



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO LICENCIATURA EM QUÍMICA

ARTHUR VINICIUS TEIXEIRA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DO 3,7-DIMETÓXICAEMPFEROL VISANDO À
ATIVIDADE LEISHMANICIDA**

Recife

2020

ARTHUR VINICIUS TEIXEIRA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DO 3,7-DIMETÓXIKAEMPFEROL VISANDO À
ATIVIDADE LEISHMANICIDA**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito necessário à obtenção de título de licenciado em Química, pelo curso de Licenciatura Plena em Química da UFRPE.

Orientador: Prof. Dr. Celso de Amorim Camara

Recife

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48s

de Oliveira, Arthur Vinicius Teixeira

Síntese para obtenção do 3,7-dimetóxikaempferol visando à atividade leishmanicida / Arthur Vinicius Teixeira de Oliveira. - 2020.
48 f. : il.

Orientador: Celso de Amorim Camara.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Química, Recife, 2022.

1. Flavonoides. 2. Naringenina. 3. Leishmaniose. I. Camara, Celso de Amorim, orient. II. Título

CDD 540

ARTHUR VINICIUS TEIXEIRA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE PARA OBTENÇÃO DO 3,7-DIMETÓXIKAEMPFEROL VISANDO À
ATIVIDADE LEISHMANICIDA**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito necessário à obtenção do grau de licenciado em Química pela banca examinadora representada pelos membros:

Aprovada em:

Orientador

Prof. Dr. Celso de Amorim Camara (UFRPE)

Examinador (a)

Prof. Dr. Kristerson Reinaldo de Luna Freire (CBIOTEC-UFPB)

Examinador (a)

Prof. Dr. Luis Gustavo de Sousa Filho (PNPD-PPGDITM-UFRPE)

*Dedico este trabalho à
minha mãe, Rita de Cássia, que
sempre acreditou em mim, aos meus
amigos que sempre estiveram ao
meu lado, a companheira de
laboratório, Ingrid Trajano, por
todos seus ensinamentos e paciência
e ao meu orientador pela
oportunidade e confiança.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família. Minha mãe sempre foi compreensível, gentil e amável comigo a cada momento desta jornada. Seu suporte foi o que me manteve firme, sua gentileza foi o que deu-me paz e sempre esteve ao meu lado me dando força e apoio. Também agradeço às minhas tias paternas, pois elas sempre, em todos os momentos, acreditaram em mim e lutaram ao meu lado para vencer cada barreira que se levantasse. Obrigado, amo vocês.

Sou imensamente grato ao professor Celso de Amorim Camara e à professora Tania Maria Sarmiento da Silva, pela oportunidade na área da pesquisa. Sei que poderia ter sido um aluno melhor, mas eles sempre acreditaram em mim e foram compreensíveis em todos os momentos, souberam ser pacientes nos seus ensinamentos e graças a eles aprendi e cresci como pesquisador e pessoa. Obrigado por ajudar-me a chegar até aqui, o senhor e a senhora são de grande prestígio e valor para mim.

Gostaria, também, de trazer à memória e agradecer aos amigos de longa data e aos mais recentes, pois aturaram minha impaciência e ausência em momentos de crise na universidade, fossem com provas, relatórios etc. Por sempre serem amigos amáveis, sinceros e por todo o respeito por mim e minha família. Obrigado Rayane Acirole, Júlia Martins, Gabriel Montenegro, Marcos Antônio, Marcelo Henrique, Larissa Mayara, Marcus Franco, Maria Eduarda, Jade Mendes, Milton Nascimento, Robson Almeida e Abel Severino.

Agradeço aos amigos de laboratório (aos que se foram e aos que permanecem) – Girliane, Amanda, Helter, Ayala, Victor, Rerison, Bruna, Deyvson, Neilton, Alana, Carla, Cecilane, Iasmim, Lucas, Jonas, Willyenne, Geovane, Kethully, Pedro, Luis - que sempre ajudaram-me em tudo e passaram-me um pouco de suas experiências. E agradeço, especialmente, à Ingrid Trajano que foi a pessoa que sempre esteve ao meu lado no laboratório, ajudando-me nas horas mais difíceis e sempre aconselhando-me, sou imensamente grato à você e a sua amizade.

Por fim, gostaria de agradecer a instituição Universidade Federal Rural de Pernambuco, aos docentes que fizeram parte da minha jornada acadêmica, ao Cenapesq pelas análises, à Central Analítica da UFPE pelas análises de RMN, ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

“Sem sacrifício não há vitória”.
(Optimus Prime)

*“Lembre-se de que as pessoas
podem tirar tudo de você, menos o seu
conhecimento”.* *(Albert Einstein)*

RESUMO

Flavonoides são uma classe de produtos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo encontrados em caules, frutas, flores etc. Numerosos estudos têm sido realizados visando aprofundar o conhecimento da atividade biológica dos flavonoides, sendo reportadas algumas como atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e antiviral. O presente trabalho tem como objetivo a caracterização de derivados metoxilados e benzilados da naringenina (9) além de ensaios de reações de proteção a fim de futuros protótipos de fármacos leishmanicida, através de modificações em flavonoides. Neste trabalho foi utilizado (9) como material de partida para futuras reações, sendo uma delas a reação de metilação regioseletiva para obtenção da 7-metoxi-naringenina, utilizando sulfato de dimetila e carbonato de potássio em acetona a temperatura ambiente tendo rendimento de 72% , e em seguida o produto formado é submetido a reação de proteção utilizando brometo de benzila. Contudo, nas condições testadas ocorreu a abertura do anel C . Dessa forma, foi necessário testar outros meios de proteção utilizando reagentes de silício e alternativas de ciclização na tentativa de fornecer os produtos desejados. Os produtos foram caracterizados pelos métodos usuais da literatura e disponíveis no grupo de pesquisas, como RMN, infravermelho e ponto de fusão.

Palavras-chave: flavonoides, naringenina, leishmaniose

ABSTRACT

Flavonoids are a class of substance widely distributed in the plant kingdom and are found in stems, fruits, flowers etc. Numerous studies have been carried out to deepen the knowledge of the biological activity of flavonoids, some of which have been reported as antimicrobial, anti-inflammatory and antiviral activities. The present work aims to characterize methoxylated and benzylated derivatives of naringenin (9) in addition to testing protective reactions for future prototypes of leishmanicidal drugs, through changes in flavonoids. In this work, (9) was used as starting material for future reactions one of which being the methylation reaction regioselective to obtain 7-methoxy-naringenin, using dimethyl sulfate and potassium carbonate in acetone at room temperature, yielding 72%, and then the product formed is subjected to a protection reaction using benzyl bromide, however under the conditions tested the opening of ring C occurred, it was necessary to test other means of protection using silicon reagents and cyclization alternatives in an attempt to supply the desired products. The products were characterized by the usual methods in the literature and available in the research group, such as NMR, infrared and melting point.

Keywords: flavonoids, naringenin, leishmaniasis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas químicas dos fármacos ivermectina B1a/B1b e artemisinina.	5
Figura 2. Estrutura química da cocaína, morfina e mevastatina.....	5
Figura 3. Esqueleto básico dos flavonoides.	7
Figura 4. Estruturas da chalcona e aurona respectivamente.....	7
Figura 5. Estrutura da rutina.....	8
Figura 6. Principais classes de flavonoides	8
Figura 7. Relação atividade-estrutura antioxidante do kaempferol.....	14
Figura 8. Ciclo da leishmaniose	15
Figura 9. Espectro de RMN ¹ H da 7-metoxinaringenina (CDCl ₃).	22
Figura 10. Espectro de RMN ¹³ C da 7-metoxinaringenina (CDCl ₃).	22
Figura 11. Estrutura da 5,4'-dibenzil-7-metoxichalcona.....	25
Figura 12. Diferentes grupos protetores silanos.	26

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Biossíntese de flavonoides.....	9
Esquema 2. Biossíntese do kaempferol.....	11
Esquema 3. Mecanismo proposto para a síntese do 7-metoxinaringenina.....	21
Esquema 4. Mecanismo proposto para a síntese do 5,4'-dibenzil-7-metoxinaringenina.	24
Esquema 5. Mecanismo proposto para abertura do anel c	25
Esquema 6. Reação de proteção utilizando tms.	26
Esquema 7. Reação de oxidação da chalcona.	27

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Funções do kaempferol no tratamento de várias doenças.	12
---	----

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ESQUEMAS	ix
LISTA DE QUADROS.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVOS	4
1.1.1 Geral:	4
1.1.2 Específicos:.....	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
2.1 Importância dos produtos naturais e a síntese orgânica:.....	5
2.2 Flavonoides: origem, estrutura e ocorrência na natureza	7
2.2.1 Kaempferol: ocorrência e propriedades gerais	11
2.2.1.1 Kaempferol e sua atividade antioxidante	12
2.3 Leishmaniose.....	14
3. METODOLOGIA	17
3.1 PARTE EXPERIMENTAL.....	17
3.2 PROCEDIMENTO REACIONAL	18
3.2.1 Procedimento reacional da metilação da naringenina (9).....	18
3.2.2 Proteção de (10) utilizando brometo de benzila.....	19
3.2.3 Reações de proteção de (10) utilizando protetores de silício	19
3.2.4 Reação Algar Flynn Oyamada (ciclização da 7-metoxidibenzilchalcona)	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Metilação da naringenina.....	21
4.2 Benzilação da 7-metoxinaringenina	24
4.3 Reações com silício	25
4.4 Reação Algar-Flynn-Oyamada.....	27
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios que produtos naturais fazem parte da vida do homem como fonte de alimentos e de materiais para vestuário, habitação, utilidades domésticas, defesa e ataque; na produção de meios de transporte; como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas; bem como meio restaurador da saúde (SIMÕES *et al.*, 2017). Hoje representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de serem uma fonte renovável e, em grande parte, controláveis pelo gênio humano.

É notável a importância dos produtos naturais na busca e identificação de protótipos para o desenvolvimento de fármacos. No início do século passado houve um interesse marcante por parte de universidades, institutos de pesquisas e da indústria farmacêutica em tais produtos, o que contribuiu para um grande avanço na pesquisa de diversas plantas que eram utilizadas na medicina popular, tendo sido possível isolar e identificar vários compostos bioativos (SIMÕES *et al.*, 2017).

A obtenção de muitos fármacos de estrutura complexa tornou-se economicamente viável a partir da descoberta de substâncias que puderam ser utilizadas como precursores na sua síntese. Os compostos de origem natural são usados como protótipos para o desenvolvimento de fármacos, como por exemplo, fármacos anti-inflamatórios aprovados entre 1983 e 1994, derivados ou baseados em polifenóis de origem natural (YOON; BAEK, 2005), a utilização de alcaloides como hipnoanalgésicos (morfina) (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Atualmente, a síntese de compostos orgânicos constitui um importante parte no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (SANGI, 2016). Na busca por um fármaco que tenha como alvo uma macromolécula biológica, anteriormente selecionada, é comum fazer uso da estratégia de síntese orientada pelo alvo, seja com o planejamento de uma única substância ou mesmo de uma coleção de compostos de uma determinada classe, empregando a química combinatória (FRAGA *et al.*, 2011).

Embora a síntese orgânica tenha evoluído bastante com o passar dos anos com a finalidade de obter novos fármacos espelhando-se na natureza, as opções terapêuticas disponíveis atualmente para as DTNs (doenças tropicais negligenciadas) são muito limitadas, insuficientes e apresentam uma série de problemas, tais como: baixa eficácia, elevada toxicidade e a emergência de cepas resistentes. Este panorama é sensivelmente agravado pela falta de investimentos e inovação em programas de P&D (pesquisa e

desenvolvimento) de fármacos, que reflete o número extremamente reduzido de medicamentos que chegaram ao mercado ao longo das últimas décadas (NWAKA, 2009).

As leishmanioses se incluem no grupo das chamadas doenças tropicais negligenciadas (DTNs) que afetam cerca de 12 milhões de pessoas em todo o mundo, com 2 milhões de novos casos diagnosticados todos os anos (GUNDAMPATI *et al.*, 2014). A leishmaniose é vista com frequência na Sudeste Asiático, África, países do Mediterrâneo e América do Sul, incluindo principalmente o Brasil (OMS, 2017b). É utilizado no Brasil no tratamento terapêutico da leishmaniose, fármacos a base de antimônio, como por exemplo, o antimoniato de metilglucamina (comercializado no Brasil como Glucantime®), sendo especialmente eficaz no tratamento de leishmaniose cutânea, muco cutânea e visceral. Outra droga leishmanicida ainda mais potente disponível comercialmente é a anfotericina B, que atua contra as formas promastigotas e amastigotas do parasita (QUEIRÃO *et al.*, 2019), contudo estas drogas causam danos colaterais, como alterações hepáticas e distúrbios cardiológicos.

Na busca por novos fármacos para o tratamento da leishmaniose foram descobertas algumas substâncias naturais que tem demonstrado atividade frente a enfermidade. Os flavonoides, metabólitos de baixo peso molecular e uma ampla classe de compostos polifenólicos de origem vegetal, têm feito parte destas substâncias. Estudos identificaram vários tipos de flavonoides em extratos vegetais com propriedades antiprotozoárias, dentre elas, a atividade contra espécies de *Leishmania* sp. comprovada em vários trabalhos (CAMACHO *et al.*, 2002; JORDÃO *et al.*, 2004; GRAEL *et al.*, 2005; TASDEMIR *et al.*, 2006). Recentemente, foram publicados alguns trabalhos onde flavonoides demonstraram atividades frente à *Leishmania amazonensis*, sendo o kaempferol-3,7-di-*O*-metil éter o mais promissor (ARAÚJO, *et al.*, 2019), podendo assim servir como modelo estrutural para novos protótipos leishmanicidas. Este trabalho é continuação do estudo dos flavonoides de *Solanum* com atividades leishmanicida e antitumoral reveladas em recentes testes (dados inéditos sob proteção intelectual), no qual o 3,7-dimetóxicamferol, estimulou a obtenção daquele flavonoide em questão a partir de um precursor acessível, em uma rota sintética eficiente levando a obtenção em escala micro e semi-micro de um flavonoide natural de alto valor agregado de mercado.

