

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Síntese e atividade anti-*Trichomonas vaginalis* de chalconas

MÁRCIA RODRIGUES TREIN

Porto Alegre, 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Síntese e atividade anti-*Trichomonas vaginalis* de chalconas

Dissertação apresentada por
Márcia Rodrigues Trein para obtenção
do GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas.

Orientação: Profa. Dr. Tiana Tasca
Coorientação: Prof. Dr Luis Octávio Regasini

Porto Alegre, 2017.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível Mestrado, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31/03/2017 pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Raquel Brandt Giordani
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Profa. Dr. Marilise Brittes Rott
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Simone Cristina Gnoatto
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Trein, Márcia Rodrigues
Síntese e atividade anti-Trichomonas vaginalis de
chalconas / Márcia Rodrigues Trein. -- 2017.
87 f.

Orientadora: Tiana Tasca.
Coorientador: Luis Octávio Regasini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Trichomonas vaginalis. 2. Chalconas. 3.
Atividade anti-Trichomonas vaginalis. 4. Atividade
biológica de chalconas. I. Tasca, Tiana, orient. II.
Regasini, Luis Octávio, coorient. III. Título.

Esta dissertação foi desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Parasitologia do Departamento de Análises da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em colaboração com o Laboratório de Química Verde e Medicinal, Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, Unesp.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino de qualidade proporcionado na graduação e na pós-graduação. Também por, juntamente à Faculdade de Farmácia através de sua direção, incentivar e oportunizar a qualificação de seus servidores, buscando o aprimoramento constante do serviço prestado à comunidade.

À Profª Dr Tiana Tasca agradeço por me aceitar como aluna de mestrado, pela dedicada orientação e aconselhamento, e pelos muitos ensinamentos. Tiana, a ti sou eternamente grata por aceitar que eu viesse para a Parasitologia, por me acolher e ser minha salvação no momento que eu precisei. Obrigada por acreditar em mim. Trabalhar contigo tem sido uma honra, tu és um exemplo de profissional, transmite conhecimento com paixão e me faz acreditar que ainda existem professores universitários com o dom da docência. Tenho certeza de que muitas gerações de farmacêuticos são e serão melhores por tu estares aqui.

Aos queridos colegas e amigos do GPTrico com quem tive a honra de conviver: Amanda, Brenda, Camila, Dariana, Fernanda, Franciane, Graziela, Lúcia, Nícolas, Odelta e Patrícia. Agradeço pela amizade e pelo acolhimento, por tantas vezes fazerem do trabalho diversão, por exercerem tão bem o espírito de equipe e estarem sempre dispostos a colocar a mão na massa para ajudar nos experimentos dos colegas. E, claro, por saberem fazer uma festa como ninguém. Com especial carinho agradeço à Camila, querida amiga que me deu muita força, conselhos, apoio e socorro quando eu mais precisei, à Odelta que dispôs de muito do seu tempo para vir até a faculdade me ajudar, e, principalmente, à Grazi, que não me deixou desistir, pegou minha mão e me conduziu pelos últimos meses de trabalho, com uma paciência e um companheirismo inigualáveis, sempre disposta a ajudar com tudo que eu precisasse.

Ao Prof Dr Luís Octávio Regasini, pela coorientação e pela colaboração estabelecida entre os grupos de pesquisa, e à Lígia Rodrigues Oliveira, pela parceria durante o mestrado. Espero que os dois grupos ainda possam, juntos, contribuir muito para a ciência.

Ao grupo de pesquisa do Prof. Dr. Alexandre Macedo e da Profª Dr Danielle Trentin, pela colaboração no desenvolvimento desse trabalho, pela convivência e pelos momentos de descontração.

Às minhas colegas de trabalho na Faculdade de Farmácia, pela parceria diária, pela tão querida companhia e agradáveis momentos na hora do almoço. Em especial à Kátia, sempre disposta a resolver os nossos problemas no RH e empenhada em buscar o melhor para nós, e à Luciana, amada amiga que a Faculdade de Farmácia me deu, que pacientemente escuta minhas lamúrias e me presenteia diariamente com amizade e carinho.

A todos os meus amigos pelo carinho e apoio, em especial ao grande presente que a Biologia me deu, minhas Biologatas, por tudo: paciência, conselhos, puxões de orelha, carinho, incentivo, apoio, companheirismo, dedicação, auxílio, salvação. Gurias, obrigada por estarem sempre presentes, me dando tanta força e tanto amor.

À minha família, que pacientemente compreendeu minhas ausências e sempre me dá força para continuar. À Cristina pela amizade e parceria e por sempre ter sido um exemplo de acadêmica e profissional, ao Enio por cuidar de tudo e de todos, e à Marina pela alegria que traz para a minha vida. Aos meus pais, Moema e Paulo Henrique, pela vida, pelo amor, e por terem ensinado a lição mais importante: resiliência.

RESUMO

Tricomoníase é a doença sexualmente transmissível não-viral mais comum no mundo e pode gerar sérias consequências na saúde reprodutiva, câncer e transmissão e aquisição do HIV. Por esta razão, esta infecção resulta em um pesado fardo para os sistemas de saúde pública. O único tratamento aprovado para esta infecção, que consiste nos 5-nitromidazóis metronidazol e tinidazol, apresenta efeitos adversos e há uma subestimada taxa de resistência da infecção, atualmente considerada uma doença negligenciada, a estes fármacos. Portanto, há uma necessidade urgente de novas alternativas terapêuticas para a tricomoníase. Chalconas são uma família de moléculas que apresenta várias aplicações biológicas, como atividade contra diversos patógenos, incluindo protozoários patogênicos. Este trabalho apresenta o potencial anti-*Trichomonas vaginalis* de derivados de chalcona sintetizados e seus efeitos sobre os trofozoítos. Os valores de IC₅₀ dos compostos mais ativos variaram de 27,5 a 76,4 µM, e as moléculas 4'-hidroxichalcona e 3'-aminochalcona apresentaram os valores mais baixos (27,5 e 28,9 µM). Estes dois compostos foram citotóxicos contra a linhagem de células epiteliais vaginais HMVII, consequentemente apresentaram baixos Índices de Seletividade; contudo, ao se utilizar larvas de *Galleria mellonella*, como modelo de toxicidade *in vivo*, não foi observada diminuição da viabilidade após o tratamento. As moléculas também não provocaram hemólise em eritrócitos humanos em 1 e 24 horas. Os compostos não induziram significativa produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos trofozoítos. Neutrófilos humanos apresentaram aumento na produção de EROs quando coincubados com trofozoítos tratados com os compostos. Os resultados indicam que as chalconas são uma família de moléculas com potencial atividade contra *T. vaginalis*.

Palavras-chave: *Trichomonas vaginalis*, chalconas, citotoxicidade, *Galleria mellonella*, produção de EROs.

ABSTRACT

Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted disease worldwide and can lead to serious consequences in reproductive health, cancer and HIV acquisition. For this reason, this infection results in a heavy burden for public health systems. Current approved treatment, which consists in 5-nitromidazole drugs, metronidazole and tinidazole, present adverse effects and there is underestimate drug resistance data on this parasitic infection, currently considered a neglected disease. Therefore, there is an urgent need for new alternatives for trichomoniasis treatment. Chalcones are a family of molecules that present various biological applications, such as activity against many pathogenic organisms including protozoan pathogens. This study presents the anti-*Trichomonas vaginalis* potential of synthesized chalcone derivatives and their effects on the trophozoites. IC₅₀ values of the most active compounds ranged from 27.5 to 76.4 μM, and 4'-hydroxychalcone and 3'-aminochalcone presented the lowest values of IC₅₀ (27.5 and 28.9 μM). These two compounds showed cytotoxicity against HMVII vaginal epithelial cells, thus presenting a low Selectivity Index; however, when *Galleria mellonella* larvae were used as model for *in vivo* toxicity no significant decrease in viability after treatment was observed. The chalcones also did not induce hemolysis in human erythrocytes. The compounds did not induce significant reactive oxygen species (ROS) production in the trophozoites. Human neutrophils have increased ROS production when exposed to treated trophozoites. Results indicate that chalcones are a family of molecules with potential activity against *T. vaginalis*.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, chalcones, cytotoxicity, *Galleria mellonella*, ROS production.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	<i>Trichomonas vaginalis</i>	19
2.2	Tricomoniase	20
2.2.1	Manifestações clínicas	20
2.2.2	Complicações	20
2.2.3	Patogenia	21
2.2.4	Tratamento	22
2.2.5	Resistência	23
2.3	Chalconas	24
3	OBJETIVOS	27
4	CAPÍTULO I	31
5	DISCUSSÃO	61
6	CONCLUSÕES	69
7	PERSPECTIVAS	73
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 INTRODUÇÃO

As doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) vêm se apresentando, ao longo dos últimos anos, como um grave problema de saúde pública. Desde a descoberta da AIDS e do vírus HIV, e da epidemia que ocorreu na década de 80, cresceu muito a preocupação nos serviços de saúde em relação a esse tipo de infecção. No Brasil e no mundo ocorreu um forte incentivo à prevenção e controle de DSTs, mas ainda falta muito para que exista uma política eficiente para isso. Os sistemas de vigilância são falhos, e não são obrigatórios para a maioria das infecções, apesar das graves consequências que diversas delas podem ter. A precariedade do sistema público de saúde também muitas vezes inviabiliza que os pacientes tenham acesso a diagnósticos precisos e tratamentos eficazes, o que acaba gerando um descontrole desse tipo de infecção, e um alto fardo para a saúde da população.

