



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
HENRIQUE SANTILLO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
MOLECULARES

JAQUELINE EVANGELISTA DE QUEIROZ

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE
CHALCONAS**

Orientadora: Prof. Dr. Giuliana Muniz Vila Verde

**ANÁPOLIS - GO
2018**

JAQUELINE EVANGELISTA DE QUEIROZ

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E ANTITUMORAL DE
CHALCONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás (UEG) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Prof. Dr. Giuliana Muniz Vila Verde.

ANÁPOLIS - GO
2018

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

QQ3s Queiroz, Jaqueline
 Síntese e Avaliação da Atividade Antioxidante e Antitumoral de
 Chalconas / Jaqueline Queiroz; orientador Giuliana Vila Verde. --
 Anápolis, 2019.
 131 p.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado
 Acadêmico em Ciências Moleculares) -- Câmpus-Anápolis CET,
 Universidade Estadual de Goiás, 2019.

 1. Chalconas. 2. Atividade Antitumoral. 3. Atividade Antioxidante. I.
 Vila Verde, Giuliana, orient. II. Título.

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTITUMORAL DE CHALCONAS**

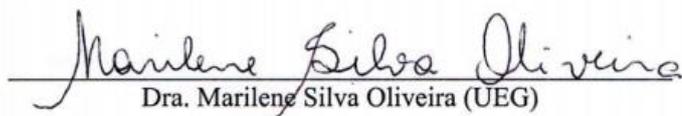
JAQUELINE EVANGELISTA DE QUEIROZ

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências Moleculares do
Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo, da
Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos
necessários para obtenção do título de Mestra em Ciências Moleculares.

Aprovada em 17/12/2018 por:



Prof. Dra. Giuliana Muniz Vila Verde Safadi (Orientadora/UEG)



Dra. Marilene Silva Oliveira (UEG)



Dra. Andreza da Silva Figueredo

ANÁPOLIS – GO

*A todos que fizeram e fazem parte da minha trajetória.
A Universidade Estadual de Goiás pela formação acadêmica e pelo suporte técnico.
A Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal do Ceará e Universidade de
Brasília pelas colaborações realizadas.
A Capes pela bolsa concedida.
A todos o meu Muito Obrigada!*

Via-Láctea

XIII

“Ora (dizeis) ouvir estrelas! Certo
Perdeste o senso!” E eu vos direi, no entanto,
Que, para ouvi-las, muita vez desperto
E abro as janelas, pálido de espanto...

E conversamos toda a noite, enquanto
A Via-Láctea, como um pálio aberto,
Cintila. E, ao vir do sol, saudoso e em pranto,
Inda as procuro pelo céu deserto.

Dizeis agora: “Tresloucado amigo!
Que conversas com elas? Que sentido
Tem o que dizem, quando estão contigo?”

E eu vos direi: “Amai para entendê-las!
Pois só quem ama pode ter ouvido
Capaz de ouvir e de entender estrelas”.

[Olavo Bilac, ‘Via-Láctea – XIII (1888), em “Antologia: poesias”.]

UMA TRAJETÓRIA NO MESTRADO

Artigos Publicados

1. CUSTODIO, J.M.F.; Guimaraes-Neto, J.J.A.; Awad, R.; Queiroz, J.E.; Verde, G.M.V.; Mottin, M.; Neves, B.J.; Andrade, C.H.; Aquino, G.L.B.; Valverde, C.; Osorio, F.A.P.; Baseia, B.; Napolitano, H.B. Molecular Modeling and Optical Properties of a Novel Fluorinated Chalcone. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 1-29, 2018.
2. DIAS, L.D.; Gonçalves, K.H.E; Queiroz, J.E.; Vila Verde, G.M.; AQUINO, G.L.B. An eco-friendly and alternative method of forced degradation of fluoroquinolone drugs by microwave irradiation: a new application for analytical eco-scale. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, p. 1-20, 2018.
3. QUEIROZ, J.E.; Vila Verde, G.M.; Ramos, M.; Pereira, M.M.; Aquino, G.L.B. 4-(4-Methoxyphenyl)-5,7-dimethylchroman-2-one. **IUCrData**, v. 1, p. 1-3, 2016.

Artigos em Submissão

1. SOUZA, W.C.; Dias, L.D.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.; Silva, V.B.; Leopoldino, A.M.; Silva, C.H.T.P.; Vila Verde, G.M.; Aquino, G.L.B. N-acylhydrazones derivatives as novel ligands against cancer in inhibition of interaction between nucleic acids and hnRNP K protein. **Current Bioactive Compounds**, 2018.
2. RODRIGUES, F.S.; Queiroz, J.E.; Pinto, D.D.J.; Chagas, S.R.; Paula, F.G.; Pascoal, A.M.; Vila Verde, G.M.; Pascoal, L.M. Quality Analysis and Antioxidant Activity of Garlic Powder used as a Constituent of Nile Tilapia Food. **Food Science and Technology**, 2018.
3. FIGUEREDO; A.S.; Queiroz; J.E.; Dias, L.D.; Vidal, H.D.A.; Machado, I.V.; Vila Verde, G.M.; Aquino, G.L.B. Synthesis and anticholinesterasic activity evaluation of asymmetric azines. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, 2018.

Artigos em Redação

1. QUEIROZ, J.E.; [a definir] Verde, G.M.V.; Napolitano, H.B.; Pessoa, C.Ó.; Aquino, G.L.B. Síntese de chalconas e avaliação da atividade antitumoral de uma chalcona trimetoxilada. [a definir].

2. QUEIROZ, J.E.; [a definir] Verde, G.M.V.; Valverde, C.; Napolitano, H.B.; Aquino, G.L.B. Síntese, estudo cristalográfico e caracterização das propriedades ópticas não lineares da (E)-1-(4-fluorophenyl)-3-(naphthalen-3-yl)prop-2-en-1-one. [a definir].

3. SOUSA, G.P.; Santos, L.M.; Oliveira, B.F.R.; Gissoni, A.C.P.; Vieira, J.D.G.; Silva, H.H.G.; Queiroz, J.E.; Souza, K.M.C.; Vila Verde, G.M. Evaluation of Chemical Composition and Antibacterial Activity of Volatile Fracture of Copaiba (Caesalpinioideae) Oil-Resin Obtained by Microwave-Assisted Extraction. [a definir].

4. LEMES, E.O.; Awad, R. Queiroz, J.E.; Pereira, P.A.G.; Souza, P.E.N.; Thomaz, D.V.; Caetano, M.P.; Gil, E.S.; Vila Verde, G.M.; Aquino, G.L.B. Synthesis and Evaluation of Antioxidant Activity of β -ketoindoles Derivatives. [a definir].

5. VINAGREIRO, C.S.; Gomes, C.; Damas, L.; Aquino, G.L.B.; Queiroz, J.E.; Campos, J.; Pimenta, J.; Pineiro, M.; Pereira, M.M. Alternative sustainable methodologies toward chalcone synthesis. [a definir].

6. QUEIROZ, J.E.; D.M. Santos; Vila Verde, G.M.; Paula, J.R.; Aquino, G.L.B. Microwave assisted irradiation for the rapid extraction of compounds of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) by statistical planning. [a definir].

7. [a definir]. Vinagreiro, C.S.; Queiroz, J.E.; Aquino, G.L.B.; Neves, A.; Ambrunhosa, A.; Pereira, M.M. Marcação de derivados β -cetoindóis para Tomografia por Emissão de Pósitrons (TPE). [a definir].

Capítulos de Livros Aceitos

1. QUEIROZ, J.E.; Vila Verde, G.M.; Aquino, G.L.B. CHALCONA: definição, síntese, atividade biológica e estudos espectrométricos. **Livro CAPES**, 2018.

Eventos

1. QUEIROZ, J.E.; Lemes, E.; Awad, R.; Pereira, P.A.G.; Souza, P.E.N.; Thomaz, D.V.; Caetano, M.P.; Gil, E.S.; Vila Verde, G.M.; Aquino, G.L.B. Síntese e Avaliação da Atividade Antioxidante de Derivados B-cetoindóis. In: **58 Congresso Brasileiro de Química**, 2018, São Luís, Maranhão.

2. VIDAL, H.; Machado, I.V.; Lemes, E.O.; Queiroz, J.E.; Awad, R.; Silva, C.; Ellena, J.; Aquino, G.L.B. Characterization of amide bond conformers for 1-(isobutyryl)pyrrolidine-2-carboxylic acid. In: **17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS)**, 2018, Salvador, Bahia.

3. MACHADO, I.V.; Vidal, H.; Lemes, E.; Queiroz, J.E.; Awad, R.; Silva, A.C.; Melo-Filho, C.C.; Moreira-Filho, J.T.; Gomes, M.N.; Aquino, G.L.B. Directed synthesis of B-ketoindoles derivatives from chalcones as potential Mcl-1 inhibitors for the treatment of cancer. In: **17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS)**, 2018, Salvador, Bahia.

4. QUEIROZ, J.E.; Vila Verde, G.M.; Lemes, E.; Awad, R.; Vidal, H.; Machado, I. Microwave assisted irradiation for the rapid extraction of compounds of *Stryphnodendron adstringens* (MART.) Coville (Fabaceae) by statistical planning. In: **11 International Congress of Pharmaceutical Sciences**, 2017, Ribeirão Preto.

5. VIDAL, H.; Machado, I.; Queiroz, J.E.; Lemes, E.; Awad, R.; Aquino, G.L.B. Synthesis and characterization of impurity E of captopril. In: **11 International Congress of Pharmaceutical Sciences**, 2017, Ribeirão Preto.

6. LEMES, E.O.; Awad, R.; Aquino, G.L.B.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.D.A.; Machado, I.V. Synthesis of β -Ketoindole derivatives. In: **11 International Congress of Pharmaceutical Sciences**, 2017, Ribeirão Preto.

7. VIDAL, H.; Machado, I.V.; Queiroz, J.E.; Awad, R.; Lemes, E.; Aquino, G.L.B. Impureza E do fármaco captopril: Síntese e Caracterização. In: **IV Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, 2017, Pirenópolis.

8. AWAD, R.; Lemes, E.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.; Machado, I.V.; Aquino, G.L.B. Síntese e Purificação de Chalconas. In: **IV Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, 2017, Pirenópolis.

9. LEMES, E.O.; Awad,R.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.; Machado, I.V.; Aquino, G.L.B. Síntese e estudo biológico de chalconas. In: **IV Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, 2017, Pirenópolis.

10. AWAD, R.; Lemes, E.O.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.D.A.; Machado, I.V.; Aquino, G.L.B. Síntese de chalconas com potencial atividade biológica para a doença de Alzheimer. In: **57 Congresso Brasileiro de Química**, 2017, Gramado.

11. LEMES, E.O.; Awad, R.; Queiroz, J.E.; Vidal, H.D.A.; Machado, I.V.; Aquino, G.L.B. Síntese e caracterização de chalconas. In: **57 Congresso Brasileiro de Química**, 2017, Gramado.

12. VIDAL, H.D.A.; Machado, I.V.; Queiroz, J.E.; Lemes, E.O.; Awad, R.; Aquino, G.L.B. Síntese e caracterização do (2s)-1-[2-metilpropanoil] pirrolidina-2 carboxílico: impureza E do fármaco captopril. In: **57 Congresso Brasileiro de Química**, 2017, Gramado.

13. QUEIROZ, J.E.; Aquino, G.L.B.; Safadi, G.M.V.V.; Awad, R.; Lemes, E.O.; Vidal, H.D.A.; Machado, I.V. Extração rápida de flavonoides da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* assistida por irradiação de micro-ondas. In: **57 Congresso Brasileiro de Química**, 2017, Gramado.

14. AQUINO, G.L.B.; Queiroz, J.E.; Awad, R.; Lemes, E.O.; Vidal, H.; Neves, A.; Ambrunhosa, A.; Pereira, M.M. Image guided biodistribution studies of β -cetoindoles derivatives In: *Molecular Imaging Agents in Medicine*, 2017, Groningen, Holanda.

15. AQUINO, G.L.B.; Queiroz, J.E.; Safadi, G.M.V.V.; Dias, L.D.; Sousa, W. Ecofriendly microwave assisted synthesis of some n-acylhydrazones derivatives and

evaluation of inhibition interaction between nucleic acids and hnrnpk protein. In: **8th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry**, 2016, Búzios.

RESUMO

O Câncer é caracterizado pelo crescimento anormal de células, devido às alterações em mecanismos biológicos básicos. É considerado a segunda principal causa de morte em todo o mundo e seu tratamento consiste em cirurgias, radioterapias, transplante de medula óssea e quimioterapias, que podem ser realizados individualmente ou em conjunto. Dentre os procedimentos a quimioterapia envolve o uso de fármacos antineoplásicos que atuam na eliminação das células tumorais. Novas moléculas, como as chalconas, estão em avaliação como protótipos para agentes antineoplásicos. As chalconas que pertencem ao grupo dos flavonoides, são obtidas de fontes naturais ou sintetizadas em laboratório e apresentam diversas propriedades farmacológicas como antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória e quimioprotetora. Esse trabalho, teve como objetivo a síntese e avaliação da atividade antioxidante e antitumoral de onze (11) chalconas que foram sintetizadas por condensação aldólica direta de Claisen-Schmidt com **80** a **99%** de rendimento e caracterizadas por métodos espectrométricos (Cromatografia GASOSA acoplada à Espectrometria de Massas - CG/EM, Infravermelho - IV e Ressonância Magnética Nuclear - RMN). Após verificação da pureza, os compostos foram submetidos a ensaios de atividade antitumoral pelo teste de Metil Tiazol Tetrazólio - MTT, atividade antioxidante por sequestro de DPPH e Voltametria de Pulso Diferencial - VPD e adição conjugada a dupla ligação com N-Acetilcisteína - NAC. No ensaio antitumoral, os compostos foram testados frente a células de adenocarcinoma de ovário (OVCAR-8), próstata metastático (PC-3M) e pulmão bronquioalveolar (NCI-H358M). O composto **7a** foi ativo para todas linhagens; **7c**, **7i**, **7j** e **7k** foram ativos para a linhagem NCI-H358M; **7b** e **7g** para PC-3M; **7f** e **7h** para OVCAR-8 e NCI-H358M; **7d** e **7e** tiveram valores de IC₅₀ superior a 5 µg/mL para todas as linhagens sendo considerados inativos. No ensaio para a atividade antioxidante por UV-Vis e RPE foi possível evidenciar que grupos doadores de elétrons (hidroxila, amino, metoxilas, por exemplo) tem relação direta com o aumento da atividade e grupos retiradores de elétrons (nitro, por exemplo) com a diminuição da atividade. Os compostos **7g** e **7j** apresentaram a maior captação do radical DPPH. Na VPD os compostos **7g**, **7j** e **7k** apresentaram o primeiro pico antes de 0,5V. Com relação a adição de NAC aos compostos porcentagem de ligação média foi de 45% após 70 min de incubação.

Assim, conclui-se que as chalconas são moléculas promissoras por apresentarem atividade antitumoral contra as linhagens de células testadas e atividade antioxidante por ambos os métodos testados.

Palavras Chave: chalconas, atividade antitumoral, atividade antioxidante.

ABSTRACT

Cancer is characterized by abnormal cell growth due to changes in the basic biological mechanisms that can spread to other organs. It is considered the second leading cause of death worldwide and its treatment consists of surgeries, radiotherapies, bone marrow transplantation and chemotherapies, which can be performed individually or together. Among the procedures, chemotherapy involves the use of antineoplastic drugs that act in the elimination of tumor cells. New molecules, such as chalcones, are being evaluated as prototypes for antineoplastic agents. Chalcones belong to flavonoids group, that can be obtained from natural sources or synthesized in the laboratory and have several pharmacological properties, such as antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory and chemoprotective. The objective of this study was the synthesis and antioxidant and antitumor activity evaluation of chalcones. Thus, eleven (11) chalcones were synthesized by direct aldol condensation of Claisen-Schmidt with **80** to **99%** yield and characterized by spectrophotometric methods (Gas Chromatography Mass Spectrometry - GC/MS, Infrared - IR and Nuclear Magnetic Resonance - NMR). After purity evaluation, the compounds were tested for antitumor activity by the Methyl Thiazole Tetrazolium test - MTT, antioxidant activity by sequestration of DPPH and Differential Pulse Voltammetry - DPV and conjugated addition to the double bond with N-Acetyl Cysteine - NAC. In antitumor activity, the compounds were tested on ovary adenocarcinoma (OVCAR-8), metastatic prostate (PC-3M), and bronchoalveolar lung (NCI-H358M) cells. Compound **7a** was active for all cells; **7c**, **7i**, **7j** and **7k** were active for the NCI-H358M lineage; **7b** and **7g** for PC-3M; **7f** and **7h** for OVCAR-8 and NCI-H358M; **7d** and **7e** have IC₅₀ values greater than 17 μ M for all cells and were considered the most inactive. In the antioxidant activity by optical spectroscopy and EPR, it was possible to show that electron donor groups (hydroxyl, amino, methoxyls, for example) are directly related to the increase in activity and electron withdrawing groups (nitro, for example) with decreased of activity. Compounds **7g** and **7j** showed the highest uptake of the DPPH moiety. In the DPV compounds with the first peak of oxidation before 0.5V are classified as potential endogenous antioxidants, compounds **7g**, **7j** and **7k** are potential endogenous antioxidants. Regarding the addition of NAC to the compounds, average binding percentage was 45% after 70 min of incubation. Thus, it is concluded that chalcones

are promising molecules due their antitumor activity against the cell lines tested and antioxidant activity by both methods tested.

Keywords: chalcones, antitumor activity, antioxidant activity.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Redução do MTT por enzimas mitocondriais.....	38
Esquema 2 – Transferência de hidrogênio para o radical de DPPH.....	40
Esquema 3 – A reação de Michael.....	42
Esquema 4 – Rota de síntese dos compostos fenólicos derivados da via da fenilalanina amônia-liase.....	44
Esquema 5 – Reação de acetofenona (8) e benzaldeído (9) substituídos para formar a chalcona.....	46
Esquema 6 – Mecanismo da reação de condensação aldólica via catálise básica...	47
Esquema 7 – Mecanismo da reação aldólica de chalconas via catálise ácida.....	48
Esquema 8 – Adição de Michael de <i>o</i> -aminotiofenol (13) a chalcona (7).....	53
Esquema 9 – Adição de Michael de malononitrilo (14) e ácido tiobarbitúrico (16) a chalconas.....	53
Esquema 10 – Adição de Michael de nitrometano (19) a chalcona (7).....	54
Esquema 11 – Adição de Michael de Malonato de Metila (21) a chalcona (7).....	54
Esquema 12 – Rota sintética geral para a síntese dos compostos.....	57
Esquema 13 – Método colorimétrico 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazólio (MTT).....	62
Esquema 14 – Reação dos compostos com o radical DPPH.....	63
Esquema 15 – Reação dos compostos com N-acetilcisteína.....	65
Esquema 16 – Fragmentações da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d).....	70
Esquema 17 – Reação de uma chalcona hidroxilada com radical DPPH.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da colchicina (1) e da combretastatina A-4 (2).....	36
Figura 2 – Gráfico DPV.....	41
Figura 3 – Estrutura da N-acetilcisteína (6).....	42
Figura 4 – Estrutura geral da chalcona (7).....	45
Figura 5 – Estrutura do fármaco Auxibilina® (10).....	51
Figura 6 – Estrutura 1-(2,4,6-trihidroxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (11).....	52
Figura 7 – Espectro de Massas da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d).....	69
Figura 8 – Espectro IV da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d).....	71
Figura 9 – Espectro de RMN de ¹ H da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d).....	73
Figura 10 – Espectro de RMN de ¹³ C da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d).....	74
Figura 11 – Efeito do substituinte nos compostos 7g e 7j.....	85

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva de Calibração construída com DPPH.....	80
Gráfico 2 – Inibição do DPPH pelos compostos 7g e 7j	83
Gráfico 3 – Curva de Calibração construída com DPPH.....	85
Gráfico 4 – Inibição do DPPH pelos compostos 7g e 7j	88
Gráfico 5 – Curva de Calibração construída com NAC/DTNB.....	92
Gráfico 6 – Porcentagem de ligação dos compostos a NAC em função do tempo...94	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fórmula molecular (FM), fabricante e grau de pureza dos reagentes utilizados.....	56
Tabela 2 – Compostos sintetizados.....	58
Tabela 3 – Estrutura dos compostos sintetizados.....	68
Tabela 4 – Temperatura para perda de 25, 50 e 75% de massa dos compostos.....	75
Tabela 5 – Valores de inibição do crescimento tumoral em linhagens de células transformadas.....	77
Tabela 6 – Valores de IC ₅₀ em três linhagens tumorais.....	78
Tabela 7 – Porcentagem de DPPH remanescente.....	81
Tabela 8 – Porcentagem de inibição do DPPH pelos compostos.....	82
Tabela 9 – Porcentagem de DPPH remanescente.....	86
Tabela 10 – Porcentagem de inibição do DPPH pelos compostos.....	87
Tabela 11 – Porcentagem de ligação dos compostos a NAC em função do tempo de incubação.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag: Prata

AgCl: Cloreto de Prata

Anel Ar.: Anel aromático

Anel Ph.: Anel fenila

ANOVA: Análise de Variância

CC: Cromatografia em Coluna

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CDCl₃: Clorofórmio Deuterado

cél/mL: células por mililitro

CG/EM: Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas

CG: Cromatografia gasosa

CO₂: Dióxido de Carbono

D: Duplete

Dd: Duplo duplete

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

Dt: Duplo tripleto

DTNB: Ácido (5,5-ditiobis)-2-nitrobenzóico; Reagente de Ellman's

ERO: Espécies Reativas de Oxigênio

EtOH: Etanol; Álcool Etílico

FM: Fórmula Molecular

GHz: Giga-hertz

HCl: Ácido Clorídrico

Hz: Hertz

IC₅₀: concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo

IE: Índice Eletroquímico

INCA: Instituto Nacional de Câncer

IV: Espectroscopia de Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

KCl: Cloreto de Potássio

KH₂PO₄: Fosfato Monopotássico

kHz: kilo-Hertz

m/z: relação massa carga dos íons

m: multiplete

MeOH: Metanol; Álcool Metílico

MHz: Mega-hertz

MNova: Mestre-Nova

MTT: Teste do Metil tiazol Tetrazólio

mV/g: milivolts por grama

mV/s: milivolts por segundo

mW: miliwatts

N₂: Nitrogênio

Na₂HPO₄.7H₂O: Fosfato de Sódio Dibásico Heptahidratado

NAC: N-acetilcisteína

NaCl: Cloreto de Sódio

NaOH: Hidróxido de Sódio

NCI-H358M: Carcinoma de Pulmão Bronquioalveolar Humano

o-ATP: o-aminotiofenol

OMS: Organização Mundial de Saúde

OVCAR-8: Adenocarcinoma de Ovário Humano

P.A.: Para Análise

PC-3M: Carcinoma de Próstata Metastático Humano

pH: potencial de Hidrogênio

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN de ¹H: RMN de Próton

RMN de ¹³C: RMN de Carbono 13

RPE: Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Electrónica

RPMI: Meio para Cariótipo

Sil G: Sílica Gel

SOCl₂: Cloreto de Tionila

TEA: trietilamina

TGA/DTG: Análise Termogravimétrica por termogravimetria derivada

TMS: Tetrametilsilano

UV₂₅₄: Ultravioleta a 254 nm

VPD: Voltametria de Pulso Diferencial

δ: Deslocamento químico em partes por milhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	30
2. REFERENCIAL TEÓRICO	34
2.1. CÂNCER	34
2.2. ATIVIDADE ANTITUMORAL	37
2.2.1. Teste de MTT	37
2.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	38
2.3.1. Método de Sequestro de DPPH	39
2.3.2. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)	40
2.3.3. VPD	41
2.4. ADIÇÕES CONJUGADAS: A REAÇÃO DE MICHAEL	42
2.5. CHALCONAS	43
2.5.1. Obtenção de Chalconas	46
2.5.2. Chalconas e Atividades Biológicas	49
2.5.2.1. Chalconas e Atividade Antineoplásica	49
2.5.2.2. Chalconas e Atividade Antioxidante	51
2.5.2.3. Chalconas e a Adição de Michael	52
3. OBJETIVOS	55
3.1. OBJETIVO GERAL	55
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	56
4.1. REAGENTES UTILIZADOS NA SÍNTESE	56
4.2. PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE	57
4.3. CARACTERIZAÇÃO	59
4.3.1. Análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	59
4.3.2. Caracterização por CG/EM	59

4.3.3. Caracterização por IV.....	60
4.3.4. Caracterização por RMN.....	60
4.3.5. Análise Termogravimétrica.....	60
4.4. ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	61
4.4.1. Atividade Antitumoral.....	61
4.4.2. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via UV-Vis.....	62
4.4.3. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via RPE.....	64
4.4.4. Atividade Antioxidante por VPD.....	64
4.4.5. Adição Conjugada: Reação com <i>N</i> -Acetilcisteína.....	65
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1. SÍNTESE DOS COMPOSTOS.....	67
5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	69
5.2.1. Caracterização por CG/EM.....	69
5.2.2. Caracterização por IV.....	70
5.2.3. Caracterização por RMN.....	72
5.2.4. Análise Termogravimétrica.....	74
5.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS COMPOSTOS.....	76
5.3.1. Atividade Antitumoral.....	76
5.3.2. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via UV-Vis.....	79
5.3.3. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via RPE.....	85
5.3.4. Atividade Antioxidante por VPD.....	88
5.3.5. Adição Conjugada: Reação com <i>N</i> -Acetilcisteína.....	92
6. CONCLUSÃO.....	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
8. ANEXOS.....	105

8.1. ANEXO 1 – Dados qualitativos e quantitativos da síntese e caracterização dos compostos sintetizados.....	105
8.2. ANEXO 2 - Cromatograma, Espectro de Massas, Espectro de IV, Espectro de RMN de ^1H / ^{13}C dos compostos sintetizados.....	112

1. INTRODUÇÃO

“Câncer”, “tumores malignos” e “neoplasias” são termos genéricos utilizados para descrever um grande grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento de células anormais que invadem partes adjacentes do corpo e/ou espalham-se para outros órgãos. A Organização Mundial de Saúde descreve o câncer como um problema de saúde pública que afeta, principalmente, países em desenvolvimento, e sendo a segunda principal causa de morte em todo o mundo (mais de 8,2 milhões de pessoas morrem por ano) (WHO, 2016).

Os cânceres de pulmão, próstata, colorretal, estomacal e hepático são os tipos mais recorrentes nos homens, enquanto os cânceres mamários, colorretais, pulmonares, cérvix e estomacais são o mais comum entre as mulheres. Estima-se que entre 30% e 50% das mortes por câncer podem ser prevenidas (WHO, 2016).

Os cânceres compartilham várias características biológicas, sendo a proliferação anormal de células a característica definidora. Essa proliferação ocorre devido às alterações nos mecanismos biológicos básicos que são responsáveis pelo controle da proliferação dentro dos limites ideais (BRASIL, 2015).

O tratamento dos diversos tipos de câncer pode envolver cirurgias, radioterapias, transplante de medula óssea, imunoterapias e quimioterapias. Essas abordagens podem ser realizadas isoladamente ou em conjunto. Entre os métodos utilizados, a quimioterapia é alvo de extensa pesquisa na busca de novos fármacos, mais ativos, com menos efeitos colaterais, baixa toxicidade e boa biodisponibilidade, para serem utilizados como antineoplásicos. Os antineoplásicos atuam na eliminação de células tumorais ao inibir os mecanismos envolvidos na proliferação celular (FRAGA, 2015).

Antineoplásicos são agentes que promovem a citotoxicidade em células em crescimento anormal e sua atividade citotóxica está relacionada à inibição de transportadores de elétrons, desacoplamento de fosforilação oxidativa, geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), formação de adutos de proteínas (especialmente com grupos de enzima SH) e danos ao DNA. Assim, moléculas que desempenham essas atividades são alvos de estudo (FRAGA, 2015).

As ERO's são um importante sinal regulatório para a apoptose celular e sua função na ativação mitocondrial funciona como um gatilho oferecendo uma base poderosa para a terapia do câncer, assim moléculas, que possuem atividade antioxidante comprovada,

alvos para novas moléculas que possam atuar como antineoplásicas (MORAES *et al.*, 2014).

Novas moléculas para utilização como antineoplásicos estão em estudo, sendo as moléculas de fontes naturais, como a vimblastina, vincristina, paclitaxel, entre outras, com atividade biológica comprovada utilizadas como protótipos para o desenho do esqueleto básico da estrutura necessária a atividade. Esse esqueleto orienta a síntese/modificação para obtenção de novas moléculas. Entre as substâncias naturais com atividade antitumoral conhecida destacam-se as hidroxiladas (com grupos hidroxilas, -OH) e metoxiladas (com grupos metoxilas, -OCH₃). Assim, moléculas com esses grupos de substituintes são alvos de extensos estudos (BOUMENDJEL, 2009).

As chalconas são moléculas promissoras para o estudo de novos antineoplásicos. Dentre suas propriedades biológicas a atuação em mecanismos de defesa pela neutralização de espécies reativas de oxigênio/nitrogênio (ERO's/ ERN's) (MORAES *et al.*, 2014) é uma possibilidade para o estudo da atividade antineoplásica.

As chalconas pertencem ao grupo dos flavonoides que são polifenóis de relativa abundância nos vegetais e são seus precursores naturais sintetizados a partir da rota dos fenilpropanoides, ou seja, pela via biossintética do ácido chiquímico. As chalconas constituem os pigmentos amarelos das flores e podem ser encontradas em várias partes das plantas, como raiz, rizomas, cerne, brotos, folhas, flores e sementes (CAMPOS, 2010).

O termo chalcona foi introduzido em 1899 por Kostanecki e Tabor e estruturalmente pertencem a um grupo de compostos que possui um esqueleto 1,3-difenil-2-propen-1-ona correspondente a um flavonoide de cadeia aberta, sendo dois anéis aromáticos separados por um grupo cetona α,β -insaturado (-C(O)CH=CH-) (ØYVIND; KENNETH, 2006).

As chalconas são encontradas em diversas formas na natureza, como dímeros, oligômeros e adutos de Diels-Alder e substituições nos anéis aromáticos da estrutura básica contribuem para as diversas estruturas encontradas (CAMPOS, 2010).

As chalconas podem ser obtidas de fontes naturais ou serem sintetizadas em laboratório. Entre os métodos para sua síntese destacam-se o método clássico de condensação de Claisen-Schmidt, as reações de Wittig e a acilação de Friedel-Crafts. Na reação de Wittig ocorre a reação de um aldeído/cetona e um "reagente de Wittig" (ileto de trifenilfosfônio, p.e.), na reação de Friedel-Crafts ocorre a acilação direta de um fenol e na condensação de Claisen-Schmidt ocorre a reação de acetofenonas aromáticas substituídas

com aldeídos aromáticos substituídos (SOLOMONS, 2002; CAREY; SUNDBERG, 2007; CHOPRA, 2016).

Devido à sua variedade estrutural, as chalconas apresentam diversidade de propriedades farmacológicas descritas na literatura, como atividade bactericida, fungicida, antiviral, antiprotozoária, inseticida, anti-helmíntica, anti-inflamatória, antitumoral, citotóxica, quimiopreventiva, tornando-as moléculas promissoras na busca de novos fármacos (LI *et al.*, 1995; SIVAKUMAR; KUMAR; DOBLE, 2009; BANDGAR *et al.*, 2010).

As atividades biológicas das chalconas são atribuídas à porção olefínica ($-\text{HC}=\text{CH}-$) conjugada a cetona e ao padrão de substituição nos anéis aromáticos, resultando em compostos com propriedades farmacológicas totalmente distintas (BANDGAR *et al.*, 2010).

A atividade antineoplásica das chalconas pode ser relacionada a alterações moleculares nas células tumorais, como a indução da apoptose, dano mitocondrial, inibição da angiogênese, inibição da tubulina, inibição de cinases e também ativação de proteína de efluxo de drogas e possui várias vantagens, como a fraca interação com DNA e o baixo risco de mutagenicidade (DAS; MANNA, 2016).

Estudos na literatura reportam as atividades das chalconas pelo padrão de substituições nos anéis aromáticos. A associação de chalconas metoxiladas e hidroxiladas com atividade antitumoral e antioxidante é extensamente discutida na literatura. O estudo da influência dos substituintes na atividade biológica é uma das formas de desenvolver a melhor estrutura para a atividade de interesse (EDWARDS *et al.*, 1990; DUCKI *et al.*, 1998; LAWRENCE *et al.*, 2000; LEBLANC *et al.*, 2005).

O mecanismo de ação da atividade antioxidante é proposto pela ocorrência da transferência/recepção de um único elétron ou pela transferência do átomo de hidrogênio para estabilizar o radical. Assim, compostos com elétrons desemparelhados e com substituintes com hidrogênios livres são alvos de estudo para atividade antioxidante. Os compostos antioxidantes sofrem oxidação evitando que moléculas essenciais ao organismo sejam oxidadas (SIVAKUMAR; PRABHAKAR, 2011).

Devido as diversas aplicações biológicas das chalconas o estudo da relação entre sua estrutura e sua atividade biológica torna-se de extrema relevância. Assim, esse trabalho tem como foco a síntese e caracterização de chalconas e no estudo da relação entre a estrutura desses compostos e a possível atividade antitumoral e antioxidante.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. CÂNCER

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é inquestionavelmente um problema de saúde pública, especialmente nos países em desenvolvimento, onde é esperado que o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos 20 milhões de casos de mortes estimados para 2025 (BRASIL, 2015).

O câncer, também denominado por tumores malignos ou neoplasias, é um termo genérico para um grande grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento anormal de células além de seus limites habituais, que podem invadir partes adjacentes do corpo e/ou espalhar-se para outros órgãos. Representa a segunda principal causa de morte em todo o mundo e representou 8,8 milhões de mortes em 2015, quase 1 em cada 6 de todas as mortes globais. Os cânceres de pulmão, próstata, colorretal, estomacal e hepático são os tipos mais comuns em homens, enquanto os cânceres mamários, colorretais, pulmonares, de cérvix e estomacais são os mais comuns nas mulheres (WHO, 2016).

De acordo com a evidência atual, entre 30% e 50% das mortes por câncer podem ser prevenidas, modificando ou evitando os principais fatores de risco, como os produtos do tabaco, reduzindo o consumo de álcool, mantendo um peso corporal saudável, exercitando-se regularmente e abordando infecções relacionadas a fatores de risco (WHO, 2016; BRASIL, 2015).

Os cânceres compartilham várias características biológicas. Uma característica definidora é a proliferação de células anormais. O processo de proliferação celular é bem controlado ao longo da vida por mecanismos biológicos básicos. No câncer, os mecanismos de controle estão alterados e as células afetadas crescem além de seus limites habituais, invadem tecidos adjacentes e podem se espalhar para órgãos ou tecidos secundários como metástases (WHO, 2002).

Atualmente mais de 8,2 milhões de pessoas morrem por ano de câncer em todo o mundo. No Brasil em 2013 foram registradas 189.454 mortes por câncer (INCA) e estima-se a ocorrência de mais de 600 mil casos da doença no País no biênio 2018-2019, para cada ano. Entre os homens, são esperados 295.200 novos casos, e entre as mulheres, 300.870 (BRASIL, 2015). A OMS estima que, no ano de 2030, haverá 27 milhões de novos casos, 17 milhões de mortes e 75 milhões de pessoas vivendo com câncer.

A estimativa mundial, realizada em 2012, pelo projeto Globocan/larc, apontou que os tipos de câncer mais incidentes no mundo foram de pulmão (1,8 milhão), mama (1,7 milhão), intestino (1,4 milhão) e próstata (1,1 milhão), sendo o de pulmão (16,7%), próstata (15,0%), intestino (10,0%), estômago (8,5%) e fígado (7,5%) os mais frequentes em homens; e mama (25,2%), intestino (9,2%), pulmão (8,7%), colo do útero (7,9%) e estômago (4,8%) em mulheres (BRASIL, 2015).

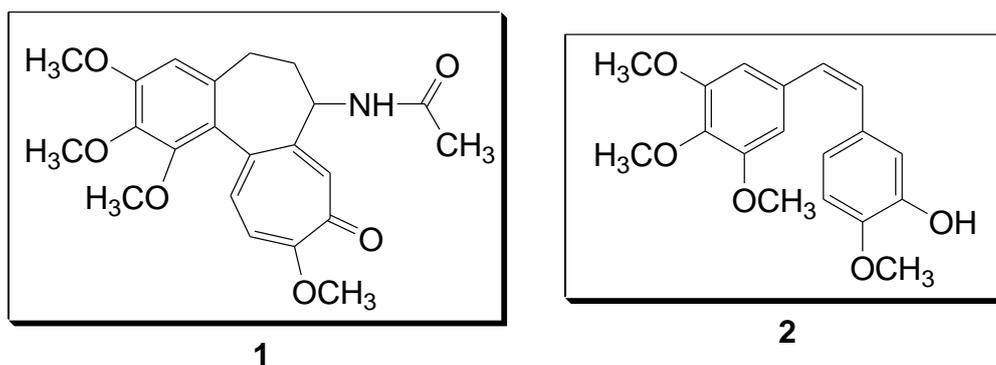
O tratamento dos diversos tipos de câncer pode envolver cirurgias, radioterapias, transplante de medula óssea, imunoterapias e quimioterapias dependendo da extensão, estágio e localização. Essas abordagens podem ser realizadas individualmente ou em conjunto, por exemplo, cirurgia + quimioterapia, quimioterapia + imunoterapia, transplante + imunoterapia + quimioterapia, entre outras associações. Entre esses métodos a quimioterapia consiste na utilização de antineoplásicos (FRAGA, 2015).

Com o intuito de desenvolver novos fármacos, mais ativos, com menos efeitos colaterais, baixa toxicidade frente as células normais e biodisponibilidade satisfatória, a quimioterapia é alvo de extensa pesquisa. O principal objetivo do emprego de antineoplásicos é eliminar as células tumorais através da inibição de alguns dos mecanismos envolvidos na proliferação celular, como a divisão celular. Dentre as estruturas celulares envolvidas no processo de divisão os microtúbulos, filamentos intracelulares formados por subunidades alternadas de uma proteína dimérica, α e β -tubulina, são capazes de se polimerizar-despolimerizar para formarem o fuso mitótico a fim de separarem corretamente os cromossomos durante a divisão celular (FRAGA, 2015).

Os fármacos anticâncer introduzidos na terapêutica antitumoral nas últimas décadas tem, em sua maioria, origem nos produtos naturais, tais como a vimblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), vindesina (Eldisine®), vinorelbina (Navelbine®), paclitaxel (Taxol®), etoposídeo (Etopophos®) e teniposídeo (Vumon®). Estes medicamentos movimentam anualmente um mercado de cerca de 60 bilhões de dólares (PINTO *et al.*, 2002; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

Produtos naturais encontrados em suas formas metoxiladas e hidroxiladas possuem atividade antineoplásica explicando os estudos frequentes em novas moléculas hidroxi e metoxiladas como novos agentes terapêuticos. A colchicina (**1**) e a combretastatina A-4 (**2**) (Figura 1) são excelentes exemplos de moléculas hidroxi e metoxiladas com atividade antineoplásica comprovada (BOUMENDJEL, 2009).

Figura 1 – Estrutura química da colchicina (1) e da combretastatina A-4 (2)



Fonte: Boumendjel *et al* (2009).

As combretastatinas destacam-se como uma classe promissora de agentes antimitóticos devido sua ação antivascular e antiproliferativa. A combretastatina A4 é uma pequena molécula orgânica da classe dos estilbenos, com ação anticarcinogênica, isolada das cascas da árvore sul africana conhecida como *Combretum caffrum* (Eckl. & Zeyh.) Kuntze, da família Combretaceae. Trata-se de uma espécie inserida na medicina tradicional Zulu (PETTIT, 1988).

A colchicina, um protoalcalóide¹, foi o primeiro agente desestabilizador da tubulina a ser descoberto e diferencia-se dos alcaloides derivados da vinca (*Catharanthus roseus* L.) e dos taxoides (*Taxus brevifolia*), devido sua capacidade de

¹Os protoalcaloides são compostos que possuem grupamento amina em cadeia lateral ao invés de átomo de nitrogênio no sistema heterocíclico – heteroátomo – como os alcaloides.

atuar na rede vascular que irriga o tumor. Ambas possuem aplicação terapêutica limitada devido a elevada toxicidade, assim, o estudo de novos compostos estruturalmente relacionados à colchicina e combretastatina para a descoberta de antineoplásicos que sejam terapeuticamente úteis e pouco citotóxicos é extremamente atraente (FRAGA, 2015).

2.2. ATIVIDADE ANTITUMORAL

A fisiopatologia de todos os cânceres envolve o mau funcionamento de genes que controlam o crescimento, a divisão e morte celular. As novas gerações de drogas

antineoplásicas afetam os sinais que promovem ou regulam o ciclo celular, fatores de crescimento e seus receptores, caminhos de transdução de sinal e caminhos que afetam o reparo e a apoptose do DNA em vez de direcionar a síntese direta do DNA (DAS; MANNA, 2016).

Os antineoplásicos são os agentes que podem promover a citotoxicidade de células com crescimento anormal. A atividade citotóxica de alguns compostos está relacionada à inibição de transportadores de elétrons, desacoplamento de fosforilação oxidativa, geração de ERO's, formação de adutos de proteínas (especialmente com grupos de enzima SH) e danos ao DNA (MORAES *et al.*, 2014).

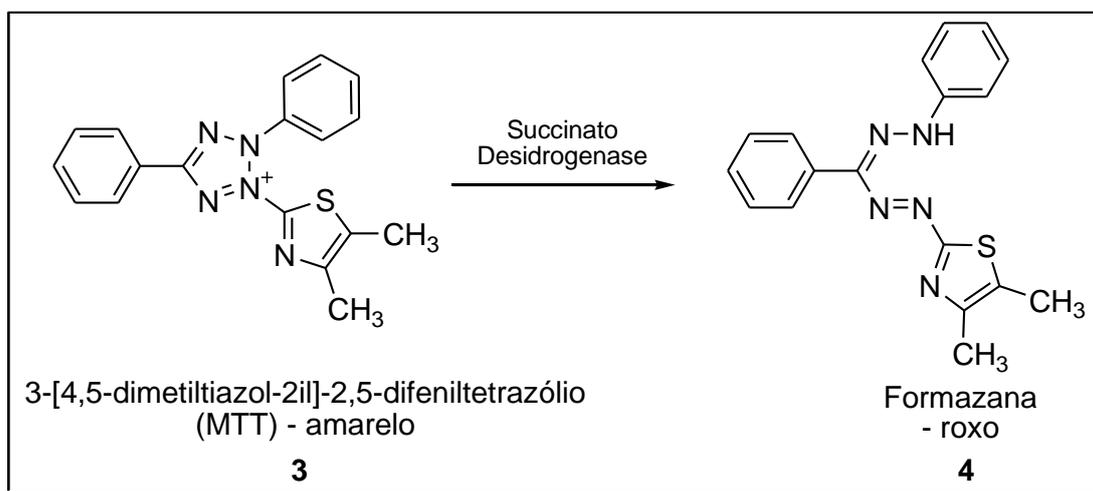
Os derivados de chalcona de diversas arquiteturas químicas são bastante significativos na descoberta de drogas anticâncer e, portanto, estão no centro das atenções dos “caçadores de drogas” (DAS; MANNA, 2016).

Para determinação da atividade antitumoral dos antineoplásicos em estudo emprega-se métodos colorimétricos que quantificam a proliferação celular de células em meios de cultura. São métodos rápidos e baratos (BETANCUR-GAVIS *et al.*, 1999). Entre os métodos empregados o teste do MTT é bastante utilizado.

2.2.1. Teste de MTT

Um dos ensaios colorimétricos para a avaliação de proliferação celular ou citotoxicidade mais comumente utilizados na atualidade é o teste de MTT descrito por Mosmann (1983). O teste de MTT é um método desenvolvido para avaliar a viabilidade celular através da verificação da atividade de uma enzima mitocondrial, a succinato desidrogenase. Trata-se de um teste baseado no uso do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (**3**), em que este é reduzido apenas por mitocôndrias viáveis e pode ser lido em um espectrofotômetro de varredura múltiplos (leitor de ELISA). A redução do MTT, de cor amarelada, a azul/roxo de formazana (**4**) (Esquema 1) ocorre apenas em células viáveis, sendo sua densidade diretamente proporcional ao número de células presentes. É um ensaio versátil e quantitativo.

Esquema 1 – Redução do MTT por enzimas mitocondriais



Fonte: adaptado de Mosmann (1983).

2.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As ERO's, do inglês "*Reactive Oxygen Species*" – ROS, são um importante sinal regulatório para a apoptose celular e sua função na ativação mitocondrial atua como um gatilho para a apoptose oferecendo uma base poderosa para a terapia do câncer (RALPH *et al.*, 2010). Assim, moléculas que possuem atividade antioxidante comprovada são alvos para novos estudos que possam comprovar a atividade antineoplásica.

Os antioxidantes são os agentes que podem inibir ou atrasar a oxidação de um substrato oxidável em uma reação em cadeia. Chalconas pertencem à maior classe de metabólitos secundários de plantas e, em muitos casos, atua em mecanismos de defesa neutralizando ERO's para sobreviver e prevenir as plantas de danos celulares por micro-organismos, insetos e herbívoros (CHAVAN *et al.*, 2016).

A atividade antioxidante de compostos naturais está relacionada a vários mecanismos diferentes, como a remoção de oxigênio singleto, doação de hidrogênio, quelação de íons metálicos e atuando como substrato para radicais livres, como o superóxido e o hidróxido, através de sua eliminação (CHAVAN *et al.*, 2016).

Os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido (ROO^{\cdot}), alcóxido (RO^{\cdot}), hidroxila (HO^{\cdot}) e óxido nítrico (NO^{\cdot}) são ERO's produzidos no corpo humano e estão envolvidas na produção de energia, no sistema imunológico, na diferenciação celular e na biossíntese de compostos importantes, mas também induzem danos à membrana, oxidação das bases nitrogenadas do DNA, quebras de cadeia de DNA, aberrações cromossômicas e alterações proteicas que leva ao surgimento de diversas patologias. O sistema antioxidante corporal e a

formação de ERO's estão em equilíbrio no corpo e o desequilíbrio resulta em danos às células, o chamado estresse oxidativo, que leva ao surgimento de diversas patologias, entre elas o câncer (SIVAKUMAR; PRABHAKAR, 2011).

