – **WHO**. Disponível em: <http://www.who.int/tdr/dw/leish_map.htm>. Acesso em: 20 março 2006.

35 – **WHO**. Slides for the “Manual on visceral leishmaniasis control”. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/surveillance/slides_manual/en/>. Acesso em: 20 março 2006.

36 – NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 10 ed., 2000.

37 – Parasitology. Blood and Tissue Protozoa. Disponível em <<http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/lei13.jpg>>. Acesso em: 20 março 2006.

38 – CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; BLOM, J.; LEMMICH, E.; NADELMANN, L.; FICH, K.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A. Licochalcone A, a novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of *Leishmania*. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, v. 37, n. 12, p. 2550-2556, 1993.

39 – CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A. Antileishmania activity of licochalcone A in mice infected with leishmania major and in hamsters infected with *Leishmania donovani*. **Antimicrobial and chemotherapy**, v. 38, n. 6, p. 1339-1344, 1994.

40 – BERGMANN, B. R.; TORRES dos SANTOS, E. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V.; BOECK, P. Preparation of chalcones for the treatment of parasitic diseases. Brasil **PI 0204079-4**, 2004. 40 pp.

41 – BOECK, P. **Obtenção de Moléculas com Potencial Terapêutico a partir de Compostos Naturais e sintéticos**. Florianópolis, 2005. 117 p. Tese de Doutorado em Química – Programa de Pós-graduação em Química, UFSC.

42 – LIU, M.; WILAIRAT, P.; CROFT, S. L.; TAN, A. L. C.; GO, M. L. Structure-Activity Relationships of Antileishmanial and Antimalarial Chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 2729-2738, 2003.

43 – CHATTERJEE, S.; KAR, S.; LAHIRI, S.; BASU, S.; Steric-controlled excimer formation in naphthalene analogues of chalcone **Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, p.1713-1718, 2004.

44 - SUBBANWAD, G. R.; VIBHUTE, Y. B. Studies on synthesis and antimicrobial activity of some flavonols. **Asian Journal of Chemistry** , v. 5, p. 352-357, 1993.

45 - RAUT, K. B.; WENDER, S. H. Synthesis of certain chalcones and 3-hydroxychromones. **Journal of Organic Chemistry**, n. 25, p. 50-52, 1960.

46 - LIU, M.; WILAIRAT, P.; CROFT, S. L.; TAN, A. L.; GO, M. Structure-activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, n. 11, p. 2729-2738, 2003.

47 - LATIF, N.; EL-BAYOUKI, K. Tetrabromo-o-benzoquinone, new brominating agent of chalcones. **Chemistry & Industry**, v. 7, p. 316, 1975.

48 – XUE, C. X.; CUI, S. Y.; LIU, M. C.; HU, Z. D.; FAN, B. T. 3D DSAR studies on antimalarial alkoxyated and hydroxylated chalcones by CoMFA and CoMSIA. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 39, p. 745-753, 2004.

49 - CREMLYN, R. J.; SWINBOURNE, F. J.; MOOKERJEE, E. Some reactions of 4-chlorosulfonyl-naphthylchalcone, **Indian Journal of Chemistry, Section: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, n. 25, v. 5, p. 562-565, 1986.

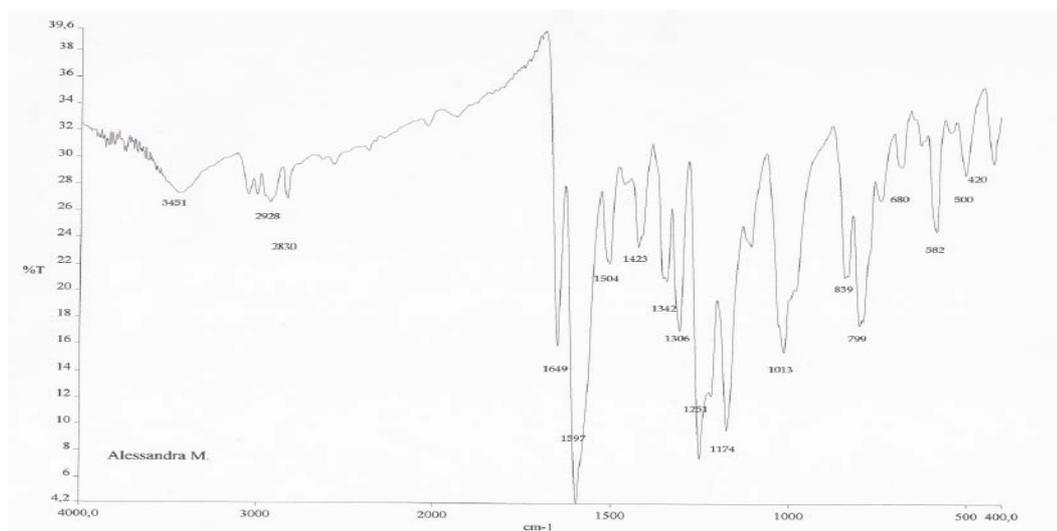
50 – BANGAL, R. P.; LAHIRI, S.; KAR, S.; CHAKRAVORTI, S. Vibronic interaction and photophysics of chalcone derivatives. **Journal of Luminescence**, n. 7, p. 256-268.

51 - VIBHUTE, Y. B. Synthesis and antimicrobial activity of some halo-chalcones and flavones. **Journal of the Indian Chemical Society**, n. 53, v. 7, p. 736-738, 1976.

