

SÍNTESE DE NOVAS NITROCICLOEXANONAS DERIVADAS DE DICHALCONAS SUBSTITUÍDAS¹

Bruna Corrêa Galvão - galvao.bru@hotmail.com

Welisson Vilarindo de Oliveira – welisson.vilarindo.oliveira@gmail.com

Dr. Manuel Salustiano Almeida Saavedra (Orientador) – 1150688@mackenzie.br

RESUMO

A síntese de novas dichalconas, de seus sais e de derivados como as 4-nitrocicloexanonas, é de imensa importância para a química orgânica pois são moléculas com alto potencial bioativo, alta conjugação e elevada reatividade, o que garante diversas aplicações. Os objetivos a serem alcançados neste trabalho visam a síntese de dichalconas e seus sais de sódio, com diferentes substituintes nos anéis aromáticos juntamente com a possibilidade de que esses compostos, sejam matérias primas para a síntese de 4-nitrocicloexanonas. Uma nova metodologia para a síntese de dichalconas substituídas foi adotada, sendo também a rota direta para a formação de seus respectivos sais. No trabalho foi demonstrado a efetividade da reação de adição Michael de nitrometano as dichalconas e seus sais na formação das 4-nitrocicloexanonas. Os dados espectrais juntamente com os R_f determinados na cromatografia de camada delgada (CCD) e os pontos de fusão, ratificam as estruturas dos compostos que foram sintetizados. Um fato interessante é o deslocamento a menor frequências da banda do grupo carbonila nos espectros infravermelhos das dichalconas pela alta conjugação que apresentam, quando comparado aos espectros das 4-nitrocicloexanonas sintetizadas de menor conjugação.

Palavras-chave: Síntese Química. Chalconas. Dichalconas. 4-Nitrocicloexanonas.

SYNTHESIS OF NEW NITROCYCLEXANONES DERIVED FROM REPLACED DICHALCONES

ABSTRACT

The synthesis of new dichalcones, their salts and derivatives such as 4-nitrocyclohexanones, is of immense importance for organic chemistry because they are molecules with high bioactive potential, high conjugation and high reactivity, which guarantees several applications. The objectives to be achieved in this work are the synthesis of dichalcones and their sodium salts, with different substituents in the aromatic rings together with the possibility that these compounds are materials raw for the synthesis of 4-nitrocyclohexanones. A new methodology for the synthesis of substituted dichalcones was adopted, being also the direct route for the formation of their respective salts. In the work the effectiveness of the Michael addition reaction of nitromethane and

¹ Artigo do Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Química Bacharel, EE, UPM, São Paulo, 2019.

dichalcones and their salts in the formation of the 4-nitrocyclohexanones were demonstrated. The spectral data together with the R_f determined in thin layer chromatography (CCD) and melting points confirm the structures of the compounds that have been synthesized. An interesting fact is the shift at lower frequencies of the band of the carbonyl group in the infrared spectra of the dichalcones due to the high conjugation they present when compared to the spectra of the synthesized 4-nitrocyclohexanones of lower conjugation.

Keywords: Chemical synthesis. Chalcones. Dichalcones. 4-Nitrocyclohexanone

1 INTRODUÇÃO

O mundo enfrenta muitos problemas que afetam a saúde da população, sendo um deles a resistência de microrganismos contra os agentes antimicrobianos, (MARSTON et al., 2016; FUKUDA et al., 2015; ALÓS, 2015). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2018) são alarmantes, sugerindo que 25% das mortes registradas a cada ano são de origem bacteriana, um exemplo da gravidade deste problema é o fato de que anualmente ocorrem 700 mil mortes por doenças bacterianas e que as bactérias resistentes aos antibióticos podem matar até 10 milhões de pessoas por ano até 2050 (O'NEILL et al., 2017)

Apesar da preocupação de médicos e cientistas ao longo de décadas, e alguns progressos nos últimos anos, a resistência antimicrobiana tornou-se uma das mais graves ameaças para a saúde mundial nos tempos modernos (OCAN, 2015; ROCA et al., 2015; TIMERMAN, 2017; SUCASAS, 2017; OMS, 2018).

Por isso devemos continuar aprofundando no estudo de compostos bioativos que são obtidos a partir de fontes naturais, priorizando as pesquisas encaminhadas ao desenvolvimento de novos compostos naturais e seus análogos sintéticos com atividades bioativas promissoras (VIEGAS et al., 2006).

A Química dos Compostos Naturais está muito relacionada à Química Orgânica, que é a parte da Química que permite a obtenção de substâncias sintéticas e análogas a compostos naturais, assim, originando compostos candidatos a possíveis fármacos esta parte da Química é responsável pela obtenção de novos compostos sintéticos, aportando conhecimentos sobre os mecanismos das reações químicas, o uso de catalisadores, à aplicação de procedimentos para a purificação e identificação estrutural dos compostos sintetizados no final do processo. (KOROLKOVAS & FERREIRA 1988; FERREIRA, 2003).

As principais abordagens de rotas experimentais utilizadas no planejamento de novos fármacos têm como foco a modificação da estrutura de uma molécula conhecida, realizada através de suas propriedades físico-químicas ou biológicas. A modificação molecular, também conhecida como

variação molecular ou manipulação molecular, é um método usado para melhorar a atividade farmacológica, de um composto biologicamente ativo (KOROLKOVAS & FERREIRA, 1988).

Tendo em conta os razoamentos anteriores neste trabalho será abordada a síntese de novas cicloexanonas a partir da reação de Adição Michael de nitrometano a dichalconas, convenientemente planejadas e sintetizadas, com substituintes de comprovada atividade biológicas nos anéis aromáticos, com o qual se garanta partir de substâncias de altas potencialidades bioativas para a obtenção de novos compostos nos quais estarão presentes vários grupos farmacóforos com o conseguinte aumento das potencialidades bioativas das novas cicloexanonas a serem sintetizados neste trabalho.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os reagentes usados neste trabalho, possui grau PA.

A metodologia proposta para o desenvolvimento deste trabalho é a síntese de novas nitrocicloexanonas simétricas, portando serão utilizados compostos com anéis aromáticos substituídos com grupos nitro, hidroxila e metoxilas. Tem como ponto de partida as moléculas da acetona (propanona) e dos aldeídos: vanilina (3-metoxi-4-hidroxibenzaldeído) e *o*-vanilina (3-metoxi-2-hidroxibenzaldeído), assim como os compostos nitrados destes aldeídos, ademais foram empregados o salicilaldeído (2-hidroxibenzaldeído) e o benzaldeído. Também foram sintetizados os sais destes compostos.

Todos os reagentes usados neste trabalho, possui grau PA.

Seguindo o mecanismo da reação de Claisen-Schmidt, método de condensação de um aldeído com uma cetona, para formar as dichalconas empregando dois moles do correspondente benzaldeído. Depois serão estudadas as reações de adição de Michael do nitrometano as dichalconas e seus sais em meio básico, para formar as novas 4-nitrocicloexanonas de altas potencialidades bioativas.

