

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HUALACE VINICIUS EMILIANO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO CONFORMACIONAL E BIOLÓGICO DAS  
2'-NITRO E 3'-NITRO-4-HIDROXI-3-METOXICALCONAS

PONTA GROSSA

2020

HUALACE VINICIUS EMILIANO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO CONFORMACIONAL E BIOLÓGICO DAS  
2'-NITRO E 3'-NITRO-4-HIDROXI-3-METOXICALCONAS

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa Dra Barbara Celânia Fiorin

Coorientador: Prof. Dr Thiago de Castro Rozada

PONTA GROSSA

2020

E53 Emiliano, Hualace Vinicius  
Síntese, Caracterização, Estudo Conformacional e Biológico das 2'-nitro e 3'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalconas / Hualace Vinicius Emiliano. Ponta Grossa, 2022.  
64 f.

Dissertação (Mestrado em Química - Área de Concentração: Química),  
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Barbara Celânia Fiorin.  
Coorientador: Prof. Dr. Thiago De Castro Rozada.

1. Síntese orgânica. 2. Chalconas. 3. Análise conformacional. 4. NBO. 5. Cálculos teóricos. I. Fiorin, Barbara Celânia. II. De Castro Rozada, Thiago. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Química. IV.T.

CDD: 540

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**HUALACE VINICIUS EMILIANO**

**“SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO CONFORMACIONAL E BIOLÓGICO DAS 2'-NITRO E 3'-NITRO-4-HIDROXI-3-METOXICALCONAS”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientadora:

  
Prof. Dra. Barbara Celânia Fiorin  
UEPG/PR

  
Prof. Dr. Adriano Gonçalves Viana  
UEPG/PR

  
Prof. Dr. Ernani Abicht Basso  
UEM/PR

**Ponta Grossa, 18 de setembro de 2020**

**Dedico com amor e gratidão esse trabalho a meus avós e tios, por toda ajuda que para mim foi imprescindível em meu crescimento pessoal e profissional.**

**Meu mais sincero muito obrigado.**

**Amo vocês.**

## **AGRADECIMENTOS**

Desde o início deste trabalho, foram muitas as lutas em busca de transpassar desafios, e tenho certeza, que não teria sido possível sem a força e incentivo de tantas pessoas, e num trabalho tão árduo quanto o utilizado para concretizar essa pesquisa, busco palavras que expressem o tamanho da minha gratidão para mostrar o quão especiais são em minha vida. Aqui, deixo registrado meu profundo agradecimento.

À minha orientadora Prof. Dra. Barbara Celânia Fiorin e meu coorientador Prof. Dr. Thiago de Castro Rozada, pelas orientações, amizade e também por confiarem na minha capacidade. Deixo minha especial e profunda gratidão pela oportunidade de desfrutar de seus conhecimentos e assim poder cresce um pouco mais profissionalmente.

Agradeço também a instituição Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), pela estrutura e condições de realização das análises, as quais foram realizadas no Complexo de Laboratório Multiusuários (C-LABMU).

Ao Programa de Pós Graduação em Química pela oportunidade de realizar este mestrado.

A Capes, pelo suporte financeiro através do apoio financeiro, pois sem ele seria inviável a obtenção de reagentes e poder com dedicação trabalhar na busca por transpassar desafios os quais foram enfrentados no decorrer do projeto.

Aos amigos Paloma Cubas Lourenzon, Josias Vitor do Nascimento, Bianca Gurski Chemin, Luana Borges Soares, Elton Kazmiercsak, Felipe Zahrebelnei e a colega de laboratório Raphaela P. Guaringue pelo auxílio na preparação das sínteses.

Ao meu avô Izuel Emiliano e à minha avó Maria Avani Emilino, e meus tios, dos quais sempre recebi muito incentivo, sendo os maiores contribuintes a formação do meu caráter, fruto de todo amor recebido.

À DEUS dedico toda minha gratidão, pela proteção e força para enfrentar as dificuldades e limitações que desde o início foram tantas.

“Falhar não é o resultado. Falhar é não tentar. Não tenha medo de falhar. Eu sinto que o fracasso é a maneira da vida te cutucar e mostrar que você está fora do curso correto.”

Sara Blakeley, empreendedora americana

## RESUMO

As chalconas são compostos de origem natural pertencente a classe dos flavonóides, sendo também um precursor de outros metabólitos secundários. A variada gama de atividades biológicas que as chalconas apresentam, leva a uma grande procura em compreender fatores influentes em suas atividades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antialérgica, entre outras. E por apresentar uma estrutura dinâmica, onde é possível a adição de muitos grupamentos, as chalconas contribuem muito para a investigação química de grupos orgânicos específicos, tais como nitro, metoxila, hidroxila, entre outros. Este trabalho apresenta a análise conformacional dos isômeros 2'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalcona (*o*-CHAL) e 3'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalcona (*m*-CHAL). Com o emprego de cálculos teóricos, foram obtidos os confôrmeros presentes no equilíbrio conformacional cada composto, as conformações *s-cis* representaram as formas mais estáveis para os dois isômeros avaliados. As análises dos orbitais naturais de ligação (NBO) realizadas com a teoria do funcional de densidade (DFT), em combinação com o método M06-2X e o conjunto de funções de base 6-311++G (2d,dp), revelaram uma maior deslocalização eletrônica nos confôrmeros *s-cis* dos compostos estudados. Entretanto, a estabilidade dos confôrmeros *s-trans* foi influenciada pela posição do grupo nitro no anel A do esqueleto carbônico das chalconas. O potencial antioxidante foi avaliado pelo método DPPH e atividade quelante do íon ferro, sendo que a chalcona *o*-CHAL apresentou resultados promissores, provavelmente será foco para mais avaliações futuramente.

Palavras-chave: Chalconas, atividade antioxidante, análise conformacional.



## ABSTRACT

This study presents a conformational analysis of the isomers 2'-nitro-4-hydroxy-3-methoxychalcone (*o*-CHAL) and 3'-nitro-4-hydroxy-3-methoxychalcone (*m*-CHAL). Using theoretical calculations, the conformers present in conformational equilibrium of compounds were obtained, since the *s-cis* conformations represent the most stable forms for the two isomers performed. The analyzes of the natural bond orbitals (NBO) carried out density functional theory (DFT), in combination with M06-2X method and basis set 6-311 ++ G (2d, dp), revealed greater electronic delocalization in the *s-cis* conformers. However, the stability of the *s-trans* conformers was influenced by the position of the nitro group in ring A of chalcones. The antioxidant potential was evaluated by DPPH method and Ferrous ion chelating activity, the chalcone *o*-CHAL presented promising results, probably will be the focus for further evaluations in the future.

Keywords: Chalcone, antioxidant activity, conformational analysis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura dos compostos estudados nesse trabalho.....	14
<b>Figura 2</b> – Estrutura genérica dos flavonoides.....	16
<b>Figura 3</b> – Classificação dos flavonoides.....	16
<b>Figura 4</b> – Representação estrutural dos isômeros <i>trans</i> e <i>cis</i> de Chalconas	17
<b>Figura 5</b> – Mecanismo Esquemático da Reação de Condensação de Claisen-Schmidt.....	18
<b>Figura 6</b> – Espectro de IV (em pastilha de KBr) para a nitrochalcona <i>m</i> -Chal.....	31
<b>Figura 7</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da <i>m</i> -Chal (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	32
<b>Figura 8</b> – Expansão da região de aromáticos da <i>m</i> -Chal.....	33
<b>Figura 9</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da <i>m</i> -Chal (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	35
<b>Figura 10</b> – Espectro de IV (em pastilha de KBr) para a nitrochalcona <i>o</i> -Chal. ....	37
<b>Figura 11</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H para a <i>o</i> -Chal (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	38
<b>Figura 12</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H expandido para os prótons vinílicos da <i>o</i> -Chal.....	40
<b>Figura 13</b> – Espectro de RMN <sup>13</sup> C da <i>o</i> -chal em CDCl <sub>3</sub> (400 MHz).....	41
<b>Figura 14</b> – Comportamento da <i>o</i> -Chal sobre a inibição do radical DPPH.....	42
<b>Figura 15</b> – Linearização do controle negativo, obtida com a capacidade da <i>o</i> -fenantrolina quelar o íon férrico (Fe <sup>3+</sup> ).....	43
<b>Figura 16</b> – Concentrações de ferro (III) obtidas após o teste da capacidade quelante da <i>o</i> -Chal e <i>m</i> -Chal.....	44
<b>Figura 17</b> – Ângulos diedros analisados para <i>o</i> -Chal e <i>m</i> -Chal.....	45
<b>Figura 18</b> – SEP do diedro alfa da <i>o</i> -Chal.....	45
<b>Figura 19</b> – Confôrmers e suas populações no equilíbrio obtido em nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,2p) para a <i>o</i> -Chal.....	46
<b>Figura 20</b> – Confôrmers e suas populações no equilíbrio obtido ao nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,2p) para a <i>m</i> -Chal.....	47

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> – Estruturas ressonantes obtidas com deslocalização aniônica, proveniente do desprotonamento de hidroxilas <i>para</i> substituídas.....	19
<b>Esquema 2</b> – Mecanismo de Reação de Condensação de Claisen Schmidt para síntese de chalconas, sob catálise ácida.....	20
<b>Esquema 3</b> – Etapas de Biorredução Metabólica de Nitrocompostos Aromáticos.....	21
<b>Esquema 4</b> – Reação geral para obtenção do <i>o</i> -Chal (R <sub>1</sub> :NO <sub>2</sub> ,R <sub>2</sub> :H) e <i>m</i> -Chal (R <sub>1</sub> :H,R <sub>2</sub> :NO <sub>2</sub> ).....	25

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Relação de reagentes e solventes utilizados.....	25
<b>Tabela 2</b> – Dados do rendimento para as espécies sintetizadas.....	30
<b>Tabela 3</b> – Principais absorções ( $\text{cm}^{-1}$ ) do espectro de IV para a <i>m</i> -Chal.....	31
<b>Tabela 4</b> – Dados espectroscópicos de RMN de $^1\text{H}$ da <i>m</i> -Chal (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	34
<b>Tabela 5</b> – Dados espectroscópicos de RMN $^{13}\text{C}$ da <i>m</i> -Chal (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )..	36
<b>Tabela 6</b> – Principais absorções ( $\text{cm}^{-1}$ ) do espectro de IV para a <i>o</i> -Chal.....	37
<b>Tabela 7</b> – Dados espectroscópicos de RMN de $^1\text{H}$ da <i>o</i> -Chal (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	39
<b>Tabela 8</b> – Dados espectroscópicos de RMN de $^{13}\text{C}$ da <i>o</i> -Chal (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	41
<b>Tabela 9</b> – Ângulos diedro, energia relativa, população no equilíbrio e o momento dipolo dos conformeros da <i>o</i> -Chal e <i>m</i> -Chal calculados em nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,dp).....	48
<b>Tabela 10</b> – Somatório das interações orbitais calculadas em M06-2x/6-311++g(2d,2p) para a <i>o</i> -Chal.....	50
<b>Tabela 11</b> – Somatório das interações orbitais calculadas em M06-2x/6-311++g(2d,2p) para a <i>m</i> -Chal.....	51

## LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

<b>A•</b>	Radical inerte
<b>AA</b>	Atividade antioxidante
<b>ABS<sub>amostra</sub></b>	Absorbância da amostra
<b>ABS<sub>branco</sub></b>	Absorbância do branco
<b>ABS<sub>cn</sub></b>	Absorbância do controle negativo
<b>ABTS</b>	Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (do inglês, <i>2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i> )
<b>AH</b>	Antioxidante com um hidrogênio ligado
<b>d</b>	Dupleto
<b>dd</b>	Duplo dupleto
<b>ddd</b>	Duplo duplo dupleto
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
<b>DPPH</b>	2,2-Difenil-1-picrilhidrazil
<b>EPZ</b>	Energia do ponto zero
<b>EROs</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>FIC</b>	Atividade quelante (do inglês, <i>ferrous ion chelating</i> )
<b>HO•</b>	Radical hidroxila
<b>IUPAC</b>	União internacional de química pura e aplicada (do inglês, <i>international union of pure and applied chemistry</i> )
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>m</b>	Multiplete
<b>NBO</b>	Orbital natural de ligação (do inglês, <i>natural bond orbital</i> )
<b>PEG 400</b>	Polietilenoglicol 4000
<b>PTSA</b>	Ácido <i>p</i> -tolueno sulfônico (do inglês, <i>p-toluenesulfonic acid</i> )
<b>R•</b>	Espécie radicalar
<b>ROO•</b>	Radical peroxila
<b>s</b>	Simpleto
<b>SEP</b>	Superfície de energia potencial
<b>TBARS</b>	Ácido 2-tiobarbitúrico (do inglês, <i>2-thiobarbituric acid</i> )
<b>TMS</b>	Trimetilsilano
<b>δ<sub>c</sub></b>	Deslocamento químico de carbono
<b>δ<sub>H</sub></b>	Deslocamento químico de hidrogênios

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>Justificativa</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>Estado da Arte</b> .....	<b>15</b>
2.1	Flavonoides .....	15
2.2	Síntese de Chalconas .....	17
2.3	Nitrocompostos e suas atividades farmacológicas .....	20
2.4	Atividade antioxidante .....	21
2.5	Reações de formação de espécies reativas .....	22
<b>3</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>24</b>
3.1	Objetivo Geral .....	24
3.2	Objetivos específicos .....	24
<b>4</b>	<b>Parte experimental</b> .....	<b>25</b>
4.1	Síntese dos derivados nitrochalcônicos .....	25
4.2	Caracterização Espectroscópica .....	26
4.3	Ensaio de atividade antioxidante .....	26
4.4	Cálculos teóricos .....	28
<b>5</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>30</b>
5.1	Síntese e Caracterização Espectroscópica .....	30
5.2	Avaliação da atividade antioxidante com DPPH.....	42
5.3	Atividade quelante do íon ferro (FIC) .....	43
5.4	Cálculos Teóricos .....	44
<b>6</b>	<b>Conclusões</b> .....	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>Trabalhos Futuros</b> .....	<b>54</b>
	<b>Referências</b> .....	<b>55</b>
	<b>Anexo A – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz da m-Chal em CDCl<sub>3</sub>.</b> ....	<b>59</b>
	<b>Anexo B – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz da o-Chal em CDCl<sub>3</sub>.</b> ....	<b>60</b>
	<b>ANEXO C – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 400 MHz da m-Chal em CDCl<sub>3</sub>.</b> ....	<b>61</b>
	<b>ANEXO D – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 400 MHz da o-Chal em CDCl<sub>3</sub>.</b> ....	<b>62</b>

<b>ANEXO E – Espectro de IV da m-Chal em pastilha de KBr.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO F – Espectro de IV da o-Chal em pastilha de KBr.....</b>	<b>64</b>

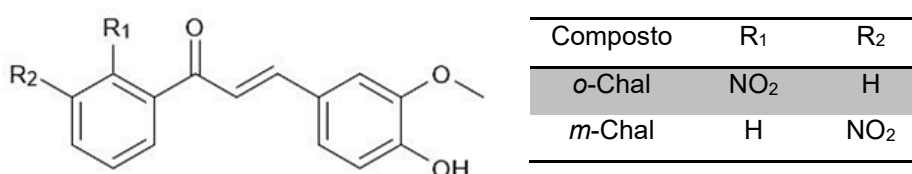
## 1 Justificativa

Há um aumento significativo de evidências experimentais clínicas envolvendo radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROS) em uma variedade de doenças humanas incluindo câncer, desordens inflamatórias e várias doenças degenerativas associadas à idade. Com isso, há um esforço em se desenvolver novas drogas com potencial atividade antioxidante (GACCHE et al., 2008).

Nesse contexto, as chalconas têm recebido uma atenção especial da química medicinal no estudo de diferentes atividades biológicas, como decorrência da dinamicidade de sua estrutura em apresentar diferentes grupamentos químicos a exemplo do grupo hidroxila e da dupla ligação vinílica, considerados importantes para a atividade antirradical (BATOVSKA, D. I.; TORODOVA, 2010). Sua ocorrência em muitas plantas a torna interessante em inúmeras pesquisas, com diferentes finalidades, levando a sua procura através de isolamento a partir de fontes naturais (plantas) e também por vias sintéticas. Diante disso e de uma investigação bibliográfica observou-se que ainda é possível buscar por novos derivados de chalconas e que derivados com o grupo nitro presente em sua estrutura ainda demandam mais estudo. A ação provocada pela presença do grupo nitro na estrutura das chalconas, pode influenciar tanto a eficiência antioxidante destes compostos quanto sua potencialidade como agente contra outras doenças, visto que o grupamento nitro age como um bom grupo biorredutor metabólico, se mostrando relevante na busca por espécies com grande potencial contra diversas doenças (PAULA, 2009).

Deste modo, o presente trabalho busca discutir os resultados obtidos com a síntese e a caracterização dos isômeros 2'-nitro e 3'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalconas (Figura 1), bem como investigar computacionalmente suas estruturas e para finalizar, avaliar sua capacidade antioxidante.