A tricomoníase é uma DST causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis* com grande impacto na saúde pública pois tem potencial de gerar graves complicações, como problemas na reprodução, predisposição ao câncer cervical e de próstata e, em especial, aumento da transmissão do vírus HIV. É preocupante o crescente número de casos identificados anualmente, o qual ultrapassa a soma dos casos de outras DSTs não virais, como sífilis, gonorreia e infecção por *Chlamydia* (WHO, 2012).

Existem restritas opções de tratamento para a tricomoníase, e os fármacos empregados atualmente, únicos aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA, USA), são os 5-nitroimidazóis metronidazol e tinidazol, sendo o primeiro o fármaco de escolha para esta parasitose. Os efeitos adversos dos medicamentos são diversos, e incluem, entre outros, náusea e diarreia, e até manifestações alérgicas. Também existem dados sobre efeitos teratogênicos e carcinogênicos destes fármacos, mas não há ainda evidências de que isto ocorra de fato de forma significativa (VIEIRA et al., 2017).

O metronidazol apresenta, além dos possíveis efeitos adversos, que podem levar a uma não-adesão ao tratamento, um crescente número de casos de infecções refratárias, evidenciando uma ocorrência cada vez maior de isolados resistentes ao fármaco. Não é possível estimar de forma precisa dados sobre a ocorrência de infecções por microrganismos resistentes ao metronidazol, uma vez que nem mesmo existem informações epidemiológicas precisas sobre a infecção, não há a

obrigatoriedade de notificação, e inexistente um sistema de vigilância para esta DST (SECOR et al., 2014).

As complicações que podem decorrer da infecção por *T. vaginalis* potencialmente geram um alto custo para o sistema de saúde pública, especialmente se for considerado que esta doença afeta populações de menor renda, frequentemente menos educadas sobre DSTs e demais consequências de sexo desprotegido, portanto tendo um acometimento maior deste tipo de infecção. A predisposição ao câncer cervical e ao câncer de próstata são exemplos de consequências da tricomoníase (SUTCLIFFE et al., 2012) que geram um alto custo de tratamento, assim como as consequências para a saúde reprodutiva (SILVER et al., 2014) e, principalmente, a influência exercida sobre a circulação do vírus HIV na população (VAN DER POL et al., 2008).

Portanto, a busca por novas alternativas terapêuticas para a tricomoníase é urgente. Chalconas são cetonas de cadeia aberta com vasto potencial farmacológico e as crescentes investigações têm demonstrado cada vez mais aplicações biomédicas para estas moléculas, incluindo atividades biocidas contra diversos organismos. Desta forma, a avaliação do potencial de chalconas no combate à tricomoníase contribuirá para a busca por novas alternativas terapêuticas para esta infecção parasitária negligenciada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis* é um protozoário parasita do trato urogenital humano, agente etiológico da tricomoníase, doença sexualmente transmissível (DST) com importante impacto na saúde pública. A tricomoníase é a DST não viral mais comum no mundo, sendo que em 2008, cerca de 280 milhões de novos casos foram relatados, mais do que a soma dos novos casos de infecções por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e sífilis (WHO, 2012). No Brasil, os números apresentados pelo Ministério da Saúde são: 937 mil casos de sífilis, 1,5 milhão de casos de gonorreia e 1,9 milhão casos de clamídia (BRASIL, 2017). Apesar de não haver dados nacionais sobre a tricomoníase, por não se tratar de uma infecção de notificação compulsória, é possível inferir, tendo em vista as proporções mundiais de incidência das DSTs não-virais, que a população afetada pela doença é bastante significativa.

2.1 *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis é um protozoário flagelado parasita extracelular, que foi descrito em 1836 por Alfred Donné, isolado da secreção vaginal de uma mulher com vaginite. Apresenta apenas a forma trofozoítica, com formato piriforme, que costuma ter cerca de 10 μM de comprimento e 7 μM de largura. São cinco os flagelos que o trofozoíto possui, sendo quatro flagelos livres na extremidade anterior e um aderido ao longo da célula formando a membrana ondulante. Estes caracteres conferem a mobilidade ao parasito, característica essencial no diagnóstico morfológico (PETRIN et al., 1998). O protozoário pode apresentar formas arredondadas com flagelos internalizados muito semelhantes a cistos, porém sem apresentar parede cística, são comumente encontradas. Estas formas são conhecidas como pseudocistos (PEREIRA-NEVES et al., 2003).

O parasito *T. vaginalis* apresenta a importante característica de ser amitocondriado; no lugar de mitocôndrias, o patógeno possui organelas denominadas hidrogenossomos, que apresentam enzimas multifuncionais envolvidas na síntese de ATP e têm papel na adaptação do metabolismo ao ambiente do sítio de infecção (BENCHIMOL, 2009).

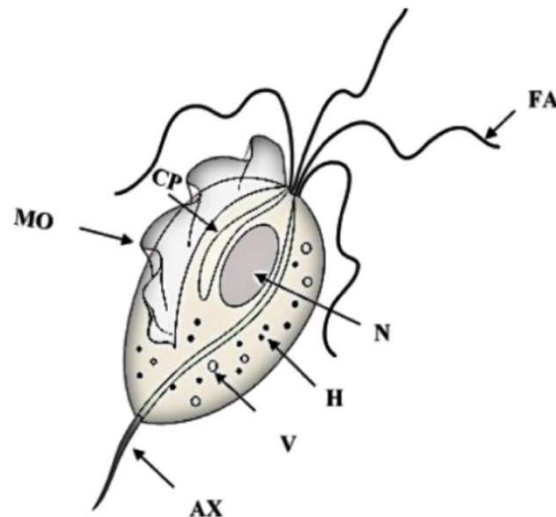


Figura 1 - Estruturas morfológicas características de *Trichomonas vaginalis*. AX (axóstilo), CP (corpo parabasal), FA (flagelo anterior livre), H (hidrogenossomo), MO (membrana ondulante), N (núcleo), V (vacúolo) (Fonte: <http://www.servier.com.br/content/banco-de-imagens>).

2.2 Tricomoníase

2.2.1 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da tricomoníase podem variar e a infecção tradicionalmente era considerada sintomática em mulheres e assintomática em homens, porém este cenário vem se modificando. Atualmente se observa que a parasitose não apresenta sintomas na maioria dos casos, tanto em homens quanto em mulheres, o que aumenta o risco de transmissão (POOLE e McLEELAND, 2013). Quando sintomáticas, mulheres infectadas costumam apresentar prurido, irritação, edema e eritema vaginal, odor e corrimento, e é pouco comum o relato de dor abdominal e disúria. Em raros casos ocorre a presença de *colpitis macularis*, um sinal específico desta parasitose que consiste na presença de área eritematosa na cérvix, com pontos hemorrágicos (LEHKER e ALDERETE, 2000). Sintomas em homens são pouco caracterizados, uma vez que a infecção pode ser transiente e autolimitada (HIRT e SHERRAD, 2015). Os relatos citam ocorrência de uretrite com secreção clara ou mucopurulenta, disúria, leve sensação de prurido ou queimação após relação sexual (PETRIN et al., 1998).

2.2.2 Complicações

O fato de a infecção ser assintomática na maioria dos casos gera preocupação, pois os pacientes afetados não buscam um serviço de saúde e permanecem

infectados por longos períodos e, portanto, transmitindo a infecção. A parasitose pode acarretar graves consequências, como predisposição ao câncer cervical e de próstata, sendo que os parasitos têm efeito citopatogênico sobre células cervicais, induzindo anomalias citológicas (VIKKI et al., 2000; SUTCLIFFE et al., 2012; LIN et al., 2015). Também podem ocorrer sequelas reprodutivas como doença inflamatória pélvica e infertilidade, além de nascimento prematuro e baixo peso de recém-nascidos (GRODSTEIN et al., 1993; CHERPES et al., 2006; SILVER et al., 2014).

Um dos efeitos que a tricomoníase exerce que tem mais consequência para os pacientes e para os serviços de saúde é a atuação do parasito como agente facilitador para a transmissão e aquisição do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (SORVILLO et al., 2001; VAN DER POL et al., 2008, MAVEDZENGE et al., 2010; THURMAN & DONCEL, 2011; KISSINGER e ADAMSKI, 2013). Isso se dá pelo fato da infecção gerar uma resposta imune local que ocasiona inflamação do epitélio, e um recrutamento de células imunes alvo do HIV, que associados à microhemorragia no epitélio viabilizam uma maior carga viral na mucosa genital, aumentando assim a exposição (KISSINGER e ADAMSKI, 2013).

2.2.3 Patogenia

A patogenia do *T. vaginalis* é um processo complexo de múltiplos passos, envolvendo distintos mecanismos de interação com macromoléculas, células e tecidos (ALDERETE et al. 2004) e envolve inicialmente a citoaderência às células epiteliais vaginais através do lipofosfoglicano (TvLPG) (BASTIDA-CORCUERA et al., 2013) e das adesinas (AP120, AP65, AP51, AP33 e AP23) (ALDERETE et al. 1995; ENGBRING e ALDERETE 1998; KUCKNOOR et al. 2005; GARCIA e ALDERETE 2007) (RYAN et al., 2011). Após estabelecido o contato com as células epiteliais vaginais (CEVs), o protozoário modifica sua morfologia de piriforme para ameboide, o que permite um contato maior e mais eficiente com as células (FIGUEROA-ANGULO et al., 2012). Os parasitos rompem a barreira de muco pela secreção de mucinases para solubilizar a mucina (glicoproteína que forma uma barreira física contra a invasão de patógenos) (LEHKER e SWEENEY, 1999), e promove a citólise e fagocitose das CEVs, causando a ruptura da monocamada celular e consequente dano ao tecido epitelial (FIGUEROA-ANGULO et al., 2012).

