



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

**SÍNTESE DE 2,4,5-TRIMETOXICALCONAS E AVALIAÇÃO
DE SUA ATIVIDADE FRENTE À PROTEÍNA TIROSINA
FOSFATASE A (PtpA) DE *Mycobacterium tuberculosis***

TAISA REGINA STUMPF

Florianópolis
Dezembro/2010

Taisa Regina Stumpf

**SÍNTESE DE 2,4,5-TRIMETOXICALCONAS E AVALIAÇÃO DE SUA
ATIVIDADE FRENTE À PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE A (PtpA)
DE *Mycobacterium tuberculosis***

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

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

Florianópolis
Dezembro/2010

Taisa Regina Stumpf

**SÍNTESE DE 2,4,5-TRIMETOXICALCONAS E AVALIAÇÃO DE SUA
ATIVIDADE FRENTE À PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASE A (PtpA)
DE *Mycobacterium tuberculosis***

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

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo José Nunes
Orientador

Dra. Louise Domeneghini Chiaradia
Co-Orientadora

Prof. Dr. Miguel Soriano Balparda Caro

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Florianópolis
Dezembro/2010

Dedico este trabalho de conclusão de curso
à minha mãe, Cladis Stumpf, a qual devo tudo.

Meu exemplo de mulher guerreira,
que venham os obstáculos que
eles serão superados por ela. Amo-te!

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, Cladis e Roberto, meus espelhos, que sempre me apoiaram em todas as minhas decisões, que souberam dizer não nas horas certas, e que apesar da distância tiveram mais presentes do que nunca. E ao meu irmão, Marcos e à minha futura cunhada, Dayhane, pelo amor e carinho.
- Ao professor Dr. Ricardo José Nunes, pela orientação na realização desse trabalho, pela paciência, pela alegria, e principalmente, pela amizade.
- Às minhas “cheffas”, Alessandra Mascarello e Louise Domeneghini Chiaradia, pelas correções, pelos ensinamentos, pela paciência. O que seria de mim sem vocês! Amizade pra vida toda.
- Ao professor Dr. Rosendo Augusto Yunes, pelo carinho e atenção conferida no período de iniciação científica.
- Aos amigos do laboratório, que contribuíram na realização deste trabalho, pela amizade e compreensão: Bruna Voltolini e Marlon N. S. Cordeiro.
- À todos os meus amigos, que tornam os meus dias mais alegres e minha caminhada mais prazerosa e cheia de sorrisos. Em especial, quero agradecer à minha amiga e prima Rosiana Massignani, que tem se tornado cada dia mais indispensável em minha vida; enfim, aos meus amigos: Danilo H. da Silva, Caroline Motta, Estela M. Aranha, Gabriela A. Giordani, Luiz F. S. de Souza e Renata Mior (...) que igualmente enchem de luz o meu caminho; e aos demais, e não menos importantes, que conheci nesta Universidade e que por algum motivo devo agradecer porque fizeram parte do meu dia-a-dia, compartilhando conhecimentos, congressos, horas de estudos, festas e momentos inesquecíveis.
- Aos professores e funcionários do Departamento de Química da UFSC.
- À Central de Análises do Departamento de Química da UFSC pelas análises espectroscópicas.
- À aluna Priscila Grazielle Alves Martins e ao Prof. Dr. Hernán Terenzi do Centro de Biologia Molecular Estrutural, Departamento de Bioquímica da UFSC, pelas análises biológicas.
- Ao CNPq e Capes, pelo suporte financeiro.
- À banca examinadora pelas dicas e correções.
- À Deus.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABELAS.....	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xii
RESUMO.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Chalconas.....	16
2.2 Tuberculose e proteína tirosina fosfatase A de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> - PtpA.....	18
2.3 Chalconas e tuberculose.....	20
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivos Gerais.....	23
3.2 Objetivos Específicos.....	23
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 Síntese dos compostos.....	24
4.1.1 <i>Materiais e métodos</i>	24
4.1.2 <i>Síntese das chalconas</i>	24
4.1.2.1 <u>Preparação das chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona</u>	25
4.1.2.2 <u>Preparação das chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído</u>	26
4.2 Atividade biológica.....	26
4.2.1 <i>MPtpA: expressão e purificação</i>	26
4.2.2 <i>Avaliação da atividade residual de PtpA</i>	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Sínteses.....	28
5.1.1 <i>Síntese das chalconas (J1 a J13), derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona (Série J)</i>	28
5.1.2 <i>Síntese das chalconas (D1 a D13), derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (Série D)</i>	32
5.1 Triagem Biológica.....	35

6 CONCLUSÕES.....	39
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
8 ANEXOS A - <u>Tabela de Dados Espectrais (RMN de ^1H e ^{13}C e IV)</u>.....	xliv
9 ANEXOS B - <u>Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e IV</u>.....	lvii

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Núcleo fundamental das chalconas.....	16
Figura 2. Incidência estimada de casos de tuberculose a cada 100 mil pessoas (2008).....	19
Figura 3. Estrutura tridimensional da proteína tirosina-fosfatase A (PtpA) do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	20
Figura 4. Estrutura das chalconas bioativas em <i>M. tuberculosis</i> H37Rv.....	21
Figura 5. Estruturas das chalconas ativas frente à PtpA de Mtb.....	21
Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J4	30
Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J4	31
Figura 8. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J4	31
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D4	34
Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D4	35
Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J1	lvii
Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J1	lvii
Figura 13. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J1	lviii
Figura 14. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J2	lviii
Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J2	lix
Figura 16. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J2	lix
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J3	lx
Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J3	lx
Figura 19. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J3	lxi
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J5	lxi
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J5	lxii
Figura 22. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J5	lxii
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J6	lxiii
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J6	lxiii
Figura 25. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J6	lxiv
Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J7	lxiv
Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J7	lxv
Figura 28. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J7	lxv
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J9	lxvi
Figura 30. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J9	lxvi

Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J10	lxvii
Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J10	lxvii
Figura 33. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J10	lxviii
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J11	lxviii
Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J11	lxix
Figura 36. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J11	lxix
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J12	lxx
Figura 38. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J12	lxx
Figura 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J13	lxxi
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J13	lxxi
Figura 41. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J13	lxxii
Figura 42. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D1	lxxii
Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D1	lxxiii
Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D2	lxxiii
Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D2	lxxiv
Figura 46. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D3	lxxiv
Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D3	lxxv
Figura 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona D5	lxxv
Figura 49. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D5	lxxvi
Figura 50. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D6	lxxvi
Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D6	lxxvii
Figura 52. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D7	lxxvii
Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D7	lxxviii
Figura 54. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona D8	lxxviii
Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D8	lxxix
Figura 56. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D9	lxxix
Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D9	lxxx
Figura 58. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D10	lxxx
Figura 59. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D10	lxxx
Figura 60. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona D11	lxxx
Figura 61. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D11	lxxxii
Figura 62. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D12	lxxxii
Figura 63. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D12	lxxxiii

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Chalconas sintetizadas e seus substituintes.....	25
Tabela 2. Rendimentos e pontos de fusão das chalconas da Série J	29
Tabela 3. Rendimentos e pontos de fusão das chalconas da Série D	32
Tabela 4. Percentual de inibição da enzima PtpA de <i>M. tuberculosis</i> na presença de 25 µM das chalconas da Série J	36
Tabela 5. Percentual de inibição da enzima PtpA de <i>M. tuberculosis</i> na presença de 25 µmol.L ⁻¹ das chalconas da Série D	37
Tabela 6. Dados de IV das chalconas sintetizadas (pastilhas de KBr).....	xliv
Tabela 7. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	xlv
Tabela 8. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	xlvi
Tabela 9. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	xlvii
Tabela 10. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	xlviii
Tabela 11. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	xlix
Tabela 12. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série J derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona	l
Tabela 13. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	li
Tabela 14. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	lii
Tabela 15. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	liii
Tabela 16. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	liv
Tabela 17. Dados de RMN de ¹ H das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	lv
Tabela 18. Dados de RMN de ¹³ C das chalconas da Série D derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído	lvi

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo da condensação de Claisen-Schmidt catalisada por base.....	17
Esquema 2. Reação de condensação de Claisen-Schmidt para a síntese das chalconas.....	24
Esquema 3. Síntese das chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona.....	26
Esquema 4. Síntese das chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- BCG – Bacilo de Calmette-Guérin
- CCD - cromatografia em camada delgada
- CDCl_3 – Clorofórmio deuterado
- d - Duplete
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DTT - Ditioneitol
- H37Rv – Cepa de *Mycobacterium tuberculosis* não resistente a antibióticos
- HIV - Vírus da imunodeficiência humana
- IC_{50} – Concentração que inibe 50% do crescimento celular
- IV - Infravermelho
- KBr –Brometo de potássio
- KOH – Hidróxido de potássio
- m - Multiplete
- MDR-TB - Tuberculose multirresistente
- MPtpA - Proteína tirosina fosfatase A de *Mycobacterium tuberculosis*
- Mtb - *Mycobacterium tuberculosis*
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- p.f. – Ponto de fusão
- pNPP - *p*-nitrofenilfosfato
- Ptpa – Proteína tirosina fosfatase A
- RMN – Ressonância magnética nuclear
- RMN ^{13}C – Ressonância magnética nuclear de carbono
- RMN ^1H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
- s - Singleto
- SAR - Relação estrutura-atividade
- t - Tripleto
- t.a. – Temperatura ambiente
- TB - Tuberculose
- TMS – Tetrametilsilano
- VPS33B - Regulador de membrana de fusão
- δ - Deslocamento químico (ppm)

RESUMO

As chalconas são flavonóides de cadeia aberta, em que dois anéis aromáticos são unidos por três carbonos em um sistema α,β -insaturado em função da carbonila, ou seja, são 1,3-difenil-2-propen-1-onas. As chalconas e derivados têm mostrado uma grande variedade de atividades biológicas, dependendo da substituição dos anéis aromáticos. Em vista disso, um dos objetivos deste trabalho foi sintetizar e caracterizar duas séries análogas de compostos para avaliar sua relação estrutura-atividade. Sintetizaram-se duas séries de compostos, por meio da reação de condensação de Claisen-Schmidt, entre a 2,4,5-trimetoxiacetofenona e diferentes aldeídos (**Série J**) e entre o 2,4,5-trimetoxibenzaldeído e diferentes acetofenonas (**Série D**), totalizando 25 chalconas, sendo 12 inéditas. Após a caracterização das estruturas através de RMN de ^1H e de ^{13}C e de espectroscopia no IV, avaliou-se a atividade das chalconas obtidas frente à proteína tirosina fosfatase A de *Mycobacterium tuberculosis* – PtpA, que está relacionada com a virulência dessa bactéria. Os compostos mais ativos apresentaram valores de inibição da proteína de $26,4 \pm 5,0$ % (**D10**), $29,8 \pm 5,6$ % (**J7**), $30,1 \pm 3,9$ % (**J13**), $30,9 \pm 5,3$ % (**J4**) e $39,6 \pm 4,0$ (**D1**). A análise da relação estrutura-atividade permite observar que, de maneira geral, as chalconas da **Série J** apresentaram os melhores valores de inibição da atividade da PtpA.

Palavras-chave: chalconas trimetoxiladas, atividade biológica, PtpA.

1 Introdução

A Química Medicinal inclui a invenção, descoberta, desenho, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos de interesse terapêutico, além da interpretação do seu modo de interação em nível molecular, construção das suas relações estrutura-atividade (SAR) e o estudo do seu metabolismo (Busse *et al.*, 1996). O desenvolvimento e sucesso da Química Medicinal requerem o conhecimento e aplicação de estratégias metodológicas inter e multidisciplinares fundamentadas por conhecimentos em bioquímica, clínica médica, patologia, química computacional e química orgânica, entre outros (Amaral *et al.*, 2002). Na indústria farmacêutica, os químicos medicinais estão envolvidos no processo de descoberta de novos fármacos, além de solucionar problemas relacionados ao desenho de novas moléculas e otimização de suas propriedades biológicas.

Uma molécula ativa e eficaz é reflexo das interações farmacodinâmicas e farmacocinéticas, além da baixa toxicidade (Barreiro, 2001). Em outras palavras, a estrutura tridimensional única e específica do fármaco é requisito para sua atividade biológica.

As estruturas de compostos naturais isolados podem ser modificadas para a obtenção de estruturas ativas ou para a otimização da ação destes compostos. As modificações produzidas pela introdução de um substituinte podem modificar várias propriedades físico-químicas da molécula, tais como: hidrofobicidade, densidade eletrônica e conformação estrutural, cuja análise poderá orientar novas sínteses. Por exemplo, a substituição de um átomo de hidrogênio por um determinado substituinte pode modificar bruscamente as suas propriedades, tais como, a potência, a duração do efeito, entre outras. Os estudos de correlação estrutura-atividade, fundamentados no efeito do substituinte em um determinado anel aromático, são muito comuns na química medicinal, uma vez que mais de 50% dos fármacos ou compostos bioativos possuem este tipo de anel (Calixto, 2001).

Há várias etapas importantes na descoberta de novos fármacos, mas podemos destacar três delas: a primeira etapa é a de *descobrimto*, onde ocorrem a identificação e produção de novas substâncias ativas, originadas da síntese orgânica, de produtos naturais ou de processos biotecnológicos; a segunda etapa é a de *otimização*, que é a base das modificações sintéticas das estruturas, no sentido

de aumentar a potência, seletividade e conferir menor toxicidade; e a terceira consiste na etapa do *desenvolvimento*, onde há a otimização das rotas sintéticas para a produção em larga escala e a modificação das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas da substância ativa para uso clínico (Wermuth *et al.*, 1996).

Existe uma necessidade urgente de fármacos mais simples, com menores efeitos colaterais, que possam ser administrados preferencialmente por via oral, com custos reduzidos, seguros, e eficientes para seu uso terapêutico. A tuberculose, doença reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como sendo uma doença negligenciada, merece atenção especial no desenvolvimento de novas moléculas que possam ser protótipos de fármacos. Nessa perspectiva, a síntese e o estudo de novas estruturas químicas, com atividade em doenças de alta incidência mundial, como a tuberculose, é de suma importância para a criação de tratamentos mais eficientes.

2 Revisão da Literatura

2.1 Chalconas

Os flavonóides são substâncias polifenólicas que representam uma classe singular de ocorrência natural - são compostos com o esqueleto 1,3-diarilpropano, que podem assumir diferentes arranjos, cíclico ou alicíclico. Estão presentes na maioria das plantas, concentrando-se nas sementes, nas cascas das frutas, nas cascas de árvores e nas flores. Um representante importante desse grupo são as chalconas, que são flavonóides de cadeia aberta, em que dois anéis aromáticos são unidos por três carbonos de um sistema α,β -insaturado em função da carbonila, ou seja, 1,3-difenil-2-propen-1-ona e derivados (Ávila *et al.*, 2008) (**Figura 1**).

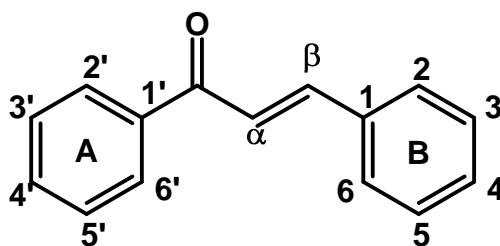
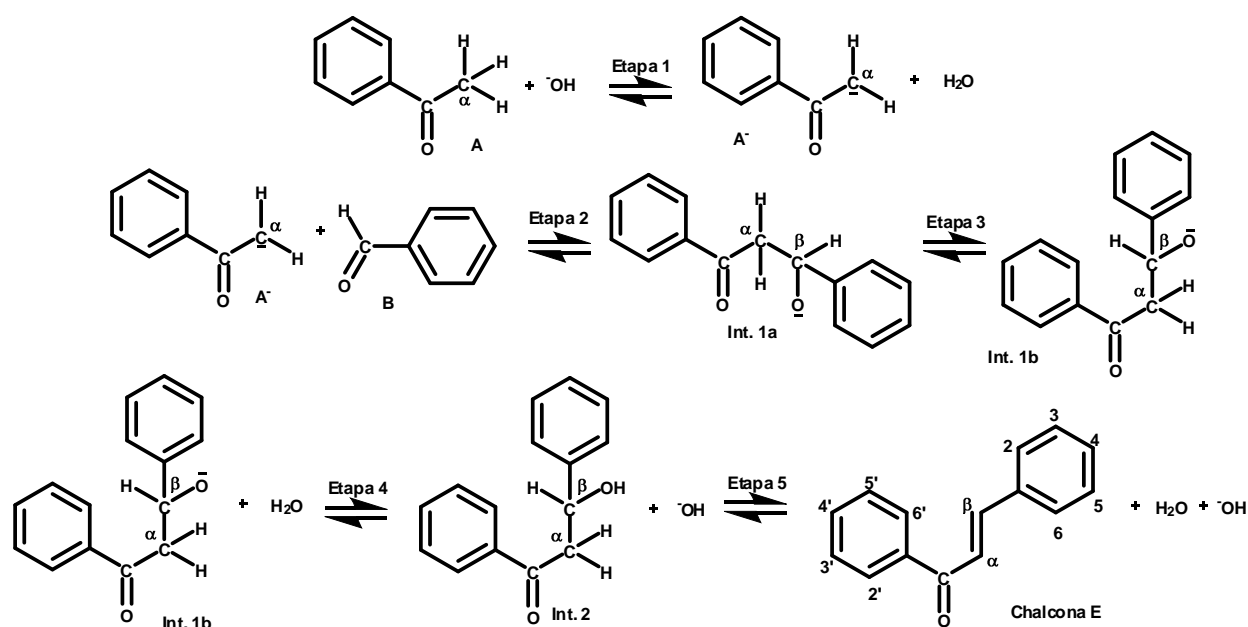


Figura 1. Núcleo fundamental das chalconas.

As chalconas têm mostrado uma grande variedade de atividades, dependendo da substituição dos dois anéis aromáticos, tais como antibacteriana (Nielsen *et al.*, 2004), antifúngica (Boeck *et al.*, 2005), antiinflamatória (Liu *et al.*, 2007), antileucêmica (LeBlanc *et al.*, 2005), antileishmania (Boeck *et al.*, 2006; Yunes *et al.*, 2006), antimalárica (Dominguez *et al.*, 2005), antioxidante (Zhan *et al.*, 2006), tripanossomicida (Lunardi *et al.*, 2003), antitumoral (Cabrera, *et al.*, 2007; Pedrini *et al.*, 2010; Navarini *et al.*, 2009) e antituberculose (Lin *et al.*, 2002; Mascarello *et al.*, 2010; Chiaradia *et al.*, 2008).

Existem vários métodos que podem ser utilizados para a obtenção de chalconas, entre eles a condensação de Claisen-Schmidt, uma reação simples, rápida e que geralmente resulta em bons rendimentos, o que também é um dos objetivos das indústrias farmacêuticas.

Na condensação de Claisen-Schmidt são reagidos acetofenonas e aldeídos, utilizando uma base como catalisador e metanol como solvente, à temperatura ambiente (Vogel, 1989). A adição de um ânion enolato ao grupo carbonila de um aldeído ou cetona constitui uma importante reação em química orgânica, conhecida como condensação aldólica. Essa reação tem sido amplamente utilizada para a construção de ligações carbono-carbono. Além disso, as reações de condensação com aldeídos ou cetonas têm fornecido um método para a introdução de quiralidade em moléculas (Evans *et al.*, 1982). O mecanismo aceito para a condensação de Claisen-Schmidt catalisada por base é ilustrada por uma série de equilíbrios mostrados no **Esquema 1** (Gasull *et al.*, 2000).



Esquema 1. Mecanismo da condensação de Claisen-Schmidt catalisada por base (Gasull *et al.*, 2000). A: Acetofenona, A⁻: ânion da acetofenona, B: benzaldeído, Int. 1, Int. 1a, Int. 1b e Int. 2: Intermediários.

Para favorecer a formação de um único produto de reação, geralmente utiliza-se um aldeído aromático que não possui hidrogênios enolizáveis e outro composto carbonílico que os possui. Nessas condições, o produto de condensação é uma β-hidroxicetona ou um β-hidroxialdeído, que sofre desidratação espontânea dando origem a uma cetona ou aldeído α,β-insaturado (Ashby *et al.*, 1986). Nesta etapa, o enolato poderia atacar outra molécula de cetona não enolizada, porém, isso não

ocorre porque cetonas são menos reativas do que os aldeídos (Clayden *et al.*, 2000).

Essa reação global de terceira ordem pode ser explicada com o mecanismo mostrado na **Esquema 1**. O mecanismo proposto inclui as seguintes etapas:

- **Etapa 1.** O catalisador (OH^-) realiza um ataque nucleofílico rapidamente sobre o átomo de carbono do grupo metil da acetofenona (A).
- **Etapa 2.** O íon acetofenona (A^-) ataca o átomo de carbono do grupo aldeído (B). Esta é a etapa lenta da reação (Gasull *et al.*, 2000).
- **Etapa 3.** O equilíbrio entre os intermediários Z (Int. 1a) e E (Int. 1b) é alcançado.
- **Etapa 4.** O ataque eletrofílico de uma molécula de água sobre o átomo de oxigênio ligado ao carbono β do intermediária E (Int. 1b), formando o intermediário 2 (Int. 2), com regeneração de catalisador.
- **Etapa 5.** Desidratação intramolecular do intermediário Int. 2 (E) para dar a *E*-chalcona.

2.2 Tuberculose e proteína tirosina fosfatase A de *Mycobacterium tuberculosis* - PtpA

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), que afeta principalmente os pulmões. É transmitida entre os humanos através de gotículas expelidas pela garganta de pessoas com a doença respiratória ativa. Os sintomas da TB são a tosse, às vezes com muco ou sangue, dores no peito, fraqueza, emagrecimento, febre e sudorese noturna (OMS, 2009a). Com o advento da multiresistência da bactéria Mtb, a doença tornou-se um problema de saúde pública (Sirakova *et al.*, 2003).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2008, a estimativa foi de 8,9 a 9,9 milhões de casos incidentes de TB; 9,6 a 13,3 milhões de casos prevalentes; 1,1 a 1,7 milhões de mortes pela doença entre pessoas HIV-negativas, e um adicional de 0,45 a 0,62 milhões de óbitos por TB entre pacientes HIV-positivos. O número de casos notificados de TB em 2008 foi de 5,7 milhões, o equivalente a 55 a 67% de todos os casos incidentes; além disso, cerca de 30 mil casos de tuberculose multirresistente (MDR-TB) foram notificados no mesmo ano

(OMS, 2009b). A **Figura 2** mostra a incidência de casos de tuberculose em cada 100 mil habitantes no mundo em 2008.

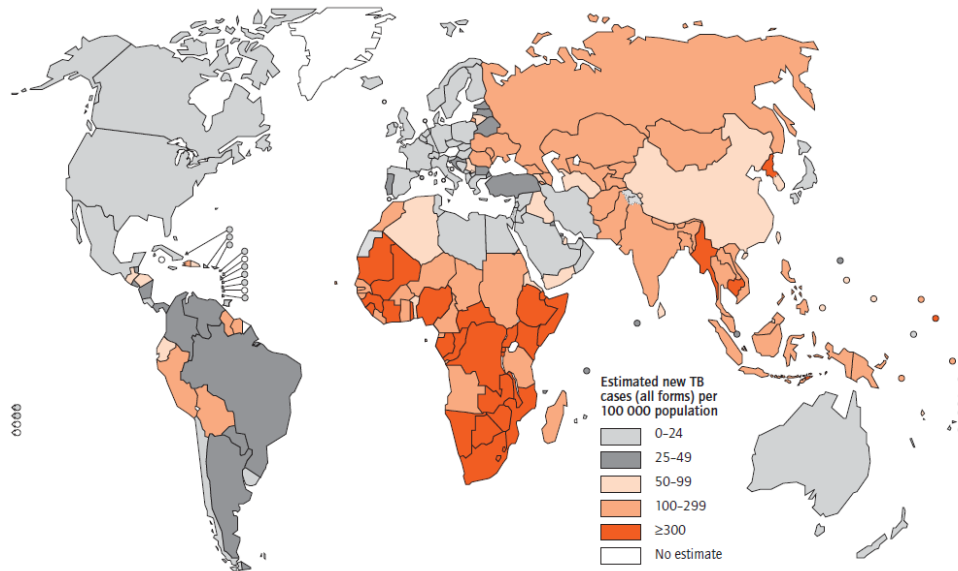


Figura 2. Incidência estimada de casos de tuberculose a cada 100 mil pessoas (2008). Fonte: OMS, 2009b.

Apesar da existência de antibióticos e da vacina BCG, a *Mtb* é o agente que causa mais mortes de origem infecciosa no mundo. O tratamento utilizado atualmente tem 6 meses de duração e devido a isto, tem como consequência a dificuldade de implementação e a aceitação dos pacientes (OMS, 2009a). A aparição de novos bacilos resistentes emergencia a necessidade do desenvolvimento de novos medicamentos.

A *Mtb* apresenta mecanismos de sobrevivência muito complexos que lhe permitem enfrentar o ambiente hostil que encontra dentro dos macrófagos humanos (Brown *et al.*, 1969; Sturgill-Koszycki *et al.*, 1996), sendo capaz de ativar dentro deles sinais específicos capazes de alterar sua função.

A análise do genoma da *Mtb* revelou a presença da proteína PtpA, tirosina fosfatase A de baixa massa molecular (Cole *et al.*, 1998) (**Figura 3**), que está sendo considerada um alvo promissor para o desenvolvimento de novos medicamentos contra TB. Provou-se que a inativação da PtpA atenua o crescimento da *Mtb* em macrófagos humanos; foi demonstrado que a PtpA consegue ultrapassar a membrana celular do hospedeiro, onde interage com o substrato VPS33B inibindo

fagossomos de fusão, processo que está associado ao combate do organismo às infecções por Mtb (Bach *et al.*, 2008).

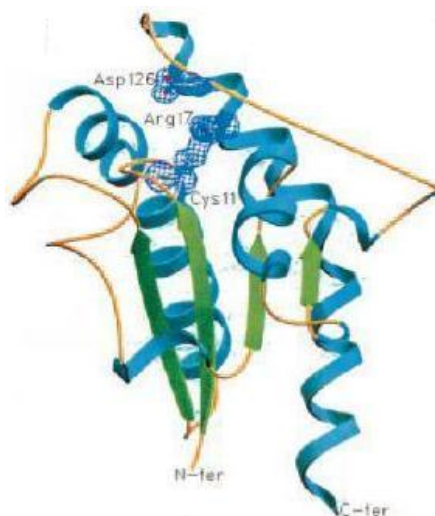


Figura 3. Estrutura tridimensional da proteína tirosina-fosfatase A (PtpA) do *Mycobacterium tuberculosis*. Fonte: Madhurantakam *et al.*, 2005.

Recentes trabalhos publicados por nosso grupo de pesquisas demonstraram a inibição da PtpA *in vitro* por chalconas sintéticas, e também que a inibição da PtpA inibe o crescimento do Mtb em macrófagos humanos (Chiaradia *et al.*, 2008; Mascarello *et al.*, 2010).

Devido à importância da PtpA na virulência do *M. tuberculosis*, esta enzima é um alvo promissor para intervenções terapêuticas contra a tuberculose.

2.3 Chalconas e tuberculose

Inúmeras chalconas têm exibido atividade biológica contra várias doenças negligenciadas, porém, poucos estudos foram realizados com chalconas como agentes anti-tuberculose. Um dos poucos trabalhos publicados nesta área foi realizado por Lin e col. (2002), o qual descreve a ação de chalconas e análogos a estas frente à cepa de *M. tuberculosis* H37Rv. Os resultados dessa pesquisa revelaram que as chalconas com um grupo 2-hidroxi no anel A e um átomo de iodo ou cloro na posição 3 do anel B (**Figura 4**) mostraram ótima atividade inibitória do crescimento bacteriano (90 e 92% de inibição, respectivamente) (Lin *et al.*, 2002).

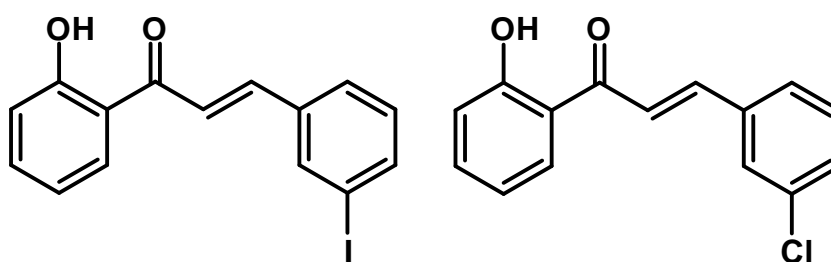


Figura 4. Estrutura das chalconas ativas frente à cepa de *M. tuberculosis* H37Rv.

Os trabalhos publicados pelo nosso grupo de pesquisas nesta área apontaram que, dentre 38 chalconas sintéticas avaliadas, cinco mostraram ser inibidores competitivos da PtpA de Mtb: **5i** ($IC_{50} = 53,7 \pm 1,3 \mu\text{mol.L}^{-1}$); **4d** ($IC_{50} = 50,2 \pm 2,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$); **4** ($IC_{50} = 39,5 \pm 1,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$); **5j** ($IC_{50} = 23,1 \pm 1,6 \mu\text{mol.L}^{-1}$); **5** ($IC_{50} = 8,4 \pm 0,9 \mu\text{mol.L}^{-1}$). As estruturas moleculares são apresentadas na **Figura 5** (Chiaradia *et al*, 2008; Mascarello *et al.*, 2010).

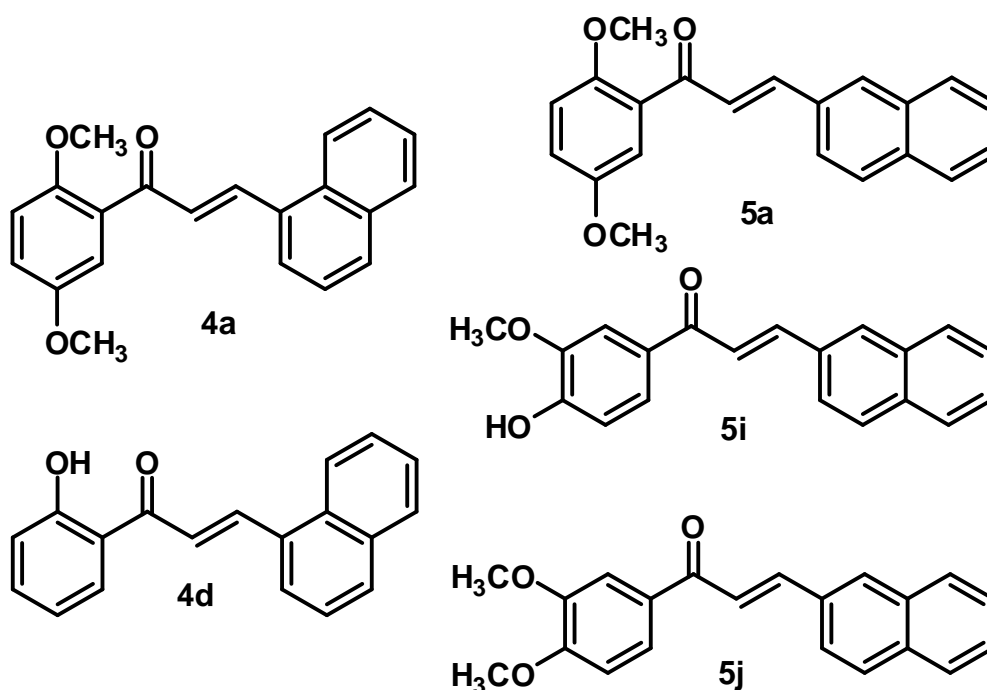


Figura 5. Estruturas das chalconas ativas frente à PtpA de Mtb.

Um critério importante de coleções de compostos para aplicação em química biológica e pesquisa em química medicinal é sua relevância para a natureza (Koch *et al.*, 2004). O esqueleto estrutural de produtos naturais pode ser reconhecido para ligação a proteínas e, portanto, tem relevância biológica. Embora poucos produtos naturais tenham sido identificados como inibidores de proteínas tirosina fosfatases, a

principal estratégia que tem sido adotada nas pesquisas é o desenho de pequenas moléculas baseadas em análogos não-hidrolizáveis de fosfotirosinas (Koch *et al.*, 2005).

A triagem de inibidores que se liguem seletivamente às enzimas de interesse torna-se importante do ponto de vista farmacêutico. Assim, as chalconas aparecem como uma nova classe de compostos na busca por novos inibidores de proteínas tirosina fosfatases de *M. tuberculosis*.