Diante do que foi apresentado, o projeto busca responder a seguinte questão:

- ❖ Como desenvolver uma rota sintética inédita para obter o 3,7-dimetóxi-kaempferol a partir da naringenina em quantidade suficiente (multigrama) para análise de atividades biológicas, tornando-se uma inovação tecnológica?

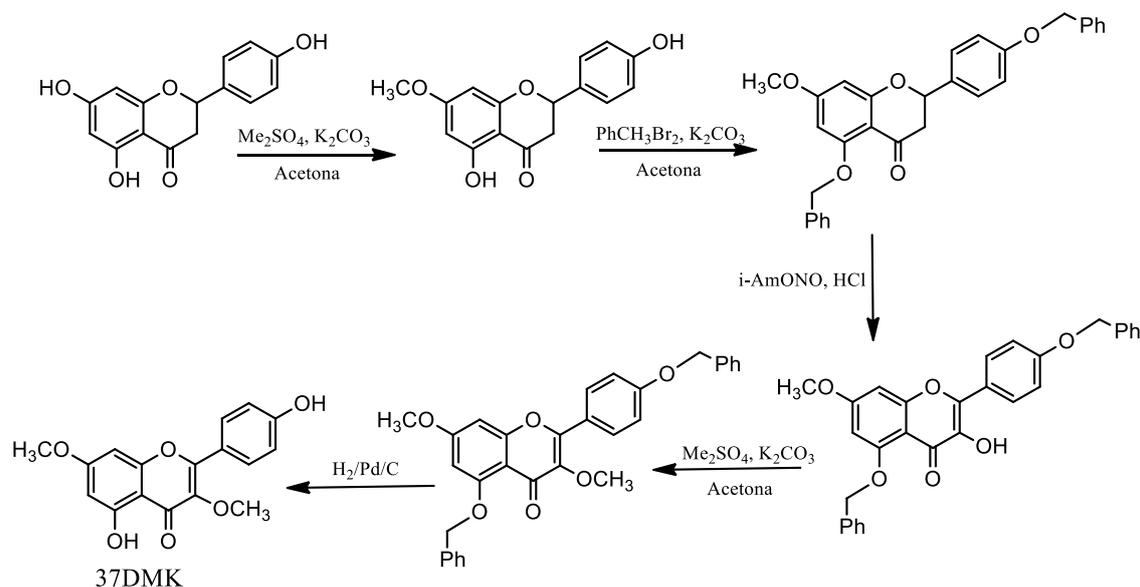
1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral:

Desenvolver metodologia sintética inédita para a obtenção de 37DMK (3,7-dimetóxikaempferol) a partir da naringenina; este produto e seus intermediários serão obtidos em quantidade suficiente para testes de derivatização e ensaios farmacológicos, e submetidos à proteção intelectual especialmente para atividades antiparasitária (leishmanicida) e citotóxica (anticâncer).

1.1.2 Específicos:

1. Sintetizar os derivados, e obter o 37DMK a partir da naringenina no LSCB-DQ-UFRPE;
2. Encaminhar para testes biológicos, especialmente para a atividade antiparasitária (leishmanicida) e citotóxica (anticâncer). Os estudos serão realizados em colaboração com a professora Magna Suzana Alexandre Moreira da UFAL para atividade anticâncer sobre a enzima topoiomerase II e leishmanicida, e serão objetos de proteção intelectual na forma de patente.

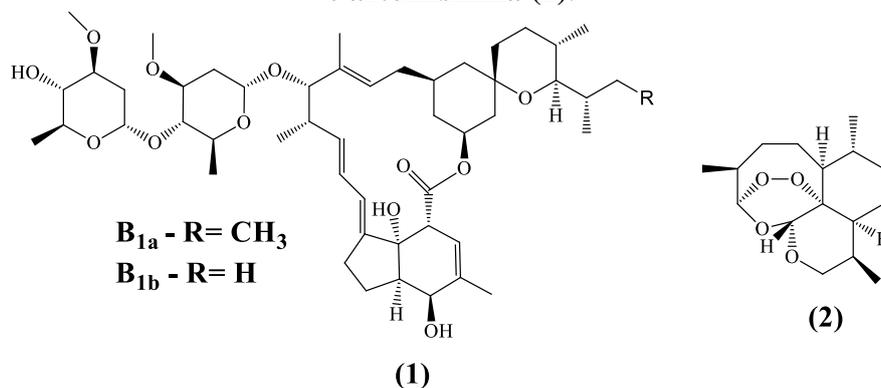


2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Importância dos produtos naturais e a síntese orgânica:

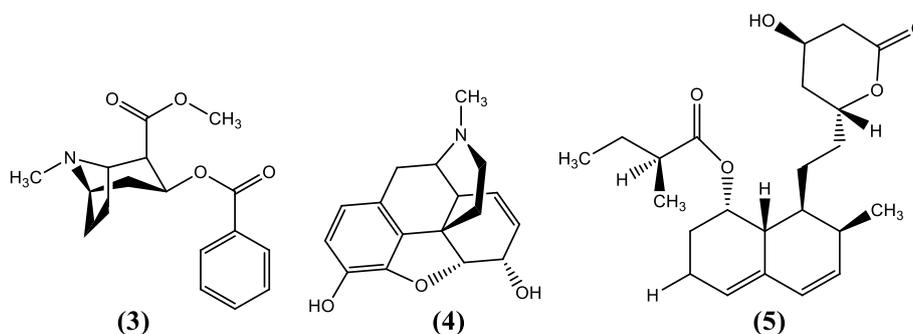
A importância dos produtos naturais no processo de desenvolvimento de novos fármacos recebeu reconhecimento recente com a concessão do prêmio Nobel de 2015 aos pesquisadores William C. Campbell, Satoshi Omura e Tu Youyou (SIMÕES *et al.*, 2017). Eles foram pioneiros na descoberta de fármacos usados para o tratamento de doenças parasitárias, especificamente a ivermectina B_{1a} /B_{1b} (1), isolada de culturas de *Streptomyces* e utilizada no tratamento de filariose, e a artemisinina (2), isolada de *Artemisia annua L.* e utilizada no tratamento da malária (MCKERROW, 2015) (figura 1).

Figura 1. Estruturas químicas dos fármacos ivermectina B_{1a}/B_{1b}(1) e artemisinina (2).



A obtenção de muitos fármacos de estruturas complexas tornou-se economicamente viável a partir da descoberta de substâncias que puderam ser utilizadas como precursores na sua síntese. Os compostos de origem natural são usados como protótipos para o desenvolvimento de fármacos, como exemplos temos: anestésicos locais, desenvolvidos a partir da cocaína (3); os hipnoanalgésicos, a partir da morfina (4); e os hipolipêmicos, a partir da mevastatina (5) (figura 2) (SIMÕES *et al* 2017).

Figura 2. Estrutura química da cocaína (3), morfina (4) e mevastatina (5).



Sendo assim, a natureza forneceu muitos modelos moleculares que fundamentaram estudos de relação estrutura-atividade (SAR) e inspiraram o desenvolvimento da síntese orgânica (VIEGAS, 2006).

Nas últimas décadas a área de síntese orgânica passou por uma grande evolução (BROCKSOM *et al.*, 2015). O número e a complexidade dos novos compostos sintetizados aumentaram drasticamente, e dentre estes novos compostos podem-se incluir muitos fármacos e candidatos a fármacos, além de muitos reagentes usados para explorar processos biológicos de variadas formas. Atualmente, a síntese de compostos orgânicos constitui um importante parte no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (SANGI, 2016). Na busca por um fármaco que tenha como alvo uma macromolécula biológica, anteriormente selecionada, é comum fazer uso da estratégia de síntese orientada pelo alvo, seja com o planejamento de uma única substância ou mesmo de uma coleção de compostos de uma determinada classe, empregando a química combinatória (FRAGA *et al.*, 2011).

Produtos naturais continuam exercendo seu fascínio na produção de fármacos inovadores como os derivados semissintéticos de artemisinina, úteis no tratamento da malária, o diterpeno paclitaxel (CORRÊA, 1995), de *Taxus brevifolia*, que é hoje um medicamento utilizado para tratamento de tumores sólidos (Taxol[®]) e a camptotecina, alcaloide que inspirou inúmeros derivados que ingressaram no mercado dos fármacos oncológicos (WALL, 1993). Substâncias isoladas de organismos marinhos demonstram a importância dos produtos naturais e ilustram sua quimiodiversidade. O peptídeo conotoxina MVIIA (Ziconotide[®]), isolado do molusco marinho *Conus magus* é o primeiro fármaco de origem marinha e foi liberado pelo FDA, em 2004, para o tratamento da dor crônica severa (SHER E, 1991).

Foi de outras fontes naturais, além dos vegetais, que Alexander Fleming, na Inglaterra, na primeira metade do século 19 descobriu a penicilina, originada de fungos (MAUROIS, 1959). A classe dos agentes reguladores da hipertensão arterial pertencentes aos inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), pioneiramente desenvolvida por Ondetti, Cushman e colaboradores nos laboratórios Squibb (ONDETTI; CUSHMAN; RUBIN, 1983) representada pelo captopril, foi planejada a partir dos trabalhos inicialmente realizados por dois eminentes cientistas brasileiros: Maurício Oscar Rocha e Silva e Wilson Beraldo e, posteriormente, por Sérgio Henrique Ferreira, que a partir dos estudos com o veneno da jararaca (*Jathropus jararaca*) descobriram a bradicinina, construindo as bases para o conhecimento do sistema renina-

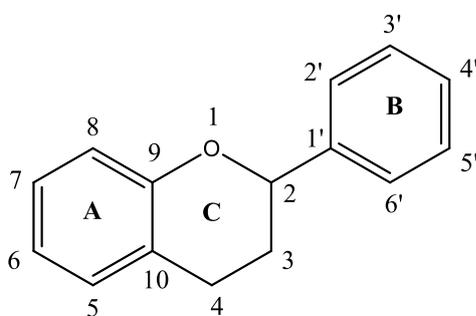
angiotensina (RAS) de controle da pressão arterial, onde se situa o alvo terapêutico desta classe inovadora de fármacos anti-hipertensivos, a ECA.

2.2 Flavonoides: origem, estrutura e ocorrência na natureza

Flavonoide, que em latim quer dizer amarelo (“flavus”), é um termo genérico com o qual se identificam uma série de metabolitos secundários da classe dos polifenóis, de baixo peso molecular, encontrados em diversas espécies vegetais (WINKEL-SHIRLEY, 2001). Foram descobertos pelo prêmio Nobel Szent-György em 1936, o qual extraiu a citrina da casca do limão, possuindo essa substância a capacidade de regulação da permeabilidade capilar. Assim, essa classe de produtos naturais foi denominada como vitamina P (de permeabilidade) e por vitamina C2, visto que algumas das substâncias apresentavam propriedades semelhantes às da vitamina C. Porém, dada a não-confirmação destas substâncias como vitaminas, essa classificação foi abandonada em 1950 (SOKOLOF *et al* 1956).

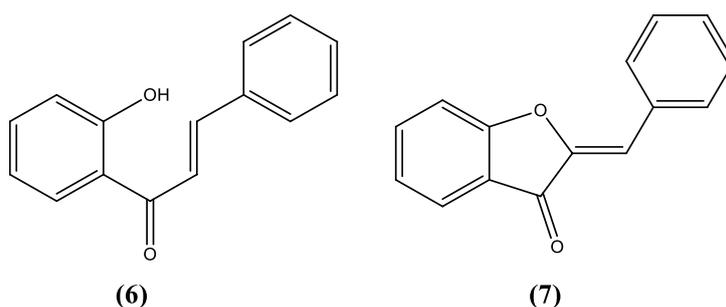
Sendo metabólitos secundários e compostos fenólicos, diferem entre si pela sua estrutura química variada. Possuem estrutura básica comum, sendo a maior parte caracterizada por um esqueleto C₆-C₃-C₆ (ESTEVES-SOUZA *et al.*, 2002), como mostra a figura 3, onde A e B são dois anéis benzênicos e C um anel pirano.

Figura 3. Esqueleto básico dos flavonoides.



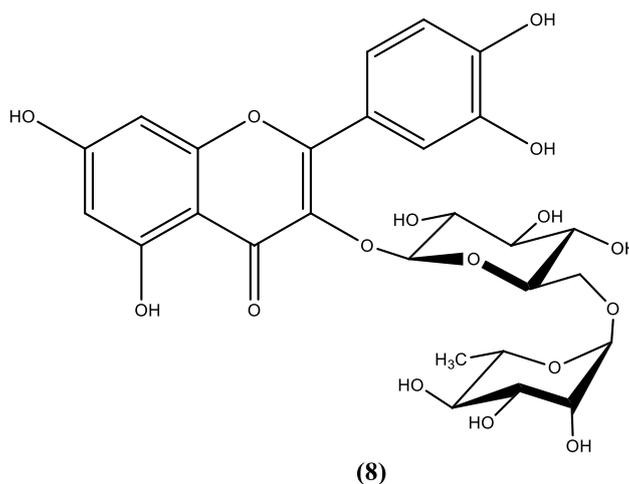
Em alguns casos o anel C pode ocorrer numa forma aberta (chalcona) (6) ou como um anel de 5 membros (aurona) (7) (figura 4).