Em seguida será feito uma avaliação da citotoxicidade dos compostos aqui sintetizados, pelo método colorimétrico, a fim de se obter informações uteis para uma possível aplicação farmacológica.

2.1.1 Introdução do grupo nitro na molécula da vanilina

Para a introdução do grupo nitro (NO₂) em aldeídos aromáticos como a vanilina, a técnica empregada parte de misturar 0,02 mol da vanilina com 10 mL de ácido acético glacial concentrado (CH₃CO₂H), em um balão reacional, imerso em banho de gelo, sendo agitado com um agitador magnético a fim de dissolver completamente a vanilina, a seguir foi gotejada lentamente uma solução de ácido nítrico 40% (HNO₃) até a formação do precipitado de cor amarela, após esse processo e em banho de gelo é então adicionado lentamente 50 mL de água destilada, por fim o sólido formado é filtrado a vácuo e lavando várias vezes com água, secando o mesmo ao ar. A reação geral do processo de nitrção da vanilina, é apresentada na figura 1.

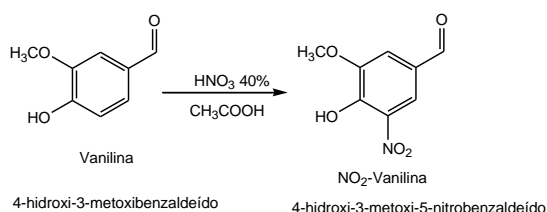


Figura 1: Esquema de reação de nitração da vanilina

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.1.2 Introdução do grupo nitro na molécula da *o*-vanilina.

Empregando um procedimento de síntese similar ao utilizado na obtenção do 4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrobenzaldeído foi nitrada a *o*-vanilina sintetizando-se o correspondente composto nitrado como mostra a figura 2.

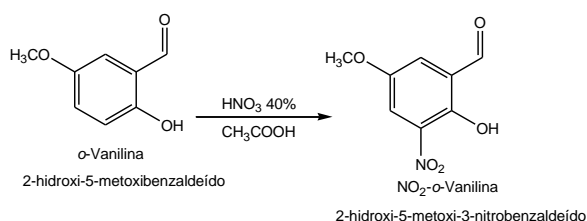


Figura 2: Esquema de reação de nitração da *o*-vanilina.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.2 REAÇÃO DE CONDENSAÇÃO DE CLAISEN-SCHMIDT PARA SÍNTESE DE DICHALCONAS E SEUS RESPECTIVOS SAIS.

2.2.1 Reação de obtenção de 1,5-difenil-penta-1,4-dien-3-ona.

A reação de condensação entre o benzaldeído e a acetona se fez através da catalise básica, os reagentes foram adicionados em balões diferentes, sendo que no balão **A** foi inserido o hidróxido de sódio (NaOH) juntamente com etanol (C₂H₅OH), e no balão **B** um equivalente de acetona e dois equivalentes de benzaldeído, que posteriormente foram misturados os reagentes do balão **A** no balão **B**, e deixado sob agitação em banho de gelo até a formação de um solido amarelo, que depois é filtrado e recristalizado. A reação geral é mostrada na figura 3.

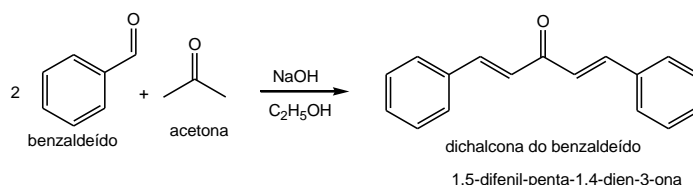


Figura 3: Esquema de reação de formação da dichalcona do benzaldeído.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

4.2.2 Reação de obtenção do sal 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

Nesta síntese o aldeído de partida usado foi a *o*-vanilina e a acetona, sendo os dois adicionados em um balão **B** e adicionado ao Balão **A**, como foi descrito no método na seção 2.2.1. A mistura de reação foi colocada em banho US e ao término da reação originou-se uma solução de cor vermelha escura, que foi deixado em repouso em refrigerador convencional precipitando um sólido vermelho, tendo assim isolando o sal de sódio da dichalcona da *o*-vanilina. A solução vermelha alcalina resultante da filtração foi guardada (água mãe). A reação geral da síntese da dichalcona da *o*-vanilina é apresentada na figura 4.

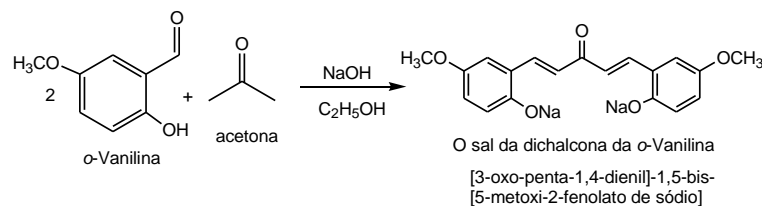


Figura 4: Esquema de formação do sal da dichalcona da *o*-vanilina.

A estrutura do produto foi confirmada pelo IV.

2.2.2.1 Reação de obtenção de 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona.

Há obtenção do composto neutro, derivado do sal de sódio da dichalcona da *o*-vanilina, se fez através da acidificação com ácido clorídrico (HCl) semi-concentrado (1:1) da água mãe resultante da síntese do sal, que então é formado um precipitado de coloração amarela, ao qual foi filtrado e purificado, obtendo assim a dichalcona da *o*-vanilina. Na figura 5 é apresentado a reação geral de obtenção do composto neutro.

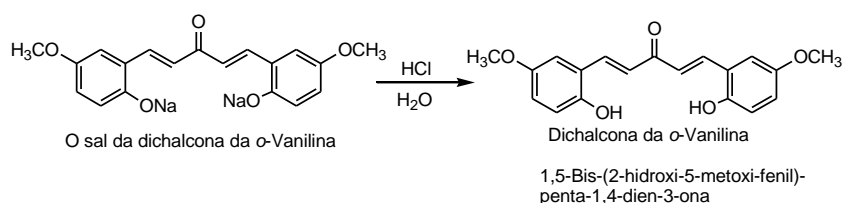


Figura 5: Esquema de formação da dichalcona da *o*-vanilina.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.2.3 Reação de obtenção do sal 5-bis-(2-hidroxi-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona

O método usado para a síntese do sal da dichalcona do salicilaldeído foi similar ao relatado anteriormente na seção 2.2.2. Sendo que nesta síntese os reagentes inseridos no balão **B**, foram dois equivalentes de salicilaldeído e um equivalente de acetona. A reação geral para obtenção do sal de sódio da dichalcona do salicilaldeído é apresentado na figura 6.

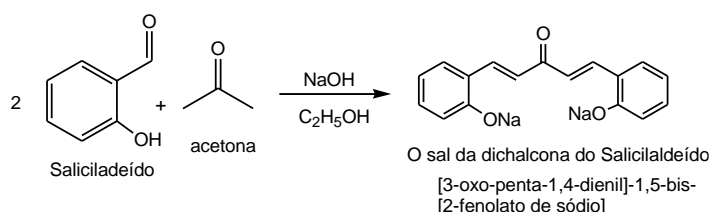


Figura 6: Esquema de formação do sal da dichalcona do salicilaldeído.