3 Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

Este trabalho tem como objetivo geral a síntese e caracterização de duas séries de chalconas e posterior avaliação de sua atividade biológica frente à enzima PtpA de *Mycobacterium tuberculosis*.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar e caracterizar chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona (**Série J**) a partir de sua condensação de Claisen-Schmidt com diferentes aldeídos, utilizando hidróxido de potássio como base e metanol como solvente.
- ✓ Sintetizar e caracterizar chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (**Série D**) a partir de sua condensação de Claisen-Schmidt com diferentes acetofenonas, também utilizando hidróxido de potássio como base e metanol como solvente.
- ✓ Avaliar a atividade das estruturas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona e do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído frente à enzima PtpA de *Mycobacterium tuberculosis*.
- ✓ Verificar a relação entre estrutura química e atividade biológica das duas séries.

4 Metodologia

4.1. Síntese dos compostos

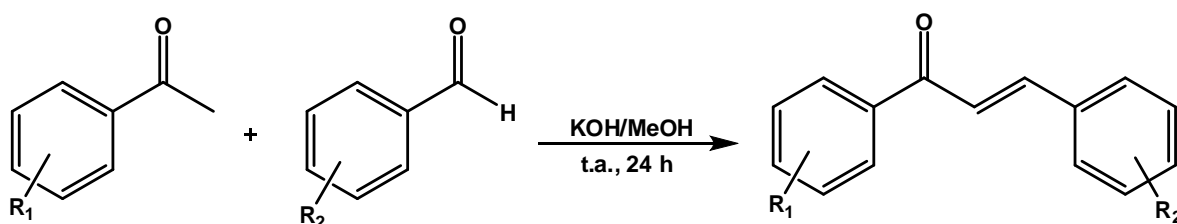
4.1.1 Materiais e métodos

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de alumínio com sílica gel 60 GF 254 da Merck, visualização em luz ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm) e revelação com pulverização de anisaldeído sulfúrico (0,5 mL anisaldeído, 5 mL ácido sulfúrico concentrado, 10 mL ácido acético glacial e metanol q.s.p. 100 mL).

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) foram realizados em equipamento VARIAN OXFORD AS-400, tendo como referência tetrametilsilano (TMS). Para as amostras analisadas utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido deuterado (DMSO) como solventes. Os espectros de absorção no infravermelho (IV) foram obtidos através de um espectrômetro Abb Bomen FTLA 2000, utilizando pastilha de KBr. O ponto de fusão não corrigido dos compostos foi determinado em aparelho digital de ponto de fusão, MGAPF-301, Microquímica Equipamento Ltda. Os reagentes e solventes utilizados nesta pesquisa foram das marcas comerciais: Aldrich, Merck, Sigma, Fluka e Vetec.

4.1.2 Síntese de chalconas

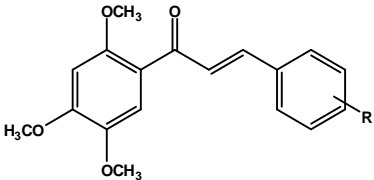
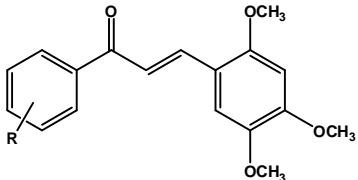
As chalconas foram sintetizadas utilizando a metodologia de condensação de Claisen-Schmidt entre aldeídos e acetofenonas descrita por Vogel (1989) (**Esquema 2**).



Esquema 2. Reação de condensação de Claisen-Schmidt para a síntese das chalconas.

Os substituintes dos anéis aromáticos escolhidos para a síntese das chalconas são os mesmos para as duas séries, conforme a **Tabela 1**, para estudo da relação estrutura-atividade das séries.

Tabela 1. Chalconas sintetizadas e seus substituintes.

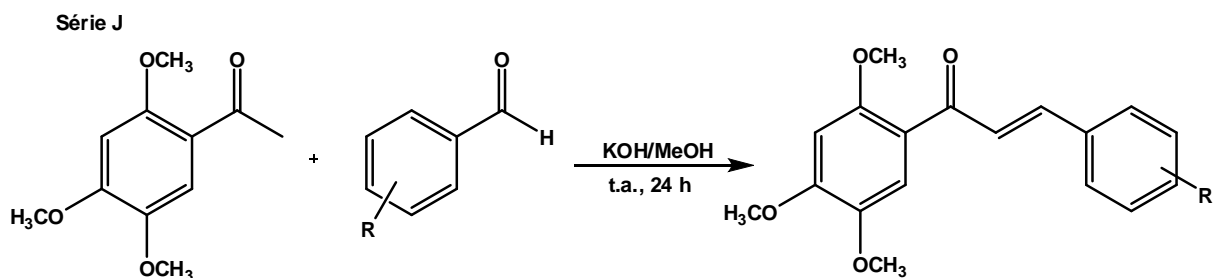
Chalcona	R	Chalcona	R
			
1*	2-naftil	1**	2-naftil
2	4-OCH ₃	2	4-OCH ₃
3	4-CH ₃	3	4-CH ₃
4	H	4	H
5	2,5-(OCH ₃) ₂	5	2,5-(OCH ₃) ₂
6	4-F	6	4-F
7	4-NO ₂	7	4-NO ₂
8	3-NO ₂	8	3-NO ₂
9	4-Br	9	4-Br
10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	10	3,4,5-(OCH ₃) ₃
11	3,4-(OCH ₃) ₂	11	3,4-(OCH ₃) ₂
12	4-CF ₃	12	4-CF ₃
13	3-CN	13	3-CN

*Apresenta a estrutura no anel B. **Apresenta a estrutura no anel A.

4.1.2.1 Preparação das chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona

As 13 reações (**Série J**) foram realizadas utilizando balão de reação de 50 mL de uma boca. Adicionou-se a acetofenona (2,4,5-trimetoxiacetofenona) (0,21 g; 1 mmol), um equivalente do aldeído correspondente (1 mmol) e metanol (20 mL). Os reagentes foram dissolvidos sob agitação magnética e em seguida adicionou-se lentamente hidróxido de potássio (KOH 50% v/v, 10 a 30 gotas). A reação foi mantida sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Após esse período, adicionou-se água destilada à reação, que provocou a precipitação dos compostos, com posterior adição de ácido clorídrico 10%, para neutralização do meio. O precipitado foi filtrado em funil de Büchner e a sua pureza foi verificada por

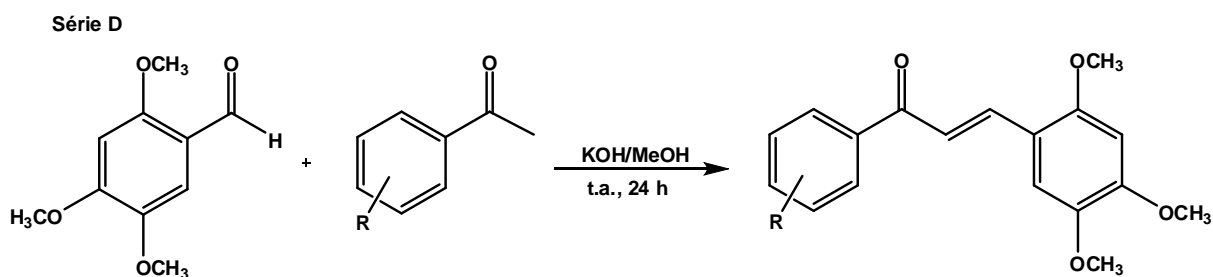
CCD. As chalconas foram recristalizadas em diclorometano/hexano, metanol ou etanol a quente (**Esquema 3**).



Esquema 3. Síntese das chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona.

4.1.2.2 Preparação das chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído

A síntese das chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (**Série D**) seguiu a mesma metodologia descrita no item anterior, porém, com as massas devidamente corrigidas do aldeído (2,4,5-trimetoxibenzaldeído) (0,19 g; 1 mmol) e da acetofenona correspondente (1 mmol) (**Esquema 4**).



Esquema 4. Síntese das chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído.

4.2 Atividade biológica

4.2.1 PtpA: expressão e purificação

A expressão e purificação da PtpA de Mtb foi realizada pela aluna Priscila Grazielle Alves Martins, no Centro de Biologia Molecular Estrutural, Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina, sob coordenação do Prof. Dr. Hernán Terenzi, utilizando metodologia já descrita na literatura (Grundner *et al.*, 2007).

4.2.2 Avaliação da atividade residual da PtpA

Os testes de avaliação da inibição enzimática pelas chalconas foram feitos de acordo com metodologia já descrita (Grundner *et al.*, 2007), também no Centro de Biologia Molecular Estrutural, Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina, sob coordenação do Prof. Dr. Hernán Terenzi.

As chalconas foram ensaiadas frente à enzima PtpA, em placas de ELISA de 96 poços, utilizando uma única concentração ($25 \mu\text{mol.L}^{-1}$, diluídas em DMSO e água MilliQ). Adicionou-se 200 mmol.L^{-1} de tampão imidazol pH 7, 400 mmol.L^{-1} de substrato *p*-nitrofenilfosfato (pNPP) e completou-se o volume com água MilliQ para $198 \mu\text{L}$. Adicionaram-se então $2 \mu\text{L}$ de PtpA recombinante $1,0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ (em tampão Tris 25 mmol.L^{-1} pH 8 e DTT 40 mmol.L^{-1}) para iniciar a reação. As absorbâncias foram obtidas a cada 1 min, durante 10 min, em leitor de placas de ELISA (TECAN), a 410 nm. Controles negativos foram feitos na ausência de enzima, e controles positivos na presença de enzima com DMSO 100% no lugar do composto. A porcentagem de atividade da enzima foi calculada pela média de 2 experimentos feitos em triplicata.

5 Resultados e Discussão

5.1 Sínteses

Sintetizaram-se todas as chalconas conforme citado anteriormente na Metodologia. Para todos os compostos foram realizadas análises de RMN de ^1H e de ^{13}C , espectroscopia no IV e leitura do ponto de fusão.

5.1.1 Síntese das chalconas (J1 a J13), derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona (Série J)

Fizeram-se 13 reações a partir da reação de condensação aldólica entre a 2,4,5-trimetoxiacetofenona e diferentes aldeídos, onde foram obtidas 12 chalconas, sendo cinco compostos já descritos na literatura (**J2**, **J4**, **J7**, **J10** e **J11**) e sete inéditos (**J1**, **J3**, **J5**, **J6**, **J9**, **J12** e **J13**).

Não foi obtida a chalcona **J8**; o grupo nitro em posição 3 no aldeído diminui a densidade eletrônica do anel aromático, deixando o carbono da carbonila mais suscetível ao ataque nucleofílico, facilitando a reação; porém, isso não ocorreu, possivelmente devido a algum impedimento estérico do grupo nitro, que dificulta o ataque nucleofílico na carbonila. A chalcona **J7** também apresenta o grupo nitro, mas na posição 4, e assim o composto pôde ser obtido.

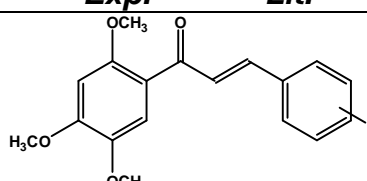
Os rendimentos e pontos de fusão das chalconas sintetizadas estão listados na **Tabela 2**.

A síntese e caracterização do composto **J1** foi descrita na Tese de Doutorado de Louise Domeneghini Chiaradia (Chiaradia, 2010).

Observou-se que os menores rendimentos foram os das chalconas **J9** e **J11**, 45% e 37% respectivamente. O composto **J11**, possui grupos metoxila ($-\text{OCH}_3$) nas posições 3 e 4 do anel B, grupos doadores de elétrons para o anel aromático, que estabilizam o carbono da carbonila do aldeído, deixando-o menos suscetível ao ataque nucleofílico; entretanto, na formação das chalconas **J2**, **J3**, **J5** e **J10**, que também possuem grupos que aumentam a densidade eletrônica do anel aromático, esse efeito não foi observado, com altos rendimentos obtidos. Já para a chalcona **J9** o rendimento médio foi devido a perdas durante o processo. A maioria das

chalconas necessitaram de recristalização (com diclometano/hexano), levando a uma diminuição, por vezes considerável, do rendimento do produto final. As demais chalconas apresentaram rendimentos variando entre 72 a 95%.

Tabela 2. Rendimentos e pontos de fusão das chalconas da **Série J**.

<i>Chalcona</i>	<i>R</i>	<i>Rend. (%)</i>	<i>p.f. (°C) Exp.</i>	<i>p.f. (°C) Lit.</i>	<i>Referência/CHEMCATS</i>
					
J1***	2-naftil	72	133-134	*	-
J2	4-OCH ₃	73	124-125	123-124	Bargellini <i>et al.</i> , 1911
J3	4-CH ₃	74	109-110	*	-
J4	H	72	113-114	115-116	Kumari <i>et al.</i> , 1966
J5	2,5-(OCH ₃) ₂	86	126-127	*	-
J6	4-F	77	98-99	*	-
J7	4-NO ₂	82	181-182	**	21222-12-8
J8	3-NO ₂	-	-	**	942936-60-9
J9	4-Br	52	109-110	*	-
J10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	95	135-137	**	160421-58-9
J11	3,4-(OCH ₃) ₂	37	155-156	155	Bargellini <i>et al.</i> , 1911
J12	4-CF ₃	72	73-74	*	-
J13	3-CN	73	167-169	*	-

CHEMCATS = número de registro no CAS, obtido através do SciFinder. * Composto inédito. **p.f. não encontrado na literatura. ***Apresenta a estrutura no anel B.

Os pontos de fusão obtidos experimentalmente foram iguais aos encontrados na literatura para os compostos **J2**, **J4** e **J11**. Para as outras duas chalconas não inéditas (**J7** e **J10**) não foram encontrados os pontos de fusão na literatura. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C e de espectroscopia no IV de todas as chalconas são apresentados no **Anexo B**, com exceção da chalcona inédita (**J4**), para a qual discutiremos a seguir os dados obtidos nas análises.

No espectro de RMN de ¹H da chalcona **J4** (**Figura 6**) foi observado o deslocamento do hidrogênio 3' em 6,55 ppm na forma de um singlete e do hidrogênio 6' em 7,40 ppm também na forma de um singlete. Os hidrogênios 2 e 6 aparecem em 7,62 ppm na forma de multipletos, assim como os hidrogênios 3 e 5 que aparecem em 7,39 ppm. O hidrogênio 4 aparece em 7,39 ppm na forma de multipletos. Os hidrogênios das metoxilas encontram-se na forma de singletos em

3,90, 3,94 e 3,97 ppm. Os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios α e β encontram-se como dois dubletos acoplados entre si em 7,64 e 7,72 ppm, respectivamente, com $J = 16,0$ Hz, evidenciando a configuração *E* da molécula. Em 0,00 ppm observa-se o sinal característico do tetrametilsilano (TMS) e em 7,26 ppm o deslocamento referente ao CDCl_3 .

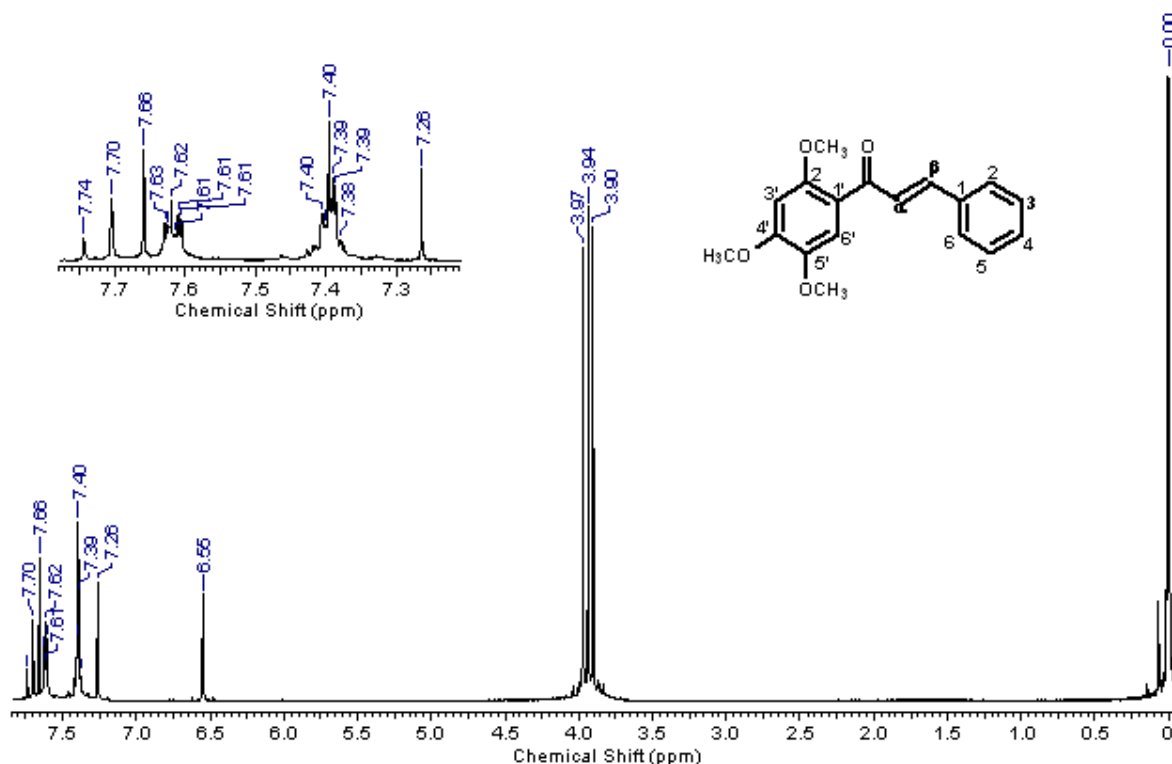


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **J4**.

No espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **J4** (**Figura 7**), o deslocamento químico do carbono da carbonila aparece em 189,87 ppm, os carbonos 1' e 6' aparecem em 120,44 e 113,13 ppm, respectivamente, e os carbonos 2', 4' e 5' em 153,61, 154,86 e 143,39 ppm, respectivamente. O carbono 3' aparece em 97,01 ppm. Os carbonos olefínicos α e β encontram-se em 127,17 e 141,87 ppm, os carbonos 1 e 4 em 135,55 e 129,94 ppm, respectivamente, enquanto os carbonos 2 e 6 estão em 128,30 ppm. Os sinais dos carbonos 3 e 5 aparecem em 128,83 ppm e os três carbonos das metoxilas encontra-se em 56,12, 56,30 e 56,79 ppm. Em δ 0,00 observa-se o sinal característico do TMS e em $\delta \sim 77$ o sinal característico do CDCl_3 .

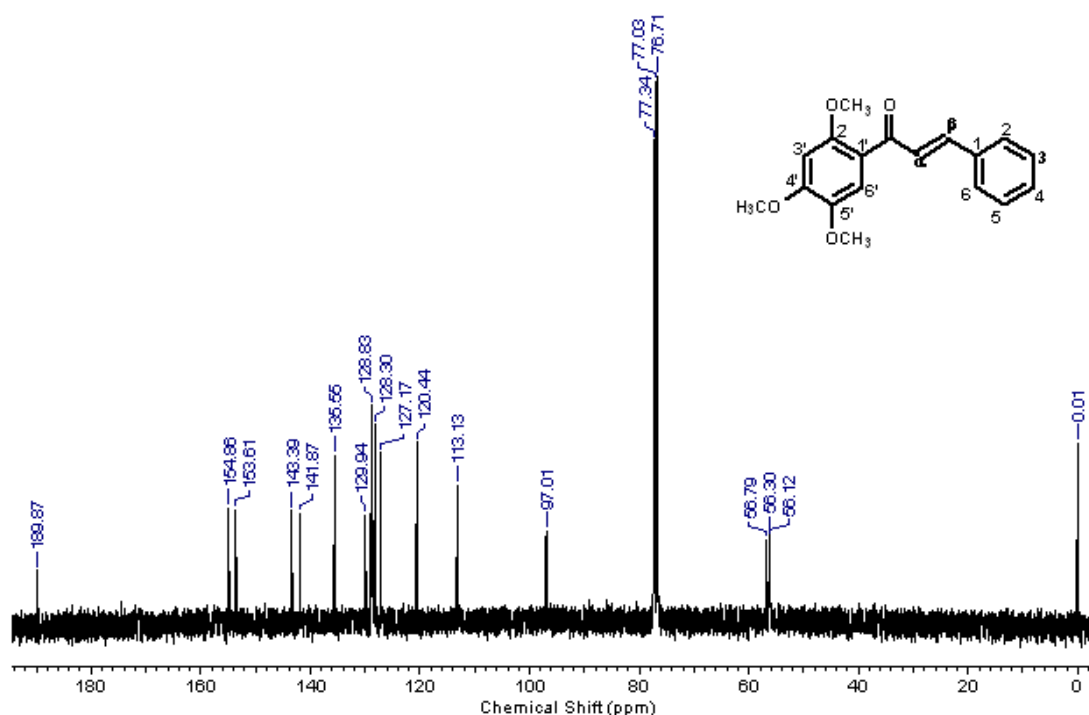


Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J4**.

No espectro de absorção no IV (**Figura 8**), os sinais mais característicos da chalcona **J4** são as da cetona conjugada ($\text{C}=\text{O}$) em 1645 cm^{-1} , da dupla ligação ($\text{C}=\text{C}$) em 1582 cm^{-1} , da ligação $\text{C}-\text{O}$ em 1265 e 1031 cm^{-1} , da ligação $\text{C}-\text{H}$ das metoxilas em 2992 , 2939 , 2831 cm^{-1} e dos anéis aromáticos em 3100 , 3078 , 3056 , 3020 , 1517 , 1475 , 1412 , 1356 , 1276 , 1217 , 1148 , 977 , 857 , 766 e 562 cm^{-1} (Ar).

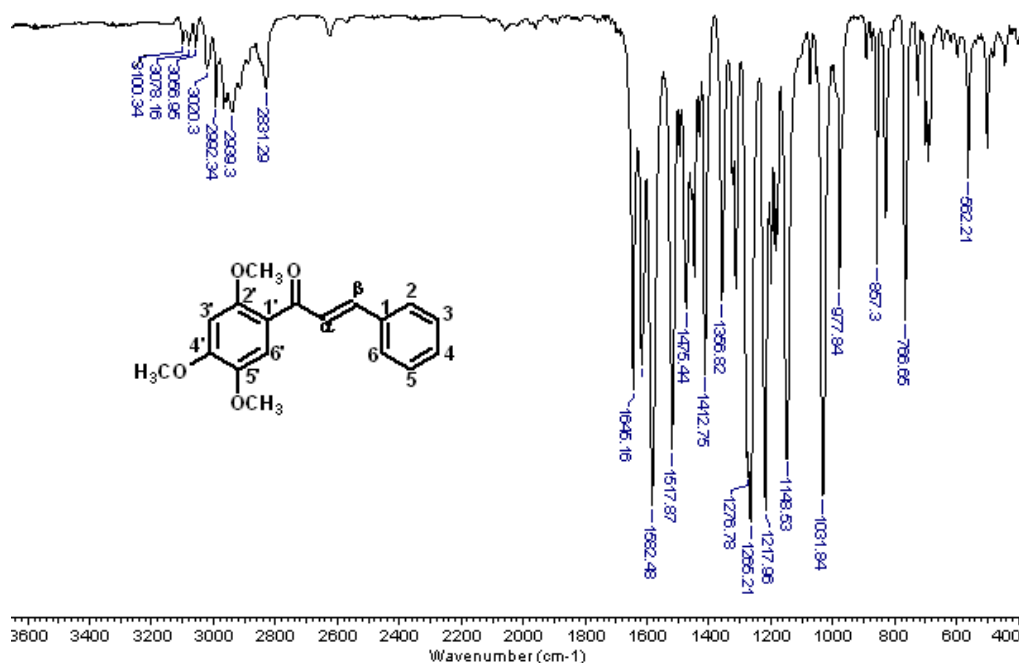


Figura 8. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **J4**.

Todos esses dados confirmam a estrutura da chalcona **J4**.

Para as demais chalconas desta série, a correta atribuição dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C e as absorções no IV estão apresentados nas tabelas do **Anexo A**.

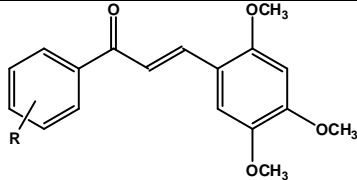
5.1.2 Síntese das chalconas (D1 a D13), derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (Série D)

Realizaram-se treze reações a partir da reação de condensação aldólica entre a 2,4,5-trimetoxibenzaldeído e diferentes acetofenonas, onde foram obtidos 12 compostos puros e um impuro, resultando em 8 compostos já descritos na literatura (**D1, D4, D6, D7, D9, D10, D11 e D12**) e cinco inéditos (**D2, D3, D5, D8 e D13**).

Os rendimentos e pontos de fusão das chalconas obtidas estão listados na **Tabela 3**.

A síntese e caracterização do composto **D1** foi descrita na Tese de Doutorado de Louise Domeneghini Chiaradia (Chiaradia, 2010) e a chalcona **D10** descrita no trabalho de conclusão de curso de Marlon Norberto Sechini Cordeiro (Cordeiro, 2010).

Tabela 3. Rendimentos e pontos de fusão das chalconas da **Série D**.

<i>Chalcona</i>	<i>R</i>	<i>Rend. (%)</i>	<i>p.f. (°C) Exp.</i>	<i>p.f. (°C) Lit.</i>	<i>Referência/CHEMCATS</i>
					
D1***	2-naftil	90	114-115	**	41343-22-0
D2	4-OCH ₃	82	103-104	*	1003377-77-2
D3	4-CH ₃	69	119-121	*	903341-42-4
D4	H	93	90-91	113-114	Reigrodski <i>et al.</i> , 1910
D5	2,5-(OCH ₃) ₂	61	102-103	*	1001894-08-1
D6	4-F	82	76-77	**	935537-19-2
D7	4-NO ₂	89	184-185	**	934366-93-5
D8	3-NO ₂	83	161-162	*	790274-89-4
D9	4-Br	79	154-155	148	Patil, <i>et al.</i> , 2007
D10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	72	134-135	**	41343-31-1
D11	3,4-(OCH ₃) ₂	80	142-143	143-145	Rao, <i>et al.</i> , 1946
D12	4-CF ₃	82	148-150	**	478688-38-9
D13	3-CN	93 [#]	-	*	-

CHEMCATS = número de registro no CAS, obtido através do SciFinder. *Composto inédito. **p.f. não encontrado na literatura. [#]Rendimento bruto, composto impuro. ***Apresenta a estrutura no anel A.

Podemos observar que os menores rendimentos foram os das chalconas **D3** e **D5**, 69% e 61% respectivamente, porém, estes podem ser considerados bons rendimentos. As demais chalconas apresentaram rendimentos entre 72 e 93%.

A chalcona **D13** foi recristalizada diversas vezes, primeiramente em diclorometano/hexano e depois em etanol à quente, na tentativa de purificação. As placas CCD mostravam apenas uma mancha após as recristalizações, caracterizando a chalcona **D13** como pura, porém, mesmo após as recristalizações, o composto permaneceu impuro, pela análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C e IV. Devido a isso, seus espectros não são apresentados neste trabalho.

O ponto de fusão obtido experimentalmente apresentou valor menor em quando comparado ao dado obtido da literatura no caso do composto **D4** e maior no caso da chalcona **D9**, possivelmente por não estarem corrigidos, e a chalcona **D11** apresentou ponto de fusão igual ao encontrado na literatura. Para as outras cinco chalconas não inéditas (**D1**, **D6**, **D7**, **D10** e **D12**) não foram encontrados os pontos de fusão na literatura.

Para os pontos de fusão das estruturas **D4** e **D9** observou-se divergência de 23 e 6°C com a literatura, respectivamente, entretanto, os dados espectrais (**Tabelas 13, 14, 17 e 18**) confirmam a estrutura e a pureza dos dois compostos. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de todas as chalconas são apresentados no **Anexo B**, com exceção da chalcona não substituída desta série (**D4**), sobre a qual discutiremos a seguir os dados obtidos nas análises e da chalcona **D13**, devido ao motivo exposto anteriormente.

No espectro de RMN de ^1H do composto **D4** (**Figura 9**) observa-se o deslocamento químico do hidrogênio 3 em 6,54 ppm e do 6 em 7,15 ppm ambos na forma de um singleto. O hidrogênio 4' aparece em 7,58 ppm na forma de um multipletto. Os deslocamentos dos hidrogênios 3' e 5', e 2' e 6', encontram-se na forma de dubleto, respectivamente em 7,52 e 8,02 ppm, ambos com uma constante de acoplamento igual a 8,0 Hz. Um dos hidrogênios das metoxilas encontra-se em 3,92 ppm e os outros dois através da integral pode-se observar que estão em 3,97 ppm, na forma de singletos. Os deslocamentos referentes aos hidrogênios α e β encontram-se como dois dubletos acoplados entre si em 7,48 e 8,11 ppm, respectivamente, com $J = 16,0$ Hz, evidenciando a configuração *E* da molécula.

Ainda nesse espectro de RMN de ^1H pode-se observar em 0,00 ppm o sinal característico do TMS e em 7,28 ppm o deslocamento referente ao CDCl_3 .

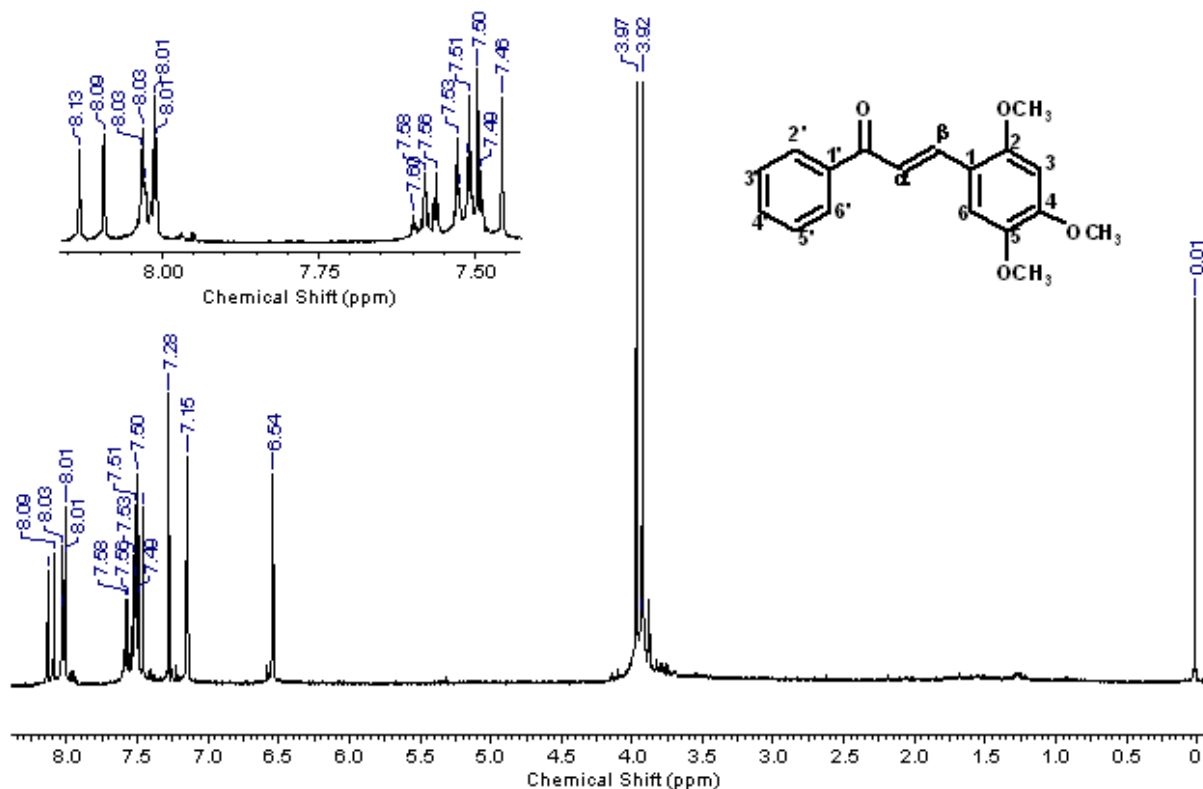


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **D4**.

No espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **D4** (**Figura 10**), o deslocamento químico do carbono da carbonila aparece em 191,43 ppm, os carbonos 1, 3 e 6 aparecem em 111,61, 97,04 e 115,71 ppm, respectivamente, e os carbonos 2' e 6' aparecem juntos em 128,61 ppm, assim com os carbonos 3' e 5' em 128,71 ppm. Os carbonos olefínicos α e β encontram-se em 120,56 e 140,43 ppm, os carbonos 1', 4', 2, 4 e 5 estão em 143,49, 132,55, 139,06, 154,89 e 152,73 ppm. Os deslocamentos dos três carbonos das metoxilas encontra-se em 56,31, 56,60 e 56,78 ppm. Observa-se também em ~ 77 o sinal característico do CDCl_3 .

