



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

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS
DERIVADAS DA 1-NAFTILACETOFENONA COM ATIVIDADE
CITOTÓXICA EM CÉLULAS LEUCÊMICAS DA LINHAGEM
K562**

DALILA ROSMARY LOVATO GALLI

Florianópolis
Julho/2016

Dalila Rosmary Lovato Galli

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS DERIVADAS DA 1-
NAFTILACETOFENONA COM ATIVIDADE CITOTÓXICA EM
CÉLULAS LEUCÊMICAS DA LINHAGEM K562.**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Ricardo José Nunes

Florianópolis
Julho/2016

Dalila Rosmary Lovato Galli

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS DERIVADAS DA 1-
NAFTILACETOFENONA COM ATIVIDADE CITOTÓXICA EM
CÉLULAS LEUCÊMICAS DA LINHAGEM K562.**

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Ricardo José Nunes
Orientador

Florianópolis
Julho/2016

Agradecimentos

Aos meus pais, Devanir e Aracelli, minha irmã Ana e meu irmão Sergio que, apesar das dificuldades e a distância, sempre acreditaram em mim, me apoiaram e deram força para concluir esta etapa da minha vida.

A toda minha família, em especial a minha tia Irma e tio Marcio (in memoriam) que se não fosse pela ajuda de vocês talvez hoje não estivesse aqui. Devo muita coisa a vocês, obrigada pelos ensinamentos e valores passados.

Ao meu marido, Fernando, que desde o início da graduação esteve comigo, compartilhando momentos de tristeza e alegria. Obrigada por toda compreensão, paciência e amor.

Aos meus sogros, Roberto e Janet, por me acolherem em sua casa como filha e por me brindarem amor e carinho.

A todos os meus amigos em especial, Patrícia, Thuany, Crislaine, Tatiane, Laís, Ge, Yonara e Fábio, por fazerem parte dos momentos bons e difíceis, pelo apoio e força de enfrentar os desafios de maneira otimista.

Ao meu orientador, professor Dr. Ricardo José Nunes, pela oportunidade de fazer parte da “família LEAT”, pelo carinho e ensinamento.

Ao pessoal do Laboratório de Estrutura e Atividade (LEAT), Larissa (Viu), Patrícia, Jéssicas, Maria Claudia, Luiz, Lucas, Pedro e Pedro (agregado), obrigada por me acolherem nessa “família científica” doida e por contribuírem na minha vida acadêmica.

A professora Dra. Maria Cláudia Santos da Silva e colaboradores do HU pelos testes biológicos.

Ao departamento de Química da UFSC, a central de análises e ao CNPq pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1. Química Medicinal	10
2.2. Câncer	10
2.3. Leucemia	11
2.4. Chalconas	13
3. OBJETIVOS	15
3.1. Objetivo geral	15
3.2. Objetivos específicos	15
4. MATERIAIS E METODOS	16
4.1. Instrumentação	16
4.2. Metodologia	16
4.3. Testes Biológicos	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5.1. Espectroscopias de RMN de ^1H e ^{13}C	24
5.2. Atividades Biológicas	25
6. CONCLUSÃO	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
8. APÊNDICES	301

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Comportamento das células cancerígenas.....	11
FIGURA 2 Estrutura da Purina e Corticoide.....	12
FIGURA 3 Eficiência de inibição do grupo 1-naftila.....	13
FIGURA 4 Núcleo fundamental da Cahlcona.....	13
FIGURA 5 Estrutura do MTT.....	22
FIGURA 6 Espectro de RMN de ^1H do composto 1f	24
FIGURA 7 Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1f	25
FIGURA 8 Resultado do teste inicial de citotoxicidade da série de chalconas.....	26
FIGURA 9 Estrutura de chalconas com melhores resultados no teste inicial de Citotoxicidade.....	26
FIGURA 10 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1a	I
FIGURA 11 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1b	II
FIGURA 12 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1c	III
FIGURA 13 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1d	IV
FIGURA 14 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1e	V
FIGURA 15 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1f	VI
FIGURA 16 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1g	VII
FIGURA 17 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1h	VIII
FIGURA 18 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1i	IX
FIGURA 19 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1j	X
FIGURA 20 Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 1k	XI

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Síntese de chalconas 1a –1k	23
---	----

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 Síntese de Claisen-Schmidt.....	16
ESQUEMA 2 Mecanismo da síntese Claisen-Schmidt.....	17

LISTA DE ABREVIATURAS

Δ	Deslocamento químico
CDCl_3	Cloroformio deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
D	Dupleto
Hz	Hertz
HU	Hospital Universitário
IARC	Do inglês, International Agency for Research on Cancer
IC_{50}	Concentração inibitória de 50 %
INCA	Instituto Nacional de Câncer
J	Constante de acoplamento
LEAT	Laboratório de Estrutura e Atividade
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LLC	Leucemia Linfóide Crônica
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crônica
M	Múltiplo
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
p.f.	Ponto de fusão
REA	Relação de Estrutura e Atividade
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S	Simpleto
TMS	Tetrametilsilano
UV- Vis	Ultravioleta Visível

RESUMO

As chalconas são cetonas α,β -insaturadas, de grande diversidade estrutural e que apresentam várias atividades biológicas relatadas na literatura. Tais características despertam um grande interesse para a química medicinal, dentre elas, o tratamento do câncer (leucemia). Neste trabalho, foram sintetizadas 11 chalconas, das quais 4 são inéditas, por meio da condensação de Claisen-Schmidt entre a 1-naftilacetofenona e aldeídos substituídos, em etanol e meio básico. A atividade citotóxica das chalconas **1a-k** foram avaliadas frente a células leucêmicas de linhagem K562. Os compostos **1e** e **1g** apresentaram os melhores resultados iniciais, com valores de 75 e 78 % de inibição dessas células respectivamente. Assim será dada a continuidade aos testes, com a determinação do IC_{50} para estes compostos, bem como estudos mais aprofundados do seu mecanismo de ação.

Palavras-chave:

Chalcona, síntese, leucemia.

1. INTRODUÇÃO

Química Medicinal é definida como uma disciplina de vital importância para a indústria farmacêutica. Químicos medicinais estão envolvidos na descoberta de novos medicamentos e no planejamento de novas moléculas a fim de aperfeiçoar suas propriedades biológicas¹. Em meados do século XX, o avanço na síntese orgânica ao longo dos anos, possibilitou maior compreensão dos mecanismos de reações, análises e reatividade química, abrindo espaço para os produtos sintéticos².

As chalconas pertencem a uma importante classe de compostos biologicamente ativos e tem sido referência pelas suas propriedades farmacológicas como antitumoral³, anti-inflamatório⁴, antioxidante⁵, antialérgico⁶ e antimicrobiano⁷.

Diante da variedade de atividades biológicas que estão documentados na literatura e com os resultados já obtidos anteriormente pelo grupo do LEAT (Laboratório de Estrutura e Atividade), motivaram o interesse em sintetizar novos derivados do 1-naftilacetofenona e testar os efeitos citotóxicos em células leucêmicas⁸.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Química Medicinal

A Química Medicinal tem como vital importância a descoberta de novos fármacos e o aprimoramento de moléculas conhecidas com o intuito de aperfeiçoar suas propriedades biológicas. Assim como o desenvolvimento de novos métodos sintéticos, otimizando suas condições reacionais e ampliando a compreensão sobre sua reatividade química¹.

Em meados do século XIX e início do século XX poucas substâncias orgânicas, a maioria extraídas de plantas, até então, tinham sido obtidas com alta pureza, o que dificultava na compreensão das estruturas. Isso representou um desafio muito grande para a teoria estrutural dando início aos primeiros estudos da química orgânica, abrindo caminho para a implementação de indústrias químicas e os primeiros passos da síntese orgânica².

O avanço realizado pela síntese orgânica em meados do século XX foi resultado da percepção dos mecanismos de reações e análise conformacional, possibilitando uma maior compreensão sobre a reatividade química. Assim, os produtos sintéticos começaram a ganhar destaque em diversidade e em competitividade em relação aos produtos naturais em diversos setores industriais. Por exemplo, o uso de produtos naturais predominou durante a primeira metade do século passado enquanto que o setor farmacêutico atualmente faz uso maior de insumos sintéticos².

Com isso, os cientistas das diferentes áreas preocupados com o avanço da indústria farmacêutica vêm se reunindo, promovendo um intercâmbio de ideias e conhecimentos criando um grande banco de dados a fim de melhorar a compreensão sobre o assunto, beneficiando a comunidade¹.

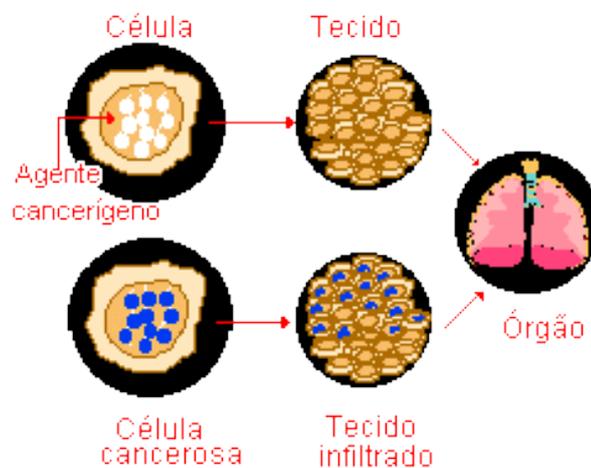
2.2. Câncer

O câncer está entre uma das doenças que mais causam mortalidade e morbidade no mundo, em 2012 a Agência Internacional de Investigação do Câncer

(IARC) divulgou o número de novos casos totalizando 14 milhões, sendo que 8,2 milhões contabilizam as mortes pela doença⁹.

O conjunto de inúmeras doenças, conhecida como câncer, tem em comum o crescimento desordenado de células que se infiltram pelos tecidos e órgãos podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (**Figura 1**), mas diferem pelo tipo de célula que o origina e a rápida divisão o que determinam a formação de tumores ou neoplasias malignas¹⁰.

Figura 1. Comportamento das células cancerígenas.



Fonte: INCA, 2016.

A maioria dos fatores que desencadeiam o câncer são conhecidos, podendo ser externo ou interno ao organismo, estando ambos inter-relacionados. Alguns desses casos podem estar associados ao meio ambiente, hábitos alimentares, ao uso de cigarros ou ainda geneticamente pré-determinados, mas podem ser de origem desconhecida, portanto a prevenção da doença nem sempre é possível¹⁰.

2.3 Leucemia

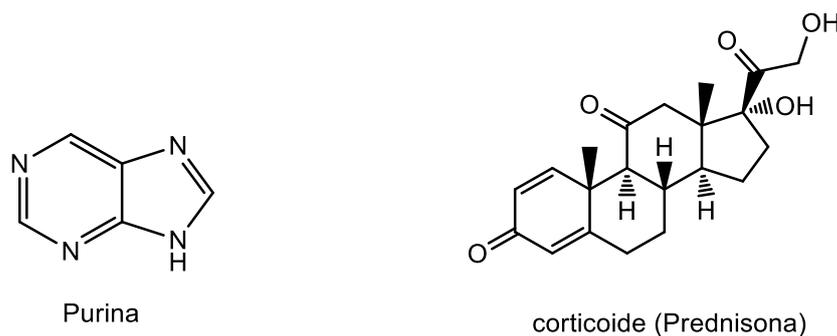
A leucemia é um tipo de câncer, de modo geral, de origem desconhecida e que compromete as células sanguíneas normais produzidas na medula óssea, levando a quadros variáveis de sangramento, infecção e anemia¹¹.

Sob o ponto de vista clínico, a leucemia pode ser dividida em aguda e crônica ou agrupadas em base aos tipos de glóbulos brancos afetados, mieloide e linfóide.