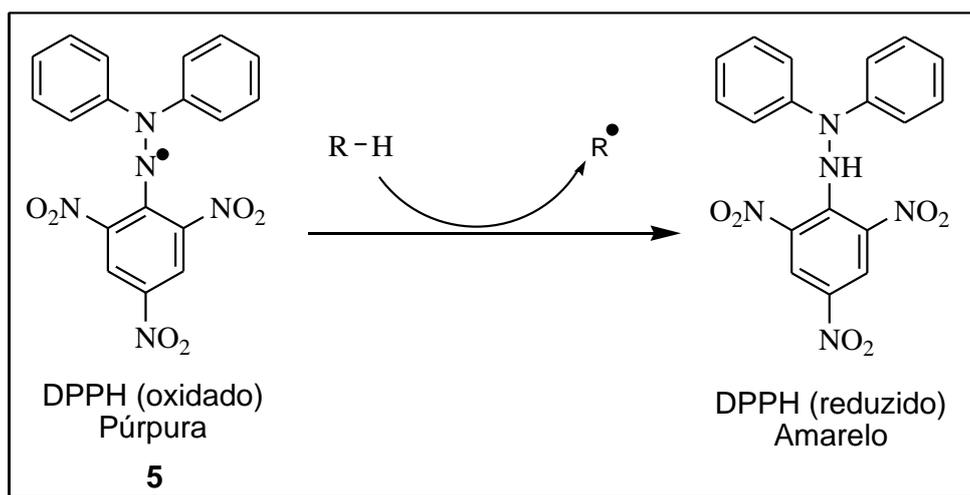
A atividade antioxidante pode ser determinada por vários métodos entre eles a captura dos radicais de peroxila e/ou hidroxila, captura de radical orgânico (como o sequestro de DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios, voltametria cíclica, entre outros (ARUOMA, 2003).

2.3.1. Método de Sequestro de DPPH

O método por sequestro de DPPH caracteriza-se por avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (5). O radical livre de DPPH• é bastante conhecido por caracterizar-se como um radical orgânico estável e tem muitas vantagens, tais como uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade, simplicidade e viabilidade (DENG; CHENG; YANG, 2011).

O principal mecanismo para o método DPPH• envolve a transferência de elétron ou próton (Esquema 2) para o radical a fim de estabilizá-lo. O radical DPPH• tem sua absorção máxima em espectro UV em 517 nm e quando este composto recebe um elétron ou um próton de um agente antioxidante ou de um radical livre, para se tornar um composto mais estável, resulta em perda de absorbância, passando de violeta (forma livre) para amarelo (forma conjugada) (DENG; CHENG; YANG, 2011).

Esquema 2 – Transferência de hidrogênio para o radical de DPPH



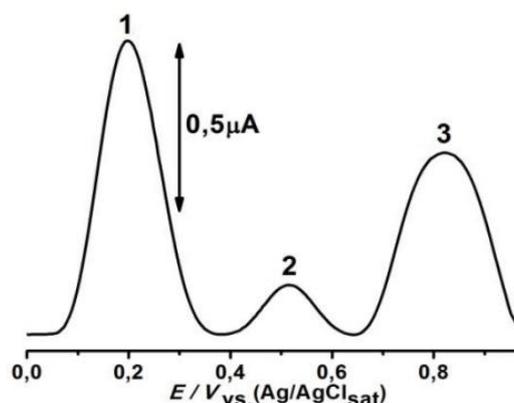
2.3.2. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

A RPE (EPR, do inglês “*electron paramagnetic resonance*”) é uma técnica espectroscópica para detecção de espécies que contém elétrons desemparelhados, ou seja, espécies paramagnéticas. A metodologia por RPE é semelhante a metodologia por sequestro de DPPH, no entanto, ao invés de um leitor de placas utiliza-se um espectrofotômetro Bruker EMX Plus para leitura das amostras, tornando o método mais sensível e confiável (LEAL, 2004).

2.3.3. Voltametria de Pulso Diferencial

A voltametria do pulso diferencial (DPV) é uma técnica seletiva e sensível, em que o potencial é alterado linearmente com o tempo (potencial de varredura linear) em intervalos de amplitude entre 10 e 100 mV por vários milissegundos. A diferença entre as correntes antes da aplicação do pulso e no final é registrada. A diferença entre estas duas correntes sobre o potencial aplicado passa pelo máximo, formando o pico de potencial (Figura 2, picos 1, 2 e 3) no gráfico de DPV. A posição do pico no eixo potencial é dada pela qualidade do analito e sua altura depende da concentração do analito, sendo diretamente proporcional a seu potencial redutor (SOCHOR *et al.*, 2013).

Figura 2 – Gráfico DPV



Fonte: Sochor *et al.* (2013).

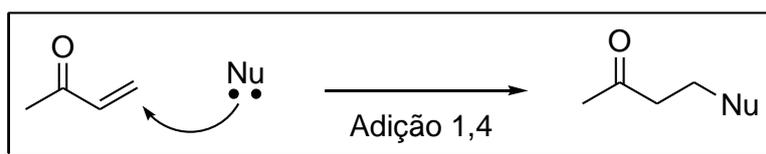
Um composto com potencial atividade antioxidante endógena mostra o primeiro pico de oxidação no gráfico de VPD antes de 0,5 V, uma vez que antioxidantes endógenos comprovados oxidam em potenciais em torno desse valor. Os compostos com o primeiro pico de oxidação após 0,5 V são considerados de baixo potencial antioxidante endógeno (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2017; LINO *et al.*, 2014).

A VPD, por ser um método eletroanalítico, apresenta algumas vantagens em relação as demais técnicas espectroscópicas, como limite de detecção baixo, custo de equipamento baratos e alta sensibilidade (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2017; LINO *et al.*, 2014). Além disso, não necessita de radicais, já que baseia nas propriedades elétricas do próprio composto em estudo. Isso torna o método seguro e confiável, apesar dos testes com DPPH demonstrarem a inibição do radical DPPH, os resultados por VPD demonstram quais dos compostos possuem potencial de exercer atividade antioxidante no organismo (GLÓD *et al.*, 2014.).

2.4. ADIÇÕES CONJUGADAS: A REAÇÃO DE MICHAEL

A reação de Michael, também conhecida como "adição 1,4" ou "adição conjugada" (Esquema 3), caracteriza-se pela adição de moléculas a um composto carbonílico α,β -insaturado. A reação de Michael é um dos métodos mais eficientes na síntese orgânica para a formação de ligações C-C e C-X (X = O, N, S, entre outros) e tem ampla aplicação sintética (HOUSE, 2000).

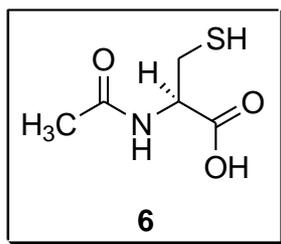
Esquema 3 – A reação de Michael



Fonte: adaptado de House (1972).

Diversas moléculas podem ser adicionadas ao sistema α,β -insaturado pela adição de Michael, como, por exemplo, a NAC (**6**) (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura da N-acetilcisteína (**6**)



Fonte: autora, ChemDraw 8.0 (2017).

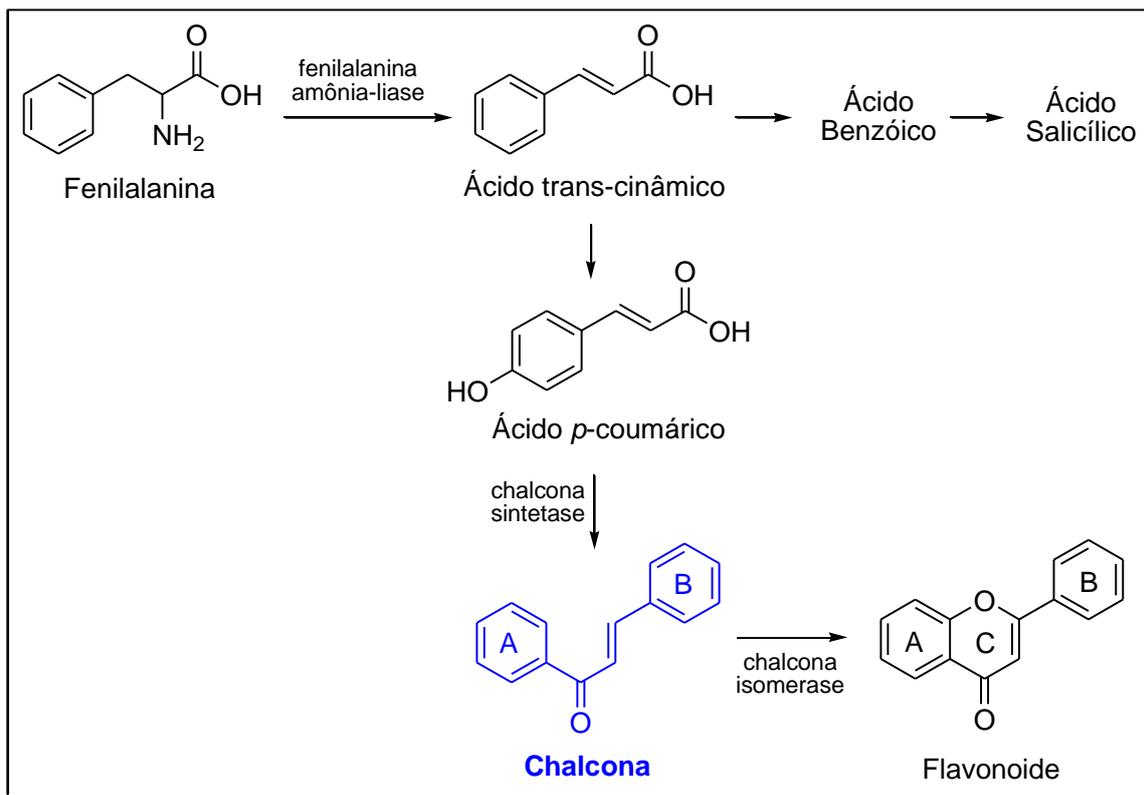
A NAC é uma molécula derivada do aminoácido cisteína e é comumente utilizada no tratamento de doenças respiratórias, na intoxicação por paracetamol e na prevenção da nefropatia induzida por contraste. Sua meia-vida é de aproximadamente 6 horas e 30% da droga é excretada pelos rins. Os efeitos secundários são leves e infrequentes. A administração direta de cisteína não é possível devido à sua biodisponibilidade limitada, toxicidade e insolubilidade (ASEVEDO *et al.*, 2014).

A adição de NAC é uma forma de avaliar o potencial das chalconas de ligarem-se às proteínas e o resultado pode ser extrapolado para proteínas endógenas. Uma vez que para exercer sua função em sistemas biológicos a chalconas precisam ligarem-se a proteínas endógenas (receptores) para exercer sua propriedade biológica, seja antioxidante ou antineoplásica ou ambas. No entanto, essa ligação precisa ser reversível para que depois de exercer sua função a molécula possa ser excretada.

2.5. CHALCONAS

As chalconas pertencem ao grupo dos flavonoides e são precursoras naturais destes importantes metabólitos secundários de plantas. São biossintetizadas (Esquema 4) a partir da via dos fenilpropanoides, oriundos de aminoácidos aromáticos como a fenilalanina, tirosina e unidades de acetato (CAMPOS, 2010; ZUANAZZI, 2001). Os flavonoides são polifenóis de relativa abundância nos vegetais e ocorrência ampla dentre as numerosas famílias botânicas. Possuem grande diversidade estrutural quando comparados a outros produtos de origem vegetal (CAMPOS, 2010; ZUANAZZI, 2001).

Esquema 4 – Rota de síntese dos compostos fenólicos derivados da via da fenilalanina amônia-liase



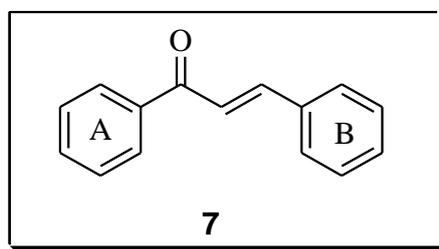
Fonte: adaptado de Taiz; Zeiger (2004).

Biologicamente, as chalconas também podem ser definidas como uma classe de compostos pertencentes à família das fitoalexinas produzidas durante a biossíntese de flavonóides. As fitoalexinas são metabólitos secundários de baixo peso molecular produzidas pelas plantas em resposta a diversos estresses ambientais, incluindo ataques de micro-organismos e insetos, radiação ultravioleta, variações na temperatura e na umidade. Denomina-se metabólito toda substância resultante de reações químicas celulares, quer seja para fins essenciais à vida como crescimento e desenvolvimento (metabólitos primários), quer seja para exercer papel na sobrevivência e adaptação do vegetal, como uma interação entre o organismo e o meio (metabólitos secundários) (CAMPOS, 2010).

As chalconas constituem os pigmentos amarelos das flores e podem ser encontradas em várias partes das plantas, como raiz, rizomas, cerne, brotos, folhas, flores e sementes. São comumente encontradas em espécies pertencentes aos gêneros *Angelica*, *Sophora*, *Glycyrrhiza*, *Humulus*, *Scutellaria*, *Parartocarpus*, *Morus* e *Artocarpus* (YADAV *et al.*, 2011).

O termo chalcona foi introduzido em 1899 por Kostanecki e Tabor (KOSTANECKI; TABOR, 1899). A chalcona (**7**), estruturalmente pertence a um grupo de compostos que possui um esqueleto 1,3-difenil-2-propen-1-ona correspondente a um flavonoide de cadeia aberta, sendo dois anéis aromáticos separados por um grupo cetona α,β -insaturado (-C(O)CH=CH-) apresentado na figura 4. Quimicamente, elas podem ser facilmente ciclizadas por adição de Michael na posição β do sistema carbonila para formar uma flavona. A existência da ligação dupla resulta em formas cis-trans isoméricas das chalconas na natureza, em que a forma trans é termodinamicamente mais estável (ØYVIND; KENNETH, 2006).

Figura 4 – Estrutura geral da chalcona (**7**)



Fonte: Øyvind & Kenneth (2006).

As chalconas são encontradas na forma de dímeros, oligômeros, adutos de Diels-Alder e conjugados de vários tipos. Substituições nos anéis aromáticos da estrutura básica também contribuem para a variação estrutural das mesmas (ØYVIND; KENNETH, 2006).

Trata-se de uma cetona aromática que forma o esqueleto central para uma variedade de compostos biologicamente importantes, que são conhecidos coletivamente como análogos chalcona (CHAVAN *et al.*, 2016).

2.5.1. Obtenção de Chalconas

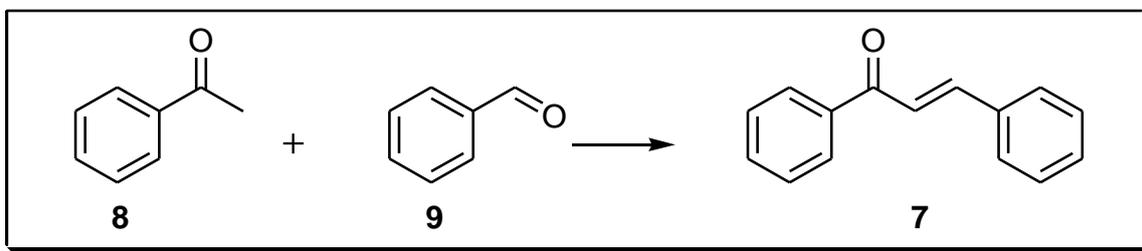
As chalconas podem ser obtidas de fontes naturais e sintéticas e existem diversos métodos para a síntese dessas moléculas, incluindo o método clássico de condensação de Claisen-Schmidt, as reações de Wittig e a acilação de Friedel-Crafts (CHOPRA, 2016).

A reação de Wittig, descoberta em 1954 por Georg Wittig, é uma das técnicas mais comuns utilizadas para a preparação estereosseletiva de alcenos. Em termos gerais, a reação permite a formação de um produto de alceno e um produto lateral de óxido de trifenilfosfina a partir da reação de um aldeído ou cetona e um "reagente de Wittig" (ileto de trifenilfosfônio). Em contraste com as reações de eliminação clássicas, a reação de Wittig fornece produtos com estruturas variáveis e bons rendimentos (SOLOMONS, 2002).

As chalconas podem ser sintetizadas por acilação direta de um fenol, pela reação de Friedel-Crafts. Nesta abordagem, o fenol torna-se o anel A enquanto o agente acilante fornece os carbonos do anel B e o sistema de três carbonos conjugados (CHOPRA, 2016).

A condensação de Claisen-Schmidt é a rota sintética mais simples e comum para obtenção de chalconas e caracteriza-se pela reação de acetofenonas aromáticas substituídas (**8**) com aldeídos aromáticos substituídos (**9**) (Esquema 5), permitindo a formação do sistema α,β -insaturado. A reação é realizada rotineiramente utilizando solução aquosa de hidróxido de sódio/potássio ou solução etanólico de etóxido de sódio a 50 ° C, durante várias horas (24h) de reação em refluxo (VOGEL, 1989; CHOPRA, 2016).

Esquema 5 – Reação de acetofenona (**8**) e benzaldeído (**9**) para formar a chalcona

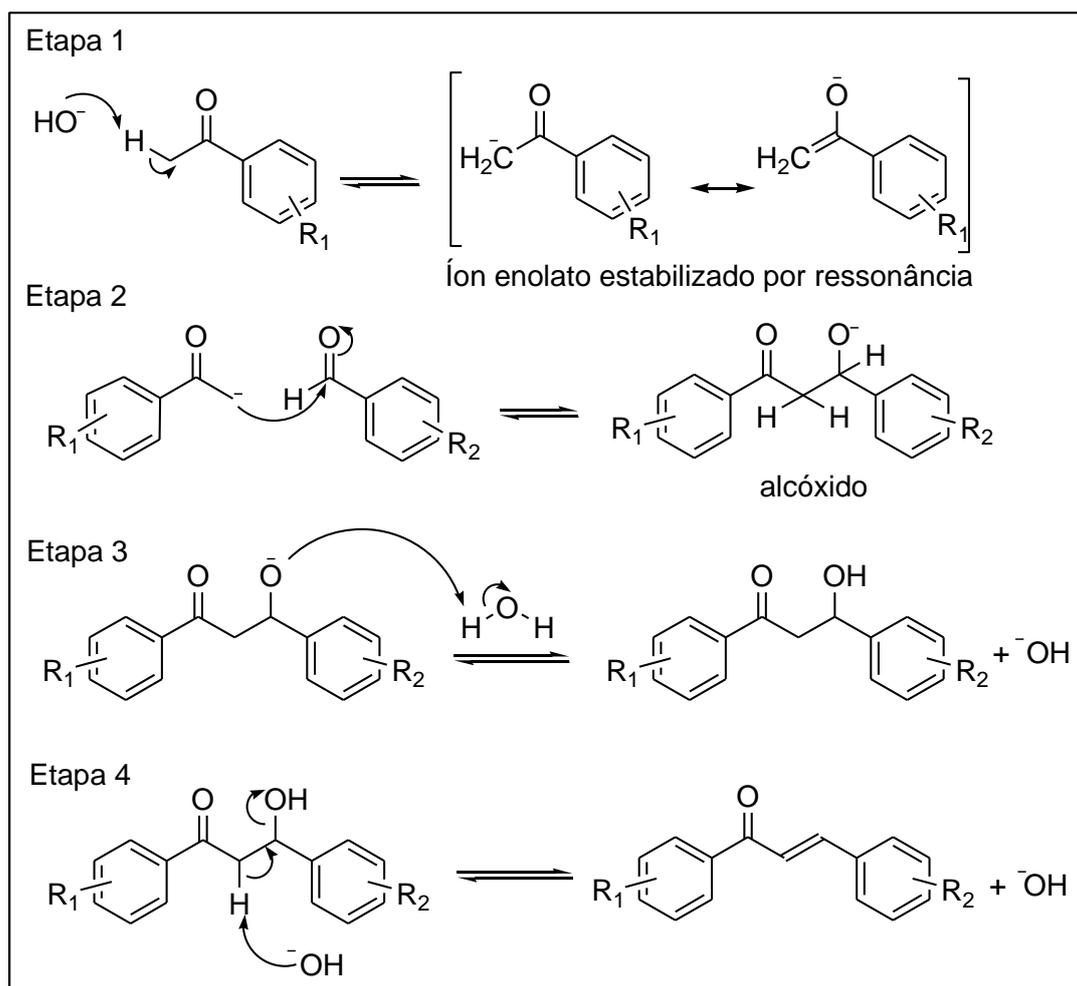


Fonte: adaptado de Chopra (1989).

As chalconas podem ser obtidas por condensação de Claisen-Schmidt via catálise ácida ou catálise básica. A síntese de chalconas via catalise básica ocorre em quatro etapas (Esquema 6). A primeira etapa é caracterizada pela catálise básica do NaOH, que desprotona um próton do carbono α da carbonila da acetofenona, formando o íon enolato.

O íon formado é estabilizado por ressonância. Na segunda etapa, o íon enolato reage como nucleófilo atacando o carbono carbonílico do aldeído aromático substituído, produzindo o alcóxido que na terceira etapa desprotona uma molécula de água para formar o aldol. Na quarta etapa, ocorre a remoção do hidrogênio α da carbonila, devido a sua acidez. Em seguida, ocorre a estabilização do produto final pela ressonância das duplas ligações conjugadas (CAREY; SUNDBERG, 2007; PATIL; GACCHE; KORBAD, 2010).

Esquema 6 – Mecanismo da reação de condensação aldólica via catálise básica

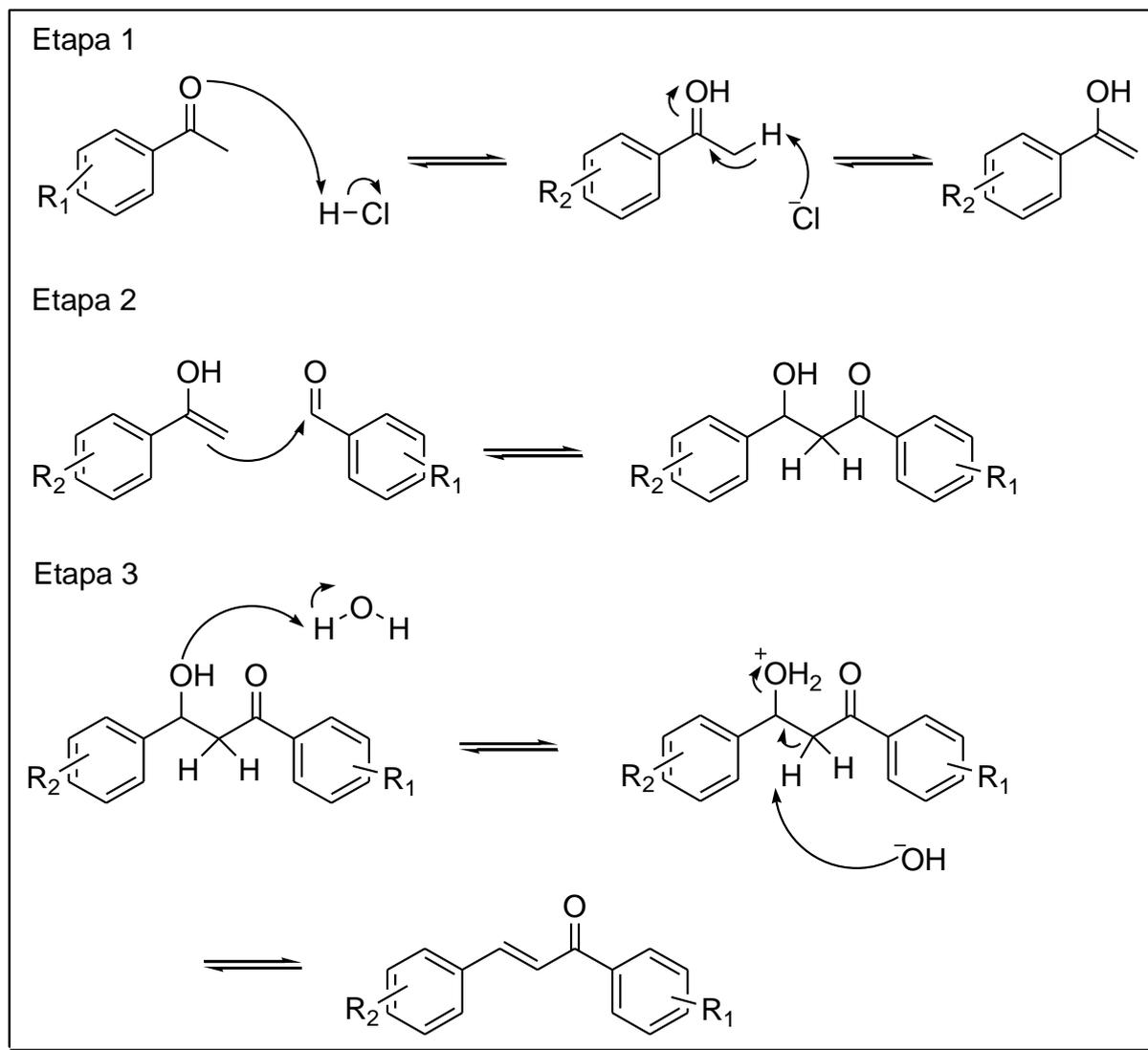


Fonte: adaptado de Carey; Sundberg (2007).

O mecanismo reacional via catálise ácida (Esquema 7) ocorre na presença de $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$. O HCl é gerado *in situ* pela reação do SOCl_2 com etanol absoluto, em seguida o oxigênio carbonílico desprotona o ácido gerado, formando o íon enolato, que se estabiliza por ressonância. O grupo carbonílico do aldeído é ativado para o ataque nucleofílico por meio da protonação do oxigênio, assim os elétrons da dupla ligação do enol se adicionam

ao carbânion formado. Em seguida ocorre a formação direta do aldol, levando remoção do hidrogênio α carbonila (CAREY; SUNDBERG, 2007).

Esquema 7 – Mecanismo da reação aldólica de chalconas via catálise ácida.



Fonte: adaptado de Carey; Sundberg (2007).

Variações da condensação de Claisen-Schimidt têm sido descritas, empregando-se ultrassom e reator de micro-ondas para diminuir o tempo de reação, diminuir o uso de solventes, bem como melhorar os rendimentos do produto final. Tais metodologias estão em consonância com a química verde (GO; WU; LIU, 2005; CHENG *et al.*, 2008).

2.5.2. Chalconas e Atividades Biológicas

Análogos de chalcona têm recebido atenção em virtude da grande variedade de ações farmacológicas descritas na literatura, como atividade bactericida (BANDGAR *et al.*, 2010), fungicida (SIVAKUMAR; KUMAR; DOBLE, 2009), antiviral (MALLIKARJUN; ECJHAO, 2005), antiprotozoária (LI *et al.*, 1995; RANDO *et al.*, 2010), inseticida (BITENCOURT; SANTOS; SOUZA, 2007), anti-helmíntica (DAS *et al.*, 2010), anti-inflamatória (BANDGAR; GAWANDE, 2010), inibição enzimática (NARJAFIAN *et al.*, 2010), antitumoral (SZLISZKA *et al.*, 2010), citotóxica (APONTE *et al.*, 2008), quimioprotetora (FOREJENIKOV *et al.*, 2005; WON *et al.*, 2005), dentre outras bio-atividades (DIMMOCK *et al.*, 1999), fazendo das mesmas, moléculas promissoras na busca de novos fármacos.

Estudos têm demonstrado que essas atividades biológicas são em grande parte atribuídas à porção olefínica ($-\text{HC}=\text{CH}-$) das chalconas e ao padrão de substituição nos anéis A e B por qualquer substituinte, podendo resultar em compostos com propriedades farmacológicas totalmente distintas (BANDGAR *et al.*, 2010).

2.5.2.1. Chalconas e Atividade Antineoplásica

A atividade antineoplásica dos derivados de chalcona pode ser devido a alterações moleculares nas células cancerígenas, como a indução de apoptose e dano mitocondrial, inibição da angiogênese, inibição da tubulina, inibição de cinases e indução da atividade de proteína de efluxo de drogas e possui várias vantagens, como a fraca interação com DNA e baixo risco de mutagenicidade. A literatura revela que as chalconas naturais e sintéticas são importantes por provocar atividade citotóxica e apoptótica, sendo bem documentadas (DAS; MANNA, 2016).

Vários mecanismos de ação são propostos para a atividade antitumoral de moléculas, como inibição da angiogênese (NAM *et al.*, 2003), indução do desacoplamento mitocondrial, colapso da membrana mitocondrial (SABZEVARI *et al.*, 2004) e interrupção do ciclo celular (DUCKI *et al.*, 1998; LAWRENCE *et al.*, 2000; FU *et al.*, 2004; WON *et al.*, 2005). As chalconas também apresentam atividade antimetabólica, ligando-se no sítio de ligação da colchicina à tubulina, provocando a inibição da polimerização e interrupção da mitose (EDWARDS *et al.*, 1990; DUCKI *et al.*, 1998).

Winter e colaboradores (2010) demonstraram a atividade de análogos de chalconas contra linhagens de células leucêmicas, pela indução da apoptose através da ativação da via das proteínas caspases, que são proteínas responsáveis por sinalizar a apoptose e

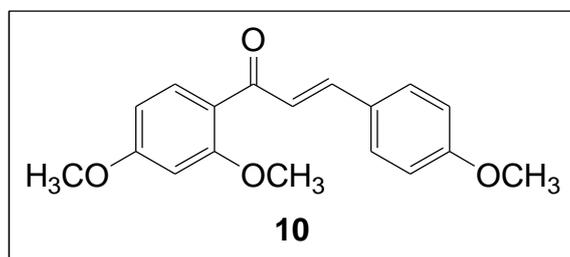
clivar substratos levando à condensação e fragmentação nuclear, externalização de fosfolipídios de membrana que sinalizam as células a serem fagocitadas por macrófagos.

Shen e colaboradores (2007) avaliaram a atividade da chalcona sem substituições no anel A e B contra células de câncer de bexiga e próstata evidenciando que a mesma induz a apoptose das células cancerígenas através da redução na expressão das ciclinas A e B1, aumento da expressão das proteínas proapoptóticas e diminuição na expressão de proteínas antiapoptóticas e ativação do fator de nuclear kappa B (NF-κB), onde sua regulação incorreta está ligada ao cancro.

A associação de chalconas metoxiladas com atividade antimitótica é extensamente discutida na literatura devido a semelhança das mesmas com inibidores conhecidos da polimerização da tubulina, como a colchicina e a combretastatina A-4 (Figura 1, página 29), que apresentam vários grupos metoxilas na estrutura (EDWARDS *et al.*, 1990; DUCKI *et al.*, 1998; LAWRENCE *et al.*, 2000; LEBLANC *et al.*, 2005).

Um exemplo de chalcona aprovada para uso na clínica médica é a (*E*)-1-(2,4-dimetoxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**10**) (Figura 5) com atividade colerética e/ou hepatoprotetora e vendida com as denominações de Auxibilina® ou Megalip® (NI *et al.*, 2004), essa molécula possui três substituições metoxilas, sendo duas no anel A e uma no anel B.

Figura 5 – Estrutura do fármaco Auxibilina® (**10**)



Fonte: Ni *et al.* (2004).

2.5.2.2. Chalconas e Atividade Antioxidante

O mecanismo de ação da atividade antioxidante é proposto pela ocorrência da transferência de um único elétron para estabilizar o radical DPPH ou pela transferência de próton (SIVAKUMAR; PRABHAKAR, 2011). Assim, compostos com elétrons desemparelhados e com substituintes com hidrogênios livres (-OH, -NH₂, -CH₃, -OCH₃ entre outros) são alvos de estudo para atividade antioxidante.

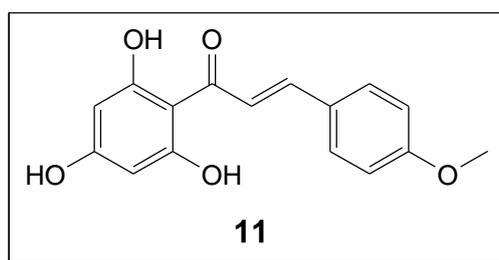
Yayli e colaboradores (2005) evidenciaram que grupos hidroxilas e metoxilas de chalconas sintéticas estão relacionados a atividade antioxidante e Yayli e colaboradores (2006) evidenciaram que azochalconas com grupo nitro nas posições *orto*, *meta* e *para* são potenciais agentes antioxidantes devido a presença de próton livre.

Alam e colaboradores (2014) investigaram a atividade antioxidante de derivados de chalconas, obtidos da reação da 4-acetilpiridina com benzaldeídos substituídos, e observaram uma porcentagem de inibição do radical de DPPH para 3-(2,4-diclorofenil)-1-(piridine-4-il) prop-2-em-1-ona de 16% a uma concentração de 10 µg/mL e de 34% a uma concentração de 20 µg/mL.

Sivakumar e Prabhakar (2011) avaliaram a atividade antioxidante de análogos de chalconas, entre eles o 3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona, obtendo uma porcentagem de inibição do radical livre de DPPH de 15,55% a uma concentração de 50 µg/mL.

Sokmen e Khan (2016) avaliaram a atividade antioxidante de derivados de chalcona, obtendo uma concentração de 22 µg/mL para inibir 50 % do radical livre de DPPH para o derivado 1-(2,4,6-trihidroxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**11**) (Figura 6), que contém três grupos hidroxilas e um grupo metoxila na molécula (SOKMEN; KHAN, 2016).

Figura 6 – Estrutura da 1-(2,4,6-trihidroxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**11**)



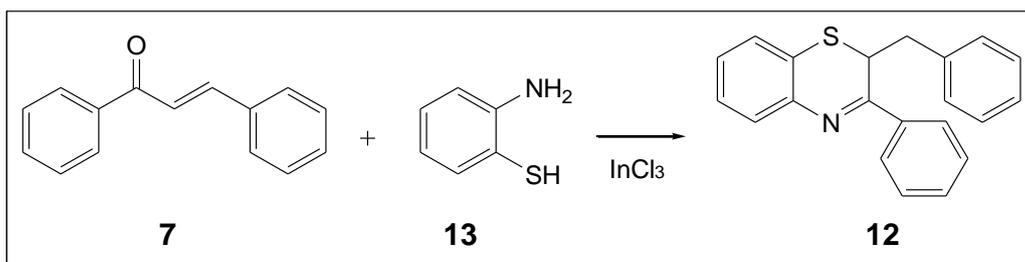
Fonte: Sokmen; Khan (2016).

2.5.2.3. Chalconas e a Adição de Michael

A formação de ligações covalentes é uma das etapas mais importantes para o design de moléculas com propriedades antitumorais (AHN; SOK, 1996). E essa ligação pode ser formada pela adição de Michael, uma vez que chalconas podem atuar como aceptores de Michael em sistemas biológicos, e assim, atuar como agentes antineoplásicos.

Sokmen and Khan (2016) descrevem uma abordagem inovadora e rápida para a síntese de 2-benzil-3-fenil-2H-benzo-[1,4]-tiamina (**12**), a partir de o-aminotiofenol (o-ATP) (**13**) e 1,3-difenil-2-propen-1-ona (**7**) utilizando cloreto de índio III como catalisador pela adição de Michael, como exemplificado no esquema 8 (SOKMEN; KHAN, 2016).

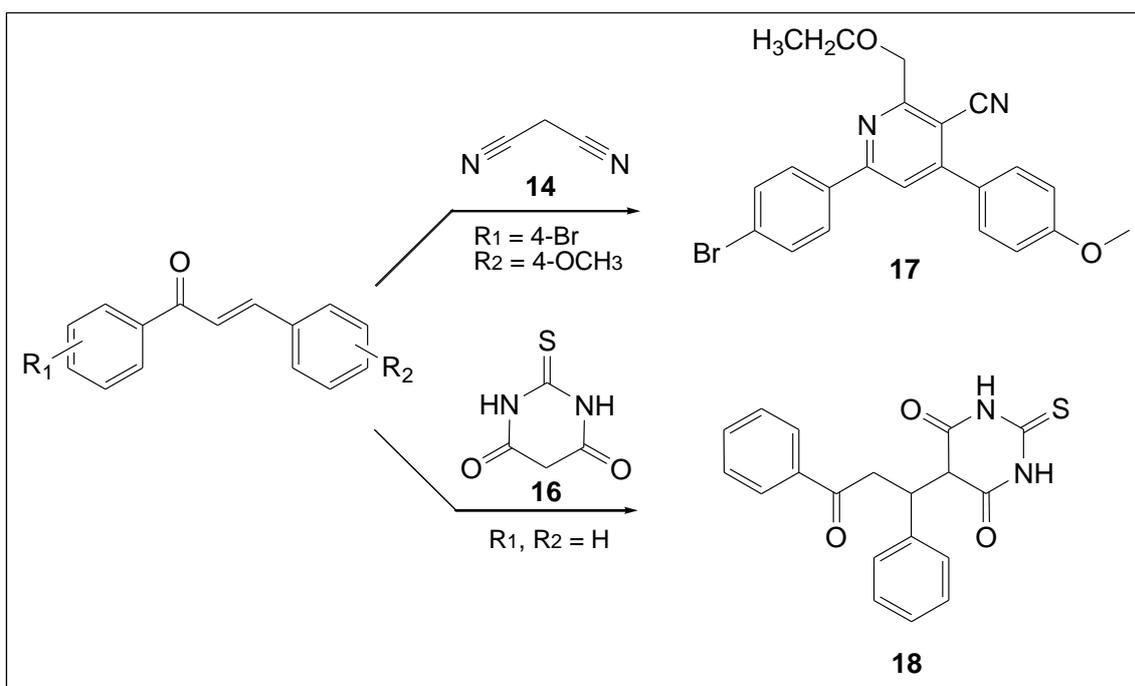
Esquema 8 – Adição de Michael de *o*-aminotiofenol (**13**) a chalcona (**7**)



Fonte: Sokmen; Khan (2016).

Al-Jaber e colaboradores (2012) também descreveram que a adição de Michael de malononitrilo (**14**) a 1-(4-bromofenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**15**) na presença de NaOH/EtOH e adição do ácido tiobarbitúrico (**16**) a 1,3-difenil-2-propen-1-ona (**7**) na presença de trietilamina (TEA) gerou 6-(4-bromo-fenil)-2-etoxi-4-(4-metoxi-fenil)-nicotino-nitrilo (**17**) e 5-(3-oxo-1,3-difenil-propil)-2-tioxi-di-hidro-pirimidina-4,6-diona (**18**), respectivamente, ambas as estruturas confirmadas por IV, a reação está representada no esquema 9.

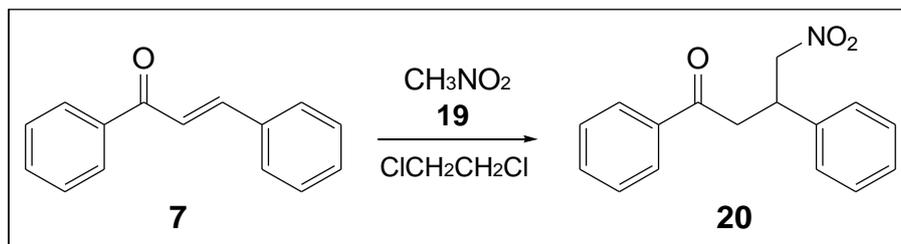
Esquema 9 – Adição de Michael de malononitrilo (**14**) e ácido tiobarbitúrico (**16**)



Fonte: Al-Jaber *et al* (2012).

Yang e Du (2010) por sua vez descreveram o desenvolvimento de uma série de organocatalisadores quirais à base de squaramide para a adição enantioselectiva de Michael de nitroalcanos a 1,3-difenil-2-propen-1-ona, obtendo produtos com rendimentos elevados. A adição de nitrometano (**19**) gerou a 4-nitro-1,3-difenilbutan-1-ona (**20**), com 97% de rendimento (Esquema 10).

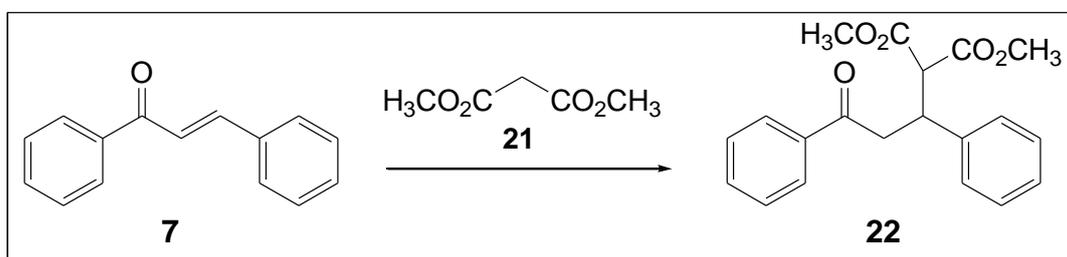
Esquema 10 – Adição de Michael de nitrometano (**19**) a chalcona (**7**)



Fonte: Yang; Du (2010).

Cao e colaboradores (2016) descreveram a adição assimétrica de Michael de Malonato de Metila (**21**) a 1,3-difenil-2-propen-1-ona na presença de derivados de L-Aminoácidos, obtendo o produto 2-(3-oxo-1,3-difenilpropil)-malonato (**22**) com 97% de rendimento (Esquema 11).

Esquema 11 – Adição de Michael de Malonato de Metila (**21**) a chalcona (**7**)



Fonte: Cao *et al.*, (2016).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Sintetizar, caracterizar e avaliar o potencial antitumoral e antioxidante de chalconas e derivados.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar chalconas por meio de reações de condensação aldólica de Schmidt de forma direta;
- Purificar e caracterizar os compostos sintetizados por métodos cromatográficos (CCD e CG/EM) e espectroscópicos (IV e RMN);
- Determinar a Atividade Antitumoral pelo teste de MTT;
- Determinar a Atividade Antioxidante via sequestro de DPPH por UV-Vis e RPE e voltametria de pulso diferencial (DPV);
- Avaliar a estabilidade das chalconas sintetizadas por Termogravimetria;
- Avaliar a adição de NAC a dupla ligação das chalconas.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. REAGENTES UTILIZADOS NA SÍNTESE

Os reagentes empregados na síntese dos compostos encontram-se descritos na tabela 1. Todos reagentes foram utilizados sem prévia purificação.

Tabela 1 – Fórmula molecular (FM), fabricante e grau de pureza dos reagentes utilizados.

Reagentes	FM	Fabricante/Grau de Pureza
2-furilmetilcetona	C ₈ H ₆ O ₂	Fluka, 99%
3,4,5-trimetoxibenzaldeído	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	Sigma Aldrich, 99%
3,5-dimetoxibenzaldeído	C ₉ H ₁₀ O ₃	Sigma Aldrich, 99%
3-metoxi-4hidroxibenzaldeído	C ₇ H ₇ NO	Sigma Aldrich, 99%
4-aminoacetofenona	C ₈ H ₉ NO	Sigma Aldrich, 99%
4-etilbenzaldeído	C ₉ H ₁₀ O	Sigma Aldrich, 98%
4-metilacetofenona	C ₉ H ₁₀ O	Sigma Aldrich, 96%
4-metilbenzaldeído	C ₈ H ₈ O	Sigma Aldrich, 97%
4-metoxiacetofenona	C ₉ H ₁₀ O ₂	Sigma Aldrich, 99%
4-nitroacetofenona	C ₈ H ₉ NO	Sigma Aldrich, 98%
4-nitrobenzaldeído	C ₇ H ₅ NO ₃	Sigma Aldrich, 98%
Acetofenona	C ₈ H ₈ O	Sigma Aldrich, 99%
Benzaldeído	C ₇ H ₆ O	Sigma Aldrich, 99%

4.2. PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE

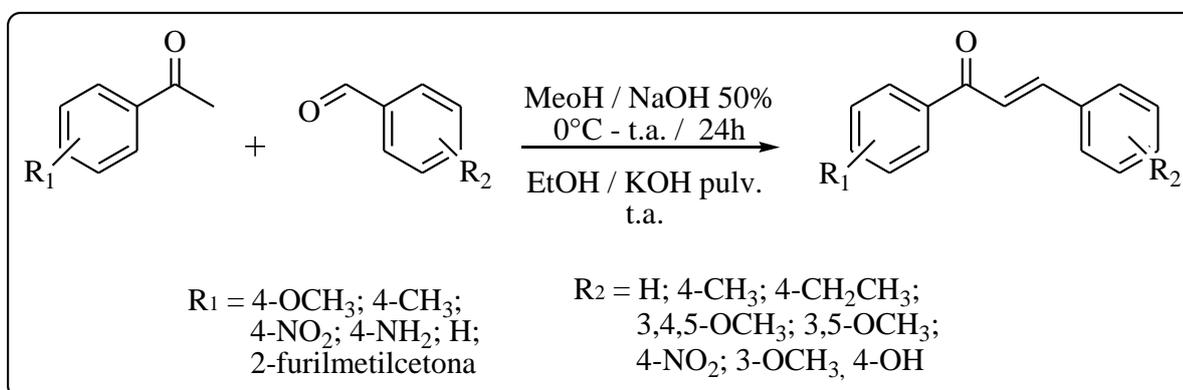
Os compostos foram sintetizados por Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt através da reação direta de acetofenona com benzaldeído em quantidade mínima de etanol de acordo com o método que vem sendo desenvolvido pelo professor Gilberto Aquino.

Primeiramente, foram adicionadas quantidades equimolares de acetofenonas e benzaldeídos em quantidade mínima de etanol apenas para solubilização dos reagentes, no caso de reagentes líquidos foi adicionado apenas 1 mL de etanol. Após solubilização foi adicionado um excesso de hidróxido de potássio (KOH) pulverizado.

Após adição de KOH, o sistema foi agitado manualmente até formação do precipitado. A reação foi analisada por CCD e o precipitado formado foi filtrado à vácuo e lavado com água destilada gelada para remoção total do KOH e etanol gelado para remoção de materiais de partida e recristalizado em etanol, quando necessário. O sólido obtido foi analisado por CG-FID para verificar a pureza e caracterizado através de métodos espectrométricos, CG/EM, IV e RMN para determinação da estrutura.