O espectro de absorção no IV da chalcona **D4** não foi obtido, porém poderíamos esperar as absorções mais características como a da cetona conjugada ($\text{C}=\text{O}$) em 1645 cm^{-1} , da dupla ligação ($\text{C}=\text{C}$) aproximadamente em 1580 cm^{-1} , da ligação $\text{C}-\text{O}$ em 1260 e 1030 cm^{-1} , e dos anéis aromáticos em 2980 a 2990 cm^{-1} . Porém, os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C confirmam a estrutura da chalcona **D4**.

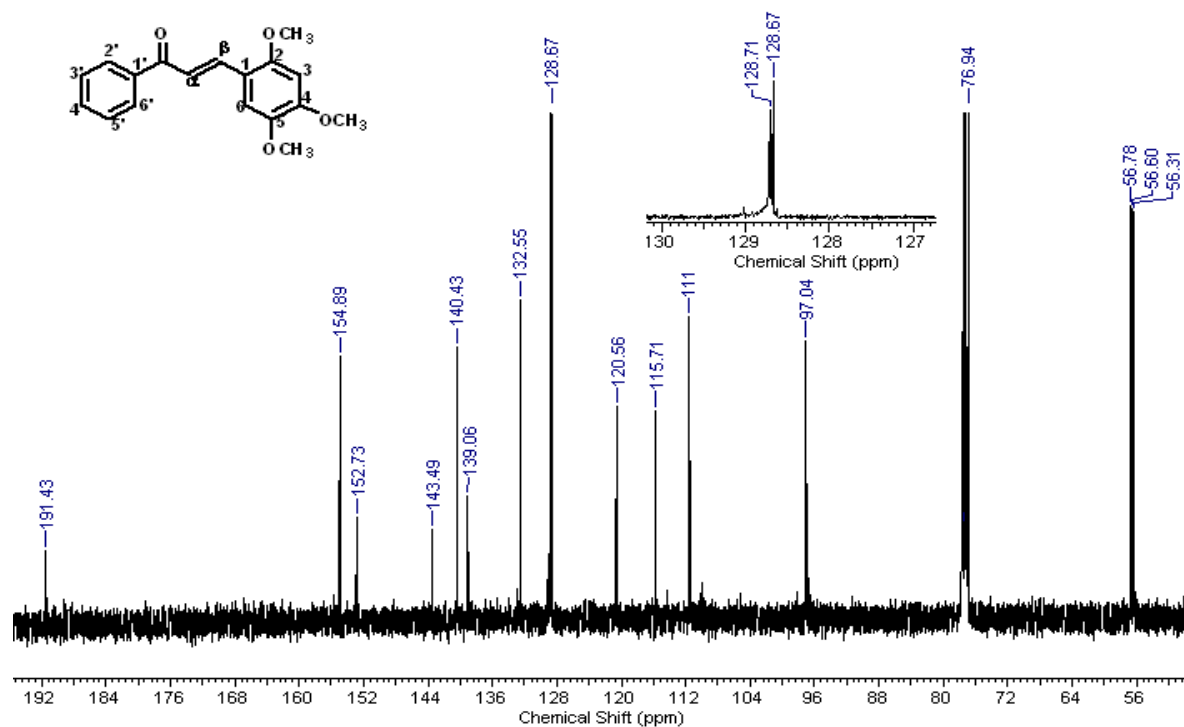


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **D4**.

Para as demais chalconas desta série, a correta atribuição dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C estão apresentados nas tabelas do **Anexo A**.

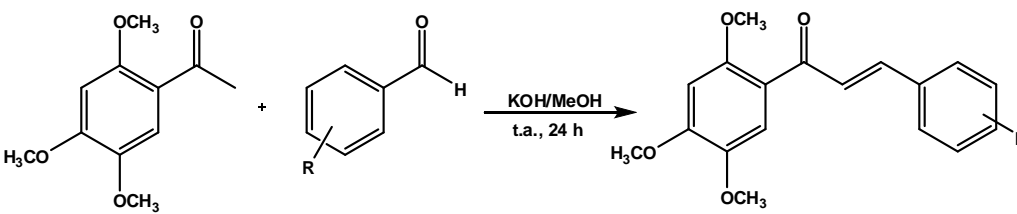
5.2 Triagem biológica

Os ensaios de avaliação da atividade inibitória das chalconas frente à enzima PtpA de *Mycobacterium tuberculosis* foram realizados com os compostos em uma única concentração ($25 \mu\text{mol.L}^{-1}$). Os resultados estão apresentados nas **Tabelas 4 (Série J)** e **5 (Série D)**.

Na **Tabela 4** observa-se que os compostos **J4**, **J7** e **J13** mostraram maior inibição da atividade da PtpA. O composto **J4** (sem substituinte no anel A) apresentou decréscimo na atividade da enzima em torno de 30-31%. Os resultados obtidos para as chalconas **J7** e **J13** indicam que grupos que diminuem a densidade eletrônica (nitro e ciano, respectivamente) no anel B afetam a atividade da enzima, provocando um decréscimo da atividade em aproximadamente 30% para ambas. Entretanto, esse efeito foi menor (**J6** e **J12**) ou não observado (**J9**) para as demais chalconas que apresentam substituintes que diminuem a densidade eletrônica no anel B. As 2,4,5-trimetoxichalconas com substituintes que aumentam a densidade

eletrônica no anel B, como 2-naftil (**J1**), grupos metoxila (**J2**, **J5**, **J10** e **J11**) e grupos metila (**J3**) inibiram de maneira não significativa ou não inibiram a atividade da PtpA. Isso pode ser devido a algum efeito de impedimento estérico de alguns substituintes no sítio catalítico da enzima, impedindo a interação dos compostos com os resíduos de aminoácidos contidos nele.

Tabela 4. Percentual de inibição da enzima PtpA de *M. tuberculosis* na presença de $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ das chalconas da **Série J**.

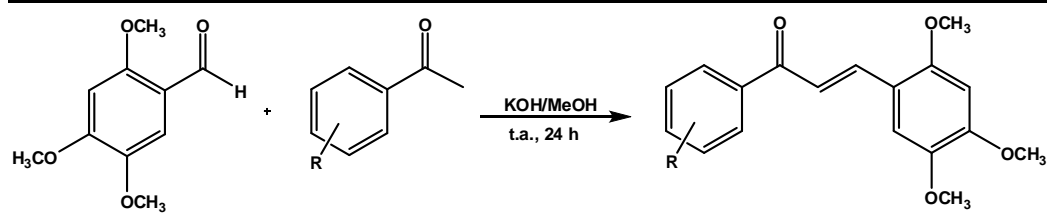


Chalcona	Anel B	Inibição da PtpA (% ± erro)
J1**	2-naftil	0
J2	4-OCH ₃	20,8 ± 1,1
J3	4-CH ₃	21,3 ± 1,9
J4	H	30,9 ± 5,3
J5	2,5-(OCH ₃) ₂	24,6 ± 3,0
J6	4-F	24,1 ± 6,3
J7	4-NO ₂	29,8 ± 5,6
J8*	3-NO ₂	-
J9	4-Br	0
J10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	0
J11	3,4-(OCH ₃) ₂	25,7 ± 0,9
J12	4-CF ₃	22,1 ± 3,6
J13	3-CN	30,1 ± 3,9

*Chalcona não obtida. **Apresenta a estrutura no anel B.

Observando a **Tabela 5**, nota-se que as chalconas com os mesmos substituintes, porém agora no anel A, apresentaram atividades contrárias às observadas na **Tabela 4**.

Tabela 5. Percentual de inibição da enzima PtpA de *M. tuberculosis* na presença de 25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ das chalconas da **Série D**.



Chalcona	Anel A	Inibição da PtpA (% \pm erro)
D1*	2-naftil	39,63 \pm 1,37
D2	4-OCH ₃	11,81 \pm 4,74
D3	4-CH ₃	nd
D4	H	17,08 \pm 2,71
D5	2,5-(OCH ₃) ₂	3,28 \pm 0,02
D6	4-F	nd
D7	4-NO ₂	0
D8	3-NO ₂	12,32 \pm 1,96
D9	4-Br	7,59 \pm 3,44
D10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	26,41 \pm 5,03
D11	3,4-(OCH ₃) ₂	14,22 \pm 2,02
D12	4-CF ₃	nd
D13	3-CN	nd

nd: Não determinado. *Apresenta a estrutura no anel A.

Os compostos com substituintes H, 4-NO₂ e 3-CN (respectivamente os que apresentaram maior atividade na **Série J**, **J4**, **J7** e **J13**) na **Série D** obtiveram menor atividade (**D4** e **D7**). A atividade do composto **D13** não foi determinada, pois encontrava-se impuro. Não foram determinadas as atividades das chalconas **D3**, **D6** e **D12**. A chalcona **D1**, tendo o grupo 2-naftil como anel A, foi o composto que apresentou a melhor atividade inibitória da PtpA, seguida por **D10**. Os demais compostos não apresentaram atividade inibitória significativa.

Os grupos metoxilas se mostraram de certa forma importantes quando ligados ao anel B (chalconas **J2**, **J5** e **J11**) (**Tabela 4**), porém, quando ligados ao anel A (compostos **D2**, **D5** e **D11**) (**Tabela 5**) diminuíram a atividade da enzima na maioria das vezes (exceto para **D10**).

Pela análise da relação estrutura-atividade das moléculas estudadas, pode-se observar que as chalconas 2,4,5-trimetoxiladas não apresentaram resultados relevantes na inibição da atividade da PtpA, e os compostos que apresentaram os melhores resultados não seguem um padrão de substituição dos anéis. Porém, comparando as duas séries, percebe-se que as chalconas da **Série J** apresentaram, de maneira geral, os melhores valores de inibição da atividade da PtpA.

6 Conclusões

A presente pesquisa, que envolveu síntese e avaliação biológica, permite as seguintes conclusões:

- Foram obtidas duas séries de chalconas com substituintes análogos, com bons rendimentos, a partir de reações de condensação de Claisen-Schmidt entre aldeídos e acetofenonas:

- 12 chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona (**Série J**), sendo 7 inéditas (**J1, J3, J5, J6, J9, J12 e J13**);

- 13 chalconas derivadas do 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (**Série D**), sendo cinco inéditos (**D2, D3, D5, D8 e D13**).

Totalizando assim 25 compostos e destes 12 inéditos. Todas as estruturas foram confirmadas pelas análises dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C e de espectroscopia no IV.

- Na avaliação da atividade frente à enzima tirosina fosfatase A (PtpA) de *Mycobacterium tuberculosis*, as chalconas da **Série J** apresentaram, de maneira geral, melhores atividades que as análogas da **Série D**. Dentre as chalconas que apresentaram melhor atividade inibitória da PtpA, merecem destaque os valores de inibição da proteína de $30,88 \pm 5,36 \%$ (**J4**), $29,82 \pm 5,6 \%$ (**J7**), $30,12 \pm 3,98 \%$ (**J13**), $39,63 \pm 3,98$ (**D1**) e $26,41 \pm 5,03 \%$ (**D10**), respectivamente, sem substituintes, com o grupo 4-NO₂ e com 3-CN no anel B, com o grupo 2-naftil ligado ao carbono da carbonila e com o grupo 3,4,5-(OCH₃)₃ no anel A.

7 Referências Bibliográficas

AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. Química Medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Química Nova**, 25(1), 39-44, 2002.

ASHBY, E. C.; ARGYROPOULOS, J. N. Single Electron Transfer in Aldol Condensation. The Reaction of Lithium Enolates with Diaryl Ketones. **Journal of Organic Chemistry**, 51, 472-476, 1986.

ÁVILA H. P.; *et al.* Structure–activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16, 9790–9794, 2008.

BACH, H.; *et al.* Mycobacterium tuberculosis Virulence Is Mediated by PtpA Dephosphorylation of Human Vacuolar Protein Sorting 33B, **Cell Host & Microbe**, 3, 316–322, 2008.

BARGELLINI, G.; AVRUTIN, G. Derivatives of Hydroxyhydroquinone. **Gazzetta Chimica Italiana**, 40(II), 342-6, 347-53, 1991.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; ARAÚJO JR., J. X. O Uso de Matérias-Primas Vegetais para a Síntese de Fármacos. In: SIMÕES, C. M. O.; *et al.* (orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001. Cap. 8. p. 127-138.

BOECK, P.; *et al.* Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxylone-derived chalcones. **Archive der Pharmazie**, 338(2-3), 87-95, 2005.

BOECK, P.; *et al.* Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 14, 1538-1545, 2006.

BUSSE, W. D.; *et al.* Vocational training for medicinal chemists: views from industry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 31(10), 747-760, 1996.

BROWN, C. A.; *et al.* Mycobacteria and lysosomes: a paradox. **Nature**, 221(5181), 658-60, 1969.

CABRERA, M.; *et al.*, Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: Biological evaluation and structure-activity relationships. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 15, 3356, 2007.

CALIXTO, J. B. Estudo Farmacológico Pré-clínico de Plantas Medicinais. In: Yunes, R. A.; Calixto, J. B. (ed.). **Plantas Medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001. Cap. 3, p. 78.

CHIARADIA, L. D.; *et al.* Synthetic chalcones as efficient inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase PtpA. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 18(23), 6227-6230, 2008.

CHIARADIA, L. D. Síntese, Caracterização e REA de Chalconas e de Compostos Heterocíclicos Biologicamente Ativos em Doenças Negligenciadas, Hiperglicemia e Leucemia. Tese de Doutorado (Doutorado em Química) – UFSC. Florianópolis, **2010**.

CLAYDEN, J.; *et al.* **Organic Chemistry**. Oxford: Oxford University Press, 1 ed, pg 684, 2000.

COLE, S. T.; *et al.* Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence, **Nature**, 393, 537–544, 1998.

CORDEIRO, M. N.S. Síntese e Caracterização de Chalconas Derivadas da 3,4,5-Trimetoxiacetofenona com Potencial Atividade Anti-Leucêmica. *Trabalho de Conclusão de Curso* – Curso de Graduação em Química, UFSC. Florianópolis, **2010**.

DOMINGUEZ, J. N.; LEON, C. *et al.* Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives. **Farmaco**, 60(4), 307-11, 2005.

EVANS, D. A.; NELSON, J. V.; TABER, T. R. In **“Topics in Stereochemistry”**; Allinger, N. L., Eliel, E. L., Wilen, S. H., Eds.; Wiley: New York, 1982.

GASULL, E. I.; *et al.* A theoretical and experimental study of the formation mechanism of 4-X-chalcones by the Claisen–Schmidt reaction. **Journal of Molecular Structure**, 503, 131–144, 2000.

GRUNDNER, C.; *et al.* Structural Basis for Selective Inhibition of Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatase PtpB. **Journal of Molecular Structure**, 15(4), 499-509, 2007.

KOCH, M. A.; *et al.* Compound library development guided by protein structure similarity clustering and natural product structure. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, 101, 16721-16726, 2004.

KOCH, M. A.; WALDMANN, H. Protein structure similarity clustering and natural product structure as guiding principles in drug discovery. **Drug Discovery Today**, 10, 471-483, 2005.

KUMARI, D; *et al.* Some novel ionic displacements in the latifolin system. **Indian Journal of Chemistry**, 4(11), 479-80, 1996.

LEBLANC, R.; *et al.* Synthesis and cytotoxicity of epoxide and pyrazole analogs of the combretastatins. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 13, 6025-6034, 2005.

LIN, Y-M.; *et al.* Chalcones and Flanoids as Anti-Tuberculosis Agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry** 10, 2795-2802, 2002.

LIU, Y. C.; HSIEH, C. W.; WU, C. C.; WUNG, B. S. Chalcone inhibits the activation of NF- κ B and STAT3 in endothelial cells via endogenous electrophile. **Life Sciences**, 80(15), 1420-1430, 2007.

LUNARDI, F.; *et al.* Trypanocidal and Leishmanicidal Properties of substitution-Containing Chalcones. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, 47(4), 1449-1451, 2003.

MADHURANTAKAM, C.; *et al.* Crystal structure of low-molecular-weight protein tyrosine phosphatase from Mycobacterium tuberculosis as 1.9 Å resolution. **Journal of Bacteriology**, 187, 2175-2181, 2005.

MASCARELLO, A.; *et al.*, Inhibition of Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatase PtpA by synthetic chalcones: Kinetics, molecular modeling, toxicity and effect on growth. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 18(11), 3783-3789, 2010.

NAVARINI, A. L. F. ; *et al.* Hydroxychalcones induce apoptosis in B16-F10 melanoma cells via GSH and ATP depletion. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 1630-1637, 2009.

NIELSEN, S. F.; *et al.* Antibacterial chalcones – bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 12, 3047-3054, 2004.

PATIL, P. S.; *et al.* Second harmonic generation and crystal growth of new chalcone derivatives. **Journal of Crystal Growth**, 303(2), 520-524, 2007.

PEDRINI, F. S; et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest in L-1210 murine lymphoblastic leukaemia cells by (2E)-3-(2-naphthyl)-1-(3?-methoxy-4?-hydroxy-phenyl)-2-propen-1-one. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 62, 1128-1136, 2010.

REIGRODSKI, J.; TAMBOR, J. Synthesis of 2,3-Dihydroxyflavone. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, 43, 1964-8, 1910.

RAO, K. V.; Seshadri, T. R. Constitution of gossypin. I. **Proceedings - Indian Academy of Sciences, Section A**, 24A, 375-81, 1946.

SIRAKOVA, T. D.; *et al.* Attenuation of Mycobacterium tuberculosis by disruption of a mas-like gene or a chalcone synthase-like gene, which causes deficiency in dimycocerosyl phthiocerol synthesis. **Journal of Bacteriology**, 185(10), 2999-3008, 2003.

STURGILL-KOSZYCKI, S., SCHAIBLE, U.E., RUSSELL, D.G. Mycobacterium-containing phagosomes are accessible to early endosomes and reflect a transitional state in normal phagosome biogenesis. **The EMBO Journal**, 15, 6960–6968, 1996.

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

WERMUTH, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**, 968 pp. San Diego: Academic Press Inc., 1996

OMS,2009a. <http://www.who.int/topics/tuberculosis/en/> , acessado em 20/11/2010.

OMS, 2009b. Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html, acessado em 20/11/2010.

YUNES, R. A.; *et al.* R. Chalcones as new drugs against Leishmaniasis. **Current Trends in Medicinal Chemistry**, 4, 47-56, 2006.

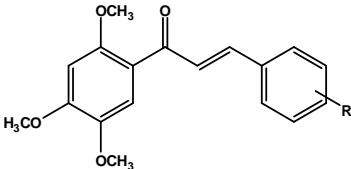
ZHAN, C.; YANG, J. Protective effects of isoliquiritigenin in transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats. **Pharmacological Research**, 53(3), 303-309, 2006.

8 Anexos A – Tabela de Dados Espectrais (RMN de ^1H e ^{13}C e IV)

A seguir, apresentam-se as tabelas com os dados de espectroscopia no IV (Tabela 6) e dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de todas as chalconas sintetizadas (Tabelas 7 a 18).

Não foram obtidos os dados de espectroscopia no IV para as chalconas da Série D.

Tabela 6. Dados de IV das chalconas sintetizadas (pastilhas de KBr).

Chalcona	R	Dados de IV (cm^{-1})
Chalconas derivadas da 2,4,5-trimetoxiacetofenona 		
J1**	2-naftil	1640 (C=O), 1607 (C=C), 1264, 1026 (C-O), 2989, 2935, 2829 (C-H OCH ₃), 3105, 3059, 1567, 1514, 1404, 1211, 1144, 816, 479 (C-H Ar).
J2	4-OCH ₃	1649 (C=O), 1604 (C=C), 1268, 1023 (C-O), 2998, 2933, 2839 (C-H OCH ₃), 3097, 3066, 1567, 1512, 1398, 1219, 1207, 1174, 1114, 829, 787, 551 (Ar).
J3	4-CH ₃	1647 (C=O), 1608 (C=C), 1267, 1027 (C-O), 3002, 2947, 2835 (C-H OCH ₃ , CH ₃), 3098, 3048, 1579, 1565, 1508, 1398, 1209, 1146, 1033, 811, 687, 495 (C-H Ar).
J4	H	1645 (C=O), 1582 (C=C), 1265, 1031 (C-O), 2992, 2939, 2831 (C-H OCH ₃), 3100, 3078, 3056, 3020, 1517, 1475, 1412, 1356, 1276, 1217, 1148, 977, 857, 766, 562 (C-H Ar).
J5	2,5-(OCH ₃) ₂	1642 (C=O), 1608 (C=C), 1262, 1020 (C-O), 2985, 2940, 2834 (C-H OCH ₃), 3037, 3013, 1573, 1516, 1491, 1405, 1317, 1222, 1143, 860, 796, 753, 571 (C-H Ar).
J6	4-F	1647 (C=O), 1581 (C=C), 1265, 1031 (C-O), 2991, 2962, 2939, 2831 (C-H OCH ₃), 3035, 3016, 1508, 1416, 1216, 1147, 978, 831, 798, 510 (C-H Ar).
J7	4-NO ₂	1649 (C=O), 1601 (C=C), 1265, 1021 (C-O), 2952, 2849, 2832 (C-H OCH ₃), 3100, 3068, 3019, 1582, 1513, 1342, 1215, 1146, 842, 760, 586 (C-H Ar).
J8*	3-NO ₂	-
J9	4-Br	1648 (C=O), 1610 (C=C), 1265, 1026 (C-O), 2934, 2832 (C-H OCH ₃), 3061, 3027, 3006, 1581, 1514, 1405, 1209, 1145, 822, 763, 493 (C-H Ar).
J10	3,4,5-(OCH ₃) ₃	1649 (C=O), 1585 (C=C), 1267, 1021 (C-O), 2998, 2938, 2831 (C-H OCH ₃), 3086, 3069, 1505, 1455, 1403, 1208, 1128, 825, 580 (C-H Ar).
J11	3,4-(OCH ₃) ₂	1640 (C=O), 1585 (C=C), 1267, 1025 (C-O), 2961, 2937, 2835 (C-H OCH ₃), 3005, 1513, 1217, 1140 (C-H Ar).
J12	4-CF ₃	1649 (C=O), 1611 (C=C), 1268, 1025 (C-O), 2952, 2935, 2839 (C-H OCH ₃), 3010, 1585, 1512, 1403, 1323, 1215, 1149, 1131, 1067, 834, 584 (C-H Ar).
J13	3-CN	1650 (C=O), 1612 (C=C), 1267, 1027 (C-O), 2228 (C≡N), 2972, 2939, 2840 (C-H OCH ₃), 3070, 3001, 1583, 1514, 1405, 1212, 1150, 796, 562 (C-H Ar).

*Chalcona não obtida. **Apresenta a estrutura no anel B.

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.

^1H	J1	J2	J3	J4
1	8,00 s	-	-	-
2	-	7,56 d (8,0)	7,51 d (8,0)	7,62 m
3	7,51 m	6,92 d (8,0)	7,21 d (8,0)	7,39 m
4	7,87 m	-	-	7,39 m
5	7,84 m	6,92 d (8,0)	7,21 d (8,0)	7,39 m
6	7,51 m	7,56 d (8,0)	7,51 d (8,0)	7,62 m
7	7,77 dd (8,0/0,9)	-	-	-
8	7,84 m	-	-	-
α	7,75 d (16,0)	7,51 d (16,0)	7,59 d (16,0)	7,64 d (16,0)
β	7,88 d (16,0)	7,69 d (16,0)	7,70 d (16,0)	7,72 d (16,0)
3'	6,57 s	7,54 s	6,55 s	6,55 s
6'	7,42 s	7,37 s	7,38 s	7,40 s
OCH_3	3,91 s; 3,96 s; 3,98 s	3,85 s; 3,92 s; 3,96 s	3,90 s; 3,93 s; 3,97 s	3,90 s; 3,94 s; 3,97 s
CH_3	-	-	2,39 s	-

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

Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.

^{13}C	J1	J2	J3	J4
1	127,05	128,24	132,78	135,55
2	133,07	130,01	128,33	128,30
3	126,62	114,29	129,58	128,83
4	130,25	161,23	140,38	129,94
4a	133,43	-	-	-
5	128,55	114,29	129,58	128,83
6	127,36	130,01	128,33	128,30
7	127,76	-	-	-
8	128,55	-	-	-
8a	134,14	-	-	-
α	123,81	124,94	126,20	127,17
β	142,04	141,95	142,07	141,87
C=O	189,87	189,99	190,03	189,97
1'	120,54	120,75	120,62	120,44
2'	153,61	153,34	153,46	153,61
3'	97,09	97,16	97,11	97,01
4'	154,87	154,62	154,74	154,86
5'	143,44	143,36	143,38	143,39
6'	113,17	113,16	113,15	113,13
OCH₃	56,17; 56,35; 56,89	55,38; 56,14; 56,33; 56,88	56,14; 56,33; 56,85	56,12; 56,30; 56,79
CH₃	-	-	21,51	-

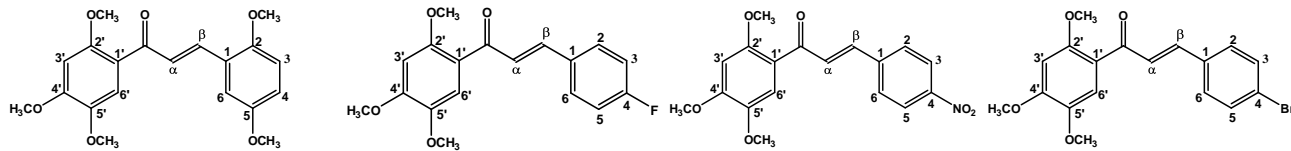
δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente: CDCl_3 .

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.

^1H	J5	J6	J7	J9*
2	-	7,61 <i>m</i>	7,74 <i>d</i> (8,0)	-
3	6,91 <i>m</i>	7,10 <i>m</i>	8,26 <i>d</i> (8,0)	-
4	6,91 <i>m</i>	-	-	-
5	-	7,10 <i>m</i>	8,26 <i>d</i> (8,0)	-
6	7,17 <i>s</i>	7,61 <i>m</i>	7,74 <i>d</i> (8,0)	-
α	7,64 <i>d</i> (16,0)	7,58 <i>d</i> (16,0)	7,70 <i>d</i> (16,0)	-
β	8,02 <i>d</i> (16,0)	7,69 <i>d</i> (16,0)	7,78 <i>d</i> (16,0)	-
3'	6,56 <i>s</i>	6,55 <i>s</i>	6,55 <i>s</i>	-
6'	7,39 <i>s</i>	7,40 <i>s</i>	7,42 <i>s</i>	-
OCH₃	3,82 <i>s</i> ; 3,86 <i>s</i> ; 3,91 <i>s</i> ; 3,93 <i>s</i> ; 3,97 <i>s</i>	3,91 <i>s</i> ; 3,94 <i>s</i> ; 3,98 <i>s</i>	3,91 <i>s</i> ; 3,96 <i>s</i> ; 3,98 <i>s</i>	-

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

Tabela 10. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.



^{13}C	J5	J6	J7	J9
1	127,94	140,43	142,00	134,51
2	153,18	131,81	128,68	129,66
3	116,39	116,06	124,13	132,04
4	116,39	164,96	148,15	124,03
5	153,45	120,32	124,13	132,04
6	113,54	130,05	128,68	129,66
α	125,25	126,89	113,04	127,74
β	137,20	143,42	138,23	140,28
C=O	190,35	189,58	188,71	189,97
1'	113,23	115,84	131,07	113,12
2'	153,45	153,70	155,33	153,81
3'	97,18	97,02	96,69	96,94
4'	154,67	162,47	155,33	154,97
5'	143,32	154,88	143,57	143,43
6'	112,39	113,11	119,94	120,17
OCH₃	55,80; 56,14; 56,30; 56,85	56,19; 56,36; 56,77	56,20; 56,33; 56,72	56,12; 56,19; 56,80

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

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.

^1H	J10	J11	J12*	J13
2	6,85 s	7,38 m	-	7,89 s
3	-	-	-	-
4	-	-	-	7,64 d (8,0)
5	-	6,90 d (8,0)	-	7,52 t
6	6,85 s	7,22 d (8,0)	-	7,80 d (8,0)
α	7,51 d (16,0)	7,50 d (16,0)	-	7,65 d (16,0)
β	7,63 d (16,0)	7,68 d (16,0)	-	7,71 d (16,0)
3'	6,56 s	6,56 s	-	6,55 s
6'	7,38 s	7,15 s	-	7,41 s
OCH₃	3,90 s; 3,91 s; 3,93 s; 3,97 s	3,91 s; 3,93 s; 3,95 s; 3,98 s	-	3,91 s; 3,96 s; 3,98 s

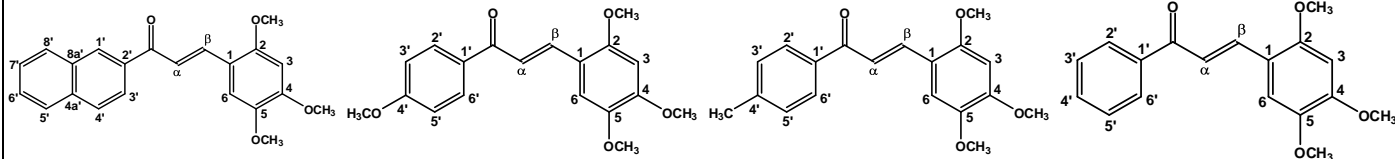
δ (ppm) em relação ao TMS, *multiplicidade* (J em Hz). Solvente: CDCl_3 . *Não obtido.

Tabela 12. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série J** derivadas da **2,4,5-trimetoxiacetofenona**.

^{13}C	J10	J11	J12	J13
1	126,84	125,24	139,28	131,32
2	105,69	113,18	129,67	132,74
3	153,60	150,95	128,54	118,70
4	140,15	149,12	131,30	132,93
5	153,60	120,74	128,54	132,74
6	105,69	122,60	129,67	137,14
α	131,30	128,51	120,10	129,67
β	142,28	142,25	139,75	138,76
C=O	190,02	189,98	189,44	189,07
1'	120,73	110,26	126,01	119,88
2'	153,60	153,35	155,27	154,40
3'	97,11	97,26	96,96	96,86
4'	154,91	154,57	155,38	155,47
5'	143,65	143,40	143,68	143,67
6'	105,69	111,10	113,25	113,22
OCH₃	56,34; 56,40; 56,60; 57,11	55,94; 56,19; 56,94	56,37; 56,91	56,40; 56,44; 56,92
CF₃	-	-	127,39	-
CN	-	-	-	129,97

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

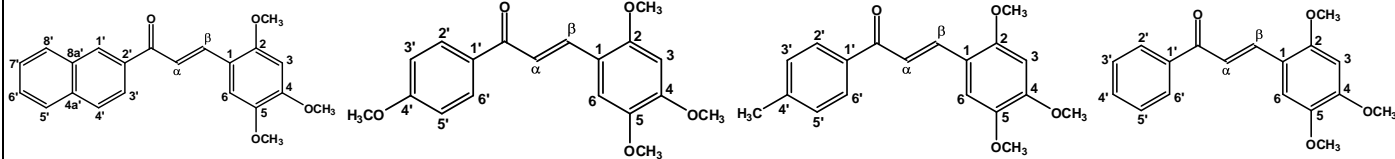
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.



^1H	D1	D2	D3	D4
3	6,55 s	6,53 s	6,53 s	6,54 s
6	7,19 s	7,13 s	7,14 s	7,15s
α	7,61 <i>d</i> (16,0)	7,48 <i>d</i> (16,0)	7,46 <i>d</i> (16,0)	7,48 <i>d</i> (16,0)
β	8,17 <i>d</i> (16,0)	8,08 <i>d</i> (16,0)	8,09 <i>d</i> (16,0)	8,11 <i>d</i> (16,0)
1'	8,53 s	-	-	-
2'	-	8,03 <i>d</i> (8,0)	7,93 <i>d</i> (8,0)	8,02 <i>d</i> (8,0)
3'	7,94 <i>d</i> (8,0)	7,98 <i>d</i> (8,0)	7,30 <i>d</i> (8,0)	7,52 <i>d</i> (8,0)
4'	8,01 <i>d</i> (8,0)	-	-	7,58 <i>m</i>
5'	8,10 <i>dd</i> (8,0/0,9)	6,68 <i>d</i> (8,0)	7,30 <i>d</i> (8,0)	7,52 <i>d</i> (8,0)
6'	7,61 <i>m</i>	8,03 <i>d</i> (8,0)	7,93 <i>d</i> (8,0)	8,02 <i>d</i> (8,0)
7'	7,56 <i>m</i>	-	-	-
8'	7,91 <i>d</i> (8,0)	-	-	-
OCH₃	3,92 s; 3,94 s; 3,96 s	3,89 s; 3,95 s; 3,98 s	3,91 s; 3,95 s	3,92 s; 3,97 s
CH₃	-	-	2,44 s	-

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

Tabela 14. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.