A tricomoníase pode produzir resposta imune humoral, uma vez que durante infecções sintomáticas é possível identificar a presença de imunoglobulinas no sítio de infecção (YADAV, 2005). No entanto, a infecção não gera imunidade permanente eficaz, portanto podem ocorrer reinfecções, e o organismo do hospedeiro tem a imunidade inata como principal forma de controle da doença. Após o contato com o epitélio e o estabelecimento da ligação do TvLPG, o protozoário desencadeia uma resposta inflamatória com liberação de interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e proteína inflamatória de macrófagos (MIP-3 α) (FICHOROVA, 2009), além de também induzir a produção de óxido nítrico por células imunes, que também atua no combate ao organismo infeccioso (FRASSON et al., 2012). Durante a infecção, o protozoário possui mecanismos de escape da resposta imune: mimetismo molecular pelo revestimento do trofozoíto com moléculas homólogas às do hospedeiro (FIGUEROA-ANGULO et al., 2012), secreção de proteases que degradam imunoglobulinas e a porção C3 do complemento (HERNANDEZ-GUTIERREZ et al., 2004), e variações fenotípicas, que podem estar associadas à presença do simbiote *T. vaginalis* virus (TVVs) (KHOSHANAN e ALDERETE, 1994).

2.2.4 Tratamento

Os 5-nitromidazóis, metronidazol e tinidazol, vêm sendo utilizados no tratamento da tricomoníase desde a década de 1960, e são as únicas opções terapêuticas para a tricomoníase aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA, USA). O metronidazol é o fármaco de escolha, e costuma ser um medicamento acessível, tanto pelo custo quanto pela disponibilidade, mas sua utilização pode ser limitada, tanto por causar variados efeitos adversos quanto por já apresentar falhas no tratamento pela existência de isolados resistentes a este fármaco (VIEIRA et al., 2017).

Dentre os efeitos adversos que já foram descritos para o metronidazol estão náusea, vômito, dor de cabeça, vertigem, diarreia, reação a álcool tipo “dissulfiram” e gosto metálico na boca (CUDMORE et al., 2004). Há relatos de ocorrência de reações alérgicas ao metronidazol e ao tinidazol, que incluem sintomas como urticária, erupção cutânea, prurido, broncoespasmo e febre (PEARLMAN et al., 1996). Carcinogenicidade e teratogenicidade são classicamente atribuídas aos 5-nitromidazóis, mas dados recentes mostram que nunca foi demonstrada de fato

associação de ocorrência de câncer com a utilização de metronidazol em humanos (FALAGAS et al., 1998), e também não foi identificado efeito teratogênico em bebês de mulheres tratadas durante a gravidez (SHEEHY et al., 2015).

O mecanismo de ação do metronidazol e do tinidazol são semelhantes, ambos penetram a membrana do protozoário por difusão passiva até o hidrogenossomo. Na organela o fármaco atua como acceptor de elétrons preferencial, conseqüentemente ocorre sua redução e como produtos intermediários são formados radicais nitro tóxicos que desestabilizam a estrutura do DNA e inibem a replicação, resultando em morte dos parasitos (KULDA, 1999). Diversas enzimas podem doar os elétrons para esta redução, piruvato;ferredozina-oxiredutase (PFOR) e enzima málica são exemplos que estão presentes no hidrogenossomo, embora a enzima tioredoxina oxiredutase também possa exercer essa função (LEITSCH et al., 2009).

2.2.5 Resistência

A ausência de sistema de vigilância para esta infecção indica que assim como o número de pacientes infectados, os dados sobre resistência a fármacos podem estar subestimados. Conforme alertado pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, Atlanta, GA, USA) a tricomoníase é considerada uma infecção parasitária negligenciada (SECOR et al., 2014). Existem diversos dados relativos à ocorrência de isolados resistentes e os números variam muito. Menezes e colaboradores (2016) descrevem que, de acordo com a literatura, estes números ficam entre 2,5% e 9,6%.

O mecanismo de resistência aos fármacos ainda não é completamente elucidado, e isolados com resistência induzida *in vitro* apresentam características bioquímicas e enzimáticas diferentes de isolados clínicos resistentes, o que dificulta a análise dessas características como possíveis mecanismos de resistência (VIEIRA et al., 2017). Sugere-se que a resistência possa estar associada à diminuição da atividade de enzimas envolvidas na redução do metronidazol (YARLETT et al., 1986; KULDA et al., 1993; LEITSCH et al., 2009). *T. vaginalis* também apresenta homólogos de enzimas redutases bacterianas, que estão relacionadas com menor suscetibilidade ao metronidazol em bactérias (PAL et al., 2009), e recentemente foram apresentados dados que sugerem que a enzima flavina redutase 1 também tenha um papel importante no mecanismo de resistência (LEITSCH et al., 2014).

Tendo em vista os graves problemas que a infecção pode causar, com sérias consequências para a saúde pública, e a crescente dificuldade em eliminar o parasito de forma eficaz e segura, a pesquisa de novas alternativas terapêuticas tem buscado nos mais diversos tipos de compostos o potencial para combater *T. vaginalis*, tanto em substâncias naturais quanto sintetizadas. Sabe-se que terpenos, compostos fenólicos e alcaloides têm bom potencial contra o parasito. A existência de compostos ativos com as mais diversas estruturas químicas é um bom indicativo de que são variados os mecanismos de ação, o que é interessante no sentido de evitar a ocorrência de resistência cruzada. O investimento na pesquisa científica é escasso e enquanto não se obtêm novas alternativas terapêuticas, muitas pessoas continuam sofrendo com as consequências desta doença (VIEIRA et al., 2015).

2.3 Chalconas

Uma família de moléculas chamadas chalconas tem mostrado eficiência nas mais diversas aplicações biomédicas, em especial no combate a microrganismos patogênicos. As chalconas são caracterizadas como precursores de flavonoides e isoflavonoides, de cadeia aberta, sendo formadas por dois anéis aromáticos (anéis A e B) espaçados por uma cadeia cetônica α,β -insaturada. Encontradas amplamente em produtos naturais, também vem crescendo a síntese de variadas moléculas desta classe (SAHU et al., 2012).

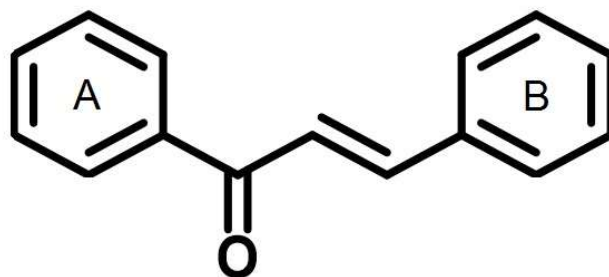


Figura 2 – Estrutura básica da molécula de chalcona (adaptado de MAHAPATRA et al., 2015a)

Diversas atividades biológicas já foram identificadas tanto para chalconas naturais quanto para as moléculas sintetizadas, como atividade antitumoral (MAHAPATRA et al., 2015a), anti-inflamatória (MATEEVA et al., 2015), antioxidante

(POPOOLA et al., 2015), inibidora de monoamino oxidase (MINDERS et al., 2015; MATHEW et al., 2016), síntese de melanina (NIU et al., 2016), inibidora de acetilcolinesterase (SUKUMARAN et al., 2016), anticonvulsivante (NASSAR et al., 2016). Além disso, já foi demonstrada atividade contra diversos patógenos, como helmintos *Brugia malayi* (SASHIDHARA et al., 2014) e *Schistosoma mansoni* (DE CASTRO et al., 2015); *Candida albicans* resistente a fluconazol (WANG et al., 2016); bactérias patogênicas *Mycobacterium tuberculosis* e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (AHMAD et al., 2013; FENG et al., 2014), e também inibição da formação de biofilme bacteriano (KUNTHALERT et al., 2014) e da replicação do HIV (SHARMA et al., 2011) já foram descritas.

A atividade de chalconas vem sendo bastante investigada contra protozoários parasitas, apresentando resultados promissores. Em relação à leishmaniose, os resultados incluem a potente atividade de chalconas *in vitro* e *in vivo* contra *Leishmania donovani* (GUPTA et al., 2014). Também foi observada atividade dessas moléculas contra *L. (Viannia) brasiliensis* (DE MELLO et al., 2013) e contra *L. major* (FOROUMADI et al., 2010) e *L. panamensis* (INSUASTY et al., 2015).

Chalconas apresentam atividade anti-*Plasmodium falciparum* tanto contra cepas suscetíveis quanto resistentes à cloroquina (SHARMA et al., 2014). Isolados resistentes se mostraram suscetíveis a chalconas em concentrações bastante reduzidas (SMIT et al., 2015). Raj e colaboradores (2015) identificaram conjugados de chalcona-cloroquina altamente eficientes contra *P. falciparum* resistente à cloroquina. A atividade antimalárica de chalconas foi demonstrada tanto *in vitro* quando *in vivo* (PANDEY et al., 2016).