Os dados qualitativos e quantitativos da síntese estão descritos no anexo 1. Os compostos foram sintetizados de acordo com a rota sintética descrita no esquema 12 pela reação de uma acetofenona aromática substituída (R_1) com um benzaldeído aromático substituído (R_2).

Esquema 12 – Rota sintética geral para a síntese dos compostos

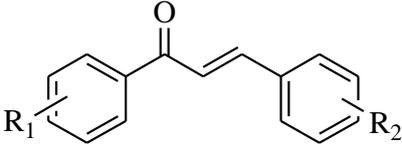


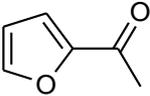
Fonte:

autora, ChemDraw 8.0 (2017).

As estruturas dos compostos sintetizados (**7a** a **7k**) estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Compostos sintetizados



Compostos	R ₁	R ₂
7a	4-OCH ₃	3-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7b	4-OCH ₃	3-OCH ₃ ; 4-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7c	4-CH ₃	3-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7d	-	4-CH ₃
7e	-	4-NO ₂
7f	-	3-OCH ₃ ; 4-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7g	-	3-OCH ₃ ; 4-OH
7h	4-NH ₂	3-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7i	4-NH ₂	3-OCH ₃ ; 4-OCH ₃ ; 5-OCH ₃
7j	4-NO ₂	3-OCH ₃ ; 4-OH
7k		4-CH ₂ CH ₃

A faixa de fusão dos compostos sintetizados foi determinada segundo protocolos da Farmacopeia Brasileira com um aparelho Microquímica MQAPF-301 e não foram corrigidos. A faixa de fusão de uma substância é o intervalo de temperatura compreendido entre o início em que a substância começa a fluidificar-se e o término da fusão (que é evidenciado pelo desaparecimento da fase sólida) (ANVISA, 2010).

4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os compostos foram caracterizados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), CG/EM, IV e RMN.

4.3.1. Análise por CCD

Cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60, Alugram® Xtra Sil G, com indicador UV₂₅₄ (20x20cmx0,20mm) da Macherey-Nagel foram utilizadas para monitoramento das reações de síntese dos compostos, utilizando como fase móvel, o sistema de solventes hexano/acetato de etila (90:10; 80:20, 70:30 e 60:40). As manchas foram visualizadas utilizando câmera de radiação na região do UV (254 e 360 nm) e/ou cuba de iodo. Solução de vanilina 5% em ácido sulfúrico foi utilizada como solução reveladora.

4.3.2. Caracterização por CG/EM

Para caracterização dos compostos e verificação da pureza foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas (CG/EM), marca Shimadzu, modelo QP2010 Ultra, equipado com coluna capilar CBP-5 (30 m de comprimento x 0,25 µm de diâmetro interno x 0,25 mm de espessura do filme), volume de injeção de 1,0 µL, no modo Split e Hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura do injetor foi mantida em 280°C e do detector da fonte de ionização em 310°C. A temperatura inicial do forno foi de 100 °C, mantida por 2 minutos, seguida por uma rampa de aquecimento de 30 °C/min até 300 °C, mantida por 10 min. A espectroteca NIST11 / 2011 / EPA / NIH para verificação dos picos das massas dos compostos obtidos no EM foi utilizada. Esse método foi utilizado para todos os compostos sintetizados.

4.3.3. Caracterização por IV

Para caracterização dos compostos a espectroscopia na região de absorção do infravermelho foi utilizada. A leitura foi realizada no espectrômetro PerkinElmer, modelo Frontier FT-IR. A análise foi realizada por 32 varreduras na região de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹ (2,5 µ a 25µ) em pastilha de KBr.

4.3.4. Caracterização por RMN

Para caracterização dos compostos a RMN foi utilizada. Os espectros de ^1H e ^{13}C foram gerados pelo Espectrômetro Bruker 600 MHz (Central Analítica do Instituto de Química/UNB), em clorofórmio deuterado (CDCl_3) com tetrametilsilano (TMS), e espectrômetro Bruker 500 MHz (Departamento de Química/UFG), em clorofórmio deuterado. A visualização dos espectros foi realizada por meio do programa MNova 12.0.0.

4.3.5. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica dos compostos **7a** a **7k** foi realizada em TGA/DTG, modelo Pyris 1, PerkinElmer em atmosfera de oxigênio e nitrogênio com vazão de $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a fim de avaliar a estabilidade dos compostos frente a essas atmosferas. Aproximadamente 3 mg de amostras foram colocadas em cadinhos de platina no TGA e uma varredura de aquecimento de 25 a $600 \text{ }^\circ\text{C}$ a $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}^{-1}$ foi realizada para cada amostra. O método foi adaptado de Barakat e colaboradores (2015).

4.4. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS COMPOSTOS

Os compostos sintetizados, após purificação, foram submetidos a ensaios de atividade antitumoral, atividade antioxidante e adição conjugada de NAC a dupla ligação.

4.4.1. Atividade Antitumoral

A citotoxicidade *in vitro* dos compostos foi verificada utilizando-se 3 linhagens de células tumorais como *screening* inicial para determinação do potencial antitumoral. As análises foram realizadas no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, sob coordenação da Prof Dr Claudia do Ó Pessoa.

As linhagens tumorais utilizadas, OVCAR-8 (adenocarcinoma de ovário - humano), PC-3M (carcinoma de próstata metastático - humano); e NCI-H358M (carcinoma de pulmão bronquioalveolar – humana) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640, suplementadas com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Os compostos foram diluídos em DMSO puro estéril, na concentração estoque de 1 mg/mL. As amostras foram testadas em diluição seriada, sendo a maior concentração de 5 µg/mL. E o método colorimétrico 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazólio (MTT) descrito por Mosmann (1983) representado no esquema 13 foi utilizado.

Esquema 13 – Método colorimétrico 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazólio (MTT)



Fonte: adaptado de Mosmann (1983).

Para o teste de MTT as células foram plaqueadas na concentração de $0,7 \times 10^5$ cél/mL. Em seguida foram adicionadas as amostras numa concentração variando de 0,001 a $5\mu\text{g/mL}$ e as placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO_2 a 37°C . Após este período de incubação, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados $150\ \mu\text{L}$ da solução de MTT (sal de tetrazólio), e as placas foram incubadas por mais 3h. A absorbância foi lida, após dissolução do precipitado com $150\ \mu\text{L}$ de DMSO puro, em leito de Elisa a 595nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa GraphPad Prism 7.

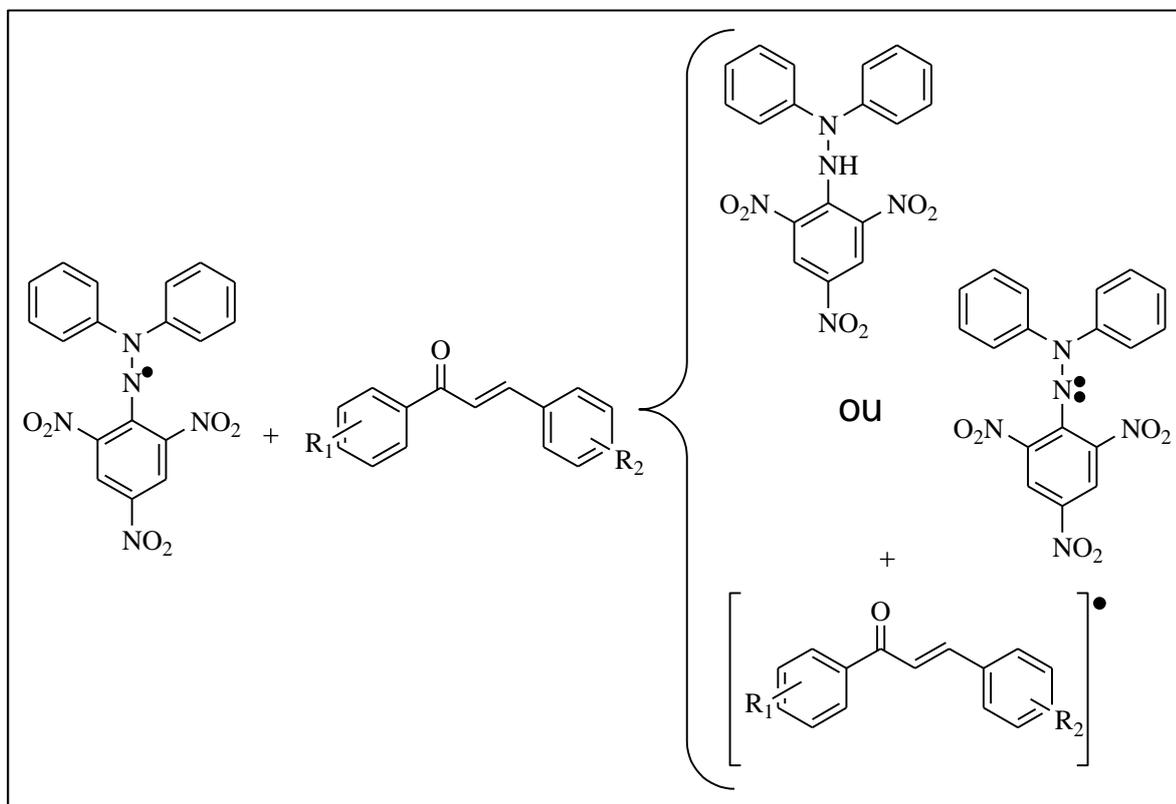
4.4.2. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via UV-Vis

O método foi adaptado de Sivakumar; Prabhakar (2011) e baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância.

Para o desenvolvimento do método foi adaptada uma sala no laboratório de instrumental da UEG com isolamento de luz utilizando uma lona preta. Todo experimento foi realizado no escuro com auxílio de uma luz vermelha e para o transporte das placas para leitura papel alumínio foi utilizado.

A reação dos compostos com o radical DPPH está representada no esquema 14, que pode ocorrer pela doação de um radical hidrogênio ou um elétron para o radical DPPH a fim de estabilizá-lo.

Esquema 14 – Reação dos compostos com o radical DPPH



Fonte: autora, ChemDraw 8.0 (2017).

As amostras dos compostos foram diluídas a partir de uma solução estoque para concentrações finais de 250, 200, 150 e 100 μM em metanol P.A. e um branco contendo amostra diluída em metanol P.A. foi preparado para análise da absorção das amostras. 100 μL do reagente DPPH 0,1 mM e 300 μL das amostras em placas de 96 poços foram adicionados, a solução foi homogeneizada e mantida em repouso protegidas da luz a temperatura ambiente de 25 $^{\circ}\text{C}$. Após 1 hora as absorbâncias foram lidas em leitor de microplacas da BioTek, modelo Epoch, a 517 nm. A partir dos resultados obtidos a porcentagem de atividade antioxidante, ou sequestradora de radicais livres, foi determinada utilizando a curva de calibração construída com DPPH. O ensaio foi realizado em triplicata.

Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do DPPH usando o programa GraphPad Prism 7.

4.4.3. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via RPE

As amostras para leitura por RPE foram preparadas de acordo com o procedimento pelo método de UV-Vis, adaptado de Sivakumar; Prabhakar (2011). Todas as amostras após 1 hora de incubação com a solução de DPPH foram armazenadas em nitrogênio líquido até as medições. As medições foram realizadas em um espectrômetro Bruker (Bruker EMX Plus, Alemanha), equipado com uma cavidade de alta sensibilidade de banda X (9,4 GHz) com cavidade de alta sensibilidade 4119HS. As configurações instrumentais foram de largura de varredura 100 G, tempo de varredura 5 s, campo de modulação 1 G, frequência de modulação 100kHz, potência 0,6 mW. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente de 25 °C e em triplicata.

Construiu-se uma curva de calibração utilizando o radical DPPH diluído em metanol para as concentrações de 375, 250, 125 e 0 µM. Nesta faixa de concentração, obteve-se uma curva de calibração linear e todos os dados registrados para os compostos estavam dentro desse intervalo de calibração.

4.4.4. Atividade Antioxidante por VPD

As medidas eletroanalíticas foram realizadas em um potenciostato µAutolab Tipo III® (Eco-Chemie B.V., Utrecht, Holanda) integrado com o software GPES 4.9®. O dispositivo foi ligado a uma célula eletroquímica de 2 mL em tampão fosfato (0.1 M e pH 7) com o sistema de eletrodo de referência de Ag/AgCl/KCl saturado.

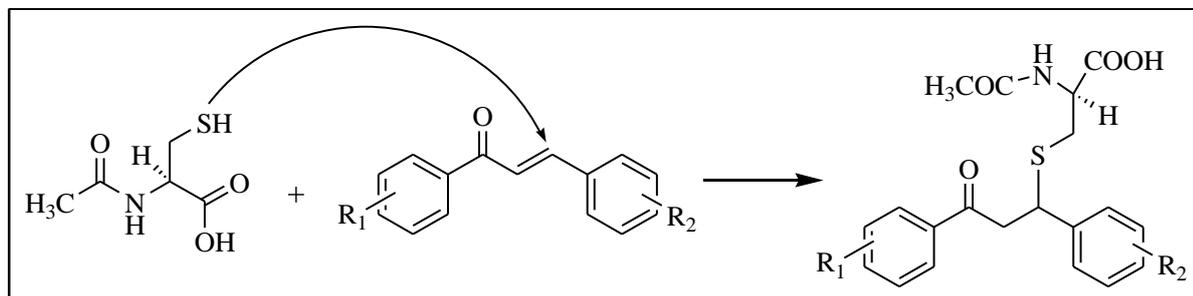
Todos experimentos foram feitos por DPV em estado sólido, que consiste na imobilização dos compostos por oclusão em pasta de carbono (5 mg de composto, 70 mg de grafite (Sigma) e 30 mg de óleo mineral/Nujol), com amplitude de pulso de 50 mV e velocidade efetiva de 10 mV / s.

4.4.5. Adição Conjugada: Reação Com N-Acetilcisteína

Ácido (5, 5-ditiobis)-2-nitrobenzóico (DTNB - Reagente de Ellman's) foi usado para determinar a porcentagem de ligação dos compostos (**7a** a **7k**) a N-Acetilcisteína. O método

foi adaptado de Maydt e colaboradores (2013). A adição conjugada da N-acetilcisteína aos compostos está representada no esquema 15.

Esquema 15 – Adição conjugada de N-acetilcisteína a chalconas



Fonte:

autora, ChemDraw 8.0, (2017).

Para a realização da adição da N-acetilcisteína o reagente de Ellman's (DTNB), a solução de N-acetilcisteína e a solução dos compostos (25 mM em DMSO) foi preparado. A solução de DTNB tamponada foi preparada em balão volumétrico de 250 mL pela adição de 1,125 g de NaCl; 0,025 g de DTNB; 2,108 g de Na₂HPO₄·7H₂O; 0,0625 g de KH₂PO₄ e água destilada (q.s.p.). Uma solução padrão de NAC a 20 mM foi preparada e diluída para 0,5 mM com tampão fosfato:metanol 1:1 (v/v, pH 9,1).

Uma solução contendo 1 mL de NAC 0,5 mM e 20 µL da solução do composto de chalcona 25 mM foram preparadas e incubadas em estufa a mistura em tubos de ensaio a 37°C por 70 min sob agitação moderada. A vários intervalos de tempo (1, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 min), a concentração remanescente de NAC livre foi determinada com o reagente de Ellman's.

Para a leitura em leitor de Elisa a 412 nm foi adicionado 10 µL da solução em incubação e 150 µL do Reagente de Ellman's em uma placa de 96 poços. A solução foi homogeneizada e após 1 min a absorção foi determinada. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A porcentagem de ligação dos compostos a N-Acetilcisteína em função do tempo foi determinada pela curva de calibração construída com NAC/DTNB. E os resultados foram expressos em média.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

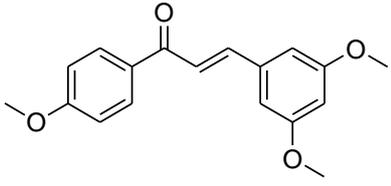
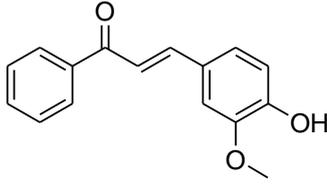
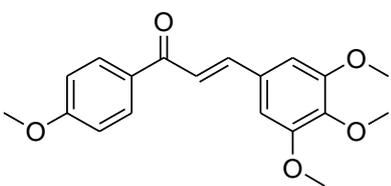
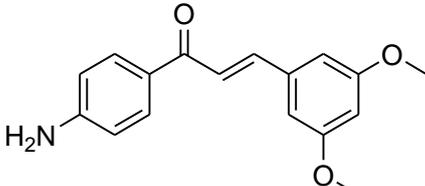
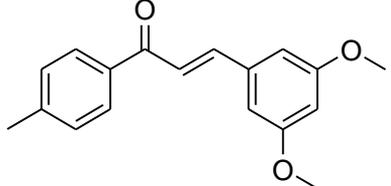
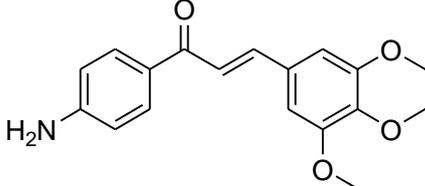
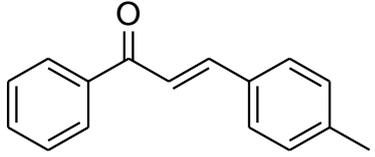
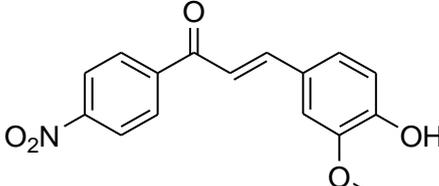
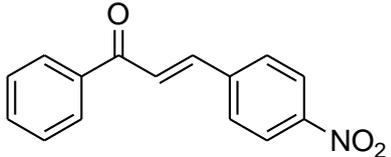
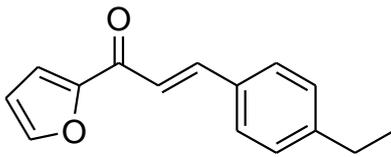
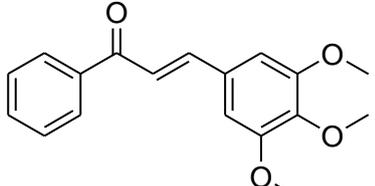
5.1. SÍNTESE DOS COMPOSTOS

A utilização de um método direto para a síntese está em desenvolvimento pelo professor Gilberto Aquino no LPbioS. O método consiste na reação sem o uso de horas de refluxo e com quantidade mínima de etanol. Caracteriza-se pela adição de acetofenona e benzaldeído em uma quantidade mínima de etanol e posterior adição de excesso de hidróxido de potássio (KOH) pulverizado. Após alguns minutos de agitação manual ocorre a formação do precipitado e liberação de calor, já que é uma reação exotérmica. O precipitado (chalcona) é obtido em sua forma pura, ou recristalizado, quando necessário e o rendimento é satisfatório (atinge até 98%). A reação que anteriormente demorava 24h é reduzida a minutos.

As reações de síntese de chalconas normalmente utilizam método de condensação aldólica de Claisen Schmidt por catalise ácida ou catálise básica, e as etapas de formação do ânion da acetofenona, do ataque a carbonila e da desidratação são reversíveis devido ao equilíbrio químico que ocorre na reação em refluxo, e como a maioria dos métodos utilizam uma mistura de KOH/NaOH em metanol/etanol a base que irá desprotonar a acetofenona será o metóxido ou o etóxido. A possível explicação para os rendimentos elevados na ausência de refluxo e longos períodos de reação é que ao utilizar uma pequena quantidade de solvente e KOH pulverizado, o KOH dissolve-se no solvente e age como base e não mais metóxido ou etóxido como no refluxo, e isto é interessante porque foi possível fazer a reação com benzaldeído contendo hidroxila.

Os compostos foram sintetizados com excelentes rendimentos variando entre 80 a 99%. Os pontos de fusão obtidos não foram corrigidos. A aparência física do sólido e do cristal (quando obtido), o rendimento e a faixa de fusão para os compostos sintetizados estão descritos no anexo 1 e os compostos sintetizados estão representados na tabela 3.

Tabela 3 – Estrutura dos compostos sintetizados (7a a 7k)

7a		7g	
7b		7h	
7c		7i	
7d		7j	
7e		7k	
7f			

5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

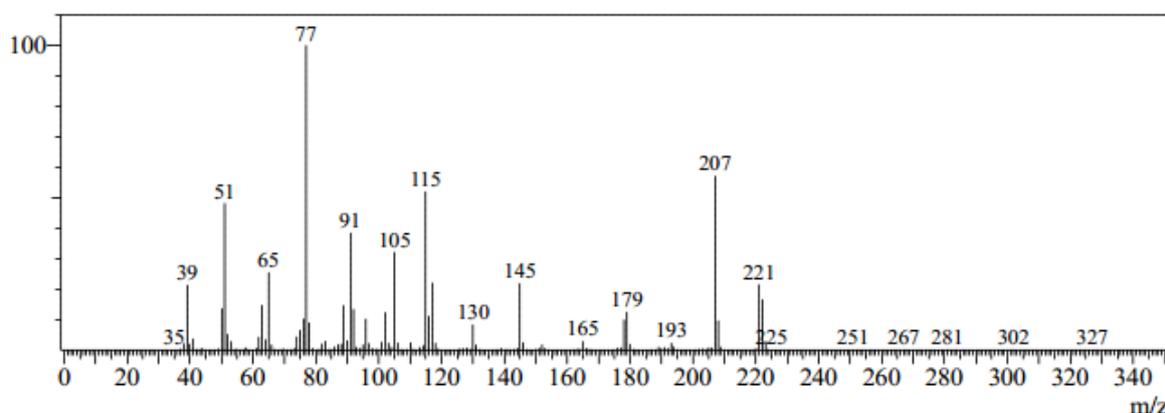
Os compostos foram caracterizados, e avaliados quanto a pureza, por CG/EM, IV e RMN de ^1H e ^{13}C . Os resultados são descritos a seguir.

5.2.1. Caracterização por CG/EM

No espectrômetro de massas, as moléculas na fonte de ionização são bombardeadas por um feixe de elétrons de energia resultando na retirada de um elétron da molécula e, conseqüentemente, a formação de um cátion denominado íon molecular, este terá uma relação m/z de massa equivalente a molécula -1. Quanto mais estável for o íon positivo formado, mais abundante ele será e, conseqüentemente, maior será o pico registrado no espectro. O pico correspondente ao íon mais estável e, portanto, maior do espectro, é denominado pico base. Os cromatogramas e espectros de massas dos compostos (**7a** a **7k**) são apresentados no anexo 2.

O espectro de massas do composto **7d** ((E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona) foi escolhido para análise detalhada das fragmentações que confirmam sua estrutura. O espectro de massas com valores da relação massa carga dos íons formados (m/z) pela fragmentação da molécula está representado na figura 7.

Figura 7 – Espectro de Massas da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**)

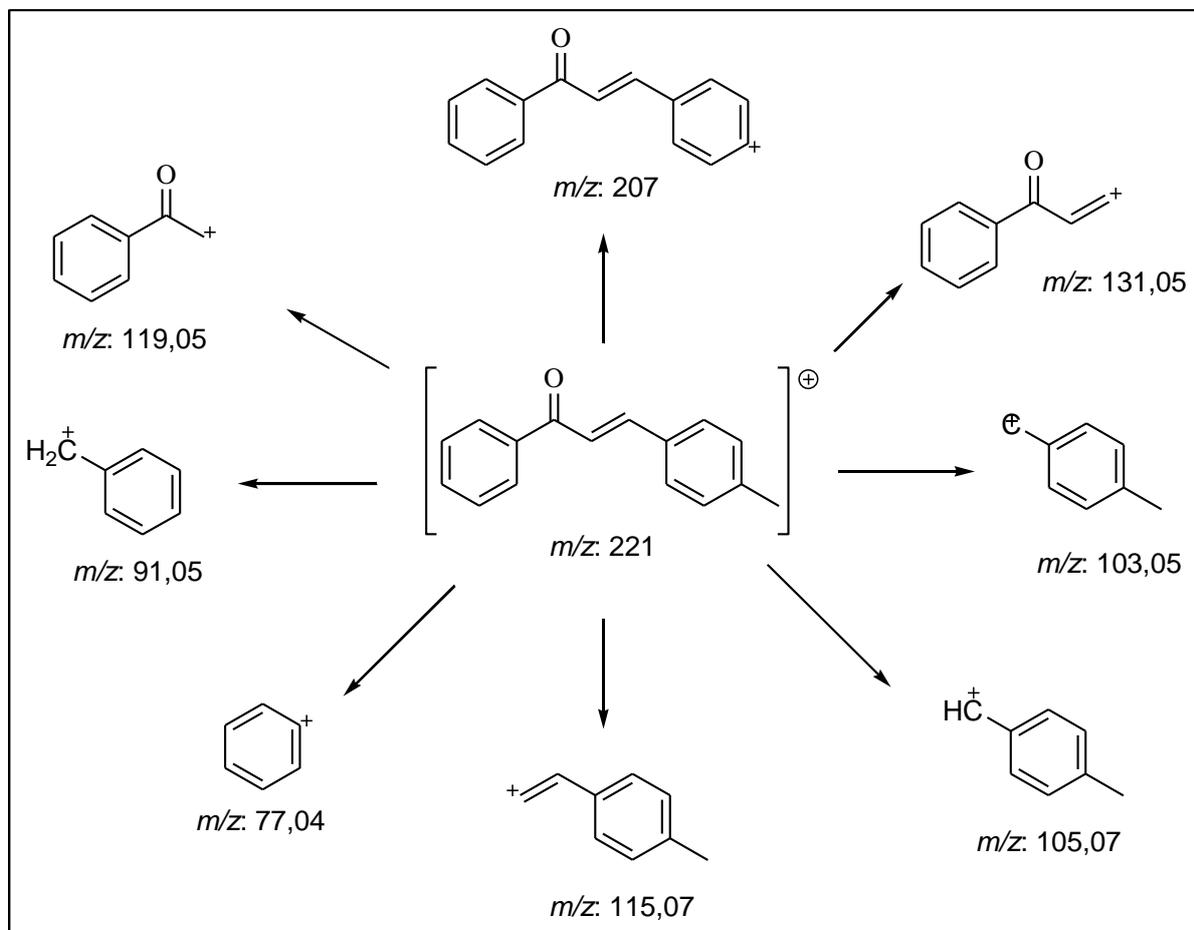


Fonte: autora (2017).

A (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**) pode sofrer fragmentações em diversas partes da molécula conforme representado no esquema 16. Essas fragmentações geram

os sinais no espectro de massas. O pico de 77 m/z equivale ao pico base, pico de maior intensidade, e o pico de 221 m/z ao íon molecular, formado pela ionização da molécula.

Esquema 16 – Fragmentações da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d)



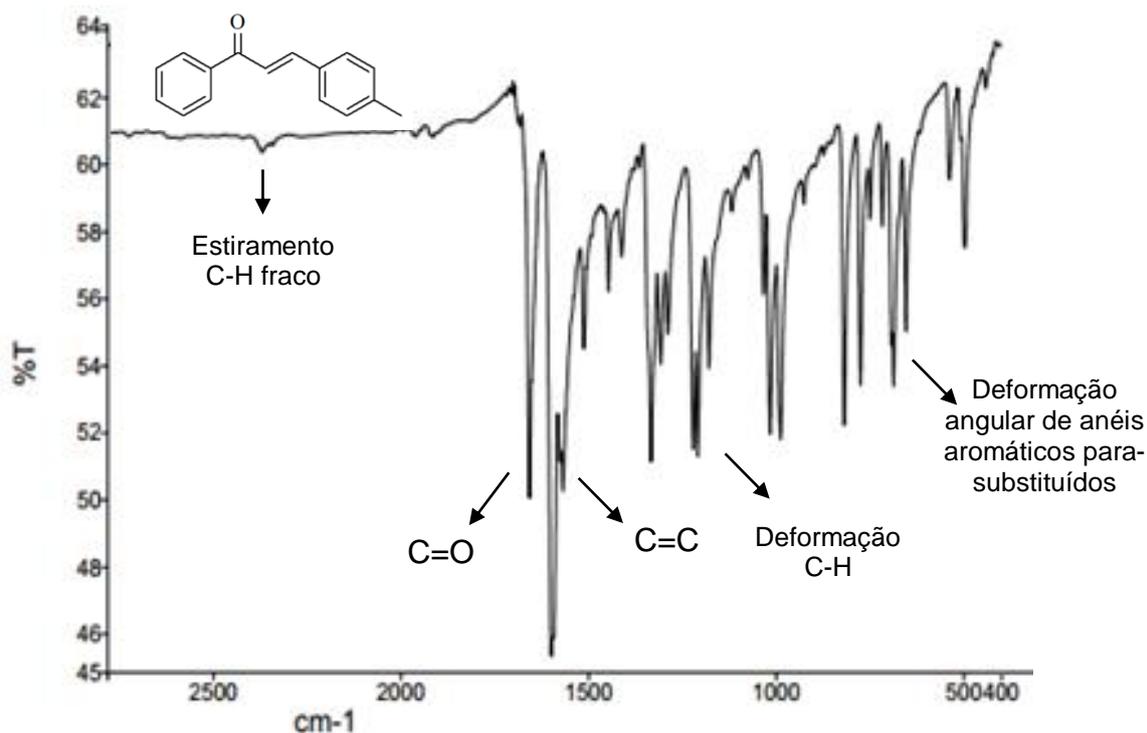
Fonte: autora, ChemDraw 8.0 (2017).

5.2.2. Caracterização por IV

O espectro de infravermelho de um composto químico é considerado uma de suas propriedades físico-químicas mais características e, por conta disto, a espectroscopia na região do infravermelho tem extensa aplicação na identificação dos compostos. Os espectros IV dos compostos (7a a 7k) são apresentados no anexo 2.

O espectro do composto 7d ((E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona) foi escolhido para uma análise detalhada e como forma de ilustração das bandas que confirmam sua estrutura. A figura 8 representa o espectro de absorção no IV do composto 7d.

Figura 8 – Espectro de infravermelho da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**)



Fonte: autora, Origin (2017).

As chalconas tem bandas características próxima a 1580 cm^{-1} , referente a ligação dupla (C=C) conjugada à cetona. Destaca-se também a banda em $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ da carbonila (C=O). Anéis aromáticos monossubstituídos (5H adjacentes) possuem deformação angular entre $770 - 690 \text{ cm}^{-1}$ e deformação angular em $\sim 860 \text{ cm}^{-1}$ referente a substituição para (4-Ph). Em $\sim 2450 \text{ cm}^{-1}$ ocorre o estiramento e em $\sim 1390 \text{ cm}^{-1}$ a deformação angular da ligação C-H, referente a metila ($-\text{CH}_3$).

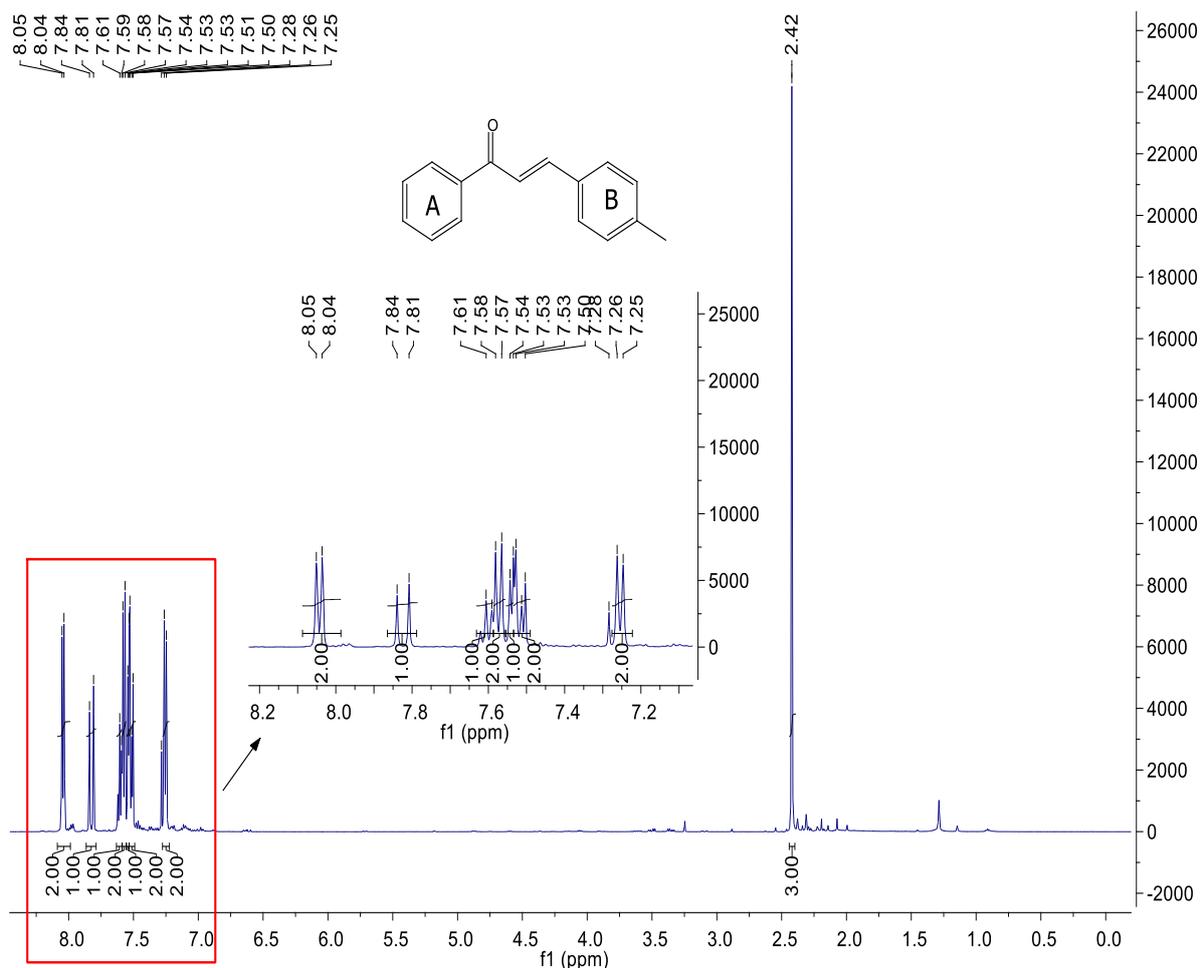
5.2.3. Caracterização por RMN

A técnica de RMN caracteriza-se pela emissão de pulsos de radiofrequência aplicados sobre uma amostra imersa em um campo magnético intenso (na ordem de Tesla). Alguns núcleos atômicos absorvem energia enquanto outros não, dependendo das propriedades magnéticas de cada núcleo, gerando sinais de RMN que são dependentes do ambiente eletrônico do núcleo e do movimento das moléculas. Assim, RMN é uma técnica extremamente informativa sobre a estrutura da matéria. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos (**7a** a **7k**) estão representados no anexo 2.

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C do composto (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**), foram selecionados para uma análise detalhada e como forma de ilustração dos deslocamentos que confirmam a estrutura deste composto.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 9), verifica-se o sinal de deslocamento em δ 7,28 (s) do clorofórmio deuterado. O sinal em δ 2,42 (s) refere-se aos prótons da metila ligada na posição *para* do anel B e os sinais em δ 7,51 e δ 7,81 aos prótons α e β carbonílicos. Os dupletos referentes aos prótons aromáticos do anel B, encontram-se em δ 7,26 e δ 7,58 e os dois multipletos referentes aos prótons do anel A, são atribuídos aos sinais entre δ 7,51 - 7,55 (m) e δ 8,04 - 8,05 (m).

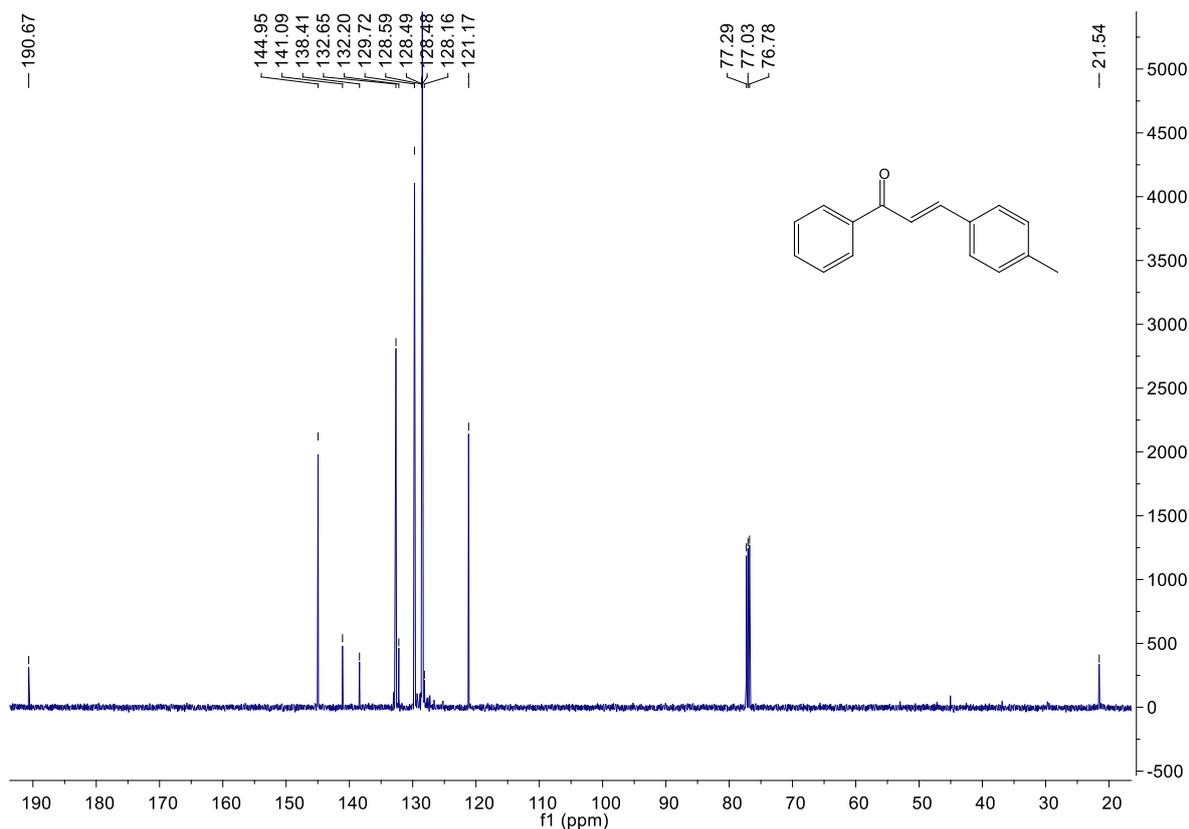
Figura 9 – Espectro de RMN de ^1H da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**) em CDCl_3 , 500 MHz.



Fonte: autora, MestReNova (2017).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10), o sinal de deslocamento em δ 21,75 refere-se ao carbono da metila na posição *para* do anel B, o sinal em δ 190,91 ao carbono carbonílico e os sinais em δ 121,39 e δ 145,18 aos carbonos α e β da carbonila. Os carbonos aromáticos dos anéis A e B encontram-se na região de δ 128,72 a δ 141,31.

Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**) em CDCl_3 , 126 MHz..



Fonte: autora, MestReNova (2017).

5.2.4. Análise Termogravimétrica

Os resultados da análise termogravimétrica dos compostos sintetizados estão descritos na tabela 4. Os dados referem-se as análises em atmosfera de nitrogênio (N_2) e oxigênio (O_2). Os valores foram calculados para uma perda de 25, 50 e 75% em relação a massa inicial no analisador de Termogravimetria e estão expressos em termos de temperatura, ou seja, a temperatura necessária para perda de 25, 50 e 75% na massa.

Tabela 4 – Temperatura para perda de 25, 50 e 75% de massa dos compostos

Composto	Temperatura (°C)					
	25%		50%		75%	
	N ₂	O ₂	N ₂	O ₂	N ₂	O ₂
7a	300,5	289,3	322,8	331,0	337,8	363,2
7b	312,0	297,4	330,2	316,5	342,0	330,1
7c	260,3	250,7	278,1	265,9	289,6	276,5
7d	225,5	226,4	241,3	249,2	251,8	263,1
7e	252,3	283,0	270,1	303,9	282,2	320,4
7f	285,0	285,9	302,1	306,3	312,9	319,1
7g	281,5	256,5	302,1	275,4	318,3	291,7
7h	310,0	289,5	411,8	367,7	-	527,6
7i	306,8	294,4	331,0	386,0	-	569,0
7j	302,3	291,3	420,0	461,2	-	522,0
7k	213,7	213,0	232,7	231,0	346,0	232,7

Os compostos **7b**, **7c**, **7g**, **7h**, **7i** e **7j** apresentaram maior estabilidade em atmosfera de nitrogênio para uma perda de 25, 50 e 75% de massa, sendo necessária uma maior temperatura quando comparada a atmosfera de oxigênio, os demais compostos (**7d**, **7e**, **7f** e **7i**) apresentaram resultado inverso. O composto **7a** apresentou maior estabilidade na atmosfera de nitrogênio apenas para uma perda de 25% de massa.

Os compostos **7h**, **7i** e **7j** não atingiram perda de 50% de massa a temperatura de 600° mostrando-se altamente estáveis a atmosfera de nitrogênio conforme a temperatura é aquecida.

5.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS COMPOSTOS

5.3.1. Atividade Antitumoral

A análise da citotoxicidade dos compostos (**7a** a **7k**) foi realizada pelo método de MTT, um teste rápido, sensível e barato. O teste de MTT consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

Pelo método MTT foi determinado a porcentagem de inibição dos compostos frente as linhagens transformadas de células HCT-8 (Carcinoma de cólon humano), MDA-MB-435 (Melanoma humano) e SF-295 (SNC - Glioblastoma humano) (Tabela 5) como *screening* inicial. São considerados relevantes os valores de potencial de inibição do crescimento tumoral maiores que 90%, sendo selecionadas para avaliações subsequentes (IC_{50}) somente as moléculas que apresentaram valores de inibição $\geq 75\%$ em pelo menos duas das linhagens testadas.

Tabela 5 – Valores de inibição do crescimento tumoral em linhagens transformadas

Composto	Linhagens Transformadas		
	HCT-8	MDAMB-435	SF-295
7a	100%	98,94%	100%
7b	49,81%	98,65%	100%
7c	99,96%	94,40%	100%
7d	86,78%	95,85%	94,64%
7e	84,60%	77,79%	88,21%
7f	100%	100%	100%
7g	100%	53,74%	93,94%
7h	97,78%	69,48%	100%
7i	96,44%	59,44%	95,80%
7j	100%	71,41%	81,44%
7k	99,20%	89,67%	99,59%
Doxorrubicina	97,3%	96,94%	87,67%

Os compostos **7a**, **7c**, **7d**, **7e**, **7f** e o **7k** tiveram valores de inibição $\geq 75\%$ em todas as linhagens (HCT-8, MDAMB-435 e SF-295) testadas. Os compostos **7b**, **7g**, **7h**, **7i** e **7j** tiveram valores de inibição $\geq 75\%$ em duas linhagens, o composto **7b** frente as linhagens MDAMB-435 e SF-295; e os compostos **7g**, **7h**, **7i** e **7j** frente as linhagens HCT-8 e SF-295.

Assim, como todos os compostos (**7a** a **7k**) apresentaram valores de inibição $\geq 75\%$ em pelo menos duas das linhagens testadas, todos foram testados para determinação da concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo (IC₅₀) frente as células OVCAR-8 (Carcinoma de Ovário Humano), PC-3M (Carcinoma de Próstata Humano) e NCI-H358M (Carcinoma Pulmonar Broncoalveolar). Os valores de IC₅₀ dos compostos estão descritos na tabela 6.

Tabela 6 – Valores de IC₅₀ em três linhagens tumorais.

Composto	Linhagens (µmol/L)		
	OVCAR-8	PC-3M	NCI-H358M
7a	7,5 (6,8 – 8,0)	5,67 (4,13 - 7,75)	5,5 (4,29 - 7,04)
7b	>17	12,41 (8,08 - 19,15)	>17
7c	>17	>17	7,78 (5,64 - 10,73)
7d	>17	>17	>17
7e	>17	>17	>17
7f	6,13 (5,67 - 6,64)	>17	5,7 (4,56 - 7,14)
7g	>17	16,13 (11,07 - 23,51)	>17
7h	7,68 (5,97 - 9,98)	>17	1,71 (1,07 - 2,72)
7i	>17	>17	5,2 (4,53 - 5,97)
7j	>17	>17	10,53 (7,21 - 15,36)
7k	>17	>17	15,16 (11,51 - 19,98)

Os compostos apresentaram diversos valores de IC₅₀ frente as linhagens humanas testadas. Nesse estudo, valores de IC₅₀ inferiores a 17 µmol/L são considerados compostos ativos, citotóxicos, valores superiores a 17 µmol/L são ditos compostos inativos, pouco citotóxicos. E quanto menor o valor de IC₅₀ mais ativo será o composto.

A associação de chalconas metoxiladas com atividade antimitótica é extensamente discutida na literatura devido a semelhança das mesmas com inibidores conhecidos da polimerização da tubulina, como a combretastatina A e a colchicina, que apresentam vários grupos metoxilas na estrutura (EDWARDS *et al.*, 1990; DUCKI *et al.*, 1998; LAWRENCE *et al.*, 2000; LEBLANC *et al.*, 2005) que pode ser evidenciado pelas estruturas em estudo nesse trabalho, onde as melhores atividades são descritas para aquelas com mais grupos metoxilas.