**Figura 1** – Estrutura dos compostos estudados nesse trabalho.



Fonte: Autor.



## 2 Estado da Arte

### 2.1 Flavonoides

A natureza é uma fonte de diversidade química a qual não pode ser subestimada, e isso tem se provado ao longo da história. O homem desde muito faz uso de plantas medicinais, e isso se deu por resultados observados através de tentativas e erros. Hoje com o advento da química verde, a relação do ser humano com o meio ambiente tem possibilitado uma troca, onde o homem não só explora os bens naturais, mas também os preserva (DÍAZ-TIELAS et al., 2016).

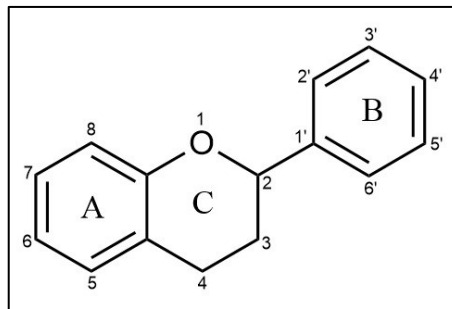
Há um interesse emergente focado na busca pela mimetização de muitos métodos e produtos de origem natural, incluindo o uso de organismos biológicos e substâncias químicas derivadas de plantas. O que tem levado a investigação de novos compostos biologicamente ativos, tendo como ponto de partida a seleção já feita pela natureza, possibilitando muitas vezes a obtenção de novos produtos com potencial farmacológico e até mesmo no controle de pragas, que sejam menos agressivos ao meio ambiente e a saúde humana (DÍAZ-TIELAS et al., 2016).

A família dos flavonoides, um grupo de importantes metabólitos secundários presentes em plantas tem sido alvo de estudos promissores no desenvolvimento de drogas medicinais. Esses metabólitos desempenham funções específicas em diferentes espécies de plantas, sendo encontrados em flores, frutas e folhas, se apresentam com muita frequência na forma de pigmentos que vão de tons avermelhados a amarelados, aparentemente sem função direta no seu crescimento ou em processos como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação ou síntese de carboidratos, proteínas e lipídeos (FERREIRA et al., 2008).

Os flavonoides têm benefícios consideráveis no setor da saúde. Fontes de compostos flavonoides encontrados na natureza têm sido amplamente investigados com respeito a sua potencialidade como agente antitumoral, anti-inflamatório, antidiabético, antibacteriana e antifúngica. Os flavonoides exibem diversas formas estruturais. Contudo, essa classe possui na maioria de seus compostos, quinze átomos de carbono em seu núcleo fundamental (o núcleo flavan C6 -C3 -C6), constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de 3 carbonos entre elas (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). A Figura 2 mostra a estrutura genérica e o sistema de numeração utilizada para distinguir as posições de carbono em toda a molécula. Suas

atividades bioquímicas dependem da estrutura química e a orientação relativa das várias porções da molécula (COOK; SAMMAN, 1996).

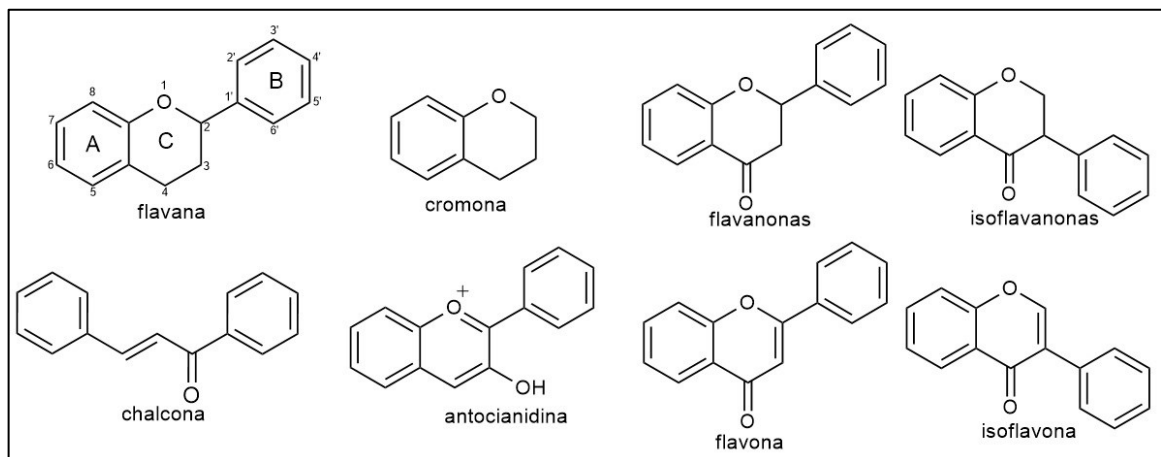
**Figura 2** - Estrutura genérica dos flavonóides.



**Fonte:** Autor.

Segundo HODEK et al. (2002), baseado em sua estrutura, os flavonóides podem ser classificados de oito maneiras, como: flavana, cromona, flavanonas, isoflavanonas, chalconas, antocianidinas, flavonas e isoflavonas. Observando a Figura 3, a porção carbonílica das estruturas básicas dos flavonoides derivam do hidrocarboneto heterocíclico, cromano, através da substituição do anel C nas posições 2 ou 3 por uma fenila (anel B) que formam as flavanas, e um grupo oxo na posição 4 resultando em flavanonas e isoflavanonas. As chalconas não apresentam o anel C.

**Figura 3** - Classificação dos flavonoides.

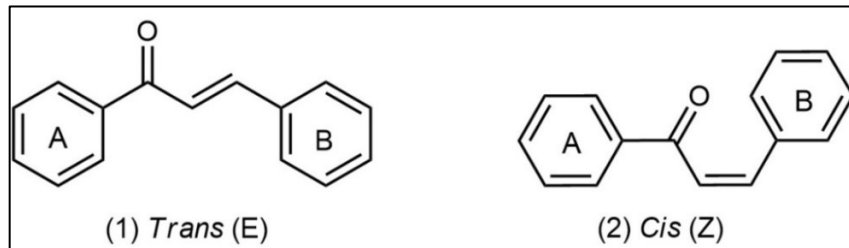


**Fonte:** Autor.

O primeiro relato das chalconas, se deu através de um trabalho reportado por Kostanecki, quando na tentativa de sintetizar novos compostos coloridos, conseguiu um produto ao qual atribuiu o nome de chalcona (Kostanecki, 1899). Identificada pela nomenclatura IUPAC como 1,3-diaril-2-propen-1-ona ou benzilideno (MAHAPATRA; BHARTI; ASATI, 2015), as chalconas são precursores na biossíntese de flavonóides

e isoflavonóides, sua principal ocorrência, se dá principalmente na forma de compostos polifenólicos, apresentando uma coloração que vai do amarelo ao laranja nas mais diversas graduações. Podem ser encontradas com a configuração *trans* ou *cis* com relação aos substituintes da ligação vinílica, isômeros com dois anéis aromáticos, o anel A e o anel B, unidos por um sistema de três átomos de carbono  $\alpha,\beta$ -insaturados à carbonila (Figura 4) (GOMES et al., 2017).

**Figura 4** - Representação estrutural dos isômeros *trans* e *cis* de Chalconas.



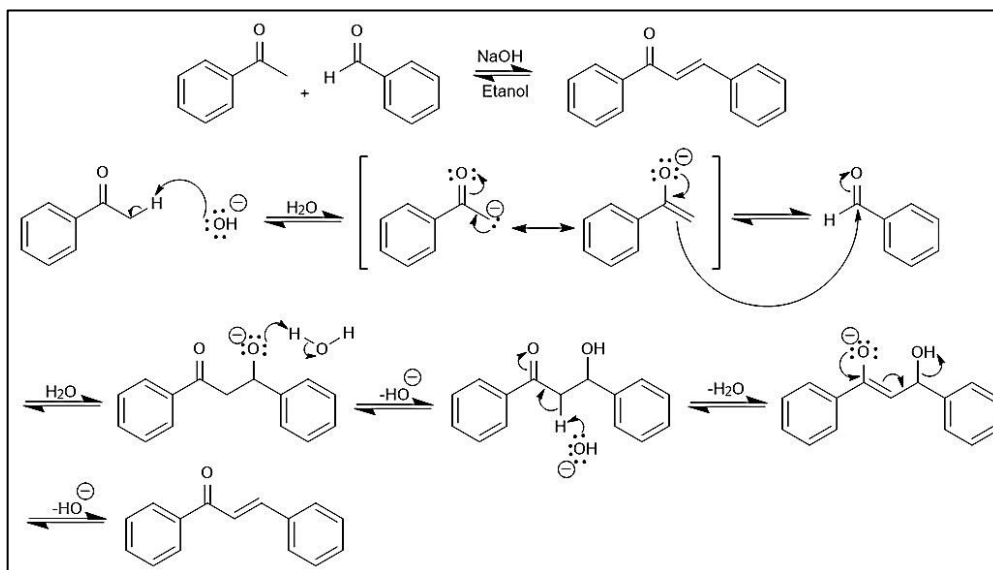
**Fonte:** Autor.

Na maioria dos casos o isômero *E* apresenta maior estabilidade decorrente da menor repulsão estérica entre o grupo fenila (anel B) e a carbonila, o que o torna uma configuração predominante entre as chalconas (GOMES et al., 2017).

## 2.2 Síntese de Chalconas

As Chalconas podem ser encontradas frequentemente na dieta humana, devido a sua presença em uma extensa variedade de plantas, tais como as pertencentes às famílias das Leguminosae, Compositae e Moraceae, presentes em frutas, vegetais, grãos, raízes, flores, chás e vinhos (DÍAZ-TIELAS et al., 2016).

Muito embora as chalconas sejam de origem natural elas também podem ser obtidas por meio de síntese. Alguns métodos são encontrados na literatura, no entanto, a reação mais utilizada é a condensação de Claisen – Schmidt, onde quantidades equimolares de derivados de acetofenona e benzaldeído são submetidos a uma reação de condensação aldólica cruzada, em meio alcóolico, na presença de um catalisador que pode ser de natureza básica ou ácida. Para exemplificar, na Figura 5 está demonstrado o mecanismo mais comumente usado na obtenção de chalconas, com o emprego de acetofenona e benzaldeído em presença de hidróxido de sódio.

**Figura 5** - Mecanismo da Reação de Condensação de Claisen-Schmidt.

Fonte: Autor.

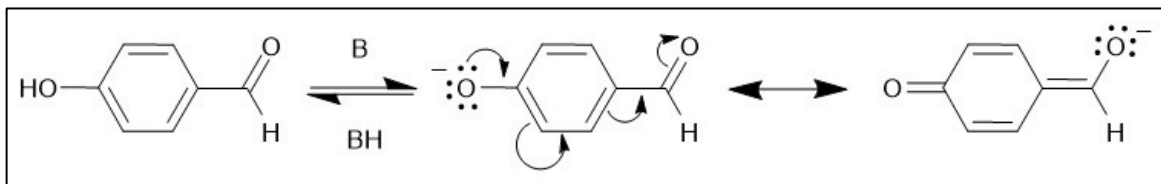
Em geral, a reação de Claisen-Schmidt fornece bons rendimentos, entretanto existem outros métodos que são utilizados para obtenção de chalconas, com reagentes de outra natureza, adequando solventes de acordo com a solubilidade e demais propriedades. Há uma extensa gama de estratégias relatadas na literatura, para a síntese destes compostos, incluindo algumas variações da metodologia utilizada na condensação de Claisen-Schmidt (MUSTOFA et al., 2014), tais como: síntese assistida por microondas para ativação dos reagentes (SOMANI et al., 2017); com emprego de líquidos iônicos, a exemplo da reação de Suzuki, e também utilizando PEG 400 (CAO et al., 2005). Outras metodologias podem incluir sínteses livres de solvente, como as que usam  $K_2CO_3$  anidro como um agente de condensação e um catalisador heterogêneo como ácido *p*-toluenossulfônico em Montmorillonite K10 (GAONKAR; VIGNESH, 2017).

Os métodos mais comuns de catálise ácida em síntese de chalconas descrevem o uso de etanol saturado com ácido clorídrico, apresentando um rendimento baixo que varia entre 10 a 40%, o que está de acordo com dados da literatura, a presença de substituintes hidroxila no anel B (benzaldeído) dificulta a reação aldólica da síntese via catálise básica (ZHUANG et al., 2017).

Além das variações já citadas, existem alguns desafios inerentes as reações de condensação aldólica, um deles (talvez o principal) está diretamente ligado a influência exercida pelos grupamentos que se encontram próximos a carbonila correspondente ao reagente aldeído. A presença de grupamentos eletrodoadores

(como hidroxilas, haletos e amino) na posição *para* no anel aromático do benzaldeído podem vir a exercer uma diminuição da eletrofilicidade da carbonila disponível para o ataque nucleofílico (Esquema 2). A explicação por trás deste fato, é que o excesso da base acaba desprotonando a hidroxila durante a síntese, deslocalizando assim a sua carga, formando um segundo ânion enolato na reação, como é ilustrado no Esquema 2 abaixo. (PATIL; MAHAJAN; KATTI, 2009).

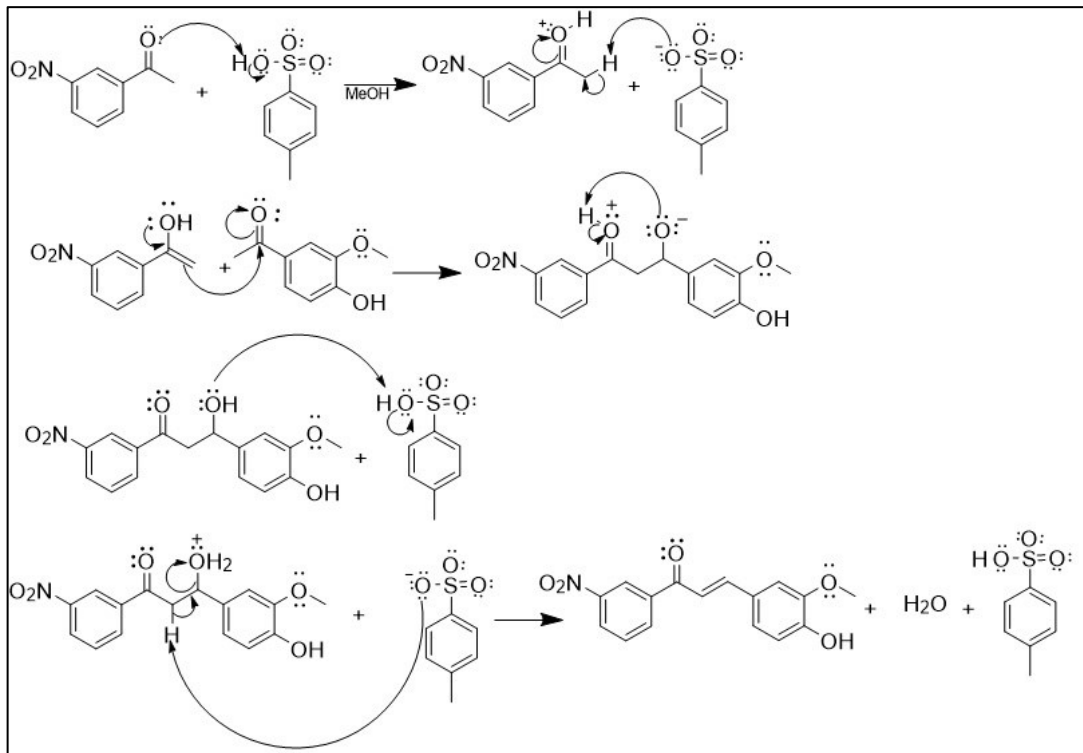
**Esquema 1** - Estruturas ressonantes obtidas com deslocalização aniônica, proveniente do desprotonamento de hidroxilas *para* substituídas ao anel.



**Fonte:** Adaptado de PATIL et al., 2009.

A presença de uma hidroxila no benzaldeído na posição *para* em relação a carbonila, foi um complicador para a obtenção das chalconas em meio básico com alto grau de pureza e com rendimentos próximos do desejado (iguais ou superiores a 70%). Este fato promoveu a busca por outros catalisadores, tais como os de natureza ácida, sendo escolhido o ácido p-toluenossulfônico (Esquema 2) (SHARMA; AGRAWAL; GUPTA, 2008).

**Esquema 2** - Mecanismo de Reação de Condensação de Claisen-Schmidt para síntese de chalconas, sob catálise ácida.



**Fonte:** Autor.

Com base nos trabalho realizado por ZHUANG et al. (2017), no qual são dispostos dados de inúmeros trabalhos com diferentes catalisadores, o ácido *p*-toluenossulfônico despertou um grande interesse por apresentar um alto rendimento, além de ser uma alternativa ao uso de catalisadores básicos.