Esta classificação combinada geram quatro subtipos; a leucemia linfóide crônica (LLC), como o nome sugere afeta a célula linfóide desenvolvendo-se de maneira lenta e incide em pessoas com idade superior a 55 anos; a leucemia linfóide aguda (LLA) tem um processo de agravamento mais acelerado e é o tipo mais comum em crianças, mas pode haver casos deste tipo em adultos; a leucemia mieloide crônica (LMC) prejudica a célula mieloide e se manifesta lentamente principalmente em adultos e a leucemia mieloide aguda (LMA) tem uma rápida evolução e ocorre em qualquer uma das faixas etária. Geralmente as leucemias agudas requerem um diagnóstico precoce para o início de tratamento imediato pelo prognóstico desfavorável¹².

O tratamento para leucemia em específico é a quimioterapia, uma terapia que envolve vários tipos de medicamentos como, análogos da purina e corticoides (**Figura 2**) e que são administrados de maneiras diferentes conforme a indicação para cada tipo de leucemia¹³. Este tratamento consiste em combater as células com câncer, mas ao mesmo tempo em que se faz o combate às células doentes, células saudáveis também podem sofrer os efeitos dos agentes quimioterápicos. Isto faz com que na maioria dos casos surjam efeitos colaterais como a queda de cabelo, fadiga, náuseas e vômitos, em alguns casos torna inviável a cura da doença devido à restrição que determinados pacientes, com saúde debilitada, possuem.

Figura 2. Estrutura da Purina e do corticoide.



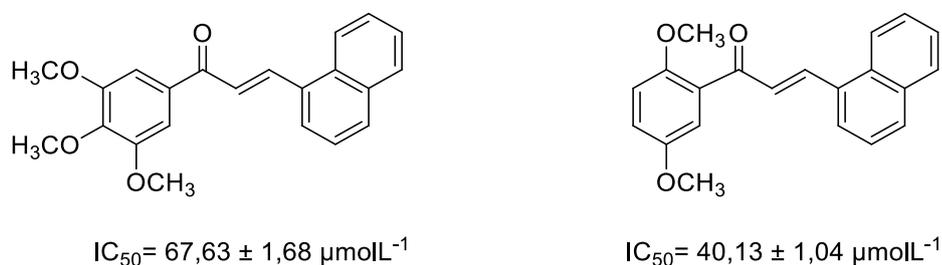
Fonte: Autora, 2016.

Com isso, é de grande interesse o planejamento e a síntese de novos compostos que sejam mais seletivos em relação às células cancerosas, ou seja, menos agressivos para o tratamento da leucemia, tornando-se importante o conhecimento principalmente da toxicidade dos compostos em estudos com células cancerígenas sem comprometer as células saudáveis. Assim, os testes com células

cancerígenas de linhagem K562 permite que sejam identificados novos fármacos com possível efeito citotóxico em algum tipo de leucemia.

Dessa forma, o nosso grupo de pesquisa vem sintetizando e avaliando diversas chalconas, que mostram inibição citotóxica em diferentes linhagens celulares. Como, por exemplo, as chalconas sintéticas derivadas do grupo 1-naftil (**Figura 3**) que apresentaram atividades citotóxicas significativas em linhagens de células cancerígenas K562 com valores de IC_{50} (concentração necessária para inibir 50%) de até $40,13 \mu\text{molL}^{-1}$.⁸

Figura 3. Eficiência de inibição do grupo 1-naftila em células cancerígenas.



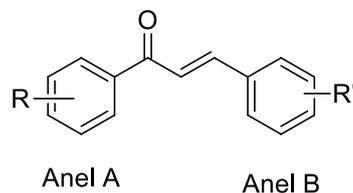
Fonte: Autora, 2016.

Com isso o projeto a seguir consiste na síntese e caracterização de chalconas derivadas do 1-naftilacetofenona, onde os padrões de substituição dos aldeídos foram escolhidos a partir de trabalhos já realizados no laboratório^{7, 8}. Desse modo, os compostos serão testados quanto a sua atividade citotóxica em células leucêmicas da linhagem K562.

2.4. Chalconas

As chalconas são compostos de baixo peso molecular, estrutura simples e que possuem núcleo 1,3-diarilpropano modificado com a presença de uma carbonila α , β -insaturadas e dois anéis aromáticos com esqueleto C6-C3-C6 (**Figura 4**), isto facilita a sua interação com os receptores biológicos que são biomacromoléculas por meio de interações geralmente fracas.^{14,15}

Figura 4. Núcleo fundamental da chalcona.



Fonte: Autora, 2016.

A obtenção sintética das chalconas pode ser realizada através da síntese de acoplamento de Suzuki ou condensação aldólica (condensação de Claisen-Schmit)¹⁶. Esta última, onde aldeídos e acetofenonas reagem na presença de um catalisador, ácido ou básico, em diferentes condições. As variações estruturais obtidas por diferentes substituintes tanto no anel A quanto no anel B permite explorar diferentes potenciais farmacológicos como: antitumoral³, anti-inflamatório⁴, antioxidante⁵, antialérgico⁶ e antimicrobiano⁷.

Com isso, utilizando os princípios da química medicinal, surge o interesse da síntese, identificação e caracterização das chalconas e posterior relação entre estrutura e atividades biológicas. Seguindo como exemplo dos bons resultados obtidos para o grupo naftila em testes de células cancerígenas⁸.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O projeto apresenta como objetivo principal a síntese de chalconas substituídas por meio da condensação de Claisen-Schmidt e avaliação de atividade citotóxica em células leucêmicas da linhagem tipo K562.

3.2. Objetivos específicos

- * Sintetizar e purificar compostos partindo da 1-naftilacetofenona e benzaldeídos substituídos.
- * Caracterizar a série de chalconas por espectro de RMN de ^1H e ^{13}C .
- * Estudar o efeito citotóxico em células leucêmicas de linhagem K562.
- * Estabelecer uma relação entre a estrutura e a atividade (REA) das moléculas obtidas.

4. MATERIAIS E METODOS

4.1. Instrumentação

As reações foram acompanhadas por cromatografia de camada delgada de sílica gel utilizando luz na região do ultravioleta como revelador.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{13}C e ^1H foram realizados pelos equipamentos Varian Mercury Plus AS 400 MHz e Bruker AC 200 MHz utilizando dimetilsulfoxido (DMSO) e clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente com 1-2% de tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os valores de deslocamento químico são expressos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento em Hertz (Hz).

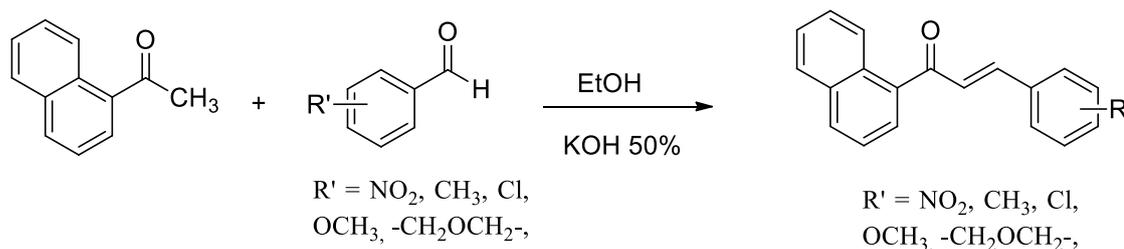
O aparelho utilizado para obtenção do ponto de fusão das chalconas foi o MGAPF-301, Microquímica Equipamento Ltda.

A leitura dos testes biológicos foi feito em espectrofotômetro Microwell Systems (Organon Teknika, Belgium) no comprimento de onda de 540 nm.

4.2. Metodologia

A série de chalconas foi sintetizada pelo método de condensação de Claisen-Schmidt (**Esquema1**). Esta metodologia consiste na condensação de uma acetofenona com um benzaldeído em etanol e hidróxido de potássio 50% P/V. Em um balão de 50 mL foi adicionado 1-naftilacetofenona (1 mmol), o aldeído (1 mmol) e 20 mL de etanol, logo, adicionou-se 10 gotas de hidróxido de potássio 50% P/V e manteve a reação sob agitação magnética constante a temperatura ambiente por 24 horas. A reação foi neutralizada com ácido clorídrico 10% após a formação do produto, o precipitado foi filtrado a vácuo e quando necessário recristalizado.

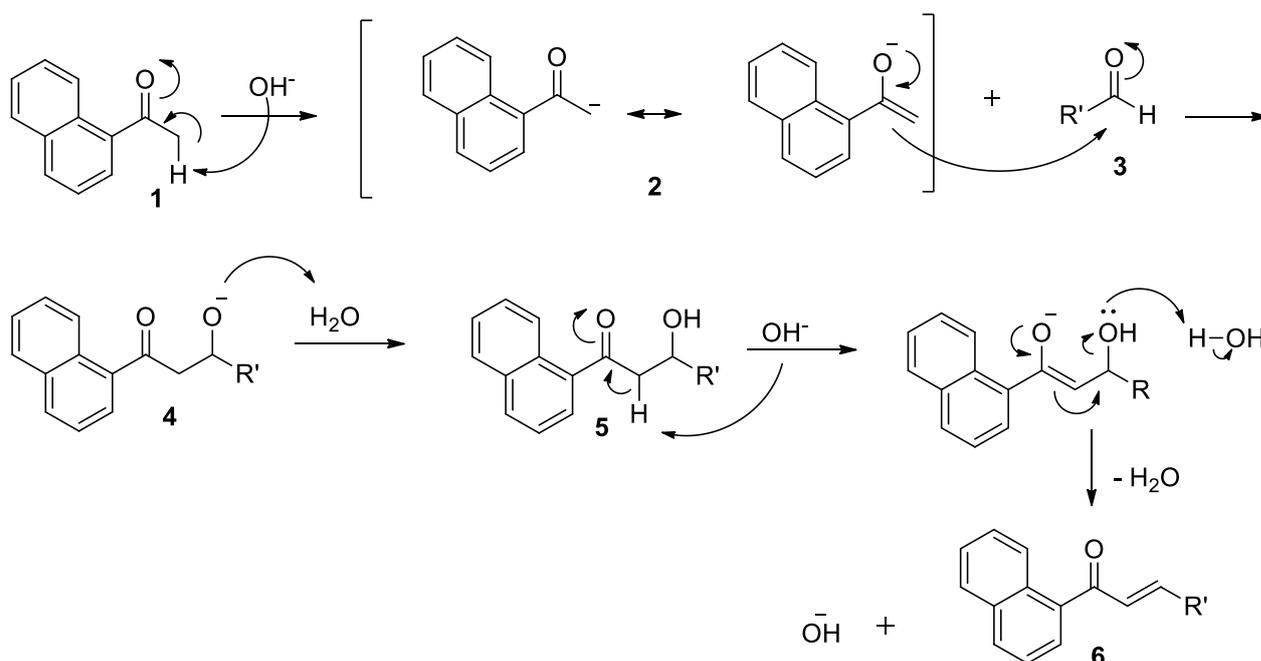
Esquema 1. Síntese de Claisen- Schmidt.



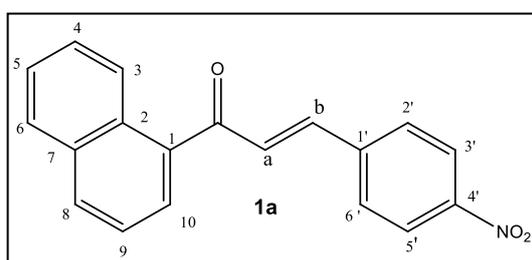
Fonte: Autora, 2016.

O início da reação dá-se quando uma base remove um hidrogênio ácido alfa à carbonila 1 para formar um carbânion 2, estabilizado por ressonância. Por um ataque nucleofílico o enolato ataca o carbono carbonílico do aldeído 3, formando um íon alcóxido 4. A protonação do intermediário 4 gera o enol 5 que posteriormente sofre desidratação formando a chalcona 6 (**Esquema 2**).

Esquema 2. Mecanismo da síntese de Claisen- Schmidt.



