



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

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS
DERIVADAS DA 3,4,5-TRIMETOXIACETOFENONA COM
POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEUCÊMICA**

Marlon Norberto Sechini Cordeiro

Florianópolis
Dezembro/2010

Marlon Norberto Sechini Cordeiro

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS DERIVADAS DA
3,4,5-TRIMETOXIACETOFENONA COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTILEUCÊMICA**

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

Orientador: Dr. Ricardo José Nunes
Co-Orientadora: Dra. Louise Domeneghini Chiaradia

Florianópolis
12/2010

Marlon Norberto Sechini Cordeiro

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CHALCONAS DERIVADAS DA
3,4,5-TRIMETOXIACETOFENONA COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTILEUCÊMICA.**

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo José Nunes
Orientador

Dra. Louise Domeneghini Chiaradia
Co-Orientadora

Prof. Miguel Soriano Balparda Caro

Prof. Vanderlei Gageiro Machado

Florianópolis
Dezembro/2010

"A imaginação é mais importante que o conhecimento."

Albert Einstein

*"Não existe nada de completamente errado no mundo,
mesmo um relógio parado, consegue estar
certo duas vezes por dia."*

Paulo Coelho

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, *Alcione Cordeiro e Mariza Sechini Cordeiro*, pelo apoio e auxílio durante toda a vida, a eles o mais caloroso dos agradecimentos.

Ao meu “*quirido*” orientador *Dr. Ricardo José Nunes*, por toda a orientação ao longo do período de iniciação científica, além da paciência para sanar as dúvidas, possibilitando alguns debates, e é claro por todas as vezes que elevou o astral do laboratório cantarolando uma música característica “*O Marlon Brando mant...*”.

Quero agradecer da mesma maneira a minha co-orientadora *Louise Domeneghini Chiaradia*, pelas longas horas de discussão sobre este trabalho, além da amizade e dos momentos de descontração.

Agradeço em especial ao professor *Rosendo Augusto Yunes* por todo o carinho e atenção dedicados durante os 4 anos de convivência, nos quais contribuiu significativamente na formação científica e pessoal.

As colegas de laboratório *Alessandra Mascarello e Taisa Stumpf* por toda a ajuda na realização deste trabalho e também pela amizade ao longo desta jornada.

A colega, amiga e companheira *Bruna Voltolini* pelos bons momentos vividos durante todo este tempo e também pelas inúmeras vezes em que aturou o meu mau humor, fruto de alguns percalços no caminho.

Aos amigos *Jonas Miguel Priebe e Luiz Felipe Schmitz* por todo o auxílio durante a graduação, além é claro das horas e horas de truco juntamente com a *Bruna* e a famosa caixinha para a qual sempre acabávamos perdendo.

A professora *Dra. Tânia Beatriz Creczynski-Pasa*, e seus alunos *Bruno Mattei e Evelyn Winter* pela realização dos testes biológicos presentes neste trabalho, além dos esclarecimentos na parte bioquímica.

Agradeço a todos os outros amigos cujos nomes não aparecem, mas que de alguma forma colaboraram durante todo o período da graduação.

Ao departamento de Química da UFSC, pela estrutura disponibilizada para a realização do trabalho e à Central de Análises por todas as vezes que aceitou meus buquês de tubos de RMN ou de compostos para IV, meu agradecimento.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	5
2	REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1	Câncer e leucemias	7
2.1.1	<i>Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)</i>	8
2.2	Chalconas	8
2.2.1	Trimetoxichalconas	9
2.3	Síntese de chalconas	11
3	OBJETIVOS	14
3.1	Objetivo geral	14
3.2	Objetivos específicos	14
4	METODOLOGIA	15
4.1	Materiais e métodos	15
4.2	Síntese das chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona	16
4.3	Atividade das chalconas em células de leucemia linfóide aguda (L1210)	17
4.3.1	Tratamento das células	18
4.3.2	Avaliação da viabilidade celular	18
4.3.3	Determinação da curva de concentração-resposta (IC₅₀)	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1	Discussão da parte química	20
5.2	Discussão da atividade citotóxica dos compostos	25
6	CONCLUSÃO	28
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
8	ANEXOS	33

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Esperança de vida dos brasileiros entre 1930 e 2005	7
FIGURA 2	Estrutura fundamental das chalconas	9
FIGURA 3	Estrutura das 3',4',5'-trimetoxichalconas	10
FIGURA 4	Compostos inibidores da polimerização da tubulina	10
FIGURA 5	Síntese de chalcona através de condensação de Claisen-Schmidt	11
FIGURA 6	Mecanismo da reação de condensação	12
FIGURA 7	Mecanismo de desidratação do produto de condensação e formação da chalcona	12
FIGURA 8	Brometo de dimetiazol difeniltetrazólio	18
FIGURA 9	Espectro de RMN de ^{13}C do composto M17	22
FIGURA 10	Espectro de RMN de ^1H do composto M17	23

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1	Esperança de vida dos brasileiros entre 1930 e 2005	16
TABELA 2	Estrutura fundamental das chalconas	20
TABELA 3	Estrutura das 3',4',5'-trimetoxichalconas	25

LISTA DE ABREVIATURAS

~ - Aproximadamente

µg – Micrograma

µL – Microlitro

µM – Micromol.L⁻¹

AcOEt – Acetato de Etila

CCD – Cromatografia em camada delgada

DMSO – Dimetil Sulfóxido

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

Hex – Hexano

Hz – Hertz

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC₅₀ – Concentração inibitória de 50%

INCA – Instituto Nacional do Câncer

J – Constante de acoplamento

L1210 – Linhagem de células de leucemia linfoblástica aguda

LLA – Leucemia linfoblástica aguda

MHz – Mega Hertz

nM – nanomol.L⁻¹

q.s.p – quantidade suficiente para.

RMN ¹³C Ressonância Magnética Nuclear do isótopo de ¹³C

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear do isótopo de ¹H

TMS – Tetrametilsilano

RESUMO

As neoplasias malignas representam atualmente a segunda maior causa de mortes no Brasil. Dentre essas enfermidades, os casos de câncer, em especial de leucemia, vem aumentando ano após ano. Desta maneira, o uso de uma ferramenta química que possibilite a busca por novos tratamentos é necessária. Uma classe de compostos que vem recebendo grande atenção dos grupos de pesquisa são as trimetoxichalconas, em especial as 3',4',5'-trimetoxichalconas. Neste trabalho foram sintetizadas 18 chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona com diferentes substituintes no anel B, através da condensação de Claisen-Schmidt. Dos compostos obtidos, 17 foram avaliados quanto à sua citotoxicidade frente a células de leucemia linfoblástica aguda da linhagem L1210, pelo método do MTT. As chalconas M5, M6, M24 e M33 apresentaram IC_{50} inferiores a $45\mu\text{mol.L}^{-1}$, sendo consideradas promissoras. Os resultados possibilitaram a discussão entre a estrutura química e a atividade biológica dos compostos, observando-se que a atividade não está vinculada apenas a efeitos eletrônicos, uma vez que entre os compostos com melhores resultados aparecem três com grupos doadores (cloro na posição 4 do anel B) e um composto com o anel B trissubstituído por metoxilas (retirador de elétrons).

Palavras-chave: leucemia trimetoxichalconas, síntese orgânica, Química Medicinal

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A expectativa de vida da população brasileira vem aumentando nos últimos anos, segundo dados do IBGE. Esse aumento pode ser atribuído, entre outros fatores, aos avanços da medicina no tratamento das enfermidades.¹ Porém, desde 2003, as neoplasias malignas constituem a segunda maior causa de óbitos da população brasileira, representando quase 17% dos óbitos por causa conhecida notificados em 2007 no Sistema de Informações sobre Mortalidade.² Segundo o INCA (Instituto Nacional do Câncer), a previsão é de que até o final de 2010, o Brasil tenha aproximadamente 490 mil novos casos de câncer, sendo, dentre estes, cerca de 9.580 casos de leucemias.²

Conhecendo esses dados significativos de mortalidade, o uso de uma ferramenta química que possibilite a procura por novos fármacos para o tratamento das leucemias, e também de outras enfermidades, se faz necessária.

A química medicinal tem como objetivo o planejamento, a síntese e a otimização de compostos biologicamente ativos que possam auxiliar na melhora e na manutenção da saúde da população.³ Entre os compostos estudados por essa vertente da química, dar-se-á destaque neste trabalho às chalconas, que são estruturas encontradas largamente na natureza, e que estão presentes nas várias partes das plantas, sendo precursores naturais dos flavonóides.⁴

Quimicamente, as chalconas são cetonas α,β -insaturadas que apresentam o núcleo 1,3-diarilprop-2-en-1-ona e o esqueleto $C_6-C_3-C_6$. São de grande interesse químico e farmacológico, uma vez que inúmeros trabalhos relatam suas atividades biológicas,^{5,6,7} entre elas antibacteriana, anti-protozoários, antitumoral anti-inflamatória.

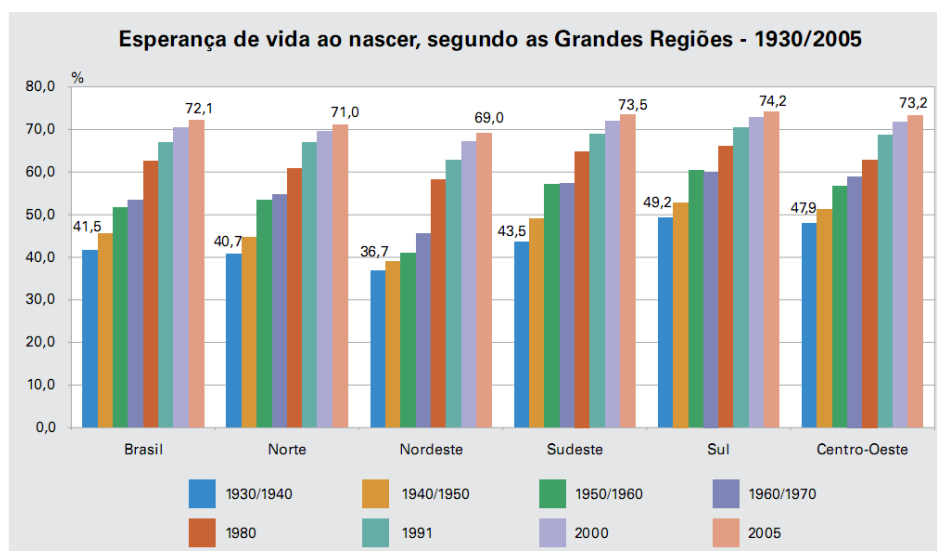
Chalconas trimetoxiladas são descritas como agentes com potencial citotoxicidade para células cancerígenas. Ducki e col. (1998) relataram que a chalcona sintética (*E*)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-2-metil-1-(3',4',5'-trimetoxifenil)-prop-2-en-1-ona apresentou valor de IC_{50} de $0,21\text{nmol.L}^{-1}$ frente a células leucêmicas da linhagem K562.⁸

Dessa forma, este trabalho se justifica pela síntese de 3',4',5'-trimetoxichalconas, utilizando como ferramenta o método de Topliss,⁹ além de possibilitar a discussão sobre estrutura e atividade biológica dos compostos, após sua avaliação destes como agentes citotóxicos frente a células leucêmicas, com a intenção de obter novos compostos líderes que possam proporcionar uma alternativa para o tratamento das leucemias.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Câncer e leucemias

Com os dados dos censos demográficos de 1940 até 2005, o IBGE construiu um gráfico com a esperança de vida dos brasileiros entre os anos de 1930 e 2005 (Figura 1), no qual é possível visualizar o aumento na expectativa de vida da população. A ampliação dos serviços médicos hospitalares e o uso de novos e mais potentes medicamentos contra as mais diversas enfermidades são, entre outros fatores, apontados como contribuintes para o aumento registrado a partir dos anos 1980.¹



Fontes: IBGE, Censo Demográfico 1940/2000 e Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios 2005.

Figura 1. Esperança de vida dos brasileiros entre 1930 e 2005.

Embora a esperança de vida da população venha aumentando, também temos observado o crescente número de casos de câncer registrados. Segundo o *International Agency for Research on Cancer* e a Organização Mundial da Saúde, no ano de 2008, cerca de doze milhões de casos de câncer, e sete milhões de óbitos em consequência desta doença, foram registrados no mundo, sendo dois terços nos países em desenvolvimento.¹⁰ No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer, no

ano de 2010 deverão ser registrados cerca de 490 mil novos casos da enfermidade, sendo 9580 casos de leucemias.²

Desta forma, o conhecimento científico é necessário para compreender, prevenir e tratar esta doença hematopoiética.

2.1.1 Leucemia linfoblástica aguda (LLA)

As leucemias são um grupo de doenças complexas e diferentes entre si que afetam a produção dos glóbulos brancos sangüíneos.¹¹

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) resulta de um dano genético adquirido (não herdado) no DNA de um grupo de células da medula óssea, sendo caracterizada pela proliferação descontrolada de células progenitoras linfóides imaturas na medula óssea.^{11,12,13} Desta forma na LLA as células doentes substituem a medula saudável. Dentre todas as leucemias, a LLA é a de maior ocorrência em crianças de 0 a 14 anos,² sendo responsável por 80% dos casos de leucemia aguda na infância e 50% de todas as enfermidades hematopoiéticas.^{14,15} Em adultos, provoca uma leucemia mais agressiva, pois acomete as células-tronco multipotentes (*stem cells*).¹⁶ Atualmente, 70% dos casos de LLA em crianças e cerca de 50% em adultos jovens podem ser curados.¹¹

Com o intuito de melhorar estes números, de modo a diminuir o impacto social e financeiro causado por essa enfermidade, pesquisadores do mundo todo têm feito esforços para sintetizar, isolar e/ou aperfeiçoar agentes químicos que possam conferir melhores resultados que os medicamentos utilizados nos tratamentos atuais. Nesta busca por novas entidades químicas, grupos de pesquisa relataram a atividade de chalconas como agentes antitumorais.^{8,17,18,19,20}

2.2 Chalconas

Chalconas são cetonas α,β -insaturadas, que apresentam o núcleo 1,3-diarilprop-2-en-1-ona²¹ (Figura 2) e o esqueleto $C_6-C_3-C_6$, considerado privilegiado no desenho de fármacos.²²

São compostos precursores da via de biossíntese dos flavonóides, encontradas largamente nos vegetais, principalmente nas pétalas das flores, onde tem um importante papel na polinização das plantas, pois sua cor amarela atrai insetos e pássaros que assim, polinizam outras plantas.⁴

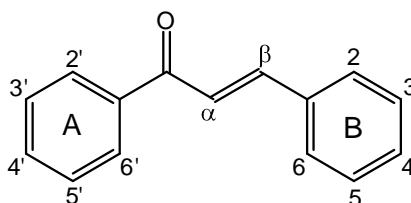


Figura 2. Estrutura fundamental das chalconas.

As chalconas e seus derivados têm recebido grande atenção devido a sua estrutura relativamente simples e à diversidade de atividades farmacológicas que apresentam.^{5,6,7} Entre elas, podemos citar atividades antibacteriana, anti-inflamatória,^{23,24} inibidoras da tirosina fosfatase A de *Mycobacterium tuberculosis*^{25,26} e antifúngica.²⁷

Essa vasta gama de atividades é em grande parte atribuída às inúmeras possibilidades de substituições nos anéis aromáticos das chalconas, pois a metodologia de síntese das mesmas, baseada na condensação de Claisen-Schmidt, possibilita a obtenção de uma grande quantidade de compostos, uma vez que existem inúmeros benzaldeídos e acetofenonas comerciais que podem ser combinados, fornecendo a variedade estrutural pretendida.⁸

2.2.1 Trimetoxichalconas

As chalconas com substituição de três hidrogênios por metoxilas em um dos anéis aromáticos são descritas na literatura como potenciais agentes antitumorais.^{17,19,28} Essas estruturas apresentam também atividade anti-leucêmica.^{8,29}

Em seus estudos, Bhat e col. (2005) destacaram que a presença do padrão de substituição 3',4',5'-trimetoxifenil é essencial para a atividade citotóxica observada para as chalconas testadas frente a 12 linhagens celulares de câncer

humano.¹⁷ Da mesma forma, Quintin e col. (2009) observaram que a presença de metoxilas como substituintes do anel A das chalconas tem apresentado uma influência positiva na citotoxicidade, definindo que as 3',4',5'-trimetoxichalconas (Figura 3) são as que demonstram ser os mais fortes agentes citotóxicos.²⁹

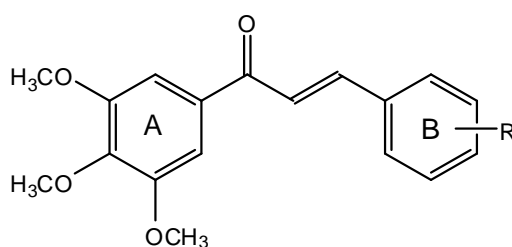


Figura 3. Estrutura das 3',4',5'-trimetoxichalconas. R = substituinte.

Avaliando a atividade antimitótica de trimetoxichalconas, Lawrence e col. (2006) descreveram uma chalcona que apresentou atividade comparável, e em alguns casos melhor, que a da combrestatina-A4 (Figura 4).³⁰ Essa comparação pode ser feita, uma vez que o padrão de substituição do anel A desses dois compostos é o mesmo (3,4,5-trimetoxifenil), os quais se ligam ao sítio de ligação da colchicina na tubulina.³¹ As estruturas da Figura 4 inibem a polimerização da tubulina, causando um dano seletivo ao sistema vascular do tumor e inibindo o processo de mitose celular.^{28,31}

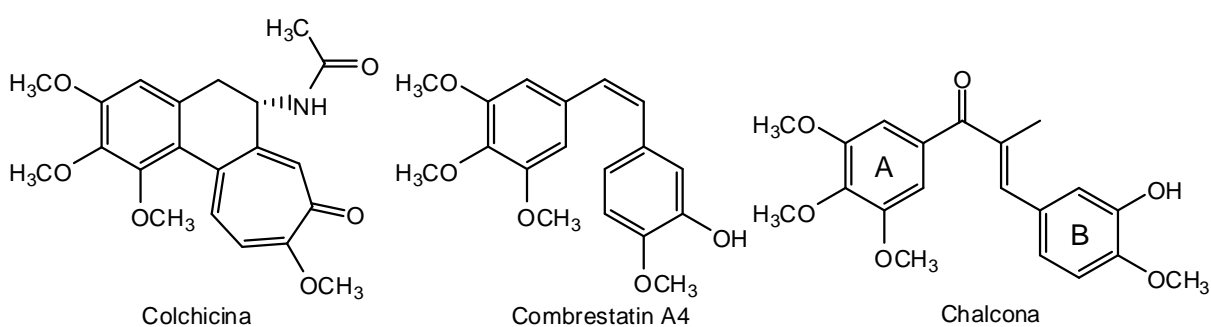


Figura 4. Compostos inibidores da polimerização da tubulina.