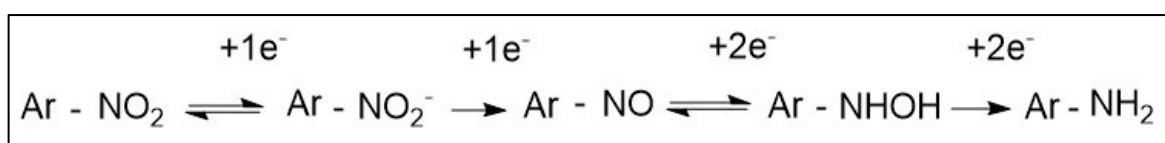
### 2.3 Nitrocompostos e suas atividades farmacológicas

São muitos os fatores levados em conta por pesquisadores da área de química medicinal na busca por substâncias com atividade potencialmente biológica (capacidade de interações com o meio, velocidade de reação, toxicidade, distribuição de elétrons, dentre outras). Empenhando-se na solução destas questões, estes estudos buscam desenvolver uma gama de moléculas complementares (estruturas parecidas para se obter atividades biológicas similares) com a finalidade de ajudar na observação de alterações em propriedades farmacológicas, o que pode facilitar o processo de validação de uma determinada droga como um potencial fármaco. Essas moléculas complementares podem ser uma via investigativa dos efeitos de modo individual ou associado.

Nesse sentido, o grupamento nitro ( $\text{NO}_2$ ) é um grupo funcional que apresenta um efeito eletroretirador. Os anéis aromáticos podem sofrer forte influência deste efeito, o qual desativa o anel nas posições *orto* e *para*, resultado do efeito ressonante que “atrai” elétrons do ciclo aromático da estrutura. Estudos tem demonstrado que a presença do grupo nitro pode ser responsável pela toxicidade de certas drogas (OLENDER; ŻWAWIAK; ZAPRUTKO, 2018).

Algumas atividades biológicas manifestadas por moléculas contendo o grupo nitro em sua estrutura, são atribuídas a facilidade de redução deste grupo, resultante de seu caráter fortemente aceptor de elétrons, possibilitada tanto pelo efeito indutivo quanto pelo efeito mesomérico. Em estudos realizados por Paula e colaboradores (2009), o transporte de nitrocompostos pelas biomembranas ocorre por difusão passiva e aumenta à medida que os radicais livres provenientes do processo de biorredução, desestabilizam as membranas biológicas. Assim, devido ao aumento da concentração intracelular de nitrocompostos, uma maior quantidade de radicais livres é gerada e, conseqüentemente, maior é o dano causado pelo estresse oxidativo. A biorredução metabólica completa destes compostos envolve 6 elétrons, com os intermediários reativos  $\text{Ar-NO}_2^{\cdot-}$  gerando por fim o produto amina ( $\text{Ar-NH}_2$ ) como produto final, que pode interagir com o DNA em meio intracelular através de stress oxidativo resultando nos efeitos biológicos observados, entretanto, também é comum encontrar nitrocompostos chegando ao produto final hidroxilamina ( $\text{Ar-NHOH}$ ) de biorredução por meio de 4 elétrons (Esquema 3) (PAULA, 2009).

**Esquema 3** - Etapas de Biorredução Metabólica de Nitrocompostos Aromáticos.



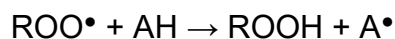
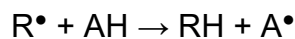
**Fonte:** Adaptado de PAULA et al., 2009.

## 2.4 Atividade antioxidante

Muitas espécies químicas por possuírem propriedade redutora, se tornam alvo de estudo para avaliação de sua capacidade antioxidante. Características essas que desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (PIETTA, 2000).

Sendo assim, pode-se dizer que uma substância antioxidante é aquela que quando em pequenas concentrações inibem a oxidação de biomoléculas como carboidratos, lipídios, proteínas, DNA e outros oxidáveis *in vitro* e *in vivo*. No organismo humano, quanto maior for a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) maior é a necessidade de produção de compostos antioxidantes ou ingestão de alimentos com potencial antioxidante (HALLIWELL et al., 1995).

Segundo Luzia e Jorge (2010), os compostos antioxidantes podem ser classificados como primários e secundários. Os antioxidantes primários atuam por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio (espécies radicalares), convertendo-os em espécies termodinamicamente estáveis, ou reagir com  $R^\bullet$  e  $ROO^\bullet$  formando complexos lipídio-antioxidante que posteriormente reagem com outros radicais formando espécies inativas para reações em cadeia e radicais relativamente estáveis ( $A^\bullet$ ) precedente aos antioxidantes (AH) (RAMALHO et al., 2006). Para exemplificar, as etapas são ilustradas a seguir:



Já os antioxidantes secundários retardam a autooxidação através da complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos (a fim de formar espécies não radicalares), desativando o oxigênio singlete e também da absorção de luz UV (LUZIA et al., 2010).

## 2.5 Reações de formação de espécies reativas

O estresse oxidativo causado por organismos tem levado a comunidade científica ao desenvolvimento de técnicas para o auxílio em pesquisas voltadas para a obtenção de compostos com potencial antioxidante. Muito embora ocorra naturalmente em organismos vivos, as moléculas geradas em processos oxidativos, as EROs, são compostos instáveis de oxigênio com um elétron não emparelhado em um de seus orbitais atômicos, como por exemplo: radicais hidroxila ( $HO^\bullet$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), principalmente os radicais livres superóxidos ( $O_2^{\bullet-}$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2^{\bullet-}$ ), que se formam normalmente em processos envolvendo o metabolismo aeróbico (MITTLER, 2002; SHARMA; et al., 2012)



Em quantidades moderadas as EROs são necessárias para algumas funções celulares, tais como indução de mediadores na regulação de processo de sinalização e defesa contra microrganismos (vírus e bactérias). No entanto, o seu excesso pode provocar danos irreparáveis às células (YEUM et al., 2009). Nos animais e nas plantas a homeostase celular redox é mantida por um sistema de defesa constituído de reguladores enzimáticos e não enzimáticos, inibidores de enzimas, cofatores de enzimas e quelantes de metais de transição. Quando o nível de EROs excede os mecanismos de defesa, diz-se que a célula está em estado de "estresse oxidativo", uma situação que pode ser induzida por diferentes fatores, principalmente tensões ambientais como salinidade, seca, refrigeração, toxicidade, radiação ultra violeta, bem como agentes patogênicos. Uma grande produção de EROs durante estresses ambientais podem representar uma ameaça para as células por causar peroxidação de lipídios, oxidação de proteínas, danos aos ácidos nucleicos e inibição de enzimas (SHARMA; et al., 2012).

A atividade antioxidante dos compostos como as chalconas decorre principalmente da presença do grupo hidroxila, o qual favorece a atividade antirradical mediada pela doação de hidrogênios (LIN et al., 2019). Essa característica desempenha um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, tendo como vantagem o fato de seus intermediários serem relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático que os constitui (SOUSA et al., 2007).

Trabalhos realizados por muitos grupos de pesquisa mostram dados promissores de teste feitos utilizando chalconas, com apreciável atividade antioxidante. Os trabalhos realizados por POLO, et al. (2019), obtiveram resultados promissores investigando a ação de chalconas na inibição de acetilcolinesterase, uma enzima de grande influência nos sintomas do Alzheimer.

### 3 Objetivos

#### 3.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar a 2'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalcona (*o*-Chal) e a 3'-nitro-4-hidroxi-3-metoxichalcona (*m*-Chal), isômeros que apresentam o grupo nitro em posições distintas no anel aromático A (Figura 1). Avaliar o potencial farmacológico destes compostos com respeito a sua capacidade antioxidante e para finalizar, proceder a análise conformacional dos compostos por meio de cálculos teóricos.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar os derivados chalcônicos *o*-Chal e *m*-Chal, através de métodos clássicos de condensação em meio ácido.
- Confirmar a obtenção dos compostos sintetizados através de análise por espectroscopia no infravermelho (IV) e Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .
- Com a química computacional, obter os confôrmeros preferenciais em fase isolada, proporcionando uma ampla visualização tridimensional das espécies estudadas.
- Com a teoria dos orbitais naturais de ligação (NBO), tentar explicar quais os efeitos que regem as preferências conformacionais.
- Realizar testes empregando os radicais DPPH e capacidade quelante.
- Avaliar se ocorre mudança na atividade antioxidante com a variação da posição do grupo nitro na estrutura da chalcona.
- Estabelecer uma correlação entre a preferência conformacional das chalconas e os resultados obtidos com os ensaios biológicos.

## 4 Parte experimental

### 4.1 Síntese dos derivados nitrochalcônicos

Os reagentes e solventes utilizados no projeto foram adquiridos comercialmente e não foram submetidos a um processo prévio de purificação e secagem. Na Tabela 1 estão apresentadas as substâncias empregadas nas sínteses, bem como sua marca e seu grau de pureza.

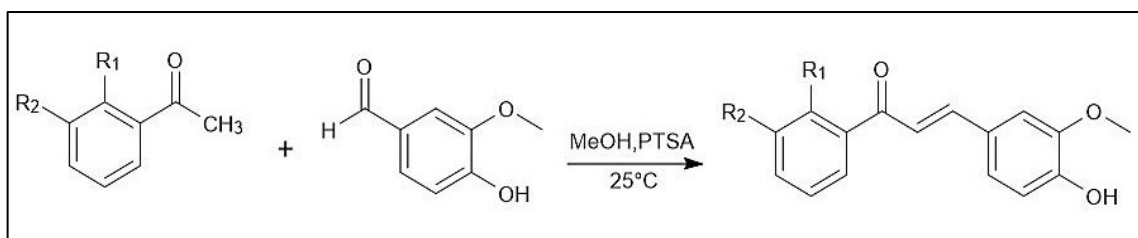
**Tabela 1** - Relação de reagentes e solventes utilizados.

Reagentes	Marca	Grau de Pureza (%)
2'-Nitroacetofenona	Sigma Aldrich	98,0
3'-Nitroacetofenona	Sigma Aldrich	98,0
Vanilina	Sigma Aldrich	99,0
Ácido <i>p</i> -tolueno Sulfônico	Sigma Aldrich	95,0
Álcool Metílico	Biotec	96,0
Acetona	Biotec	99,5

Fonte: Autor.

Os derivados chalcônicos *o*-Chal e *m*-Chal, foram obtidos por meio da reação de condensação aldólica em meio ácido (PATIL et al., 2009), empregando-se quantidades equimolares de vanilina e nitroacetofenona (2' ou 3'-nitroacetofenona). A reação geral é mostrada no Esquema 4.

**Esquema 4** – Reação geral para obtenção do *o*-Chal (R<sub>1</sub>:NO<sub>2</sub>,R<sub>2</sub>:H) e *m*-Chal (R<sub>1</sub>:H,R<sub>2</sub>:NO<sub>2</sub>).



Fonte: Autor.

**Procedimento experimental geral:** Em um balão de fundo redondo de 125 mL, mantido em banho de gelo, foram adicionados 2,9 g (0,01 mol) de vanilina dissolvidos em 25 mL de metanol. Posteriormente, 2,0 g de ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA) foram adicionados ao meio reacional e para finalizar, 2,1 g (0,01 mol) de 2'-nitroacetofenona (ou 3'-nitroacetofenona). A mistura reacional foi mantida sob agitação e protegida da luz durante 24h. Decorrido este tempo, a reação foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio e o produto foi extraído com

clorofórmio (3 x 15mL). A fase orgânica foi seca e rotaevaporada. Ao final, o produto da reação com a 2'-nitroacetofenona apresentou aspecto oleoso (*o*-Chal), já o produto da reação com a 3'-nitroacetofenona se apresentou na forma de um sólido amarelo (*m*-Chal).

## 4.2 Caracterização Espectroscópica

### **Análise de IV**

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um Espectrômetro Infravermelho FTIR, Prestige 21 - Shimadzu, com as substâncias incorporadas em pastilhas de KBr, sendo os valores de absorção registrados em escala de centímetro recíproco ( $\text{cm}^{-1}$ ).

### **Análise por RMN**

A confirmação dos produtos obtidos foi realizada através dos experimentos de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de Carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros foram adquiridos em um Espectrofotômetro de Ressonância Magnética Nuclear 400 MHz, Avance III – Bruker, alocado no Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-Labmu) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Os experimentos se deram sob pulsos de radiofrequência na frequência de 400,131 MHz para núcleos de hidrogênio e a 100,623 MHz para núcleos de carbono, utilizando soluções com aproximadamente 50 mg do composto a ser estudado, em solução de 600  $\mu\text{L}$  em  $\text{CDCl}_3$ , e como padrão de referência interna tetrametilsilano (TMS), sendo mantida a temperatura da probe a cerca de 25 °C.

## 4.3 Ensaios de atividade antioxidante

Para avaliação da atividade antioxidante dos compostos sintetizados utilizou-se duas metodologias, a primeira com o emprego de DPPH e a segunda comumente conhecida como atividade quelante do íon ferro II. Ambos ensaios foram realizados em um Leitora de placas - ELISA Synergy H1-Biotek.

### **Metodologia com emprego de DPPH**

A capacidade antioxidante dos compostos foi determinada utilizando-se o método proposto por Brand-Williams e colaboradores (1995). O ensaio é fundamentado na redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por meio da

captura desses radicais de modo a determinar a capacidade antioxidante dos compostos estudados, provocando, conseqüentemente, decréscimo da absorvância da mistura reacional medida para 515 nm. Para o cálculo da concentração eficiente IC<sub>50</sub>, (concentração do composto que produz 50% do seu efeito máximo) soluções hidroetanólicas das amostras foram preparadas nas concentrações de (50; 40; 30; 20; 10 e 0 µM.L<sup>-1</sup>). As placas foram incubadas por 10 minutos, em temperatura ambiente, para então ser determinado a atividade antioxidante (AA), considerando a porcentagem de inibição do DPPH, com a equação 1:

$$AA = \frac{ABS_{cn} - (ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{ABS_{cn} \times 100} \times 100\% \quad (1)$$

Sendo que ABS<sub>cn</sub> é a absorvância do controle negativo, ABS<sub>amostra</sub> a absorvância da amostra de chalcona em diferentes concentrações com a presença de DPPH e a ABS<sub>branco</sub> a absorvância das soluções de chalcona, sem a presença de DPPH. Após a medida no leitor de placas, com os valores obtidos foi construído um gráfico da porcentagem de inibição do DPPH *versus* concentração das amostras. Os valores de IC<sub>50</sub> calculados por regressão linear serão então gerados a partir de gráficos onde o eixo das abscissas (x) representa a concentração e o eixo das ordenadas (y), a porcentagem média da atividade antioxidante das triplicatas.

### **Atividade quelante do íon ferro (FIC)**

A atividade quelante do íon ferro (FIC) foi determinada medindo-se a capacidade que a amostra tem para quelar os íons Fe<sup>3+</sup> do Cloreto Férrico (FeCl<sub>3</sub>) em solução etanólica. Quanto maior a quelação destes íons pela amostra, menor o número de íons disponíveis, provocando um decaimento da cor amarela no complexo reacional, que pode ser monitorado pela análise da absorvância a 510 nm. A atividade quelante foi determinada conforme descrito por Chew et al. (2009).

Em uma placa de Elisa de 96 poços, foi adicionas 160 µL das amostras de chalconas nas seguintes concentrações 1000 µM, 800 µM, 600 µM, 400 µM, 200 µM, 0 µM, junto com um volume de 80 µL de cloreto férrico (Fe<sup>3+</sup>). Também foram preparados um padrão de o-fenantrolina (0,05 % v/v, 1 mL). Estas soluções foram agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por 15 minutos no escuro a temperatura ambiente, para depois mensurar sua absorvância a 510 nm no leitor de

Elisa Synergy H1-Biotek (HARVEY, A. E.; SMART, J. A.; AMIS, 1995). Calculou-se a porcentagem de atividade quelante de metais férricos (FIC) utilizando a equação 2:

$$\% \text{ FIC} = \frac{\text{ABS}_{\text{cn}} - (\text{ABS}_{\text{amostra}} - \text{ABS}_{\text{branco}})}{\text{ABS}_{\text{cn}} \times 100} \times 100\% \quad (2)$$

onde % FIC é a atividade quelante;  $\text{ABS}_{\text{amostra}}$  é a absorvância da amostra em diferentes concentrações de chalcona (agente quelante);  $\text{ABS}_{\text{branco}}$  é a absorvância das chalconas sem o agente quelante e  $\text{ABS}_{\text{cn}}$  é a absorvância do controle negativo.

A concentração final de  $\text{Fe}^{3+}$  livre e quelados foram determinadas a partir de uma curva de calibração, obtida com as % FIC das diferentes concentrações, plotando-se na abscissa as concentrações da amostra ( $\mu\text{g/mL}$ ), ou do controle positivo e na ordenada as % FIC. Por meio deste, obteve-se a equação da reta ( $y = ax + b$ ). Substituindo-se o  $y$  pela absorvância obtida pela análise enquanto  $a$  e  $b$  são dados através da linearização, encontrou-se o resultado correspondente a concentração da amostra (agente quelante) necessária para reduzir (quelar) o íon férrico (III), expresso em  $\mu\text{M}$ .