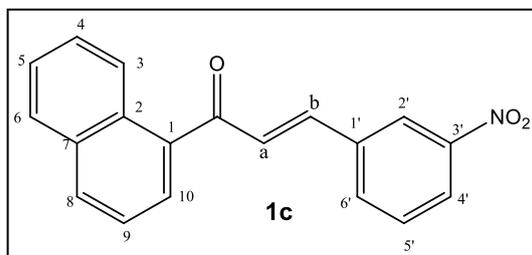
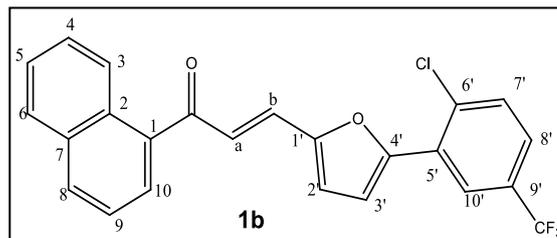
Fonte: Autora, 2016.



(E)-1-(naftaleno-1-il)-3-(4-nitrofenil)prop-2-en-1-ona, sólido amarelo; rendimento 90 %, p.f. 143,8- 145,4 °C; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 7,45 (d, 1H, $J= 16,0$ Hz, Ha), 7,56-7,62 (m, 3H, H3, H4, H9), 7,68 (d, 1H, $J= 16,0$ Hz, Hb), 7,74 (d, 2H, H2',H6'), 7,85 (d, 1H, H10), 7,95 (d,1H, H8), 8,06 (d, 1H, H6), 8,27 (d, 2H, H3', H5'), 8,40 (d, 1H, H3). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 123,7 (Ca), 124,2 – 140,8 (C anéis aromáticos), 142,0 (Cb), 194,2 (C carbonílico).

**(E)3(5(2cloro5(trifluorometil)fenil)fu-
 urano-2-il)1(naftaleno-1-il)prop-2-em-1-
 ona**, sólido amarelo; rendimento 92 %; p.f.
 160,3- 161,1 °C; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)
 δ/ppm: 6,84 (d, 1H, H3'), 7,34 (dd, 2H, Ha,
 H2'), 7,43 (d, 1H, J=15,7 Hz, Hb), 7,51 (dd, 1H, H8'), 7,56 – 7,61 (m, 4H, H4, H5,
 H7',H9)*, 7,83 (d, 1H, H6), 7,93(d, 1H, H8), 8,03 (d, 1H, H10), 8,18 (s, 1H, H10'),
 8,37 (d, 1H, H3). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 114,8 (C2'), 117,9 (C3'), 124,5
 (Ca), 125,1- 134,1 (C anéis aromáticos) 136,9 (Cb), 151,1 (C1'), 151,3 (C4'), 194,9
 (C carbonílico).

*H intercambiáveis.

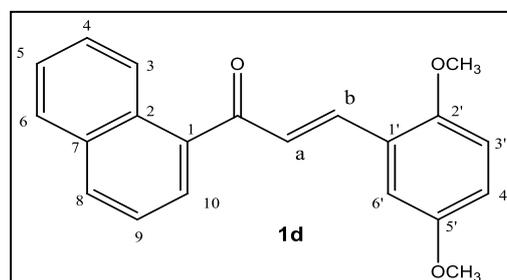


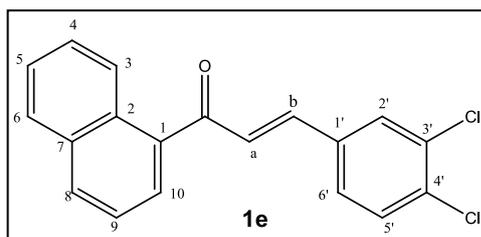
**(E)-1-(naftileno-1-il)-3-(3-nitrofenil)prop-2-
 em-1-ona**, sólido amarelo; rendimento 81 %;
 p.f. 151,7- 152,6 °C; RMN ¹H (400 MHz,
 CDCl₃) δ/ppm: 7,46 (d, 1H, J=15,9 Hz, Ha),
 7,56- 7,64 (m, 4H, H4, H5, H5', H9)*, 7,69 (d,
 1H, J= 15,9 Hz, Hb), 7,85 (d, 1H, H6), 7,91 (d, 1H, H6'), 7,95 (d, 1H, H8), 8,06 (d,
 1H, H10), 8,26 (d, 1H, H4'), 8,41 (d, 1H, H3), 8,45 (s, 1H, H2'). RMN ¹³C (100 MHz,
 CDCl₃) δ/ppm: 122,6 (Ca), 124,5 – 136,5 (C anéis aromáticos), 142,3 (Cb), 194,4 (C
 carbonílico).

*H intercambiáveis.

**(E)-3-(2,5-dimetoxifenil)-1-(naftaleno-1-
 il)prop-2-en-1-one**, sólido amarelo; rendimento
 92 %; p.f. 123,4-125,9 °C; RMN ¹H (400 MHz,
 CDCl₃) δ/ppm: 3,77 (s, 6H, OCH₃), 6,83 (d, 1H,
 J=16,2, Ha), 6,92 (dd, 1H, H4'),7,11 (d, 1H,
 H3'), 7,35 (d, 1H,J=16,2, Hb), 7,50- 7,57 (m,
 3H, H4, H5, H9)*, 7,56 (d, 1H, H6), 7,82- 7,93 (m, 2H, H6',H8)*, 7,97 (d, 1H, H10),
 8,33 (d, 1H, H3). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 55,8; 56,1 (2C metila), 112,6-
 117,7 (C' aromáticos), 124,3 (Ca), 124,5- 137,4 (C anéis aromáticos), 141,1 (Cb),
 153,3; 153,6 (2C –OCH₃), 196,1 (C carbonílico).

*H intercambiáveis.





(E)-3-(3,4-diclorofenil)-1-(naftalen-1-il)

prop-2-em-1-ona, sólido amarelo; rendimento 73

%; p.f. 75,5-76,5 °C; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 7,29 (s, 1H, H₂'), 7,37 (d, 1H, H₅'), 7,49-7,58 (m, 6H, *J*=15,89, Ha, Hb, H₄, H₅, H₆', H₉)*, 7,77 (d, 1H, H₆), 7,92 (d, 1H, H₈), 8,01 (d, 1H,

H₁₀), 8,33 (d, 1H, H₃). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 124,5 (Ca), 125,6- 136,9 (C anéis aromáticos), 144,2 (Cb), 195,2 (C carbonílicos).

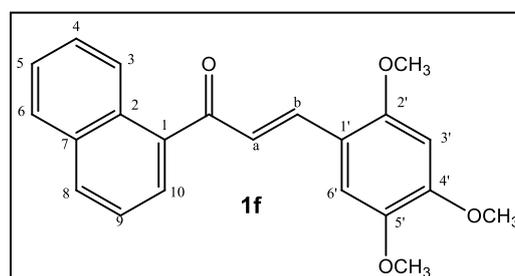
*H intercambiáveis.

(E)-1-(naftaleno-1-il)-3-(2,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona,

sólido

amarelo; rendimento 82 %; p.f. 157,5- 158,7

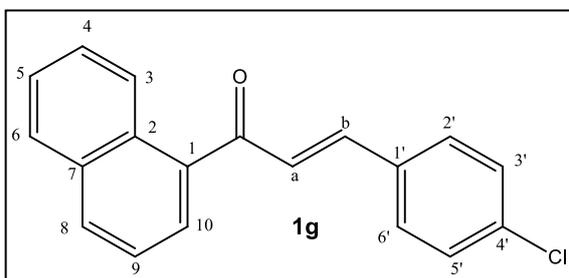
°C; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3,83 (s,



3H, OCH₃)*, 3,88 (s, 3H, OCH₃)*, 3,94 (s, 3H, OCH₃)*, 6,50 (s, 1H, H₆'), 7,09 (s, 1H, H₃'), 7,25 (d, 1H, *J*=15,7, Ha), 7,52- 7,56 (m, 3H, H₄, H₅, H₉)*, 7,76 (d, 1H, H₆), 7,94 (m, 3H, Hb, H₈, H₁₀)*, 8,32 (d, 1H, H₃). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 56,1 (C metoxila)*, 56,3 (C metoxila)*, 56,6 (C metoxila)*, 115,3 (Ca), 143,5 (Cb), 196,3 (C carbonílico).

*H intercambiáveis.

*C intercambiáveis.



(E)-3-(4-clorofenil)-1-(naftalen-1-il)prop-

2-en-1-ona, sólido amarelo; rendimento 83

%; p.f. 99,6-101,3 °C; RMN ¹H (400 MHz,

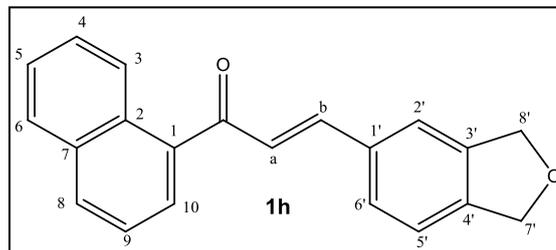
CDCl₃) δ/ppm: 7,30 (d, 1H, *J*=16,0 Hz, Ha),

7,40-7,66 (m, 8H, Hb, H₂', H₃', H₅', H₆',

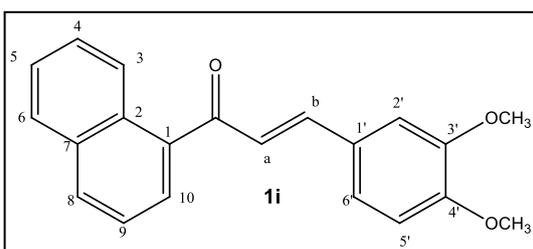
H₄, H₅, H₉), 7,80 (d, 1H, H₁₀), 7,94 (d, 1H,

H₈), 8,04 (d, 1H, H₆), 8,36 (d, 1H, H₃). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 124,5 (Ca), 125,6- 136,6 (C anéis aromáticos), 142,6 (Cb), 194,6 (C carbonílico).

(E)-3-(1,3-diidroisobenzofurano-5-il)-1-(naftaleno-1-il)prop-2-en-ona, sólido amarelo; rendimento 67 %; p.f. 90,7-92,3 °C; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5,99 (s, 4H, H7', H8'), 6,79 (d, 1H, H6'), 7,06 (d, 1H, H5'), 7,09 (m, 2H, H2', J=15,40, Ha), 7,48-7,53 (m, 4H, H4, H5, H9, Hb)*, 7,73 (d, 1H, H10), 7,89 (d, 1H, H8)*, 7,97 (d, 1H, H6)*, 8,30 (d, 1H, H3).). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 106,6 (C7')*, 108,6 (C8')*, 1254,5 (Ca), 145,7 (Cb), 195,6 (C carbonílico).



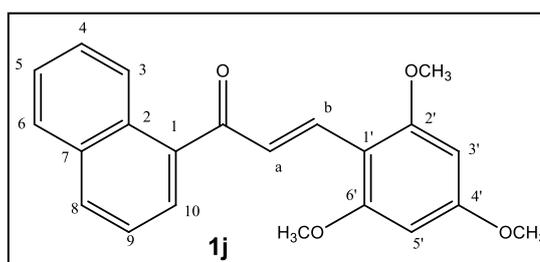
*H intercambiáveis.
*C intercambiáveis.

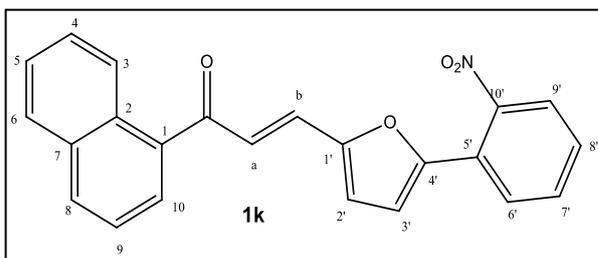


(E)-3-(3,4-dimetoxifenil)-1-(naftaleno-1-il)prop-2-en-1-ona, sólido amarelo; rendimento 14 %; p.f.95,2-96,7 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3,92 (s, 6H, OCH₃), 6,88 (d, 1H, H6'), 7,11-7,20 (m, 3H, J=15,6, Ha, H2', H5'), 7,49-7,57(m, 4H, Hb, H4, H5, H9)*, 7,75 (d, 1H, H10), 7,89-8,01 (m, 2H, H6, H8)*, 8,28 (d, 1H, H3). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 55,9 (C metila), 123,3 (Ca), 137,4 (Cb), 195,9 (C carbonílico).

*H intercambiáveis.