A estrutura do produto foi confirmada por IV.

2.2.3.1 Reação de obtenção da 1,5-bis-(2-hidroxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

Há obtenção da dichalcona se logrou como foi descrito anteriormente em 2.2.2.1 isolando-se um precipitado neutro de cor amarela que foi filtrado e purificado. A figura 7 mostra a obtenção da dichalcona do salicilaldeído.

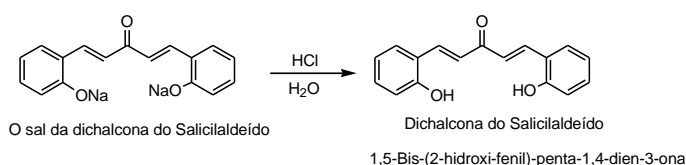


Figura 7:Esquema de formação da dichalcona do salicilaldeído.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.2.4 Reação de obtenção de 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona

Nas síntese anteriormente analisadas foram empregados aldeídos com grupo hidroxila na posição *orto* de anel aromático e o benzaldeído que não apresenta grupo hidroxila, a catalise usada foi a básica a qual possibilito isolar os sais e as dichalconas respectivas, mas ao aplicar este procedimento de síntese à vanilina com grupo hidroxila na posição *para* do anel aromático a reação não prosperou, sendo necessário o uso da catálise ácida como se descreve a seguir. A reação de condensação entre a vanilina e a acetona se fez através de catalise acida, os reagentes foram adicionados a um balão reacional, as quantidades empregadas foram 0,03 mol da vanilina, 0,015 mol da acetona, 9 mL de ácido clorídrico (HCl) e 15 mL de ácido acético glacial (CH₃COOH), ambos concentrados. O balão reacional foi submetido num banho ultrassónico por duas horas, após esse período foi deixado em repouso por três dias, protegido de luminosidade.

Após o período mencionado foram então adicionados 50 mL de agua destilada sob agitação, formando-se um solido verde escuro, que é filtrado a vácuo e lavado várias vezes com água, a seguir é dissolvido em meio fortemente básico com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 2,0 mol/L, originando uma solução vermelha escura, que é filtrada e o filtrado acidificado com ácido clorídrico concentrado gota a gota, até se formar um precipitado, esse processo é então repetido outras duas vezes afim de se obter um precipitado final amarelo.

A figura 8 mostra a reação de obtenção da dichalcona da vanilina.

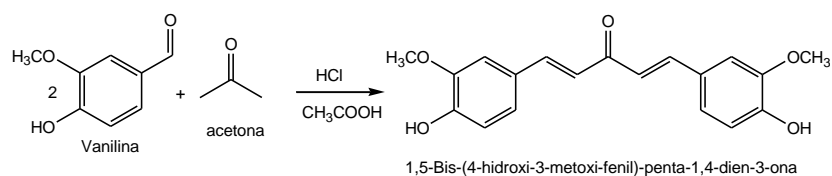


Figura 8: Esquema de reação de formação da dichalcona da vanilina.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.2.4.1 Reação de obtenção do sal 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona

Para a obtenção do sal derivado da dichalcona da vanilina (1,5-Bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona), foi utilizado uma solução de metanolato de sódio (NaOCH_3), feito a partir de sódio metálico (Na) e metanol (CH_3OH), para solubilizar o produto da reação anterior, originando uma solução de cor fortemente vermelha, e logo em seguida foi utilizado o rotoevaporador para obter o sal, de cor vermelha similar à da solução, a reação geral para obtenção do sal, segue abaixo na figura 9.

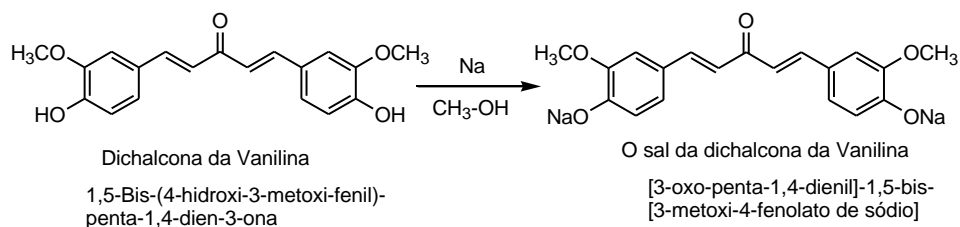


Figura 9: Esquema de reação de formação do sal da dichalcona da vanilina.

A estrutura do produto foi confirmada por IV.

2.2.5 Reação de obtenção do sal da 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitro-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona.

Neste caso foi testada a catálises básica, considerando que o grupo nitro é um forte desativante do anel aromático o que poderia influir na reatividade química do grupo carbonila, o método usado para a síntese do sal da dichalcona da nitro-vanilina foi similar ao relatado anteriormente na seção 2.2.2. Sendo que nesta síntese os reagentes inseridos no balão **B**, foram dois equivalentes de nitro-vanilina e um equivalente de acetona. A reação geral para obtenção do sal de sódio da dichalcona do salicilaldeído é apresentado na figura 10.

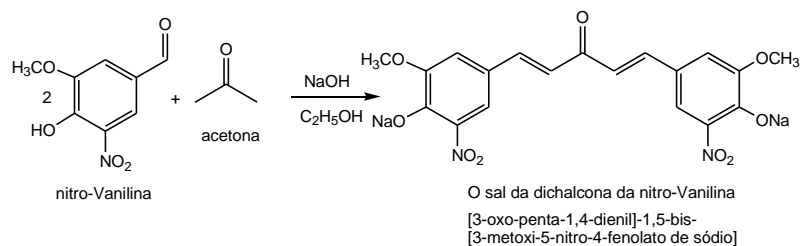


Figura 10: Esquema de reação de formação do sal da dichalcona da nitro-vanilina.

A estrutura do produto foi confirmada por IV.

2.2.5.1 Reação de obtenção de 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitro-fenil) -penta-1,4-dien-3-ona

Há obtenção da dichalcona se logrou como foi descrito anteriormente em 2.2.2.1 isolando-se um precipitado neutro de cor amarela que foi filtrado e purificado. A figura 11 mostra a razão de obtenção da dichalcona da nitro-vanilina.

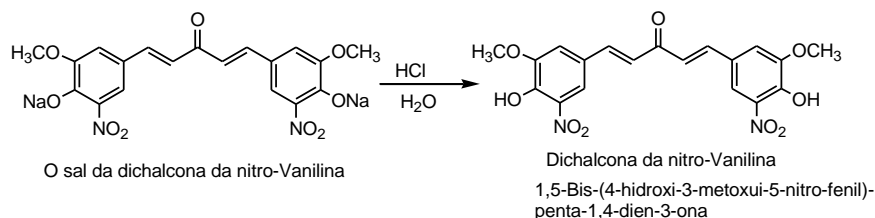


Figura 11: Esquema de formação da dichalcona da nitro-vanilina.