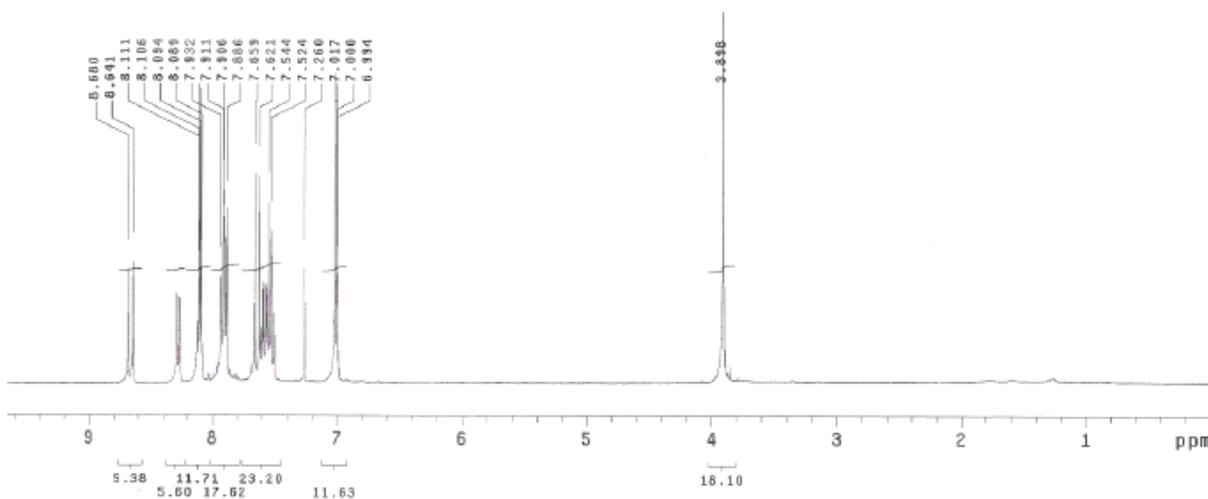
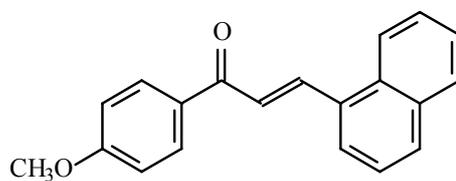
52 – HOLLINSHEAD, S. P. Stereoselective synthesis of highly functionalized pyrrolidines via 1,3-dipolar cycloaddition reactions on a solid support. **Letters Tetrahedron**, n. 51, p. 9157-9160, 1996.

53 – STREITWIESER, A.; HEATHCOCK, C. H.; KOSOWER, E. M.; **Introduction to Organic Chemistry**. 4 ed. New York: Macmillan, Cap. 31, p. 1060-1062, 1992.

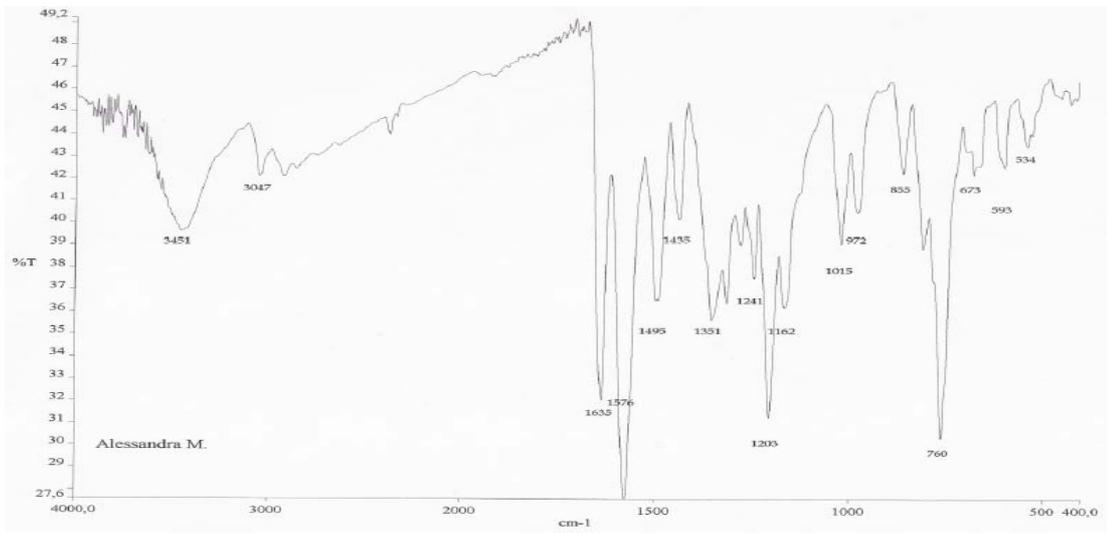
ANEXO 1 – Estruturas de RMN ¹H e infravermelho dos compostos 16, 18, 19, 20, 22, 23, 26 e 27.