#### 4.4 Cálculos teóricos

No presente trabalho foram utilizadas funções Gaussianas do pacote de programas Gaussian 09 (FRISCH et al., 2009) e NBO 5.9 (SARKAR; MIDDYA, 2012). As Superfícies de Energia Potencial (SEP) para ambos os compostos, *o*-Chal e *m*-Chal, foram obtidas a partir de cálculos de *scan* com o nível de teoria M06-2X/6-31G, através da combinação dos ângulos diedros rotacionados 36 vezes em intervalos de 10 graus, com cálculos de geometria.

Para a obtenção dos mínimos correspondentes a cada confôrmero, as geometrias foram submetidas a cálculos de otimização seguida pelo cálculo de frequência para caracterizar a estrutura como um ponto de mínimo. Encontrada a energia dos confôrmeros, fez-se a correção da energia do ponto zero (EPZ). Na execução dos cálculos de otimização e frequência, o nível de teoria empregado foi o M06-2X/6-311++G(2d,dp).

Com o objetivo de investigar como as interações, estéricas e hiperconjugativas, afetaram a preferência conformacional da *o*-Chal e da *m*-Chal, foram feitos cálculos usando a Teoria do Orbital Natural de Ligação (NBO), com o mesmo nível de teoria das otimizações.

Para a realização de todos os cálculos citados aqui, utilizou-se a estação de trabalho - Intel Core 2 Quad de 2,4 GHz, 64 bits e 4,0 GB de memória RAM, em sistema operacional KUBUNTU versão 9.04 (Linux) e interface gráfica KDE.

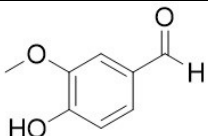
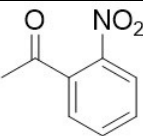
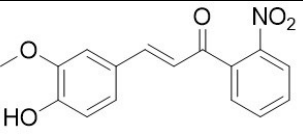
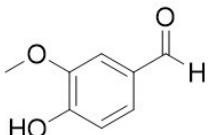
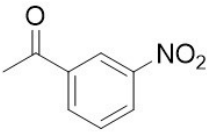
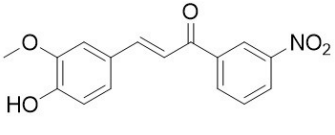
## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Síntese e Caracterização Espectroscópica

Inicialmente, optou-se por obter as chalconas de interesse deste trabalho com o procedimento clássico da condensação de Claisen-Schmidt catalisado por base. Entretanto, não foi possível a obtenção dos compostos. Provavelmente, a base promoveu a desprotonação da hidroxila ligada ao anel aromático do benzaldeído (vanilina), diminuindo a eletrofilicidade da carbonila, a qual deveria ser atacada pelo enolato durante a condensação, conforme já discutimos na seção 2.2.

Sendo assim, os compostos *o*-Chal e *m*-Chal foram obtidos através de protocolos de reação de condensação aldólica cruzada catalisada por ácido *p*-tolenossulfônico (PTSA). As estruturas dos reagentes e produtos, assim como o rendimento de cada síntese estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Dados de rendimento para as espécies sintetizadas.

Síntese	Vanilina	Nitroacetofenona	Produto	Rendimento
1				46%
2				74%

**Fonte:** Autor.

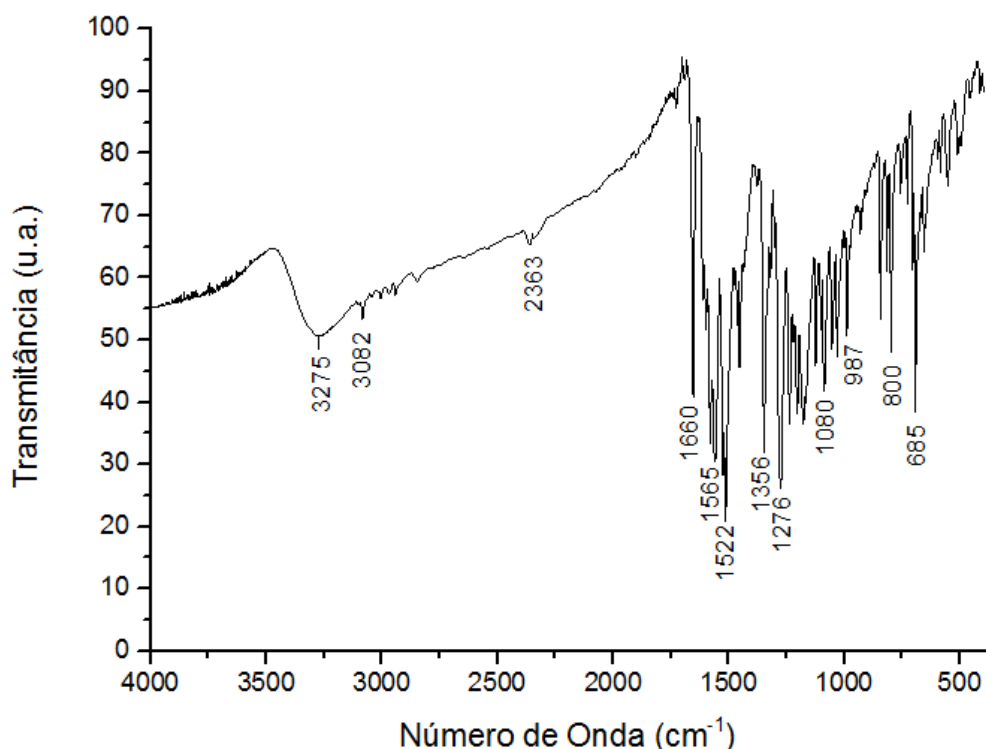
Os produtos das sínteses foram caracterizados pelas espectroscopias de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear. A seguir, serão apresentadas e discutidas as análises espectroscópicas que confirmaram a obtenção da *m*-Chal e na sequência serão apresentados os dados da *o*-Chal.

Inicialmente, foi obtido o espectro na região do infravermelho para a nitrochalcona *m*-Chal (Figura 6), o qual apresentou bandas bem características para vários grupos presentes na estrutura da *m*-Chal, como por exemplo a banda de estiramento da carbonila e as bandas de estiramento das duplas ligações carbono-carbono que apareceram em 1660 e 1565  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. As principais



absorções estão agrupadas na Tabela 3. Entretanto, apenas com as informações contidas neste espectro não é possível afirmar ou concluir que a *m*-Chal foi formada na reação, todos os reagentes também apresentam bandas similares. Desta maneira, é imprescindível o uso da espectroscopia de RMN para a elucidação e confirmação da estrutura do produto final.

Figura 6 - Espectro de IV (em pastilha de KBr) para a nitrochalcona *m*-Chal.



Fonte: Autor.

Tabela 3 – Principais absorções ( $\text{cm}^{-1}$ ) do espectro de IV para a *m*-Chal.

Absorção teórica <sup>a</sup>	Absorção observada	Modo de Vibração	Ligação
3111, 3078	3082	Estiramento em aromáticos	$\text{Csp}^2\text{-H}$
1675	1660	Estiramento	$\text{C=O}$
1570	1565	Estiramento	$\text{C=C}$
1560 -1490	1522	Estir. ass. de nitrocompostos arom.	$\text{C-NO}_2$
1355	1356	Deformação Axial simétrica	$\text{N=O}$
976	987	Estiramento	$\text{CH=CH}$

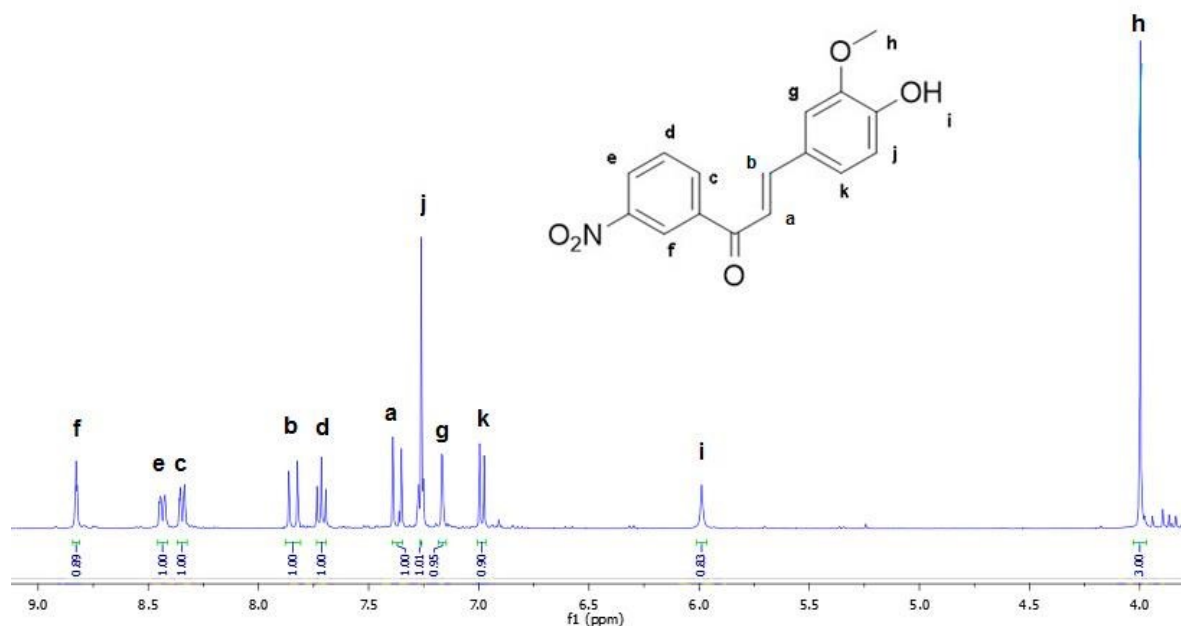
<sup>a</sup> Valores utilizados como base para determinação dos valores observados através dos dados encontrados no (PRETSCH, E.; BUHLMANN, P.; BADERTSCHER, 2009).

Fonte: Autor.

O composto *m*-Chal apresenta uma estrutura assimétrica, com sete sinais de hidrogênios aromáticos, um grupo hidroxila, um grupo metoxila e outros dois hidrogênios vinílicos, característicos da instauração- $\alpha,\beta$  vizinha à carbonila. Analisando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 7), é possível identificar todos os

hidrogênios relatados anteriormente. Para facilitar a atribuição dos sinais no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  fez-se uso da representação apresentada na mesma Figura, denominando os hidrogênios com as letras de (a)-(k). Os sinais dos hidrogênios foram analisados individualmente de acordo com seus respectivos deslocamentos químicos, com base em dados da literatura (PRESTSCH, E.; BUHLMANN, P.; BADERTSCHER, 2009).

**Figura 7** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da *m*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

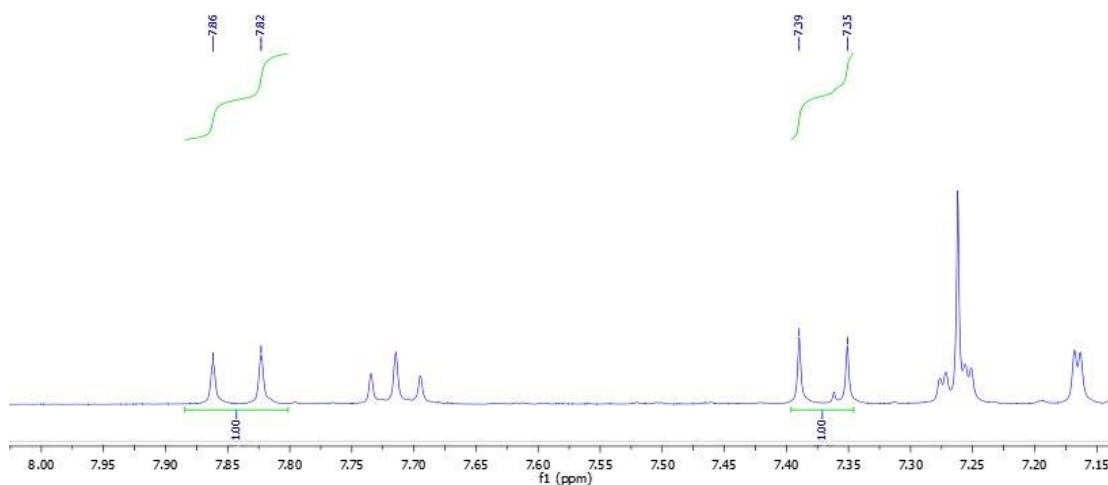


**Fonte:** Autor.

Analisando a região de 4,0 a 9,0 ppm no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da *m*-Chal observa-se dois simpletos em frequência mais baixa,  $\delta_{\text{H}}$  4,02 e  $\delta_{\text{H}}$  6,00 que representam os hidrogênios da metoxila (h) e da hidroxila (i), respectivamente. Subindo para frequências mais altas, região entre 7,00 a 9,00 ppm, verifica-se a presença dos demais hidrogênios da molécula, vinílicos e aromáticos, característicos desta região. Dentre estes sinais, dois dupletos representados pelas letras (a) e (b) com constantes de acoplamento visivelmente próximas chamam a atenção. A expansão destes dupletos (Figura 8) em  $\delta_{\text{H}}$  7,37 e  $\delta_{\text{H}}$  7,84 comprovam que o produto *m*-Chal foi formado, pois representam os hidrogênios da ligação vinílica, ligação formada com a reação de condensação de Claisen-Schmidt. Além desta informação comprovar a obtenção do produto desejado, podemos verificar que a configuração da ligação vinílica é *trans*, pois o valor da constante de acoplamento ( $^3J_{\text{HH}}$ ) foi de 16,0 Hz,

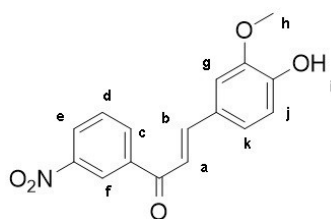
valor característico de dupla ligação carbono-carbono em configuração *trans*, e não em *cis*. (KOTHA, R. R. et al, 2017).

**Figura 8** – Expansão da região de aromáticos da *m*-Chal.



**Fonte:** Autor.

Com respeito aos hidrogênios aromáticos, observa-se um duplo duplete em  $\delta_H$  7,71 (Figura 6 e 7) atribuído ao hidrogênio (d), o qual acoplou em *orto* com os hidrogênios vizinhos (e) e (c). Estes, por sua vez, não apresentaram sinais tão bem resolvidos,  $\delta_H$  8,42 e  $\delta_H$  8,37 (Figura 6), resultado de seus acoplamentos aromáticos em *orto* e *meta*. O duplete em  $\delta_H$  7,00 representa o hidrogênio (k) que acopla mais efetivamente apenas com o hidrogênio (j). Os demais hidrogênios aromáticos aparecem em  $\delta_H$  8,83;  $\delta_H$  8,42;  $\delta_H$  8,37;  $\delta_H$  7,28 e  $\delta_H$  7,16, os quais foram atribuídos aos hidrogênios (f), (e), (c), (j) e (g), respectivamente. Todas estas informações estão compiladas na Tabela 4. Com esta análise, foi possível verificar a pureza do composto obtido, pois observa-se apenas sinais referentes a chalcona desejada (Tabela 4, Figura 7).

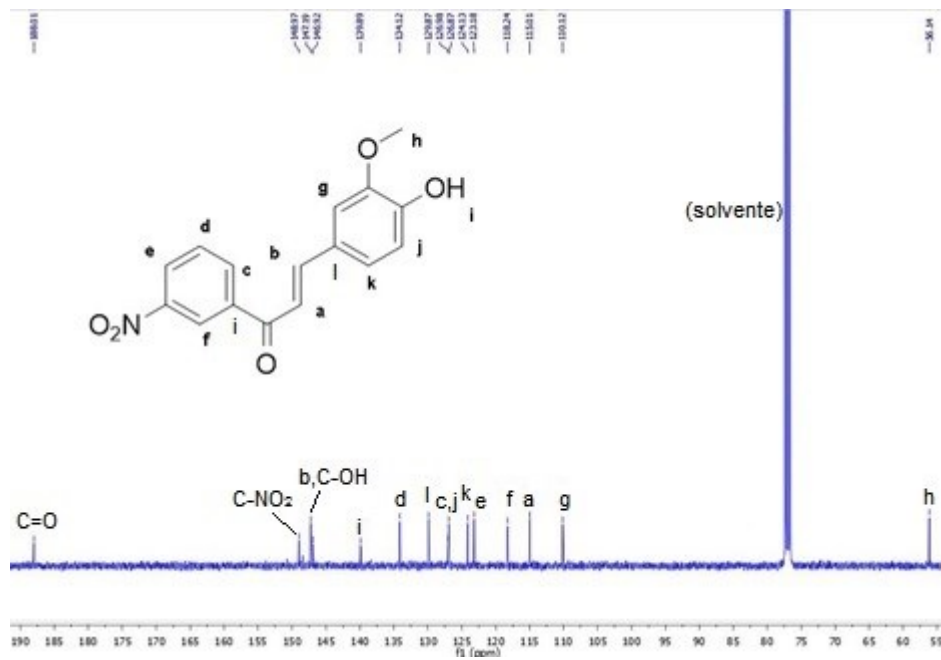
**Tabela 4** - Dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  da *m*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Multiplicidade	Hidrogênios	$^3J_{\text{HH}}$ (Hz)
7,37	<i>d</i>	$\text{CH}_{\alpha}$ vinílico (a)	15,0
7,84	<i>d</i>	$\text{CH}_{\beta}$ vinílico (b)	15,0
8,37	<i>ddd</i>	CH aromático (c)	
7,71	<i>dd</i>	CH aromático (d)	
8,42	<i>ddd</i>	CH aromático (e)	
8,83	<i>m</i>	CH aromático (f)	
7,16	<i>s</i>	CH aromático (g)	
4,02	<i>s</i>	O- $\text{CH}_3$ (h)	
6,00	<i>s</i>	OH (i)	
7,28	<i>m</i>	CH aromático (j)	
7,00	<i>d</i>	CH aromático (k)	

Fonte: Autor.