A purificação do composto não foi lograda no tempo habilitado para este trabalho.

2.3 REAÇÃO DE ADIÇÃO MICHAEL PARA A SINTESSES DE 4-NITRO-CICLOEXANONAS

2.3.1 Reação de obtenção de 4-nitro-3,5-difenil-cicloexanona.

A reação de obtenção da 4-nitro-3,5-difenil-cicloexanona se fez por catalise básica, em condições anidras por meio de agitação magnética e posteriormente tratamento em banho de ultrassom.

Primeiramente é adicionado em condições anidras o sódio metálico (Na) a um balão reacional juntamente com metanol absoluto (CH_3OH), deixado em agitação até a completa dissolução do sódio, após esse processo é adicionado o nitrometano (CH_3NO_2) formando-se uma solução pastosa branca. Após esse procedimento é adicionada a 1,5-difenil-penta-1,4-dien-3-ona ao balão e mais metanol absoluto (CH_3OH), é deixado em agitação até se dissolver o reagente adicionado, sendo logo em seguida colocado em banho de ultrassom por oito horas.

No final do processo a mistura é esfriada e acidificada com ácido clorídrico sob agitação e banho de gelo, gerando um precipitado branco, adiciona-se acetato de etila ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) ao balão para que o precipitado branco seja mais evidente. O sólido formado é filtrado a vácuo e lavado com acetato de etila ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$). A figura 12 mostra a reação de obtenção desta nitrocicloexanona.

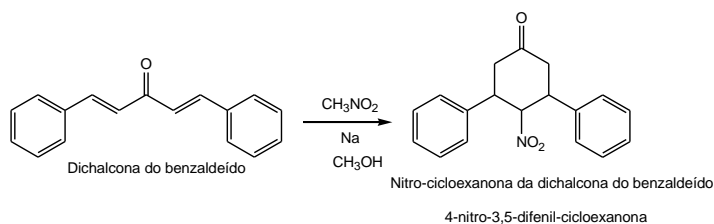


Figura 12: Esquema de formação da nitrocicloexanona da dichalcona do benzaldeído.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.3.2 Reação de obtenção da 3,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-4-nitro-cicloexanona

A reação de obtenção da 3,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-4-nitro-cicloexanona foi desenvolvida usando o procedimento de síntese descrito anteriormente em 2.3.1. A mistura foi tratada com US por quatorze horas.

No final do processo o meio é acidificado com ácido clorídrico sob agitação e banho de gelo, gerando um precipitado branco, adicionasse acetato de etila ($C_4H_8O_2$) ao final para que o precipitado branco seja mais evidente. Então o sólido foi filtrado a vácuo e lavado com acetato de etila ($C_4H_8O_2$). A figura 13 mostra a reação de obtenção desta nitrocicloexanona.

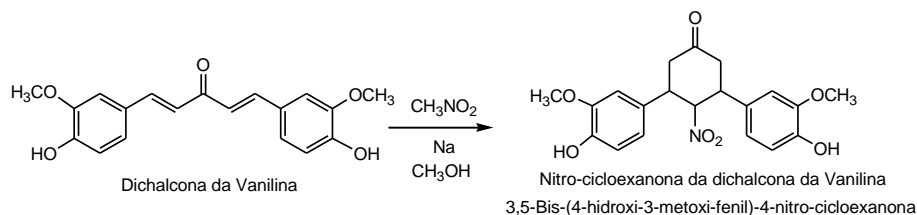


Figura 13: Esquema de formação da nitro-cicloexanona da dichalcona da vanilina.

A obtenção do produto da reação foi confirmada por CCD, IV e PF.

2.4 ENSAIO COLORIMETRICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DA PLOLIFERAÇÃO E VIABILIDADE CELUCAR.

O método usado para determinar a citotoxicidade dos compostos sintetizados, foi o método prático comercializado pela indústria Roche, o Cell Proliferation Kit 2 (XTT). O qual consiste em fazer uma cultura líquida de crescimento celular, que após um período de crescimento de vinte e quatro horas, há uma certa quantidade de células depositadas ao fundo dos pequenos poços na placa de teste, então o líquido é lavado da placa e são depositadas as drogas nos poços da placa, sendo que por vinte e quatro horas as drogas ficam em contato com as células, a seguir são lavadas para adicionar o reagente XTT, que é um corante que irá reagir com as células vivas, e depois se fazer uma leitura no espectrofotômetro usando um comprimento de onda de 450 nm, em dois períodos um depois de quatro horas e outra leitura com seis horas.

Essas drogas foram diluídas em DMSO ou água dependendo de sua polaridade, para então fazer um ensaio em triplicata em diferentes concentrações, onde também é feito um controle somente com células e XTT, um controle com células, DMSO e XTT e um branco com XTT. (ROCHE).

3 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados serão divididos em duas partes, sendo a primeira parte os resultados de sínteses e caracterização de cada composto obtido, e a segunda os resultados da avaliação da citotoxicidade dos compostos. Sendo que cada composto terá um número para uma melhor identificação.

3.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO REFERENTE A SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO

Dentre as moléculas sintetizadas, as dichalconas e seus respectivos sais de sódio, já estão relatadas na literatura, porém foi decidido sintetizar esses compostos, pelo fato de serem matéria prima para a síntese das 4-nitro-cicloexanonas, e não apresentar avaliações de sua citotoxicidade. A seguir se encontram os dados dos resultados da caracterização por espectroscopia no infravermelho (IV), ponto de fusão das moléculas neutras (Pf), valor de Rf e comentários referente a síntese de cada composto.

Composto 1: 1,5-difenil-penta-1,4-dien-3-ona

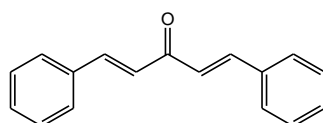


Figura 14: Estrutura da dichalcona do benzaldeído.

Dados IV. C=O: 1644 cm^{-1} , Pf: $110\text{-}111^{\circ}\text{C}$, sólido amarelo claro, Rf: 0.8 em tolueno-acetato de etila (7: 3)

A dichalcona do benzaldeído, têm uma síntese rápida e com um bom rendimento. O composto apresenta baixa polaridade e foi recristalizado de etanol.

No espectro IV se observa uma banda forte em 1644cm^{-1} que foi assignada ao grupo carbonila, esse valor do deslocamento químico é consequência da alta conjugação do grupo carbonila com as duas duplas ligações da molécula, fazendo que a banda carbonila apareça em menores números de ondas.

Composto 2: Sal do 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

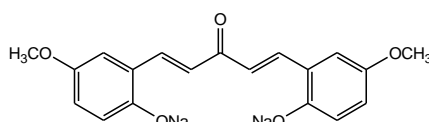


Figura 15: Estrutura do sal da dichalcona da *o*-vanilina.

Dados IV. C=O: 1596cm^{-1} , sólido vermelho.