Também já existem relatos sobre a atividade de estruturas cumarina-chalcona contra *Trypanosoma cruzi* (VASQUEZ-RODRIGUES et al., 2016) e quinolona-chalconas contra *T. brucei*, (ROUSSAKI et al., 2013), e recentemente o potencial das chalconas contra *Giardia intestinalis* vem sendo investigado (MONTES-AVILA et al., 2009; BAHADUR et al., 2015).

A investigação da atividade de chalconas contra *T. vaginalis* ainda é um campo a ser explorado, vista a mínima existência de dados na literatura. Um estudo de Anthwal e colaboradores (2014) identificou a atividade de híbridos de chalcona-metronidazol contra isolados suscetíveis e resistentes ao metronidazol. As moléculas

de metronidazol ligadas covalentemente ao grupamento chalcona se mostraram promissoras, apresentando-se até quatro vezes mais potentes do que o metronidazol, bem como tendo baixa citotoxicidade contra células humanas de epitélio vaginal. Também já foi demonstrada a atividade contra *T. vaginalis* de organosilatrânicos aliados a chalconil tiazoles (SINGH et al., 2016).

O potencial de utilizações biomédicas das chalconas é crescente, em especial no que se refere à utilização como agente antibiótico. Considerando esse potencial e a crescente dificuldade nos tratamentos atualmente existentes para tricomoníase, fica evidente a necessidade de investigar a possível utilização destes compostos como agentes tricomonocidas. A busca por novos alvos terapêuticos e o entendimento dos mecanismos de ação de moléculas com atividade anti-*T. vaginalis* são promissores campos de pesquisa.

3 OBJETIVOS

Considerando que a tricomoníase vem se apresentando como um grave problema de saúde pública, e o tratamento para esta doença vem se tornando cada vez mais desafiador, o objetivo geral deste estudo é investigar o potencial anti-*Trichomonas vaginalis* de diferentes moléculas derivadas de chalconas.

Objetivos específicos

- a) Avaliar o potencial anti-*T. vaginalis in vitro* de chalconas sintéticas;
- b) Avaliar a seletividade das moléculas estudadas para o patógeno;
- c) Investigar os mecanismos envolvidos na morte celular dos parasitos tratados
- d) Investigar os efeitos do tratamento dos trofozoítos com as chalconas ativas em neutrófilos humanos.

O texto completo do Capítulo I, compreendido entre as páginas 33 e 60 da versão completa desta dissertação, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico, intitulado *Synthesis and anti-Trichomonas vaginalis activity of chalcones*, de autoria de Márcia Rodrigues Trein, Lígia Rodrigues e Oliveira, Graziela Vargas Rigo, Danielle da Silva Trentin, Alexandre José Macedo, Luis Octávio Regasini, Tiana Tasca. O estudo consiste na investigação da atividade de chalconas sintetizadas frente a *T. vaginalis*, bem como o efeito dos compostos mais ativos nos trofozoítos, avaliação de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, e possível efeito na resposta de células imunes ao protozoário. Os resultados demonstraram que os compostos mais ativos foram uma hidroxichalcona e uma aminochalcona com valores de IC₅₀ de 27,5 e 29 µM, respectivamente. Ambos compostos mais ativos apresentaram citotoxicidade frente a células epiteliais vaginais humanas, porém o modelo de *Galleria mellonella*, revelou ausência de toxicidade *in vivo*, pois não houve perda significativa de viabilidade das larvas. Os compostos não demonstraram atividade hemolítica frente a eritrócitos humanos. O tratamento dos trofozoítos de *T. vaginalis* com os compostos não induziu acúmulo de espécies reativas de oxigênio, nem alteração significativa na expressão gênica dos genes da piruvato:ferredoxina oxidoreductase e da β-tubulina. Trofozoítos previamente tratados com os compostos mais ativos, quando coincubados com neutrófilos humanos, induziram significativamente mais acúmulo de espécies reativas de oxigênio nestas células quando comparados a trofozoítos não tratados.

Chalconas têm mostrado eficiência nas mais diversas aplicações biomédicas, em especial no combate a microrganismos patogênicos. Diversas atividades biológicas já foram identificadas tanto para chalconas naturais quanto para as moléculas sintetizadas, e apresentam resultados promissores inclusive para protozoários parasitas. A investigação da atividade de chalconas contra *Trichomonas vaginalis* ainda é um campo a ser explorado, visto a mínima existência de dados na literatura.

Neste estudo foi testado o potencial anti-*T. vaginalis* de doze compostos. A chalcona T1 não apresentou atividade em 100 µM, e chalconas com um grupamento hidroxila no anel A mostraram atividade diferenciada quando comparada com a dos compostos com a hidroxila no anel B. O fato do composto T4 ter apresentado o menor valor de IC₅₀ indica que a posição 4' do anel A é essencial para uma potente atividade antiparasitária, pois a chalcona T2, com o radical na posição 2' do mesmo anel apresentou um valor de IC₅₀ maior. A ciclização das moléculas resultou em redução da atividade anti-*T. vaginalis*. As aminochalconas também mostraram atividade variada de acordo com a posição do radical, e a mais ativa foi J1, que possui o radical na posição 3' do anel A. Os dois compostos que apresentaram menores valores de IC₅₀ foram, portanto, a 4'-hidroxichalcona (T4) e a 3'-aminochalcona (J1), então foram selecionados para os demais experimentos deste estudo.

A partir da avaliação de citotoxicidade é possível calcular o Índice de Seletividade de um composto, que indica que a toxicidade dele é seletiva para o agente infeccioso e não para o hospedeiro. Grogl e colaboradores (2013) definem que para uma molécula ser considerada seletiva, o IS deve ser maior do que 5,0. Já Nava-Zuazo e colaboradores (2010) propõem que um IS maior do que 10 indica que a atividade do composto não é causada pela sua citotoxicidade. Este índice é calculado pela razão entre o CC₅₀ e o IC₅₀, ou seja, compara o potencial citotóxico e o potencial parasiticida. Portanto, um índice abaixo de 1,0 significa que a concentração suficiente para eliminar os parasitos é maior do que a concentração que causaria dano significativo às células do hospedeiro. A partir disso pode se afirmar que um índice de seletividade deve ser, no mínimo, igual ou maior do que 1,0, o que indicaria que a toxicidade do composto às células do hospedeiro é menor do que sua toxicidade ao patógeno.

A citotoxicidade destas moléculas foi testada utilizando-se a linhagem celular HMVII, constituída por células de melanoma maligno de epitélio vaginal, e os dois compostos apresentaram citotoxicidade contra este tipo celular. Existem diversos estudos que avaliam o potencial antitumoral de chalconas (MAHAPATRA et al., 2015a), inclusive especificamente hidroxichalconas (NEVES et al., 2012), portanto este resultado pode estar associado ao potencial de eliminação de células tumorais que esta família de moléculas apresenta.

Em busca de um dado sobre a toxicidade dos compostos em que esta não pudesse estar associada à malignidade das células utilizadas, e também com objetivo de obter uma informação em um modelo mais complexo do que a cultura de células, foi realizado o experimento de avaliação da toxicidade em larvas do inseto lepidóptero *Galleria mellonella*. Este modelo já é aceito na comunidade científica para avaliação de infecção e potenciais agentes antimicrobianos para fungos e bactérias, e também para avaliação de toxicidade de compostos (KAVANAGH e FALLON, 2010, DESBOIS e COOTE, 2011). Para este experimento, as larvas foram injetadas com os compostos e tiveram sua viabilidade avaliada por 120 horas, e foi demonstrado que os compostos não apresentaram toxicidade para estes organismos.

A busca por modelos *in vitro* ideais tem sido um grande avanço, pois a utilização de animais costuma gerar uma discussão ética bastante grande, e tem sido cada vez mais questionado se o custo dessas vidas é compensado pelo benefício da pesquisa. Os direitos dos animais são uma questão cada vez mais discutida e considerada, tanto na academia quanto nos meios de comunicação, e por este motivo a aplicação de estudos em modelos animais acaba envolvendo uma série de procedimentos burocráticos que dificultam e até inviabilizam o desenvolvimento de pesquisas na área da saúde. Porém, apesar de todos os avanços que existem em desenvolver modelos *in vitro* para a pesquisa científica, ainda é difícil mimetizar de forma precisa a complexidade de um organismo completo, e a pesquisa básica acaba ficando com uma carência de fonte de informação sobre seus objetos de estudo. Para suprir esta necessidade, tem sido cada vez mais aceita a utilização de invertebrados para este fim, como a aqui utilizada *Galleria mellonella*, *Drosophila melanogaster* (LIONAKIS e KONTOYIANNIS, 2005) e *Caenorhabditis elegans* (KURTZ e EWBANK, 2003).

Passou-se para a investigação dos possíveis mecanismos pelos quais os compostos levam os parasitos à morte. A investigação do mecanismo de ação é

importante na busca por novas alternativas terapêuticas, pois é interessante que este seja diferente do mecanismo dos fármacos atualmente aceitos para a terapia, tendo em vista que um mecanismo semelhante poderia gerar uma resistência cruzada.