No intuito de confirmar as informações obtidas com o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da *m*-Chal, avaliou-se também o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do referido composto, o qual apresentou 16 sinais, cada um referente a um carbono da molécula. Não aparecem sinais equivalentes, o que é esperado, pois a molécula é completamente assimétrica. Em 187,99 ppm, encontra-se o pico do carbono carbonílico da cetona e em, 146,90 e 115,00 ppm, os carbonos vinílicos das posições  $\alpha$  e  $\beta$  à carbonila (Figura 9 e Tabela 5).

**Figura 9** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da *m*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

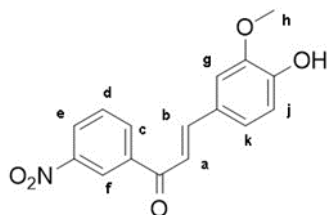


Fonte: Autor.

A atribuição completa está demonstrada na Tabela 5. Os valores de deslocamento químicos observados para os sinais dos carbonos aromáticos, vinílicos, metila e carbonila foram interpretados levando em conta suas vizinhanças, seguindo dados da literatura (PRETSCH et al., 2009; SILVERSTEIN, 205). Esta análise também reforça a questão da pureza da amostra, visto que todos os reagentes utilizados são compostos carbonílicos e verifica-se a presença de apenas uma carbonila.

**Tabela 5** - Dados espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  da *m*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

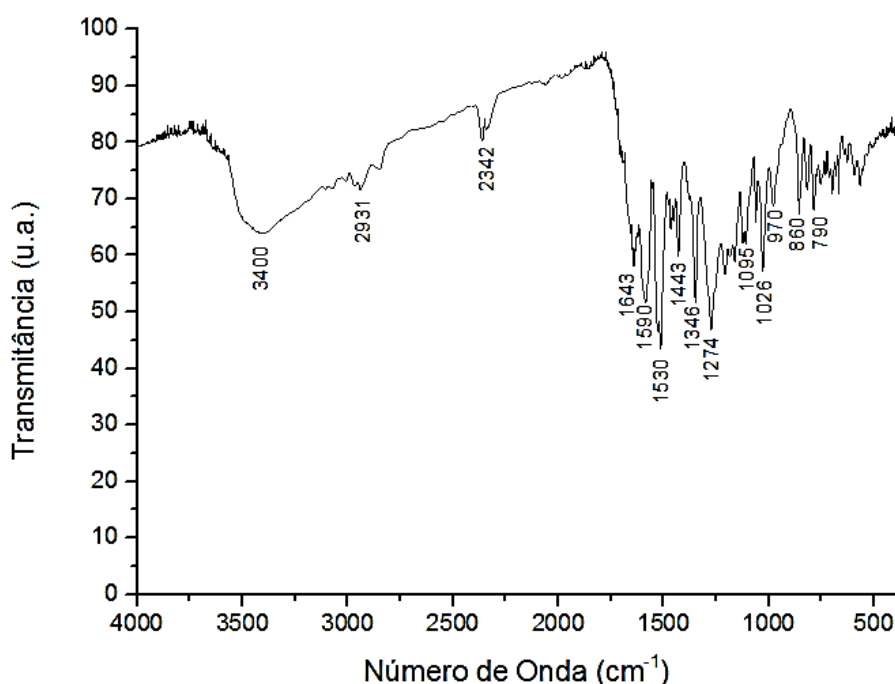
$\delta_c$ (ppm)	Carbonos
187,99	<b>C=O</b>
148,95	<b>C-NO<sub>2</sub></b>
148,38	<b>C-OCH<sub>3</sub></b>
147,19	<b>C-OH</b>
146,90	<b>O=C-C=C (b)</b>
139,99	<b>O=C-C<sub>Ar</sub></b>
134,11	<b>CH (d)</b>
129,86	<b>O=C-C=C-C<sub>Ar</sub></b>
126,91	<b>CH (j)</b>
126,87	<b>CH (c)</b>
124,13	<b>CH (k)</b>
123,17	<b>CH (e)</b>
118,22	<b>CH (f)</b>
115,00	<b>C-C=O (a)</b>
110,10	<b>CH (g)</b>
56,13	<b>C-O-CH<sub>3</sub> (h)</b>



Fonte: Autor.

Finalizada a discussão da caracterização espectroscópica da chalcona *m*-Chal, a seguir estão apresentados os resultados obtidos com a análise da *o*-Chal, seguindo a mesma ordem de apresentação dos espectros, primeiro o espectro de IV e depois os espectros de RMN.

O estado pastoso do produto *o*-Chal dificultou o processo de homogeneização do brometo de potássio (KBr) com a amostra para a produção da pastilha, o que pode ter gerado sinais não tão bem definidos quanto os observados para a *m*-Chal (Figura 10).

**Figura 10** - Espectro de IV (em pastilha de KBr) para a nitrochalcona *o*-Chal.

Fonte: Autor.

A presença da banda em  $1643\text{ cm}^{-1}$  demonstra que o produto é um composto carbonílico, esta banda é resultado do estiramento da ligação C=O. As demais bandas foram caracterizadas conforme mostra a Tabela a seguir.

**Tabela 6** - Principais absorções ( $\text{cm}^{-1}$ ) do espectro de IV para a *o*-Chal.

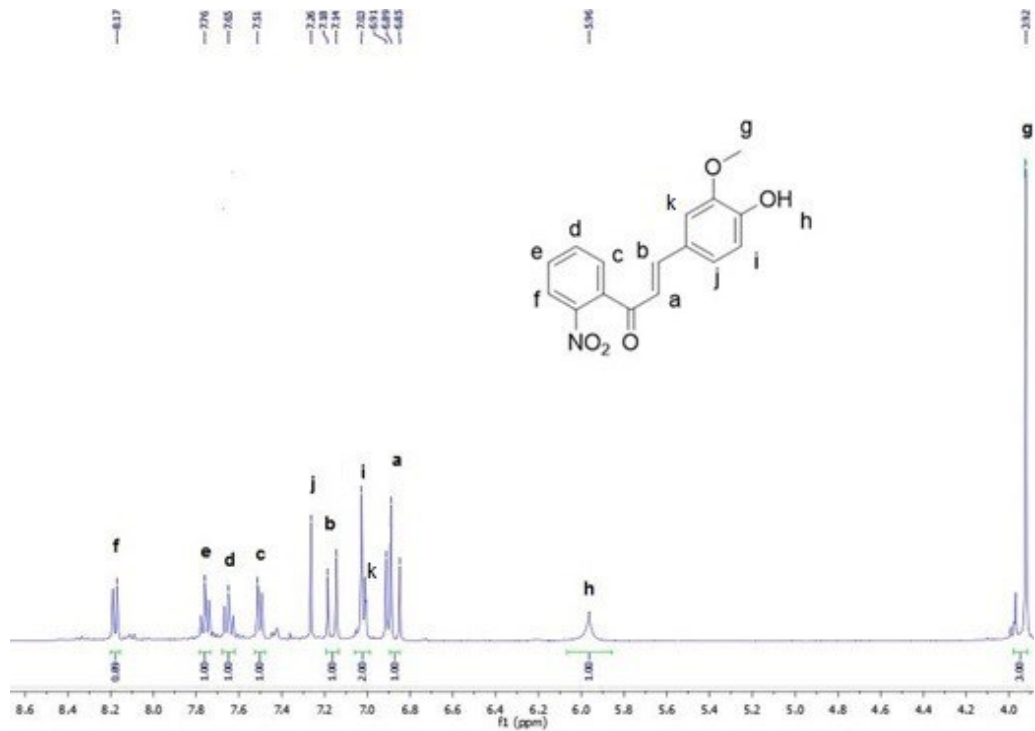
Absorção teórica <sup>a</sup>	Absorção observada	Modo de Vibração	Ligação
3111, 3078	2931	Estiramento em aromáticos	<b>Csp<sup>2</sup>-H</b>
1675	1643	Estiramento	<b>C=O</b>
1570	1590	Estiramento	<b>C=C</b>
1560 - 1490	1530	Estir. ass. de nitrocompostos arom.	<b>C-NO<sub>2</sub></b>
1355	1346	Deformação Axial simétrica	<b>N=O</b>
976	970	Estiramento	<b>CH=CH</b>

<sup>a</sup> Valores utilizados como base para determinação dos valores observados através dos dados encontrados no (PRETSCH, E.; BUHLMANN, P.; BADERTSCHER, 2009).

Fonte: Autor.

A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  obtido para o composto *o*-Chal apresentou muitas semelhanças em comparação aos deslocamentos químicos reportados para a *m*-Chal. A representação dos hidrogênios foi realizada de maneira similar ao composto anterior e está demonstrada na Figura 11 em conjunto com o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Figura 11** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para a *o*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Fonte:** Autor.

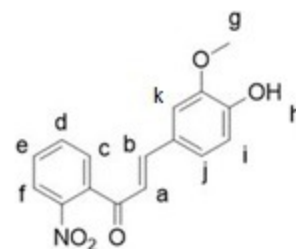
Observou-se a presença de um pico intenso correspondente a presença de uma metila ligada ao átomo de oxigênio (metoxila) em  $\delta_{\text{H}}$  3,8 e um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  6,03 referente ao hidrogênio da hidroxila. Os demais assinalamentos ocorreram na região entre 6,8 a 8,2 ppm, região típica de hidrogênios aromáticos e vinílicos, conforme já citado anteriormente. Os valores de deslocamento químico, multiplicidade e constante de acoplamento estão apresentados na Tabela 7.



Tabela 7 - Dados espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  da *o*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

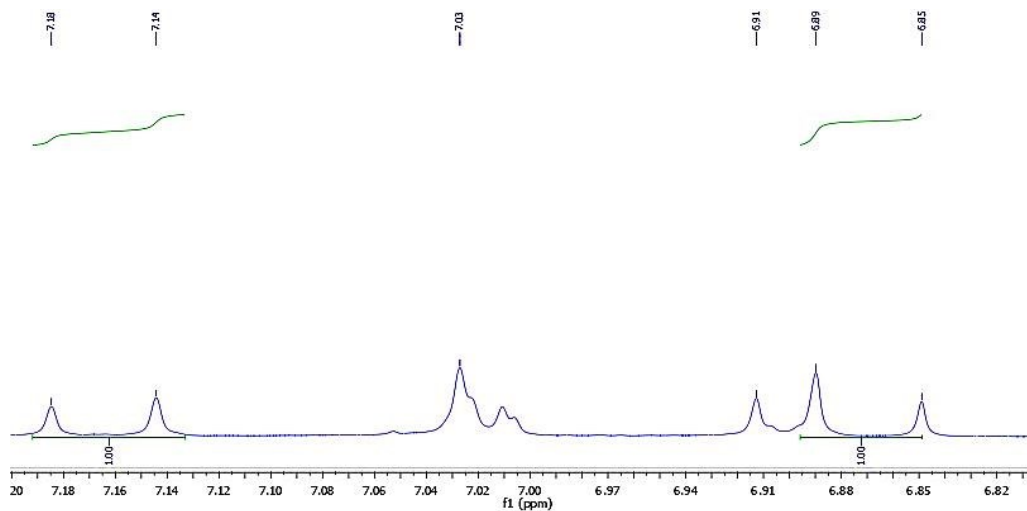
$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Multiplicidade	Hidrogênios	$^3J_{\text{HH}}$ (Hz)
6,87	<i>d</i>	$\text{CH}_\alpha$ vinílico (a)	16,0
7,18	<i>d</i>	$\text{CH}_\beta$ vinílico (b)	16,0
7,53	<i>dd</i>	CH aromático (c)	
7,67	<i>ddd</i>	CH aromático (d)	
7,82	<i>ddd</i>	CH aromático (e)	
8,02	<i>dd</i>	CH aromático (f)	
7,20	<i>s</i>	CH aromático (k)	
3,93	<i>s</i>	O- $\text{CH}_3$ (g)	
5,98	<i>s</i>	OH (h)	
7,28	<i>d</i>	CH aromático (j)	
7,00	<i>d</i>	CH aromático (i)	

Fonte: Autor.



Como o objetivo da reação foi a obtenção de uma cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, um dos primeiros assinalamentos a serem feitos é a identificação dos sinais dos hidrogênios vinílicos, os quais aparecem em 6,87 e 7,18 ppm. Além do deslocamento químico, a medida da constante de acoplamento ( $^3J_{\text{HH}}$ ) é de extrema importância neste caso, pois demonstrou tanto a formação da dupla ligação carbono-carbono, como a configuração dos grupos nesta ligação. Os dupletos vinílicos apresentaram  $^3J_{\text{HH}}$  de 16,0 Hz, valor característico de prótons vinílicos em configuração *trans*. A expansão da região do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  com estes sinais, auxilia na visualização dos dupletos, como é possível verificar na Figura 12.

**Figura 12** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  expandido para os prótons vinílicos da *o*-Chal.

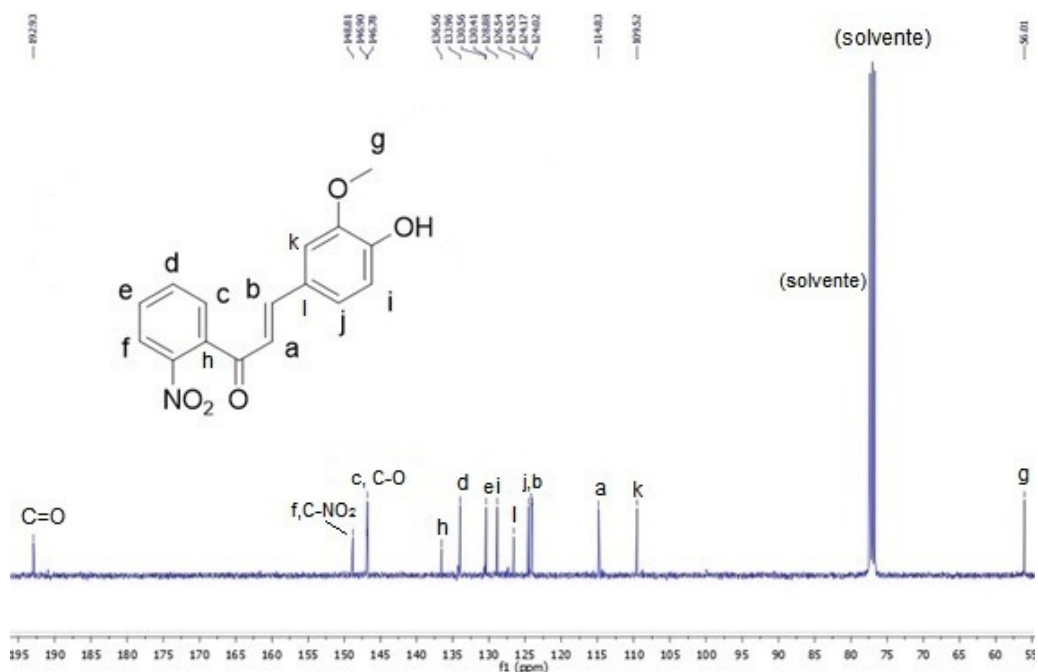


**Fonte:** Autor.

Entretanto, diferente do que aconteceu com a *m*-Chal, no caso da *o*-Chal não foi possível obter a chalcona pura. Pelo espectro total de RMN de  $^1\text{H}$ , foi possível verificar sinais que indicaram a presença de vanilina ( $\delta_{\text{H}}$  9,85), o reagente aldeído utilizado na síntese. Após algumas tentativas de purificação através de processo de extração com acetato de etila, os sinais da vanilina diminuíram, mas permaneceram no espectro, representando 6% do produto total, uma porcentagem baixa.

Para finalizar a caracterização da *o*-Chal, a Figura 13 apresentou o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da referida chalcona.

**Figura 13** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da *o*-chal em  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz).

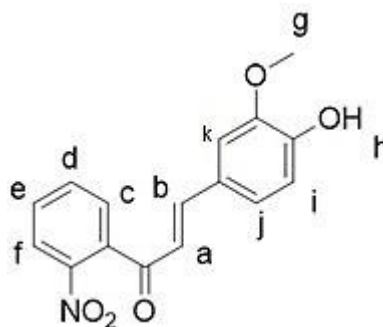


Fonte: Autor.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da *o*-Chal, foram observados um sinal para cada carbono presente na estrutura e foram compilados na Tabela 8.