(E)-1-(naftaleno-1-il)-3-(2,4,6-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, sólido amarelo; rendimento 43 %; p.f. 157,5-158,6 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3,81 (s, 9H, OCH₃), 6,09 (s, 2H, H3', H5'), 7,47-7,53 (m, 3H, H4, H5, H9), 7,62 (d, J= 16,0, 1H, Ha), 7,73 (d, 1H, H10), 7,84-7,94 (m, 2H, H6, H8), 8,07 (d, 1H, Hb).). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 55,4 (C metila)*, 55,7 (C metila)*, 124,5 (Ca), 138,4 (Cb), 197,6 (C carbonílico).





(E)-1-(naftaleno-1-il)-3-(5-(2-nitrofenil)furan-2-il)prop-2-en-1-ona,
 sólido amarelo; rendimento 40 %; p.f. 150,1-152,0 °C; RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 7,09-7,22 (m, 3H, Ha, H2', H3'),

7,40 (d, 1H, *J*= 15,6 Hz, Hb), 7,81-7,92 (m, 2H, H7', H10'), 7,97 (d, 1H, H6), 8,06 (d, 1H, H8), 8,16 (d, 1H, H10), 8,27 (d, 1H, H3). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 113,3 (C2'), 119,7 (C3'), 124,3 (Ca), 124,7-133,9 (C anéis aromáticos) 136,5 (Cb), 194,2 (C carbonílico).

4.3 Testes Biológicos

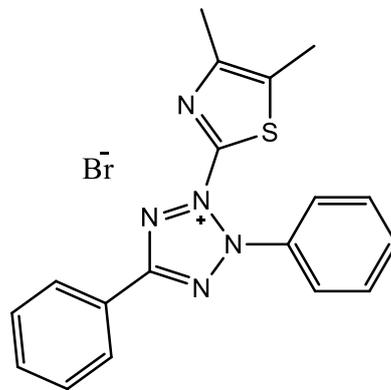
Os testes biológicos foram realizados no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Tiago (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina coordenado pela Profa. Dra. Maria Cláudia Santos da Silva.

As chalconas foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 10 mmolL⁻¹ e armazenadas a 4 °C.

Para a realização dos experimentos, o número de células viáveis (K562) foi avaliado pelo método de exclusão do corante Azul de Trypan (0,5%). Foram excluídas as amostras com viabilidade inferior a 95 %. A quantidade de células K562 viáveis adicionadas às placas de cultura manteve a relação de 2,5 x 10⁵ células/mL para o tempo de tratamento de 24 h. As incubações foram realizadas em incubadora com atmosfera úmida de 5 % de CO₂ a 37 °C.

Foi realizada uma triagem para avaliar o efeito citotóxico de 11 chalconas sintéticas, na concentração de 100 μmolL⁻¹, sobre as células K562 (LMA). Após 24 h de incubação, a viabilidade celular foi avaliada pelo método do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) (**Figura 5**). Este método consiste em um ensaio colorimétrico que se baseia na redução do sal de tetrazólio ao seu derivado formazan, de cor roxa, pelo metabolismo mitocondrial¹⁷. Dessa forma, o ensaio funciona como um indicador da função mitocondrial e, por conseguinte, da viabilidade celular.

Figura 5. Estrutura do 3-(4,5-dimetil-a-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT)



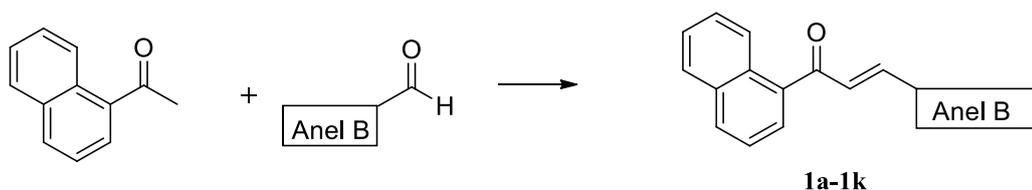
Fonte: Autora, 2016.

Após o tempo de incubação, as placas foram centrifugadas, o sobrenadante removido e meio de cultura 10 % (v/v) contendo solução de MTT (5 mg/mL em PBS) foi adicionado. Após 3 h de incubação, as placas foram novamente centrifugadas e o sobrenadante removido. Os precipitados formados em cada poço foram dissolvidos em 100 μL de solução de álcool isopropílico/ácido clorídrico $0,04 \text{ molL}^{-1}$ e as placas foram submetidas à nova centrifugação para a remoção dos restos celulares. O sobrenadante foi transferido para outra placa, onde realizou-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro Microwell Systems (Organon Teknika, Belgium) no comprimento de onda 540 nm. A densidade óptica do grupo controle (células sem tratamento) foi considerada como 100% de células viáveis.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho foi sintetizada uma série de 11 chalconas contendo o grupo 1-naftila, das quais 4 são inéditas (**1b**, **1h**, **1j**, **1k**) e os demais compostos estão citados na literatura¹⁸⁻²³. A seguir a **Tabela 1** mostra a variação dos grupos substituintes do anel B, os rendimentos e pontos de fusão dos compostos obtidos. Com exceção dos compostos **1i**, **1j** e **1k** o rendimento de cada chalcona mostrou-se satisfatório e ponto de fusão dentro do esperado, pois se sabe que um composto com alto grau de pureza funde a uma temperatura com uma faixa de variação muito pequena da mesma²⁴.

Tabela 1. Síntese de chalconas **1a-1k**



Chalconas	Anel B	Rendimento (%)	Ponto de Fusão (°C)
1 a	4-nitrofenila	90	151,7- 152,6
1b	5-5-[2-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-furfurila	92	160,3- 161,1
1c	3-nitrofenila	81	143,8- 145,4
1d	2,5-dimetoxifenila	92	123,4- 125,9
1e	3,4-diclorofenila	73	75,5- 76,5
1f	2,4,5-trimetoxi-fenila	82	157,5- 158,7
1g	4-clorofenila	83	99,6- 101,3
1h	3,4-metilenodioxi-fenila	67	90,7- 92,3
1i	3,4-dimetoxifenila	14	95,2- 96,7
1j	2,4,6-trimetoxifenila	43	157,5- 158,6
1k	5-2-nitrofenil –furfurila	40	150,1- 152,0

Fonte: Autora, 2016.

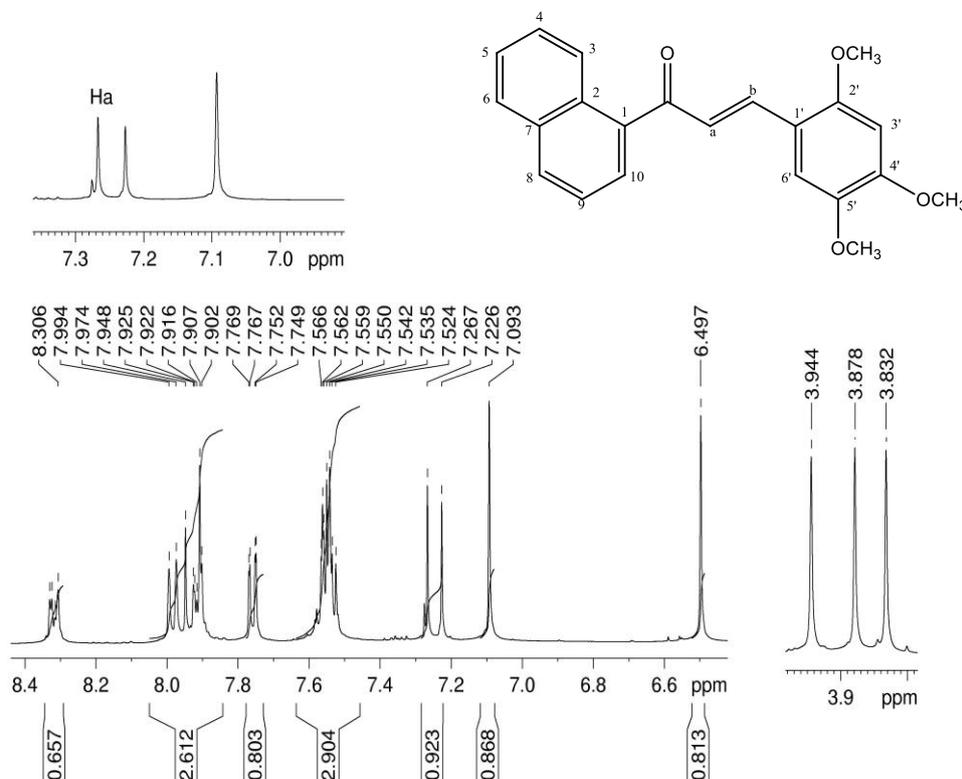
5.1 Espectroscopias de RMN de ^1H e ^{13}C

Os espectros foram obtidos utilizando CDCl_3 e DMSO como solventes e as frequências de 200 MHz e 400 MHz como descrito na parte experimental. Foi utilizada uma numeração aleatória para identificação dos sinais nos espectros.

Nos espectros de RMN de ^1H das chalconas sintetizadas observaram-se sinais de dupletos com acoplamentos entre 15,0 e 16,0 Hz representando os hidrogênios **a** e **b** da insaturação indicando a isomeria *E*.

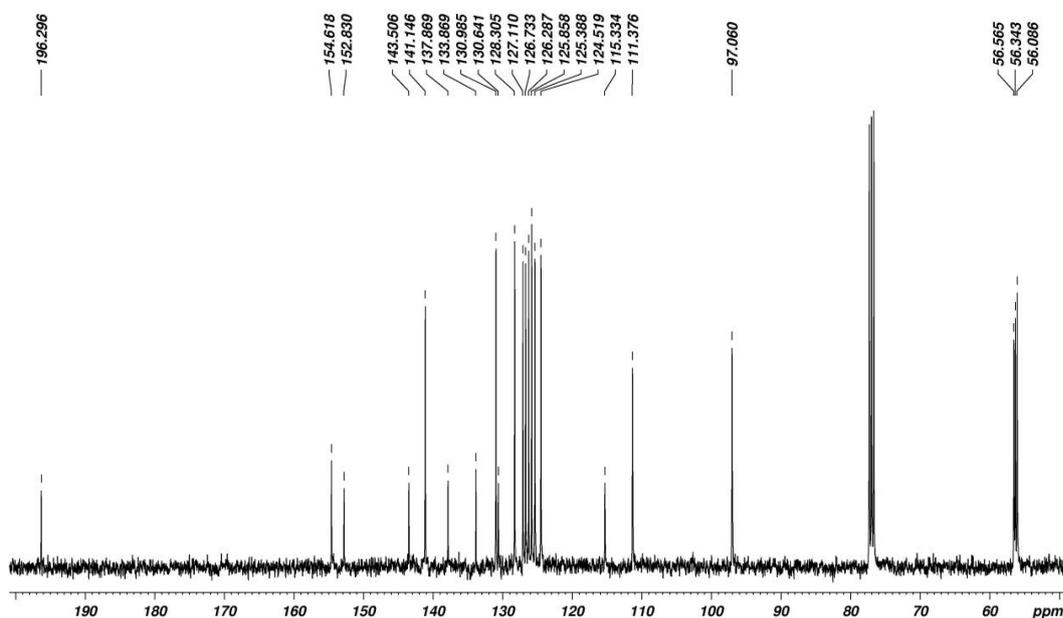
No espectro de RMN de ^1H do composto **1f** (**Figura 6**) observa-se o sinal de hidrogênio **a** em 7,25 ppm com constante de acoplamento 15,7 Hz. Os sinais em 3,83 ppm; 3,88 ppm e 3,94 ppm são três simpletos que representam os sinais mais blindados caracterizando as metilas ligadas aos oxigênios, estes por vez são intercambiáveis. Os sinais em 6,50 ppm e 7,09 ppm correspondem aos hidrogênios 3' e 6', os demais sinais correspondem aos hidrogênios do grupo naftila²⁵.

Figura 6. Espectro de RMN de ^1H do composto **1f**.



No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 7**) caracteriza três sinais em 56 ppm referente aos carbonos do grupo $-\text{OCH}_3$, 115,3 ppm é o carbono **a**, 143,5 o carbono **b** e 196,3 o carbono da carbonila, os demais sinais são referentes aos carbonos aromáticos.

Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1f**.



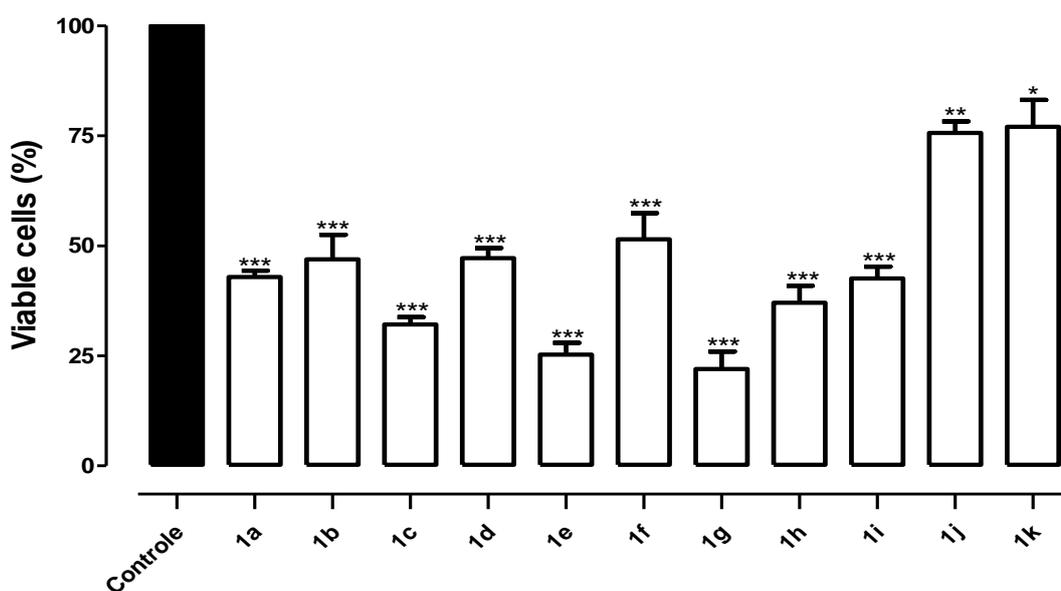
5.2 Atividades Biológicas

Os testes de atividade citotóxica em células cancerígenas de linhagem K562 foram realizados no HU por uma aluna de doutorado da Profa. Dra. Maria Cláudia Santos da Silva.

A triagem realizada para avaliar o efeito citotóxico das 11 chalconas sintéticas com $100\ \mu\text{molL}^{-1}$ de concentração, sobre as células K562 (LMA) que após um período de incubação de 24 h realizou-se um ensaio colorimétrico pela redução do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) ao seu derivado formazan, realizou-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro Microwell Systems (Organon Teknika, Belgium) no comprimento de onda de 540 nm. Medindo

a viabilidade dos compostos através de uma célula cancerígena controle onde as menores porcentagens representam os melhores resultados, indicando a quantidade de células cancerígenas que ainda estão presentes, sendo que os melhores resultados encontram-se nos compostos **1e** 25 % e **1g** 22% como observado na **Figura 8**.

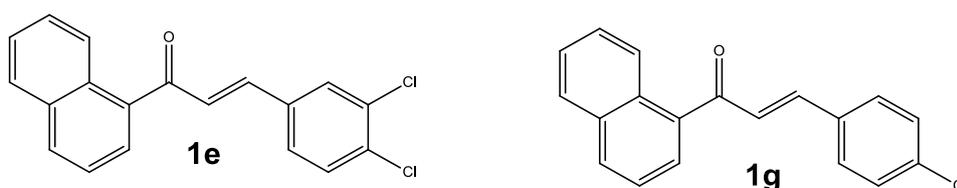
Figura 8. Resultado do teste de inicial da série de chalconas **1a--1k**.



Fonte: Autora, 2016.

Os compostos que apresentaram melhores atividades citotóxicas foram os **1e** e **1g**. Ambas as estruturas apresentam halogênios em suas estruturas químicas (**Figura 9**). Sendo o halogênio monossustituído o composto com melhor atividade biológica frente à linhagem K562.

Figura 9. Estrutura de chalconas com melhores resultados no teste inicial



Fonte: Autora, 2016.

6. CONCLUSÃO

A síntese da série de chalconas foi realizada a partir da reação Claisen-Schmidt um método muito utilizado e descrito na literatura para obtenção destes produtos, assim, foi possível a obtenção dos 11 compostos propostos dos quais 4 são inéditos com rendimentos significativos. Foram realizados espectros de RMN de ^1H e ^{13}C caracterizando as 11 chalconas com isomeria *E*.

As chalconas foram avaliadas inicialmente frente as atividades citotóxicas em células leucêmicas de linhagem K562 obtendo bons resultados para os compostos **1e** e **1g** (valores inferiores a 30%).

Posteriormente estas duas chalconas serão testadas para determinação do IC_{50} e mecanismo de ação e serão sintetizadas chalconas com substituintes -H, 4-metil e 4-metoxi comparar as atividades com as chalconas 4-cloro e 3,4-cloro. Com isso poderá se propor novas chalconas baseadas no trabalho de Topliss²⁵.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IUPAC. Citation Information: Chemistry International. **Newsmagazine for IUPAC**. v. 24, P. 8–10. Acesso em 20 mai. 2016.
2. CORREIA, C.R.; COSTA, P.R.; FERREIRA, V. F., Vinte e cinco anos de reações, estratégias e metodologia em química orgânica. **Química nova**, v. 25, p. 74-81, 2002.
3. CHAMPELOVIER, P. *et al.* Cellular and molecular mechanisms activating the cell death processes by chalcones: Critical structural effects. **Toxicology in Vitro**, v. 27, p.2305- 2315, dec. 2013.
4. LI, Y. *et al.* Anti-inflammatory activities of cardamonin from *Alpinia katsumadai* through heme oxygenase-1 induction and inhibition of NF-κB and MAPK signaling pathway in the carrageenan-induced paw edema. **International Immunopharmacology**, v. 25, p. 332- 339, apr. 2015.
5. MARTINS *et al.* Cellular and molecular mechanisms activating the cell death processes by chalcones: Critical structural effects. **Royal Society of Chemistry**, Mar. 2015.
6. YAMAMOTO, M. *et al.* Anti-allergic Activity of Naringenin Chalcone from a Tomato Skin Extract. **Research & Development Division, Kikkoman Corporation**. May 2014.
7. CHIARADIA, L. D. *et al.* Synthesis, Biological Evaluation, And Molecular Modeling of Chalcone Derivatives As Potent Inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* Protein Tyrosine Phosphatases (PtpA and PtpB). **Jornal of Medicinal Chemistry**, v. 55(1), p. 390- 402, 2012.
8. MAIORAL, M. F. *et al.* Apoptotic events induced by synthetic naphthyl chalcones in human acute leukemia cell lines. **Biochimie**, v. 95, p. 866- 874, 2013.
9. IARC, Cancer today- Population fact sheets world. Disponível em: <<http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations?population=900&sex=0>>. Acesso em Maio de 2016.
10. INCA, Câncer- O que é câncer?. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em Maio de 2016.
11. INCA, Câncer- definição. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao>>. Acesso em Maio de 2016.

12. INCA, Câncer-subtipos. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/subtipos>>. Acesso em Maio de 2016.
13. American Cancer Society, Learn about cancer- Leukemia. Disponível em: <<http://www.cancer.org/cancer/leukemia/index>>. Acesso em Junho de 2016.
14. YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 4. Ed. Itajaí: Univali, 2014.
15. CAZAROLLI, L. H. *et al.* Natural and Synthetic Chalcones: Tools for the Study of Targets of Action-Insulin Secretagogue or Insulin Mimetic?. In: **Studies in Natural Products Chemistry**. 1. ed. Pakistan: Atta-ur-Rahman, FRS, 2013. p. 47- 83.
16. PAVIA, D.L. *et al.* Experimentos 38 e 39- chalconas. In: **Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena**. 2 ed. Bookman. Porto Alegre, 2009. p. 278-280.
17. LOOSDRECHT, A. V. *et al.* A tetrazolium-ased colorimetric MTT assay to quantitate human monocyte mediated cytotoxicity against leukemic cells from cell lines and patients with acute myeloid leukemia, **J. Immunol Methods**, v. 174, p. 311-320, 1994.
18. UMAIR, A. *et al.* A synthesis and screening of substituted chalcones as lipoxy genase inhibitors. **Asian Journal of Chemistry**, v. 23, p. 4993-4996, 2011.
19. BONSIGNORE, L. *et al.* Synthesis and separation of geometrical isomers of arylacrylonaphthones. **Gazzeta Chimica Italiana**, v. 106, p. 617-624, 1976.
20. KUNAL, N. *et al.* Effect of ring A and ring B substitution on the cytotoxic potencial of pyrazole tethered chalcones. **Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 2990-2997, 2012.
21. KUNAL, N. *et al.* A rational approach for the design and synthesisi of the 1-acetyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro(1H) pyrazoles as a new class of potencial non-purine xanthine oxidase. **Bioorganic&Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 1950-1958, 2011.
22. TRIPATHI, A. C. *et al.* An expeditious one-pot microwave facilitated versus conventional syntheses: in vivo biological screening and molecular docking studies of some 3,5-dusubstituted-4,5-(1H)-pyrazole derivatives. **Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 390-406, 2016.
23. PAVIA, D.L. *et al.* Técnica 9. In: **Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena**. 2 ed. Bookman. Porto Alegre, 2009. p. 561-569.

24. FREEMAN, H. S. Proton Magnetic Resonance Spectra of Some Naphthalene Derivatives. **Dyes and Pigments**, v.9, p. 67-82, 1988.
25. TOPLISS, J. G. Utilization of operational Schemes for Analog Synthesis in Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.15, 1972.

8. APÊNDICES

Figura 10 . Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1a.