2.3 Síntese de chalconas

Diversos métodos de síntese de chalconas são descritos na literatura, porém a metodologia mais utilizada é a condensação de Claisen-Schmidt.³² Neste método, realiza-se a condensação de um benzaldeído com uma cetona apropriada em um solvente polar como metanol, com o uso de uma base como catalisador (Figura 5). É um método bastante versátil e conveniente, que confere rendimentos muito variados, desde 5% até 90%.²⁸

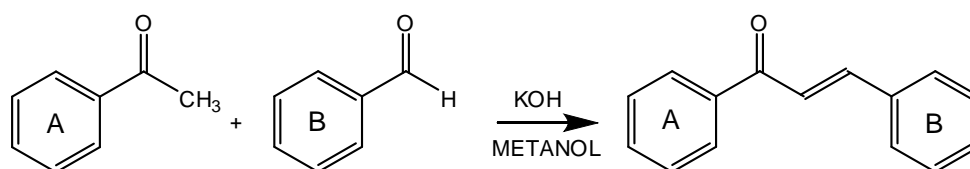


Figura 5. Síntese de Chalcona através de condensação de Claisen-Schmidt.

O mecanismo proposto para esta condensação pode ser visto na Figura 6 e a desidratação em meio básico pode ser vista na Figura 7.

Inicialmente o catalisador básico remove um hidrogênio alfa ácido da cetona, formando assim um carbânion, que pode ser estabilizado por ressonância. A reação continua através de um ataque nucleofílico do carbânion ao carbono da carbonila do aldeído, formando assim um intermediário tetraédrico (íon alcóxido). Ao ser protonado por um hidrogênio da água o íon alcóxido é convertido no produto de condensação e o meio básico é regenerado. O produto de condensação sofre desidratação básica e para que isso ocorra, um hidrogênio ácido é abstraído da posição alfa, resultando assim no íon enolato, que por equilíbrio elimina o grupo OH⁻, formando assim a chalcona.

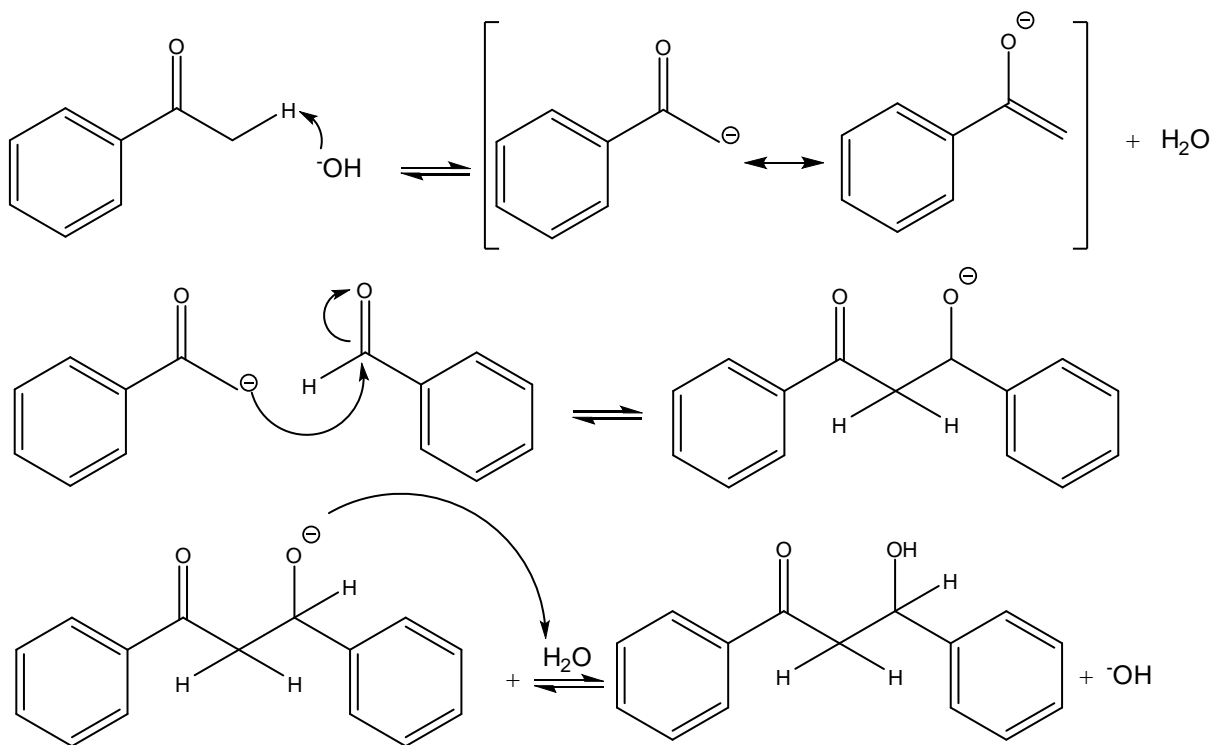


Figura 6. Mecanismo da reação de condensação.

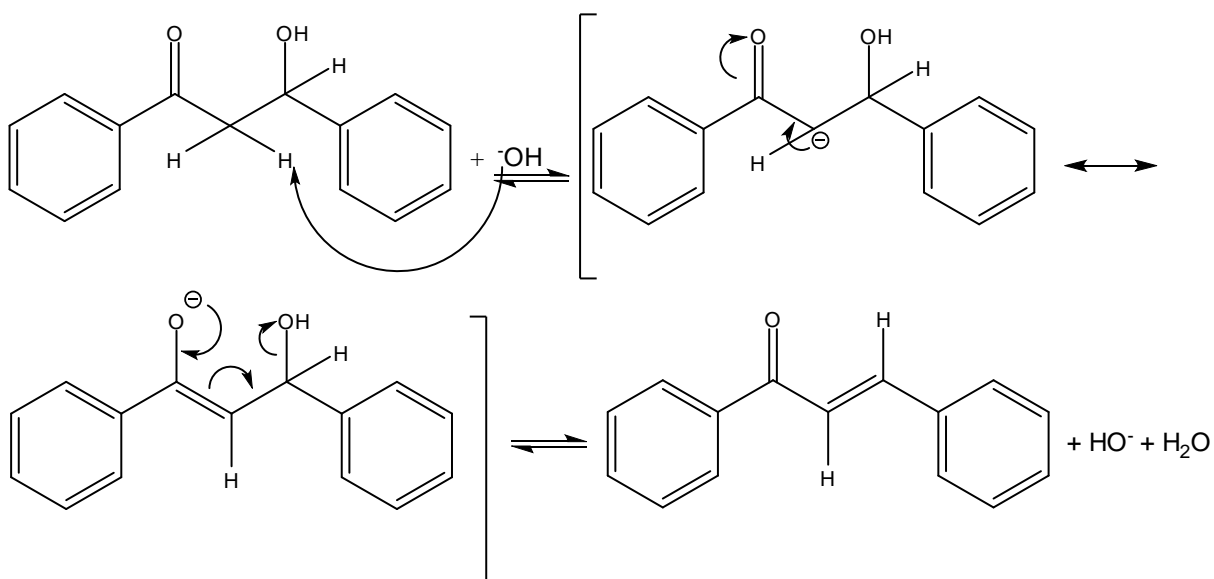


Figura 7. Mecanismo da desidratação do produto de condensação e formação da chalcona.

Modificações nos métodos de síntese têm sido estudadas.²⁸ Por exemplo, Sebti e col. (2001) usaram um catalisador sólido, preparado com fosfato e nitrato de

sódio a altas temperaturas (900°C), o qual, segundo os autores, conferiu aumentos expressivos nos rendimentos das reações.³³

A utilização de ultrassom e irradiação por microondas também são propostas na literatura, com o intuito de minimizar o tempo de reação e facilitar o trabalho.³² Utilizando ultrassom, Li e col. (2002) usaram KOH pulverizado ou fluoreto de potássio suportado em alumina como catalisadores, obtendo bons rendimentos em condições mais amenas e menores tempos de reação.³⁴ Veber (2008) propôs a obtenção de chalconas em microondas, baseando-se na condensação de Claisen-Schmidt. A metodologia consistiu em aplicar pulsos de 30 segundos (em média) à reação, onde foram obtidos compostos com rendimentos entre 30,5% e 65% em tempos menores do que pelo método tradicional.³⁵

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral a síntese de chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona, através de condensação de Claisen-Schmidt, utilizando como ferramenta o Método de Topliss.

3.2 Objetivos específicos

- Obtenção e purificação de chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona.
- Caracterização dos compostos por leitura do ponto de fusão, ressonância magnética nuclear de ^{13}C e ^1H .
- Análise da atividade anti-leucêmica das chalconas em células da linhagem L1210, de leucemia linfoblástica aguda (LLA), avaliando a viabilidade dos compostos como agentes citotóxicos.
- Determinação da IC_{50} dos compostos frente a células L1210.
- Discussão da relação entre a estrutura química e a atividade biológica dos compostos (REA).

4. METODOLOGIA

4.1 Materiais e métodos

O andamento das reações durante os procedimentos reacionais, bem como a pureza preliminar dos derivados foram obtidos utilizando-se como comparação os padrões dos reagentes, quando monitorados por cromatografia de camada delgada (CCD). Os procedimentos de purificação foram os usuais, por recristalização com solventes adequados.

Todas as reações foram monitoradas por CCD, utilizando placas de alumínio com sílica gel 60 GF 254 da Merck. Em todos os procedimentos cromatográficos foram utilizados sistemas de gradiente de polaridade de solventes. Foram utilizados os sistemas de solventes Hex/AcOEt (80:20, 75:25 e 50:50). Os compostos obtidos foram visualizados por CCD com o auxílio de luz ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm), e posteriormente as placas foram reveladas com pulverização de anisaldeído sulfúrico (0,5 mL anisaldeído, 5 mL ácido sulfúrico concentrado, 10 mL ácido acético glacial e metanol q.s.p. 100 mL).

As análises químicas necessárias para a caracterização dos compostos foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, sendo que os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H (200 e 400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) foram realizados em equipamento BRUKER AC-200F e VARIAN OXFORD AS-400, tendo como referência o clorofórmio deuterado (CDCl_3).

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

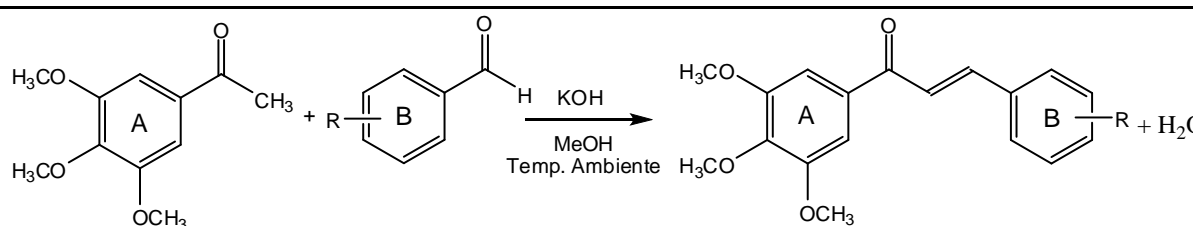
Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho apresentam padrão ananálticos e são todos das marcas comerciais Aldrich, Merck, Sigma e Vetec.

4.2 Síntese das chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona

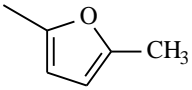
Foram realizadas 21 reações (Tabela 1) para obtenção das chalconas, através de condensação aldólica entre a 3,4,5-trimetoxiacetofenona (1 mmol) e diferentes aldeídos aromáticos (1 mmol), utilizando metanol como solvente e hidróxido de potássio como catalisador, sob agitação magnética com tempos reacionais variando de 12 a 72 horas, à temperatura ambiente, conforme descrito por Vogel (1989).³⁶

Foram obtidas 18 chalconas, sendo 15 compostos já descritos na literatura, e três compostos inéditos. As condições reacionais, rendimentos e ponto de fusão dos compostos obtidos, além das estruturas das três chalconas que não foram obtidas, estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1. Condições reacionais e dados dos compostos.



Composto	Substituinte (R)	MeOH (mL)	KOH 50% (gotas)	Tempo reacional (horas)	Rendimento (%)	P.f. lit. °C
M05	3,4-Cl	10	10	18	57,1	119,6-120,5
M06	4-Cl	10	10	24	87,5	112,5-114,7
M07	4-CH ₃	15	15	20	58,50	128,3-129,0
M08	2,6-Cl	15	10	48	82,9	105,7-107,2
M09	4-Br	15	10	24	82,9	123,1-124,1
M10	4-NO ₂	15	5	12	91,8	188,5-190,4
M12	4-F	15	13	48	27,4	115,4-116,8
M13	4-O(CH ₂) ₃ CH ₃	15	10	24	34,1	119,7-120,6
M15	3-NO ₂	10	13	24	95,1	144,2-146,3

Composto	Substituinte (R)	MeOH (mL)	KOH 50% (gotas)	Tempo reacional (horas)	Rendimento (%)	P.f. lit. °C
M16	4-OCH ₃	15	10	24	24,5	95,1-95,9
M17	H	10	5	24	59,4	67,3-68,9
M18	2,4,6-OCH ₃	10	5	24	20,3	141,6-143,0
M20	3,4,5-OCH ₃	10	5	24	76,4	129,1-130,0
M21	2-Cl			Não reagiu		
M22	2-F			Não reagiu		
M23	2-NO ₂			Não reagiu		
M24	2,4,5-OCH ₃	10	7	24	72,3	134,0-135,7
M26*		15	45	48	77,9	89,2-90,3
M30	3-Cl	15	20	24	90,0	145,6-146,8
M32	2,4-Cl	10	8	24	88,9	148,1-149,3
M33	3,5-Cl	10	8	24	92,5	136,3 - 138,1

* O heterociclo representa a estrutura do anel B

Após o término do período reacional, os compostos foram vertidos em água, e a reação foi tratada com ácido clorídrico 10% até pH levemente ácido. Os compostos foram filtrados e depois de obtidos, novamente avaliados por CCD.

As chalconas obtidas foram caracterizadas pelo ponto de fusão, espectros de RMN de ¹H e de ¹³C.

4.3 Atividade das chalconas em células de leucemia linfóide aguda (L1210)

Os experimentos para verificação da atividade antileucêmica das chalconas sintetizadas foram desenvolvidos no Laboratório de Bioenergética e Bioquímica de Macromoléculas, no Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pelo grupo de pesquisas coordenado pela Prof. Dra. Tânia Beatriz Creczynski-Pasa.

4.3.1 Tratamento das células

As chalconas foram dissolvidas em solução de DMSO 10 mmol.L^{-1} e armazenadas a $4-8^{\circ}\text{C}$. Estas soluções estoque foram diluídas em meio de cultura para atingir as concentrações utilizadas nos experimentos. As células foram incubadas com os compostos em placas de 6 ou 96 poços, dependendo do procedimento experimental. Utilizou-se como controle células sem tratamento e com tratamento de DMSO em meio de cultura, na mesma proporção utilizada para dissolver os compostos.

4.3.2 Avaliação da viabilidade celular

A viabilidade celular foi analisada pelo método do MTT (brometo de dimetiazol difeniltetrazólio, Figura 8).³⁷ As células L1210 foram incubadas em triplicata com os compostos, em placas de 96 poços. Depois de decorrido o tempo de incubação, foi acrescentado um novo meio de cultura e então o MTT ($0,25 \text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$) foi adicionado, seguido de incubação por 3h, a 37°C . O meio de cultura foi retirado e o precipitado dissolvido com uma solução ácida de propan-2-ol (propan-2-ol com HCl $0,04 \text{ molar}$) sendo então medida a absorbância a 540 nm , com o uso de um leitor de microplacas. A densidade óptica obtida do grupo controle, ou seja, das células sem tratamento, foi considerada como 100% de células viáveis.

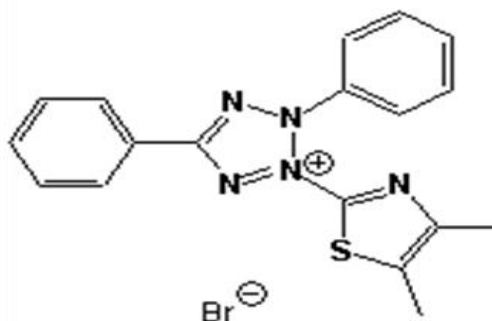


Figura 8. Estrutura molecular do brometo de dimetiazol difeniltetrazólio

4.3.3 Determinação da curva concentração-resposta (IC_{50})

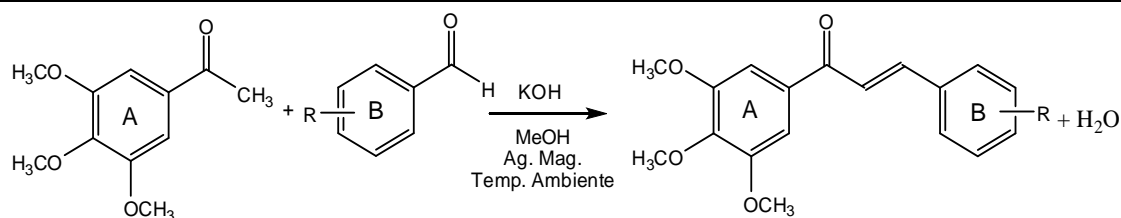
Para determinação da curva dependente de concentração, células foram incubadas por 24 horas com as chalconas em concentrações crescentes (0-100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), em estufa umidificada a 37 °C, sob atmosfera contendo 95% de O_2 e 5% de CO_2 , seguido do ensaio de MTT. A IC_{50} , concentração que inibe 50% do crescimento celular, foi calculada em 24 horas, através das curvas dependentes de concentração.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

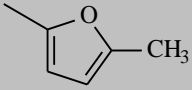
5.1 Discussão da parte química

Foram realizadas 21 reações para obtenção das chalconas, os resultados das reações podem ser observados na tabela abaixo:

Tabela 2. Resultados das reações.