^{13}C	D1	D2	D3	D4
1	115,89	111,66	111,54	111,61
2	155,00	139,57	136,42	139,06
3	97,15	97,08	97,01	97,04
4	152,85	154,75	154,80	154,89
5	143,60	152,48	143,30	152,73
6	111,76	115,91	115,80	115,71
α	125,04	120,37	120,56	120,56
β	140,50	143,45	139,91	140,43
C=O	191,35	189,60	190,90	191,43
1'	129,76	130,93	134,56	143,49
2'	135,60	131,87	129,42	128,67
3'	120,73	131,87	128,82	128,71
4'	128,39	113,92	152,28	132,55
4a'	132,91	-	-	-
5'	128,10	163,29	128,82	128,71
6'	128,67	113,92	129,42	128,67
7'	126,94	-	-	-
8'	129,94	-	-	-
8a'	136,48	-	-	-
OCH₃	56,39; 56,71; 56,94	55,66; 56,77	56,28; 56,59; 56,76	56,31; 56,60; 56,78
CH₃	-	-	21,92	-

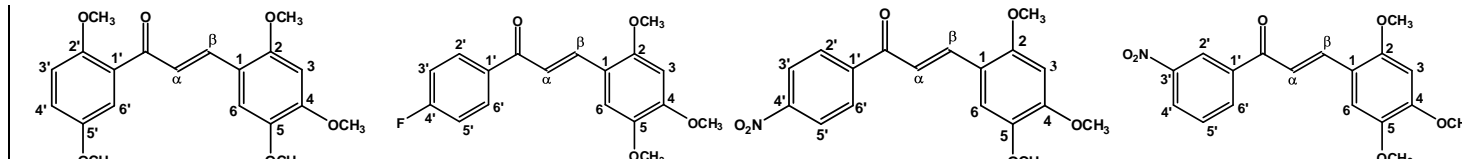
δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente: CDCl_3 .

Tabela 15. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.

^1H	D5*	D6	D7	D8*
3	6,71 s	6,41 s	6,53 s	6,42 s
6	7,09 s	6,53 s	7,12 s	7,58 s
α	7,26 <i>d</i> (16,0)	7,43 <i>d</i> (16,0)	7,41 <i>d</i> (16,0)	7,84 <i>d</i> (16,0)
β	7,70 <i>d</i> (16,0)	8,09 <i>d</i> (16,0)	8,34 <i>d</i> (16,0)	8,16 <i>d</i> (16,0)
2'	-	8,04 <i>m</i>	8,12 <i>d</i> (8,0)	8,77 s
3'	6,96 <i>m</i>	7,16 <i>m</i>	8,35 <i>d</i> (8,0)	-
4'	7,08 <i>m</i>	-	-	8,61 <i>d</i> (8,0)
5'	-	7,16 <i>m</i>	8,35 <i>d</i> (8,0)	7,89 <i>t</i>
6'	7,24 s	8,04 <i>m</i>	8,12 <i>d</i> (8,0)	8,49 <i>d</i> (8,0)
OCH₃	3,72 s; 3,74 s; 3,77 s; 3,83 s; 3,84 s	3,87 s; 3,91 s; 3,96 s	3,92 s; 3,93 s; 3,97 s	3,83 s; 3,92 s;

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

Tabela 16. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.



^{13}C	D5*	D6	D7	D8*
1	114,53	111,48	111,76	111,04
2	130,78	131,01	142,51	139,93
3	98,31	96,74	96,81	97,31
4	153,29	152,60	153,49	153,38
5	153,29	143,26	143,58	139,93
6	114,53	115,43	115,08	113,86
α	125,07	119,82	119,77	117,70
β	143,70	140,44	141,59	143,00
C=O	197,88	189,50	189,98	187,11
1'	138,80	131,01	144,15	139,21
2'	153,68	130,92	129,57	122,47
3'	118,36	115,64	123,96	148,08
4'	118,36	154,73	155,39	126,88
5'	154,71	115,61	123,96	130,42
6'	111,61	130,92	129,57	134,46
OCH ₃	56,23; 56,80; 56,99; 57,07	56,11; 56,31; 56,59	56,36; 56,53; 56,81	55,77; 56,34

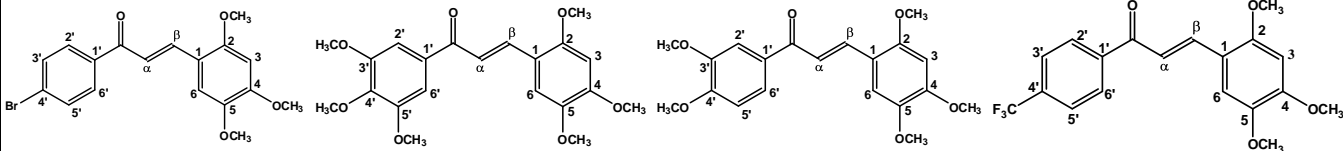
δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente: CDCl₃. *Solvente: DMSO.

Tabela 17. Dados de RMN de ^1H das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.

^1H	D9	D10	D11*	D12
3	6,52 s	6,52 s	6,73 s	6,53 s
6	7,11 s	7,12 m	7,50 s	7,12 s
α	7,40 d (16,0)	7,38 d (16,0)	7,75 d (16,0)	7,40 d (16,0)
β	8,09 d (16,0)	8,06 d (16,0)	8,01 d (16,0)	8,26 d (16,0)
2'	7,87 d (8,0)	7,25 m	7,56 d (2,0)	7,84 d (8,0)
3'	7,63 d (8,0)	-	-	7,64 d (8,0)
4'	-	-	-	-
5'	7,63 d (8,0)	-	7,07 d (8,5)	7,64 d (8,0)
6'	7,87 d (8,0)	7,25 m	7,87 dd (8,5/2,0)	7,84 d (8,0)
OCH₃	3,91 s; 3,96 s	3,89 s; 3,90 s; 3,94 s	3,80 s; 3,84 s; 3,85 s; 3,88 s	3,93 s; 3,97 s;

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

Tabela 18. Dados de RMN de ^{13}C das chalconas da **Série D** derivadas da **2,4,5-trimetoxibenzaldeído**.



^{13}C	D9	D10	D11*	D12
1	111,65	115,69	111,87	115,10
2	137,77	142,23	138,27	139,93
3	96,90	97,09	98,22	96,77
4	155,03	154,85	153,60	155,34
5	152,95	152,76	149,43	153,36
6	115,46	111,97	111,43	111,63
α	127,50	120,65	119,43	118,99
β	141,02	140,50	143,71	142,23
C=O	190,24	190,51	188,06	189,08
1'	143,49	134,37	123,78	143,54
2'	130,23	106,33	111,34	132,71
3'	131,96	153,25	153,60	132,29
4'	119,89	143,48	154,79	135,43
5'	131,96	153,25	115,08	132,29
6'	130,23	106,33	131,66	132,71
OCH₃	56,29; 56,52; 56,76	56,34; 56,57; 56,87	56,24; 56,43; 57,11	56,33; 56,53; 56,77
CF₃	-	-	-	129,77

δ (ppm) em relação ao TMS. Solvente: CDCl_3 . *Solvente: DMSO.

8 Anexos B - Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e IV

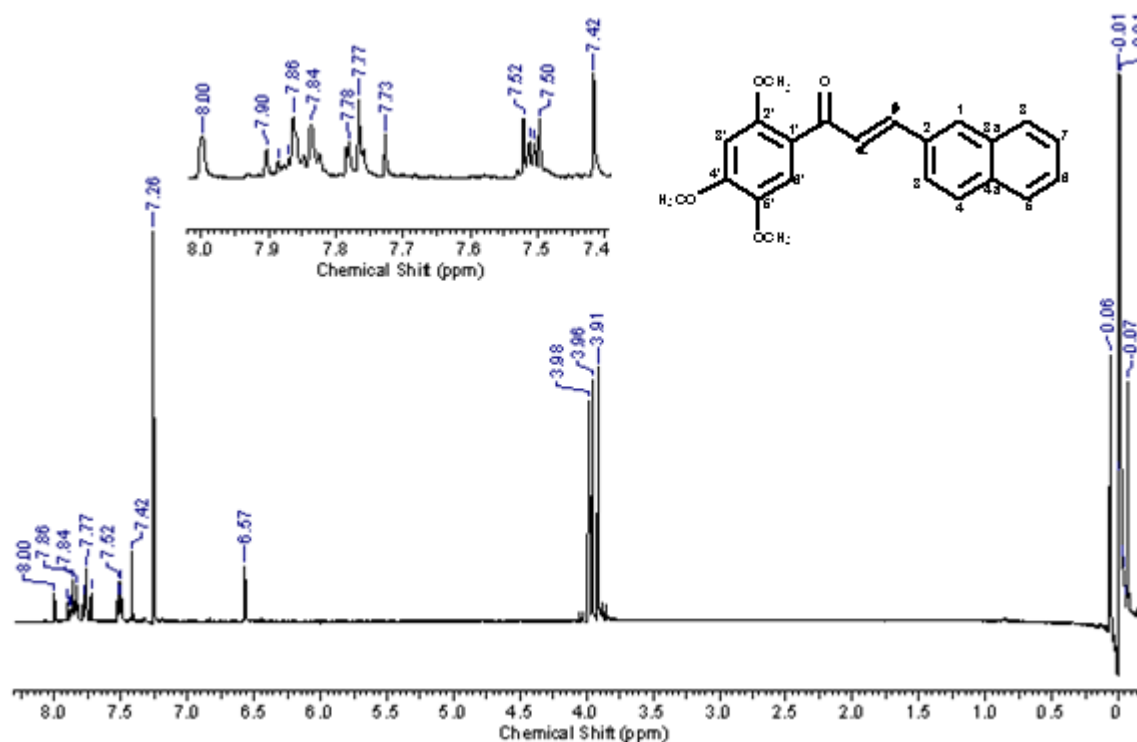


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J1.

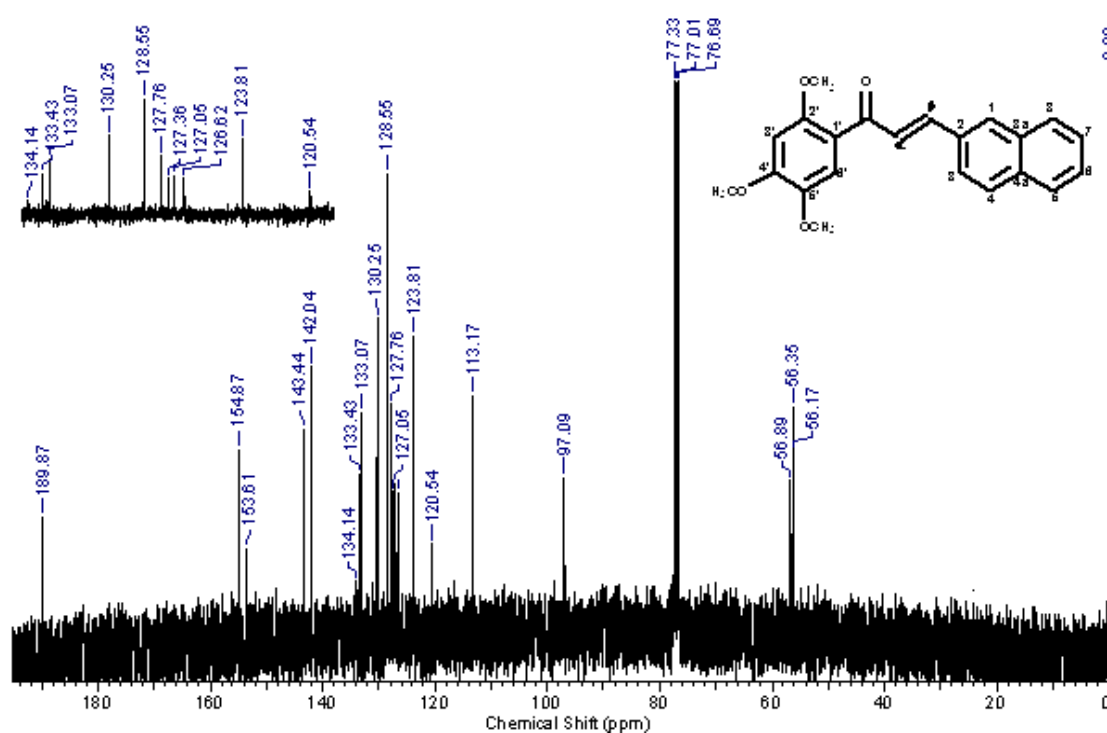


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J1.

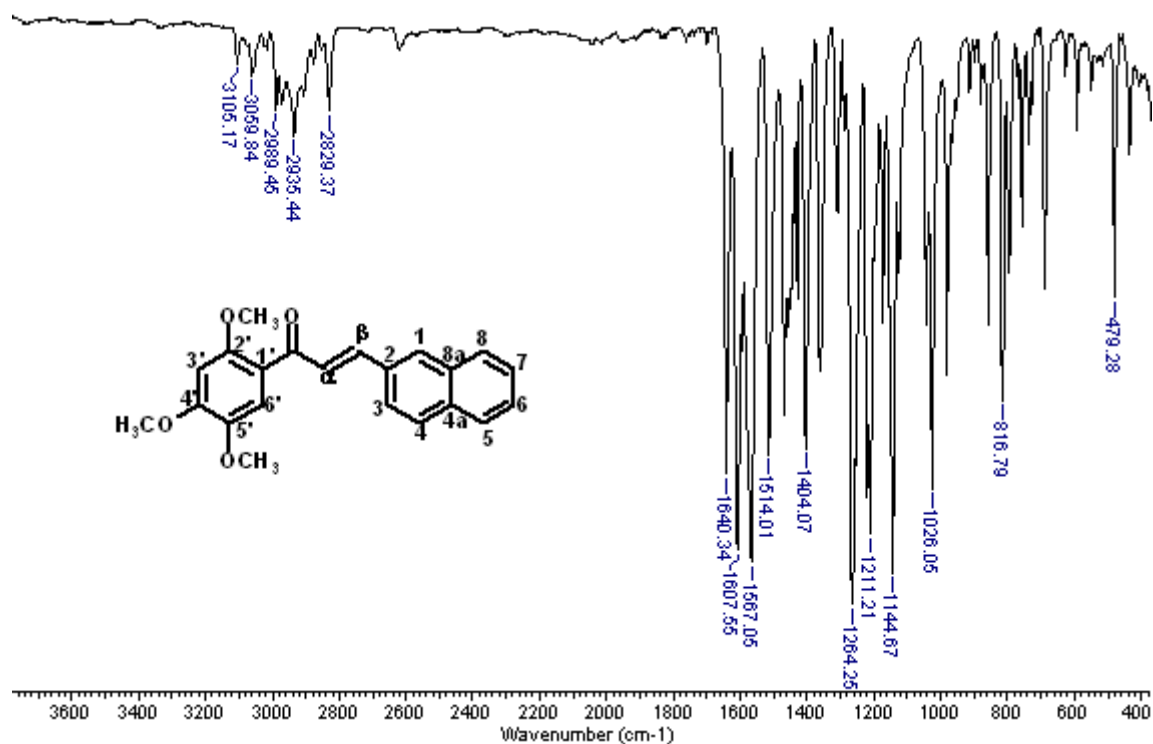


Figura 13. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J1.

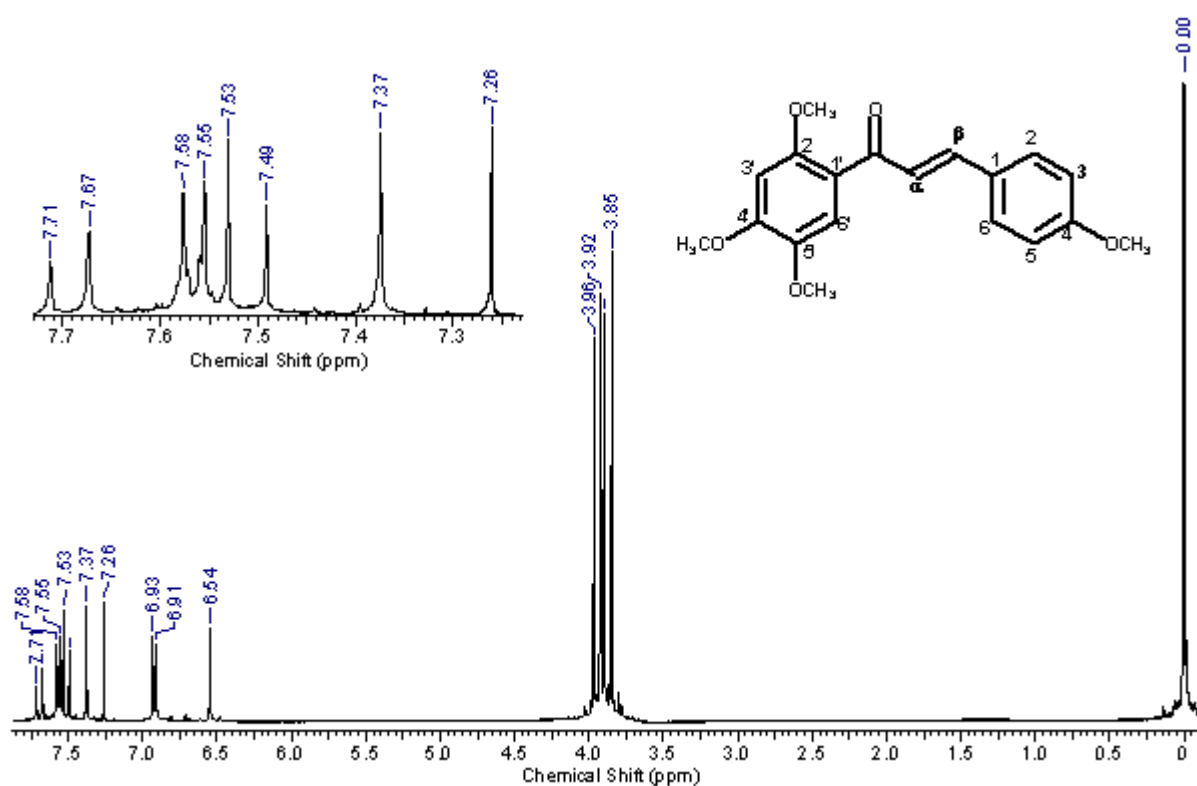


Figura 14. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da chalcona J2.

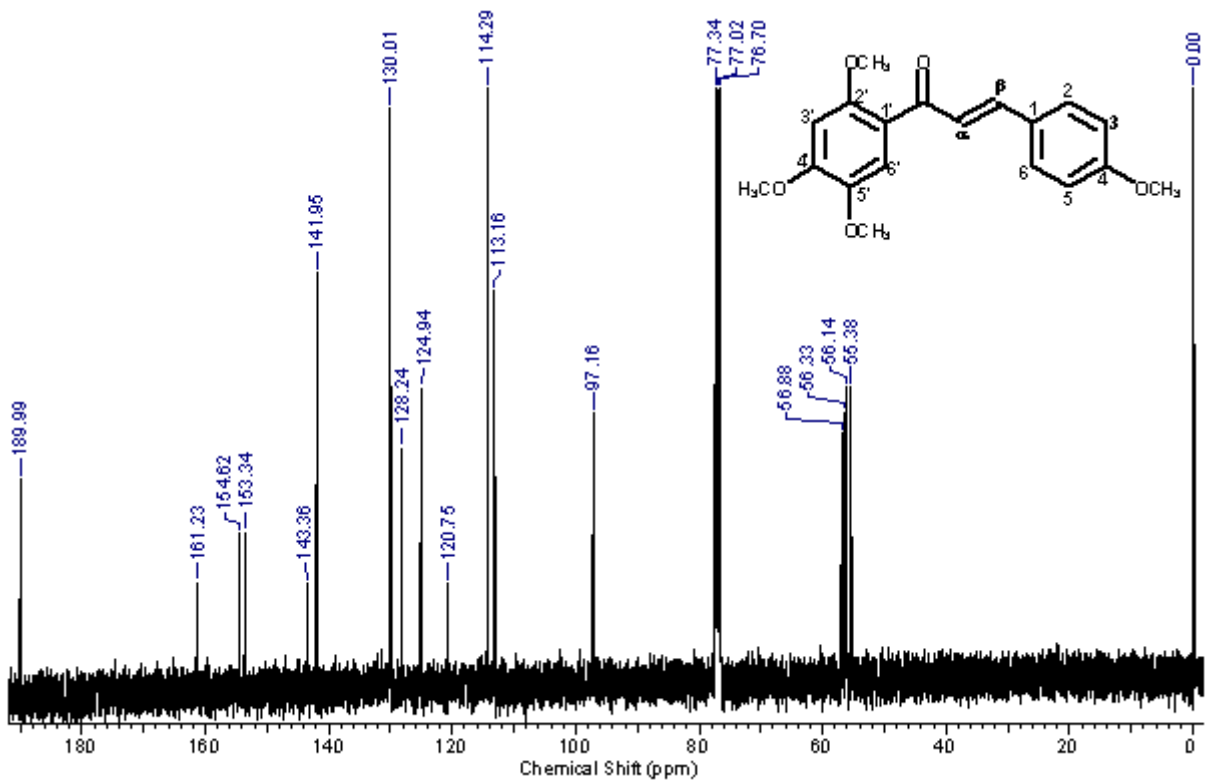


Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J2**.

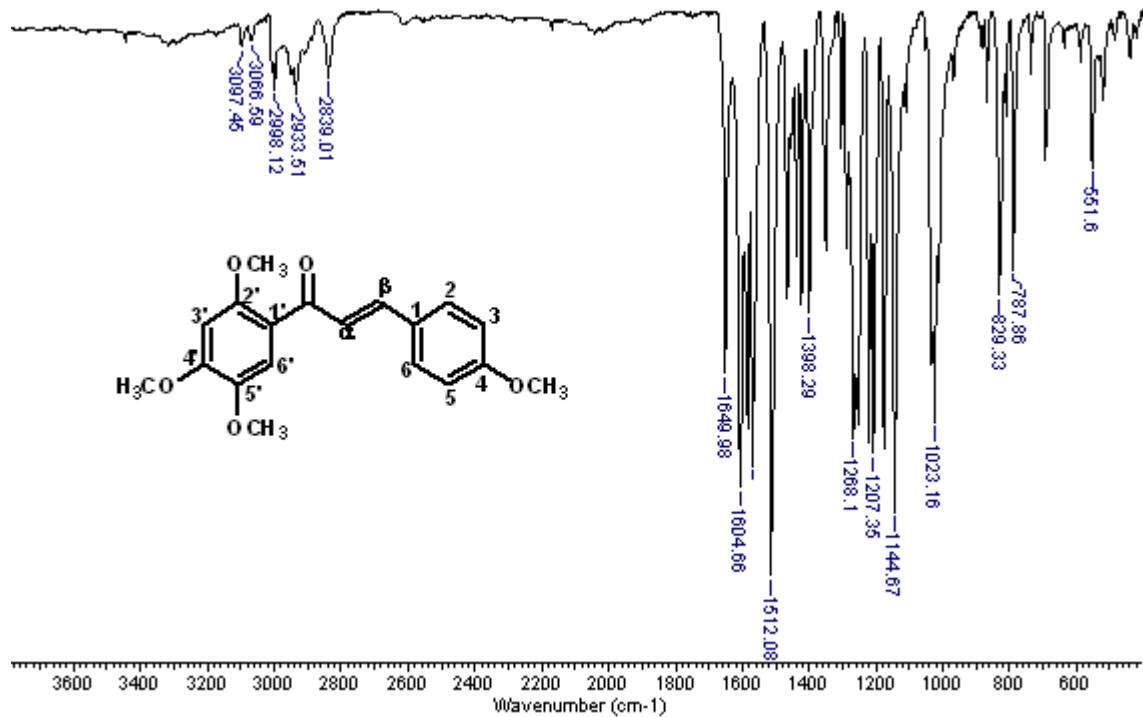


Figura 16. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **J2**.

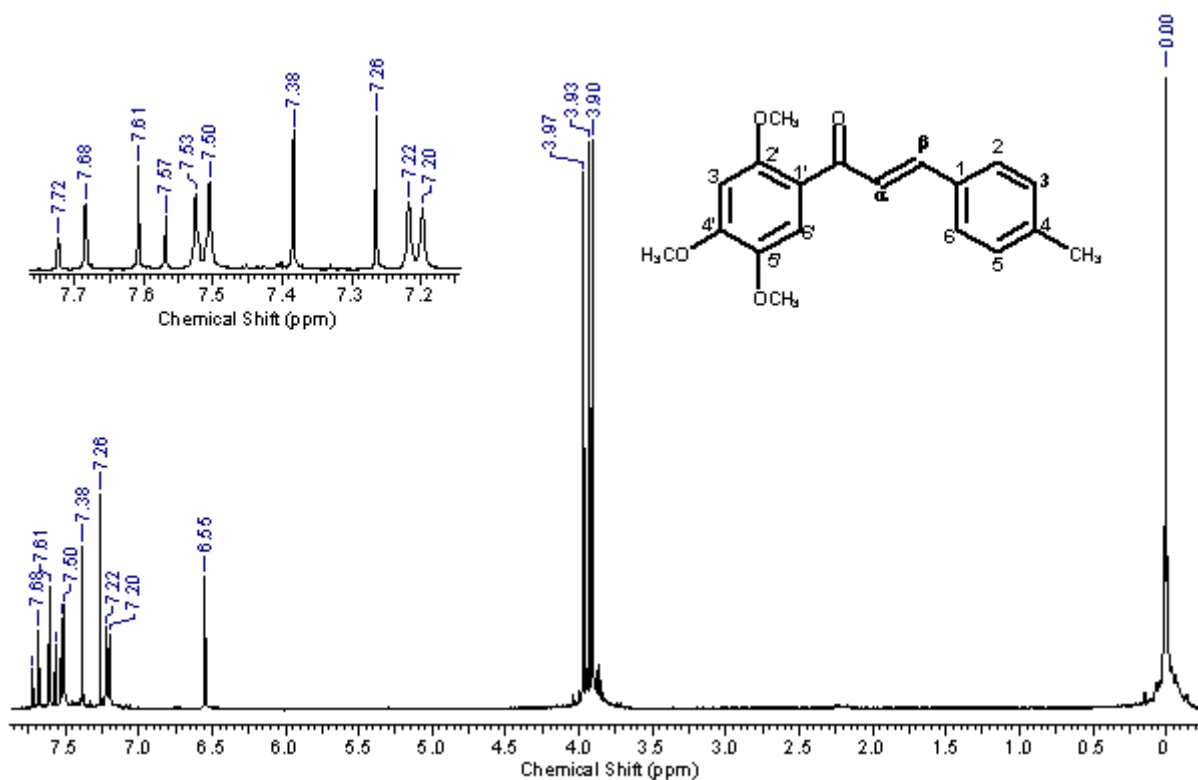


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **J3**.

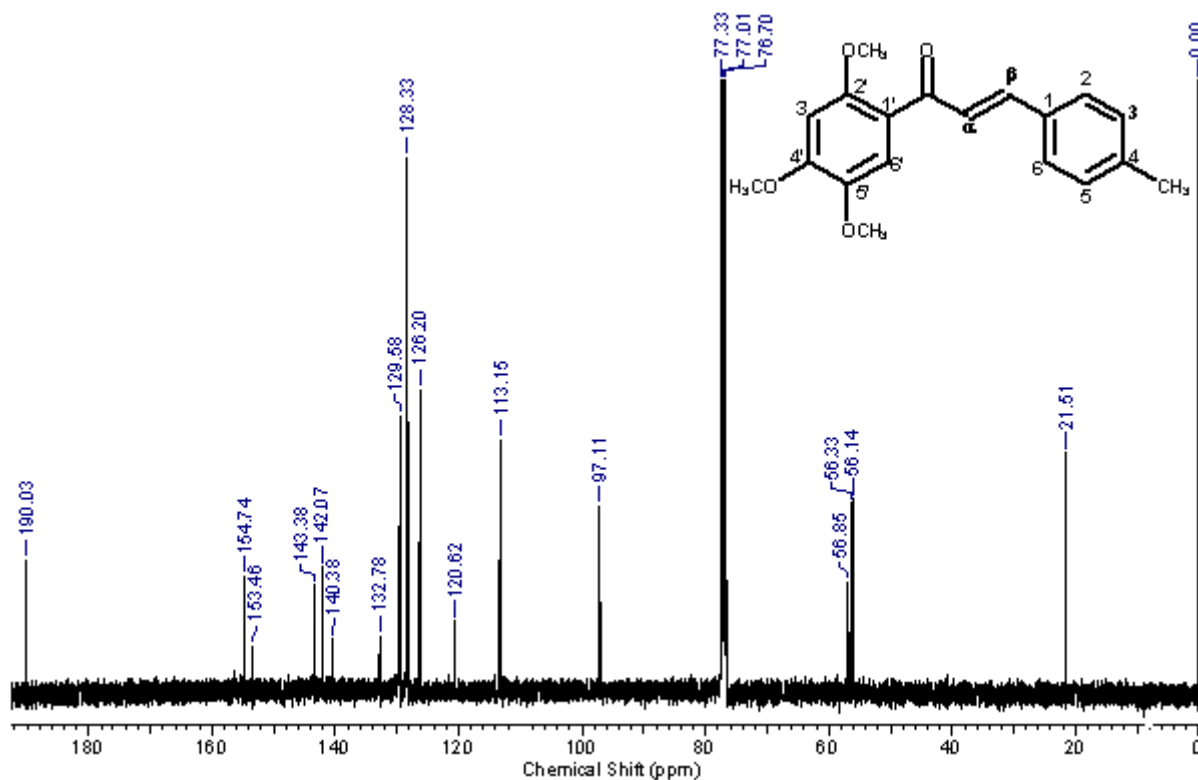


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J3**.

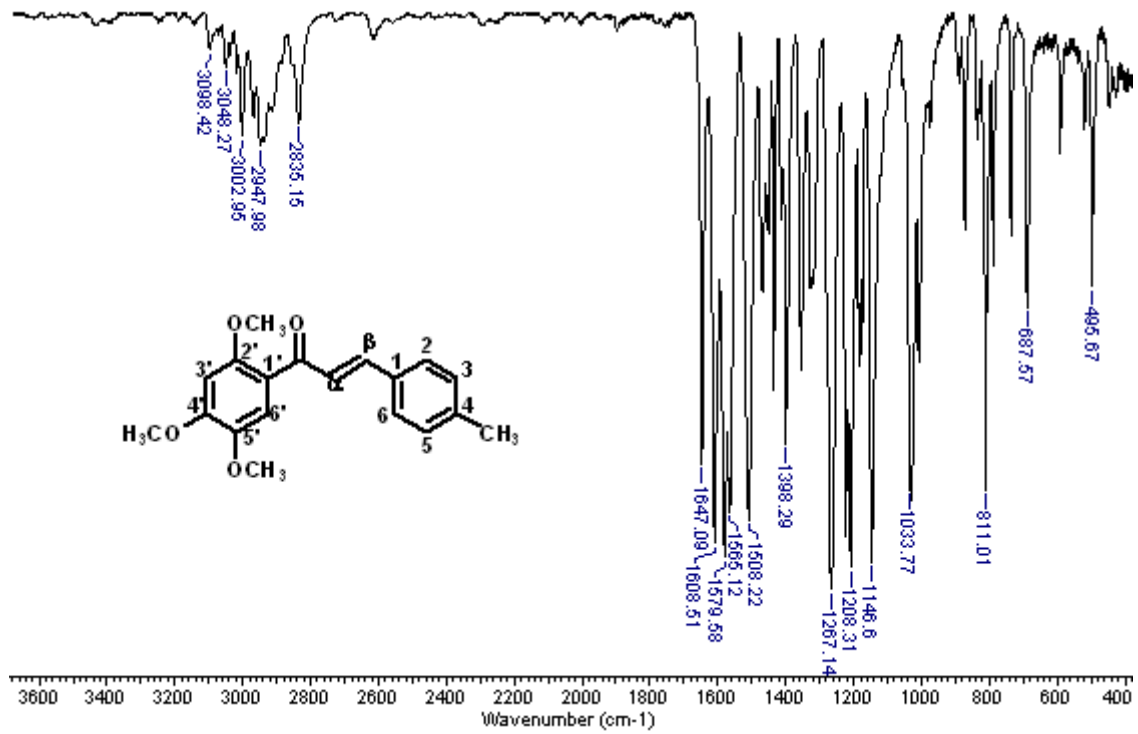


Figura 19. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J3.

