

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANDRESSA SOUZA DE OLIVEIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL CITOTÓXICO DE NOVAS CHALCONAS
PLANEJADAS A PARTIR DO CARDANOL

Brasília

2016

ANDRESSA SOUZA DE OLIVEIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL CITOTÓXICO DE NOVAS CHALCONAS
PLANEJADAS A PARTIR DO CARDANOL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Dr. Luiz Antônio Soares Romeiro

BRASÍLIA

2016

Autorizo a reprodução e divulgação apenas do resumo deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada à fonte.

Catálogo da Publicação

ANDRESSA SOUZA DE OLIVEIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL CITOTÓXICO DE NOVAS CHALCONAS
PLANEJADAS A PARTIR DO CARDANOL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 30 de agosto de 2016

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Ângelo Henrique de Lira Machado

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Yanna Karla Nóbrega de Medeiros

Universidade de Brasília – UnB

Brasília

2016

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Anísio Alves e Maria das Graças*

AGRADECIMENTOS

“Você pode sonhar, criar, desenhar e construir o lugar mais maravilhoso do mundo, mas é necessário ter pessoas para transformar seu sonho em realidade” (Walt Disney). Agradeço aos meus pais que criaram todas as possibilidades para eu seguir meus sonhos, Anísio Alves e Maria das Graças, o incentivo de vocês foi essencial para a construção deste trabalho. Ao meu irmão Alex Souza e meus familiares que sempre me apoiaram, obrigada.

Àquelas que acompanham minha jornada desde o tempo do Ensino Fundamental e nunca entenderam de fato o que faço, mas sempre aceitaram minhas ausências e me apoiaram nas minhas escolhas tornando dias comuns em dias fabulosos, Adeliza, Nayara e Shayra, muito obrigada a amizade de vocês que me fortalece.

Agradeço às minhas amigas Bárbara e Larissa, tantas dúvidas gramaticais sanadas, tanta preocupação, carinho e incentivo, obrigada. Idio e Rebeca, companheiros da jornada acadêmica, que sempre estão disponíveis para um papo químico, obrigada. Meus profundos agradecimentos àqueles que me ajudaram na área de informática, aqueles que me incentivaram, me estimularam e proporcionaram bons momentos.

O trabalho de bancada consiste na partilha de muita convivência, a todos do LADETER que passaram ou que trocamos experiências e experimentos, obrigada. Em especial, Lais Lemes e Thais Ferreira que sempre me engrandeceram com seus conhecimentos e me proporcionaram dias mais “doces” e leves.

Aprendi que nossas energias geram um campo magnético capaz de modificar resultados, que sempre podemos fazer melhor, que o amanhã é agora, a diferença é que faz a diferença, pesquisa é persistência, resiliência. Meus sinceros agradecimentos ao professor Dr. Luiz Romeiro, pela orientação, paciência, ensinamentos, discussões, incentivos, credibilidade e amizade.

À Universidade Católica de Brasília, a professora e amiga Luciana Camargo pelo espaço do LADETER. Agradeço ao professor Dr. Edilberto Silveira, Dra. Patrícia Nogueira e MSc Hebert Magalhães do CENAUREMN da UFC pelos espectros de ressonância magnética, à professora Dra. Cláudia Pessôa e a Maria

Cláudia Luciano dos Santos do Laboratório de Oncologia Experimental da UFC pela atenção e avaliação citotóxica.

À Universidade de Brasília e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, obrigada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudos.

Nenhum saber é saber completo

Galileu Galilei

RESUMO

OLIVEIRA, Andressa Souza. **Síntese e Avaliação do Perfil Citotóxico de Novas Chalconas Planejadas a Partir do Cardanol**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

O desenvolvimento de novos agentes baseados em produtos naturais tem sido intensamente explorado na busca de tratamentos mais eficazes para a farmacoterapia do câncer. As chalconas, importante grupo de produtos naturais, apresentam quimiodiversidade e propriedades biofarmacológicas convergentes a estes esforços. Descrevemos neste trabalho a síntese e avaliação de novas chalconas, como entidades químicas e misturas, planejadas a partir do líquido da casca da castanha do caju técnico. As metodologias sintéticas empregadas forneceram cinco intermediários em rendimentos que variaram de 70% a 90%. A partir do metóxi-pentadecilaldeído foram obtidas, em rendimento de 25% a 70%, nove chalconas, enquanto onze misturas de chalconas com cadeias insaturadas – monoeno (C8'-C9'), dieno (C8'-C9' e C11'-C12') e trieno (C8'-C9', C11'-C12' e C14'-C15') – foram obtidas a partir das misturas de metóxi-pentadecenilaldeídos (9 misturas) e hidróxi-pentadecenilaldeídos (2 misturas) em rendimentos na faixa de 22% a 77%. Os intermediários e produtos finais foram avaliados em triagem inicial quanto ao potencial citotóxico por meio de ensaio colorimétrico nas linhagens adenocarcinoma prostático, carcinoma de cólon e glioblastoma. Para os quatro intermediários fenólicos e três misturas de chalconas que apresentaram percentual inibitório do crescimento celular igual ou superior a 75% em pelo menos duas linhagens testadas foram determinados os valores de IC₅₀ frente a dez linhagens de células tumorais, fibroblasto murino (L929) e células mononucleadas do sangue periférico (PBMC). As chalconas selecionadas não promoveram hemólise a 200 µg/mL, enquanto duas mostraram melhor seletividade para HL60 e HCT116. Os estudos de relações estrutura-atividade revelaram a relevância dos grupos fenólicos como farmacofóricos para os intermediários e anel B das chalconas e auxofóricos para o anel A das diidroxichalconas e cadeias laterais insaturadas como arca-bouços moleculares significativos para a otimização destes compostos.

Palavras-chave: câncer; citotoxicidade, chalconas, cardanol, LCC técnico.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Andressa Souza. **Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Chalcones Derived From Cardanol**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

The development of new agents based on natural products has been extensively explored in the search for more effective treatments for cancer drug therapy. Chalcones, important group of natural products, have chemodiversity and bio-pharmacological properties convergent to these efforts. Herein, we describe the synthesis and evaluation of novel chalcones, as chemical entities and mixtures, designed from the technical cashew nut shell liquid. The employed synthetic methodology provided five intermediates in yields ranging from 70% to 90%. From the methoxypentadecylaldehyde were obtained, in 25% to 70% yields, nine chalcones with saturated alkyl chain, while eleven mixtures of chalcones with unsaturated alkyl chain – monoene (C8'-C9'), diene (C8'-C9' and C11'-C12'), end triene (C8'-C9', C11'-C12' and C14'-C15') – were obtained from the methoxyptadecenylaldehydes (9 mixtures) and hydroxypentadecenylaldehydes (2 mixtures) in yields in the range from 22% to 77%. The intermediates and final products were evaluated in an initial colorimetric assay screening for the potential cytotoxic using three cell lines prostatic adenocarcinoma, colon carcinoma and glioblastoma. For the phenolic intermediates and three mixtures of chalcones, which exhibited inhibitory percentage of cell growth higher than 75% in at least two tested strains, were determined the IC₅₀ values against ten tumor cell lines, murine fibroblasts (L929) and mononuclear cells from peripheral blood (MCPB). The selected chalcones did not promote hemolysis at 200 µg/mL, while dihydroxychalcones showed the best selectivity for HL60 and HCT116 cell lines. The studies of structure-activity relationships have shown the importance of phenolic groups, pharmacophoric for the intermediates and in the ring B of chalcones, and auxophoric for the ring A of the dihydroxychalcones and unsaturated side chain as significant molecular scaffolds for the optimization of these compounds.

Keywords: cancer, cytotoxicity, chalcone, cardanol, technical CNSL.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Incidência de novos casos de câncer no biênio 2016-17 nas regiões brasileiras	20
Figura 2 –	Etapas da carcinogênese: Iniciação, promoção, progressão e metástase	23
Figura 3 –	Alvos moleculares dos compostos fitoquímicos	25
Figura 4 –	Estruturas gerais de diferentes classes de flavonoides	27
Figura 5 –	Estrutura básica da chalcona	28
Figura 6 –	Quatro chalconas naturais com potencial atividade citotóxica	30
Figura 7 –	Chalconas sintéticas com atividade citotóxica	31
Figura 8 –	Catalisadores utilizados na síntese de chalconas	33
Figura 9 –	Componentes do líquido da casca da castanha do caju	34
Figura 10 –	Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN ¹ H e RMN ¹³ C	42
Figura 11 –	Espectro de RMN ¹ H da Mistura de Cardanóis (LDT10i)	68
Figura 12 –	Espectro de RMN ¹ H do Cardanol (LDT10)	69
Figura 13 –	Espectro de RMN ¹ H do Aldeído LDT77 , 18	71
Figura 14 –	Espectro de RMN ¹ H da Mistura de Aldeídos LDT77i , 19	72
Figura 15 –	Espectro de RMN ¹ H do Intermediário LDT220, 20	73
Figura 16 –	Espectro de RMN ¹ H dos Intermediários LDT220i, 21	73
Figura 17 –	Percentual de Inibição do Crescimento de Células Cancerígenas pelos Intermediários e Chalconas-alvo	82
Figura 18 –	Transmissão dos efeitos eletrônicos nos derivados LDT77 e LDT220	84
Figura 19 –	Estrutura genérica dos derivados LDT283i (40) e LDT284i (41)	87
Figura 20 –	Percentual de inibição do crescimento de células cancerígenas pelo LDT283i, 40 e LDT284i, 41	88

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 –	Modelo mecanístico da condensação de Claisen-Schmidt	32
Esquema 2 –	Planejamento sintético de novas pentadecilchalconas derivadas do cardanol saturado	38
Esquema 3 –	Planejamento sintético de novas pentadecenilchalconas derivadas do cardanol insaturado	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Linhagens celulares, descrição e densidade de plaqueamento	64
Tabela 2 –	Caracterização das pentadecilchalconas	76
Tabela 3 –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecilchalconas (Anel A)	78
Tabela 4 –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C da Mistura de Pentadecenilchalconas (Anel A)	78
Tabela 5a –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecilchalconas (Anel B)	79
Tabela 5b –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecilchalconas (Anel B)	80
Tabela 6a –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecenilchalconas (Anel B)	80
Tabela 6b –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecenilchalconas (Anel B)	81
Tabela 7 –	Caracterização das pentadecenilchalconas LDT283i, 40 e LDT284i, 41	86
Tabela 8 –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C LDT283i (40) e LDT284i (41) (Anel A)	87
Tabela 9 –	Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C LDT283i (40) e LDT284i (41) (Anel B)	89
Tabela 10 –	Valores de IC_{50} (μM) frente diferentes linhagens tumorais	90
Tabela 11 –	Valores de índice de seletividade	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A549 – Células de carcinoma de pulmão humano
ACHN – Células de carcinoma renal humano
 Al_2O_3 – Óxido de alumínio
AR – Receptor de andrógeno
 BF_3 – Trifluoreto de boro
B-Raf – Proto-oncogene
Calu1 – Células de pulmão humano
COX-2 – Ciclo-oxigenase-2
d – duplete
DCM – Diclorometano
dd – duplo duplete
DLH – Doador de Ligação de Hidrogênio
DMSO – Dimetilsulfóxido
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DU145 – Células de próstata humano
EGFR – Receptor de fator de crescimento epidérmico
ER – Receptor de estrogênio
ErbB – Família de proteínas com quatro tirosina-quinase receptoras
EtOH – Etanol
FGFR – Receptor de fator de crescimento de fibroblastos
HCT116 – Células de carcinoma de colorretal humano
HepG2 – Células de hepatoma humano
HL-60 – Células de leucemia promielocítica humano
HeLa – Células de carcinoma cervical humano
HER – Receptor de fator de crescimento epidérmico humano
HGF – Fator de crescimento de epatócitos
HT-29 – Células câncer de colón humano
INCA – Instituto nacional do câncer
J – Constante de acoplamento
K562 – Leucemia mielóide crônica
L929 – Fibroblasto murinho não cancerígeno
LCC – Líquido da casca da Castanha do Caju

m – multiplete

MCF-7 – Células de carcinoma de mama humano

MDA-MB 231 – Células de carcinoma de mama humano

NaOH – Hidróxido de sódio

NCI-H460 – Células pequenas de carcinoma de pulmão humano

NFKb – Fator nuclear B

OMS – Organização mundial de saúde

p21 – Proteína citoplasmática

p53 – Proteína citoplasmática

Panc 1 – Células carcinoma de pâncreas humano

PBMC – Células mononucleadas de sangue periférico

PC3 – Células carcinoma de próstata humano

PC9 – Células pequenas de carcinoma de pulmão

PC3M – Células carcinoma de próstata metástico

Rb – Retinoblastoma

RMN ¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1

ROS – Espécies reativas de oxigênio

s – simpleto

sl – sinal largo

SF 295 – Células de GLIOBLASTOMA

SKOV3 – Células de carcinoma de ovário humano

SOC₂ – Cloreto de tionila

SW620 – Células carcinoma de cólon

t – tripleto

TiO₂SO₄ – Sulfato de dióxido de titânio

U373 – Células de glioma humano

UV – Ultravioleta

VEGFR-2 – Fator de crescimento endotelial vascular-2

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	19
	<i>Câncer.....</i>	20
	<i>A terapêutica no tratamento do câncer.....</i>	23
	<i>Produtos naturais como agentes quimioterápicos.....</i>	24
	<i>Os derivados flavonoides.....</i>	26
	<i>As chalconas.....</i>	27
	<i>O líquido da casca da castanha do caju (LCC).....</i>	33
2.	OBJETIVOS.....	35
2.1	OBJETIVO GERAL.....	35
2.1.1	Objetivos Específicos.....	36
3.	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL.....	38
4.	PARTE EXPERIMENTAL.....	40
4.1	GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.2	METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	42
4.2.1	Obtenção da Mistura de Cardanóis a Partir do LCC Técnico (LDT10i, 16)	43
4.2.2	Obtenção do Derivado 3-Pentadecilfenol (LDT10, 17).....	44
4.2.3	Obtenção do Derivado Hidróxipentadecilbenzaldeído (LDT77, 18) e da Mistura de Hidróxipentadec-8-en-, 8,11-dien-, 8,11,14- trienbenzaldeídos (LDT77i, 19).....	45
4.2.4	Obtenção do Derivado Metóxipentadecilbenzaldeído (LDT220, 20) e da Mistura de Metóxipentadec-8-em-, 8,11-dien-, 8,11,14- trienbenzaldeídos (LDT220i, 21).....	46
4.2.5	Obtenção das chalconas-alvo.....	48
4.3	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA.....	63
4.3.1	Ensaio de MTT.....	63
4.3.2	Índice de Seletividade.....	64
4.3.3	Potencial Homolítico.....	64
4.3.4	Análise Estatística.....	65
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	67
5.1.1	Obtenção da Mistura de Cardanóis (LDT10i, 16)	67
5.1.2	Obtenção do Cardanol Saturado (LDT10, 17)	68
5.1.3	Obtenção do Derivado Hidroxipentadecilbenzaldeído (LDT77, 18) e da Mistura de Hidroxipentadecenilbenzaldeído (LDT77i, 19).....	70
5.1.4	Obtenção do Derivado Metoxipentadecilbenzaldeído (LDT220, 20) e da Mistura de Metoxipentadecenilbenzaldeído (LDT220i, 21)	72
5.1.5	Obtenção pentadecilchalconas.....	74
5.1.6	Obtenção das pentadecenilchalconas.....	75
5.1.7	Caracterização das chalconas-alvo.....	75
5.2	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA.....	81
5.2.1	Avaliação do Perfil de Citotoxicidade <i>in vitro</i>.....	82
5.2.2	Determinação da IC₅₀.....	88

5.2.3	Determinação do Índice de Seletividade	91
5.2.4	Determinação do potencial hemolítico	91
6.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	92
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
8.	ANEXOS	104

Introdução

1.INTRODUÇÃO

Câncer

O câncer e as doenças cardíacas oscilam entre o primeiro e segundo lugar nas enfermidades de maior impacto na saúde pública mundial. No ano de 2012 o câncer representou a principal causa de morbidade e mortalidade, com aproximadamente 14 milhões de casos e 8,2 milhões de óbitos (INCA, 2016).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde e GLOBOCAN, 27 milhões de novos casos, 17 milhões de óbitos e 75 milhões de pessoas portadoras de câncer são esperados para o ano de 2030 (apud, INCA, 2016). No Brasil, a estimativa para o biênio 2016-2017 indica a ocorrência de aproximadamente 600 mil novos casos, sendo o câncer de próstata (61 mil) o de maior incidência entre os homens e o câncer de mama (58 mil) entre as mulheres, com destaque para as regiões Sul e Sudeste (Figura 1) (INCA, 2016).

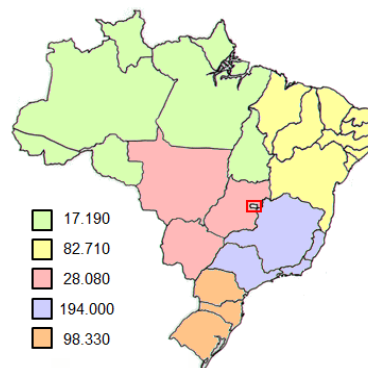


Figura 1 – Incidência de novos casos de câncer no biênio 2016-17 nas regiões brasileiras (Não incluso o tipo de câncer de Pele não Melanoma). Fonte: INCA, 2016

No Distrito Federal são estimados cerca de 8.550 novos casos, sendo os cânceres de mama (1.020), próstata (840) e colorretal (570) os mais expressivos (INCA, 2016).

O termo câncer está relacionado a mais de cem tipos de diferentes neoplasias que podem afetar qualquer parte do organismo (OMS, 2014). A caracterização de tumores como maligno ou benigno dar-se-á de acordo com suas características biológicas (TAKANA et al. 2013). Neste contexto, células tumorais malignas apresentam diversas características como autossuficiência em sinais de

crescimento, insensibilidade, elevados potenciais replicativos, evasão à apoptose, angiogênese, invasão de tecidos e instabilidade genômica (GIANCOTTI, 2014).

O acúmulo de mutações nos oncogenes e em genes supressores de tumores ocasionam perdas no processo de controle celular afetando a diferenciação, sobrevivência e apoptose. O fenótipo tumoral pode ser identificado em diversas vias de sinalização distintas, como p53 e p21, retinoblastoma (Rb), tirosinas quinases, receptores do fator de crescimento (FGFR), fatores de crescimento epidérmico e de hepatócitos (HER, HGF), fatores de transcrição epitelial, receptores da família ErbB, receptor de androgênio e estrogênio (AR e ER) entre outros (BOHEN e HAHN, 2011; WEINSTEIN, 2002; YAP, OMLIN e BONO, 2013; YOUNG, CROWELEY e JACKS, 2011). As células mutantes também podem apresentar hipometilação global, promotor específico de modificação de histonas e baixa regulação de RNA (TABY et al., 2010).

Durante o processo de mitose, erros genéticos ocorrem espontaneamente com frequência estimada de 10^{-5} e 10^{-6} nucleotídeo por cada divisão celular. Apesar da existência de numerosos sistemas de reparação celulares, a persistência de danos genéticos pode levar ao desenvolvimento neoplásico (TANAKA et al. 2013). O câncer é conhecido por sua variabilidade na expressão gênica hereditária, no entanto, correlações sobre a exposição a fatores de riscos que podem desencadear as neoplasias malignas já são descritos para tipos de tumores específicos (TABY et al. 2010; BARCELLOS-HOFF, 2013).

Os fatores de risco presentes no meio ambiente são classificados como agentes cancerígenos genotóxicos e não-genotóxicos. Os agentes genotóxicos interagem diretamente ao DNA por ativação metabólica ocasionando danos, enquanto os não-genotóxicos agem por meio de mecanismos indiretos ao DNA a partir de danos gerados por substâncias químicas (POGRIBNY, BELAND, 2013; UMAR, DUNN e GREENWALD, 2012).

Os raios ultravioleta provenientes da radiação solar consistem em um fator não-genotóxico diretamente associado ao câncer de pele relacionado à formação de espécies reativas altamente mutagênicas que interagem na sequência de p53 (CHEN, 2005, METHA, 2010). Segundo Karam-Hage (2014) o uso de tabaco é responsável por, pelo menos, 30% dos óbitos em pacientes com câncer e 90% dos casos de câncer de pulmão, além de resultar em problemas no tratamento e afetar negativamente as taxas de sobrevivência. Os fatores genotóxicos estão associados

à interrupção do sistema imune desenvolvendo inflamação e modificações genéticas (POGRIBNY, BELAND, 2013).

Adicionalmente, fatores comportamentais, incluindo a dieta e o estilo de vida também estão associados ao aumento do risco de desenvolvimento do câncer. A Sociedade Americana do Câncer disponibiliza desde o ano de 2001 cartilha com dietas, atualizada a cada cinco anos, visando minimizar as incidências, cujas diretrizes são baseadas em evidências científicas e resultados laboratoriais (apud, BYERS et. al., 2002). A estimativa da contribuição da dieta em óbitos relacionados a pacientes com câncer é de cerca de 30-35%, sendo fortemente associada ao desenvolvimento da doença no cólon e no reto (KLIORA, et al., 2013).

O processo de carcinogênese ocorre por meio de três etapas principais: o estágio de iniciação, promoção e progressão. A iniciação consiste no estágio em que a célula normal é submetida a danos no DNA que não são reparados. Na sequência, é iniciada a produção de células mutantes que podem resultar na desregulação de vias de sinalização bioquímica, associadas à proliferação celular, sobrevivência e diferenciação (TANAKA et al.2013; SIDDIQUI et al. 2015).

Quando ocorre a expansão da célula, relacionada à modulação da expressão do gene após a iniciação, tem-se o início da etapa de promoção que resulta no aumento na célula, devido ao maior número de divisões celulares ou redução de apoptose. Os efeitos promotores podem permanecer por longo período no tecido-alvo. No entanto, estes efeitos são reversíveis e quando o promotor tumoral desaparece, ocorre regressão do tumor (TANAKA et al. 2013; SIDDIQUI et al. 2015; CHAO, 2012).

A sequência de lesões identificadas por exames histopatológicos entre as etapas de iniciação e promoção são designadas como pré-neoplásicas, e suas transformações em lesões malignas compreendem a última etapa, a progressão. Este processo é irreversível e apresenta grande instabilidade genética, produção de fatores de crescimento, invasão, metástase, alterações bioquímicas, metabólicas e morfológicas (TANAKA et al.2013; SIDDIQUI et al. 2015). As etapas da carcinogênese estão representadas na Figura 2.

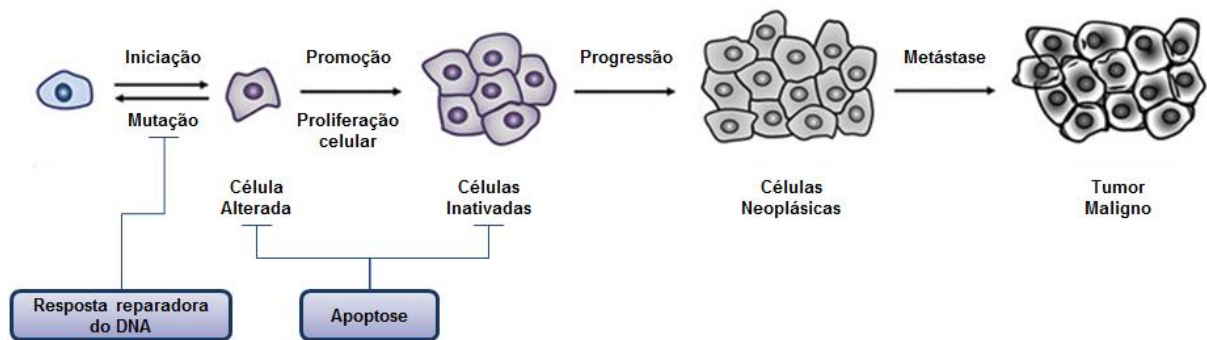


Figura 2 – Etapas da carcinogênese: Iniciação, promoção, progressão e metástase.

Fonte: Adaptado de SIDDIQUI et al. 2015.

A terapêutica no tratamento do câncer

Uma única célula tumoral apresenta diversas modificações fenotípicas, que possuem características singulares do seu ambiente de desenvolvimento, conferindo heterogeneidade de tumores que necessitam de abordagens terapêuticas apropriadas para cada tipo específico de tumor (MARSHALL, et al., 2014).

As terapias convencionais para o tratamento do câncer consistem em remoção do tumor por métodos cirúrgicos, radioterapia e quimioterapia (PLANA, 2011 e MARIAN, et al. 2015). A radioterapia – com cerca de 40% de cura – é comumente aplicada em regiões de difícil acesso para remoção do tumor e apresentam diferentes efeitos adversos por gerar danos ao DNA de células normais presentes no mesmo ambiente, além de queimaduras na pele (HIGGINS, et al. 2015, MARIAN, et al. 2015).

A quimioterapia é composta pelo uso de medicamentos capazes de levar à remissão do tumor e a cura. Entretanto, os efeitos adversos durante o tratamento podem ser severos, bem como, ocasionar doenças crônicas e cardiotoxicidade (PLANA, 2011 e SAWAYA, et al, 2011). Estudos realizados por Filder e Kripke (2015) constataram que em alguns tipos de tumores e.g. pulmão, próstata, pâncreas e cólon, há respostas limitadas às terapias, podendo ocorrer disseminação metastática mesmo com resposta inicial efetiva.

Entre os principais agentes antineoplásicos utilizados na quimioterapia encontram-se os agentes alquilantes, como as mostardas nitrogenadas, nitrosureias, alquilssulfonatos, etileniminas, triazinas e cisplatina. Outros agentes compreendem

os antibióticos (antraciclinas), inibidores de topoisomerase (etoposídeo) e os antimetabólitos fluorouracil, metatrexato e citarabina. No entanto, todos apresentam respostas limitadas e efeitos tóxicos significativos (FLOYD, et al. 2005; TOFTHAGEN, 2010).

Alguns tumores específicos são hormônio-dependentes, cujas terapias alternativas consistem no tratamento com inibidores hormonais, suprimindo os efeitos nos órgãos-alvo. Outra estratégia terapêutica é o tratamento com antineoplásicos orais, considerado um tratamento de longo tempo e com rigoroso sistema de administração ao paciente, além de apresentar possibilidade de interações medicamentosas entre seus efeitos adversos (WEINGART, et al. 2010 e VERBRUGGHE, et al. 2013).

No âmbito dos biofármacos, os anticorpos monoclonais consistem em terapêutica mais específica, no entanto, é considerado um método de elevado custo de desenvolvimento. Estudos têm relatado a eficácia de fármacos como rituximab, trastuzumb e cetuximab associados com radioterapia e, ou quimioterapia (FERRIS, JAFFE, FERRONE, 2010; TOSI, et al. 2015).

A resistência de tumores ao tratamento, o baixo sucesso na quimioterapia, longos períodos de tratamento, elevada toxicidade dos fármacos e ausência de seletividade para diversas classes de derivados para o câncer tem impulsionado esforços contínuos nas pesquisas de novos agentes antiproliferativos (KUETE, et al. 2015; SAK, 2014; TOFTHAGEN, 2010).

Produtos naturais como agentes quimioterápicos

Os agentes quimioterápicos têm sido desenvolvidos visando a recessão tumoral de forma que apresentem menores danos às células normais e tenham ação em diferentes etapas da carcinogênese, bem como, por várias vias metabólicas (PAVET, et al. 2011; DY e ADJEI, 2013).

Desde primórdios da medicina tradicional, as plantas tem sido fonte de compostos utilizados para o tratamento de diversas doenças. Para o câncer não é diferente, parte dos medicamentos utilizados atualmente são derivados de plantas, sintetizados ou planejados a partir deles como a vincristina, vimblastina, taxol, docetaxel, podofilotoxina, camptotecina, topotecano, irinotecano, etoposídeo e

combrestatina. (BRANDÃO, et al. 2010, DEMAÏN e VAISHNAV, 2011, JUNG, 2015). O Instituto Nacional do Câncer americano (NCI) aponta mais de 30.000 derivados de plantas com atividade anticancerígena (KALIORA et al. 2013).

Diversos estudos têm apontado compostos naturais como inibidores do crescimento de células cancerígenas mediados por atuação em diversas vias metabólicas. Estes compostos agem por meio da geração e sinalização de espécies reativas de oxigênio (ROS), atenuação em ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e outras vias ciclo-oxigenase, inativação de agentes cancerígenos, inibição da proliferação, promoção e diferenciação, indução de parada do ciclo celular e apoptose, diminuição da angiogênese e supressão de metástases. A representação de algumas vias metabólicas, alvos moleculares da ação dos fitoquímicos, é apresentada na Figura 3 (SAK, 2014; SINPRIYADARI e NAGINI, 2012).

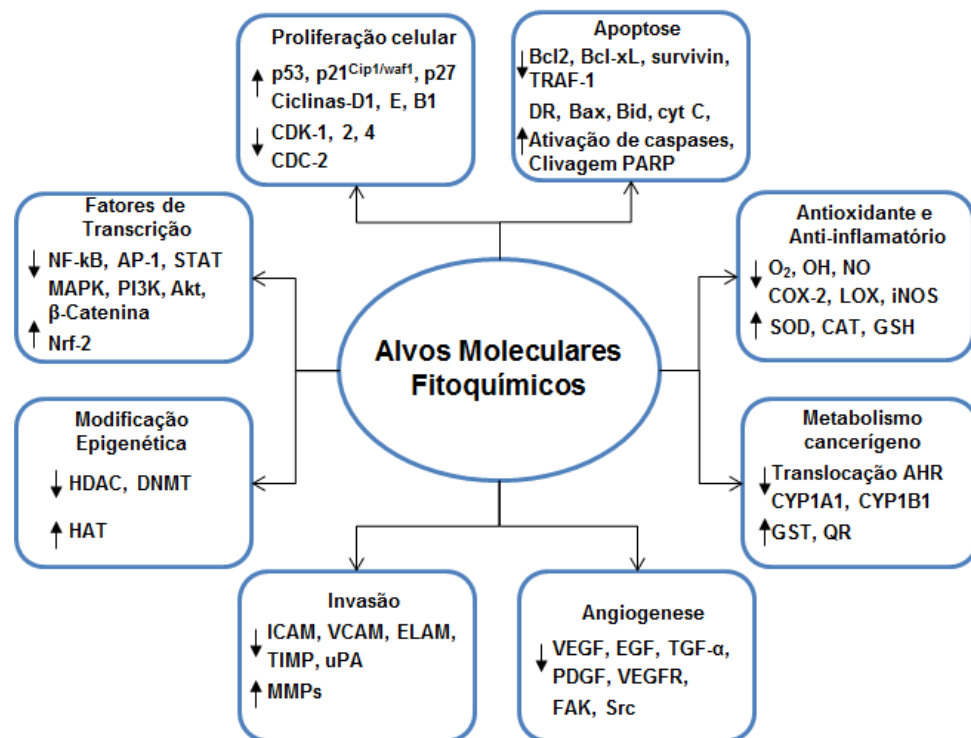


Figura 3 – Alvos moleculares dos compostos fitoquímicos

Fonte: Adaptado de SINPRIYADARI e NAGINI, 2012.

A busca por novos compostos naturais para o tratamento do câncer é uma estratégia promissora, pois grande parte destes possuem baixa toxicidade em células normais e atuam no processo de iniciação como quimioprotetores. Adicionalmente, nas etapas de promoção e progressão, estes compostos são

capazes de induzir a interrupção do ciclo celular ou apoptose, bem como, inibição da inflamação, angiogênese ou invasão (KLIORA, et al., 2013, DRUTOVIC, et al. 2014).

Alguns derivados fitoquímicos que têm apresentado resultados eficientes como anticancerígenos com o diferencial de baixa toxicidade em células normais, provêm da dieta humana ou por meio de suplementação. Os efeitos benéficos têm sido atribuídos ao elevado teor de compostos bioativos, tais como carotenoides, flavonoides, alcaloides, indóis e esteróis (HAVSTEEN, 2002; KLIORA, et al. 2013, KUETE, et al. 2015).

Os flavonoides estão relacionados a diversas atividades *in vivo* e *in vitro* com destaque a potencial ação inibitória da formação de espécies reativas de oxigênio (ANDROUTSOPOULOS, et al. 2010; LIU, JIANG e XIE, 2010). Uma vez que o dano oxidativo desempenha papel causal em diversas doenças, incluindo o câncer, a ingestão dietética de antioxidantes naturais, como os flavonoides e compostos fenólicos, pode prevenir doenças relacionadas ao estresse oxidativo (TIAN et al, 2013).

Os Derivados Flavonoides

Os flavonoides constituem um grupo de metabólitos secundários com esqueleto central para a biossíntese de polifenóis, são comumente encontrados na dieta humana e em quantidades significativas nas frutas, legumes, grãos, castanhas e ervas para chás. Quimicamente apresentam estrutura heterogênea, geralmente contendo 15 átomos de carbonos e anéis variando de duas a seis unidades (CHANG, et al. 2008, KOIRALA, et al. 2016, SAK, 2014). Eles são subdivididos de acordo com suas características estruturais em flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, chalconas e outros (Figura 4). Nas plantas são importantes antioxidantes e microbicidas bem como proporcionam cores vivas quem atraem polinizadores e repelem o ataque de insetos (CROZIER, JAGANATH e CLIFFORD, 2009; JUNG et al. 2015; PRASAIN, CARLSON, WYSS, 2010; SAK, 2014).

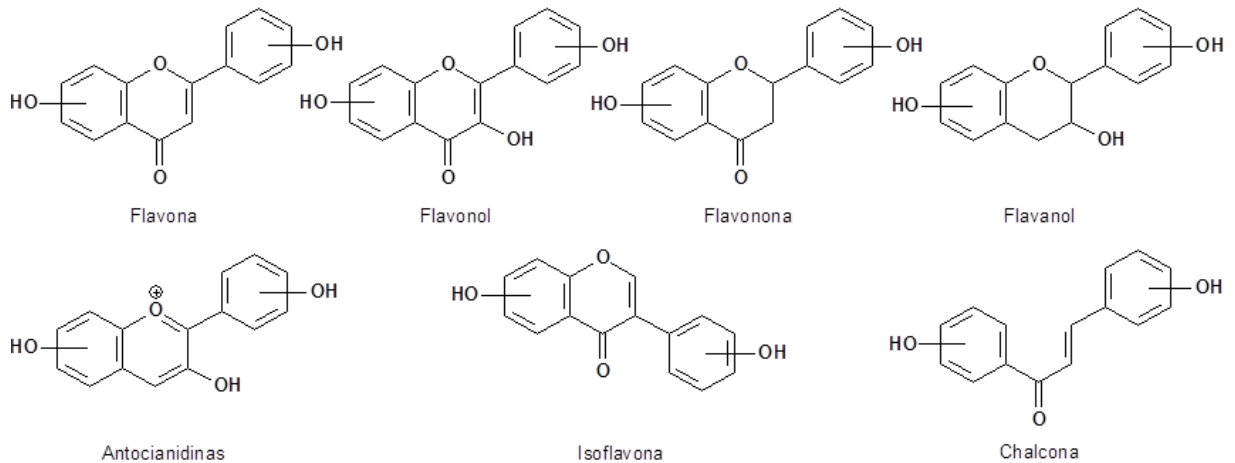


Figura 4 – Estruturas gerais de diferentes classes de flavonoides
 Fonte: Adaptado de LIU, JIANG e XIE, 2010.

Presentes em diversas plantas medicinais de uso tradicional para o tratamento de neoplasias, os flavonoides apresentam atividades biológicas relacionadas à modulação do sistema imunológico por meio de atividade antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica e antiproliferativa (KOIRALA, et al., 2016; SHARMILA, et al. 2014).

Pesquisadores nas áreas de produtos naturais têm concentrado esforços para elucidar efeitos benéficos e adversos destes agentes da biodiversidade no tratamento do câncer, cujos resultados são influenciados pela dosagem, duração, tipo de suplementação e linhagem tumoral testada (PRASAIN, CARLSON, WYSS, 2010). Neste sentido, os flavonoides considerados seguros e facilmente obtidos de fontes naturais ou sintéticas despontam como candidatos ideais para a quimioprevenção do câncer ou agentes associados adjuvantes ao tratamento clínico. Vale destacar que um agente anticancerígeno ideal seria aquele capaz de exercer efeitos adversos mínimos sobre os tecidos normais e capacidade máxima para as células tumorais ou inibir seu crescimento (CHANG, et al. 2008; CROZIER, JAGANATH e CLIFFORD, 2009; SAK, 2014).

As chalconas

As chalconas, caracterizadas como flavonoides de cadeia aberta, são bioprecursores naturais desta classe de compostos, que possuem estrutura básica com dois anéis aromáticos separados por uma subunidade prop-2-en-1-ona α,β -insaturada, denominada de aceptor de Michael (Figura 5) (SAN-MARTÍN et al. 2015;

ZENGR, et al. 2015). Nas plantas, os derivados chalcônicos têm função protetora contra os raios ultravioletas e são responsáveis pelas pigmentações. (SAN-MARTÍN et al. 2015; ROZMER e PERJÉSI, 2016).

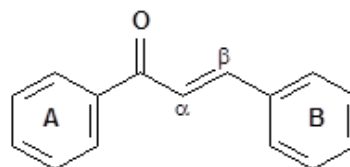


Figura 5 – Estrutura básica da chalcona

Diversos derivados chalcônicos têm chamado atenção devido às atividades biológicas e farmacológicas como agentes anti-inflamatórios (JIM, et al. 2013; ZHANG, et al. 2016), antibacterianos, antifúngicos, analgésicos, antimaláricos, antileishmania, antitumorais (KACHADOURIAN, et al. 2012; KARTHIKEYAN, et al. 2015; LIANG, et al. 2011; MALHOTRA, et al. 2011) bem como inibidores de óxido nítrico, antioxidantes e antimetastáticos, que reforçam seus efeitos anticancerígenos e quimiopreventivos com baixo nível de toxicidade. Parte dos efeitos farmacológicos das chalconas tem sido associado à presença do aceptor de Michael, uma vez que diidrochalconas, gerados pela redução da dupla ligação conjugada à carbonila, está relacionada à perda da atividade (KUMAR et al., 2016; MAI, et al. 2014).

De maneira geral, as propriedades anticancerígenas das chalconas são fortemente influenciadas pela presença de substituintes nos anéis A e B. (KARTHIKEYAN, et al. 2015; BOUMENDJEL, et al. 2008; BOUMENDJEL, RONOT e BOUTONNAT, 2009). Neste sentido, chalconas naturais oxigenadas apresentam elevado potencial antiproliferativo influenciado pela presença de substituintes hidroxila e metoxila (KARTHIKEYAN, et al. 2015).

Mesmo sendo investigadas a mais de três décadas, os mecanismos de ação associados às atividades anticancerígenas das chalconas permanecem em contínua investigação. Alguns mecanismos propostos para a atividade citotóxica incluem a interrupção do ciclo celular, inibição angiogênese, inibição da formação da tubulina, indução de apoptose e bloqueio do fator nuclear kappa B (NF-κB), inibição de quinases essenciais para a sobrevivência e proliferação de células tumorígenicas como o receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), fator de crescimento endotelial vascular-2 (VEGFR-2) e a B-Raf (BRAF), modulação de proteínas resistentes a múltiplos agentes, antiestrogênico e de indução da apoptose

(KARTHIKEYAN, et al. 2015; CHAMPELOVIER, et al. 2013). Também é relatado na literatura que células tratadas com chalconas apresentam condensação do núcleo e fragmentação do DNA no processo de indução da apoptose (ROZMER e PERJÉSI, 2016).

Substâncias clinicamente eficazes que atuam seletivamente em células tumorais são preciosas. Nesta perspectiva, diversos estudos relatam o potencial terapêutico seletivo das chalconas contra células cancerígenas com baixa toxicidade para células normais (DAS, MANNA, 2015; RYBKA, MERCADER, CASTRO, 2014). Os derivados isoliquiritigenina (1) e buteína (2) são duas das chalconas mais descritas na literatura devido a seus efeitos citotóxicos em linhagens de células cancerígenas (Figura 6) (PENG, et al., 2015; ROZMER e PERJÉSI, 2016). A capacidade da isoliquiritigenina (1) em suprimir metástase foi avaliada em modelo *in vivo* de células renais, a qual inibiu a proliferação celular e a produção de óxido nítrico. Em células MCF-7 de câncer de mama humano (1) foi capaz de induzir regulação nos níveis de estrogênio. Em células HepG2 de hepatoma humano induziu apoptose e paralisação do ciclo celular por meio de via dependente de p53. Também induziu apoptose em células de câncer de próstata humano DU145, bem como atividade citotóxica em células HL-60, U373 (KARTHIKEYAN, et al. 2015; KUMAR et al., 2016; PENG, et al., 2015).

Os derivados naturais xanthohumol (3) e desidrocicloxantohumol (4) são descritos como potentes quimiopreventivos para câncer de ovário (Figura 6). Estudos indicam seu potencial na redução tumoral em células de câncer de mama (MCF-7), câncer de cólon (HT-29) e câncer de ovário (A-2780) (MIRANDA, et al., 1999). Adicionalmente, licochalcona-A (5) (Figura 6) é conhecida por apresentar elevado potencial inibitório em células tumorais e indução de apoptose (KARTHIKEYAN, et al. 2015).

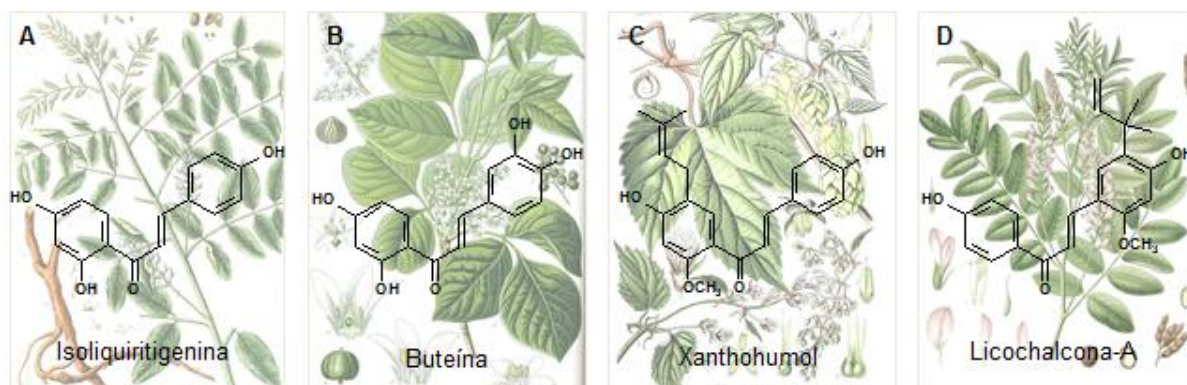


Figura 6 – Quatro chalconas naturais com potencial atividade citotóxica (A: *Glycyrrhiza glabra* L. fonte de Isoliquiritigenina; B: *Toxicodendron vernicifluum*, fonte de buteína; C: *Humulus lupulus* fonte de Xanthohumol; D: *Glycyrrhiza inflata* fonte de licochalcona A)

As diversas atividades farmacológicas das chalconas naturais às destinam como arcabouço molecular para a síntese de compostos biologicamente ativos (Figura 7). Zhang e colaboradores (2015) sintetizaram 43 chalconas análogas ao xanthohumol (**3**), com destaque para o derivado **6** com IC_{50} 1,4 μ M para atividade citotóxica contra células HeLa, trinta vezes mais potente que seu precursor. No trabalho desenvolvido por Kim e colaboradores (2012), sobre a atividade antiandrogênica em células de câncer de próstata LNCaP, a metóxicalcona **7** mostrou-se a mais promissora da série.

Os compostos **8** e **9** sintetizados por Chauhan e colaboradores (2014) apresentaram-se eficazes na indução de apoptose com elevado potencial inibitório em células de câncer de mama MCF-7, MDA-MB 231 e 4T1. Por sua vez, as chalconas **10** e **11** sintetizadas por Kamal e colaboradores (2012) apresentaram IC_{50} na faixa de 0,85 e 0,90 μ M em linhagens de células A549 bem como atividade na polimerização da tubulina com IC_{50} entre 3,5 e 5,2 μ M, respectivamente. O estudo de uma série de metóxicalconas sintéticas identificou o derivado **12** com potencial inibitório de 100% (10 μ M) nas linhagens tumorais ACHN, Panc1, Calu1, H460, HCT116, sem toxicidade em células normais, exibindo também atividades anti-inflamatórias e antioxidantes promissoras (BANDGAR, et al. 2010).

Em outros estudos na literatura, o derivado **13** foi descrito com seletividade em células de câncer de pulmão e leucemia (KUMAR, et al. 2014) enquanto que **14** por induzir apoptose em células HT-29 (MAI, et al. 2014). Por sua vez, a chalcona **15** induziu a paralização do ciclo celular na fase G2/M em células HepG2 e apresentou

atividade antiproliferativa nas linhagens PC-3, A549, K562, HCT116, SKOV3 e MCF-7 na faixa de 0,22-1,80 μM , sem apresentar toxicidade em células normais (WANG, et al. 2014).

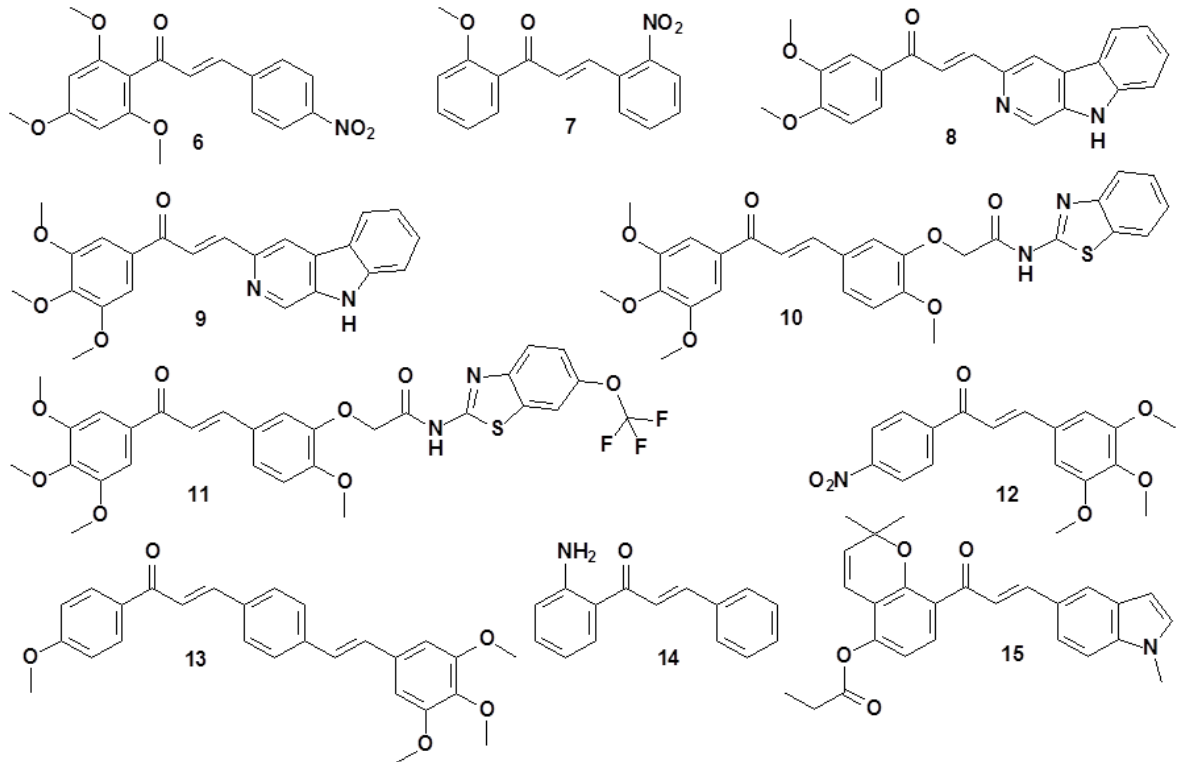
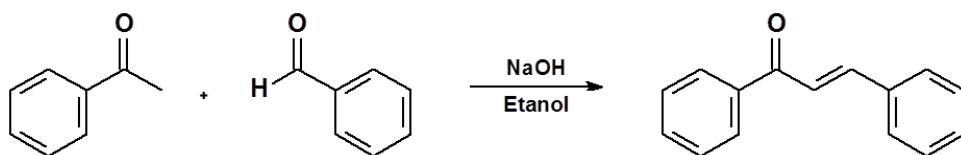
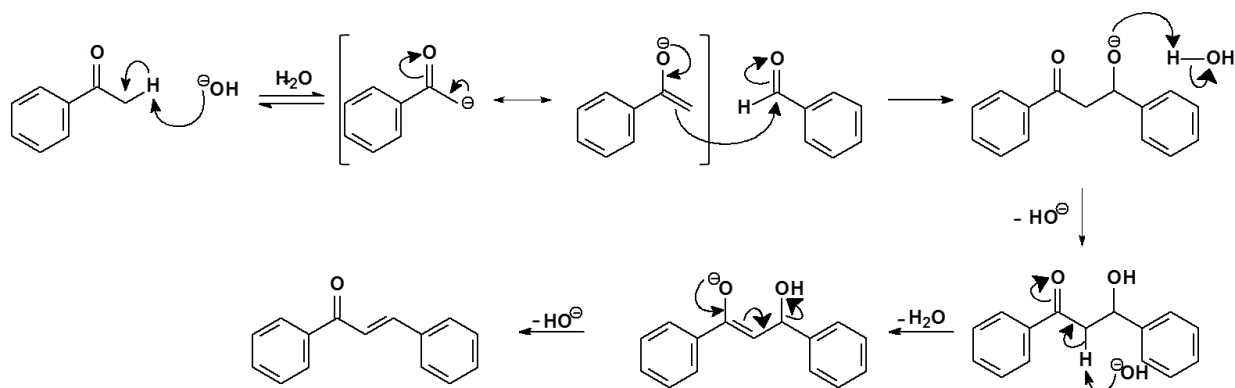


Figura 7 – Chalconas sintéticas com atividade citotóxica

Uma vasta gama de chalconas sintéticas tem sido explorada devido à flexibilidade na sua obtenção. A metodologia clássica utilizada compreende a condensação aldólica entre cetonas e aldeídos em meio alcalino alcoólico conhecido como reação de Claisen-Schmidt, representada no Esquema-1 (NARENDER, et al. 2011).

Esquema 1 – Modelo mecanístico da condensação de Claisen-Schmidt.





A obtenção de chalconas é orientada de acordo com os efeitos eletrônicos dos substituintes empregados nos anéis aromáticos que modulam a reatividade das carbonilas de aldeídos e cetonas (GOPALAKRISHNAN, et al. 2012), neste sentido a busca de metodologias que favoreçam a otimização de rendimentos são descritas de acordo com a influência do solvente, catalisador e o uso de equipamentos como micro-ondas e ultrassom (LAHYANI, et al. 2013; SHAKIL, et al. 2012; SUBRAMANIAN, et al., 2013).

As bases alcalinas são os catalisadores comumente utilizados, mas metodologias em meio ácido têm sido descritas, principalmente na presença de substituintes hidroxilas. O uso de cloreto de tionila (SOCl_2) em etanol à temperatura ambiente é relatado com rendimentos de 70-90% (PETROV, IVANOVA e GEROVA, 2007). Adicionalmente, a utilização de ácido silicotúngstico (RAJPUT e KAUR, 2011) e trifluoreto de boro-eterato (NARENDER e REDDY, 2007) são descritos com bons rendimentos em curtos períodos de reação.

Yu e colaboradores (2016), avaliando a influência do meio reacional, sintetizaram chalconas utilizando hidróxido de cálcio em etanol aquoso a 80% como melhor condição experimental. O uso da catálise heterogênea como metodologia promissora em química verde, pois permite a recuperação e reutilização dos catalisadores, é descrita pelo uso de carvão ativo e sílica gel dopados com ácidos ou bases (VALLE, et al. 2005; THIRUNARAYANAN e VANANGAMUNDI, 2006). Neste contexto, Khan e Siddiqui (2014) realizaram a síntese de chalconas com sílica gel dopada com piperidina em condições livres de solvente. Adicionalmente, a síntese de hidroxichalconas sob radiação ultrassônica catalisada com líquido iônico de BF_3 , desenvolvida por Qian e colaboradores, apresentou-se como método rápido, reaproveitável e com elevados rendimentos (QIAN, WANG e LIU, 2013). A síntese

sob radiação micro-ondas é uma alternativa rápida, eficaz e livre de solventes (DESHPANDE , et al. 2012; JIBING, et al. 2013). Um resumo com catalisadores utilizados para a síntese de chalconas são apresentados na Figura 8.

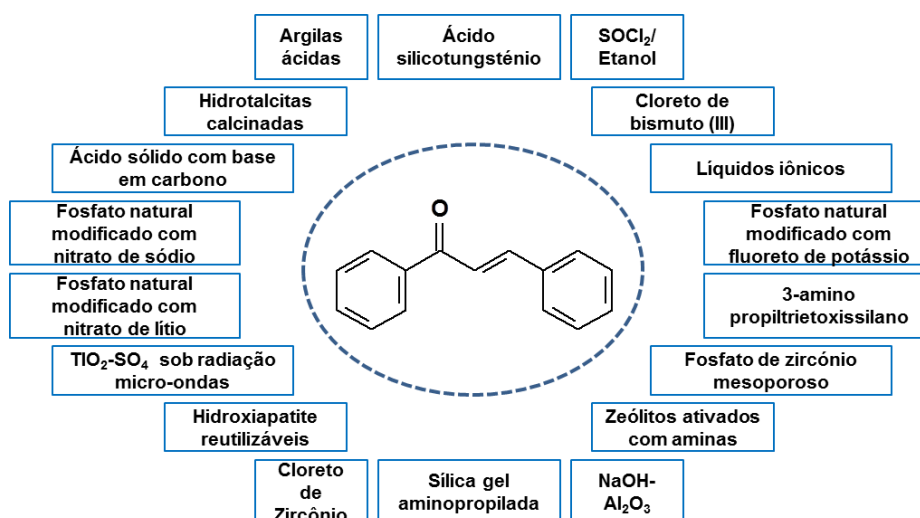


Figura 8 – Catalisadores utilizados na síntese de chalconas

Fonte: BUKHARI, et.al 2013

O líquido da casca da castanha do caju (LCC)

Na perspectiva do uso de compostos naturais que apresentam atividades biológicas, o líquido da casca da castanha do caju (LCC) tem atraído a atenção de pesquisadores por ser um recurso renovável de baixo custo e de versátil para transformações químicas (LEMES, et al., 2015; KANEHASHI, et al., 2015).

O LCC é um dos produtos da biomassa do caju presente na casca do fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e compreendendo 25% do peso da castanha *in natura*, considerado uma das fontes mais ricas em lipídeos fenólicos não-isoprenoides. O LCC constitui uma matéria prima, barata e de fácil acesso, e pode ser obtido diretamente da casca da castanha natural (LCC natural) ou como subproduto do beneficiamento da castanha (LCC técnico) (MAZZETO, et al., 2009).

No LCC natural a composição compreende misturas de quatro principais componentes: ácidos anacárdicos, cardóis, cardanóis e metilcardóis (Figura 9). Quimicamente seus derivados são fenóis com cadeia lateral de 15 carbonos na posição *meta* em relação ao fenol, que se diferenciam de acordo com suas insaturações, sendo monoenos (48-49%), dienos (16-17%) ou trienos (29-30%)

(VOIRIN, et al., 2014). No LCC técnico, o tratamento da castanha do caju a temperaturas acima de 200°C leva à descarboxilação da mistura de ácidos anacárdicos com formação de misturas de cardanóis e polímeros (AMORATI, et al. 2010). Do ponto de vista estrutural, estes derivados são quimicamente interessantes para modificações e funcionalizações (FOUQUET, et al. 2015).

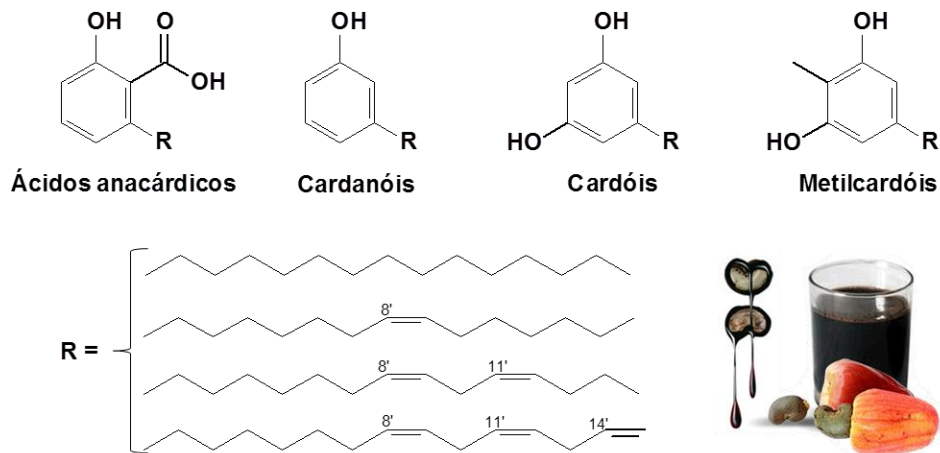


Figura 9 – Componentes do líquido da casca da castanha do caju

Adicionalmente, as características eletrônicas e hidrofóbicas dos derivados do LCC apresentam atributos estruturais relevantes ao reconhecimento molecular por diferentes alvos terapêuticos (CARNEIRO, et al., 2004). Estudos com ácido anacárdico sugerem sua capacidade de modular a via NF-κB, desempenhando atividade na inflamação e tumorigênese (SUNG, et al., 2008). Derivados sintéticos a partir do ácido anacárdico são relatados como ativadores e inibidores de histonas acetiltransferase, com elevado efeito apoptótico, representando uma classe promissora para o desenvolvimento de antineoplásicos (CHANDREGOWDA, KUSH e RDDY, 2009; LOGRADO, et al., 2010; SBARDELLA, et al., 2008)

No âmbito de pesquisas com produtos naturais visando a obtenção de antineoplásicos eficazes e com baixa toxicidade a partir de derivados de fácil obtenção e baixo valor agregado, como o líquido da casca da castanha do caju, o planejamento da síntese de novas chalconas a partir de aldeídos obtidos do cardanol constitui uma inovação que se apresenta viável no amplo espectro de compostos fitoquímicos candidatos a agentes quimioterápico e quimiopreventivo.

Objetivos

2.OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o emprego de lipídeos fenólicos do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) como matéria-prima, o presente estudo objetivou a utilização da mistura de cardanóis na obtenção racional de novas chalconas candidatas a agentes antiproliferativos.

2.1.1 Objetivos Específicos

Compreendem os objetivos específicos:

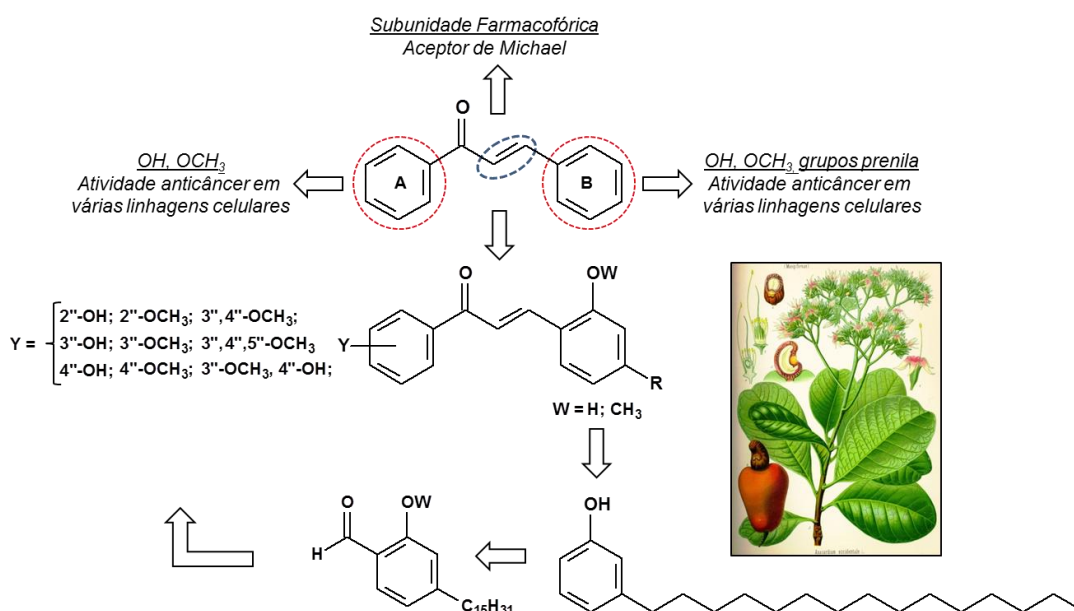
- Sintetizar e caracterizar intermediários e derivados-alvo;
 - Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos derivados-alvo frente a linhagens de células tumorais PC3, HCT116 e SF295.
 - Determinar a IC₅₀ para os derivados-alvo frente a diferentes linhagens de células tumorais
 - Determinar o índice de seletividade em fibroblasto murino (L929)
 - Determinar o potencial hemolítico dos derivados selecionados
-

Planejamento Estrutural

3. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Estudos de relação estrutura-atividade de chalconas indicam que substituintes hidroxilas e metoxilas, tanto no anel A como no B, modulam o potencial citotóxico destes compostos frente a diversas linhagens de células tumorais, uma vez que a subunidade prop-2-en-1-ona consiste na subunidade farmacofórica (GAN, 2013; KARTHINKEYAN, et al. 2015; ZENGER, 2015). Adicionalmente, estudo desenvolvido por Neto e colaboradores (2014) relata a atividade antiproliferativa da mistura de cardanóis insaturados frente à linhagem de células escamosas oral (OSCC-3) Neto et al, 2014). Neste sentido, os derivados-alvo foram delineados a partir da condensação entre acetofenonas hidroxiladas e metoxiladas com 2-metoxialdeídos, contendo cadeias laterais saturada e insaturada com 15 átomos de carbono planejadas a partir do LCC técnico de *Anacardium occidentale L.*, de modo a construir novas entidades químicas que a serem avaliadas quanto à atividade citotóxica (Esquema 2)

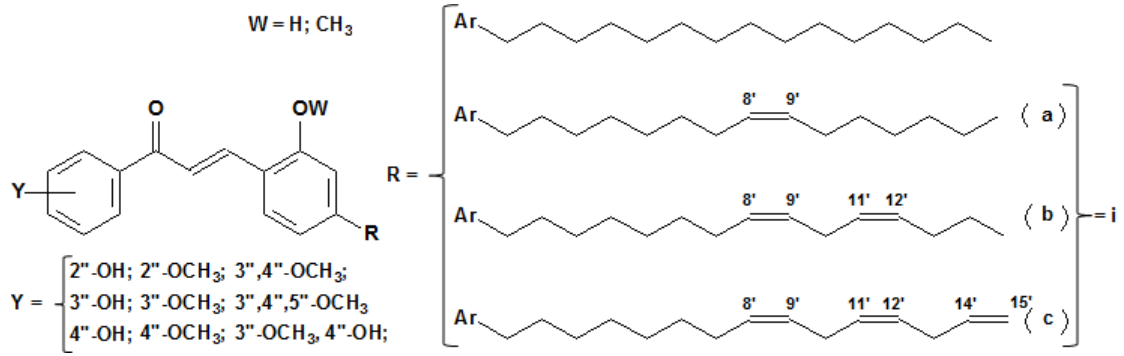
Esquema 2 – Planejamento sintético de novas pentadecilchalconas derivadas do cardanol saturado



Visando explorar as diferentes contribuições lipofílicas e estruturais da cadeia lateral do principal derivado no LCC técnico, o planejamento estrutural foi

complementado com a obtenção de novas chalconas derivadas da mistura de cadanoís com cadeias insaturadas de acordo com o Esquema 3.