O sal da dichalcona da *o*-vanilina é obtido empregando uma catálises básica, o composto precipita da mistura de reação e foi isolado por filtração a vácuo, também apresenta no espectro de IV a banda do grupo carbonila com forte conjugação abaixo de 1600 cm^{-1} .

Composto 3: 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

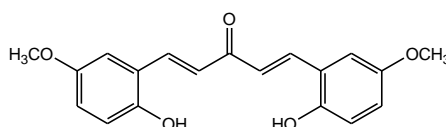


Figura 16: Estrutura da dichalcona da *o*-vanilina.

Dados IV. C=O: 1574cm⁻¹; OH: 3214cm⁻¹, Pf: 187, 0°C, Rf: 0,50 em tolueno-acetato de etila (7: 3), sólido amarelo.

A dichalcona da *o*-vanilina, foi obtida através da acidificação da solução contendo o seu sal de sódio, a banda do grupo carbonila aparece em 1574 cm⁻¹, apresentando coerência em relação à alta conjugação das moléculas de dichalconas relatadas até o momento no trabalho.

Composto 4: Sal do 1,5-bis-(2-hidroxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

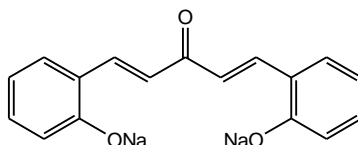


Figura 17: Estrutura do sal da dichalcona do salicilaldeído.

Dados IV. C=O: 1580cm⁻¹, sólido vermelho.

O sal da dichalcona do salicilaldeído, tem o mesmo processo de síntese do sal da dichalcona da *o*-vanilina. Este composto também apresenta no espectro de IV a banda do grupo carbonila com forte conjugação abaixo de 1600 cm⁻¹.

Composto 5: 1,5-bis-(2-hidroxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

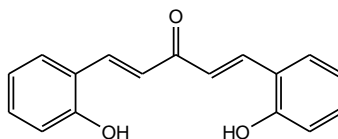


Figura 18: Estrutura da dichalcona do salicilaldeído.

Dados IV. C=O: 1606cm⁻¹; OH: 3525cm⁻¹, Pf: 144.0 °C, Rf: 0,37 em tolueno-acetato de etila (7: 3), sólido amarelo.

A dichalcona do salicilaldeído, foi obtida em um processo de síntese igual ao da dichalcona da *o*-vanilina, dentre as dichalconas é a que apresenta a coloração amarela mais intensa, neste composto também pode ser observada no espectro IV um deslocamento da frequência da banda carbonila em 1606cm⁻¹ demonstrando uma alta conjugação de foram similar, as dichalconas anteriormente analisadas.

Composto 6: 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

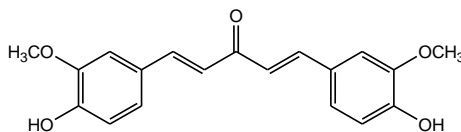


Figura 19: Estrutura da dichalcona da vanilina.

Dados IV. C=O: 1579 cm⁻¹; OH: 3388cm⁻¹, Pf: 115- 116⁰C, Rf: 0,31 em tolueno-acetato de etila (7: 3), sólido amarelo.

A dichalcona da vanilina, é a única das moléculas que foi sintetizada em meio ácido, isso pode ser devido à posição do grupo hidroxila como substituinte em *para* no anel aromático. Este composto apresenta a banda carbonila com alta conjugação em 1579 cm⁻¹, típica deste tipo de moléculas.

Composto 7: Sal do 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

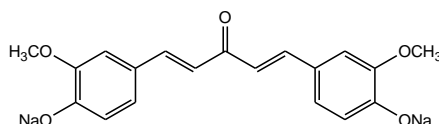


Figura 20: Estrutura do sal da dichalcona da vanilina.

Dados IV. C=O: 1570cm⁻¹, Solido Vermelho.

O sal da dichalcona da vanilina, é o único que teve um processo de síntese diferente dos demais sais apresentados neste trabalho. Como visto na síntese da dichalcona da vanilina, que foi em meio ácido, isso fez que gerasse em primeira partida a dichalcona neutra, para que depois então fosse obtido o sal através da reação da dichalcona com solução básica de metanolato de sódio, seguido de rotaevaporação da mistura de reação. O composto mostra também a banda carbonila com alta conjugação em 1570 cm⁻¹

Composto 8: Sal do 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitro-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

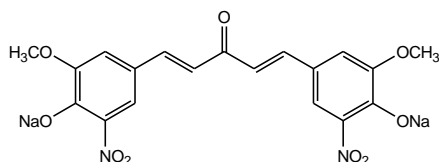


Figura 21: Estrutura do sal da dichalcona da nitro-vanilina.

Dados IV. C=O: 1650cm⁻¹; NO₂: 1527cm⁻¹ e 1350 cm⁻¹, sólido vermelho.

O sal da dichalcona da nitro-vanilina, foi sintetizado em meio básico como descrito para os sais das dichalconas da o-vanilina e do salicilaldeído, é um composto que apresenta dois grupos nitro em sua estrutura, o interesse maior em ter esses dois grupos nitro é seu possível potencial de atividade biológica.

Composto 9: 4-nitro-3,5-difenil-cicloexanona

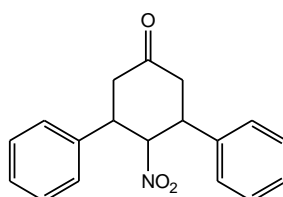


Figura 22: Estrutura da nitro-cicloexanona da dichalcona do benzaldeído.

Dados IV. C=O: 1650cm^{-1} ; NO_2 : 1527cm^{-1} e 1350cm^{-1} , Pf: 134°C , Rf: 0.70 em metanol-acetato de etila (7:3), sólido branco

A nitro-cicloexanona da dichalcona do benzaldeído, já está relatada na literatura, e foi utilizada esta síntese neste trabalho, porem até o momento não apresentou quaisquer estudos no campo biológico, por isso além de ser uma reação modelo para sintetizar as demais moléculas de nitrocicloexanonas planejadas, foi de interesse estudar sua toxicidade.

Ao analisar o espectro IV deste composto, comparado com sua matéria prima a dichalcona do benzaldeído (vide figura 23), pode-se notar o corrimento da banda carbonila a maior frequência 1718cm^{-1} , isso se deve ao fato da quebra das duplas ligações nos carbonos alfa e beta ao grupo carbonila, o qual nesta molécula não apresenta conjugação, com o conseguinte aumento da constante de força por efeito de anel saturado. Também no espectro aparecem as bandas do grupo nitro em 1527cm^{-1} e 1350cm^{-1} .