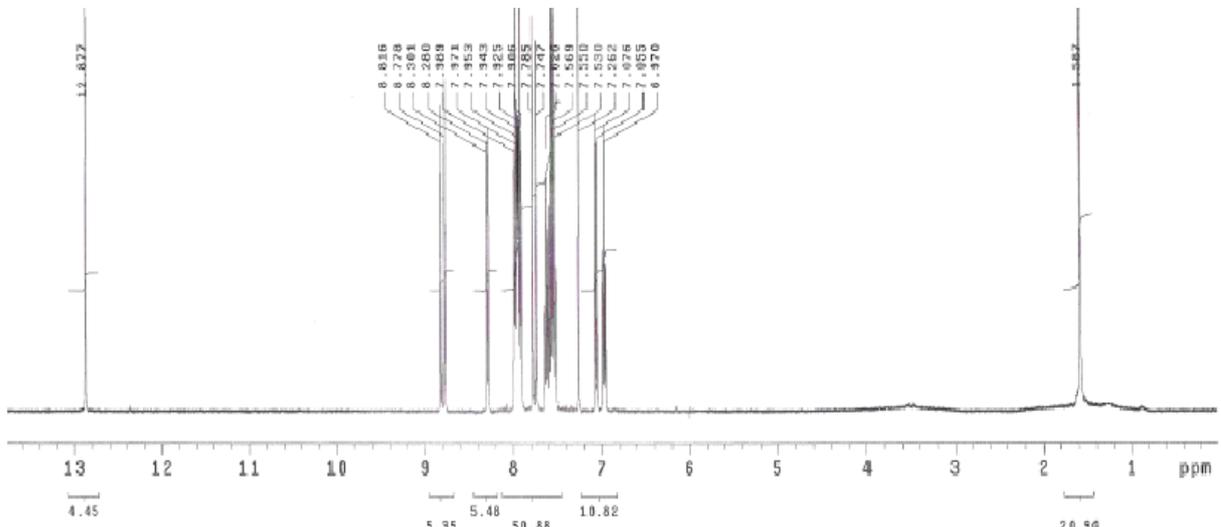
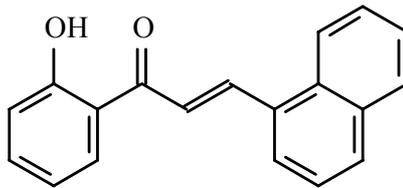
16, IV