Figura 4. Estruturas da chalcona (6) e aurona (7) respectivamente.



Os flavonoides podem ser encontrados na forma livre, mas a maioria ocorre como glicosídeos, como a rutina (8) (figura 5), em que a parte aglicona da molécula está ligada a açúcar(es). Se a ligação do açúcar à aglicona for através de um grupo OH, então são chamados de *O*-glicosilflavonóides. Se a ligação do flavonoide a aglicona for através de uma ligação C-C, então são chamados de *C*-glicosilflavonoides (STOBIECKI; KACHLICKI, 2008)

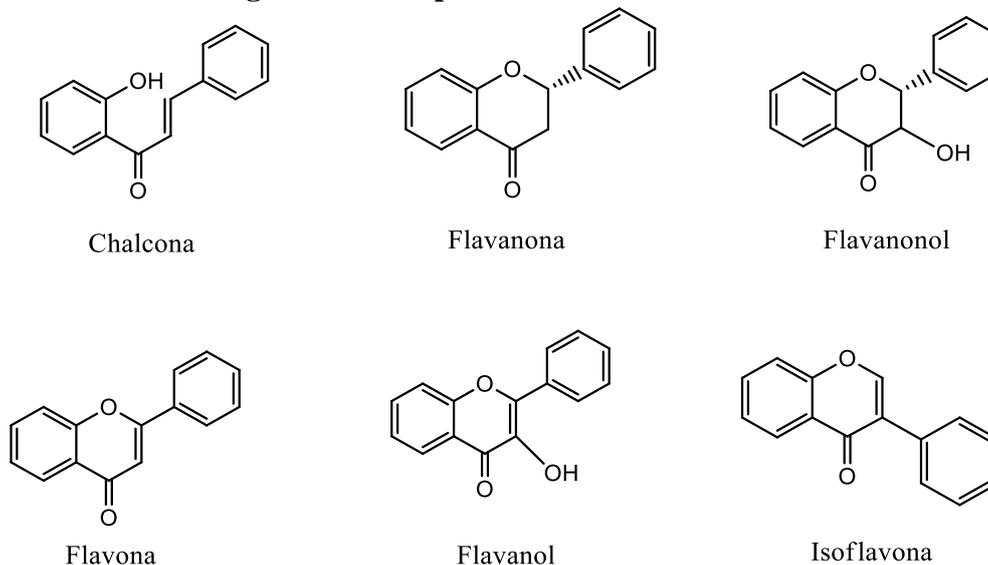
Figura 5. Estrutura da rutina (8).



Seus carbonos podem sofrer variações químicas, como hidroxilação, hidrogenação, metilação e sulfonação, proporcionando a formação de mais de quatro mil compostos flavonoides, que são agrupados em classes (GEORGIEV *et al.* 2014).

Dependendo do grau de oxidação e da saturação no anel heterocíclico, os flavonoides podem ser divididos nos grupos principais: chalconas, flavanonóis, flavanonas, flavonóis, flavonas e isoflavonas (figura 6) (PEREIRA *et al.*, 2016).

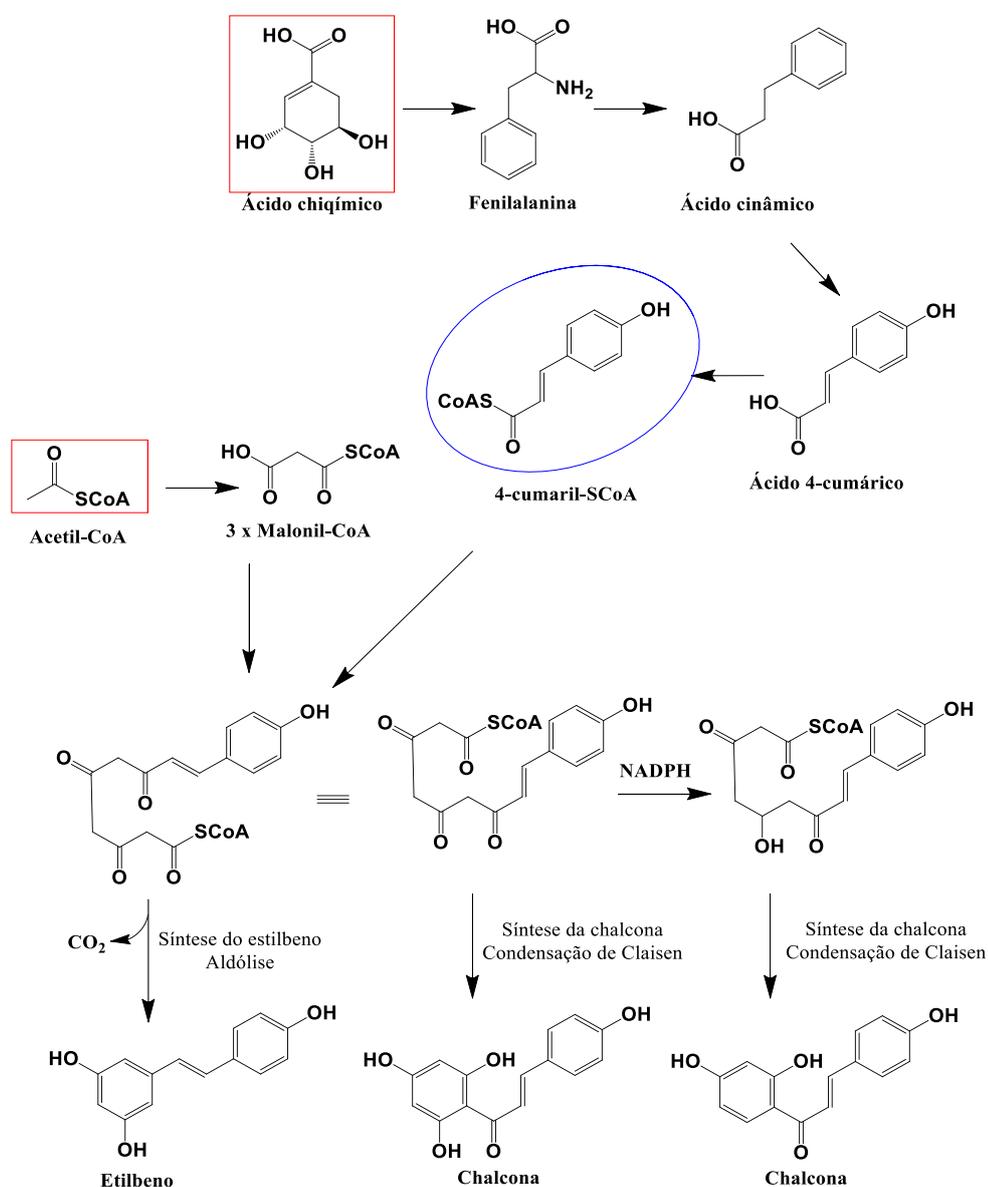
Figura 6. Principais classes de flavonoides



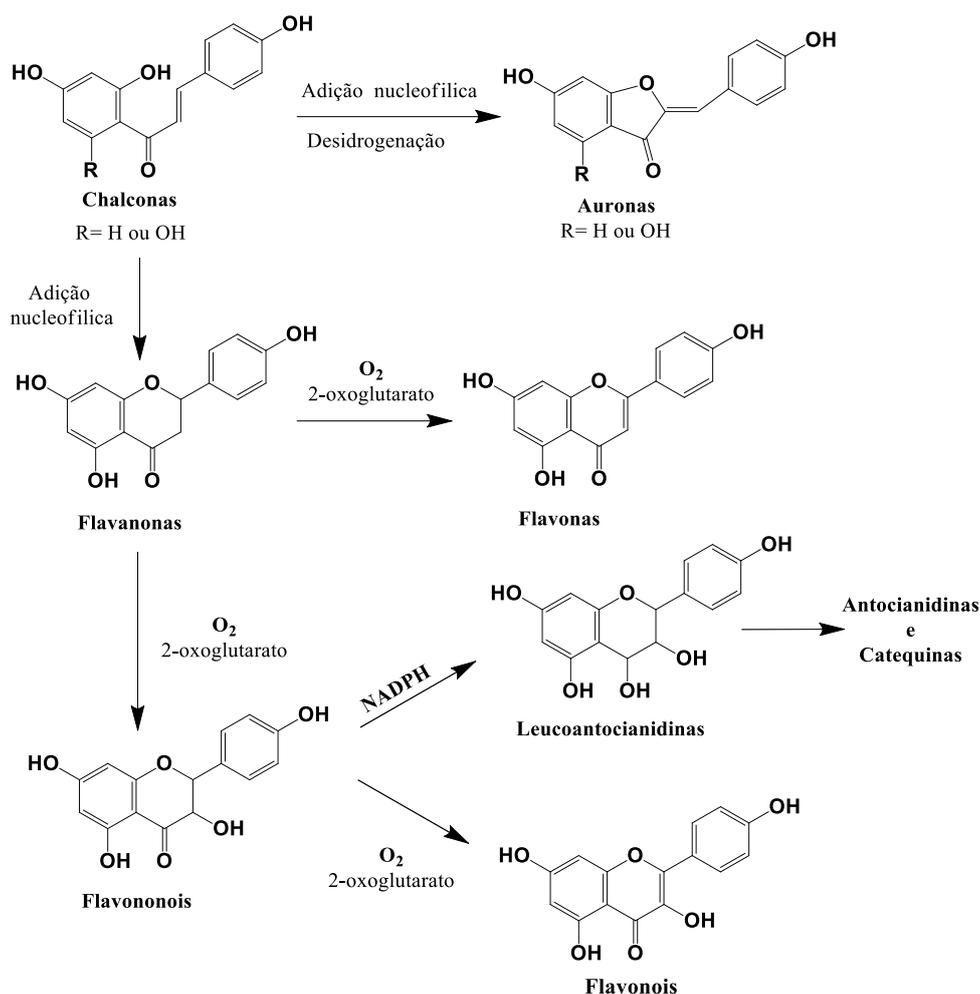
Os flavonoides apresentam ação terapêutica nos sistemas imunológico, circulatório, cardiovascular e neural (GEORGIEV *et al.*, 2014).

A biossíntese dos flavonoides é realizada através de uma rota mista (esquema 1), onde o anel A é proveniente da via do acetato, e os anéis ou conjunto C9 restante, B e C, da rota do chiquimato (CORDELL, 2002). Esta via origina os ácidos cinâmico, ferúlico, cafeico etc., que condensados a moléculas de malonil-CoA via condensação de Claisen de um tricetídeo irá resultar na estrutura da chalcona correspondente (RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2015). Esta, por sua vez, durante os metabolismos próprios de cada espécie, resultará na formação de toda a diversidade verificada nesta classe de compostos.

Esquema 1. Biossíntese de flavonoides.



Esquema 1 (continuação). Biossíntese dos flavonoides



Os flavonoides podem ser encontrados em frutas, legumes, nozes, sementes, caules, flores, raízes, cascas, chocolate escuro, chá, vinho e café, sendo, portanto, substâncias comuns na dieta diária (TANAKA, 2013). Nas folhas das plantas, elas possuem funções, tais como, proteção contra predadores, patógenos e radiação ultravioleta (BERNINE, 2011). Nas flores, são responsáveis pelas cores atrativas para polinizadores de plantas, e além destas funções, os flavonoides estão envolvidos na transferência de energia de fotossensibilização, ação dos hormônios de crescimento vegetal, controle de respiração e fotossíntese, morfogênese e determinação do sexo (CUSHING, 2005).

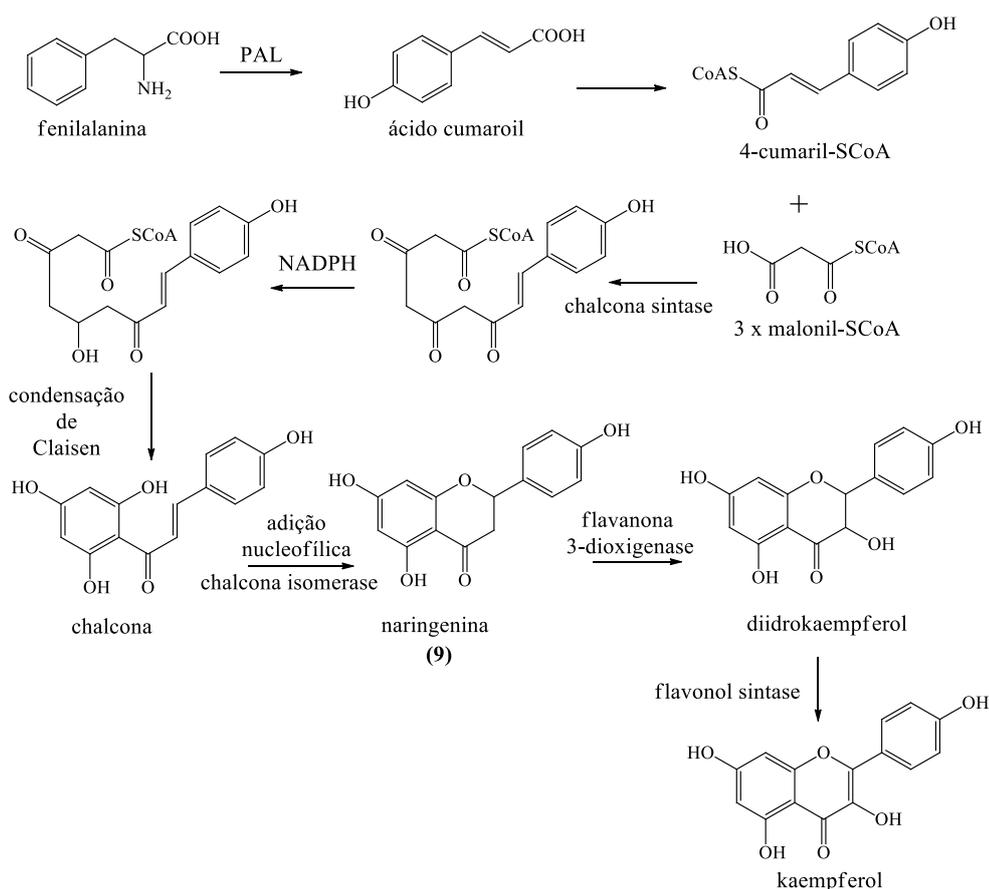
Devido a sua grande diversidade de atividades biológicas, os flavonoides têm sido alvo de interesse da comunidade científica (WILLIAMS, 2004). Numerosos estudos têm sido realizados e desde então têm sido reportados diversas atividades, tais como: antimicrobiana, antialérgica, estrogênica, osteogênica, inibição enzimática,

antioxidante e vascular (CUSHING, 2005), anti-inflamatória (COUTINHO, 2009), antifúngica e antiviral (WANG, 1989), propriedades antioxidantes (COTELLE, 1996), ação antiúlcera (LOLLI, 2012), ação contra o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (CHU, 2004), antidiabética (TANAKA, 2013), prevenção a doenças de pele, atividade antimutagênica, e propriedades vasodilatadoras (BERNINI, 2011), redução ao risco de doenças cardiovasculares (FARKAS, 2004), ação anticarcinogênica (CHAN, 2012) e leishmanicida (CABANILLAS, 2014).