Esquema 3 – Planejamento sintético de novas pentadecenilchalconas derivadas do cardanol saturado



Parte Experimental

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais em Síntese Orgânica foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas (LADETER) da Universidade Católica de Brasília e no Laboratório de Desenvolvimento de Inovações Terapêuticas (LDT) do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília no período de agosto de 2014 a junho de 2016.

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich[®] (EUA), Tedia[®] (EUA) e PanReac (Espanha). Tetraidrofurano (THF) e trietilamina (TEA) foram previamente tratados com hidreto de cálcio e destilados antes do uso.

As reações foram realizadas sob agitação magnética, à temperatura ambiente ou em aquecimento em banho de óleo, monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de sílica Kieselgel 60 F254 suportada em alumínio com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE[®]) reveladas em lâmpada de UV (254-365 nm), que permitiu o cálculo dos fatores de retenção (Rf). Quando necessário, os produtos foram revelados com solução alcoólica de FeCl₃ 20 % a fim de evidenciar a presença da hidroxila fenólica. Para a purificação dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna com fase fixa de gel de sílica G60 (70-230 mesh; 230-400 mesh, SILICYCLE[®]) bem como por meio do sistema de cromatografia flash em equipamento Isolera Spektra Systems with ACI[™] (Biotage[®]) em cartucho de sílica SNAP 10 g.

Os solventes foram evaporados à pressão reduzida utilizando evaporador rotatório Tecnal[®] TE-211, conectado a sistema de alto-vácuo com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg. Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados em aparelho digital de fusão MQAPF302.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H – 300 MHz ou 500 MHz) e carbono-13 (RMN de ¹³C – 75 MHz ou 125 MHz) foram obtidos em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500 do Centro Nordestino de Aplicação da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC), utilizando CDCl₃ ou DMSO-d₆ como solventes

e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); sinal largo (sl); duplete (d); duplo-duplete (dd); tripleto (t) e multiplete (m). A Figura 10 apresenta as estruturas Markush e numerações padronizadas visando facilitar a análise dos espectros.

Os espectros de infravermelho foram realizados na Central Analítica da Universidade Católica de Brasília (UCB), obtidos em Espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Spectrum BX, empregando pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou na forma de filme líquido em placa de cloreto de sódio (NaCl). Os valores para as absorções ($\nu_{\text{máx}}$) são referidos em números de ondas utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm^{-1}).

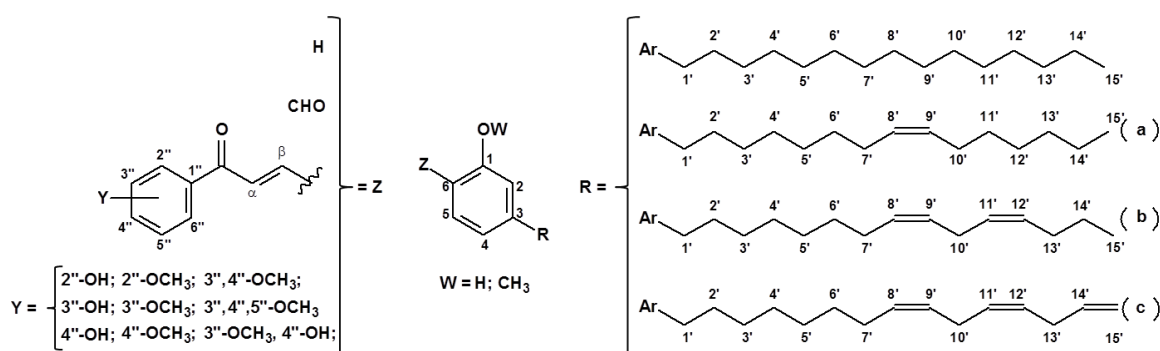


Figura 10 – Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em RMN ^1H e RMN ^{13}C .

A avaliação dos compostos-alvos quanto ao potencial citotóxico foi avaliada pelo método colorimétrico utilizando o reagente MTT (Mosman, 1983). As linhagens celulares de câncer humano utilizadas para triagem inicial foram: HL-60 (leucemia promielocítica), HCT-116 (carcinoma de cólon), PC3 (carcinoma de próstata). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos e mantidos em incubadora com atmosfera controlada, 37 °C e 5 % de CO₂.

As células neoplásicas foram plaqueadas em placas de 96 poços nas seguintes densidades (células/mL): 0,3 x 10⁶ (HL-60); 0,7 x 10⁵ (HCT-116); e 0,1 x 10⁶ (PC3). As amostras foram adicionadas e as placas foram incubadas por 72 h

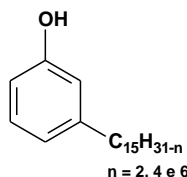
em estufa a 5 % de CO₂ a 37°C. As absorvâncias foram obtidas com o auxílio de um espectrofotômetro de placas a 595 nm.

Os compostos dissolvidos, conforme o peso, em DMSO na concentração estoque de 5 mg/mL. Os estoques foram mantidos sob refrigeração (- 20 °C) até o momento do uso. A maior concentração testada foi de 25 µg/mL para todos os compostos testados.

A determinação de concentração inibitória (IC₅₀) em linhagens de células tumorais bem como determinação do índice de seletividade, utilizando células L929 e, potencial hemolítico em células mononucleadas do sangue periférico (PBMC) foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média (DP) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism 5*. A avaliação biológica foi realizada no Laboratório de Oncologia Experimental (LOE) da Universidade Federal do Ceará.

4.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

4.2.1 Obtenção da Mistura de Cardanóis a Partir do LCC Técnico (LDT10i, 16)

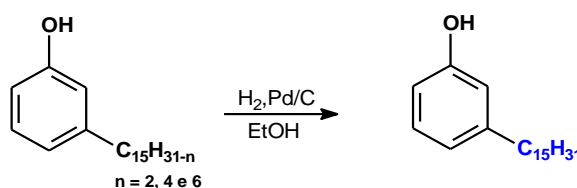


O LCC técnico adquirido da empresa RESIBRAS foi purificado por coluna cromatográfica em gel de sílica eluída com mistura de hexanos fornecendo a misturas de cardanóis em rendimento de 90% em relação à massa total aplicada.

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,89-0,95 (m, 3H, H15'a-b); 1,33-1,43 (m, 16H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,61 (sl, 2H, H2'a-c); 2,04-2,08 (m, 4H, 7'a-c, 10'a, 13b); 2,56 (t, J = 7,5 Hz; 2H, H1'a-c); 2,80-2,85 (m, 10'b-c, 13'c); 4,99-5,09 (m, 2H, H15'c); 5,37-5,46 (m, 3H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,79-5,87 (m, 14'c); 6,65-6,67 (m, 2H, H2, H6); 6,76 (d, J = 7,4 Hz, 1H, H4); 7,15 (t, J = 7,6 Hz, 1H, H5).

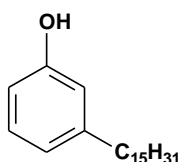
RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,0-14,3 (CH_3 , 15'a-b); 22,8-23,0 (CH_2 , 14'a-b); 25,8-25,9 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 27,4 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,5 (CH_2 , 2'a-c); 31,7-32,0 (CH_2 , 13'a); 36,0 (CH_2 , 1'a-c); 112,7 (CH , 6); 114,9 (CH , 15'c); 115,5 (CH , 2); 121,1 (CH , 4); 127,0-129,5 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,6 (CH , 5); 130,0-130,6 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 137,0 (CH , 14'c); 145,1 (C, 3); 155,7 (C, 1).

4.2.2. Obtenção do Derivado 3-Pentadecilfenol (LDT10, 17)



Em um frasco de hidrogenação (250,0 mL) foram adicionados 10,00 g da mistura de cardanóis insaturados **16** (~ 33,05 mmol), etanol (40,0 mL) e 0,25 g de catalisador Pd/C 10%. A mistura foi submetida à hidrogenação catalítica em reator Paar sob pressão de H_2 a 60 psi, à temperatura ambiente, durante 4 horas. Na sequência, a mistura foi filtrada em funil sinterizado, o solvente evaporado à pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica eluída com mistura hexano/diclorometano (50%:50%), fornecendo o derivado saturado **17**.

3-Pentadecilfenol (LDT10, 17)



Sólido branco

Rendimento (90%)

R_f: 0,35 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

Ponto de fusão: 44-45°C

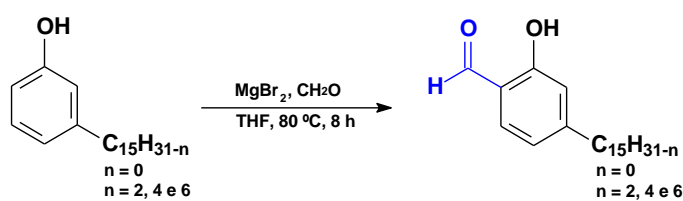
Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}$

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} : 3368 (ν_{OH}); 3065 ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); 2957 ($\nu^{\text{a}}_{\text{CH}_3}$); 2918 ($\nu^{\text{a}}_{\text{CH}_2}$); 2849 ($\nu^{\text{s}}_{\text{CH}_2}$); 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1628, 1569 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1471 ($\delta^{\text{s}}_{\text{CH}_2} + \delta^{\text{a}}_{\text{CH}_3}$); 1192 ($\nu_{\text{C-O}}$); 737 (τ_{CH_2}).

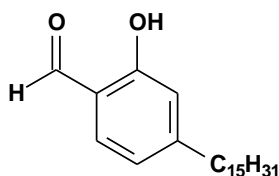
RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 0,92 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, H15'); 1,29-1,33 (m, 24H, H3'-14'); 1,60-1,61 (m, 2H, H2'); 2,58 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, H1'); 6,67-6,69 (m, 2H, H2, H6); 6,79 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, H4); 7,16 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, H5).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,5 (CH_2 , 2'); 32,2 (CH_2 , 13'); 36,0 (CH_2 , 1'); 112,8 (CH, 6); 115,6 (CH, 2); 121,2 (CH, 4); 129,5 (CH, 5); 145,2 (CH, 3); 155,6 (C, 1).

4.2.3 Obtenção do Derivado Hidróxipentadecilbenzaldeído (LDT77, 18) e da Mistura de Hidróxipentadec-8-en-, 8,11-dien-, 8,11,14-trienbenzaldeídos (LDT77i, 19)



Em um balão (250,0 mL) foram adicionados 10,00 g do fenol **17** (32,838 mmol) ou **16** (~ 33,058 mmol), trietilamina (2,00 eq.), brometo de magnésio (2,00 eq.) e tetrahidrofurano seco (150,0 mL), a mistura permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente durante 60 minutos. Em seguida, foi adicionado, cuidadosamente, paraformaldeído (3,00 eq.). O sistema reacional permaneceu em agitação magnética sob refluxo a 80 °C, equipado com sistema de resfriamento do condensador a – 10 °C, por 8 horas. Em seguida, sob banho de gelo, a mistura foi acidificada até pH 3,0 e extraída com acetato de etila (3 x 20,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução salina concentrada (20,0 mL) e secas em sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel sílica eluída com hexano e diclorometano (50%:50%) para o derivado LDT77 (**18**) ou hexano e acetato de etila (85%:15%) para a mistura LDT77i (**19**).

2-Hidróxi-4-pentadecilbenzaldeído (LDT77, **18**)

Sólido branco

Rendimento (84 %)

R_f: 0,73 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

Ponto de fusão: 48-50 °C

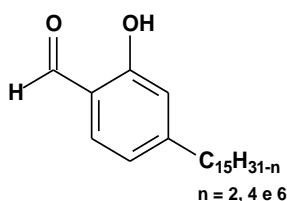
Fórmula molecular: C₂₂H₃₆O₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3196 (ν_{OH}); 3065 ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); 2957 ($\nu^{\text{a}}_{\text{CH}_3}$); 2918 ($\nu^{\text{a}}_{\text{CH}_2}$); 2849 ($\nu^{\text{s}}_{\text{CH}_2}$); 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1628, 1569 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1471 ($\delta^{\text{s}}_{\text{CH}_2} + \delta^{\text{a}}_{\text{CH}_3}$); 1192 ($\nu_{\text{C-O}}$); 737 (τ_{CH_2}).

RMN de ^1H (300 MHz; CDCl₃) δ : 0,89 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H, H15'); 1,26-1,30 (m, 24H, H3'-H14'); 1,60-1,65 (m, 2H, H2'); 2,62 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, H1'); 6,81 (sl, 1H, H2); 6,85 (dd, $J = 8,5$ Hz, $J = 1,3$ Hz, 1H, H4); 7,45 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 9,83 (s, 1H, OH); 11,05 (s, 1H, CHO).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl₃) δ : 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,4-29,9 (CH₂, 3'-12'); 30,9 (CH₂, 2'), 32,1 (CH₂, 13'), 36,6 (CH₂, 1'); 117,3 (CH, 2); 119,0 (CH, 6); 120,7 (CH, 4); 133,8 (CH, 5); 154,0 (C, 3); 162,0 (C, 1); 196,0 (C=O).

Mistura de derivados 2-Hidróxi-4-pentadec-8-en-, 8,11-dien, e 8,11,14-trienbenzaldeídos (LDT77i, **19**)



Óleo transparente

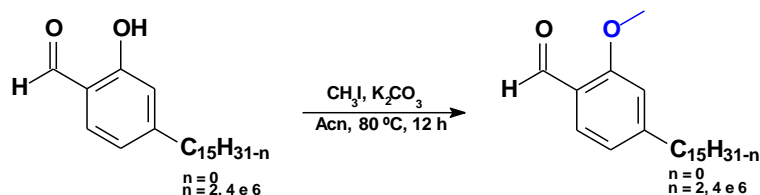
Rendimento (78 %)

R_f: 0,52 (Hex_{85%}: AcOEt_{15%})Fórmula molecular: C₂₂H₃₄O₂

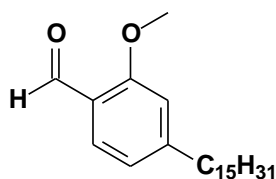
RMN de ^1H (CDCl₃; 300 MHz) δ : 0,86-0,94 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,43 (m, 13H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,59-1,64 (m, 2H, H2'a-c); 2,00-2,02 (m, 6H, H7'a-c, H10'a, H13b); 2,59-2,64 (m, 2H, H1'a-c); 2,76-2,83 (m, 2H; H10'b-c, H13'c); 4,97-5,07 (m, 2H, H15'c); 5,32-5,44 (m, 3H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H, 14'c); 6,80-6,84 (m, 2H, H2, H4); 7,44 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 9,83 (s, 1H, OH); 11,04 (s, 1H, CHO).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ : 14,3 (CH_3 , 15'a-b); 22,8-23,0 (CH_2 , 14'a-b); 25,8-25,9 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 27,4 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,1-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c, 11'-12'a); 30,8 (CH_2 , 2'a-c); 31,9 (CH_2 , 13'a); 36,6 (CH_2 , 1'a-c); 114,9 (CH , 15'c); 117,3 (CH , 2); 119,1 (C, 6); 120,7 (CH , 4); 127,0-130,5 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 133,7 (CH , 5); 137,0 (14'c); 154,0 (C, 3); 162,0 (C, 1); 196,0 ($\text{C}=\text{O}$).

4.2.4 Obtenção do Derivado Metóxicipentadecilbenzaldeído (LDT220, 20) e da Mistura de Metóxicipentadec-8-en-, 8,11-dien-, 8,11,14-trienbenzaldeídos (LDT220i, 21)



Em um balão (250,0 mL) foram adicionados os aldeídos LDT77 (**18**) (4,00 g; 12,029 mmol) ou LDT77i (**19**) (4,00 g; 12,102 mmol), carbonato de potássio (2,0 eq.) e iodeto de metila (2,5 eqv.) em acetona (100,0 mL). O sistema reacional foi submetido a refluxo, equipado com sistema de resfriamento do condensador a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação magnética, por 12 horas. Em seguida, a acetona foi evaporada à pressão reduzida e, ao resíduo, foi adicionada água destilada (20 mL) e a mistura resultante extraída com clorofórmio (3 x 15,0 mL). As frações orgânicas reunidas foram lavadas com solução de HCl 10% (20 mL), solução salina saturada (30,0 mL) e seca sob sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna de gel de sílica eluída com mistura hexano-diclorometano (50%:50%), fornecendo o derivado LDT220 (**10**) e a mistura LDT220i (**21**).

2-Metóxi-4-pentadecilbenzaldeído (LDT220, **20**)

Sólido branco

Rendimento (80 %)

R_f: 0,55 (Hex_{50%}: DCM_{50%})

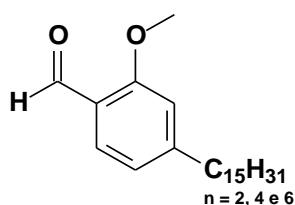
Ponto de fusão: 39-41 °C

Fórmula molecular: C₂₃H₃₈O₂

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (t, *J* = 6,2 Hz, 3H, H15'); 1,26-1,31 (m, 24H, H2'-H14'); 1,61-1,66 (m, 2H, H2'); 2,64 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H1'); 3,92 (s, 3H, OCH₃); 6,78 (s, 1H, H2); 6,85 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H4); 7,74 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H5); 10,40 (s, 1H, CHO).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 14,3 (CH₃, 15'); 22,8 (CH₂, 14'); 29,5-29,8 (CH₂, 3'-12'); 31,2 (CH₂, 2'), 32,1 (CH₂, 13'), 36,9 (CH₂, 1'); 55,7 (C1-OCH₃); 111,7 (CH, 2); 121,2 (CH, 4); 123,1 (CH, 6); 128,8 (CH, 5); 152,6 (C, 3); 162,2 (C, 1); 189,6 (C=O).

Mistura de 2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, e 8,11,14-trienilbenzaldeídos (LDT220i, **21**)



Óleo amarelo

Rendimento (71 %)

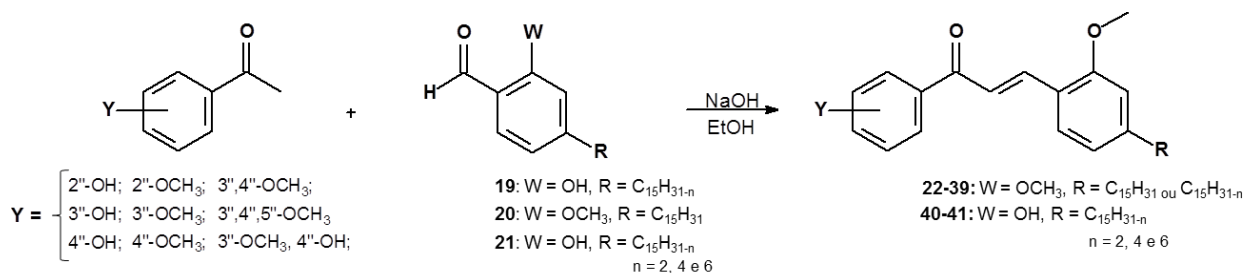
R_f: 0,46 (Hex_{50%}: DCM_{50%})Fórmula molecular: C₂₃H₃₈O₂

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,86-0,94 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,43 (m, 13H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,61-1,66 (m; 2H, H2'a-c); 2,01-2,05 (m, 6H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,64 (t, *J* = 7,5 Hz; 2H, H1'a-c); 2,78-2,83 (m, 2H; H10'b-c, 13'c) 3,89 (s, 3H, OCH₃); 4,96-5,08 (m, 2H, H15'c); 5,33-5,44 (m, 3H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H 14'c); 6,78 (s, 1H, H2); 6,84 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H4); 7,74 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H5); 10,40 (s, 1H, CHO).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 13,9-14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,8-22,9 (CH₂, 14'a-b); 25,7-25,9 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 27,3-27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,1-29,9 (CH₂, 3'-

6'a-c, 11'-12'a); 31,2 (CH₂, 2'a-c); 31,9 (CH₂, 13'a); 36,9 (CH₂, 1'a-c); 55,7 (C1-OCH₃); 111,7 (CH, 2); 114,9 (CH₂, 15'c); 121,2 (CH, 4); 123,1 (C, 6); 127,0-128,8 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,4 (CH, 5); 129,9-130,5 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 137,0 (CH, 14'c); 152,6 (C, 3); 162,2 (C, 1); 189,6 (C=O).

4.2.5 Obtenção das chalconas-alvo

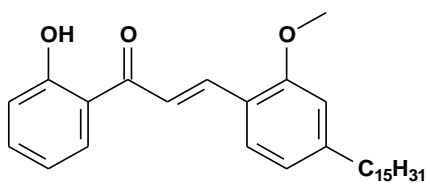


Em um balão (25 mL) foi adicionado a acetofenona correspondente (2 eq.) seguido da adição de solução etanólica de hidróxido de sódio 1,25 M (500 mg em 10 mL) e o sistema reacional permaneceu sob agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. Após esse tempo foi adicionado o aldeído **20** (1 eq.) e a reação permaneceu sob refluxo por 4 horas a 100 °C ou, individualmente, as misturas de aldeídos **19** ou **21** (~ 1eq.), permanecendo a reação sob agitação magnética, à temperatura ambiente por 16 horas. Após o resfriamento à temperatura ambiente, a mistura foi acidificada com solução HCl 10% até pH 3,0. Os compostos que precipitaram foram purificados por filtração a vácuo em funil de Büchner com etanol à frio. Os demais compostos, as fases orgânicas foram extraídas com clorofórmio (3 x 10,0 mL), lavadas com solução de salina concentrada (10,0 mL) e secas sob sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida, os compostos, individualmente foram purificados em coluna cromatográfica de gel de sílica eluída com mistura hexano-diclorometano (50%:50%) ou clorofórmio-etanol.

Para o derivado LDT550 (30) e a mistura e LDT550i (31)

Em um balão (25 mL) foi adicionado o LDT547 (**24**) ou LDT547i (**25**) (0, 215 mmol), carbonato de potássio (2 eq.), iodeto de metila (2 eq.) e acetona (10 mL). O sistema permaneceu sob agitação magnética à temperatura ambiente por 8 horas. Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida, a fase orgânica foi lavada com acetato de etila (3 x 10,0 mL), solução salina concentrada (10,0 mL) e secas em sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida, os compostos, foram purificados em coluna cromatográfica de gel de sílica eluída com mistura hexano-diclorometano (50%:50%).

(*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(2-hidróxifenil)prop-2-en-1-ona (LDT546, **22**):



Sólido amarelo

Rendimento (70 %)

R_f: 0,44 (Hex_{50%}: DCM_{50%})

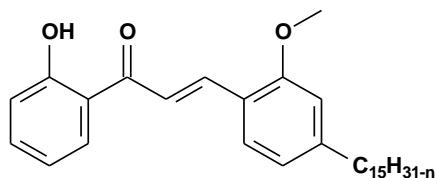
Ponto de fusão: 36-38 °C

Fórmula molecular: C₃₁H₄₄O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,89 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H, H15'); 1,27-1,34 (m, 24H, H3'-H14'); 1,63-1,66 (m, 2H, H2'); 2,63 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H1'); 3,92 (s, 3H, C1-OCH₃); 6,77 (s, 1H, H2); 6,83 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H4); 7,50 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, H3'', H5'') 7,54-7,58 (m, 2H, H5, H4''); 7,61 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hα); 8,02 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, H6''); 8,11 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,4 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH, 1'); 55,7 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 121,1 (CH, 4); 121,6 (CH, 1''); 122,0 (CH, α) 128,6 (3CH, 3'', 5'', 6''); 129,4 (CH, 5); 132,6 (CH, 4''); 138,9 (C, 6); 140,8 (CH, β); 148,0 (C, 3); 159,1 (2C, 1, 2''); 191,4 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(2-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT546i, **23**):



Óleo amarelo

Rendimento (77 %)

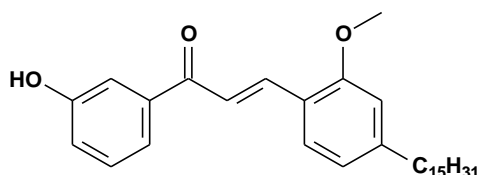
R_f: 0,60 (CHCl₃ 85%:EtOH₁₅%)

Fórmula molecular: C₃₁H₄₂O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,88-0,94 (m, 3H, H₁₅'a-b); 1,27-1,40 (m, 13H, H₃'-6'a-c', H₁₁'-14'a-b); 1,58-1,67 (m, 2H, H₂'a-c); 2,02-2,05 (m, 3H, H₇'a-c, 10'a, 13b); 2,65 (t, *J* = 7,6 Hz; 2H, H₁'a-c); 2,77-2,84 (m, 1H, H₁₀'b-c, 13'c); 3,95 (s, 3H, C1-OCH₃); 4,96-5,08 (m, 2H, H₁₅'c); 5,30-5,43 (m, 3H, H₈'-9'a-c, H₁₁'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H 14'c); 6,78 (s, 1H, H₂); 6,84 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H₄); 6,94 (dt, *J* = 7,63 Hz, *J* = 0,85 Hz, 1H, H₅''); 7,03 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H₃''); 7,49 (dt, *J* = 7,8 Hz, *J* = 1,4 Hz, 1H, H₄''); 7,56 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H₅); 7,76 (d, *J* = 15,6 Hz 1H, H_α); 7,93 (dd, *J* = 6,9 Hz, *J* = 1,2 Hz, 1H, H₆''); 8,22 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H, H_β); 13,02 (s, 1H, OH).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,9 (CH₂, 14'a-b); 25,9 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 27,3-27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 32,0 (CH₂, 13'a); 36,7 (CH₂, 1'a-c); 55,8 (C1-OCH₃); 111,7 (CH, 2); 118,7 (CH, 3''); 118,9 (CH, 5''); 119,9 (CH, α); 120,5 (C, 1''); 121,2 (CH, 4); 121,4 (C, 6); 129,9-130,2 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c, 5, 6''); 136,1 (C, 4''); 141,6 (CH, β); 148,5 (C, 3); 159,4 (C, 1); 163,8 (C, 2''); 194,5 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(3-hidróxifenil)prop-2-en-1-ona (LDT547, **24**):



Sólido amarelo

Rendimento (29 %)

R_f: 0,53 (CHCl₃ 85%:EtOH₁₅%)

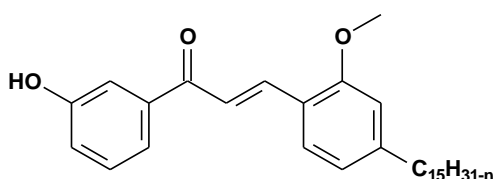
Ponto de fusão: 80-83 °C

Fórmula molecular: C₃₁H₄₄O₃

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ : 0,90 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, H15'); 1,27-1,33 (m, 24H, H3'-H14'); 1,62-1,64 (m, 2H, H2'); 2,62 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, H1'); 3,89 (s, 3H, C1-OCH₃); 6,74 (s, 1H, H2''); 6,80 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H4); 7,14 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H4''); 7,35 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, H5''); 7,51 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H6''); 7,55-7,61 (m, 2H, H5 e H α); 7,69 (s, 1H, H2''); 8,12 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H β).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,4 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH₂, 1'); 55,7 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 115,5 (CH, 2''); 120,4 (CH, 4''); 121,0 (CH, 6''); 121,2 (CH, 4); 121,5 (C, 6); 121,9 (CH, α); 129,6 (CH, 5); 129,9 (CH, 5''); 140,1 (C, 1''); 140,6 (CH, β); 148,3 (C, 3); 156,8 (C, 3''); 159,9 (C, 1); 192,0 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT547i, **25**):



Óleo amarelo

Rendimento (68 %)

R_f: 0,48 (CHCl_3 85%:EtOH_{15%})

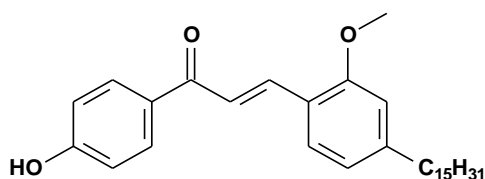
Fórmula molecular: C₃₁H₄₂O₃

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 300 MHz) δ : 0,86-0,94 (m, 3H, H15'a-b); 1,27-1,42 (m, 13H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,63 (sl, 2H, H2'a-c); 2,03-2,05 (m, 2H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,62 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, H1'a-c); 2,79-2,83 (m, 1H, H10'b-c, H13'c); 3,89 (s, 3H, C1-OCH₃); 4,99-5,09 (m, 2H, H15'c); 5,34-5,43 (m, 2H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H 14'c); 6,73 (sl, 1H, H2); 6,80 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H4); 7,13 (dd, $J = 7,9$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H, H4''); 7,35 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H, H5''); 7,51 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H6''); 7,55-7,62 (m, 2H, H5 e H α); 7,68 (s, 1H, H2''); 8,12 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H β).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ : 14,0-14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,8-23,0 (CH₂, 14'a-b); 25,7-25,8 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 26,9-27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 31,7-31,9 (CH₂, 13'a); 36,6 (CH₂, 1'a-c); 55,7 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 114,9 (CH₂, 15'c); 115,5 (CH, 2''); 120,4 (CH, 4''); 121,0 (CH, 6''); 121,1 (CH, 4); 121,5 (C, 6); 121,9 (CH, α); 127,0-128,4 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c);

129,5 (CH, 5); 129,7-130,3 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 130,5 (CH, 5''); 137,0 (CH, 14'c); 140,1 (C, 1''); 141,6 (CH, β); 148,2 (CH, 3); 156,8 (C, 3''); 159,2 (C, 1); 191,9 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(4-hidróxifenil)prop-2-en-1-ona (LDT548, **26**):



Sólido amarelo

Rendimento (34 %)

R_f: 0,44 (CHCl₃ 85%:EtOH_{15%})

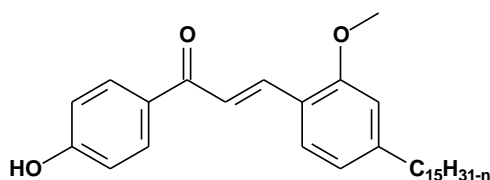
Ponto de fusão: 128-130 °C

Fórmula molecular: C₃₁H₄₄O₃

RMN de ¹H (DMSO; 500 MHz) δ : 0,89 (sl, 3H, H15'); 1,27 (sl, 12H, H3'-H14'); 1,64 (sl, 2H, H2'); 2,60-2,66 (m, 2H, H1'); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 6,76 (sl, 1H, H2); 6,82 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H, H4); 6,88-6,94 (m, 2H, H3'', H5''); 7,54 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, 5); 7,60 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, H α); 8,00 (sl, 2H, H2'', H6''); 8,09 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H β).

RMN de ¹³C (DMSO; 125 MHz) δ : 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,5 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH₂, 1'); 55,7 (C1-OCH₃); 111,7 (CH, 2); 115,6 (CH, 3'', 5''); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 6); 121,9 (CH, α); 129,4 (CH, 5); 131,3 (CH, 2'', 6''); 140,3 (CH, β); 147,9 (C, 3); 159,1 (C, 1); 159,9 (C, 4''); 189,9 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(4-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT548i, **27**):



Óleo amarelo

Rendimento (45 %)

R_f: 0,53 (CHCl₃ 85%:EtOH_{15%})

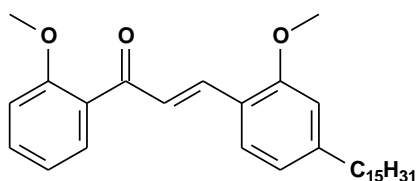
Fórmula molecular: C₃₁H₄₂O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ : 0,87-0,94 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,40 (sl, 16H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,61-1,63 (m, 2H, H2'a-c); 2,01-2,04 (m, 3H, H7'a-c, H13'b); 2,62

(t, $J = 7,4$ Hz, 2H, H1'a-c); 3,89 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H, C1-OCH₃); 4,99-5,09 (m, 2H, H15'c); 5,33-5,44 (m, 3H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H, 14'c); 6,75 (sl, 1H, H2); 6,81 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H4); 6,96 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H3'', H5''); 7,53 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 7,61 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H α); 7,99 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H2'', H6''); 8,10 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H β).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ : 14,0-14,2 (CH₃, 15'a-b); 22,8-23,0 (CH₂, 14'a-b); 25,8-25,9 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 27,3-27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 31,7-31,9 (CH₂, 13'a); 36,6 (CH₂, 1'a-c); 55,7 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 114,9 (CH, C15'c); 115,7 (CH, 3'' e 5''); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 6); 121,9 (CH, α); 127,0-129,1 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,4 (CH, 5); 129,9-130,6 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 131,4 (CH, 2'' e 6''); 137,0 (CH, 14'c); 140,5 (CH, β); 147,9 (C, 3); 159,1 (C, 1); 160,8 (C, 4''); 190,4 (C=O).

(2E)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(2-metóxi-4-fenil)prop-2-en-1-ona (LDT549, **28**):



Sólido amarelo

Rendimento (71 %)

R_f: 0,46 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

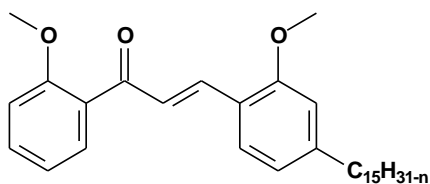
Ponto de fusão: 43-45 °C

Fórmula molecular: C₃₂H₄₆O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ : 0,89 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H, H15'); 1,27-1,33 (m, 24H, H3'-H14'); 1,61-1,63 (m, 2H, H2'); 2,62 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, H1'); 3,87 (C2''-OCH₃); 3,89 (C1-OCH₃); 6,73 (s, 1H, H2); 6,80 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H4); 6,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H3''); 7,03 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H5''); 7,38 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H, H α); 7,45 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H, H4''); 7,49 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 7,60 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H, H6''); 7,92 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H β).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ : 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,6-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,4 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH₂, 1'); 55,6 (C2''-OCH₃); 55,9 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 111,8 (CH, 3''); 120,8 (CH, α); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 1''); 126,9 (CH, 5''); 129,0 (CH, 5); 130,0 (C, 6); 130,4 (CH, 6''); 132,5 (CH, 4''); 139,5 (CH, β); 147,7 (C, 3); 158,1 (C, 1); 158,9 (C, 2''); 194,0 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(2-metóxi-fenil)prop-2-en-1-onas (LDT549i, **29**):



Óleo amarelo

Rendimento (44 %)

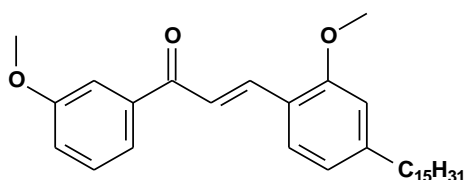
R_f: 0,44 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

Fórmula molecular: C₃₂H₄₄O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,86-0,92 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,32 (m, 20H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,63-1,67 (m, 2H, H2'a-c); 2,01-2,03 (m, 4H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,62 (s, 15H, H1'a-c, H10'b-c, H13'c); 3,89 (s, 3H, C2''-OCH₃); 3,92 (s, 3H, C1-OCH₃); 5,30-5,37 (m, 3H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 6,73 (sl, 1H, H2); 6,79 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H4); 7,38 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, Hα); 7,42-7,50 (m, 4H, H5, H3'', H4'', H5''); 7,74 (dd, *J* = 7,6 Hz, *J* = 1,6 Hz, 1H, H6''); 7,92 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,8 (CH₂, 14'a-b); 27,2 (CH₂, 7'a-b, 10'a-b, 13'b); 29,4-29,9 (CH₂, 3'-6'a-b, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 31,9 (CH₂, 13'a); 36,6 (CH₂, 1'a-b); 55,7 (C1-OCH₃); 55,9 (C2''-OCH₃); 111,5 (CH, 2); 111,9 (CH, 3''); 120,8 (CH, α); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 1''); 126,9 (CH, 5''); 128,6 (CH, 5''); 129,0 (CH, 5); 129,9-130,5 (CH, 8'-9'a-b, 11'-12'b, 6); 132,5 (CH, 4''); 139,4 (CH, β); 147,7 (C, 3); 158,1 (C, 1); 158,9 (C, 2''); 193,8 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(3-metóxi-fenil)prop-2-en-1-ona (LDT550, **30**):



Óleo amarelo

Rendimento (25 %)

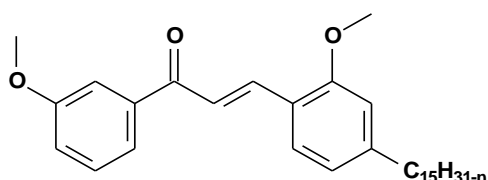
R_f: 0,55 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

Fórmula molecular: C₃₂H₄₆O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,89 (t, *J* = 6,4 Hz, 3H, H15'); 1,27-1,33 (m, 24H, H3'-H14'); 1,63-1,64 (m, 2H, H2'); 2,57-2,65 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H1'); 3,88 (s, 3H, C3''-OCH₃); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 6,76 (sl, 1H, H2); 6,83 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H4); 7,09-7,12 (m, 1H, H4''); 7,38-7,42 (m, 1H, H5''); 7,54-7,61 (m, 4H, H5, H2'', H6'', Hα); 8,11 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,4 (CH_2 , 2'); 31,8 (CH_2 , 13'); 36,5 (CH_2 , 1'); 55,6 ($\text{C}3''\text{-OCH}_3$); 55,7 ($\text{C}1\text{-OCH}_3$); 111,5 (CH , 2); 112,8 (CH , 2''); 120,5 (CH , 4''); 121,0 (CH , 6''); 121,2 (CH , 4); 121,6 (C , 6); 122,1 (CH , α); 129,6 (CH , 5); 130,0 (CH , 5''); 140,1 (C , 1''); 140,9 (CH , β); 148,0 (C , 3); 159,1 (C , 1); 160,0 (C , 3''); 191,2 ($\text{C}=\text{O}$).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3-metóxi-fenil)prop-2-en-1-onas (LDT550i **31**):



Óleo amarelo

Rendimento (59 %)

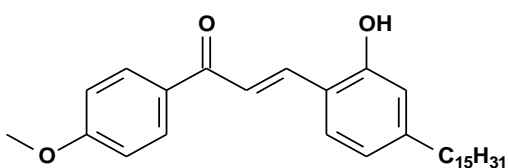
R_f: 0,53 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

Fórmula molecular: $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_3$

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ : 0,88-0,93 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,40 (m, 15H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,64-1,66 (m, 2H, H2'); 2,03-2,07 (m, 4H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,63 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, H1'a-c); 2,78-2,84 (m, 2H, H10'b-c, H13'c); 3,89 (s, 3H, C3''-OCH₃); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 4,98-5,07 (m, 2H, H15'c); 5,36-5,45 (m, 2H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,80-5,85 (m, 1H, H14'c); 6,76 (sl, 1H, H2); 6,83 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H4); 7,12 (dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 1,9$ Hz, 1H, H4''); 7,40 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, H5''); 7,54-7,61 (m, 4H, H5, H2'', H6'', H α); 8,11 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H β).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,3 (CH_3 , 15'a-b); 22,9-23,0 (CH_2 , 14'a-b); 25,8-25,9 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 27,4 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c e 11'-12'a); 31,4 (CH_2 , 2'a-c); 31,7-32,0 (CH_2 , 13'a); 36,6 (CH_2 , 1'a-c); 55,5 ($\text{C}3''\text{-OCH}_3$); 55,7 ($\text{C}1\text{-OCH}_3$); 110,8 (CH , 2); 112,8 (CH , 2''); 114,9 (CH_2 , 15'c); 119,8 (CH , 6''); 120,4 (CH , 4''); 121,1 (CH , 4); 121,6 (C , 6); 121,9 (CH , α); 127,0-128,4 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,5 (CH , 5); 129,6-130,3 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 130,5 (CH , 5''); 137,0 (CH , 14'c); 140,3 (C , 1''); 140,9 (CH , β); 148,2 (CH , 3); 159,0 (C , 1); 160,0 (C , 3''); 191,9 ($\text{C}=\text{O}$).

(2E)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(4-metóxi-3-hidróxifenil)prop-2-en-1-ona (LDT551, **32**):



Sólido amarelo

Rendimento (63 %)

R_f: 0,42 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

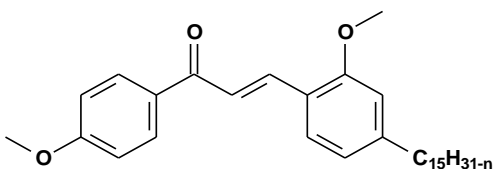
Ponto de fusão: 52-54 °C

Fórmula molecular: C₃₂H₄₆O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,89 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H, H15'); 1,26-1,33 (m, 24H, H3'-H14'); 1,64 (sl, 2H, H2'); 2,63 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H1'); 3,89 (s, C4''-OCH₃); 3,91 (s, C1-OCH₃); 6,75 (s, 1H, H2); 6,82 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H4); 6,98 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H3'' e H5''); 7,54 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H5); 7,61 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hα); 8,03 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H2'' e H6''); 8,09 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,4 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH₂, 1'); 55,6 (C4''-OCH₃); 55,7 (C1-OCH₃); 111,6 (CH, 2); 113,9 (CH, 3'', 5''); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 6); 121,9 (CH, α); 129,4 (CH, 5); 130,9 (CH, 2'', 6''); 131,8 (C, 1''); 139,9 (CH, β); 147,7 (C, 3); 159,0 (C, 1); 163,3 (C, 4''); 189,6 (C=O).

Mistura de (2E)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(4-metóxi-3-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT551i, **33**):



Óleo amarelo

Rendimento (61 %)

R_f: 0,42 (Hex_{50%}:DCM_{50%})

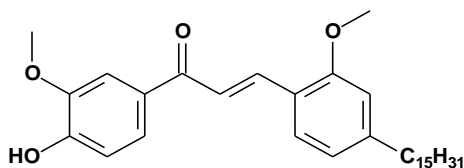
Fórmula molecular: C₃₂H₄₄O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,87-0,94 (m, 3H, H15'a-b); 1,33 (sl, 11H, H3'-6'a-c', H11'-14'a e H14'b); 1,64 (sl, 2H, H2'a-c); 2,03 (sl, 2H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,62 (t, *J* = 7,5 Hz, H1'a-c); 2,78 (sl, 1H, H10'b-c, H13'c); 3,88 (s, 3H, C4''-OCH₃); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 4,99-5,09 (m, 2H, H15'c); 5,36-5,42 (m, 2H, H8'-9'a-c e H11'-12'b-c); 5,33-5,35 (m, 1H, H14'c); 6,75 (sl, 1H, H2); 6,82 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H4); 6,97 (d, *J* =

8,8 Hz, 2H, H3" e H5"); 7,54 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 7,61 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H, H α); 8,03 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H2" e H6"); 8,08 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H β).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ : 14,2 (CH_3 , 15'a-b); 22,8 (CH_2 , 14'a-b); 25,7-25,8 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 26,4-27,4 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,4-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH_2 , 2'a-c); 31,7-31,9 (CH_2 , 13'a); 36,5 (CH_2 , 1'a-c); 55,5 (C1-OCH_3); 55,6 ($\text{C4}''\text{-OCH}_3$); 111,6 (CH , 2); 113,9 (CH , 3", 5"); 121,1 (CH , 4); 121,9 (C , 6); 122,0 (CH , α); 127,0-129,3 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,4 (CH , 5); 129,9-130,8 (CH , 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 130,9 (CH , 2", 6"); 131,1 (C , 1"); 139,9 ($\text{C}\beta$); 147,6 (C , 3); 159,0 (C , 1); 163,4 (C , 4"); 189,6 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(3-metóxi-4-hidróxifenil)prop-2-en-1-ona
(LDT552, **34**):



Sólido alaranjado

Rendimento (40 %)

R_f : 0,57 (CHCl_3 85% : EtOH 15%)

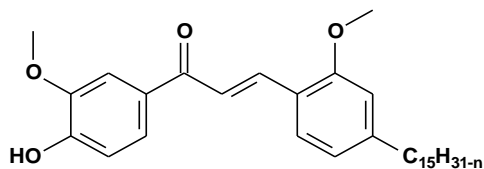
Ponto de fusão: 80-82 °C

Fórmula molecular: $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_4$

RMN ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ : 0,89 (sl, 3H, H15'); 1,26-1,33 (sl, 24H, H3'-H14'); 1,62-1,64 (m, 2H, H2'); 2,64 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, H1'); 3,92 (s, C1-OCH_3); 3,99 ($\text{C3}''\text{-OCH}_3$); 6,11 (s, 1H, H2"); 6,76 (s, 1H, H2); 6,83 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H4); 6,99 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, H5"); 7,55 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H5); 7,60-7,64 (m, 2H, 6" e H α); 8,09 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H, H β).

RMN ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,3 (CH_3 , 15'); 22,9 (CH_2 , 14'); 29,6-29,9 (CH_2 , 3'-12'); 31,5 (CH_2 , 2'); 32,1 (CH_2 , 13'); 36,6 (CH_2 , 1'); 55,7 (C1-OCH_3); 56,3 ($\text{C3}''\text{-OCH}_3$); 110,8 (CH , 2"); 111,6 (CH , 2); 113,9 (CH , 5"); 121,1 (CH , 4); 121,8 (C , 6); 123,7 (CH , α); 129,4 (CH , 5); 139,9 (CH , β); 146,9 (C , 3"); 147,7 (C , 3); 150,3 (C , 4"); 159,0 (C , 1); 189,5 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3-metóxi-4-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT552i, **35**):



Óleo amarelo

Rendimento (51 %)

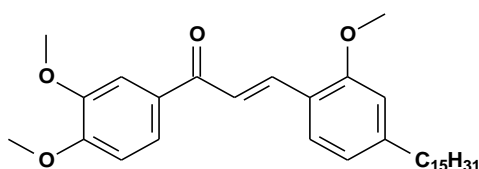
R_f: 0,55 (CHCl₃ 85%:EtOH_{15%})

Fórmula molecular: C₃₂H₄₄O₄

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,86-0,93 (m, 3H, H15'a-b); 1,26-1,42 (m, 11H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,63 (sl, 2H, H2'a-c); 2,02-2,04 (m, 3H, H7'a-c, 10'a, 13b); 2,63 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H1'a-c); 2,78-2,83 (m, 1H, H10'b-c, H13'c); 3,88 (s, 3H, C3"-OCH₃); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 4,99-5,07 (m, 2H, H15'c); 5,33-5,42 (m, 2H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,79-5,84 (m, 1H, H14'c); 6,75 (s, 2H, H2 e H2"); 6,81 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H4); 6,99 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H5"); 7,53 (m, 1H, H5); 7,57-7,65 (m, 1H, Hα, H6"); 8,07 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,9 (CH₂, 14'a-b); 25,8-25,9 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 31,7-31,9 (CH₂, 13'a); 36,6 (CH₂, 1'a-c); 55,7 (C1-OCH₃); 56,3 (C3"-OCH₃); 110,8 (CH, 2"); 111,6 (CH, 2); 113,7 (CH, 5"); 114,9 (CH₂, C15'c); 121,1 (CH, 4); 121,9 (C, 6); 123,7-124,2 (CH, α); 129,4 (CH, 5); 129,9-130,6 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 131,7 (CH, 6"); 139,9 (CH, β); 147,7 (CH, 4); 146,9 (C, 3"); 150,3 (C, 4"); 159,0 (C, 1); 189,6 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(3,4-metóxifenil)prop-2-en-1-ona (LDT553, **36**):



Sólido amarelo

Rendimento (54 %)

R_f: 0,62 (CHCl₃ 85%:EtOH_{15%})

Ponto de fusão: 31-33°C

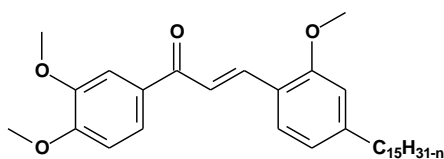
Fórmula molecular: C₃₃H₄₈O₄

RMN de ¹H (CDCl₃; 500 MHz) δ: 0,88 (t, *J* = 6,3 Hz, 3H, H15'); 1,26-1,32 (m, 24H, H3'-H14'); 1,61-1,64 (m, 2H, H2'); 2,63 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H1'); 3,91 (s, 3H,

C1OCH₃); 3,97-3,96 (m, 6H, C3'',C4''OCH₃); 6,75 (sl, 1H, H₂); 6,82 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H₄); 6,92 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H_{5''}); 7,55 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H₅); 7,61 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H, H_α); 7,62 (s, 1H H_{2''}); 7,68 (dd, $J = 8,4$ Hz, $J = 1,9$ Hz, 1H, H_{6''}); 8,09 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H_β).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 125 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'); 22,9 (CH₂, 14'); 29,5-29,9 (CH₂, 3'-12'); 31,4 (CH₂, 2'); 32,1 (CH₂, 13'); 36,6 (CH₂, 1'); 55,7 (C1-OCH₃); 56,2 (C3'',4''-OCH₃); 110,2 (CH, 5''); 111,2 (CH, 2''); 111,6 (CH, 2); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 6); 123,0 (CH, α); 129,3 (CH, 5); 132,0 (C, 1''); 139,9 (CH, β); 147,7 (C, 3); 149,3 (C, 3''); 153,2 (C, 4''); 159,0 (C, 1); 189,6 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3,4-metóxi-fenil)prop-2-en-1-onas (LDT553i, **36**):



Óleo amarelo

Rendimento (24 %)

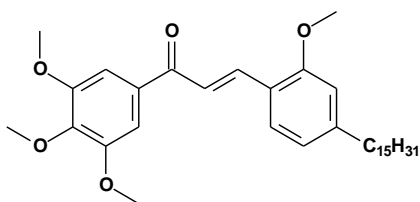
R_f: 0,53 (CHCl₃ 85%; EtOH₁₅%)

Fórmula molecular: C₃₃H₄₆O₄

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,86-0,91 (m, 3H, H_{15'a-b}); 1,27-1,33 (m, 11H, H_{3'-6'a-c'}, H_{11'-14'a-b}); 1,61-1,64 (m, 2H, H_{2'a-c}); 2,01-2,03 (m, 2H, H_{7'a-c}, 10'a, 13b); 2,63 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, H_{1'a-c}); 2,78-2,83 (m, 1H, H_{10'b-c}, H_{13'c}); 3,91 (s, 3H, C1-OCH₃); 3,96-3,97 (m, 6H, C_{3'',4''}-OCH₃); 4,99-5,07 (m, 2H, H_{15'c}); 5,29-5,40 (m, 2H, H_{8'-9'a-c}, H_{11'-12'b-c}); 6,76 (sl, 1H, H₂); 6,83 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H₄); 6,93 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H_{2''}); 7,55 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H₅); 7,58-7,63 (m, 1H, H_α, H_{6''}); 7,68 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H_{6''}); 8,09 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H, H_β).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,8 (CH₂, 14'a-b); 27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH₂, 2'a-c); 31,9 (CH₂, 13'a); 36,6 (CH₂, 1'a-c); 55,7 (C1-OCH₃); 56,2-56,3 (3'', 4''-OCH₃); 110,3 (CH, 5''); 111,3 (CH, 2''); 111,6 (CH, 2); 121,1 (CH, 4); 121,8 (C, 6); 123,1 (CH, α); 129,4 (CH, 5); 129,9-130,2 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 132,0 (C, 1''); 139,9 (CH, β); 147,7 (C, 3); 149,3 (C, 3''); 153,2 (C, 4''); 159,0 (C, 1); 189,6 (C=O).

(2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadecilfenil)-1-(3,4,5-metóxi-fenil)prop-2-en-1-ona (LDT554, **38**):



Óleo amarelo

Rendimento (33 %)

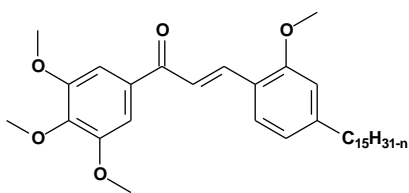
R_f: 0,48 (CHCl₃ 85%; EtOH_{15%})

Fórmula molecular: C₃₄H₅₁O₅

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,89 (t, *J* = 5,7 Hz, 3H, H15'); 1,27-1,33 (m, 24H, H3'-H14'); 1,63 (sl, 2H, H2'); 2,59-2,66 (m, 2H, H1'); 3,92 (s, 3H, C1-OCH₃) 3,94-3,95 (m, 9H, C3'',4'',5''-OCH₃); 6,76 (s, 1H, H2); 6,84 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H4); 7,52 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hα); 7,54 (s, 1H, H5); 7,56 (s, 1H, H2''); 8,09 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 14,1 (CH₃, 15'); 22,7 (CH₂, 14'); 29,4-29,7 (CH₂, 3'-12'); 31,3 (CH₂, 2'); 31,9 (CH₂, 13'); 36,4 (CH₂, 1'); 55,5 (C1-OCH₃); 56,4-61,0 (3'',4'',5''-OCH₃); 106,2 (CH, 2' e 5''); 111,5 (CH, 2); 121,0 (CH, 4); 121,5 (C, 6); 121,9 (CH, α); 129,2 (CH, 5); 134,0 (CH, 1''); 140,6 (CH, β); 147,8 (C, 3); 153,1 (C, 3'',4'',5''); 158,9 (C, 1); 190,2 (C=O).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3,4,5-metóxi-fenil)prop-2-en-1-onas (LDT554i, **39**):



Óleo amarelo

Rendimento (43 %)

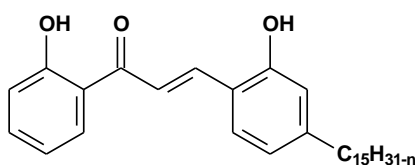
R_f: 0,42 (CHCl₃ 85%; EtOH_{15%})

Fórmula molecular: C₃₄H₅₁O₅

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,87-0,92 (m, 3H, H15'a-b); 1,27-1,34 (m, 11H, H3'-6'a-c', H11'-14'a-b); 1,63 (sl, 2H, H2'a-c); 2,02-2,05 (m, 2H, H1'a-c); 2,64 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H1'a-c); 2,78-2,83 (m, 1H, H10'b-c, H13'c); 3,92 (s, 3H, C1-OCH₃); 3,95 (m, 9H, 3'',4'',5''-OCH₃); 4,99-5,07 (m, 2H, H15'c); 5,30-5,37 (m, 2H, H8'-9'a-c, H11'-12'b-c); 5,78-5,86 (m, 1H, 14'c); 6,77 (sl, 1H, H2); 6,84 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, 1H, H4); 7,52 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hα); 7,54 (s, 1H, H6''); 7,56 (s, 1H, H2''); 8,09 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, Hβ).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 75 MHz) δ : 14,2 (CH_3 , 15'a-b); 22,8 (CH_2 , 14'a-b); 25,7-25,8 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 27,3-27,4 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,1-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,4 (CH_2 , 2'a-c); 31,9 (CH_2 , 13'a); 36,6 (CH_2 , 1'a-c); 55,7 (OCH_3 , 1); 56,3-61,1 (OCH_3 , 3'',4'' e 5''); 111,6 (CH , 2); 121,1 (CH , 5); 121,7 (CH , α); 122,9 (C , 6); 129,3-130,2 (CH , 8'-9'a-c e 11'-12'b-c) 134,2 (CH , 2'' e 6''); 140,7 (CH , β); 142,4 ($\text{C}5''$); 147,9 ($\text{C}4''$); 153,3 ($\text{C}2''$); 159,0 ($\text{C}1$); 190,3 ($\text{C}=\text{O}$).

(2*E*)-3-(2-Hidróxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(2-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT283i, **40**):



Óleo amarelo

Rendimento (22 %)

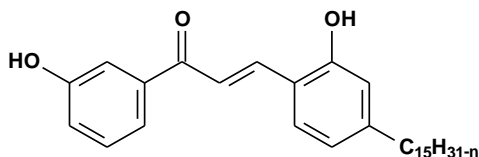
R_f: 0,57 (CHCl_3 85%: EtOH₁₅ %)

Fórmula molecular: $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_3$

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 500 MHz) δ : 0,89-0,92 (m, 3H, H_{15'a-b}); 1,23-1,32 (m, 16H, H_{3'-6'a-c'}, H_{11'-14'a-b}); 1,61-1,67 (m, 2H, H_{2'a-c}); 2,02-2,04 (m, 7'a-c, 10'a, 13'b); 2,58 (m, 1H, H_{1'a-c}); 2,77-2,84 (m, 2H, H_{10'b-c}, H_{13'c}); 4,99-5,07 (m, 2H, H_{15'c}); 5,36-5,44 (m, 2H, H_{8'-9'a-c}, H_{11'-12'b-c}); 5,72 (m, 1H 14'c); 6,67 (s, 1H, H₂); 6,82 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H₄); 6,94 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, H_{5''}); 7,03 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H_{3''}); 7,51 (t, 2H, $J = 7,7$ Hz, 1H, H_{4''}); 7,82 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, H α); 7,94 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H_{6''}); 8,18 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, H β).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 125 MHz) δ : 14,1-14,4 (CH_3 , 15'a-b); 22,9-23,1 (CH_2 , 14'a-b); 25,8-25,9 (CH_2 , 10'b-c, 13'c); 27,4-27,5 (CH_2 , 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH_2 , 3'-6'a-c e 11'-12'a); 31,2 (CH_2 , 2'a-c); 31,7-32,0 (CH_2 , 13'a); 36,1 (CH_2 , 1'a-c); 114,9 (CH , 14'c); 116,7 (CH , 2); 118,8 (CH , 3''); 119,0 (CH , 4); 119,8 (C , 1''); 120,3 (CH , 6''); 120,5 (C , 6); 121,9 (CH , α); 130,2 (CH , 5''); 130,3-130,6 (CH , 8'-9'a-c e 11'-12'b-c); 136,4 (CH , 4''); 141,4 (CH , β); 148,5 (C , 3); 155,9 (C , 1); 163,8 (C , 2''); 194,7 ($\text{C}=\text{O}$).

Mistura de (2*E*)-3-(2-Metóxi-4-pentadec-8-en, 8,11-dien, 8,11,14-trienilfenil)-1-(3-hidróxifenil)prop-2-en-1-onas (LDT284i, **41**)



Óleo amarelo

Rendimento (51%)

R_f: 0,44 (CHCl₃ 85%:EtOH₁₅ %)

Fórmula molecular: C₃₀H₄₂O₃

RMN de ¹H (CDCl₃; 300 MHz) δ: 0,88-0,92 (m, 3H, H₁₅'a-b); 1,30-1,57 (sl, 16H, H₂'-6'a-c', H₁₁'-14'a-'b); 2,01-2,06 (m, 7'a-c, 10'a, 13'b); 2,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H₁'a-c); 2,70-2,83 (m, 4H, 10'b-c, 13'c); 4,98-5,08 (m, 2H, H₁₅'c); 5,32-5,45 (m, 2H, H₈'-9'a-c, H₁₁'-12'b-c); 5,80-5,85 (m, 1H 14'c); 6,71 (s, 2H, H₂ e H₄); 6,75 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₄); 7,09 (dd, *J* = 7,9 Hz, *J* = 1,8 Hz, 1H, H₄''); 7,34 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H₅''); 7,45 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H₆''); 7,56 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H₆''); 7,58 (s, 1H, H₂''); 7,62 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, H_α); 8,13 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, H_β).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 75 MHz) δ: 14,0-14,3 (CH₃, 15'a-b); 22,9-23,0 (CH₂, 14'a-b); 25,8-25,9 (CH₂, 10'b-c, 13'c); 27,4 (CH₂, 7'a-c, 10'a, 13'b); 29,2-29,9 (CH₂, 3'-6'a-c, 11'-12'a); 31,1 (CH₂, 2'a-c); 31,7-32,0 (CH₂, 13'a); 36,1 (CH₂, 1'a-c); 114,9 (CH, 14'c); 115,5 (CH, 2''); 116,2 (CH, 2); 119,9 (C, 6); 120,4 (CH, 4''); 121,3 (CH, 4); 121,5 (C, 6''); 121,8 (CH, α); 127,1-128,4 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 129,5 (CH, 5''); 129,9-130,6 (CH, 8'-9'a-c, 11'-12'b-c); 130,6 (CH, 5''); 139,9 (CH, β); 142,0 (C, 1''); 148,4 (C, 3); 156,2 (C, 1); 156,5 (C, 3''); 192,6 (C=O).