O composto **7a** foi ativo frente as três linhagens testadas, com valores de IC₅₀ de 6,27 µmol/L para **OVCAR-8**; 5,67 µmol/L para **PC-3M** e 5,5 µmol/L para **NCI-H358M**. Os compostos **7c**, **7i**, **7j** e **7k** tiveram valores de IC₅₀ inferiores a 17 µmol/L apenas para a linhagem **NCI-H358M**, com IC₅₀ de 7,78 µmol/L; 5,2 µmol/L; 10,53 µmol/L; 15,16 µmol/L, respectivamente. Os compostos **7b** e **7g** tiveram valores de IC₅₀ inferiores a 17 µmol/L

apenas para linhagem **PC-3M**, com IC₅₀ de 12,41 µmol/L e 16,13 µmol/L, respectivamente. Os compostos **7f** e **7h** tiveram valores de IC₅₀ inferiores a 17 µmol/L para as linhagens **OVCAR-8** e **NCI-H358M**, com IC₅₀ de 6,13 µmol/L e 7,68 µmol/L para **OVCAR-8** e 5,7 µmol/L e 1,71 µmol/L para **NCI-H358M**, respectivamente.

Os compostos **7d** e **7e** tiveram valores de IC₅₀ superiores a 17 µmol/L para todas as linhagens testadas sendo considerados os menos ativos de todos os compostos em estudo.

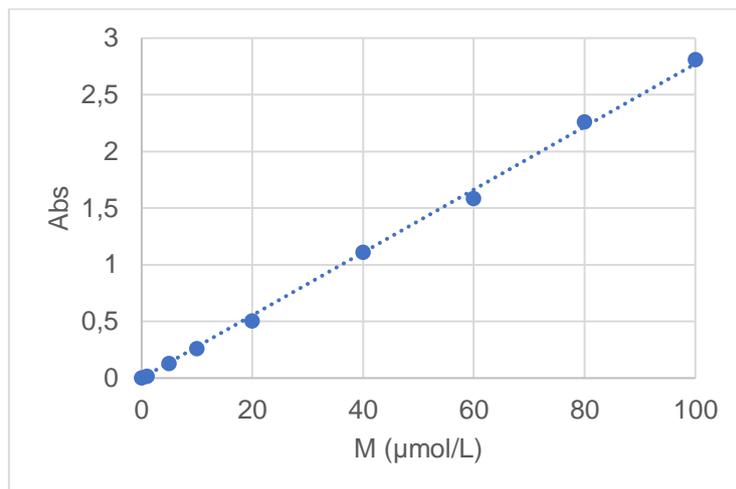
A linhagem em que as chalconas melhor desempenharam atividade antitumoral foi a de carcinoma pulmonar broncoalveolar, uma vez que sete dos onze compostos testados foram ativos. Já para as linhagens de carcinoma de ovário e próstata humano a expressão foi semelhante, sendo três ativas das onze testadas.

Para a linhagem de carcinoma de ovário a chalcona **7f** apresentou o menor valor de IC₅₀ (6,13 µM), para a de carcinoma de próstata a chalcona **7a** (IC₅₀ = 5,67 µM) e para de carcinoma de pulmão a chalcona **7h** (IC₅₀ = 1,71 µM).

5.3.2. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via UV-Vis

A atividade antioxidante foi determinada pelo método adaptado de Sivakumar; Prabhakar (2011). Os resultados obtidos são descritos a seguir. A curva de calibração construída com DPPH gerou uma equação da reta igual a: $y = 0,0281x - 0,0261$; e coeficiente de correlação de 0,9994 (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Curva de Calibração construída com DPPH



Fonte: autora (2017).

As porcentagens de DPPH remanescente em relação a concentração molar dos compostos (**7a** a **7k**) estão descritas na tabela 7. Os valores estão expressos em porcentagem da média entre as triplicatas \pm desvio padrão.

Tabela 7 – Porcentagem de DPPH remanescente

Composto	Sequestro de DPPH (% de DPPH remanescente)			
	100 μ M	150 μ M	200 μ M	250 μ M
7a	79,5 \pm 0,1	78,7 \pm 0,6	77,1 \pm 0,1	75,6 \pm 0,3
7b	78,7 \pm 0,4	77,1 \pm 0,4	75,8 \pm 0,4	75,1 \pm 0,2
7c	83,4 \pm 0,2	82,2 \pm 0,5	81,3 \pm 0,8	80,4 \pm 0,2
7d	82,1 \pm 0,5	79,4 \pm 0,8	78,6 \pm 0,4	76,2 \pm 0,8
7e	79,5 \pm 1,8	76,8 \pm 0,8	74,6 \pm 0,2	73,2 \pm 0,5
7f	82,7 \pm 0,3	80,1 \pm 0,5	79,3 \pm 0,5	77,0 \pm 1,5
7g	34,7 \pm 1,1	28,9 \pm 0,5	26,9 \pm 1,3	25,7 \pm 0,6
7h	83,3 \pm 0,3	80,7 \pm 0,6	78,7 \pm 0,4	77,1 \pm 0,4
7i	83,5 \pm 0,3	81,1 \pm 0,5	79,7 \pm 0,4	77,6 \pm 0,4
7j	43,3 \pm 0,2	34,5 \pm 1,3	31,4 \pm 0,7	29,8 \pm 0,8
7k	82,7 \pm 0,5	79,8 \pm 0,4	77,5 \pm 0,5	74,9 \pm 0,1

As porcentagens de inibição do DPPH pelos compostos em função da concentração molar estão descritas na tabela 8.

Tabela 8 – Porcentagem de inibição do DPPH pelos compostos

Composto	Sequestro de DPPH (% inibição do DPPH)			
	100 μ M	150 μ M	200 μ M	250 μ M
7a	20,5	21,3	22,9	24,4
7b	21,3	22,9	24,2	24,9
7c	16,6	17,8	18,7	19,6
7d	17,9	20,6	21,4	23,8
7e	20,5	23,2	25,4	26,8
7f	17,3	19,9	20,7	23,0
7g	65,3	71,1	73,1	74,3
7h	16,7	19,3	21,3	22,9
7i	16,5	18,9	20,3	22,4
7j	56,7	65,5	68,6	70,2
7k	17,3	20,2	22,5	25,1

Pela análise dos dados da tabela 8, observa-se que o composto **7b** apresentou maior atividade antioxidante quando comparado ao **7a**, justificável pela presença de um grupo metoxila na posição *para* do anel B no composto **7b** que não está presente em **7a**.

O composto **7h** apresentou maior atividade antioxidante quando comparado ao composto **7c**, justificável pela substituição da metila na posição *para* do anel A em **7c** por uma amina na posição *para* do anel A em **7h**, uma vez que a amina tem maior poder doador de elétrons que a metila.

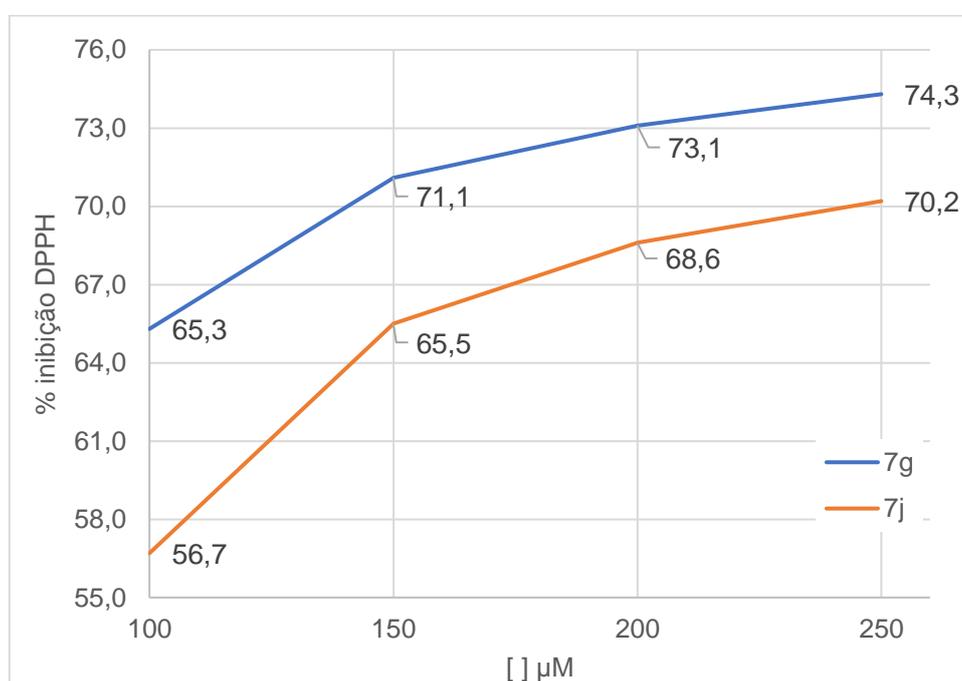
A substituição do grupo metila na posição *para* do anel A do composto **7c** pelo grupo metoxila na posição *para* do anel A do composto **7a** promoveu aumento na atividade antioxidante, justificável pelo maior poder doador de elétrons da metoxila quando comparada a metila.

Não se observou a melhora na atividade antioxidante do composto **7i** em relação ao **7h**, o que seria esperado já que o composto **7i** possui um grupo metoxila a mais que o composto **7h** no anel B.

A inserção de um grupo metoxila na posição *para* do anel A do composto **7b** demonstrou-se eficaz na melhora da atividade antioxidante, uma vez que o composto **7f** (sem substituição no anel A) teve menor atividade antioxidante quando comparado ao **7b**, ambos possuem substituições metoxilas nas posições 3,4,5 do anel B.

A maior estabilização do radical de DPPH foi observada pelos compostos **7g** e **7j**, assim construiu-se uma curva de variação (Gráfico 2) para a quantidade de DPPH inibido em função da concentração molar.

Gráfico 2 – Inibição do DPPH pelos compostos **7g** e **7j**

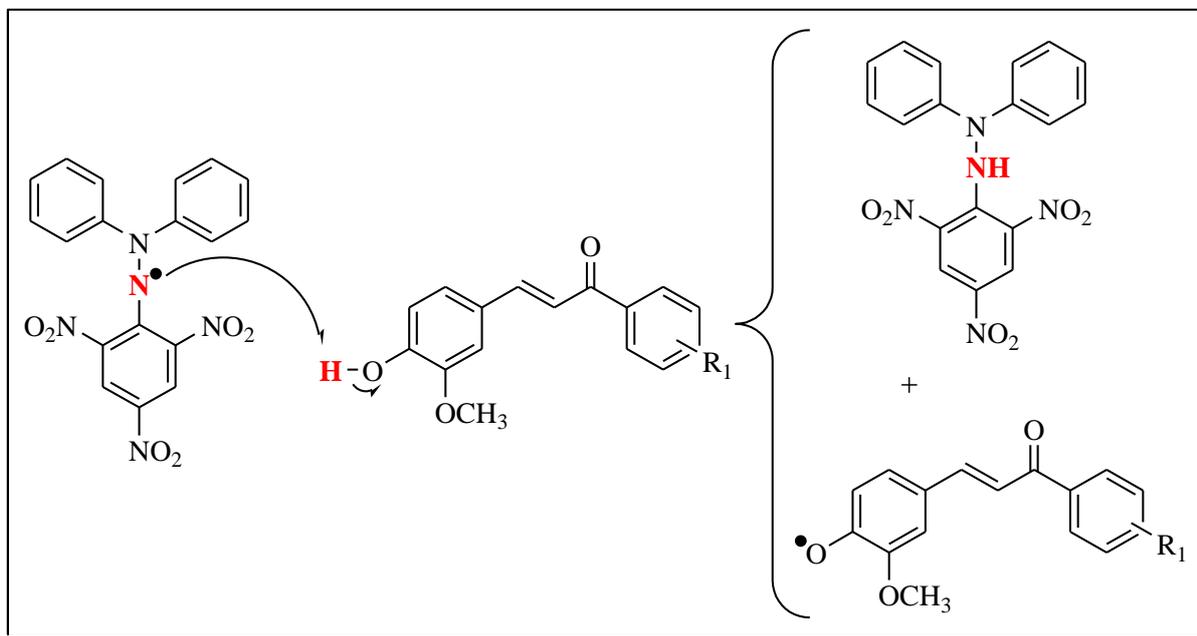


Fonte: autora (2017).

Sivakumar; Prabhakar (2011) evidenciaram que substituições de grupos hidroxilas no anel A e/ou B aumentam a atividade antioxidante enquanto substituições de grupos retiradores de elétrons no anel A reduzem a atividade, quando comparada a chalconas sem substituintes. Esse efeito é evidenciado nos compostos **7g** e **7j** que são os compostos mais ativos entre os compostos em estudo e únicos que possuem grupo hidroxila.

Os compostos demonstraram atividade antioxidante com variação crescente conforme a concentração molar do composto foi aumentada. No entanto, os compostos **7g** e **7j** demonstraram a maior variação de atividade explicada pela presença do grupo hidroxila na molécula, este pode doar o próton e estabilizar o radical DPPH, conforme esquema 17.

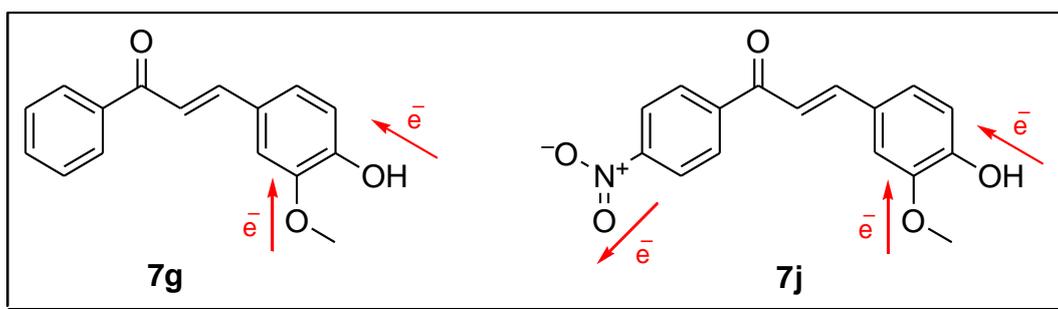
Esquema 17 – Reação de uma chalcona hidroxilada com radical DPPH



Fonte: autora, ChemDraw 8.0 (2017).

A variação de atividade antioxidante entre os compostos **7g** e **7j** (Figura 11) observada pode ser explicada pela presença do grupo NO₂, retirador de elétron, no composto **7j**, tornando-o mais instável frente a doação do próton para o radical DPPH. Isto é, o composto **7j**, devido a presença do grupo nitro, tem o próton mais fortemente ligado a molécula, sendo mais difícil de removê-lo do que o próton no composto **7g**.

Figura 11 – Efeito do substituinte nos compostos **7g** e **7j**

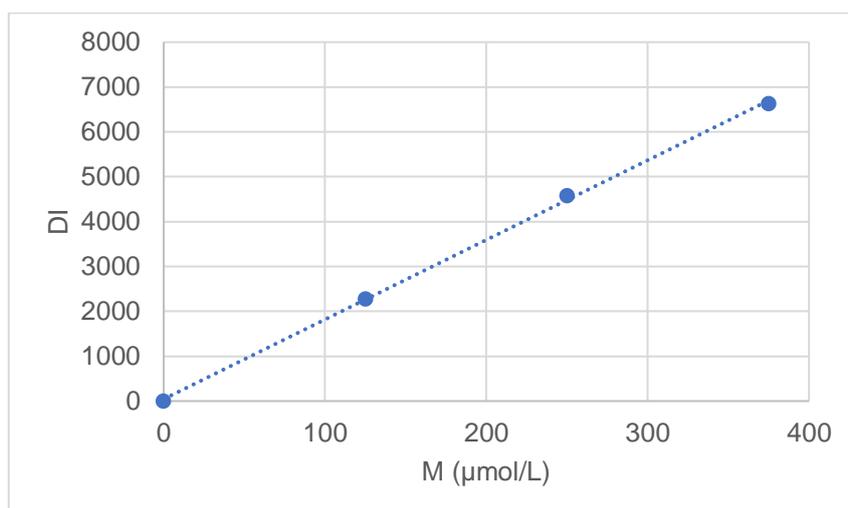


Fonte: autora, ChemDraw 8.0 (2017).

5.3.3. Atividade Antioxidante por Sequestro de DPPH via RPE

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de espectrometria de ressonância paramagnética. Os resultados obtidos são descritos a seguir. A curva de calibração construída com DPPH gerou uma equação da reta igual a: $y = 17,74x - 44,3$; e coeficiente de correlação de 0,99966 (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Curva de Calibração construída com DPPH



Fonte: autora (2017).

As porcentagens de DPPH remanescente em relação a concentração molar dos compostos **7a** a **7k** estão descritas na tabela 9. Os valores estão expressos em porcentagem da média entre as triplicatas \pm desvio padrão.

Tabela 9 – Porcentagem de DPPH remanescente

Composto	Sequestro de DPPH (% de DPPH remanescente)			
	100 μ M	150 μ M	200 μ M	250 μ M
7a	84,3 \pm 0,1	81,6 \pm 0,2	75,9 \pm 0,7	71,9 \pm 0,4
7b	81,5 \pm 0,6	79,2 \pm 0,4	76,5 \pm 0,7	73,9 \pm 1,2
7c	85,2 \pm 0,7	82,0 \pm 0,7	76,0 \pm 0,4	72,3 \pm 0,3
7d	85,9 \pm 0,8	84,0 \pm 0,3	81,9 \pm 0,1	79,8 \pm 0,6
7e	85,0 \pm 0,2	83,6 \pm 0,6	82,2 \pm 0,4	79,9 \pm 0,6
7f	87,6 \pm 1,0	83,4 \pm 0,6	81,5 \pm 0,5	79,7 \pm 0,4
7g	54,6 \pm 0,4	40,6 \pm 1,6	30,6 \pm 0,9	22,6 \pm 0,4
7h	83,6 \pm 0,5	81,4 \pm 0,7	75,9 \pm 0,6	71,8 \pm 0,4
7i	83,4 \pm 0,4	79,8 \pm 0,7	77,1 \pm 0,1	76,3 \pm 0,5
7j	61,2 \pm 0,9	47,4 \pm 0,6	38,6 \pm 0,6	30,2 \pm 0,2
7k	83,3 \pm 0,1	79,3 \pm 0,5	76,1 \pm 0,7	74,9 \pm 0,6

As porcentagens de inibição do DPPH pelos compostos em função da concentração molar estão descritas na tabela 10.

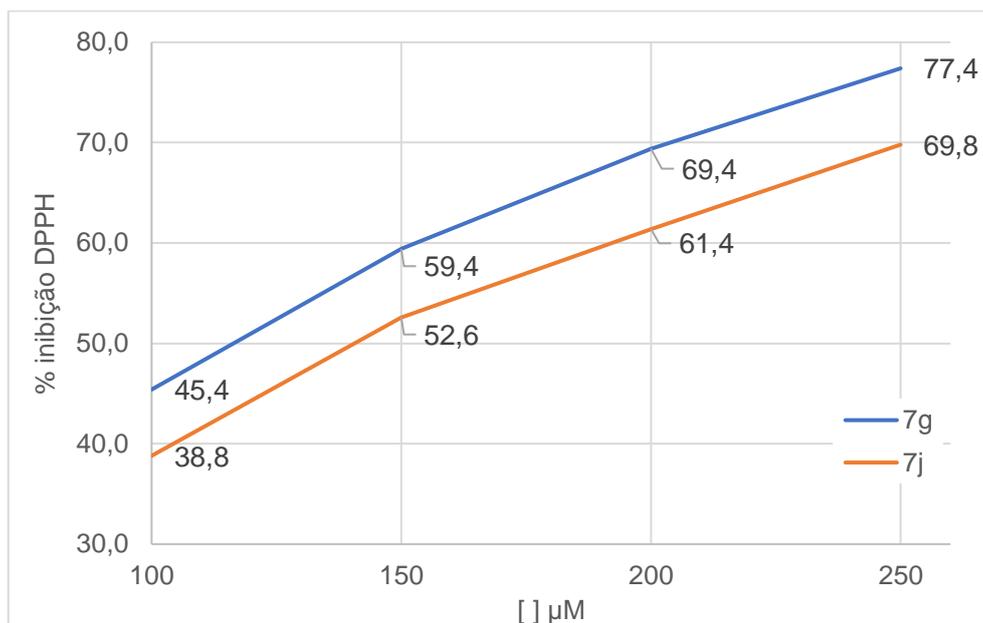
Tabela 10 – Porcentagem de inibição do DPPH pelos compostos

Composto	Sequestro de DPPH (% inibição do DPPH)			
	100 μ M	150 μ M	200 μ M	250 μ M
7a	15,7	18,4	24,1	28,1
7b	18,5	20,8	23,5	26,1
7c	14,8	18,0	24,0	27,7
7d	14,1	16,0	18,1	20,2
7e	15,0	16,4	17,8	20,1
7f	12,4	16,6	18,5	20,3
7g	45,4	59,4	69,4	77,4
7h	16,4	18,6	24,1	28,2
7i	16,6	20,2	22,9	23,7
7j	38,8	52,6	61,4	69,8
7k	16,7	20,7	23,9	25,1

Pela análise dos dados da tabela 10, observou-se que as mesmas variações nas substituições no anel A e/ou B (hidrogênio, metila, metoxila, amina, hidroxila ou nitro) na atividade antioxidante no método pelo sequestro de DPPH por UV-Vis ocorreram no método por RPE, com exceção do composto **7i** que teve maior atividade antioxidante que o composto **7h** nas concentrações de 100 e 150 μ M, justificável pela presença de uma metoxila na posição *para* do anel B em **7i**. No entanto, essa melhora na atividade não foi observada com o aumento da concentração.

Os compostos **7g** e **7j** promoveram a maior estabilização do radical de DPPH no método por RPE assim como no método por espectrofotometria. Construiu-se uma curva de variação (Gráfico 4) para a quantidade de DPPH inibido em função da concentração molar.

Gráfico 4 – Inibição do DPPH pelos compostos 7g e 7j



Fonte: autora (2017).

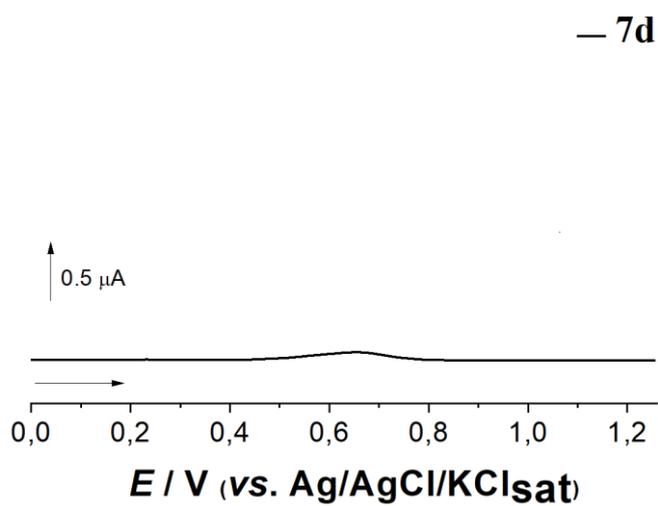
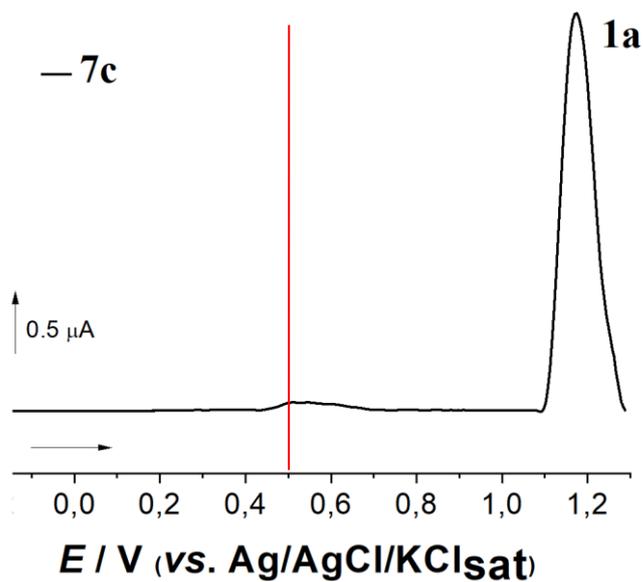
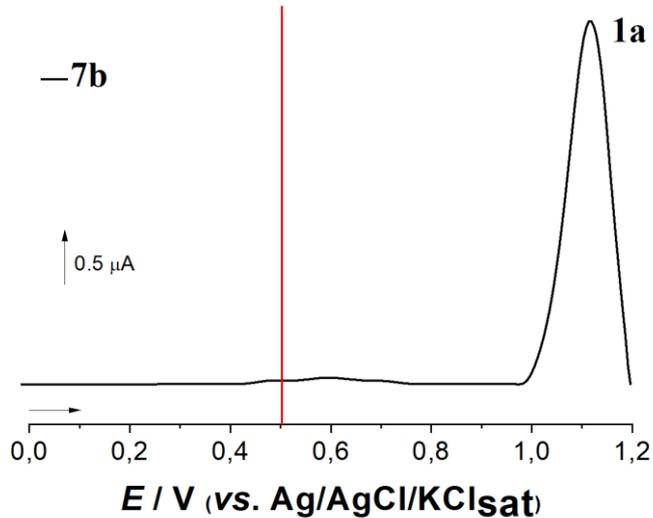
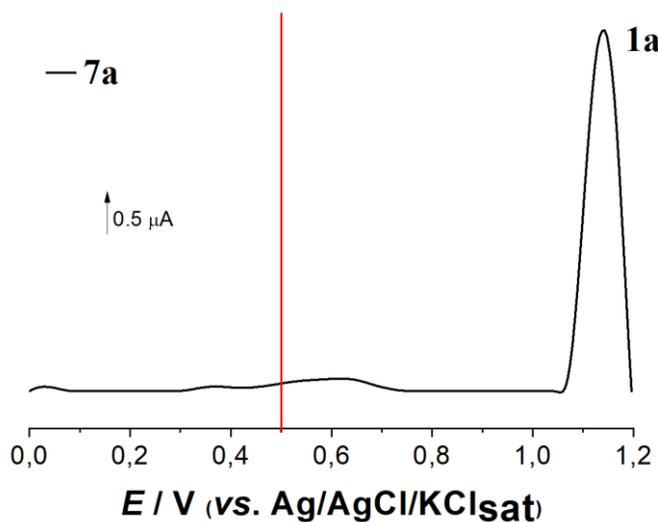
A atividade antioxidante por RPE demonstrou-se mais sensível quando comparada ao método de UV-Vis, talvez devido ao maior controle dos parâmetros no método por RPE, como a exposição a luz solar (que pode promover a oxidação do DPPH), o tempo de reação entre o composto e o radical e/ou a leitura propriamente dita, já que no método por RPE emprega-se um espectrofotômetro de última geração.

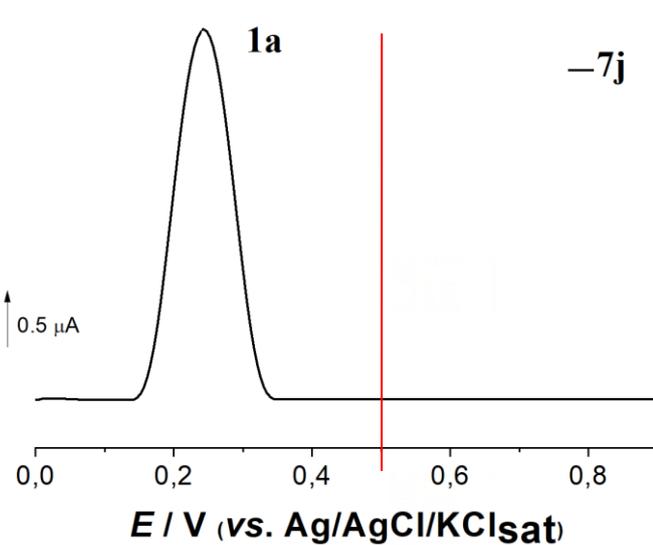
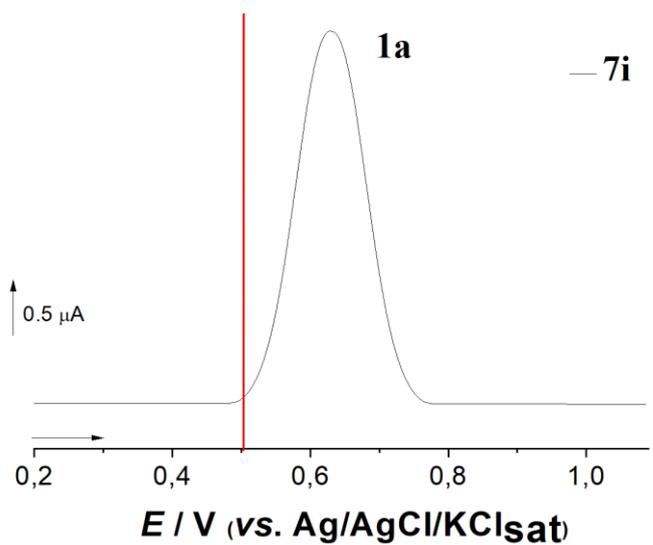
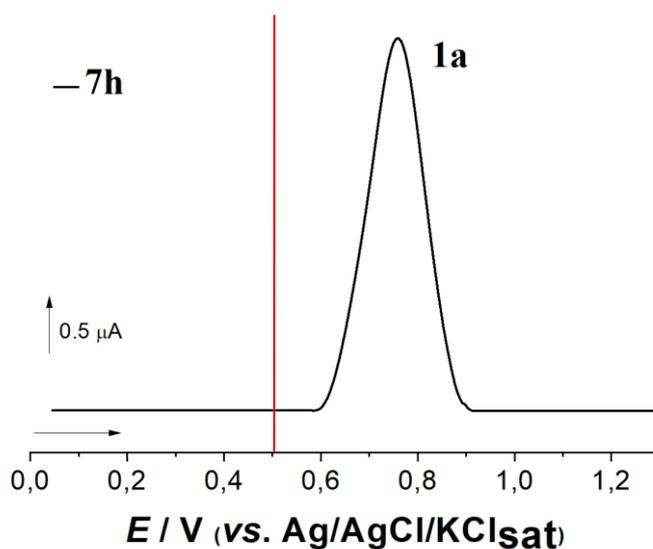
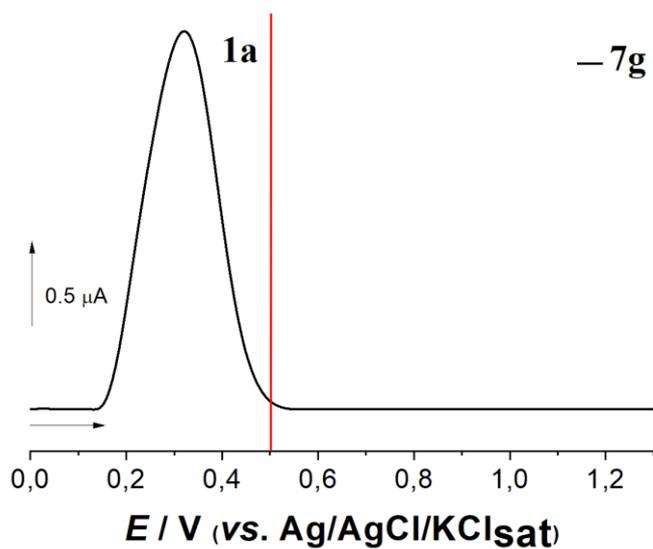
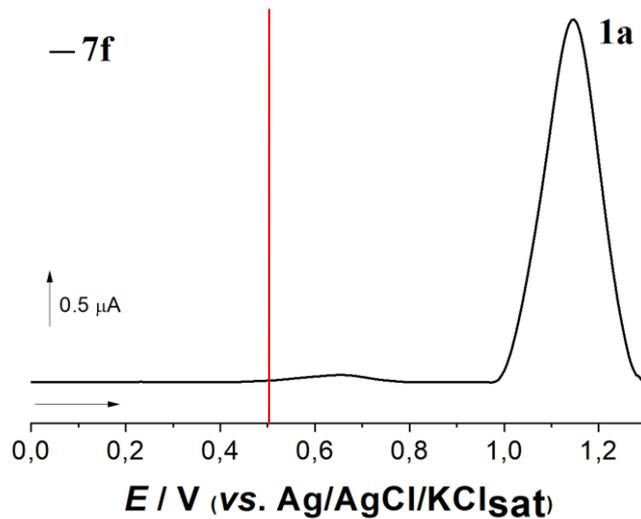
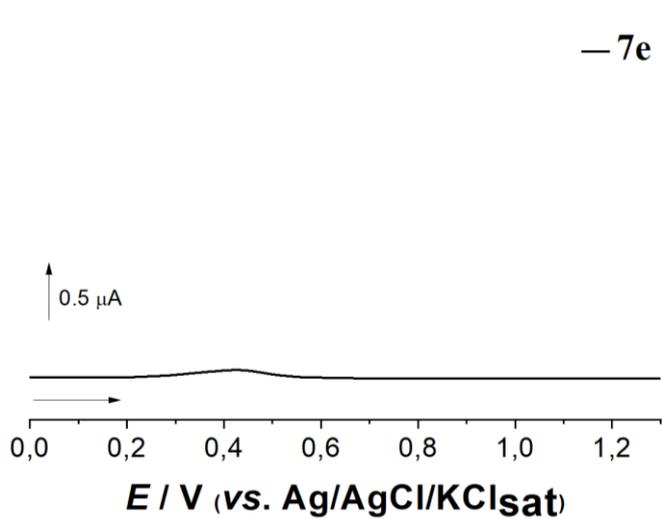
5.3.4. Atividade Antioxidante por VPD

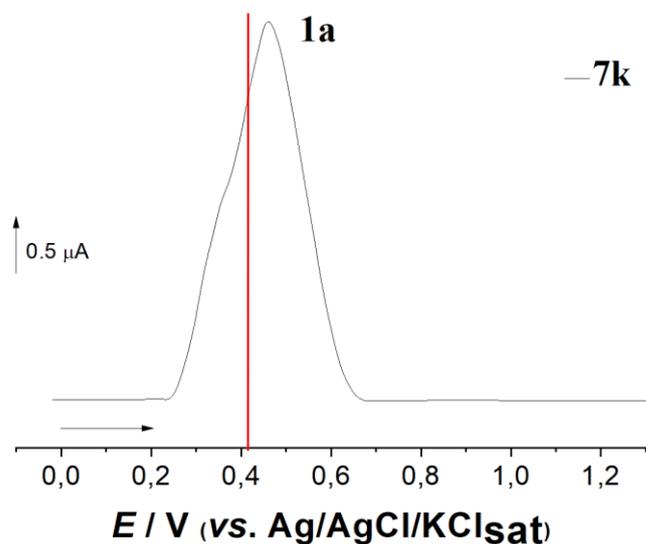
A análise por VPD permite a predição dos compostos que possuem potencial atividade antioxidante endógena. Uma vez que compostos endógenos com atividade antioxidante comprovada possuem o primeiro pico de oxidação antes de 0,5V é possível extrapolar esse valor para novas moléculas que ainda não tiveram sua atividade antioxidante comprovada.

Jadon e colaboradores (2017) determinaram a energia potencial (E_p/V) do primeiro pico de diversos antioxidantes endógenos por VPD em diversos tipos de eletrodos e a maioria dos compostos testados apresentaram o primeiro pico antes de 0,5V; sendo 0,4 V para o ácido úrico, 0,3V para o ácido ascórbico, 0,35V para melatonina, 0,3V para glutatona e 0,15V para dopamina, entre outros.

Os gráficos VPD dos compostos em análise (**7a** a **7k**) estão representados abaixo. A linha vermelha simboliza o valor do potencial em 0,5V, usado como parâmetro de atividade.







Através da análise dos gráficos conclui-se que os compostos **7g** e **7j** apresentaram o primeiro pico de oxidação antes de 0,5V. Sendo os compostos mais promissores para desempenhar atividade antioxidante no organismo evitando assim que moléculas biológicas endógenas sofram oxidação. O composto **7k** apresentou o início do pico em 0,2V, no entanto o pico termina após 0,5V, ou seja, o composto em questão pode apresentar uma atividade antioxidante endógena, mas em termos de comparação, a atividade seria maior para os compostos **7g** e **7j**.

Os compostos **7a**, **7b**, **7c**, **7h** e **7i** apresentaram pico de oxidação acima de 0,5V tornando-os poucos potenciais a desempenhar atividade antioxidante endógena. **7d** e **7e** não apresentaram pico de oxidação em VPD. Os resultados de VPD não definem que os compostos sejam ou não antioxidantes, apenas os sugerem se a propriedade antioxidante que eles possuem terá relevância quando ingeridas pelo organismo.

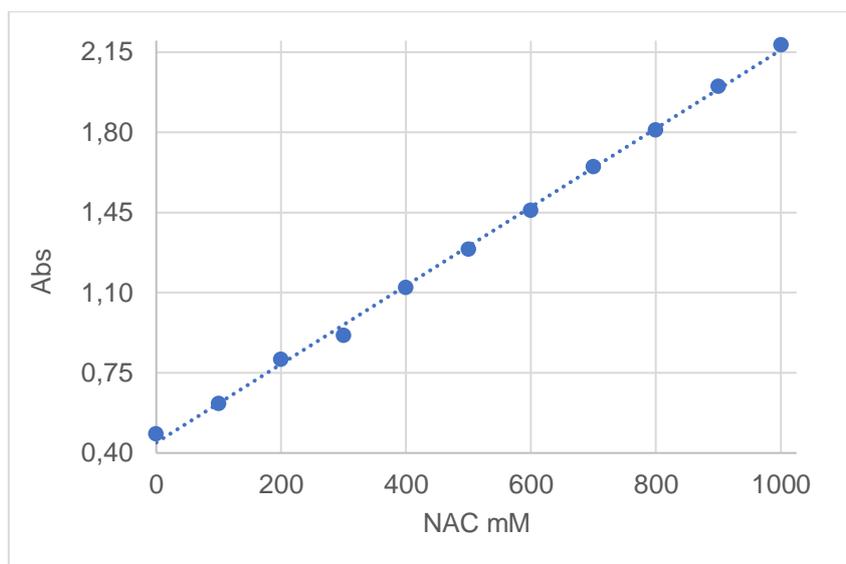
Os resultados de VPD quando comparados aos resultados de sequestro de DDPH foram similares para os compostos **7g** e **7j** que apresentaram as maiores atividades antioxidantes em ambos os métodos.

5.3.5. Adição Conjugada: Reação Com N-Acetilcisteína

O DTNB reage com grupos tióis livres da molécula de NAC em quantidades equimolares formando o 2-nitro-5-tiobenzoato de coloração amarela, com absorvância máxima a 417 nm. A absorvância varia conforme a ligação do DTNB ao NAC livre, ou seja, quanto maior a absorvância maior a quantidade de NAC livre.

A curva de calibração construída com NAC/DTNB gerou uma equação da reta igual a: $y = 0,4455x - 0,0017$; e coeficiente de correlação de 0,9992 (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Curva de Calibração construída com NAC/DTNB



Fonte: autora (2017).

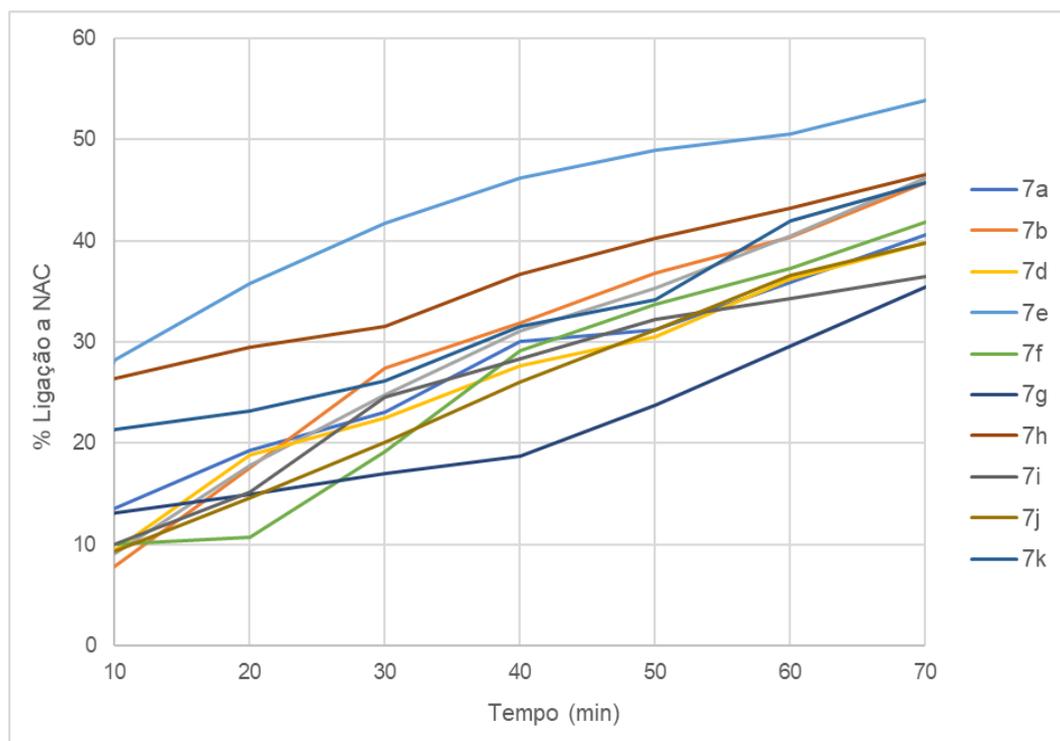
Os valores de absorvância encontrados foram utilizados para determinação da concentração de NAC livre e, conseqüentemente, a concentração de NAC ligada aos compostos e assim determinar a porcentagem de ligação dos compostos a NAC, descritas na tabela 11.

Tabela 11 – Porcentagem de ligação dos compostos a NAC em função do tempo de incubação

% Ligação a NAC											
Tempo (min)	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g	7h	7i	7j	7k
1	7,9	0,0	5,3	1,9	2,3	3,7	5,5	21,3	4,4	4,4	13,2
10	13,6	7,9	9,1	9,5	28,2	10,0	13,1	26,4	10,0	9,3	21,4
20	19,3	17,6	17,8	18,8	35,8	10,7	15,0	29,5	15,2	14,6	23,2
30	23,1	27,4	24,8	22,5	41,7	19,2	17,0	31,5	24,6	20,1	26,2
40	30,1	31,9	31,1	27,7	46,2	29,2	18,7	36,7	28,4	26,1	31,5
50	31,2	36,8	35,3	30,5	49,0	33,7	23,8	40,3	32,2	31,2	34,2
60	35,9	40,4	40,5	36,3	50,6	37,3	29,6	43,2	34,3	36,6	42,0
70	40,6	45,8	46,2	39,8	53,9	41,8	35,5	46,5	36,5	39,8	45,7

O aumento da ligação dos compostos **7a** a **7k** a N-Acetilcisteína está representado no gráfico 6.

Gráfico 6 – Porcentagem de ligação dos compostos a NAC em função do tempo.



Fonte: autora (2017).

A variação da ligação ao NAC fornece informações sobre a reatividade dos diferentes compostos com tióis. Após a incubação observou-se aumento do consumo de tióis livres variável conforme aumento do tempo de incubação. No entanto, a reatividade da NAC com os compostos **7e** e **7h** foram as mais pronunciadas.

A ligação dos compostos a NAC evidencia o poder das chalconas de atuarem como acceptor de Michael. Ao considerar os potenciais mecanismos através dos quais a chalcona induz a morte celular de células tumorais, uma possibilidade é que a chalcona possa atuar como um eletrófilo (ou seja, um acceptor de Michael) e assim exercendo sua ação antitumoral.

Para verificar se existem diferenças significativas entre as médias de cada composto para cada análise (sequestro de DPPH via UV-Vis e RPE e adição conjugada com N-acetilcisteína) realizou-se o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Todos os resultados apresentaram diferença significativa.

6. CONCLUSÃO

A síntese dos compostos propostos, bem como a purificação e a caracterização por diferentes técnicas, foi realizada de forma satisfatória, rendimentos variando entre 80 a 99% e pureza comprovada. As atividades antitumoral e antioxidante e a adição conjugada com N-acetilcisteína aos compostos foram realizadas conforme a metodologia proposta.

Através dos resultados obtidos foi possível relacionar a estrutura dos compostos com sua atividade biológica pela variação dos substituintes na estrutura básica da chalcona (1,3-difenilprop-2-en-1-ona).

Na atividade antitumoral o composto **7a** foi ativo para as três linhagens testadas (ovário, próstata e pulmão). Para a linhagem de carcinoma de ovário os compostos **7f** e **7h** também apresentaram atividade, para a linhagem de carcinoma de próstata os compostos **7b** e **7g** e para a linhagem de carcinoma pulmonar os compostos **7c**, **7f**, **7h**, **7i**, **7j** e **7k**. Os compostos **7d** e **7e** foram inativos em todas as linhagens testadas.

A linhagem de carcinoma pulmonar broncoalveolar foi mais susceptível aos compostos testados (7 ativos/11 compostos). Já para as linhagens de carcinoma de ovário e próstata humano a expressão foi semelhante, sendo três ativas das onze testadas. O melhor IC₅₀ para a linhagem de carcinoma de ovário foi do composto **7f** (6,13 µM), para a de carcinoma de próstata o do **7a** (IC₅₀ = 5,67 µM) e para de carcinoma de pulmão o do **7h** (IC₅₀ = 1,71 µM).

Na atividade antitumoral não foi possível estabelecer uma relação direta da quantidade de substituições de grupos metoxilas com o aumento da citotoxicidade. No entanto, na atividade antioxidante por sequestro de DPPH a mesma premissa foi justificada. Também foi possível evidenciar que além de grupos metoxilas, outros grupos doadores de elétrons (hidroxila, amino, por exemplo) tem relação direta com o aumento da atividade antioxidante e grupos retiradores de elétrons (nitro, por exemplo) diminuem atividade antioxidante.

Na atividade antioxidante por voltametria foi possível estabelecer quais dos compostos possuem potencial de desempenhar atividade antioxidante endógena (**7g**, **7j** e **7k**), uma vez que esses apresentaram o primeiro pico de oxidação antes de 0,5V conforme diversos antioxidantes endógenos (glutathione, melatonina e ácido ascórbico) com atividade já comprovada.

Com relação a adição conjugada da *N*-acetilcisteína ao sistema α,β -insaturado dos compostos a eficiência dessa adição foi aumentada com o aumento do tempo de incubação, com os compostos tendo uma porcentagem de ligação média de 45% após 70 min de incubação.