2.2.1 Kaempferol: ocorrência e propriedades gerais

Kaempferol também conhecido como 3,5,7,4'-tetrahidróxiflavonol é um sólido cristalino amarelo de peso molecular de 286,23 g/mol, com ponto de fusão em 276-278 °C (REN; LU; QIAN *et al*, 2019).

Esquema 2. Biossíntese do kaempferol

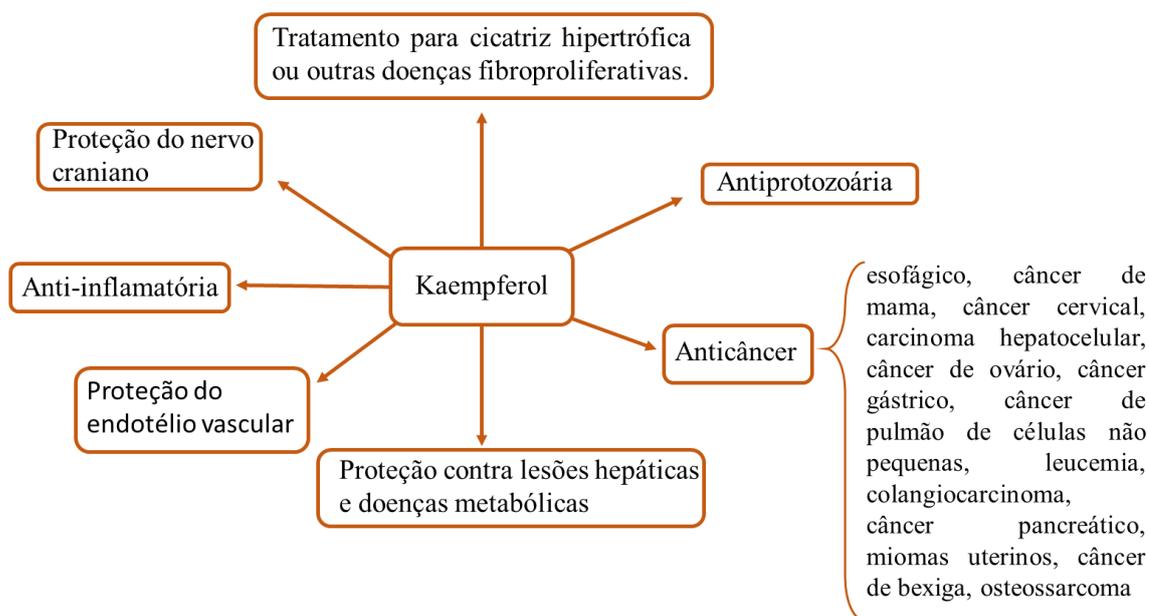


Sua biossíntese (esquema 2) se dá a partir da transformação da fenilalanina pela PAL (fenilalanina amônia liase) em ácido cinâmico que sofre hidroxilação formando o ácido cumaroil, ativado por acetil coenzima A (Acetil-SCoA), formando o 4-cumaril-SCoA que se unem a três moléculas de malonil-SCoA (DÔRES, 2007), onde esta reação é

catalisada pela enzima chalcona sintase, originando a chalcona após redução pelo NADPH e condensação de Claisen, que posteriormente é transformada em uma flavanona, chamada naringenina (9), pela enzima chalcona isomerase, em seguida a naringenina é hidroxilada pela flavanona 3-dioxigenase para produzir o diidrokaempferol (REN; LU; QIAN *et al.*, 2019) e finalmente ocorre oxidação na posição C₂-C₃, onde a enzima flavonol sintase introduz uma ligação dupla nessa posição da estrutura formando o kaempferol.

Como as enzimas envolvidas na biossíntese do kaempferol são relativamente comuns no reino vegetal, não é surpreendente que esse flavonoide seja amplamente distribuído nas diversas partes constituintes das plantas, como sementes, folhas, frutas, flores (SHARIFI-RAD; FOKOU; SHAROPOV *et al.*, 2018) e é distribuído em 80% dos alimentos de origem vegetal, incluindo morangos, frutas cítricas, uvas, maçãs, feijões, couve, alho-poró, brócolis, tomate, couve, chá etc. (KASHYAP *et al.*, 2017). O kaempferol demonstra ter várias atividades biológicas como mostra o quadro 1 (ÁRAUJO; QUEIROZ; SILVA *et al.*, 2019) (REN; LU; QIAN *et al.*, 2019).

Quadro 1. Funções do kaempferol no tratamento de várias doenças.



2.2.1.1 Kaempferol e sua atividade protetora

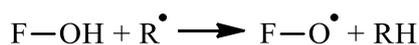
Espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas a partir das reações enzimáticas durante o metabolismo são as principais fontes de estresse oxidativo prejudicial (ADEGOKE; FORBES, 2015). Embora o corpo humano tenha enzimas antioxidantes como por exemplo: superóxido dismutase, catalase, glutathiona peroxidase entre outras

como mecanismo de defesa que neutraliza constantemente as ERO, as concentrações excessivas de ERO tornam-se potencialmente fatais para as células ou causam disfunção celular, toxicidade do oxigênio, senescência, acidente vascular cerebral, doenças autoimunes, câncer, doença de Parkinson, infecção e arteriosclerose (ADEGOKE; FORBES, 2015). Estudos têm sido realizados usando vários alimentos funcionais (contendo naturalmente flavonoides) como agentes antioxidantes que podem ser utilizados para combater as ERO (KIM; CHOI, 2003). Esses resultados mostraram que os flavonóis podem ser metabólitos secundários eficazes contra o estresse oxidativo (YOSHIDA; KONISHI; HORINAKA *et al.*, 2008).

O kaempferol elimina diretamente peroxinitrito (espécies reativas de nitrogênio) e radicais hidroxila em baixa concentração, enquanto em altas concentrações aumenta a expressão de enzimas antioxidantes (CALDERON-MONTANO; BURGOS-MORON; PEREZ-GUERRERO *et al.*, 2011)

A atividade antioxidante do kaempferol foi observada em vários estudos *in vivo* (KAMPKOTTER; GOMBITANG; ZURAWSKI *et al.*, 2007) (VERMA; VIJAYAKUMAR; MATHELA *et al.*, 2009). Por exemplo, descobriu-se que o kaempferol diminui o acúmulo de ROS intracelular e aumenta a sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* (KAMPKOTTER; GOMBITANG; ZURAWSKI *et al.*, 2007). Um extrato de *Capparis spinosa*, que continha derivados de kaempferol, mostrou atividade antioxidante significativa quando aplicado topicamente em voluntários humanos saudáveis (BONINA; PUGLIA; VENTURA *et al.*, 2002)

O arranjo espacial dos substituintes nos flavonoides talvez seja um determinante maior da atividade antioxidante, pois tanto a configuração quanto o número total de grupos hidroxila influenciam substancialmente vários mecanismos da atividade antioxidante (BURDA; OLESZEK, 2001). A capacidade de eliminação de radicais livres é atribuída principalmente às altas reatividades de substituintes hidroxila que participam da seguinte reação (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002):

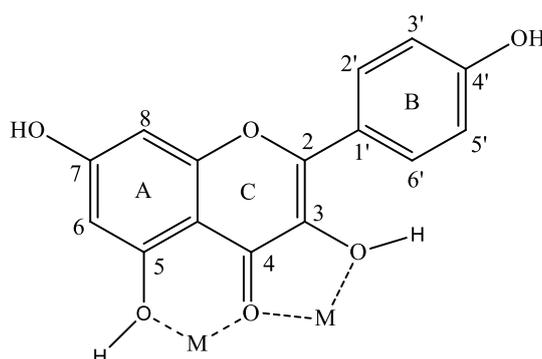


A configuração da hidroxila do anel B é o determinante mais significativo da eliminação de ERO e ERN (BURDA; OLESZEK, 2001), pois o grupo hidroxila doa hidrogênio e um elétron aos radicais hidroxila, peroxila e peroxinitrito, estabilizando-os e dando origem a um radical flavonoide relativamente estável, além disso a ligação dupla 2-3 em conjugação com o grupo 4-carbonil torna o flavonoide ainda mais eficiente para atividade antioxidante, pois exhibe baixos valores de IC₅₀ em um sistema

microssomal em comparação com heterociclos saturados (CHOLBI; AYA; ALCARAZ, 1990).

No geral, a capacidade antioxidante aumenta de acordo com o número de grupos hidroxilas presentes na estrutura, que no caso do kaempferol, são quatro (HERNÁNDEZ-AQUINO; MURIEL, 2018). Portanto a hidroxila pode doar seu hidrogênio para os radicais livres (R^{\bullet}) e o kaempferol se estabilizaria por ressonância (figura 7).

Figura 7. Relação estrutura-atividade antioxidante do kaempferol.



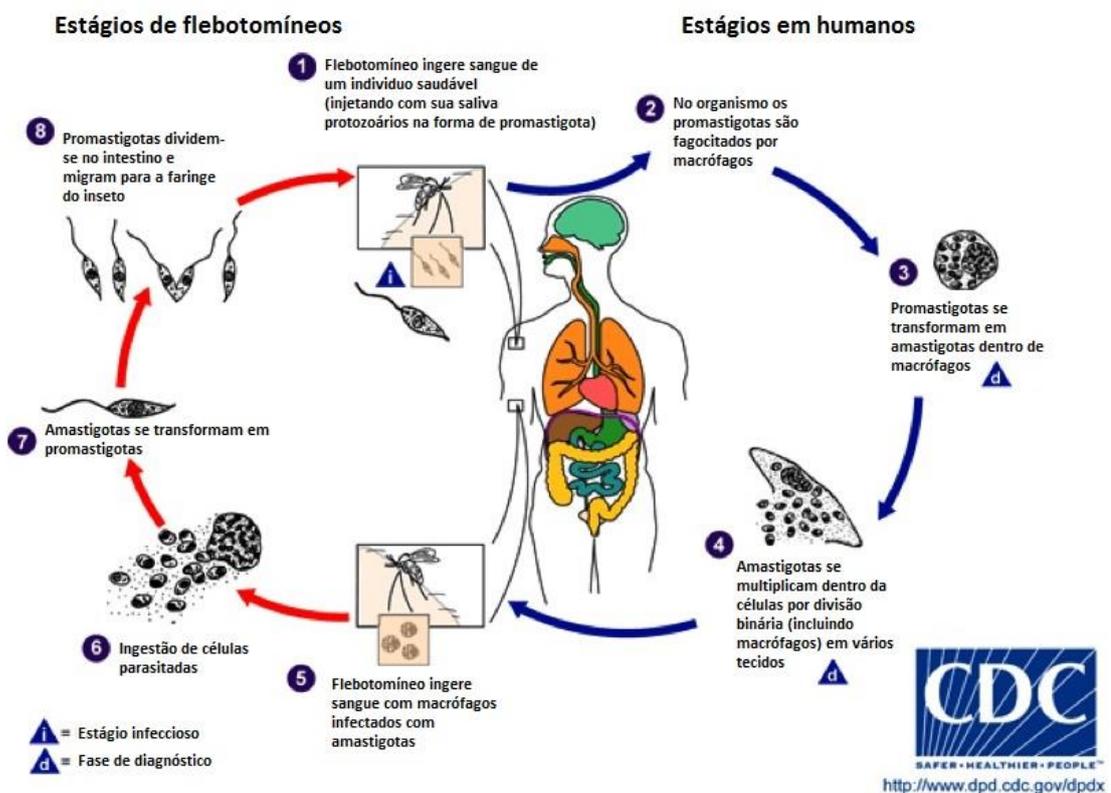
Os Substituintes hidroxilas (OH) nas posições 3,5,7 e 4' possuem alta reatividade contra espécies oxigenadas e nitrogenadas. O arranjo 5,7-*meta*-diidroxilado no anel A permite a estabilização da estrutura após a doação de elétrons para os radicais livres. O sistemas cetois como 4-ceto-3-hidróxi e 4-ceto-5-hidróxi, tornam o flavonoide um agente quelante para metais como Cu^+ e Fe^{2+} , que são um dos responsáveis pela formação de radicais livres no organismo humano (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

2.3 Leishmaniose

As leishmanioses, se incluem no grupo das chamadas doenças tropicais negligenciadas (DTNs), e são um grupo de doenças causadas por protozoários de aproximadamente 22 espécies de *Leishmania sp* (ULLAH; NADHMAN; SIDDIQ *et al.*, 2016). É uma doença infecciosa considerada zoonótica, amplamente distribuída em todo mundo, desde a Ásia até a América, que afeta o homem e os animais. A taxa de mortalidade associada a essa doença a tornou um caso de saúde pública em pelo menos 88 países (ALVARENGA, 2010). É transmitida por meio de vetores flebotomíneos infectados possuindo um amplo espectro de manifestações clínicas, variando de acordo com a espécie de *Leishmania sp* envolvida.