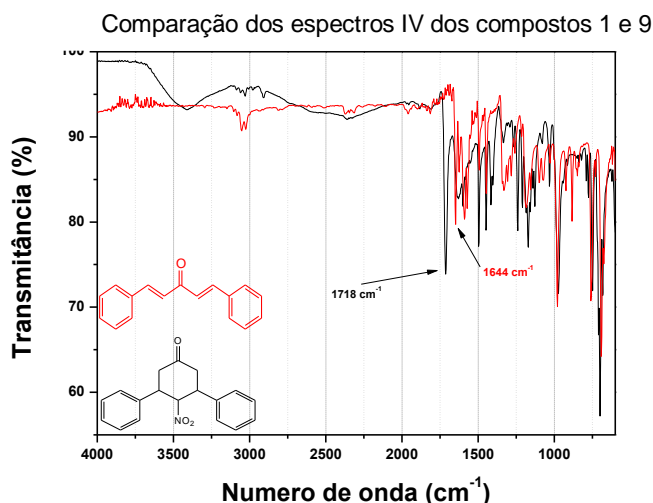


Figura 23: Espectros de IV sobrepostos dos compostos 1 e 9.

Composto 10: 3,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-4-nitro-cicloexanona

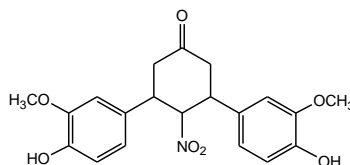


Figura 24: Estrutura da nitro-cicloexanona da dichalcona da vanilina.

Dados IV. C=O: 1620cm^{-1} ; NO_2 : 1545cm^{-1} e 1290cm^{-1} ; OH: 3416cm^{-1} , Pf: Não determinado., Rf: 0,57 em metanol-acetato de etila (7:3), sólido bege claro.

A nitro-cicloexanona da dichalcona da vanilina, não está relatada até o presente trabalho na literatura, a síntese para obter o composto se fez através do procedimento relatado para o composto anterior. Esta nitrocicloexanona também apresenta um corrimento a maior frequência da banda do grupo carbonila no espectro de IV (1620cm^{-1}), comparada com o deslocamento que apresenta esta banda carbonílica na dichalcona da vanilina (1579cm^{-1}) o que demonstra a quebra das duas duplas

ligações para a formação da estrutura da nitrocicloexanona. Porém seu espectro IV foi realizado utilizando o método de pastilha de brometo de potássio (KBr), isso teve um efeito no valor da transmitância, como é perceptível nos espectros sobrepostos logo a seguir. Apresentado na figura 25.

Comparação dos espectros IV dos compostos 6 e 10

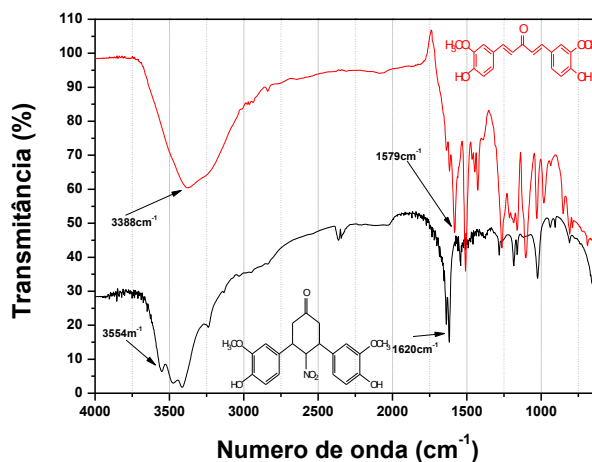


Figura 25: Espectros de IV sobrepostos dos compostos 6 e 10.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO REFERENTE A CITOTOXICIDADE.

Os resultados da avaliação da citotoxicidade, pelo método colorimétrico de proliferação celular utilizando XTT, serão apresentados a seguir em tabelas e gráficos para uma melhor ilustração, sendo feitos breves comentários para cada composto.

Resultados referentes ao composto 1: 1,5-difenil-penta-1,4-dien-3-ona

Tabela 1. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	63,73378	66,88103
100	81,85934	88,98957
50	97,68588	98,54818
25	103,9139	102,7672
12,5	99,82896	99,24973
6,25	104,0849	101,5054

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana Mackenzie, 2019

Obs: Margem de erro 5% +ou -

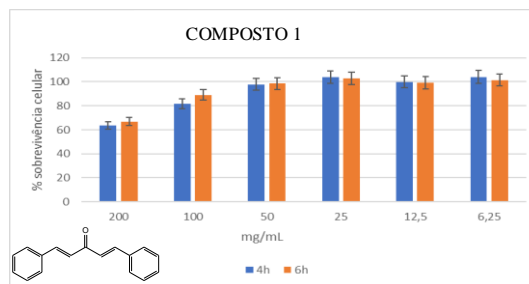


Figura 26: Resultados da citotoxicidade do composto 1.

A avaliação da citotoxicidade mostrou que o composto 1, tem uma taxa de sobrevivência celular superior a 60% em concentrações de 200 mg/mL, já em concentrações inferiores a 50 mg/mL a taxa de sobrevivência se mantém acima de 95%.

Resultados referentes ao composto 2. Sal do 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

Tabela 2. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	98,25	95,91
100	97,82	96,05
50	101,26	101,12
25	100,08	98,48
12,5	100,92	100,95
6,25	99,44	99,47
3.12	97,54	97,20

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

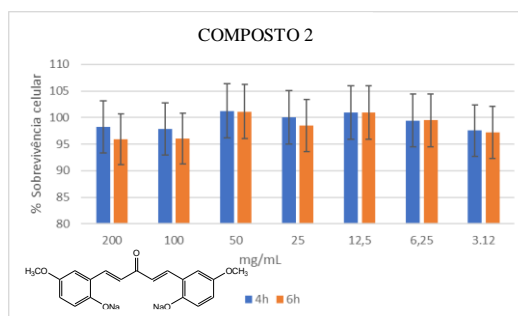


Figura 27: Resultados da citotoxicidade do composto 2.

A avaliação da citotoxicidade do composto 2, apresenta ótimos resultados visto que a sobrevivência celular é superior a 90% em todas as concentrações, isso já considerando a faixa de erro de 5%.

Resultado referente o composto 3: 1,5-bis-(2-hidroxi-5-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

Tabela 3. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	81,43	85,58
100	87,18	91,06
50	97,13	99,03
25	96,37	90,57
12,5	#DIV/0!	#DIV/0!
6,25	100,27	100,10

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

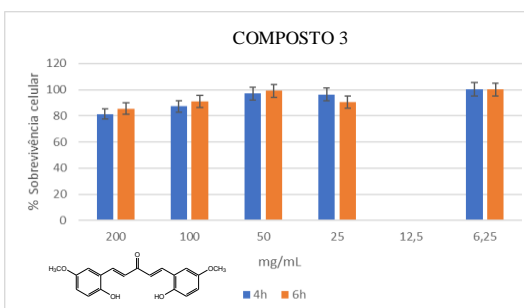


Figura 28: Resultados da citotoxicidade do composto 3.

Não foi obtido o resultado do composto 3 na concentração de 12.5 mg/mL, devido a algum erro de operação ou leitura no equipamento. Porém nas demais concentrações o nível de sobrevivência celular é superior a 80%.