**Tabela 8** - Dados espectroscópicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  da *o*-Chal (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

$\delta_c$ (ppm)	Carbonos
192,93	C=O
148,89	C-NO <sub>2</sub>
148,80	CH (f)
147,02	CH (c)
146,90	C-OCH <sub>3</sub>
136,54	C-OH (h)
133,95	CH- (d)
130,41	C-H (e)
128,86	C-H (i)
126,52	C-H (l)
124,93	CH- (j)
124,16	CH- (l)
124,00	O=C-C=C (b)
114,83	O=C-C=C (a)
109,52	-C-H (k)
56,01	-C-O-C-H <sub>3</sub> (g)



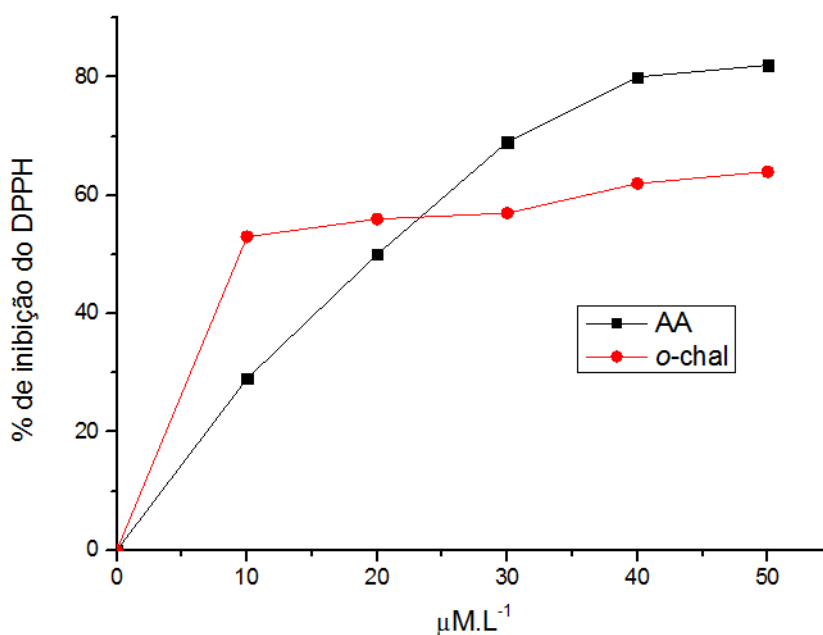
Fonte: Autor.

## 5.2 Avaliação da atividade antioxidante com DPPH

O ensaio com DPPH, embora tenha sido realizado para as duas chalconas, optou-se por apresentar neste trabalho apenas os resultados referentes a chalcona *o*-Chal. Os dados da *m*-Chal serão reavaliados no futuro pelo grupo de pesquisa.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (%) da *o*-Chal em meio etanólico estudado e do padrão, o ácido ascórbico (AA), nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50  $\mu\text{M.L}^{-1}$ , foram determinados pelo ensaio do DPPH e estão apresentados na Figura 9. A amostra analisada apresentou atividade sequestradora do radical DPPH, contudo já era esperado uma atividade menor frente ao padrão AA. Também foi possível observar um aumento significativo da amostra analisada frente ao controle na concentração de 10  $\mu\text{L}$  o que mostra assim a capacidade da chalcona analisada em capturar uma quantidade superior a 50% dos radicais no meio, atingindo um máximo de  $64 \pm 2 \%$ , contra  $84 \pm 1 \%$  do padrão AA (Figura 14).

**Figura 14** – Comportamento da *o*-Chal sobre a inibição do radical DPPH.



Fonte: Autor.

Comparando os valores observados no gráfico representado na Figura 9 foi possível observar que apesar de ainda permanecer distante do desempenho do padrão AA como um antioxidante, a amostra *o*-Chal apresentou uma grande inibição, chegando a se igualar quando a concentração de ambas é de aproximadamente de

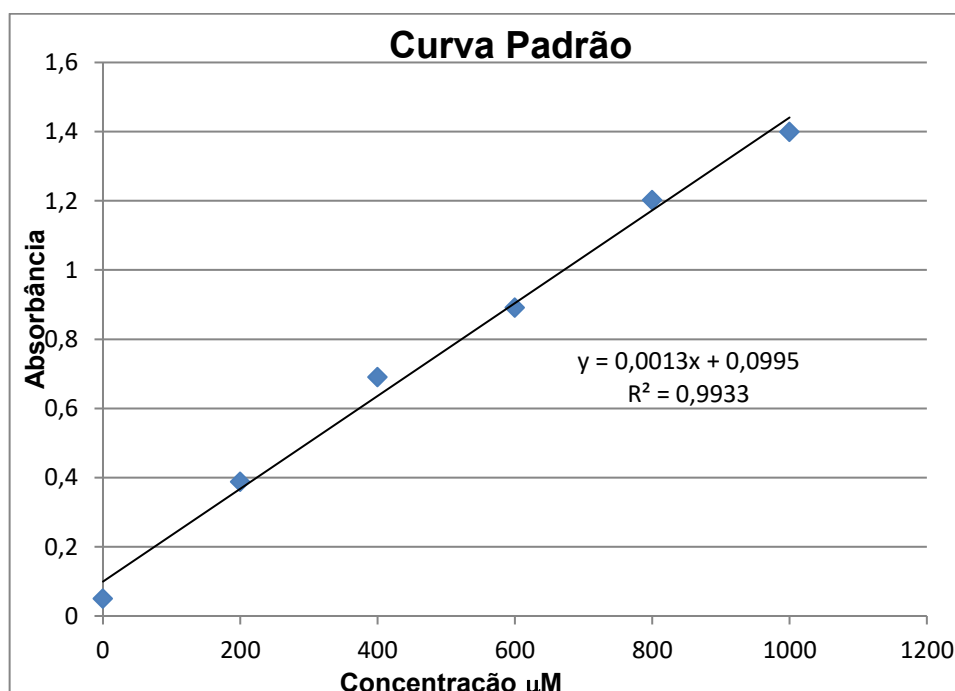
20,8 mmol. L<sup>-1</sup>. Comparando os resultados obtidos de IC<sub>50</sub>, tanto do controle 0,02088 mmol. L<sup>-1</sup> ácido ascórbico (AA) quanto *o*-Chal 0,11458 mmol. L<sup>-1</sup> tiveram uma equivalência de 18%.

Dentre os efeitos relacionados a atividade antioxidante observada, estão a presença da hidroxila (presente no anel B) um grupo doador de elétrons, que ao ser desprotonada gera uma carga negativa estabilizada através da ressonância com o anel aromático, a carbonila e o sistema  $\alpha,\beta$  insaturado.

### 5.3 Atividade quelante do íon ferro (FIC)

Primeiramente, realizou-se a linearização da quelação do ferro com o padrão *o*-fenantrolina, Figura 15, fornecendo a equação linear:  $Y = 0,0013x + 0,0995$ , a qual apresentou coeficiente de correlação de 0,9933.

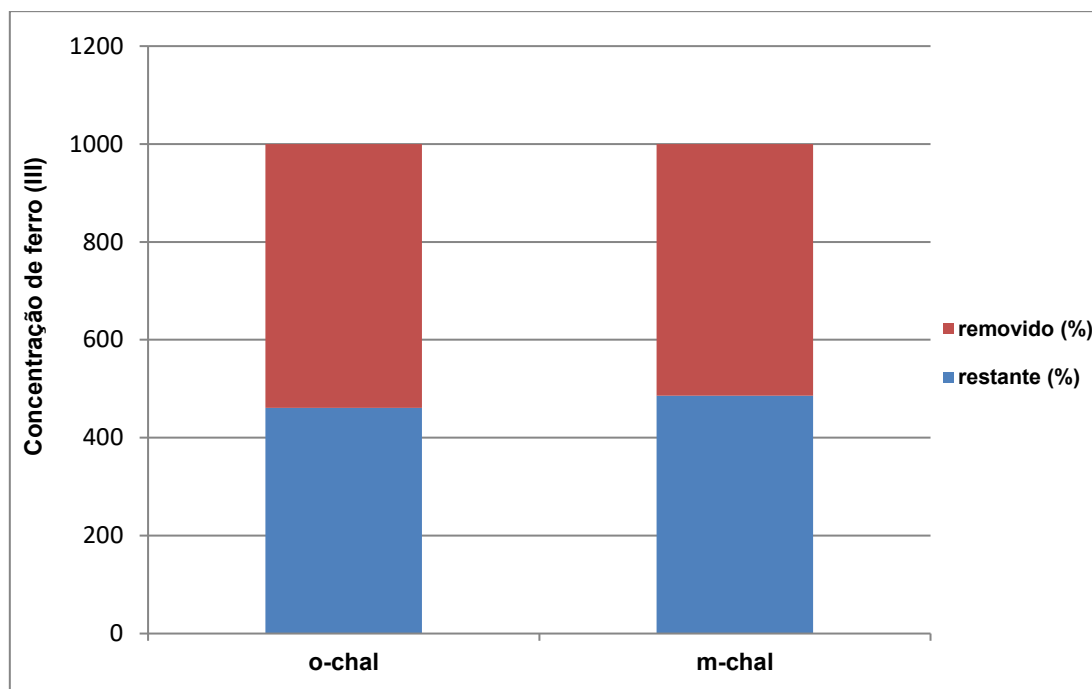
**Figura 15** – Linearização do controle negativo, obtida com a capacidade da *o*-fenantrolina quelar o íon férrico (Fe<sup>3+</sup>).



Fonte: Autor.

O valor máximo da capacidade quelante dos compostos estudados foi de 539,1 μM para a *o*-Chal, enquanto que a *m*-Chal apresentou uma capacidade de quelar de 514,23 μM (Figura 16).

**Figura 16** - Concentrações de ferro (III) obtidas após o teste da capacidade quelante da *o*-Chal e *m*-Chal.



Fonte: Autor.

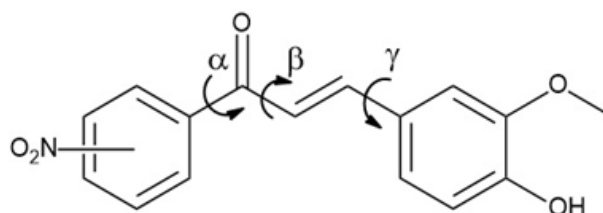
Observou-se que entre as chalconas avaliadas, a correlação entre o teor de *o*-Chal que foi de 54% foi superior ao teor de 41 % da *m*-Chal. As chalconas assim como muitos polifenóis podem vir a apresentar o potencial quelante devido a presença de carbonila e de grupos fenólicos. Como descrito por GULÇIN (2005) polifenóis podem agir como catalisadores na quelação de metais, inibindo a peroxidação do LDL, e ajudando a minimizar os danos oxidativos de tecidos, bem como na captura de radicais livres que se encontram presentes em vários processos bioquímicos de organismos vivos. Nesse sentido, os resultados obtidos e demonstrados na Figura 12, além de comprovar que chalconas são potenciais agentes quelantes, a diferença nos teores sugere que o fator determinante para a maior capacidade quelante da *o*-Chal se deve a proximidade entre o grupo nitro e a carbonila, formando assim um quelante bivalente necessário para a formação do complexo.

#### 5.4 Cálculos Teóricos

##### ***Análise Conformacional***

A investigação sobre a preferência conformacional dos compostos, *o*-Chal e *m*-Chal, iniciou-se com os cálculos de *scan*. Estes cálculos foram realizados seguindo a mesma metodologia para ambos os compostos, combinando o giro de 10° em 36 etapas, para obtenção de gráficos de energia *versus* a coordenada referente ao passo atribuído, ou como são chamados - SEPs (Superfícies de Energia Potencial). Foram investigados três ângulos diedros, representados na Figura 17.

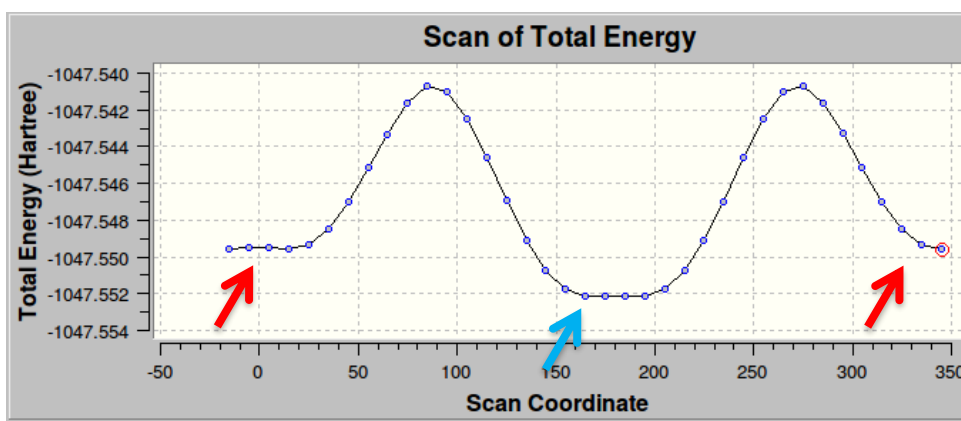
**Figura 17** – Ângulos diedros analisados para *o*-Chal e *m*-Chal.



Fonte: Autor.

Os ângulos diedros investigados foram os seguintes: diedro  $\alpha$  (ângulo entre a carbonila e o anel A), diedro  $\beta$  (ângulo entre a carbonila e a insaturação vinílica) e diedro  $\gamma$  (ângulo entre a insaturação vinílica e o anel B). A Figura 18 apresenta um gráfico típico de SEPs, sendo o gráfico em questão obtido para o diedro  $\alpha$ .

**Figura 18** - SEP do diedro  $\alpha$  da *o*-Chal.



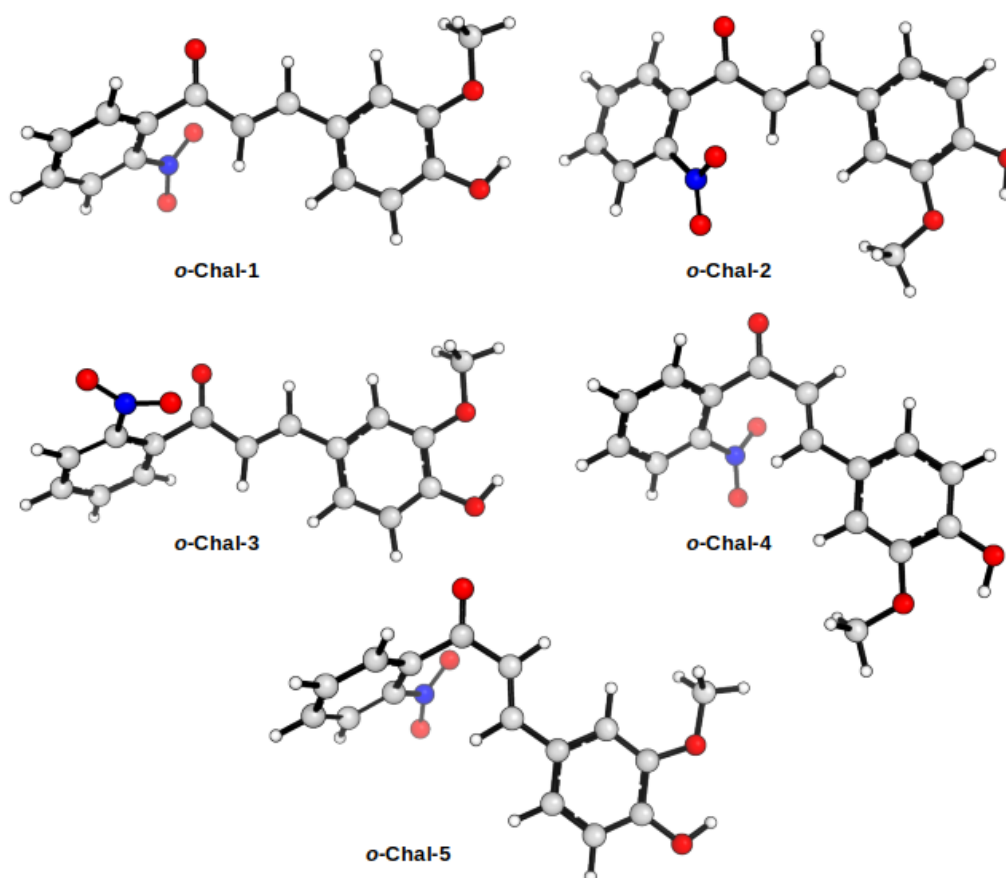
Fonte: Autor.

Assim, como a exemplo dos mínimos obtidos através dos cálculos de *scan* na Figura 17 também foram obtidos pontos de mínimo para os confôrmeros obtidos. Entretanto, o diedro  $\gamma$  não se mostrou relevante, por não ter apresentado uma significativa diferença energética entre seus pontos de mínimo. As SEPs obtidas

tornaram possível a verificação da presença ou não de diferentes conformações, posteriormente submetidas a cálculos de otimização e frequência, na busca por suas geometrias mais estáveis. Essa otimização, serviu para a obtenção das estruturas mais estáveis, as quais apresentaram menores valores energéticos. Os cálculos de frequência foram importantes pela consideração das vibrações moleculares de baixa energia, englobando a correção de energias do ponto zero, além da caracterização da geometria como um “real” ponto de mínimo pela inexistência de frequências imaginárias.