Os insetos transmissores dos parasitos são fêmeas hematófagas de diversas espécies conhecidas genericamente como flebotomíneos, da ordem Díptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, subgêneros *Nyssomyia* e *Psychodopygus* pertencentes a várias espécies e diferentes gêneros (*Psychodopygus*, *Lutzomyia*), dependendo da localização geográfica (MARTINS; LIMA, 2013). Nas Américas, existem aproximadamente 30 espécies de *Lutzomyia* com comprovada capacidade de transmitir *Leishmania spp.* (COELHO, 2010). A transmissão e o ciclo de vida podem ser observados na figura 8.

Figura 8. Ciclo da Leishmaniose, adaptado do encontrado em <http://www.cdc.gov/dpdx/>



As leishmanioses constituem um complexo de enfermidades que acometem vísceras e pele, apresentando amplo espectro clínico e podem ser classificadas em visceral e tegumentar. Os seguintes autores: KAWA; SABROSA; OLIVEIRA *et al.*, (2010), afirmam que a leishmaniose tegumentar é uma endemia que apresenta elevada frequência no Brasil, sendo 2006, o ano com maior número de casos novos registrados, perfazendo um total de 22.164. Já estes autores: LOPES; MAGALHÃES; SILVA *et al.*, (2010) destacam que a forma visceral, está presente nas cinco regiões do Brasil, também conhecida como calazar, sendo que, para os autores, a rápida e extensa expansão da LV

pode ser explicada pelas mudanças ambientais, bem como pelas migrações intensas e desordenadas, além das condições precárias de vida inerentes aos centros urbanos, sendo que o cão é considerado o principal reservatório doméstico (MARTINS; LIMA, 2013). No Brasil, as principais espécies que causam a leishmaniose tegumentar são *L. braziliensis*, *L. guyanensis* e *L. amazonensis* (SILVA-LÓPEZ, 2010).

Para o tratamento da leishmaniose a droga de primeira escolha é o antimonial pentavalente, existente sob duas formas: o antimoniato de *N*-metilglucamina e o Estibogluconato de sódio, sendo que este último não é comercializado no Brasil (COELHO, 2010). O antimoniato de *N*-metilglucamina é indicado para tratamento de todas as formas de leishmaniose tegumentar, embora as formas mucosas exijam maior cuidado, podendo apresentar respostas mais lentas. Os efeitos colaterais mais frequentes são artralgia, mialgia, inapetência, cefaleia, febre, vômitos, tontura e inchaço no local da aplicação (BASTOS; BOECHAT; GOMES *et al.*, 2012).

A anfotericina B, antibiótico poliênico de reconhecida ação leishmanicida, é a droga de segunda escolha, que atua contra as formas promastigotas e amastigotas do parasita (QUEIRÃO; SOUZA; SILVA *et al.*, 2019), empregada quando não se obtém resposta ao tratamento com antimonial ou na impossibilidade de seu uso. Os efeitos colaterais mais comuns incluem náuseas, vômitos, febre, hipopotassemia, insuficiência renal, anemia e alterações cardíacas. A cardiotoxicidade e nefrotoxicidade impedem seu uso fora do ambiente hospitalar (GONTIJO; MELO, 2003).

Outra droga utilizada é a pentamidina (antimicrobiano) comercializada sob o nome de Lomidina[®], porém a toxicidade desta droga é, assim com as demais, fator limitante, devido aos seus efeitos colaterais como: hipoglicemia, hipertensão, alterações cardiológicas, nefrotoxicidade e até mesmo, morte repentina, em casos mais raros (RATH; TRIVELIN; IMBRUNITO *et al.* 2003).

Muitos estudos identificaram vários tipos de flavonoides em extratos vegetais com propriedades antiprotozoárias, entre elas, a atividade contra espécies de *Leishmania* comprovada em vários trabalhos (CAMACHO *et al.*, 2002; JORDÃO *et al.*, 2004; GRAEL *et al.*, 2005; TASDEMIR *et al.*, 2006). Recentemente, foram publicados em trabalhos alguns flavonoides que demonstraram atividades frente à *Leishmania amazonensis*, dentre eles o kaempferol-3,7-di-*O*-metil éter isolado de espécies de *Solanum sp* o mais promissor (ARAÚJO, *et al.*, 2019) podendo assim servir como modelo estrutural para novos protótipos leishmanicidas.

3. METODOLOGIA

3.1 PARTE EXPERIMENTAL

3.1.1 Reagentes e Solventes

Todos os reagentes e solventes foram utilizados na forma comercial, sem prévia purificação.

3.1.2 Métodos Cromatográficos

As análises de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatoplasmas de alumínio com sílica gel60 F₂₅₄ da Macherey-Nagel com espessura de 0,20 mm e com indicador de fluorescência. As colunas cromatográficas foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 da Sylicycle (Φ μ m 0,063-0,2 mm, 60A) como fase estacionária, sendo o comprimento e o diâmetro das colunas utilizadas, além da quantidade de sílica gel, determinados pela quantidade e a complexidade das amostras submetidas a estes procedimentos de separação e isolamento de compostos. Para a fase móvel, os solventes utilizados nas colunas cromatográficas e em análises de cromatografias em camada delgada (CCD) foram diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), hexano (Hex) e metanol (MeOH), em misturas binárias ou ternárias com gradiente de concentração em ordem crescente de polaridade. Vale ressaltar que além desses solventes coloca-se gotas de ácido acético glacial (AcOH) nos eluentes (~1%) para diminuir a interação dos produtos com a sílica. A revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foi realizada empregando a iluminação com uma lâmpada ultravioleta UV-C GERMICIDA da Boitton em dois comprimentos de onda (254 e 365nm).

3.2.1 Métodos Espectrométricos

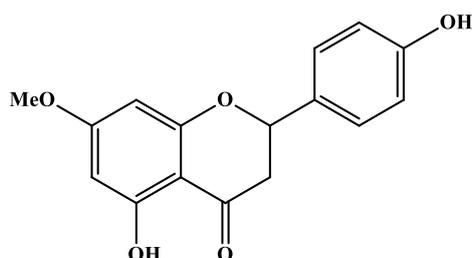
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H) e de carbono (RMN de ¹³C) foram realizados no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, em espectrômetros do tipo Varian, a 400 e 100 MHz de frequência, respectivamente. O solvente utilizado na dissolução das substâncias foi o clorofórmio (CDCl₃).

3.2.2 Ponto de Fusão

As medidas do ponto de fusão dos compostos sólidos foram obtidas num aparelho PFM-II da Biosan Ind. E Com. Ltda.

3.2 PROCEDIMENTO REACIONAL

3.2.1 Procedimento reacional da metilação da naringenina (9)

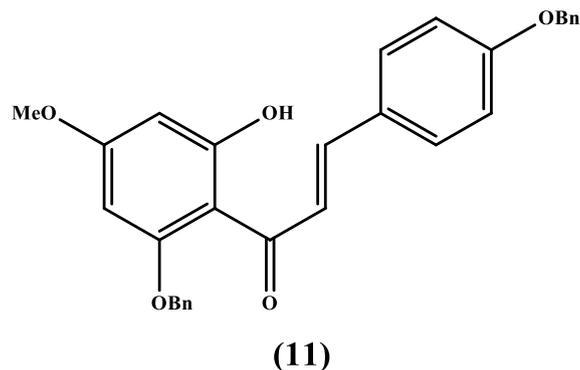


(10)

Em um balão de 250 mL foi solubilizado 3,69 mmol (1,00 g) de naringenina (9), juntamente com 3,62 mmol (0,50 g) de carbonato de potássio (K_2CO_3) em 20 mL de acetona. Em seguida foi adicionado a cada uma hora 0,11 mL (1,15 mmol) de sulfato de dimetila (Me_2SO_4) totalizando 0,33 mL (3,45 mmol). A reação permaneceu sob agitação e temperatura ambiente contabilizando o tempo a partir da primeira adição de Me_2SO_4 . Após o fim da reação (7 horas), o solvente foi removido por evaporação rotativa a vácuo, logo após foi adicionado cerca 30 mL de água gelada juntamente com gelo, com o intuito de solubilizar o K_2CO_3 e desta forma precipitar o produto, posteriormente realizou-se filtração a vácuo para obter o extrato orgânico. A reação foi acompanhada por placas CCD, utilizando como eluente uma mistura de Hex:AcOEt (7:3) mais 0,1% de MeOH. Por fim, o produto é isolado e purificado em coluna cromatográfica.

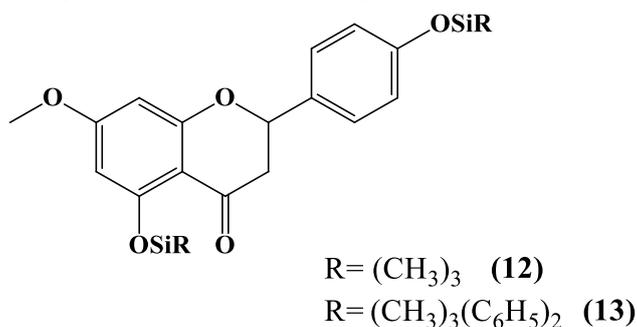
A 7-metoxi-5,4'-diidroxiflavanona (10) é um sólido cristalino de coloração amarelo claro, que possui R_f de 0,3 (Hex:AcOEt 30%) e ponto de fusão na faixa de 151–153 °C, bastante próximo do relatado na literatura que é na faixa de 155-157 °C (Zheg *et al.*, 2012). **IV (KBr)** ν_{max} : 3263, 1643, 1444, 1377, 1165. **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$): δ 12,02 (1H, s), 7,34 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 6,89 (2H, d, $J = 8,6$ Hz), 6,08 (1H, d, $J = 2,3$ Hz), 6,05 (1H, d, $J = 2,3$ Hz) 5,36 (1H, dd, $J = 12,9$ Hz; 3,1 Hz), 5,27 (1H, s), 3,81 (3H, s) 3,10 (1H, dd, $J = 17,2$ Hz; 12,9 Hz), 2,79 (1H, dd, $J = 17,2$ Hz; 3,12 Hz). **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ 196,0; 168,0; 164,1; 162,8; 156,1; 130,5; 127,9; 115,6; 103,1; 95,1; 94,2; 78,9; 55,6; 43,1.

3.2.2 Proteção de (10) utilizando brometo de benzila



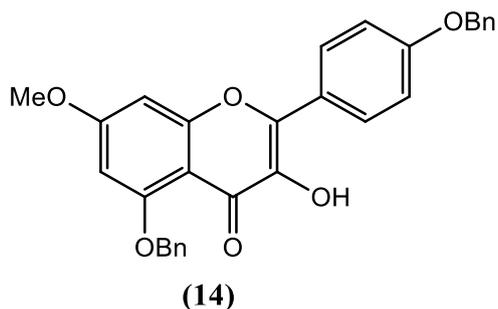
Em um balão de 50 mL foi solubilizado 1 mmol da 7-metoxinaringenina (**10**) (0,286 g) juntamente com 2,5 mmol de K_2CO_3 (0,342 g) em 20 mL de acetona. A mistura reacional foi mantida em refluxo por uma hora e em seguida foi adicionado gota a gota 0,264 mL (2,22 mmol) de brometo de benzila (BnBr), deixando reagir até o consumo total do material de partida (12 horas). Após o resfriamento da reação, o solvente foi removido por evaporação rotativa à vácuo, logo após foi adicionado cerca 30 mL de água gelada juntamente com gelo, com o intuito de solubilizar o K_2CO_3 e desta forma precipitar o produto, posteriormente realizou-se filtração a vácuo para obter o extrato orgânico. A reação foi acompanhada por placas CCD, utilizando como eluente uma mistura de Hex:AcOEt (7:3) mais 0,1% de MeOH.

3.2.3 Reações de proteção de (10) utilizando protetores de silício



Em um balão de 50 mL foi solubilizado 0,17 mmol da 7-metoxinaringenina (**10**) (50 mg) no solvente quando utilizado, em seguida foi adicionado a base, catalisador quando utilizado e o reagente de silício. A reação foi acompanhada por placas CCD, utilizando como eluente uma mistura de Hex:AcOEt (7:3) mais 0,1% de MeOH.

3.2.4 Reação Algar Flynn Oyamada (ciclização de (11))



Método 1

Em um balão de 50 mL foi solubilizado 0,1 mmol da 7-metoxi-4',5-dibenzilnaringenina (**11**) e 0,5 mmol de Na₂CO₃ em 4 mL de metanol e 2 mL de H₂O, a mistura da reação foi agitada a 0° C por 30 minutos. Em seguida foi adicionado gota a gota 5,8 mL de H₂O₂ 30% na mistura a 0° C seguido pelo aumento da temperatura para 27° C, a agitação foi continuada por 24 h.

Método 2

Em um balão de 100 mL foi solubilizado 1 mmol da 7-metoxi-4',5-dibenzilnaringenina (**11**) em 5 mL de metanol em seguida foi adicionado uma solução de hidróxido de sódio (0,5 N, 1mL) e posteriormente foi adicionado peróxido de hidrogênio (35%, 0,7 mL), a reação foi realizada sob temperatura ambiente por 1 dia.