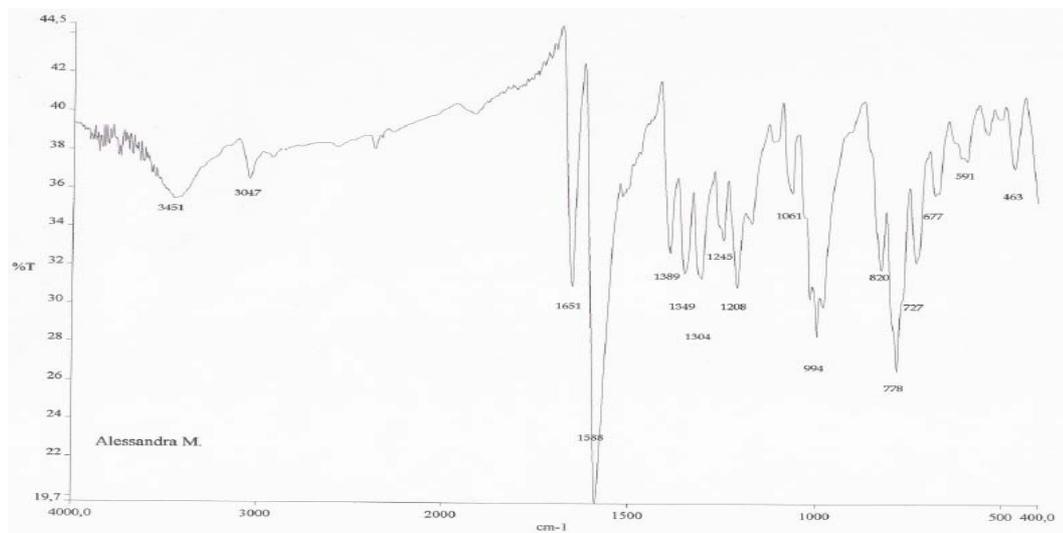
16, RMN ¹H



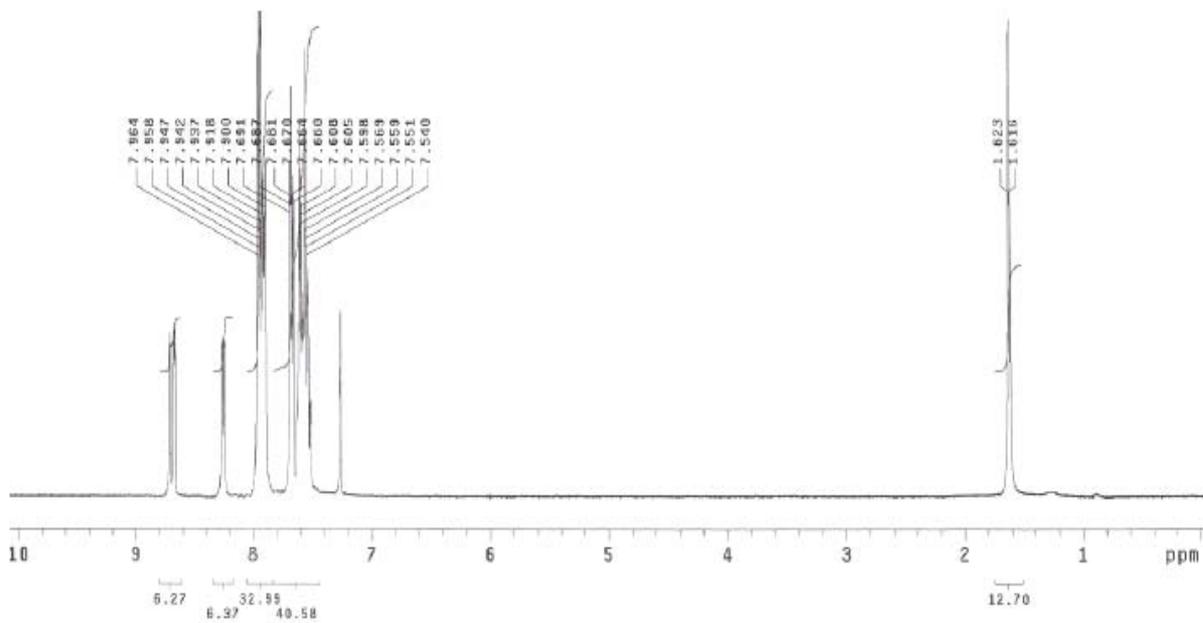
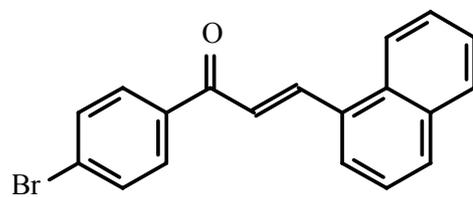
18, IV



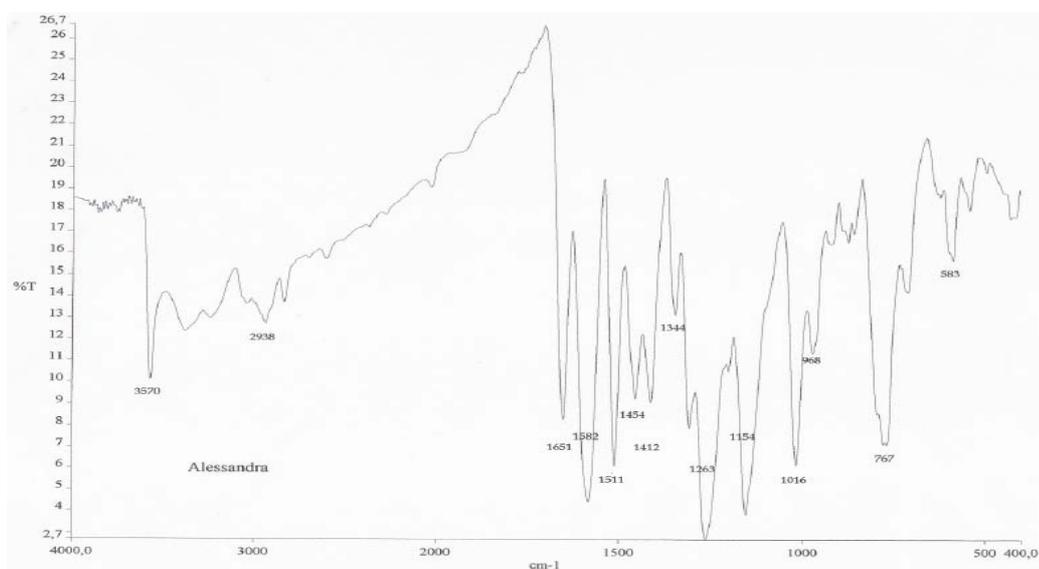
18, RMN ^1H



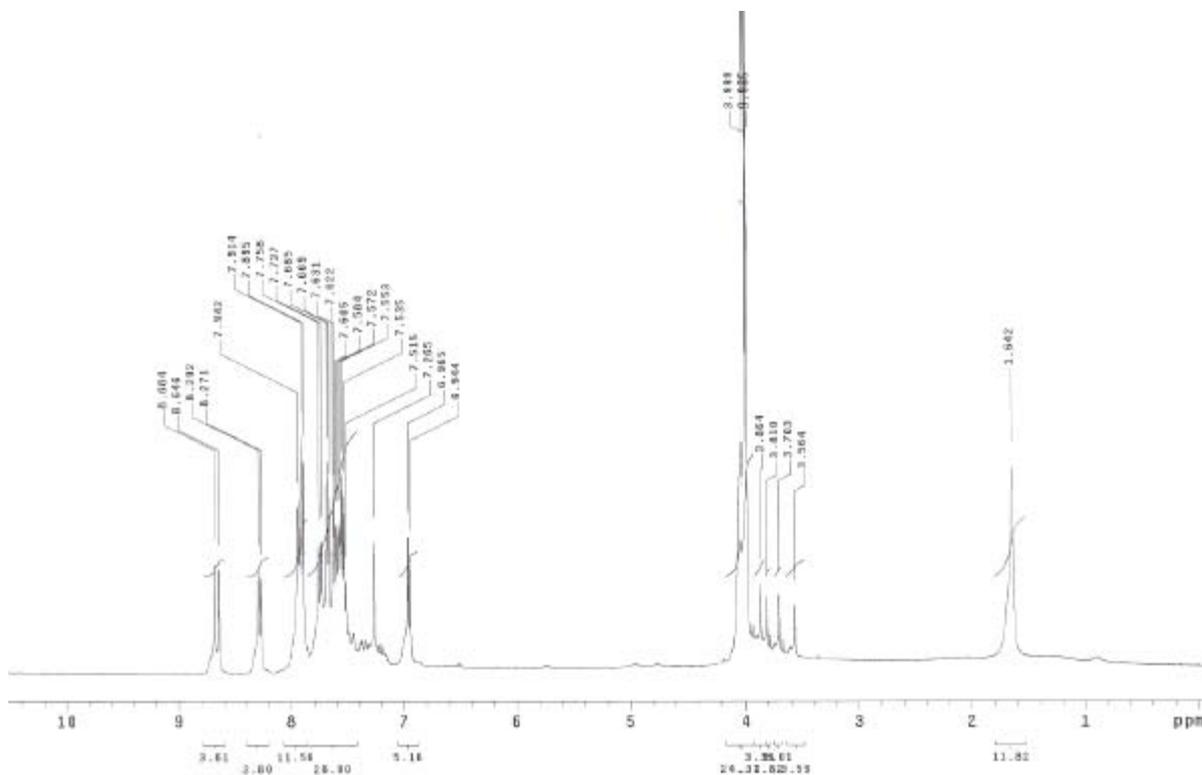
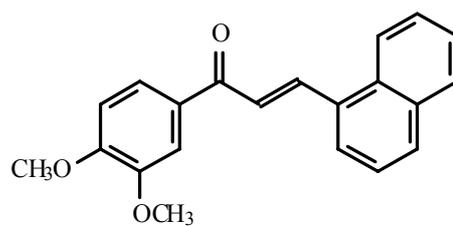
19, IV