Primeiramente realizou-se o ensaio de atividade hemolítica dos compostos, que verifica a capacidade destes de romper membranas. Esta característica pode ser considerada um mecanismo de morte primário, uma vez que a integridade da membrana é essencial para a manutenção da estrutura celular, portanto imprescindível para a sobrevivência do trofozoíto. Neste experimento, eritrócitos humanos foram expostos às chalconas, e a taxa de hemólise foi verificada em 1 e 24 horas. Em ambos os tempos não foi verificada uma diferença significativa na taxa de hemólise dos eritrócitos expostos aos compostos, quando comparada à do controle. Este resultado indica que as chalconas testadas não afetam a integridade da membrana e a morte dos parasitos provavelmente não ocorre por este mecanismo. O ensaio de atividade hemolítica também fornece um indício de que existe compatibilidade dos compostos com os eritrócitos humanos (SCOPEL et al., 2013), em contraste com o efeito citotóxico apresentado no ensaio com células neoplásicas epiteliais vaginais.

Dando continuidade à investigação dos possíveis mecanismos de indução de morte que as moléculas exercem sobre os parasitos, foi realizada a verificação da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelos trofozoítos de *T. vaginalis*, quando tratados com os compostos. EROs são tóxicas para células vivas, e sua geração é, portanto, um possível mecanismo de indução de morte de um patógeno. Os fármacos metronidazol e tinidazol penetram no citoplasma das células parasitárias por difusão passiva em sua forma inativa. A ativação ocorre pela redução do grupamento nitro pela atividade de enzimas de vias metabólicas do parasito (KULDA, 1999). À semelhança da toxicidade exercida pelos radicais nitro produzidos pela ativação do metronidazol, EROs podem desestabilizar a estrutura do DNA e inibir a replicação, resultando em morte dos parasitos. O resultado obtido neste experimento indica que os compostos não induzem a geração de EROs na célula parasitária, indicando que este também não é o mecanismo pelo qual as moléculas levam os parasitos à morte. Também é um dado indicativo de que os compostos atuam, provavelmente, em vias diferentes da dos fármacos atualmente utilizados, o que é uma característica positiva na investigação de novas alternativas terapêuticas.

Outro aspecto investigado neste trabalho foi a possível interferência das chalconas estudadas nos processos envolvidos na resposta imune à tricomoníase. A principal célula imune recrutada para o sítio de infecção são os neutrófilos (ESCARIO et al., 2010), portanto constituem um importante elemento na resposta imune a esta parasitose. A acumulação de EROs nestas células constitui um dos mecanismos pelos quais ela efetiva a resposta imune e tem um importante papel na indução de apoptose (SONG et al., 2008), e, portanto, na resposta imune, e o contato com trofozoítos de *T. vaginalis* naturalmente induzem a produção de EROs por neutrófilos. Neste experimento foi demonstrado que os trofozoítos tratados com os compostos, quando cocultivados com neutrófilos humanos, induzem um aumento na produção de EROs. Isto indica que essas moléculas podem compor um mecanismo coadjuvante no combate à infecção, uma vez que os parasitos tratados provocam uma potencialização deste importante aspecto que compõe a resposta imune mediada por neutrófilos.

Dentre os possíveis mecanismos de resistência ao metronidazol está a redução da expressão de enzimas responsáveis pela ativação do fármaco no hidrogenossomo, como a PFOR (YARLETT et al., 1986). Como parte da investigação sobre os mecanismos de morte induzida pelas chalconas, foi avaliado o possível efeito dos compostos sobre a expressão gênica desta enzima. Os resultados obtidos demonstram que não houve modificação significativa da expressão deste gene nos trofozoítos tratados quando comparados ao grupo controle.

O potencial antitumoral das chalconas é amplamente explorado, e um dos alvos destas moléculas nas células tumorais é a polimerização da tubulina (MIRZAEI e EMAMI, 2016). Além da importância dos microtúbulos na manutenção da morfologia, organização, mobilidade e divisão celular, nosso grupo observou o provável envolvimento da β -tubulina na citoaderência de *T. vaginalis* (dados não publicados), que é um processo essencial na sua patogênese (ALDERETE e GARZA, 1985). Considerando a importância da β -tubulina na sobrevivência e patogenicidade do parasito, a influência das chalconas na expressão gênica desta proteína foi avaliada, e os resultados indicam que não há diferença significativa nos os trofozoítos tratados, portanto este provavelmente não representa um alvo terapêutico destas moléculas em *T. vaginalis*.

O potencial biocida de chalconas tem sido amplamente investigado, principalmente como molécula base ou ligante para moléculas com atividade conhecida contra os organismos alvo, ou compostos mais complexos. Entretanto, a investigação de chalconas com ligantes mais simples e somente em uma posição dos anéis benzênicos como substância antimicrobiana é menos comum. O composto J1, que é uma 3'-aminochalcona foi utilizado por Tomar e colaboradores (2010) como precursor para compostos contendo acridinil que apresentaram atividade antimalárica, mas não foram encontrados dados sobre aminochalconas sendo aplicadas diretamente como moléculas biocidas. Em relação a hidroxichalconas, classificação à qual pertence o composto T4 utilizado no presente estudo (4'-hidroxichalcona), a molécula com a hidroxila na posição 3 do anel B tem atividade anti-biofilme não bactericida (KUNTHALERT et al., 2014). Para hidroxichalconas já foram demonstradas atividades contra protozoários (BORSARI et al., 2017), e biofilme cariogênico (NIJAMPATNAM et al., 2016), além de atividade contra MRSA (LEE et al., 2009; TRAN et al., 2012).

Alguns possíveis alvos terapêuticos de chalconas em protozoários patogênicos, *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp. e *Plasmodium falciparum*, já foram propostos. Mahaptra e colaboradores (2015b) apresentaram dados de diversos trabalhos que propõem estes alvos, como os específicos: cruzaína, tripanopaína-TB, hemozoína, hemoglobina II, falcipaína, Pfmrk; enzimas do metabolismo energético: GAPDH, fumarato redutase, lactato desidrogenase, succinato desidrogenase; e a enzima topoisomerase II.

Em um estudo de Zhai e colaboradores (1999), a molécula 4'-hidroxichalcona (T4) mostrou atividade contra promastigotas de *L. major*, com IC₅₀ de 4 µM, e pela observação da ação de outras hidroxichalconas na atividade de mitocôndrias, bem como modificações na sua ultraestrutura, os autores sugerem que as moléculas exerçam sua atividade na função mitocondrial.

O protozoário *T. vaginalis* é amitocondriado e tem hidrogenossomos como organelas responsáveis pelo metabolismo energético. Alguns processos enzimáticos deste metabolismo são semelhantes a organismos com mitocôndrias, e envolvem enzimas homólogas. Sabendo-se que moléculas baseadas em chalconas potencialmente têm atividade sobre essas enzimas em protozoários patogênicos, a

investigação destas como possíveis alvos de chalconas em *T. vaginalis* pode ser promissora.

Outro aspecto relacionado às chalconas como potencial fármaco para tratamento da tricomoníase é a possibilidade de sintetizar moléculas com diferentes ligantes às moléculas investigadas no presente estudo. Tendo em vista o potencial já apresentado contra o parasito e mecanismo adjuvante da resposta imune, se associados a um ligante com também potente atividade, ou que possa reduzir a toxicidade do composto, pode-se gerar uma molécula mais seletiva e muito potente contra *T. vaginalis*.

A busca por novas alternativas terapêuticas para a tricomoníase é urgente. A infecção acomete cada vez mais pacientes, e em consequência o custo para os sistemas de saúde também. Os fármacos atualmente empregados apresentam problemas, pois têm diversos efeitos adversos e crescente ocorrência de resistência. O potencial farmacológico das chalconas é bastante vasto, e as crescentes investigações têm demonstrado cada vez mais aplicações biomédicas para estas moléculas, incluindo atividades biocidas contra diversos organismos. Neste estudo foi ampliado o conhecimento sobre o potencial das chalconas sobre microrganismos patogênicos, bem como foram explorados os efeitos biológicos de algumas moléculas no protozoário *T. vaginalis*.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo pôde-se obter as seguintes conclusões acerca da atividade *in vitro* de chalconas sintetizadas sobre o patógeno *Trichomonas vaginalis*:

- a) Chalconas sintetizadas têm potencial atividade contra trofozoítos de *T. vaginalis in vitro*, com importantes diferenças na atividade associadas com as diferentes posições dos radicais nas moléculas;
- b) J1 (3'-aminochalcona) e T4 (4'-hidroxichalcona) apresentam valores de IC₅₀ correspondentes a potente atividade contra os trofozoítos;
- c) Ambos os compostos apresentaram citotoxicidade às células neoplásicas epiteliais vaginais, mas não foram tóxicos contra o modelo *in vivo* de *Galleria mellonella*;
- d) Os compostos não induziram a produção de EROs nos trofozoítos, indicando que supostamente não afetam as mesmas vias que provocam a morte do parasito pelos fármacos atualmente utilizados;
- e) Os dois compostos apresentaram um provável efeito adjuvante pelo aumento da resposta inflamatória de neutrófilos com aumento da produção de EROs.