Sendo assim, o primeiro composto a ser analisado foi a *o*-Chal. Os dados da análise conformacional revelaram cinco conformações preferenciais, das quais três *s-cis* (*o*-Chal-1-3) e duas *s-trans* (*o*-Chal-4-5), com relação à posição da carbonila e a ligação vinílica (Figura 19). Neste isômero, o conformero *s-cis* (*o*-Chal-2) foi o mais estável de todos, correspondendo a 41,5% no equilíbrio, seguido dos conformeros *o*-Chal-4 e 5 em *s-trans* com 21,9 e 28,2% no equilíbrio, respectivamente.

**Figura 19** – Conformêros e suas populações no equilíbrio obtido em nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,2p) para a *o*-Chal.

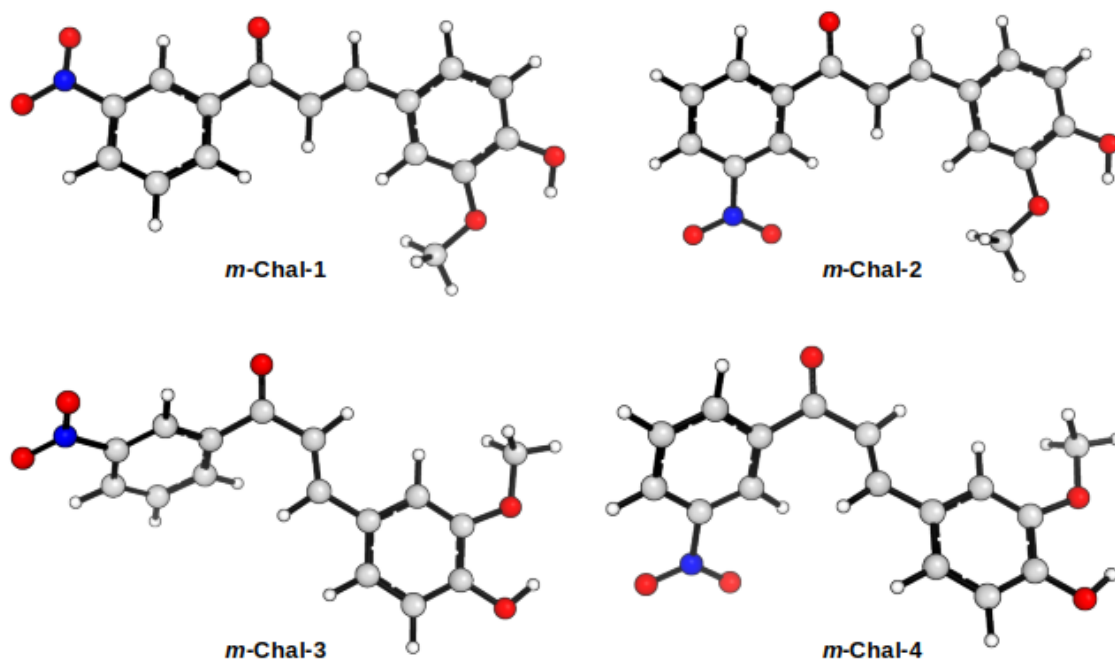


Fonte: Autor.



A respeito da *m*-Chal duas conformações *s-cis* (*m*-Chal-1-2) foram observadas e duas *s-trans* (*m*-Chal-3-4) (Figura 20), das quais duas conformações *s-cis* foram as mais estáveis, correspondendo a 86,2% no equilíbrio.

**Figura 20** - Confôrmeros e suas populações no equilíbrio obtido ao nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,2p) para a *m*-Chal.



**Fonte:** Autor.

Em sistemas conjugados, como as chalconas desse estudo, a ressonância é favorecida quando os orbitais  $\pi$  estão o mais paralelos possíveis. Os ângulos diedros  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  são importantes para maximizar esse efeito e, quanto mais próximos de  $180^\circ$  ou  $0^\circ$ , maior será o alinhamento entre os orbitais  $\pi$  no confôrmero. A Tabela 9 mostrou os valores dos ângulos diedros obtidos com as populações em equilíbrio para cada conformação em estudo.

**Tabela 9** – Ângulos diedro, energia relativa, população no equilíbrio e o momento dipolo dos confôrmeros da *o*-Chal e *m*-Chal calculados em nível de teoria M06-2X/6-311++G(2d,dp).

Confôrmeros	Ângulos Diedros (°)			$\Delta E$ (kcal/mol)	População (%)	Momento de dipolo
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$			
<b><i>o</i>-Chal-1</b>	44,1	1,5	1,5	1,04	7.2	3,30
<b><i>o</i>-Chal-2</b>	37,6	0,2	13,6	0,00	41.5	4,49
<b><i>o</i>-Chal-3</b>	60,3	2,5	2,7	2,09	1.2	4,54
<b><i>o</i>-Chal-4</b>	50,2	14,5	17,4	0,38	21.9	6,45
<b><i>o</i>-Chal-5</b>	54,8	14,8	2,0	0,23	28.2	3,22
<b><i>m</i>-Chal-1</b>	20,8	8,0	4,5	1,05	12.5	8,44
<b><i>m</i>-Chal-2</b>	17,2	6,9	0,2	0,00	73.7	1,80
<b><i>m</i>-Chal-3</b>	35,0	23,3	3,7	1,72	4.1	7,60
<b><i>m</i>-Chal-4</b>	37,7	22,0	2,5	1,20	9.7	4,22

Fonte: Autor.

Em geral, quando avaliamos os dados da Tabela 9, onde os valores destes ângulos diedros são apresentados para todos os confôrmeros em estudo, pode-se perceber que os confôrmeros *s-cis* apresentam os menores desvios em relação aos ângulos ideais. No caso do ângulo diedro  $\alpha$  (carbonila e anel A), com a exceção do confôrmero *o*-Chal-3, todos os confôrmeros *s-cis* tem um desvio do ângulo diedro favorável menor do que os confôrmeros *s-trans*, ou seja, essa região dos confôrmeros *s-cis* são mais planares do que nos confôrmeros *s-trans*. Para o ângulo diedro  $\beta$  (carbonila e dupla ligação), os desvios das conformações *s-cis* são consideravelmente menores do que os das conformações *s-trans* em todos os casos. Mas para ambos confôrmeros os desvios para o ângulo diedro  $\beta$  são menores do que os observados no ângulo diedro  $\alpha$ . Já o ângulo diedro  $\gamma$  (dupla e anel B) apresenta pouco desvio em relação aos ângulos de maior planaridade possíveis, com exceção dos confôrmeros *o*-Chal-2 e *o*-Chal-4. Em nenhuma outra conformação esse desvio passou de 10°.

A região das moléculas em que a planaridade é menor, é a que envolve a carbonila e o anel A (ângulo diedro  $\alpha$ ), que é o anel que contém o grupo nitro substituído e é interessante notar como que a variação da posição desse substituinte no anel influencia o equilíbrio conformacional de cada um dos três isômeros estudados. O isômero *orto* apresenta o equilíbrio mais interessante devido a posição

em que o grupo nitro se encontra no anel A. Este isômero apresentou a maior contribuição de confôrmeros *s-trans* no equilíbrio. Ao analisar suas conformações foi possível observar que as conformações *s-cis* *o-Chal-1* e *o-Chal-2* aproximam o grupo nitro de três átomos que não fazem parte do anel A (C1, C2 e H2), sendo que as maiores proximidades envolvem o hidrogênio vinílico H2, que é o menor átomo entre os envolvidos.

Já as conformações *s-trans* *o-Chal-4* e *o-Chal-5* aproximam o grupo nitro de quatro átomos (C1, C2, C3 e H3) que não constituem o anel A. Nessas conformações, as menores distâncias envolvendo os átomos do grupo nitro são com os átomos C1 e C2. As distâncias para o hidrogênio vinílico mais próximo (H3 para os confôrmeros *s-trans*) são maiores do que nos confôrmeros *s-cis* *o-Chal-1* e *o-Chal-2* (nestes casos, H2).

A conformação *s-cis* *o-Chal-3* tem uma proximidade muito grande do oxigênio da carbonila com um dos oxigênios do grupo nitro. Esta é a única conformação que apresentou o grupo nitro voltado na direção do oxigênio da carbonila, o que leva a uma maior repulsão estérica e eletrostática, influenciando a maior energia relativa dessa conformação. Uma análise mais detalhada das interações das conformações do isômero *orto* foi necessária para compreender completamente o equilíbrio conformacional observado e é apresentada na próxima seção.

Em relação a geometria das conformações do isômero *meta*, ambas conformações *s-cis* (*m-Chal-1* e *m-Chal-2*) são mais planares do que as conformações *s-trans* (*m-Chal-3* e *m-Chal-4*), sendo a conformação *m-Chal-2* a mais planar de todas.

Na posição *meta*, o grupo nitro já não apresentou interações significativas com a carbonila ou a dupla ligação vinílica, ficando posicionado sempre afastado desses grupos. A principal fonte de repulsão passa a ser então entre os hidrogênios vinílicos e os hidrogênios nas posições *orto* dos anéis aromáticos.

Nas conformações *s-cis*, a geometria adotada pela dupla ligação vinílica e a carbonila não causa uma proximidade muito grande entre o hidrogênio vinílico H2 e o hidrogênio na posição *orto* do anel A, de modo que o diedro  $\alpha$  está mais próximo de 0° ou 180°, levando a maior planaridade da molécula nessas duas conformações. Entretanto, no caso das conformações *s-trans*, o arranjo espacial nessas conformações aproxima muito o hidrogênio vinílico H3 do hidrogênio *orto* do anel A, impedindo que o ângulo diedro  $\alpha$  se aproxime dos valores que levariam a uma maior planaridade da molécula.

### Cálculos de NBO

As análises de NBO indicaram uma maior delocalização eletrônica nos confôrmeros *s-cis*. Isso é resultado da maior planaridade dessas conformações, o que permitiu um melhor alinhamento entre os orbitais  $\pi$  e  $\pi^*$  adjacentes, contribuindo para a maior estabilidade relativa dessas conformações em geral.

As interações orbitais mais relevantes nesse sentido são as que envolvem os orbitais  $\pi$  da carbonila e o anel A, a carbonila e a dupla ligação vinílica e, a dupla ligação vinílica e o anel B. Essas interações orbitais são diretamente influenciadas pelos ângulos diedros  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , respectivamente. Quando os ângulos diedros estão mais próximos de  $0^\circ$  ou  $180^\circ$ , a sobreposição entre os orbitais doador e o acceptor são maiores e maior é o efeito de delocalização eletrônica entre esses orbitais.

A análise das energias envolvidas nessas interações orbitais ajudaram a explicar a preferência conformacional observada no equilíbrio para os compostos estudados (Tabelas 10 e 11), sendo que a interação orbital que apresenta a diferença mais significativa entre os confôrmeros *s-cis* e *s-trans* é a que envolve os orbitais  $\pi$  da carbonila e do anel A ( $\pi C1=O \rightarrow \pi^* C2=C3$  e  $\pi C2=C3 \rightarrow \pi^* C1=O$ ), relacionados ao ângulo diedro  $\alpha$ .

**Tabela 10** - Somatório das interações orbitais calculadas em M06-2x/6-311++g(2d,2p) para a *o*-Chal.

Interações orbitais	<i>o</i> -Chal-1 <i>s-cis</i>	<i>o</i> -Chal-2 <i>s-cis</i>	<i>o</i> -Chal-3 <i>s-cis</i>	<i>o</i> -Chal-4 <i>s-trans</i>	<i>o</i> -Chal-5 <i>s-trans</i>
<b>Carbonila – dupla</b>	30,14	30,76	31,04	30,02	30,36
<b>Carbonila – anel A</b>	11,73	13,79	6,49	9,16	7,50
<b>Dupla – anel B</b>	28,08	31,80	29,12	25,71	32,41
<b>Anel B</b>	160,64	154,99	160,95	159,42	154,44
<b>Anel A</b>	173,58	173,50	171,99	174,18	173,91
<b>Anel A – NO<sub>2</sub></b>	24,40	23,52	23,18	22,23	23,92
<b>NO<sub>2</sub> – dupla</b>	0,60	0,66	-	-	-
<b>NO<sub>2</sub> – anel A</b>	4,87	4,32	4,89	4,35	4,81
<b>NO<sub>2</sub></b>	21,93	21,91	22,23	20,61	21,22
<b>LP O17</b>	52,51	52,33	54,41	51,00	51,17
<b>LP O18</b>	58,96	59,80	59,15	59,28	59,99
<b>LP O19</b>	41,42	42,15	41,75	41,42	42,32
<b>LP O20</b>	263,98	48,63	49,46	250,68	260,68
<b>LP O21</b>	48,69	260,00	268,27	49,75	50,08
<b>Somatório</b>	921,53	918,16	922,93	897,81	912,81

Fonte: Autor.

**Tabela 11** - Somatório das interações orbitais calculadas em M06-2x/6-311++g(2d,2p) para a *m*-Chal.

Interações orbitais	<i>m</i> -Chal-1 <i>s-cis</i>	<i>m</i> -Chal-2 <i>s-cis</i>	<i>m</i> -Chal-3 <i>s-trans</i>	<i>m</i> -Chal-4 <i>s-trans</i>
Carbonila – dupla	29,75	30,54	28,35	29,21
Carbonila – anel A	20,92	22,22	15,75	16,20
Dupla – anel B	34,24	34,52	32,46	32,51
Anel B	154,62	154,41	154,19	154,37
Anel A	168,15	169,66	169,79	170,27
Anel A – NO <sub>2</sub>	25,25	25,63	25,29	25,27
NO <sub>2</sub> – anel A	4,34	4,43	4,34	4,43
NO <sub>2</sub>	21,13	21,14	21,18	21,29
LP O17	51,68	51,23	49,86	49,26
LP O18	60,17	60,25	60,32	60,25
LP O19	42,72	42,78	42,72	42,70
LP O20	268,32	47,65	269,37	47,58
LP O21	48,27	267,72	48,15	271,70
<b>Somatório</b>	929,56	932,18	921,77	925,04

Fonte: Autor.

O equilíbrio conformacional do isômero *meta* pode ser explicado de maneira satisfatória pelos dados de energia das interações orbitais apresentadas na Tabela 11. Entretanto, no caso do isômero *orto*, apenas as interações orbitais não explicam a maior contribuição dos isômeros *s-trans* no equilíbrio quando comparado ao equilíbrio conformacional da *m*-Chal. Isso ocorre porque a posição do grupo nitro nesse isômero permite uma interação deste com a carbonila e a dupla ligação vinílica, principalmente do ponto de vista de efeitos de repulsão estérica e interações eletrostáticas.

O confômero *o*-Chal-3, por exemplo, apresenta os maiores valores no somatório das interações orbitais apresentadas na tabela, mas é o confômero menos estável de todos, pois apresenta repulsão eletrostática apreciável entre um dos átomos de oxigênio do grupo nitro com o átomo de oxigênio da carbonila.

O isômero *orto* é o que apresenta os maiores desvios dos ângulos diedros mais favoráveis para o diedro  $\alpha$  em ambos confômeros *s-cis* e *s-trans*, levando as menores energias de interação orbital entre a carbonila e o anel A. Isso é interessante, porque os confômeros *s-cis* não são tão mais estabilizados que os *s-trans* como no outro isômeros, além de existir uma maior contribuição de repulsão estérica e eletrostática

nos isômeros *s-cis* do que nos mesmos confôrmeros do isômero *meta*. Dessa forma, a diferença de energia entre o confôrmero mais estável *s-cis* (*o-Chal-2*) e os dois isômeros *s-trans* (*o-Chal-4* e *o-Chal-5*) é a menor dentre os dois isômeros estudados e a população dos confôrmeros *s-trans* é maior no isômero *orto*.

## 6 Conclusões

Os compostos 2'-nitro-4-hidróxi-3-metóxicalcona e 3'-nitro-4-hidróxi-3-metóxicalcona foram obtidos como desejado, através da condensação de Claisen-Schmidt e as sínteses apresentaram rendimentos satisfatórios. A elucidação estrutural foi realizada com análises de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Os cálculos teóricos foram efetivos para demonstrar o equilíbrio conformacional existente para ambas chalconas, sendo possível determinar as geometrias envolvidas no equilíbrio. As conformações *s-cis* foram favorecidas nos dois isômeros estudados. Contudo, as populações dos confôrmeros *s-trans* foram influenciadas pela posição do grupo nitro no anel A, principalmente para a *o*-Chal.

Com respeito aos ensaios de atividade antioxidante, o isômero *o*-Chal apresentou uma inibição significativa do DPPH dependendo da concentração utilizada. Já nos testes com íon ferroso, os dois isômeros foram comparados e a *o*-Chal apresentou uma capacidade quelante maior do que a *m*-Chal.