4.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Uma vez sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos, todos os derivados e produtos finais (**16-41**) foram submetidos a ensaios citotoxicidade pelo método MTT.

4.3.3 Ensaio de MTT

As células foram plaqueadas em densidades apropriadas conforme disposto na Tabela 01. As placas foram incubadas com as substâncias por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. Após a incubação as placas foram novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT. A absorbância foi lida em espectrofotômetro de placa a um comprimento de onda de 595 nm, após completa dissolução do precipitado de formazan com 150 µL de DMSO puro.

Tabela 1 – Linhagens celulares, descrição e densidade de plaqueamento.

Linhagem celular	Descrição	Densidade de plaqueamento (cells/mL)
HCT116	Carcinoma de cólon	0,7 x10 ⁵
SW620	Adenocarcinoma de cólon	0,1 x10 ⁶
HL60	Leucemia aguda promielocítica	0,3 x10 ⁶
K562	Leucemia crônica	0,3 x10 ⁶
PC3	Adenocarcinoma de próstata	0,1 x10 ⁶
PC3M	Adenocarcinoma de próstata metástático	0,1 x10 ⁶
PC9	Carcinoma de pulmão de células pequenas	0,1 x10 ⁶
NCI-H460	Carcinoma de pulmão de células pequenas	0,1 x10 ⁶
SF295	Glioblastoma	0,1 x10 ⁶
HepG2	Hepatocarcinoma	0,1 x10 ⁶
L929	Fibroblasto murinho não cancerígeno	0,1 x10 ⁶

4.3.4 Índice de Seletividade

O índice de seletividade (IS) de um compostos (IC₅₀ célula não cancerígenal)/(IC₅₀ células cancerígena) expressa a especificidade dos do compostos a células cancerígenas em detrimento a células não tumorais (BADISA et al. 2009). Para a determinação do índice de seletividade a linhagem não tumoral utilizada foi o fibroblasto murino (L929).

4.3.5 Potencial Hemolítico

O potencial hemolítico foi determinado com eritrócitos remanescentes de coleta de sangue para isolamento e cultivo de células mononucleadas do sangue periférico

(PBMC). Os eritrócitos foram lavados e ressuspensos em solução salina para se obter uma suspensão de células a 2%. As células foram plaqueadas em placas de 96 poços e os compostos testes foram adicionados em concentrações que variaram de 0,122 a 125 µg/mL. Triton X-100 (1 %) foi utilizado como controle positivo e o controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO. Após 1 h de incubação e sob agitação constante à temperatura ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$), as placas foram centrifugadas (5000 rpm/3 min) e o sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro de placa a 540 nm, para a quantificação da hemoglobina liberada.

4.3.6 Análise Estatística

Para a determinação da IC_{50} (concentração capaz de inibir 50 % do crescimento celular) as absorbâncias das amostras foram analisadas utilizando-se o logaritmo das concentrações testadas por regressão não-linear.

O percentual de hemólise foi determinado a partir da comparação com o controle positivo hemolítico (triton 1%), considerando a média das replicatas.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

O planejamento sintético visando a obtenção de novas chalconas a partir do LCC técnico compreendeu a exploração de procedimentos clássicos de conversão de grupos funcionais, tais como, hidrogenação catalítica, *orto*-formilação, *O*-alquilação e condensação de Claisen-Schmidt, em condições experimentais à temperatura ambiente ou sob aquecimento convencional.

5.1.1 Obtenção da Mistura de Cardanóis (LDT10i, 16)

A mistura de cardanóis foi obtida em rendimento de 90% – em relação à massa de LCC técnico utilizada – após purificação em coluna de gel de sílica eluída com mistura de hexanos com acetato de etila e foi caracterizada por RMN de ^1H e de ^{13}C .

A análise dos espectros de RMN revelou a presença dos derivados monoeno (a, C8'-C9'), dieno (b, C8'-C9' e C11'-C12') e trieno (c, C8'-C9', C11'-C12' e C14'-C15'). Os hidrogênios alílicos 7'a-c, 10'a e 13b foram assinalados como multipletos na faixa entre 2,04 a 2,08 ppm em RMN de ^1H , corroborados pelos sinais em 27,4 ppm em RMN de ^{13}C . Os hidrogênios bis-alílicos 10'b-c e 13'c foram identificados como multipletos na faixa de 2,80 a 2,85 ppm, confirmados no espectro de RMN de ^{13}C pelos sinais na faixa de 25,8 a 25,9 ppm. Os metilidenos 8'-9'a-c e 11'-12'b-c foram observados como multipletos na faixa de 5,37 a 5,46 ppm no espectro de RMN de ^1H e observados no espectro de carbono 13 nas faixas de 127,0 a 129,5 ppm e 130,0 a 130,6 ppm. O grupo metilideno 14'c foi identificado como multipletos na faixa de 5,79 a 5,87 ppm RMN de ^1H e confirmado pelo sinal em 137,0 ppm em RMN de ^{13}C . Por sua vez, o grupo metileno terminal 15'c foi assinalado como multipletos entre 4,99 e 5,09 ppm e 114,9 ppm nos mesmos espectros.

Considerando os átomos de carbono saturados, os grupos metila (15'a-b) foram identificados como multipletos na faixa de 0,89 a 0,94 ppm em RMN de ^1H , bem como a presença de sinais na faixa de 14,0 a 14,3 ppm em RMN de ^{13}C . Os

grupos metileno 3'-6'a-c, 11'-14'a e 14'b foram assinalados como sinal largo na faixa entre 1,33 e 1,43 ppm em RMN de ^1H e pelos sinais entre 29,2 e 30,0 ppm para 3'-6'a-c e 11'-12'a; 31,7-32,0 ppm para 13a e 22,7 a 23,0 ppm para 14'a-b em RMN de ^{13}C . Finalmente, o tripleto em 2,58 ppm e o sinal largo em 1,60 ppm em RMN de ^1H foram associados aos respectivos metilenos 1'-2'a-c e corroborados pelos assinalamentos em 31,5 e 36,0 ppm em RMN de ^{13}C .

Os grupos metilideno aromáticos 2, 4 e 5a-c foram identificados pelos assinalamentos entre 6,78 e 7,76 ppm em RMN de ^1H e confirmados pelos sinais entre 112,7 a 129,6 ppm em RMN de ^{13}C , enquanto os carbonos quaternários foram observados em 145,1 ppm para 3a-c e 155,7 ppm para 1a-c no mesmo espectro (Anexo 01, pág 103).

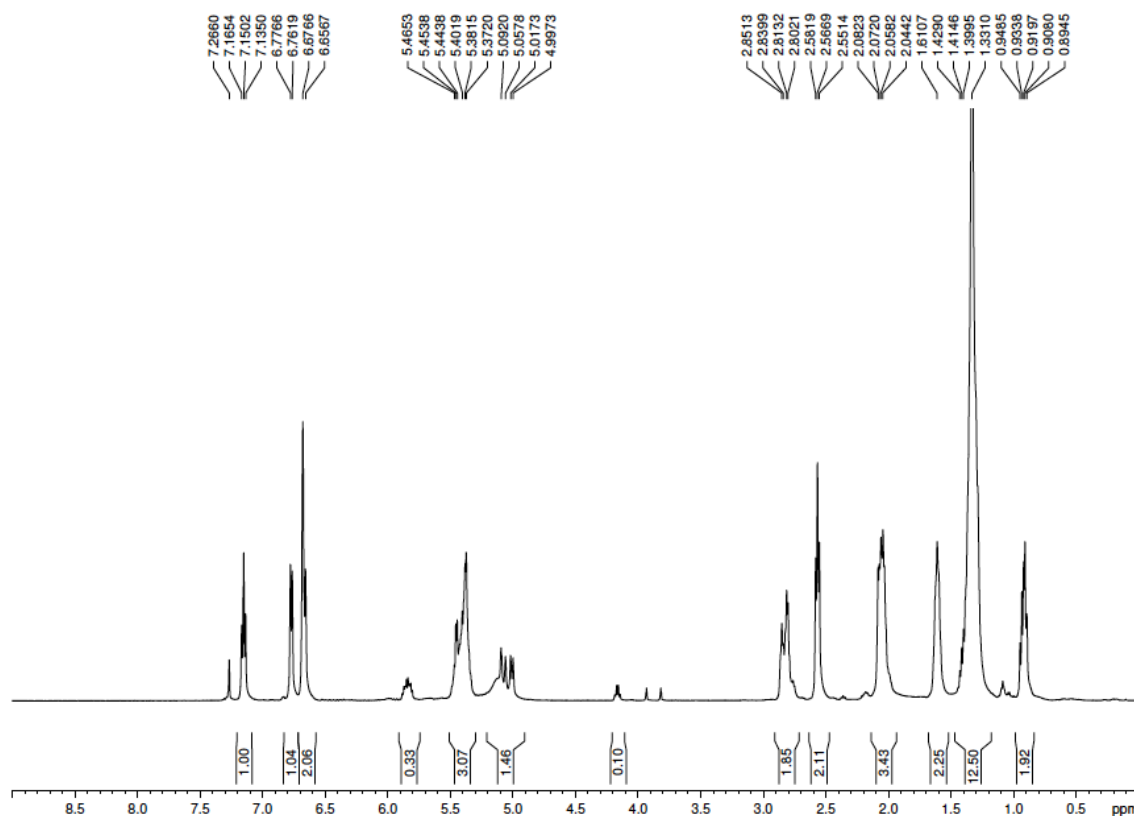


Figura 11 – Espectro de RMN ^1H da Mistura de Cardanóis (LDT10i, 16)

5.1.2 Obtenção do Cardanol Saturado (LDT10, 17)

O derivado cardanol saturado (LDT10, 17) foi obtido em 90% de rendimento a partir da hidrogenação catalítica da mistura de cardanóis (LDT10i, 16) com Pd/C em etanol e pressão de 60 psi à temperatura ambiente.

O composto **17** foi caracterizado pela ausência dos assinalamentos referentes às duplas ligações dos derivados monoeno (a, C8'-C9'), dieno (b, C8'-C9' e C11'-C12') e trieno (c, C8'-C9', C11'-C12' e C14'-C15'), com manutenção dos grupos metilidênicos aromáticos (Figura 12).

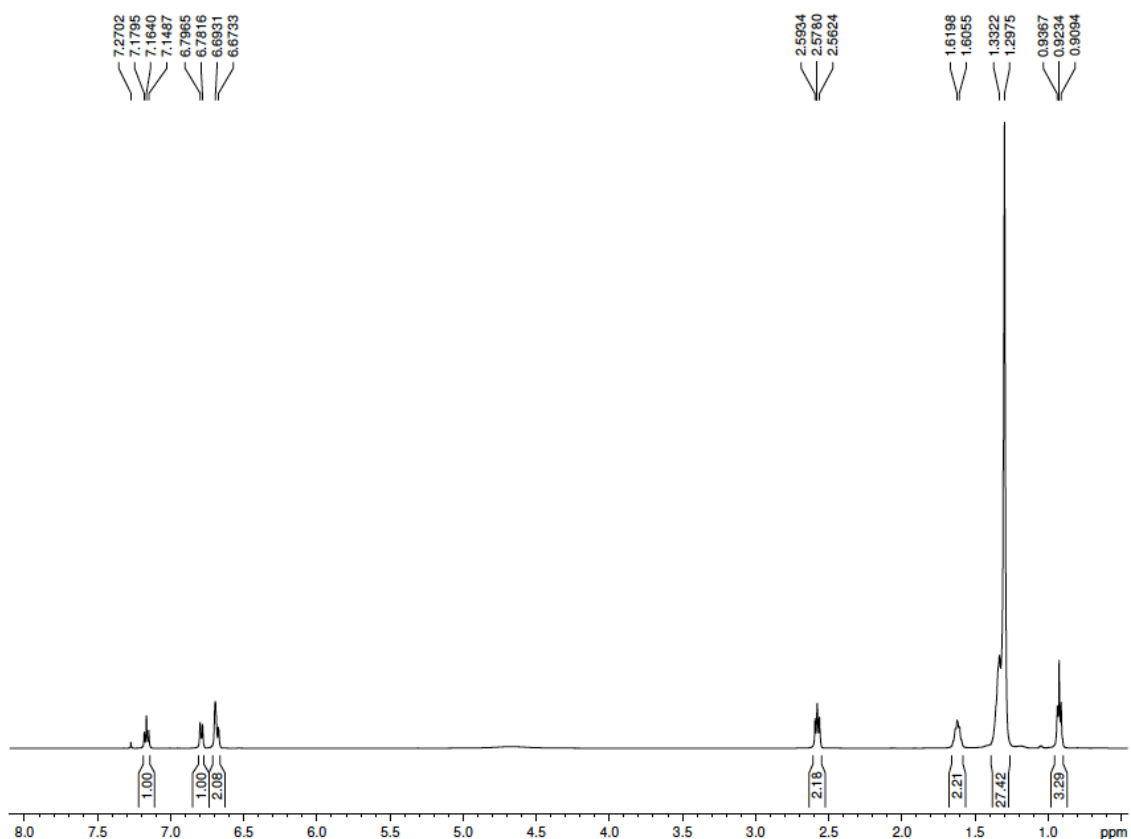


Figura 12 – Espectro de RMN ^1H do Cardanol (LDT10, **17**)

Desta forma, o grupo metila 15' foi identificado como tripleto em 0,92 ppm em RMN de ^1H e confirmado em 14,3 ppm em RMN de ^{13}C . Os grupos metilenos 3'-14' foram assinalados na faixa de 1,39 a 1,33 ppm em RMN de ^1H e pelos deslocamentos químicos em 22,9 ppm (14'); 29,6 a 29,9 ppm (3'-12'); e 32,1 ppm (13') em RMN de ^{13}C . Os grupos metilenos benzílico (1') e fenético (2') foram observados como tripleto em 2,58 ppm e multiplete entre 1,60 a 1,62 ppm em RMN de ^1H e confirmados pelos respectivos sinais em 36,1 e 31,5 ppm em RMN de ^{13}C . (Anexo 04, pág 106).

Os assinalamentos dos grupos metilideno aromáticos 2, 4 e 5 foram observados pelos sinais entre 6,68 e 7,17 ppm em RMN de ^1H e confirmados pelos sinais entre 112,7 a 129,6 ppm em RMN de ^{13}C . Por sua vez, os carbonos

quaternários 3 e 1 foram respectivamente assinalados em 145,2 ppm e 155,6 ppm no mesmo espectro (Anexo 05, pág 107).

5.1.3 Obtenção do Derivado Hidroxipentadecilbenzaldeído (LDT77, 18) e da Mistura de Hidroxipentadecenilbenzaldeído (LDT77i, 19)

O derivado LDT10 (17) e a mistura LDT10i (16) foram submetidos, individualmente, às reações de *orto*-formilação (HOFLOKKEN e SKATTEBOL, 1999) com brometo de magnésio, paraformaldeído e trietilamina em THF, levando ao aldeído LDT77 (18) caracterizado como um sólido branco em 84% de rendimento e a mistura de aldeídos LDT77i (19) caracterizado como óleo amarelo com rendimento de 78%. Estas reações apresentaram única mancha em CCD (Rf 0,73 e 0,62 Hex_{50%}:DCM_{50%}, respectivamente) sugerindo a formação de produto regioespecífico na posição *orto* menos impedida (6), e confirmada pelo padrão de substituição nos espectros de RMN de ¹H. Os grupos aldeído de 18 e 19 foram caracterizados pelos sinais em RMN de ¹H em 11,05 ppm e corroborados pelo sinal 196,0 ppm no espectro de RMN de ¹³C (Anexos 06 e 09, Pág. 108 e 111). Adicionalmente, um simpleto em 9,83 ppm no espectro de RMN de ¹H foi associado às hidroxilas fenólicas em ligação de hidrogênio intramolecular (LHi) com os átomos de oxigênio das carbonilas, conferindo planaridade e caráter mais hidrofóbico aos produtos.

Adicionalmente as constantes de acoplamento *J*, contribuem para a confirmação da regioesletividade, onde a substituição *para* é caracterizada pela presença de duplo dupletos na faixa de 1-3 Hz referentes aos hidrogênios aromáticos, que não foram observados nos derivados 18 e 19.

Os metilidenos aromáticos foram assinalados como simpleto largo em 6,81 ppm (2), duplo-duplete em 6,83 ppm (4) – pelo acoplamento *orto* com 5 e *meta* com 2 – e duplete em 7,45 ppm (5) em RMN de ¹H e confirmados pelos sinais em 117,3 ppm (4), 120,7 ppm (4) e 133,8 ppm (5) em RMN de ¹³C. Por sua vez, os carbonos quaternários foram identificados em 119,1 ppm (6), 154,0 ppm (3) e 162,0 ppm (1) (Anexos 06 e 09 , Pág. 108 e 111)

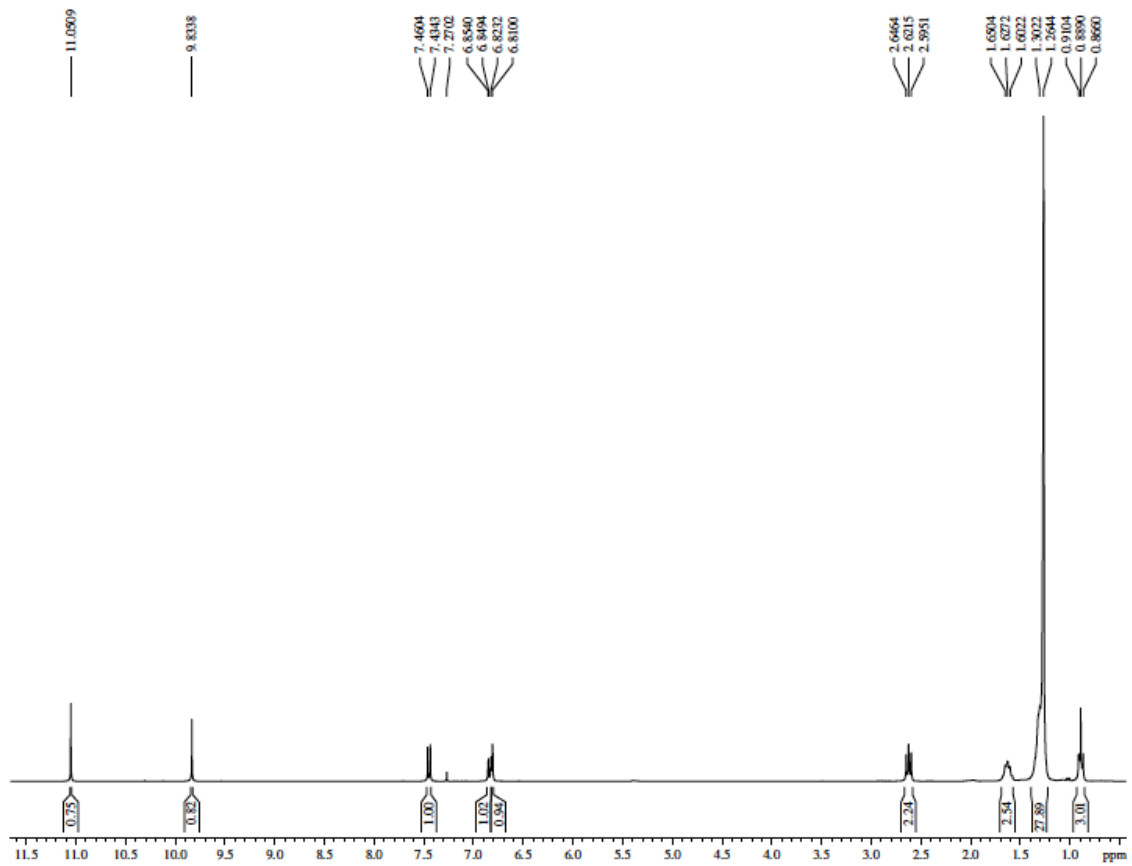


Figura 13 – Espectro de RMN ^1H do Aldeído LDT77 (18)

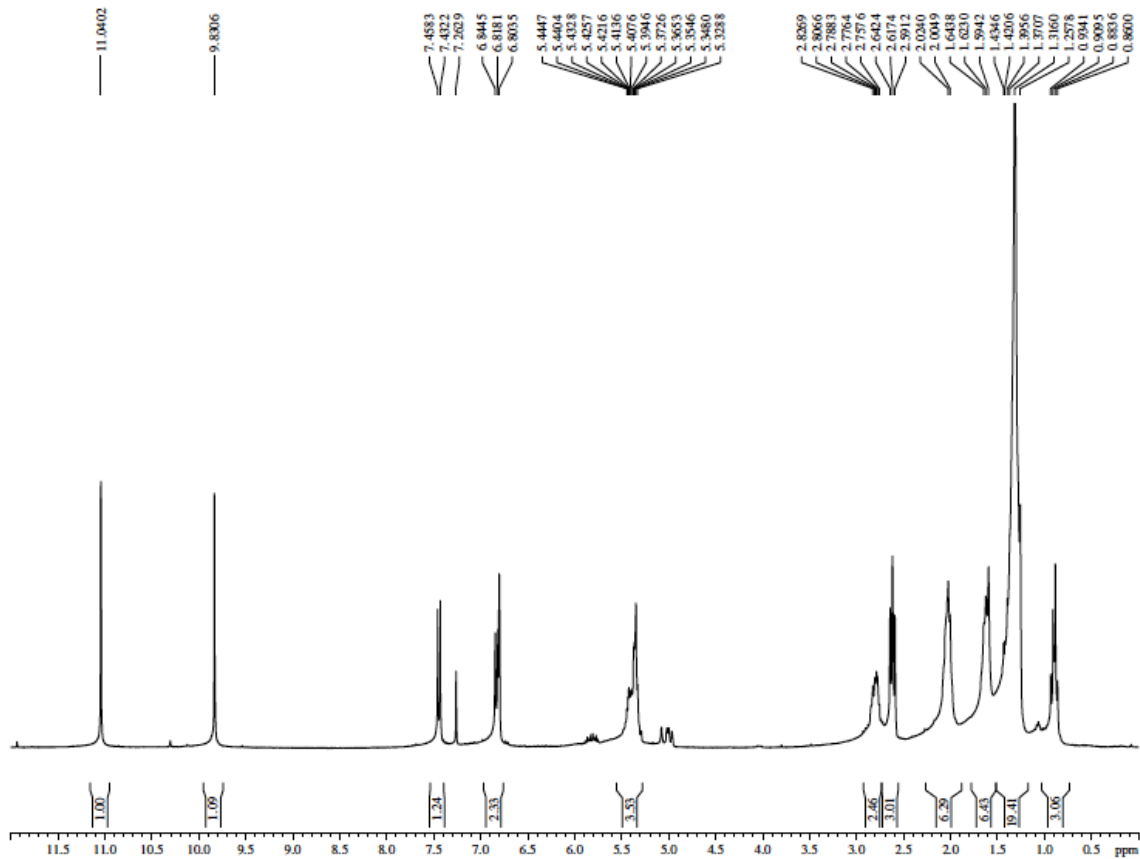


Figura 14 – Espectro de RMN ^1H da Mistura de Aldeídos LDT77i (19)

5.1.4 Obtenção do Derivado Metoxipentadecilbenzaldeído (LDT220, **20**) e da Mistura de Metoxipentadecenilbenzaldeído (LDT220i, **21**)

O derivado LDT220 (**20**) e a mistura LDT220i (**21**) foram obtidos a partir da reação de *O*-alquilação dos referentes salicilaldeídos LDT77 (**18**) e LDT77i (**19**) com iodeto de metila, K_2CO_3 em acetona sob refluxo. O derivado **20**, com cadeia saturada, foi obtido como sólido branco em rendimento de 80%, enquanto a mistura **21** foi obtida como óleo amarelo em rendimento de 71%. Os metoxibenzaldeídos intermediários foram caracterizados pela presença de única mancha em CCD (Rf 0,55 e 0,41 Hex_{50%}:DCM_{50%}, respectivamente), apresentando maior polaridade que o precursor LDT77 em face da não planaridade causada pela presença do grupo metoxila. Os grupos metila de **20** e **21** foram assinalados como respectivos simpletos em 3,92 e 3,89 ppm em seus espectros de RMN de 1H e confirmados pelo sinal em 55,7 ppm em RMN de ^{13}C (Anexo 11 e 13, Pág. 113 e 115). Adicionalmente, foi observada a ausência do sinal em 9,83 ppm (RMN de 1H) referente à LHi.

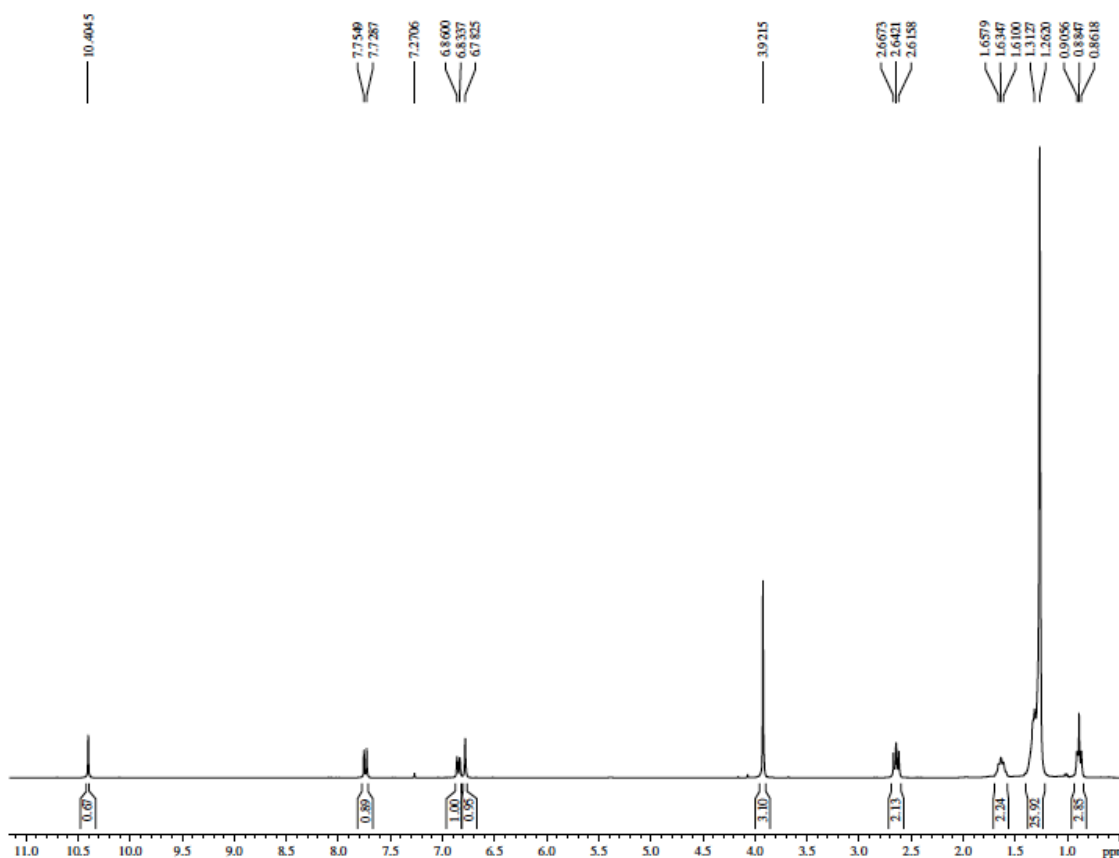


Figura 15 – Espectro de RMN 1H do Intermediário LDT220 (**20**)

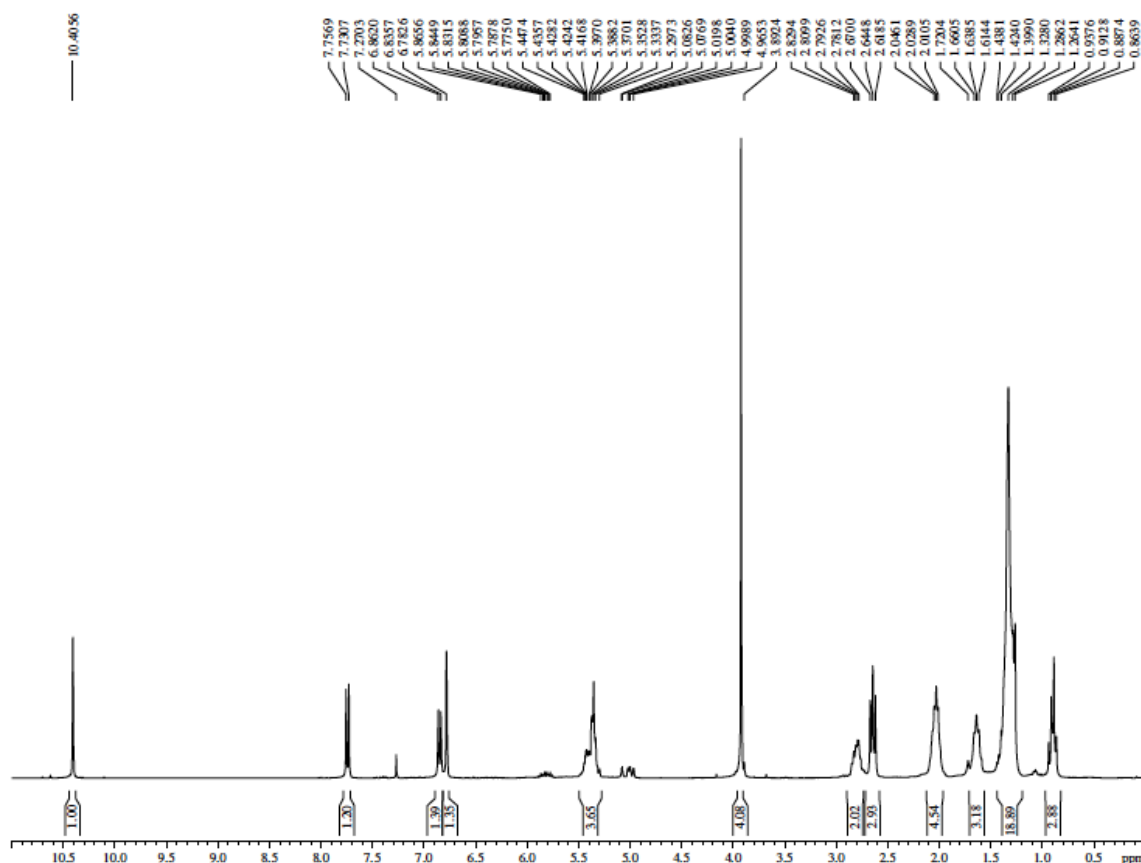


Figura 16 – Espectro de RMN ¹H dos Intermediários LDT220i (21)

5.1.5. Obtenção das pentadecilchalconas

Visando a definição das melhores condições reacionais e otimização de rendimentos foi realizado estudo metodológico para a obtenção das pentadecilchalconas com acetofenonas e salicilaldeído – à temperatura ambiente e sob agitação magnética – com diferentes soluções etanólicas de hidróxidos alcalinos e alcalinos terrosos *i.e.* lítio, sódio, potássio, cálcio e bário, em concentração 1,25 molar. Os hidróxidos de sódio e lítio foram os que apresentaram melhor conversão ao produto, no entanto, não houve reprodutibilidade do método para as pentadecilchalconas.

De acordo com o estudo de STOYANOV e colaboradores (2002), – que propuseram o uso de elevadas temperaturas e tempos reacionais curtos para a síntese de chalconas hidroxiladas – foram realizados testes com a 2'-hidróxiacetofenona e o derivado **20**, à temperatura de 130°C, na presença de solução etanólica de hidróxido sódio 20% (5,0 M) durante três minutos. Sob as

condições empregadas a formação do produto desejado não foi observada, sugerindo a necessidade de maior tempo de reação para os derivados que apresentam a cadeia alquílica. Neste sentido, novos estudos foram realizados com extensão do tempo reacional para 6 horas e monitoramento da reação por meio de CCD, onde foi possível estabelecer o tempo médio de 4 horas para a melhor conversão ao produto, sem a formação exacerbada de produtos secundários observados no tempo máximo estabelecido. Durante o curso das reações foi observado que as metóxi-pentadecilchalconas apresentavam R_fs próximos ao aldeído **20**. Visando facilitar a completa conversão e purificação dos compostos foi utilizado excesso da acetofenona em proporção 2:1 em relação ao aldeído. Desta forma a referida metodologia levou à obtenção de nove pentadecilchalconas de cadeia saturada. Em alguns casos, as reações levaram a complexas misturas de produtos sendo necessárias até quatro purificações em colunas cromatográficas, sendo observada a presença das acetofenonas como impurezas não separáveis.

5.1.6. Obtenção das pentadecenilchalconas

A série das pentadecenilchalconas foi planejada levando em consideração a modulação da cadeia alquênica frente à solubilidade aquosa e permeabilidade celular bem como resultados citotóxicos significativos da mistura de cardanóis insaturados (**16**) frente a linhagem de células escamosas oral (OSCC-3)(Neto et al, 2014).

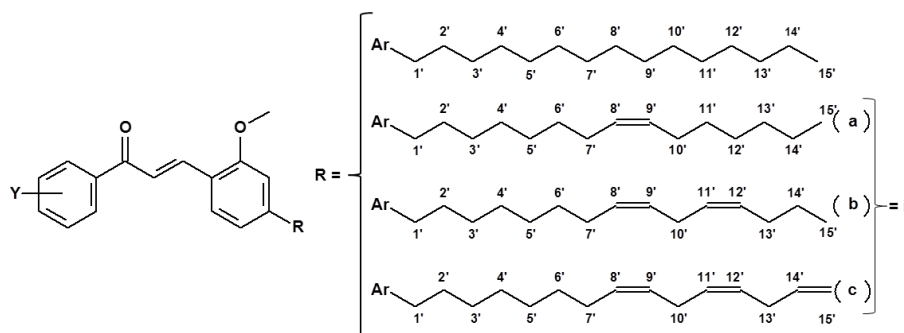
Utilizando a mesma metodologia empregada para a série saturada, substituindo o derivado **20** pela mistura de aldeídos **21**, foi observada a formação de produtos secundários inseparáveis, característica reacional que pode estar associada à instabilidade dos aldeídos insaturados, suscetíveis à oxidação nas condições empregadas. Neste sentido, novo estudo metodológico foi realizado à temperatura ambiente, sob agitação e monitorado por CCD identificando o tempo médio de 12 horas para obtenção dos derivados-alvo. As nove misturas de chalconas – monoeno (a), dieno (b) e trieno (c) – foram obtidas como óleo de colorações amarela, identificados como única mancha em CCD. Os dados de fatores de retenção, pontos de fusão, rendimentos e RMN das chalconas-alvo estão apresentados na Tabela **2**.

5.1.7. Caracterização das chalconas-alvo

Os grupos metilidênicos da subunidade prop-2-en-1-ona das chalconas saturadas foram caracterizados por espectroscopia de RMN de ^1H pela presença de dubletos que variaram de 7,38 ppm a 7,61 ppm ($\text{H}\alpha$) e 7,92 ppm a 8,12 ppm ($\text{H}\beta$), confirmados pelos assinalamentos nas faixas de 119,9 ppm a 123,7 ppm para o carbono α e de 139,4 ppm a 140,8 ppm referente ao carbono β . As chalconas foram obtidas em sua configuração termodinâmica mais estável (*E*) caracterizada pelo valor da constante de acoplamento *J* em torno de 16,0 Hz. A presença das carbonilas conjugadas foi identificada pelos deslocamentos na faixa de 189,5 ppm a 193,8 ppm em RMN de ^{13}C . Os dados de fatores de retenção, pontos de fusão, rendimentos e RMN das chalconas-alvo estão apresentados na Tabela 2.

Por sua vez, os grupos metilidênicos da subunidade prop-2-en-1-ona da mistura de chalconas insaturadas foram caracterizados por espectroscopia de RMN de ^1H pela presença de dubletos que variaram de 7,38 ppm a 7,75 ppm ($\text{H}\alpha$) e 8,09 ppm a 8,22 ppm ($\text{H}\beta$), confirmados pelos assinalamentos nas faixas de 119,9 ppm a 124,2 ppm para o carbono α e de 139,4 ppm a 140,7 ppm referente ao carbono β . As chalconas foram obtidas em sua configuração termodinâmica mais estável (*E*) caracterizada pelo valor da constante de acoplamento em torno de $J= 16,0$ Hz. A presença das carbonilas conjugadas foi identificada pelos deslocamentos na faixa de 189,6 ppm a 194,0 ppm em RMN de ^{13}C . Os dados de fatores de retenção, pontos de fusão, rendimentos e RMN das chalconas-alvo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados físico-químicos e caracterização das chalconas-alvo



LDT	Y	R _f	p.f. (°C)	Rend. %	RMN (δ ppm)				
					C=O		α		β
					¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
546	2''-OH	0,44 ^a	36-38	70,0	191,4	7,61	122,0	8,11	140,8
546i		0,60 ^b	*	77,0	194,5	7,76	120,5	8,22	141,6
547	3''-OH	0,53 ^b	80-83	29,0	192,0	7,61	122,0	8,12	140,0
547i		0,48 ^b	*	68,0	191,9	7,59	121,9	8,12	141,6
548	4''-OH	0,44 ^b	128-130	34,0	190,0	7,60	121,8	8,09	140,3
548i		0,53 ^b	*	45,0	190,4	7,61	121,8	8,10	140,5
549	2''-OCH ₃	0,46 ^b	43-45	71,0	194,0	7,38	121,0	7,92	139,5
549i		0,44 ^b	*	44,0	193,8	7,38	121,0	7,92	139,4
550	3''-OCH ₃	0,55 ^a	*	25,0	191,0	7,55	120,5	8,11	140,3
550i		0,53 ^a	*	59,0	191,1	7,66	122,1	8,10	140,9
551	4''-OCH ₃	0,42 ^a	52-54	63,0	189,6	7,61	121,0	8,09	140,0
551i		0,55 ^a	*	61,0	189,6	7,60	122,2	8,08	139,9
552	3''-OCH ₃ , 4''-OH	0,57 ^b	80-82	40,0	189,5	7,00	121,0	8,10	140,0
552i		0,55 ^b	*	51,0	189,5	7,57	121,1	8,07	139,9
553	3'',4''-OCH ₃	0,62 ^b	31-33	54,0	189,5	7,61	120,0	8,10	140,0
553i		0,53 ^b	*	24,0	189,6	6,78	121,1	8,08	139,9
554	3'',4'',5''-OCH ₃	0,40 ^b	*	33,0	190,2	6,79	121,5	8,09	134,0
554i		0,42 ^b	*	43,0	190,3	6,78	121,7	8,08	140,7

a. HEX_{50%}: DCM_{50%}; b. CHCl_{3,85%}: EtOH_{15%}; * óleo

Os dados de deslocamento químico (δ ppm) para RMN (¹H e ¹³C) das chalconas obtidas estão descritos nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3 – Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C das Pentadecilchalconas (Anel A)

Átomos	LDT546		LDT547		LDT548		LDT549		LDT550		LDT551		LDT552		LDT553		LDT554	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1"	--	121,6	--	140,1	--		--	121,8	--	140,0	--	131,8	--	131,7	--	132,0	--	134,0
2"	--	159,1	6,74	115,5	8,00	131,3	--	158,9	7,54- 7,61	112,8	8,03	130,9	6,11	110,8	7,62	111,2	7,56	106,2
3"	7,50	128,6	--	156,8	6,88- 6,94	115,6	6,99	111,8	--	160,0	6,98	113,9	--	146,9	--	149,3	--	153,1
4"	7,54- 7,58	132,5	7,14	120,4	--	159,9	7,45	132,5	7,09- 7,12	120,5	--	163,3	--	150,3	--	153,2	--	153,1
5"	7,50	128,6	7,35	129,9	6,88- 6,94	115,6	7,03	126,9	7,38- 7,42	130,0	6,98	113,9	6,99	113,9	6,92	110,2	--	153,1
6"	8,02	129,4	7,51	121,0	8,00	131,3	7,60	130,4	7,54- 7,61	121,0	8,03	130,9	7,60- 7,64		7,68			106,2
2"- OCH ₃	--		--		--		3,87	55,6	--		--		--		--			--
3"- OCH ₃	--		--		--				3,88	55,9			--	-	3,97-	56,2		
4"- OCH ₃	--		--		--						3,91	55,6	3,95	56,3	3,96	56,2	3,94-	56,4-
5"- OCH ₃	--		--		--								--		--			61,0

Tabela 4 – Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C da Mistura de Pentadecenilchalconas (Anel A)

Átomos	LDT546i		LDT547i		LDT548i		LDT549i		LDT550i		LDT551i		LDT552i		LDT553i		LDT554i	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1"	--	120,5	--	140,1	--		--	121,8	--	140,3	--	131,1	--		--	132,0	--	110,3
2"	--	163,8	7,68	115,5	7,99	131,4	--	158,9	7,54- 7,61	112,8	8,03	130,9	6,75	110,8	6,93	111,3	7,56	134,2
3"	7,03	118,7	--	156,8	6,96	115,7	7,42- 7,50	111,9	--	160,0	6,97	113,9	--	146,9	--	149,3	--	153,3

4"	7,49	136,1	7,13	120,4	--	160,4	7,42-7,50	132,5	7,12	120,4	--	163,4	--	150,3	--	153,2	--	147,9
5"	6,94	118,9	7,35	130,5	6,96	115,7	7,42-7,50	128,6	7,40	130,5	6,97	113,9	6,99	113,7		110,3	--	142,4
6"	7,93	129,9-130,2	7,51	121,0	7,99	131,4	7,74		7,54-7,61	119,8	8,03	130,9	7,57-7,65	131,7	7,68		7,54	134,2
2"-OCH ₃	--	--	--	--	--	--	3,89	55,9	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
3"-OCH ₃	--	--	--	--	--	--	--	--	3,89	55,6	--	--	--	--	-	3,96-	56,2-	--
4"-OCH ₃	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3,91	55,6	3,95	56,3	3,97	56,3	3,95	56,2-56,3
5"-OCH ₃	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Tabela 5a – Caracterização por RMN de ¹H e de ¹³C das Pentadecilchalconas (Anel B)

Átomos	LDT546		LDT547		LDT548		LDT549		LDT550	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	--	159,1	--	159,9	--	159,1	--	158,1	--	159,1
2	6,77	111,6	6,74	111,5		111,7	7,49	111,6	6,76	111,5
3	--	148,0	--	148,2	--	147,9	--	147,7	-	140,0
4	6,83	121,1	6,80	121,2	6,82	121,1	6,80	121,1	6,83	121,2
5	7,54-7,58	129,4	7,55-7,61	129,6	7,54	129,4	7,49	129,0	7,54-7,61	129,6
6	--	121,6	--	121,5	--	121,8	--	130,0	--	121,6
1'	2,63	36,6	2,62	36,6	2,60-2,66	36,6	2,62	36,5	2,57-2,65	36,5
2'	1,63-1,66	31,4	1,62-1,64	31,4	1,64	31,5	1,61-1,63	31,4	1,63-1,64	31,4
3'-12'		29,5-29,8		29,6-29,9		29,6-30,0		29,5-29,8		29,6-29,9
13'	1,27-1,34	32,1	1,27-1,33	32,1	1,27	32,1	1,27-1,33	32,1	1,27-1,33	31,8
14'		22,9		22,9		22,9		22,8		23,0
15'	0,89	14,3	0,90	14,3	0,89	14,3	0,89	14,3	0,89	14,3
OCH ₃	3,92	55,6	3,89	55,7	3,91	55,7	3,89	55,6	3,91	55,6

6'a-c								
7'a-c	2,03	26,4-27,4	2,02-2,04	27,4	2,01-2,03	27,4	2,02-2,05	27,3-27,4
8'a-c	5,36-5,42	129,9-130,8	5,33-5,42	129,9-130,6	5,29-5,40	129,9-130,2	5,30-5,37	129,3-130,2
9'a-c								
10'a	2,03	26,4-27,4	2,02-2,04	27,4	2,01-2,03	27,4	2,02-2,05	27,3-27,4
10'b-c	2,78	25,8	2,78-2,83	25,9	2,78-2,83		278-283	25,7-25,8
11'-12'b-c	5,36-5,42	129,9-130,8	5,33-5,42	129,9-130,6	5,29-5,40	129,9-130,2	5,30-5,37	129,3-130,2
11'-14'a-b	1,33	31,7-31,9	1,26-1,42	29,2-29,9	1,27-1,33	31,9	1,27-1,34	31,9
13'b	2,03	26,4-27,4	2,02-2,04	27,4	2,01-2,03	27,4	2,02-2,05	27,3-27,4
13'c	2,78	25,8	2,78-2,83	31,7-31,9	2,78-2,83		278-283	31,9
14'a-b	1,33	22,8	1,26-1,42	22,9	1,27-1,33	22,8	1,27-1,34	22,8
14'c	5,33-5,35		5,79-5,84				5,78-5,86	
15'a-b	0,87-0,94	14,2	0,86-0,89	14,3	0,86-0,91	14,3	0,87-0,92	14,2
15'c	4,99-5,09		4,99-5,07		4,99-5,07		4,99-5,07	
OCH ₃	3,91	55,5	3,91	55,6	3,91	55,7	3,92	55,7

5.2.1 Avaliação do Perfil de Citotoxicidade *in vitro*

Visando determinar o potencial citotóxico *in vitro* as chalconas-alvo foram submetidas a triagem inicial frente a três linhagens celulares: carcinoma de cólon (HCT116), glioblastoma (SF295) e adenocarcinoma prostático (PC3), em concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$. Os compostos foram classificados como citotóxicos quando o percentual de inibição de crescimento das células foi maior que 75% em pelo menos duas linhagens avaliadas (Figura 17).

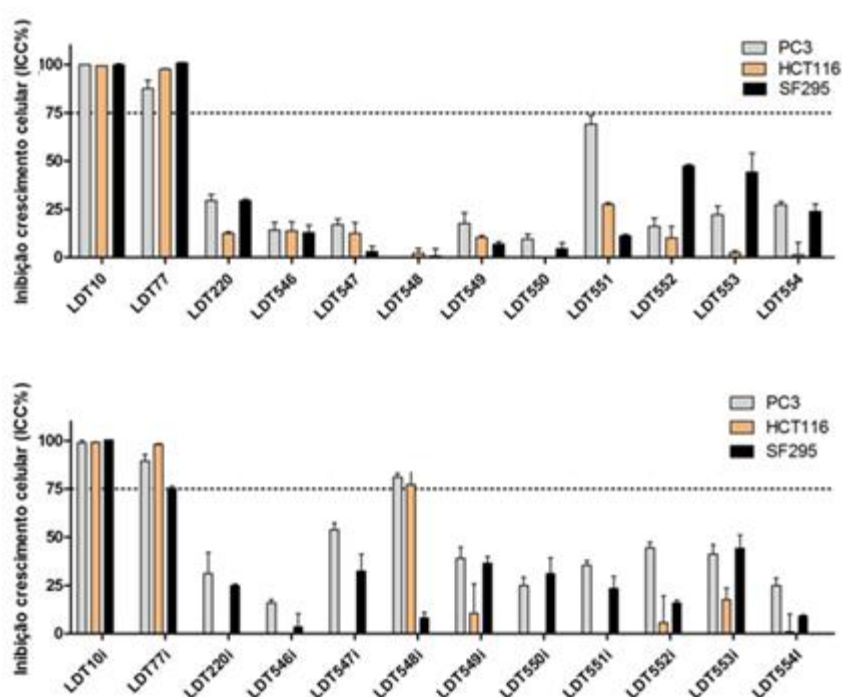


Figura 17 – Percentual de inibição do crescimento de células cancerígenas pelos intermediários e chalconas-alvo

O *screening* inicial foi realizado para a determinação de percentuais inibitórios e seleção de compostos para o experimento de determinação da IC_{50} . Na Tabela 10 é apresentado os percentuais inibitórios obtidos. Entre os 24 compostos testados nas 3 linhagens, 5 apresentaram atividade citotóxica maior que 75% em pelo menos duas linhagens testada.

Produtos de partida e intermediários

Os ensaios de toxicidade demonstraram a ação antiproliferativa para o derivado LDT10 (**17**) bem como para a mistura LDT10i (**16**) com inibição acima de 98,5% nas linhagens testadas, sendo os grupos fenólicos e cadeias laterais (saturada e insaturadas) arcabouços moleculares primários para o estabelecimento de relações estrutura-atividade. O resultado observado para a mistura **16** soma-se ao perfil observado por Neto e colaboradores (2014) em estudos com células escamosas do câncer oral (OSCC-3).

Considerando os intermediários *orto*-hidroxibenzaldeído (LDT77, **18**) e seus análogos insaturados (LDT77i, **19**), os resultados apontam que a inclusão do grupo *orto*-formila aos respectivos fenóis, formando salicilaldeídos regioespecíficos, apresentaram perfis inibitórios significativos para as três linhagens testadas com inibição do crescimento celular superior a 75%. Para os compostos saturados, LDT10 (**17**) e LDT77 (**18**), foi observado pequeno decréscimo de atividade para a linhagem PC3 (8,75% menor) com manutenção do perfil para as demais linhagens (Figura 16). Considerando os derivados insaturados, os resultados foram semelhantes para as linhagens PC3 (9,00% menor) e HCT116, porém foi constatada redução em torno de 75% nos experimentos com as células SF295 (Figura 16).

Considerando os intermediários *orto*-metoxibenzaldeídos LDT220 (**20**) e LDT220i (**21**), os resultados destacam a redução no perfil de atividade quando da substituição do grupo hidroxila por metoxila, com percentual de inibição máximo em torno de 32%. Uma vez que os intermediários possuem o grupo formila, a presença do grupo *orto*-hidroxila pode ser considerado ponto farmacofórico associado ao perfil de atividade.

A relevância estrutural da subunidade salicilaldeído compreende diferentes contribuições conformacionais, hidrofóbicas e estereoeletrônicas capazes de modular as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas destes derivados em relação ao grupo *orto*-metoxila. Considerando os aspectos conformacionais o grupo hidroxila é capaz de estabelecer interações de Keesom intramolecular levando à formação da LHi, não encontrada para o derivado metoxilado (efeito *orto*). A existência da LHi – confirmada pelo simpleto em 9,83 ppm no espectro de RMN de ^1H – permite certa restrição conformacional e coplanaridade da subunidade salicílica em relação ao anel aromático com impactos diretos sobre a lipofilicidade – observada nos fatores de retenção em CCD (Rfs 0,73 (LDT77, **18**) x 0,55 (LDT220,

20) e 0,62 (LDT77i, **19**) x 0,41 (LDT220i, **21**); eluente Hex_{50%}:DCM_{50%}) – a transmissão dos efeitos eletrônicos ($\pm I$ e $\pm M$), bem como a ativação e acesso ao aldeído como centro eletrofílico (Figura 18).



Figura 18 – Transmissão dos efeitos eletrônicos nos derivados LDT77 e LDT220

Do ponto de vista estrutural, a presença de grupos hidroxila como fenol livre nos produtos de partida **16** e **17** ou em LHi nos derivados salicilaldeído **18** e **19**, corrobora a atribuição desta subunidade como grupo farmacofórico para as linhagens PC3, HCT116 e SF295 nas condições avaliadas. Adicionalmente, a manutenção do perfil significativo de atividade revela semelhanças na contribuição e reconhecimento molecular das cadeias laterais saturadas e insaturadas.

Chalconas saturadas

Para as nove metóxpentadecilchalconas LDT546-LDT554, derivadas do aldeído LDT220 (**20**), o percentual máximo de inibição do crescimento celular foi menor que 75% para todas as células testadas. Considerando a linhagem PC3, o melhor perfil foi apresentado pelo derivado 4"-metóxisubstituído LDT551 (**32**) com 69,0% de inibição, enquanto seu hidroxianálogo LDT548 (**26**) foi inativo. Uma vez que o volume do grupo metoxila no composto LDT551 (**32**) é maior que o do grupo hidroxila no composto LDT548 (**26**), o resultado sugere que o grupo doador de ligação de hidrogênio (DLH) e/ou a menor lipofilicidade gerada por ele teriam efeito sobre a inatividade. Adicionalmente, o padrão de substituição Y no anel A, indica que não há diferença significativa entre os substituintes, exceto para o grupo 4"-metoxila no derivado **32**. Para as células de carcinoma cólon (HCT116) nenhum

resultado significativo foi identificado para estas chalconas-alvo, sendo o derivado LDT551 **32** o de melhor atividade (27,5%). Considerando a linhagem SF295, a atividade para o derivado LDT552 (**34**) – 3"-metóxi-4"-hidróxissubstituído – foi de 47,4%. Para estas células, os resultados apontam que as chalconas monossubstituídas no anel A apresentam baixa atividade, sobressaindo-se os compostos com padrão dissubstituídos.

De maneira geral, os resultados apontaram **32** como o de melhor atividade em duas linhagens (PC3 e HCT116), enquanto **26** foi identificado como o menos ativo.

Chalconas insaturadas

Considerando as nove misturas de metóxi-pentadecenilchalconas LDT546i-LDT554i, derivadas da mistura de aldeídos LDT220i (**21**), o percentual máximo de inibição do crescimento celular foi menor que 75% para a maioria avaliada. Considerando a linhagem PC3 foi observada variação no percentual de inibição de 15,9 a 81,1% sendo LDT548i (**27**) e LDT546i (**23**) as misturas de maior e menor atividade, respectivamente. Para esta linhagem e considerando as chalconas monossubstituídas no anel A, a presença de grupos hidroxila foi mais relevante nas posições 3" e 4", enquanto o grupo metoxila teve destaque na posição 2". Para a mistura de chalconas di e trissubstituídas 549i-554i, os resultados reforçam a relevância do grupo hidroxila presente em LDT552i (**35**). Exceto para a mistura LDT548i (**27**), nenhum resultado significativo foi obtido para as células de carcinoma cólon (HCT116). Para as células SF295, as atividades variaram de 3,5 a 36,5% com a mistura 2"-metoxissubstituída (LDT549i, **29**) apresentando melhor perfil. Para esta linhagem, os dados sugerem que a presença de grupos hidroxila nas posições 2" e 4" são menos tolerados quando comparados com as respectivas misturas metoxissubstituídas.

De maneira geral, os resultados apontaram a mistura LDT548i (**27**) com perfil significativo com percentuais de 81,1% e 77,3% para as linhagens PC3 e HCT116, enquanto LDT546i (**23**) foi identificada como a menos ativa.

Comparação entre as chalconas-alvo análogas

Ainda que apenas o composto LDT551 (**32**) e a mistura LDT548i (**27**) tenham apresentado resultados significativos em pelo menos uma linhagem, os derivados insaturados apresentaram melhores percentuais de inibição que os saturados, ressaltando a contribuição das cadeias insaturadas bem como seus estados físicos (óleos x sólidos). Em comparação direta, LDT548 (**26**) foi inativo, enquanto seu análogo LDT548i (**27**) apresentou os melhores perfis inibitórios nas células PC3 e SF295. Por sua vez LDT551 (**32**) foi aproximadamente duas vezes mais ativo LDT551i (**31**), com maior relevância da cadeia hidrofóbica.

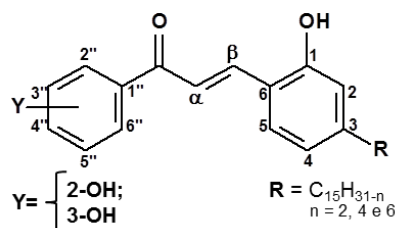
Uma vez que as contribuições do grupo hidroxila no anel B bem como das cadeias insaturadas favoreceram o perfil de atividade desejado, foi incluído neste trabalho o estudo de pentadecenilchalconas sintetizadas a partir da mistura de aldeídos LDT77i (**19**). Neste trabalho inicial foram sintetizadas e caracterizadas duas chalconas análogas às misturas LDT546i (**23**) e LDT547i (**25**): LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**), respectivamente. Os derivados foram caracterizados por deslocamento químico (δ ppm) para RMN de ^1H e de ^{13}C com assinalamentos referentes a carbonila conjugada e a porção α,β insaturada representados na Tabela 7.

Tabela 7 – Caracterização das pentadecenilchalconas LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**)

LDT	Y	Rf	p.f. (°C)	Rend. %	RMN (δ ppm)				
					C=O		α		β
					^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
283i	2"-OH	0,57 _b	*	22,1	194,7	7,82	121,9	8,18	141,4
284i	3"-OH	0,44 _b	*	51,0	192,6	7,62	121,8	8,13	139,9

a. $\text{HEX}_{50\%}$: $\text{DCM}_{50\%}$; b. $\text{CHCl}_{3,85\%}$: $\text{EtOH}_{15\%}$; * óleo

Os dados de deslocamento químico (δ ppm) para RMN de ^1H e de ^{13}C dos derivados LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**) estão representados na Tabela 8.

Tabela 8 – Caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**)

Átomos	LDT283i		LDT284i	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
Anel A				
1''	--	119,8	--	142,2
2''	--	163,8	7,58	115,5
3''	7,03	118,7	--	156,6
4''	7,51	136,4	7,09	120,4
5''	6,94	130,2	7,34	129,5
6''	7,94	120,3	7,56	121,5
Anel B				
1	--	155,9	--	156,2
2	6,67	116,7	7,09-7,03	116,2
3	--	148,5	--	148,4
4	6,82	119,0	6,72	121,3
5	7,15	129,6	7,09-7,13	130,6
6	--	120,5	--	119,9
1'a-c	2,58	36,1	2,53	36,1
2'a-c	1,61- 167	31,7-32,0	1,55	31,1
3'a-c				
4'a-c				
5'a-c	1,23-1,32	29,2-29,9	1,30-1,57	22,9-23,0
6'a-c				
7'a-c	2,02-2,04	27,4-27,5	2,01-2,06	
8'a-c				
9'a-c	5,36-5,44	130,3-130,6	5,29-5,42	127,1-128,4
10'a	2,02-2,04	27,4-27,5	2,01-2,06	
10'b-c	2,77-2,84	25,8-25,9	2,70-2,83	25,8-25,9
11'-12'b-c	5,36-5,44	130,3-130,6	5,29-5,42	127,1-128,4
11'-14'a-b	1,23-1,32	31,7-32,0	1,30-1,57	
13'b	2,02-2,04	27,4-27,5	2,01-2,06	31,7-32,0
13'c	2,77-2,84	25,8-25,9	2,70-2,83	25,8-25,9
14'a-b	1,23-1,32	22,9-23,1	1,30-1,57	22,9-23,0
14'c	5,72		5,80-5,85	114,9
15'a-b	0,89-0,91	14,1-14,4	0,88-0,92	14,0-14,3
15'c	4,99-5,07		4,98-5,08	

Os derivados foram avaliados frente às três linhagens e apresentaram percentual de inibição acima de 83% para todas as células avaliadas, sendo considerados citotóxicos de acordo com os critérios estabelecidos (Figura 20). Os resultados destacam a relevância do grupo fenol no anel B no perfil de atividade, estabelecendo seu caráter farmacofórico em comparação com os análogos inativos,

e auxofórico pela modulação do perfil de atividade dos análogos com baixa atividade.

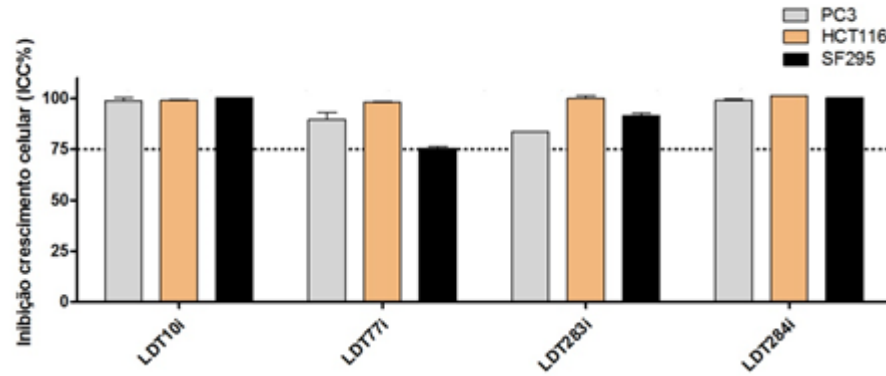


Figura 20 – Percentual de inibição do crescimento de células cancerígenas pelo LDT283i (40) e LDT284i (41)

6.1.5. Determinação da IC_{50}

Os derivados com melhores perfis foram submetidos à determinação da IC_{50} em 10 linhagens de células tumorais, células L929 (seletividade) e PBMC (hemólise) por meio da análise das absorbâncias das amostras, utilizando-se o logaritmo das concentrações testadas por regressão não-linear (Tabela 10).