Considerando o potencial tricomocida de chalconas sintetizadas demonstrado no presente estudo, sugerem-se as seguintes perspectivas:

- a) Investigar outros possíveis mecanismos de morte celular, como possíveis efeitos no metabolismo dos hidrogenossomos;
- b) Realizar modificações na estrutura das moléculas, com a possibilidade de adicionar ligantes possam potencializar a atividade antiparasitária.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, I.; THAKUR, J.P.; CHANDA, D.; SAIKIA, D.; KHAN, F.; DIXIT, S.; KUMAR, A.; KONWAR, R.; NEGI, A. S.; GUPTA, A. Syntheses of lipophilic chalcones and their conformationally restricted analogues as antitubercular agents. *Bioorg Med Chem Lett*, v.23, n.5, p.1322-5, 2013.
- ALDERETE, J. F.; ARROYO, R.; LEHKER, M. W. Analysis for adhesins and specific cytoadhesion of *Trichomonas vaginalis*. *Methods in Enzymology*, v. 253, p. 407-414, 1995.
- ALDERETE, J. F.; GARZA, G. E. Specific nature of *Trichomonas vaginalis* parasitism of host cell surfaces. *Infection and immunity*, v. 50, n. 3, p. 701-708, 1985.
- ALDERETE, J. F.; NGUYEN, J.; MUNDODI, V.; LEHKER, M. W. Heme-iron increases levels of AP65-mediated adherence by *Trichomonas vaginalis*. *Microbial pathogenesis*, v. 36, n. 5, p. 263-271, 2004.
- ANTHWAL, A.; RAJESH, C.; RAWAT, M. S. M.; KUSHWAHA, B.; MAIKHURI, J. P.; SHARMA, V. L.; GUPTA, G.; RAWAT, D. S. Novel metronidazole–chalcone conjugates with potential to counter drug resistance in *Trichomonas vaginalis*. *Eur J Med Chem*, v.79, p.89-94, 2014.
- BAHADUR, V.; MASTRONICOLA, D.; SINGHT, A. K.; TIWARI, H. K.; PUCILLO, L. P.; SARTI, P.; SINGH, B. K.; GIUFFRÈ, A. Antigiardial activity of novel triazolyl-quinolone-based chalcone derivatives: when oxygen makes the difference. *Front Microbiol*. v. 6, 2015.
- BASTIDA-CORCUERA, F. D.; SINGH, B. N.; GRAY, G. C.; STAMPER, P. D.; DAVULURI, M.; SCHLANGEN, K.; CORBEIL, R. R.; CORBEIL, L. B. Antibodies to *Trichomonas vaginalis* surface glycolipid. *Sexually transmitted infections*, v. 89, n. 6, p. 467-472, 2013.
- BENCHIMOL, M. Hydrogenosomes under Microscopy. *Tissue cell*, v.41, p. 151-168, 2009.
- BORSARI, C.; SANTAREM, N.; TORRADO, J.; OLÍAS, A. I.; CORRAL, M. J.; BAPTISTA, C.; GUL, S.; WOLF, M.; KUZIKOV, M.; ELLINGER, B.; WITT, G.; GRIBBON, P.; REINSHAGEN, J.; LINCIANO, P.; TAIT., A.; COSTANTINO, L.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; MORAES, C. B.; BRUNO DOS SANTOS, P.; ALCÂNTARA, L. M.; FRANCO, C. H.; BERTOLACINI, C. D.; FONTANA, V.; TEJERA NEVADO, P.; CLOS, J.; ALUNDA, J. M.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; FERRARI, S.; COSTI, M. P. Methoxylated 2'-hydroxychalcones as antiparasitic hit compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 126, p. 1129-1135, 2017.
- BRASIL, Ministério da Saúde. DST no Brasil, disponível em <<http://www.aids.gov.br/pagina/dst-no-brasil>>, em 10/02/2017.
- CHERPES, T. L.; WIESENFELD, H. C.; MELAN, M. A.; KANT, J. A.; COSENTINO, L. A.; MEYN, L. A.; HILLIER, S. L. The associations between pelvic inflammatory disease, *Trichomonas vaginalis* infection, and positive *Herpes simplex virus* type 2 serology. *Sex Transm Dis*, v.33, n.12, p.747-52, 2006.

- CUDMORE, S. L.; DELGATY, K. L.; HAYWARD-MCCLELLAND, S. F.; PETRIN, D. P.; GARBER, G. E. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clinical microbiology reviews*, v. 17, n. 4, p. 783-793, 2004.
- DE CASTRO, C. C.; COSTA, P. S.; LAKTIN, G. T.; DE CARVALHO, P. H.; GERALDO, R. B.; DE MORAES, J.; PINTO, P. L.; COURI, M. R.; PINTO, P. D. E. F.; DA SILVA FILHO, A. A. Cardamonin, a schistosomicidal chalcone from *Piper aduncum* L.(Piperaceae) that inhibits *Schistosoma mansoni* ATP diphosphohydrolase. *Phytomedicine*, v. 22, n. 10, p. 921-928, 2015.
- DE MELLO, T. F. P.; BITENCOURT, H. R.; PEDROSO, R. B.; ARISTIDES, S. M. A.; LONARDONI, M. V. C.; SILVEIRA, T. G. V. Leishmanicidal activity of synthetic chalcones in *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Exp Parasitol.*v.136, p.27-34. 2013.
- DESBOIS, A. P.; COOTE, P. J. Wax moth larva (*Galleria mellonella*): an *in vivo* model for assessing the efficacy of antistaphylococcal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, p. dkr198, 2011.
- ENGBRING, J. A.; ALDERETE, J. F. Characterization of *Trichomonas vaginalis* AP33 adhesin and cell surface interactive domains. *Microbiology*, v. 144, n. 11, p. 3011-3018, 1998.
- ESCARIO, A.; GÓMEZ BARRIO, A.; SIMONS DIEZ, B.; ESCARIO, J. A. Immunohistochemical study of the vaginal inflammatory response in experimental trichomoniasis. *Acta tropica*, v. 114, n. 1, p. 22-30, 2010.
- FALAGAS, M. E.; WALKER, A. M.; JICK, H.; RUTHAZER, R.; GRIFFITH, J.; SNYDMAN, D. R. Late incidence of cancer after metronidazole use: a matched metronidazole user/nonuser study. *Clinical infectious diseases*, v. 26, n. 2, p. 384-388, 1998.
- FENG, L.; MADDOX, M. M.; ALAN, M. Z.; TSUTSUMI, L. S.; NARULA, G.; BRUHN, D. F.; WU, X.; SANDHAUS, S.; LEE, R. B.; SIMMONS, C. J.; TSE-DINH, Y.; HURDLE, J. G.; LEE, R. E.; SUN, D. Synthesis, Structure–Activity Relationship Studies, and Antibacterial Evaluation of 4-Chromanones and Chalcones, as Well as Olympicin A and Derivatives. *J Med Chem.* v.57, n.20, p. 8398-420, 2014.
- FICHOROVA, R. N. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *Journal of reproductive immunology*, v. 83, n. 1, p. 185-189, 2009.
- FIGUEROA-ÂNGULO, E. E.; RENDON-GANDARILLA, F. J.; PUENTE-RIVERA, J.; CALLA-CHOQUE, J. S.; CARDENAS-GUERRA, R. E.; ORTEGA-LOPEZ, J.; QUINTAS-GRANADOS, L. I.; ALVAREZ-SANCHEZ, M. E.; ARROYO, R. The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. *Microbes and infection*, v. 14, n. 15, p. 1411-1427, 2012
- FOROUMADI, A.; EMAMI, S.; SORKHI, M.; NAKHJIRI, M.; NAZARIAN, Z.; HEYDARI, S.; ARDESTANI, S. K.; POORRAJAB, F.; SHAFIEE, A. Chromene-Based Synthetic Chalcones as Potent Antileishmanial Agents: Synthesis and Biological Activity. *Chem Biol Drug Des.* v.75, p.590-4, 2010.

- FRASSON, A. P.; DOS SANTOS, O.; DUARTE, M.; DA SILVA TRENTIN, D.; GIORDANI, R. B.; DA SILVA, A. G.; DA SILVA, M. V.; TASCA, T.; MACEDO, A. J. First report of anti-*Trichomonas vaginalis* activity of the medicinal plant *Polygala decumbens* from the Brazilian semi-arid region, Caatinga. *Parasitology Research*, v. 110, p. 2581-2587, 2012.
- GARCIA, A. F.; ALDERETE, J. Characterization of the *Trichomonas vaginalis* surface-associated AP65 and binding domain interacting with trichomonads and host cells. *BMC microbiology*, v. 7, n. 1, p. 116, 2007.
- GRODSTEIN, F.; GOLDMAN, M. B.; CRAMER, D. W. Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol*, v.137, n.5, p.577-84, 1993.
- GROGL, M.; HICKMAN, M.; ELLIS, W.; HUDSON, T.; LAZO, J. S.; SHARLOW, E. R.; JOHNSON, J.; BERMAN, J., SCIOTTI, R. J. Drug discovery algorithm for cutaneous leishmaniasis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 88, n. 2, p. 216-221, 2013.
- GUPTA, S.; SHIVAHARE, R.; KORTHIKUNTA, V.; SINGH, R.; GUPTA, S.; TADIGOPPULA, M. Synthesis and biological evaluation of chalcones as potential antileishmanial agents. *Eur J Med Chem*. v.81, p.359-66, 2014.
- HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; AVILA-GONZALEZ, L.; ORTEGA-LOPEZ, J.; CRUZ-TALONIA, F.; GOMEZ-GUTIERREZ, G.; ARROYO, R. *Trichomonas vaginalis*: characterization of a 39 kDa cysteine proteinase found in patient vaginal secretions. *Experimental Parasitology*, v. 107, p. 125-135, 2004.
- HIRT, R. P., SHERRARD, J. *Trichomonas vaginalis* origins, molecular pathobiology and clinical considerations. *Current opinion in infectious diseases*, v. 28, n. 1, p. 72-79, 2015.
- INSUASTY, B.; RAMIREZ, J.; BECERRA, D.; ECHEVERRY, C.; QUIROGA, J.; ABONIA, R.; ROBLEDO, S. M.; VELEZ, I. D.; UPEGUI, Y.; MUÑOZ, J. A.; OSPINA, V.; NOGUERAS, M.; COBO, J. An efficient synthesis of new caffeine-based chalcones, pyrazolines and pyrazolo[3,4-b][1,4]diazepines as potential antimalarial, antitrypanosomal and antileishmanial agent. *Eur J Med Chem*. v.93, p.401-13, 2015.
- KAVANAGH, K.; FALLON, J. P. *Galleria mellonella* larvae as models for studying fungal virulence. *Fungal Biology*, v. 24, p. 79-83, 2010.
- KISSINGER, P.; ADAMSKI, A. Trichomoniasis and HIV interactions: a review. *Sexually Transmitted Infections*, v.89, n.6, p.426-433, 2013.
- KHOSHANAN, A.; ALDERETE, J. F. *Trichomonas vaginalis* with a double-stranded RNA virus has upregulated levels of phenotypically variable immunogen mRNA. *Journal of virology*, v. 68, n. 6, p. 4035-4038, 1994.