Frente aos resultados obtidos e as diversas propriedades biológicas já comprovadas para as chalconas, estudos como este são de extrema relevância. A utilização do esqueleto básico (1,3-difenil-2-propen-1-ona) na síntese e/ou modificação para a obtenção de uma molécula com atividade específica, seja ela antitumoral, antioxidante, ou outra, é uma ferramenta pertinente, uma vez que se pode inserir grupos de substituintes específicos na molécula visando uma determinada atividade. Como, por exemplo, grupos hidroxilas e metoxilas para desempenharem atividade antitumoral e grupos doadores de elétrons e/ou prótons para atividade antioxidante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, B. Z.; SOK, D. E. Michael acceptors as a tool for anticancer drug design. **Current Pharmaceutical Design**, v. 2, p. 247-262, 1996.

ALAM, S.; PANDA, R.; KACHROO, M. Anti-tubercular, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of some newly synthesized chalcones. Indian **Journal of Chemistry**, v. 53B, p. 440-443, 2014.

AL-JABER, N. A.; BOUGASIM, A. S. A; KARAH, M. M. S. Study of Michael addition on chalcones and or chalcone analogues. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 16, p. 45–53, 2012.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, v. 1, Brasília, 2010.

APONTE, C. J; VERASTEGUI, M.; MALAGA, E.; ZIMIC, M.; QUILIANO, M. Synthesis, Cytotoxicity, and Anti-Trypanosoma cruzi Activity of New Chalcones. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 6230-6234, 2008.

ARUOMA, O. I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v. 9, p. 523-524, 2003.

ASEVEDO, E.; MENDES, A. C.; BERK, M.; BRIETZKE, E. Systematic review of N-acetylcysteine in the treatment of addictions. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 36, p. 168–175, 2014.

BANDGAR, B. P.; GAWANDE, S. S. Synthesis and biological screening of a combinatorial library of β -chlorovinyl chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 2060-2065, 2010.

BANDGAR, B. P.; PATIL, A.S; GACCHE, N.R; KORBAD, L.B. Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 730-733, 2010.

Barakat, A.; Al-Majid, A. M.; Soliman, S. M.; Mabkhot, Y. N.; Ali, M.; Ghabbour, H. A.; Fun, H.-K.; Wadood, A. Structural and spectral investigations of the recently synthesized chalcone (E)-3-mesityl1-(naphthalen-2-yl) prop-2-en-1-one, a potential chemotherapeutic agent. **Chem Cent J.**, p. 1-15, 2015.

BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; McCOY, K. D.; WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica, Berlin**, v. 4, p. 14-19, 1996.

BETANCUR-GALVIS, L. A.; SAEZ, J.; GRANADOS, H.; SALAZAR, A.; OSSA, J. E. Antitumor and antiviral activity of colombian medicinal plant extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 531-535, 1999.

BITENCOURT, H. R.; SANTOS, L. S.; SOUZA, A. P. S. Atividade alelopática de chalcona sintética, de seus precursores e de cetonas e aldeídos relacionados. **Planta Daninha**, v. 27, p. 747-753, 2007.

BOUMENDJEL, A.; RONOT, X.; BOUTONNAT, J. Chalcones Derivatives Acting as Cell Cycle Blockers: Potential Anti-Cancer Drugs? **Current Drug Targets**, v. 10, p. 363-371, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. **Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva** – Rio de Janeiro: INCA, 2015.

CAMPOS, M. G. Flavonoides. In: CUNHA, A. P. (org.). **Farmacognosia e Fitoquímica**, 3. ed. 670p. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, cap. 13, p. 238-289, 2010.

CAO, D.; FANG, G.; ZHANG, J.; WANG, H.; ZHENG, C.; ZHAO, G. Enantioselective Michael Addition of Malonates to Chalcone Derivatives Catalyzed by Dipeptide-derived Multifunctional Phosphonium Salts. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 81, p. 9973–9982, 2016.

CAREY, F.A.; SUNDBERG, J.R. **Advanced Organic Chemistry, Part B: reactions and synthesis**. 5. ed. New York: Springer, 2007.

CHAVAN, B. B.; GADEKAR, A. S.; MEHTA, P. P.; VAHWAL, P. K.; KOLSURE, A. K.; CHABUKSWAR, A. R. Synthesis and Medicinal Significance of Chalcones: A Review. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 01-07, 2016.

CHENG, J. H.; HUNG, C. F.; YANG, S. C.; WANG, J. P.; WON, S. J.; LIN, C. N. Synthesis and cytotoxic, anti-inflammatory, and anti-oxidant activities of 2',5'-dialkoxychalcones as cancer chemo preventive agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 7270-7276, 2008.

CHOPRA, P. K. P. G. Chalcones: a brief review. **International Journal of Research in Engineering and Applied Sciences**, v. 6, p. 173-185, 2016.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N., MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Quim.**, v. 2, p. 47-58, 2010.

DAS, C. B; MARIAPPAN, G.; SAHA, S.; BHOWMIK, D.; RAJEEV, C. Anti-helminthic and anti-microbial activity of some novel chalcone derivatives. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.2, p.113-120, 2010.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1430-1435, 2011.

DIMMOCK, J. R.; ELIAS, D. W.; BEAZELY, M. A.; KANDEPU, N. M. Bioactivities of Chalcones. **Current Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 1125-1149, 1999.

DUCKI, S., FORREST, R.; HADFIELD, J. A.; KENDALL, A.; LAWRENCE, N. J.; MCGOWN, A.T.; RENNISON, D. Potent antimitotic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 8, p. 1051-6, 1998.

EDWARDS, M. L.; STEMERICK, D. M.; SUNKARA, P. S. Chalcones: a new class of antimitotic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, p. 1948-54, 1990.

FOREJENIKOV, H.; LUNEROV, K.; KUBNOVA, R; JANKOVISK, D.; MAREK, R. Chemoprotective and toxic potentials of synthetic and natural chalcones and dihydrochalcones in vitro. **Toxicology**, v. 208, p. 81-93, 2005.

FRAGA, A.G.M. Combretastatinas e seus Análogos: a Natureza como Fonte Alternativa para a Terapia do Câncer. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 765-790, 2015.

FU, Y., HSIEH, T. C.; GUO, J.; KUNICKI, J.; LEE, MY.; DARZYNKIEWICZ, Z.; WU, J. M. Licochalcone-A, a novel flavonoid isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*), causes G2 and late-G1 arrests in androgen-independent PC-3 prostate cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 322, p. 263-70, 2004.

GLÓD, B. K.; KIERZTYN, I.; PISZCZ, P. Total antioxidant potential assay with cyclic voltammetry and/or differential pulse voltammetry measurements. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.719, p. 24-29, 2014.

GO, M. L.; WU, X.; LIU, X. L. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 483-499, 2005.

HOUSE, H. O. **Modern Synthetic Reactions**, second ed., Benjamin, New York, 595 p., 1972.

Jadon, N.; Jain, R.; Aribam, N. G.; Chauhan, P. Monitoring of Endogenous Antioxidants: An Electroanalytical Approach. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 164, p. H266-H277, 2017.

KABASHIMA, TSUJI, H., SHIBUYA, T., HATTORI, H. Michael addition of nitromethane to α,β -unsaturated carbonyl compounds over solid base catalysts. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 155, p. 23-29, 2000.

KOSTANECKI, S. V.; TABOR, J. Ueber die sechs isomeren Monooxybenzalacetophenone (Monooxychalkone). **Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 32, p. 1921-1926, 1899.

LAWRENCE, N. J., MCGOWN, A. T.; DUCKI, S.; HADFIELD, J. A. The interaction of chalcones with tubulin. **Anticancer Drug Design**, v. 15, p. 135-41, 2000.

LEAL, A.S.; KRAMBROCK, K.; GUEDES, K; RODRIGUES, R.R. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) aplicada à Análise de especiarias irradiadas (com radiação gama). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 427-430, 2004.

LEBLANC, R., DICKSON, J.; BROWN, T.; STEWART, M.; PATI, H. N.; VANDERVEER, D.; ARMAN, H.; HARRIS, J.; PENNINGTON, W.; HOLT Jr., H. L.; LEE, M. Synthesis and cytotoxicity of epoxide and pyrazole analogs of the combretastatins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 6025-34, 2005.

LI, R.; KENYON, L. G; COHEN, E. F; CHEN, X.; DOMINGUEZ, N. J. In vitro Antimalarial Activity of Chalcones and Their Derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, p. 5031-5037, 1995.

LINO, F. M. A.; SÁ, L. Z.; TORRES, I. M. S.; ROCHA, M. L.; DINIS, T. C. P.; GHEDINI, P. C.; SOMERSET, V. S.; GIL, E. S. Voltammetric and spectrometric determination of antioxidant capacity of selected wines. **Electrochimica Acta**, v. 128, p. 25–31, 2014.

MALLIKARJUN, G. K; ECJHAO, C. Antiviral Activity of Substituted Chalcones and their respective Cu (ii), Ni (ii) and Zn (ii) Complexes. **European Journal of Chemistry**, v. 2, n. 6, p. 58-61, 2005.

MAYDT, D.; SPIRT, S.; MUSCHELKNAUTZ, C.; STAHL, W.; MULLER, T. Chemical reactivity and biological activity of chalcones and other α,β -unsaturated carbonyl compounds. **Xenobiotica**, p. 1-8, 2013.

MORAES, T. A. P.; FILHA, M. J. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; SOARES, B. M.; BOMFIM, I. S.; PESSOA, C.; XIMENES, G. C.; SILVA Jr., V. A. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of a Series of 2-Amino-Naphthoquinones against Human Cancer Cells. **Molecules**, v. 19, p. 13188-13199, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NAM, N. H., KIM, Y.; YOU, Y. J.; HONG, D. H.; KIM, H. M.; AHN, B. Z. Cytotoxic 2',5'-dihydroxychalcones with unexpected antiangiogenic activity. *Eur J Med Chem*, v. 38, p. 179-87, 2003.

NARJAFIAN, M.; HABIBI, E. A; HEZAREH, N.; YAGHMAEI, P. Trans-chalcone: a novel small molecule inhibitor of mammalian alpha-amylase. **Molecular Biology Reports**, v. 38, p. 1617-1620, 2010.

NI, L.; MENG, Q. M.; SIROSKI, J. A. Recent advances in therapeutic chalcones. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 14, p. 1699-1691, 2004.

OLIVEIRA-NETO, J. R.; REZENDE, S. G.; LOBÓN, G. S.; GARCIA, T. A.; MACEDO, I. Y. L.; GARCIA, L. F.; ALVES, V. F.; TORRES, I. M. S.; SANTIAGO, M. F.; SCHMIDT, F.; GIL, E. S. Electroanalysis and laccase-based biosensor on the determination of phenolic content and antioxidant power of honey samples. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1118-1123, 2017.

ØYVIND, M. A.; KENNETH, R. M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications. 1ed. **CRC Press/Taylor & Francis**, Boca Raton. 1256p. 2006.

PATIL, A. S.; GACCHE, N. R.; KORBAD, L. B. Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 730-733, 2010.

PETTIT, G. R.; SINGH, S. B.; SCHMIDT, J. M.; NIXEN, M. L.; HAMEL, E.; LIN, C. M. Isolation, Structure, Synthesis, and Antimitotic Properties of Combretastatins B-3 and B-4 from *Combretum caffrum*. **Journal of Natural Products**, v. 51, p. 517–527, 1988.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

RALPH, S. J., RODRIGUEZ-ENRIQUEZ, S., NEUZIL, J. & MORENO-SANCHEZ, R. Bioenergetic pathways in tumor mitochondria as targets for cancer therapy and the importance of the ROS-induced apoptotic trigger. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, p. 29–59, 2010.

RANDO, G. D; GIAROLLA, J.; PASQUALOTO, M. F. K.; FERREIRA, I. E. Chalcones and N-acylhydrazones: direct analogues? Exploratory data analysis applied to potential novel antileishmanial agents. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 311-321, 2010.

SABZEVARI, O., GALATI, G.; MORIDANI, M. Y.; SIRAKI, A.; O'BRIEN, P. J. Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. **Chemico-Biological Interactions**, v. 148, p. 57-67, 2004.

SHEN, K. H.; CHANG, J. K.; HSU, Y. L.; KUO, P. L. Chalcone arrests cell cycle progression and induces apoptosis through induction of mitochondrial pathway and inhibition of nuclear factor kappa B signalling in human bladder cancer cells. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 101, p. 254-261, 2007.

SIVAKUMAR, P. M.; PRABHAKAR, M. D. Synthesis, antioxidant evaluation, and quantitative structure-activity relationship studies of chalcones. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, n. 482-492, 2011.

SIVAKUMAR, P. M; KUMAR, M. T; DOBLE, M. Antifungal activity, mechanism and QSAR studies on chalcones. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 74, p. 68-79, 2009.

SOCHOR, J.; DOBES, J.; KRYSSTOFOVA, O.; RUTTKAY-NEDECKY, B.; BABULA, P.; POHANKA, M.; JURIKOVA, T.; ZITKA, O.; ADAM, V.; KLEJDUS, B.; KIZEK, R. Electrochemistry as a Tool for Studying Antioxidant Properties. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 8, p. 8464 – 8489, 2013.

SOKMEN, M.; KHAN, M.A. The antioxidant activity of some curcuminoids and chalcones. **Inflammopharmacology**, v. 24, p. 81-86, 2016.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. Química Orgânica. Vol.2. 7ed. **LTC editora**. 484p. 2002.

SZLISZKA, E.; CZUBA, P. Z.; MAZUR, B.; SEDEK, L.; PARADYSZ, A.; KROL, W. Chalcones enhance TRAIL-Induced apoptosis in prostate cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 1-13, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre. **Ed. Artmed**. 719p. 2004.

VOGEL, A. I. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5 ed. New York: **John Wiley & Sons**, 1017p. 1989.

WHO, World Health Organization. Health topics, Cancer <http://www.who.int/topics/cancer/en/>, 2016 [acesso em 20 outubro de 2017].

WHO, World Health Organization. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. Editing, layout and design by Health & Development Networks (HDN) <http://www.hdnet.org> Printed in Italy. Cover design by Marilyn Langfeld. 2002 [acesso em 20 outubro de 2017].

WINTER, E.; CHIARADIA, L. D.; CORDOVA, C. A. S.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. Naphthyl-chalcones induce apoptosis and caspase activation in a leukemia cell line: the relationship between mitochondrial damage, oxidative stress, and cell death. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 8026–8034, 2010.

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

YADAV, V. R.; PRASAD, S.; SUNG, B.; AGGARWAL, B. B. The role of chalcones in suppression of NF- κ B-mediated inflammation and cancer. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 295-309, 2011.

YANG, W.; DU, D. M. Highly Enantioselective Michael Addition of Nitroalkanes to Chalcones Using Chiral Squaramides as Hydrogen Bonding Organocatalysts. **Organic Letters**, v. 12, p. 5450-5453, 2010.

YAYLI, N.; UCUNCU, O.; AYDIN, E.; GOK, Y.; YASAR, A.; BALTAÇI, C.; YILDIRIM, N.; KUCUK, M. Intramolecular 4p photocyclization of chalconoid-like compounds in solution and antimicrobial activities. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 169, p. 229–234, 2005.

YAYLI, N.; UCUNCU, O.; YASAR, A.; KUCUK, M.; YAYLI, N.; AKYUZ, E.; KARAOGLU, S. A. Synthesis and biological activities of N-alkyl derivatives of o-, m-, and p-nitro (E)-4-

azachalcones and stereoselective photochemistry in solution, with theoretical calculations.

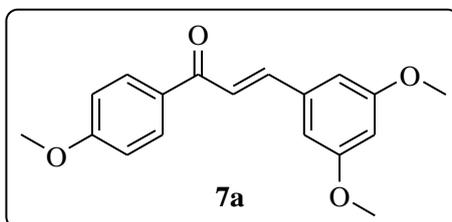
Turkish Journal of Chemistry, v. 30, p. 505–514, 2006.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O. (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento, 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: **Editora da UFRGS**, 2001. Cap. 23. p. 499-526, 2001.

ANEXO 1:

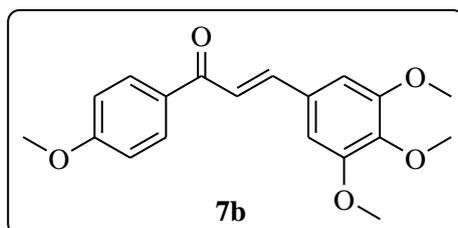
DADOS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS DA SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

(E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a)



- **Síntese:** 1 mmol de 4-metoxiacetofenona (150,17 g/mol; 0,1502 g) e 1 mmol de 3,5-dimetoxibenzaldeído (166,17 g/mol; 0,1662 g). Produto: C₁₈H₁₈O₄ (298,12 g/mol); sólido de coloração branca esverdeada; cristal branco em diclorometano; 98% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 88,7 a 89,9°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 11,19 min; fragmentações em 63, 77, 92,135, 267 e 298 (valores acima de 30%); pico base em 77; íon molecular em 298 (*m/z*).
- **IV:** 1580 cm⁻¹ (C=C); 1650 cm⁻¹ (C=O); 700 cm⁻¹; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm⁻¹ (substituições para); 750 cm⁻¹ (anéis aromáticos meta-sustituídos); 1300 cm⁻¹ (estiramento C–O); 1400 cm⁻¹ (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃)** em δ 8.06 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.55 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.92 (s, 1H), 3.87 (s, 2H); e para **RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃)** em δ 188.71, 163.46, 161.07, 143.94, 137.02, 131.07, 130.83, 122.47, 113.86, 106.29, 102.55, 77.27, 77.02, 76.76, 55.49, 55.47.

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7b)

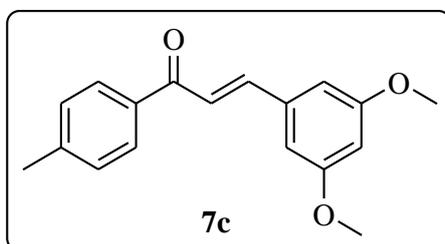


- **Síntese:** 1 mmol de 4-metoxiacetofenona (150,17 g/mol; 0,1502 g) e 1 mmol de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (196,20g/mol; 0,1963 g). Produto: C₁₉H₂₀O₅ (328,13 g/mol); sólido

de coloração esverdeada; cristal verde claro em diclorometano; 98% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 98,7 a 100,2°C.

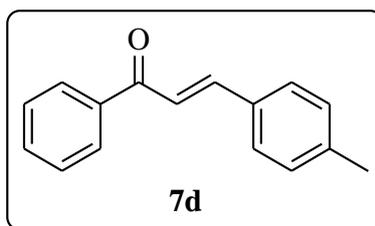
- **CG/EM:** tempo de retenção em 12,42 min; fragmentações em 44, 64, 77, 92, 135, 297, 313 e 328 (valores acima de 30%); pico base e íon molecular em 328 (m/z).
- **IV:** 1580 cm^{-1} (C=C); 1650 cm^{-1} (C=O); 700 cm^{-1} ; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm^{-1} (substituições para); 750 cm^{-1} (anéis aromáticos meta-sustituídos); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 1400 cm^{-1} (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)** em δ 8.04 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 3.92 (s, $J = 7.0$ Hz, 6H), 3.90 (s, $J = 2.8$ Hz, 3H), 3.89 (s, 3H); e para **RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3)** em δ 188.69, 163.42, 153.50, 144.12, 140.36, 131.17, 130.79, 130.60, 121.29, 113.85, 105.67, 77.29, 77.03, 76.78, 60.98, 56.25, 55.49.

(E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (7c)



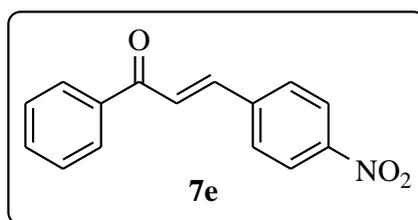
- **Síntese:** 1 mmol de 4-metilacetofenona (134,18 g/mol; 0,1342 g) e 1 mmol de 3,5-dimetoxibenzaldeído (166,17g/mol; 0,1662 g). Produto: $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (282,33 g/mol); sólido de coloração branca; cristal verde claro em diclorometano; 99% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 101,9 a 103,0°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 9,76 min; fragmentações em 65, 91, 119, 251 e 282 (valores acima de 30%); pico base em 91; íon molecular em 282 (m/z).
- **IV:** 1580 cm^{-1} (C=C); 1650 cm^{-1} (C=O); 700 cm^{-1} ; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm^{-1} (substituições para); 750 cm^{-1} (anéis aromáticos meta-sustituídos); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 1400 cm^{-1} (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)** em δ 7.95 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.55 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 2.46 (s, 1H); e para **RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3)** em δ 190.04, 161.09, 144.38, 143.66, 136.94, 135.62, 129.33, 129.24, 128.67, 128.27, 122.70, 106.34, 102.65, 77.28, 77.02, 76.77, 55.48, 21.68.

(E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d)



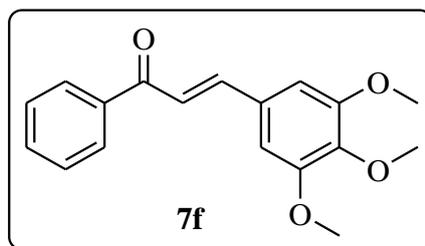
- **Síntese:** 1 mmol de acetofenona (120,14 g/mol; 0,1202 g) e 1 mmol de 4-metilbenzaldeído (120,14 g/mol; 0,1202 g). Produto: C₁₆H₁₄O (222,28 g/mol); sólido de coloração branca; cristal transparente em diclorometano; 96% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 85,4 a 86,8°C.

(E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7e)



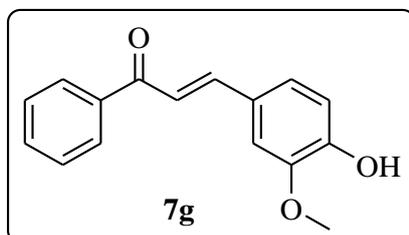
- **Síntese:** 1 mmol de acetofenona (120,14 g/mol; 0,1202 g) e 1 mmol de 4-nitrobenzaldeído (151,12 g/mol; 0,1513 g). Produto: C₁₅H₁₁NO₃ (253,25 g/mol); sólido de coloração alaranjada; 86% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 158,4 a 160,3°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 8,95 min; fragmentações em 51, 77 e 105 (valores acima de 30%); pico base em 77; íon molecular em 253 (*m/z*).
- **IV:** 1580 cm⁻¹ (C=C); 1650 cm⁻¹ (C=O); 700 cm⁻¹; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm⁻¹ (substituições para); 1500 cm⁻¹ (estiramento assimétrico forte NO₂); 1350 cm⁻¹ (estiramento simétrico forte NO₂).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃)** em δ 8.33 – 8.28 (m, 2H), 8.09 – 8.03 (m, 2H), 7.85 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.82 – 7.78 (m, 2H), 7.67 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.65 (dt, *J* = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 7.56 (dt, *J* = 7.4, 2.5 Hz, 2H); e para **RMN de ¹³C (151 MHz, CDCl₃)** em δ 189.66, 148.59, 141.52, 141.07, 137.56, 136.87, 133.84, 133.39, 130.24, 129.93, 128.96, 128.85, 128.61, 125.75, 124.24, 123.51, 77.25, 77.04, 76.83, 30.94.

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7f)



- **Síntese:** 1 mmol de acetofenona (120,14 g/mol; 0,1202 g) e 1 mmol de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (196,20g/mol; 0,1962 g). Produto: C₁₈H₁₈O₄ (298,33 g/mol); sólido de coloração esverdeada; cristal verde claro em diclorometano; 96% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 138,3 a 140,4°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 9,74 min; fragmentações em 51, 77, 105 e 298 (valores acima de 30%); pico base em 77; íon molecular em 298 (*m/z*).
- **IV:** 1580 cm⁻¹ (C=C); 1650 cm⁻¹ (C=O); 700 cm⁻¹; (anéis aromáticos monossubstituídos); 860 cm⁻¹ (substituições para); 750 cm⁻¹ (anéis aromáticos meta-substituídos); 1300 cm⁻¹ (estiramento C–O); 1400 cm⁻¹ (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃)** em δ 8.01 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.90 (s, 1H); e para **RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃)** em δ 190.60, 153.50, 145.04, 140.54, 138.29, 132.72, 130.37, 128.61, 128.48, 121.50, 105.77, 77.34, 77.08, 76.83, 60.98, 56.24, 50.75.

(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7g)

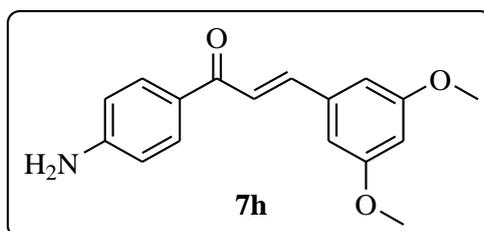


- **Síntese:** 1 mmol de acetofenona (120,14 g/mol; 0,1202 g) e 1 mmol de 3-hidroxi-4-metoxibenzaldeído (152,13 g/mol; 0,1522 g). Produto: C₁₆H₁₄O₃ (254,28 g/mol); sólido de coloração verde escuro; 84% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 88,9 a 92,1°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 8,96 min; fragmentações em 51, 77, 105 e 254 (valores acima de 30%); pico base em 77; íon molecular em 254 (*m/z*).
- **IV:** 1580 cm⁻¹ (C=C); 1650 cm⁻¹ (C=O); 700 cm⁻¹; (anéis aromáticos monossubstituídos); 860 cm⁻¹ (substituições para); 750 cm⁻¹ (anéis aromáticos meta-substituídos); 3446 cm⁻¹

(estiramento de O-H); 3620 cm^{-1} (deformação angular O-H); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 1400 cm^{-1} (vibração C–O).

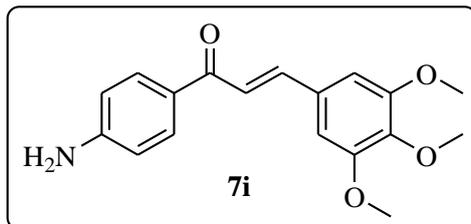
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3)** em δ 8.03 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.60 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 3.99 (s, 1H); e para **RMN de ^{13}C (151 MHz, CDCl_3)** em δ 190.73, 148.36, 148.35, 148.34, 146.85, 145.29, 145.28, 138.52, 132.59, 128.62, 128.61, 128.61, 128.60, 128.59, 128.58, 128.57, 128.57, 128.47, 128.47, 128.45, 128.44, 128.43, 128.43, 128.42, 128.16, 127.50, 123.44, 123.44, 123.43, 123.42, 119.84, 114.93, 114.91, 114.90, 114.89, 110.04, 77.26, 77.05, 76.83, 56.05, 56.04.

(E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (7h)



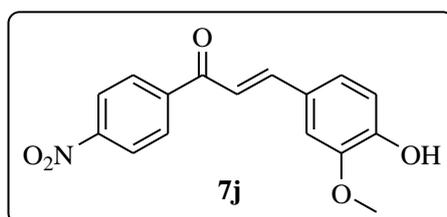
- **Síntese:** 1 mmol de 4-aminoacetofenona ($135,16\text{ g/mol}$; $0,1352\text{ g}$) e 1 mmol de 3,5-dimetoxibenzaldeído ($166,17\text{ g/mol}$; $0,1662\text{ g}$). Produto: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ ($283,12\text{ g/mol}$); sólido de coloração amarela intensa; cristal amarelo em uma mistura de 1:1 (diclorometano:metanol); 90% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre $118,5$ a $119,7^\circ\text{C}$.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 13,81 min; fragmentações em 65, 92, 120, 252 e 283 (valores acima de 30%); pico base em 120; íon molecular em 283 (m/z).
- **IV:** 1580 cm^{-1} (C=C); 1650 cm^{-1} (C=O); 700 cm^{-1} ; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm^{-1} (substituições para); 750 cm^{-1} (anéis aromáticos meta-sustituídos); 3500 cm^{-1} (estiramento N-H); 3400 cm^{-1} (deformação angular N-H); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 1400 cm^{-1} (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)** em δ 7.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.51 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.83 (s, $J = 6.0$ Hz, 1H), 1.66 (s, 1H); e para **RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3)** em δ 188.15, 161.04, 151.19, 143.14, 137.27, 131.12, 128.49, 122.63, 113.94, 106.22, 102.35, 77.28, 77.02, 76.77, 55.47.

(E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (7i)



- **Síntese:** 1 mmol de 4-aminoacetofenona (135,16 g/mol; 0,1352 g) e 1 mmol de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (196,20g/mol; 0,1962 g). Produto: C₁₈H₁₉NO₄ (313,13 g/mol); sólido de coloração amarela intensa; cristal amarelo em uma mistura de 1:1 (diclorometano:metanol); 94% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 156,6 a 160,8°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 16,14 min; fragmentações em 65, 92, 120, 282, 298 e 313 (valores acima de 30%); pico base e íon molecular em 313 (*m/z*).
- **IV:** 1580 cm⁻¹ (C=C); 1650 cm⁻¹ (C=O); 700 cm⁻¹; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm⁻¹ (substituições para); 750 cm⁻¹ (anéis aromáticos meta-sustituídos); 3500 cm⁻¹ (estiramento N-H); 3400 cm⁻¹ (deformação angular N-H); 1300 cm⁻¹ (estiramento C–O); 1400 cm⁻¹ (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃)** δ 7.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.73 – 6.67 (m, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.92 (s, 1H), 3.90 (s, 1H); e para **RMN de ¹³C (151 MHz, CDCl₃)** em δ 188.04, 153.44, 151.16, 143.29, 140.05, 131.08, 130.86, 128.52, 121.39, 113.92, 113.72, 105.48, 77.26, 77.04, 76.83, 61.00, 56.22.

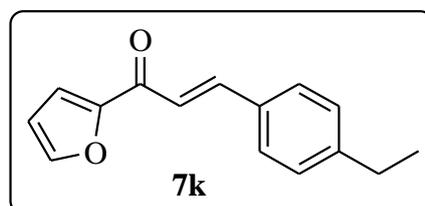
(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (7j)



- **Síntese:** 1 mmol de 4-nitroacetofenona (165,15 g/mol; 0,1652 g) e 1 mmol de 3-hidroxi-4-metoxibenzaldeído (152,13 g/mol; 0,1522 g). Produto: C₁₆H₁₃NO₅ (299,08 g/mol); sólido de coloração alaranjada; cristal alaranjado em diclorometano; 80% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 182,2 a 183,7°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 12,67 min; fragmentações em 76, 89, 117, 145, 282 e 299 (valores acima de 30%); pico base e íon molecular em 299 (*m/z*).

- **IV:** 1580 cm^{-1} (C=C); 1650 cm^{-1} (C=O); 700 cm^{-1} ; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm^{-1} (substituições para); 750 cm^{-1} (anéis aromáticos meta-sustituídos); 3446 cm^{-1} (estiramento de O-H); 3620 cm^{-1} (deformação angular O-H); 1500 cm^{-1} (estiramento assimétrico forte NO_2); 1350 cm^{-1} (estiramento simétrico forte NO_2); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 1400 cm^{-1} (vibração C–O).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3)** em δ 8.36 – 8.33 (m, 1H), 8.14 – 8.11 (m, 1H), 7.78 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.98 (s, 1H); e para **RMN de ^{13}C (151 MHz, CDCl_3)** em δ 189.08, 149.94, 148.98, 147.21, 146.92, 143.48, 129.33, 126.93, 123.97, 123.82, 119.00, 115.04, 110.16, 77.24, 77.02, 76.81, 56.08, 0.00.

(E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k)

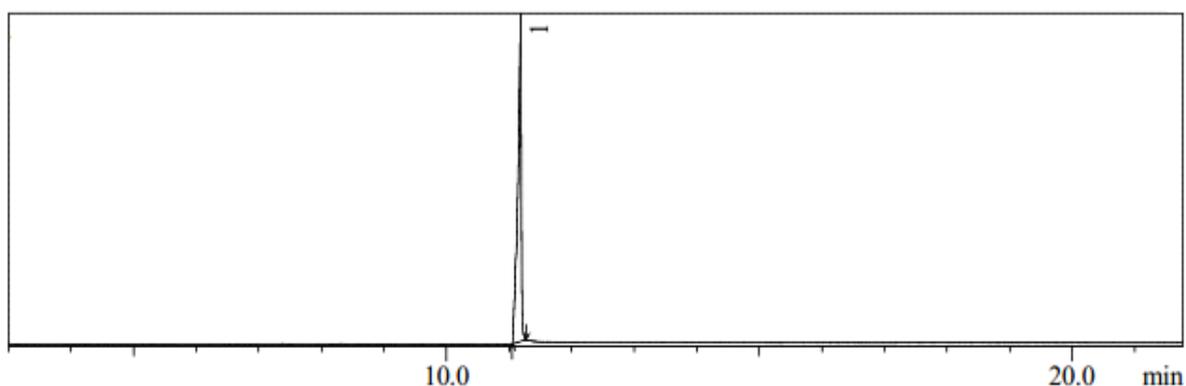


- **Síntese:** 1 mmol de 2-furilmetilcetona (110,11 g/mol; 0,1102 g) e 1 mmol de 4-etilbenzaldeído (134,17 g/mol; 0,1342 g). Produto: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_2$ (226,1 g/mol); sólido de coloração rósea; 96% de rendimento; faixa de ponto de fusão entre 178,9 a 180,7°C.
- **CG/EM:** tempo de retenção em 9,85 min; fragmentações em 39, 95 e 227 (valores acima de 30%); pico base em 95; íon molecular em 227 (m/z).
- **IV:** 1580 cm^{-1} (C=C); 1650 cm^{-1} (C=O); 700 cm^{-1} ; (anéis aromáticos monossustituídos); 860 cm^{-1} (substituições para); 790 cm^{-1} (etila).
- **RMN:** deslocamentos químicos para **RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3)** em δ 8.36 – 8.33 (m, 1H), 8.14 – 8.11 (m, 1H), 7.78 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.25 – 7.23 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.98 (s, 1H); e para **RMN de ^{13}C (151 MHz, CDCl_3)** em δ 189.08, 149.94, 148.98, 147.21, 146.92, 143.48, 129.33, 126.93, 123.97, 123.82, 119.00, 115.04, 110.16, 77.24, 77.02, 76.81, 56.08.

ANEXO 2:

CROMATOGRAMA, ESPECTRO DE MASSAS, ESPECTRO DE IV DE ESPECTRO DE RMN DE ^1H / ^{13}C DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

(E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	11.186	11.050	11.275	100.00

Figura 1: cromatograma da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a)

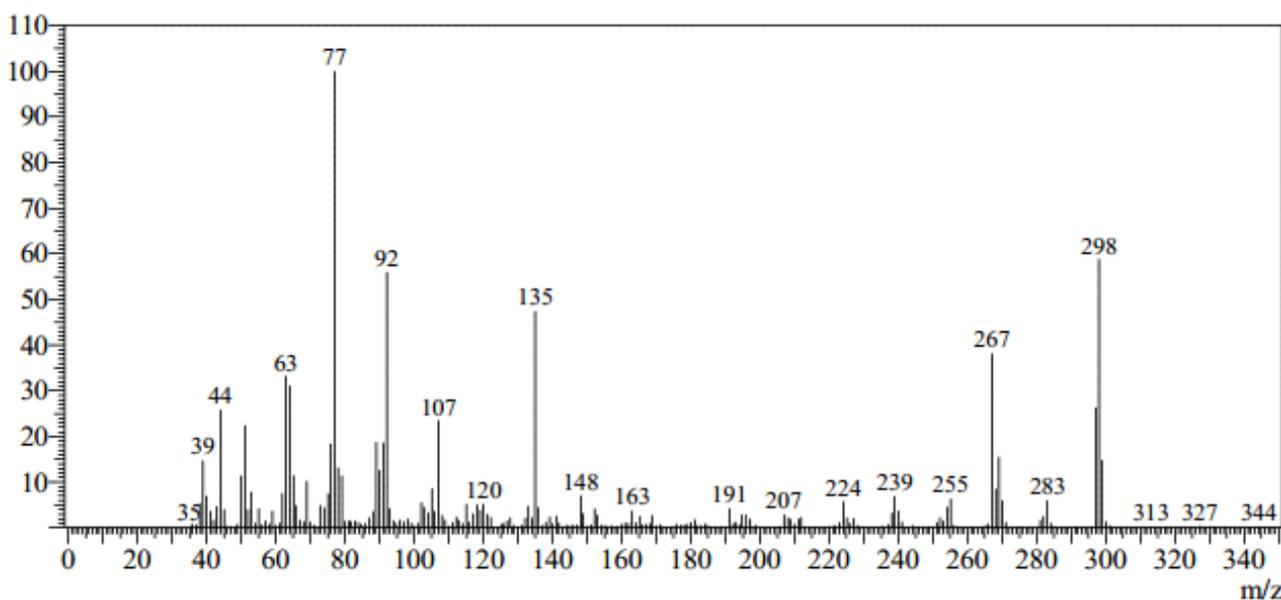


Figura 2: espectro de massas da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a)

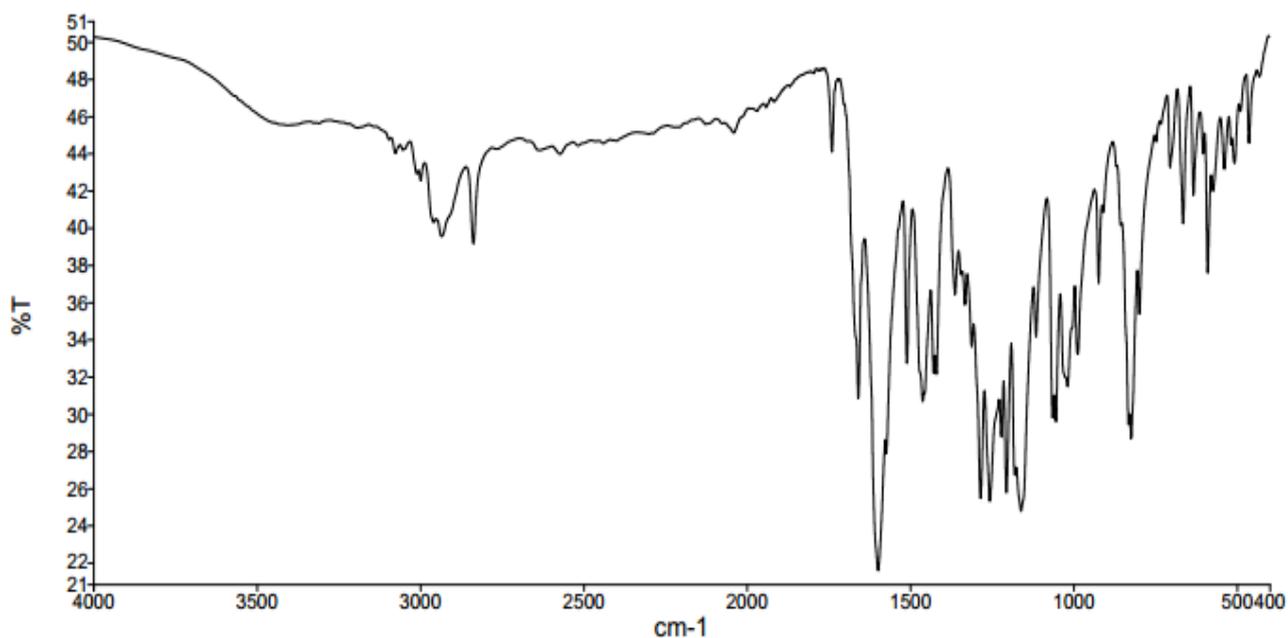


Figura 3: espectro de infravermelho da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a)

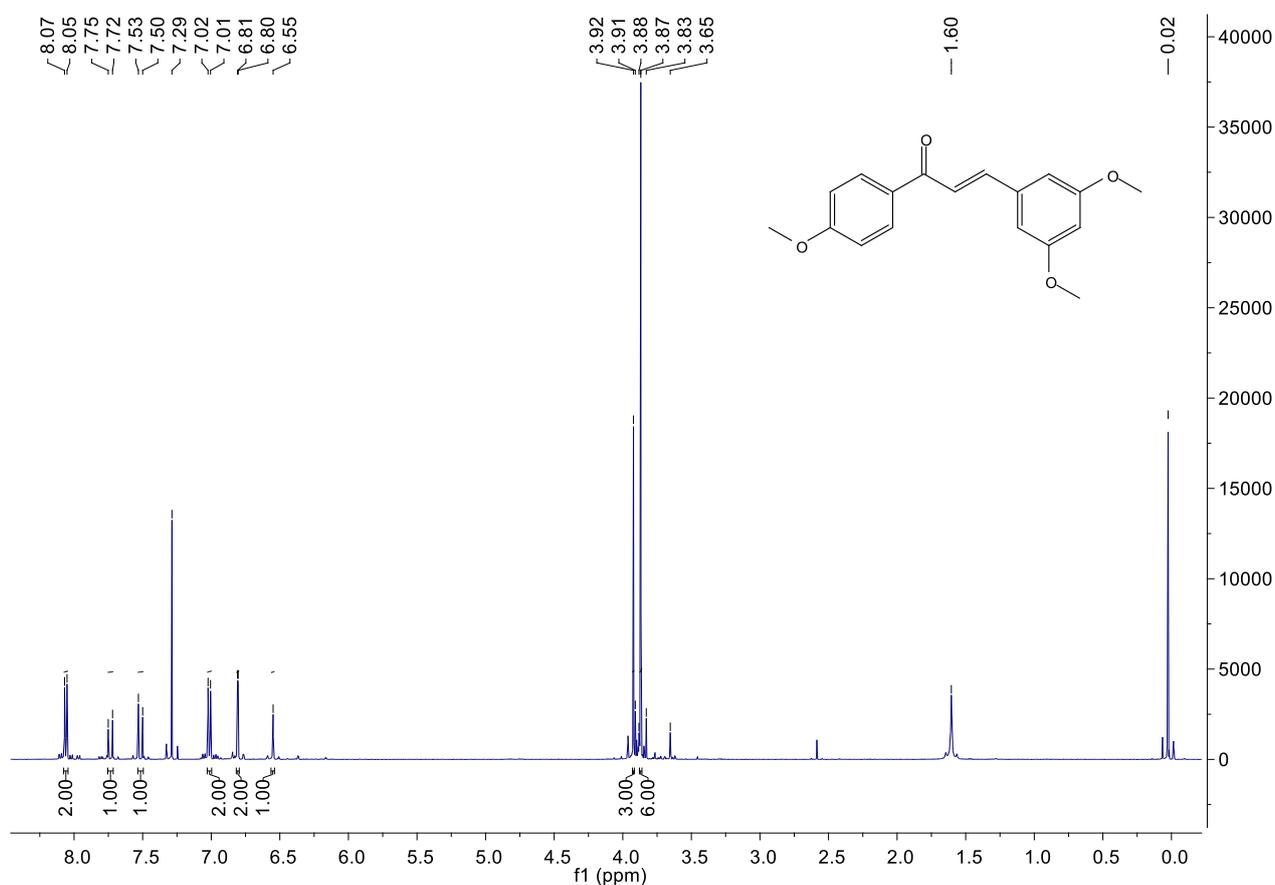


Figura 4: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7a) (500 MHz, CDCl_3)

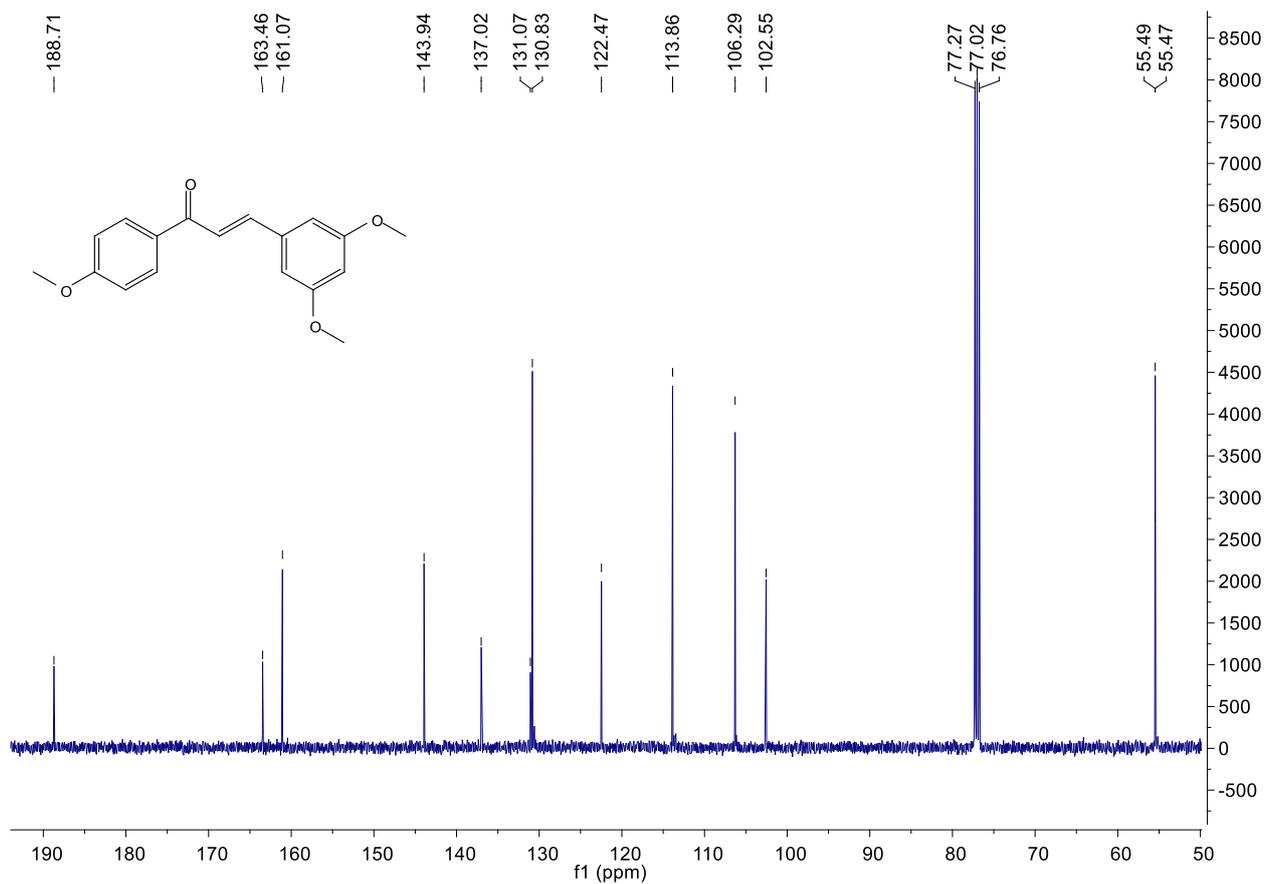
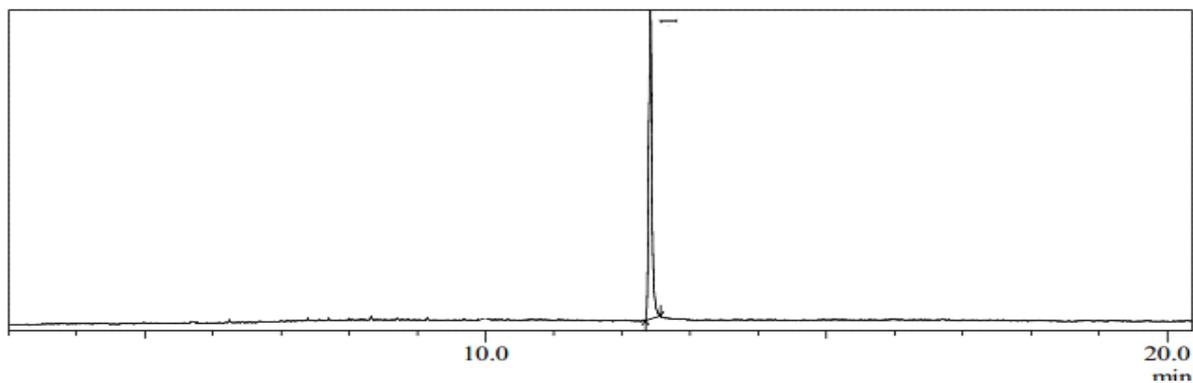