Chalcona	Subs. (R)	PM (g/mol)	Rend. (%)	Pf. Exp. (°C)	Pf. Lit. (°C)	CAS
M05	3,4-diCl	367,22	57,1	119,6-120,5	-	881382-70-3
M06	4-Cl	332,78	87,5	112,5-114,7	115-116 ³⁸	861881-92-7
M07	4-CH ₃	312,36	58,5	128,3-129,0	120-123 ³⁹	934022-24-9
M08	2,6-diCl	367,22	82,9	105,7-107,2	-	881382-73-6
M09	4-Br	377,23	82,9	123,1-124,1	88-91 ⁴⁰	127034-09-7
M10	4-NO ₂	343,33	91,8	188,5-190,4	190-191 ³⁸	127034-11-1
M12	4-F	316,32	27,4	115,4-116,8	115-116 ⁴⁰	127034-06-4
M13	4-O(CH ₂) ₃ CH ₃	370,44	34,1	119,7-120,6	117-118 ⁴⁰	127034-16-6
M15	3-NO ₂	343,33	95,1	144,2-146,3	147-148 ⁴⁰	127034-05-3
M16	4-OCH ₃	328,36	24,5	95,1-95,9	101-103 ³⁸	151703-83-2
M17	H	298,33	59,4	67,3-68,9	87-88 ⁴⁰	127033-98-1
M18	2,4,6-triOCH ₃	388,41	20,3	141,6-143,0	138-140 ³⁸	290332-36-4
M20	3,4,5-triOCH ₃	388,41	76,4	129,1-130,0	129-131 ³⁸	130768-87-5
M21	2-Cl		Não reagiu		-	805255-83-8
M22	2-F		Não reagiu			Inédita
M23	2-NO ₂		Não reagiu		-	181867-52-7

M24	2,4,5-triOCH ₃	388,41	72,3	134,0-135,7	-	41343-31-1
M26*		302,32	77,9	89,2-90,3		Inédita
M30	3-CF ₃ 4-Cl	332,78	90,0	145,6-146,8		Inédita
M32	2,4 -diCl	367,22	88,9	148,1-149,3	151-153 ³⁸	881382-74-7
M33	3,5-diCl	367,22	92,5	136,3-138,1		Inédita

Dados da literatura e número de CAS obtidos com o uso do Scifinder Scholar 2007. * O heterociclo representa a estrutura do anel B.

Dentre as 21 estruturas propostas para a síntese, 13 foram escolhidas por estarem presentes na Árvore de Decisão de Topliss⁹ (em anexo). Das 8 estruturas restantes, 3 foram escolhidas por apresentarem 3 metoxilas no anel B, com o intuito de observar a atividade deste padrão de substituição no anel B e as outras 5 estruturas foram propostas variando-se as características estruturais.

Como pode ser visto na Tabela 2, 18 chalconas foram obtidas pela metodologia empregada e 3 chalconas não puderam ser obtidas. Observou-se semelhança entre os compostos que não reagiram: os três apresentam substituintes na posição 2. A não formação de M21, M22 e M23 pode ser devida a um efeito estérico, que impossibilita o decorrer da reação e, assim, a formação do produto.

As 18 chalconas obtidas foram caracterizadas por RMN de ¹³C e ¹H, além de leitura do ponto de fusão. Os espectros de RMN de ¹³C e ¹H dos compostos encontram-se como anexos no final do trabalho, bem como as tabelas que resumem as caracterizações dos compostos.

Observando-se as tabelas é possível verificar que, de modo geral, os espectros apresentam semelhança em relação aos deslocamentos químicos. Este fato era esperado, pois parte da molécula é igual para todos os compostos (anel A). Aqui apresenta-se a caracterização do composto M17, sem substituintes no anel B, ou seja, produto da condensação entre a 3,4,5-trimetóxiacetofenona e o benzaldeído.

A Figura 9 mostra o espectro de RMN de ¹³C de M17. Na figura está presente uma tabela com a atribuição dos sinais de cada carbono da molécula, bem como

uma tabela com o deslocamento químico de cada sinal. São observados 13 sinais, referentes aos 13 tipos de carbono presentes, porém M17 apresenta 18 carbonos, sendo alguns iguais e seu sinal aparece juntamente com o seu correspondente simétrico.

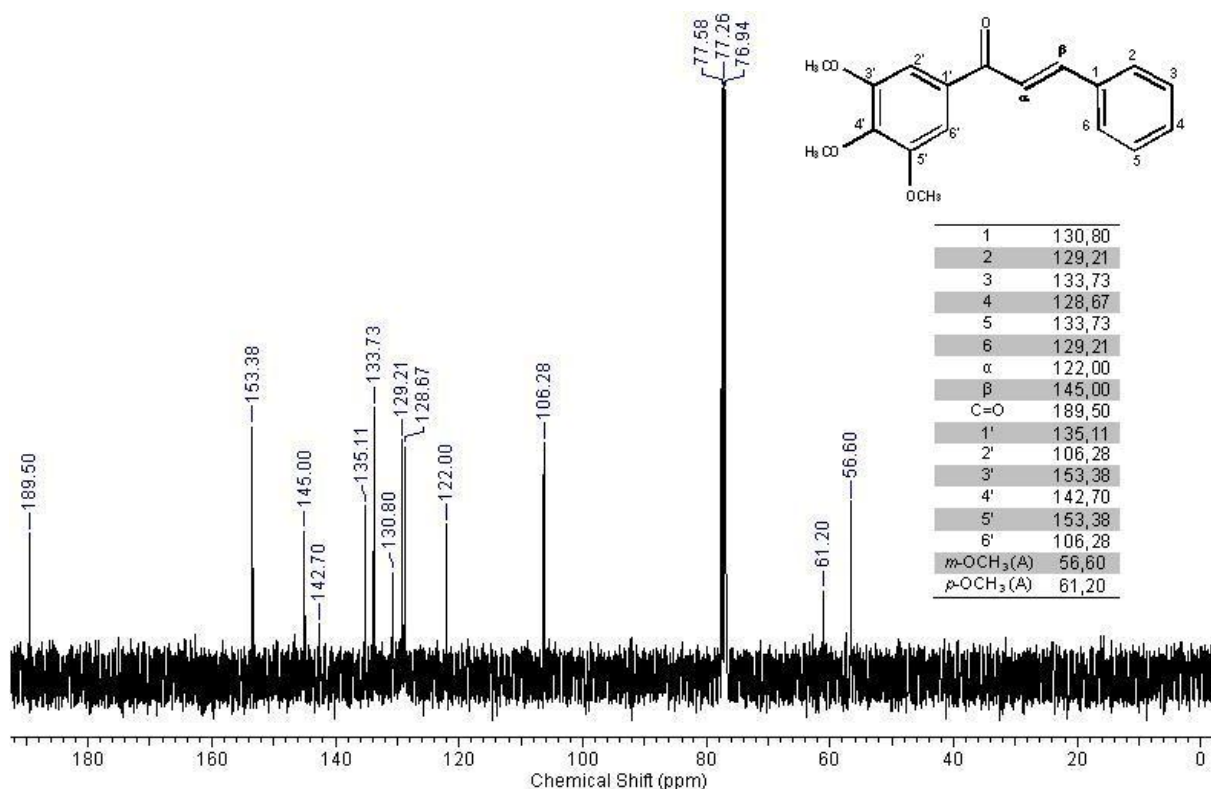


Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C do composto M17. Deslocamento químico em relação ao TMS.

De modo geral, nas estruturas obtidas o carbono carbonílico é observado com deslocamento de ~ 188 ppm, os carbonos 3' e 5' em ~ 153 ppm e os carbonos 2' e 6' em ~ 106 ppm. O carbono 1' aparece em ~ 133 ppm, com exceção dos compostos M8 (135,04 ppm), M12 (130,41 ppm), M15 (130,03 ppm), M17 (135,11 ppm) e M33 (135,46). Os sinais das metoxilas substituintes do anel A foram observados em ~ 56 ppm para as metoxilas *meta* e em ~ 61 ppm para a metoxila *para*. Outros sinais característicos observados foram o correspondente ao carbono α em ~ 119 -122 ppm (exceção da M8, em que o sinal foi observado em 129,78 ppm) e do carbono β em ~ 140 -145 ppm (exceção dos compostos M8, em 137,51 ppm, M18 em 126,31 ppm e

M26 131,07 ppm). Os outros carbonos foram atribuídos conforme o substituinte presente no composto, ficando, portanto a sua caracterização restrita a tabela em anexo, uma vez que nem todos apresentaram semelhantes deslocamentos químicos.

A Figura 10 mostra o RMN de ^1H do composto M17. Mais uma vez, esta estrutura foi a escolhida por se tratar da molécula sem substituintes no anel B e, portanto, a estrutura “base” dos compostos pertencentes à série M.

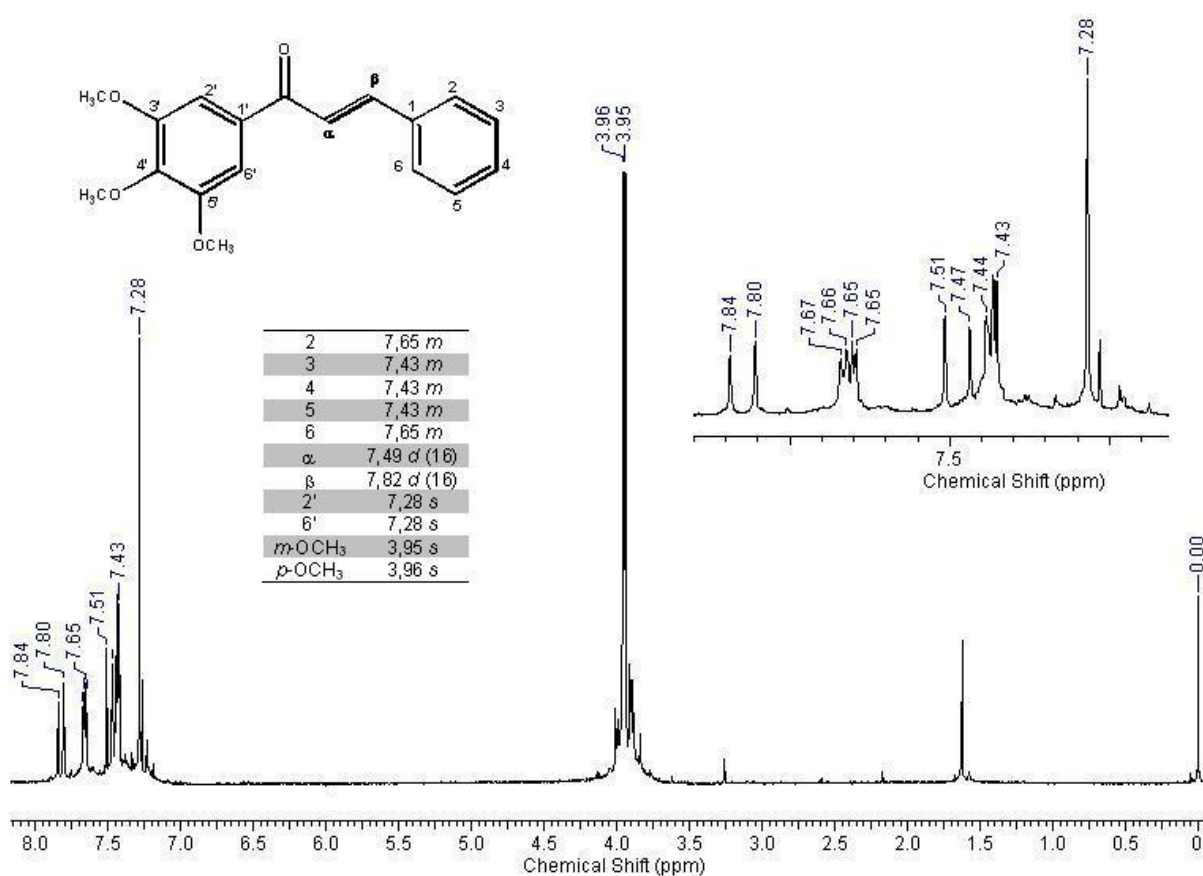


Figura 10. Espectro de RMN ^1H do composto M17. Deslocamento químico em relação ao TMS.

Para o RMN de ^1H da M17 seriam esperados 8 sinais, sendo 3 singletos, 3 dupletos e 2 tripletos ou duplo dupletos. No espectro foram observados 8 sinais, porém os hidrogênios do anel aromático foram vistos como multipletos e não como os sinais esperados. O sinal do hidrogênio β aparece em 7,82 ppm como um duplete, com constante de acoplamento $J = 16$ Hz, e o hidrogênio α em 7,49 ppm,

como um duplete com $J = 16$ Hz. A constante de acoplamento entre os hidrogênios α e β indica que o composto é o isômero *E*; caso o composto fosse o isômero *Z*, a constante esperada seria de ~ 12 Hz. Em 3,95 ppm observa-se o sinal dos 3 hidrogênios da metoxila *para*, e em 3,96 ppm o sinal dos 6 hidrogênios das metoxilas *meta*. Os hidrogênios 2'e 6' são observados como um singleto em 7,28 ppm.

Para as demais chalconas de modo geral, o duplete do hidrogênio α foi observado em $\sim 7,30$ - $7,40$ ppm com $J = 16$ Hz, já o hidrogênio β foi observado com maior variação no deslocamento químico, e também com valor de $J = 16$ Hz. Os hidrogênios 2'e 6' foram observados como singletos em $\sim 7,23$ - $7,28$ ppm; em alguns casos, como M5 e M30, o sinal destes hidrogênios foi observado sobreposto ao sinal do hidrogênio do solvente. Os hidrogênios das metoxilas foram observados em $\sim 3,94$ ppm para a metoxila em *para* e com em $\sim 3,95$ ppm para as metoxilas em posição *meta*.

Observando os valores de ponto de fusão obtidos experimentalmente observa-se que todos apresentaram uma faixa de variação menor do que 2°C , o que indica a pureza dos compostos.

Das 18 chalconas, 3 são inéditas (M26, M30, M32) e não apresentam ponto de fusão relacionado na literatura. Os espectros de RMN em anexo comprovam a caracterização das estruturas.

Entre as 15 chalconas restantes, 12 apresentam ponto de fusão; as restantes são estruturas reportadas na literatura, que apresentam número de registro no CAS, porém não apresentam nenhum dado experimental ou artigo científico relacionado.

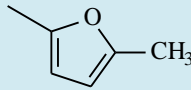
Dentre as chalconas que apresentam ponto de fusão relatado na literatura, 4 apresentam valores bem distintos aos obtidos experimentalmente (M07, M09, M16 e M17), porém, os espectros de RMN (anexo) comprovam que os compostos são as estruturas propostas. Para os outros 8 compostos o ponto de fusão experimental foi muito próximo ao valor descrito na literatura.

Portanto, foram obtidos 18 chalconas derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona, que foram caracterizados e submetidos a testes como agentes citotóxicos frente a células de leucemia linfoblástica da linhagem L1210.

5.2 Discussão da atividade citotóxica dos compostos

As células L1210 foram incubadas em triplicata com as chalconas nas concentrações de $25\mu\text{mol.L}^{-1}$, $50\mu\text{mol.L}^{-1}$, $75\mu\text{mol.L}^{-1}$ e $100\mu\text{mol.L}^{-1}$, tendo como controle a incubação sem chalcona. Os valores determinados para a IC_{50} dos compostos estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de IC_{50} determinados para os compostos frente a células leucêmicas da linhagem L1210.

Chalcona	Subs. (R)	IC_{50} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Chalcona	Subs. (R)	IC_{50} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
M05	3,4-Cl	44,0	M16	4-OCH ₃	48,0
M06	4-Cl	44,5	M17	H	N.T.
M07	4-CH ₃	50,5	M18	2,4,6-OCH ₃	62,5
M08	2,6-Cl	50,5	M20	3,4,5-OCH ₃	>100,0
M09	4-Br	>100,0	M24	2,4,5-OCH ₃	42,5
M10	4-NO ₂	>100,0	M26		46,5
M12	4-F	46,5	M30	3-CF ₃ -4-Cl	47,5
M13	4-O(CH ₂) ₃ CH ₃	>100,0	M32	3,5-Cl	52,5
M15	3-NO ₂	56,0	M33	2,4-Cl	44,0

* O heterociclo representa a estrutura do anel B.

A observação geral dos valores da tabela mostra que as estruturas contendo átomos de cloro ou flúor como substituintes do anel B apresentam valores de IC_{50} baixos frente às células da linhagem L1210, indicando que esses compostos apresentam citotoxicidade relevante.

Dentre os seis compostos contendo átomos de cloro (retirador de elétrons) pode-se observar que a presença deste átomo na posição 4 do anel B (M5, M6, M30 e M33) revelou os compostos com melhores valores de IC₅₀, quando comparados aos compostos que tem este ligado a outras posições, como em M32 e M8. Dessa forma, é evidente que o átomo de cloro na posição 4 do anel B tem relação direta com a atividade citotóxica dos compostos.

Dois compostos da série (M12 e M30) apresentam átomos de flúor, também retirador de elétrons, como substituintes do anel B. Em M12 o flúor está na posição 4 e o composto apresenta IC₅₀ de 46,5 µmol.L⁻¹. Já M30 apresenta 3 átomos de flúor ligados a um carbono (CF₃) e este grupo está ligado ao anel aromático na posição 3, sendo que a mesma molécula contém um átomo de cloro na posição 4, resultando para este composto a IC₅₀ de 47,5 µmol.L⁻¹.

Desta forma, evidencia-se que halogênios como substituintes em posição *para* do anel B apresentam atividade citotóxica significativa. Entretanto, é necessário perceber que os valores apresentados por M9, que tem um átomo de bromo como substituinte em posição *para*, não seguem essa linha de raciocínio, já que o composto apresentou valor de IC₅₀ superior a 100 µmol.L⁻¹. Esse fato poderia ser explicado por algum efeito estérico quando se tem bromo nesta posição, uma vez que este grupo apresenta maior volume.

O mesmo efeito pode ser observado para o composto M10, que tem como substituinte um grupo nitro em posição *para*, e também apresentou IC₅₀ superior a 100 µmol.L⁻¹. Entretanto, quando se muda a posição de substituição para 3-NO₂ o composto apresenta um ganho significativo de atividade citotóxica, tendo valor de 56 µmol.L⁻¹ para a IC₅₀. Esses resultados indicam que tanto a posição quanto o volume dos substituintes são determinantes para a atividade citotóxica dos compostos.

Dentre as 6 chalconas que apresentam grupos doadores de elétrons, as estruturas monossustituídas, M7 e M16, apresentam atividade citotóxica relevante, com valores de IC₅₀ < 50 µmol.L⁻¹. Por outro lado, os compostos M18 e M20, trissustituídos, apresentam valores de IC₅₀ > 50 µmol.L⁻¹.

Em relação à M20, pode-se debater a questão de a molécula apresentar o mesmo padrão de substituição nos dois anéis. Como Bath e col. evidenciaram que o

padrão de substituição 3,4,5-OCH₃ é essencial para a atividade citotóxica das chalconas, procurou-se colocar esse padrão de substituição em ambos anéis do composto, porém o resultado observado demonstra que o autor estava correto ao indicar que este padrão é necessário no anel A do composto, e não no anel B, uma vez que este M20 apresentou IC₅₀ superior a 100 µmol.L⁻¹.