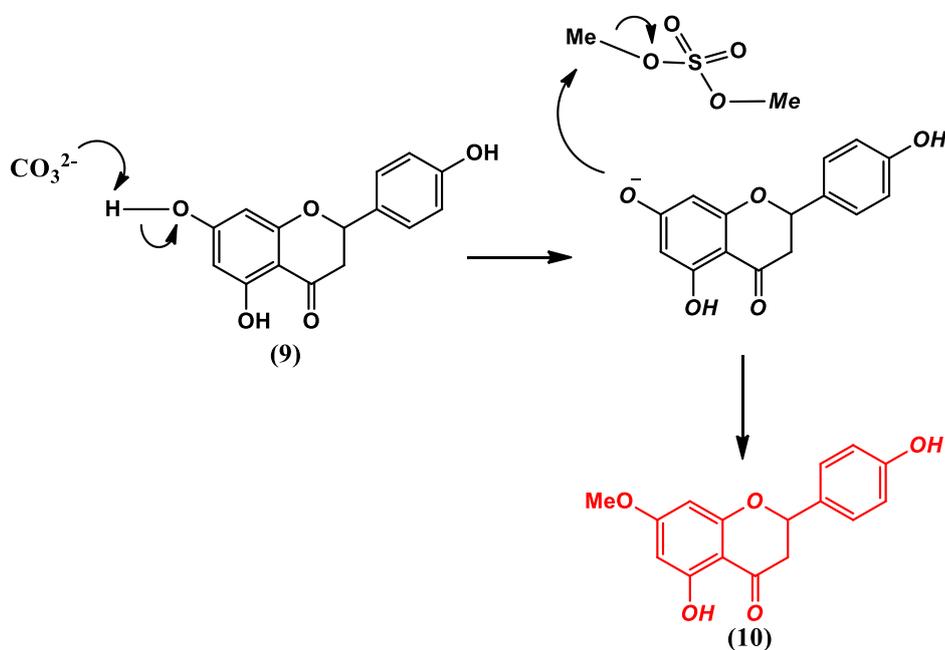
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Metilação da naringenina

Nesta reação é possível a formação de 3 produtos de acordo com a quantidade de metoxilas. A reação dura cerca de 7 horas sob o acompanhamento de CCD. Nas últimas horas de reação, foi adicionado mais 0,5g de carbonato de potássio e meia hora depois mais 0,5g, assim aumentando a desprotonação da hidroxila facilitando ainda mais a metilação, pois a quantidade de sulfato de metila utilizado é limitante. Esta reação foi repetida nas mesmas condições e foi obtido o mesmo rendimento (72 %), desta forma este é um procedimento sem formação de produtos inesperados e não são necessários ajustes de reagentes durante a reação. Aqui se faz uso da maior reatividade (acidez relativa) do grupo 7-OH fenólico da naringenina, tornando esta reação regioseletiva para a obtenção do 7-metoxi derivado.

O mecanismo dessa reação é uma substituição nucleofílica S_N2 (esquema 1), uma reação concertada, que se inicia com a desprotonação da hidroxila promovida pela base. O fenolato formado atua como nucleófilo e ataca o carbono do sulfato de dimetila a fim de estabilizar a molécula, formando assim, um grupo metoxila.

Esquema 3. Mecanismo proposto para a síntese do 7-metoxinaringenina



A confirmação do composto foi baseada pela comparação do ponto de fusão já estabelecido na literatura (WU; CAI; FAN et al., 2012) e também por RMN de ¹H e ¹³C. Também foi isolado o derivado, 7,4'-dimetoxiflavonona sendo este igualmente caracterizado por RMN de ¹H e ¹³C. Não ocorreu a formação da naringenina trimetilada

devido a ligação de hidrogênio existente entre os substituintes 5-OH e 4-oxo e pelo controle reacional na adição do Me₂SO₄.

Figura 9. Espectro de RMN ¹H da 7-metoxinaringenina (CDCl₃).

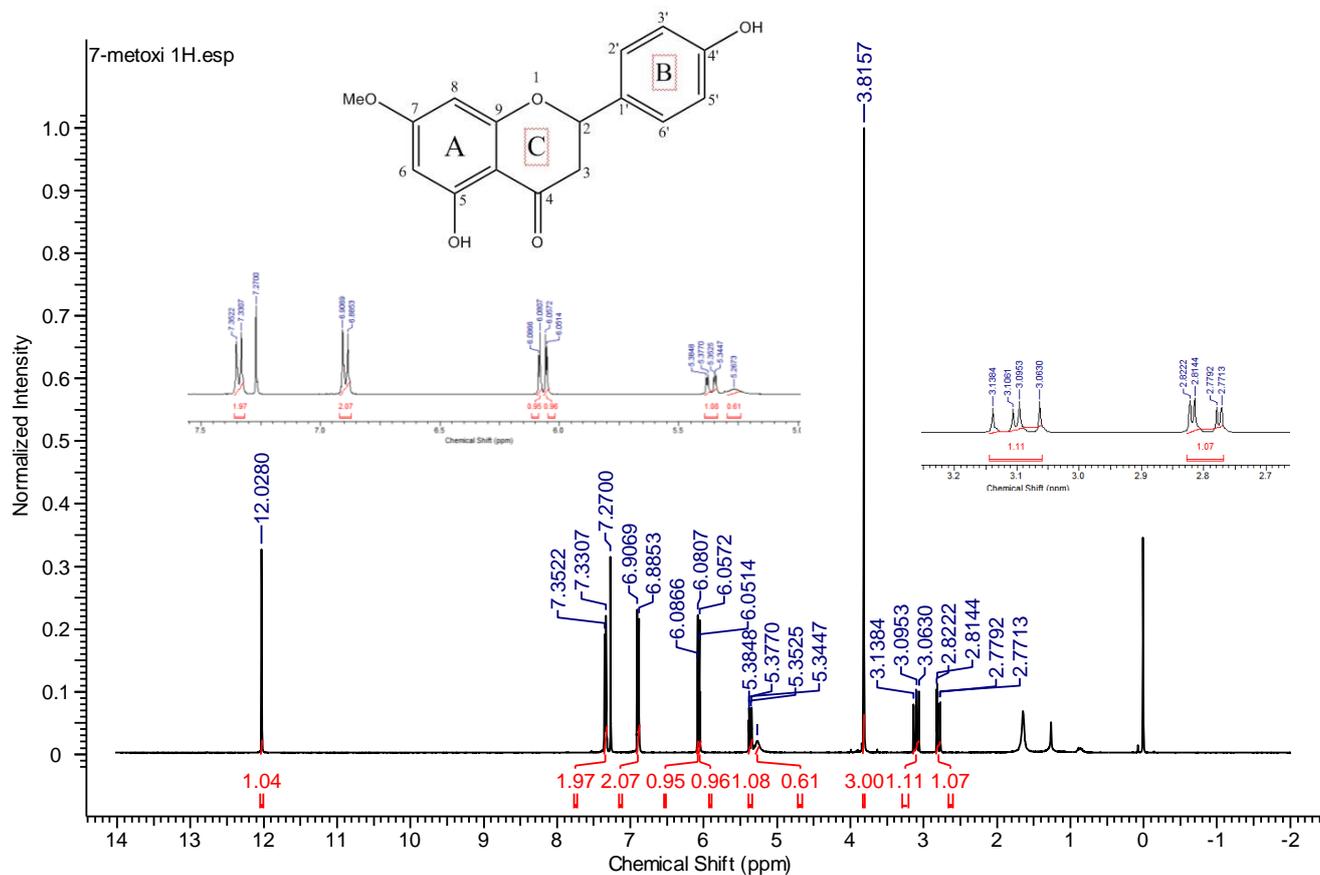
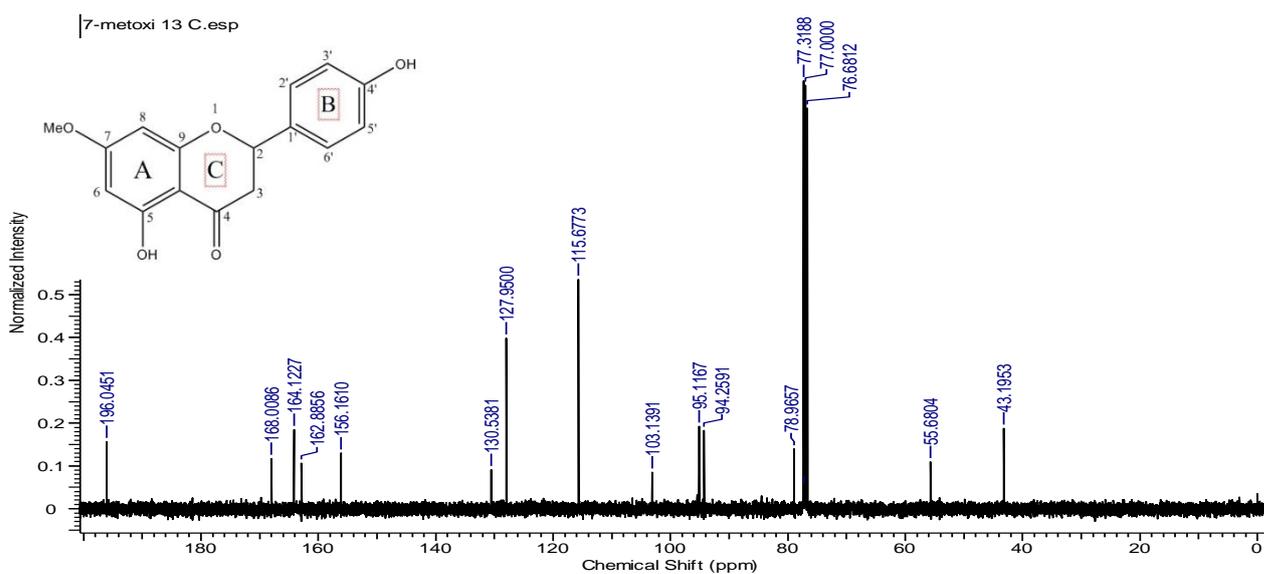


Figura 10. Espectro de RMN ¹³C da 7-metoxinaringenina (CDCl₃).



Anel A

O espectro de RMN de ^1H da 7-metoxinaringenina (Figura 6) apresentou um duplo duplete em $\delta_{\text{H}} = 6,08$ ppm e $\delta_{\text{H}} = 6,05$ ppm com integração para dois hidrogênios aromáticos atribuído ao H-6 e H-8 respectivamente, com a constante de acoplamento spin-spin mantendo entre si uma relação *meta* ($J = 2,3$ Hz). A presença de um simpleto característico na região mais desblindada $\delta_{\text{H}} = 12,02$ ppm se refere a uma hidroxila quelatogênica em C-5. Também apresentou um simpleto $\delta_{\text{H}} = 3,81$ com integração para três hidrogênios, onde este é atribuído a metoxila (OCH_3) em C-7.

Já no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 7) desse anel houve a presença do sinal C-10 (não oxigenado) apareceu em $\delta_{\text{H}} = 103,13$ ppm este sinal é facilmente identificado a partir da comparação com os sinais de outros carbonos não hidrogenados ou oxigenados e os carbonos metínicos (SILVA.; CARVALHO; BRAZ-FILHO 2009). A metoxila desse anel foi atribuída ao sinal $\delta_{\text{H}} = 55,68$ ppm, onde é característico a presença desse grupo.

Anel B

No anel B, o espectro de RMN de ^1H apresentou 3 sinais distintos, sendo 2 destes possuindo o mesmo ambiente químico que corresponde a um sistema aromático para dissubstituído, sendo caracterizado por dois dupletos representando dois pares de átomos de hidrogênio (H-2'/H-6' $\delta_{\text{H}} = 7,34$ ppm e H-3'/H-5' $\delta_{\text{H}} = 6,89$ ppm) acoplados em orto ($J = 8,6$ Hz), constituindo um típico sistema AA'-BB'. Existe uma simetria nesse anel proporcionado pela hidroxila na posição *para* que apresenta deslocamento químico de $\delta_{\text{H}} = 5,26$ ppm.

Já no espectro RMN ^{13}C devido a simetria promovida pela presença de um único substituinte oxigenado no anel aromático foram facilmente assinalados. Os dois sinais de pares de carbonos metínicos (C-2'/C-6' $\delta_{\text{C}} = 127,9$ ppm e C-3'/C-5' $\delta_{\text{C}} = 115,6$ ppm), indicam que existe um substituinte oxigenado em C-4'.