Tabela 10 – Valores de IC₅₀ (µM) obtidos por meio do ensaio de citotoxicidade de MTT após 72h de exposição

<i>Linhagens Celulares</i>	LDT10 (17)	LDT10i (16)	LDT 77 (18)	LDT77i (19)	LDT283i (40)	LDT284i (41)	LDT548i (27)	Doxo
HCT116	63,74 (57,7-70,44)	28,24 (25,61-31,15)	24,61 (21,61-27,80)	21,92 (18,56-25,88)	15,18 (14,99-16,19)	8,70 (8,06-9,39)	33,83 (31,53-36,27)	0,21 (0,16-0,29)
SW620	--	--	--	16,36 (14,40-18,61)	25,94 (24,30-27,73)	20,68 (19,08-22,42)	--	0,06 (0,04-0,10)
PC3	21,56 (16,70-27,84)	--	--	28,46 (25,68-31,53)	33,05 (31,03-35,24)	29,98 (27,68-32,45)	33,05 (30,00-36,38)	0,76 (0,59-0,93)
PC3M	48,01 (42,13-54,71)	27,09 (24,86-29,52)	--	18,61 (16,07-21,57)	26,52 (24,74-28,44)	27,44 (25,43-29,44)	31,12 (28,16-34,39)	0,22 (0,21-0,25)
PC9	33,82 (26,73-42,82)	--	--	--	43,46 (17,76-47,74)	33,59 (13,93-36,95)	56,78 (51,22-62,92)	0,61 (0,51-0,73)
NCI-H460	30,93 (25,79-37,91)	20,69 (15,75-27,19)	--	8,48 (7,35-9,78)	25,72 (23,87-27,71)	22,25 (20,71-23,89)	--	0,15 (0,13-0,18)
HL60	--	17,61 (13,04-23,78)	--	8,71 (7,70-9,86)	11,37 (10,39-12,44)	7,64 (7,11-8,20)	--	0,02 (0,01-0,02)
K562	--	--	--	21,04 (18,84-23,50)	25,12 (22,69-27,82)	15,13 (14,00-16,35)	47,38 (41,26-54,40)	0,46 (0,45-0,47)
SF295	--	--	--	--	28,95 (26,46-31,67)	32,54 (29,71-35,66)	--	0,41 (0,21-0,47)
HEPG2	56,25 (44,07-71,75)	--	--	26,49 (24,41-28,75)	32,27 (28,91-36,04)	26,37 (23,98-29,00)	--	0,33 (0,29-0,37)
L929*	63,15 (48,54-82,16)	--	63,15 (48,54-82,16)	12,91 (11,92-13,98)	24,70 (19,35-31,52)	28,91 (26,84-31,12)	--	1,72 (1,58-1,87)
Atividade Homolítica (mg/mL)	>200	>200	>200	>200	>200	>200	>200	-

* Célula utilizada para determinação do Índice de Seletividade (IS); - Não determinada

Tabela 10 – Valores de IC₅₀ (µM) obtidos por meio do ensaio de citotoxicidade de MTT após 72h de exposição

Os precursores: fenóis e aldeídos

Os fenol LDT10 (**17**) apresentou valores de IC_{50} entre 21,56 e 63,74 μM em 6 linhagens, com melhor perfil frente a células PC3. Por sua vez, a mistura de fenóis insaturados LDT10i (**16**) foi ativa em 4 linhagens com IC_{50} entre 17,61 e 28,24 μM . Quando comparados os perfis para as para mesmas linhagens, os derivados insaturados mostraram melhor perfil citotóxico. Para o derivado LDT77 (**18**) a IC_{50} foi determinada apenas para as células HCT116 com valor de 24,61 μM , enquanto seus análogos **19** apresentaram atividade em oito linhagens com valores de IC_{50} na faixa de 8,48 a 28,46 μM . No comparativo com seus precursores – exceto para a linhagem PC3 – os formilderivados insaturados apresentaram melhores perfis de citotoxicidade indicando a relevância do grupo aldeído para a atividade observada.

As chalconas insaturadas

A conversão da mistura **19** nas 4-metóxicalconas **27** levou a atividades similares (PC3, IC_{50} 33,05 μM), menores (HCT116, PC3M e K562 – IC_{50} 31,2 a 47,38 μM) ou perda da atividade (SW620, NCI-H460, HL60, SF295 e HEPG2), com exceção para as células PC9 (IC_{50} 56,78 μM) quando o precursor **19** foi inativo.

As misturas de chalconas insaturadas LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**) apresentaram atividade para todas as linhagens testadas com IC_{50} na faixa de 11,37 a 43,46 μM para **40** e 7,64 a 33,59 μM para o regioanálogo **41**. Comparativamente, exceto para a linhagem SF295 (IC_{50} 26,37 μM), LDT284i (**41**) apresentou perfis de citotoxicidade similar (PC3, PC3M, PC9, NCI-H460 e HEPG2 – IC_{50} 25,12 a 43,46 μM) ou melhores (HCT116, SW620, HL60 e K562 – IC_{50} 7,64 a 20,68 μM).

Os resultados apresentados pelas misturas de chalconas LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**) ainda sugerem a relevância dos grupos fenólicos em ambos anéis A e B, cuja modulação dos perfis de atividade em cada linhagem está associada à posição do grupo hidroxila – 2” para **40** (LHi) e 3” para **41** – e seus parâmetros físico-químicos bem como aos possíveis reconhecimentos moleculares e mecanismos de ação inerentes aos alvos moleculares e suas cascatas em cada célula.

6.1.6. Índice de Seletividade

O grau de seletividade dos compostos pode ser expresso pelo seu valor de SI, onde $SI = (IC_{50} \text{ células normais}) / (IC_{50} \text{ células de câncer})$ (BADISA et al. 2009). A célula normal utilizada foi L929, fibroblasto murino. Todos os derivados apresentaram baixo índice de seletividade, com destaque para as misturas LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**) que apresentaram melhores resultados frente às linhagens HL60 e HCT116 (Tabela 11).

Tabela 11 – Índice de Seletividade para os intermediários e chalconas-alvo selecionadas

<i>Linhagens celular</i>	LDT10 (17)	LDT77i (18)	LDT283i (40)	LDT284i (41)	Doxo
HCT116	0,99	0,59	1,59	3,32	8,19
SW620	-	0,79	0,95	1,40	28,67
PC3	2,93	0,79	0,75	0,96	2,26
PC3M	1,31	0,69	0,93	1,05	7,81
PC9	1,87	--	0,57	0,80	2,82
NCI-H460	2,04	1,52	0,96	1,30	11,47
HL60	--	1,48	2,17	3,78	86,00
K562	--	0,61	0,98	1,91	3,74
SF295	--	0,44	0,85	0,89	4,20
HEPG2	1,23	0,49	0,77	1,10	5,21

-- Não determinada

6.1.7. Potencial Hemolítico

Os derivados e misturas precursores bem como as chalconas selecionadas não apresentaram indução hemolítica na concentração de 200 µg/mL.

Conclusões e Perspectivas

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O planejamento racional de novas entidades químicas e misturas com potencial atividade biológica baseado em derivados naturais de baixo custo da biomassa do agronegócio do caju, líquido da casca da castanha do caju como subproduto das indústrias brasileiras foi desenvolvido neste trabalho.

As metodologias sintéticas para a funcionalização do cardanol, como hidrogenação catalítica, O-alkilação, formilação e condensação forneceram cinco intermediários em rendimentos que variaram de 70% a 90%. Por meio dos intermediários benzaldeído foi possível obter o total de dezoito derivados e misturas de chalconas. Nove chalconas com cadeia saturada, tendo o LDT220 (**20**) como precursor, foram obtidas em rendimentos que variaram de 25% a 70%. Por sua vez, onze misturas com cadeias insaturadas (monoeno, dieno e trieno), nove planejadas a partir da mistura LDT220i (**21**) e duas a partir da mistura LDT77i (**19**) foram obtidas em rendimentos de 22% a 77%.

Todos os compostos foram submetidos à avaliação citotóxica por meio do ensaio de MTT em *screening* inicial com três linhagens celulares (PC3, HCT116 e SF295), cujo percentual inibitório do crescimento celular e critério para estudos subsequentes foi estabelecido em 75% em pelo menos duas linhagens testadas. Neste sentido, os intermediários LDT10i (**16**), LDT10 (**17**), LDT77 (**18**), LDT77i (**19**) e as misturas de chalconas LDT548i (**27**) LDT283i (**40**), LDT284i, (**41**) atenderam ao critério estabelecido para as linhagens PC3, HCT116 e SF295. A determinação dos valores de IC₅₀ dos intermediários e chalconas-alvo frente a dez linhagens de células tumorais, fibroblasto murino (L929) e células mononucleadas do sangue periférico (PBMC) destes compostos foi realizada tendo doxorubicina como referência. Os derivados selecionados não promoveram hemólise a concentração de 200 µg/mL e apresentaram baixo índice de seletividade, com melhor perfil para as misturas LDT283i (**40**) e LDT284i (**41**) frente às linhagens HL60 e HCT116.

Os estudos de relações estrutura-atividade dos intermediários e chalconas-alvo indicaram a relevância dos grupos fenólicos e cadeias laterais insaturadas como importantes arcaibouços moleculares para esta classe de compostos. A presença dos grupos hidroxila nos intermediários e anel B das chalconas pode ser

associada a grupos farmacofóricos, sendo auxofóricos, moduladores do perfil de atividade, quando no anel A das misturas de diidróxichalconas **40** e **41** apresentaram resultados inibitórios superiores aos dos derivados metoxilados. Os resultados obtidos e, de forma preliminar para os derivados diidroxilados forneceram dados significativos para a otimização estrutural desta série de compostos.

A continuidade da série de misturas diidroxiladas e a avaliação das misturas e derivados isolados com estudos complementares para determinação de possível mecanismo de ação, o aprimoramento das condições reacionais e rendimentos bem como estudos *in silico* das propriedades físico-químicas visando a racionalização e o planejamento racional de novos compostos constituem as perspectivas deste trabalho.

Referencias Bibliográficas

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDROUTSOPOULOS, Vasilis P. et al. Dietary flavonoids in cancer therapy and prevention: Substrates and inhibitors of cytochrome P450 CYP1 enzymes. **Pharmacology e Therapeutics**. Vol. 126 p. 9-20, Grece, 2010.

BADISA, R.B. et al. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Research**. Vol.29, p. 2993-2996, 2009.

BANDGAR, Babasaheb P. et al. Synthesis and biological evaluation of simple methoxylated chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant agents. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**. Vol. 18, p. 1364-1370, Jan.2010

BARCELLOS-HOFF, Mary H., LYDEN, David, WANG, Timothy C. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. **Nature Reviews Cancer**. Vol. 13,USA, Jul. 2013.

BHAT, Firdous A. et al. Epidermal growth factor-induced prostate cancer (PC3) cell survival and proliferation is inhibited by quercetin, a plant flavonoid through apoptotic machinery. **Biomedicine e Preventive Nutrition**. Vol. 4 p. 459-468, India, Jul. 2014.

BOEHM, Jesse S., HAHN, William. Towards systematic functional characterization of cancer genomes. **Nature Reviews Genetics**. Vol.12, p.487-499. Jul. 2011.

BOUMENDJEL, Ahcène, et al. Antimitotic and antiproliferative of chalcones: Forward Structure-activity relationship. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 51, n.7, p. 2307-2310, França, Fev. 2008.

BOUMENDJEL, Ahcene, RONOT Xavier, BOUTONNAT, Jean. Chalcones derivatives acting as cell cycle blockers: Potential anticancer drugs. **Current Drug Targets**. Vol. 10, p. 363-371, França, 2009.

BRANDÃO, Hugo N. et al. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**. Vol.33, n.6, p. 1359-1369, São Paulo, 2010.

BUKHARI, Syed N.A. et al. Review of methods and various catalysts used for chalcone synthesis. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**. Vol.10, n.1, p. 73-83, 2013.

BUKHARI, Syed N.A.; JASAMAI, M.; JANTAN, I. Synthesis and biological evaluation of chalcone derivatives (mini review). **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. Vol. 12, n. 13 p. 1394-1408, 2012.

BYERS, Tim, et. al. American Cancer Society Guidelines on Nutrition an Physical Activity for Cancer Prevention: Reducing the Risk of Cancer with Healthy Food Choices and Physical Activity. **A Cancer Journal for Clinicians**, vol. 52, n. 2, Colorado, Abril, 2002.

CARNEIRO, E. A.; et al. **Anais do 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás**, Salvador, Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás – IBP, 2004.

CHAMPELOVIER, Pierre, et al. Cellular and molecular mechanisms activating the cell death processes by chalcones Critical structural effects. **Toxicology in Vitro**. Vol. 27, p. 2305-2315, França, Jul. 2013.

CHANDREGOWADA, Venkateshappa, KUSH, Anil, REDDY, Goukanapalli. Synthesis of benzamide derivatives of anacardic acid and their cytotoxic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 44, p. 2711-2719, India, 2009.

CHANG, Hui et al. Structurally related cytotoxic effects of flavonoids on human cancer cells *in Vitro*. **Arch. Pharm. Res.** Vol. 31, n. 9, p. 1137-1144, China, Jul. 2008.

CHAO, Mark P., MAJETI, Ravindra, WEISSMAN, Irving L. Programmed Cell Removal: A New Obstacle in the Road to Developing Cancer. **Nature Review Cancer**. Vol 12, Jan. 2012.

CHAUHAN, Shikha S. et al. Synthesis of novel β -carboniline based chalcones with high cytotoxic activity against breast cancer cells. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**. Vol. 24, p. 2820-2824, Maio, 2014.

CHEN, Yen-Ching, HUNTER, David J. Molecular Epidemiology of cancer. **A Cancer Journal for Clinicians**, vol.55, n.1, Boston, Fev.2005.

CHOWDHURY, Shaeed A. et al. Tumor-specificity and apoptosis-inducing activity of stilbenes and flavonoids. **Anticancer Research**. Vol. 25, p. 2055-2064, Japão, 2005.

CROZIER, Alan, JAGANATH, Indu B., CLIFFORD, Michael N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**. Vol. 26, p. 1001-1043, Maio, 2009.

DAS, Manik, MANNA, Kuntal. Chalcone scaffold in anticancer armamentarium: A molecular insight. **Journal of Toxicology**. Vol.16, p.1-14, India, Dec. 2015.

DESHPANDE, Shyam J. et al. Microwave synthesis of α -cyano chalcones. **Tetrahedron Letters**. Vol. 53, n. 14, p. 1772-1775. Abril, 2012.

DIMIC, Dusan, MERCADER, Andrew G., CASTRO, Eduardo A. Chalcone derivative cytotoxicity activity against MCF-7 human breast cancer cell QSAR study. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**. Vol. 146, p. 378-384, Argentina, Jun. 2015.

DRUTOVIC, David, et al. Benzyldenetetralones, cyclic chalcone analogues, induce cell cycle arrest and apoptosis in HCT116 colateral cancer cells. **Tumor Biol**. Vol. 35, p. 9967-9975, Jul, 2014.

DUEÑAS, Carolina V. et al. Tumoral stem cell reprogramming as a driver of cancer: Theory, biological models, implications in cancer therapy. **Seminars in Cancer Biology**. Vol. 32, Espanha, 2015.

DY, Grace K.; ADJEI, Alex A. Understanding, recognizing and managing toxicities of targeted anticancer therapies. **A Cancer Journal for Clinicians**. Vol.63, n. 4, 249-279, Jul. 2013.

Estimativa 2016: incidência de Câncer no Brasil/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **INCA**, Ministério da Saúde. Brasil. Rio de Janeiro: 2016.

FERRIS, Robert, JAFFEE, Elizabeth e FERRONE, S. Tumor antigen-targeted, monoclonal antibody-based immunotherapy: Clinical response, cellular immunity, and immunoscape. **Journal of Clinical Oncology**. Vol. 28, n. 28. p. 4390-4398, Out. 2010.

FIDLER, Isaiah J. e KRIPKE, Margaret L. The challenge of targeting metastasis. **Cancer Metastasis Review**. Vol. 34; p. 635-641. USA, Set. 2015.

FLOYD, Justin D. et al. Cardiotoxicity of cancer therapy. **Journal of Clinical Oncology**. Vol.23, n. 30, p. 7685-7696. Out. 2005.

GAN, Fei-Fei, et al. Identification of Michael acceptor-centric pharmacophores with substituents that yield strong thioredoxin reductase inhibitory character correlated to antiproliferative activity. **Antioxid Redox Signal**. Vol. 19, n. 11, p. 1149-1165, Out. 2013.

GIANCOTTI, Felippo G. Deregulation of cell signaling in cancer. **FEBS Letters**. Vol. 558, Nova York, 2014.

GOPALAKRISHNAN, R. et al. Synthesis, single crystal growth, characterization and comparison of two new enone shifted chalcones and their NLO behaviour. **Rsc**, India, p. 2438-2449. 30 dez. 2012.

GRINSTEIN-ALONI, Ronit et al. p53: The barrier to cancer stem cell formation. **FEBS Letters**. Vol. 588, p. 2580-2589, Israel, 2014.

HAVSTEEN, Bent H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology e Therapeutics**. Vol.96, p. 67-202, Germany, 2002.

HIGGINS, Geoff S. et al. Drug radiotherapy combinations: Review of previous failures and reasons for future optimism. **Cancer Treatment Reviews**. Vol. 41, n. 2, p. 105-113, Fev. 2015.

HOFSLÖKKEN, N.U. e SKATTEBOL, L. Convenient method for the *ortho*-formylation of phenols. **Acta Chemica**. Vol. 53, p. 258-262, 1999.

IN, J.K., CARLSON, S.H., WYSS J.M. Flavonoids and age-related disease: Risk, benefits and critical windows. **Maturitas**. Vol.66, p. 163-171, USA, Jan. 2010.

JEGGO, Penny A. PEARL, Laurence H. CARR, Antony M. DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective. **Nature Review Cancer**. Vol. 16; p. 35-42, Jan. 2016.

JIBING, Liu et al. Microwave-assisted synthesis and tyrosinase inhibitory activity of chalcone derivatives. **Chemical Biology e Drug Desig**. Vol. 82, n.1, p. 39-47, 2013.

JIM, Chuanfei, et al. Synthesis and antitumor activity of novel chalcone derivatives. **Biomedicine e Pharmacotherapy**. Vol 67, n. 3, p. 215-2-17, Abril, 2013.

- JUNG, Hyeryoung, et al. Quantitative Relationship Between the cytotoxicity of flavonoids on the human breast cancer stem-like cells MCF7-SC and their structural properties. **Chem Biol. Drug Des.** Vol. 86, p. 496-508, Jan. 2014.
- K.SUBRAMANIAN et al. Synthesis, characterization and dynamic NMR studies of a novel chalcone based N-substituted morpholine derivative. **Elsevier**, India, p.90-97, 23 fev. 2013
- KACHADOURIAN, R. et al. A Synthetic Chalcone as a Potent Inducer of Glutathione Biosynthesis. **American Chemical Society**, United States, p. 1382-1388. 12 jan. 2012.
- KALIORA, Adriana C., et al. Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of greek herbal infusions; balancing delight and chemoprevention. **Food Chemistry**. Vol. 142, p. 233-241. Jul. 2013.
- KAMAL, A. et al. Synthesis of chalcone-amidobenzothiazole conjugates as antimitotic and apoptotic inducing agents. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**. Vol. 20, p. 3480-3492. Abril, 2012.
- KARAM-HAGE, Maher, CINCIRIPINI, Paul M., GRITZ, Ellen R. Tobacco Use and Cessation for Cancer Survivors: An Overview for Clinicians. **A Cancer Journal for Clinicians**, vol.64, n.4, Texas, Jul. 2014.
- KATHIKEYAN, et al. Advances in chalcones with anticancer activities. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**. Vol. 10, n. 1, p. 97-155, India, 2015.
- KHAN Kulsum e SIDDIQUI Zeba N. Piperidine-functionalized sílica: na eficiente and environmentally benign catalyst for Claisen-Schmidt condensation. **Applied Organometalic Chemistry**. Vol. 28, n.10, p. 789-796, India, Set. 2014.
- KIM, Yeong S. et al. Methoxychalcone inhibitors of androgen receptor translocation and function. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**. Vol.22, p.2105-2109, Jan. 2012.
- KOIRALA, Niranjan, et al. Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. **Enzyme and Microbial Technology**. Vol. 86, p. 103-116, Feb. 2016.
- KUET, Vitor, et al. Cytotoxicity of three naturally occurring flavonoid derived compounds (artocarpesin, cycloartocarpesin and isobavachalcone) towards multi-functional drug-resistant cancer cells. **Phytomedicine**. Vol. 22, p. 1096-1102, Germany, Jul. 2015.
- KUMAR et al. A review on mechanisms of antitumor activity of chalcones. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. Vol. 16, n. 2, p.200-211, India, 2016.
- KUMAR, Deepak, et al. Synthesis and anticancer activity evaluation of resvetrol-chalcone conjugates. **Medicinal Chemistry Commum**. Vol. 5, p.528-535. Jan, 2014.
- KUMAR, V.; CONTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. Patologia básica. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994.608p.

- LAHYANI, Achraf, et al. Amberlyst-15 and Amberlite-200C: Efficient catalysts for aldol and cross-aldol condensation under ultrasound irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**. Vol.20, n.5, p. 1296-1301, Set. 2013.
- LEMES, Laís F.N. et al. Cardanol-derived AChE inhibitors: towards the development of dual binding derivatives for Alzheimers disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 108, p. 687-700, 2015.
- LIANG, G. et al. Evaluation and Discovery of Novel Synthetic Chalcone Derivatives as Anti-Inflammatory Agents. **American Chemical Society**: China, p. 8110-8123. 11 out. 2011.
- LIU, H. L. JIANG, W. B. XIE, M. X. Flavonoids: Recent advances as anticancer drugs. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**. Vol.5, p. 152-164, China, 2010.
- LOGRADO, Lúcio P.L., et al. Synthesis and cytotoxicity screening of substituted isobenzofuranones designed from anacardic acid. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 45, p. 3480-3489, Brasil, 2010.
- MAI, Chun W. et al. Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 77, p.378-387, Abril, 2014.
- MAI, Chun W. et al. Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol.77, p. 378-387, Mar. 2014.
- MALHOTRA, S. V. et al. Novel chalcone derivatives as potent Nrf2 activators in mice and human lung epithelial cells. **American Chemical Society**, India, p. 4147-4159. 28 fev. 2011.
- MANN, John. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. **Nature Reviews Cancer**. Vol. 2, p. 143-150, Fev. 2002.
- MARÍAN, Alicia, et al. Bystander effect and radiotherapy. **Reports of Practical Oncology e Radiotherapy**. Vol. 20, n. 1, p. 12-21, Jan. 2015.
- MARSHALL, Glen M. et al. The prenatal origins of cancer. **Nature Reviews Cancer**. Vol. 14, p. 277-288. Abril, 2014.
- MARTIN, María A., et al. Protection of human HepG2 cells against oxidative stress by the flavonoid epicatechin. **Phytotherapy Research**. Vol. 24, p. 503-509, Espanha, 2010.
- MAZZETTO, S. E. et al. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, Vol. 32, n. 3, p. 732-741, 2009.
- MCCORMICK, Frank. Signalling networks that cause câncer. **Millennium**. Vol. 9, n. 12. P. 0962-8924. USA, 1999.

MEHTA, Rajendra G. et al. Cancer chemoprevention by natural products: How far have we come?. **Pharm. Res.** Vol. 27 p. 950-961, Chicago, Mar.2010.

MERLO, Lauren M. F., et al. Cancer as an evolutionary and ecological process. **Nature Reviews Cancer.** Vol. 6, p. 924-936. Dec. 2006.

MIRANDA, C.L. et al. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. **Food and Chemical Toxicology.** Vol. 37, n.4, p. 271-285, Abril, 1999.

MONSUEZ, Jean-Jacques, et al. Cardiac side-effects cancer chemotherapy. **International Journal of Cardiology.** Vol. 144, n. 1, p. 3-15, Set. 2010.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assay. **Journal Immunology Methods.** Vol. 65, p. 55-63, 1983.

NARENDER, T. et al. A new chemical access for 3-acetyl-4-hydroxychalcones using borontrifluoride–etherate via a regioselective Claisen-Schmidt condensation and its application in the synthesis of chalcone hybrids. **Tetrahedron Letters.** p.5794-5798, India, Ago. 2011.

NARENDER, T; REDDY, K.P.; A simple and highly efficient method for the synthesis of chalcones by using borontrifluoride-etherate. **Tetrahedron Letters.** India; n. 48; p.3177–3180, 12 mar.2007.

NETO, Lucio, et al. Characterization of cytotoxic activity of compounds derived from anacardic acid, cardanol and cardol in oral squamous cell carcinoma. **BMC Proceedings.** Vol. 8, p. 30, 2014.

NOBILI, Stefania, et al. Natural compounds for câncer tratment and prevention. **Pharmacological Research.** Vol. 59, n. 6, p. 365-578, Jun. 2009.

OMS, Organização Mundial de Saúde, 2016

PARDAL, Ricardo, CLARKE, Michael F. Morrison, Sean J. Apllyng the principles of stem-cell biology to cancer. **Nature Reviews Cancer.** Vol. 3, USA, Dec. 2003.

PAVET, V. et al. Towards novel paradigms for cancer therapy. **Oncogene.** Vol.30, p. 1-20, 2011.

PENG, Fu, et. Al. Cutotoxic Evaluation against breast cancer cells of Isoliquiritigenin analogues from *Spatholobus suberectus* and their synthetic derivatives. **Journal of Natural Products.** Vol. 79, n. 1, p. 248-251, Ago. 2015.

PETROV, Ognyan, IVANOVA, Y. e GEROVA, M. SOCl₂/EtOH: Catalytic system for synthesis of chalcones. **Catalysis Communication.** Vol. 9, p. 315-316, Jun. 2007.

PLANA, Juan. Chemotherapy and the heart. **Revista Española de Cardiología.** Vol. 64,n. 5, p. 409-415, Maio, 2011.

POGRIBNY, Igor P., BELAND, Frederick A. DNA mehylome alterations in chemical carcinogenesis. **Cancer Letters.** Vol. 334 p. 39-45, USA, 2013.

PRIYADARSINI, Ramamurthi V. e NAGINI, Siddavaram. Cancer chemoprevention by dietary phytochemicals: Promises and Pitfalls. **Current Pharmaceutical Biotechnology**. Vol. 13, n.1, p. 125-136, India, 2012.

QIAN, Hua, WANG Y., LIU D. Ultrasound-accelerated synthesis of substituted 2'-hydroxychalcones by reusable ionic liquids. **Industrial e Engineering Chemistry Research**. Vol. 52, p.13272-13275, Ago. 2013.

RAJPUT, Jaspreet e KAUR, G. Silicotungstic acid catalyzed Claisen Schmidt condensation reaction: an efficient protocol for synthesis of 1,3-dyaryl-2-propenones. **Tetrahedron Letters**. Vol. 53, p. 646-649, dec. 2011.

ROZMER, Zsuzsanna, PERJÉSI, Pál. Naturally occurring chalcones and their biological activities. **Phytochem Reviews**. Vol.15, n.1, p. 87-120, Fev. 2016.

RYBKA, Martyna; MERCADER, Andrew G. CASTRO, Eduardo A. Predictive QSAR study of chalcone derivatives cytotoxicity activity against HT-29 human colon adenocarcinoma cell lines. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System**. Vol. 132, p. 18-29, Março, 2014.

SAK, Katrin. Cytotoxicity of dietary flavonoids on different human cancer types. **Pharmacognosy Review**. Vol. 8, n. 16, p. 122-146. Jul. 2014.

SAN-MARTÍN, Aurelio, et al. Molecular docking studies antitumoral activity and characterization of new chalcone. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. Vol. 15, n. 17, p. 1743-1749, Chile, 2015.

SAWAYA, Heloisa, et al. Early detection and prediction of cardiotoxicity in chemotherapy-treated patients. **The American Journal of Cardiology**. Vol. 107, n. 9, p. 1375-1380, Maio 2011.

SAXENA, Hari, et al. Synthesis of chalcone derivatives on steroidal framework and their anticancer activities. **Steroids**. Vol. 72, n.13, p. 892-900, Nov. 2007.

SHAKIL, N.A. et al. Microwave synthesis, characterization and bio-efficacy evaluation of novel chalcone based 6-carbomethoxy-2-cyclohexen-1-one and 2H-indazol-3-ol derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 59, p. 120-131, India, Nov.2012.

SHARMILA, et al. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in *in vivo* model. **Clinical Nutrition**. Vol. 33, p. 718-726, India, Ago. 2013.

SIDDIQUI, Imtiaz A. et al. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** p.1-12, Nova York, 2015.

STOYANOV, E. V.; et. al. Efficient liquid-phase synthesis of 2'-hydroxychalcones. **Bioorganic e medicinal chemistry**. v.12, n.19; p.2685-2687, 2002.

SUNG, Boyung; et al. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kB α kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**. Vol. 111, n. 10, p. 4880-4891, 2008.

TABY, Rodolphe, et al. Cancer Epigenetics. **A Cancer Journal for Clinicians**, vol.60 n.6, Texas, Nov. 2010.

TAGLE, R. Rodrigo, et al. Chalcone-induced apoptosis through caspases-dependent intrinsic pathways in human hepatocellular carcinoma cells. **Molecular Sciences**. Vol. 17, Chile, Fev. 2016.

TANAKA, Takuji, et al. Chemical-induced Carcinogenesis. **Journal of Experimental and Clinical Medicine**. Vol.6, p.203-209, Japão, 2013.

THIRUNARAYANAN, G.; VANANGAMUDI, G. synthesis of some aryl chalcones using silica-sulphuric acid reagent under solvent free conditions. **E-Journal of Chemistry**. Índia; Vol. 4, No.1, pp 90-96, 1 nov. 2006.

TIAN, Jingge, et al. Comparative studies on the constituents, antioxidant and anticancer activities of extracts from different varieties of com silk. **Food e Function**. Vol. 4, p. 1526-1534, Ago. 2013.

TOFTHAGEN, Cindy. Patient perception associated with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Clinical Journal of Oncology Nursing**. Vol.14, n.3, p.E22-E29. Jun. 2010.

TOSI, Diego, et al. Clinical development strategies and outcomes in first-in human trials of monoclonal antibodies. **Journal of Clinical Oncology**. Vol.33 n. 19, p. 2158-2166. Jul. 2015.

UMAR, Assad, DUNN, Barbara K. GREEWALD, Peter. Future directions in cancer prevention. **Nature Reviews Cancer**. Vol. 12, p. 835-849, Dec. 2012.

VALLE, Carlos J.D. et al. Sonovatalysis and alkaline-doped carbos: an efficient method for the synthesis of chalcones in heterogeneous media. **Catalysis Today**. Vol.108, p. 500-506, Ago. 2005.

VERBRUGGHE, M. et al. Determinants and associated factors influencing medication adherence and persistence to oral anticancer drugs: A systematic review. **Cancer Treatment Review**. Vol. 39, n. 6, p. 610-621, Out. 2013.

VOIRIN, Caroline, et al. Functionalization of cardanol: towards biobased polymers and additives. **Polymer Chemistry**. Vol.5 p. 3142-3162, 2014.

WANG, Hao-Meng, et al. Synthesis and anti-cancer activity evaluation of novel prenylated and geranylated chalcone natural products and their analogs. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 92, p. 439-448, Março, 2015.

WEINGART, Saul N. et al. Medication errors involving oral chemotherapy. **Cancer**. Vol. 116, n. 10, p. 2455-2464, Maio, 2010.

WEINSTEIN, Bernard L. Addiction to oncogenes-the Achilles heel of cancer. **Science**. Vol. 297, n.5, p. 63-66. Jul. 2002.

WHANG, Guangcheng, et al. Design, synthesis and biological evaluation of a series chalcones derivatives containing indole moiety as novel anti-tubulin agents. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**. Vol. 22, p. 2060-2079, mar, 2014.

Wu, W.; et al. Millepachine, a novel chalcone, induces G2/M arrest by inhibiting CDK1 activity and causing apoptosis *via* ROS – mitochondrial apoptotic pathway in human hepatocarcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. **Carcinogenesis**. Vol.34, n.7, p.1636-1643, Abril, 2013.

YAP, Timothy A, OMLIN, Aurelius e BONO, Johann S. Development of therapeutic combinations targeting major cancer signaling pathways. **Journal of Clinical Oncology**. Vol. 31, n. 12, p. 1592-1604. Abril, 2013.

YOUNG, Nathan P. CROWELY, Denise, JACKS, Tyler. Uncoupling cancer mutations reveals critical timing of p53 loss in sarcomagenesis. **Cancer Research**. Vol.7, n. 11, p.4040-4048, Jun. 2011.

YU, Lei. Et al. Ca(OH)₂-Catalyzed condensation of aldehydes with methyl ketones in dilute aqueous ethanol: A comprehensive access to α,β -unsaturated ketones. **Scientific Reports**. n.30432, China, Jul. 2016.

ZENGER, Katharina, et.al. *In vitro* structure-toxicity relationship of chalcones in human hepatic stellate cells. **Toxicology**. Vol. 336, p.26-33, Julho, 2015.

ZHANG, B. et al. Synthesis of Xanthohumol analogues and discovery of potent thioredoxin reductase inhibitor as potential anticancer agent. **Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 58, p. 1795-1805, Jan. 2015.

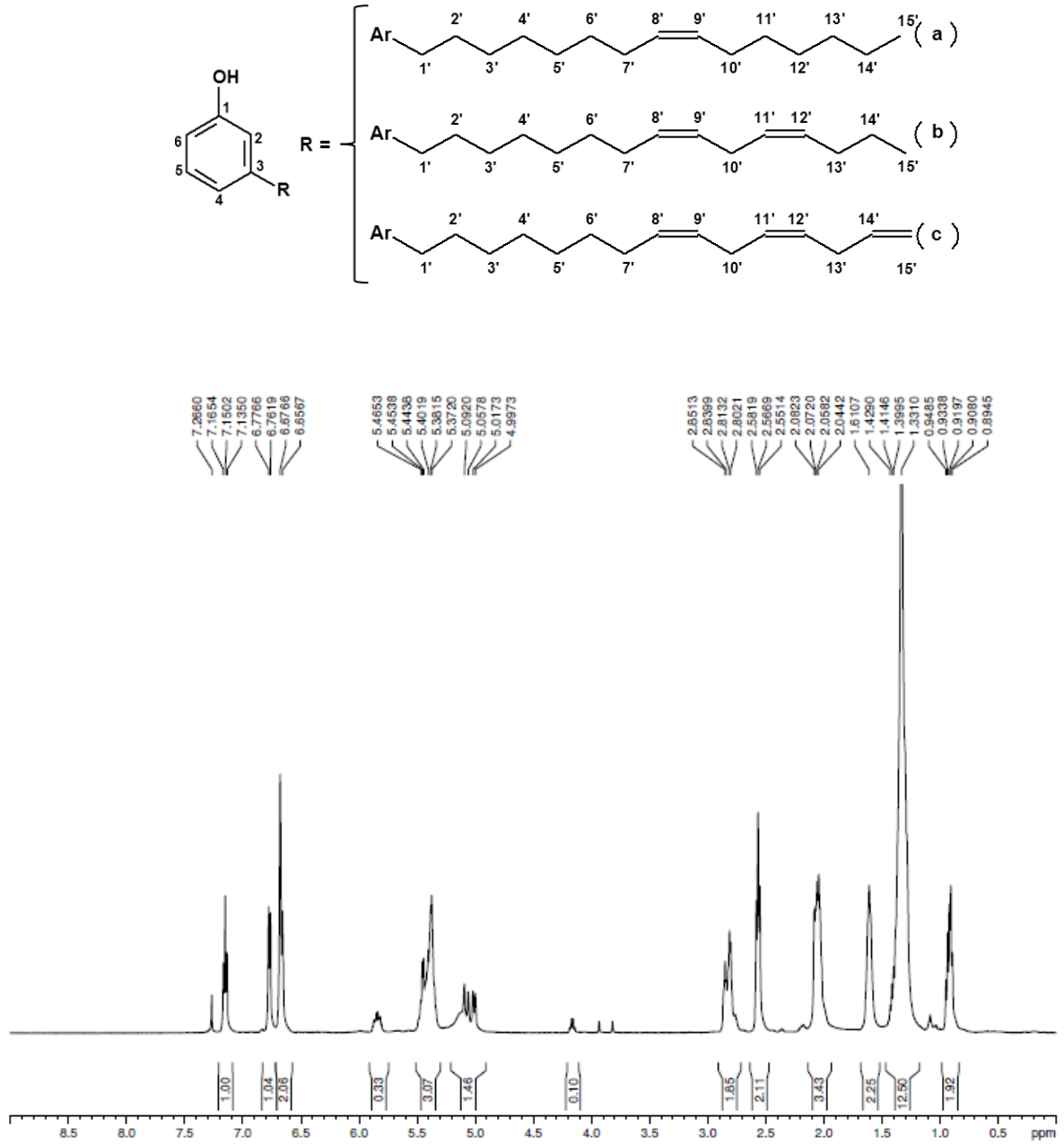
ZHANG, Yali, et al. Discovery of new MD2 inhibitor from chalcone derivatives with anti-inflammatory effects in LPS-induced acute lung injury. **Scientific Reports**. n.25130, China, Abril, 2016.

Anexos

ANEXO 01

LDT10i

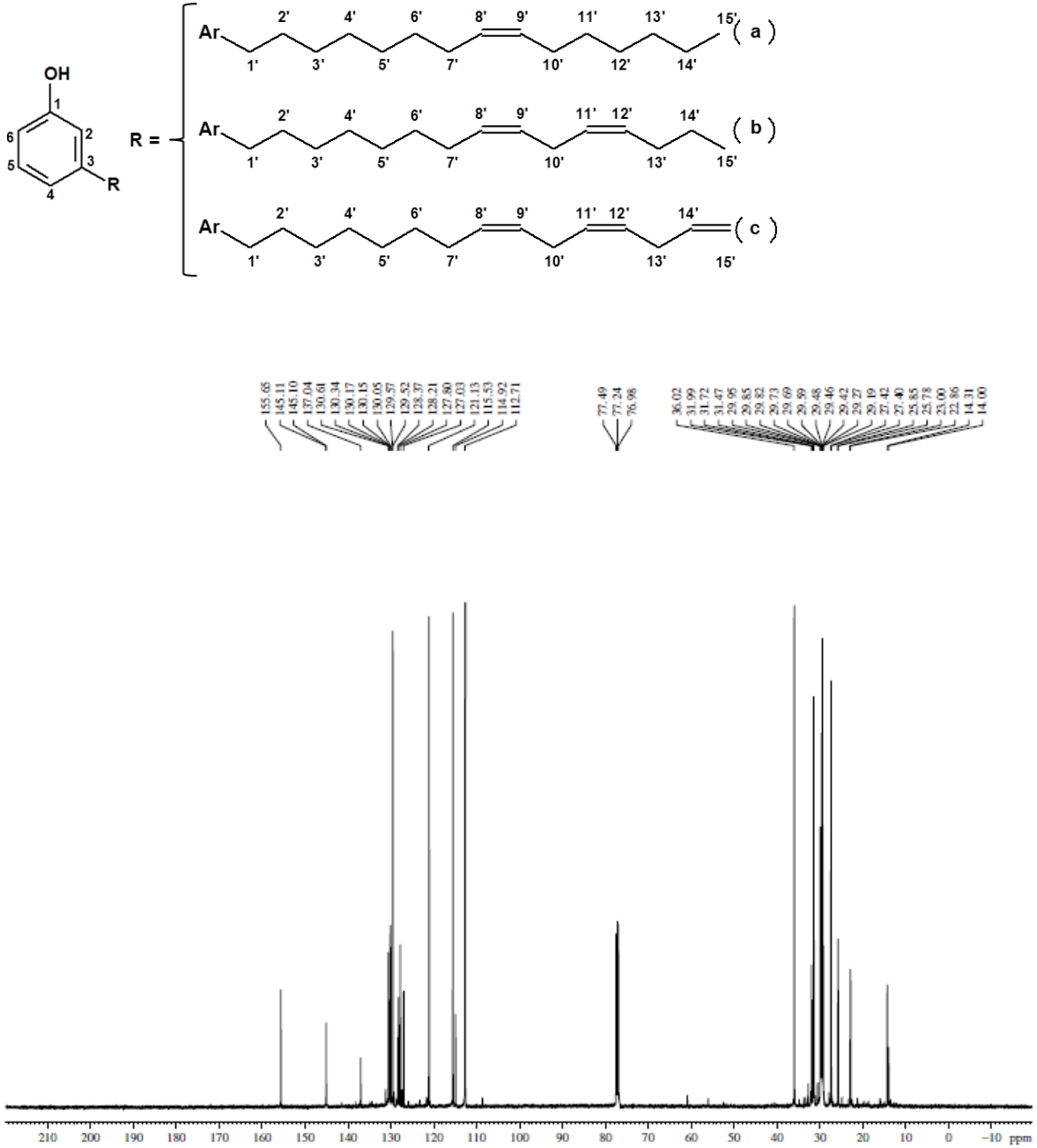
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 02

LDT10i

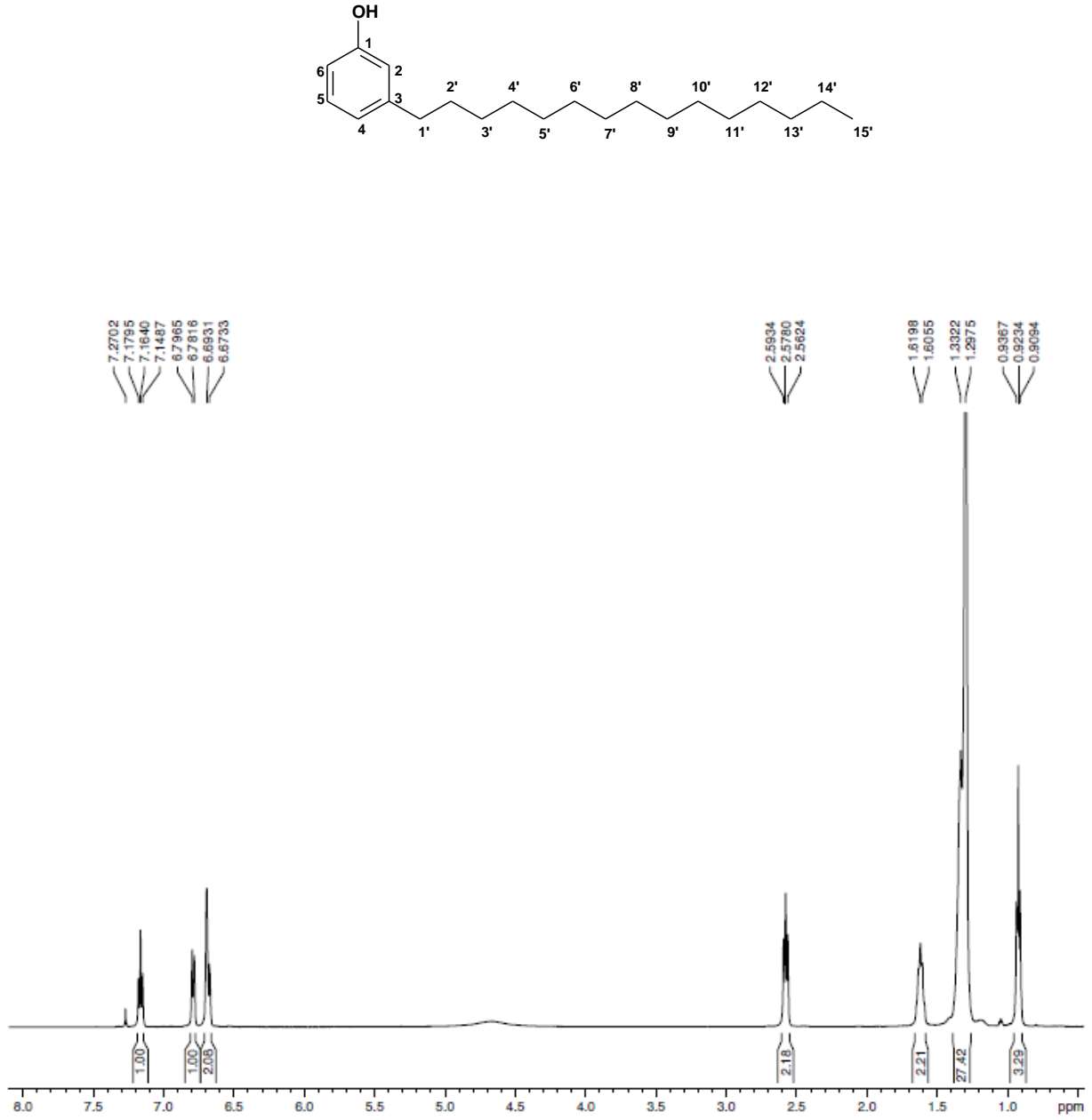
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)



ANEXO 03

LDT10

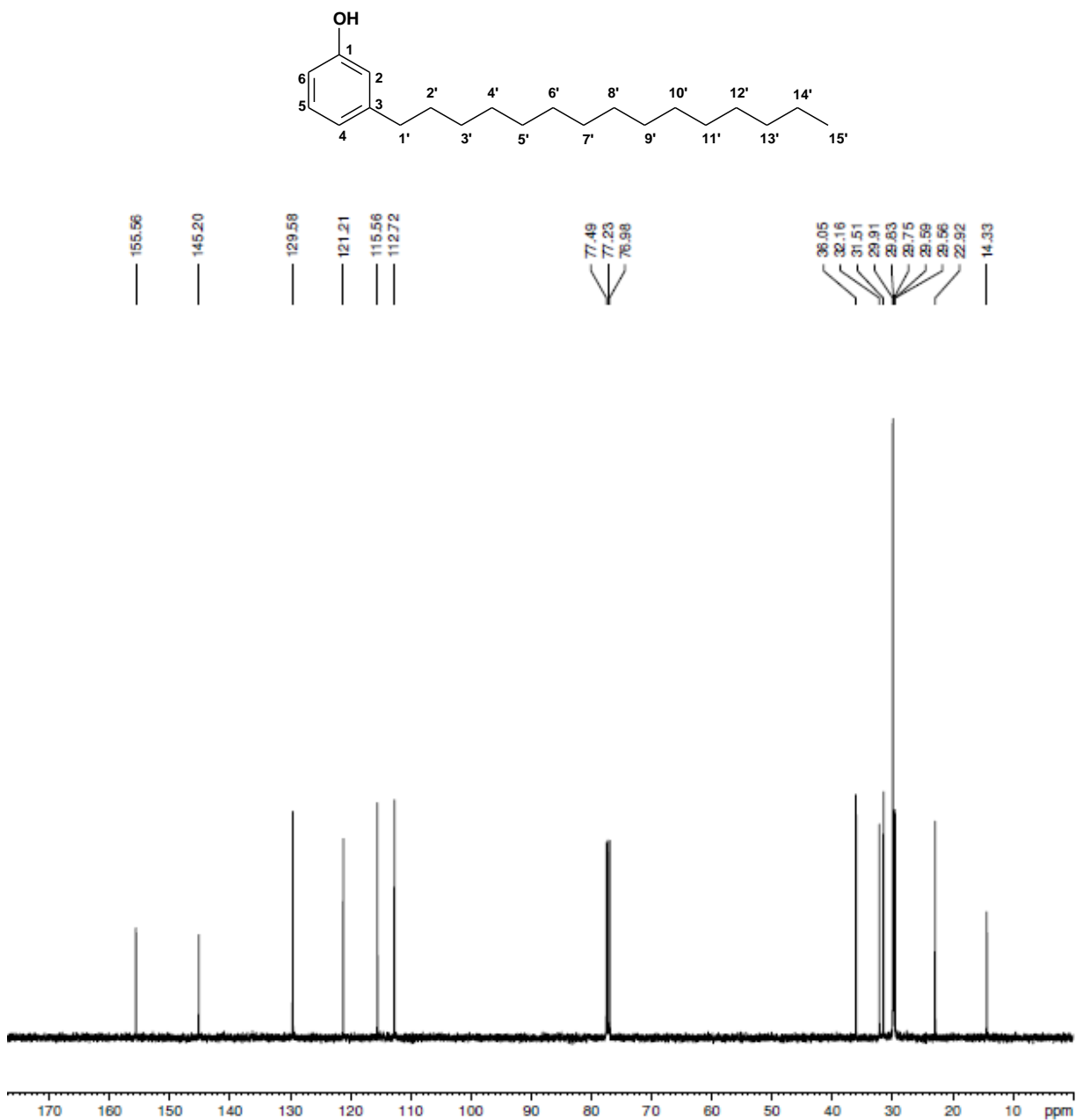
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) LDT10



ANEXO 04

LDT10

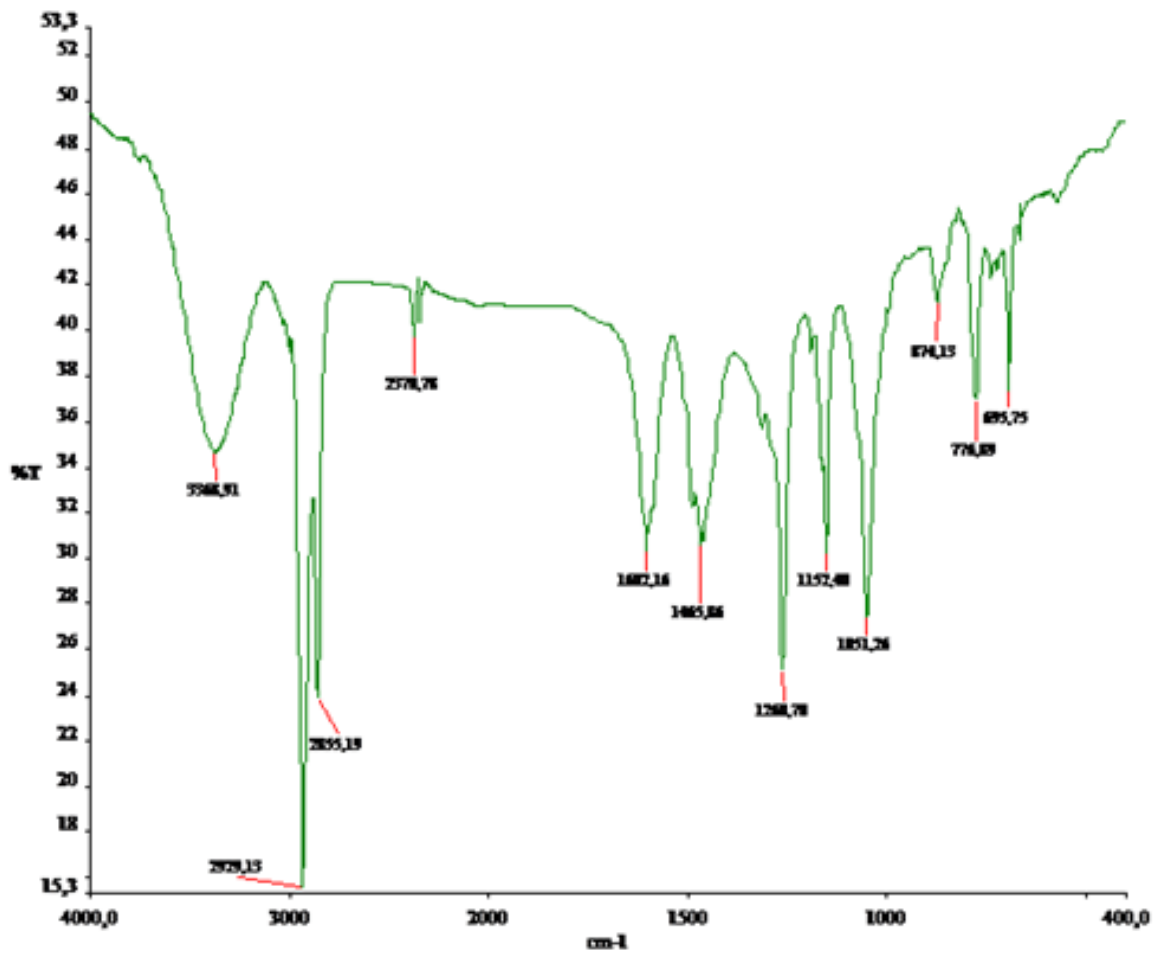
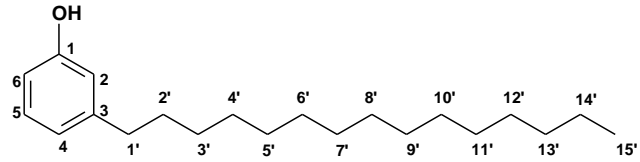
Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)



ANEXO 05

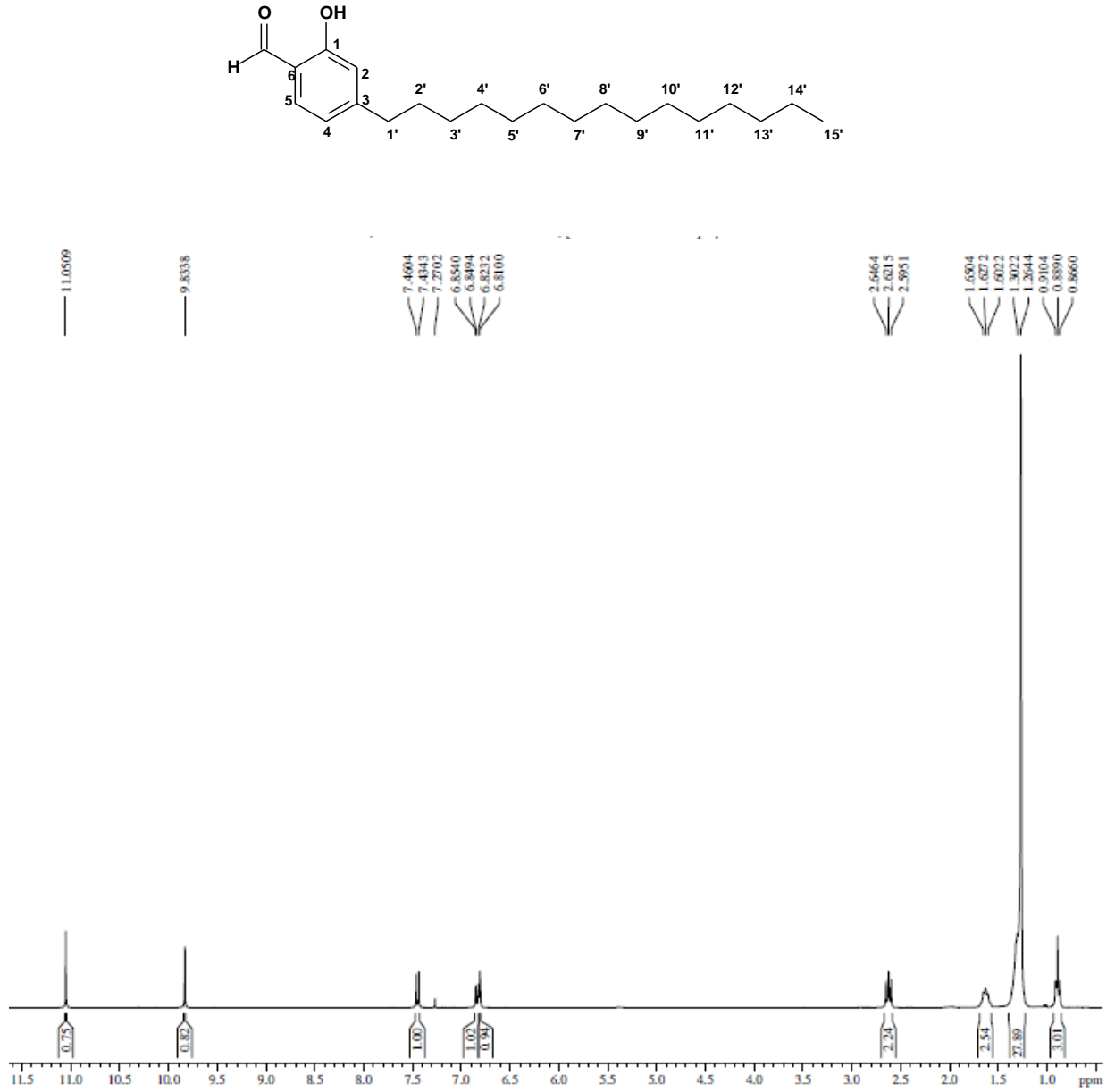
LDT10

Espectro de infravermelho (cm^{-1} KBr)



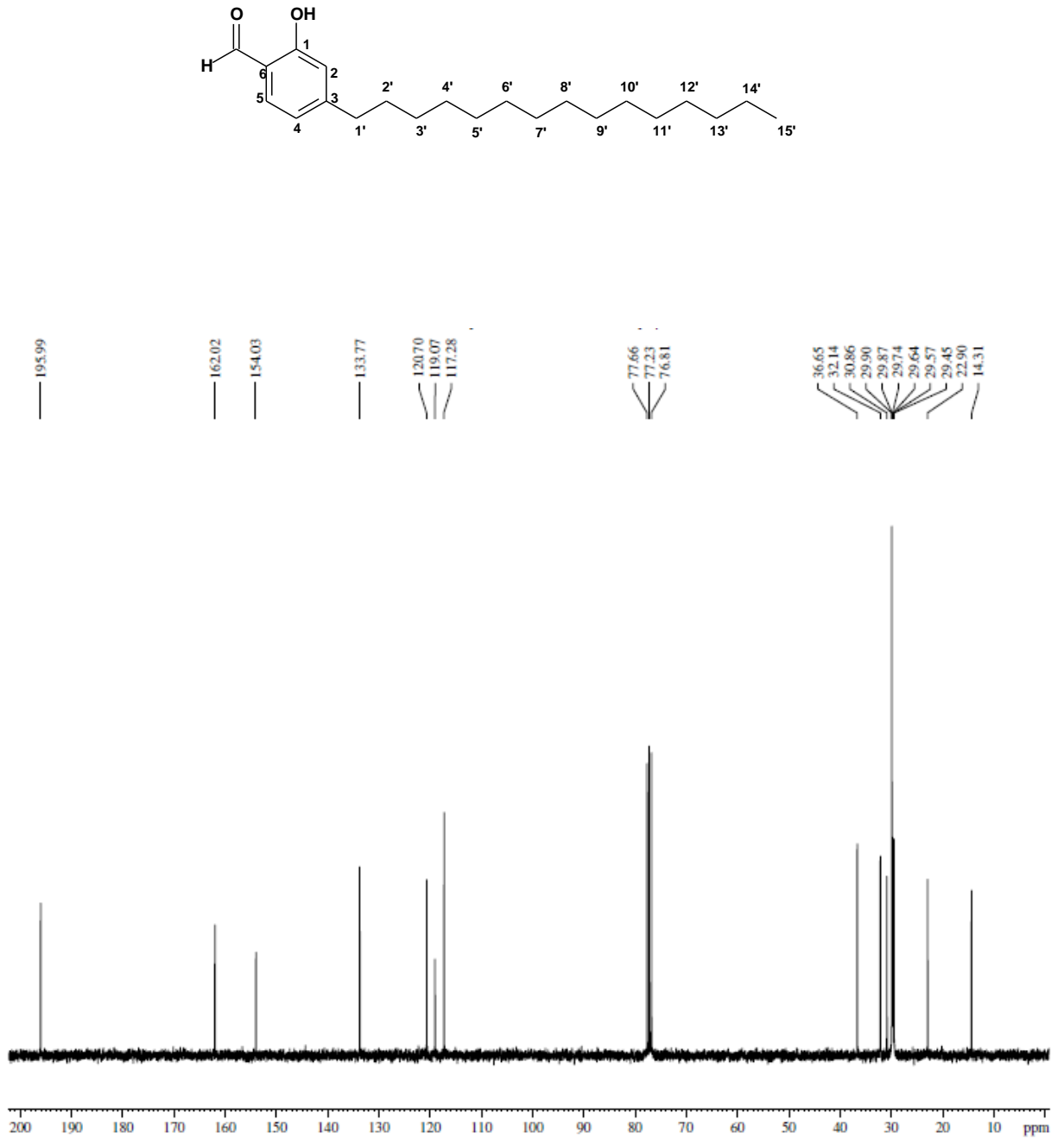
ANEXO 06

LDT77

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 07

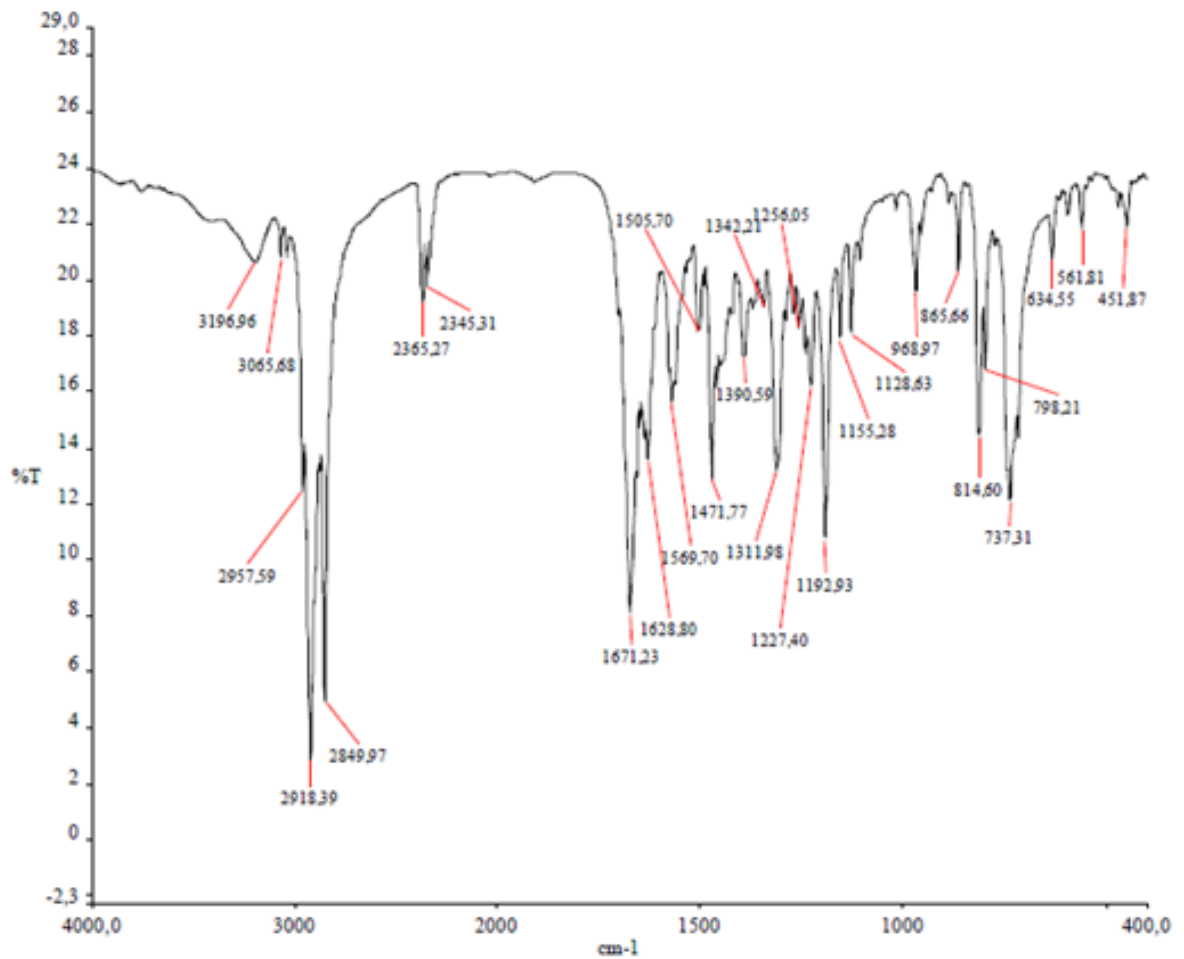
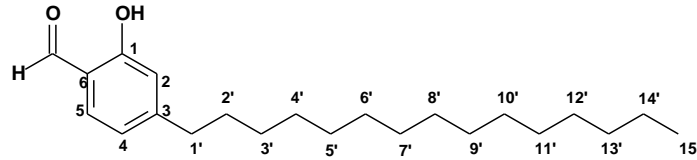
LDT77