Ainda entre os compostos trissubstituídos, M24 apresentou a melhor atividade citotóxica da série, contrariando o observado para os outros dois compostos trissubstituídos (M18 e M20), podendo-se atribuir este fato a fatores estéricos. Em química medicinal lida-se ao mesmo tempo com diversas variáveis, muitas vezes nem todas são conhecidas no momento do estudo, e para M24 maiores estudos são necessários para avaliar o modo de ação deste composto nas células leucêmicas. O composto M13 apresenta uma cadeia lateral hidrofóbica, porém os resultados obtidos mostram que a presença desta cadeia diminui sua atividade citotóxica, uma vez que seu IC₅₀ foi superior a 100 µmol.L⁻¹.

Um composto da série sintetizada, M26, apresenta como anel B um heterociclo derivado do furano; este apresentou significativa atividade citotóxica, 46,5 µmol.L⁻¹. Para este composto também são necessários estudos mais detalhados, e uma possibilidade seria a síntese de outros heterocíclis e posterior avaliação de sua atividade biológica, o que possibilitaria uma discussão mais detalhada sobre a atividade citotóxica dessa classe de 3',4',5'-trimetoxichalconas com anéis B heterocíclicos.

Portanto, observa-se que as estruturas M5, M6 e M33, cloradas na posição 4 apresentaram elevada atividade citotóxica, juntamente com M24, trimetoxilada no anel B. Deve-se ressaltar a diferença entre esses compostos, uma vez que os 3 primeiros são chalconas com grupos retiradores de elétrons no anel B, e M24 apresenta grupos doadores de elétrons como substituinte. Provavelmente o efeito eletrônico não é o único determinante da atividade citotóxica dos compostos, mas também os fatores estéricos, o que reforça a idéia de que diversos fatores influenciam a atividade destes compostos orgânicos.

6. CONCLUSÕES

Realizaram-se 21 reações para obtenção das chalconas, sendo obtidos 18 compostos, que foram purificados e totalmente caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , e por leitura do ponto de fusão. Foi possível determinar a isomeria dos compostos, que apresentaram configuração *E*.

Alguns compostos apresentaram atividade citotóxica frente a células leucêmicas da linhagem L1210, em especial os compostos M24 (trimetoxilada no anel B), M5, M6 e M33 (com átomos de cloro na posição 4 do anel B).

A realização do trabalho deixa como perspectivas maiores estudos com 3,4,5-trimetoxichalconas contendo heterociclos no anel B, bem como de chalconas semelhantes à M24, além de estudos sobre o tipo de morte celular promovida pelos compostos nas células leucêmicas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

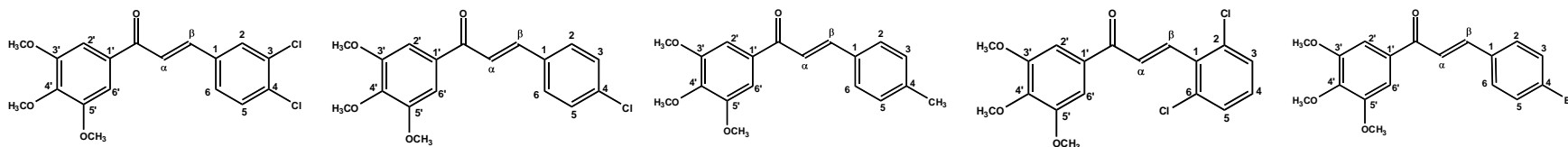
1. INDICADORES SOCIODEMOGRÁFICOS DE SAÚDE NO BRASIL.2009. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/indic_sociosaude/2009/indic_saude.pdf> Acesso em: 06 junho 2010.
2. INCA 2009. **Estimativa 2010 – Incidência de câncer no Brasil**. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2010/estimativa20091124.pdf>>. Acesso em: 06 junho de 2010.
3. PATRICK, G. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 3ed, New York: Oxford University Press Inc, 2005, 345p.
4. Zuanazzi, J. A. S. Flavonóides. In: Simões, C. M. O.; *et al.* (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001. Cap. 23. p. 499-526.
5. DIMMOCK J R; ELIAS D W; BEAZELY M A; KANDEPU N M. Bioactivities of chalcones. **Current Medicinal Chemistry**, 6(12), 1125-49, 1999.
6. NI, L.; MENG, C.Q.; SIKORSKI, J.A. Recent advances in therapeutic chalconas. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, 14 (12), 1669-1691, 2004.
7. NOWAKOWSKA, Z. A reiew of anti-inflammatory chalcones. **European Journal of Chemistry**, 42, 125-137, 2007.
8. DUCKI, S.; FORREST, R.; HADFIELD, J. A.; KENDALL, A.; LAWRENCE, N. J.; McGROWN, A. T.; RENNISON, D. Potent antimitotic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemical Letters**, 8, 1051-1056, 1998.
9. TOPLISS, J. G. Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design. **Journal of Medicinal Chemistry**, 15, 1006, 1972.
10. IARC 2009. **World Cancer Report 2008**. Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008.pdf>. Acesso em: 03 junho de 2010.
11. ABRALE 2010. Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia. **Doenças e Tratamentos: Leucemia**. Disponível em: <<http://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/index.php?area=leucemia>>. Acesso em: 25 maio 2010.

12. PLASSCHAERT, S. L.; KAMPS, W. A.; VELLENGA, E.; de VRIES, E. G. E.; de BONT, E. S. J. M. Prognosis in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia: a question of maturation? **Cancer Treatment Reviews**, 30(1), 37-51, 2004.
13. SORGATO, S. **Atividade antileucêmica de chalconas sintéticas**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia)-Programa de Pós-Graduação em Farmácia, UFSC. Florianópolis, 2007.
14. LAKS, D.; LONGHI, F.; BERNARDES, W. M.; RAMOS, G. P. C. Survival evaluation of children with acute lymphoblastic leukemia treated with Berlin-Frankfurt-Munich trial. **Jornal de Pediatria**, 79(2), 149-158, 2003.
15. DOWNING, J. R.; SHANNON, K. M. Acute leukemia: a pediatric perspective. **Cancer Cell**, 2(6), 437-445, 2002.
16. GREAVES, M. F. Stem cell origins of leukaemia and curability. **British Journal of Cancer**, 67(3), 413-423, 1993.
17. BHAT, B. A.; DHAR, K. L.; PURI, S. C.; SAXENA, A. K.; SHANMUGAVEL, M.; QAZI, G. N. Synthesis and biological evaluation of chalcones and their derived pyrazoles as potential cytotoxic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 15, 3177-3180, 2005.
18. BOUMENDJEL, A.; BOCCARD, J.; CARRUPT, P. A.; NICOLLE, E.; BLANC, M.; GEZE, A.; CHOISNARD, L.; WOUESSIDJEW, D.; MATERA, E. L.; DUMONTET, C. Antimitotic and antiproliferative activities of chalcones: forward structure-activity relationship. **Journal of Medicinal Chemistry**, 51, 2307-2310, 2008.
19. SRINIVASAN, B.; JOHNSON, T. E.; LAD, R.; XING, C. Structure-activity relationship studies of chalcone leading to 3-Hydroxy-4,3',4',5'-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor κ B inhibitors and their anticancer activities. **Journal of Medicinal Chemistry**, 52, 7228-7235, 2009.
20. RAO, Y. K.; FANG, S. H.; TZENG, Y. M. Differential effects of synthesized 2'-oxygenated chalcone derivatives: modulation of human cell cycle phase distribution. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 12, 2679-2686, 2004.
21. ÁVILA, H.P.; SMÂNIA, E. F.; MONACHE, F.D.; JÚNIOR, A.S.; Structure-activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16, 9790-9794, 2008.
22. POLINSKY, A. Lead-likeness and drug-likeness. In: WERMUTH, C. G. (org.). **The Practice of Medicinal Chemistry**. 3 ed. Illkirch, France: Elsevier, 2008. Cap. 12, p. 244-254.

23. ALCARAZ, M. J.; VICENTE, A. M.; ARAICO, A.; DOMINGUEZ, J. N.; TERENCIO, M. C.; FERRANDIZ, M. L.; Role of nuclear factor- κ B and heme oxygenase-1 in the mechanism of action of an anti-inflammatory chalcone derivative in RAW 264.7 Cells. **British Journal of Pharmacology** (2004) 142, 1191–1199.
24. CHIARADIA, L. D.; SANTOS, R. dos; VITOR, C. E.; VIEIRA, A. A.; LEAL, P. C.; NUNES, R. J.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Synthesis and pharmacological activity of chalcones derived from 2,4,6-trimethoxyacetophenone in RAW 264.7 cells stimulated by LPS: Quantitative structure-activity relationships. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16, 658-667, 2008.
25. CHIARADIA, L. D.; MASCARELLO, A.; PURIFICACAO, M.; VERNAL, J.; CORDEIRO, M. N. S.; ZENTENO, M. E.; VILLARINO, A.; NUNES, R. J.; YUNES, ROSENDO A.; TERENCEZI, H. Synthetic chalcones as efficient inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase PtpA. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** (2008), 18(23), 6227-6230.
26. MASCARELLO, A.; CHIARADIA, L. D.; VERNAL, J.; VILLARINO, A.; GUIDO, R. V. C.; PERIZZOLO, P.; POIRIER, V.; WONG, D.; MARTINS, P. G. A.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A.; ANDRICOPULO, A. D.; AV-GAY, Y.; TERENCEZI, H. Inhibition of Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatase PtpA by synthetic chalcones: Kinetics, molecular modeling, toxicity and effect on growth. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** (2010), 18(11), 3783-3789.
27. BOECK, P.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V.; LÓPEZ, S.; SORTINO, M.; ESCALANTE, A.; FURLÁN, R. L. E.; ZACCHINO, S. Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxylone-derived chalcones. *Archiv der Pharmazie - Chemistry Life Scientific*, 338, 87-95, 2005.
28. GO, M. L.; WU, X.; LIU, X. L. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. **Current Medicinal Chemistry**, 12, 483-499, 2005.
29. QUINTIN, J.; DESRIVOT, J.; THORET, S.; Le MENEZ, P.; CRESTEIL, T.; LEWIN, G. Synthesis and biological evaluation of a series of tangeretin-derived chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 19, 167-169, 2009.
30. LAWRENCE, N.J.; ARMITAGE, S.M.; GREEDY, B.; COOK, D; DUCKI, S.; MCGOWN, A.T. The synthesis of indanones related to combretastatin A-4 via microwave-assisted Nazarov cyclization of chalcones. **Tetrahedron Letters**, 47, 1637-1640, 2006.

31. LAWRENCE, N. J.; MCGROWN, A. T. The chemistry and biology of antimetabolic chalcones and related enone systems. **Current Pharmaceutical Design**, 11, 1679-1693, 2005.
32. CALVINO, V.; PICALLO, M.; LÓPEZ-PEINADO, A. J.; MARTÍN-ARANDA, R. M.; DURÁN-VALLE, C. J. Ultrasound accelerated Claisen-Schmidt condensation: a green route to chalcones. **Applied Surface Science**, 252, 6071-6074, 2006.
33. SEBTI, S.; SOLHY, A.; TAHIR, R.; BOULAAJAJ, S.; MAYORAL, J. A.; FRAILE, J. M.; KOSSIR, A.; OUMIMOUN, H. **Tetrahedron Letters**, 2001, 42, 7953-7955.
34. LI, J. T.; YANG, W. Z.; WANG, S. X.; LI, S. H.; LI, T. S. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2002, 9, 237-239.
35. VEBER, C. L. **Elaboração de uma Biblioteca de Hidroxichalconas e Hidroxiflavonas para Estudos da Inibição da Fosfolipase A2**. 2008. 137 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Programa de Pós-Graduação em Química, UFPR. Curitiba, 2008.
36. VOGEL, A. I. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**, 5 ed. New York: John Wiley & Sons, 1989. p.1017.
37. VAN DE LOOSDRECHT, A. A., NENNIE, E. et al. Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study. **Journal of Immunology Methods**, 141(1): 15-22, 1991.
38. DUCKI, S.; RENNISON, D.; WOO, M.; KENDALL, A.; FOURNIER DIT CHABERT, J.; MCGOWN, A. T.; LAWRENCE, N. J. Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerization. Part 1: Synthesis and biological evaluation of antivasular activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 17(22), 7698-7710, 2009.
39. BATOVSKA, D.; PARUSHEV, ST.; SLAVOVA, A.; BANKOVA, V.; TSVETKOVA, I.; NINOVA, M.; NAJDENSKI, H. Study on the substituents' effects of a series of synthetic chalcones against the yeast *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry** , 42(1), 87-92, 2007.
40. EDWARDS, MICHAEL L.; STEMERICK, DAVID M.; SUNKARA, PRASAD S. Chalcones: a new class of antimetabolic agents. **Journal of Medicinal Chemistry** , 33(7), 1948-54, 1990.

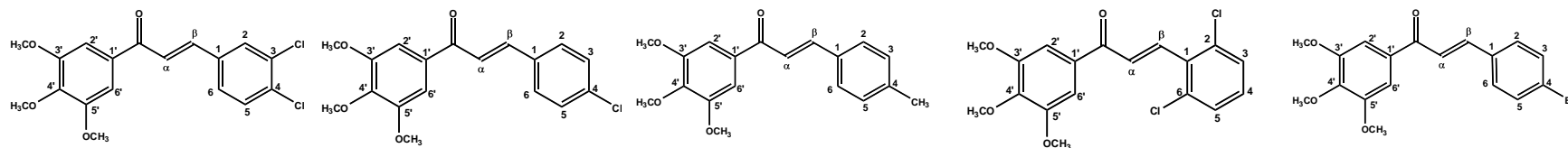
Anexo II Dados de RMN de ^1H das chalconas da **série M** derivadas da **3,4,5-trimetoxiacetofenona**.



^1H	M5	M6	M7	M8	M9
2	7,73 <i>m</i>	7,63 <i>d</i> (8)	7,54 <i>d</i> (8)	-	7,57 <i>d</i> (8)
3	-	7,45 <i>d</i> (8)	7,22 <i>d</i> (8)	7,39 <i>d</i> (8)	7,52 <i>d</i> (8)
4	-	-	-	7,21 <i>t</i> (8)	-
5	7,43 <i>m</i>	7,45 <i>d</i> (8)	7,22 <i>d</i> (8)	7,39 <i>d</i> (8)	7,51 <i>d</i> (8)
6	7,47 <i>d</i> (8)	7,63 <i>d</i> (8)	7,54 <i>d</i> (8)	-	7,57 <i>d</i> (8)
α	7,48 <i>d</i> (16)	7,51 <i>d</i> (16)	7,43 <i>d</i> (16)	7,59 <i>d</i> (16)	7,47 <i>d</i> (16)
β	7,69 <i>d</i> (16)	7,81 <i>d</i> (16)	7,89 <i>d</i> (16)	7,80 <i>d</i> (16)	7,75 <i>d</i> (16)
2'	7,26 <i>s</i>	7,32 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,28 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>
6'	7,26 <i>s</i>	7,32 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,28 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>
<i>m</i> -OCH ₃	3,95 <i>s</i>	4,00 <i>s</i>	3,94 <i>s</i>	3,94 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>
<i>p</i> -OCH ₃	3,94 <i>s</i>	3,99 <i>s</i>	3,93 <i>s</i>	3,93 <i>s</i>	3,95 <i>s</i>
4-CH ₃	-	-	2,39 <i>s</i>	-	-

δ (ppm) em relação ao TMS, *multiplicidade* (J em Hz). Solvente CDCl₃.

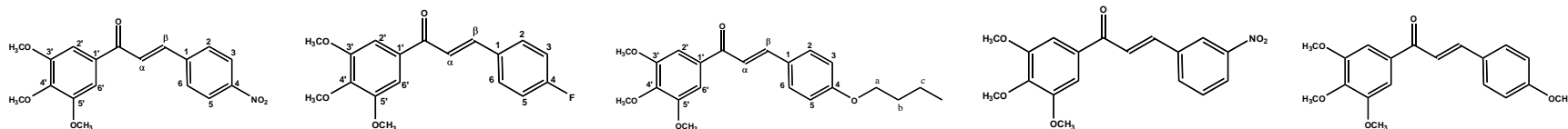
Anexo III Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **série M** derivadas da **3,4,5-trimetoxiacetofenona**.



^{13}C	M5	M6	M7	M8	M9
1	134,94	133,36	132,09	132,70	133,80
2	129,69	129,58	129,64	132,78	129,80
3	134,94	129,25	128,41	128,79	132,22
4	133,31	136,43	144,82	130,56	124,82
5	130,96	129,25	128,41	128,79	132,22
6	127,59	129,58	129,64	132,78	129,80
α	123,13	122,09	120,69	129,78	122,20
β	141,85	143,03	141,07	137,51	143,32
C=O	188,51	188,89	189,29	189,05	188,91
1'	133,04	133,29	133,60	135,04	133,28
2'	106,14	106,07	106,00	106,22	106,06
3'	153,22	153,17	153,06	153,11	153,18
4'	142,83	142,62	142,29	142,64	142,95
5'	153,22	153,17	153,06	153,11	153,18
6'	106,14	106,07	106,00	106,22	106,06
<i>m</i> - OCH ₃	56,43	56,38	56,35	56,22	56,40
<i>p</i> -OCH ₃	60,98	60,97	60,89	60,91	60,98
4-CH ₃	-	-	21,48	-	-

δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente CDCl_3 .

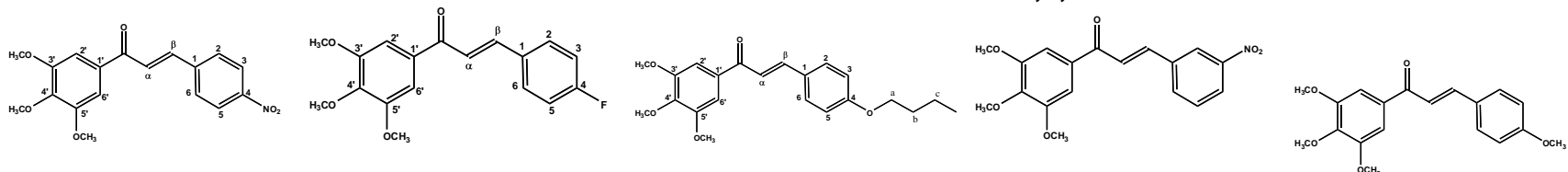
Anexo IV Dados de RMN de ^1H das chalconas da **série M** derivadas da **3,4,5-trimetoxiacetofenona**.