- KUCKNOOR, A. S.; MUNDODI, V.; ALDERETE, J. F. Adherence to human vaginal epithelial cells signals for increased expression of *Trichomonas vaginalis* genes. *Infection and Immunity*, v. 73, p. 6472–6478, 2005.
- KULDA, J. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *International Journal for Parasitology*, v.29, p.199-212, 1999.
- KULDA, J.; TACHEZY, J.; CERKASOVOVÁ, A. *In vitro* induced anaerobic resistance to metronidazole in *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 40, n. 3, p. 262-269, 1993.
- KUNTHALERT, D.; BAOTHONG, S.; KHETKAM, P.; CHOKCHASIRI, S.; SUKSAMRARN, A. A chalcone with potent inhibiting activity against biofilm formation by nontypeable *Haemophilus influenza*. *Microbiol Immunol.* v.58, p.581-9, 2014.
- KURZ, C. L.; EWBANK, J. J. *Caenorhabditis elegans*: an emerging genetic model for the study of innate immunity. *Nature Reviews Genetics*, v. 4, n. 5, p. 380-390, 2003.
- LEE, J. Y.; JEONG, K. W.; SHIN, S.; LEE, J. U.; KIM, Y. Antimicrobial natural products as β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 17, n. 15, p. 5408-5413, 2009.
- LEHKER, M. W.; SWEENEY, D. Trichomonad invasion of the mucous layer requires adhesins, mucinases, and motility. *Sexually Transmitted Infections*, v. 75, p. 231-238, 1999.
- LEHKER, M. W.; ALDERETE, J. F. Biology of trichomonosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 13, p. 37-45, 2000.
- LEITSCH, D.; JANSSEN, B. D.; KOLARICH, D.; JOHNSON, P. J.; DUCHENE, M. *Trichomonas vaginalis* flavin reductase 1 and its role in metronidazole resistance. *Molecular microbiology*, v. 91, n. 1, p. 198-208, 2014.
- LEITSCH, D.; KOLARICH, D.; BINDER, M.; STADLMANN, J.; ALTMANN, F.; DUCHENE, M. *Trichomonas vaginalis*: metronidazole and other nitroimidazole drugs are reduced by the flavin enzyme thioredoxin reductase and disrupt the cellular redox system. Implications for nitroimidazole toxicity and resistance. *Molecular microbiology*, v. 72, n. 2, p. 518-536, 2009.
- LIN, W.; CHANG, W.; CHANG, T.; SHIN, J. The Pathogenesis of Human Cervical Epithelium Cells Induced by Interacting with *Trichomonas vaginalis*. *PLoS ONE*. v.10, n.4, 2015.
- LIONAKIS, M. S.; KONTOYIANNIS, D. P. Fruit flies as a minihost model for studying drug activity and virulence in *Aspergillus*. *Medical mycology*, v. 43, n. sup1, p. 111-114, 2005.
- MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry*, v. 98, p. 69-114, 2015a.

- MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry*, v. 101, p. 496-524, 2015b.
- MATEEVA, N.; GANGAPURAM, M.; MAZZIO, E.; EYUNNI, S.; SOLIMAN, K. F. A.; REDDA, K. K. Biological evaluation of synthetic chalcone and flavone derivatives as anti-inflammatory agents. *Med Chem Res.* v.24, n.4, p.1672-80, 2015.
- MATHEW, B.; HARIDAS, A.; SURESH, J.; MATHEW, G. E.; UÇAR, G.; JAYAPRAKASH, V. Monoamine Oxidase Inhibitory Action of Chalcones: A Mini Review. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry.* v. 16, n. 2, p. 120-136, 2016.
- MAVEDZENGE, S. N.; VAN DER POL, B.; CHENG, H.; MONTGOMERY, E. T.; BLANCHARD, K.; BRUYN, G.; RAMJEE, G.; VAN DER STRATEN, A. Epidemiological Synergy of *Trichomonas vaginalis* and HIV in Zimbabwean and South African Women. *Sex Transm Dis.* v.37, n.7, p.460-6, 2010.
- MENEZES, C. B.; FRASSON, A. P.; TASCA, T. Trichomoniasis—are we giving the deserved attention to the most common non-viral sexually transmitted disease worldwide?. *Microbial Cell*, v. 3, n. 9, p. 404-419, 2016.
- MINDERS, C.; PETZER, J. P.; PETZER, A.; LOURENS, A. C. Monoamine oxidase inhibitory activities of heterocyclic chalcones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, v. 25, n. 22, p. 5270-5276, 2015.
- MIRZAEI, H.; EMAMI, S. Recent advances of cytotoxic chalconoids targeting tubulin polymerization: Synthesis and biological activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 121, p. 610-639, 2016.
- MONTES-AVILA, J.; DÍAZ-CAMACHO, S. P.; SICAIROS-FÉLIX, J.; DELGADO-VARGAS, F.; RIVERO, I. A. Solution-phase parallel synthesis of substituted chalcones and their antiparasitary activity against *Giardia lamblia*. *Bioorg Med Chem.* v.17, n.18, p.6780-5, 2009.
- NASSAR, E. M.; ABDELRAZEK, F. M.; AYYAD, R. R.; EL-FARARGY, A. F. Synthesis and Some Reactions of 1-aryl-4-acetyl-5-methyl-1, 2, 3-triazole Derivatives with Anticonvulsant Activity. *Mini reviews in medicinal chemistry*, v. 16, n. 11, p. 926-936, 2016.
- NAVA-ZUAZO, C.; ESTRADA-SOTO, S.; GUERRERO-ALVAREZ, J.; LEÓN-RIVERA, I.; MOLINA-SALINAS, G. M.; SAID-FERNÁNDEZ, S.; CHAN-BACAB, M. J.; CEDILLO-RIVERA, R.; MOO-PUC, R.; MIRÓN-LÓPEZ, G.; NAVARRETE-VAZQUEZ, G. Design, synthesis, and *in vitro* antiprotozoal, antimycobacterial activities of N-{2-[(7-chloroquinolin-4-yl) amino] ethyl} ureas. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 18, n. 17, p. 6398-6403, 2010.
- NEVES, M. P.; CRAVO, S.; LIMA, R. T.; VASCONCELOS, M. H.; NASCIMENTO, M. S.; SILVA, A. M.; PINTO, M.; CIDADE, H.; CORRÊA, A. G. Solid-phase synthesis of 2'-hydroxychalcones. Effects on cell growth inhibition, cell cycle and apoptosis

of human tumor cell lines. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 20, n. 1, p. 25-33, 2012.

NIJAMPATNAM, B.; CASALS, L.; ZHENG, R.; WU, H.; VELU, S. E. Hydroxychalcone inhibitors of *Streptococcus mutans* glucosyl transferases and biofilms as potential anticaries agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 26, n. 15, p. 3508-3513, 2016.

NIU, C.; YIN, L.; NIE, L. F.; DOU, J.; ZHAO, J. Y.; LI, G.; AISA, H. A. Synthesis and bioactivity of novel isoxazole chalcone derivatives on tyrosinase and melanin synthesis in murine B16 cells for the treatment of vitiligo. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 24, n. 21, p. 5440-5448, 2016.

PAL, D.; BANERJEE, S.; CUI, J.; SCHWARTZ, A.; GHOSH, S., K.; SAMUELSON, J. Giardia, Entamoeba, and Trichomonas enzymes activate metronidazole (nitroreductases) and inactivate metronidazole (nitroimidazole reductases). *Antimicrob Agents Chemother*, v. 53, n. 2, p. 458-464, 2009.

PANDEY, A. K.; SHARMA, S.; PANDEY, M.; ALAM, M. M.; SHAQUIQUZZAMAN, M.; AKHTER, M. 4, 5-Dihydrooxazole-pyrazoline hybrids: Synthesis and their evaluation as potential antimalarial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 123, p. 476-486, 2016.

PEARLMAN, M. D.; YASHAR, C.; ERNST, S.; SOLOMON, W. An incremental dosing protocol for women with severe vaginal trichomoniasis and adverse reactions to metronidazole. *American journal of obstetrics and gynecology*, v. 174, n. 3, p. 934-936, 1996.