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 08

LDT77

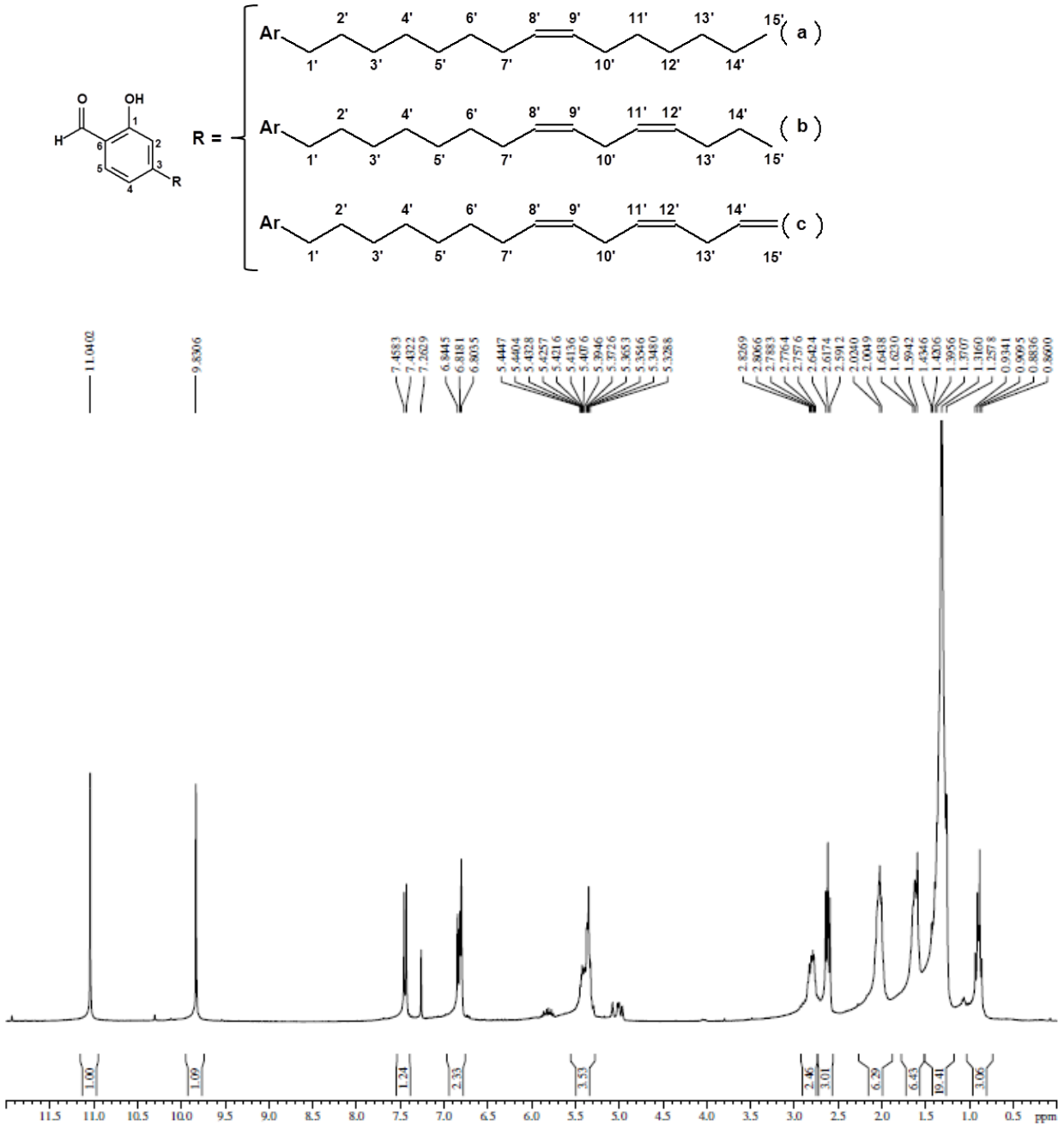
Espectro de infravermelho (cm^{-1} KBr)



ANEXO 09

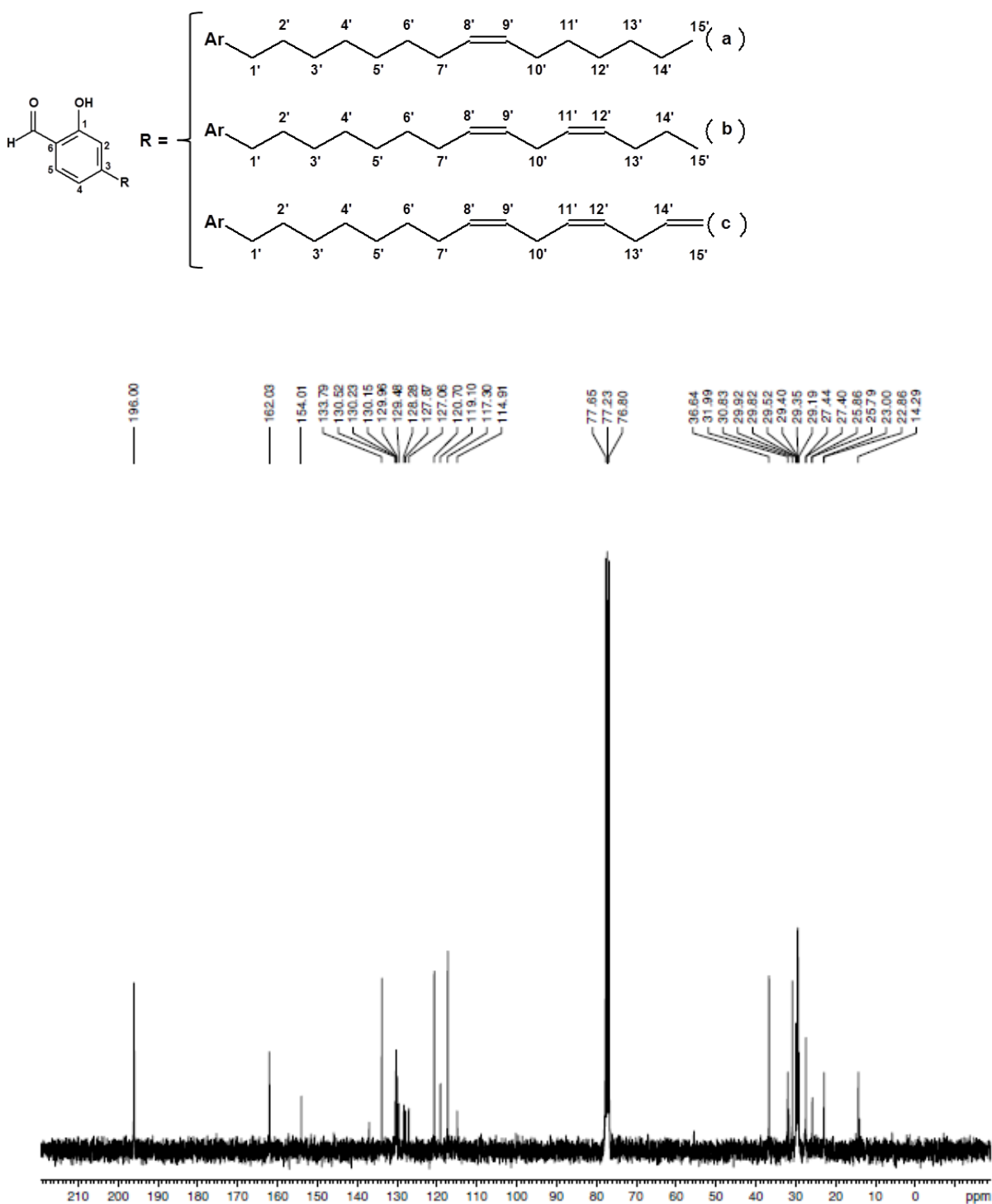
LDT77i

Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 10

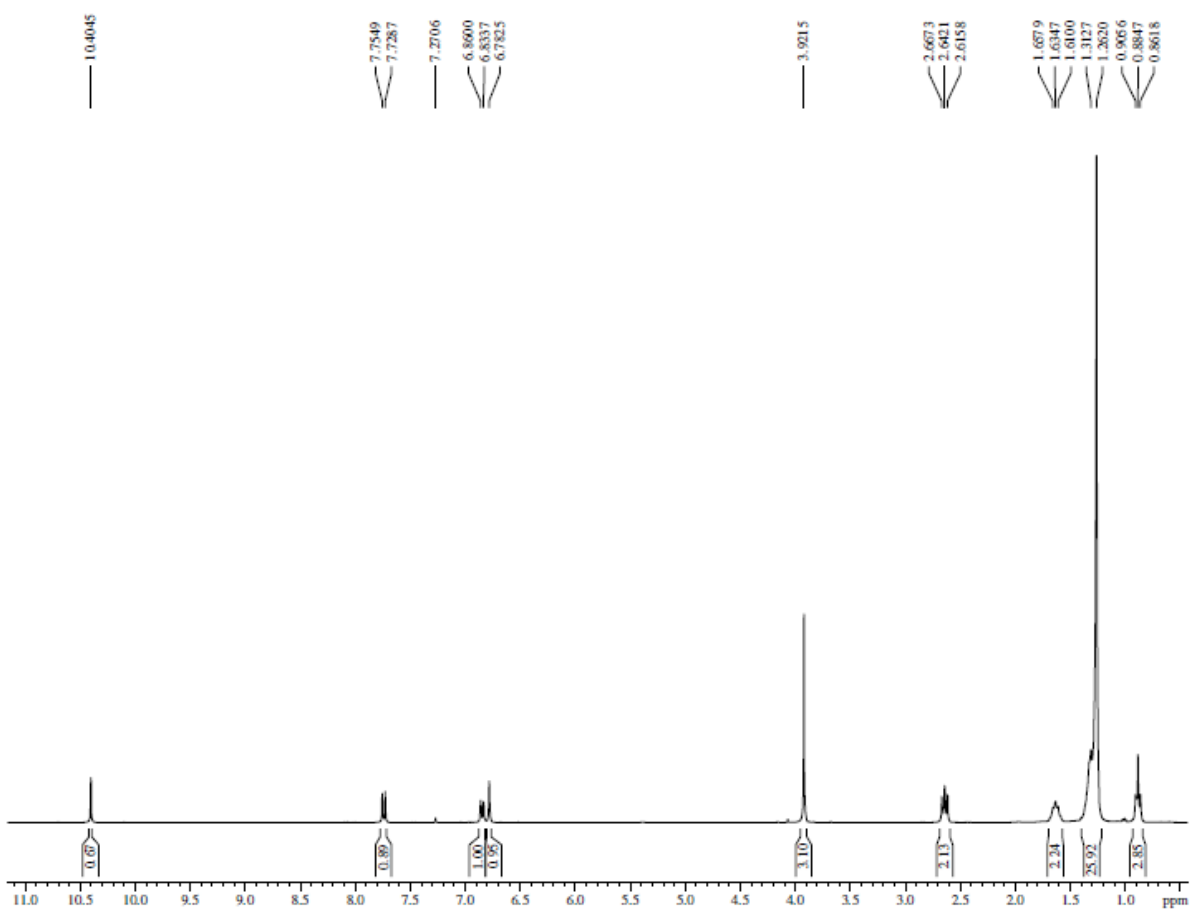
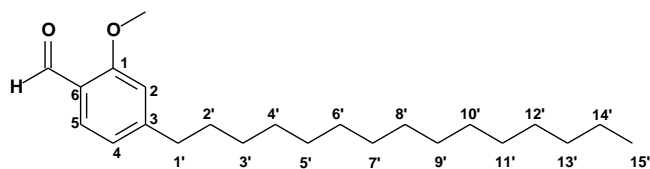
LDT77i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 11

LDT220

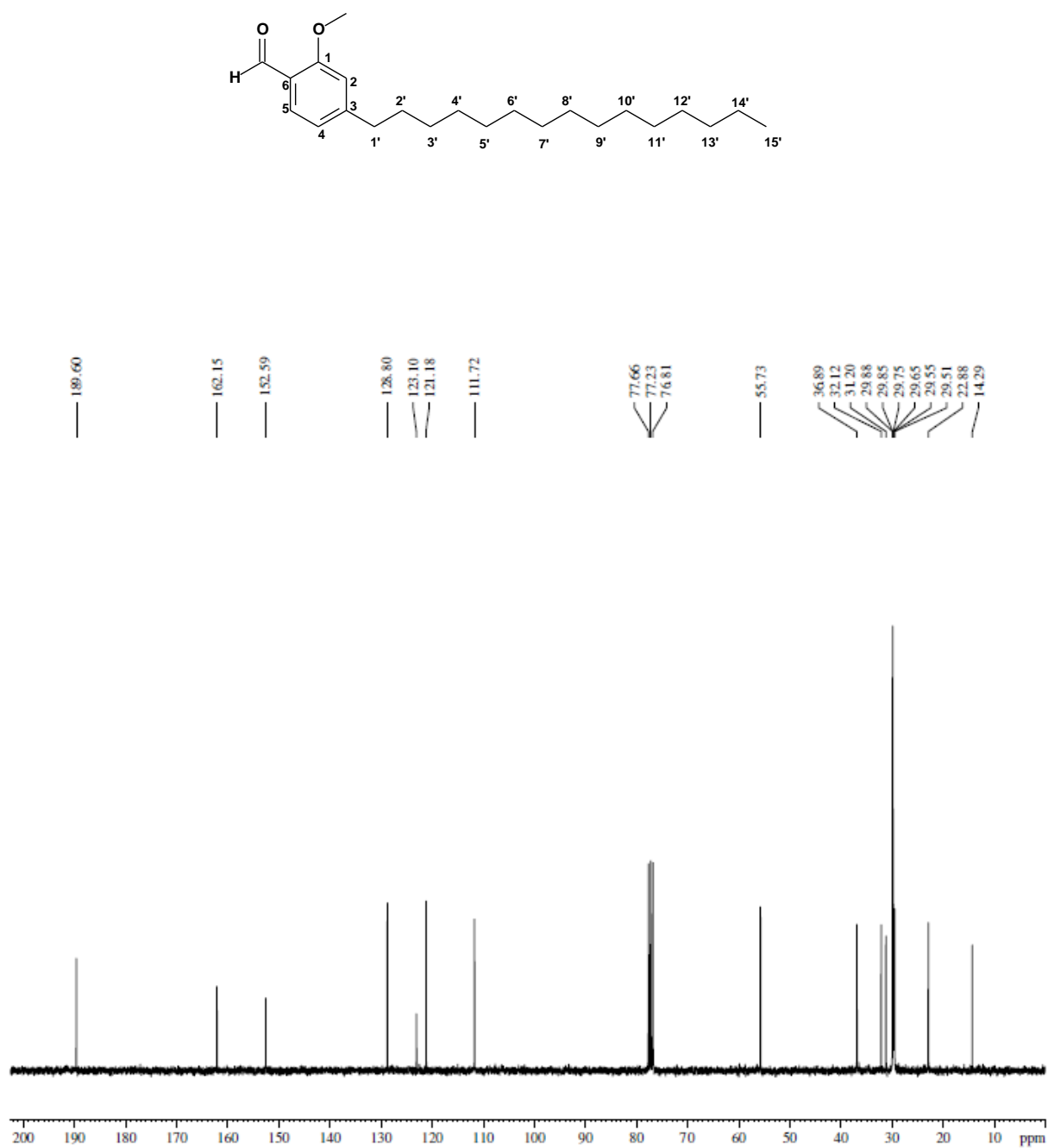
Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 12

LDT220

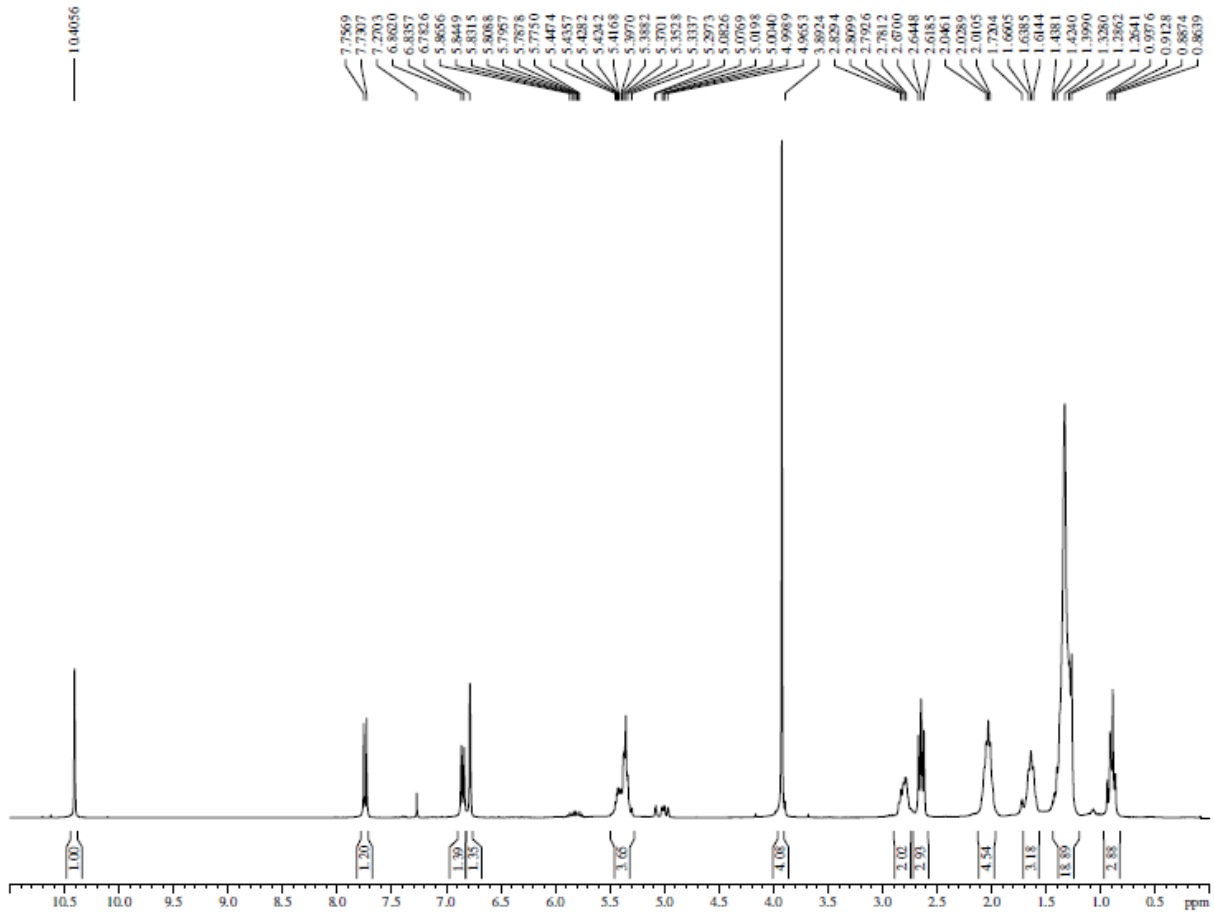
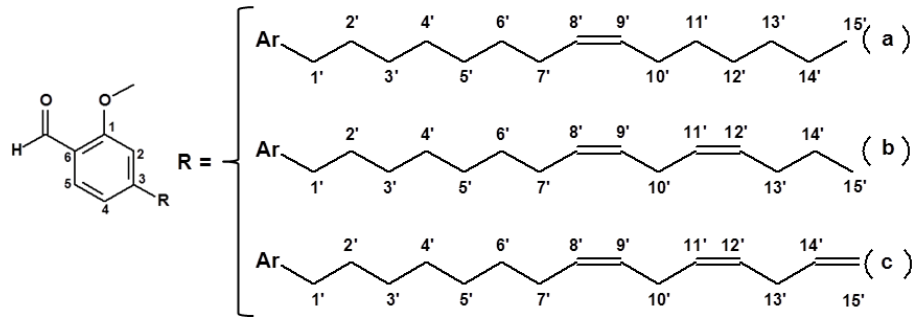
Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)



ANEXO 13

LDT220i

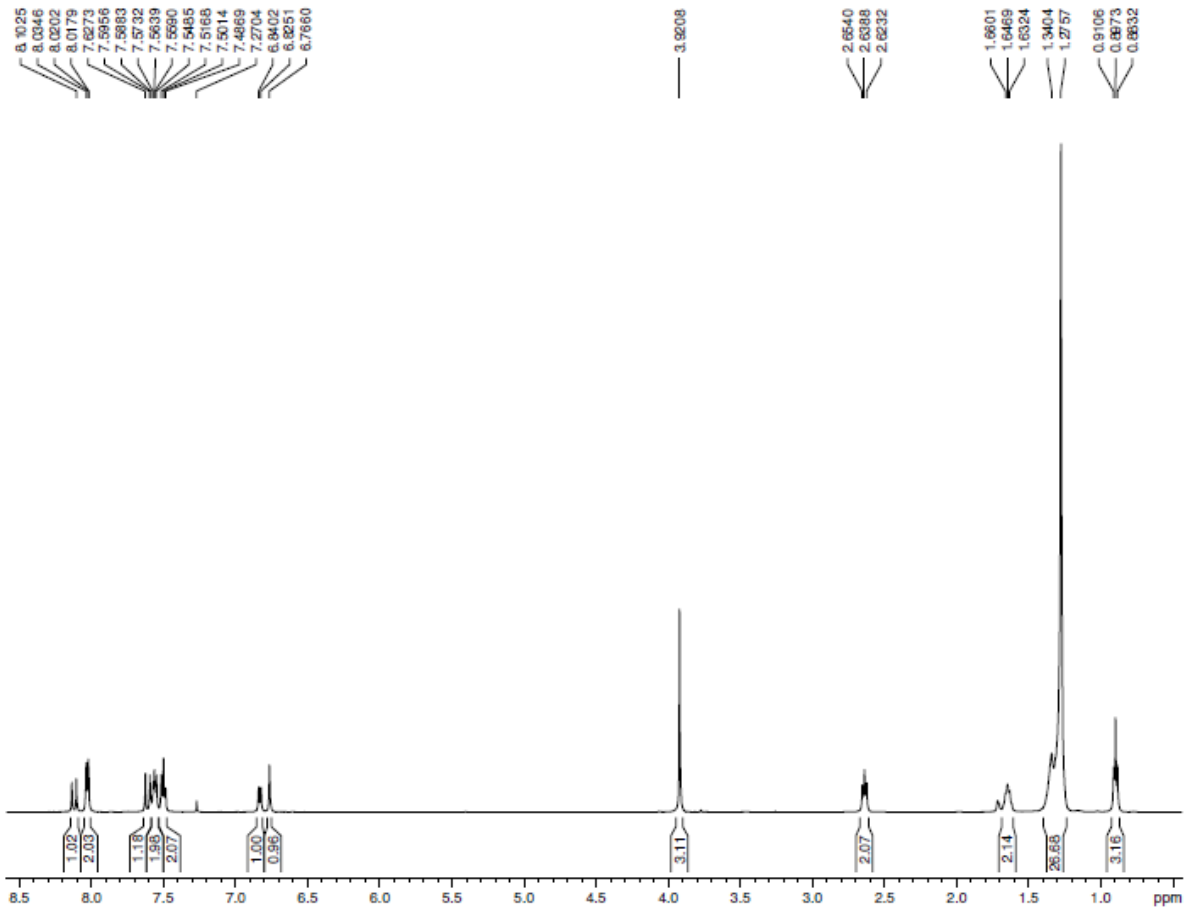
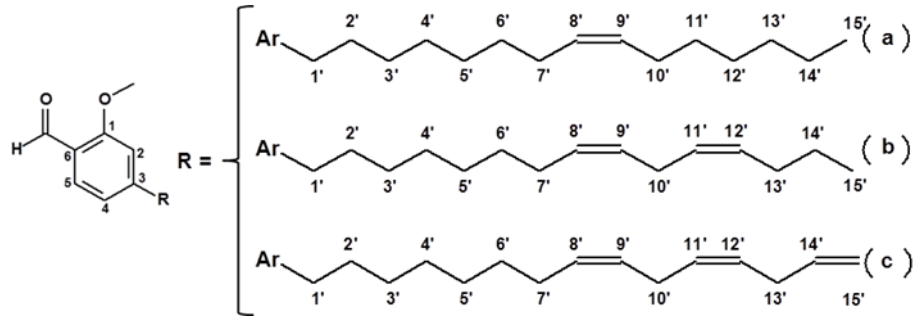
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 14

LDT220i

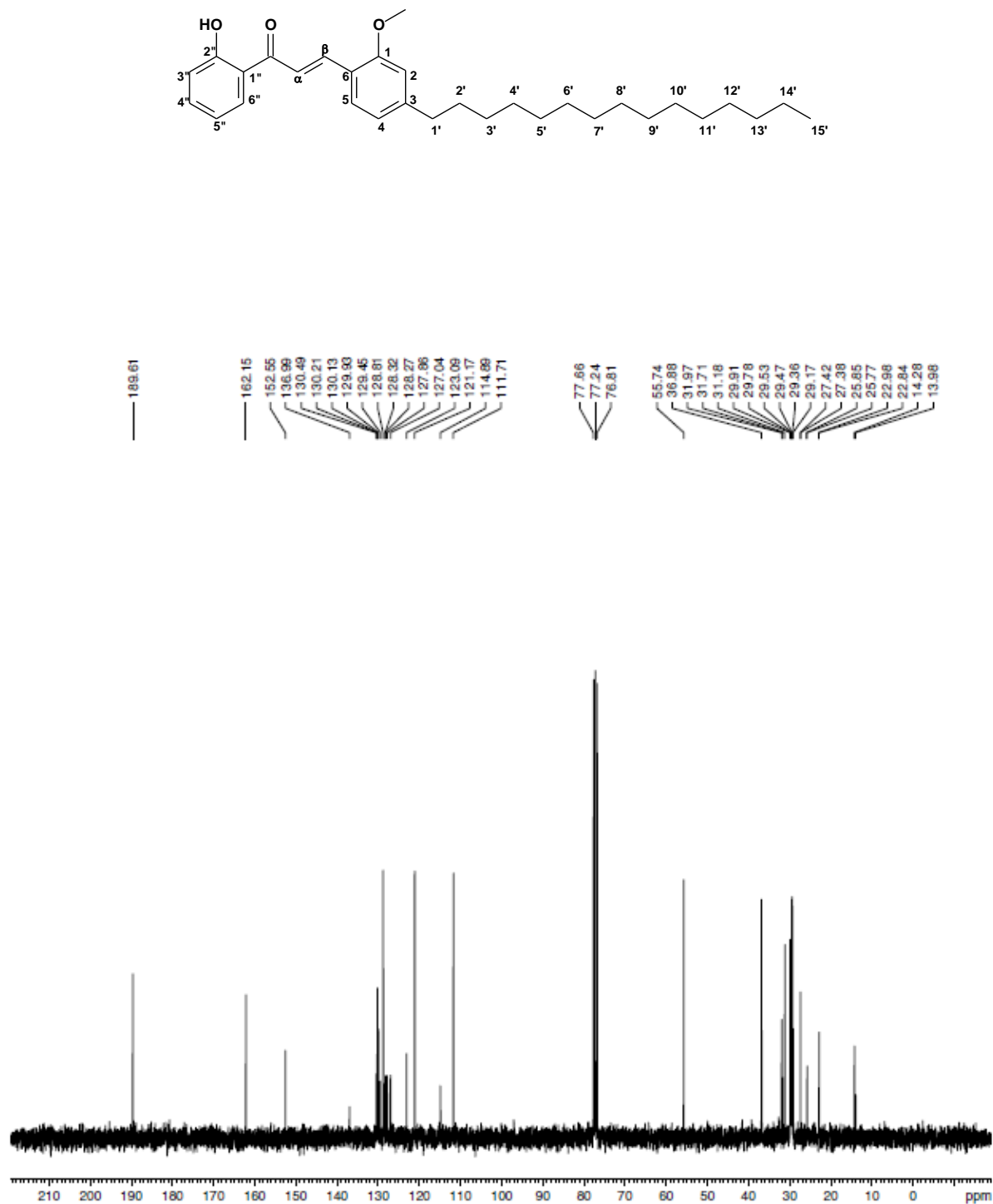
Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)



ANEXO 15

LDT546

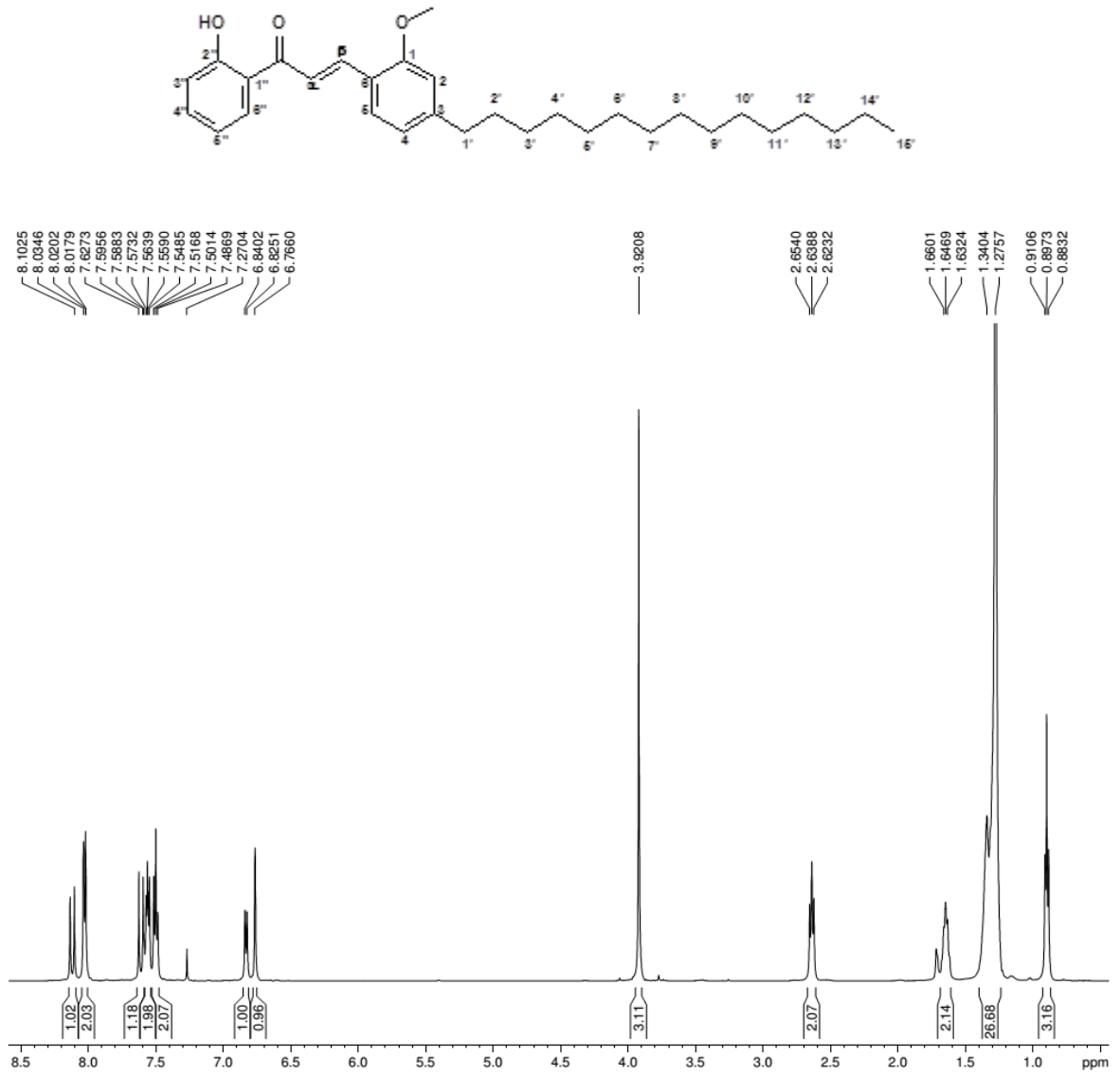
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 16

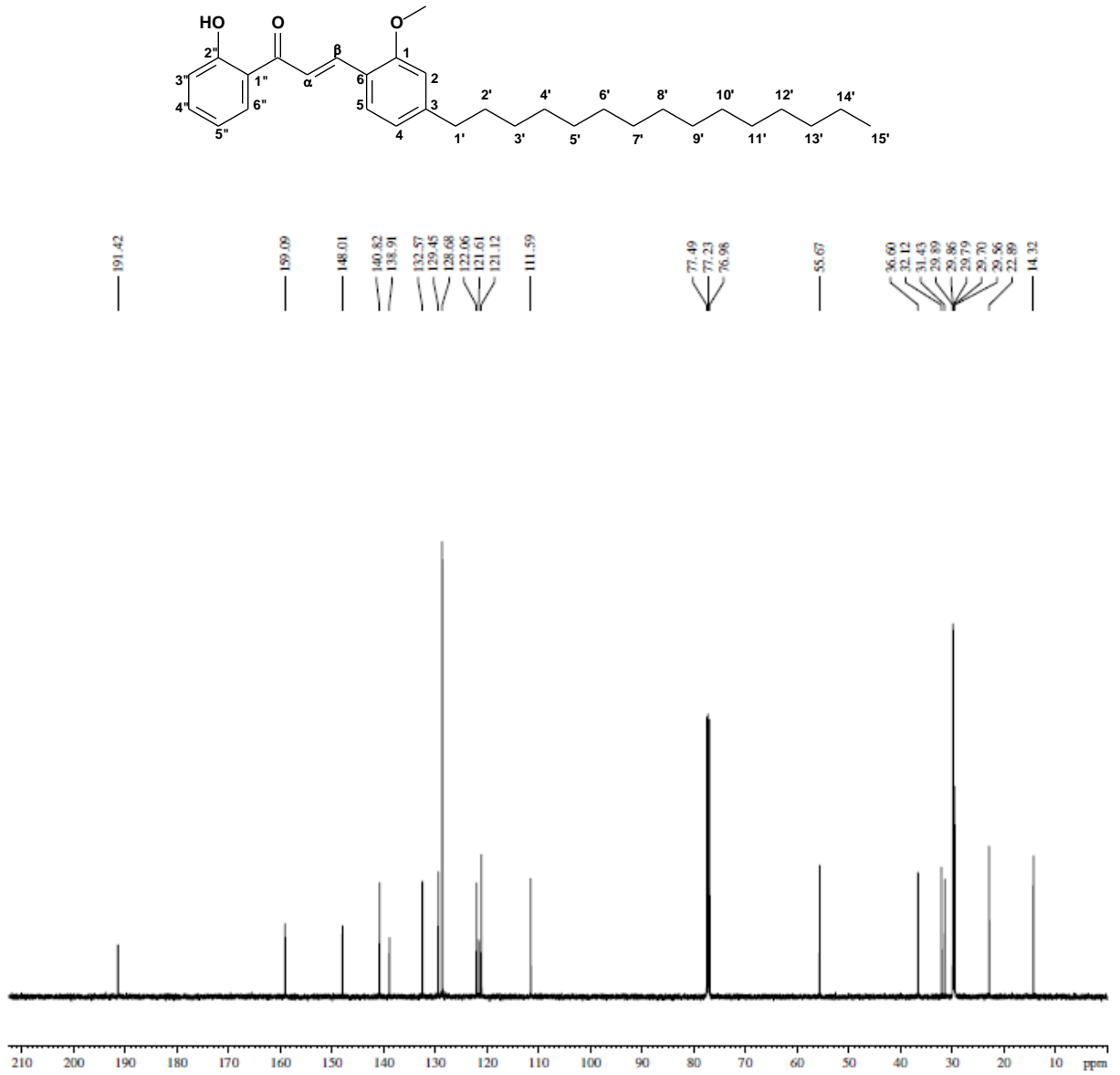
LDT546

Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 17

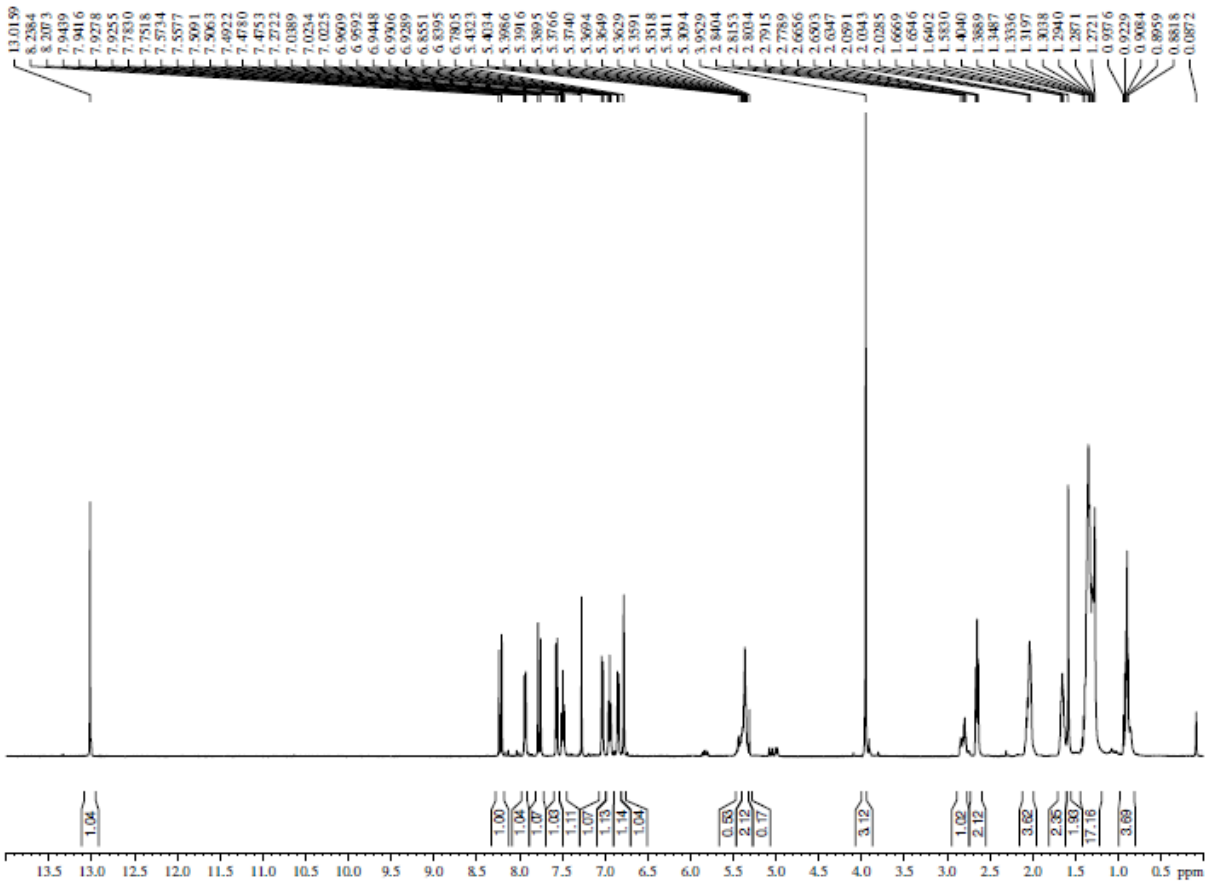
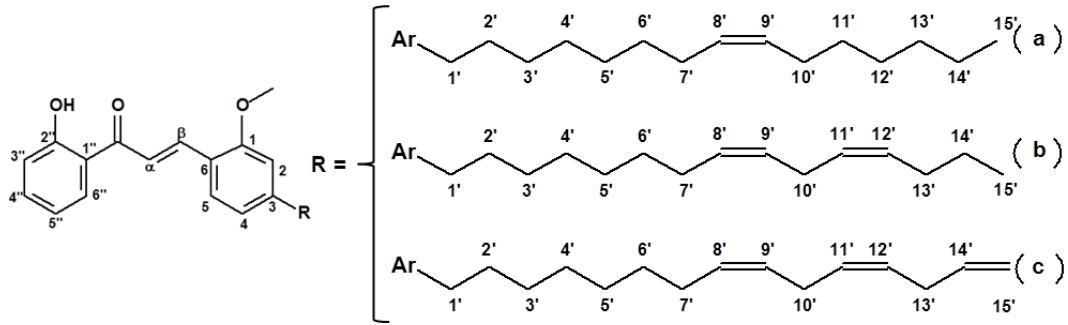
LDT546

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

ANEXO 18

LDT546i

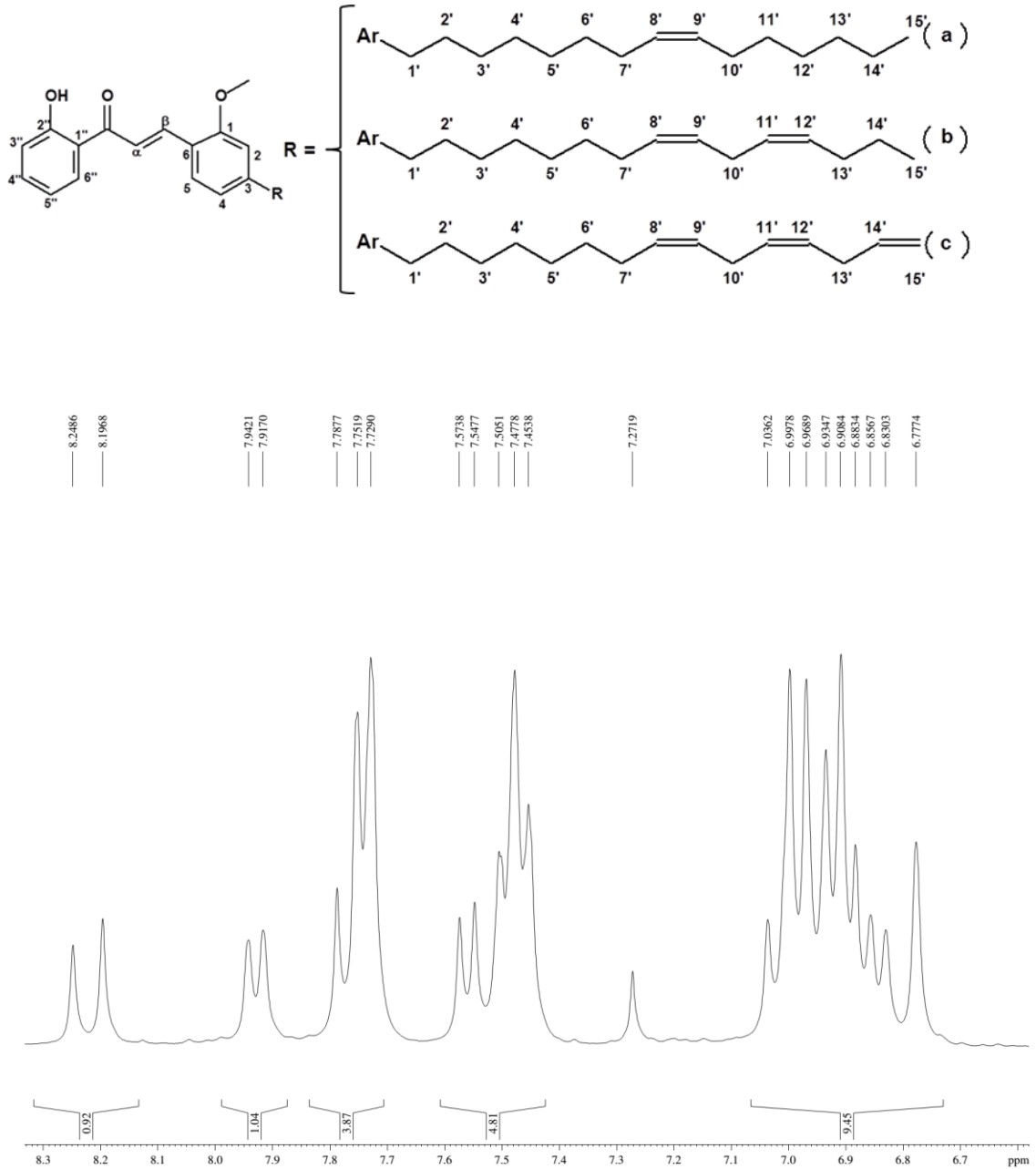
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 19

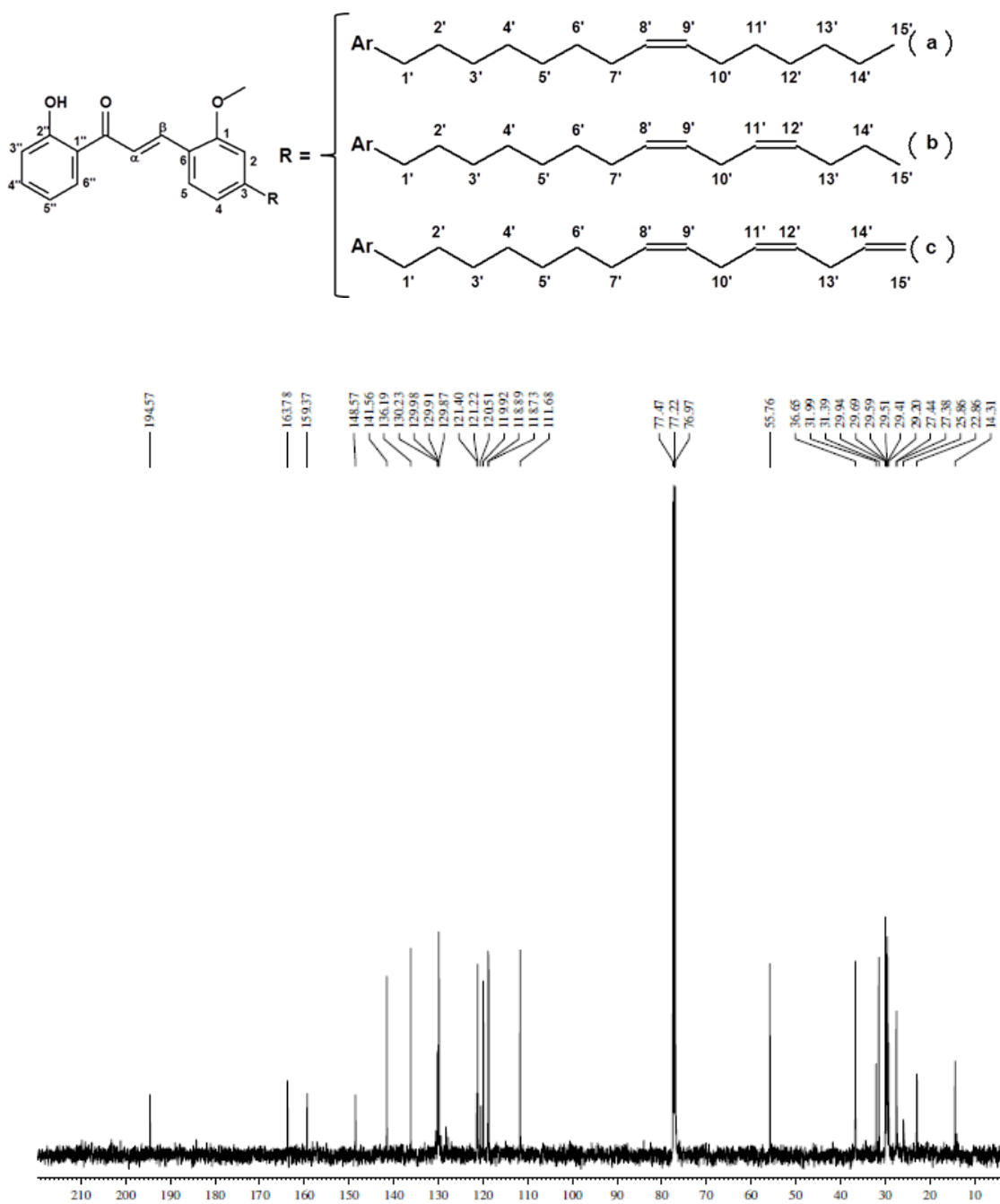
LDT546i

Expansão de espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



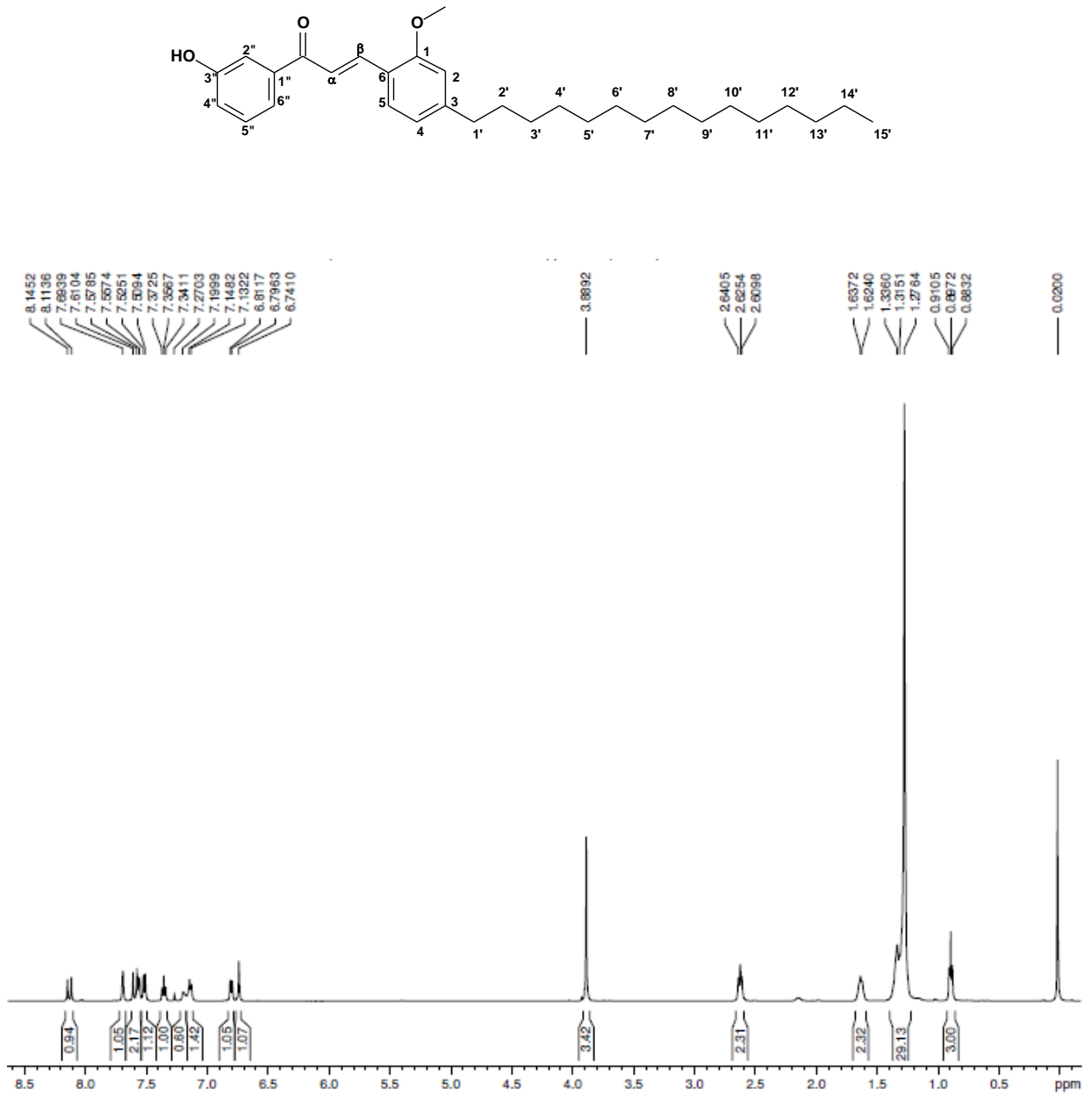
ANEXO 20

LDT546i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 21

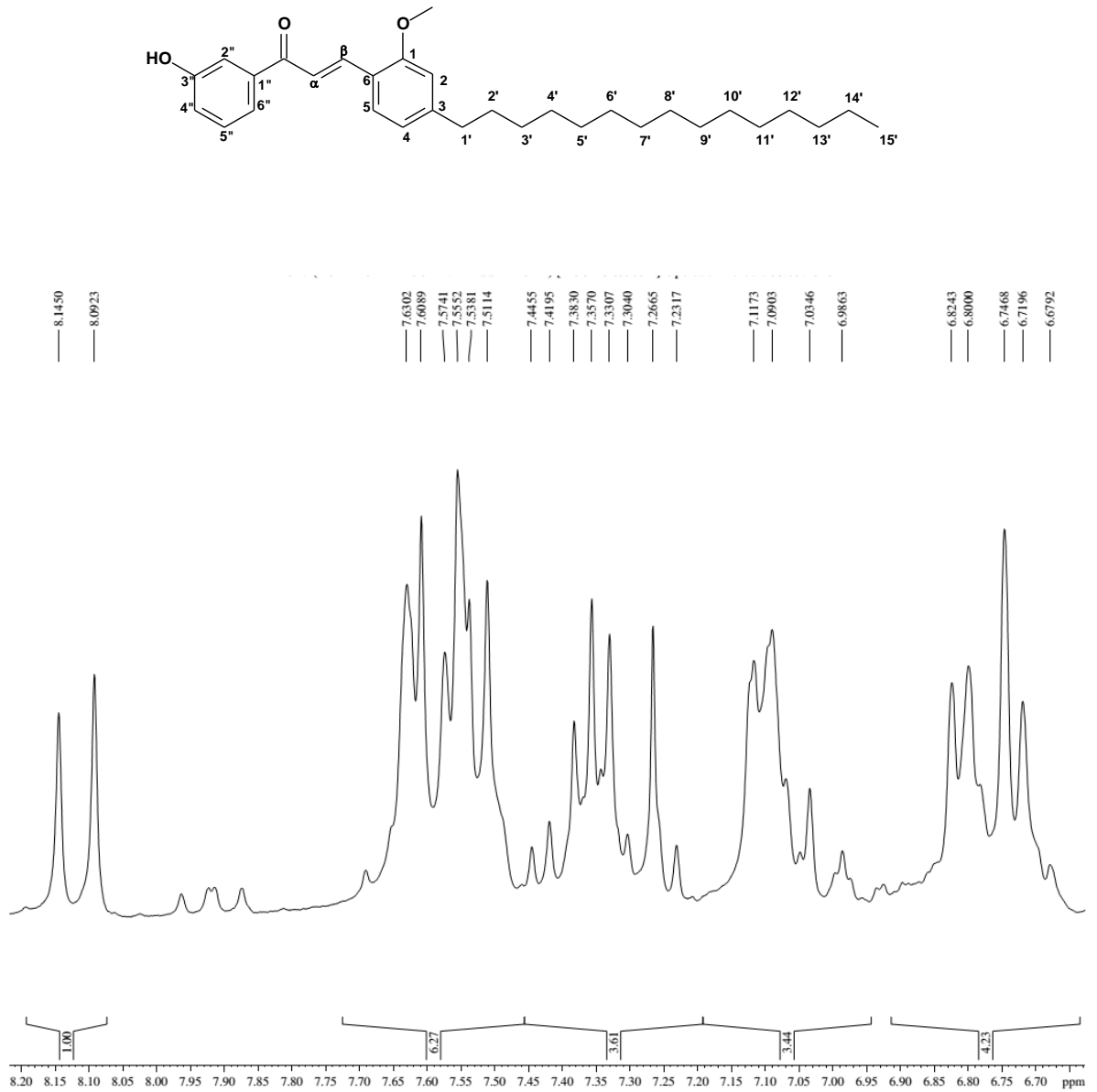
LDT547

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 22

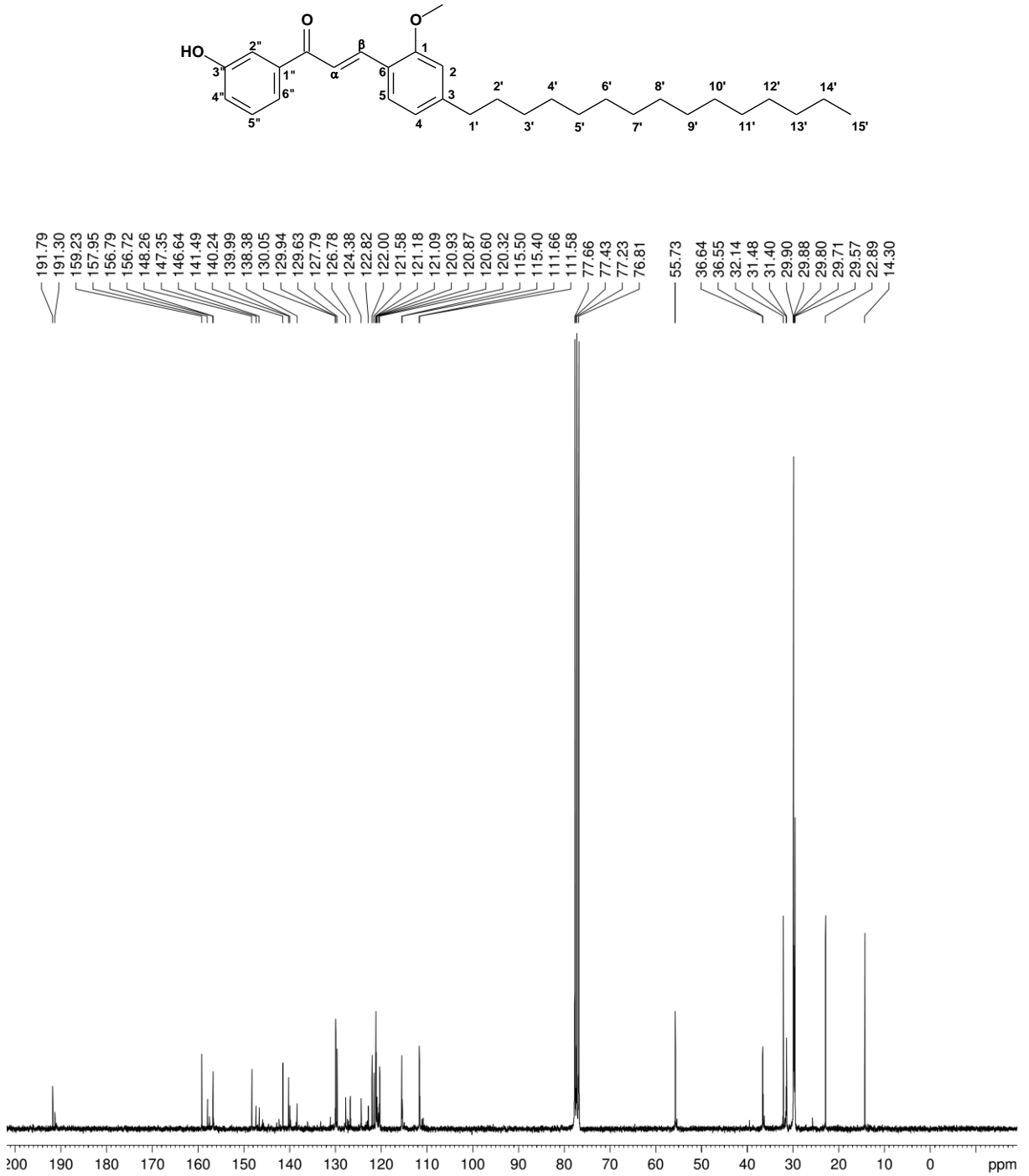
LDT547

Expansão do espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



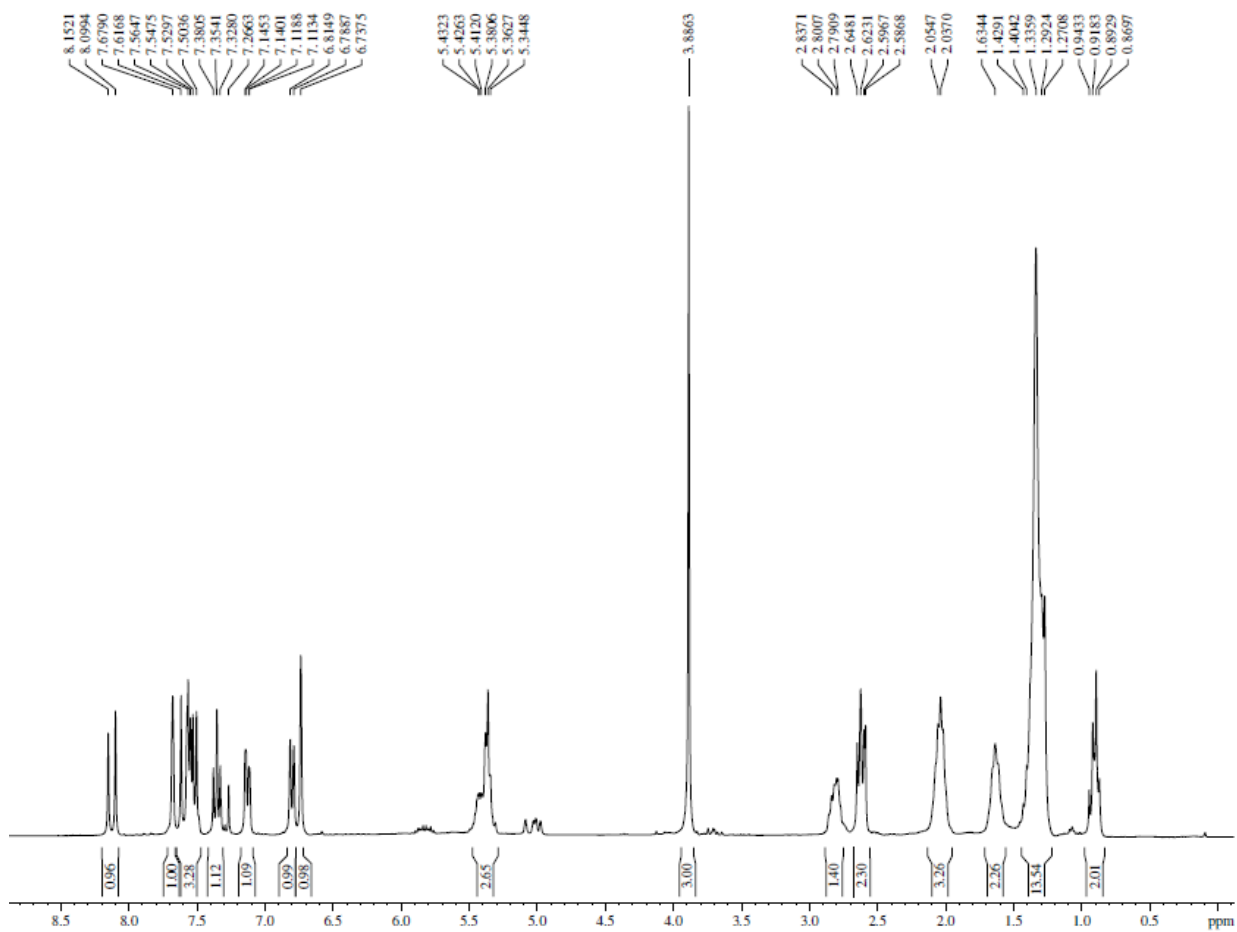
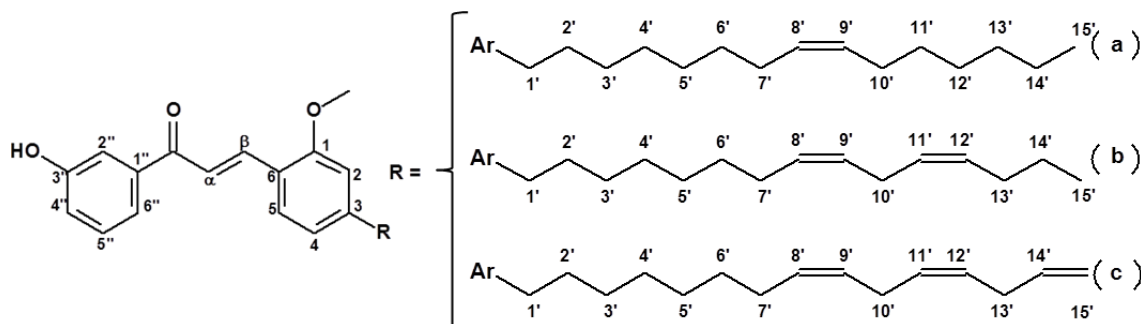
ANEXO 23