^1H	M10	M12	M13	M15	M16
2	7,80 <i>d</i> (8,9)	7,65 <i>m</i>	7,61 <i>d</i> (8)	8,53 <i>s</i>	7,62 <i>d</i> (8)
3	8,30 <i>d</i> (9,1)	7,13 <i>t</i> (8)	6,94 <i>d</i> (8)	-	6,95 <i>d</i> (6)
4	-	-	-	8,27 <i>d</i> (6)	-
5	8,30 <i>d</i> (9,1)	7,13 <i>t</i> (8)	6,94 <i>d</i> (8)	7,63 <i>m</i>	6,95 <i>d</i> (6)
6	7,80 <i>d</i> (8,9)	7,65 <i>m</i>	7,61 <i>d</i> (8)	7,93 <i>d</i> (8)	7,62 <i>d</i> (8)
α	7,21 <i>d</i> (16)	7,41 <i>d</i> (16)	7,36 <i>d</i> (16)	7,60 <i>d</i> (16)	7,37 <i>d</i> (16)
β	7,55 <i>d</i> (16)	7,79 <i>d</i> (16)	7,80 <i>d</i> (16)	7,81 <i>d</i> (16)	7,80 <i>d</i> (16)
2'	7,29 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,30 <i>s</i>	7,28 <i>s</i>
6'	7,29 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,30 <i>s</i>	7,28 <i>s</i>
<i>m</i>-OCH₃	3,97 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>	3,98 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>
<i>p</i>-OCH₃	3,96 <i>s</i>	3,95 <i>s</i>	3,94 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>	3,94 <i>s</i>
CH₃	-	-	0,99 <i>t</i> (8)	-	-
a	-	-	4,03 <i>d</i> (8)	-	-
b	-	-	1,80 <i>m</i>	-	3,87 <i>s</i>
c	-	-	1,50 <i>m</i>	-	-

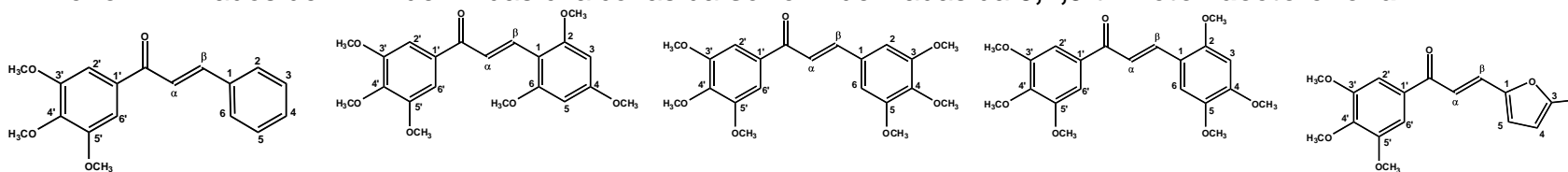
δ (ppm) em relação ao TMS, *multiplicidade* (J em Hz). Solvente CDCl_3 .

Anexo V. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **série M** derivadas da **3,4,5-trimetoxiacetofenona**.



^{13}C	M10	M12	M13	M15	M16
1	123,58	131,12	127,35	136,66	127,60
2	128,95	133,41	130,25	124,24	130,24
3	124,24	116,04	114,92	148,72	114,42
4	148,57	165,31	161,35	124,66	161,69
5	124,24	116,04	114,92	134,41	114,42
6	128,95	133,41	130,25	132,84	130,24
α	125,39	121,42	119,22	122,32	119,40
β	141,46	143,45	144,78	141,62	144,64
C=O	188,29	187,24	189,32	188,29	189,29
1'	132,78	130,41	133,88	130,03	133,83
2'	107,27	106,05	105,98	106,24	105,96
3'	153,29	153,17	153,10	153,26	153,10
4'	141,06	144,78	142,23	143,00	142,25
5'	153,29	153,17	153,10	153,26	153,10
6'	107,27	106,05	105,98	106,24	105,96
<i>m</i> -OCH ₃	60,71	56,39	56,42	56,46	56,42
<i>p</i> -OCH ₃	56,46	61,04	61,01	61,06	61,01
CH ₃	-	-	13,83	-	-
a	-	-	67,89	-	-
b	-	-	31,19	-	55,47
c	-	-	19,22	-	-

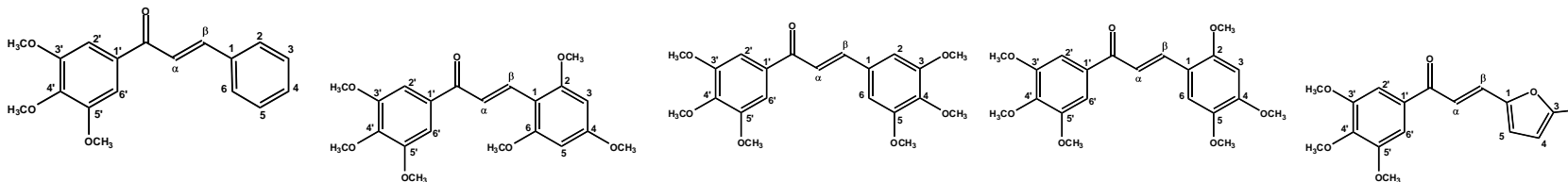
Anexo VI - Dados de RMN de ^1H das chalconas da série M derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona.



^1H	M17	M18	M20	M24	M26
2	7,65 <i>m</i>	-	6,86 <i>s</i>	-	-
3	7,43 <i>m</i>	6,15 <i>s</i>	-	6,52 <i>s</i>	-
4	7,43 <i>m</i>	-	-	-	6,14 <i>d</i> (4)
5	7,43 <i>m</i>	6,15 <i>s</i>	-	-	6,44 <i>d</i> (4)
6	7,65 <i>m</i>	-	6,86 <i>s</i>	7,12 <i>m</i>	-
α	7,49 <i>d</i> (16)	7,82 <i>d</i> (16)	7,32 <i>d</i> (16)	7,38 <i>d</i> (16)	7,32 <i>d</i> (16)
β	7,82 <i>d</i> (16)	8,22 <i>d</i> (16)	7,71 <i>d</i> (16)	8,06 <i>d</i> (16)	7,55 <i>d</i> (16)
2'	7,28 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,25 <i>s</i>	7,25 <i>m</i>	7,29 <i>s</i>
6'	7,28 <i>s</i>	7,27 <i>s</i>	7,25 <i>s</i>	7,25 <i>m</i>	7,29 <i>s</i>
<i>m</i> -OCH ₃	3,96 <i>s</i>	3,94 <i>m</i>	3,94 <i>m</i>	3,94 <i>m</i>	3,95 <i>m</i>
<i>p</i> -OCH ₃	3,95 <i>s</i>	3,93 <i>m</i>	3,93 <i>m</i>	3,93 <i>m</i>	3,94 <i>m</i>
<i>o</i> -OCH ₃	-	3,91 <i>m</i>	-	3,95 <i>m</i>	-
<i>m</i> -OCH ₃	-	-	3,92 <i>m</i>	3,89 <i>m</i>	-
<i>p</i> -OCH ₃	-	3,87 <i>m</i>	3,90 <i>m</i>	3,90 <i>m</i>	-
CH ₃	-	-	-	-	2,41 <i>s</i>

δ ppm em relação ao TMS, *Multiplicidade* (J em Hz). Solvente CDCl₃.

Anexo VII - Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da série M derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona.



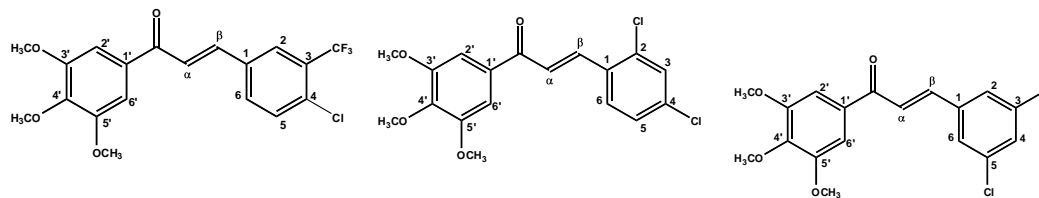
^{13}C	M17	M18	M20	M24	M26
1	130,80	107,75	130,60	115,69	150,55
2	129,21	161,88	105,97	142,23	-
3	133,73	90,81	153,80	97,09	156,20
4	128,67	163,35	140,46	154,85	109,64
5	133,73	90,81	153,80	152,76	117,23
6	129,21	161,88	105,97	111,97	-
α	122,00	122,29	121,55	120,65	118,67
β	145,00	126,31	145,23	140,50	131,07
C=O	189,50	187,46	189,70	190,51	188,85
1'	135,11	134,90	133,34	134,37	133,96
2'	106,28	106,24	106,48	106,33	106,17
3'	153,38	153,15	153,73	153,25	153,32
4'	142,70	141,85	142,74	143,48	142,48
5'	153,38	153,15	153,73	153,25	153,32
6'	106,28	106,24	106,48	106,33	106,17
<i>m</i> -OCH ₃ (A)	56,60	56,50	56,76	56,62	56,66

Continua...

<i>p</i>-OCH₃ (A)	61,20	61,21	61,20	61,23	61,17
<i>o</i>-OCH₃ (B)	-	56,07	-	56,87	-
<i>m</i>-OCH₃ (B)	-	55,62	56,35	56,57	-
<i>p</i>-OCH₃(B)	-	-	61,20	56,34	-
<i>CH</i>₃	-	-	-	-	14,30

δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente CDCl₃.

Anexo VIII - Dados de RMN de ^1H das chalconas inéditas da série M derivadas da 3,4,5-trimetoxiacetofenona.

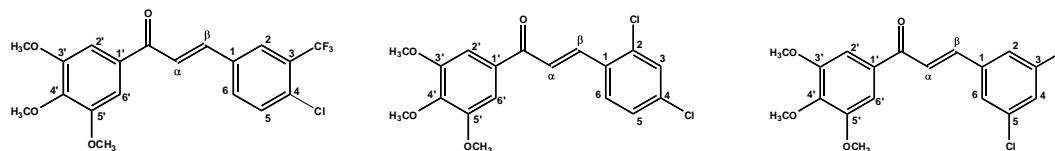


^1H	M30	M32	M33
2	7,48 s	-	7,50 s [#]
3	-	7,94 s	-
4	-	-	7,40 m
5	7,32 dd (8/2)	7,58 d (8Hz)	-
6	7,68 d (8)	7,74 d (8Hz)	7,51 s [#]
α	7,38 d (16)	7,50 d (16Hz)	7,46 d (16Hz)
β	8,08 d (16)	7,77 d (16Hz)	7,66 d (16Hz)
2'	7,26 s *	7,28 s	7,27 s
6'	7,26 s *	7,28 s	7,27 s
<i>m</i> -OCH ₃	3,95 s	3,96 s	3,96 s
<i>p</i> -OCH ₃	3,95 s	3,95 s	3,95 s

δ ppm em relação ao TMS, *Multiplicidade* (J em Hz). Solvente CDCl₃.

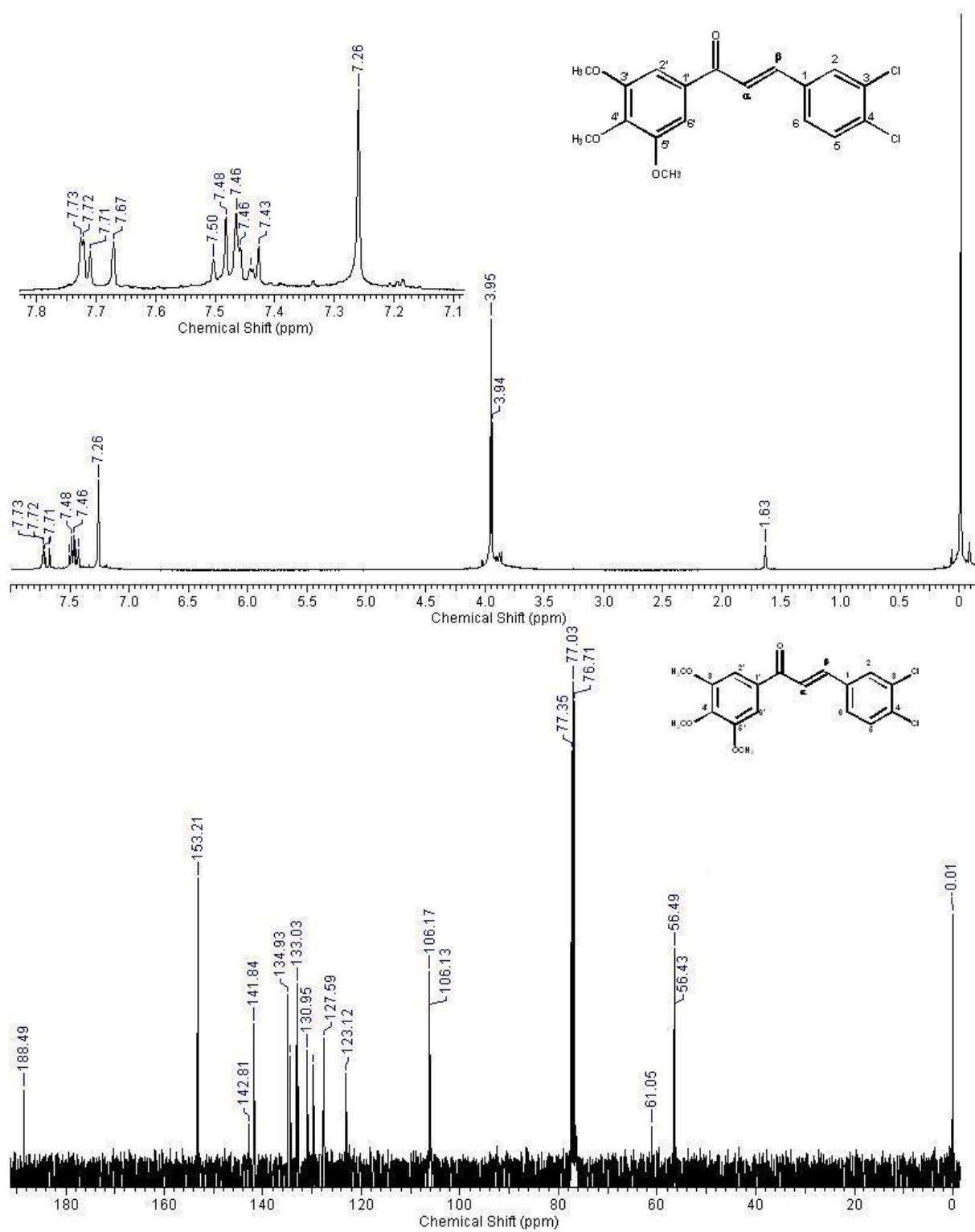
* O sinal apareceu junto com o solvente. # intercambiáveis.

Anexo IX - Dados de RMN de ^{13}C das chalconas inéditas da **série M** derivadas da **3,4,5-trimetoxiacetofenona**.

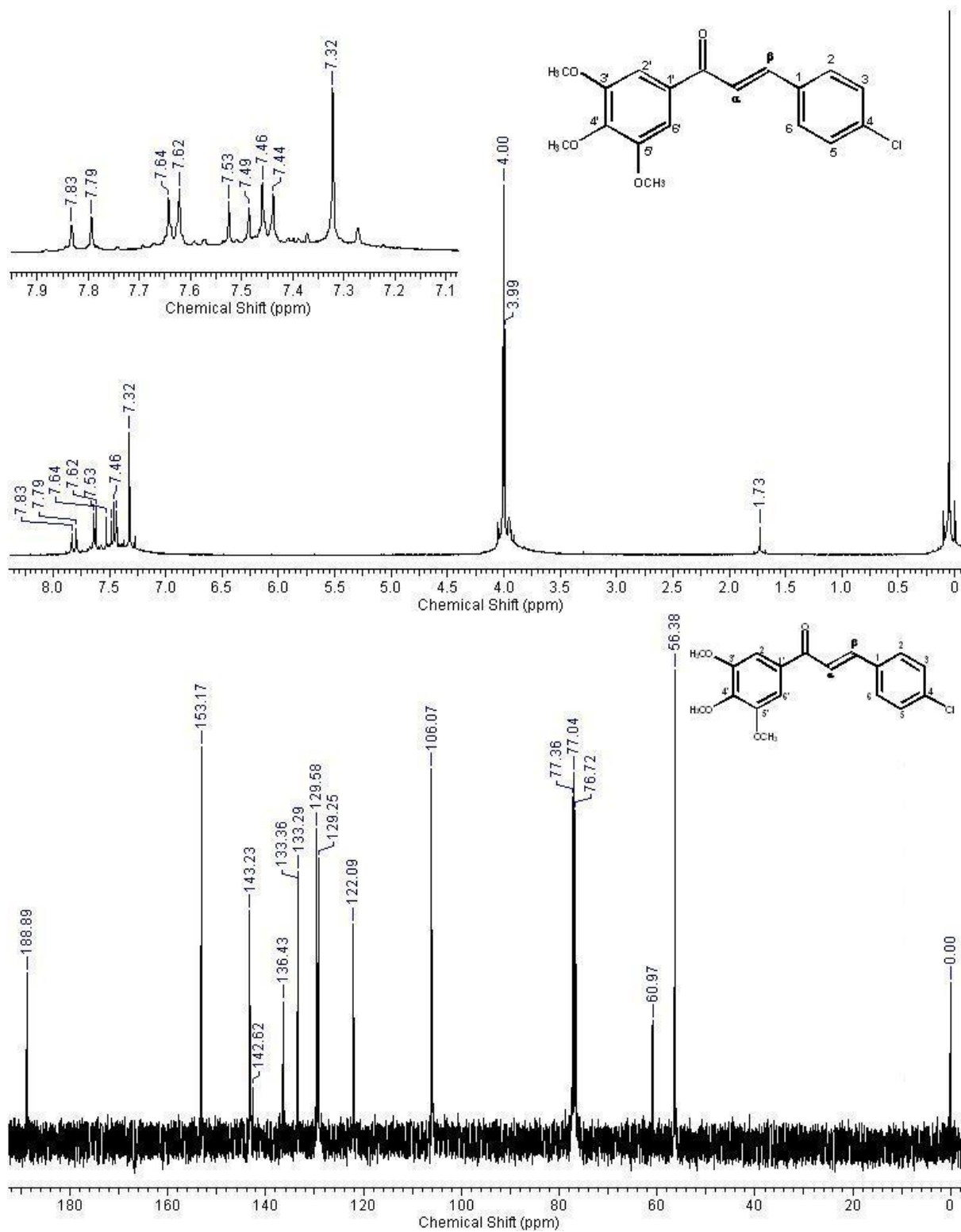


^{13}C	M30	M32	M33
1	136,70	130,34	134,10
2	127,80	138,10	132,38
3	130,34	133,10	133,16
4	132,13	126,64	127,29
5	128,78	126,75	133,16
6	130,38	135,85	132,38
α	125,32	124,21	123,85
β	139,53	141,70	141,79
C=O	189,40	188,54	188,66
1'	133,17	135,46	132,38
2'	106,49	106,40	106,44
3'	153,41	153,46	153,47
4'	141,59	143,15	143,16
5'	153,41	153,46	153,47
6'	106,49	106,40	106,44
<i>m</i> -OCH ₃	56,61	56,74	56,74
<i>p</i> -OCH ₃	61,16	61,29	61,74
CF ₃	136,19	-	-