PEREIRA-NEVES, A.; RIBERIO, K. C.; BENCHIMOL, M. Pseudocysts in trichomonads - new insights. *Protist*, v.154, p. 313-329, 2003.

PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.11, n.2, p.300-317, 1998.

POOLE, D. N.; MCCLELLAND, R. S. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. *Sexually transmitted infections*, v. 89, n. 6, p. 418-422, 2013.

POPOOLA, O. K.; MARNEWICK, J. L.; RAUTENBACH, F.; AMEER, F.; IWUOHA, E. I.; HUSSEIN, A. A.; Inhibition of Oxidative Stress and Skin Aging-Related Enzymes by Prenylated Chalcones and Other Flavonoids from *Helichrysum teretifolium*. *Molecules*. v.20, n.4, p.7143-55, 2015.

RAJ, R.; SAINI, A.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; KUMAR, V. Synthesis and *in vitro* antiplasmodial evaluation of 7- chloroquinoline-chalcone and 7- chloroquinoline-ferrocenylchalcone conjugates. *Eur J Med Chem*. v.95, p.230-9, 2015.

ROUSSAKI, M.; HALL, B.; LIMA, S. C.; SILVA, A. C.; WILKINSON, S.; DETSI, A. Synthesis and anti-parasitic activity of a novel quinolinone-chalcone series. *Bioorg Med Chem Lett*. v.23, n.23, p.6436-41, 2013.

- RYAN, C. M.; DE MIGUEL, N.; JOHNSON, P. J. *Trichomonas vaginalis*: current understanding of host–parasite interactions. *Essays in biochemistry*, v. 51, p. 161-175, 2011.
- SAHU, N. K.; BALBHADRA, S. S.; SHOUDJARY, J.; KOHLI, D. V. Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review. *Curr Med Chem*. v.19, n.2, p.209-25, 2012.
- SASHIDHARA, K. V.; RAO, K. B.; KUSHWAHA, B.; MODUKURI, R. K.; VERMA, R.; MURTHY, P. K. Synthesis and antifilarial activity of chalcone-thiazole derivatives against a human lymphatic filarial parasite, *Brugia malayi*. *Eur J Med Chem*. v.81, p.473-80, 2014.
- SCOPEL, M.; DOS SANTOS, O.; FRASSON, A. P.; ABRAHAM, W. R.; TASCA, T.; HENRIQUES, A. T.; MACEDO, A. J. Anti-*Trichomonas vaginalis* activity of marine-associated fungi from the South Brazilian Coast. *Experimental parasitology*, v. 133, n. 2, p. 211-216, 2013.
- SECOR, W. E.; MEITES, E.; STARR, M. C.; WORKOWSKI, K. A. Neglected Parasitic Infections in the United States: Trichomoniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.90, n.5, p.800-804, 2014.
- SHARMA, H.; PATIL, S.; SANCHEZ, T. W.; NEAMATI, N.; SCHINAZI, R. F.; BUOLAMWINI, J. K. Synthesis, Biological Evaluation and 3D-QSAR Studies of 3-Keto Salicylic Acid Chalcones and Related Amides as Novel HIV-1 Integrase Inhibitors. *Bioorg Med Chem*. v.19, n.6, p.2030-45, 2011.
- SHARMA, N.; MOHANAKRISHNAN, D.; SHARMA, U. K.; KUMAR, R.; RICHA; SINHA, A. K.; SAHAL, D. Design, economical synthesis and antiplasmodial evaluation of vanillin derived allylated chalcones and their marked synergism with artemisinin against chloroquine resistant strains of *Plasmodium falciparum*. *Eur J Med Chem*. v.79, p.350-68, 2014.
- SHEEHY, O.; SANTOS, F.; FERREIRA, E.; BERARD, A. The use of metronidazole during pregnancy: a review of evidence. *Current drug safety*, v. 10, n. 2, p. 170-179, 2015.
- SILVER, B. J.; GUY, R. J.; KALDOR, J. M.; JAMIL, M. S.; RUMBOLD, A. R. *Trichomonas vaginalis* as a Cause of Perinatal Morbidity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sex Transm Dis*. v.41, n.6, p. 369-76, 2014.
- SINGH, G.; ARORA, A.; MANGAT, S. S.; RANI, S.; KAUR, H.; GOYAL, K.; SEHGAL, R.; MAURYA, I. K.; TEWARI, R.; CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; SAHOO, S.; KAUR, N. Design, synthesis and biological evaluation of chalconyl blended triazole allied organosilatrane as giardicidal and trichomonocidal agents. *European journal of medicinal chemistry*, v. 108, p. 287-300, 2016.
- SMIT, F. J.; BILJON, R. A.; BIRKHOLTZ, L.; N'DA, D. D. Synthesis and *in vitro* biological evaluation of dihydroartemisinylchalcone esters. *Eur J Med Chem*. v.90, p.33-44, 2015.

- SONG, H. O.; SHIN, M. H.; AHN, M. H.; MIN, D. Y.; KIM, Y. S.; RYU, J. S. *Trichomonas vaginalis*: reactive oxygen species mediates caspase-3 dependent apoptosis of human neutrophils. *Experimental parasitology*, v. 118, n. 1, p. 59-65, 2008.
- SORVILLO, F.; SMITH, L.; KERNDT, P.; ASH, L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis*, v.7, n.6, p.927-32, 2001.
- SUKUMARAN, S. D.; CHEE, C. F.; VISWANATHAN, G.; BUCKLE, M. J.; OTHMAN, R.; ABD RAHMAN, N.; CHUNG, L. Y. Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Modelling of 2'-Hydroxychalcones as Acetylcholinesterase Inhibitors. *Molecules*, v. 21, n. 7, p. 955, 2016.
- SUTCLIFFE, S.; NEACE, C.; MAGNUSON, N. S.; REEVES, R.; ALDERETE, J. F. Trichomonosis, a Common Curable STI, and Prostate Carcinogenesis—A Proposed Molecular Mechanism. *PLoS Pathogens*, v.8, n.8, p.e1002801, 2012.
- THURMAN, A. R.; DONCEL, G. F.; Innate Immunity and Inflammatory Response to *Trichomonas vaginalis* and Bacterial Vaginosis: Relationship to HIV Acquisition *Am J Reprod Immunol*. v.65, p.89-98, 2011.
- TOMAR, V.; BHATTACHARJEE, G.; KAMALUDDIN; RAJAKUMAR, S.; SRIVASTAVA, K.; PURI, S. K. Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. *European journal of medicinal chemistry*, v. 45, n. 2, p. 745-751, 2010.
- TRAN, T. D.; NGUYEN, T. T.; DO, T. H.; HUYNH, T. N.; TRAN, C. D.; THAI, K. M. Synthesis and antibacterial activity of some heterocyclic chalcone analogues alone and in combination with antibiotics. *Molecules*, v. 17, n. 6, p. 6684-6696, 2012.
- VAN DER POL, B.; KWOK, C.; PIERRE-LOUIS, B.; RINALDI, A.; SALATA, R. A.; CHEN, P. L.; VAN DE WIJGERT, J.; MMIRO, F.; MUGERWA, R.; CHIPATO, T.; MORRISON, C. S. *Trichomonas vaginalis* infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. *J Infect Dis*, v.197, n.4, p.548-54, 2008.
- VAZQUEZ-RODRIGUEZ, S.; GUÍÑEZ, R. F.; MATOS, M. J.; OLEA-AZAR, C.; MAYA, J. D.; URIARTE, E.; SANTANA, L. Facing Chagas' Disease: Trypanocidal Properties of New Coumarinchalcone Scaffolds. *Medicinal Chemistry*, v. 12, n. 6, p. 537-543, 2016.
- VIEIRA, P. B.; TASCA, T.; SECOR, W. E. Challenges and persistent questions in treatment of trichomoniasis. *Current topics in medicinal chemistry*, 2016.
- VIEIRA, P. B.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J.; TASCA, T. Natural and synthetic compound anti-*Trichomonas vaginalis*: an update review. *Parasitology research*, v. 114, n. 4, p. 1249-1261, 2015.
- VIIKKI, M.; PUKKALA, E.; NIEMINEN, P.; HAKAMA, M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol*, v.39, n.1, p.71-5, 2000.
- WANG, Y. H.; DONG, H. H.; ZHAO, F.; WANG, J.; YAN, F.; JIANG, Y. Y.; JIN, Y. S. The synthesis and synergistic antifungal effects of chalcones against drug resistant

Candida albicans. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, v. 26, n. 13, p. 3098-3102, 2016.

WHO. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections: 2008: World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research, 2012 ISBN 978 92 4 150383 9. *Reproductive health matters*, v.20, n.40, p.207-209, 2012.

YADAV, M.; GUPTA, I.; MALLA, N. Kinetics of immunoglobulin G, M, A and IgG subclass responses in experimental intravaginal trichomoniasis: prominence of IgG1 response. *Parasite immunology*, v. 27, n. 12, p. 461-467, 2005.

YARLETT, N.; YARLETT, N. C.; LLOYD, D. Metronidazole-resistant clinical isolates of *Trichomonas vaginalis* have lowered oxygen affinities. *Molecular and biochemical parasitology*, v. 19, n. 2, p. 111-116, 1986.

ZHAI, L.; CHEN, M.; BLOM, J.; THEANDER, T. G.; CHRISTENSEN, S. B.; KHARAZMI, A. The antileishmanial activity of novel oxygenated chalcones and their mechanism of action. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, v. 43, n. 6, p. 793-803, 1999.