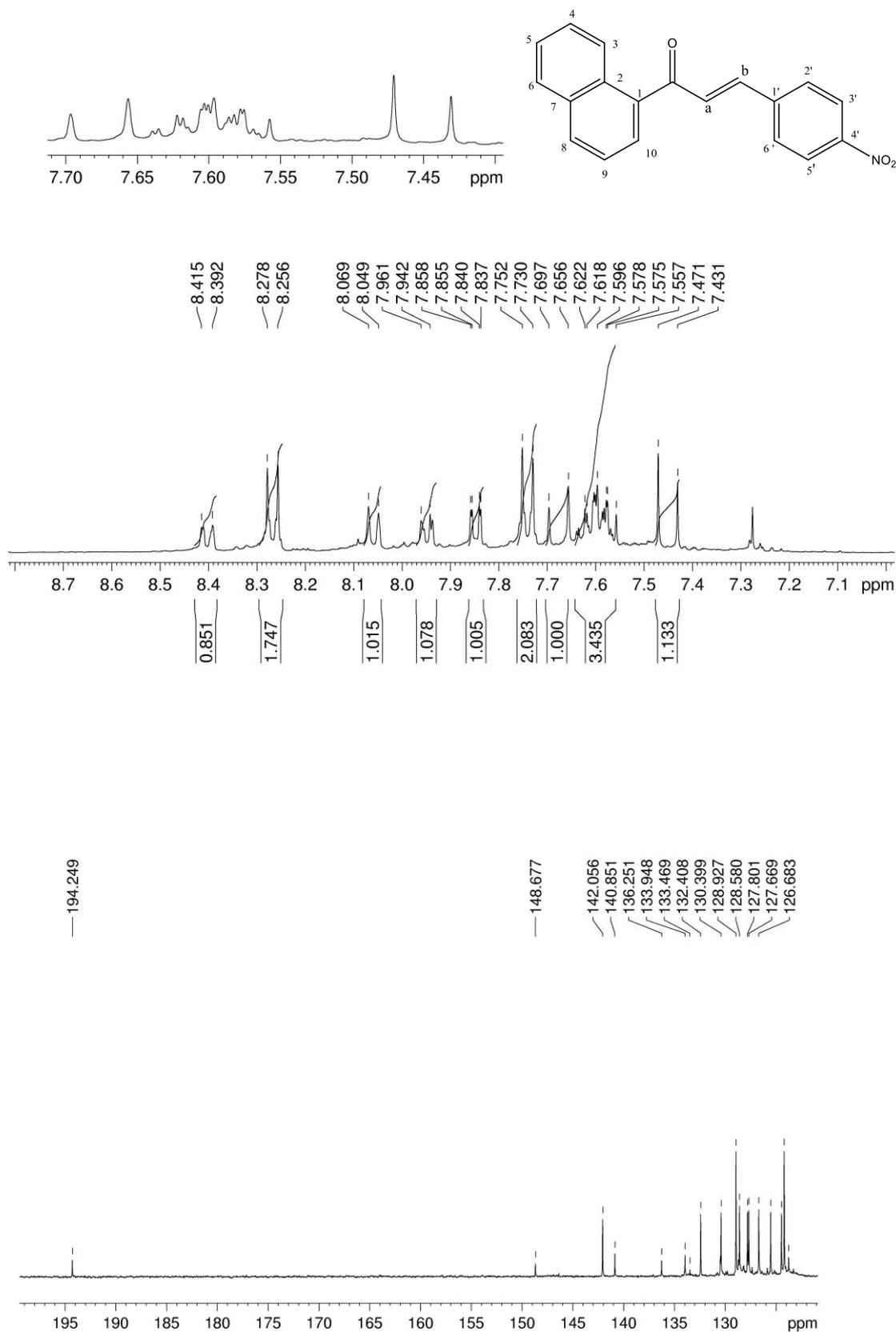


Figura 11 . Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1b

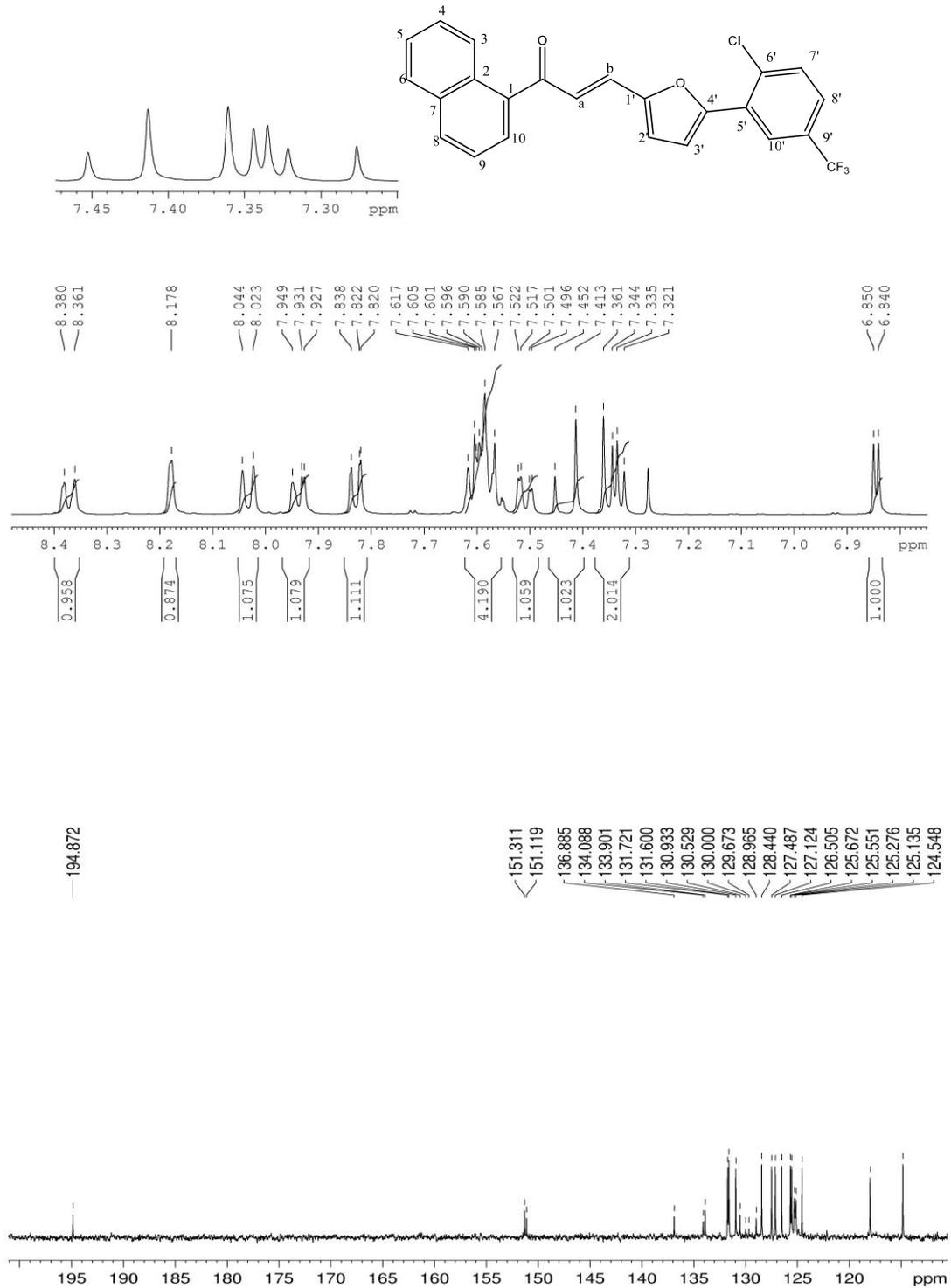


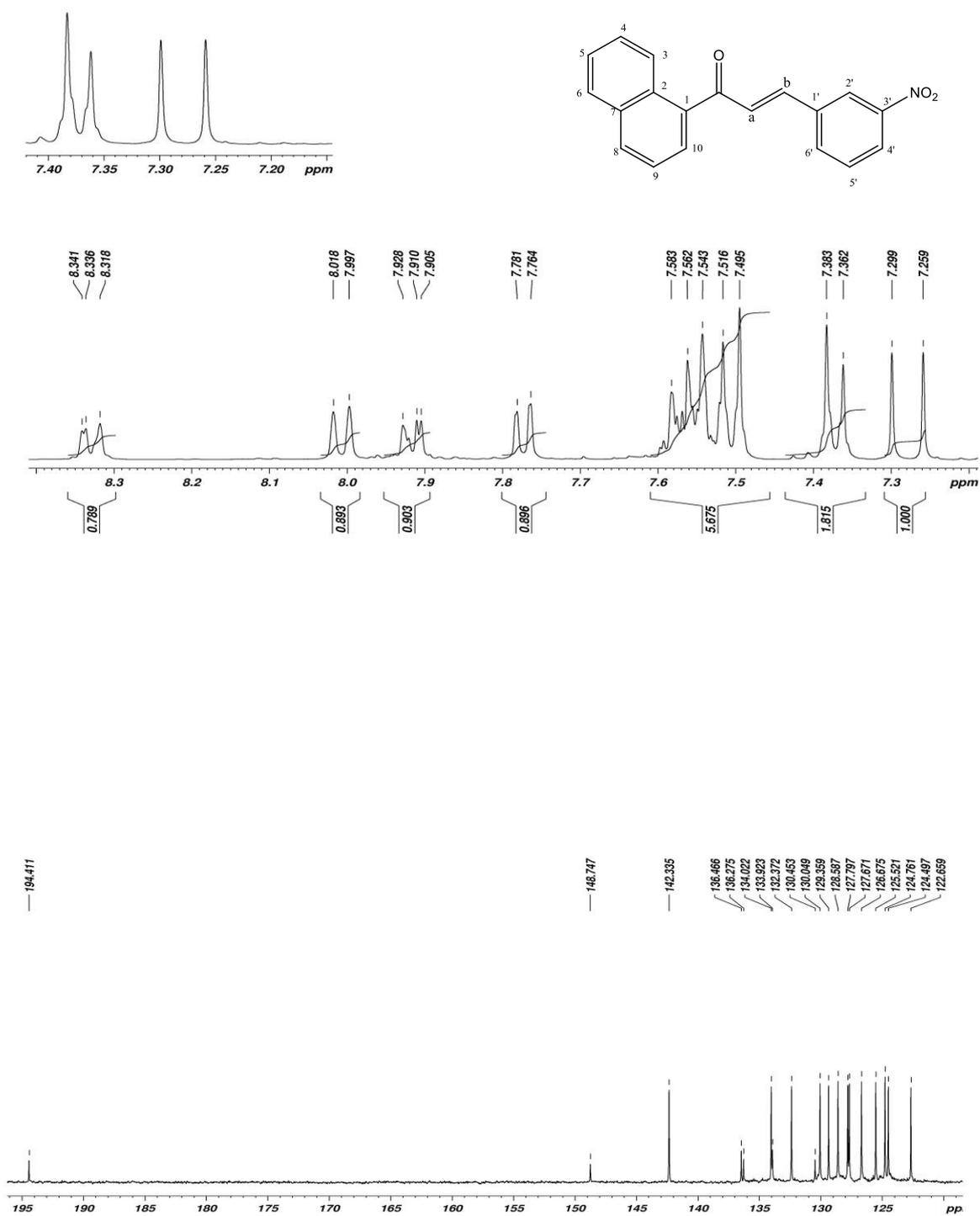
Figura 12. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1c

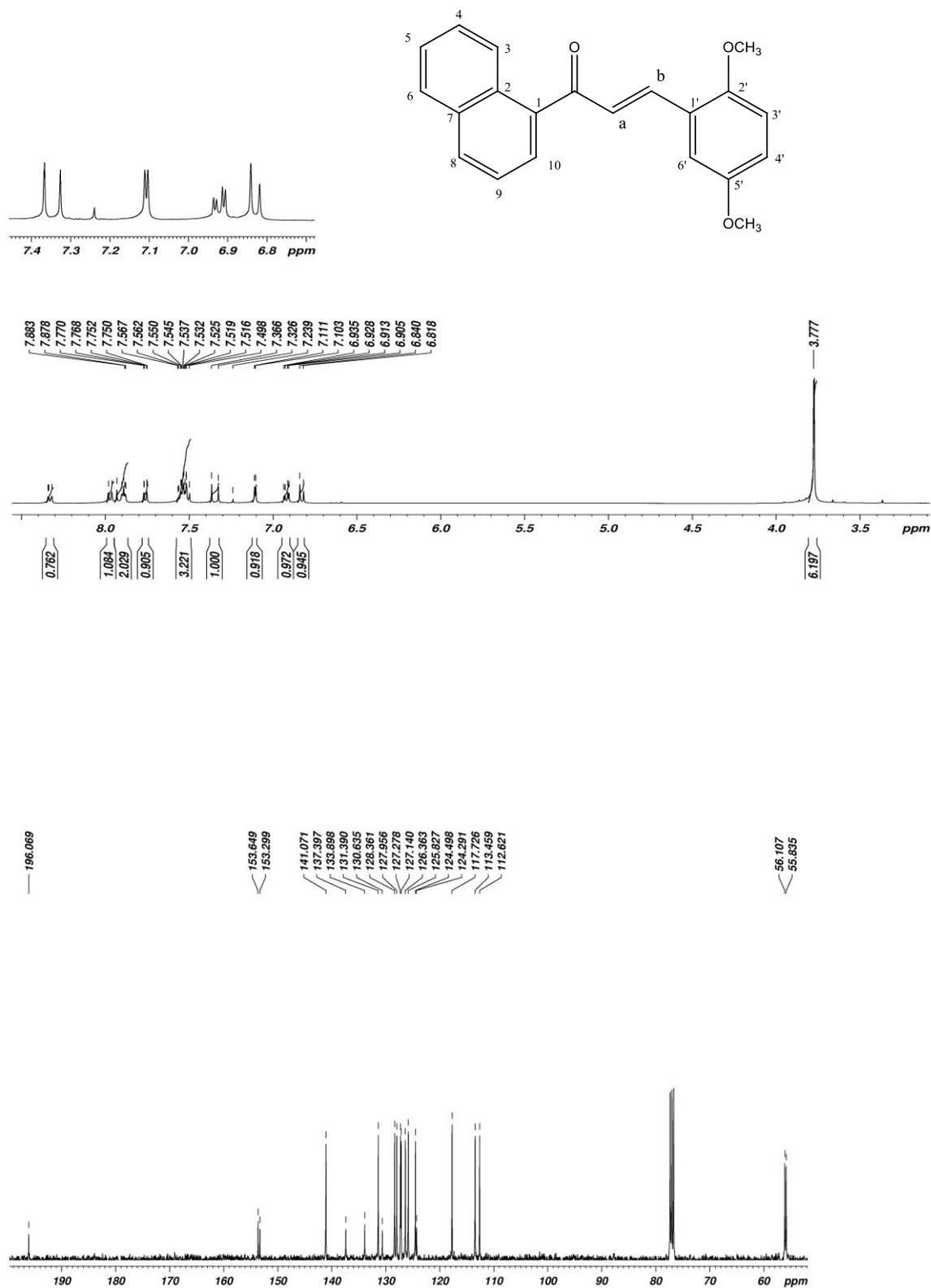
Figura 13 . Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1d