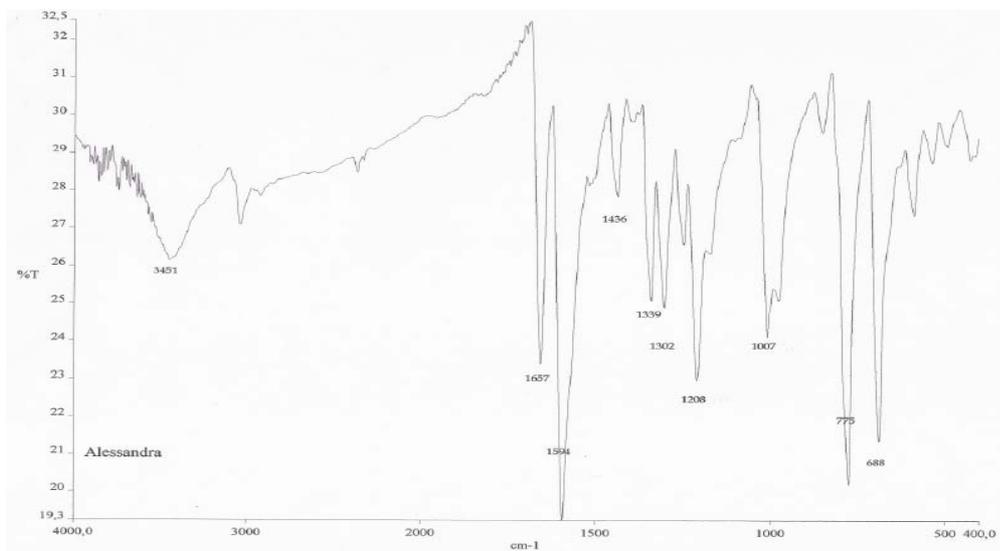
19, RMN ¹H



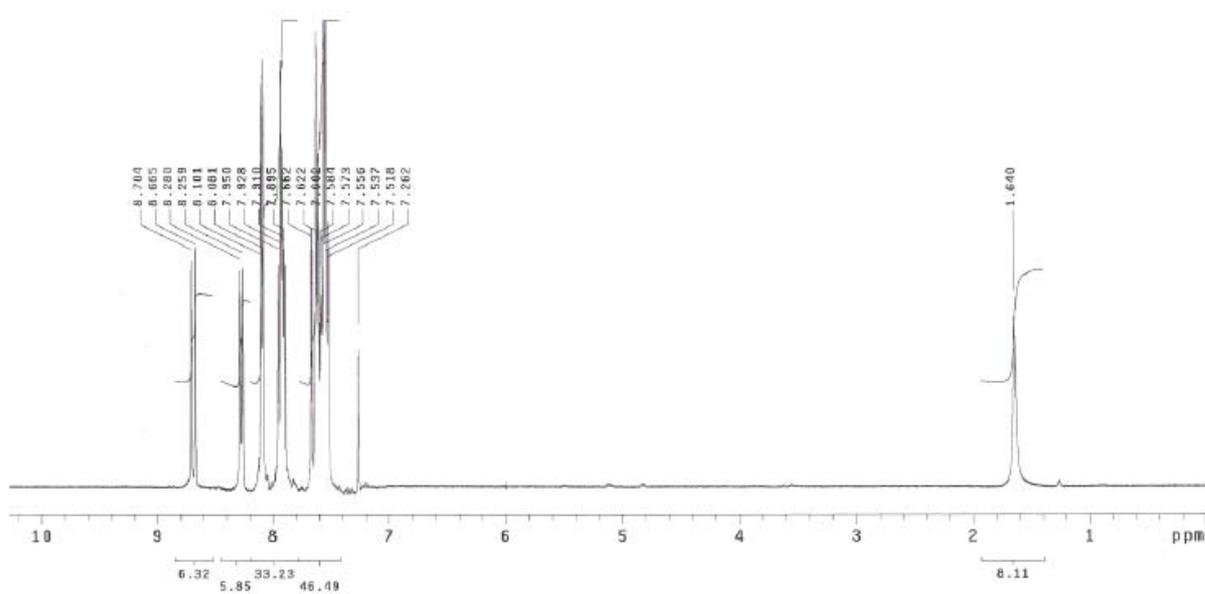
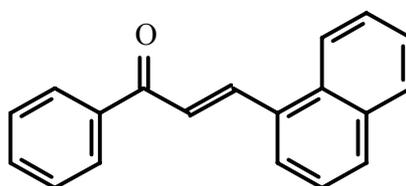
20, IV