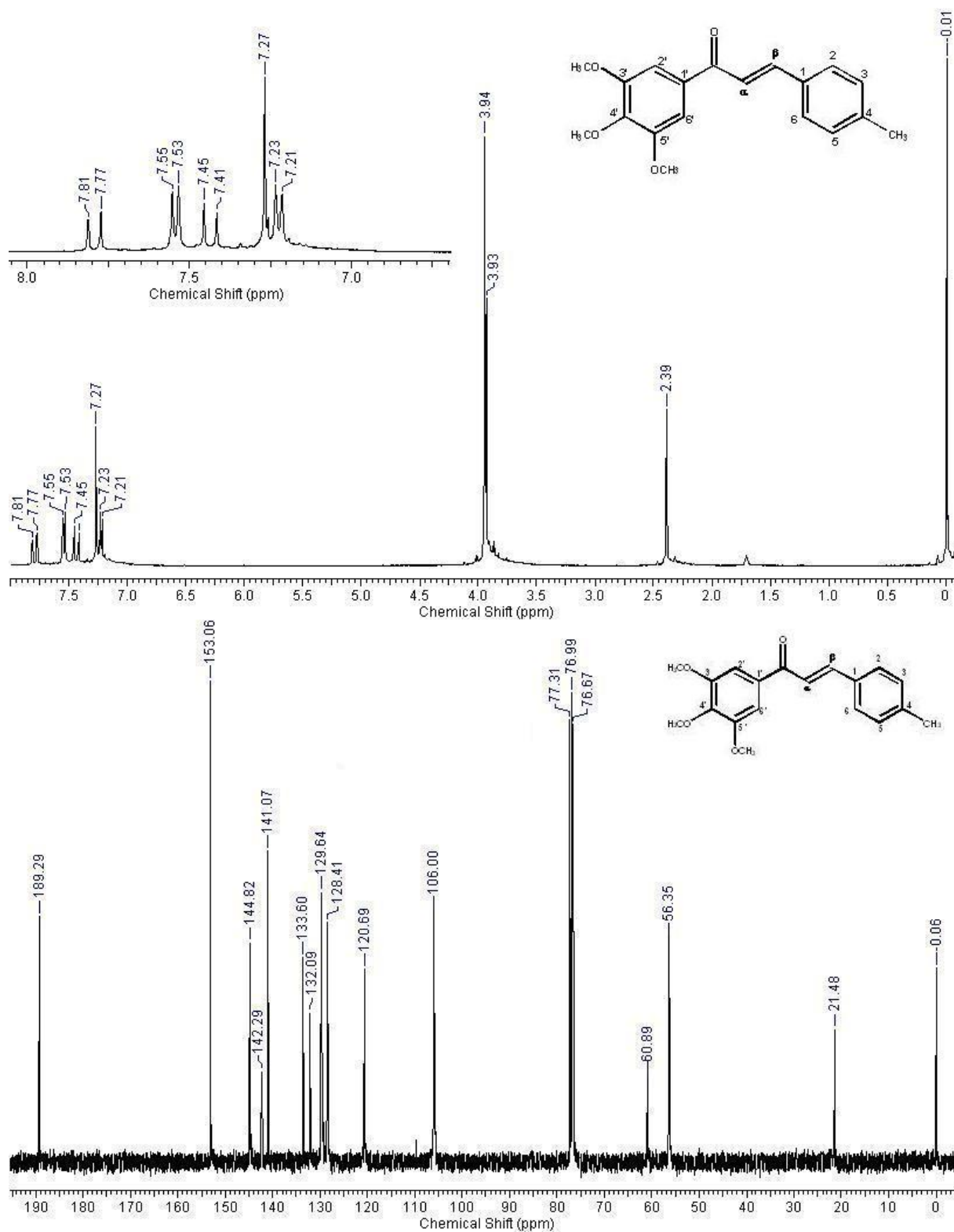
Anexo X – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M5.



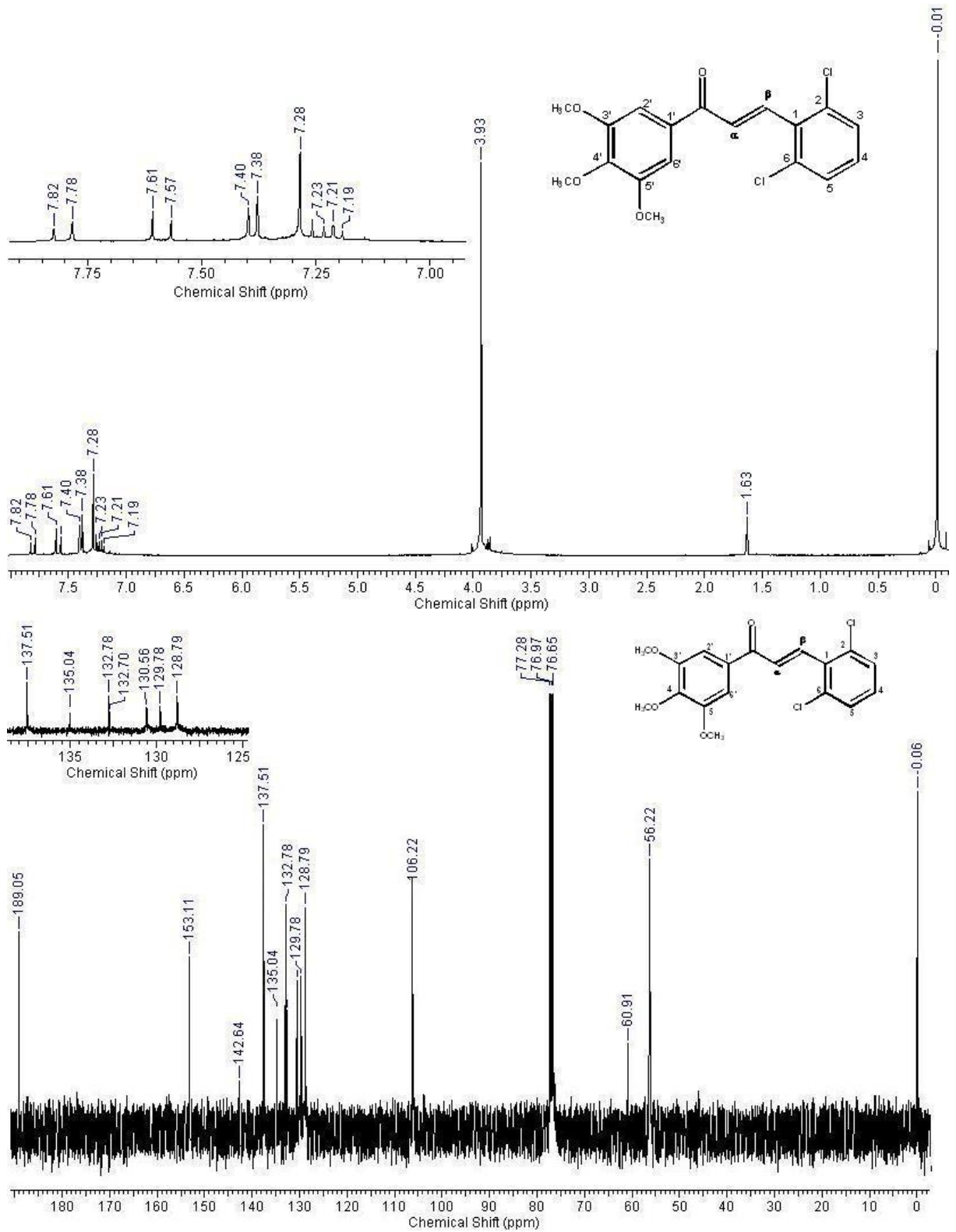
Anexo XI – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M6.



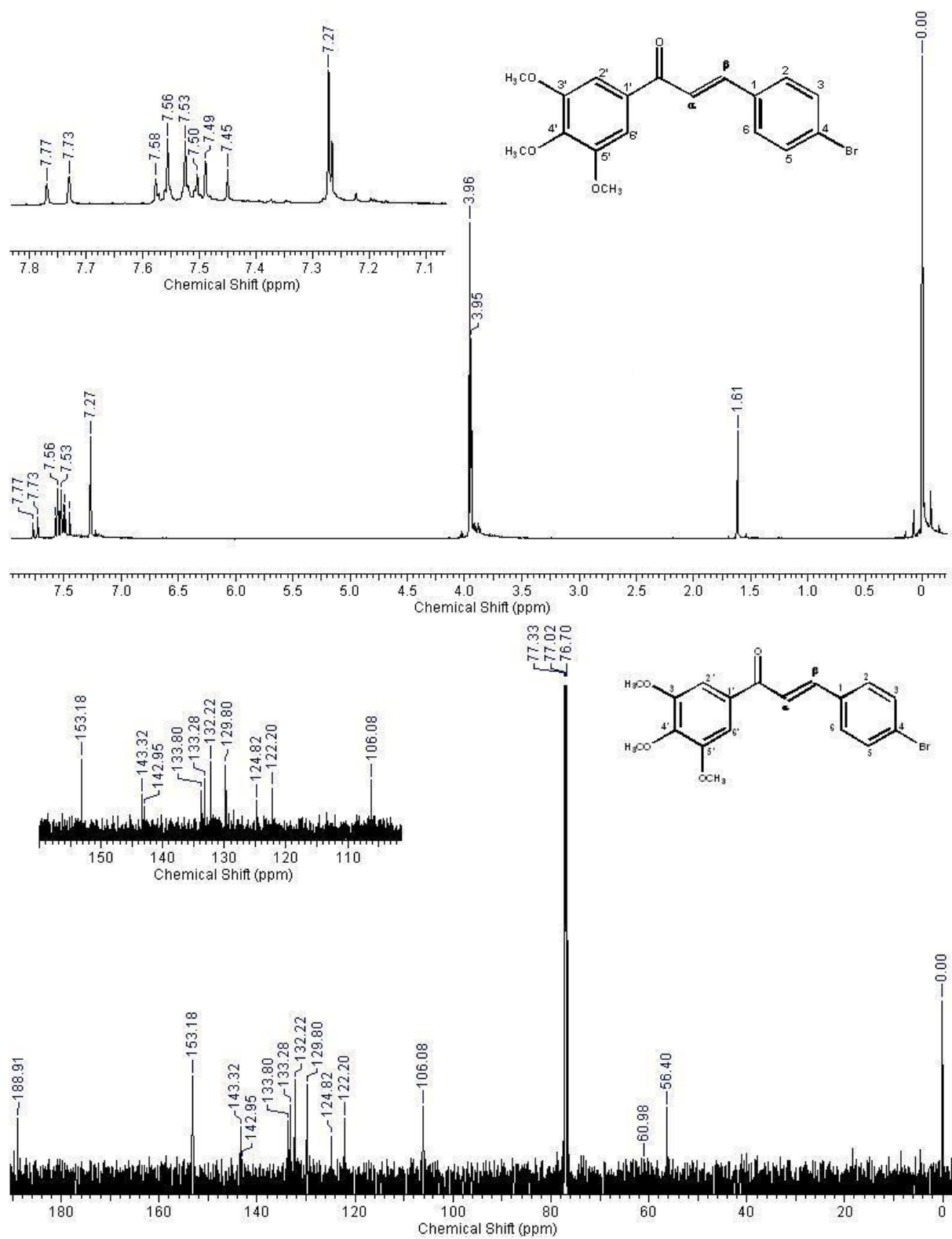
Anexo XII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M7.



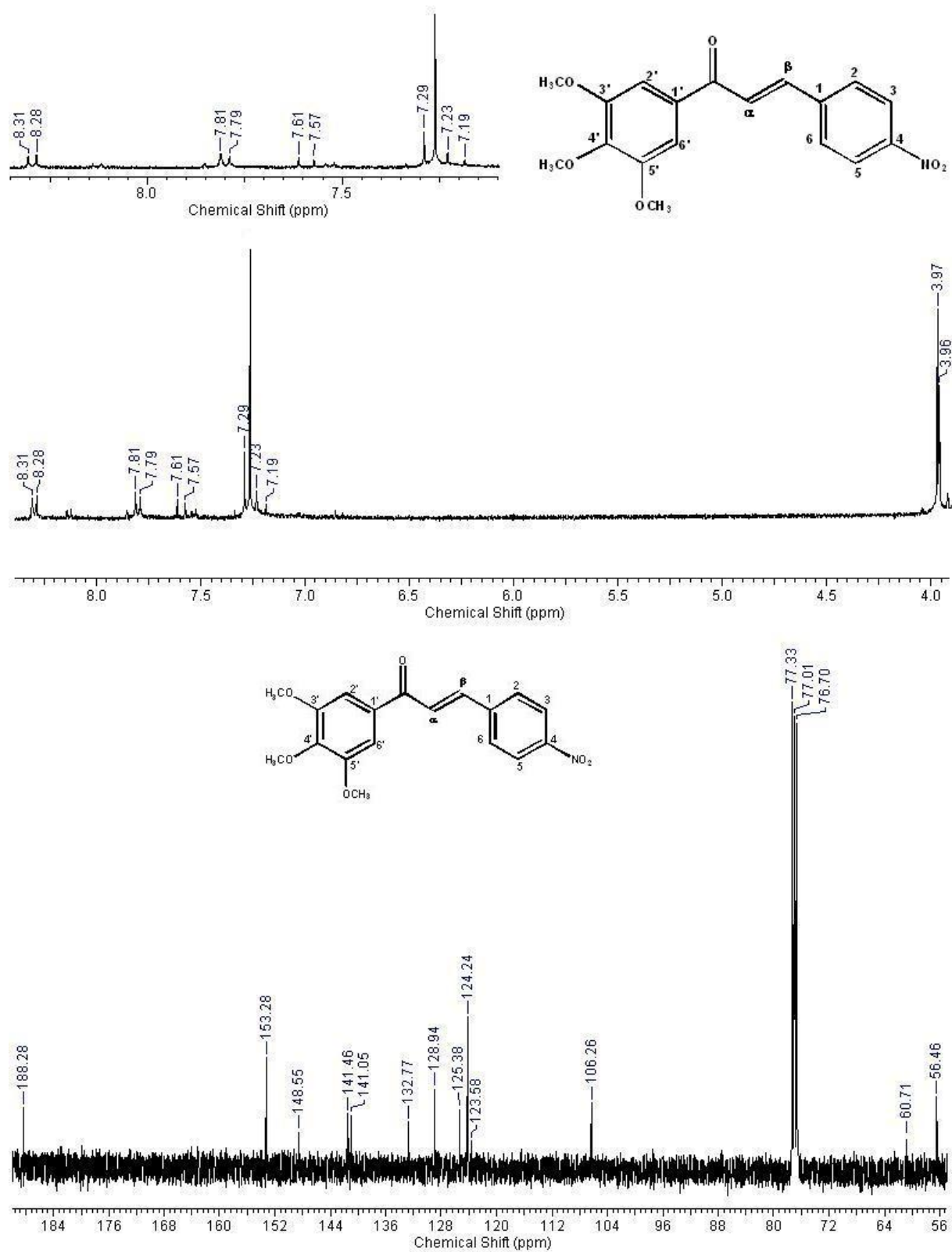
Anexo XIII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M8.



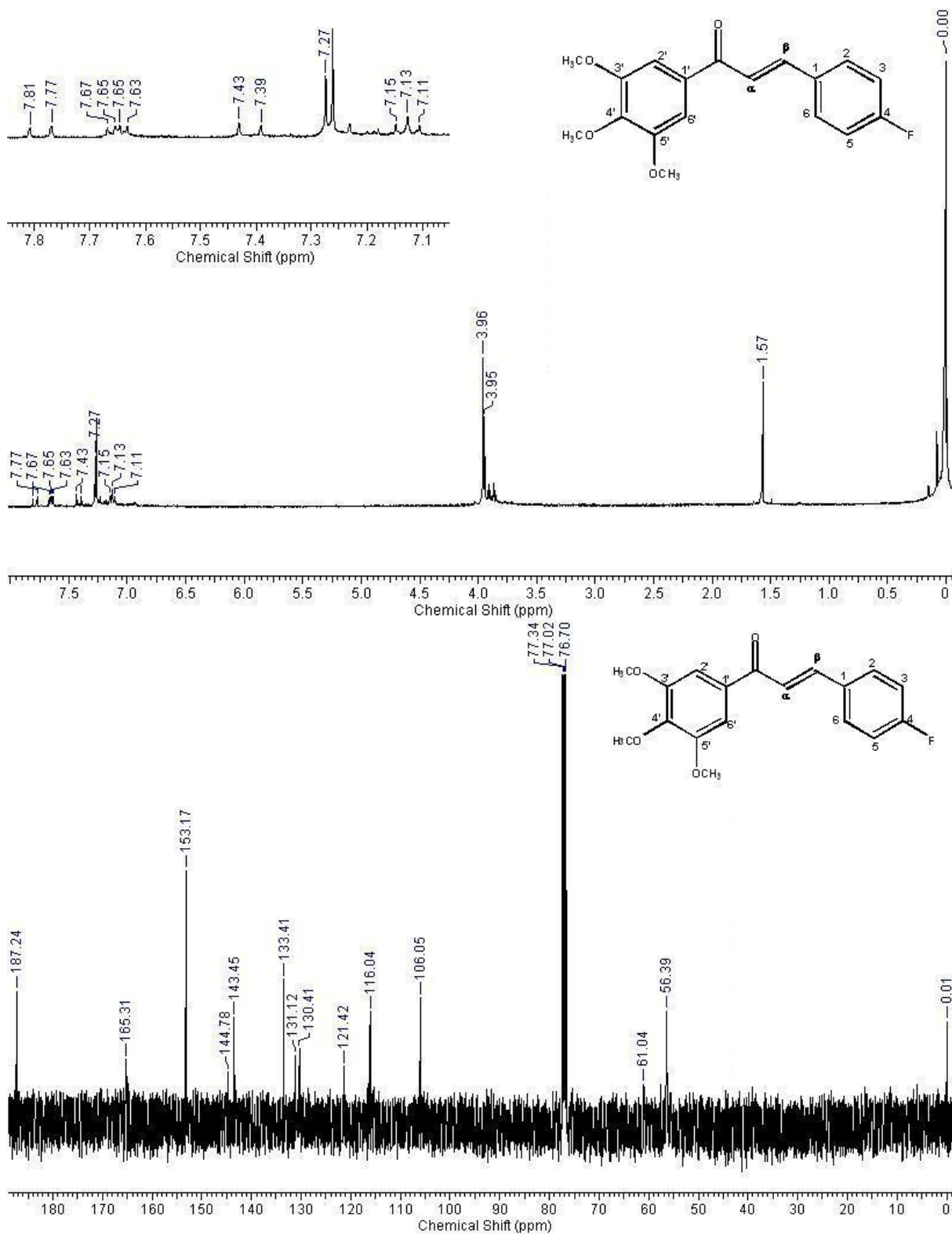
Anexo XIV – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M9.