Resultado referente o composto 4: Sal do 1,5-bis-(2-hidroxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

Tabela 4. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	4,50	4,61
100	52,79	54,22
50	51,20	74,49
25	85,52	93,75
12,5	94,99	100,94
6,25	110,58	104,03
3.12	81,58	99,29

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

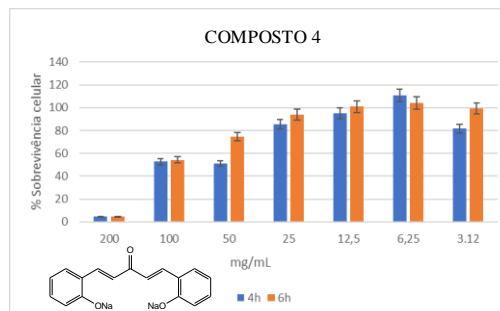


Figura 29: Resultados da citotoxicidade do composto 4.

O composto 4 apresenta cerca de 5% de sobrevivência celular na concentração de 200 mg/mL, aumentando significativamente em concentrações menores.

Resultado referente o composto 5: 1,5-bis-(2-hidroxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

Tabela 5. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	4,83	7,40
100	3,58	3,52
50	4,25	3,00
25	72,01	70,84
12,5	94,82	96,95
6,25	102,66	102,45

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

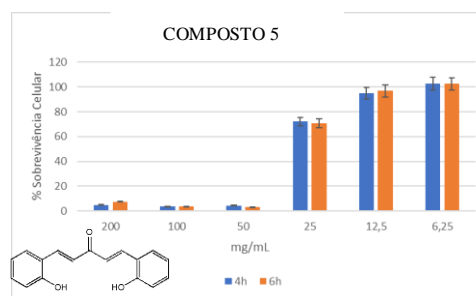


Figura 30: Resultados da citotoxicidade do composto 5.

O composto 5 que é a dichalcona do salicilaldeído, apresenta na avaliação da citotoxicidade, um maior grau de morte celular, nas concentrações de 200 mg/mL, 100 mg/mL e 50 mg/mL, sendo próximo de 95% nessas concentrações. Já em concentrações inferiores a partir de 25 mg/mL o nível de morte celular diminui para menos de 40%. O qual demonstra uma alta toxicidade.

Resultado referente o composto 6: 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

ona.

Tabela 6. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	9,28	9,67
100	90,97	94,08
50	97,01	97,92
25	98,62	99,14
12,5	99,45	99,50
6,25	101,97	99,19

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

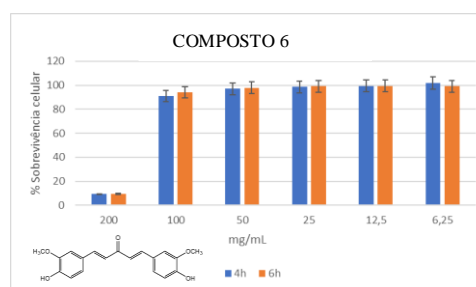


Figura 31: Resultados da citotoxicidade do composto 6.

A avaliação da citotoxicidade do composto 6, foi satisfatória em concentrações abaixo de 100 mg/mL, sendo o menor nível de sobrevivência de 10%. Para a concentração de 200 mg/mL a taxa de sobrevivência celular foi menor que 10%.

Resultado referente o composto 7: Sal do 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona.

Tabela 7. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	13,15	9,28
100	7,04	5,61
50	11,08	10,45
25	20,87	17,35
12,5	32,36	43,68
6,25	98,60	97,30
3.12	102,37	100,07

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

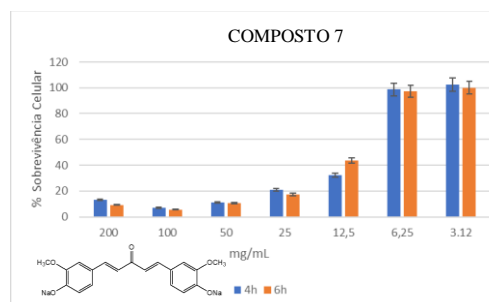


Figura 32: Resultado das citotoxicidade do composto 7.

A avaliação da citotoxicidade do composto 7, não apresentou um resultado satisfatório em concentrações iguais e superiores a 12,5 mg/mL, com um nível de sobrevivência celular abaixo de 60%, salvo apenas nas concentrações de 6,25 mg/mL e 3,12 mg/mL.

Resultado referente o composto 8: Sal do 1,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitro-fenil)-penta-1,4-dien-3-ona

Tabela 8. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	69,74	73,48
100	85,02	80,70
50	93,70	104,80
25	93,06	105,72
12,5	89,24	93,55
6,25	87,84	90,67
3,12	103,27	100,46

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

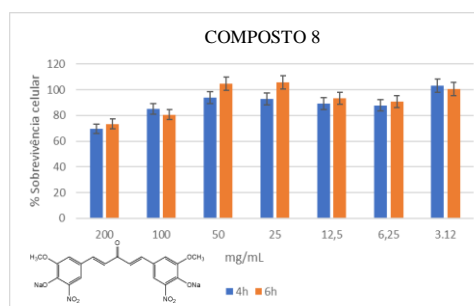


Figura 33: Resultados da citotoxicidade do composto 8.

O resultado citotxicológico do composto 8, apresenta de maneira geral um resultado promissor, já que em doses elevadas o nível de sobrevivência celular foi maior que 65%. E apresenta dois grupos nitros em sua estrutura, sendo grupos farmacóforos, aumentando sua atividade biológica.

Resultado referente a composto 9: 4-nitro-3,5-difenil-cicloexanona

Tabela 9. Porcentagem de células ativas. São Paulo, 2019		
mg/mL	4 h	6 h
200	87,70	90,65
100	102,63	106,25
50	102,32	104,01
25	98,88	106,19
12,5	107,98	110,41
6,25	104,78	107,30

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

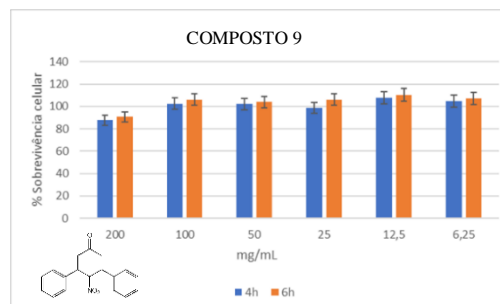


Figura 34: Resultados da citotoxicidade do composto 9.

O resultado da avaliação citotxicológica do composto 9, apresentou um resultado satisfatório com níveis de sobrevivência celular acima de 87%, também apresenta um grupo nitro em sua estrutura, podendo aumentar a atividade biológica do mesmo.