Anel C

Devido a quiralidade do C-2, os hidrogênios em C-3 são diastereotópicos, ou seja, possuem ambientes químicos diferentes podendo distinguir os sinais desses dois hidrogênios. Os sinais desses hidrogênios são $\delta_{\text{H}} = 3,10$ ppm ($J = 17,2$ Hz; 12,9 Hz) e 2,79 ppm ($J = 17,2$ Hz; 3,12 Hz). Cada sinal apresentou a integração para um

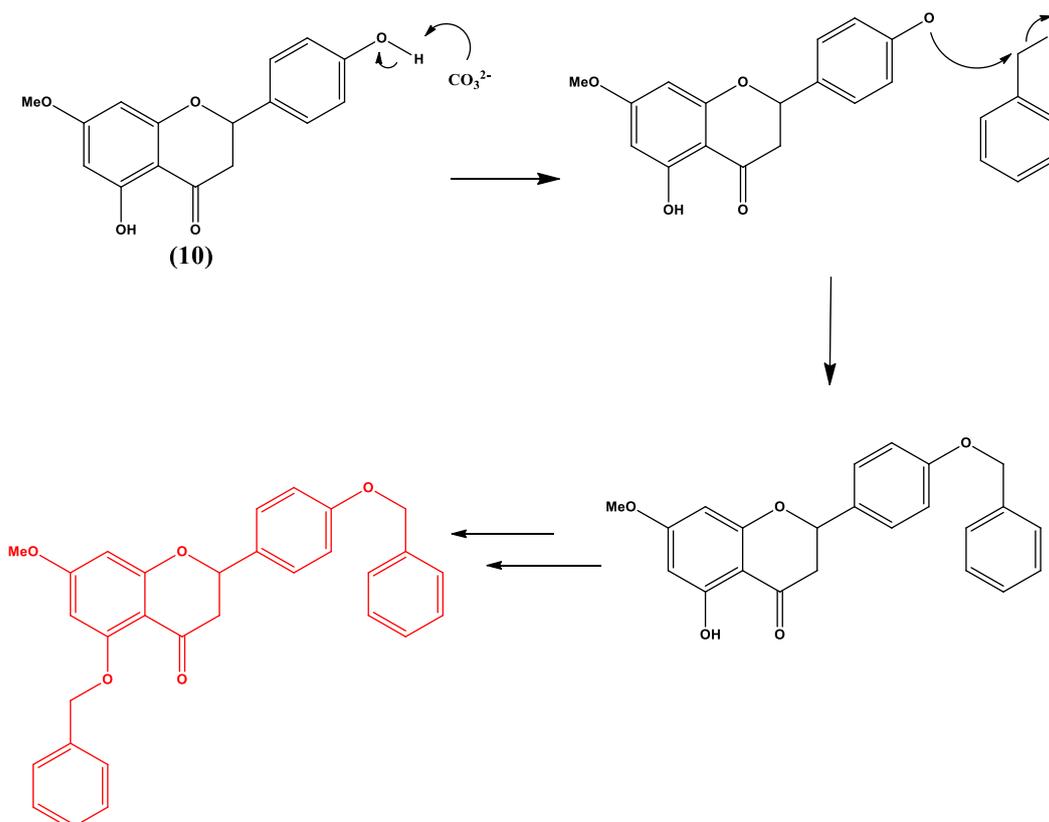
hidrogênio, a multiplicidade foi um duplo duplete referente ao acoplamento entre eles ($J = 17,2$ Hz) e ao hidrogênio do C-2 ($\delta_{\text{H}} = 5,36$, 1H, dd, $J = 12,9$ Hz; $3,1$ Hz).

Já no espectro RMN ^{13}C é possível observar o sinal característico do carbono da carbonila, pois se apresenta no campo mais desblindado do espectro ($\delta_{\text{C}} = 196,0$ ppm). Já na região mais blindada se apresenta os sinais do C-2 e C-3 ($\delta_{\text{C}} = 78,9$ e $\delta_{\text{C}} = 43,1$ ppm respectivamente).

4.2 Benzilação da 7-metoxinaringenina

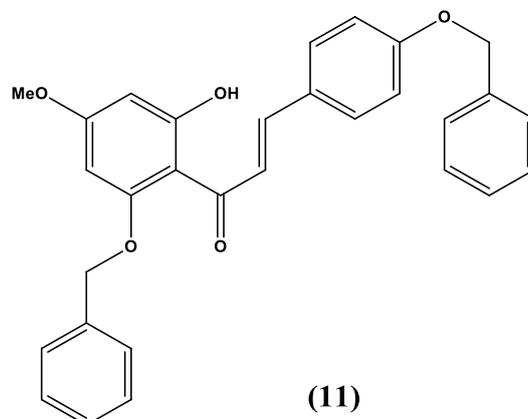
Após a realização da metilação, é executada a reação de benzilação. Este processo tem o intuito de proteger os grupos hidroxil (-OH) restantes na molécula para futuras reações. O mecanismo dessa reação é uma substituição nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$, conforme mostra o esquema a seguir (esquema 2). Trata-se de uma reação concertada em que as etapas são semelhantes ao que está descrito na metilação.

Esquema 4. Mecanismo proposto para a síntese do 5,4'-dibenzil-7-metoxinaringenina.



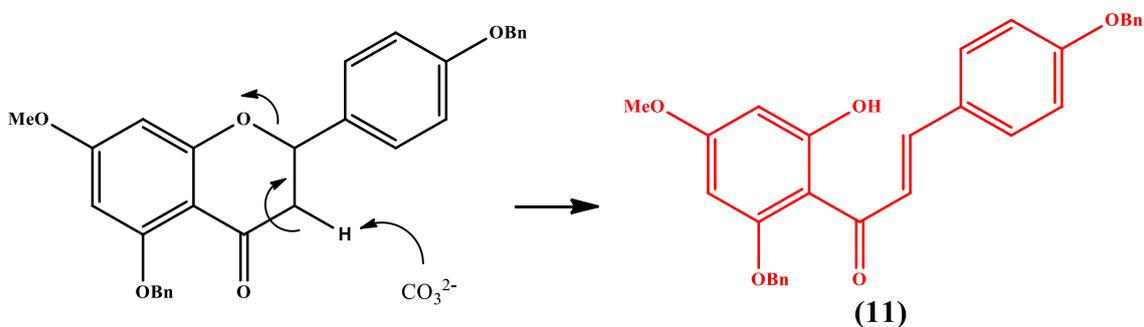
Contudo, a partir do espectro RMN de ^1H foi concluído que além da proteção das hidroxilas com o grupo benzila, ocorreu a abertura do anel C formando assim o subproduto 5,4'-dibenzil-7-metoxichlacona (Figura 8).

Figura 11. Estrutura da 5,4'-dibenzil-7-metoxichlacona



O carbonato de potássio foi capaz de captar o hidrogênio do carbono na posição 3, desestabilizando o anel C, ocorrendo a abertura do anel formando uma ligação dupla entre os carbonos 2 e 3 seguida da protonação do oxigênio na posição 1 (esquema 3), numa típica reação de eliminação bimolecular (E2).

Esquema 5. Mecanismo proposto para abertura do anel C



A partir desses resultados, foram realizadas alternativas de proteção das hidroxilas na posição 5 e 4' a fim de obter a flavona desejada.

4.3 Reações com silício

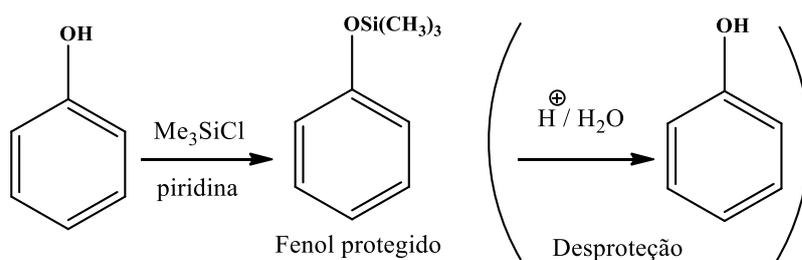
Apesar da recente introdução de vários métodos úteis para a proteção de grupos hidroxila, existe uma necessidade real de outros, e especialmente de novos grupos protetores que combinam estabilidade sob uma ampla gama de condições com suscetibilidade à remoção fácil por um reagente altamente específico.

Os éteres trimetilsilílicos e seus derivados são muito suscetíveis à solvólise em meios próticos (na presença de ácido ou base) para serem amplamente úteis na síntese

(COREY; VENKATESWARLU, 1972). Como a complexidade dos alvos sintéticos tem crescido, a discriminação de diferentes éteres de silício tem ganhado cada vez mais importância. A diferença na reatividade pode ser regulada por uma grande variedade de fatores que incluem: controle do substrato (natureza estérica e eletrônica dos substituintes do silil, ambiente estérico e eletrônico do álcool e o efeito do grupo vizinho dentro do substrato) e pelo controle do reagente. Tais diferenciações de seletividade podem ser ilustradas na síntese total do taxol (NICOLAOU et al., 1994), brevetoxina (NICOLAOU et al., 1995) e outros.

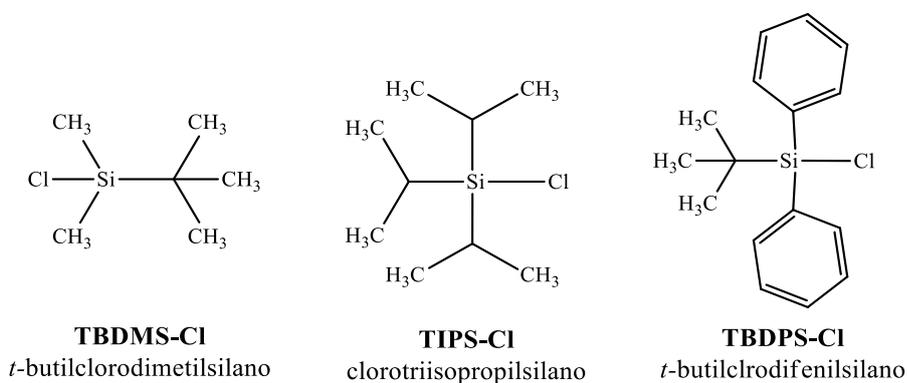
De acordo com a literatura grupos trialquilsilil podem ser utilizados com o propósito de proteger o heteroátomo oxigênio impedindo sua aproximação de um centro eletrofílico. Geralmente nessas reações é utilizado trimetilclorossilano com o fenol na presença de piridina (base fraca) como mostra o esquema 4

Esquema 6. Reação de proteção utilizando TMS.



Entretanto trimetilsililéteres são facilmente hidrolisados, tendo assim a necessidade de desenvolver reagentes que formam sililéteres mais estáveis (figura 10)

Figura 12. Diferentes grupos protetores silanos.



Os sililéteres são estáveis sob diversas condições de reação, mas a ligação Si-O é facilmente quebrada na presença de íons fluoreto, pois a ligação Si-F é muito forte. Por

ser solúvel na maioria dos solventes orgânicos, o fluoreto de tetrabutilamônio é muito utilizado para quebrar os sililéteres (ISENMANN, 2018).

Na tentativa de proteger as hidroxilas na posição 5 e 4', foram realizadas diferentes condições reacionais envolvendo a química do silício.

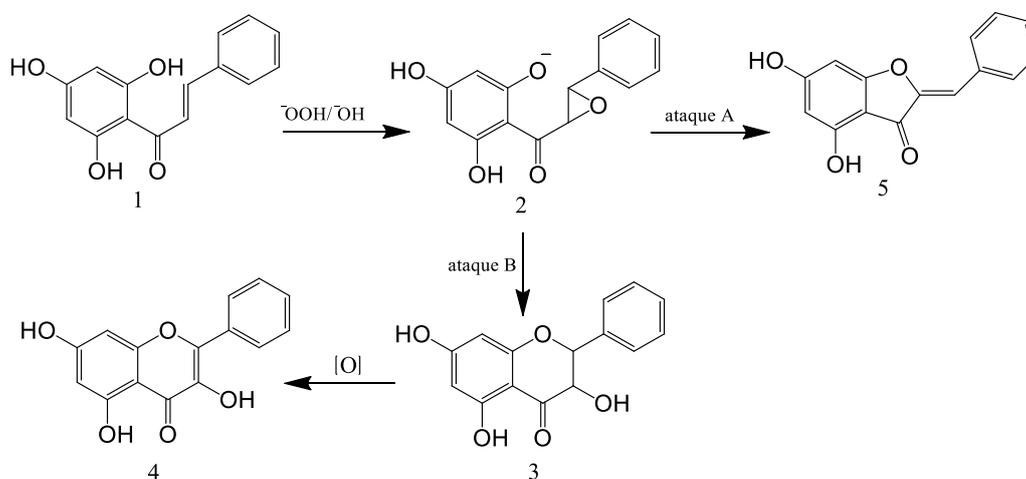
Todas as condições reacionais estão descritas na tabela a seguir. Não foi possível calcular o rendimento das reações, pois não foi observado o consumo do material de partida.

Entrada	Reagente	Base	Solvente	Tempo	Catalisador
1	TMS-Cl	Piridina	DMF	24 hr	
2	TMS-Cl	DIPEA		24 hr	
3	TBDPS-Cl	Piridina	DMF	24 hr	
4	TBDPS-Cl	Piperidina	CH ₂ Cl ₂	3 hr	
5	TBDPS-Cl	Piperidina	CH ₂ Cl ₂	96 hr	DMAP
6	TBDPS-Cl	Imidazol	CH ₂ Cl ₂	24 hr	I ₂ /DMAP

4.4 Reação Algar-Flynn-Oyamada

O método mais frequentemente usado para a síntese de flavonóis é pela oxidação alcalina da chalcona utilizando peróxido de hidrogênio (esquema 7), conhecida como reação Algar-Flynn-Oyamada (AFO) (BE NNETT; BURKE O'SULLIVAN, 1996).

Esquema 7. Reação de oxidação da chalcona.



A epoxidação de chalconas não fenólicas é bem conhecida (WEITZ; SCHEFFER, 1921), assumiu-se então que as chalconas fenólicas se comportariam de maneira semelhante, e o fracasso no isolamento de epóxidos de A.F.O. as reações foram atribuídas à relativa rapidez das ciclizações subsequentes (rotas A e B).

Na tentativa de ciclização do anel C da 7-metoxidibenzilchalcona foram testadas duas metodologias da reação AFO método 1 (SHEN; ZHOU; XIONG et al., 2017) e método 2 (GUNDUZ; GOREN; OZTURK, 2012).