LDT547

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 24

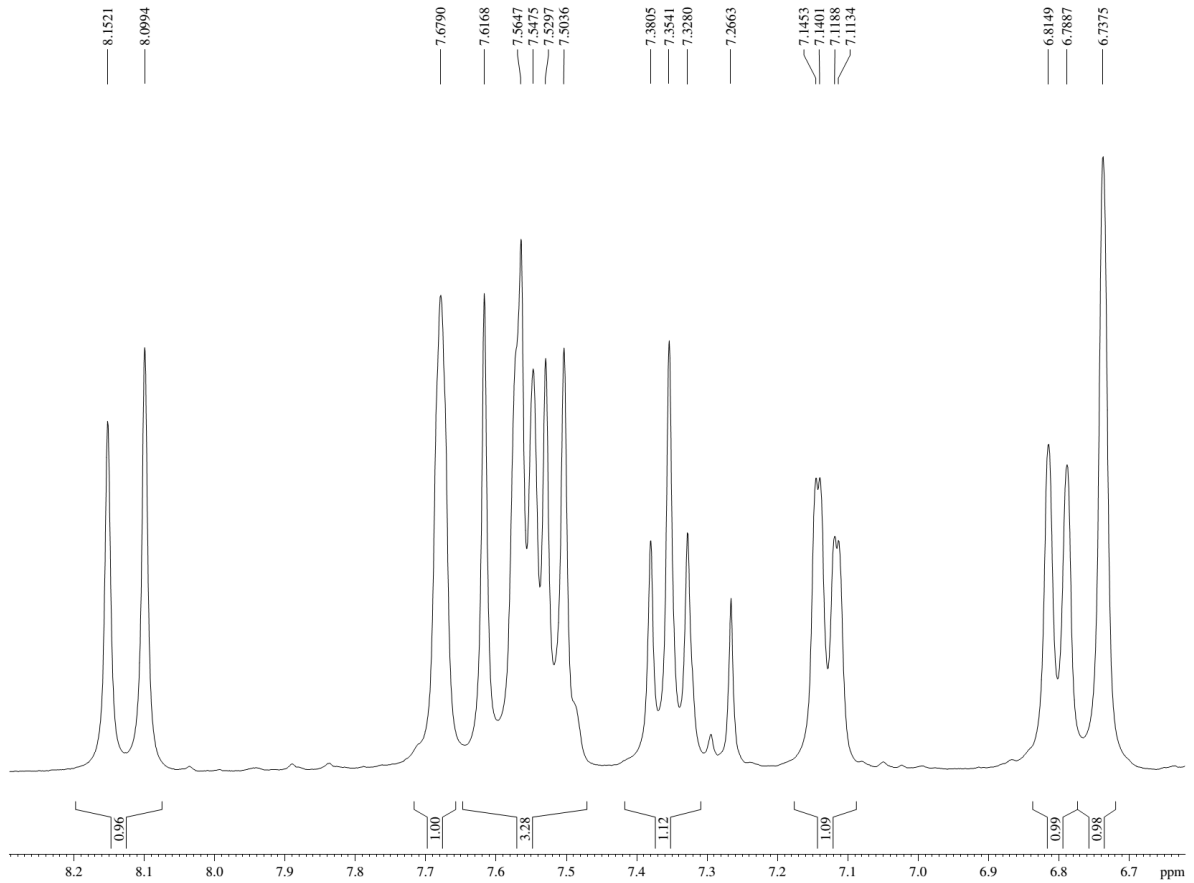
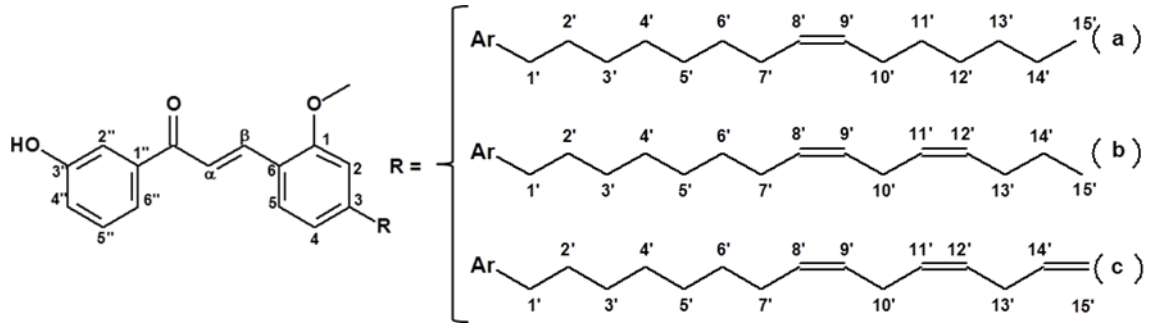
LDT547i

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 25

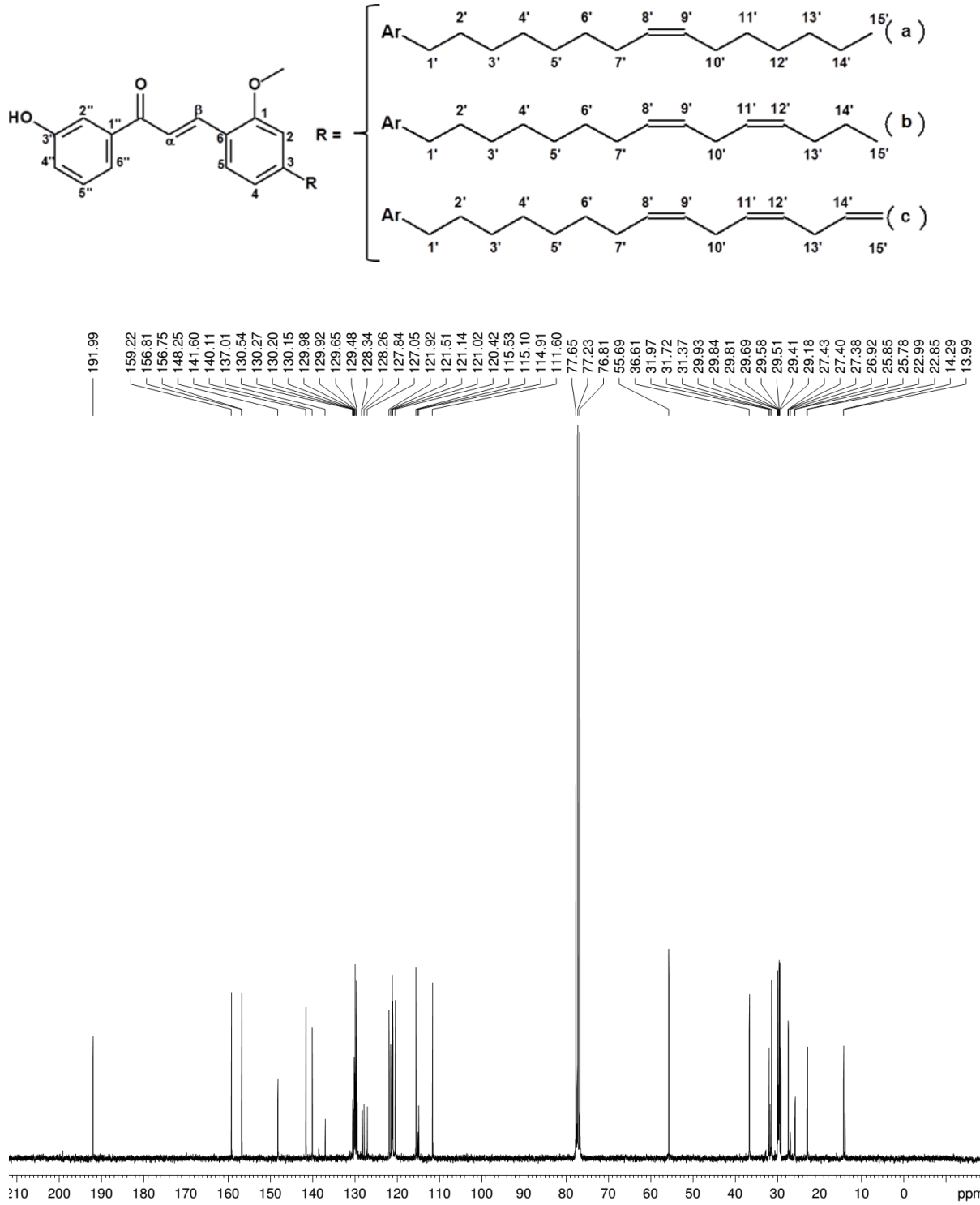
LDT547i

Expansão do espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



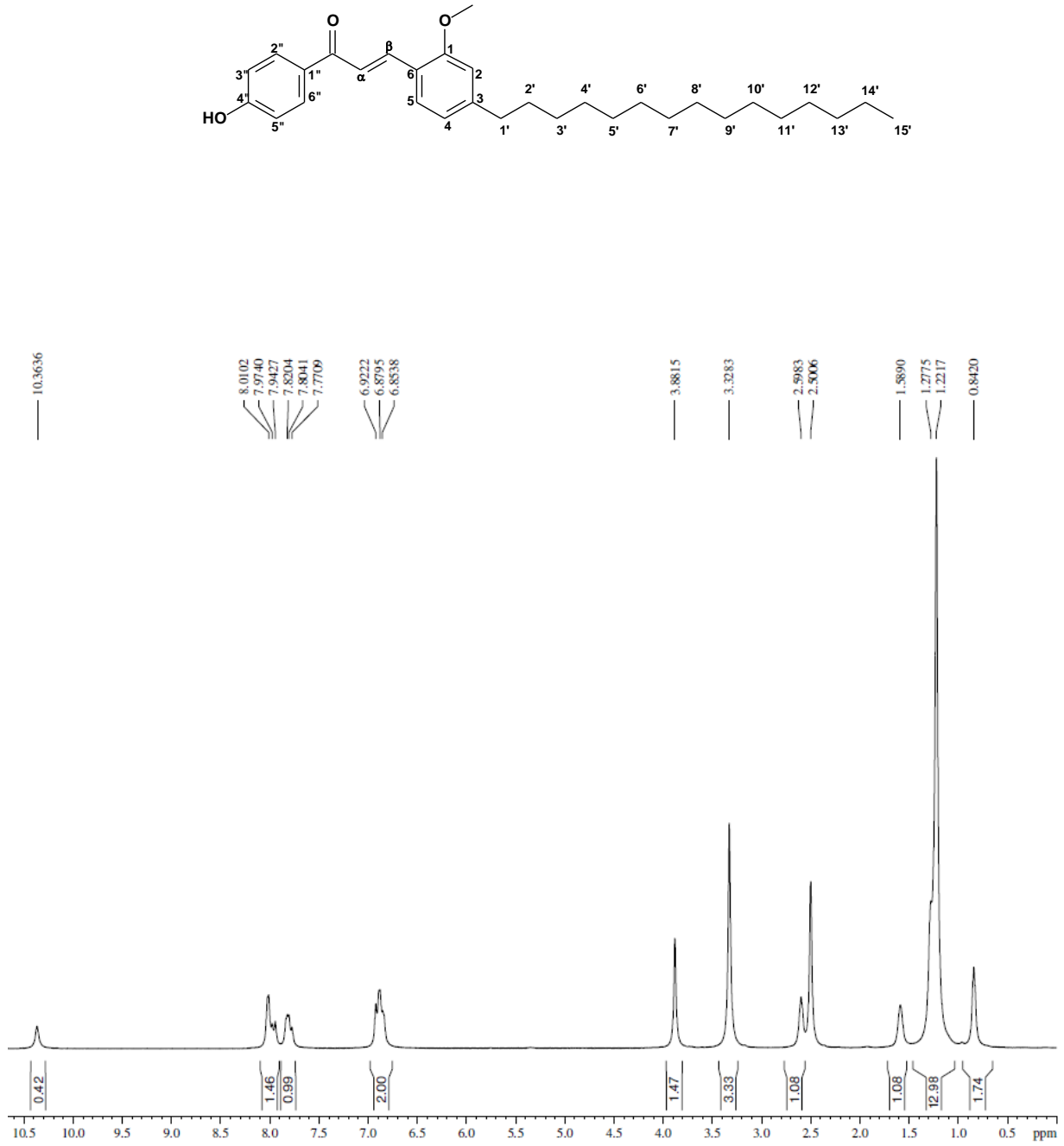
ANEXO 26

LDT547i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 27

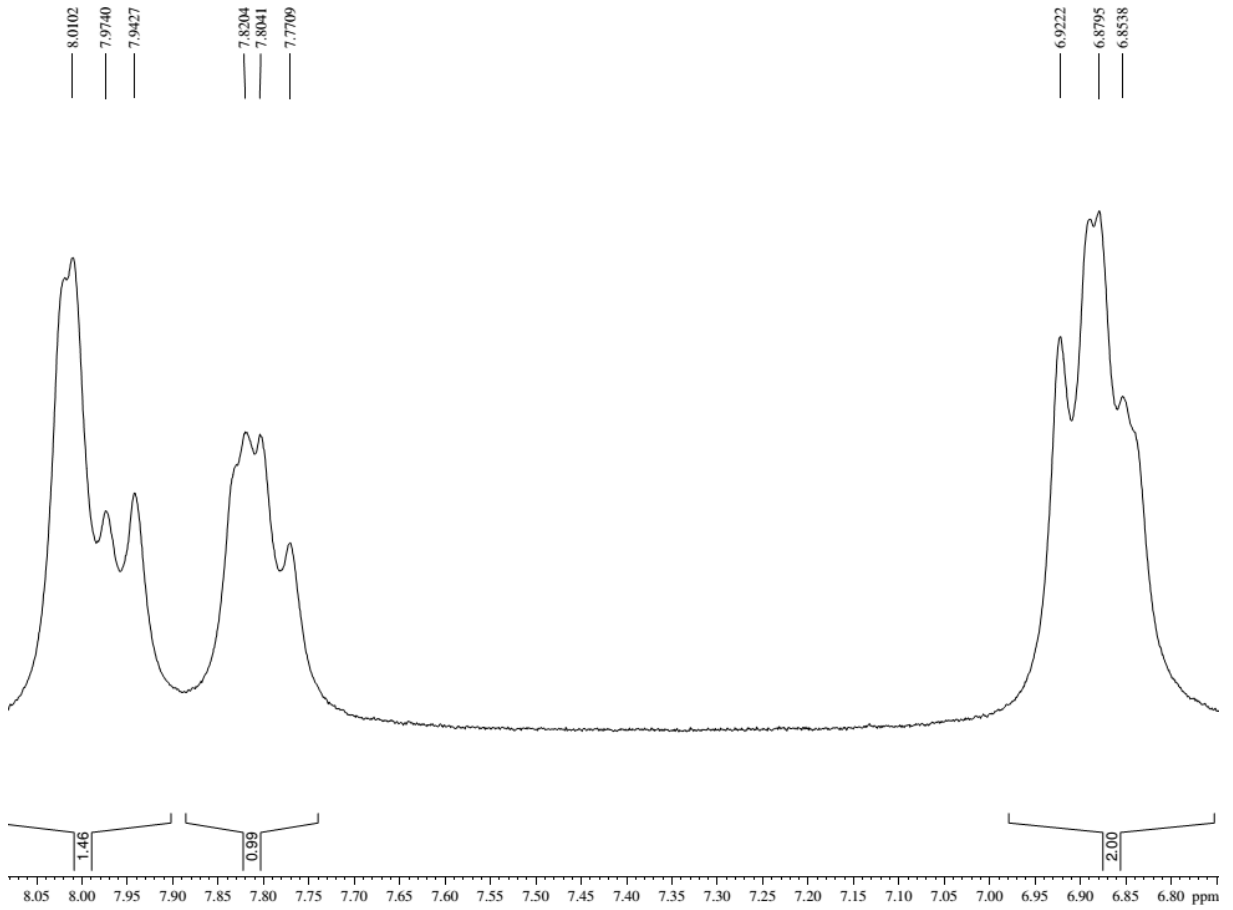
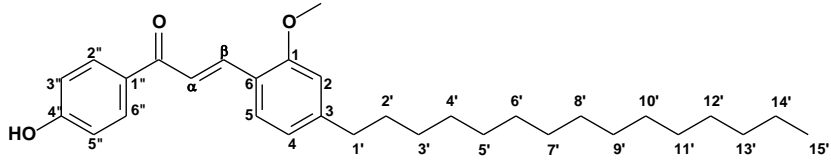
LDT548

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO)

ANEXO 28

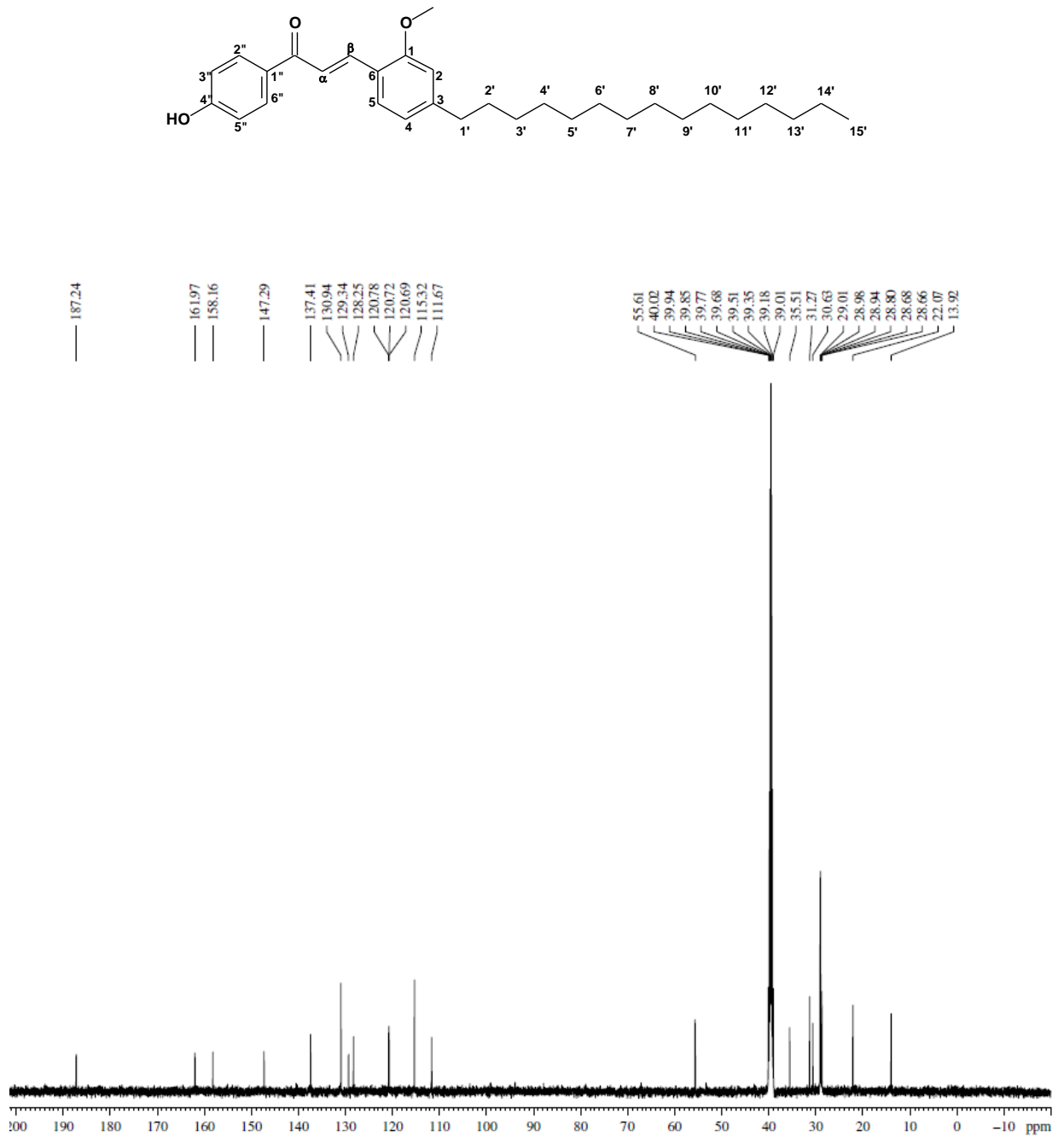
LDT548

Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO)



ANEXO 29

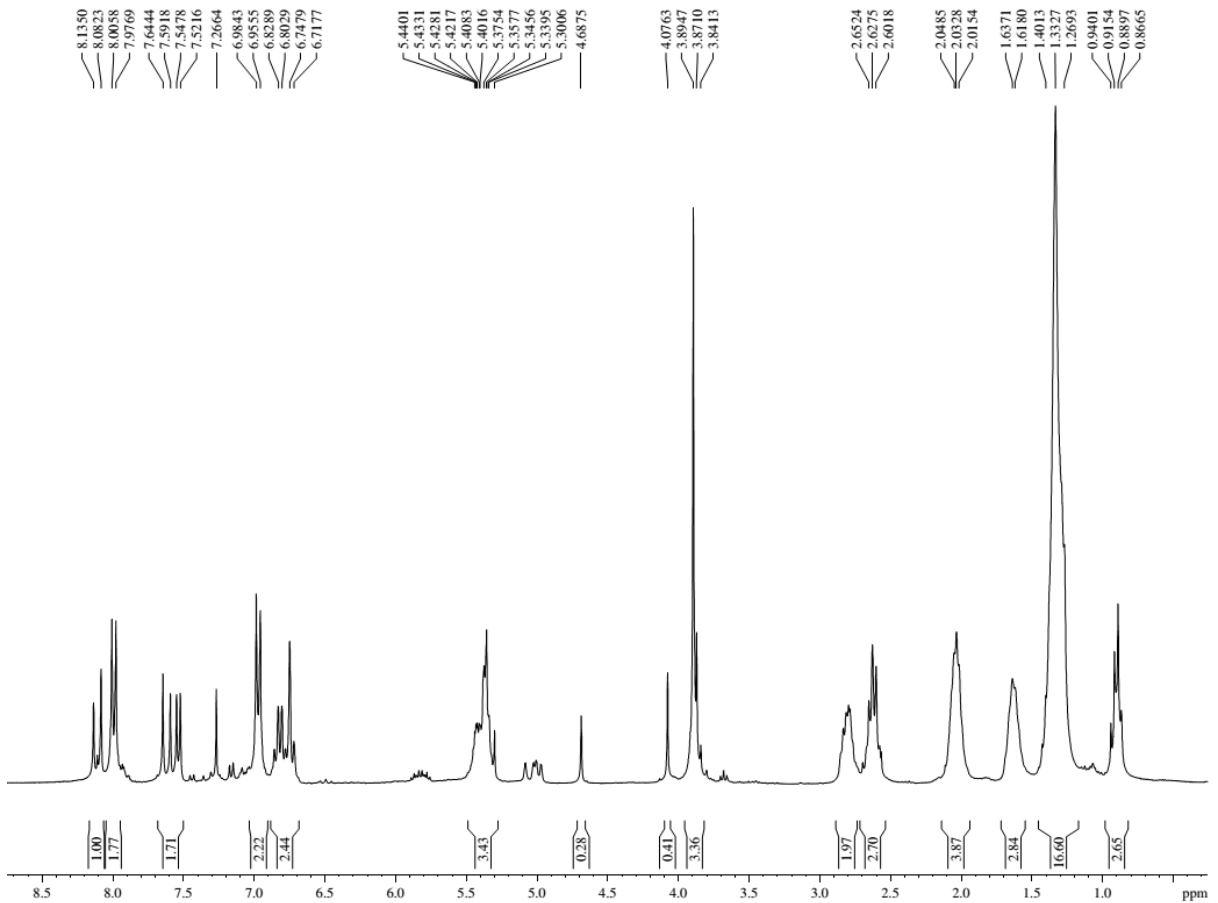
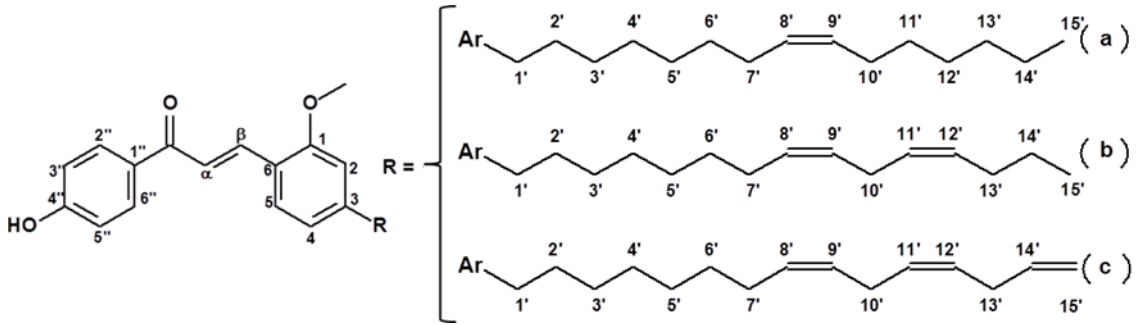
LDT548

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO)

ANEXO 30

LDT548i

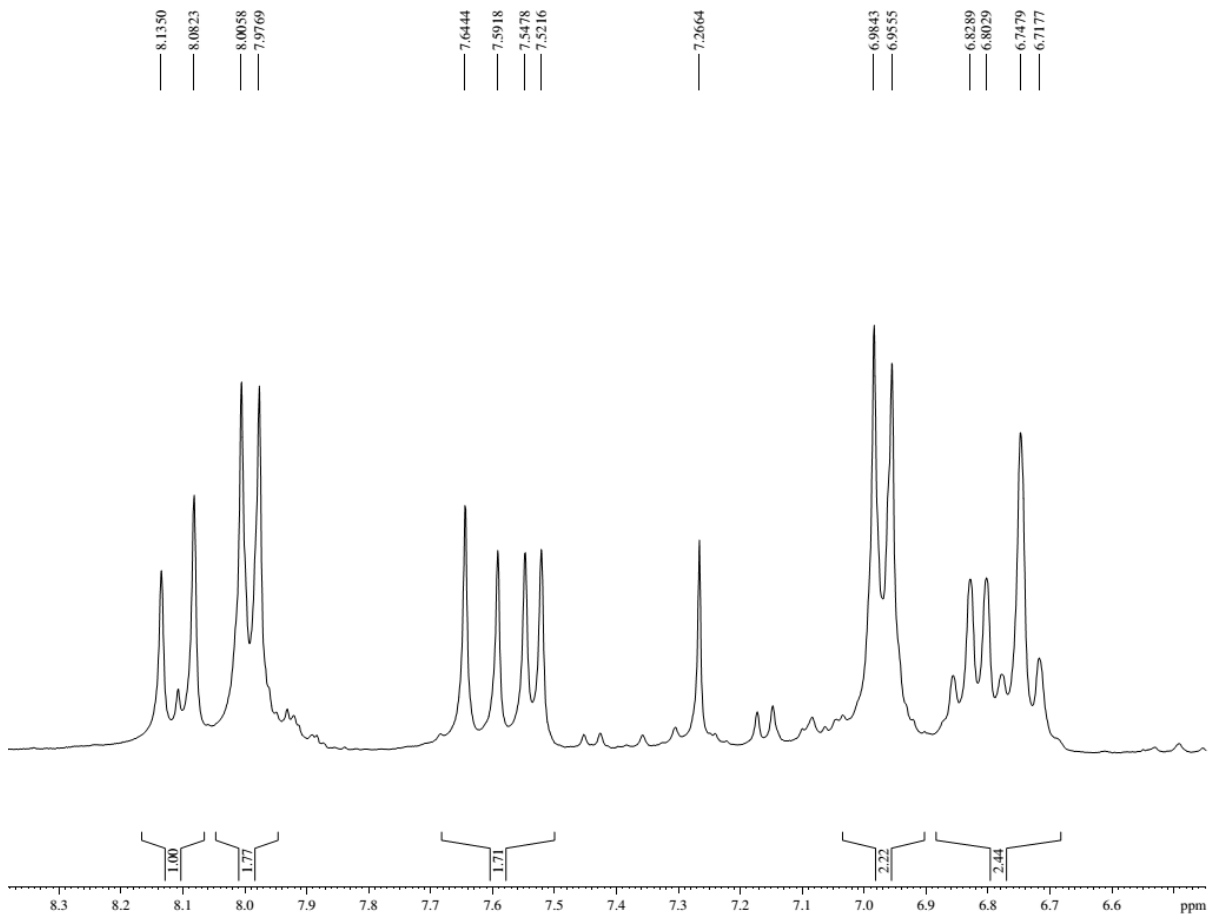
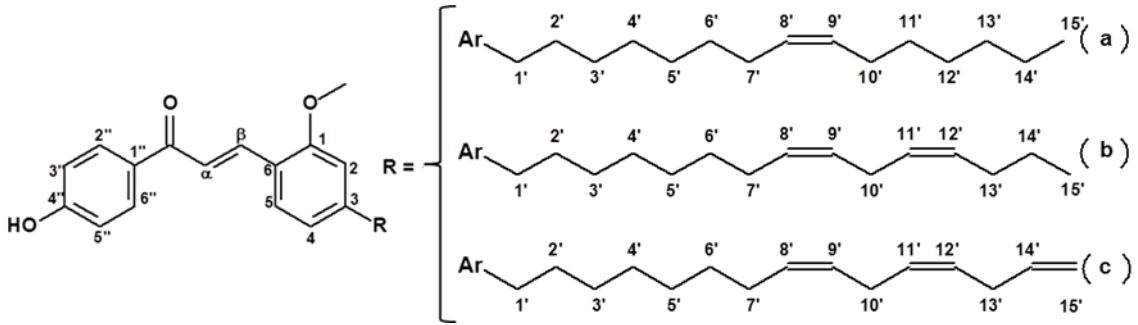
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 31

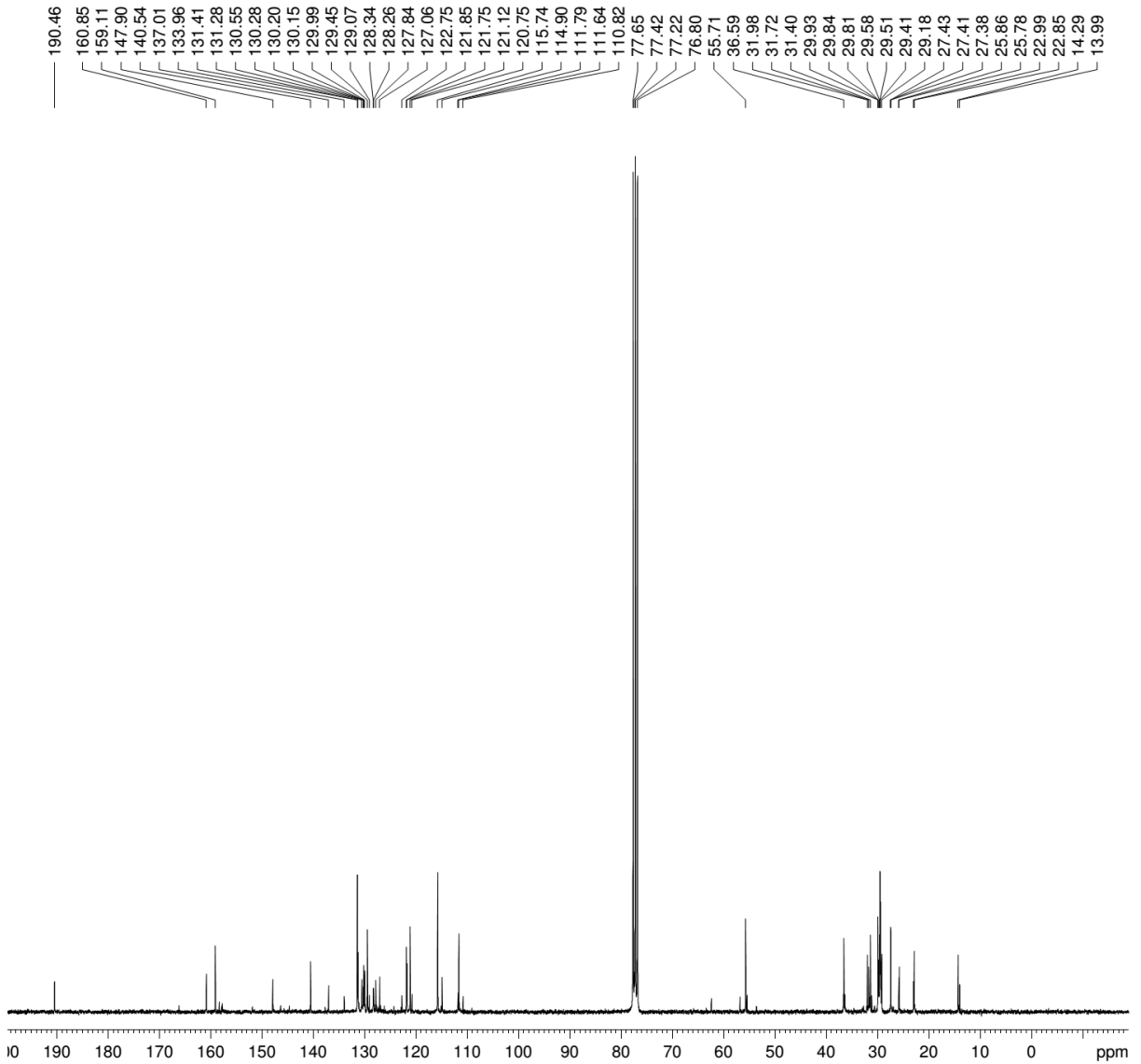
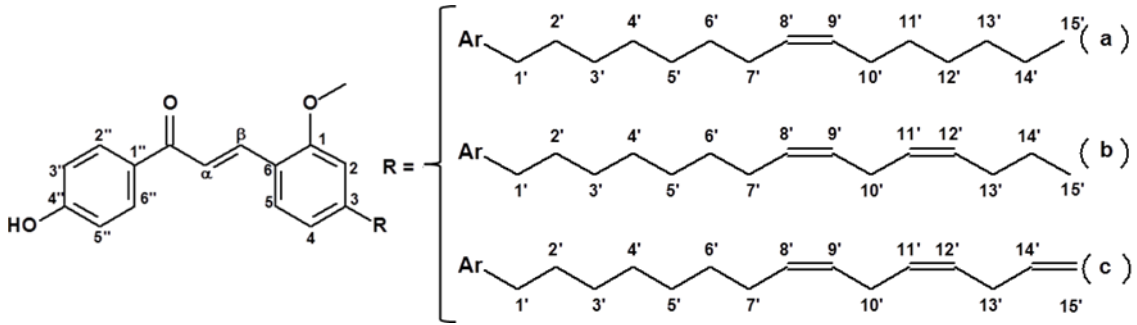
LDT548i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 32

LDT548i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 33

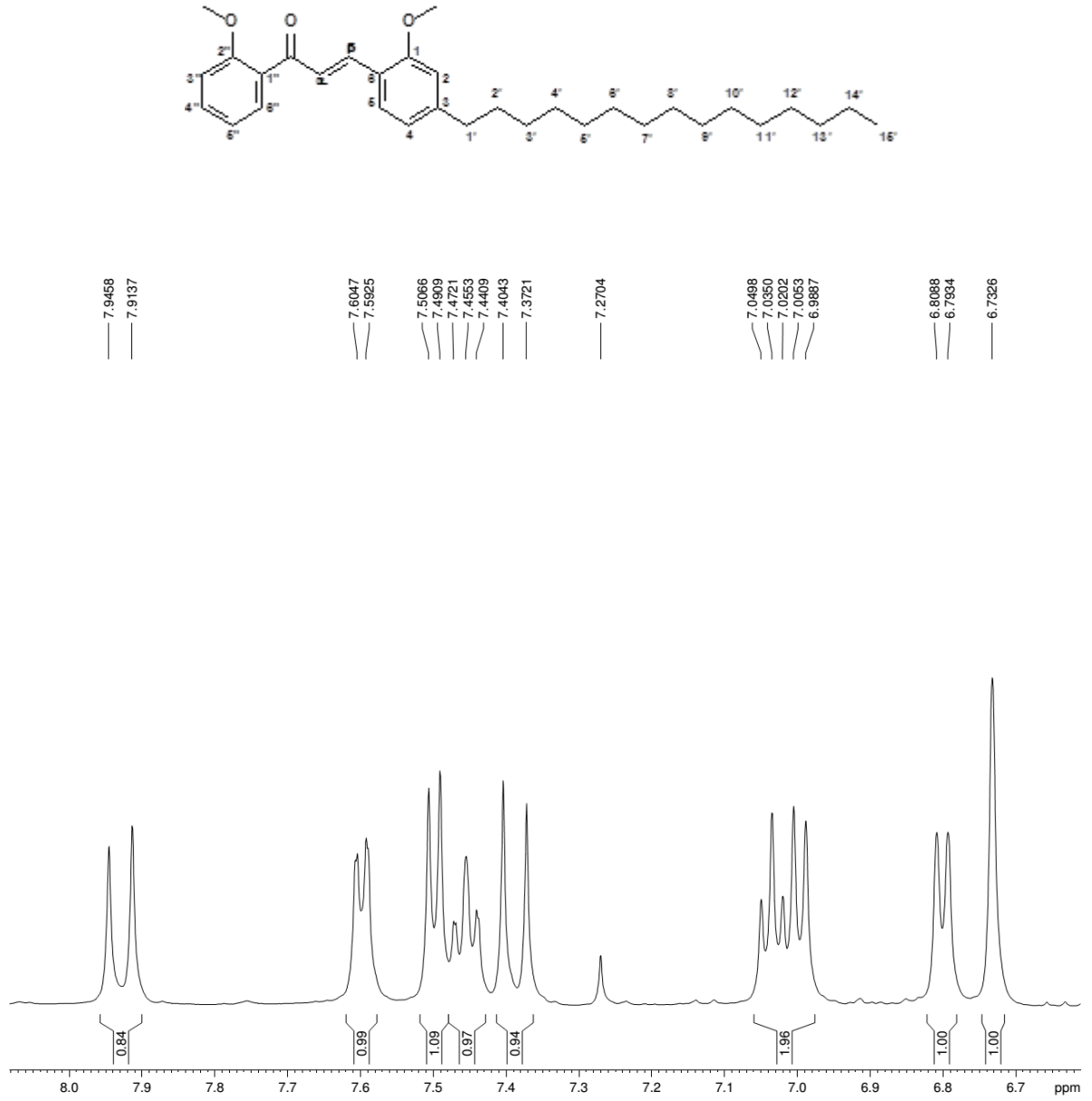
LDT549

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)

ANEXO 34

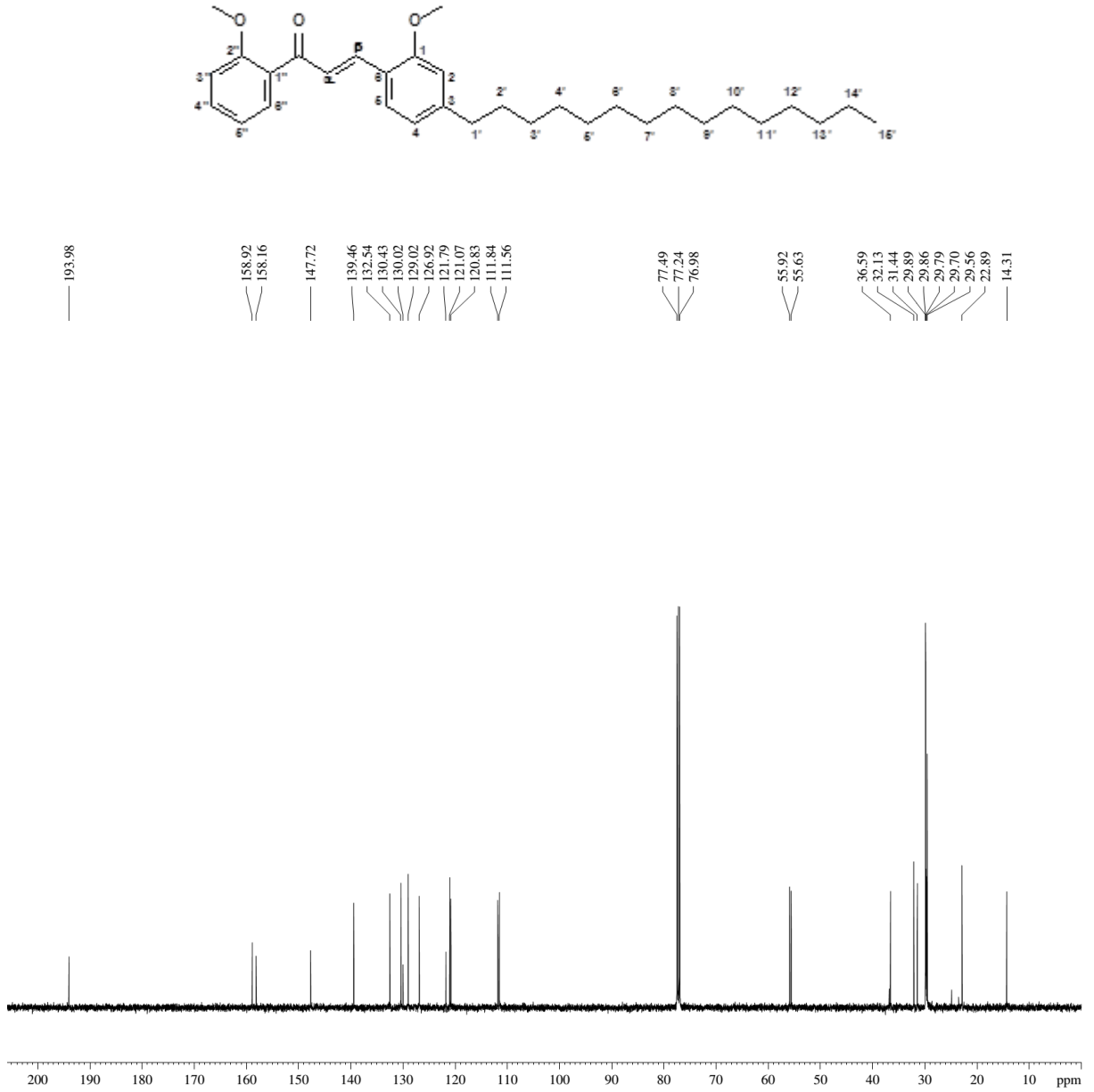
LDT549

Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 35

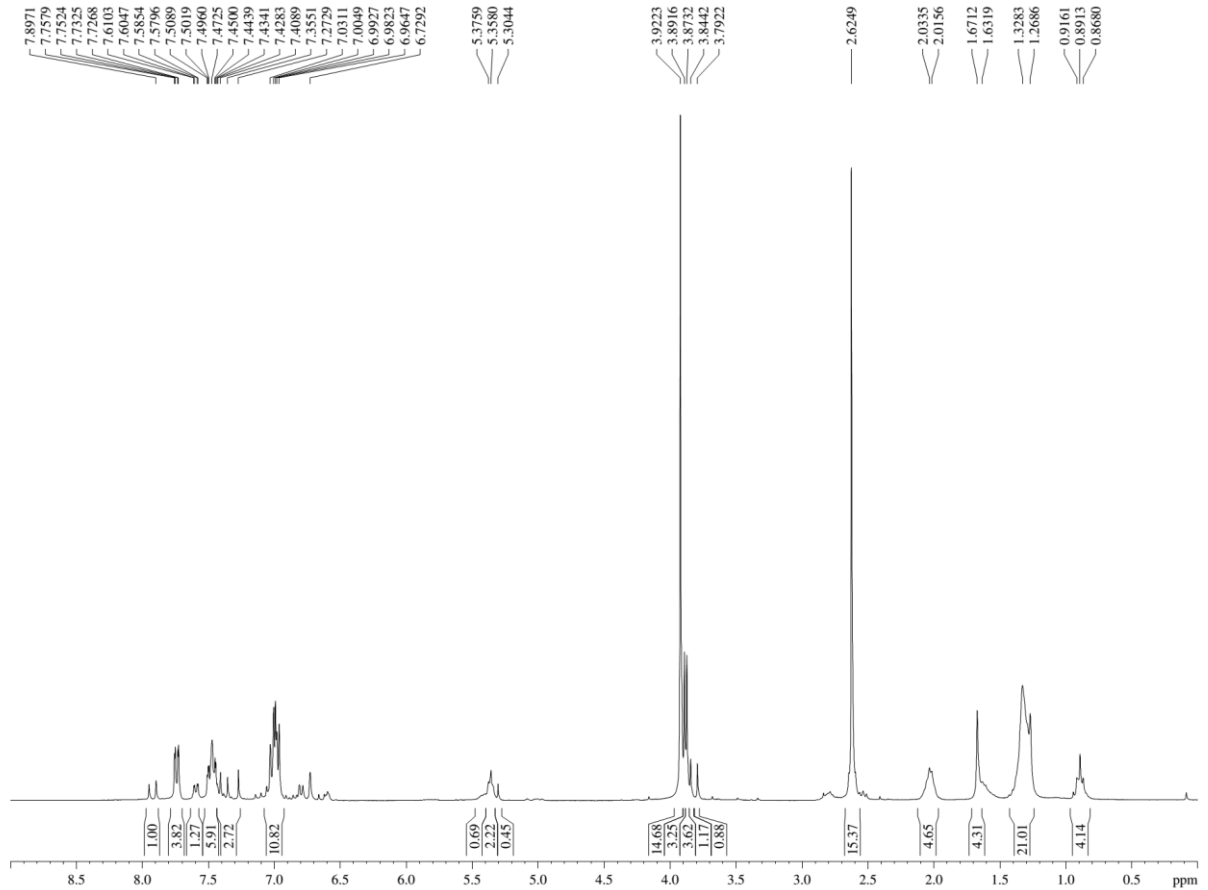
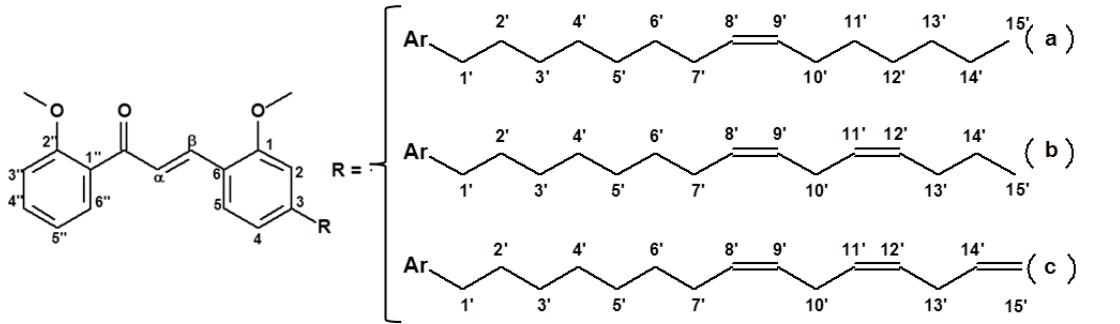
LDT549

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

ANEXO 36

LDT549i

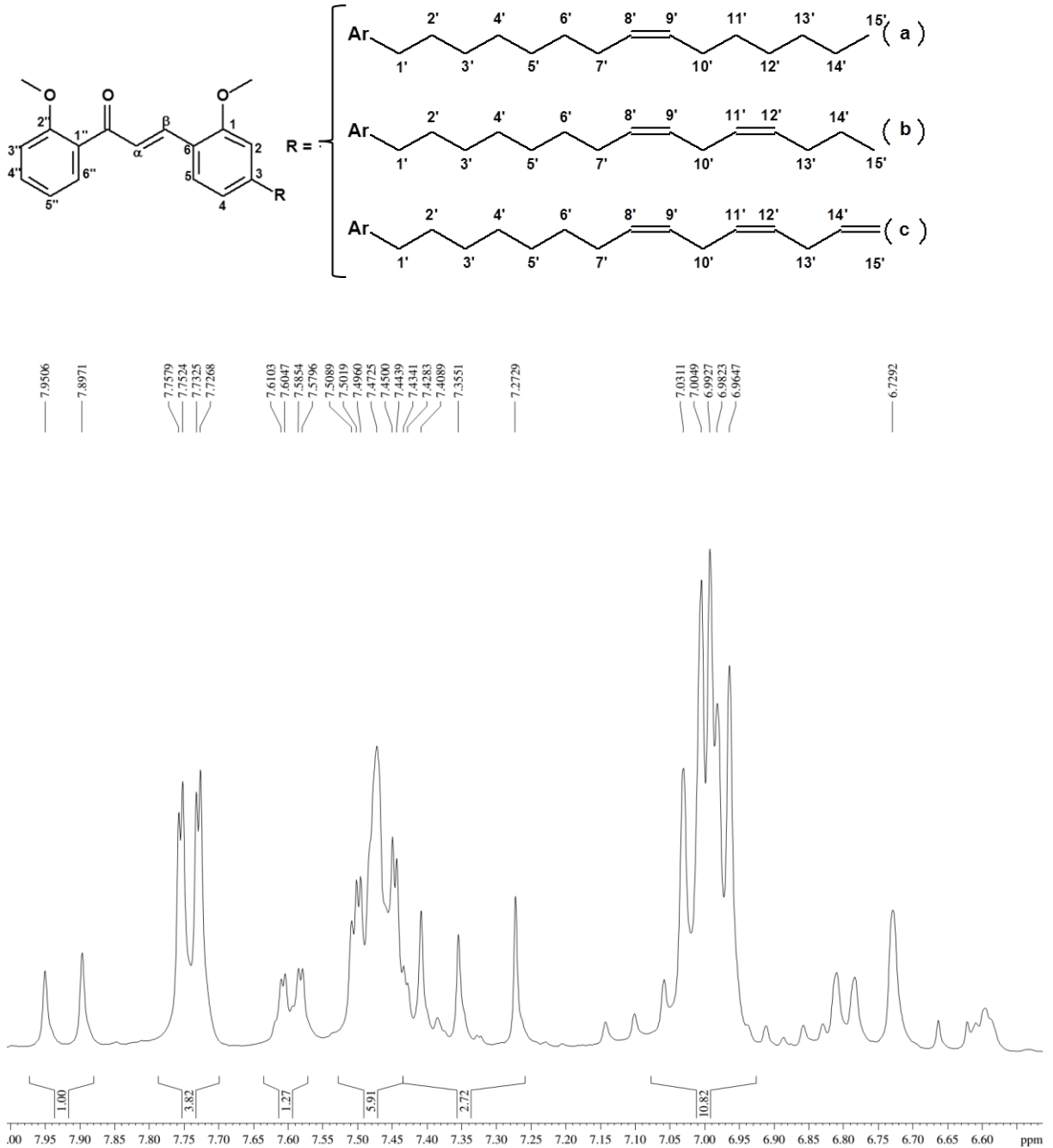
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 37

LDT549i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



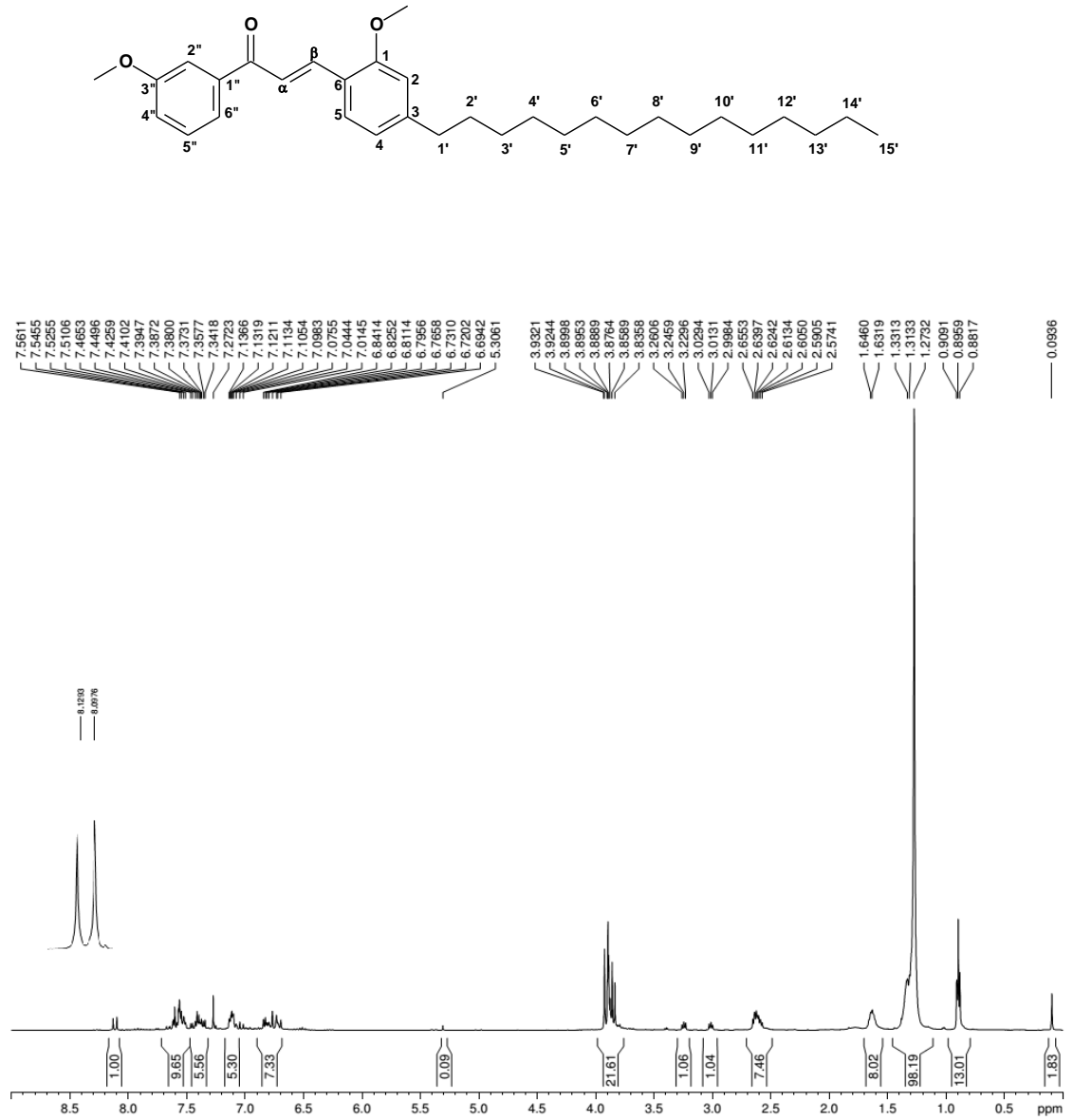
ANEXO 38

LDT549i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 39

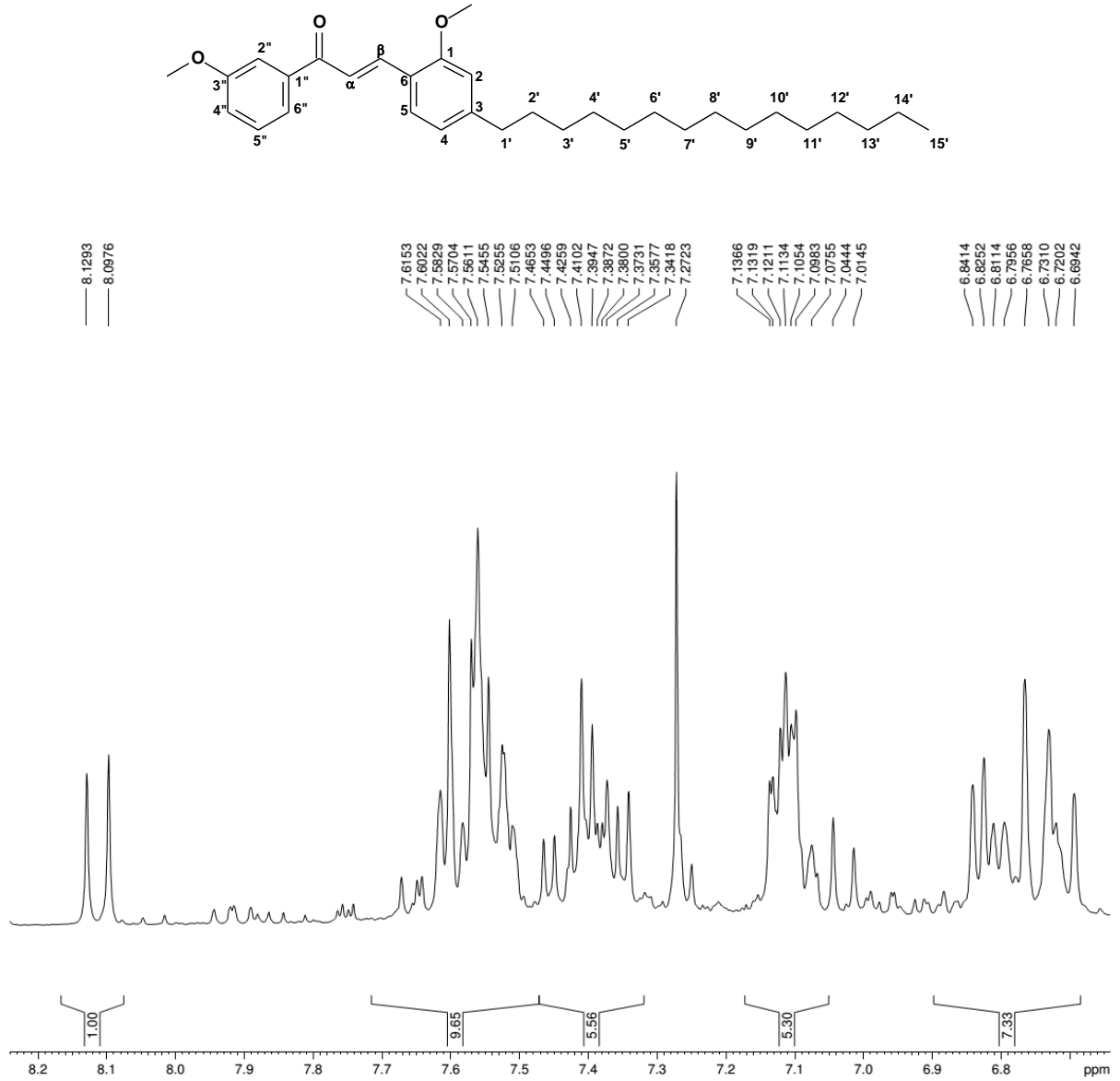
LDT550

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 40

LDT550

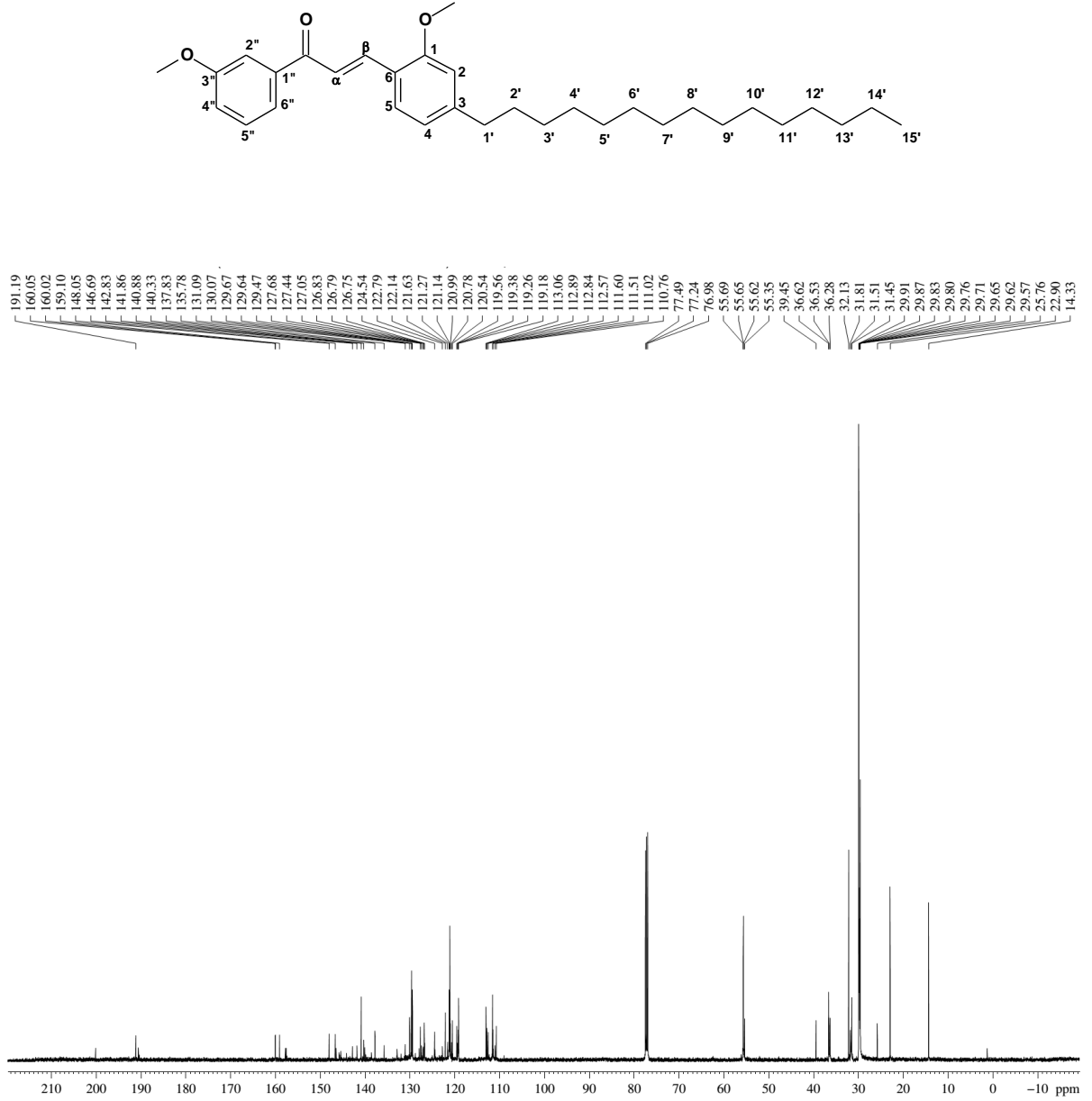
Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 41