Figura 5: Espectro de RMN de ¹³C da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7a**) (126 MHz, CDCl₃)

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (7b)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	12.418	12.345	12.565	100.00

Figura 6: cromatograma da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7b**)

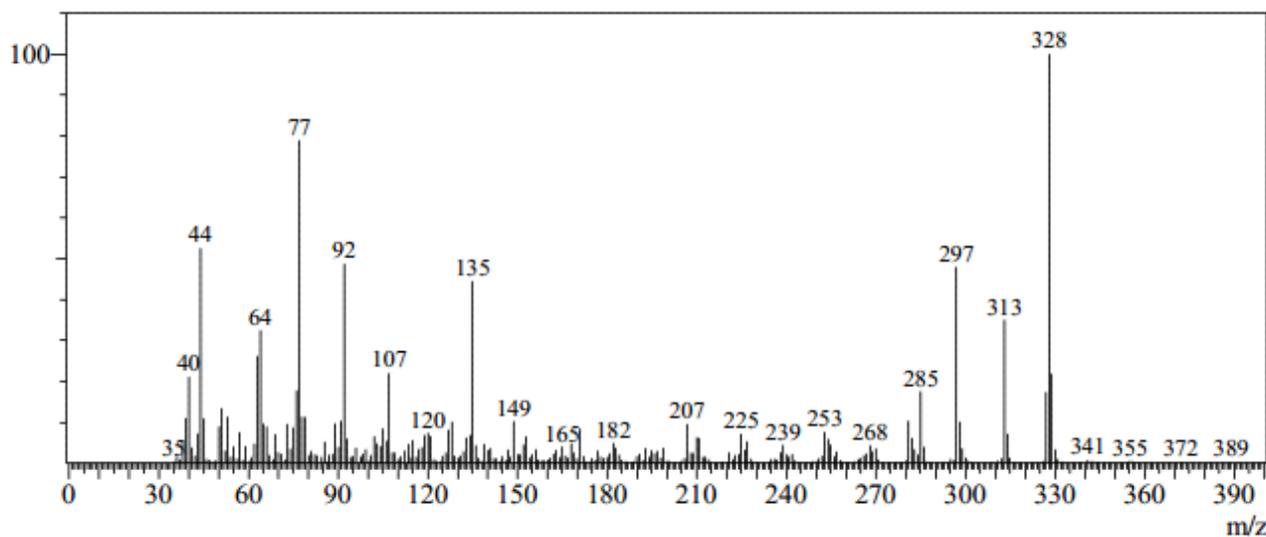


Figura 7: espectro de massas da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7b**)

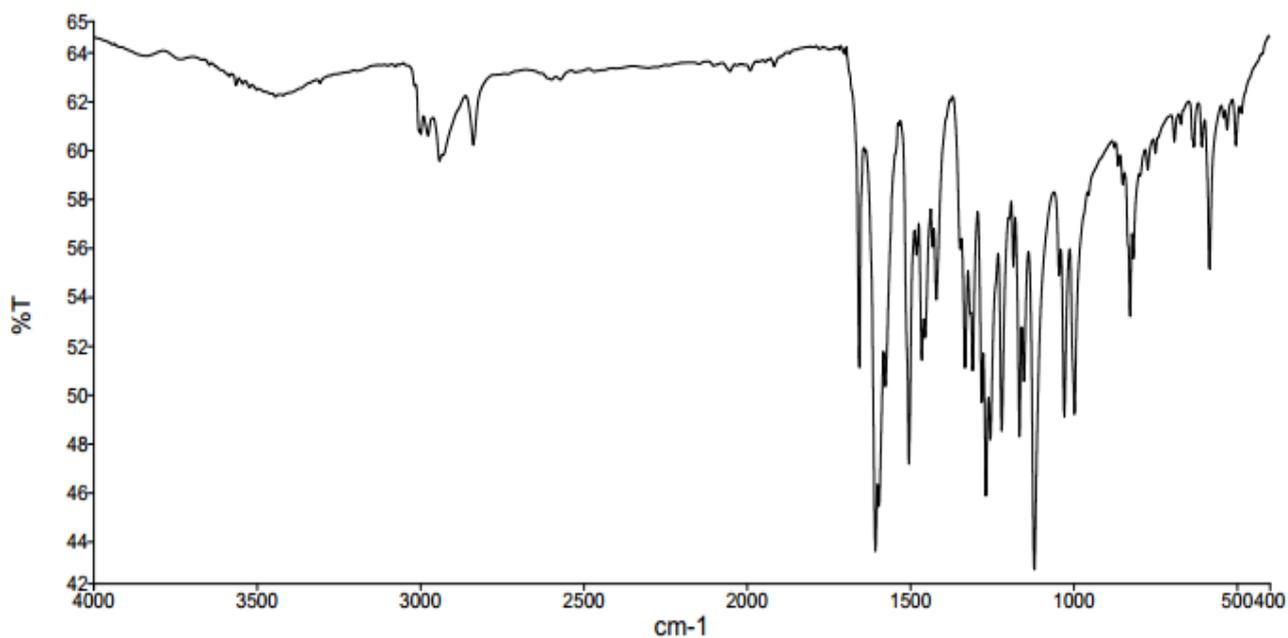


Figura 8: espectro de infravermelho da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7b**)

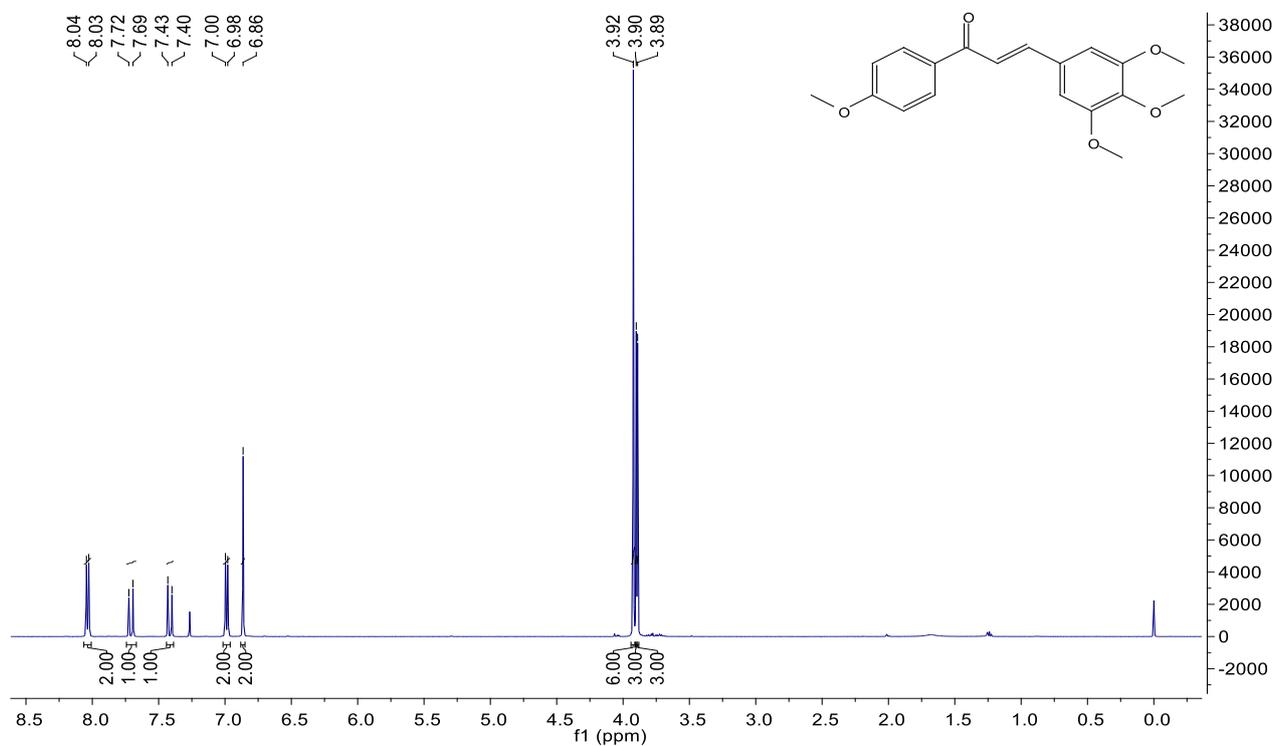


Figura 9: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7b**) (500 MHz, CDCl_3)

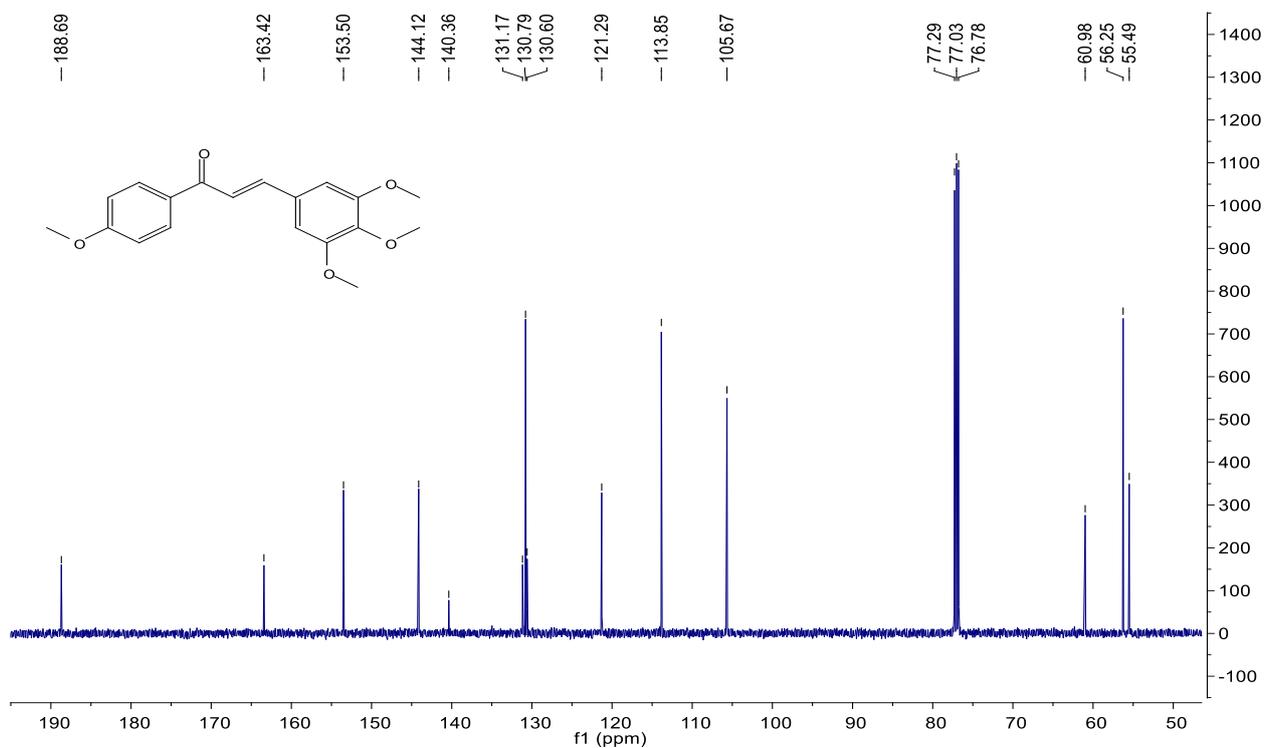
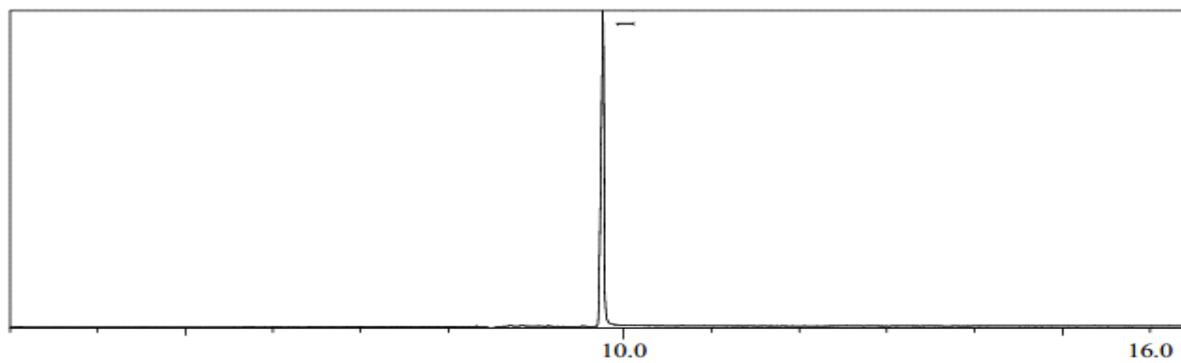


Figura 10: Espectro de RMN de ¹³C da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7b**) (126 MHz, CDCl₃)

(E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (7c)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	9.763	9.700	9.845	100.00

Figura 11: cromatograma da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (7c)

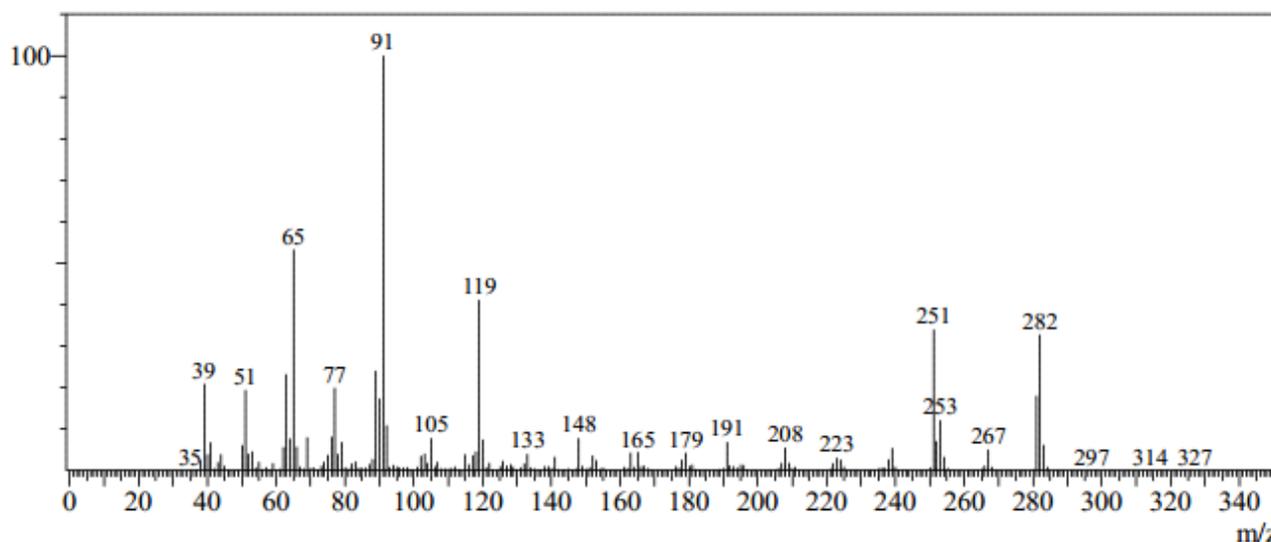


Figura 12: espectro de massas da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (7c)

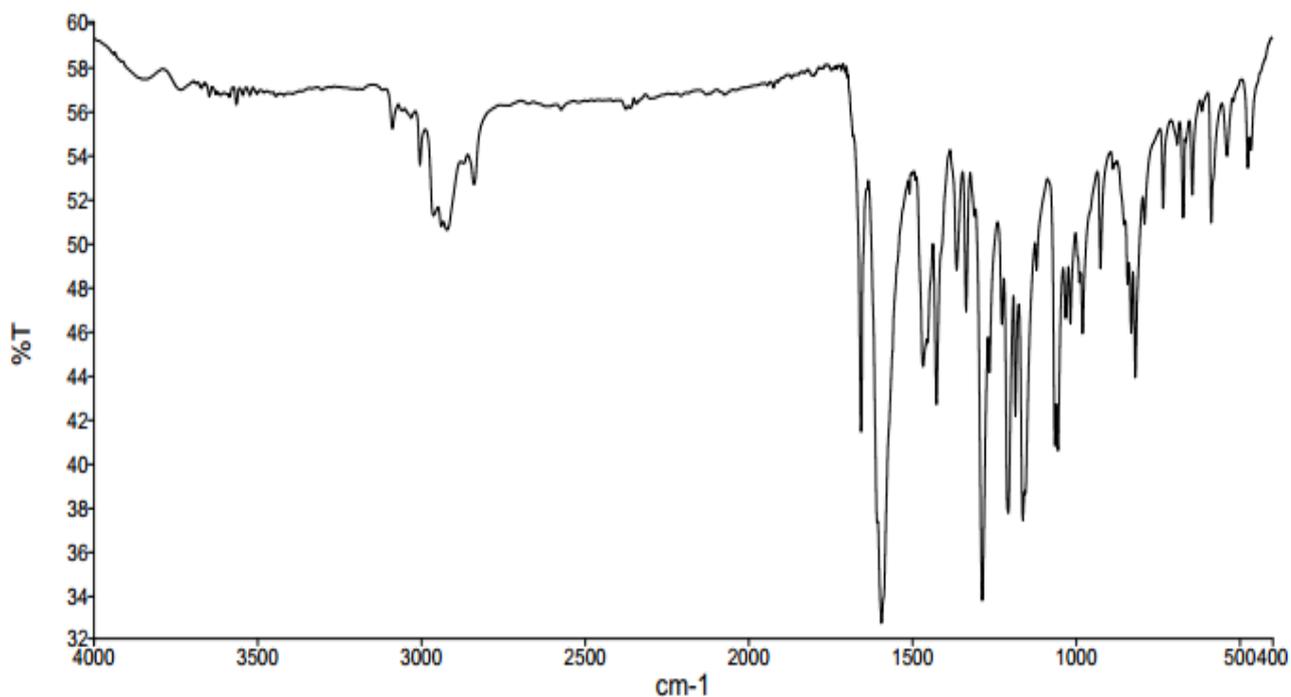


Figura 13: espectro de infravermelho da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7c**)

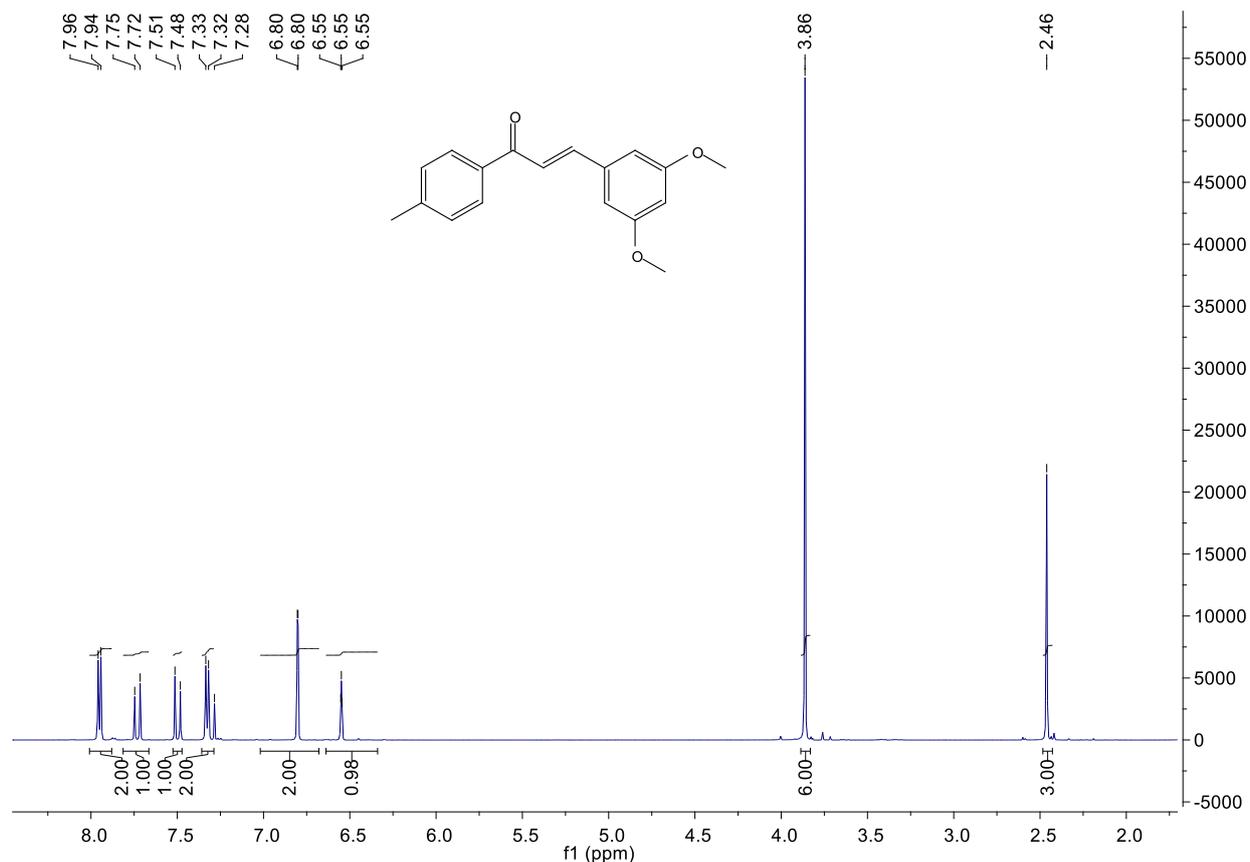


Figura 14: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7c**)
(500 MHz, CDCl_3)

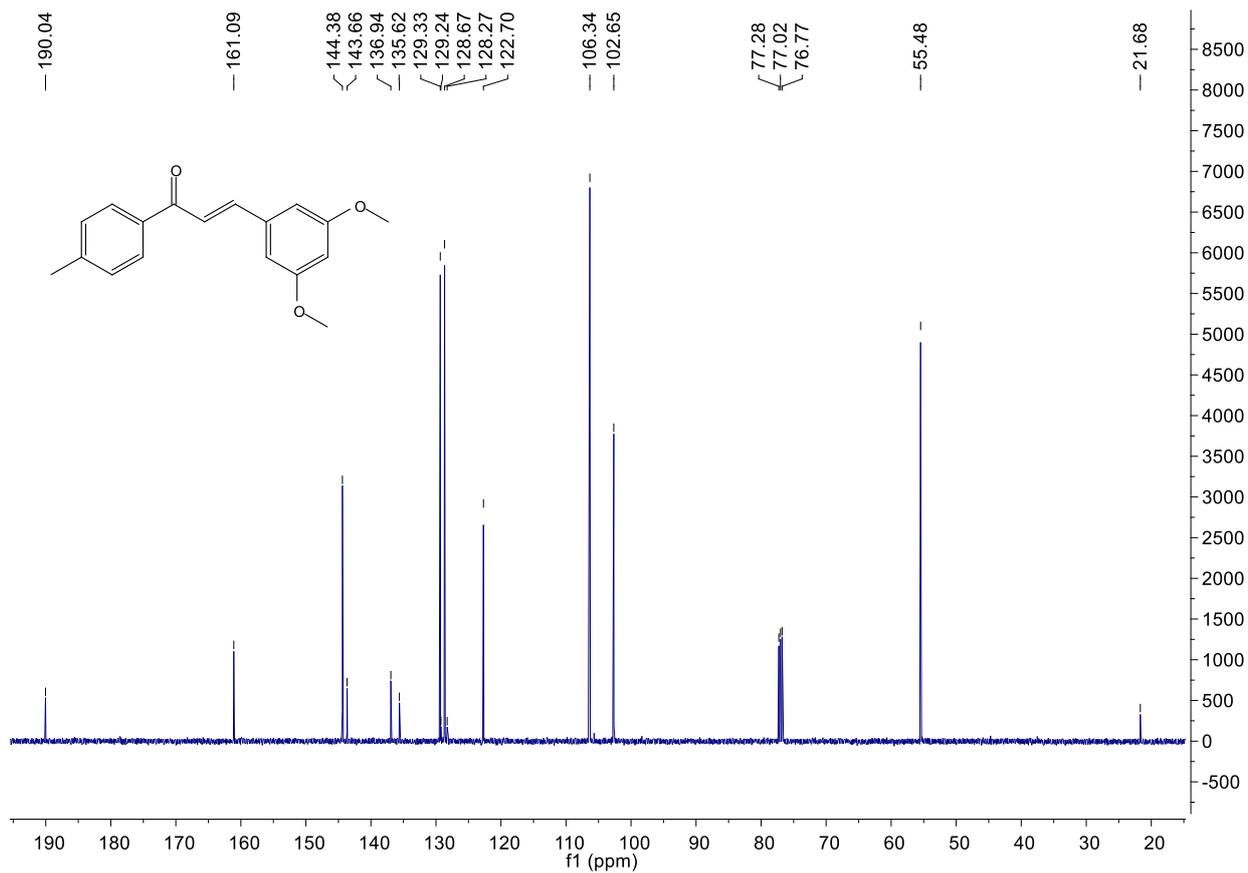
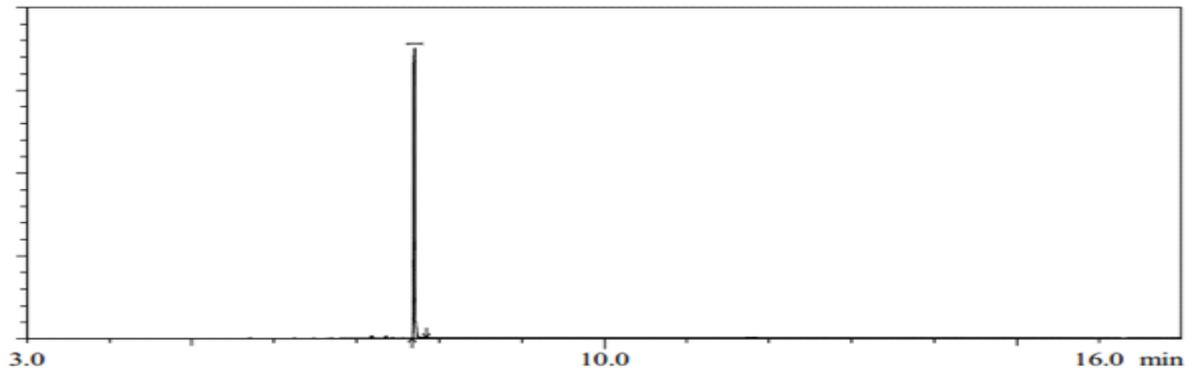


Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-3-(3,5-dimetoxifenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7c**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (7d)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	7.699	7.670	7.845	100.00

Figura 16: cromatograma da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**)

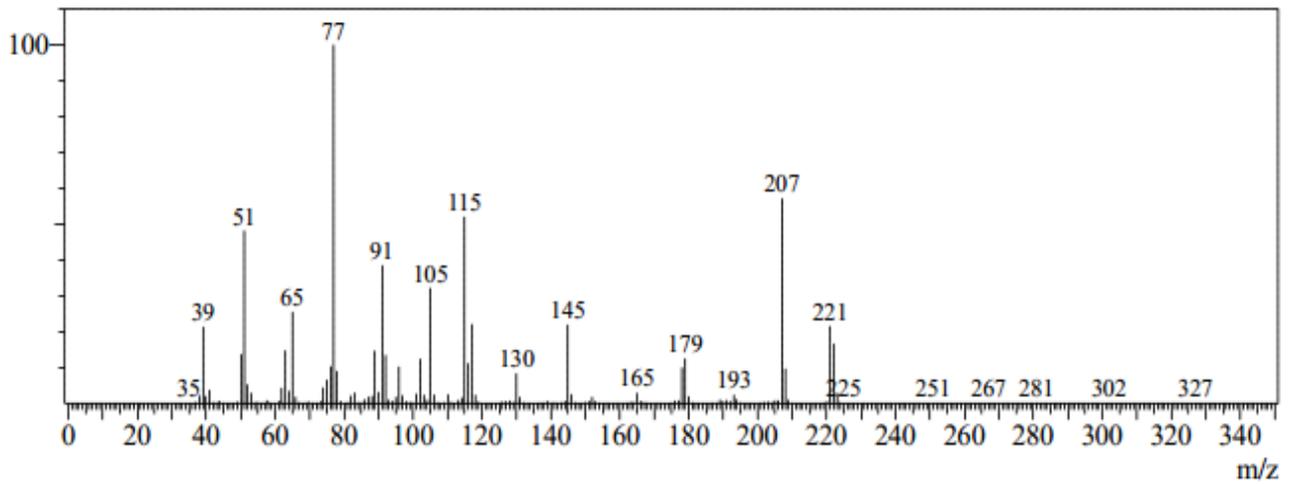


Figura 17: espectro de massas da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**)

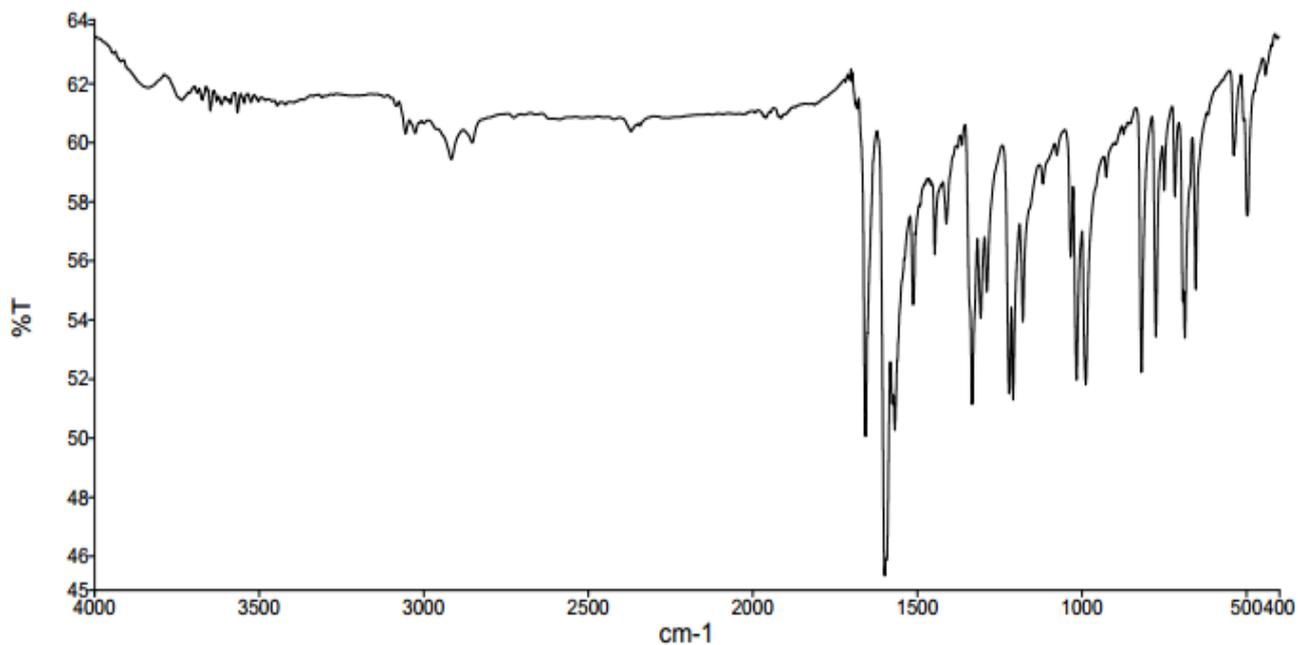


Figura 18: espectro de infravermelho da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**)

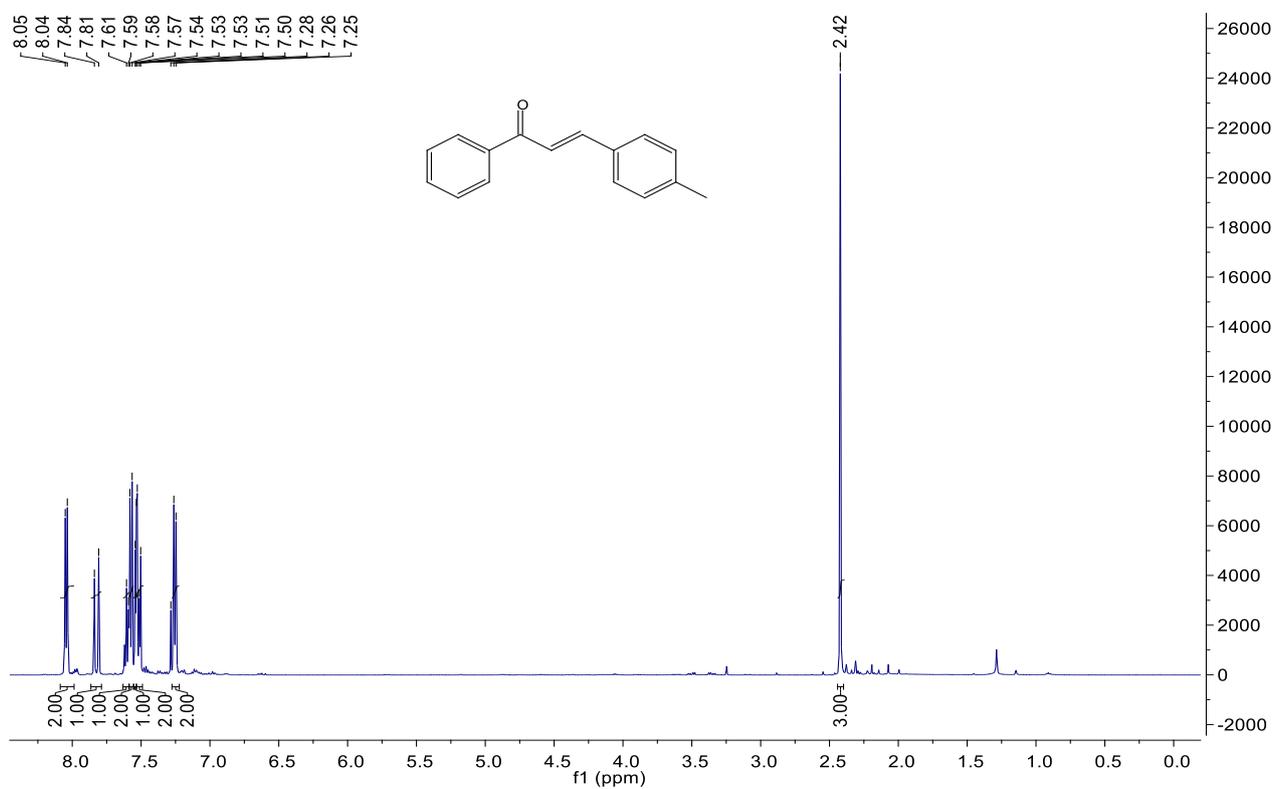


Figura 19: Espectro de RMN de ^1H da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**) (500 MHz, CDCl_3)

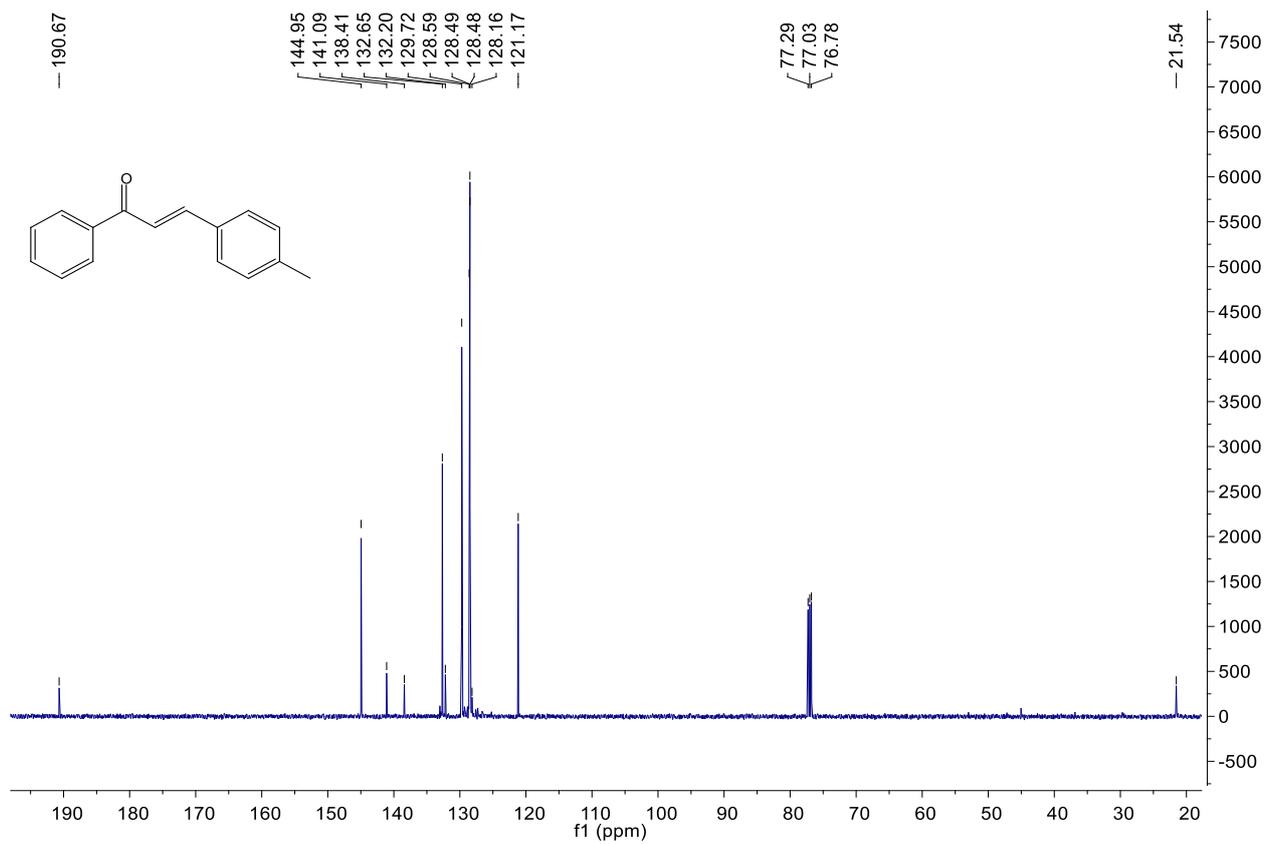
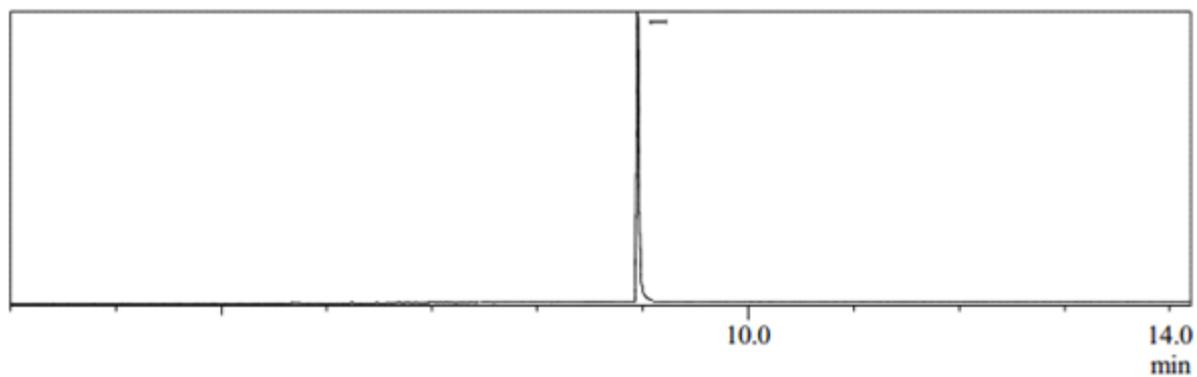


Figura 20: Espectro de RMN de ¹³C da (E)-1-fenil-3-p-toluilprop-2-en-1-ona (**7d**) (126 MHz, CDCl₃)

(E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7e)



Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	8.952	8.920	9.090	100.00

Figura 21: cromatograma da (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7e)

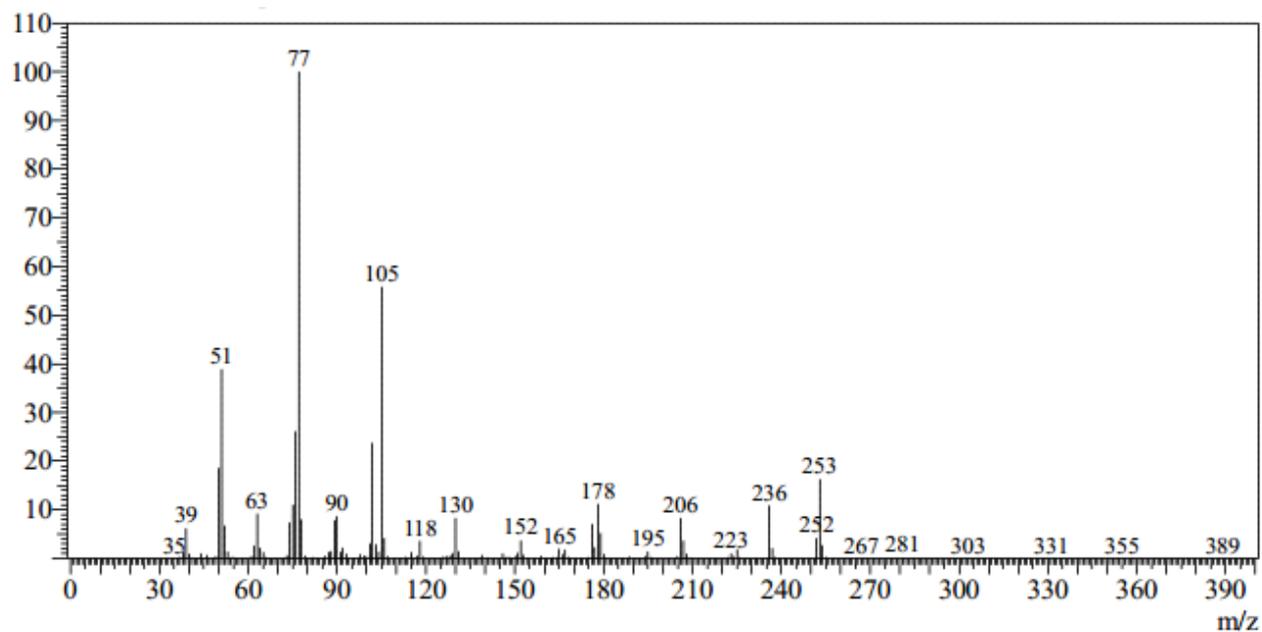


Figura 22: espectro de massas da (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7e)

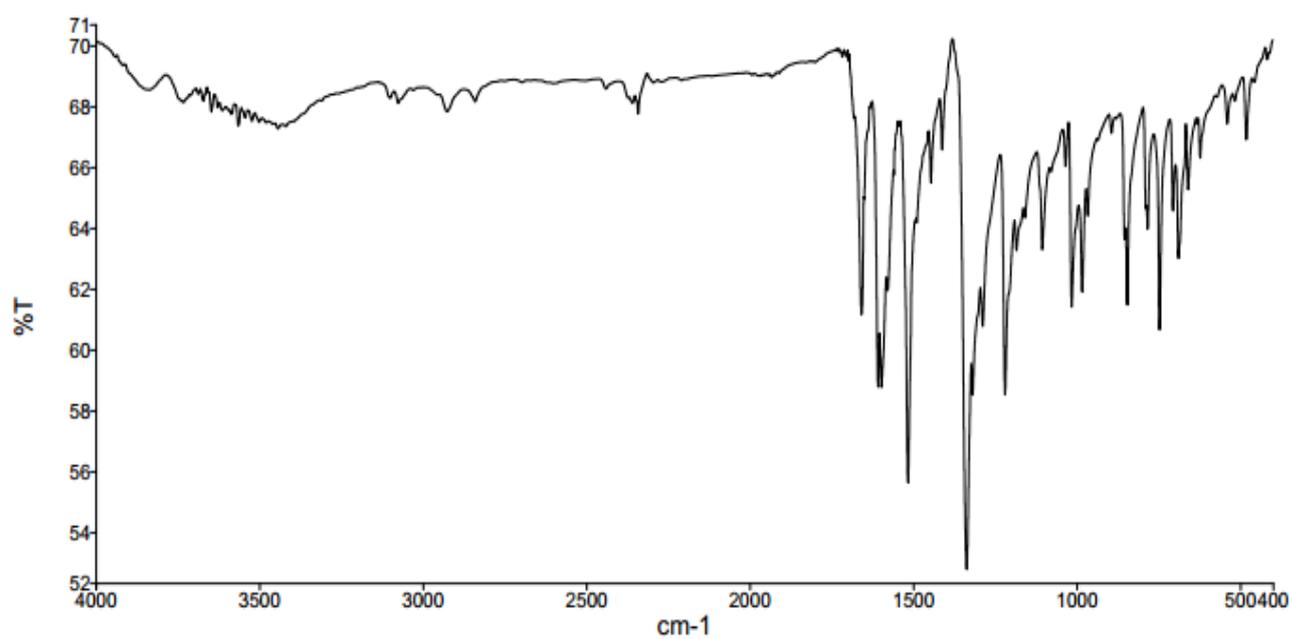


Figura 23: espectro de infravermelho da (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona
(7e)