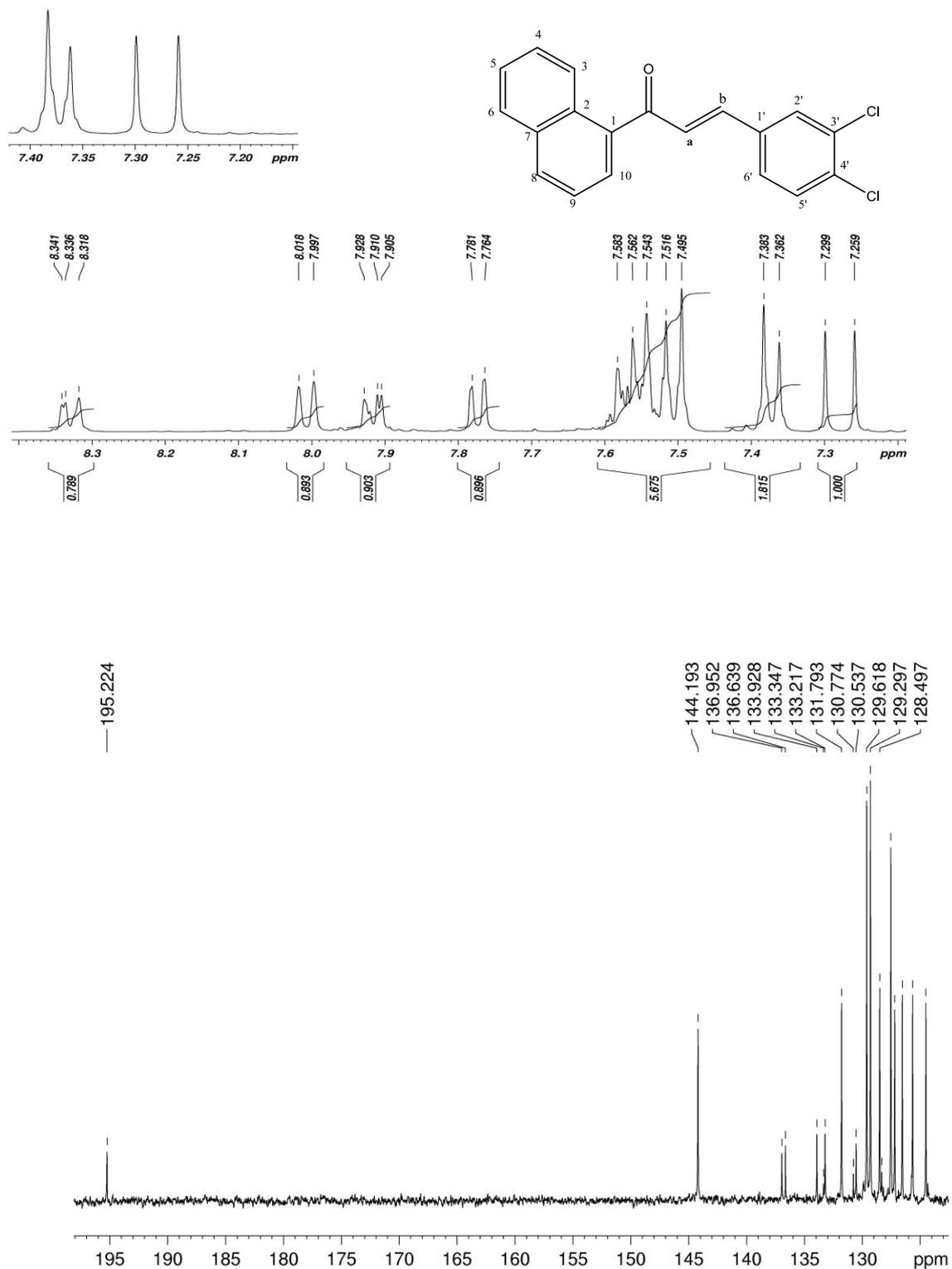
Figura 14. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1e

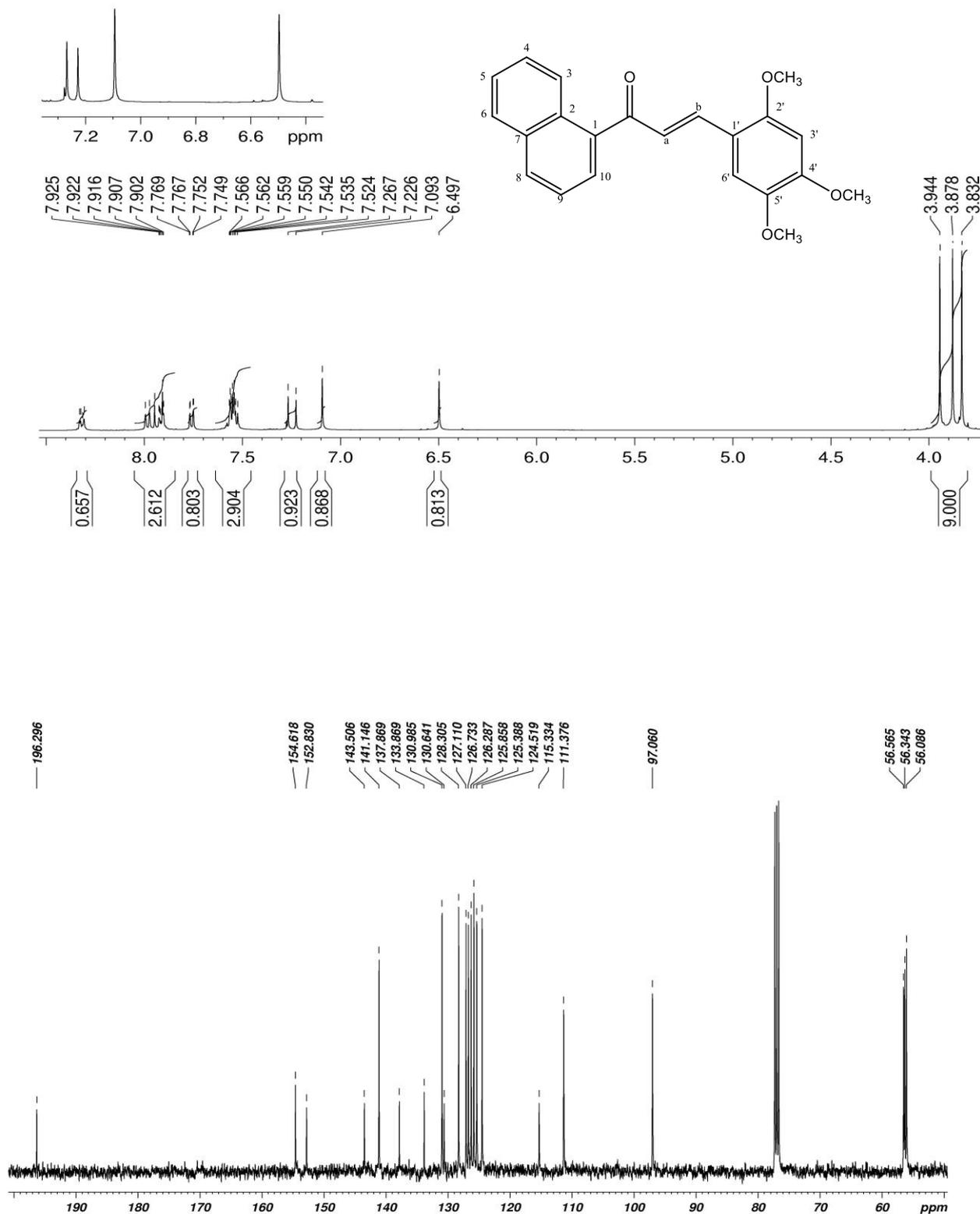
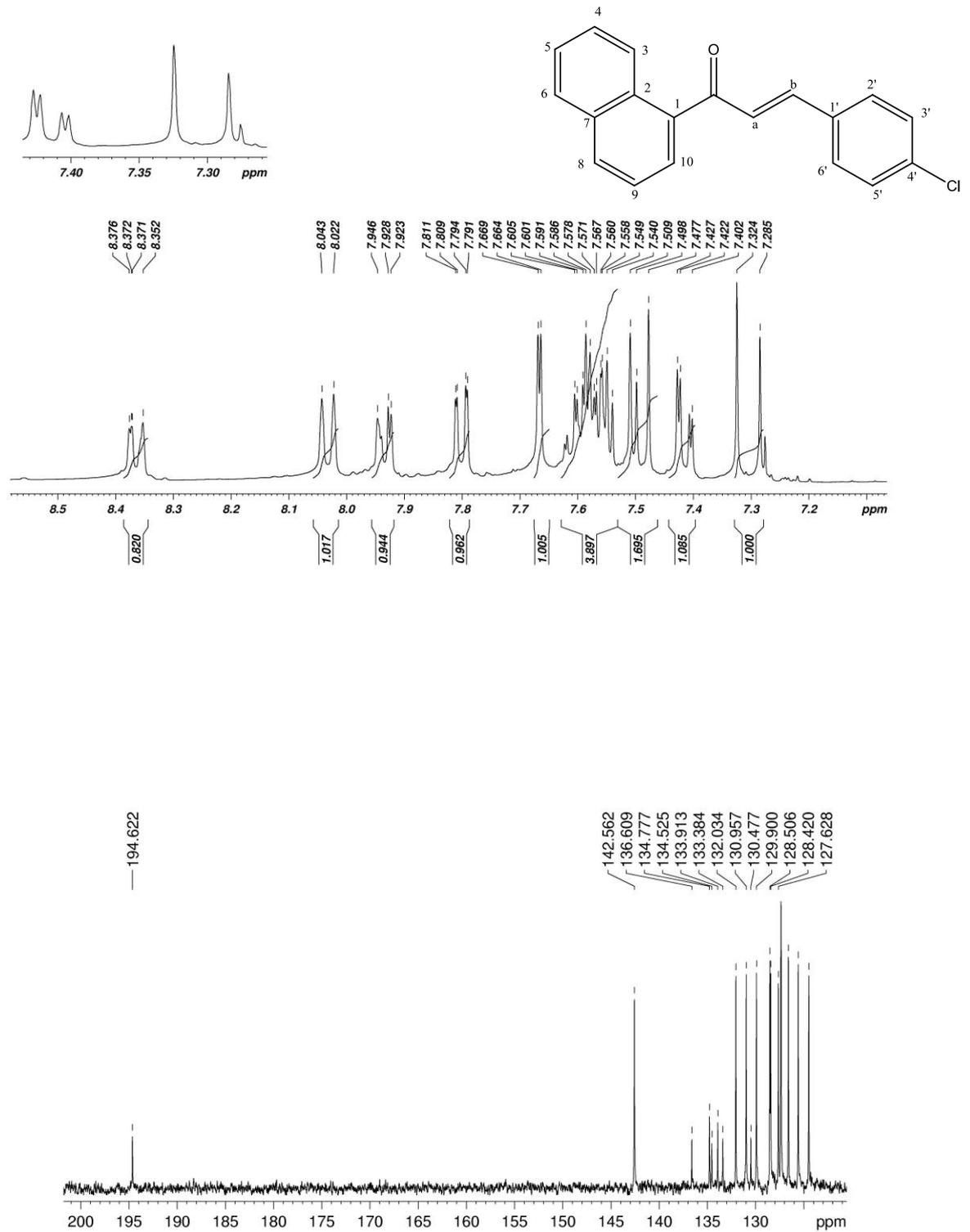
Figura 15. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1f