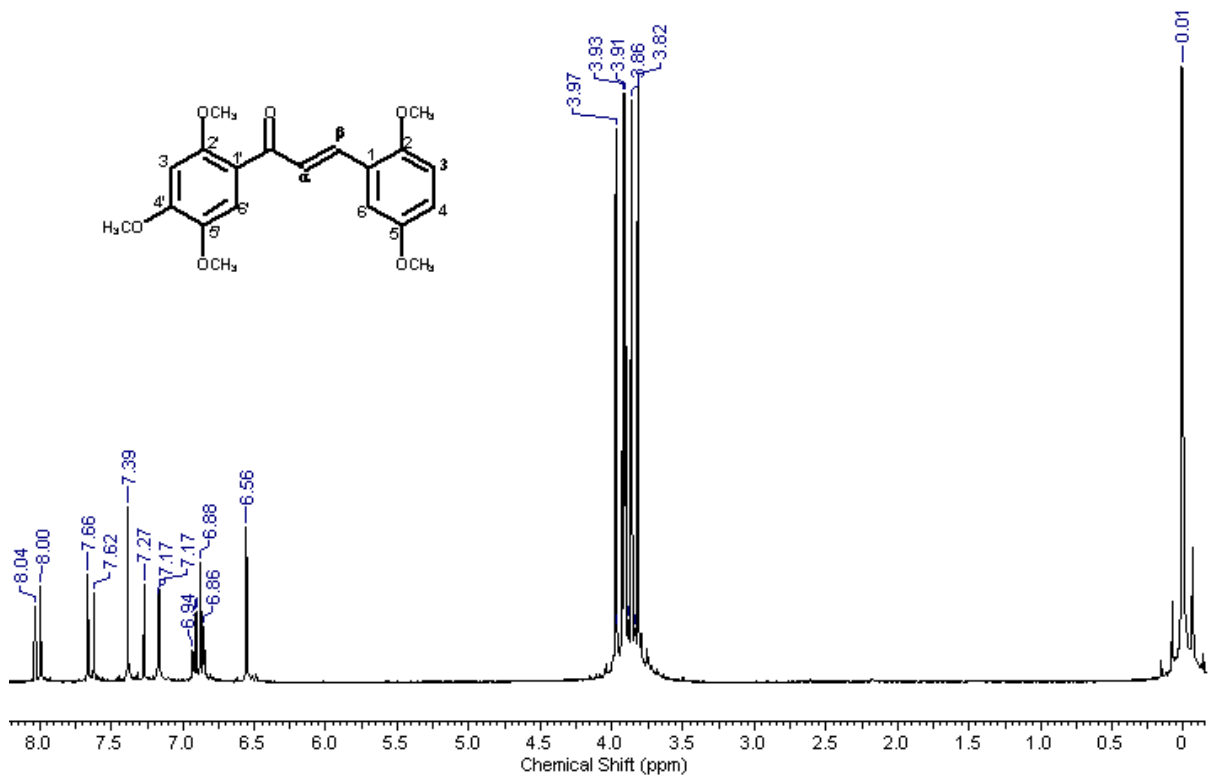


Figura 20. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da chalcona J5.

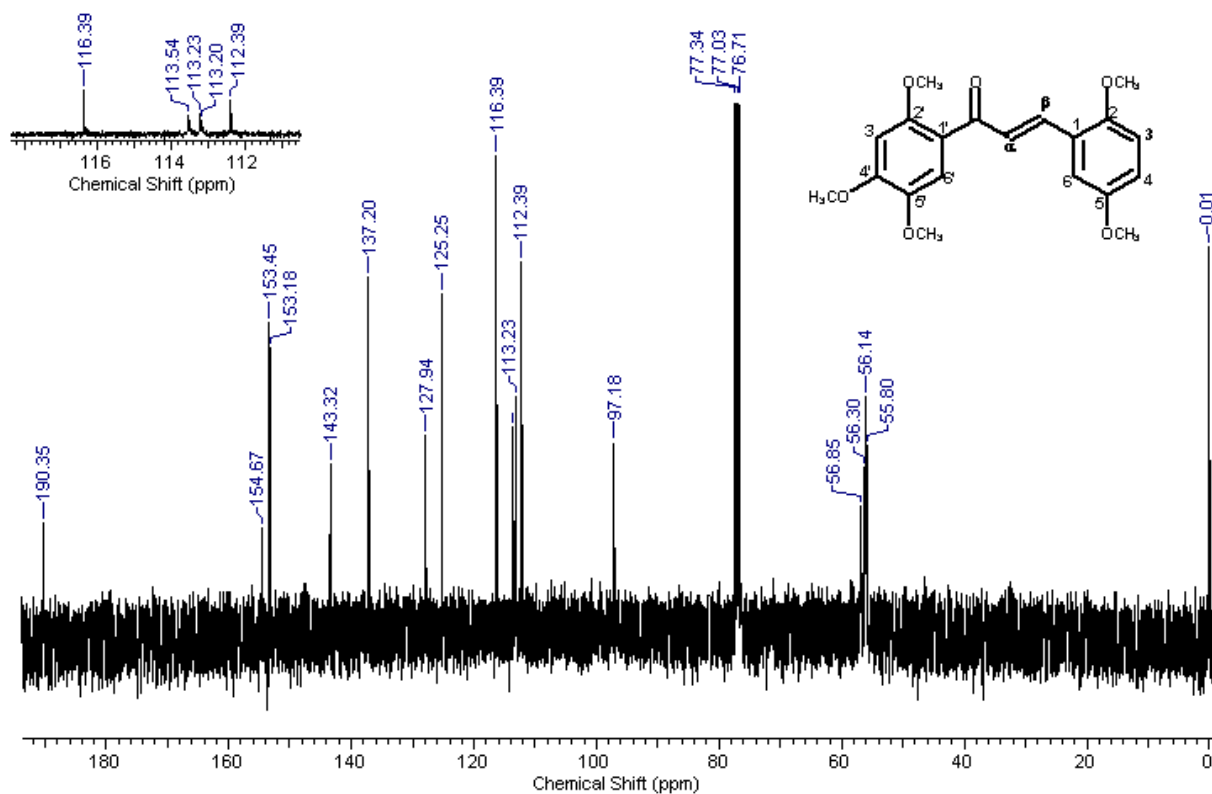


Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J5**.

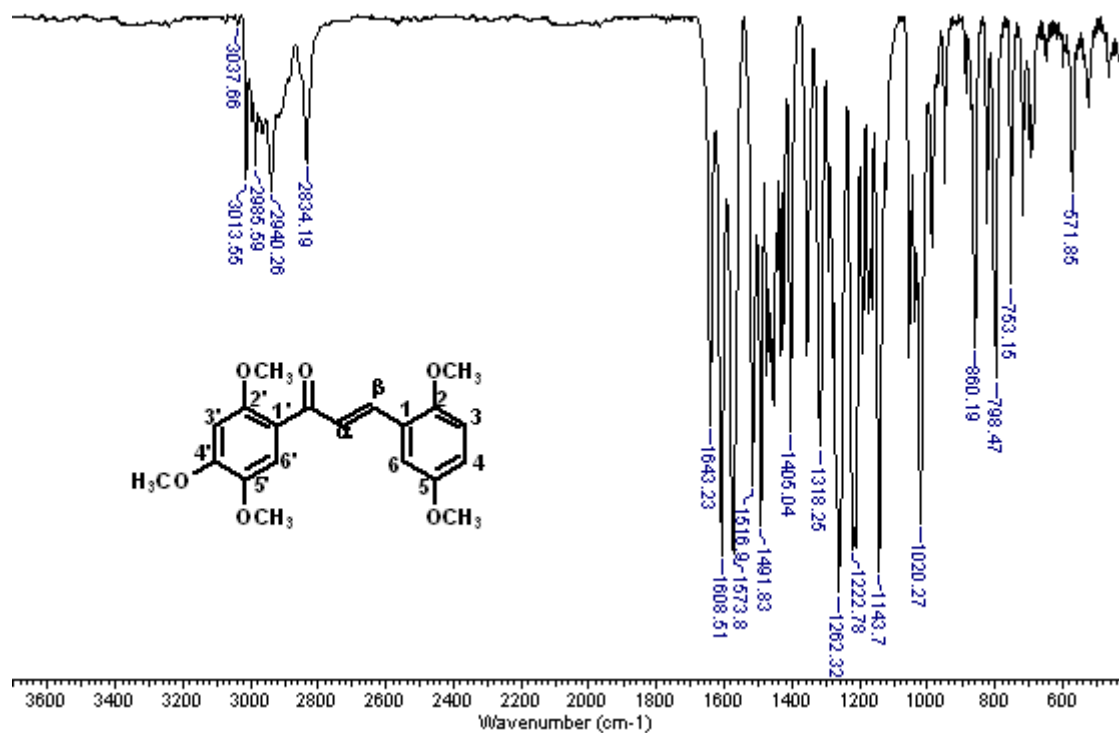


Figura 22. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **J5**.

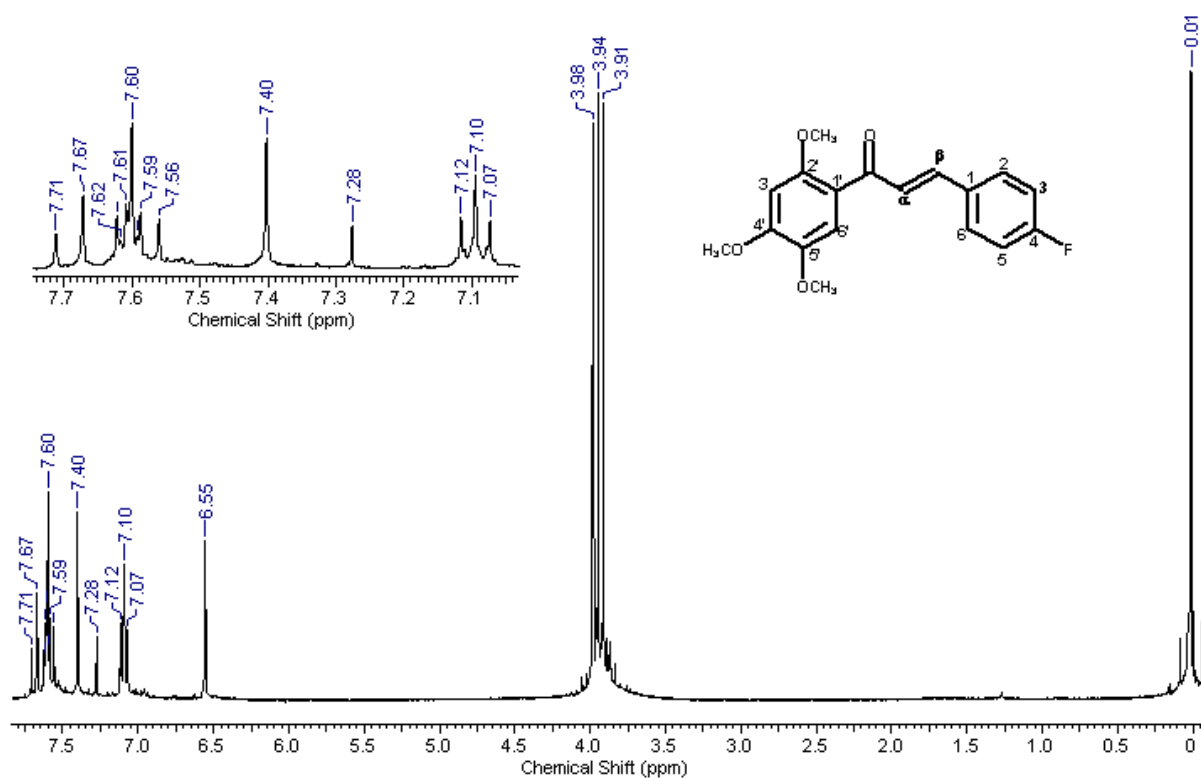


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da chalcona J6.

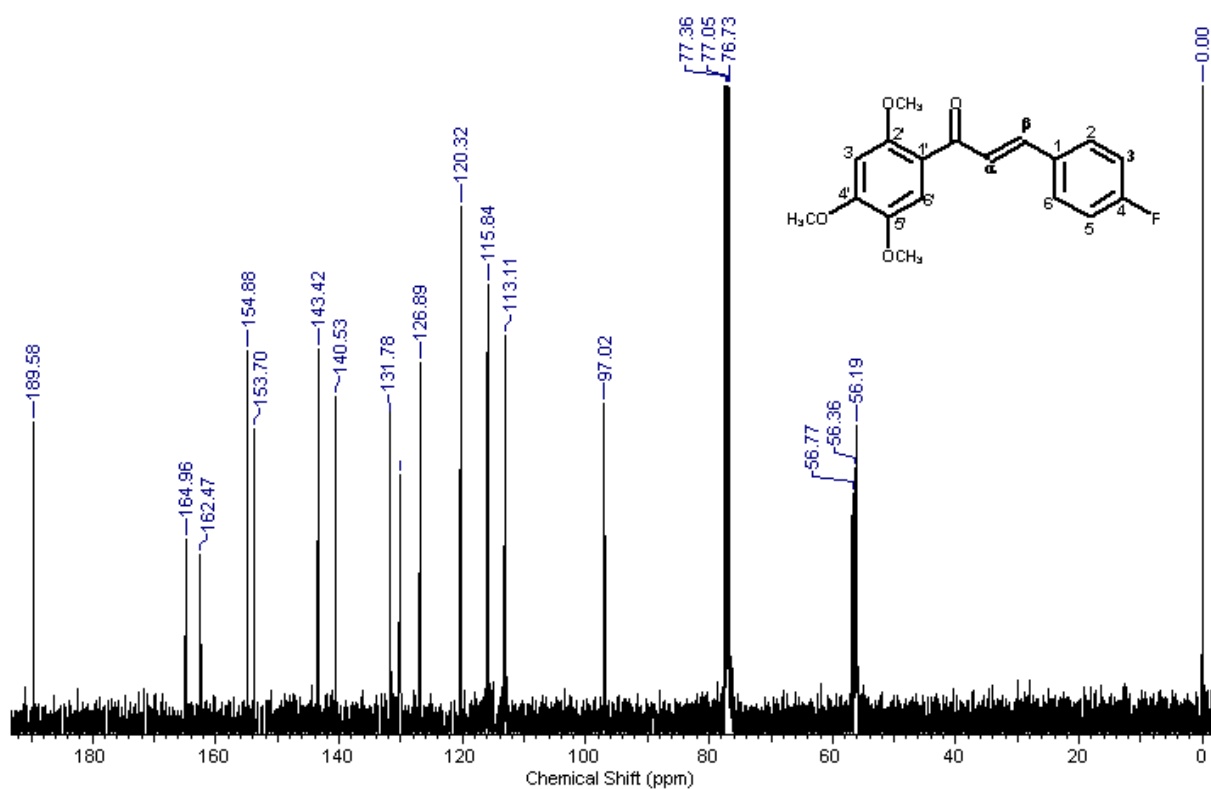


Figura 24. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) da chalcona J6.

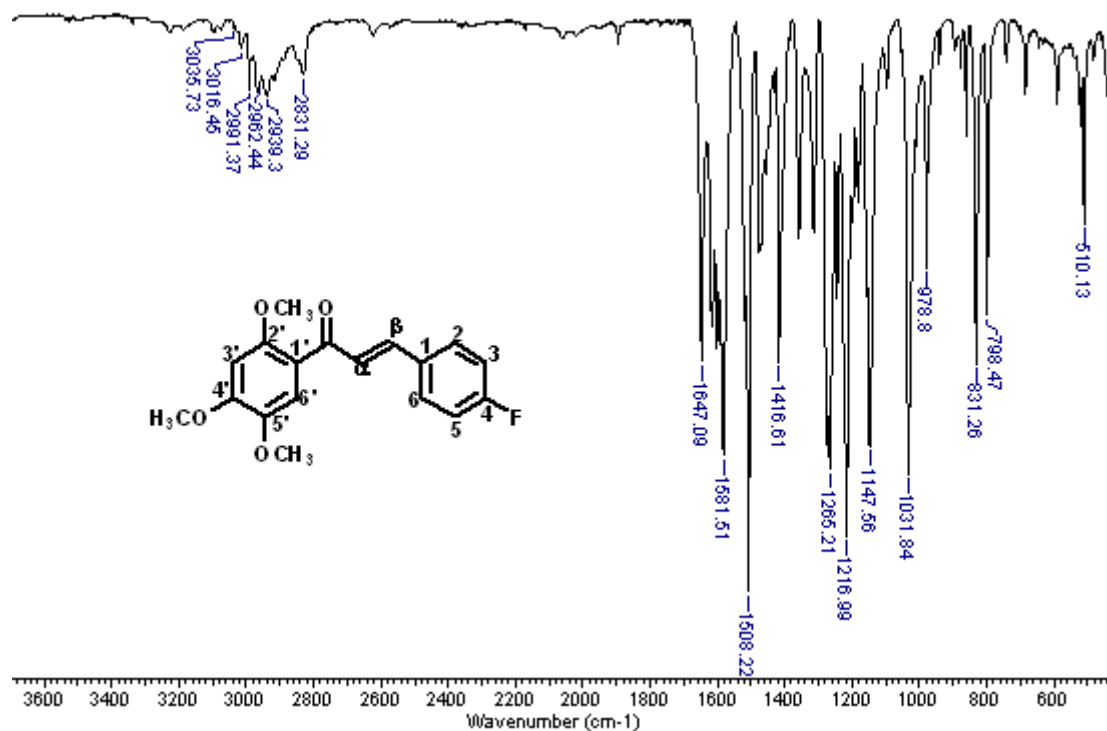


Figura 25. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **J6**.

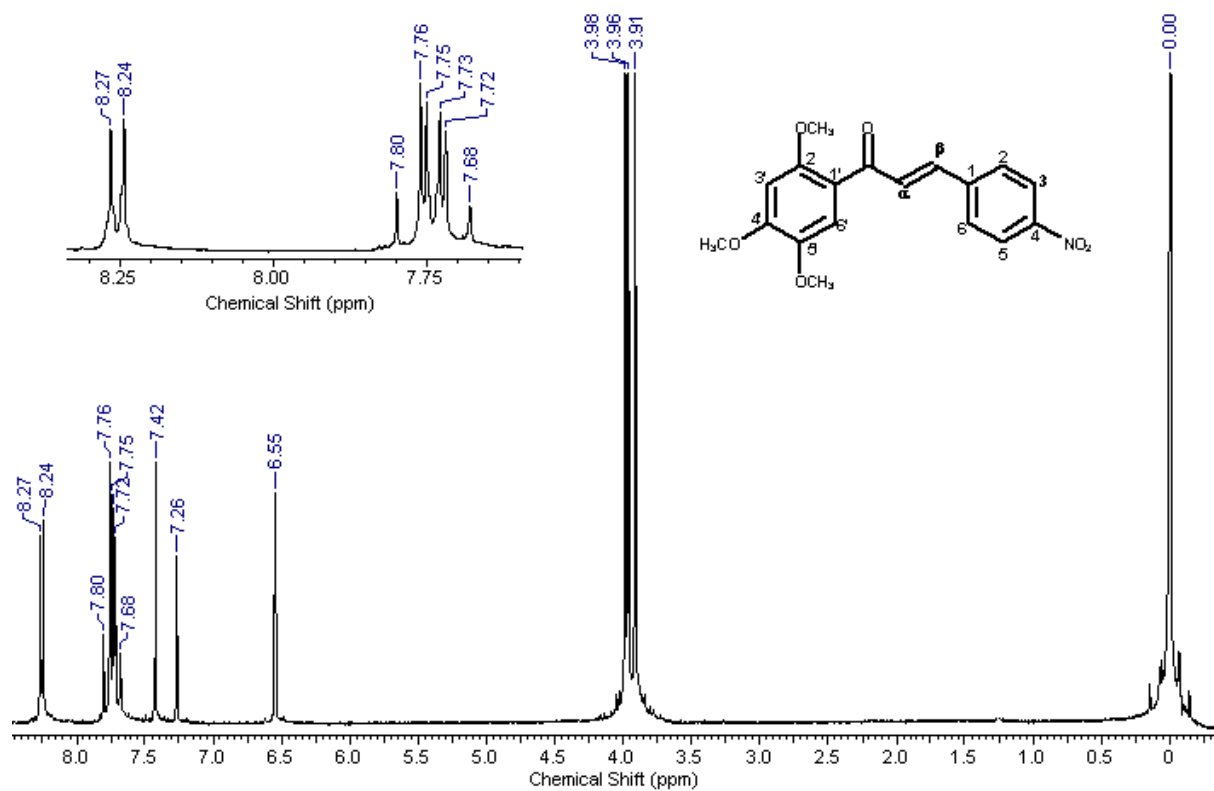


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **J7**.

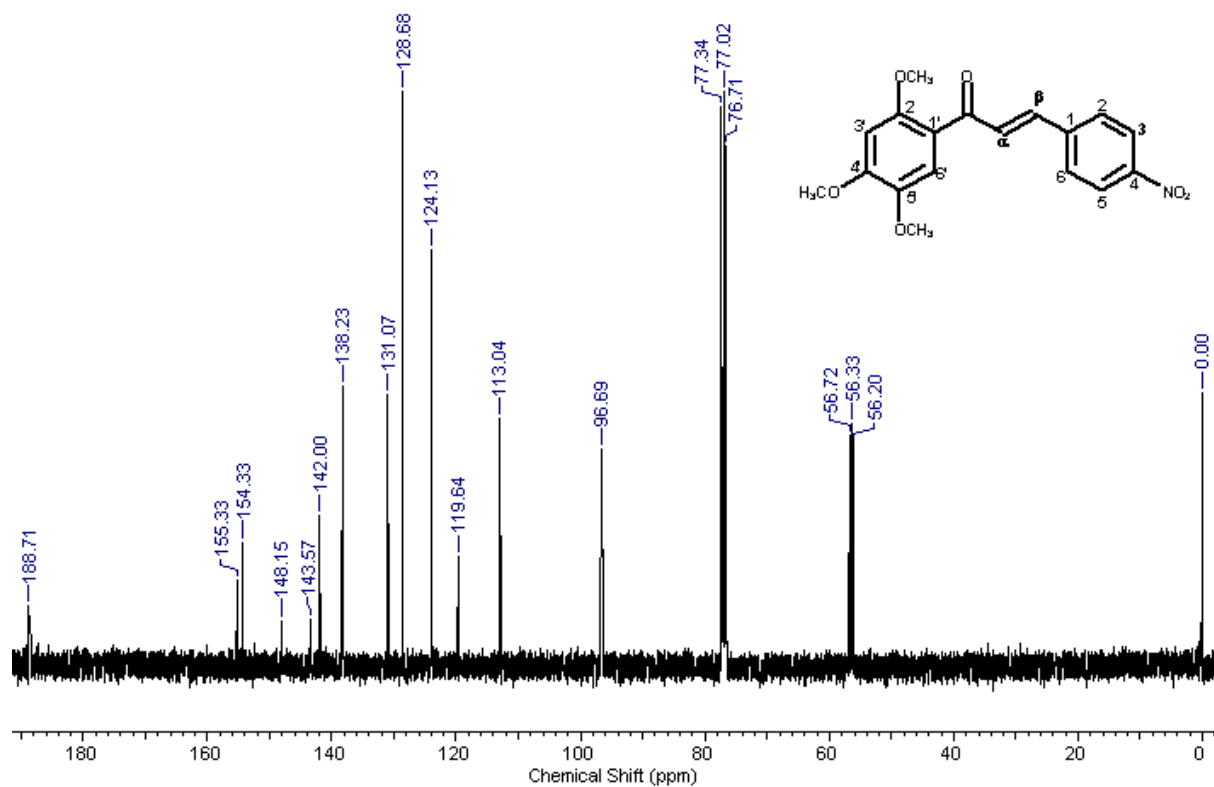


Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J7.

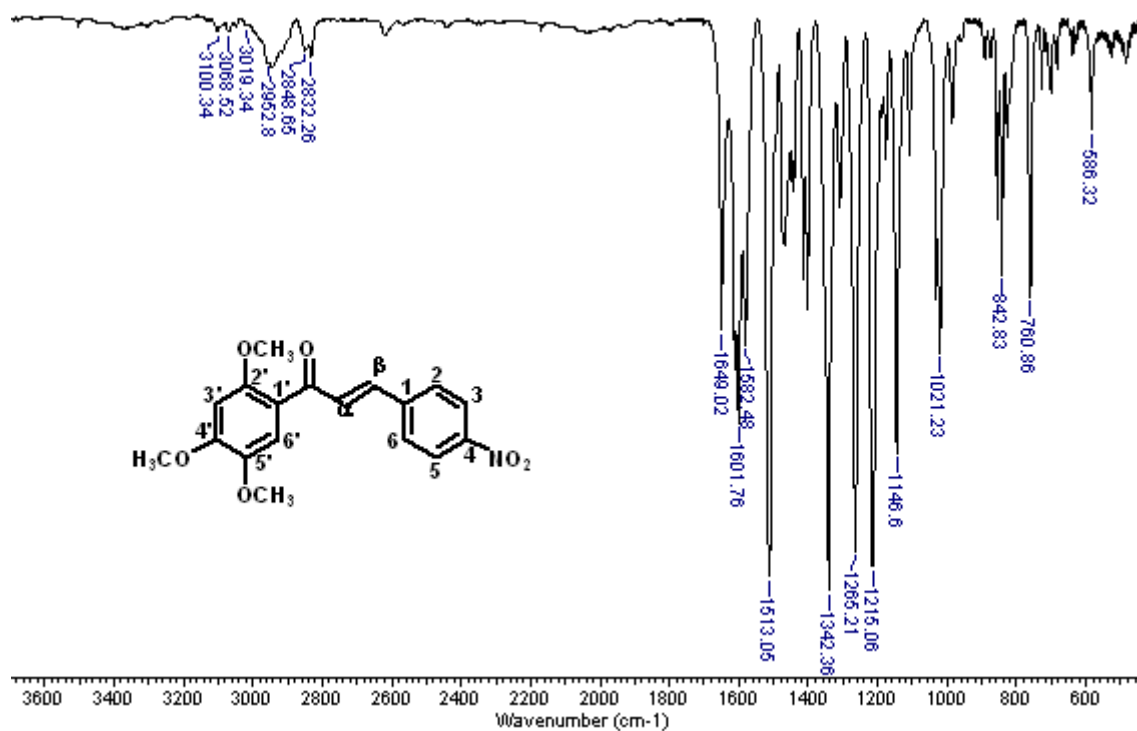


Figura 28. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J7.

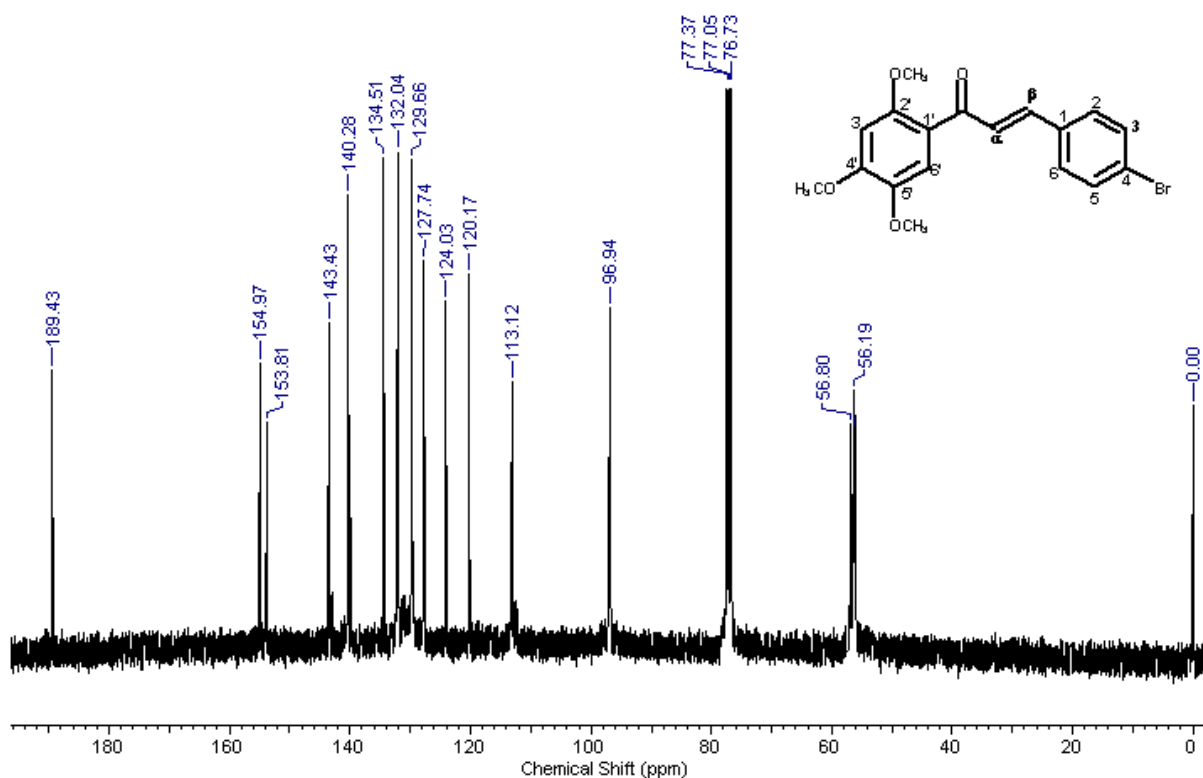


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J9**.

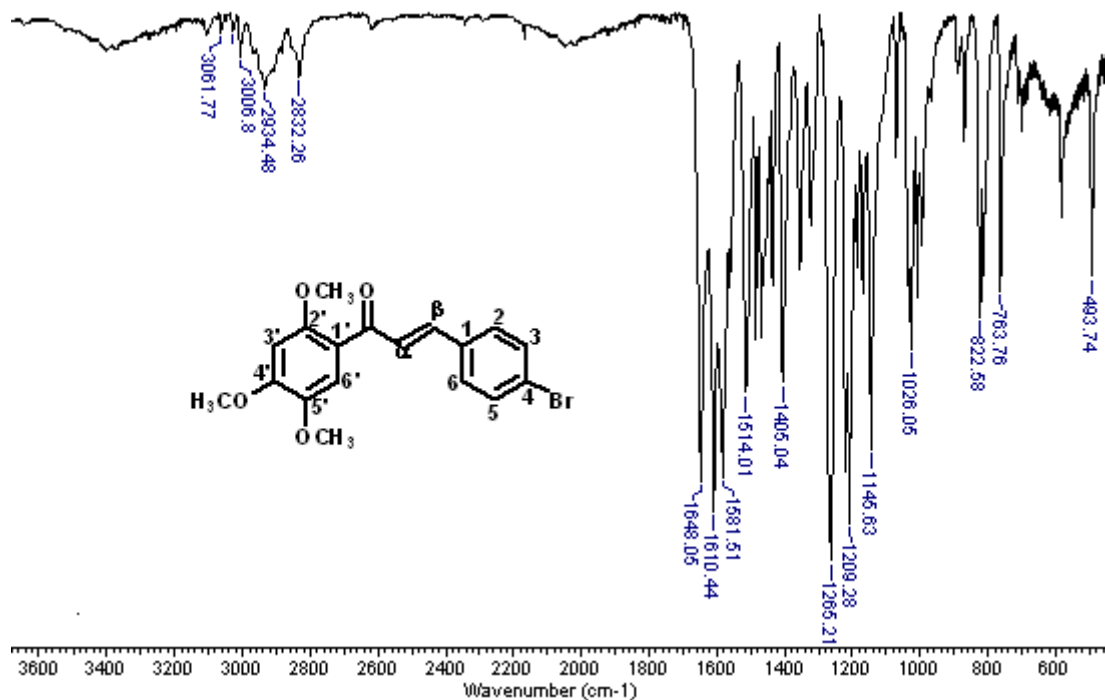


Figura 30. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona **J9**.