LDT550

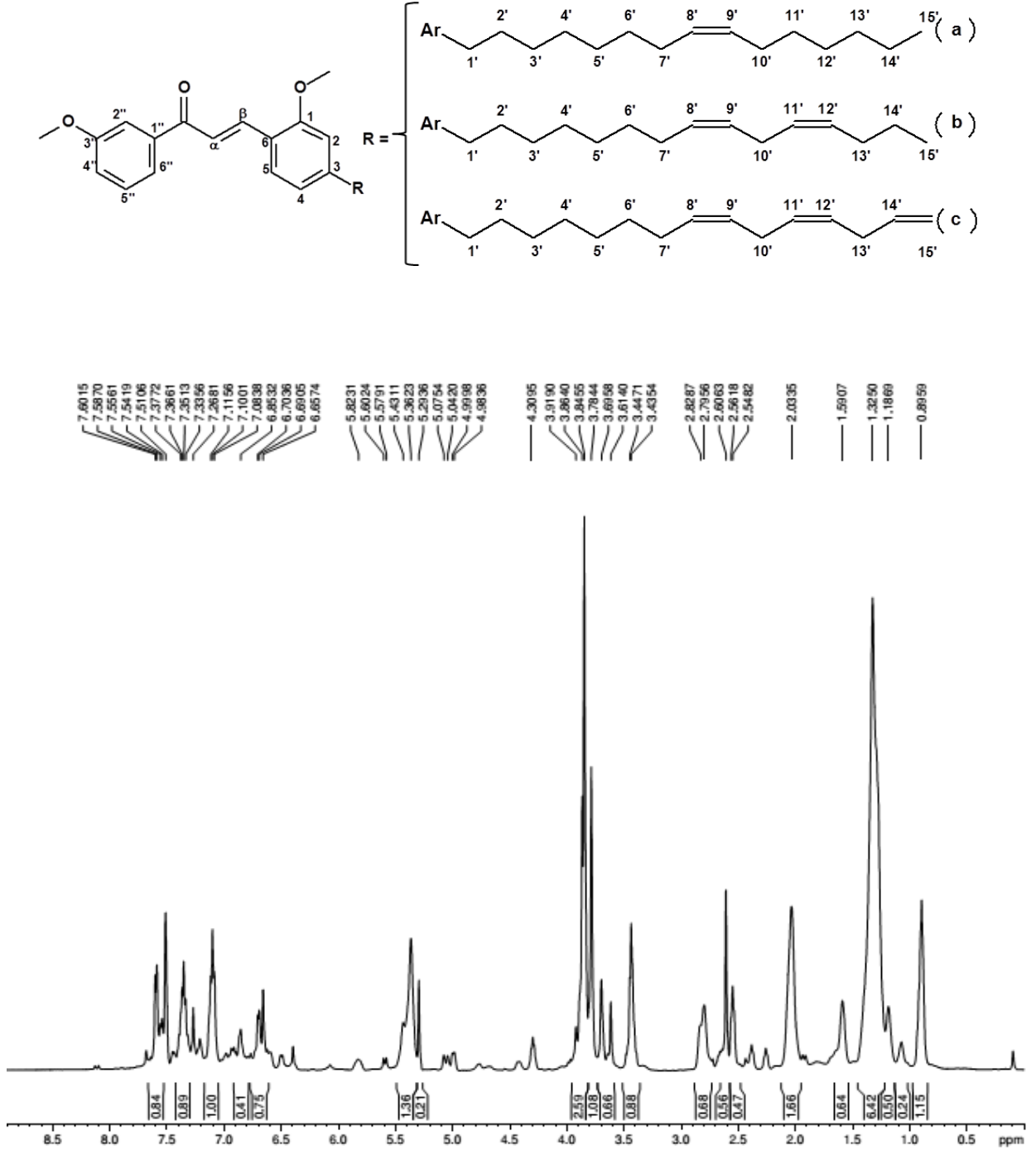
Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)



ANEXO 42

LDT550i

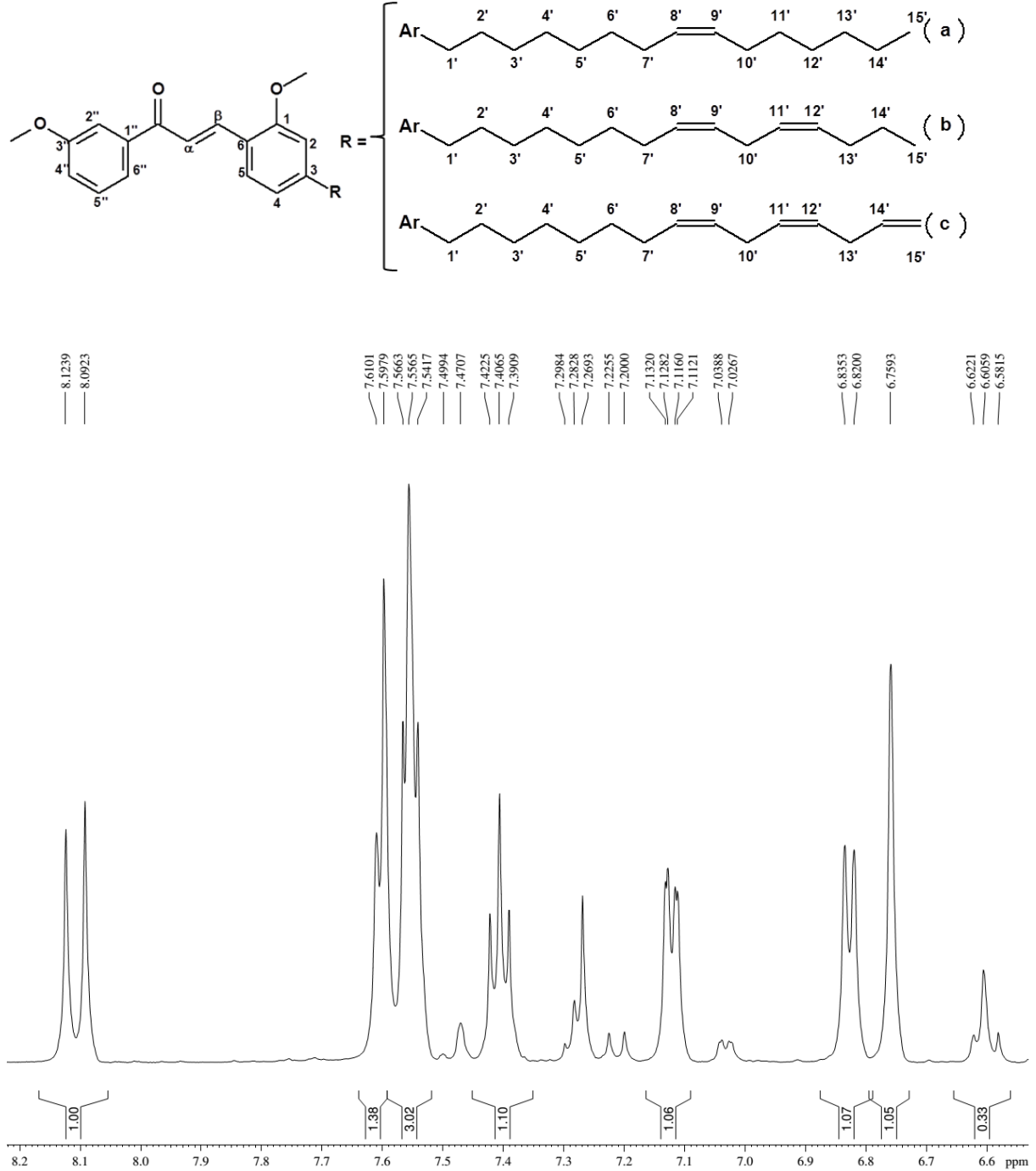
Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 43

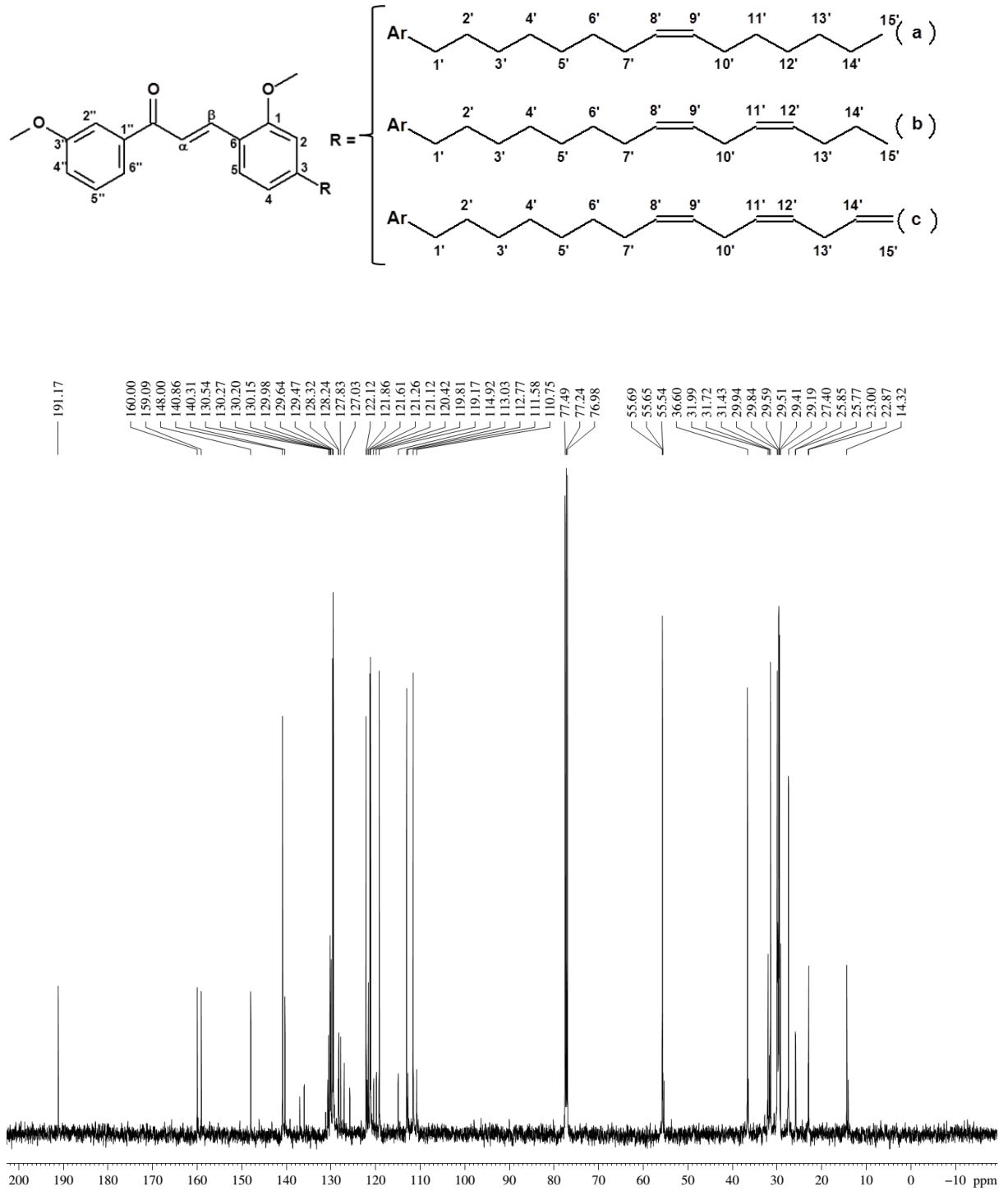
LDT550i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 44

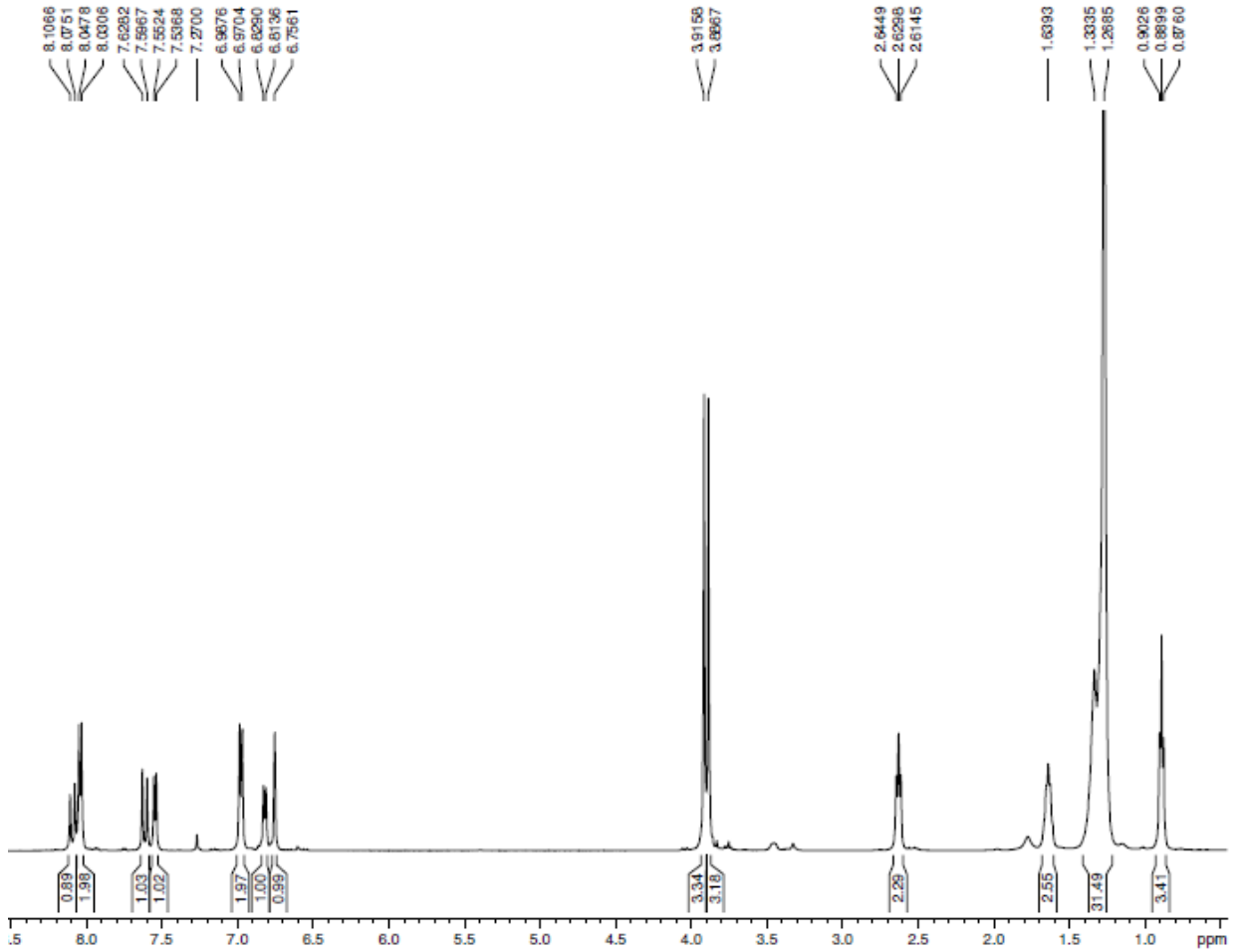
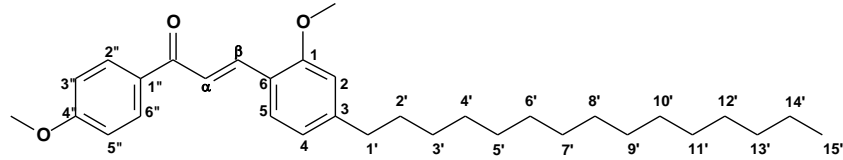
LDT550i

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

ANEXO 45

LDT551

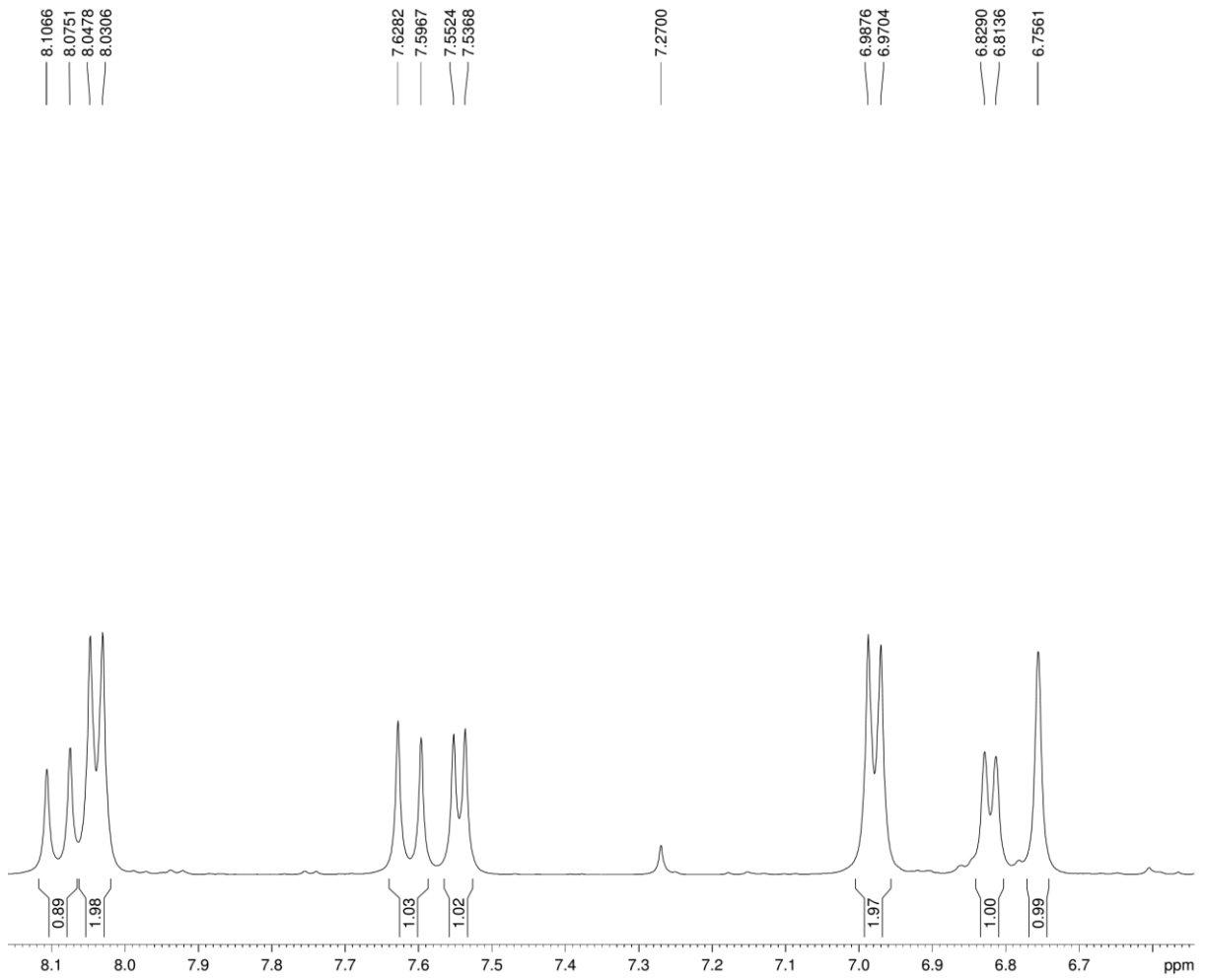
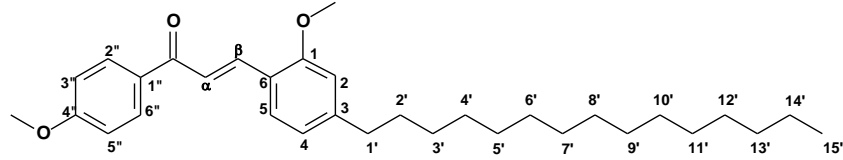
Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 46

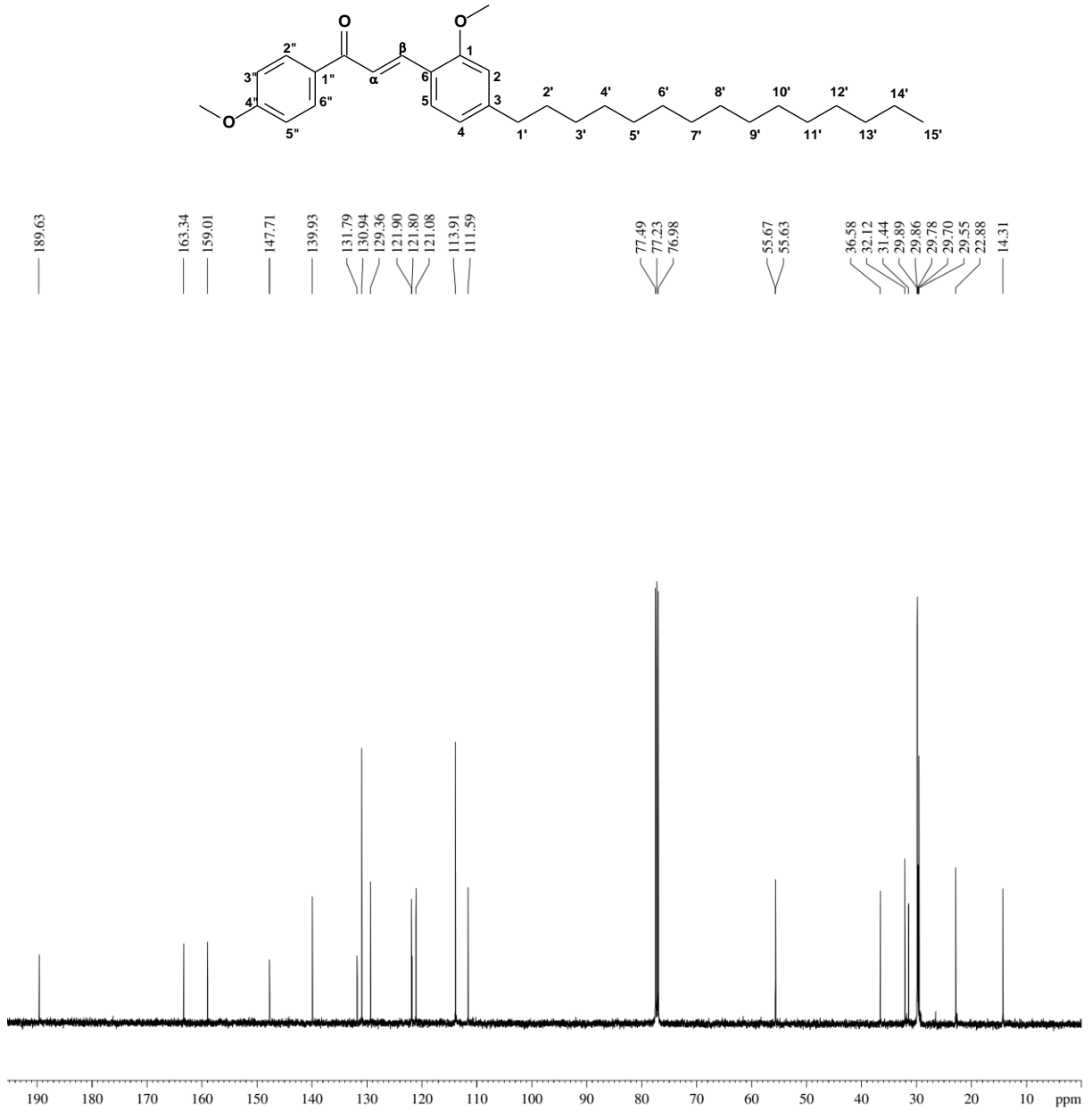
LDT551

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 47

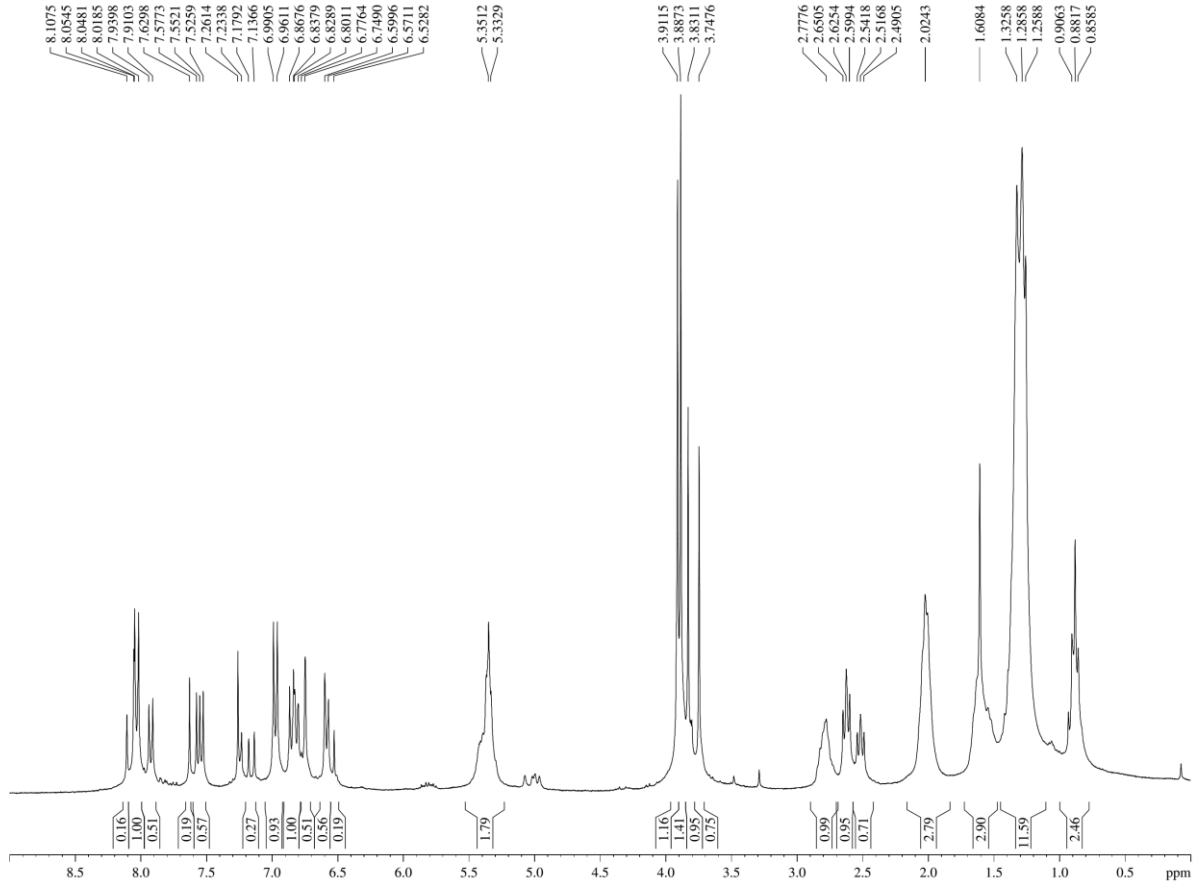
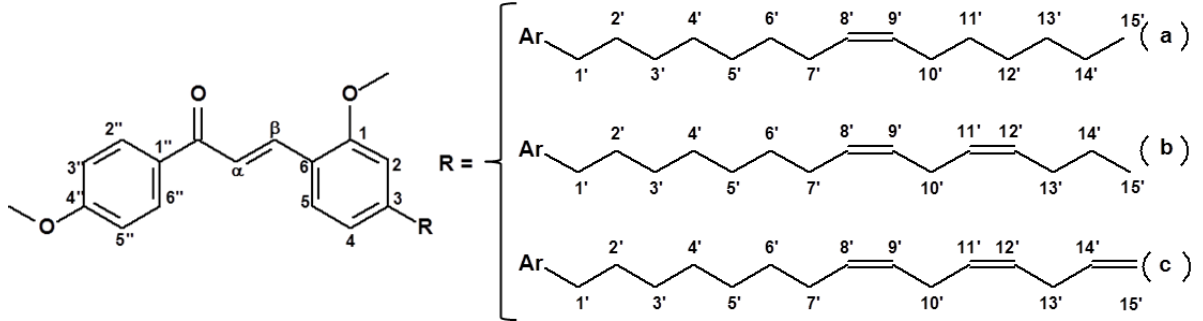
LDT551

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 48

LDT551i

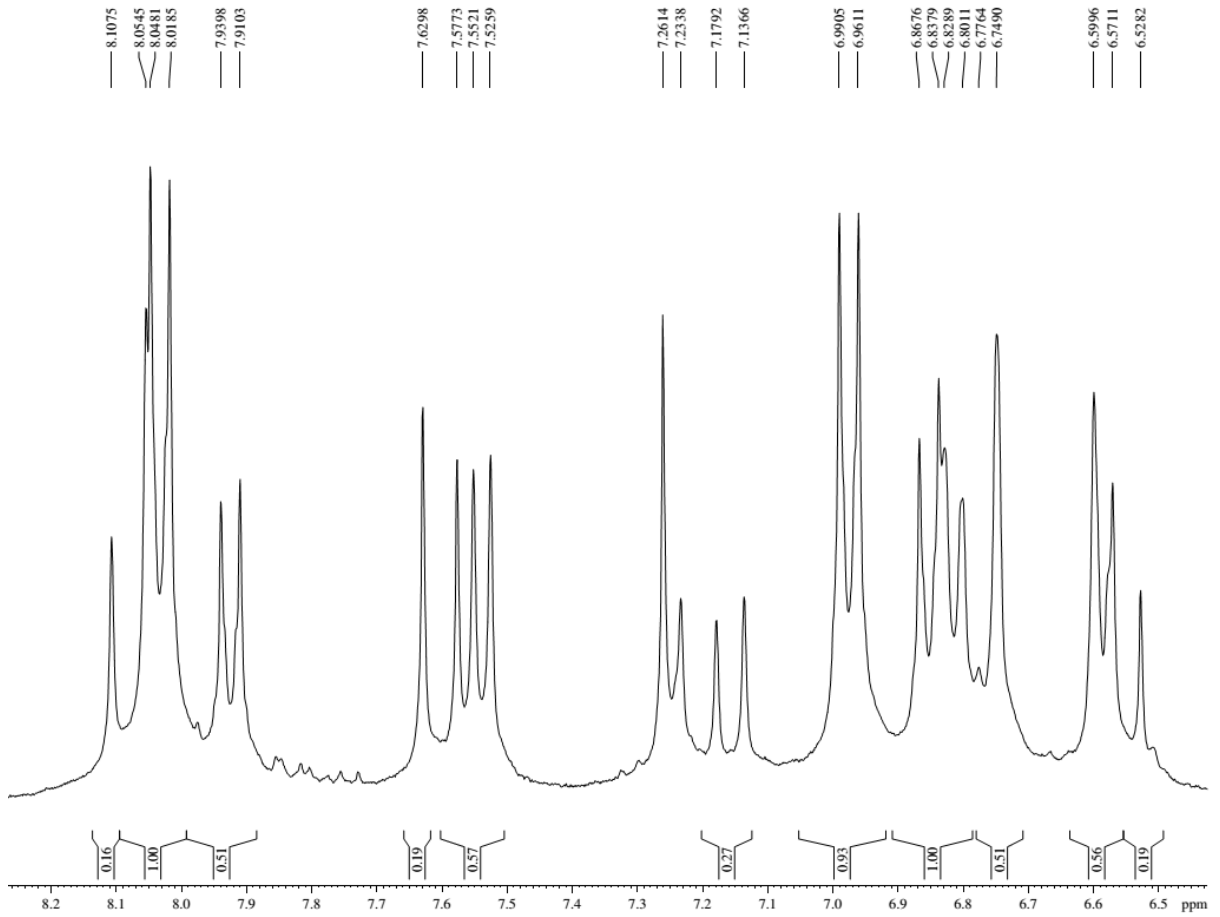
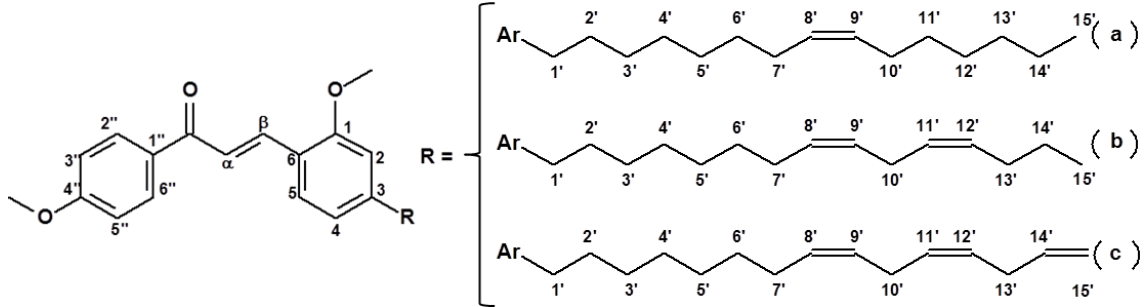
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 49

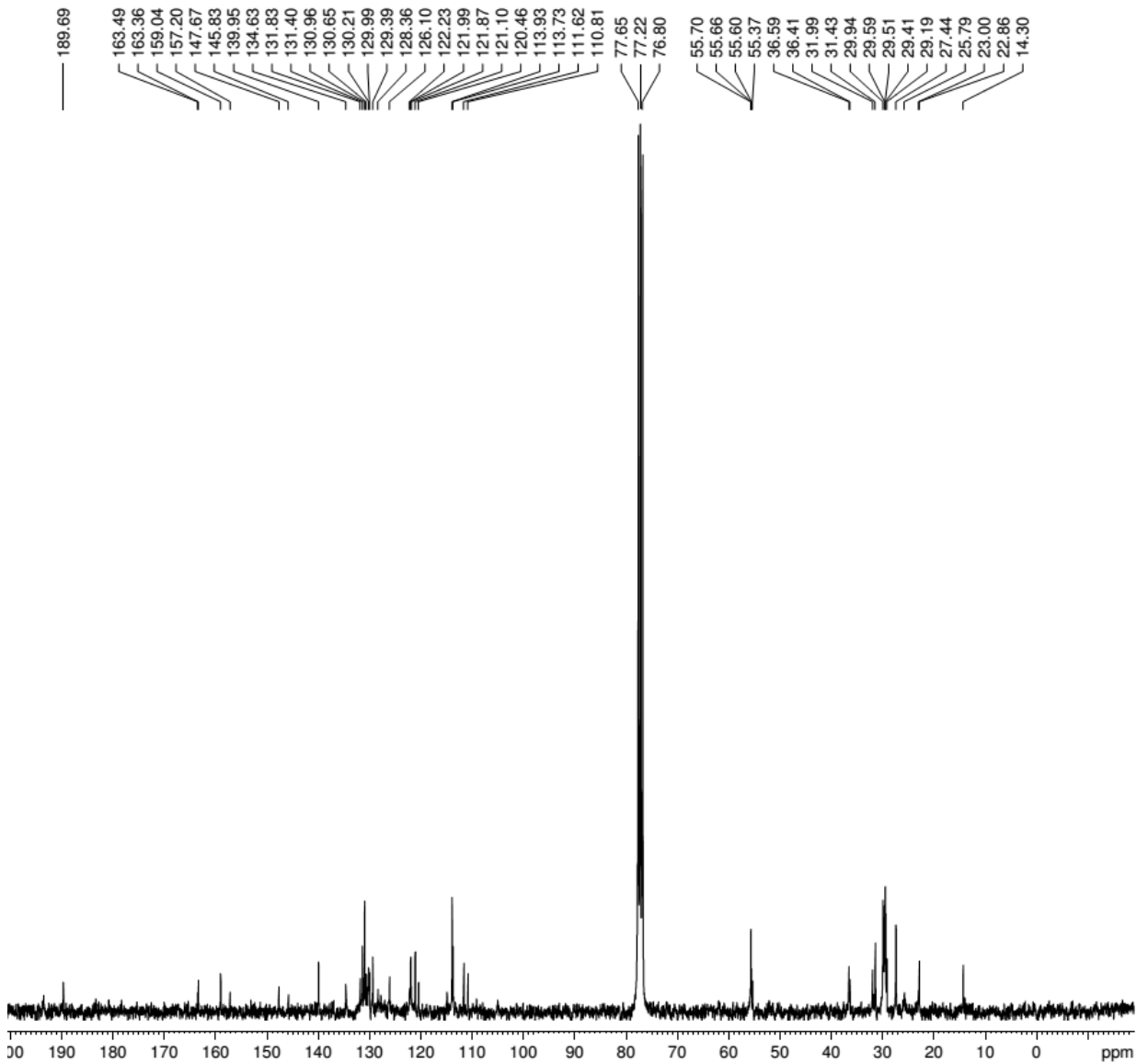
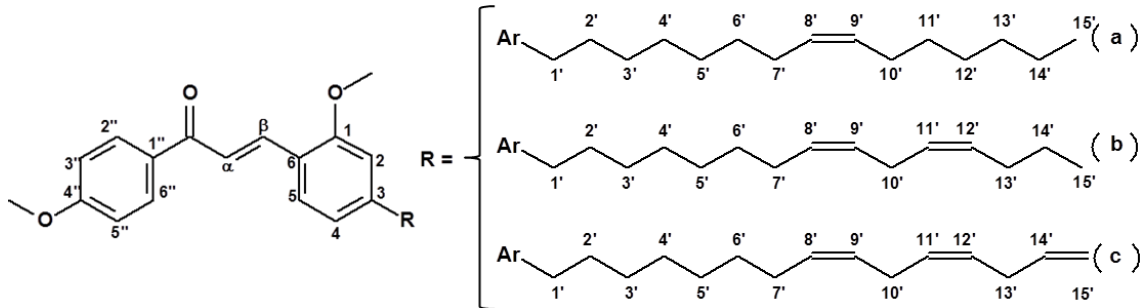
LDT551i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 50

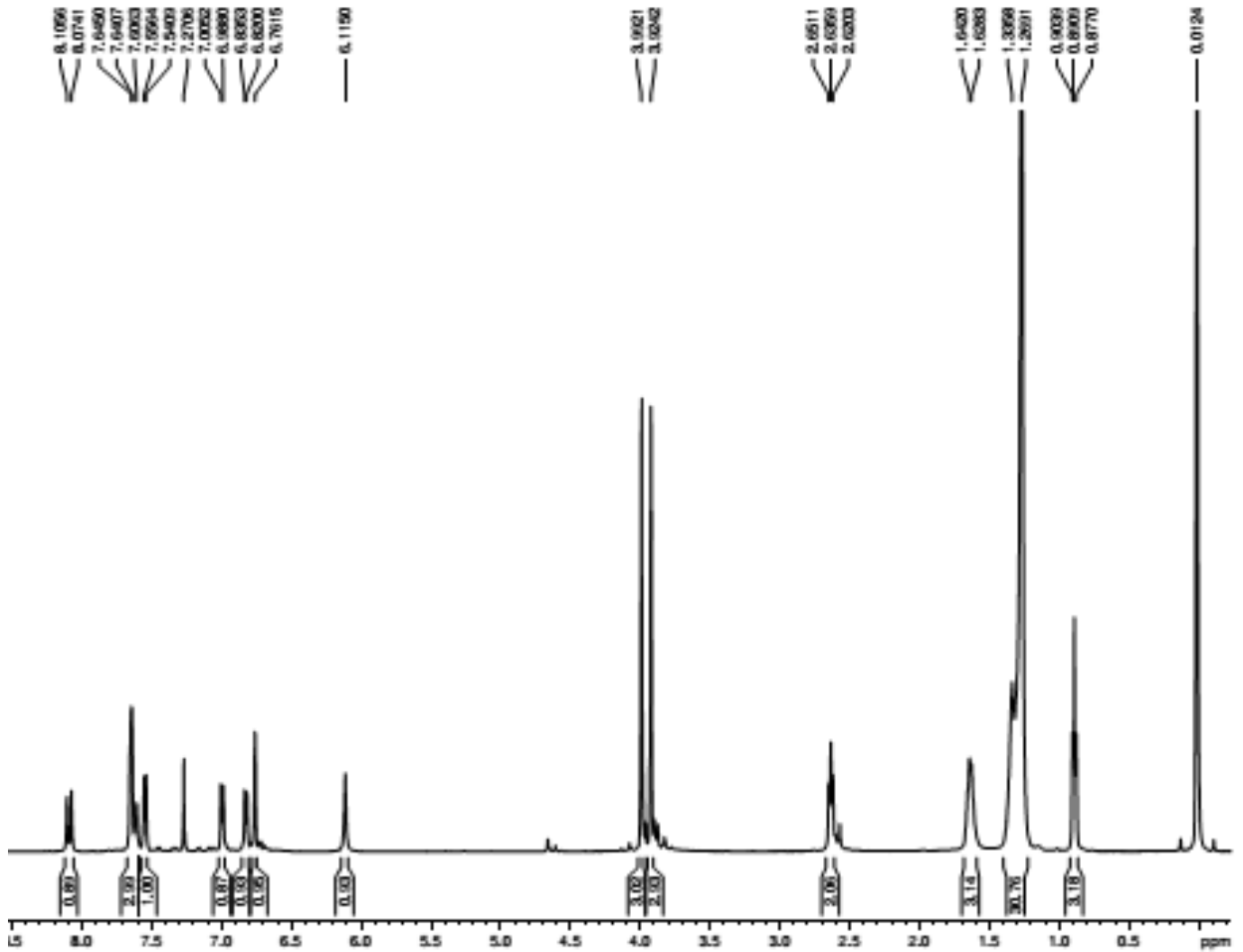
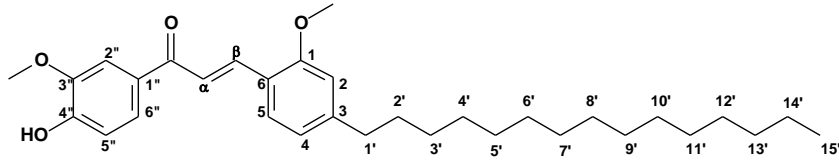
LDT551i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 51

LDT552

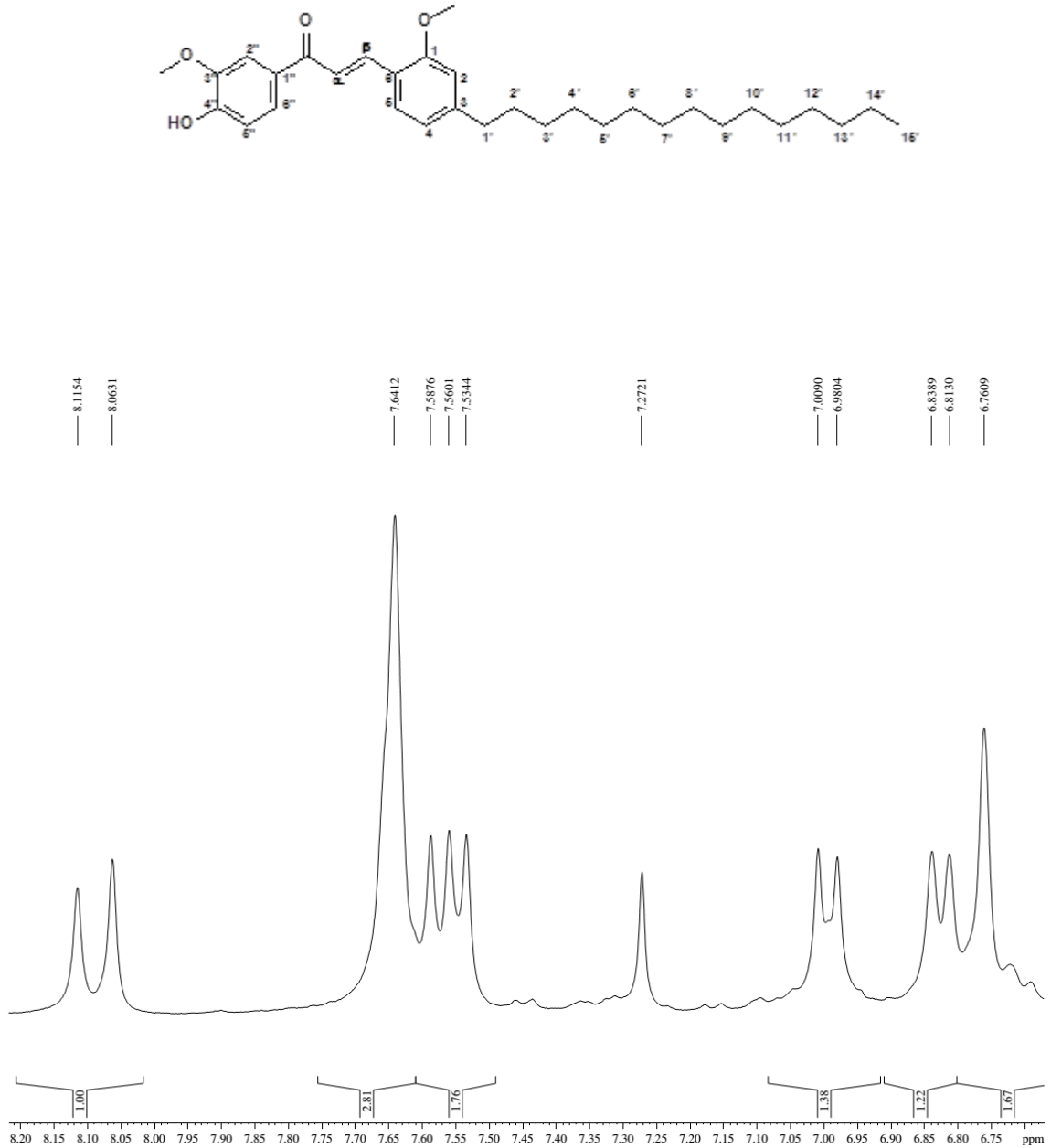
Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 52

LDT552

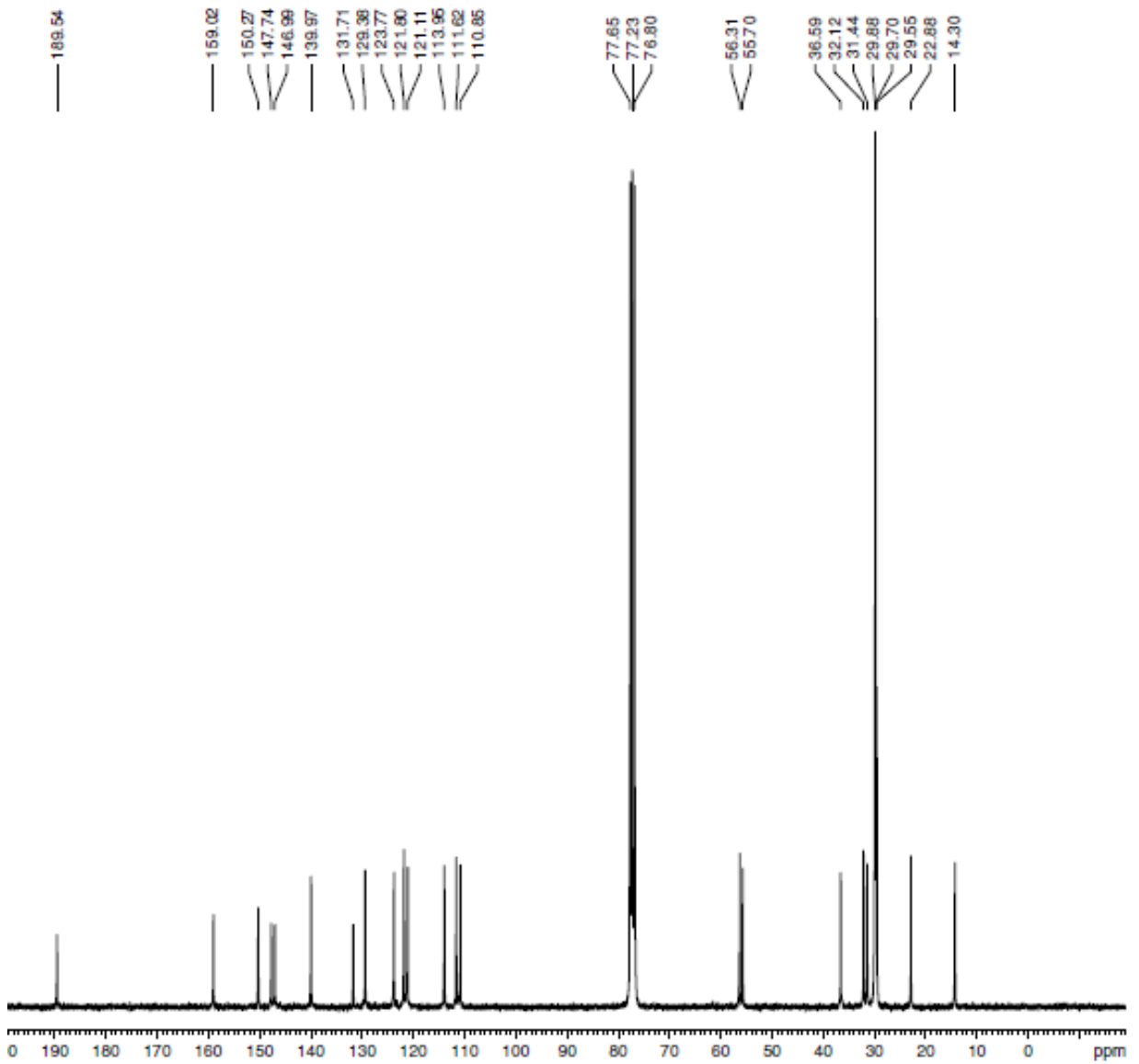
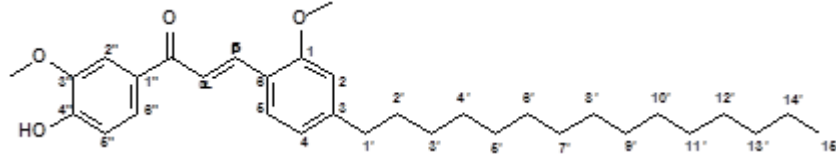
Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 53

LDT552

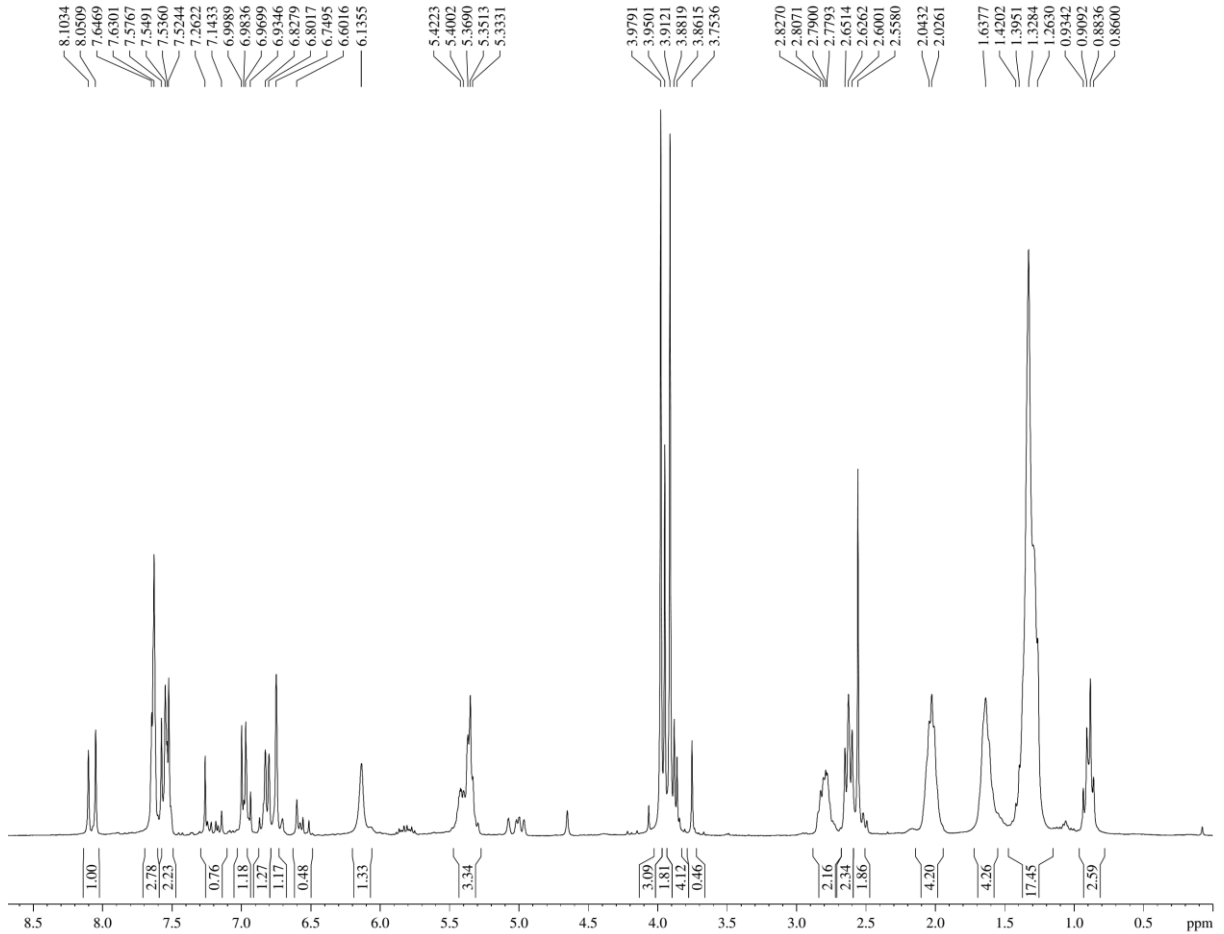
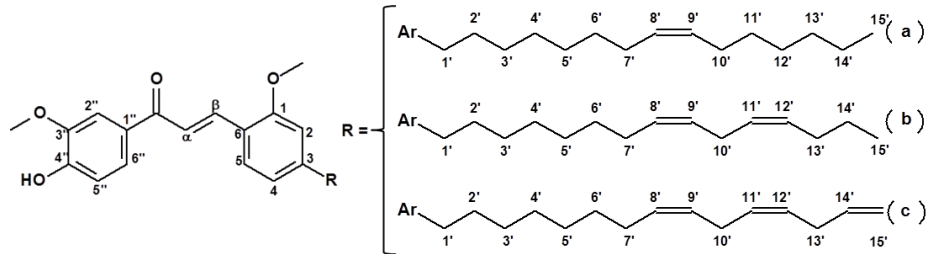
Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)



ANEXO 54

LDT552i

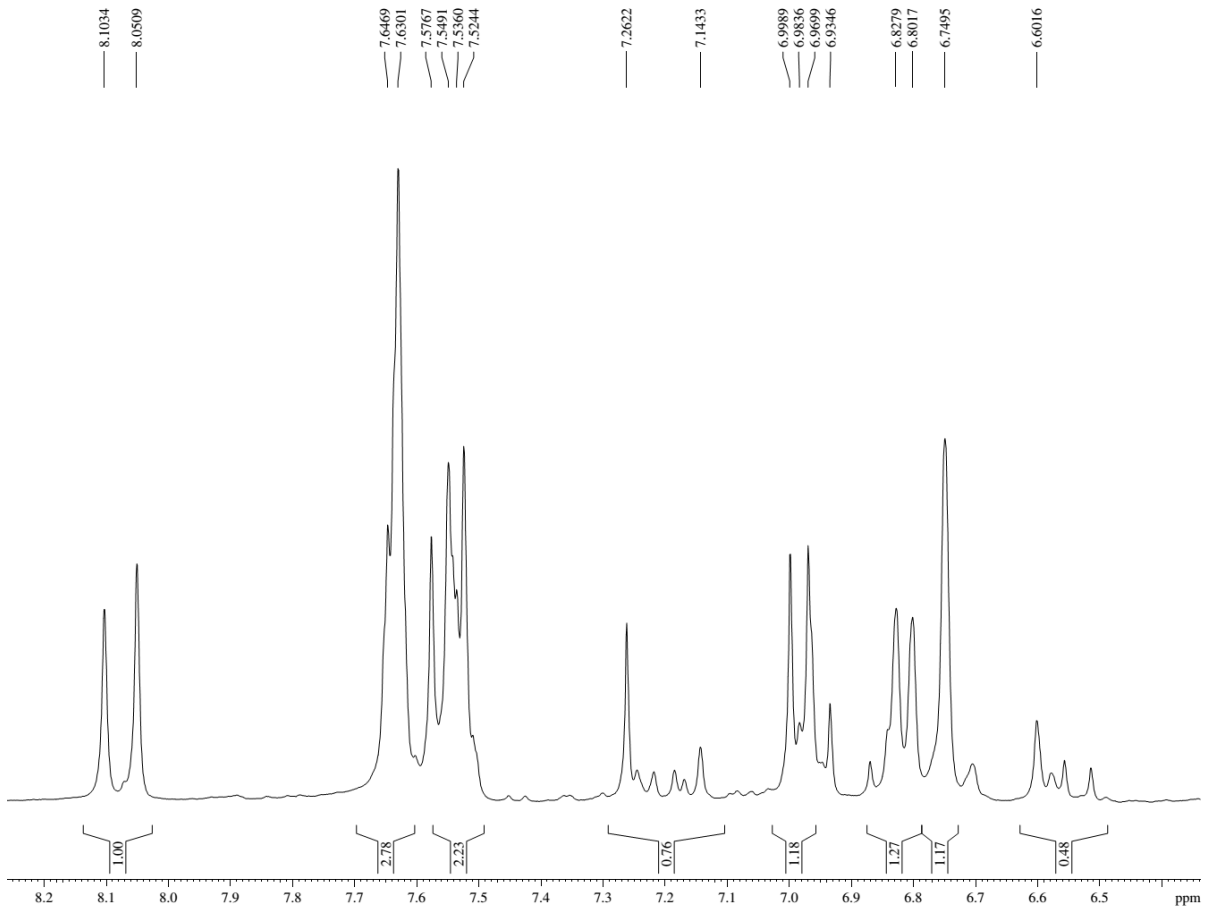
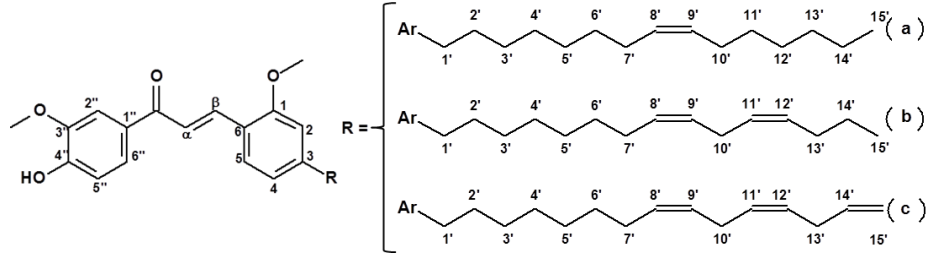
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 55