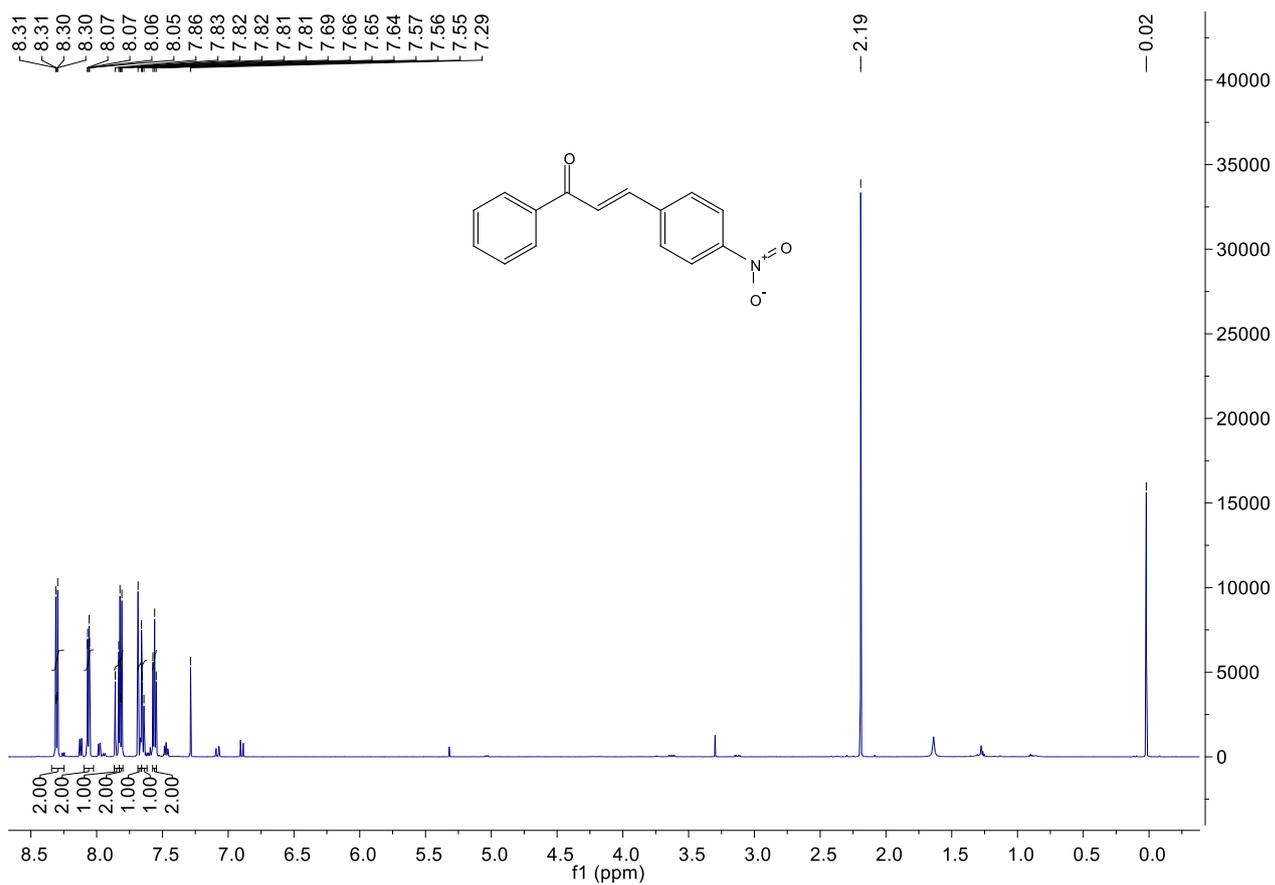


Figura 24: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7e**) (500 MHz, CDCl_3)

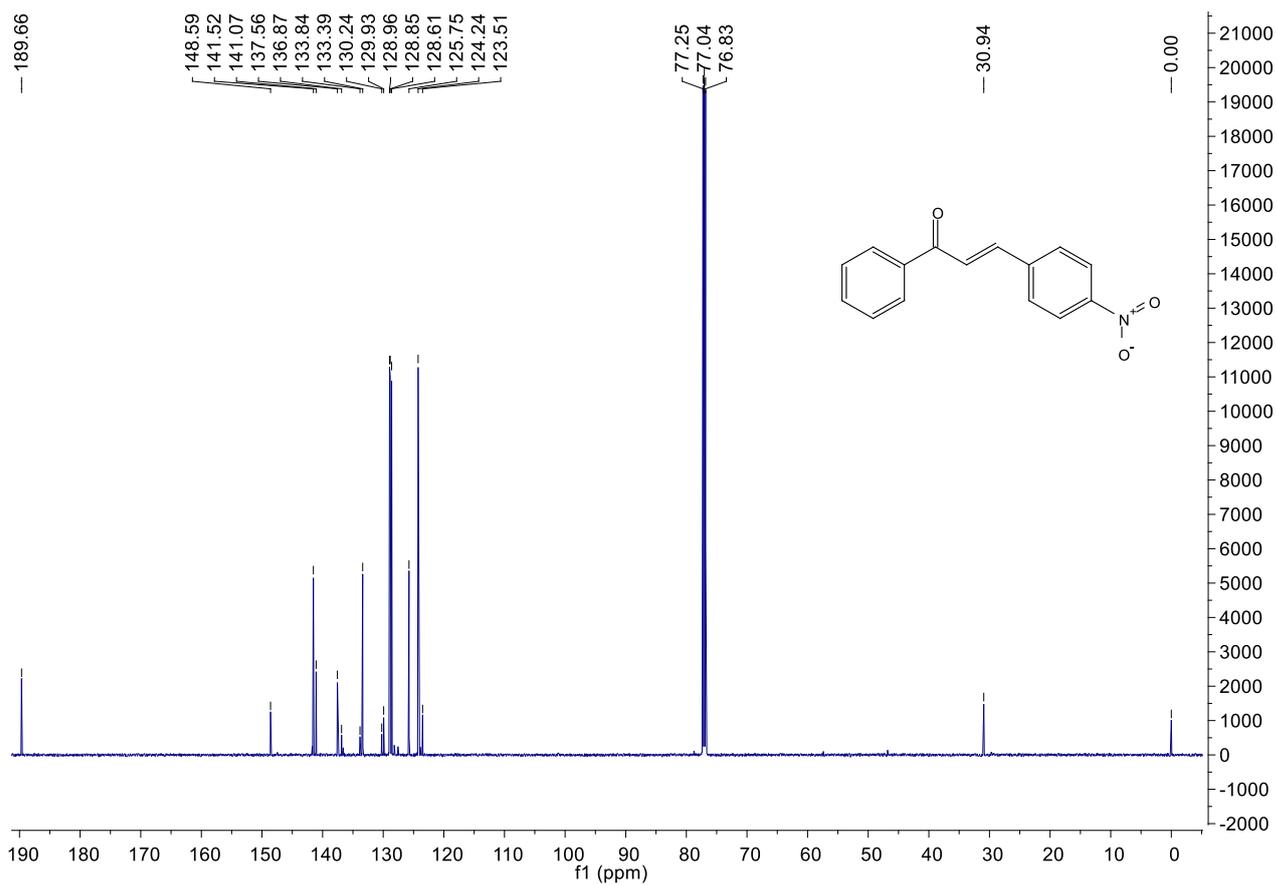
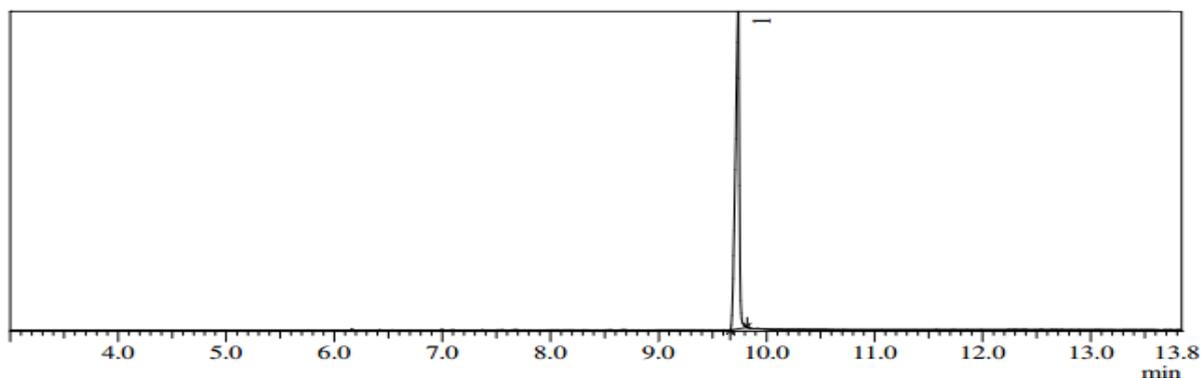
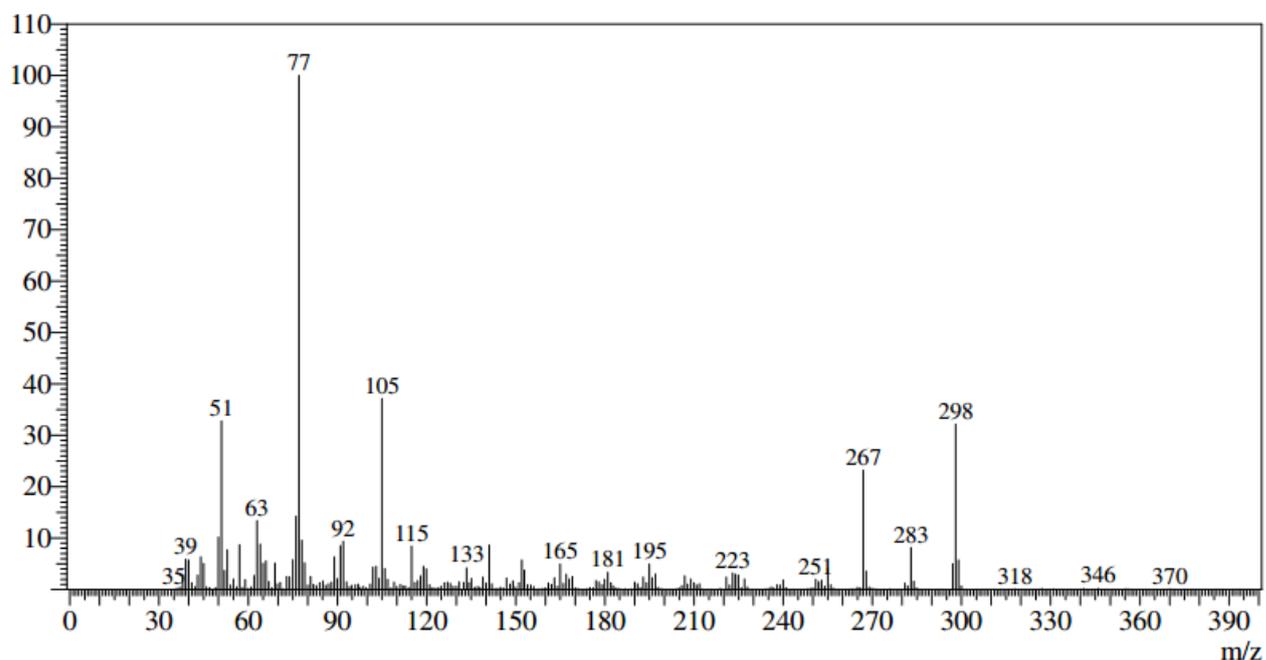


Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7e**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7f)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	9.737	9.665	9.820	100.00

Figura 26: cromatograma da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7f)**Figura 27:** espectro de massas da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7f)

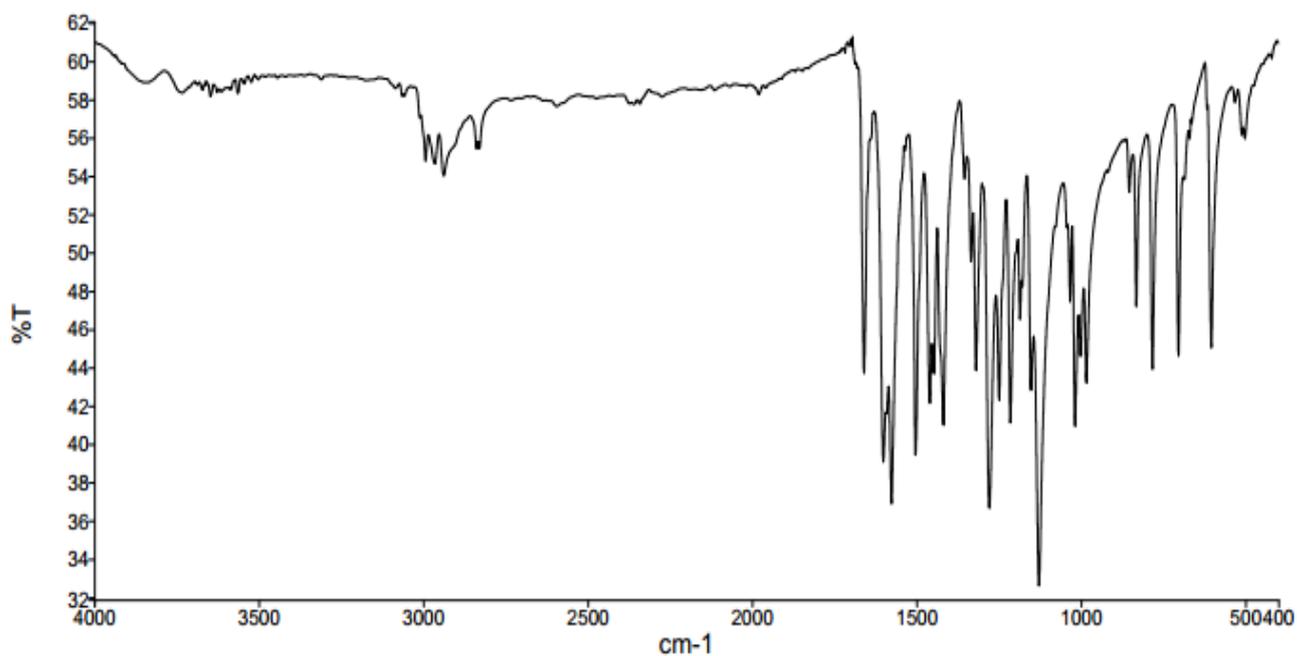


Figura 28: espectro de infravermelho da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7f**)

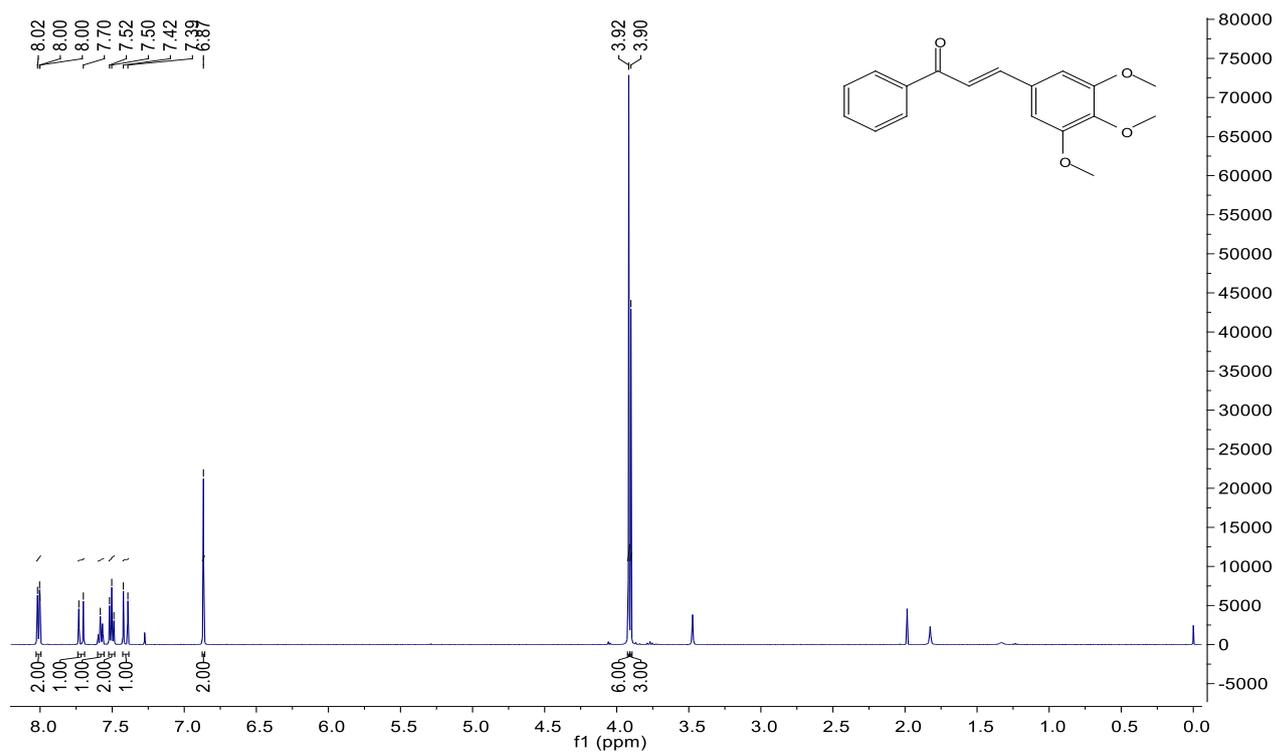


Figura 29: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7f**) (500 MHz, CDCl_3)

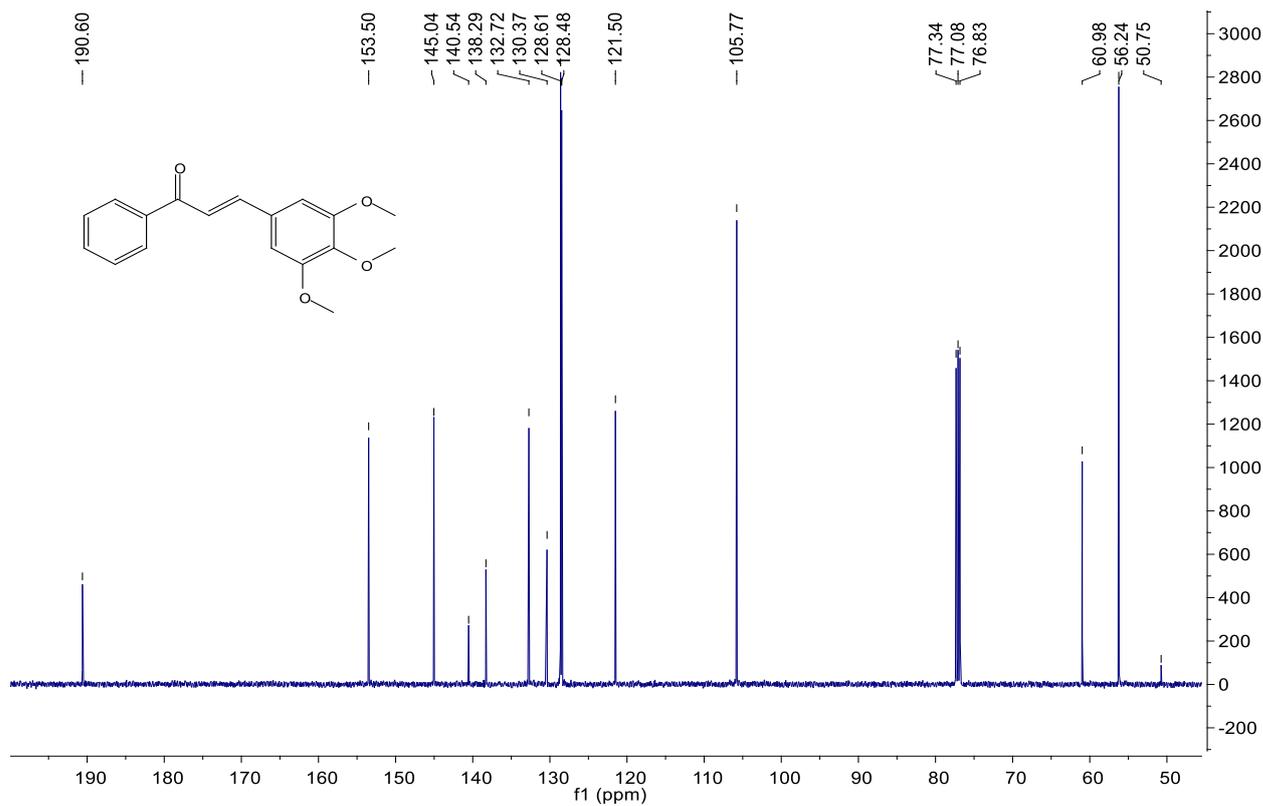
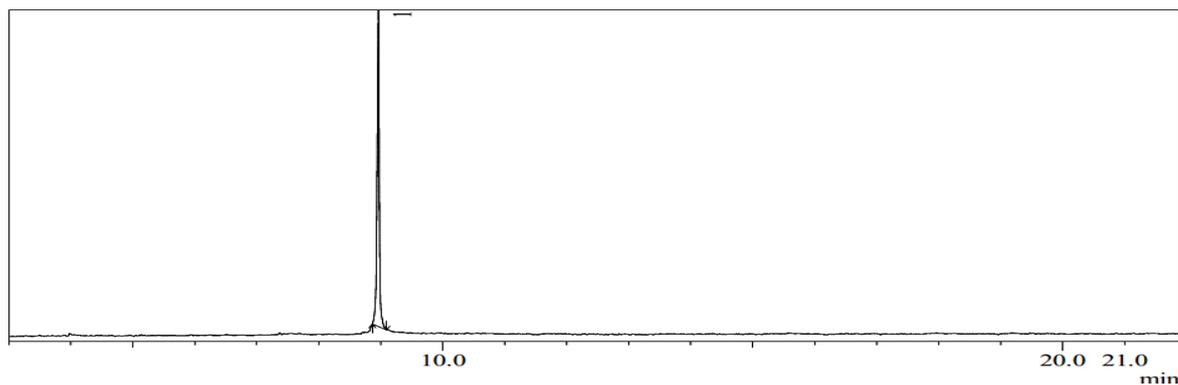
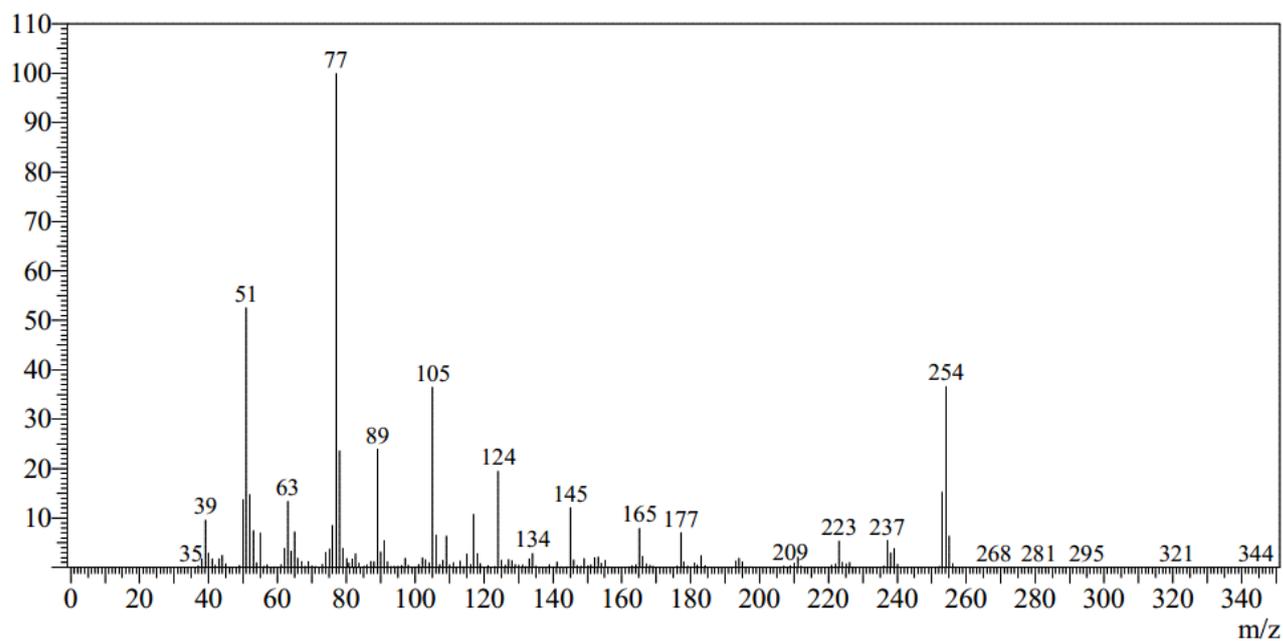


Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7f**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7g)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area%
1	8.961	8.865	9.095	100.00

Figura 31: cromatograma da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7g)**Figura 32:** espectro de massas da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (7g)

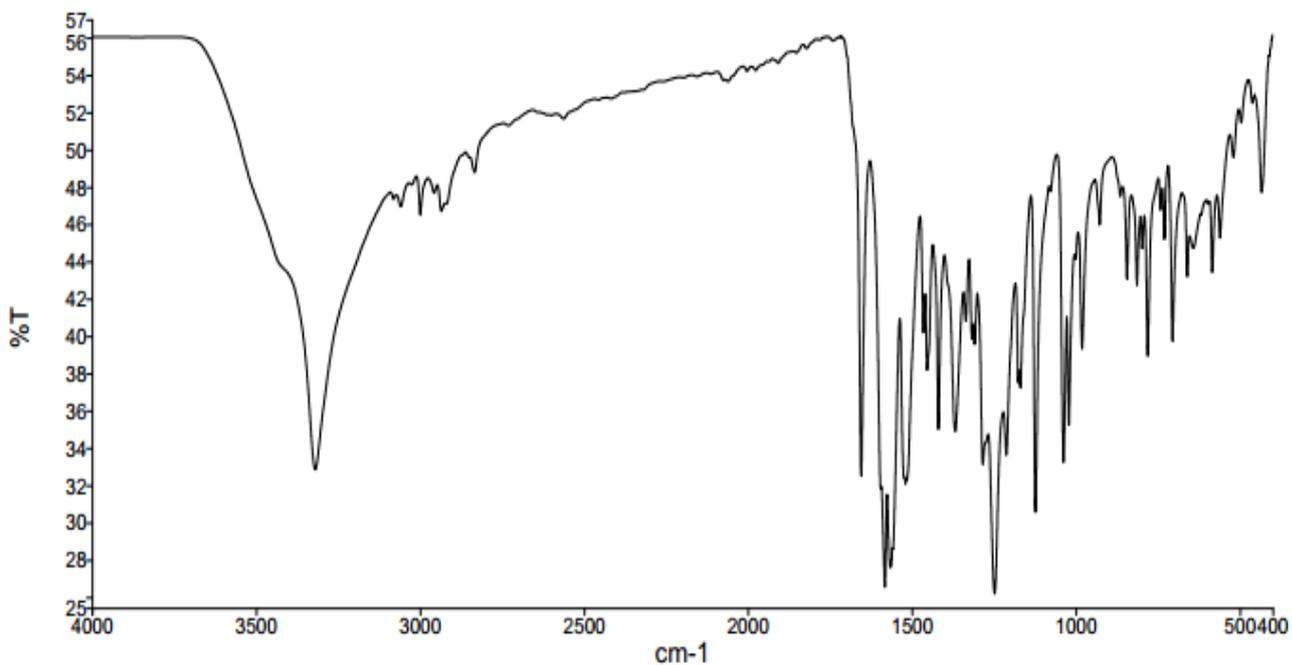


Figura 33: espectro de infravermelho da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7g**)

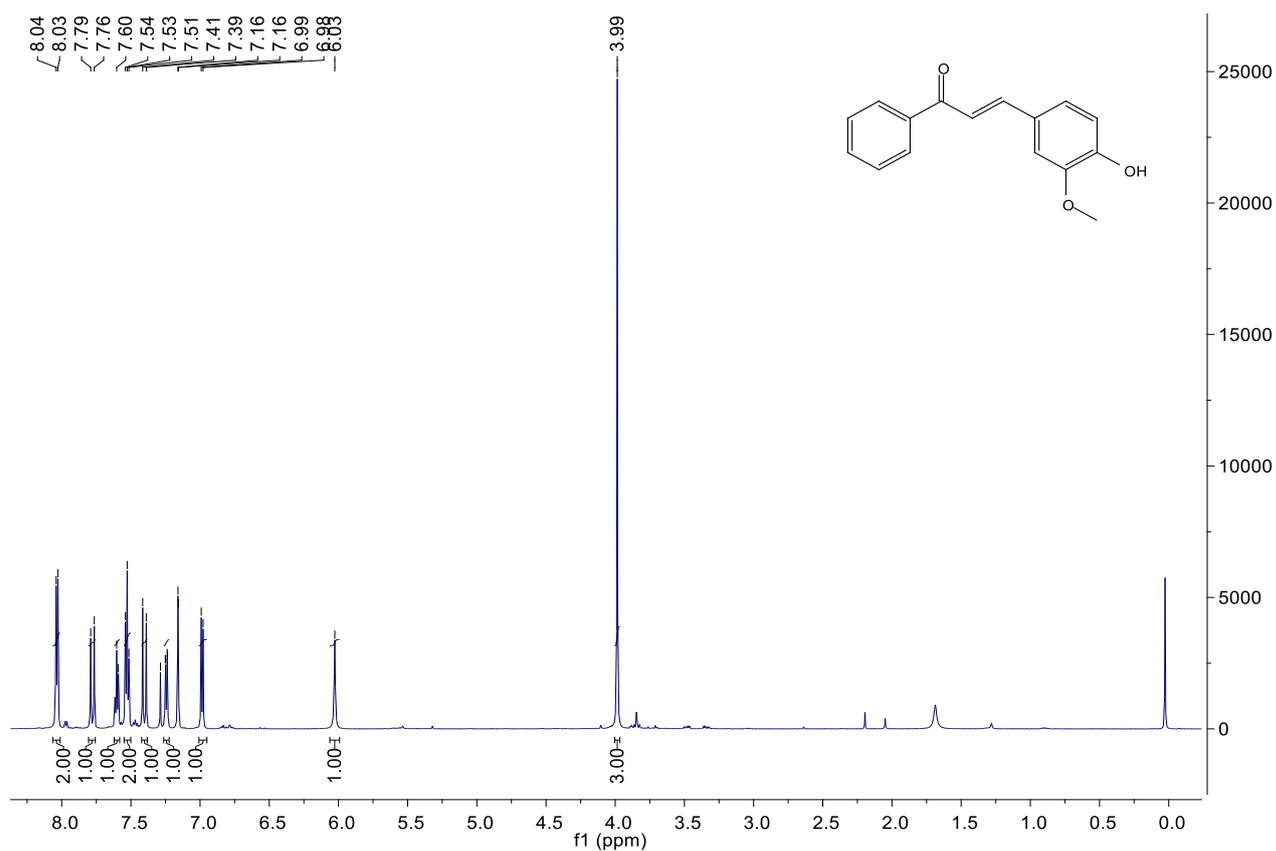


Figura 34: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7g**) (500 MHz, CDCl_3)

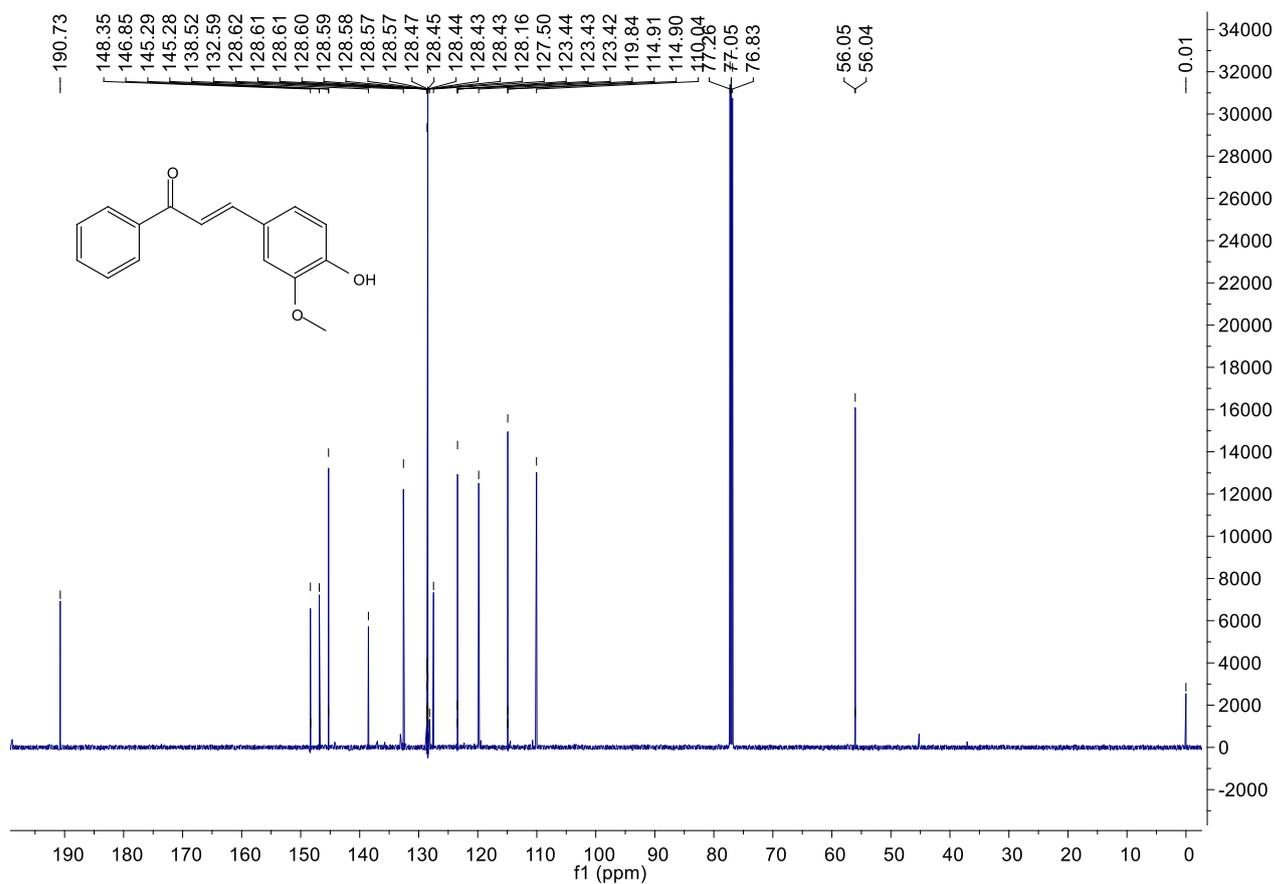
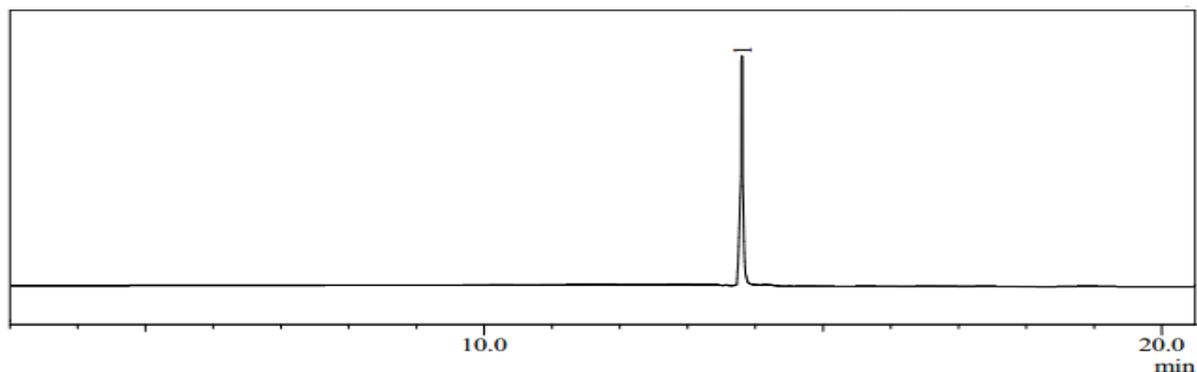


Figura 35: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**7g**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (7h)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%
1	13.806	13.735	13.870	2421229	100.00
				2421229	100.00

Figura 36: cromatograma da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7h**)

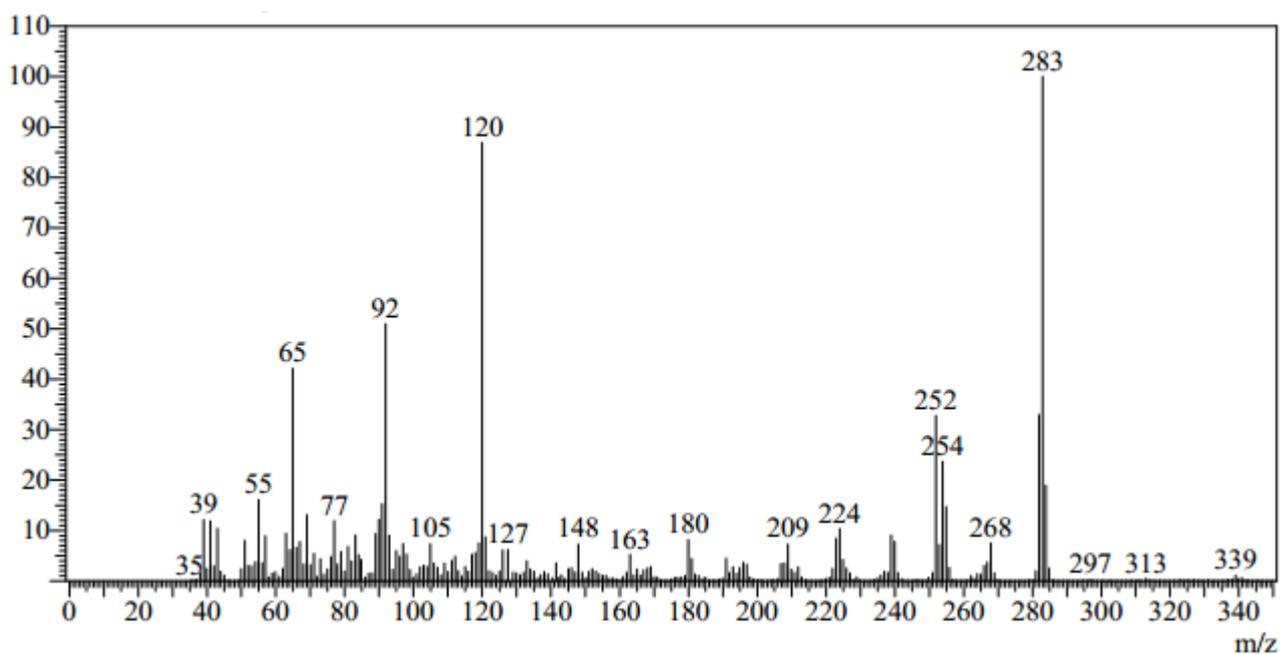


Figura 37: espectro de massas da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7h**)

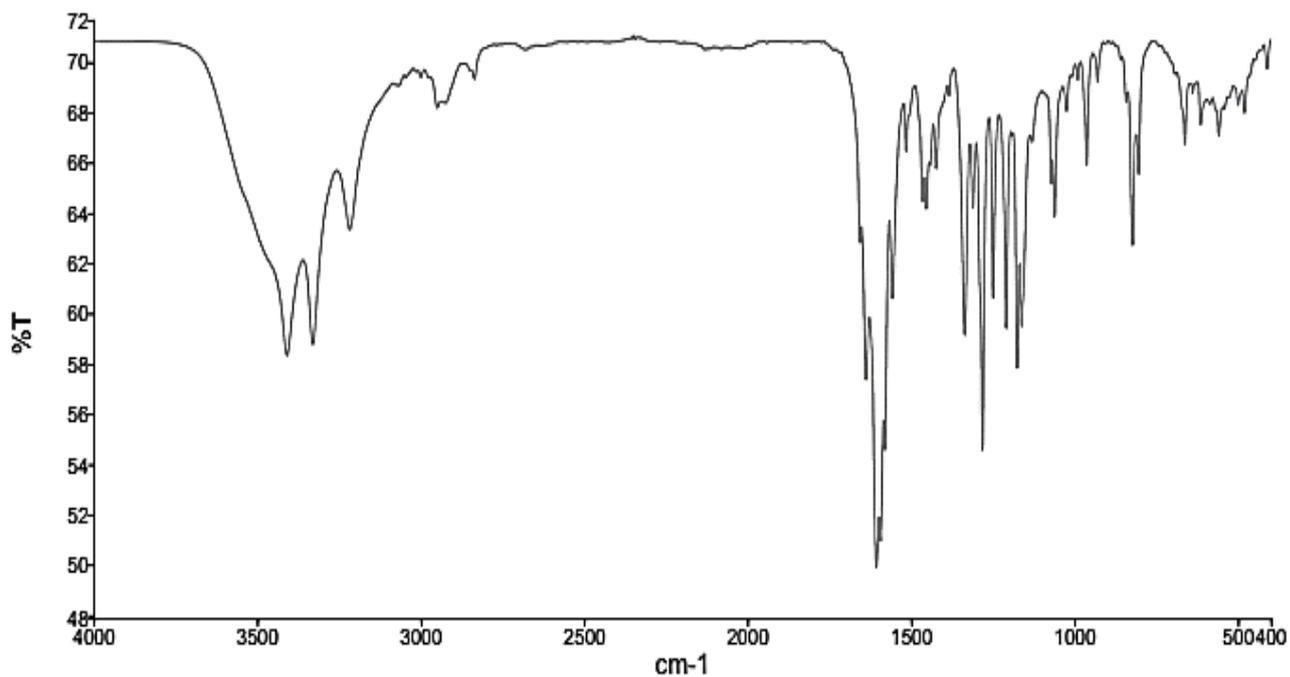


Figura 38: espectro de infravermelho da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7h**)

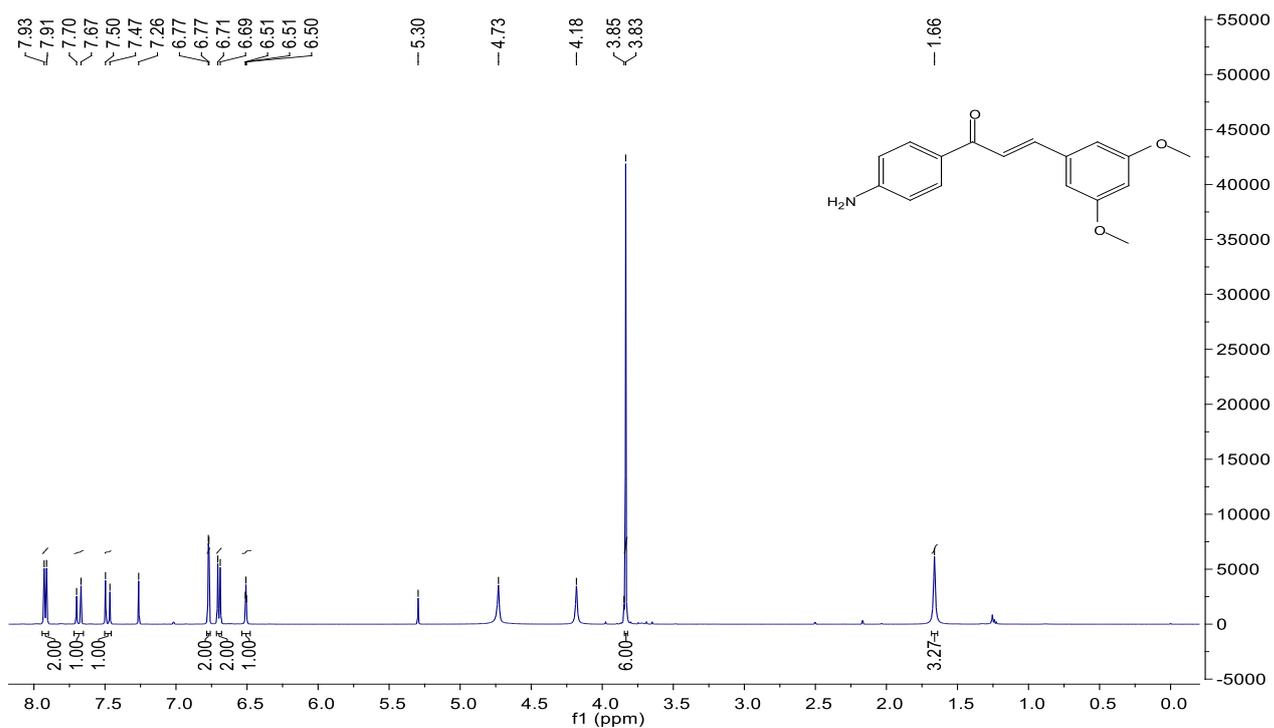


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7h**) (500 MHz, CDCl_3)