Figura 16 . Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1g

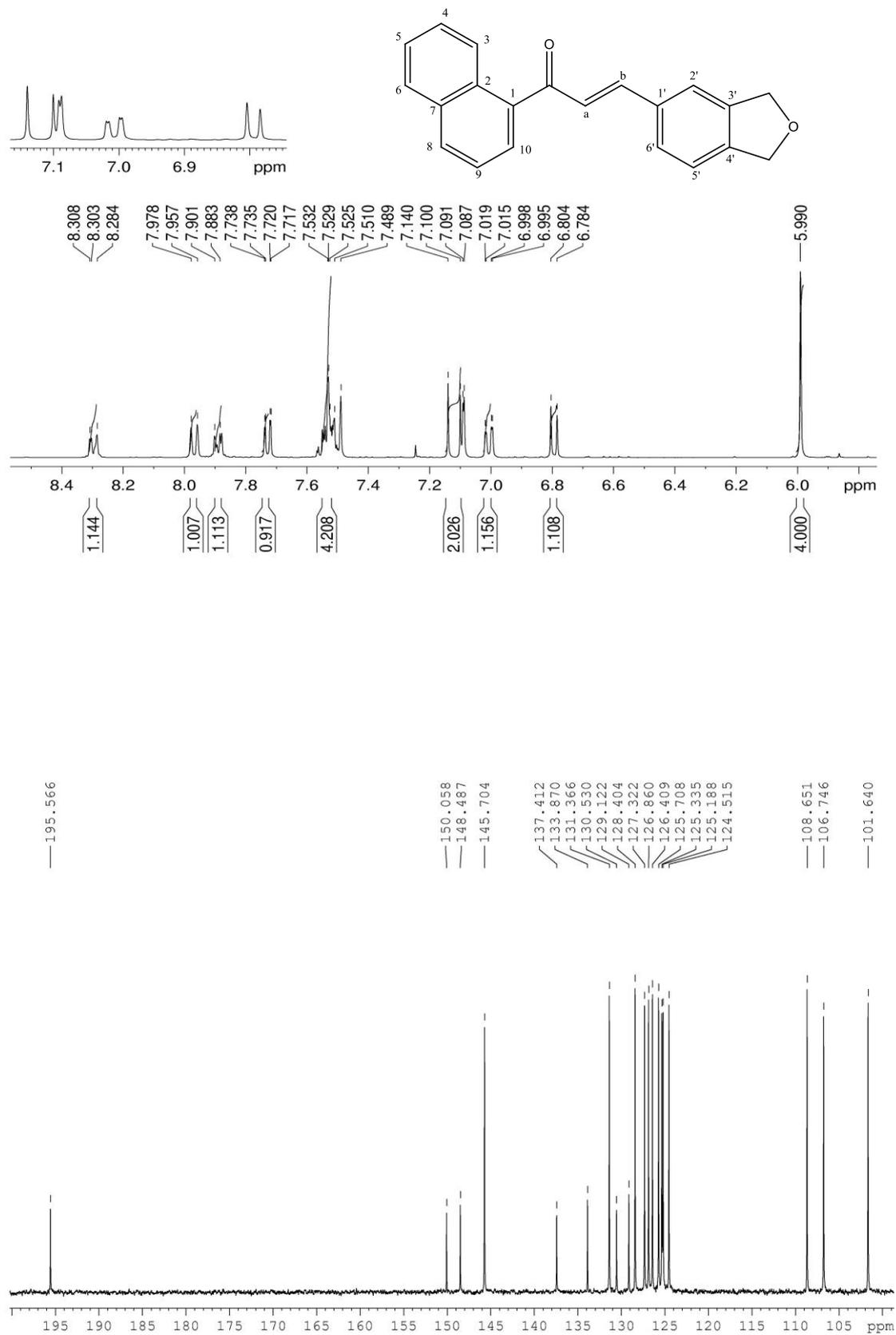
.Figura 17. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1h

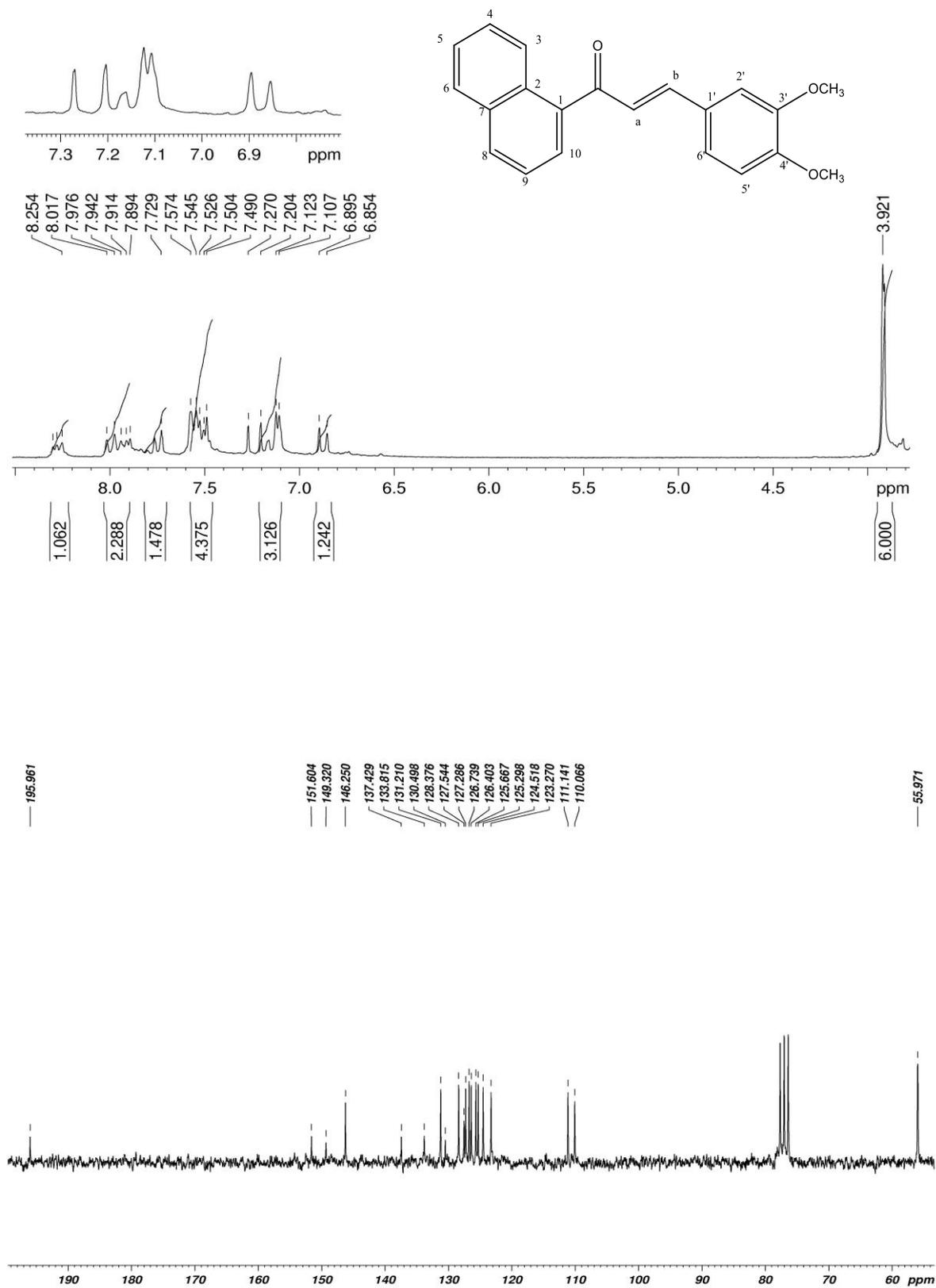
Figura 18. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1i.

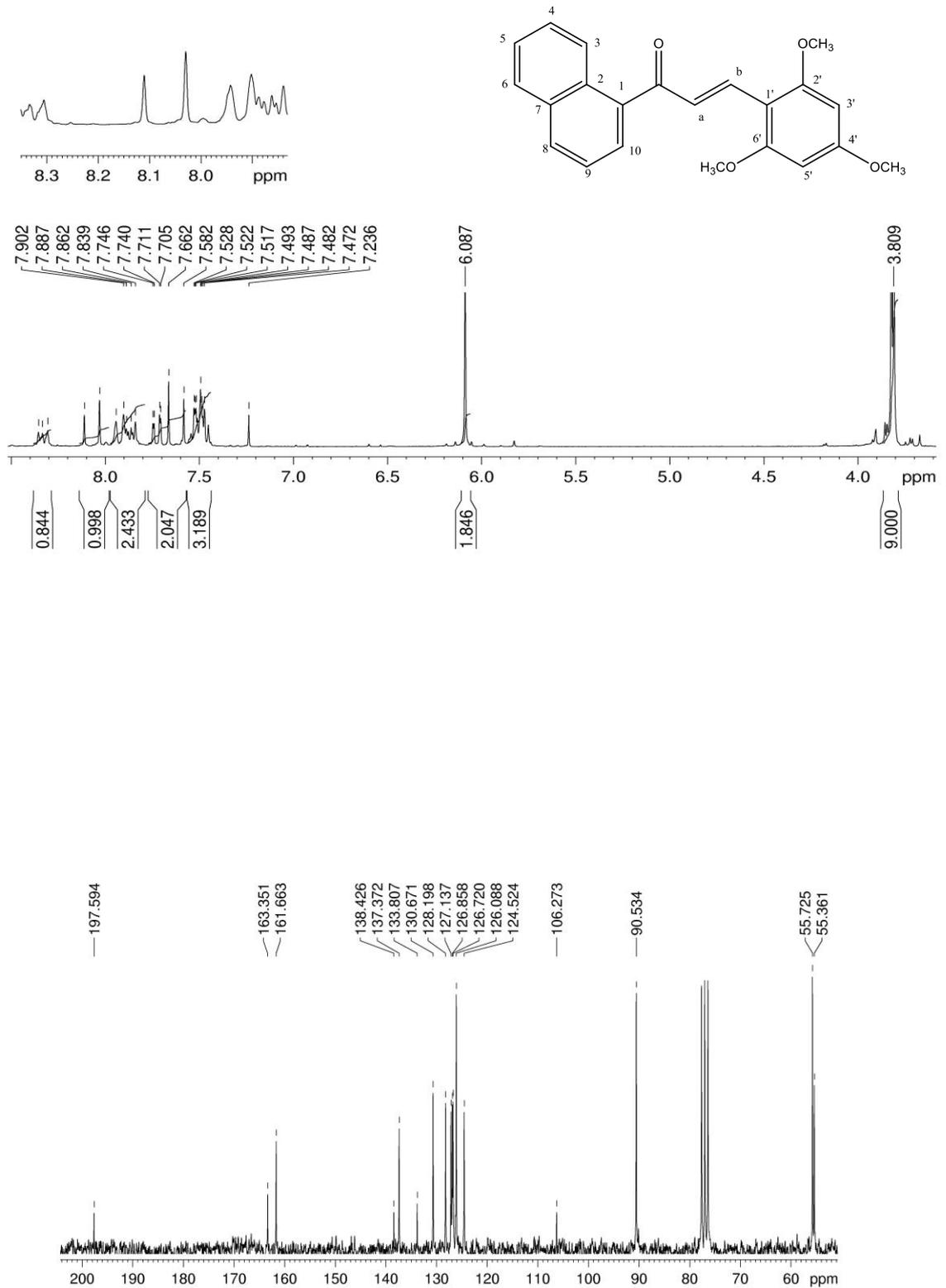
Figura 19. Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1j

Figura 20 . Espectros de ^1H e ^{13}C do composto 1k