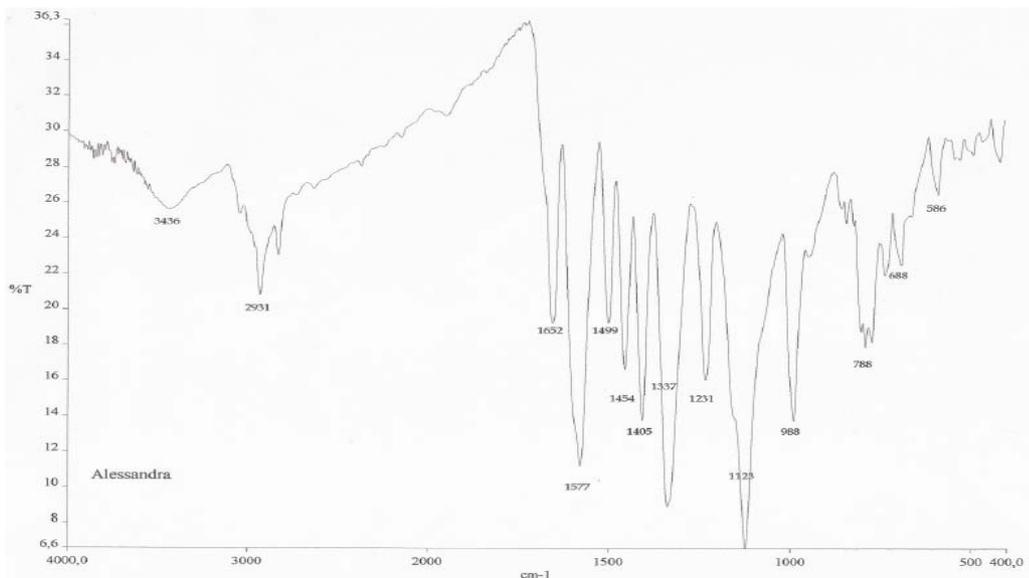
20, RMN ¹H



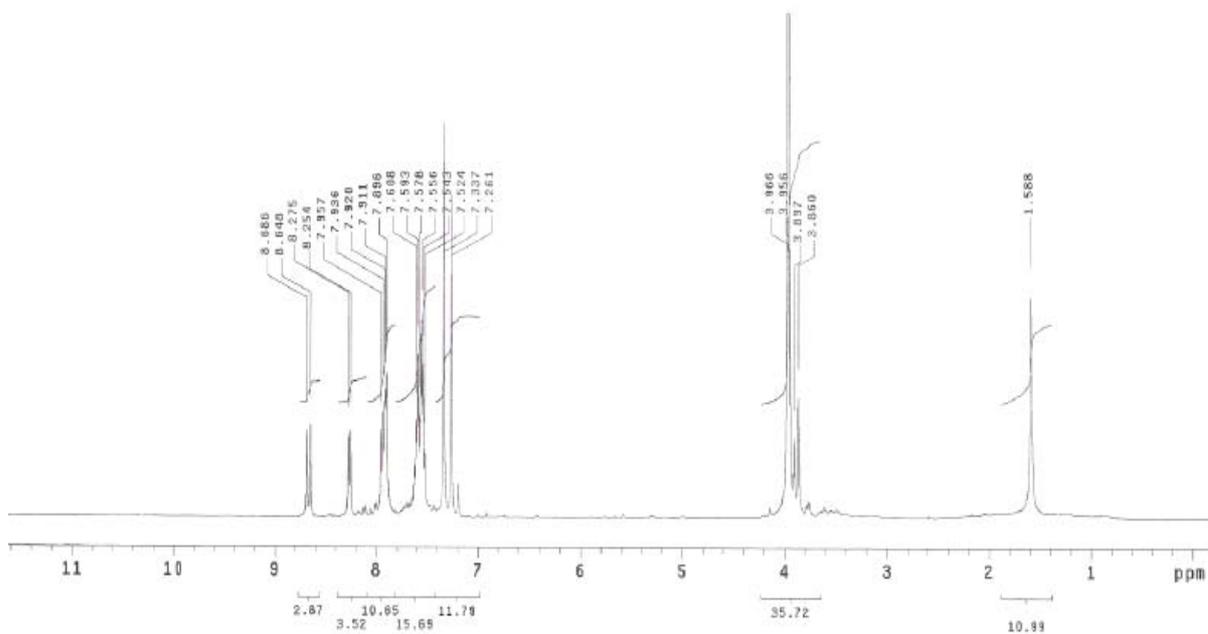
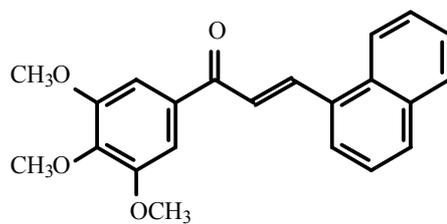
22, IV