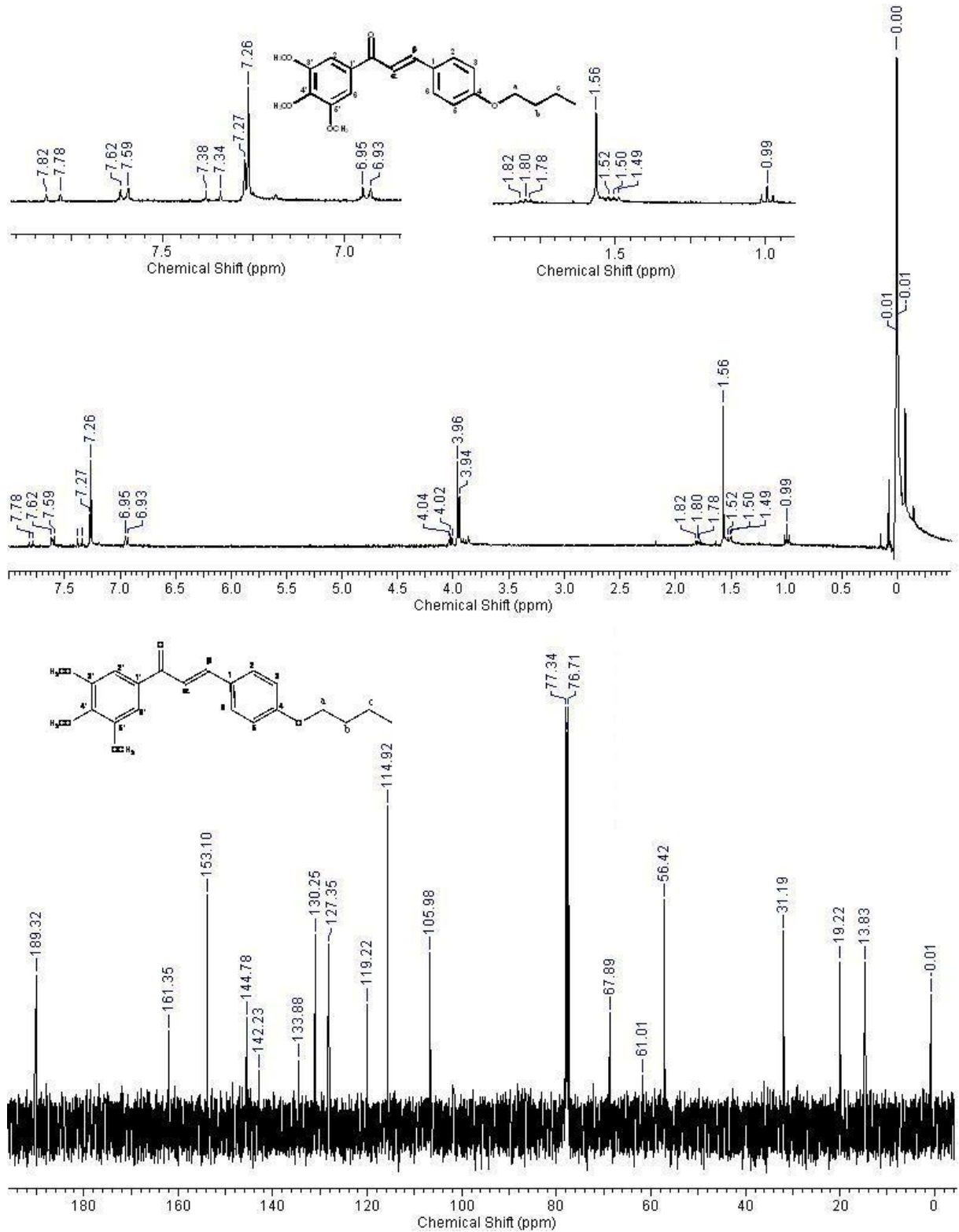
Anexo XV – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M10.



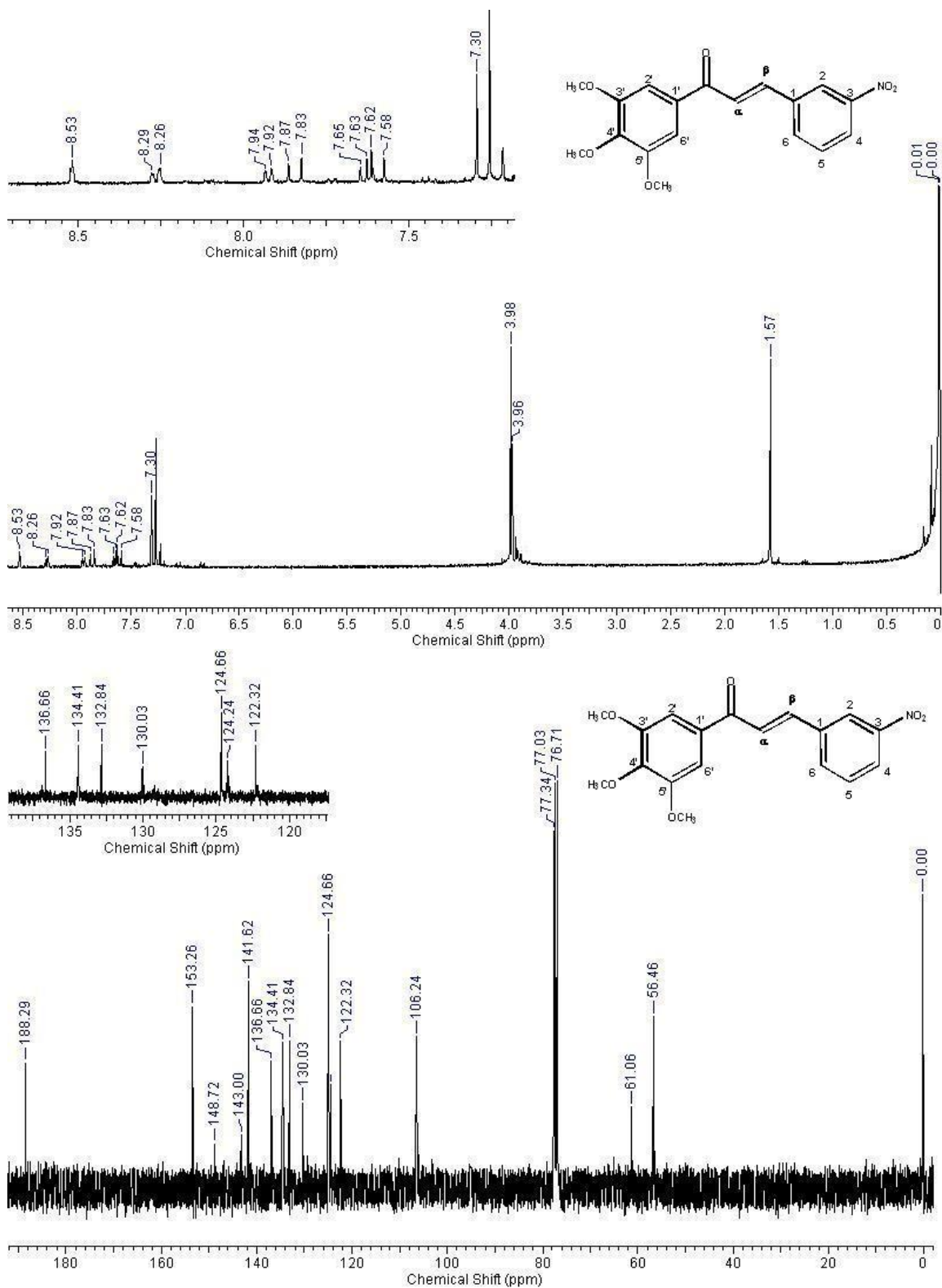
Anexo XVI – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M12.



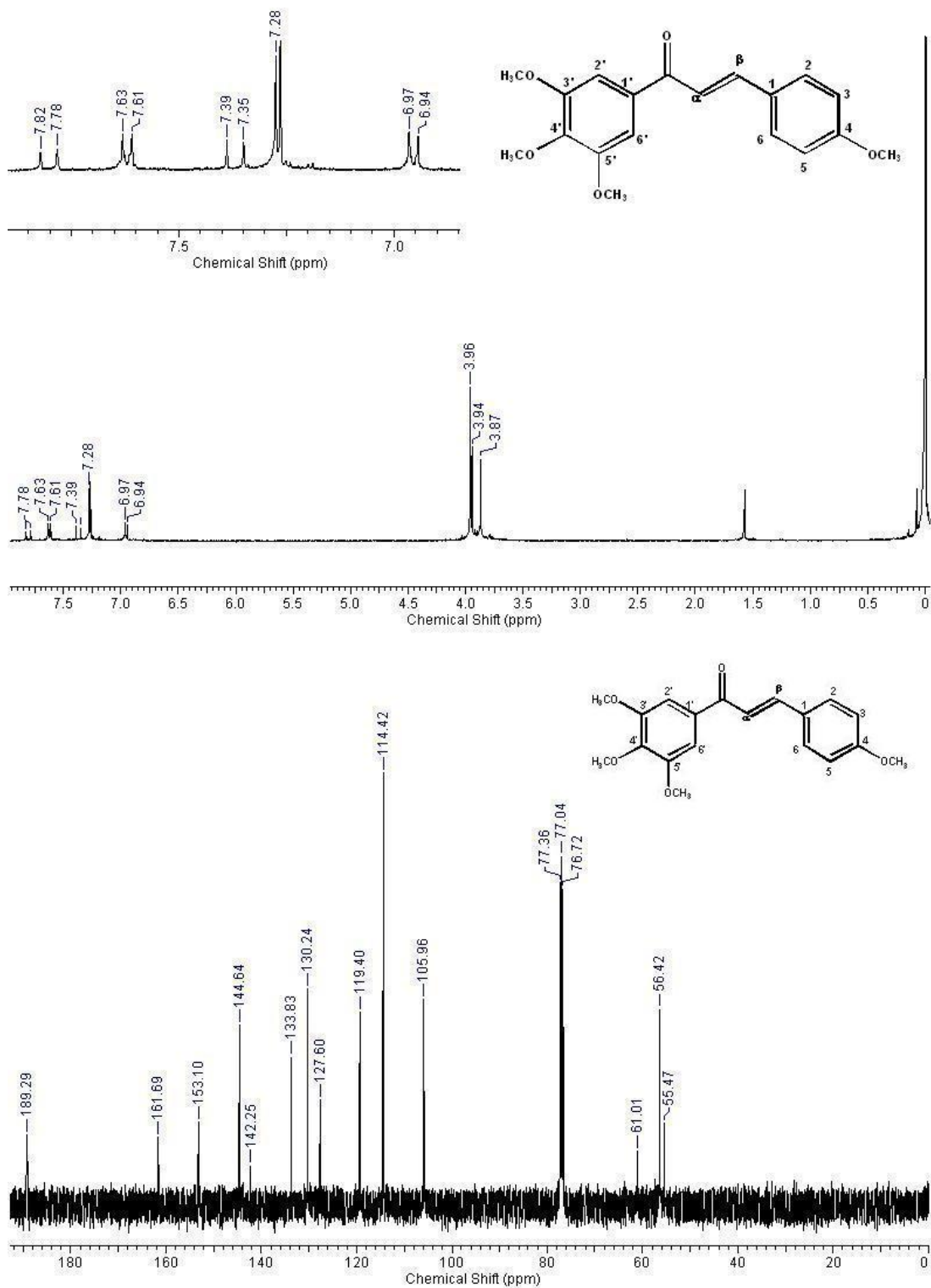
Anexo XVII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M13.



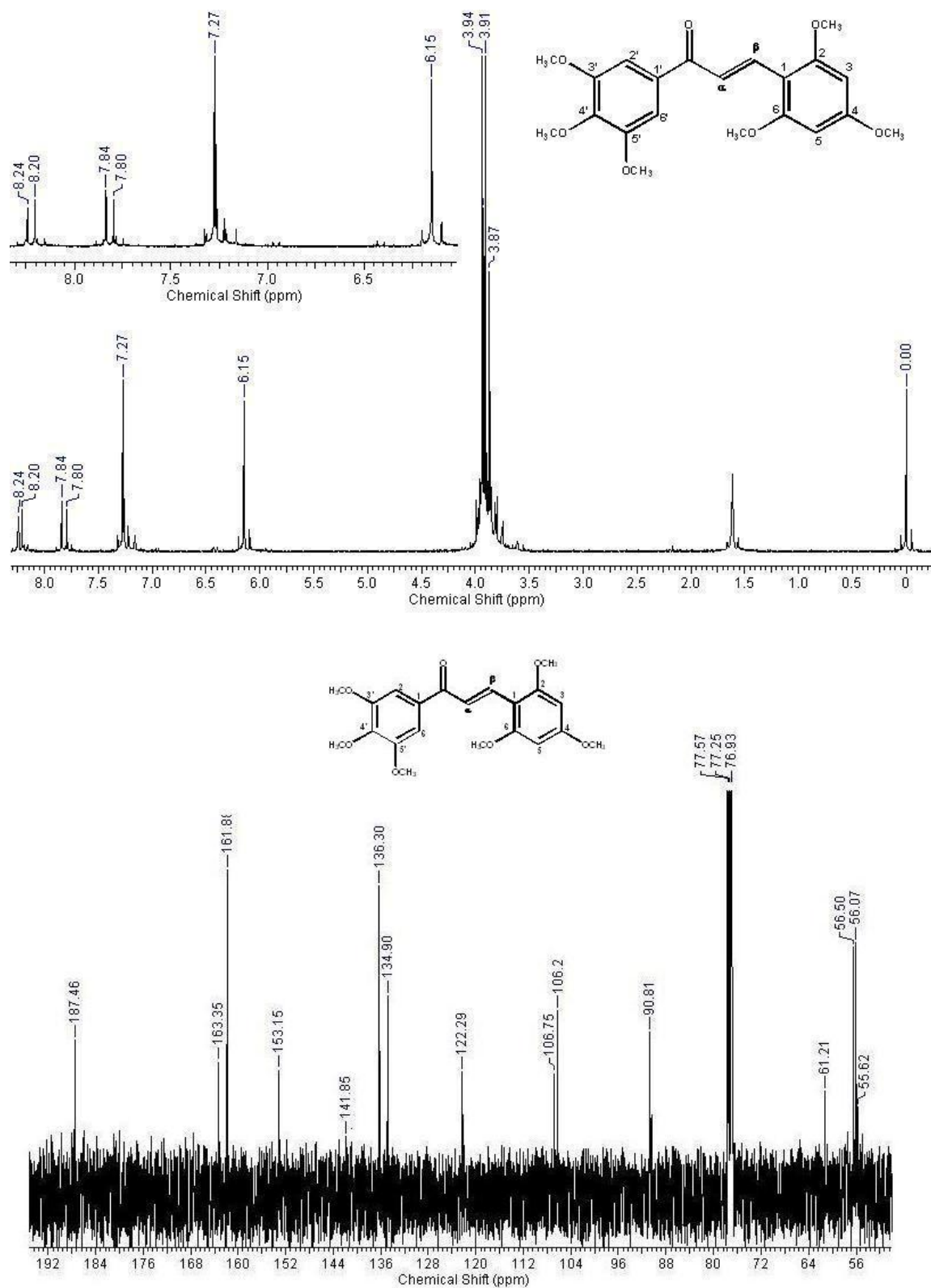
Anexo XIII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M15.