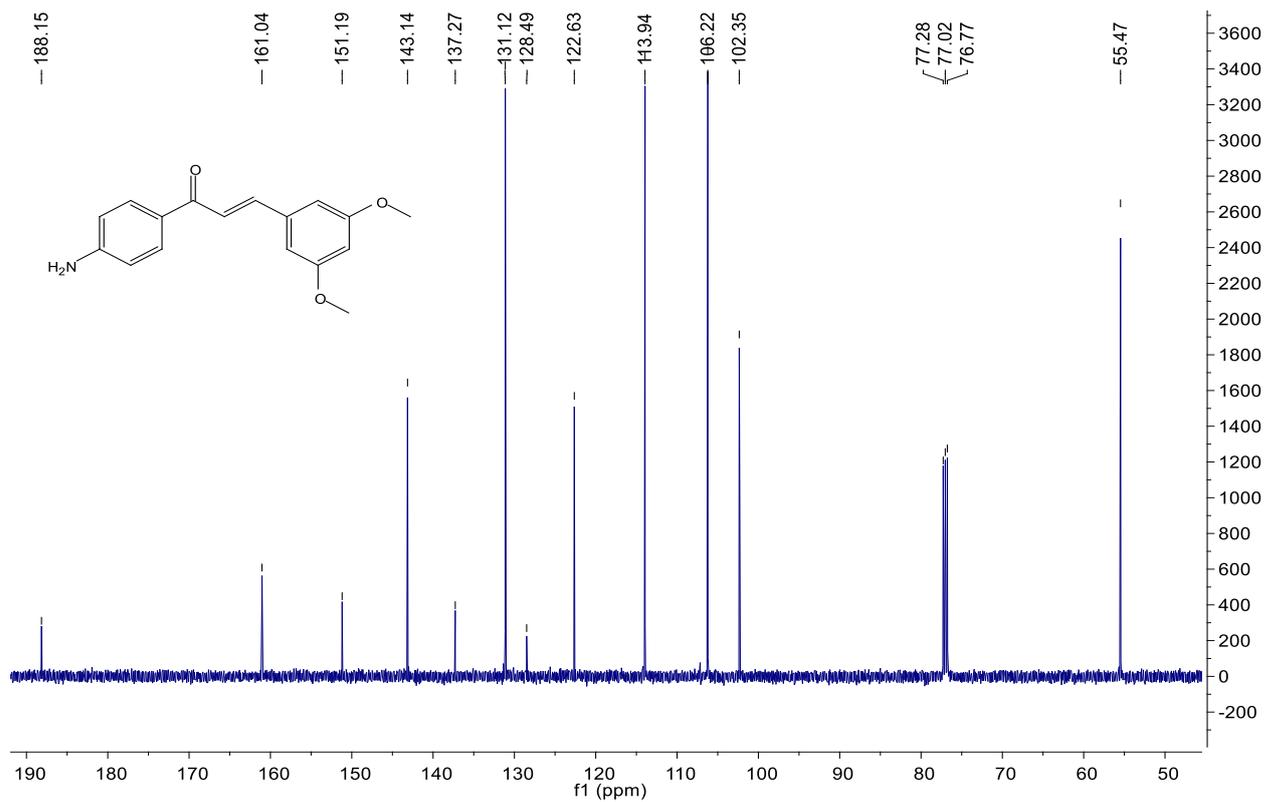
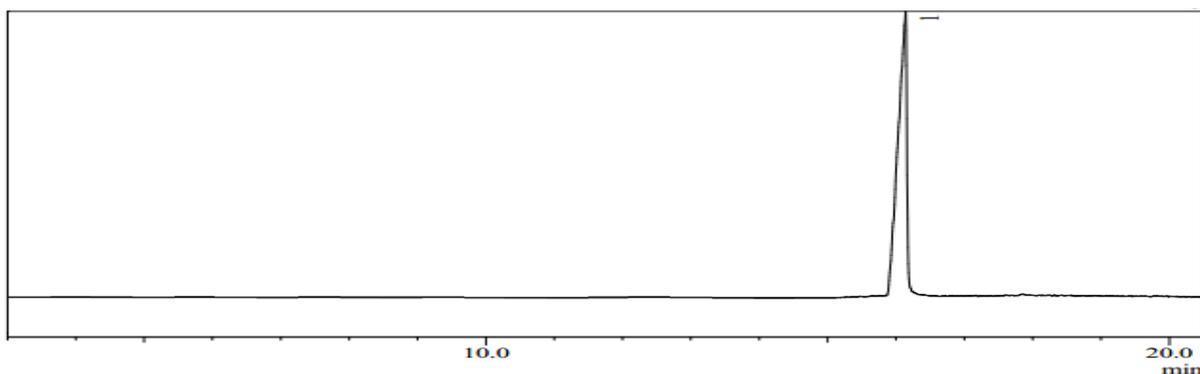
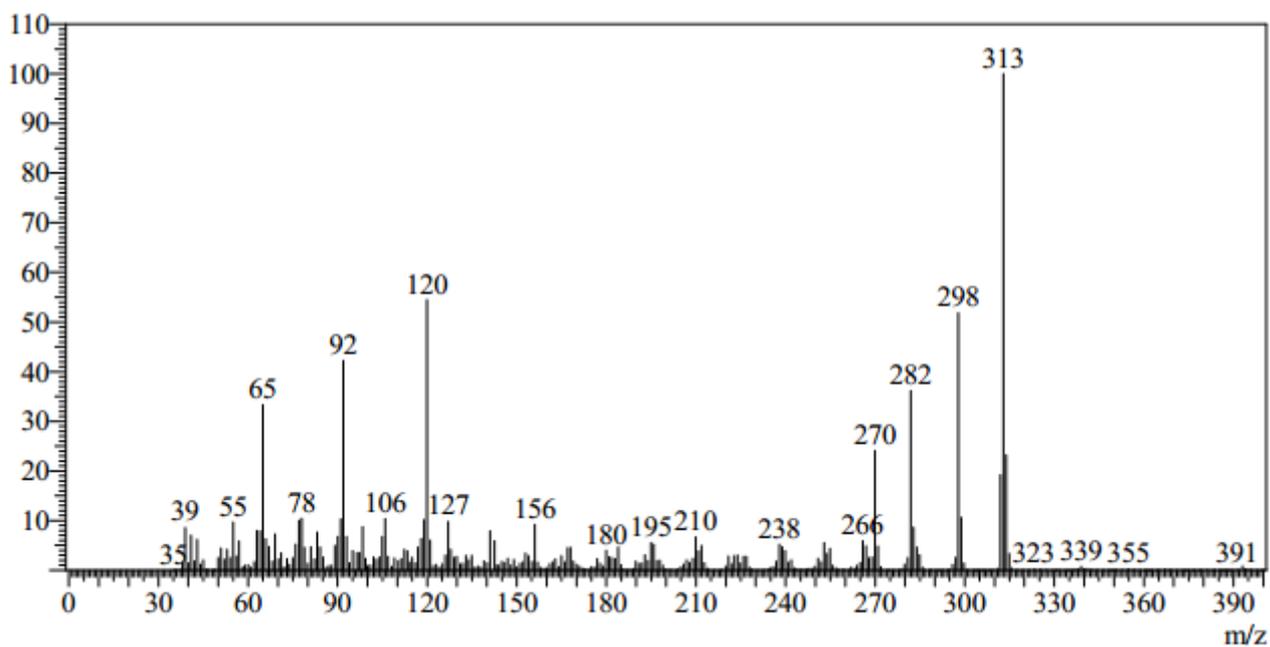


Figura 40: Espectro de RMN de ¹³C da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7h**) (126 MHz, CDCl₃)

(E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (7i)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%
1	16.141	15.910	16.225	11989472	100.00
				11989472	100.00

Figura 41: cromatograma da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7i**)**Figura 42:** espectro de massas da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7i**)

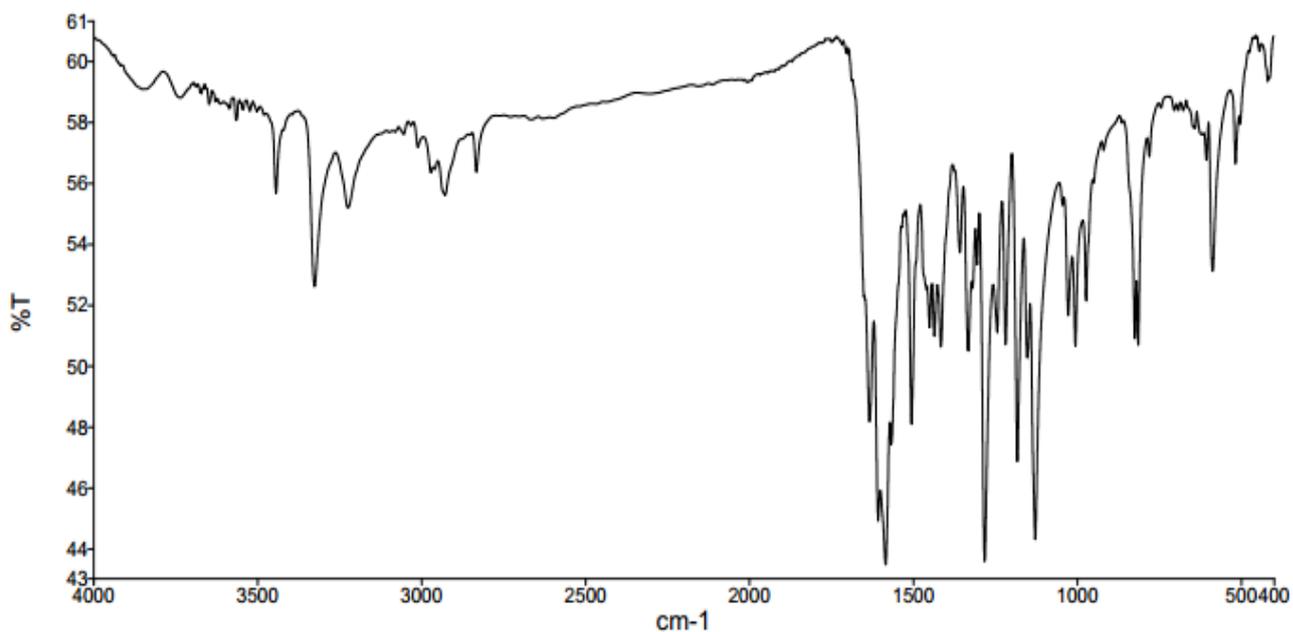


Figura 43: espectro de infravermelho da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7i**)

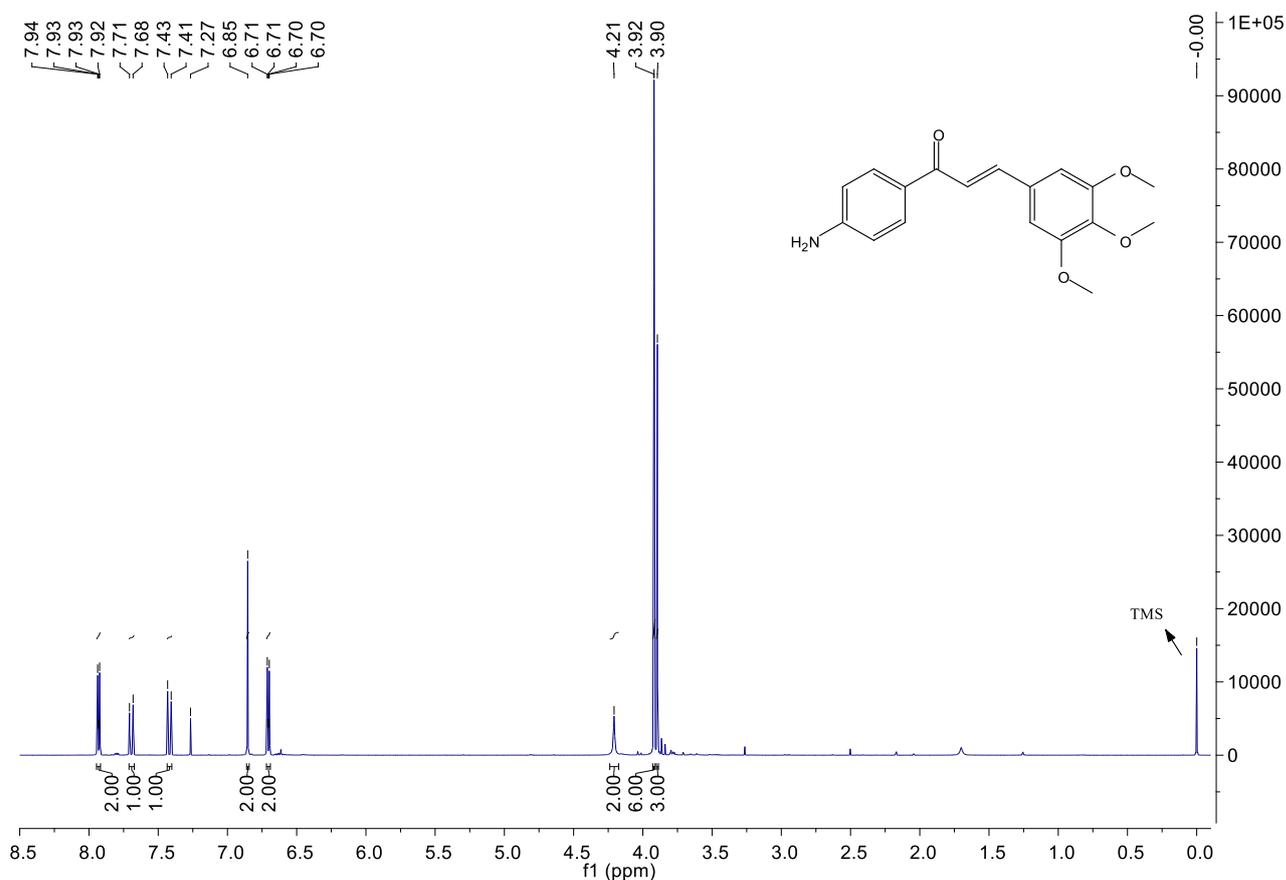


Figura 44: Espectro de RMN de ^1H da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7i**) (500 MHz, CDCl_3)

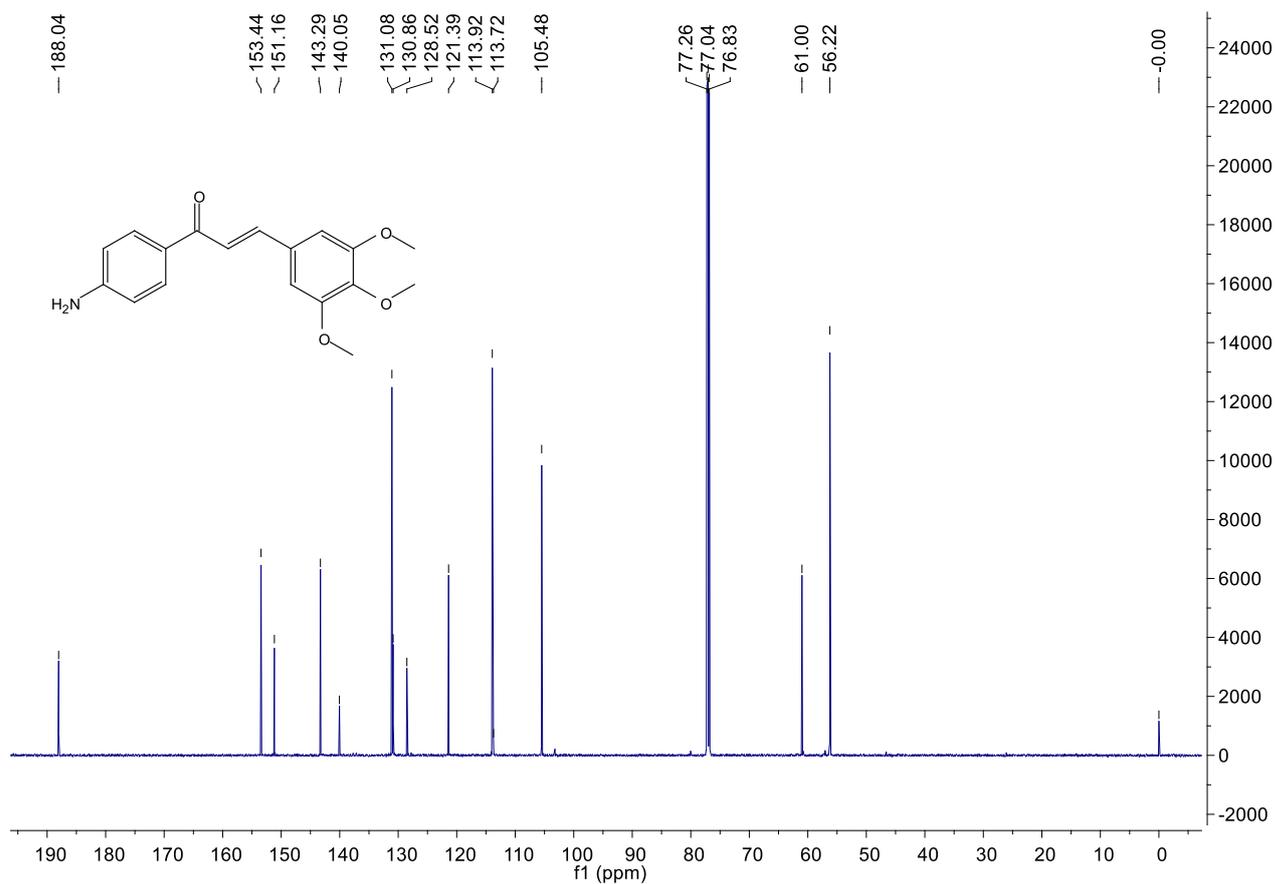
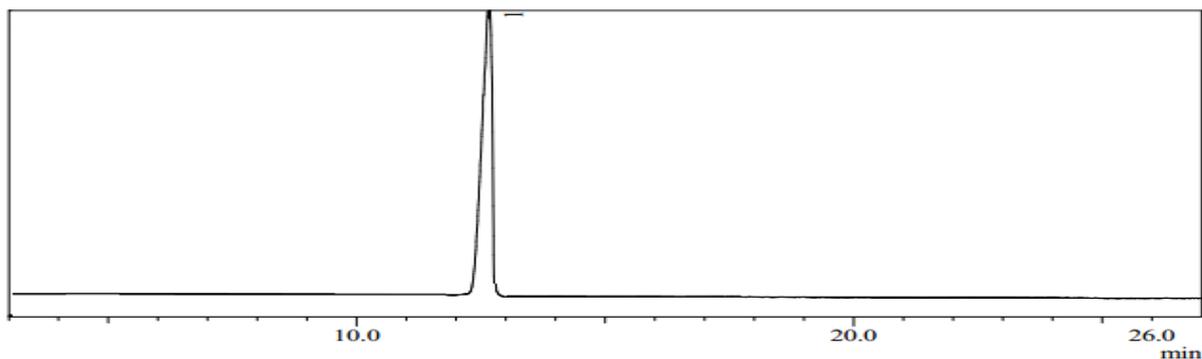
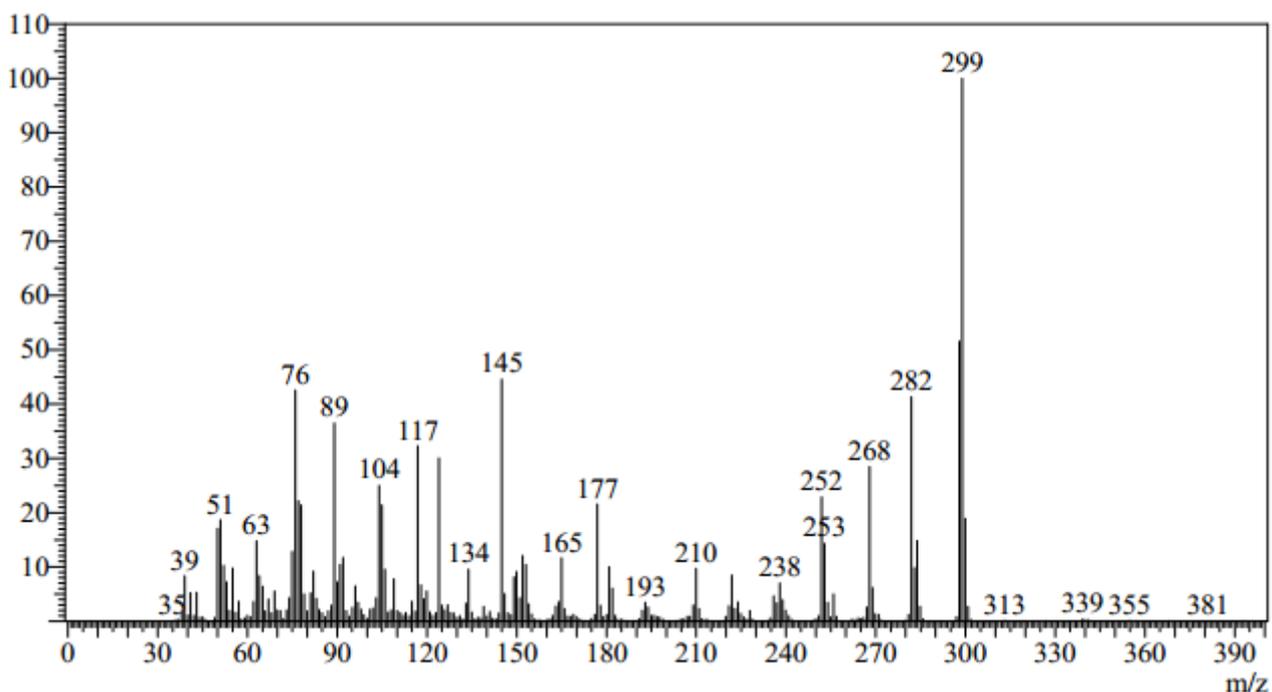


Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**7i**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (7j)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%
1	12.667	12.335	12.840	49128779	100.00
				49128779	100.00

Figura 46: cromatograma da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (7j)**Figura 47:** espectro de massas da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (7j)

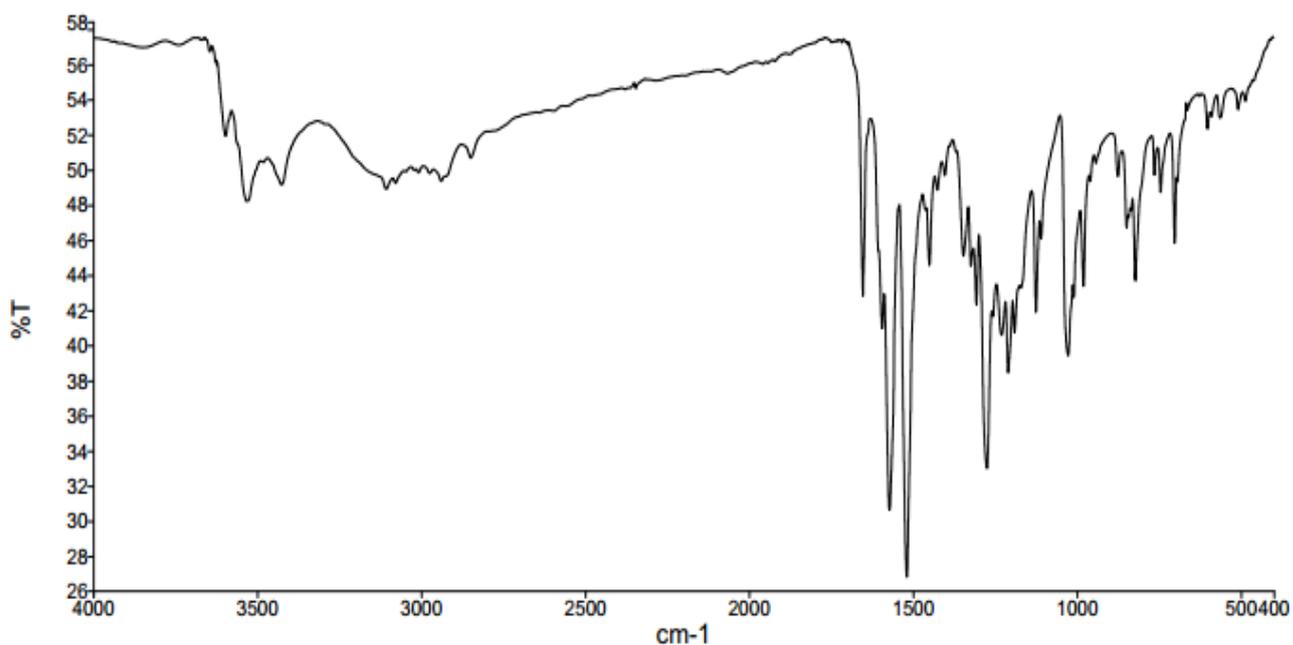


Figura 48: espectro de infravermelho da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (**7j**)

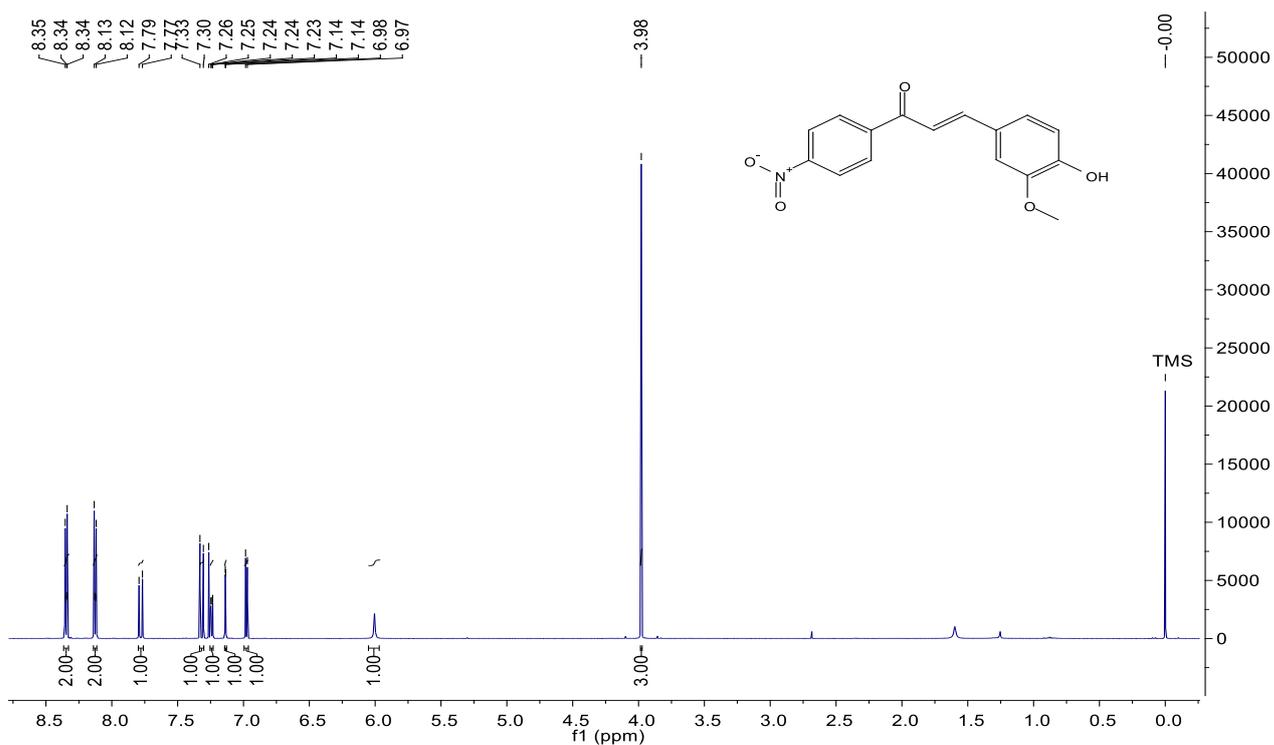


Figura 49: Espectro de RMN de ^1H da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (**7j**) (500 MHz, CDCl_3)

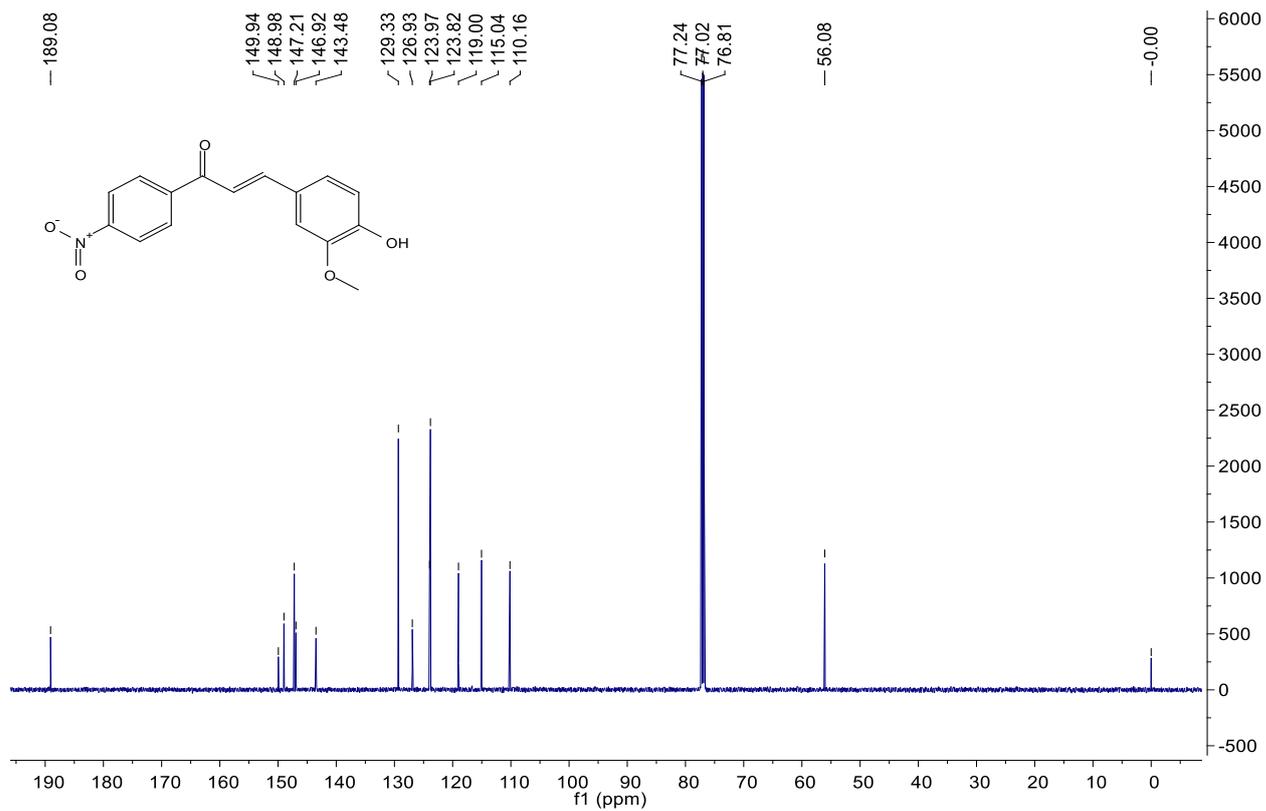
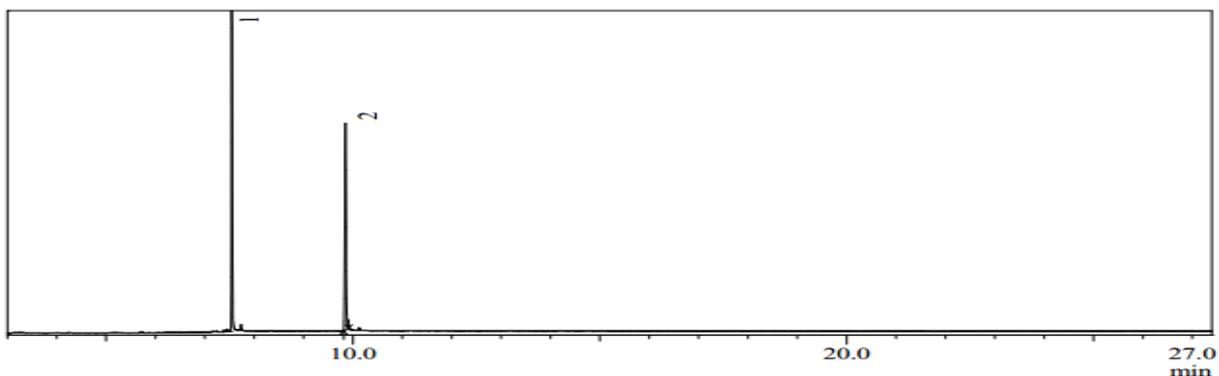
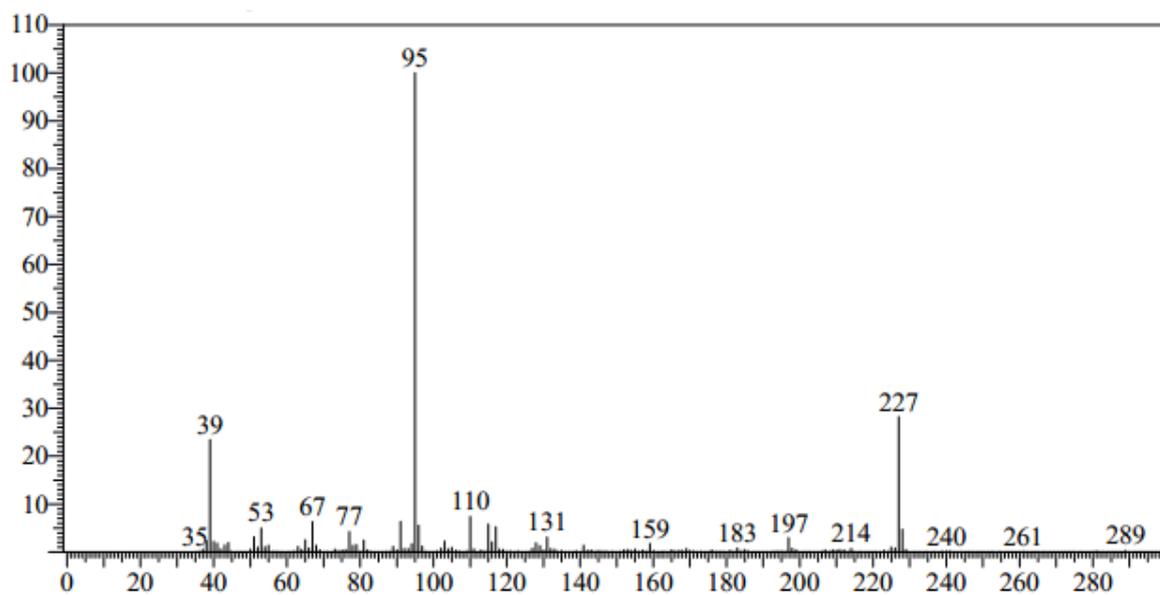


Figura 50: Espectro de RMN de ^{13}C da (E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (**7j**) (126 MHz, CDCl_3)

(E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k)

Peak Report TIC

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%
1	8.974	8.940	9.140	7627542	59.14
2	9.847	9.810	9.910	4614257	40.86
				12241799	100.00

Figura 51: cromatograma da (E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k)

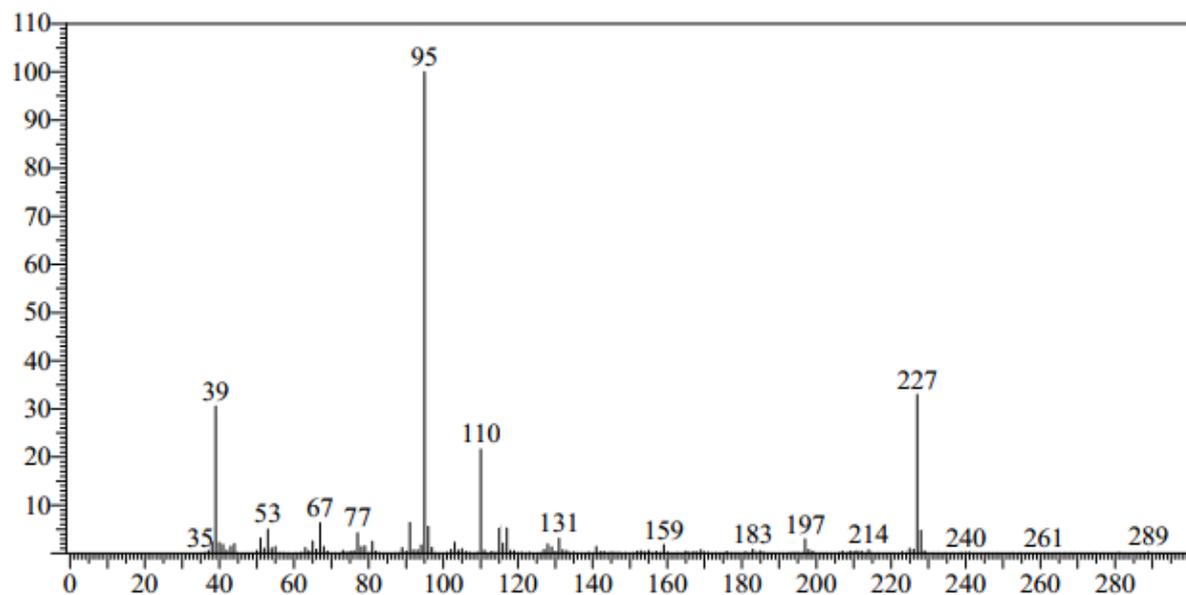


Figura 52: espectros de massas da (E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k)

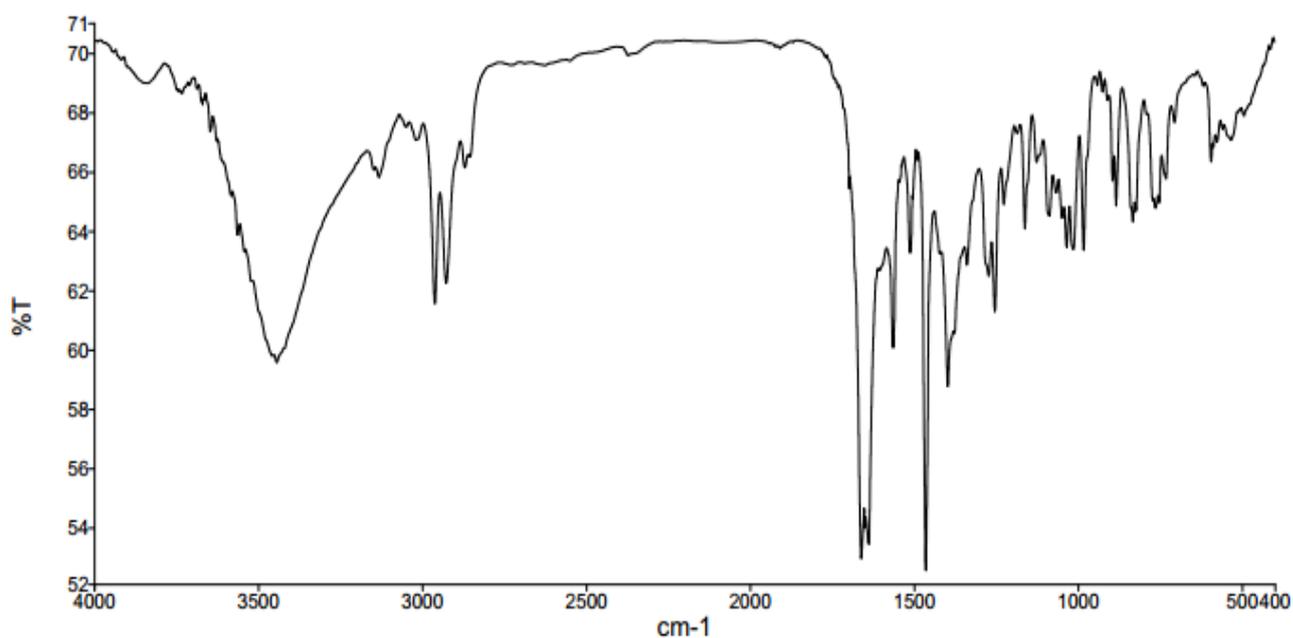


Figura 53: espectro de infravermelho da (E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k)

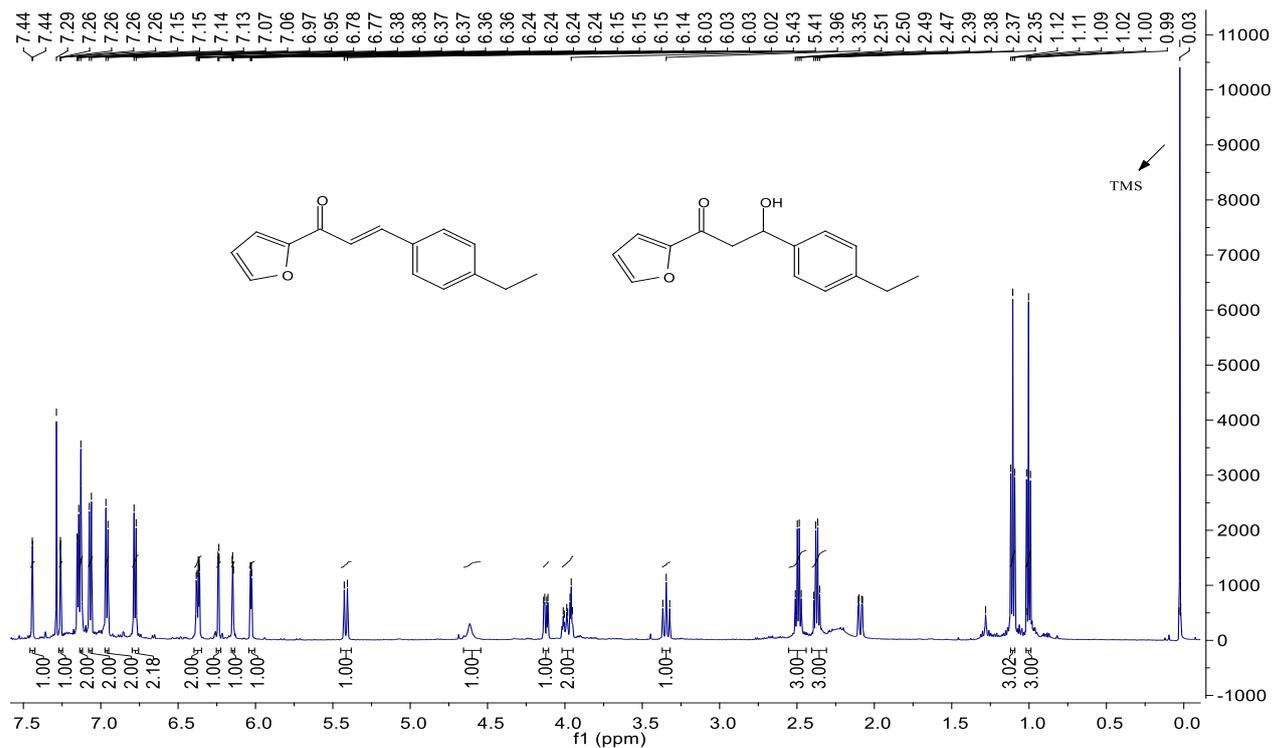


Figura 54: Espectro de RMN de ¹H da (E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k) (500 MHz, CDCl₃)

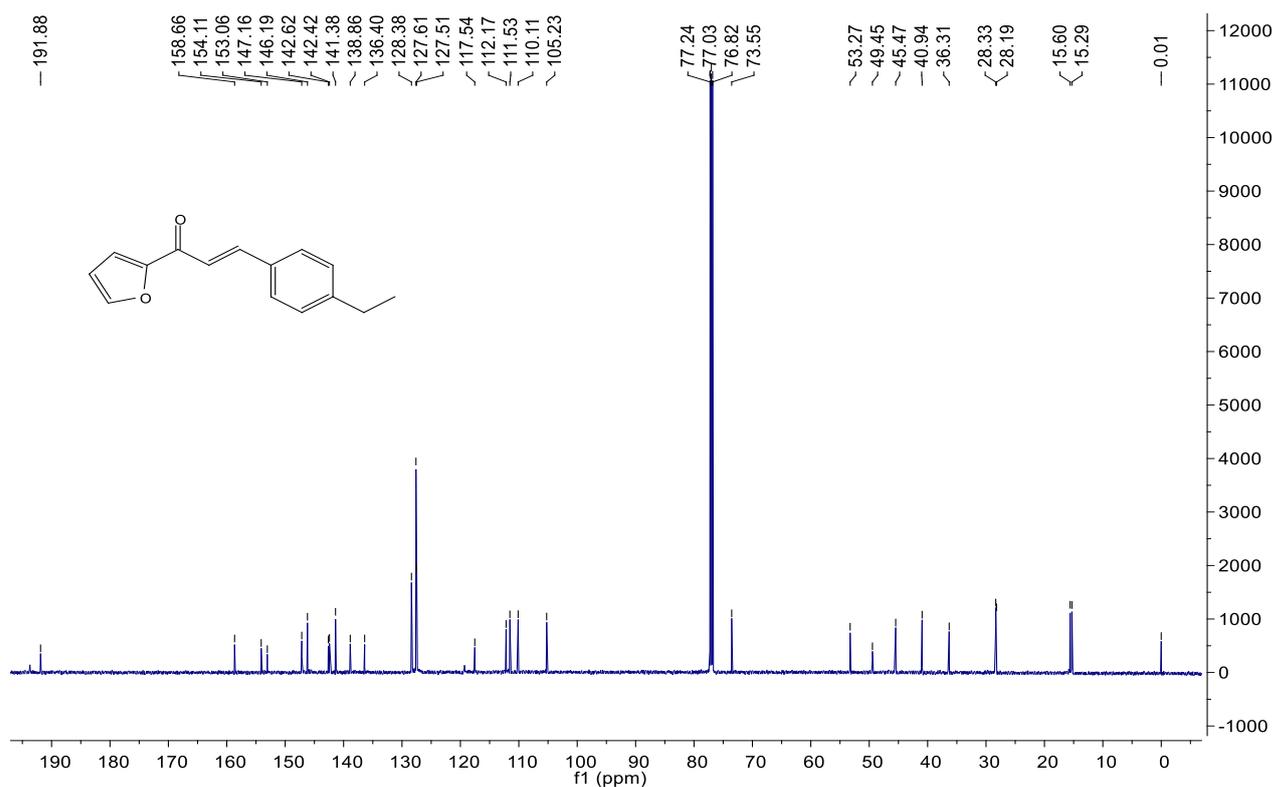


Figura 55: Espectro de RMN de ¹³C da (E)-3-(4-etilfenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (7k) (126 MHz, CDCl₃)