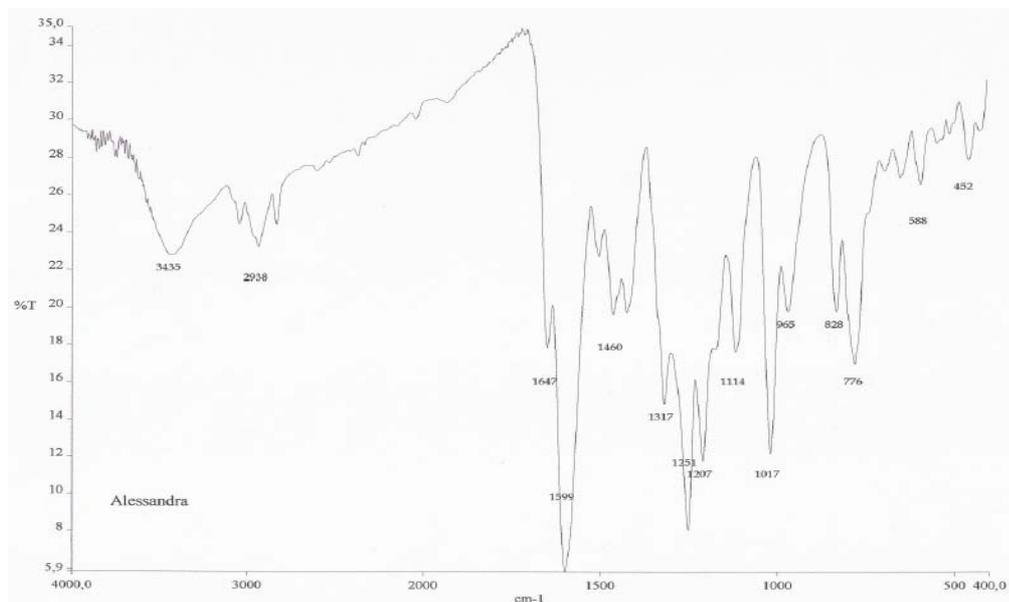
22, RMN ¹H



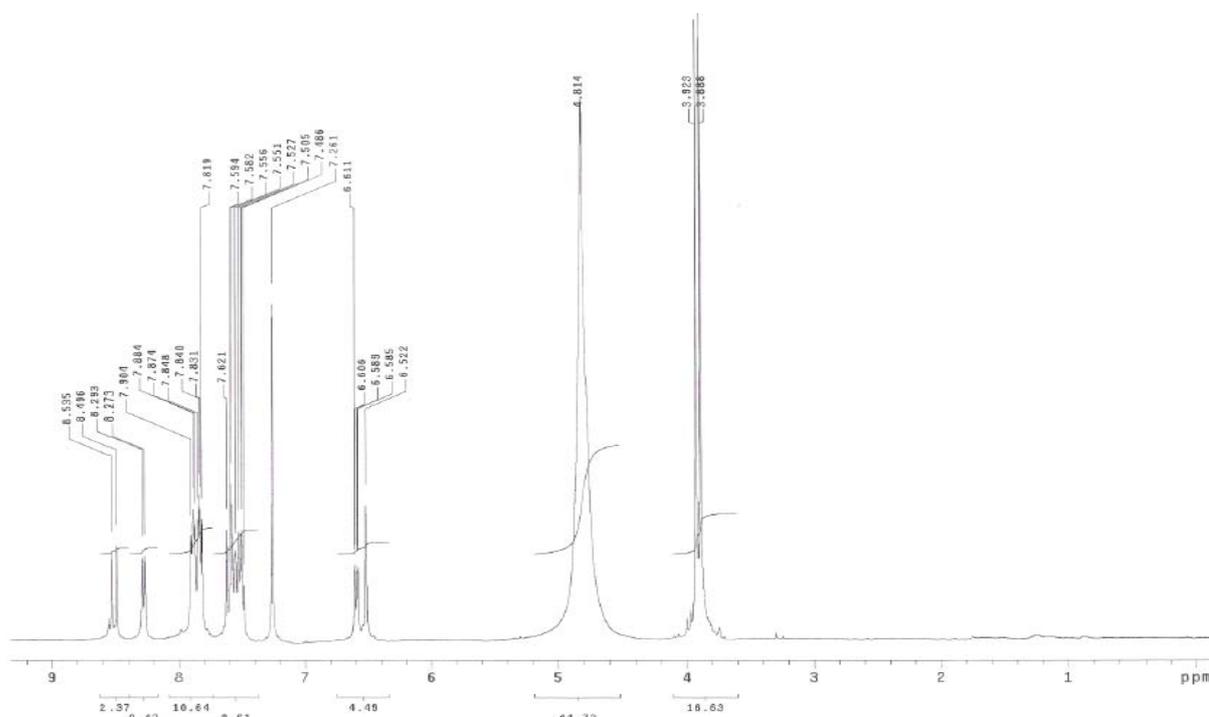
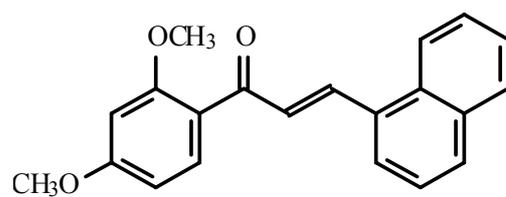
23, IV