LDT552i

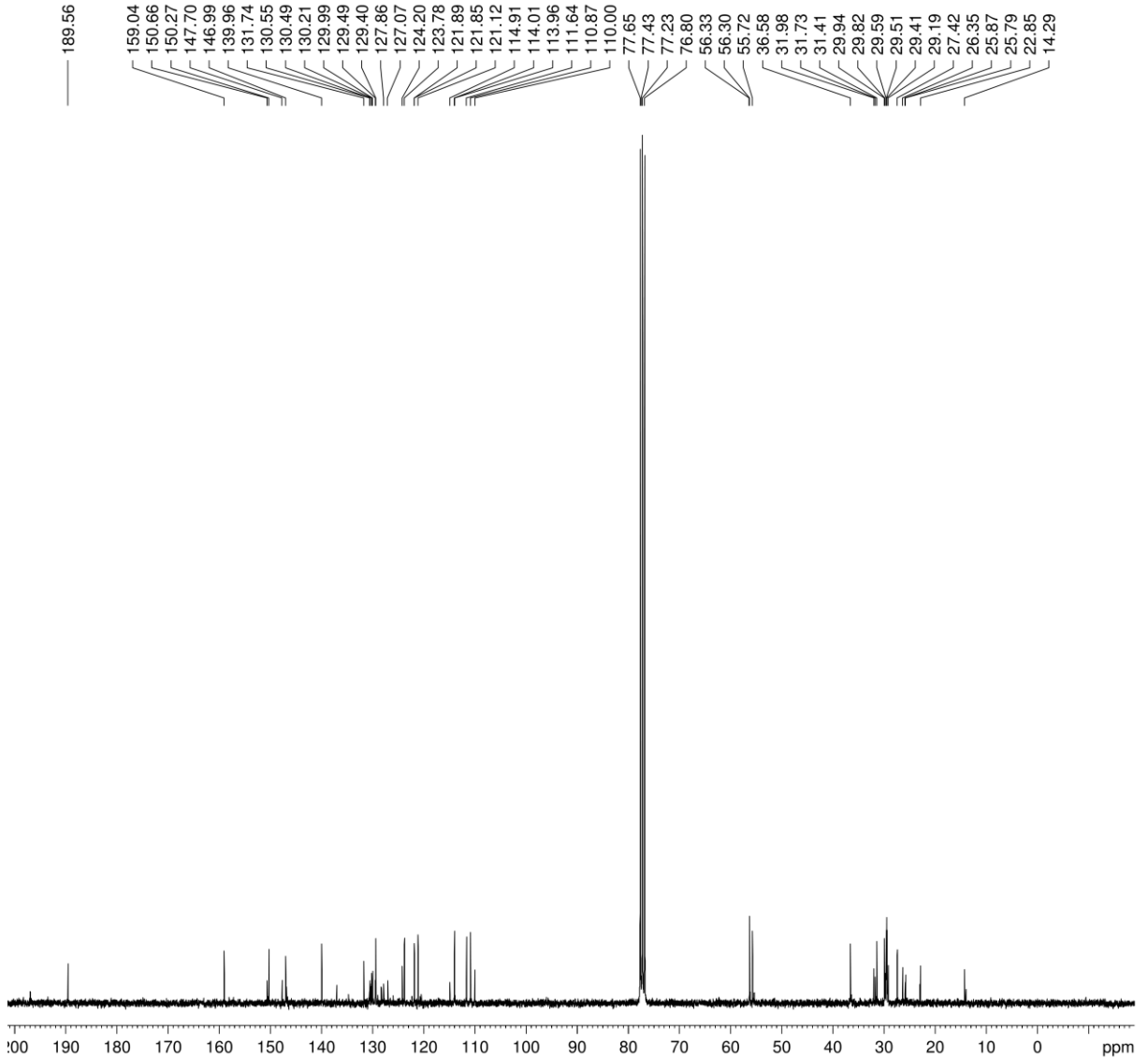
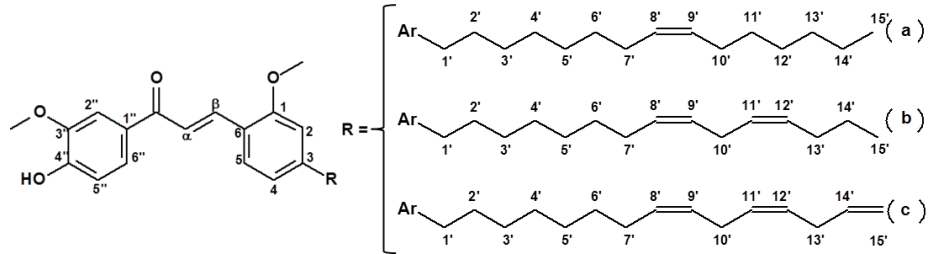
Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 56

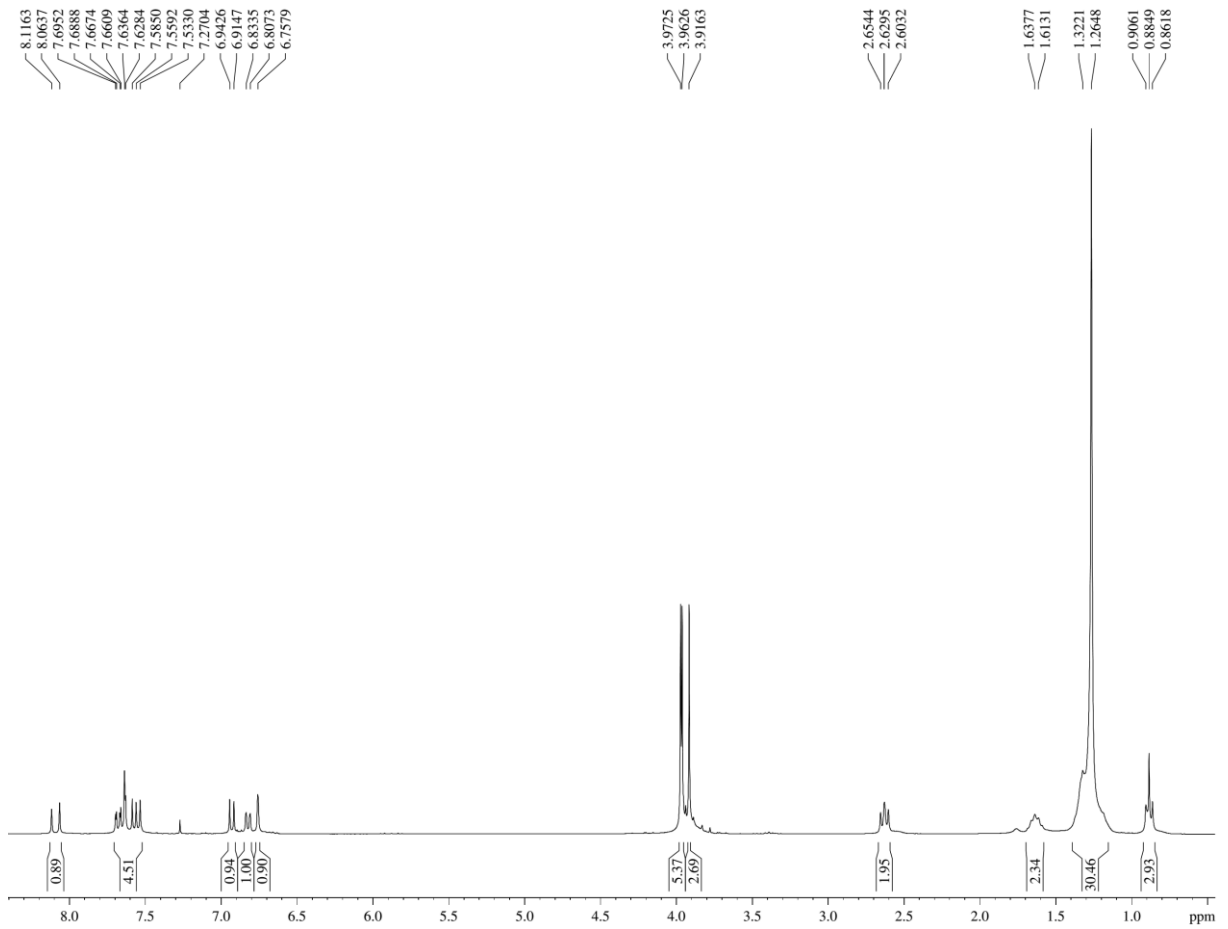
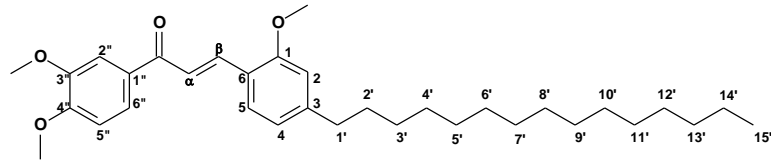
LDT552i

Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)



ANEXO 57

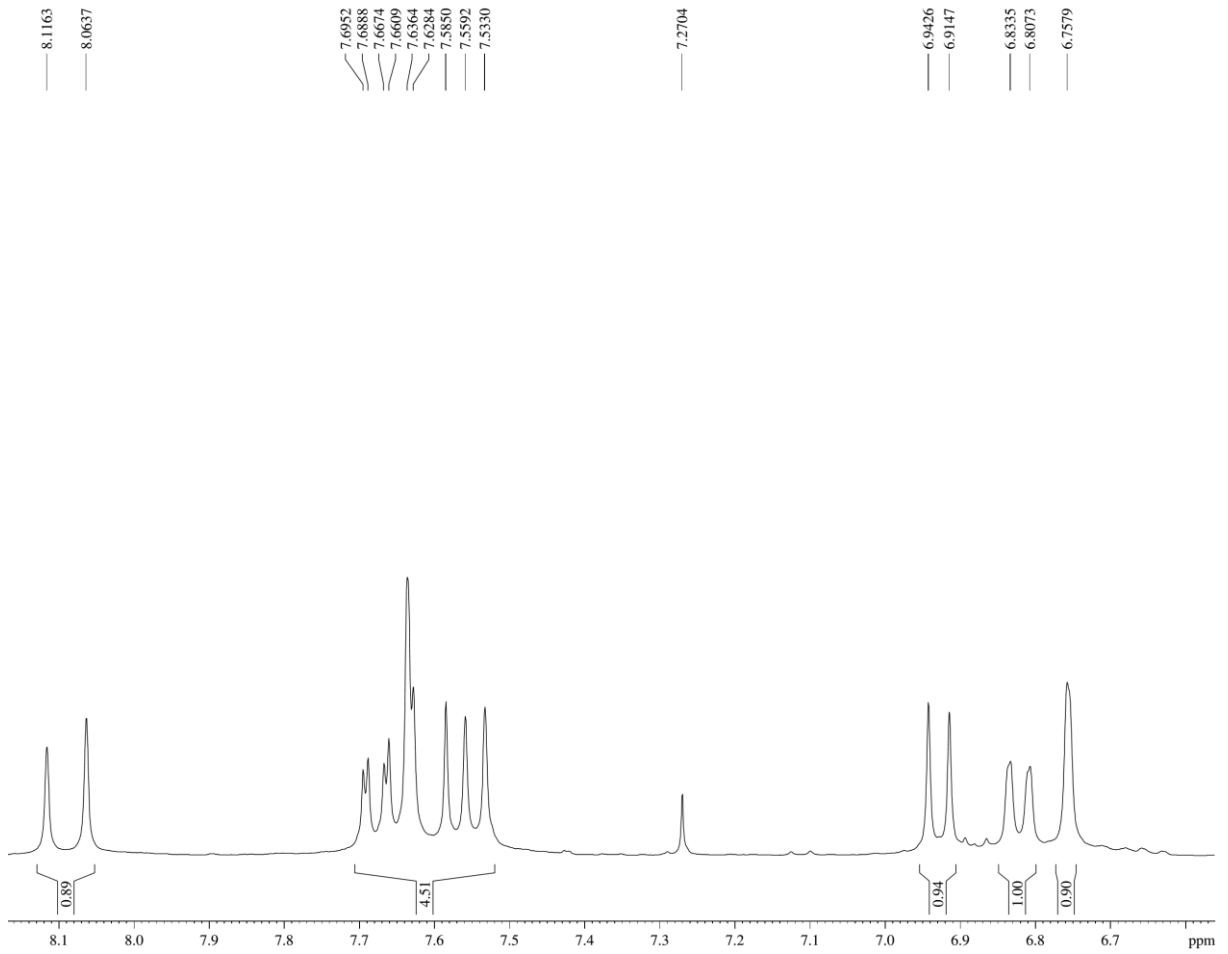
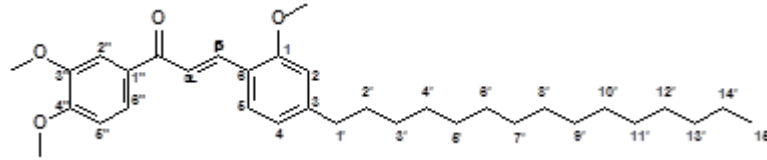
LDT553

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 58

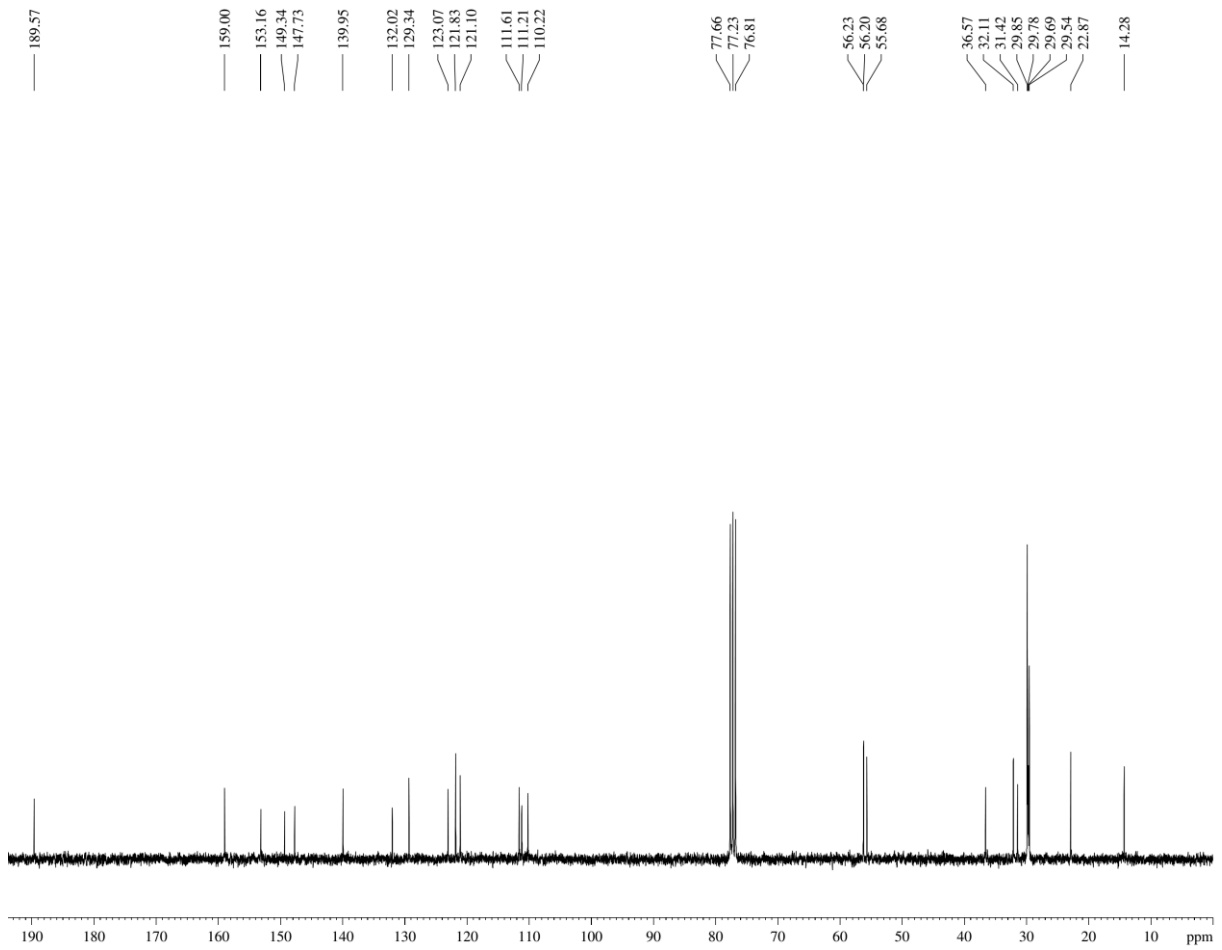
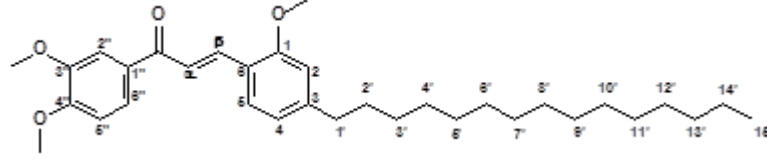
LDT553

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 59

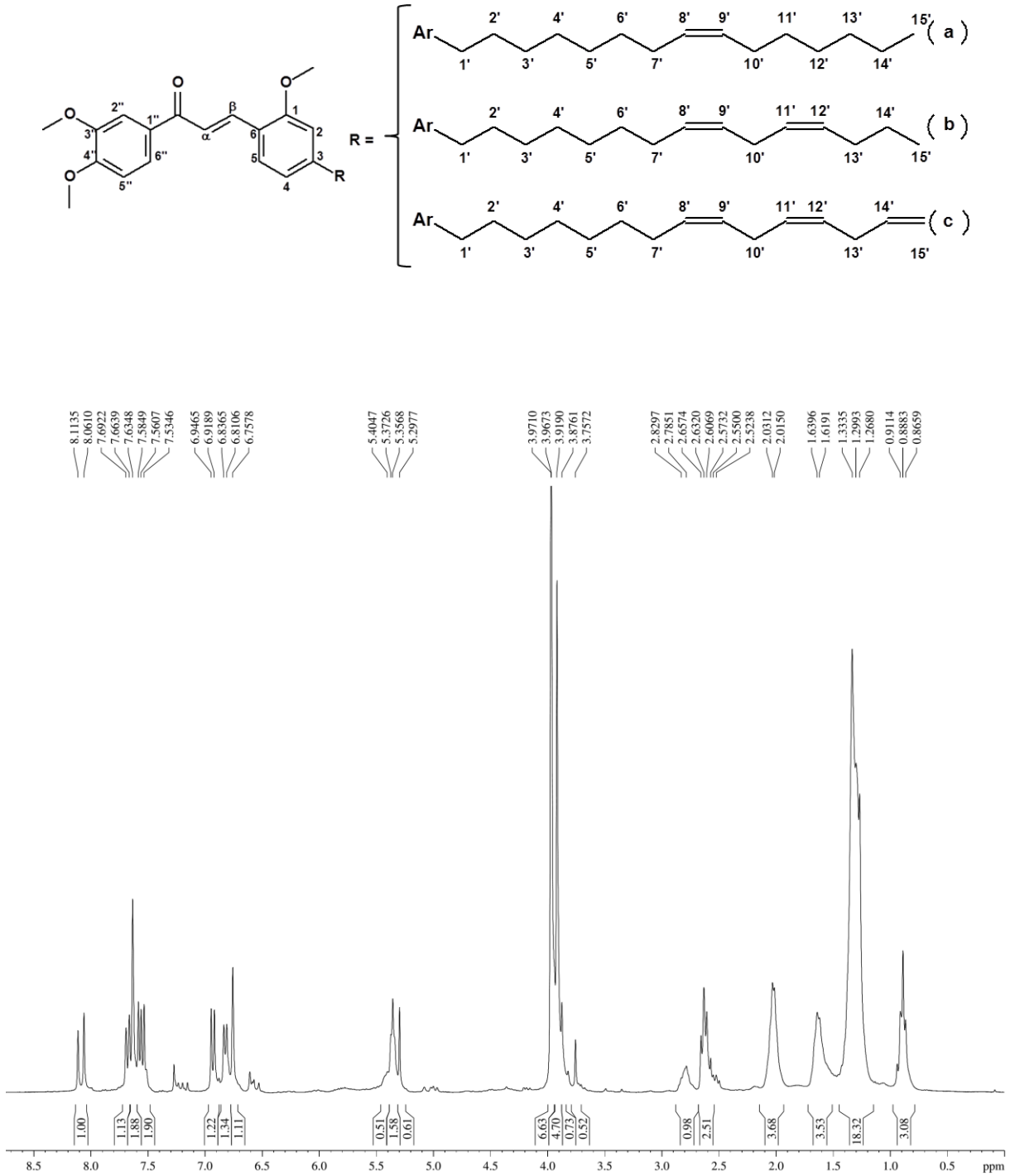
LDT553

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 60

LDT553i

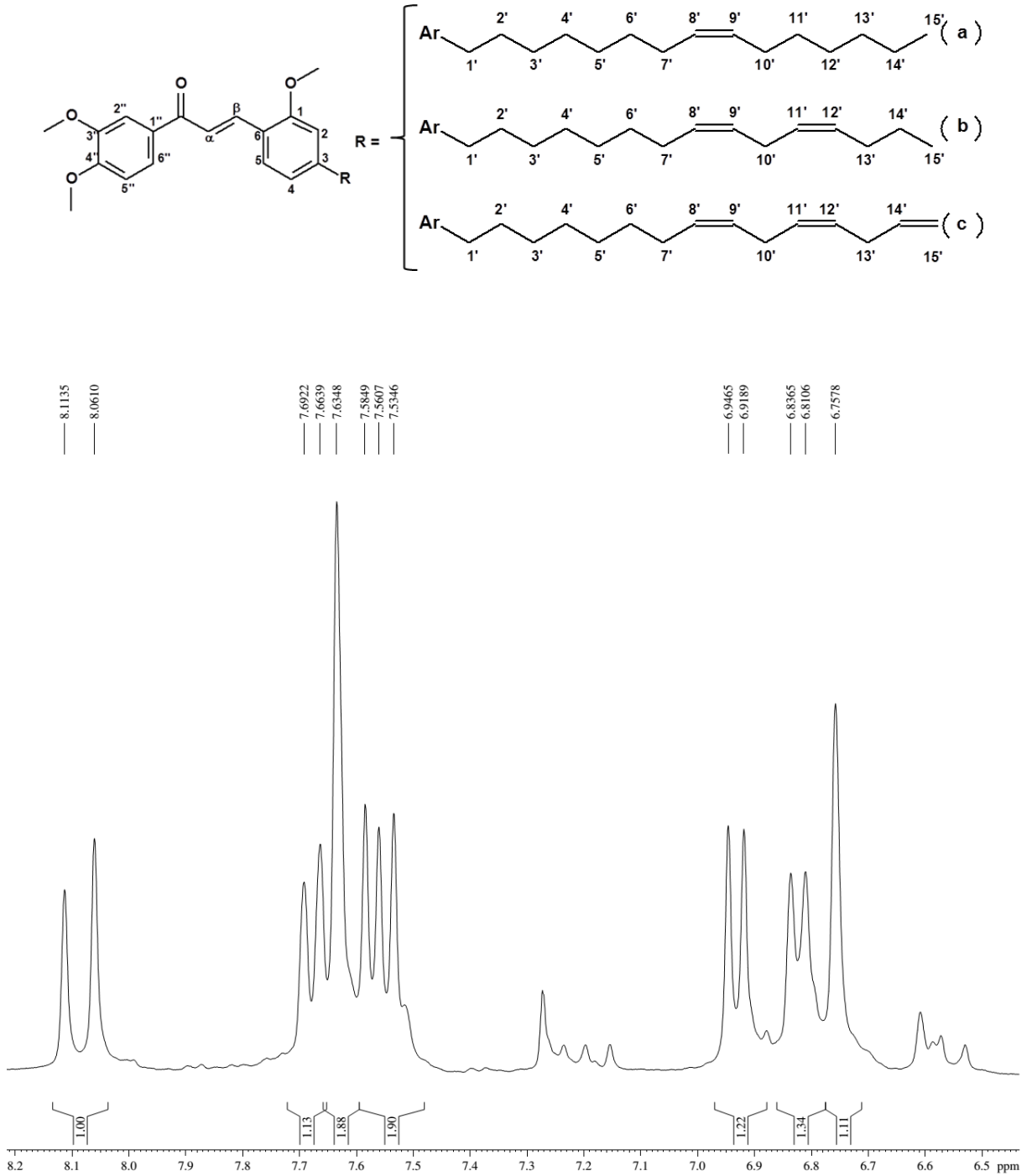
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 61

LDT553i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 62

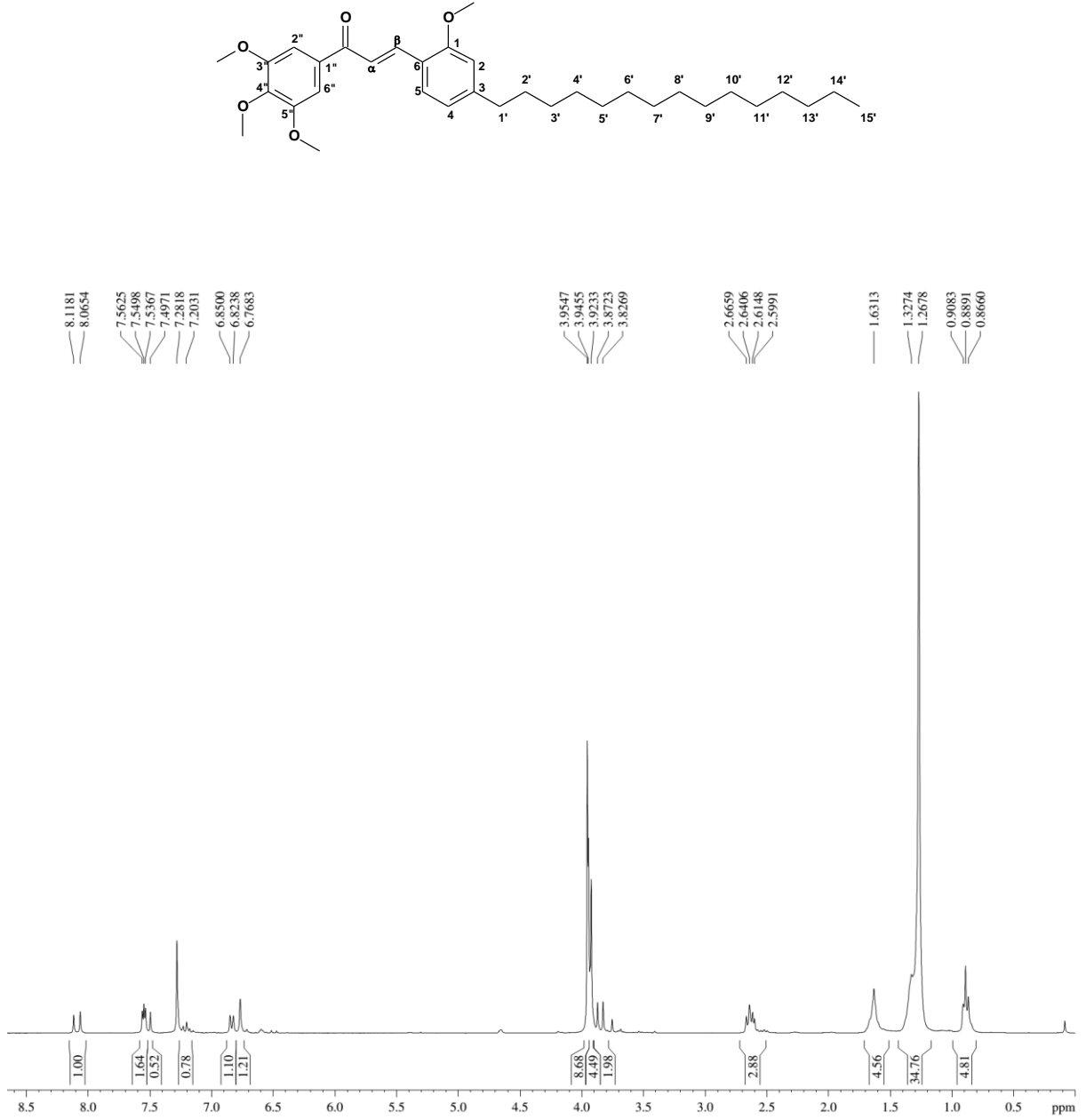
LDT553i

Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)



ANEXO 63

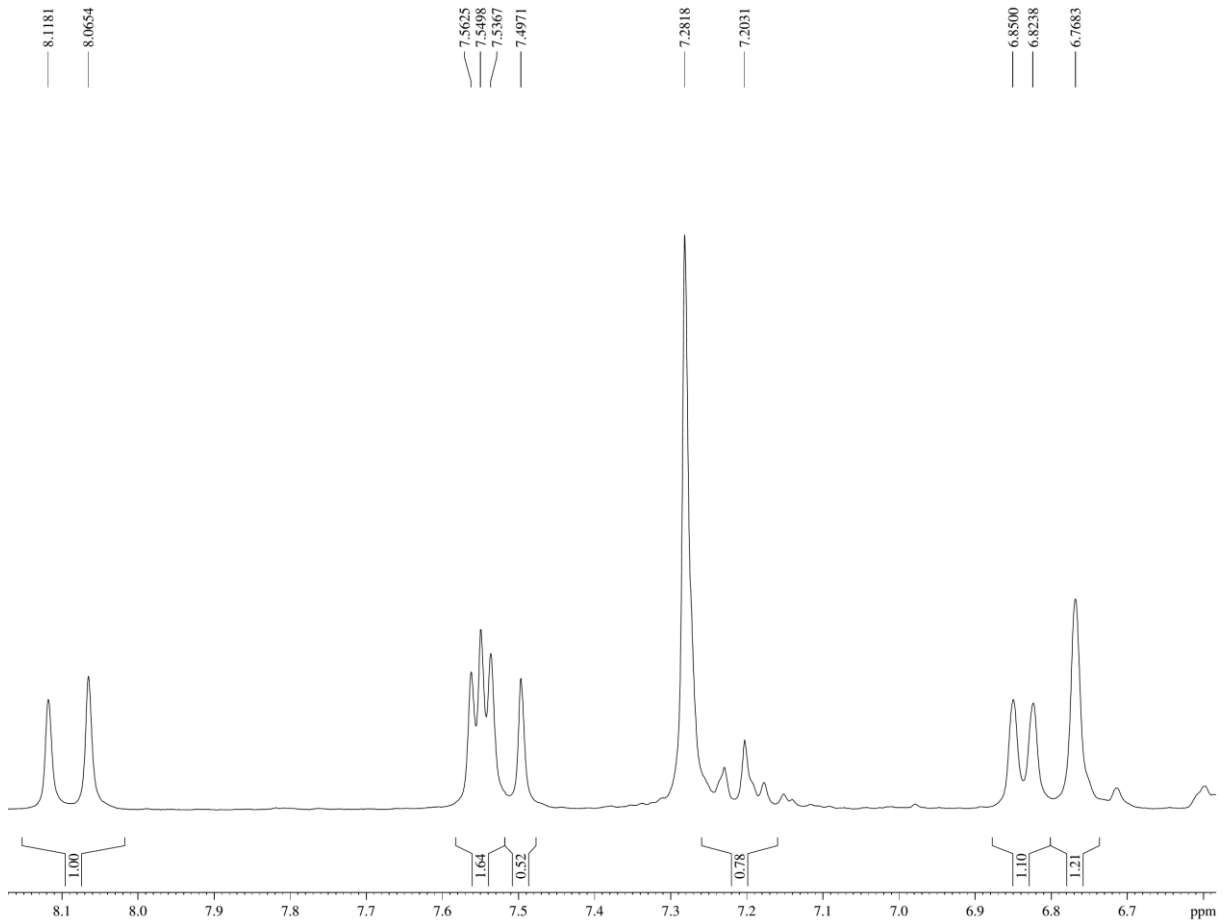
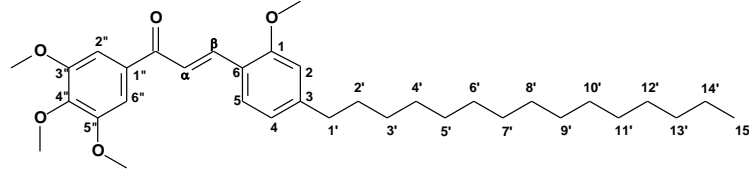
LDT554

Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)

ANEXO 64

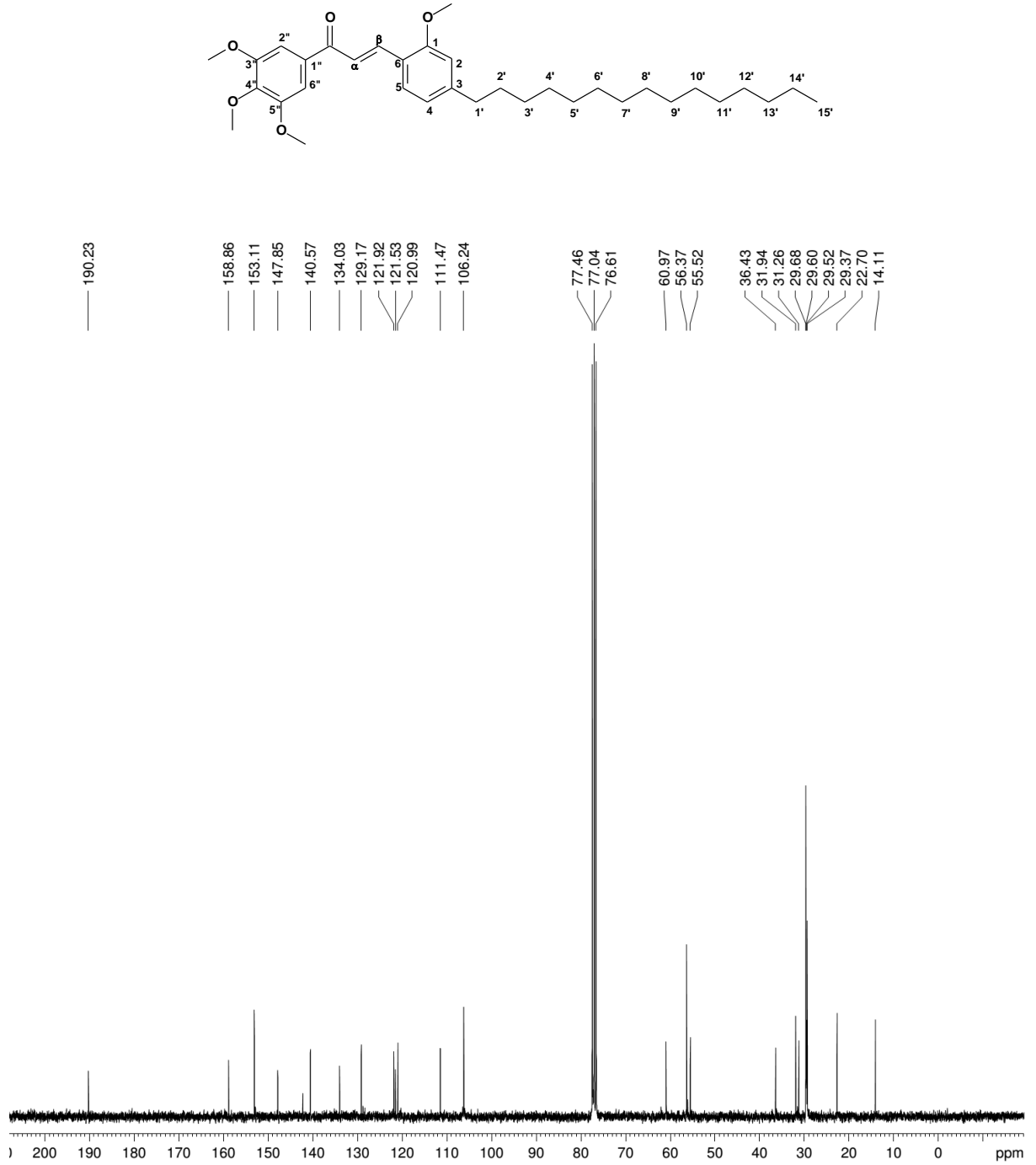
LDT554

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 65

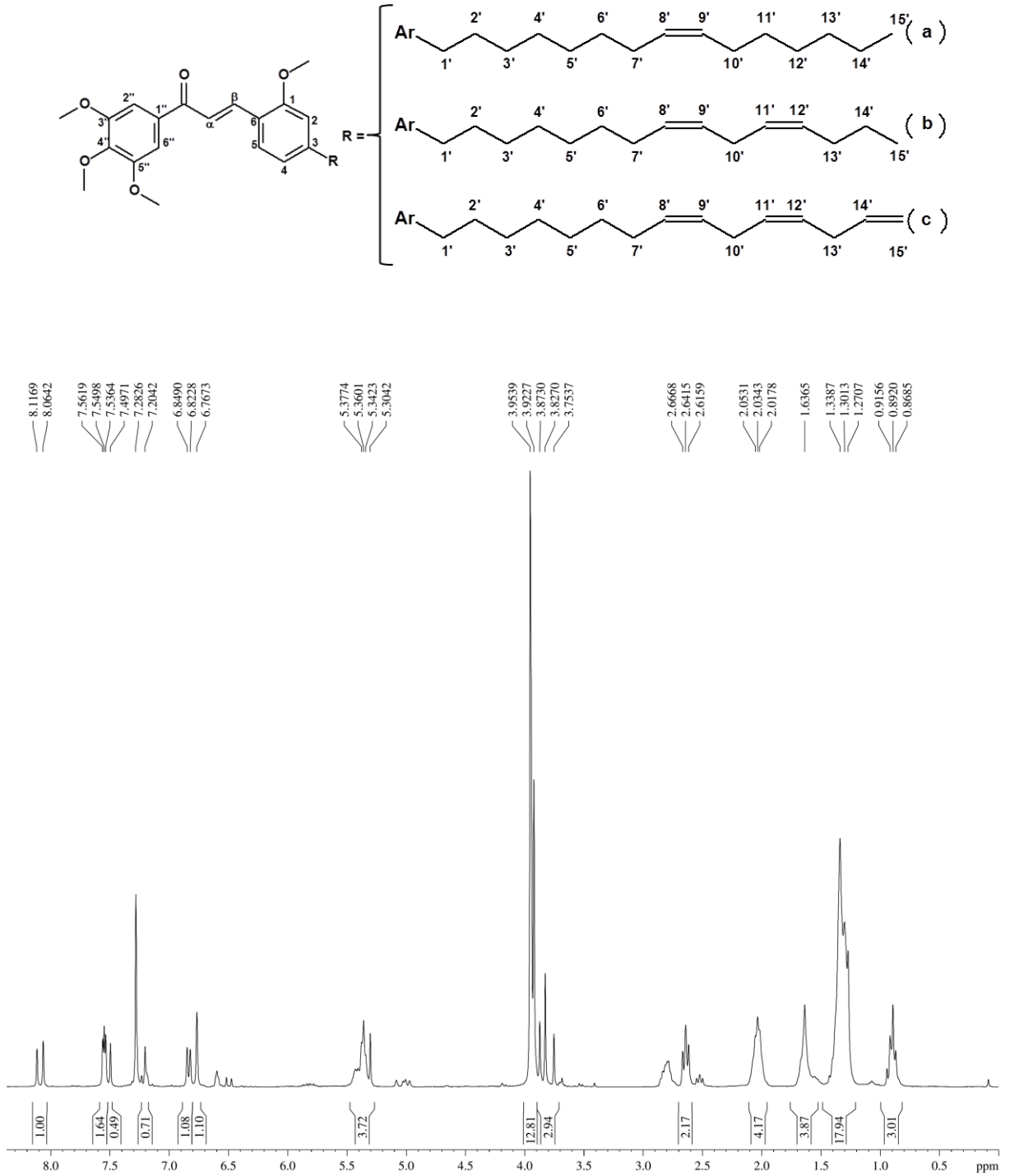
LDT554

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 66

LDT554i

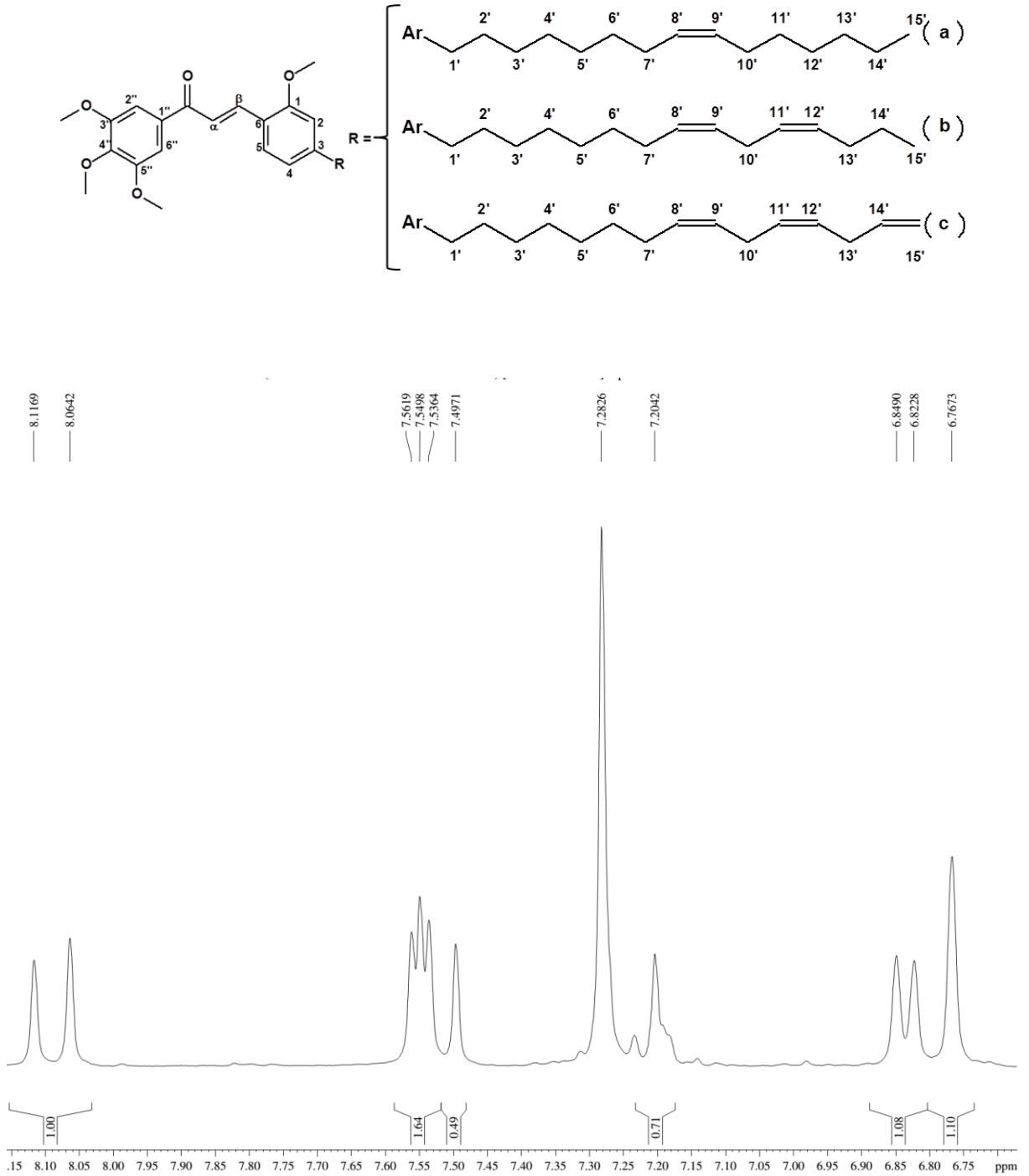
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 67

LDT554i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



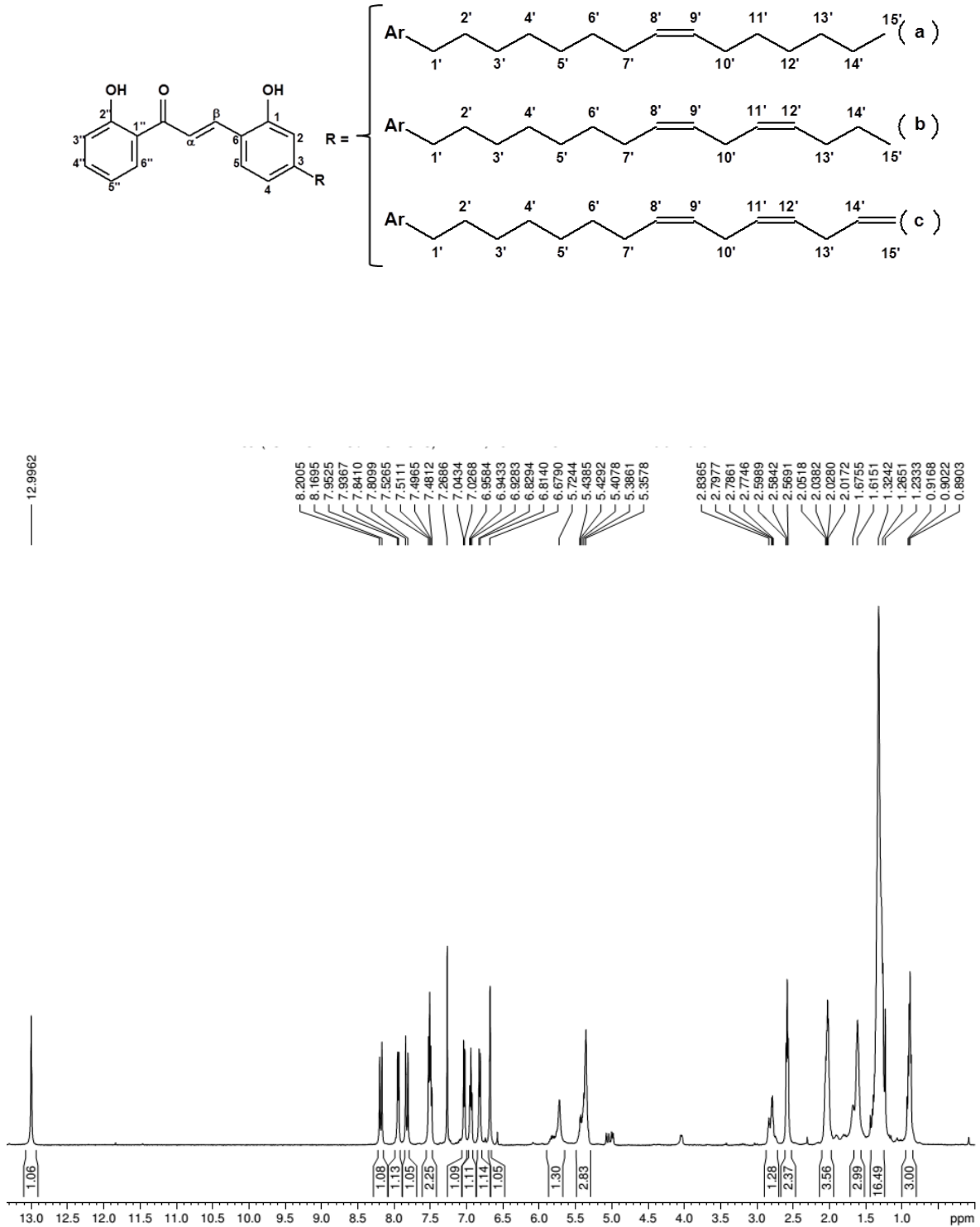
ANEXO 68

LDT554i

Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

ANEXO 69

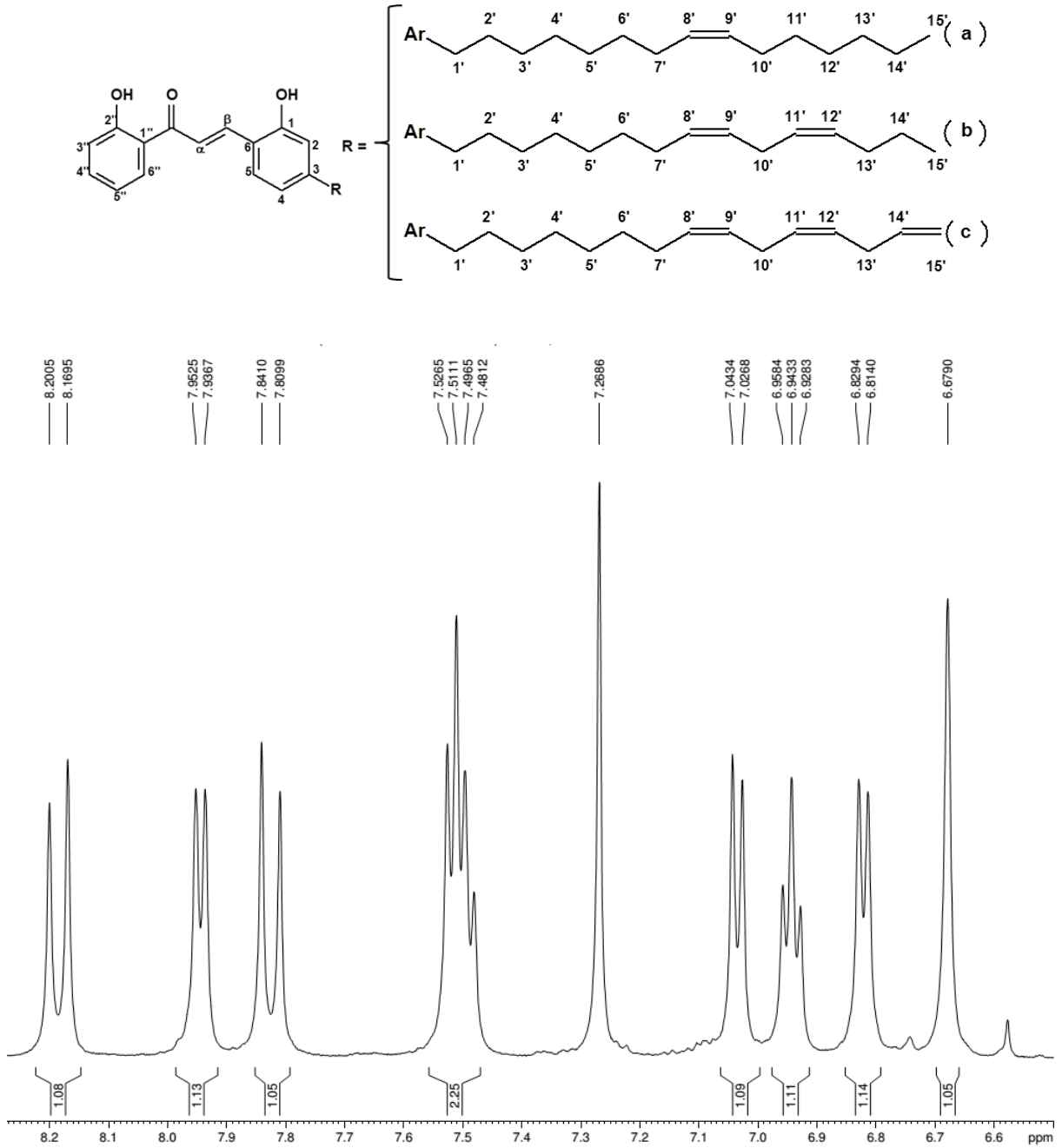
LDT283i

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)

ANEXO 70

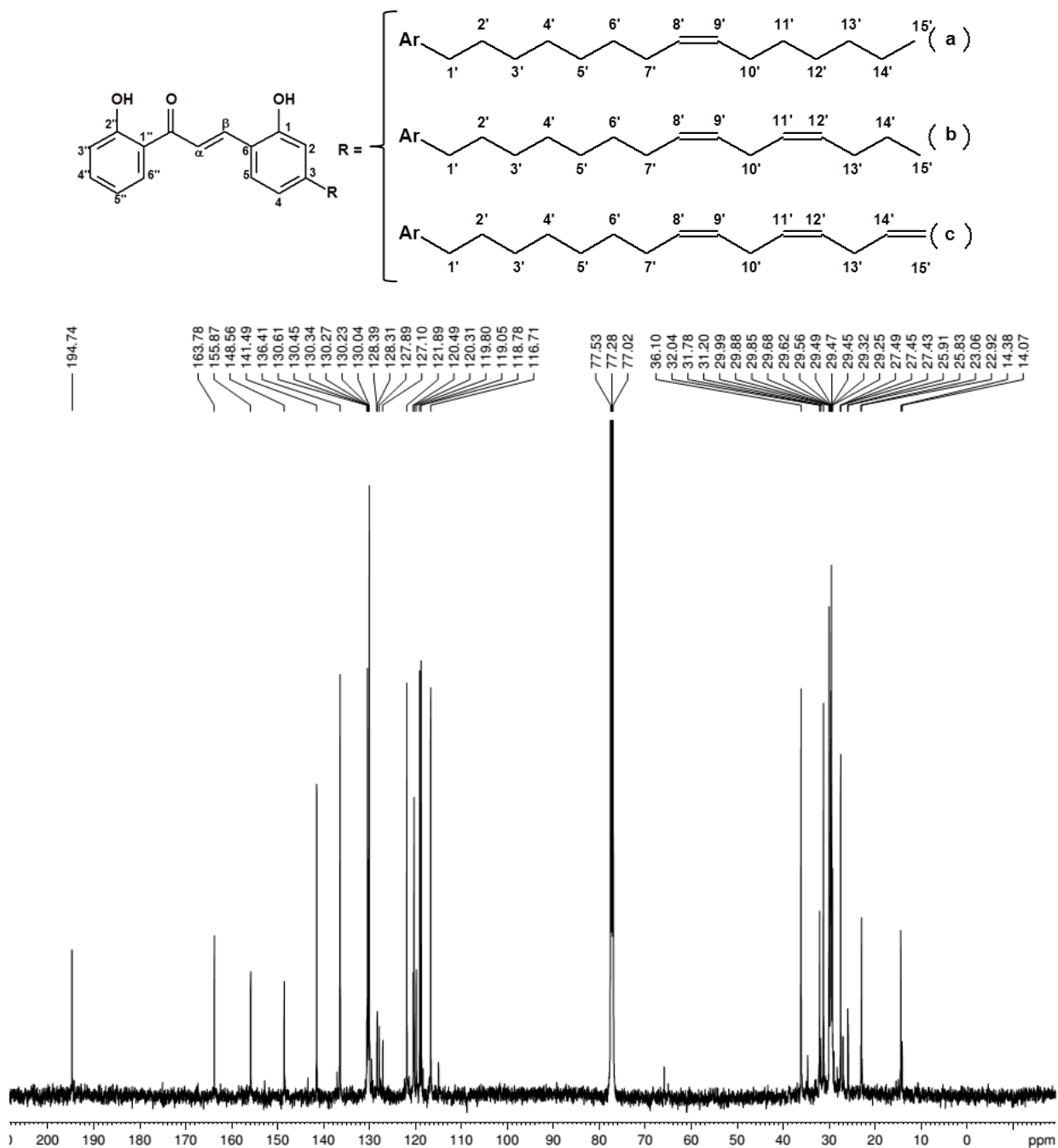
LDT283i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)



ANEXO 71

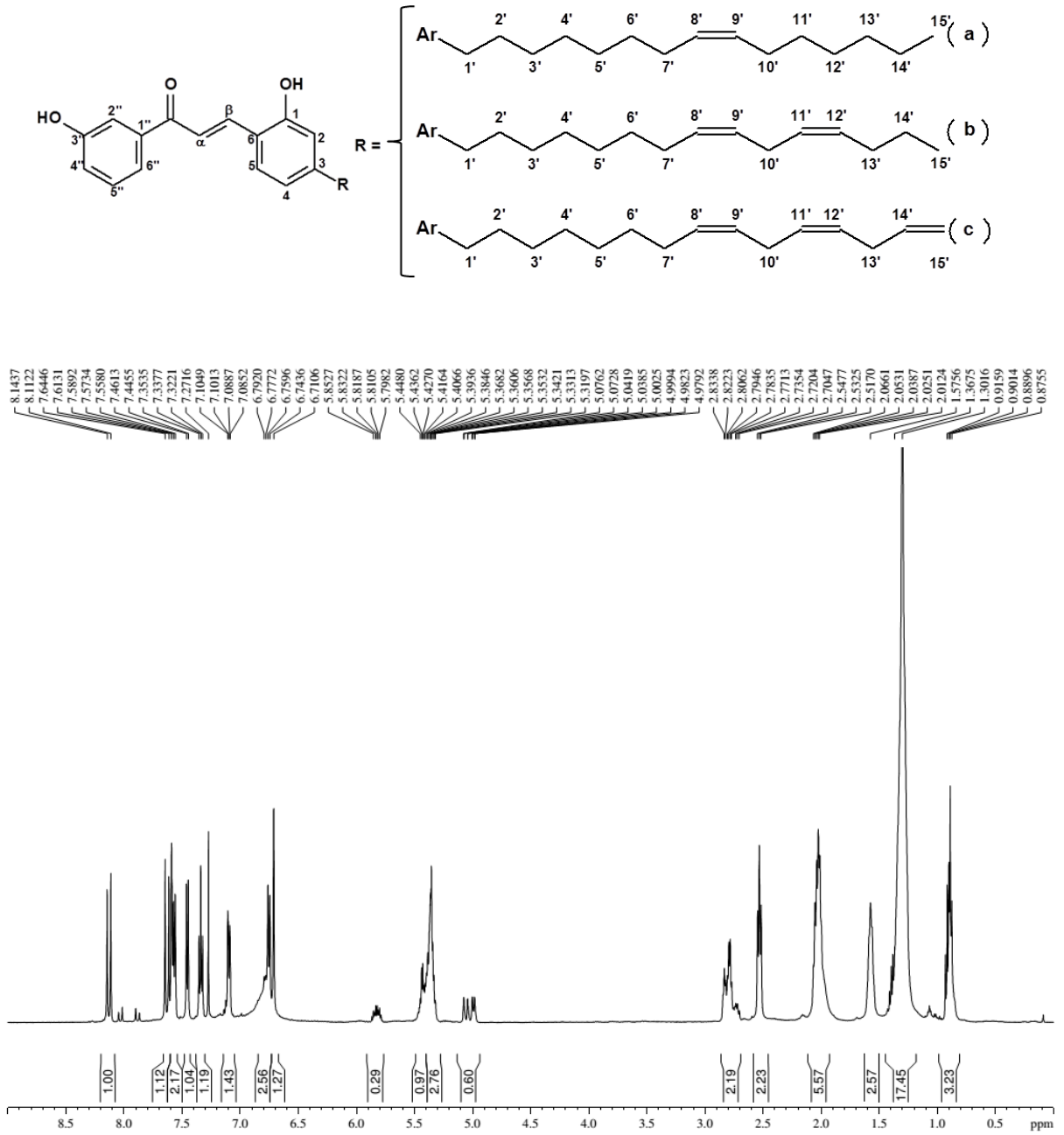
LDT283i

Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

ANEXO 72

LDT284i

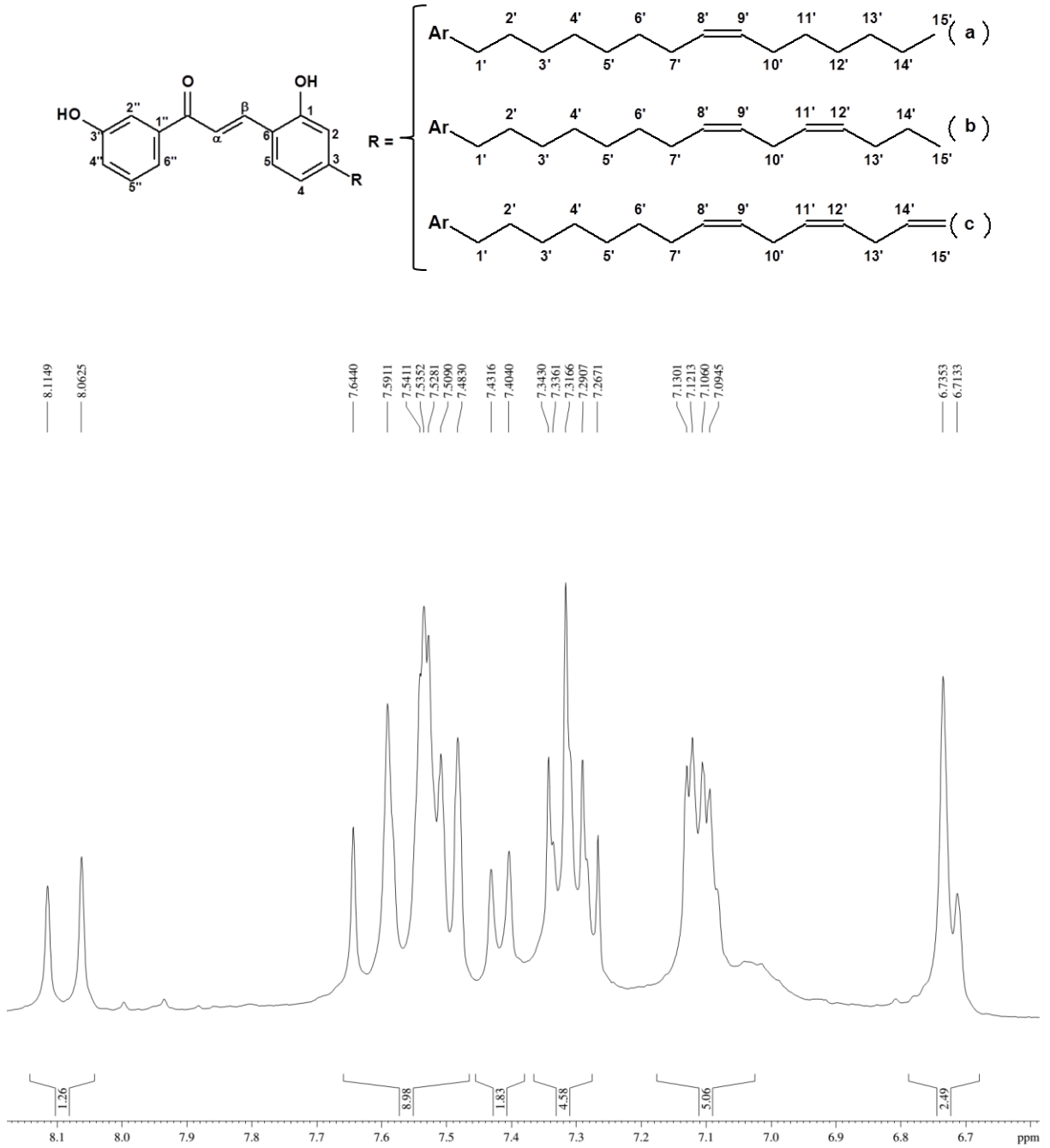
Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃)



ANEXO 73

LDT284i

Expansão do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)



ANEXO 74

LDT284i

Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