Resultado referente a composto 10: 3,5-bis-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-4-nitro-cicloexanona

mg/mL	4 h	6 h
200	76,59	81,29
100	83,33	92,08
50	79,29	86,32
25	81,03	87,27
12,5	89,33	92,92
6,25	94,51	98,39
3,12	97,52	98,51

Fonte: Laboratório de toxicologia da Universidade Presbiteriana

Obs: Margem de erro 5% +ou -

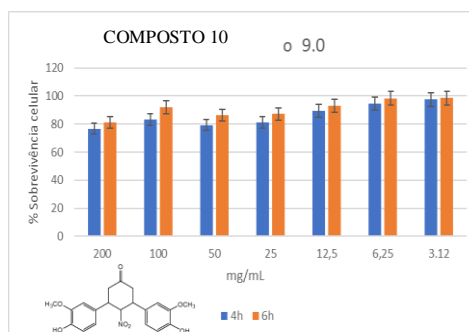


Figura 35: Resultados da citotoxicidade do composto 10.

A avaliação da citotoxicidade referente ao composto 10, apresentam bons resultados visto que em concentrações elevadas como em 200 mg/mL, o índice de morte celular não ultrapassa 25%. Juntamente com o fato de ter um grupo nitro na sua estrutura e ser um composto inédito, faz que o mesmo tenha grande possibilidades de ter atividade farmacológicas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego da catálises básica foi eficiente para a síntese de dichalconas e seus sais, partindo de benzaldeídos com grupo hidroxila na posição *orto* do anel aromático. Este método não é relatado nas literaturas consultadas e abre amplas perspectivas para a sínteses de novas dichalconas e seus sais a partir de benzaldeídos substituídos e que apresentem o grupo hidroxila em posição *orto*.

Foi demonstrado que para benzaldeídos com grupo hidroxila na posição *para* se precisa utilizar a catálise ácida para sintetizar as dichalconas, como foi o caso da vanilina.

A catálises básica também foi eficiente para sintetizar a dichalcona da nitro-vanilina e seu sai, provavelmente pela influência do grupo nitro na reatividade da carbonila deste compostos que apresenta um grupo hidroxila na posição *para* do anel aromático.

Foram sintetizadas e purificadas totalmente dois nitro-cicloexanonas, uma resultado ser inédita, sendo caracterizadas pelos dados, dos espectros IV, ponto de fusão e RF. Estes compostos apresentam coloração branca o que demonstra a presença de pouca conjugação nas moléculas, mas se precisa dos espectros de massas, RMN ¹H e RMN ¹³C, para poder confirmar com precisão suas estruturas moleculares.

Os resultados obtidos na avaliação da citotoxicidade, mostram potencialidades de aplicação destes compostos, se destacam as nitro-cicloexanonas com uma baixa toxicidade na célula mamífera utilizada o que pode geral um novo campo de potencial aplicação destas moléculas. Porem das dichalconas avaliadas o composto 2, apresentou a menor taxa de toxicidade em célula.

RECOMENDAÇÕES.

1. Sintetizar, purificar e caracterizar as dichalconas da nitro-vanilina e da nitro-o-vanilina, assim como seus sais correspondentes, o que não foi alcançado no tempo dedicado à realização deste trabalho, sendo um objetivo futuro a ser alcançado por outros trabalhos.
2. Concluir a caracterização espectroscópica completa de todos os compostos sintetizados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALÓS J.I. **Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global.** *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015; 33 (10):692–699.
- ALVAREZ, A.; DÍAZ DE LOS RÍOS, M.: **Revista ICIDCA**, 21, 2, 21, 1987.
- BRIZUELA, M. A., et al.: **Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios.** *Revista Iberoamericana de Micología.* V-15, 1998, p. 69-74.
- CALLAHAN, H.L., et al.: **Antimicrob. Agents Chemother.**, 40 (1996), p. 947.
- CLAISEN, L.; CLAPARÉDE, L.: **Chem. Ber.**, 14, 2463, 1881.
- DEMAIN, A. L.: **Fungal secondary metabolism: regulation and functions.** In: SUTTON, B. A *Century of Mycology.* Cambridge: Cambridge University Press, 1996, p. 233-254.
- FERREIRA, D. T. **Sínteses e semi-sínteses de fármacos**, in: ANDREI, C.C., FERREIRA, D.T., FACCIONE, M., FARIA, T. J, *Da química medicinal à química combinatória e modelagem molecular.* 1 ed. São Paulo: Manole, cap. 3, p. 49-63, 2003.
- FUKUDA, K. Commentary: **As the world stands on the edge of a post-antibiotic era, the time has come for decisive action.** WHO, 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/commentaries/antibiotic-resistance/en/>>. Acesso em 30/07/2016.
- FUSON, C.: **Chem. Ber.**, 16, 1, 1935.
- GOW, A.J., et al.: *Am. J. Physiol.*, 287 (2004), p. L262.
- KOROLKOVAS, A.; FERREIRA, E. I.: **Planejamento Racional de Fármacos**, *Quim. Nova*, 11, 320, 1988.
- MARSTON, H. D., et al. **Resistencia antimicrobiana.** *Intra Med, JAMA* September 20, 2016 Volume 316, Number 11.
- OCAN, M., et al. Household antimicrobial self-medication: **a systematic review and meta-analysis of the burden, risk factors and outcomes in developing countries.** *BMC Public Health*, London, 15:742, 2015. doi: 10.1186/s12889-015-2109-3.
- OMS, 2018. **Resistência antimicrobiana.** Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 15 de março de 2019.

ONCOLOGY ASOC. **Critical role of phase I clinical trials in câncer treatment.** J Clin Oncol 1997.

O'NEILL, J., et al. (2017). Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/sociedade/saude/superbacterias-provocarao-cerca-de-10-milhoes-de-mortes>>. Acesso em 19 de março de 2019.

PAMELA DA SILVA FONSECA: **Síntese e Caracterização de Chalconas e Dichalconas contendo unidades 1,2,3-triazólicas.** Dissertação (Mestrado em química). Instituto de Química - Universidade de Brasília. 2012.

PAXTON, J. D. **Phytoalexins: a working redefinition.** Phytopathologische Zeitschrift, v.101, p.106-109, 1981.

ROCA, I., et al. **The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention.** New Microbe New Infect. 2015. Jul 16; 6:22-9. Epub 2015. Ap 16. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4446399/>> . Acesso em 20 de abril de 2019.

ROCHE: **Cell Proliferation Kit II (XTT).** Cat. No. 11 465 015 001. Version 18. March 2016.

SCHMIDT, H.: **Chem. Ber.**, 14, 1459, 1881.

SUCASAS, P. **Resistência Antimicrobiana.** (2017). Disponível em: <<http://www.enmedicina.com.br/2017/04/07/resistencia-antimicrobiana-dr-paulo-sucasa>>. Acesso em 23 de abril de 2019.

STRAUSS. M.J.: **Ind. Eng. Chem. Res.**, 18 (1979), p. 158

TIMERMAN, A. **Resistência bacteriana aos antibióticos: o panorama atual.** (2017). Disponível em: <<http://www.veja.abril.com.br/blog/letra.../resistencia-bacteriana-aos-antibioticos-o-panorama-atual>> . Acesso em 26 de abril de 2019.

VIEGAS Jr, C.; BOLZANI, V. da S.; BARREIRO, E. J. **Os Produtos Naturais e a Química Medicinal moderna;** Quim. Nova, 29, 326, 2006.