Não foi possível calcular o rendimento das reações, pois não foi observado o consumo do material de partida.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível obter a 7-metoxinaringenina, com o rendimento de aproximadamente 72%. Foram testadas metodologias com o intuito de proteger as hidroxilas restantes no flavonoide, contudo ocorreu a formação de uma chalcona que, devido à dificuldade de purificação, não foi possível obter os rendimentos das reações até o momento. Também foram testadas diferentes metodologias utilizando reagentes de silício na tentativa de proteção da 7-metoxinaringenina onde não foi observado a formação do produto desejado além de testes da reação Algar-flynn-Oyamada na tentativa de ciclização da chalcona, contudo não ocorreu consumo do material de partida.

Espera-se na sequência do trabalho, e que as dificuldades encontradas sejam resolvidas, uma vez que um destes produtos é o resultado de uma patente já depositada e dados de avaliação farmacológica para a emissão de outra patente estão sujeitos a obtenção em maior quantidade dos produtos das reações aqui listadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGOKE, O.; FORBES, P. B. Challenges and advances in quantum dot fluorescent probes to detect reactive oxygen and nitrogen species: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 862, s/n, p. 1-13, 2015.

ARAÚJO M.V.; QUEIROZ, A.C.; SILVA, J.F.M., et al. Flavonoids induce cell death in *Leishmania amazonensis*: in vitro characterization by flow cytometry and raman spectroscopy. **Analyst**, v. 144, n. 17, p. 5232-5244, 2019.

ALVARENGA, D.G.; ESCALDA, P.M.F.; COSTA, A.S.V. et al. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados a letalidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 194-197, 2010.

BARREIRO, E. J.; BOLZAN, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARREIROS, A. L.B.S; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n.1, p. 113-123, 2006.

BASTOS, M.M; BOECHAT, N.; GOMES, A.T.P.C. et al. O Uso de Porfirinas em Terapia Fotodinâmica no Tratamento da Leishmaniose Cutânea. **Revista Virtual de Química**. v. 4, n. 3, p. 257-267, 2012.

BENNETT,M. ; BURKE, A. J.; O'SULLIVAN, W. IVO. Aspects of the Algar-Flynn-Oyamada (AFO) reaction. **Tetrahedron**. v. 52, n. 20, p. 7163–7178, 1996.

BERNINI, R.; CRISANTE, F.; GINNASI, M. C. A convenient and safe *o*-methylation of flavonoids with dimethyl carbonate (dmc). **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1418-1425, 2011.

BINDRA, J. S.; LEDNICER, D. Chronicles of drug discovery. ed. 2, New York: **Wiley**, 1984.

BINDRA, J. S.; LEDNICER, D. Chronicles of drug discovery. ed 3. Washington: **Wiley**, 1993.

BONINA, F.; PUGLIA, C.; VENTURA, D. et al. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L buds. **J. Cosmet. Sci.**, v. 53, s/n, p. 321-35, 2002.

BROCKSOM, T. J.; DESIDERÁ, A. L.; ALVES, L. C. et al. The new directions of organic synthesis. **Current Organic Synthesis**, v. 12, n. 5, p. 496-522, 2015.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, **J. Agric. Food Chem.** v. 49, n. 6, p. 2774–2779, 2001.

CABANILLAS, B. J.; LAMER, AC. L.; OLAGNIER, D. et al. Leishmanicidal compounds and potent ppar γ activators from *renealmia thyrsoides* (ruiz&pav.) Poepp. & endl. **Journ. of Ethnoph**, v. 157, s/n, p. 149–155, 2014.

CALDERON-MONTANO, J.M.; BURGOS-MORON, E.; PEREZ-GUERRERO, C. et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 11, n. 4, p. 298–344, 2011.

CAMACHO, M. D. R.; PHILLIPSON, J. D.; CROFT, S. L. et al. Assessment of the antiprotozoal activity of *Galphimia glauca* and the isolation of new nor-secofriedelanes and nor-friedelanes. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 10, p. 1457-1461, 2002.

CHAN, LP.; CHOU, TH.; DING, HY. et al. Apigen induces apoptosis via tumor necrosis factor receptor and bcl-2-mediated pathway and enhances susceptibility of head and neck squamous cell carcinoma to 5-fluorouracil and cisplatin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1820, n. 7, p. 1081-1091, 2012.

CHOLBI, M. R.; PAYA, M.; ALCARAZ, M. J. Inhibitory effects of phenolic compounds on CCl₄-induced microsomal lipid peroxidation. **Experientia**, v. 47, s/n, p. 195–199, 1990.

CHU, HW.; WU, HT.; LEE, YJ. Regioselective hydroxylation of 2 –hydroxychalcones by dimethyldioxirane towards polymethoxylated flavonoids. **Tetrahedron**, v. 60, n. 11, p. 2647-2655, 2004.

COELHO, L.I.A.R.C. Caracterização de *leishmania spp.* em amostras isoladas de pacientes portadores de leishmaniose tegumentar americana em área endêmica da região norte, brasil. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, 2010.

- CORDELL, G. A. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 6, p. 949-952, 2002.
- COREY, E. J.; VENKATESWARLU, A. Protection of hydroxyl groups as tert-butyldimethylsilyl derivatives. **Journal of The American Chemical Society**, v. 94, n. 17, p.6190-6191, 1972.
- CORRÊA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. **Química Nova**, v. 18, n. 5, p. 460-467, 1995.
- COTELLE, N.; BERNIER, J. L.; CATTEAU, J. P. et al. Antioxidant properties of hydroxyl-flavones. **Free Radic Biol Med**, v. 20, n. 1, p. 35-43, 1996.
- COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoids: potências agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Rev. Virtual Quim.**, v. 1, n. 3, p. 241-356, 2009.
- CUSHNIG, T. P. T.; LAM, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **Inter. Journ. of Antim. Agents**, v. 26, n. 5, p. 343-356, 2005.
- DÔRES, R. G. R. Análise morfológica e Fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis Benth*). 2007. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.
- ESTEVES-SOUZA, A.; SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F. et al. Cytotoxic activities against ehrlich carcinoma and human k562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 13, n. 6, p. 838-842, 2002.
- FARKAS, O.; JAKUS, J.; HÉBERGER, K. Quantitative structure – antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. **Molecules**, v. 9, n. 12, p. 1079-1088, 2004.
- GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v. 6, n. 1, p. 391–415, 2014.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- GRAEL, C. F.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J. L. Chemical constituents of *lychnophora pohlii* and trypanocidal activity of crude plant extracts and of isolated compounds. **Fitoterapia**, v. 76, n. 1, p. 73-82, 2005.

GUNDAMPATI, R.K.; SAHU, S.; SHUKLA, A. et al. Tryparedoxin peroxidase of *Leishmania braziliensis*: homology modeling and inhibitory effects of flavonoids for anti-leishmanial activity. **Bioinformation**, v. 10, n. 6, p. 353-357, 2014.

GUNDUZ, S.; GOREN, A. C.; OZTURK, T. Facile syntheses of 3-hydroxyflavones. **Organic Letters**, v. 14, n. 6, p. 1576–1579, 2012.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HERNÁNDEZ-AQUINO, E.; MURIEL, P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases : Molecular mechanisms. **World Journal of Gastroenterology**, v. 24, n. 16, p. 1679– 1707, 2018.

ISENMANN, Armin Franz. A química organo-silício: Criação das ligações Si-O e Si-N em moléculas orgânicas. In: ISENMANN, Armin Franz. PRINCÍPIOS DA SÍNTESE ORGÂNICA. 2. ed. Minas Gerais: **Edição do Autor**, 2018. p. 845-846.

JORDÃO, C. O.; VICHNEWSKI, W.; DE SOUZA, G. E. P. et al. Trypanocidal activity of chemical constituents of *Lychnophora salicifolia mart.* **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 4, p. 332-334, 2004.

KAMPKOTTER, A.; GOMBITANG, N.C.; ZURAWSKI, R.F. et al. Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. **Arch. Toxicol**, v. 81, s/n, p. 849-858, 2007.

KASHYAP, D.; SHARMA, A.; TULI, H.S. et al. Kaempferol—A dietary anticancer molecule with multiple mechanisms of action: Recent trends and advancements. **J. Funct. Foods**, v. 30, s/n, p. 203–219, 2017

KAWA, H.; SABROZA, P.C.; OLIVEIRA, R.M. et al. A produção do lugar de transmissão da leishmaniose tegumentar: o caso da localidade Pau da Fome na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 8, p. 1495-1507, 2010.

KIM, S. H.; CHOI, K. C. Anti-cancer effect and underlying mechanisms(s) of kaempferol, a phytoestrogen, on the regulation of apoptosis in diverse cancer cell models. **Toxicology Research**, v. 29, n.4, p. 229-234, 2013.

LOLLI, G.; COZZA, G.; MAZZORANA, M. et al. Inhibition of protein kinase ck2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight. **Biochemistry**, v. 51, n. 31, p. 6097-6107, 2012.

LOPES, E.G.P.; MAGALHÃES, D.F.; SILVA, J.A. et al. Distribuição temporal e espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte-MG, 1993 a 2007. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1062-1071, 2010.

MARTINS, G. A. S.; LIMA, M. D. Leishmaniose: do diagnóstico ao tratamento. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 2556-2569, 2013.

MAUROIS, A. **LA VIE DE SIR ALEXANDER FLEMING**. Paris: **Hachette**, 1959.

MCKERROW, JH. Recognition of the role of natural products as drugs to treat neglected tropical diseases by the 2015 Nobel prize in physiology or medicine. **Nat Prod Rep**. v. 32, n. 12, p. 1610-1611, 2015.

MONTARI, C. A. Química medicinal: métodos e fundamentos em planejamento de fármacos. São Paulo: **Editora da Universidade de São Paulo**, 2011.

NWAKA, S.; RAMIREZ, B.; BRUN, R. et al. Advancing drug innovation for neglected diseases—criteria for lead progression. **PLoS Negl. Trop. Dis.** v. 3, n. 8, p. 440-452, 2009.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Leishmaniasis, epidemiological situation. 2017b. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>>. Acesso em 02 de outubro de 2020 as 11:27 hr.

PEREIRA, I. S. P.; RODRIGUES, V. F.; VEGA, R. G. Artigo flavonoides do gênero solanum flavonoids from the genus solanum resumo flavonoides do gênero *Solanum*. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 4-26, 2016.

QUEIRÃO, A. L.; SOUSA, D. L.; SILVA, I. P. et al. A toxicidade das drogas empregadas no tratamento de leishmaniose e tripanossomíase americana. **Mostra Científica de Biomedicina**, Quixadá, v. 4, n. 1, 2019.

- RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R. et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.
- REN, J.; LU Y.; QIAN Y. et al. Recent progress regarding kaempferol for the treatment of various diseases (Review). **Experimental And Therapeutic Medicine**, v. 18, s/n, p.2759-2776, 2019.
- RODRIGUES DA SILVA, L; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F. et al. Flavonoides: composição química, ações médicas e toxicidade. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.
- SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.
- SHEN, X.; ZHOU, Q.; XIONG, W. et al. Synthesis of 5-substituted flavonols via the Algar-Flynn-Oyamada (AFO) reaction: the mechanistic implication. **Tetrahedron**, v. 73, n. 32, p. 4822–4829, 2017.
- SHARIFI-RAD, M.; FOKOU, P.V.T.; SHAROPOV, F. et al. Antiulcer agents: From plant extracts to phytochemicals in healing promotion. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1751-1787, 2018.
- SHER E, C. F. Omega-conotoxin-sensitive voltage-operated calcium channels in vertebrate cells. **Neuroscience**, v. 42, n. 2, p. 301–307, 1991.
- SILVA-LÓPEZ, R. E. Proteases de *leishmania*: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1541-1548, 2010.
- SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R. Estudo espectroscópicos em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* AGRA & NEE E *S. paludosum* moric. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1119 -1128, 2009.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; de MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.
- SOKOLOFF, B.; CHAMELIN, I.; BISKIND, M. Citrus vitamin 'p' (citrus bio-flavonoids). **Florida State Horticultural Society**, s/v, s/n, p 128-131, 1956.

- STOBIECKI, M.; KACHLICKI, P. Isolation and identification of flavonoids. The science of flavonoids. *In: GROTEWOLD, E. The science of flavonoids. Ohio: Springer, 2008, p. 47-70.*
- TANAKA, T.; TAKAHASHI, R. Flavonoids and asthma. **Nutrients**, v. 5, n. 6, p. 2128-2143, 2013.
- TASDEMIR, D.; KAISER, M.; BRUN, R. et al. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: in vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 1352–1364, 2006.
- ULLAH, N.; NADHMAN, A.; SIDDIQ, S. et al. **Plants as Antileishmanial Agents : Current Scenario**. *Phytotherapy Research*, v. 30, n. 12, p. 1905–1925, 2016.
- VERMA, A.R.; VIJAYAKUMAR, M.; MATHELA, C.S. et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. **Food Chem. Toxicol**, v. 47, s/n, p. 2196-201, 2009.
- VIEGAS JR, CLÁUDIO; BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- WANG, Y.; HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Antimicrobial flavonoids from *Prisiadia triversia* and their methylated and acetylated derivatives. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2323-2327, 1989.
- WEITZ, E.; SCHEFFER, A. Über die Einwirkung von alkalisochem WaseerstoffPeuperoxyd auf un- gesattigte Verbindungen. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 54, n. 9, p. 2327–2344, 1921.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, p. 485-493, 2001.
- YOON, J.H.; BAEK, S.J. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. **Yonsei Medical Journal**, v. 46, n. 5, p. 585-596, 2005.

YOSHIDA, T.; KONISHI, M.; HORINAKA, M. et al. Kaempferol sensitizes colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 375, n. 1, p. 129–133, 2008.

WU, Z.; CAI, S.; FAN, W. et al. Semisynthesis of Bioactive Flavonols and Aurones from Naringin. **Chinese Journal of Organic Chemistry**, v. 32, n. 7 p. 1296–1302, 2012.