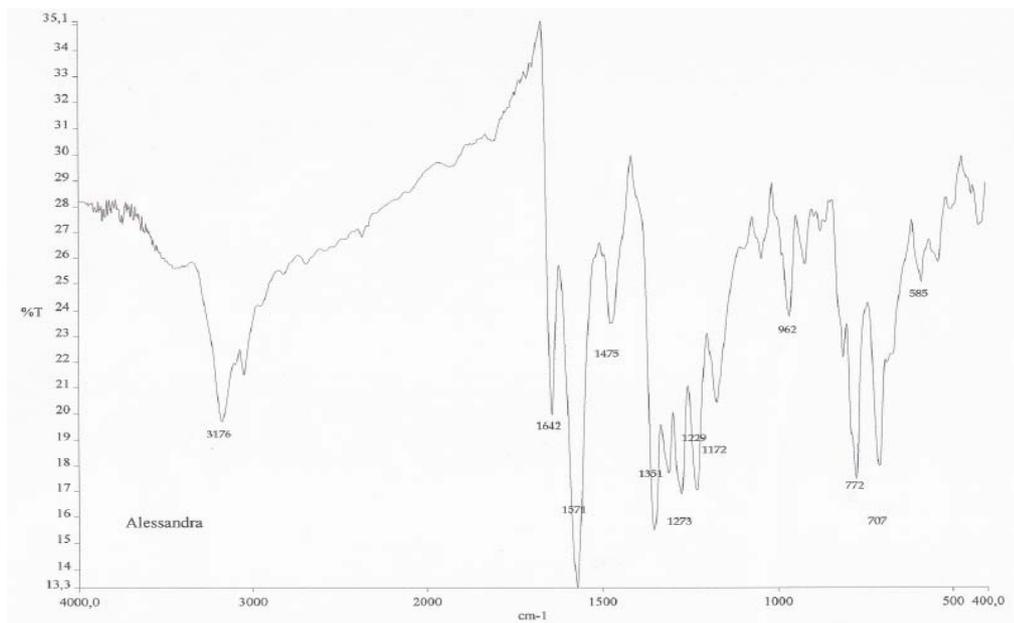
23, RMN ¹H



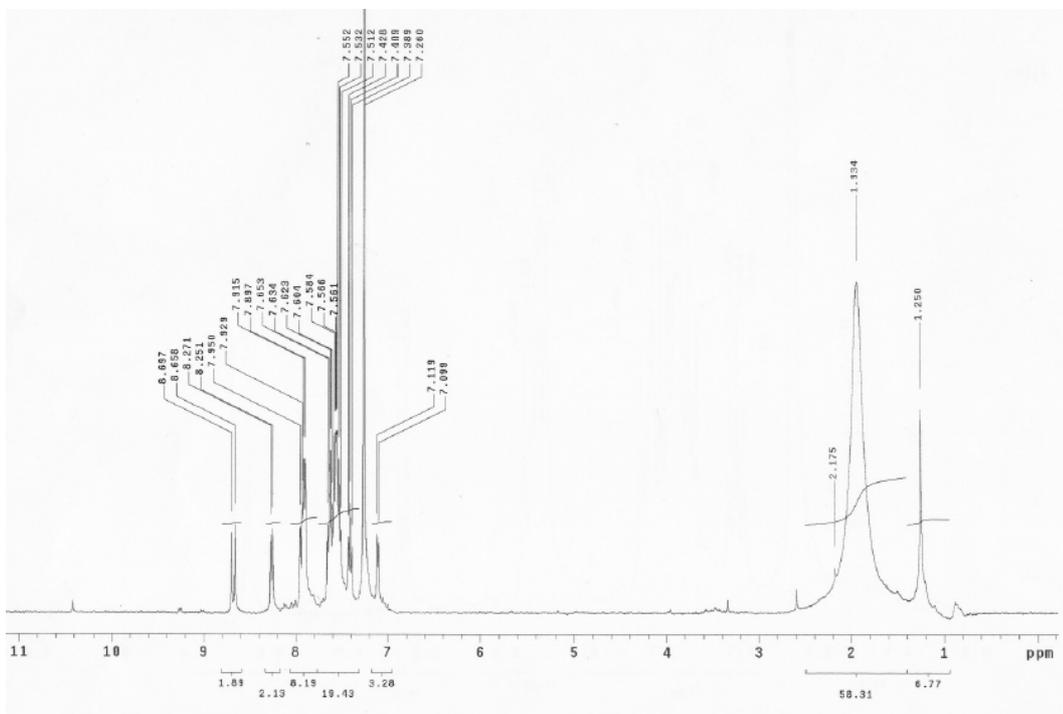
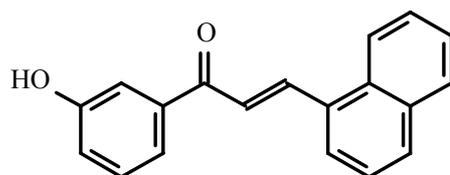
26, IV



26, RMN ¹H



27, IV



27, RMN ¹H