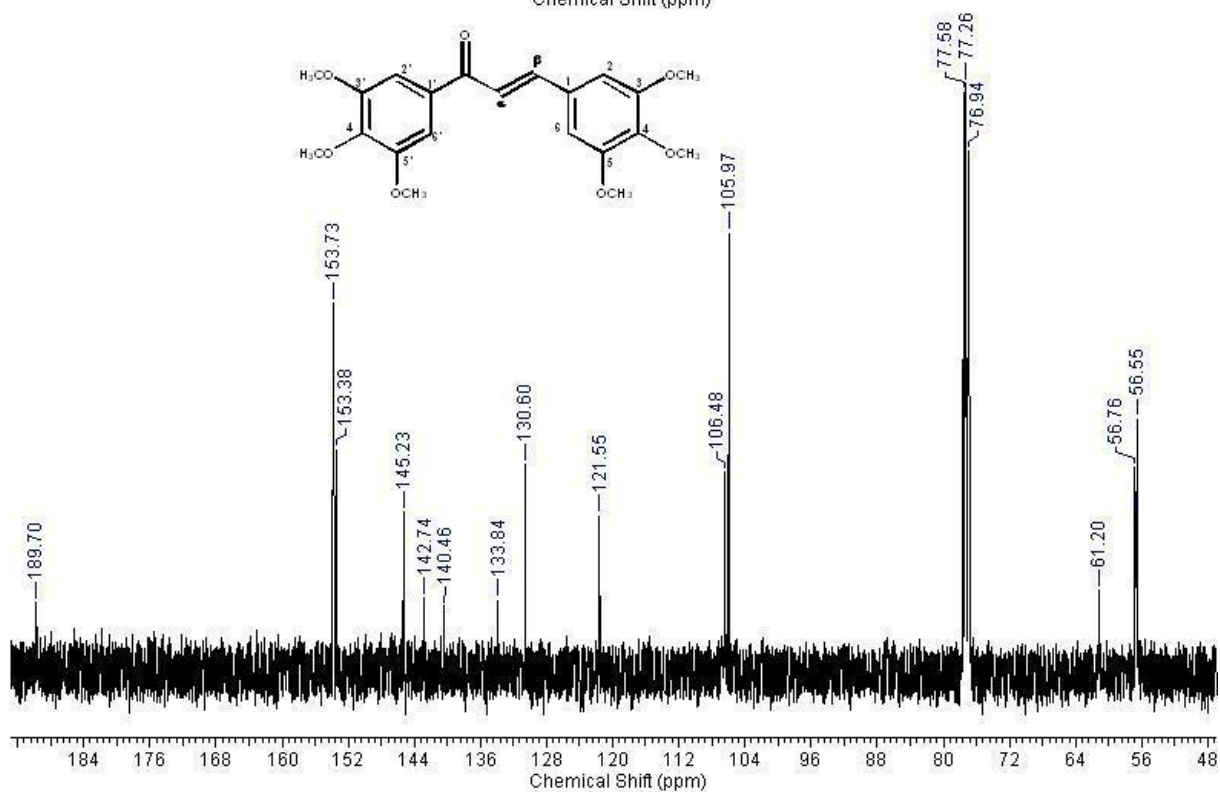
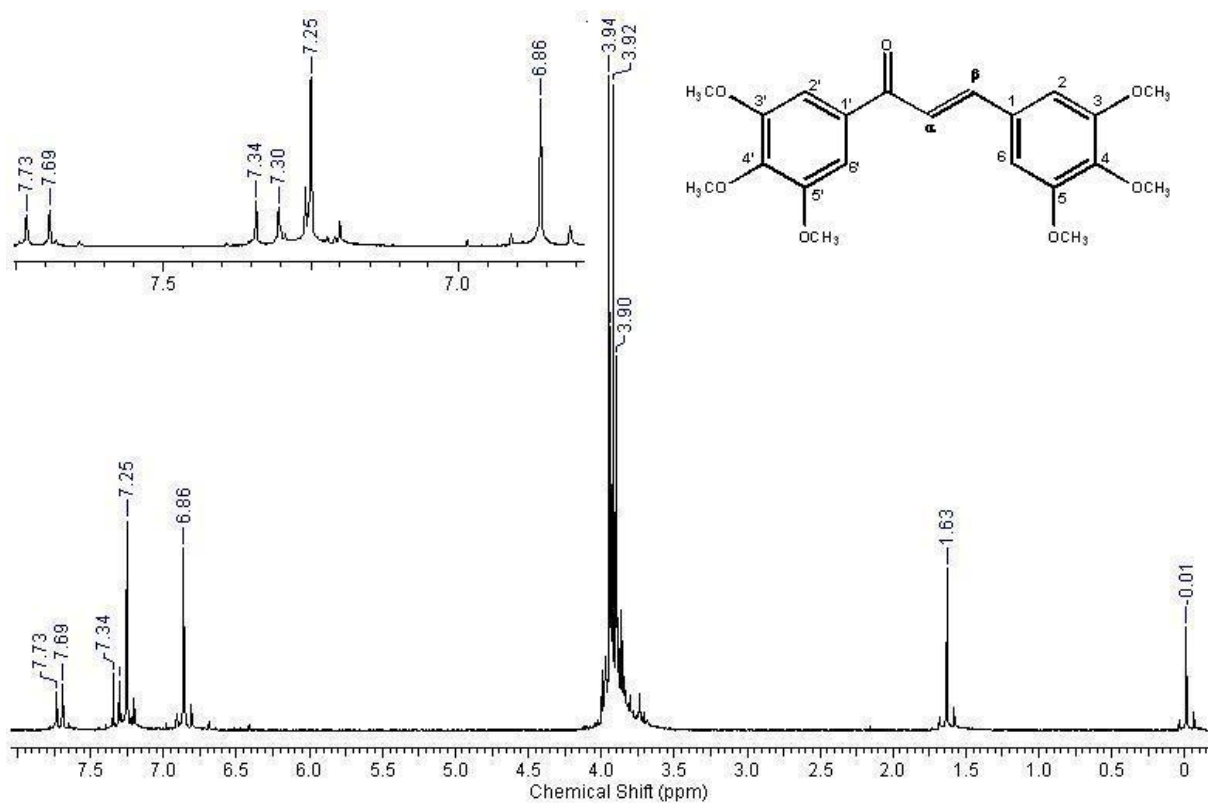
Anexo XIX – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M16.



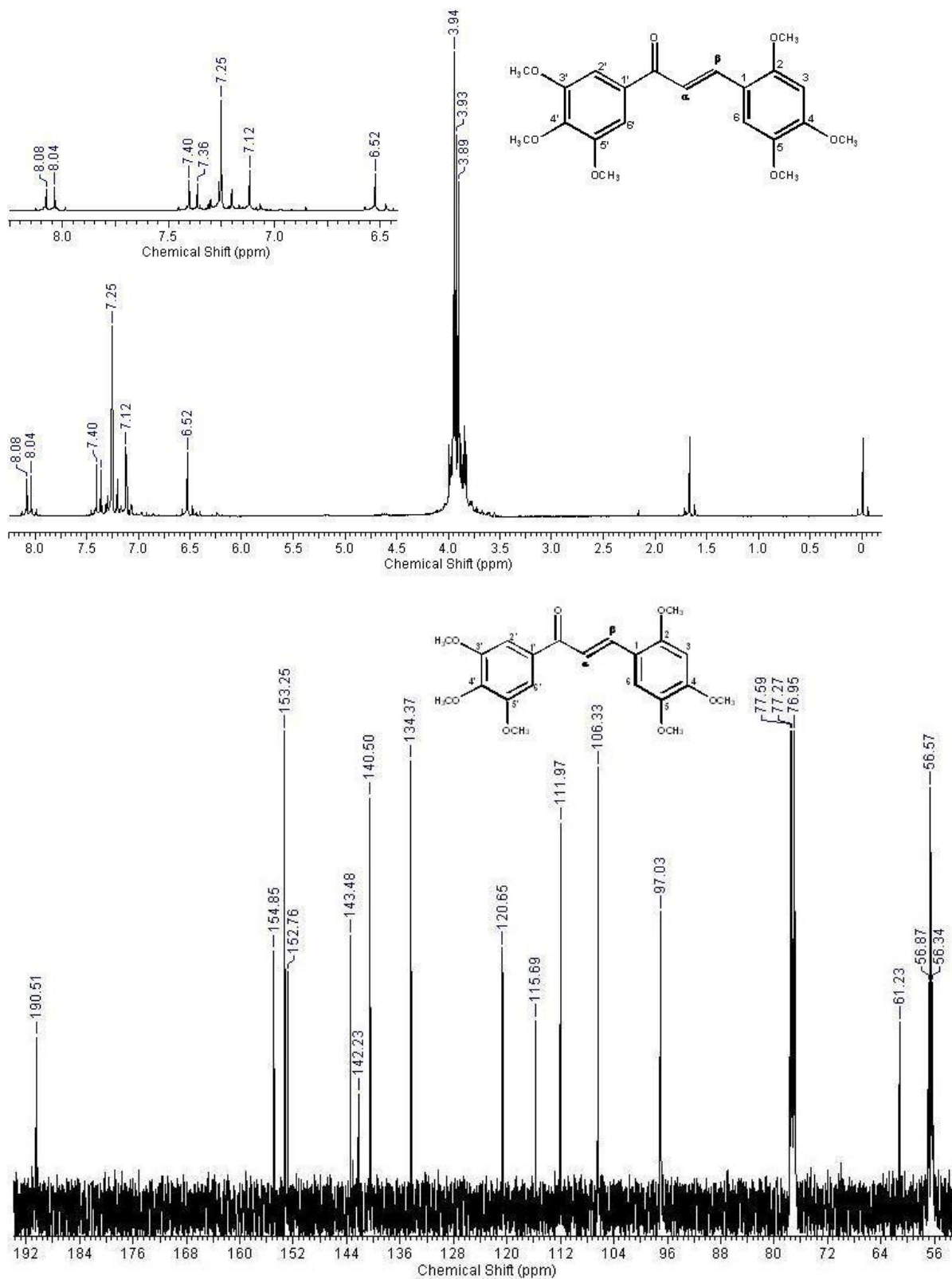
Anexo XX – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M18



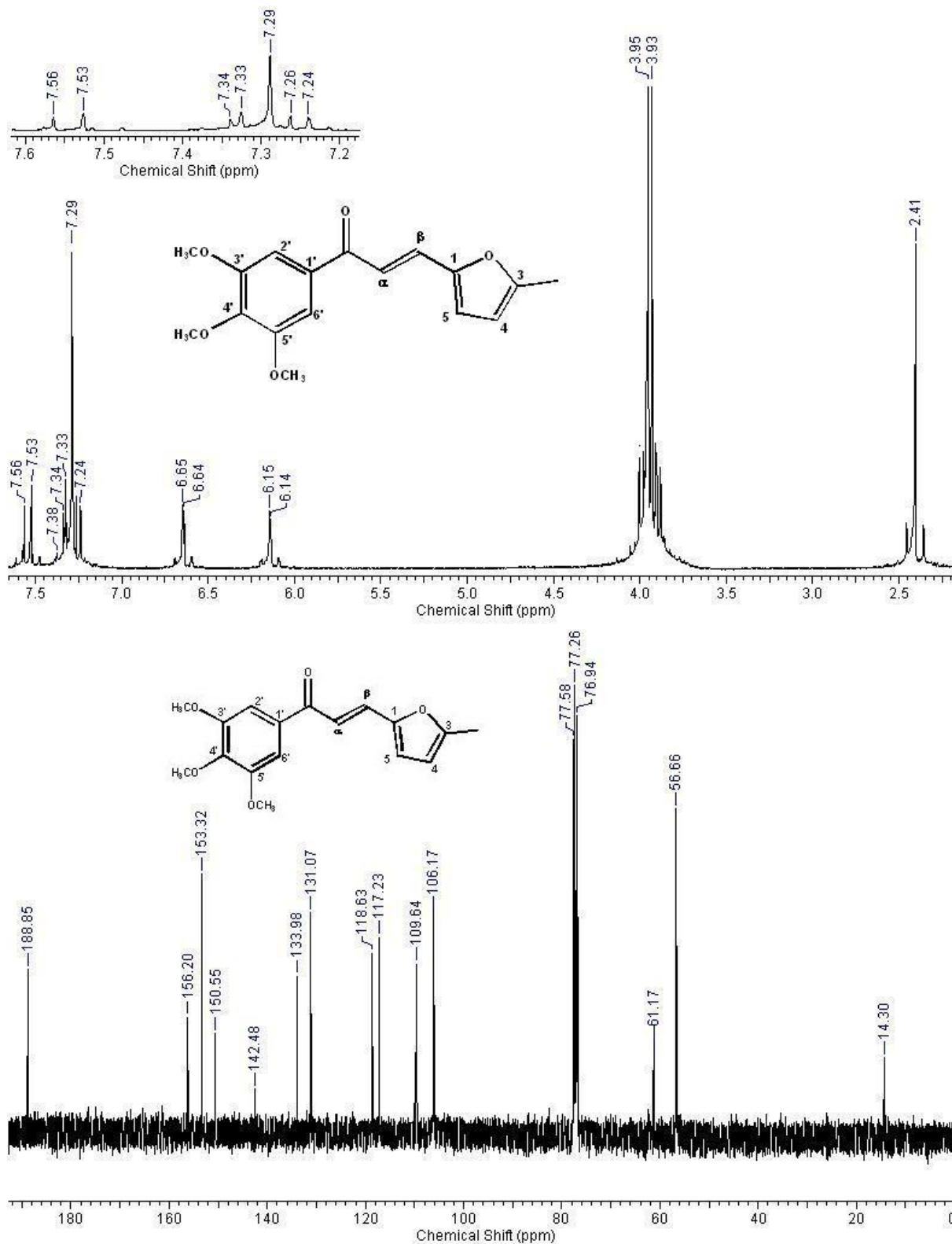
Anexo XXI – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M20.



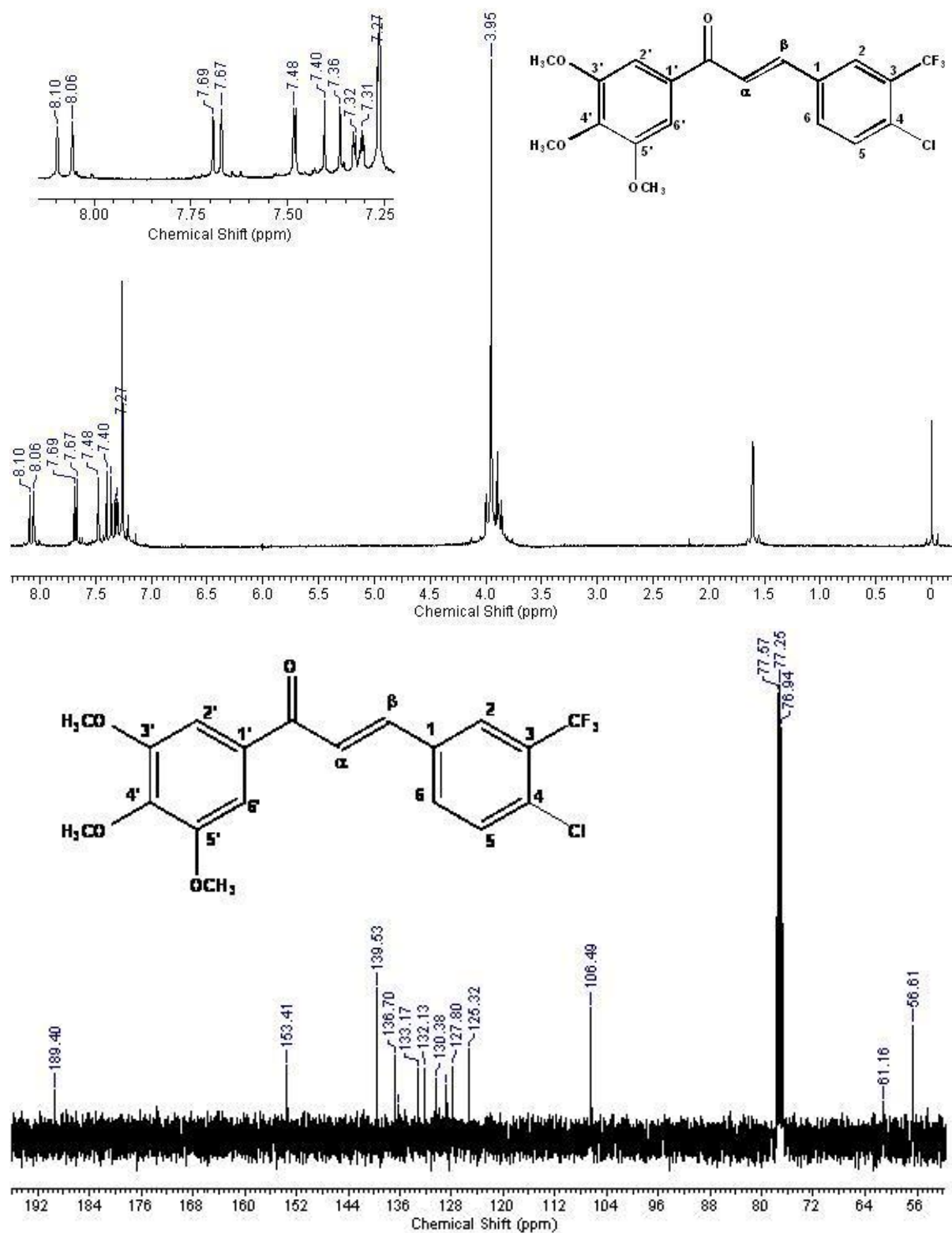
Anexo XXII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M24.



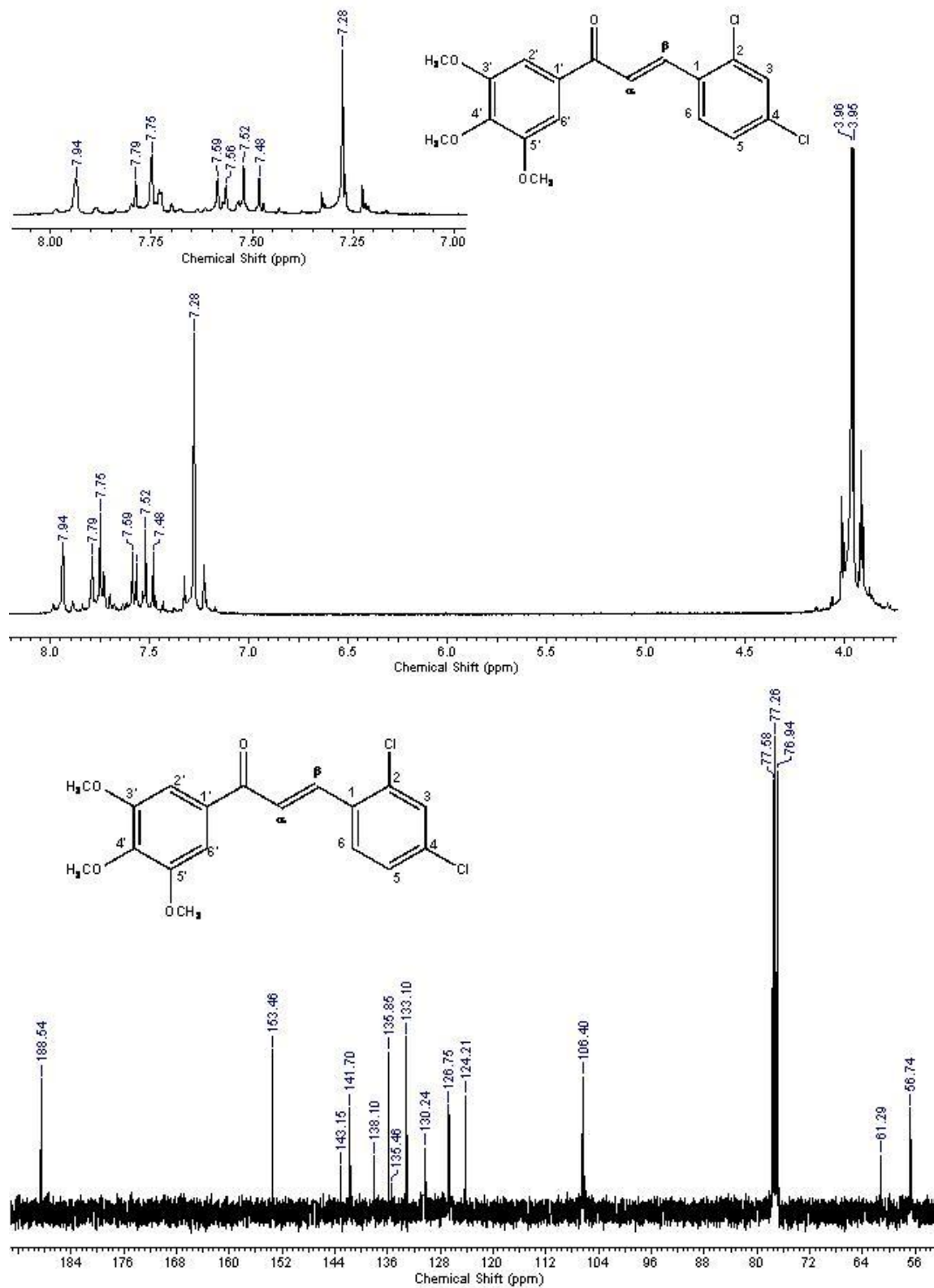
Anexo XXIII – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M26.



Anexo XXIV – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M30.



Anexo XXV – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M32.



Anexo XXVI – Espectros de RMN ^{13}C e ^1H do composto M33.