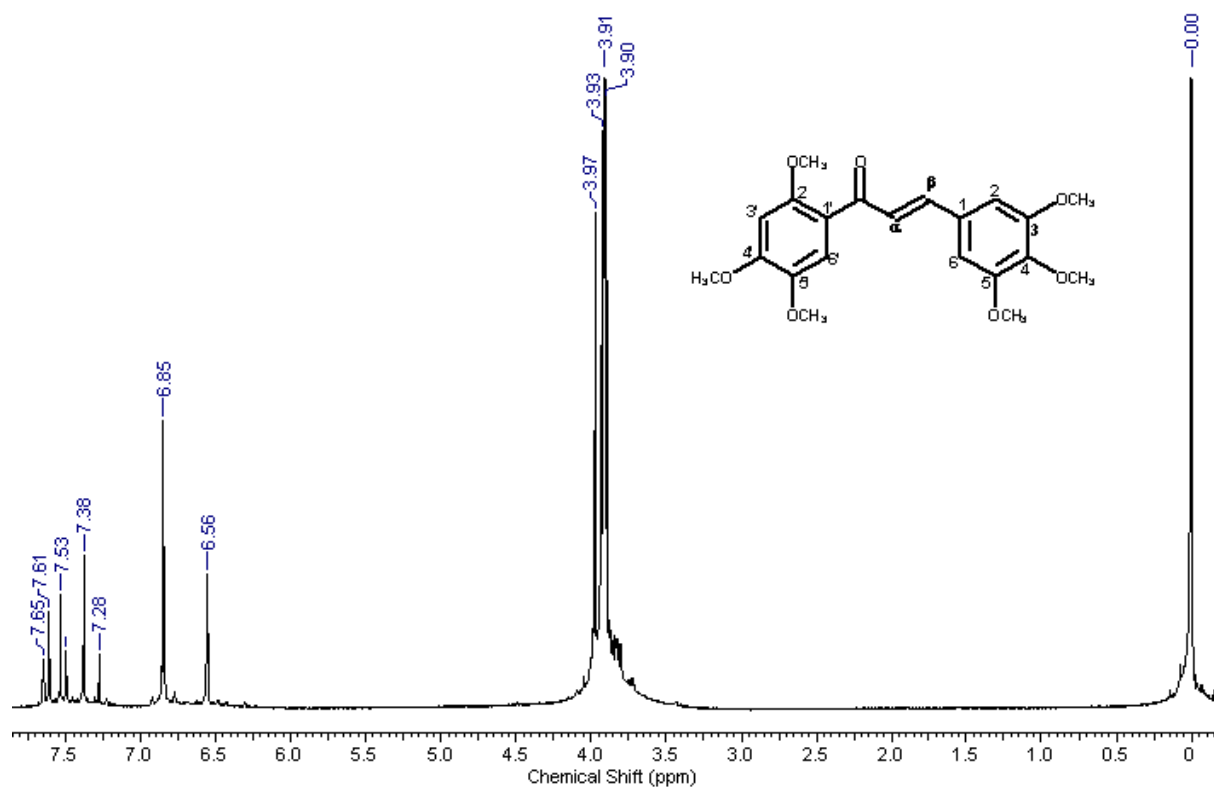


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **J10**.

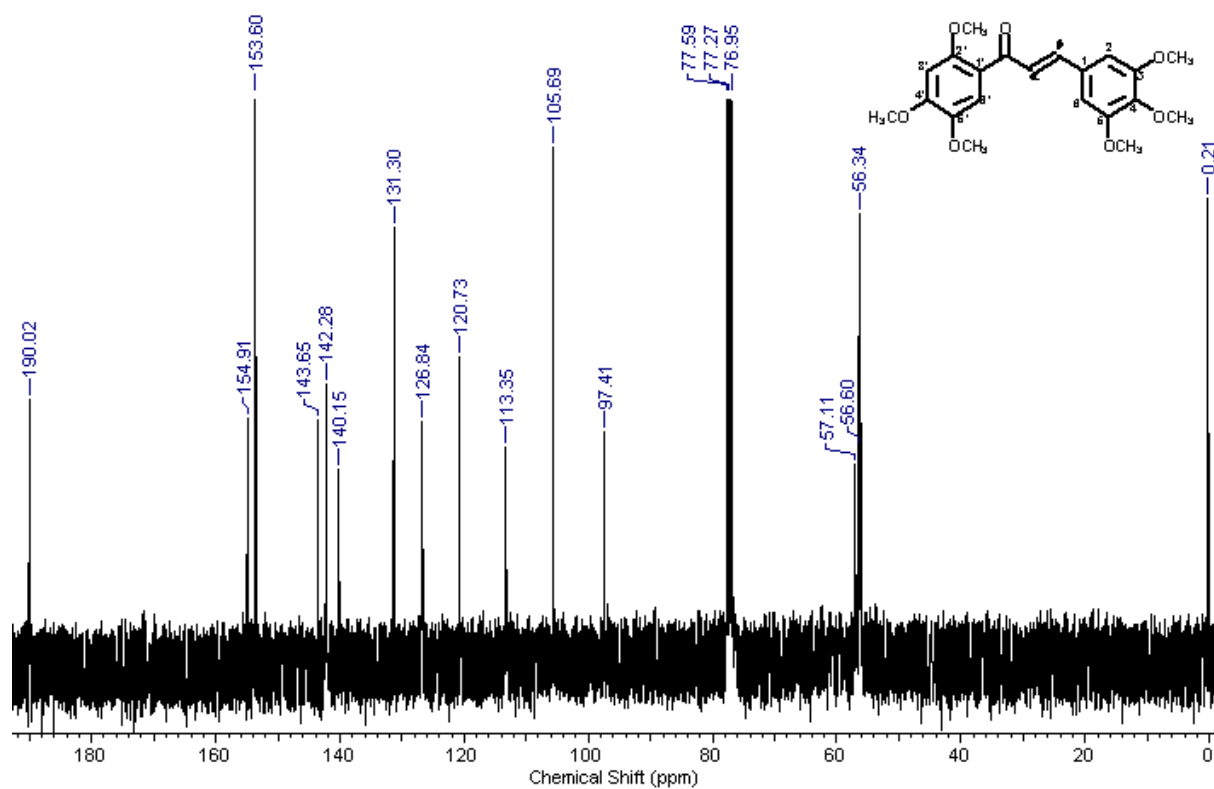


Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **J10**.

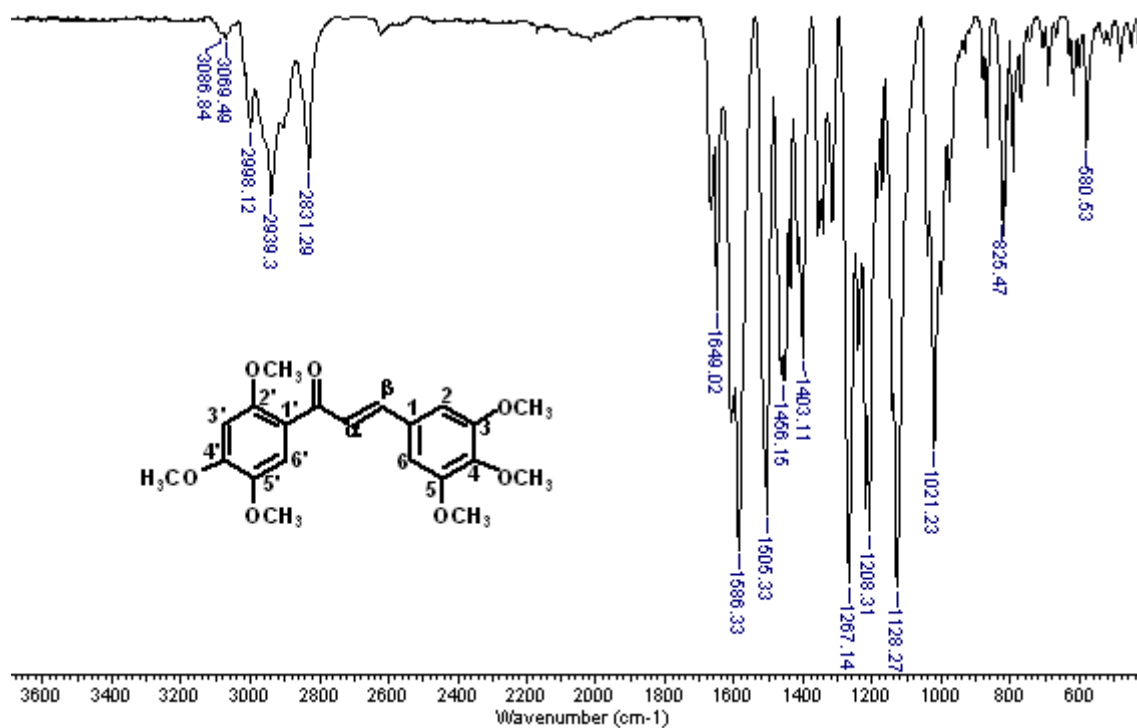


Figura 33. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J10.

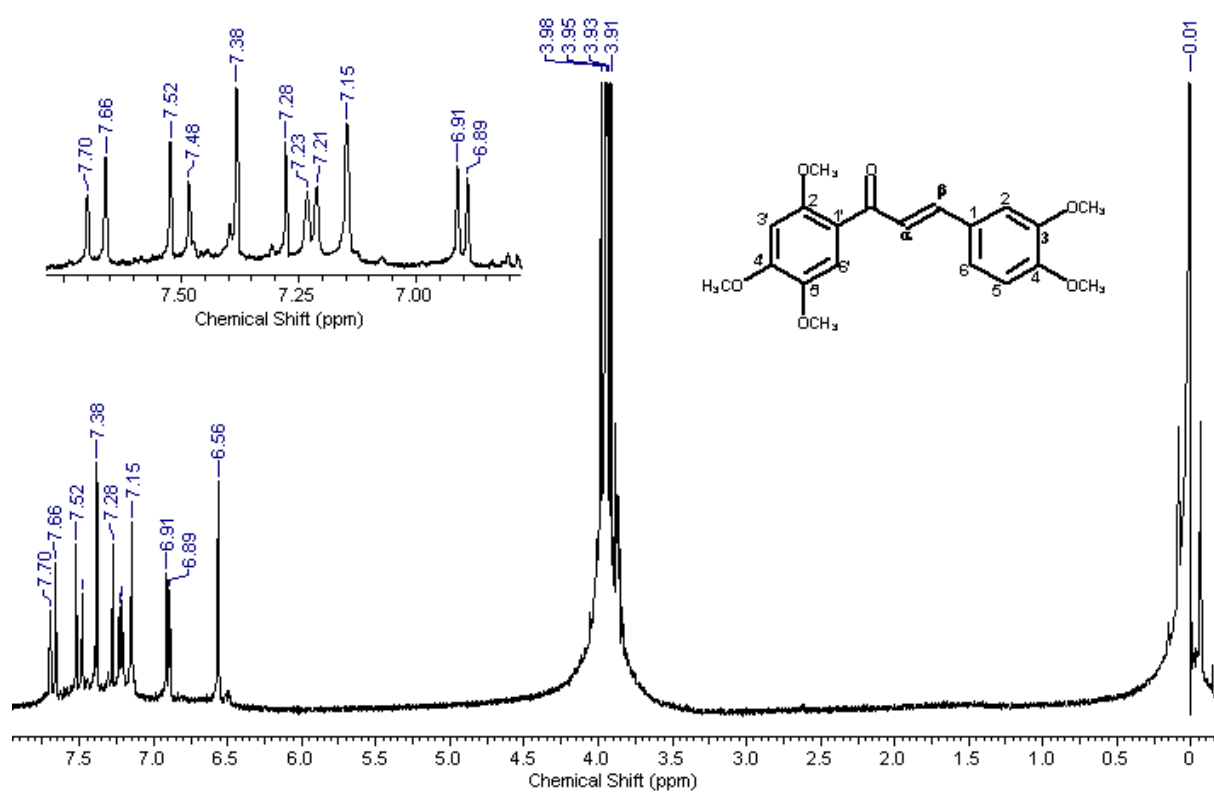


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da chalcona J11.

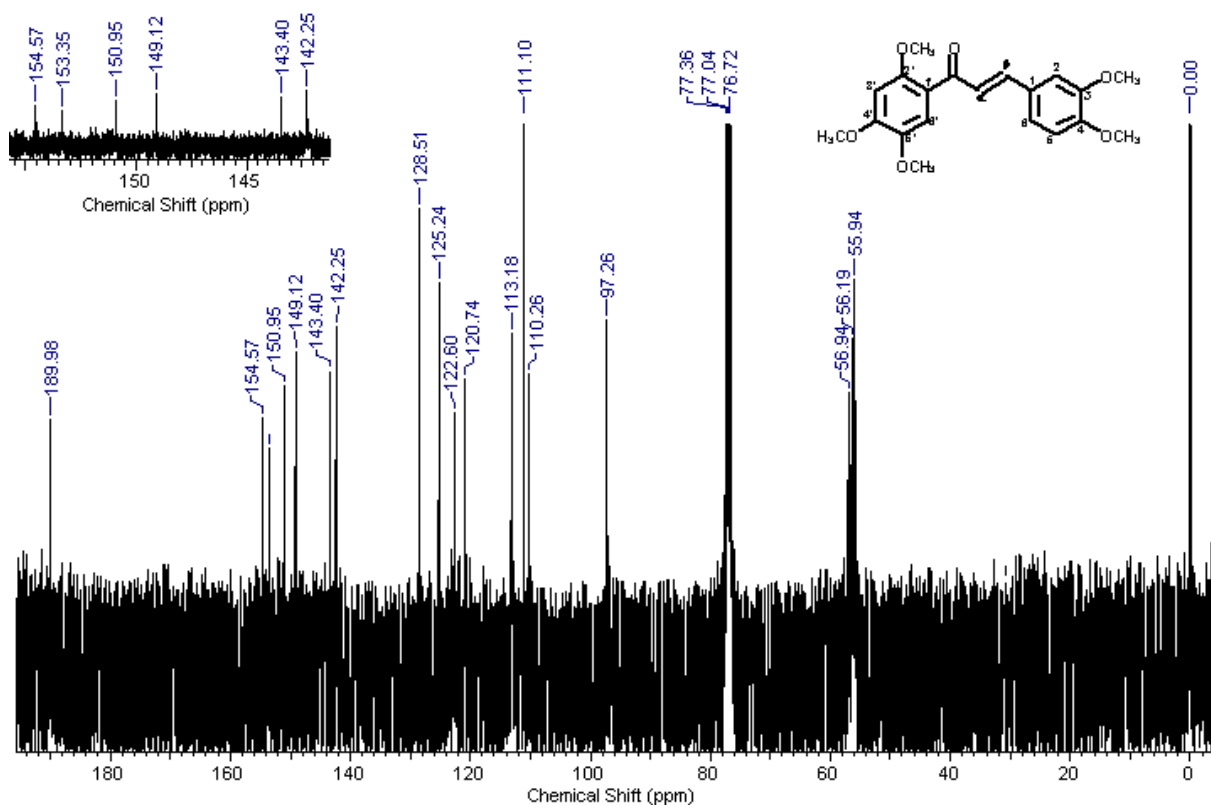


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J11.

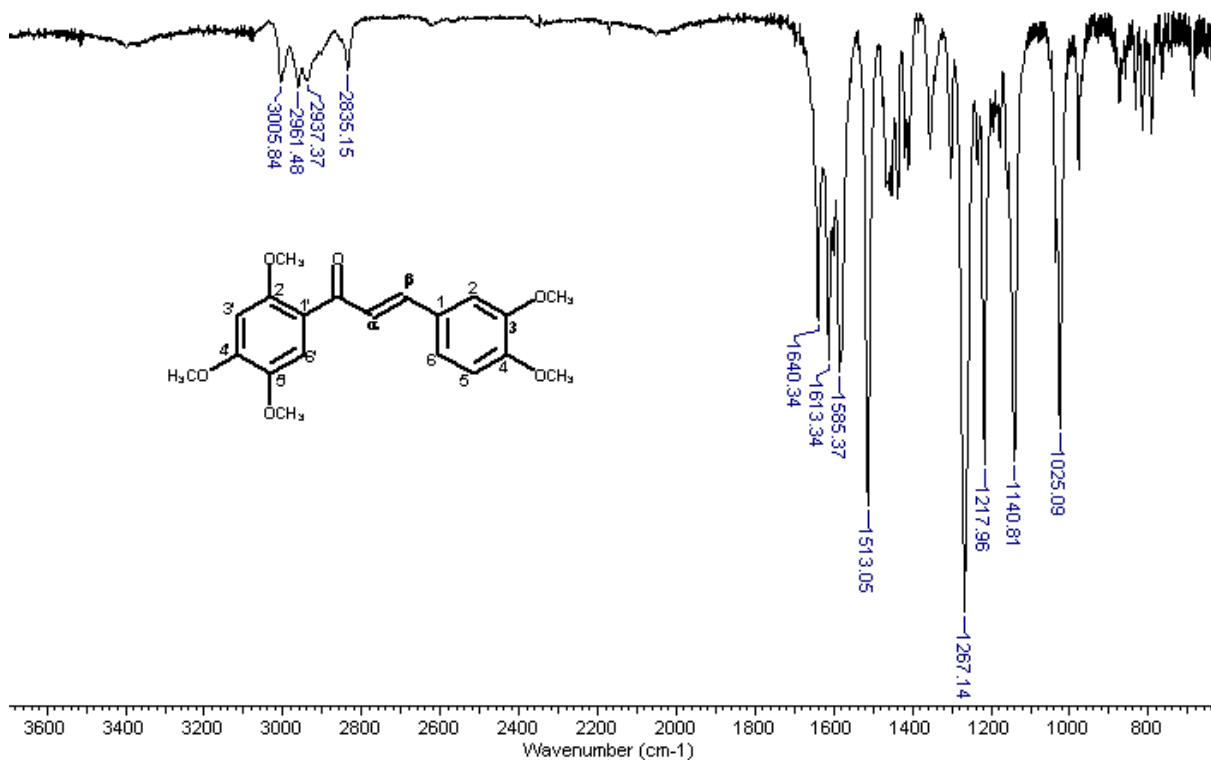


Figura 36. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J11.

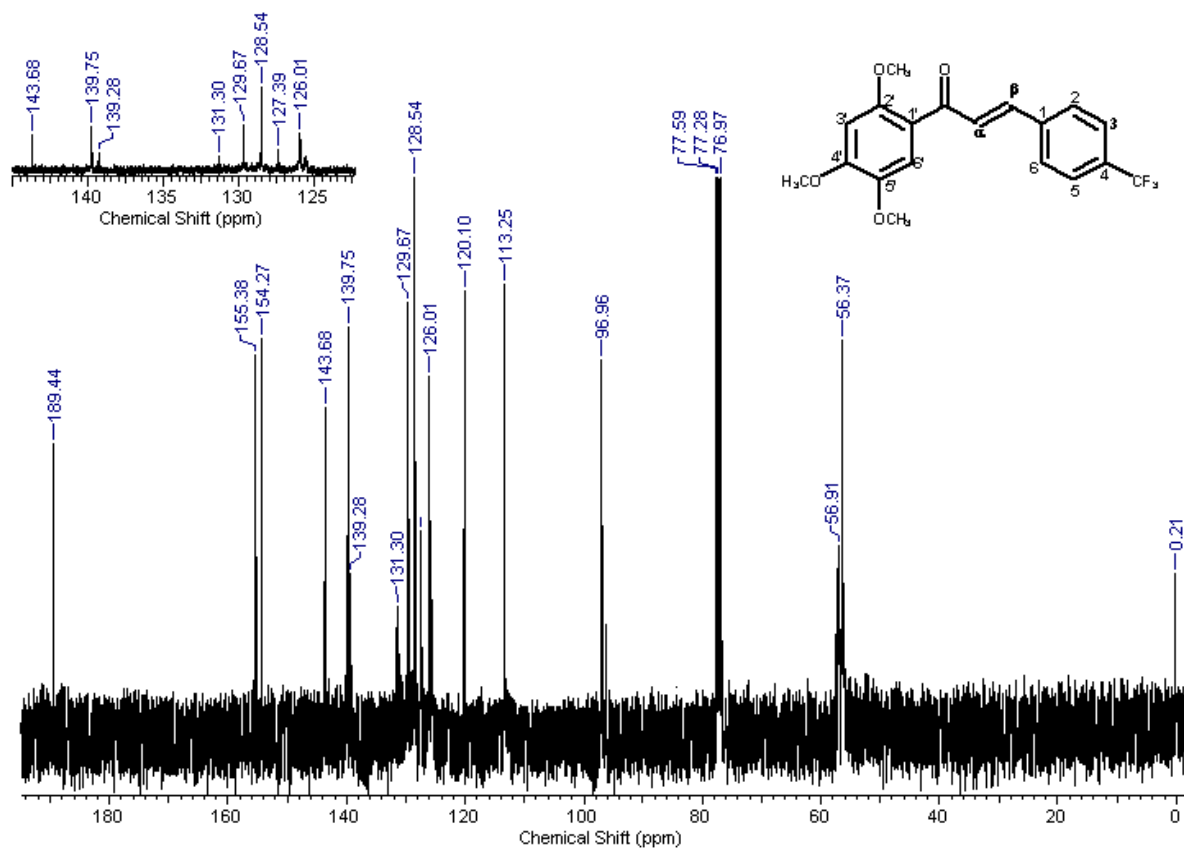


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J12.

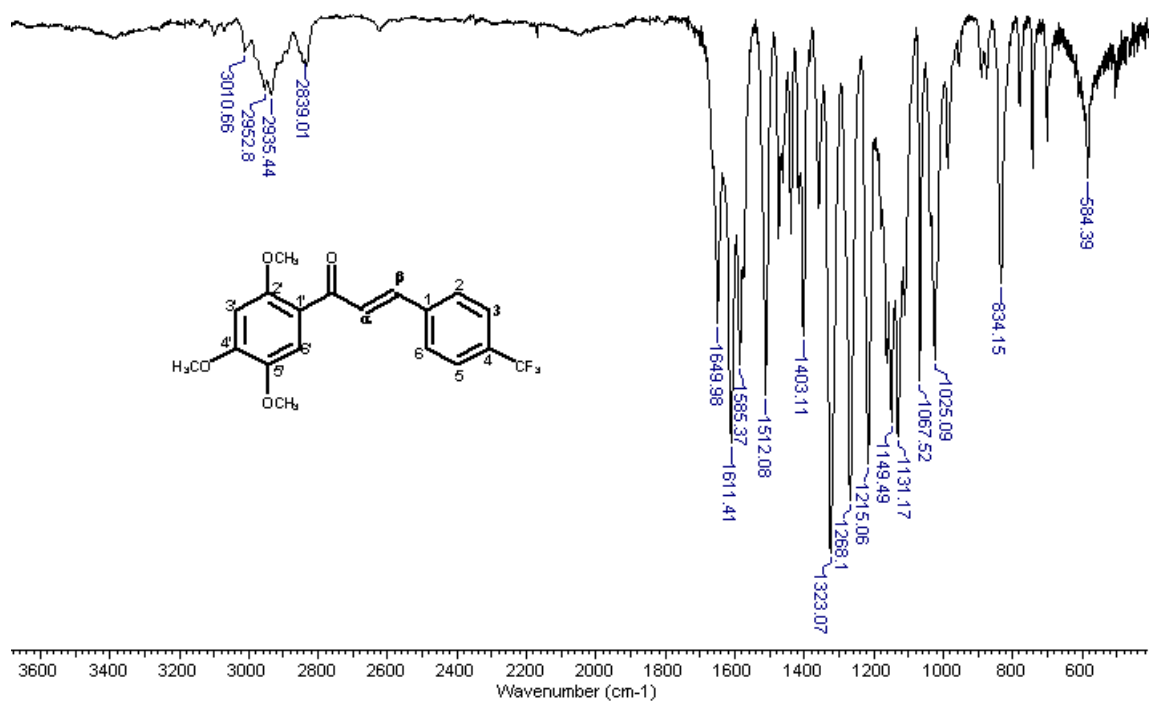


Figura 38. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J12.

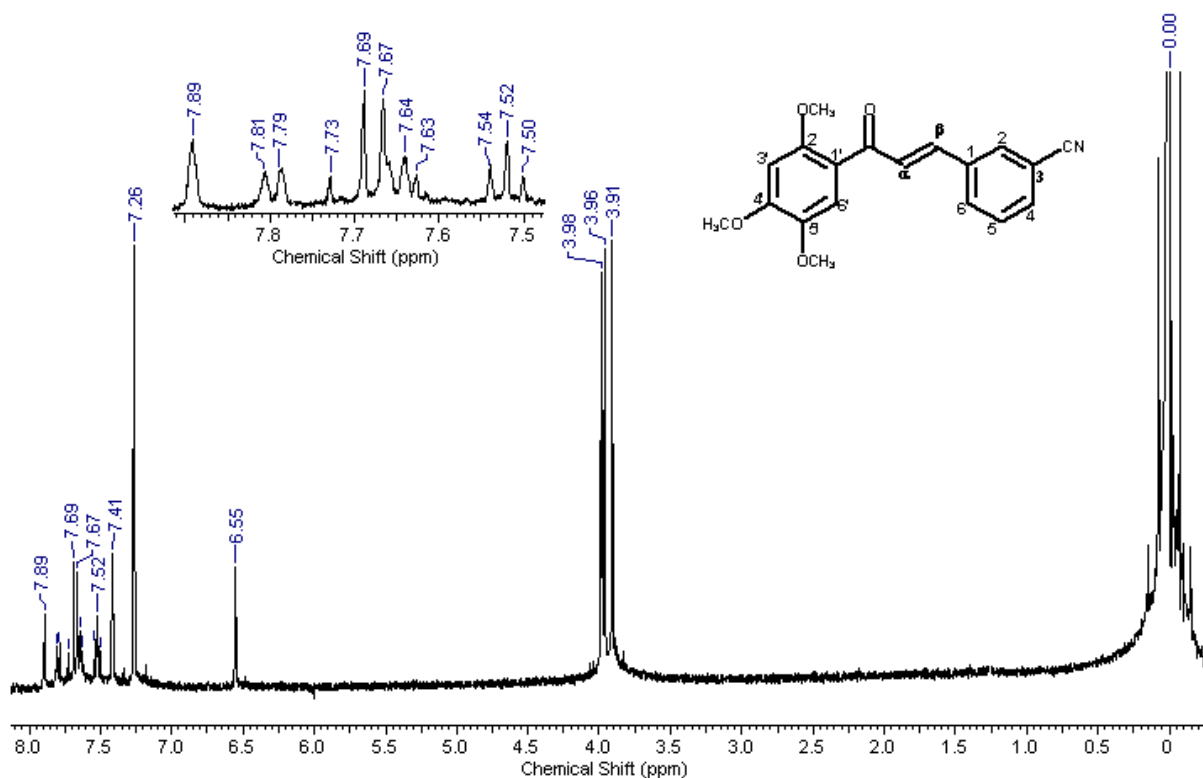


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona J13.

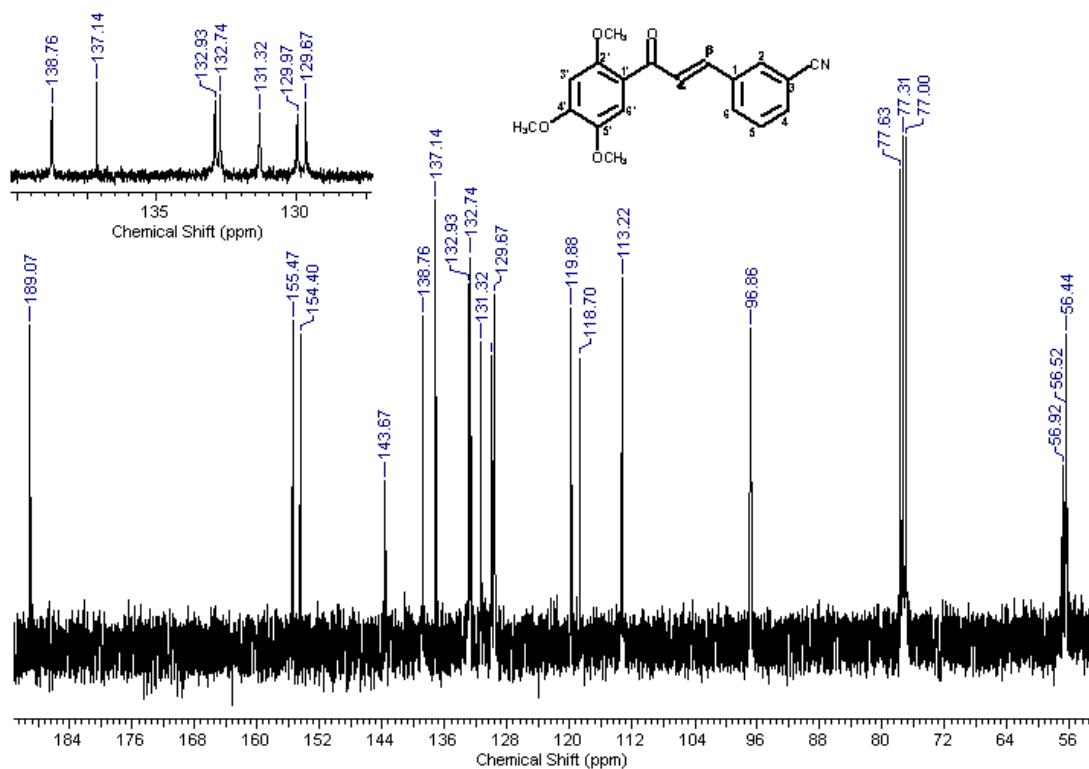


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona J13.

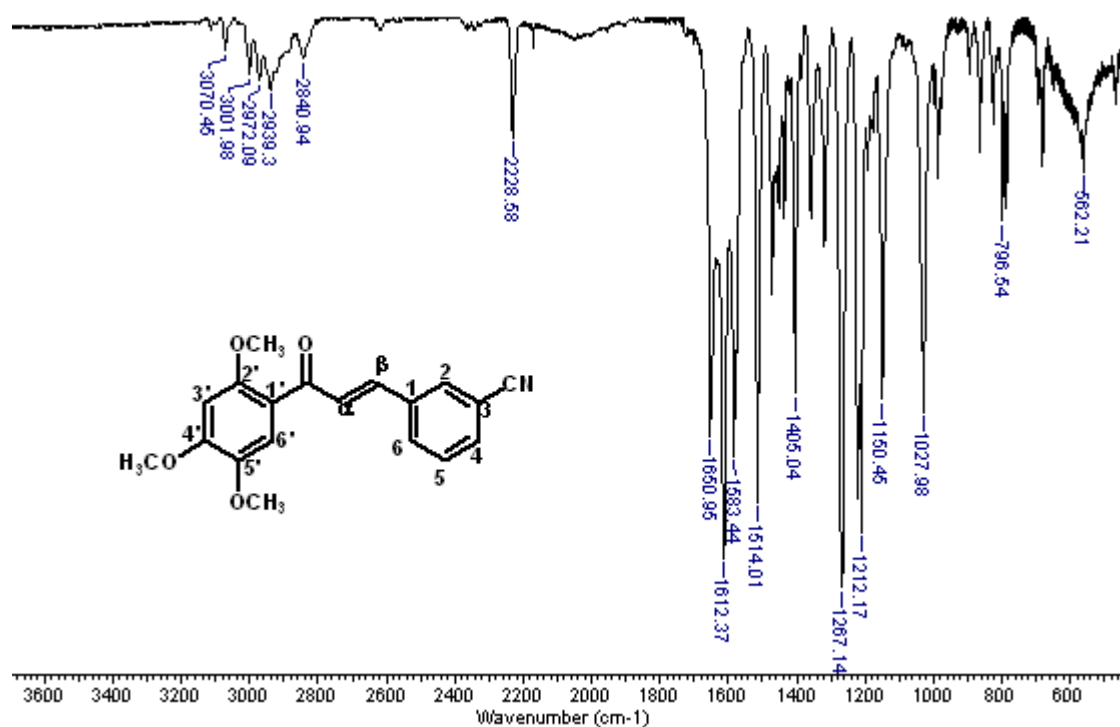


Figura 41. Espectro de IV (pastilha de KBr) da chalcona J13.

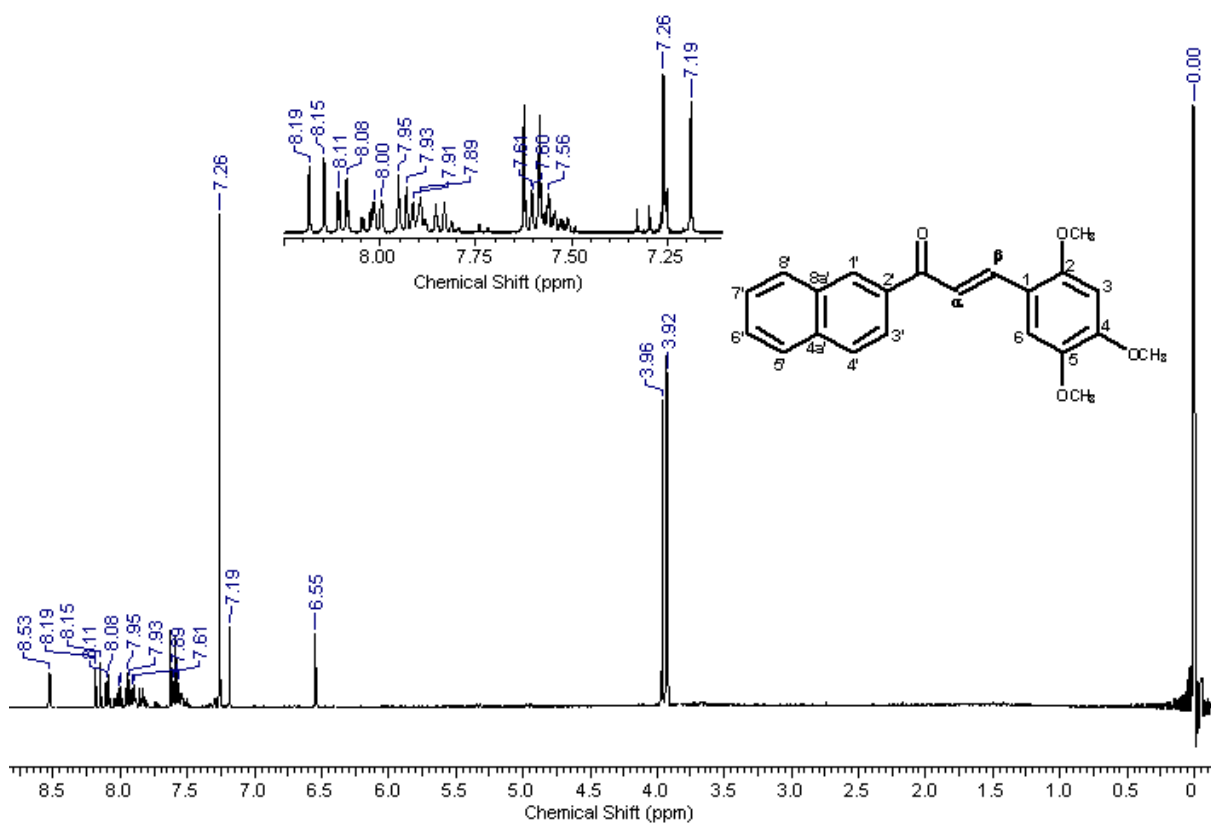


Figura 42. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D1.

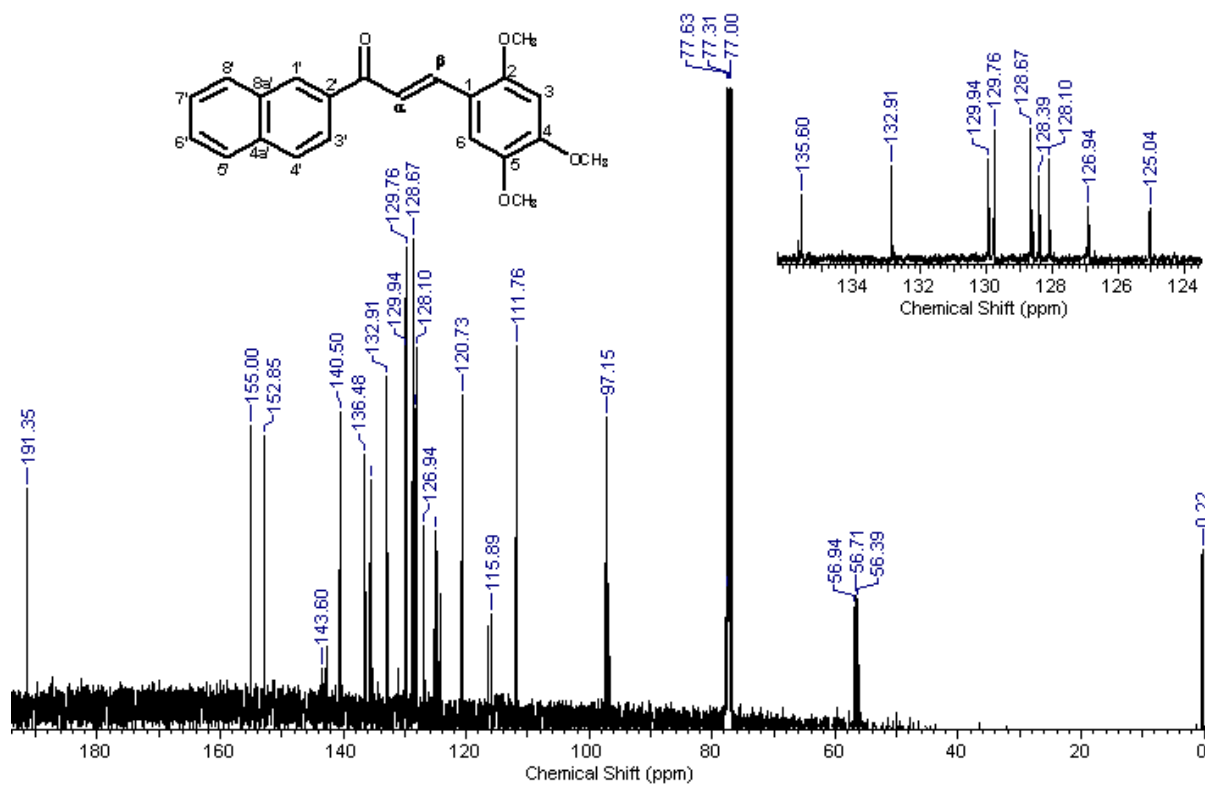


Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D1.

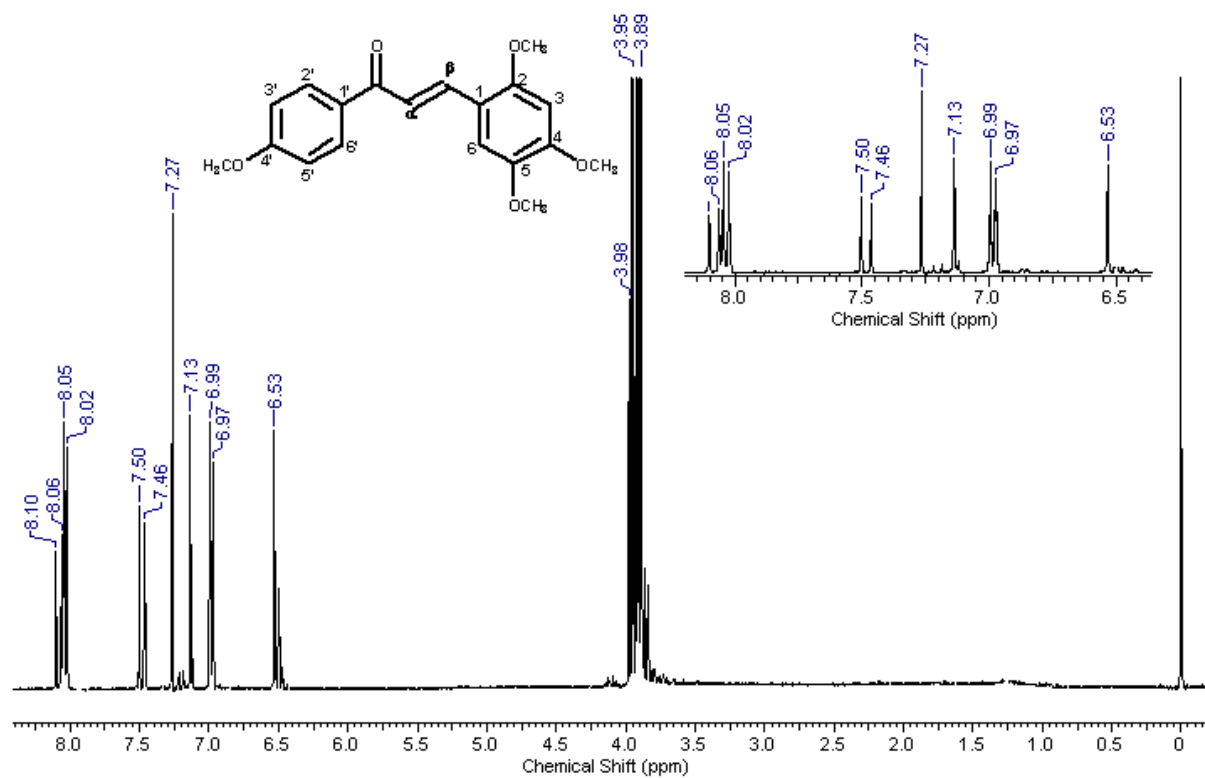


Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D2.

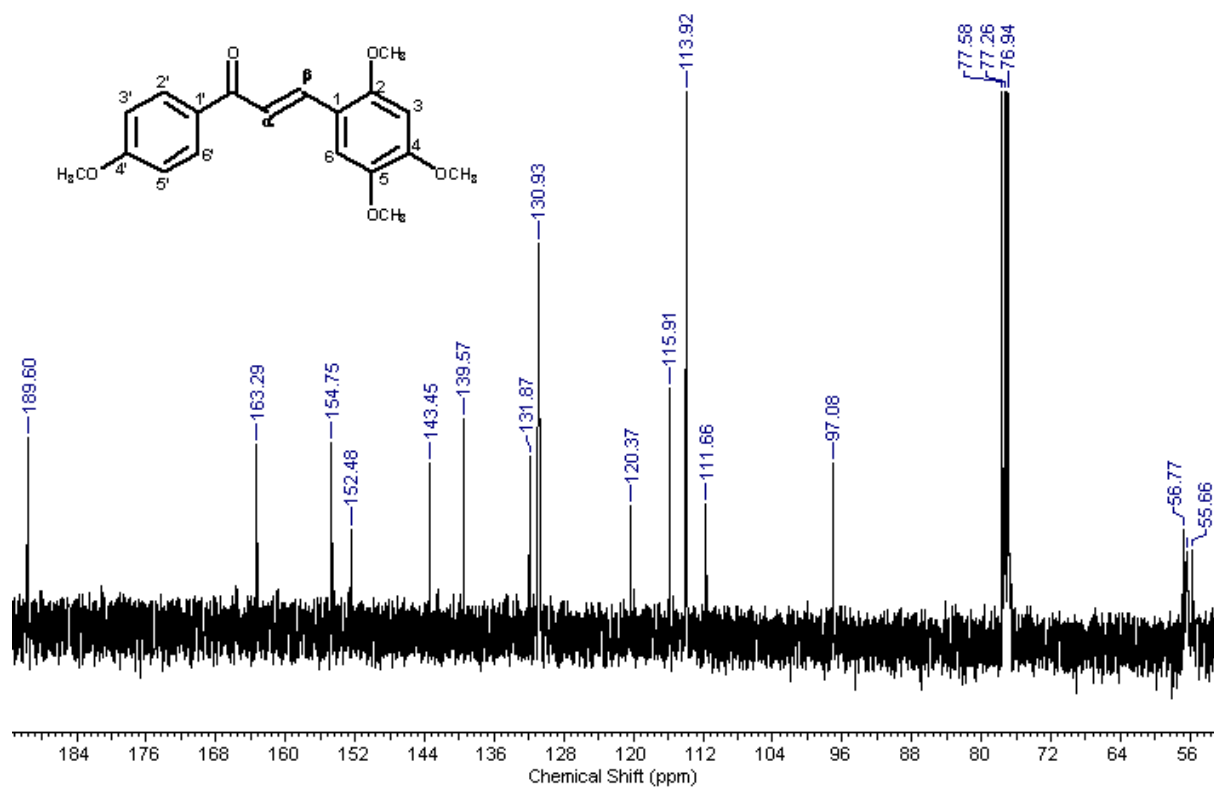


Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D2.

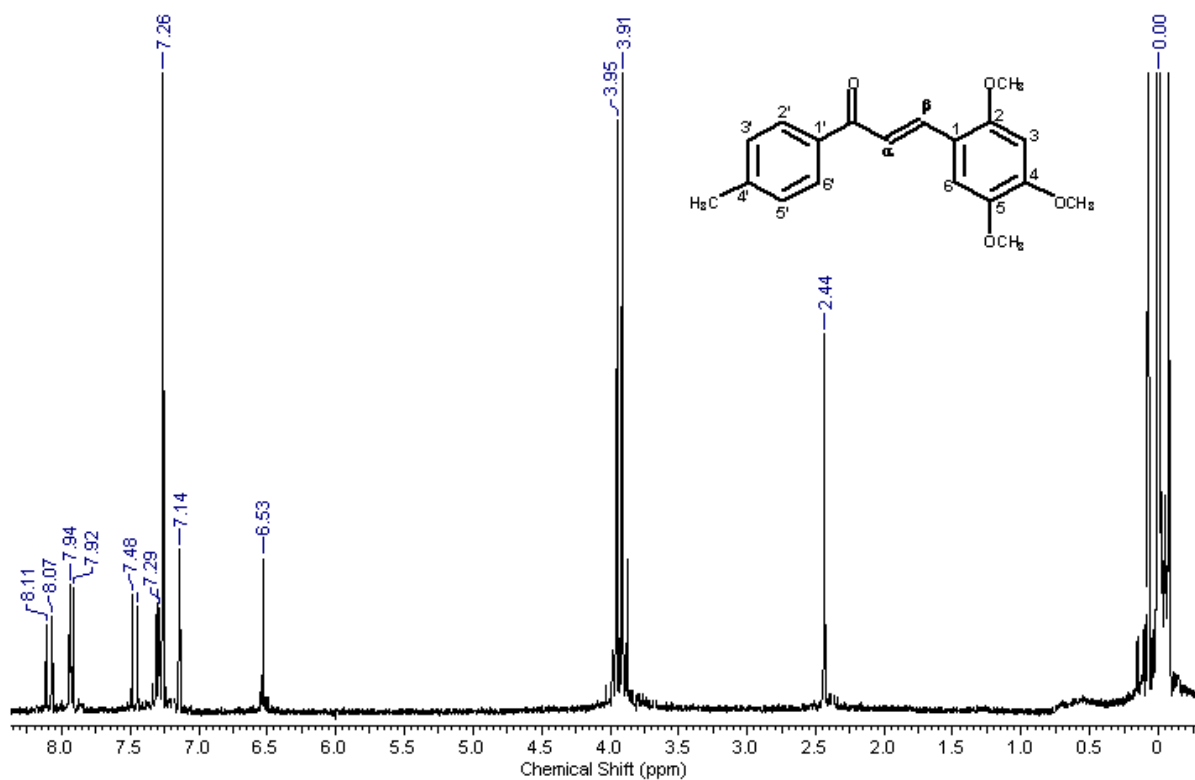


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D3.

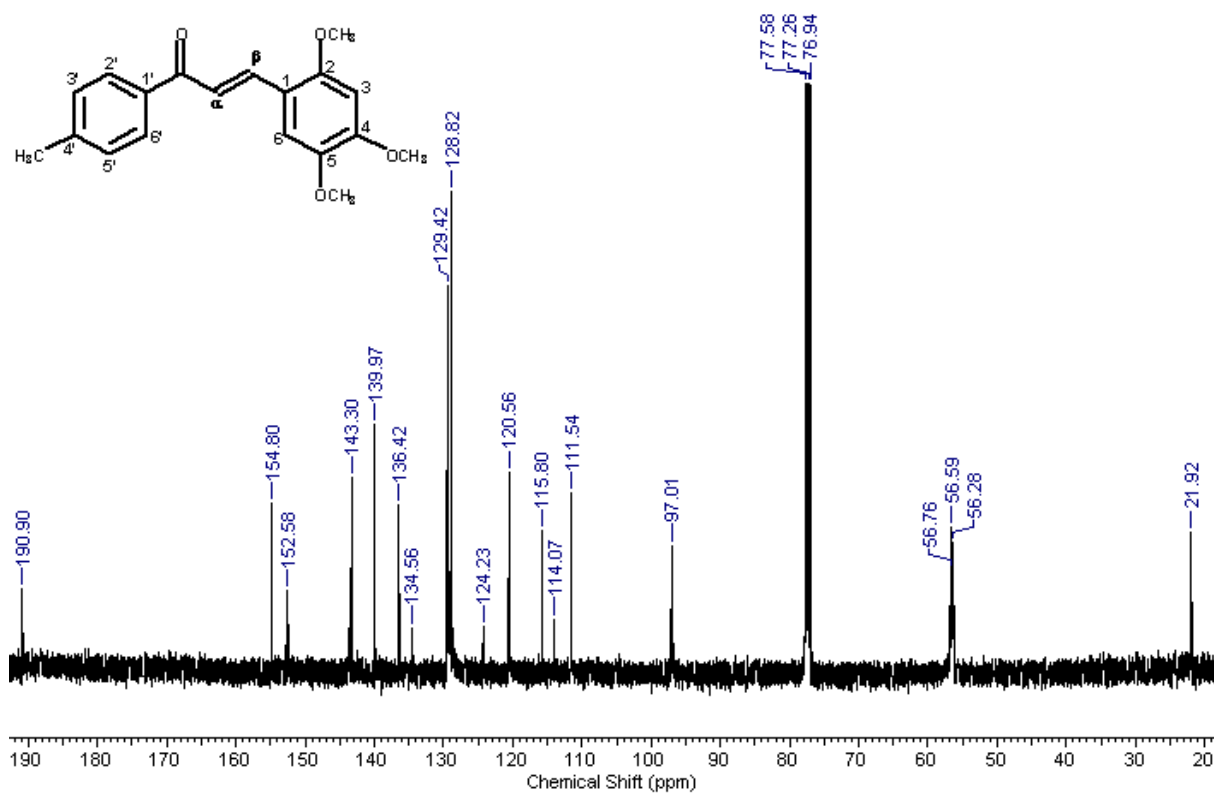


Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D3.

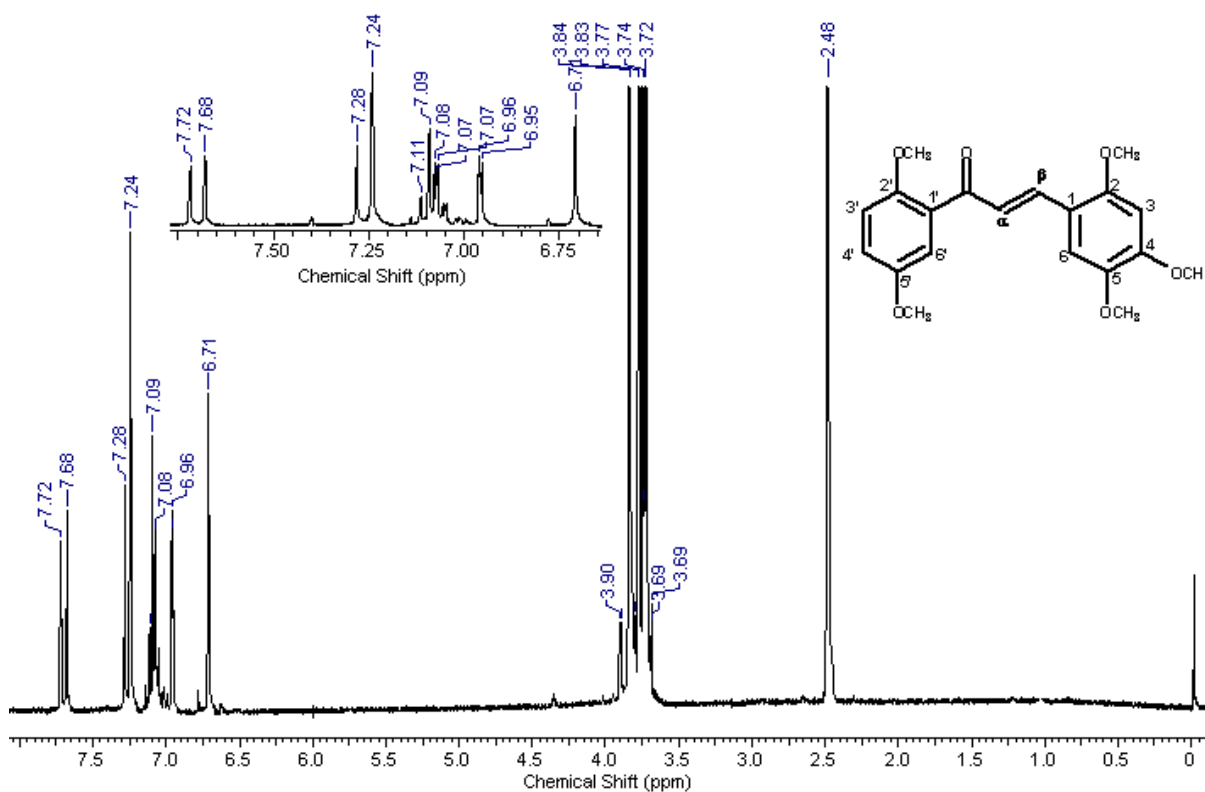


Figura 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona D5.

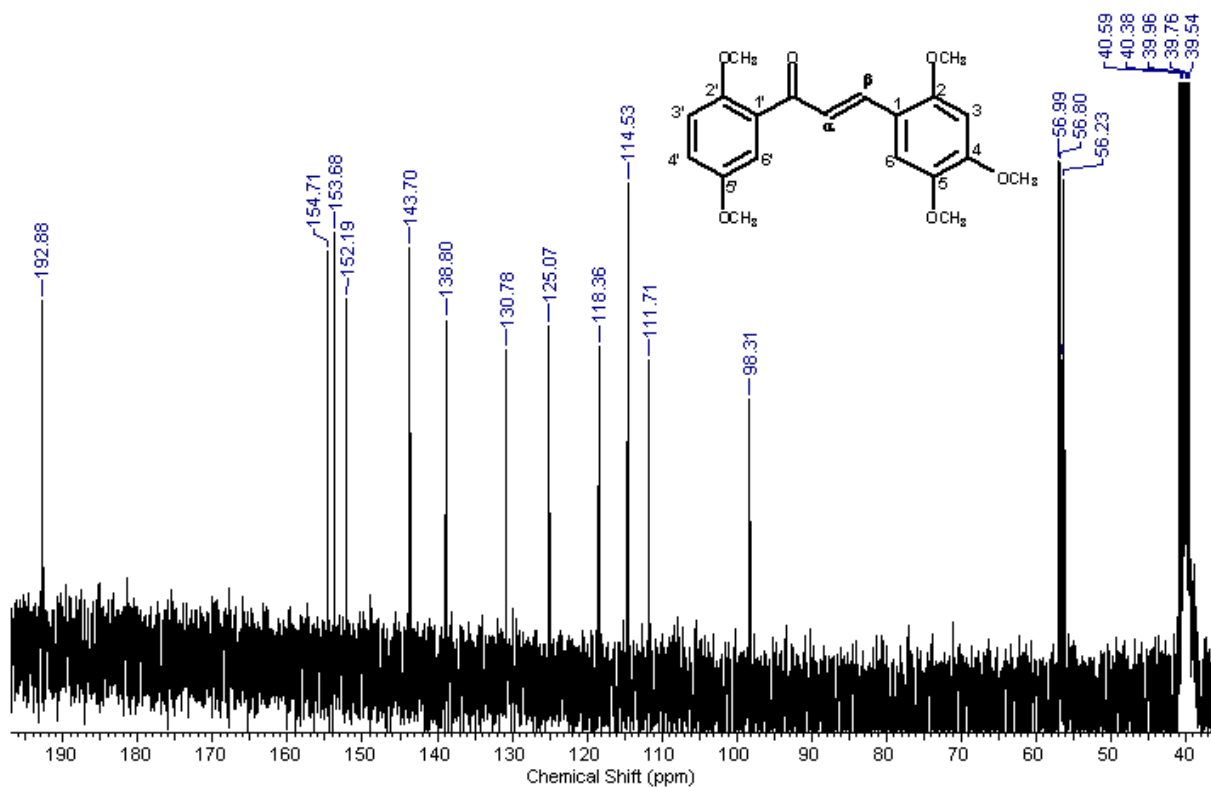


Figura 49. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D5.

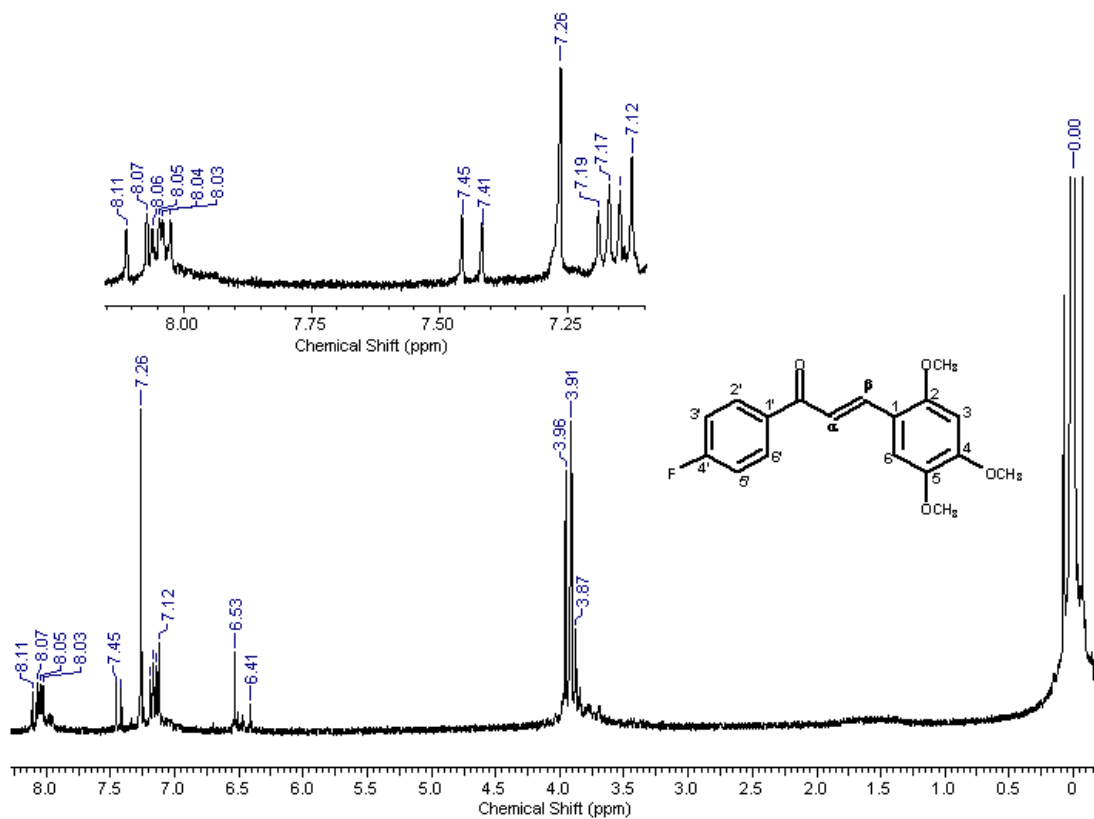


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D6.

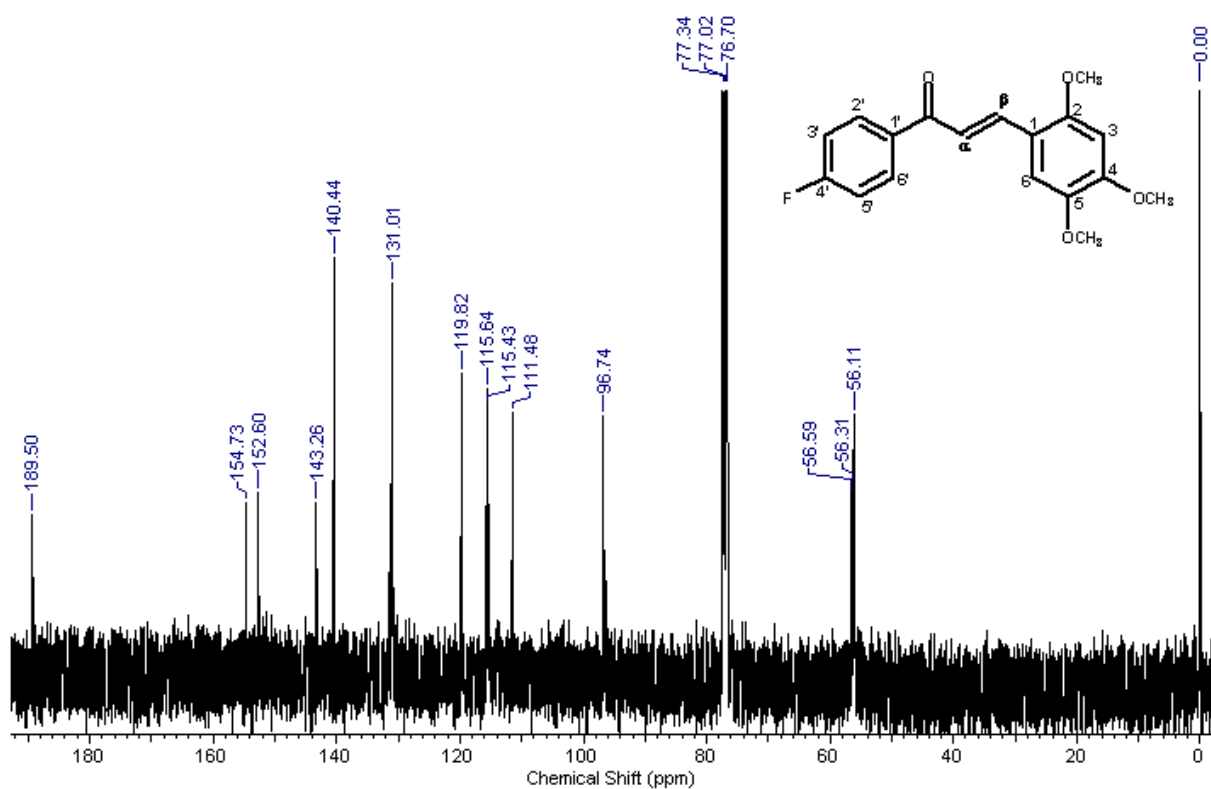


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **D6**.

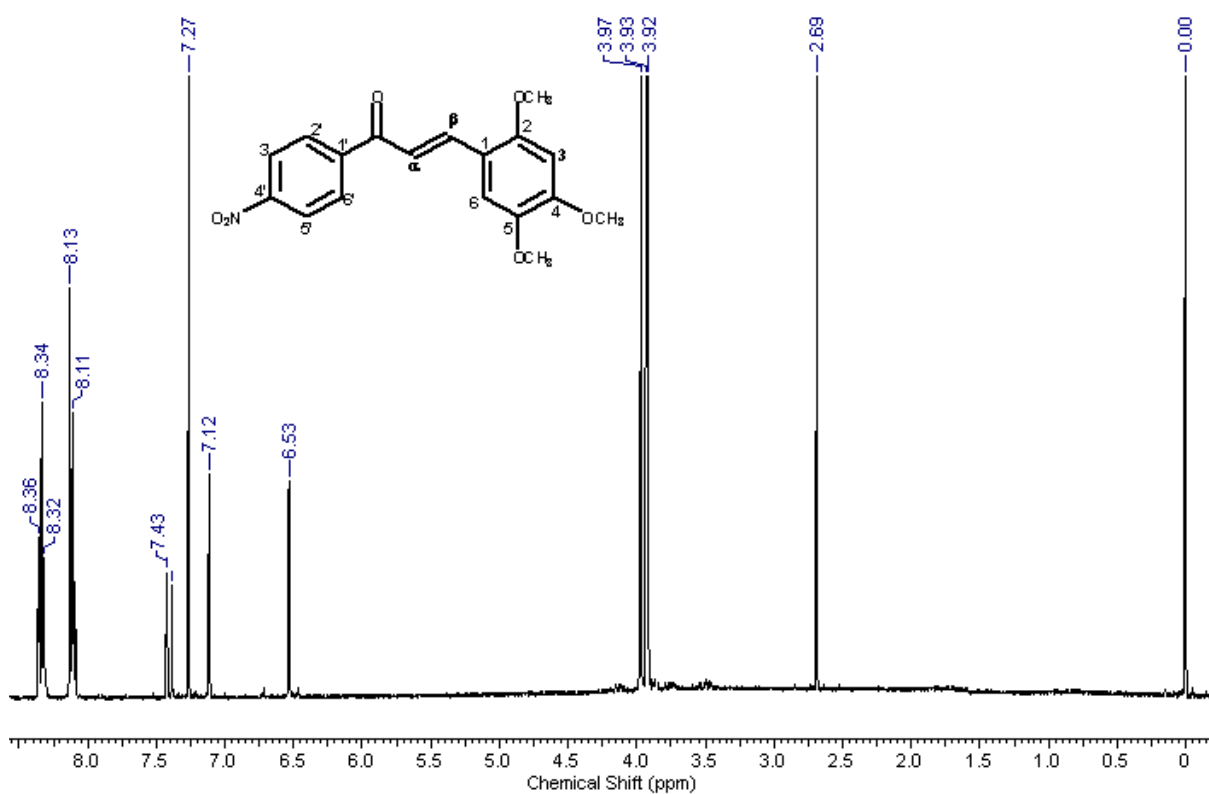


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **D7**.

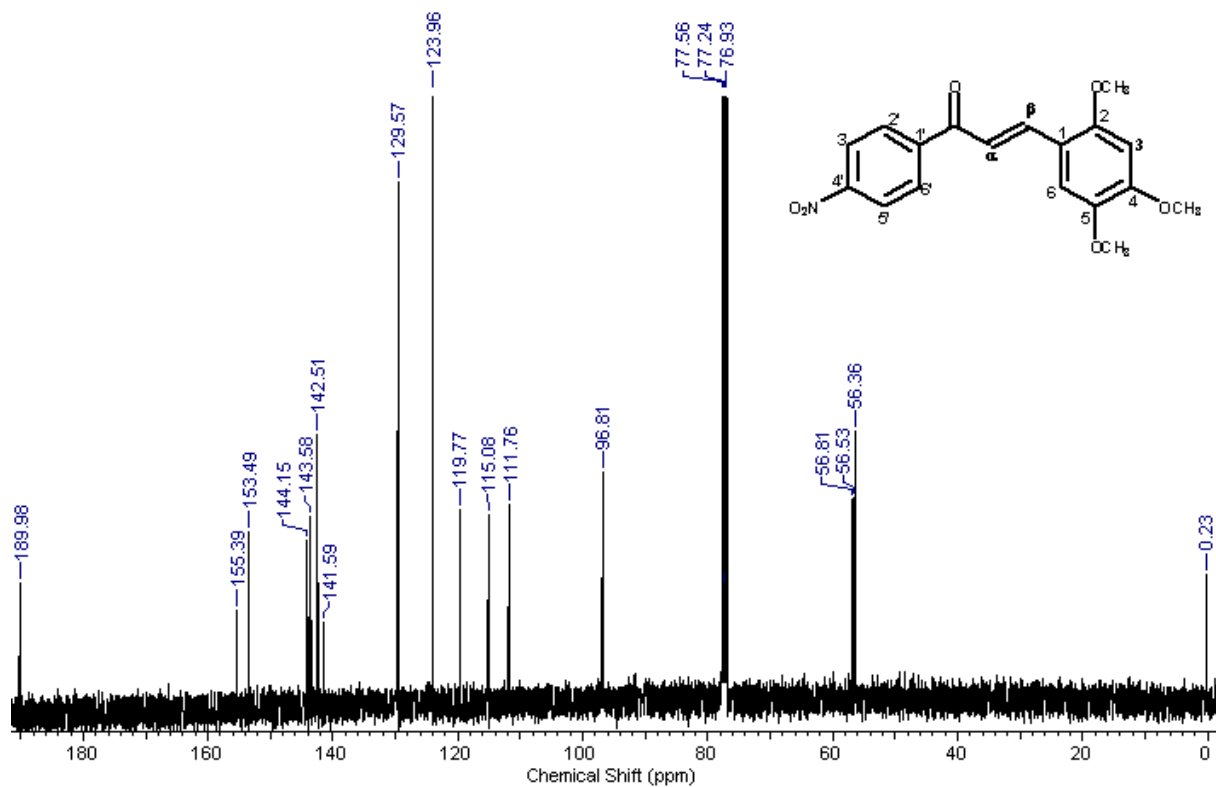


Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **D7**.

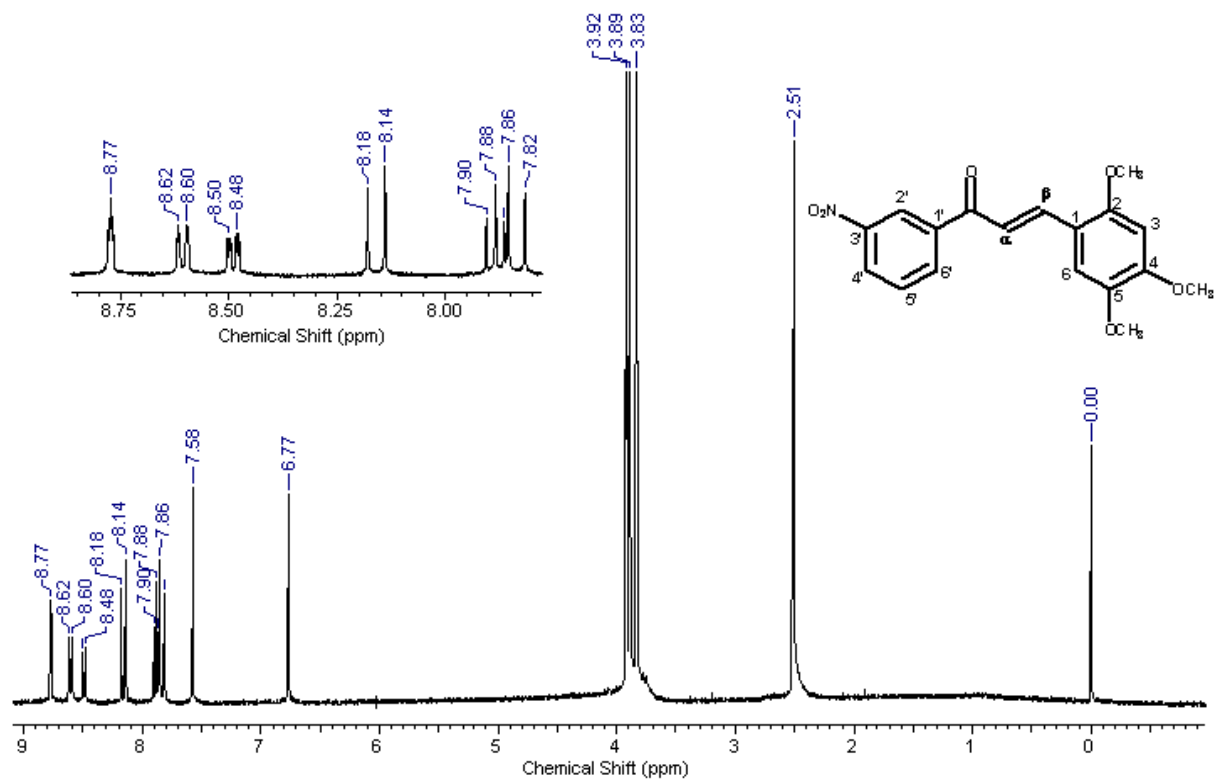


Figura 54. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona **D8**.

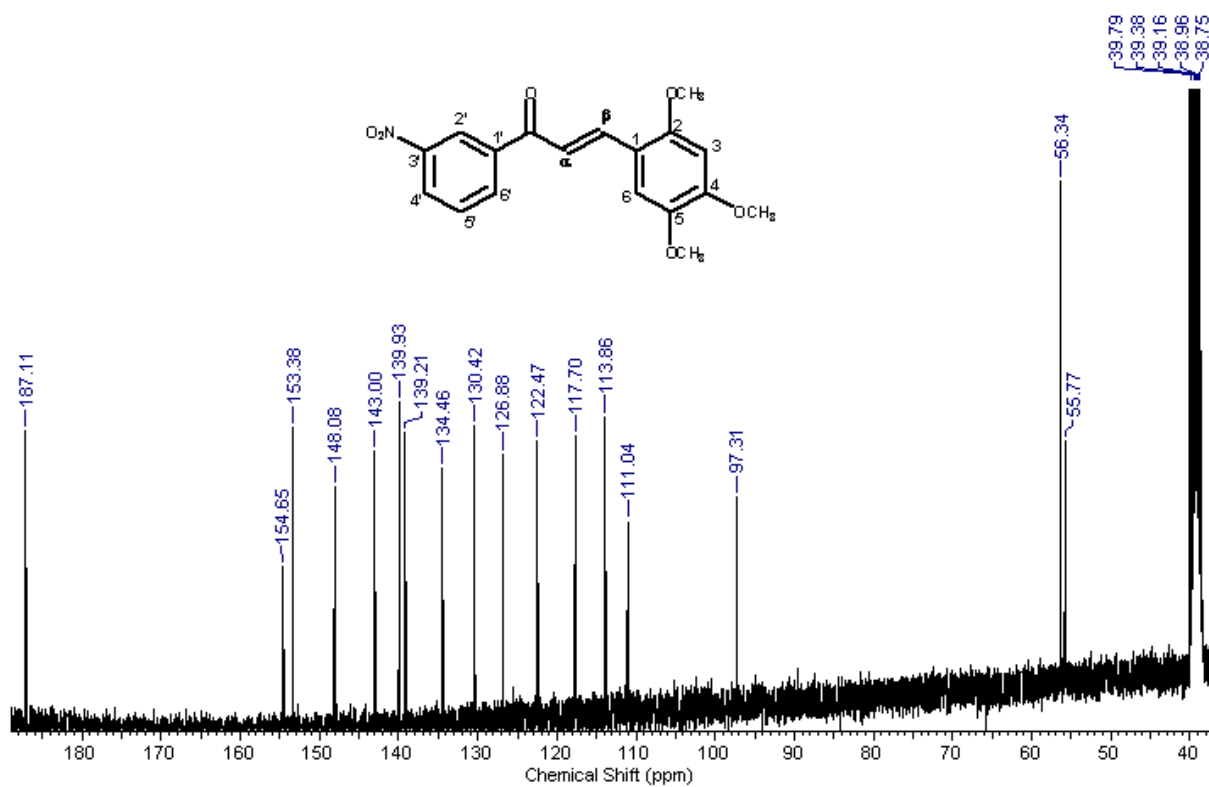


Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D8.

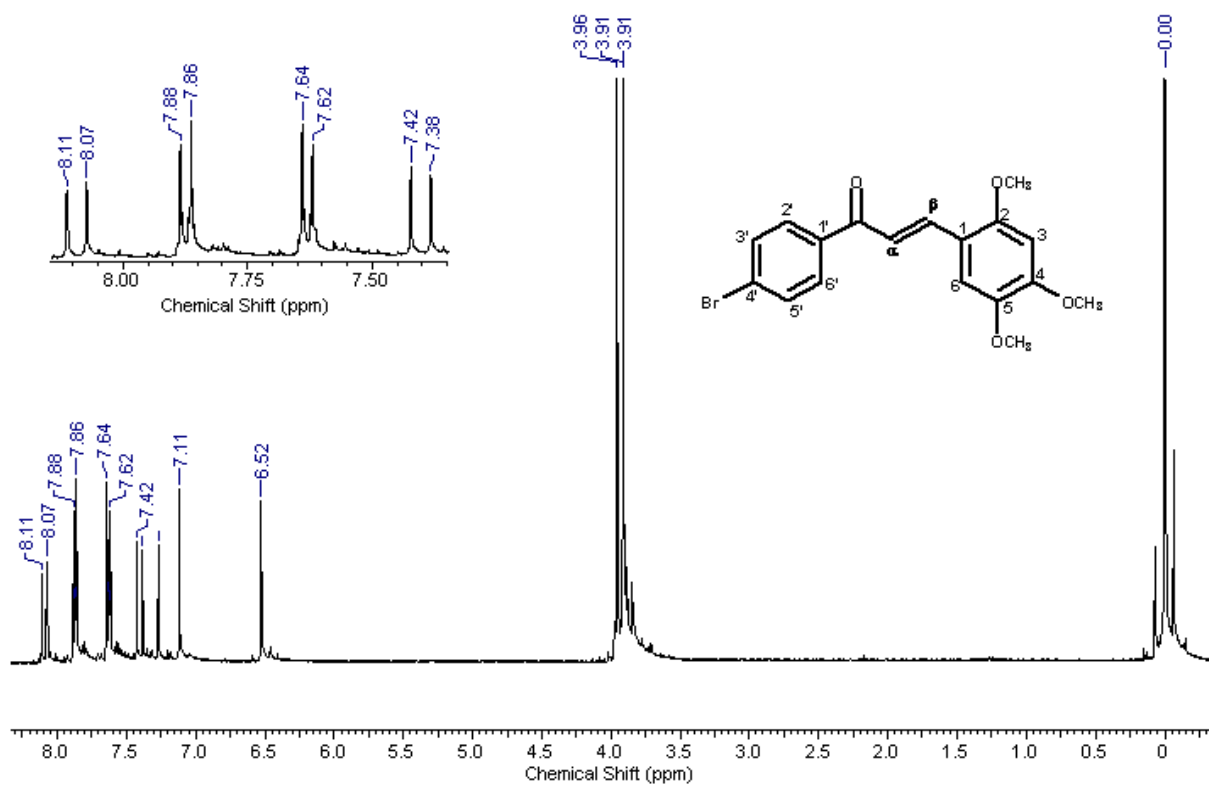


Figura 56. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D9.

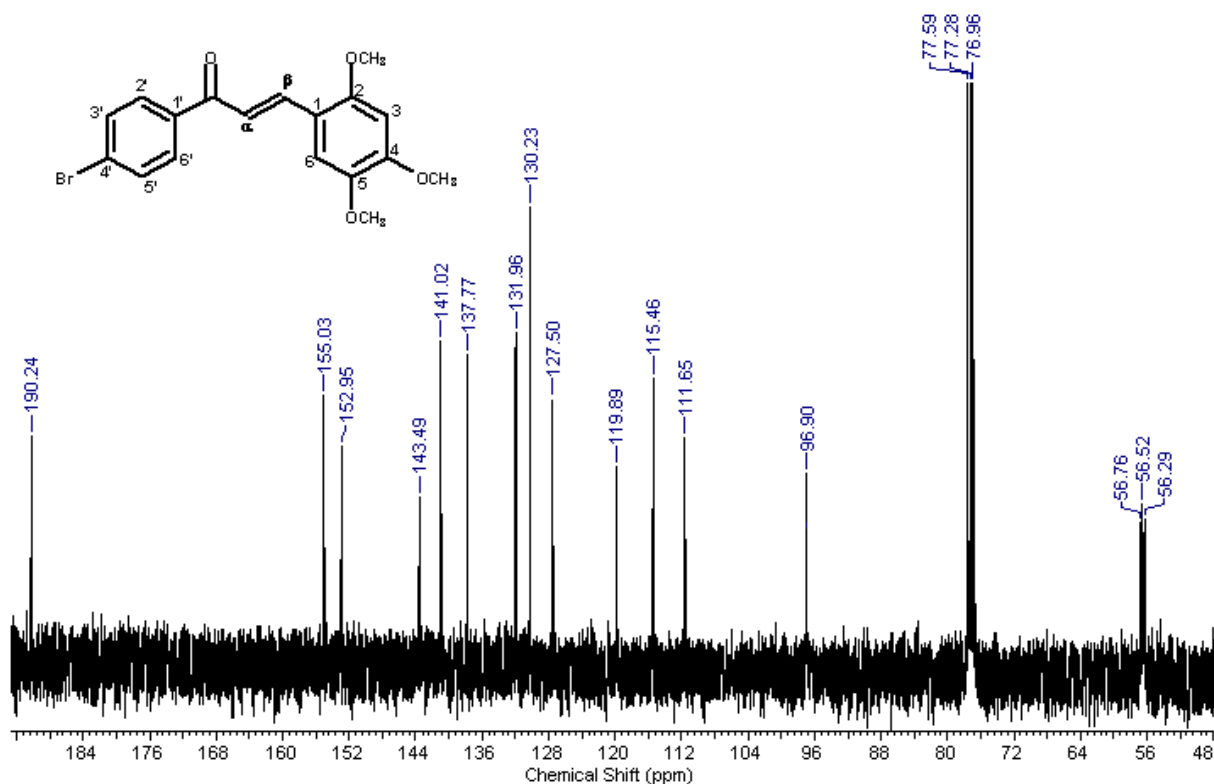


Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona **D9**.

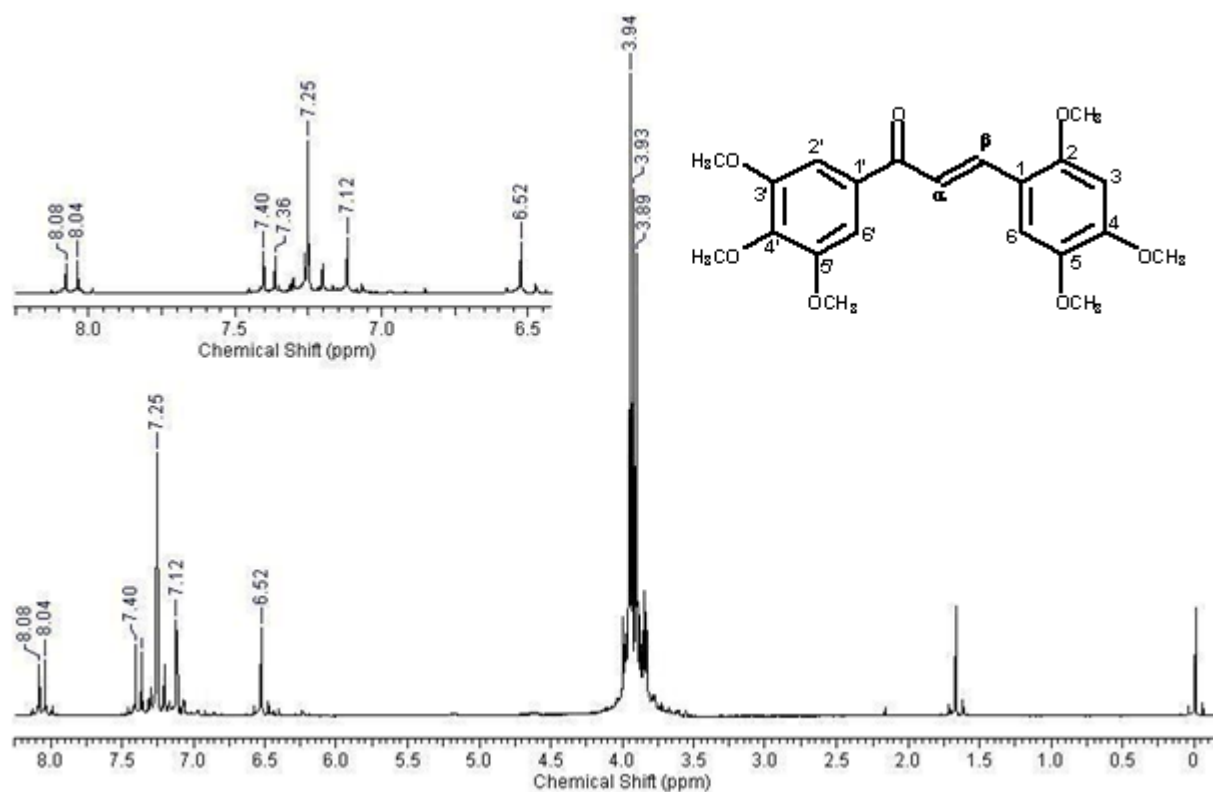


Figura 58. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona **D10**.

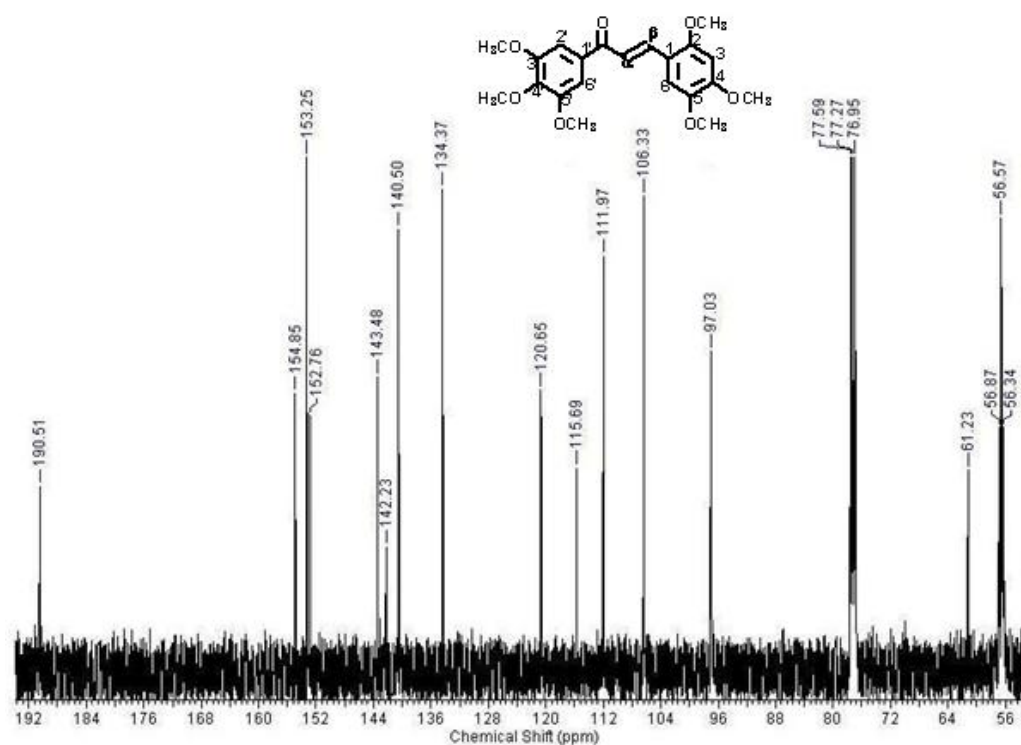


Figura 59. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D10.

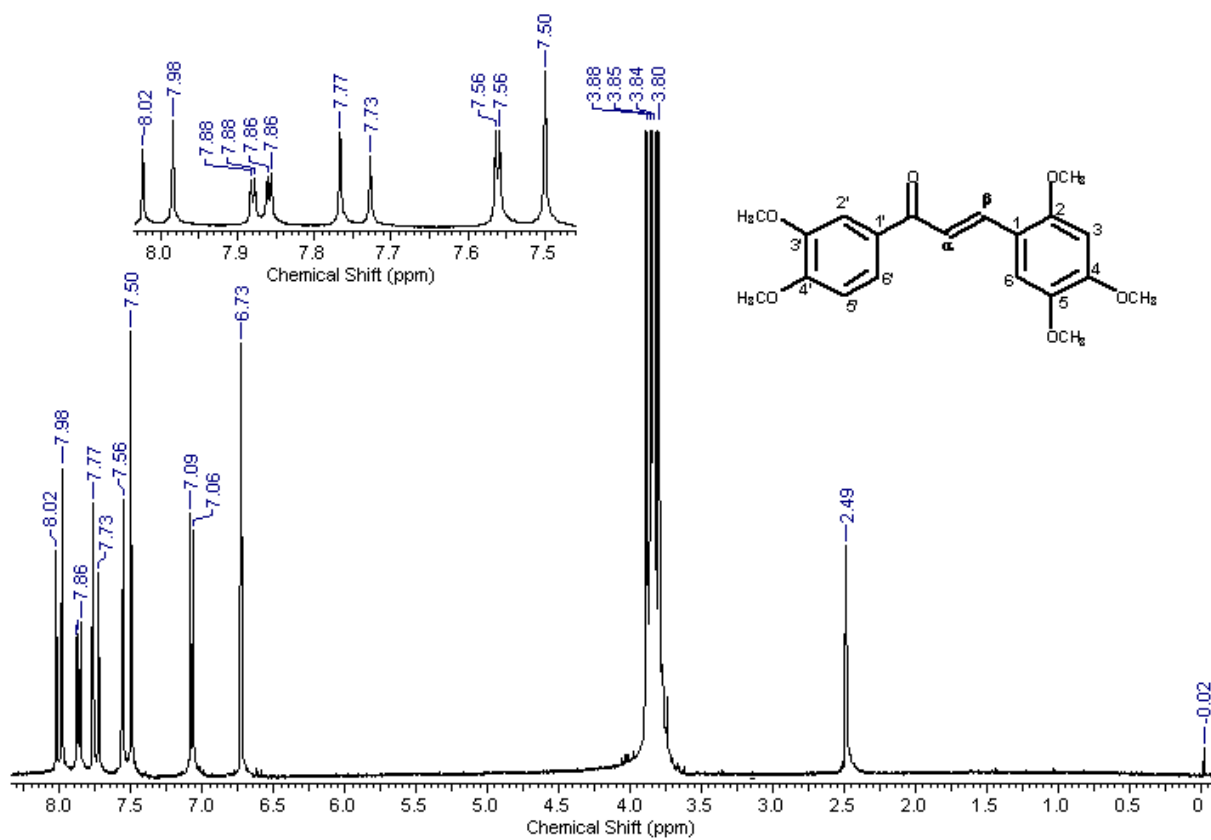


Figura 60. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da chalcona D11.

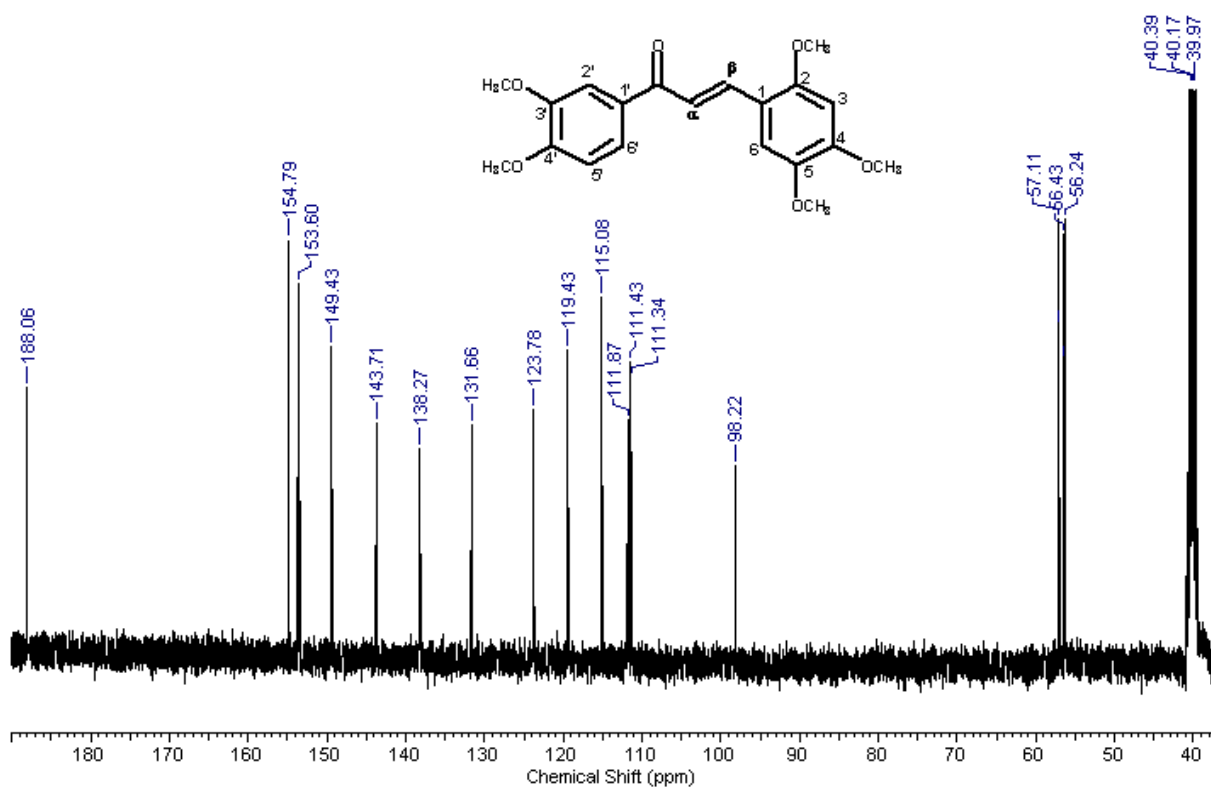


Figura 61. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da chalcona D11.

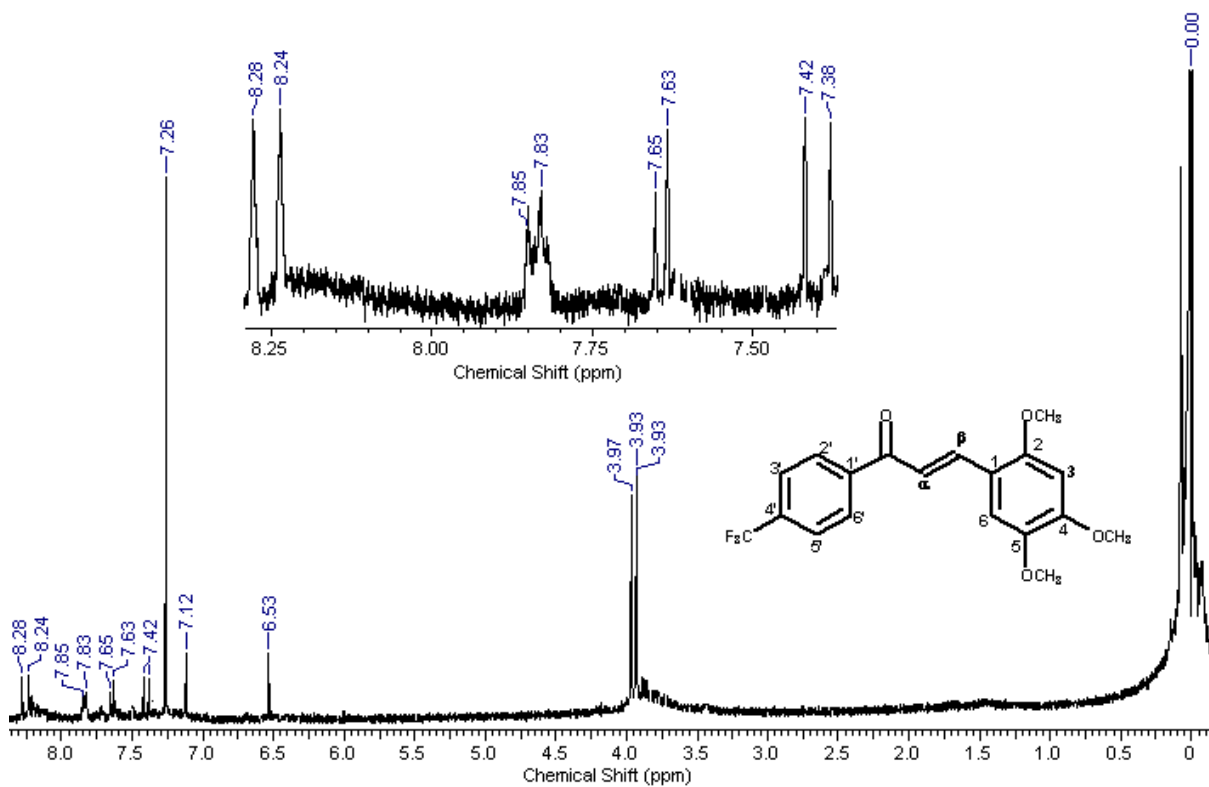


Figura 62. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da chalcona D12.

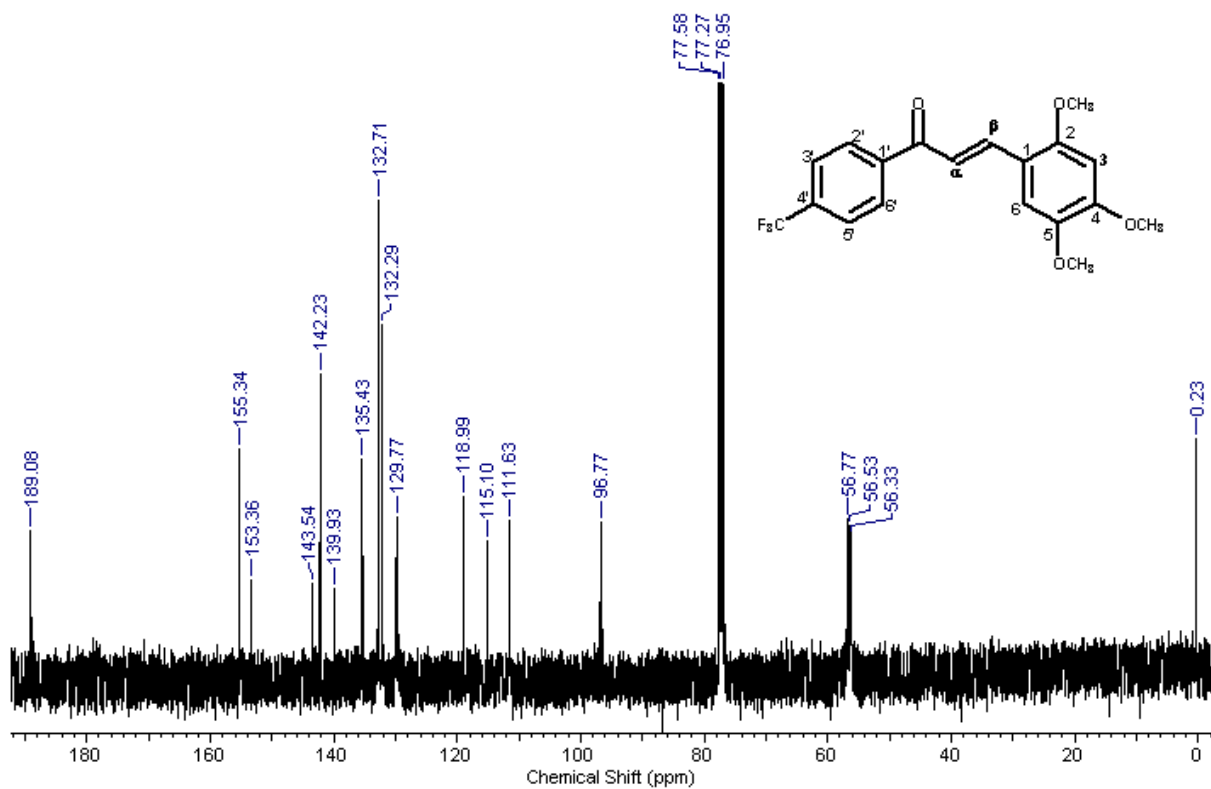


Figura 63. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da chalcona D12.