Esse estudo foi importante, principalmente por termos selecionado grupos no anel aromático que são potencialmente conhecidos por ter atividade biológica pronunciada. Assim, quanto mais investigações sobre o comportamento desses grupos forem realizadas, mais poderemos contribuir com pesquisas em outras áreas.

## 7 Trabalhos Futuros

Abaixo foram apresentadas algumas perspectivas futuras para este projeto:

- Realizar um mapeamento das estruturas dos compostos através da análise bidimensional de RMN, observando assim as correlações entre átomos homo ( $^1\text{H}, ^1\text{H}$ ) e heteronucleares ( $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ ) a curta e longa distância;
- Melhorar o processo de purificação do isômero *meta*;
- Avaliar a capacidade antioxidante de ambas nitrochalconas, frente a espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) bem como peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ );
- Determinar atividade antioxidante pelos ensaios ABTS e DPPH e potencial de inibição de peroxidação lipídica in vitro pelo ensaio TBARS;



## Referências

- BATOVSKA, D. I.; TORODOVA, I. T. Trends in Utilization of the Pharmacological Potential of Chalcones. **Curr. Clin. Pharmacol.**, v. 5, p. 1–29, 2010.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- CAO, Y. Q. et al. Aldol condensations catalyzed by PEG400 and anhydrous K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> without solvent. **Synthetic Communications**, v. 35, n. 8, p. 1045–1049, 2005.
- COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutr. Biochem.**, v. 2863, p. 66–76, 1996.
- DÍAZ-TIELAS, C. et al. Biological Activities and Novel Applications of Chalcones. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, p. 607–616, 2016.
- FERREIRA, M. M. M. et al. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica Flavones and flavonols: new insights into their chemical structure and biological function. **Revista Agroambiente Online**, v. 2, n. 2, p. 57–60, 2008.
- GACCHE, R. N. et al. In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v.23, n.1, p. 28-31, 2008.
- GAONKAR, S. L.; VIGNESH, U. N. Synthesis and pharmacological properties of chalcones: a review. **Research on Chemical Intermediates**, v. 43, n. 11, p. 6043–6077, 2017.
- GOMES, M. N. et al. Chalcone derivatives: Promising starting points for drug design. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1210, 2017.
- GÜLÇİN, I.; BERASHVILI, D.; GEPIREMEN, A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankenensis* decne. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 287–293, 2005.
- HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The Characterization of Antioxidants. **Food Chem Toxicol.** v. 33, n. 7, p. 601–617, 1995.

HARVEY, A. E.; SMART, J. A.; AMIS, E. S. Simultaneous Spectrophotometric Determination of and Total Iron with 1,10-Phenanthroline. **University of Arkansas Journal**, v. 27, p. 26–29, 1995.

HODEK, P. .; TREFIL, P. .; STIBOROVA, M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 139, p. 1–21, 2002.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas : fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alim. Nutr.**, v. 19, p. 97–108, 2008.

KOTHA, R. R.; KULKARNI, R. G.; GARIGE, A. K.; NERELLA, S. G.; GARLAPATI, A. Synthesis and Cytotoxic Activity of New Chalcones and their Flavonol Derivatives. **Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 11, p. 353–360, 2017.

LIN, Y; ZHANG, M; LU, Q; XIE, J; WU, J; CHEN, C. A novel chalcone derivative exerts anti-inflammatory and anti-oxidant effects after acute lung injury. **Aging**, v. 11, n. 18, p. 7805–7816, 2019.

LUZIA, D. M . M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (Citrus limon). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 489–493, 2010.

MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 98, p. 69–114, 2015.

MITTLER, R. Oxidative stress , antioxidants and stress tolerance. v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MUSTOFA et al. Design and Synthesis of Chalcone Derivatives as Inhibitors of the Ferredoxin — Ferredoxin-NADP+ Reductase Interaction of Plasmodium falciparum: Pursuing New Antimalarial Agents. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 21473–21488, 2014.

OLENDER, D.; ŻWAWIAK, J.; ZAPRUTKO, L. Multidirectional efficacy of biologically active nitro compounds included in medicines. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, 2018.

PATIL, C. B.; MAHAJAN, S. K.; KATTI, S. A. Chalcone: A versatile molecule. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, n. 3, p. 11–22, 2009.

PAULA, T. et.al. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 1013–1020, 2009.

PIETTA, P.G. Flavonoids as Antioxidants. **J Nat Prod.**, p. 1035–1042, 2000.

POLO, E; ARELLANO, N, I; PENALOZA, L, P; BAYUELO, A, M; HENAO, J; GALDAMEZ, A; GUTIERREZ, M. Bioorganic Chemistry Ultrasound-assisted synthesis of novel chalcone , heterochalcone and bis- chalcone derivatives and the evaluation of their antioxidant properties and as acetylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 90, p. 1–6, 2019.

PRESTSCH, E.; BUHLMANN, P.; BADERTSCHER, M. . **Structure Determination of organic Compounds**. 4th. ed. Zürich and Minneapolis: Springer Berlin Heidelberg, 2009.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

SARKAR, A.; MIDDYA, T. R. A QSAR study of radical scavenging antioxidant activity of a series of flavonoids using DFT based quantum chemical descriptors – the importance of group frontier electron density. **J Mol Model**, p. 2621–2631, 2012.

SHARMA, B.; AGRAWAL, S. C.; GUPTA, K. C. Colour reactions of chalcones and their mechanism (A review). **Oriental Journal of Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 289–294, 2008.

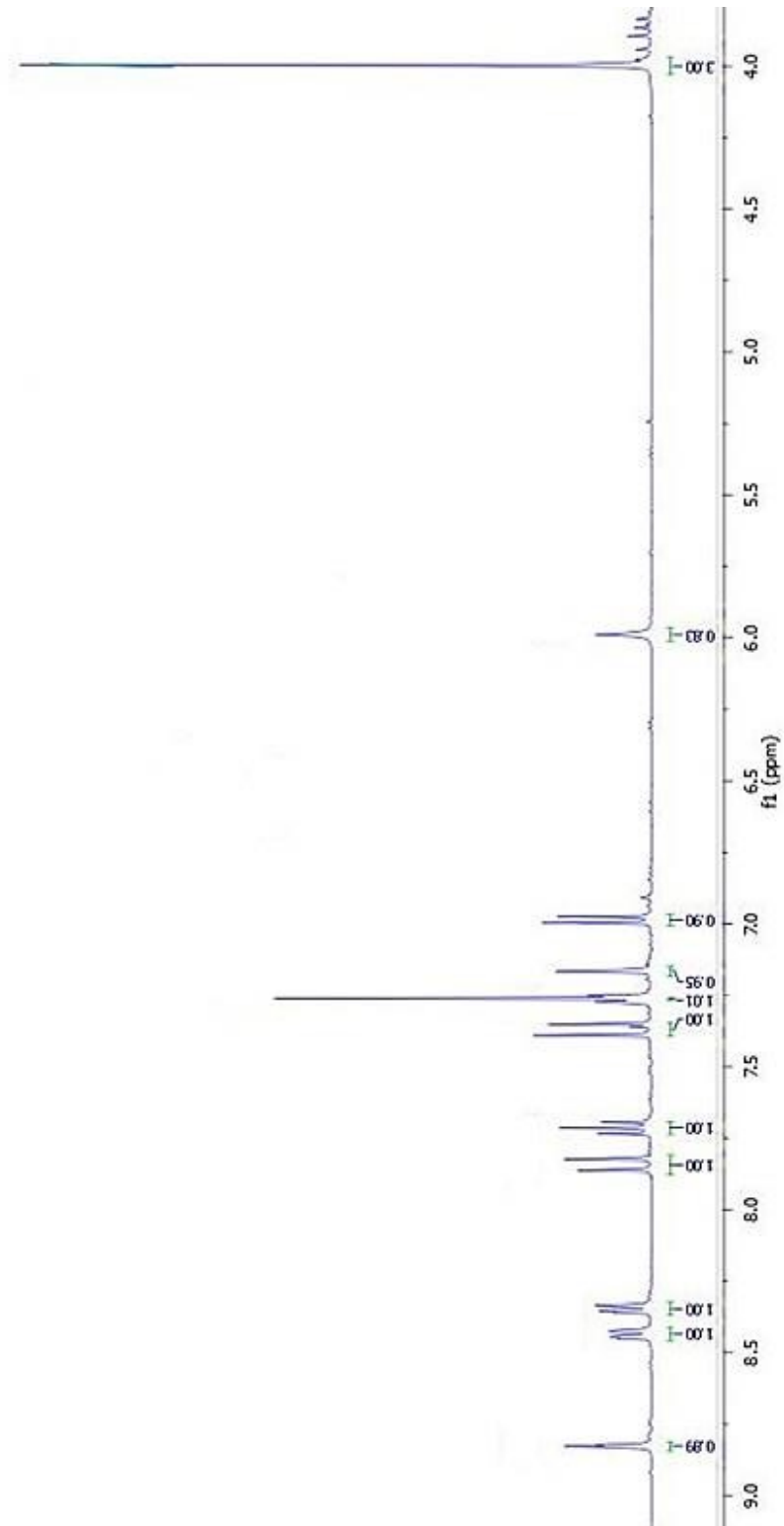
SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

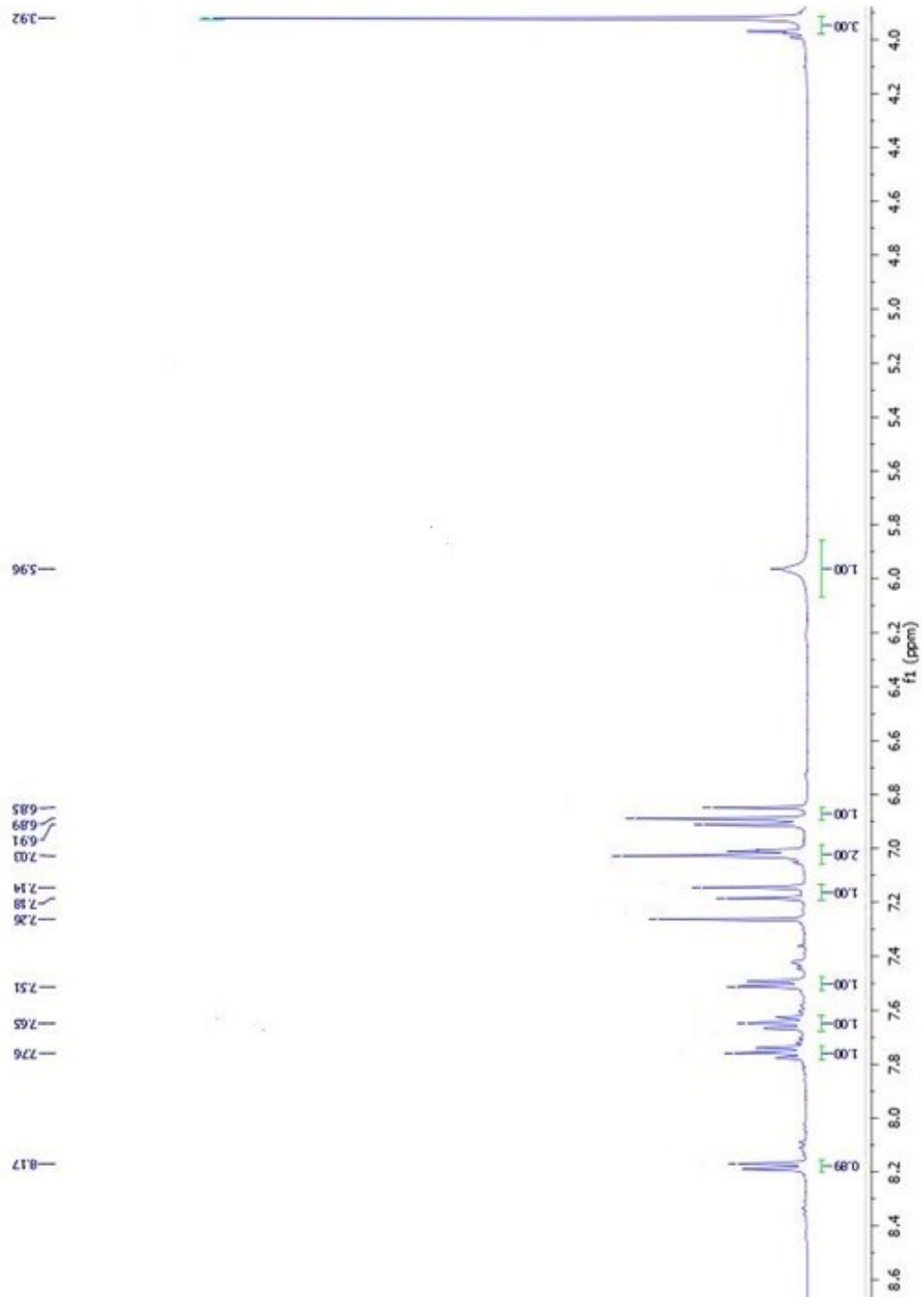
SOMANI, R. R. et al. Optimization and study of variables in microwave assisted organic synthesis of some biologically active chalcones. **Indian Journal of Pharmacy and Pharmacology** v. 4, p. 153–160, 2017.

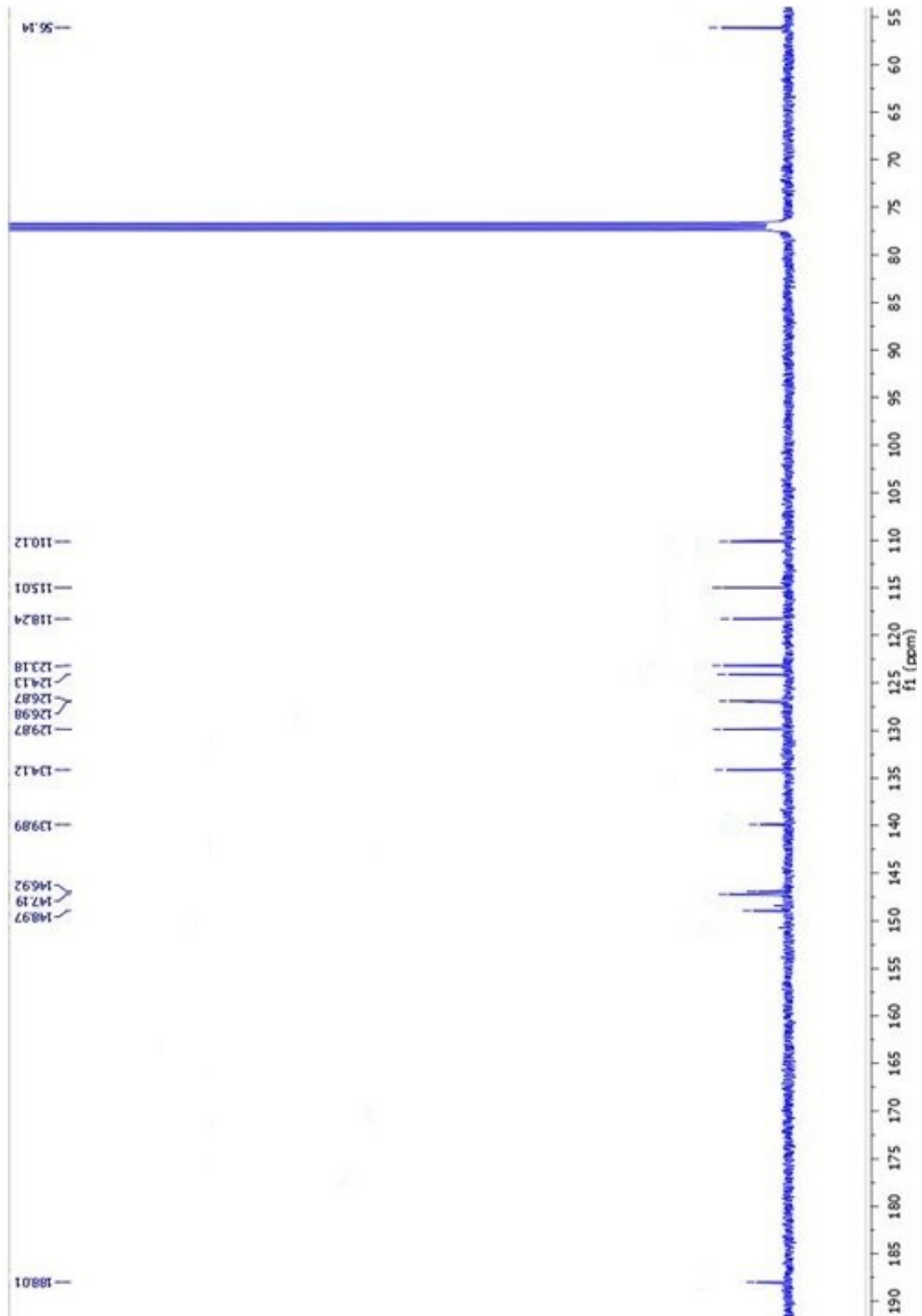
SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

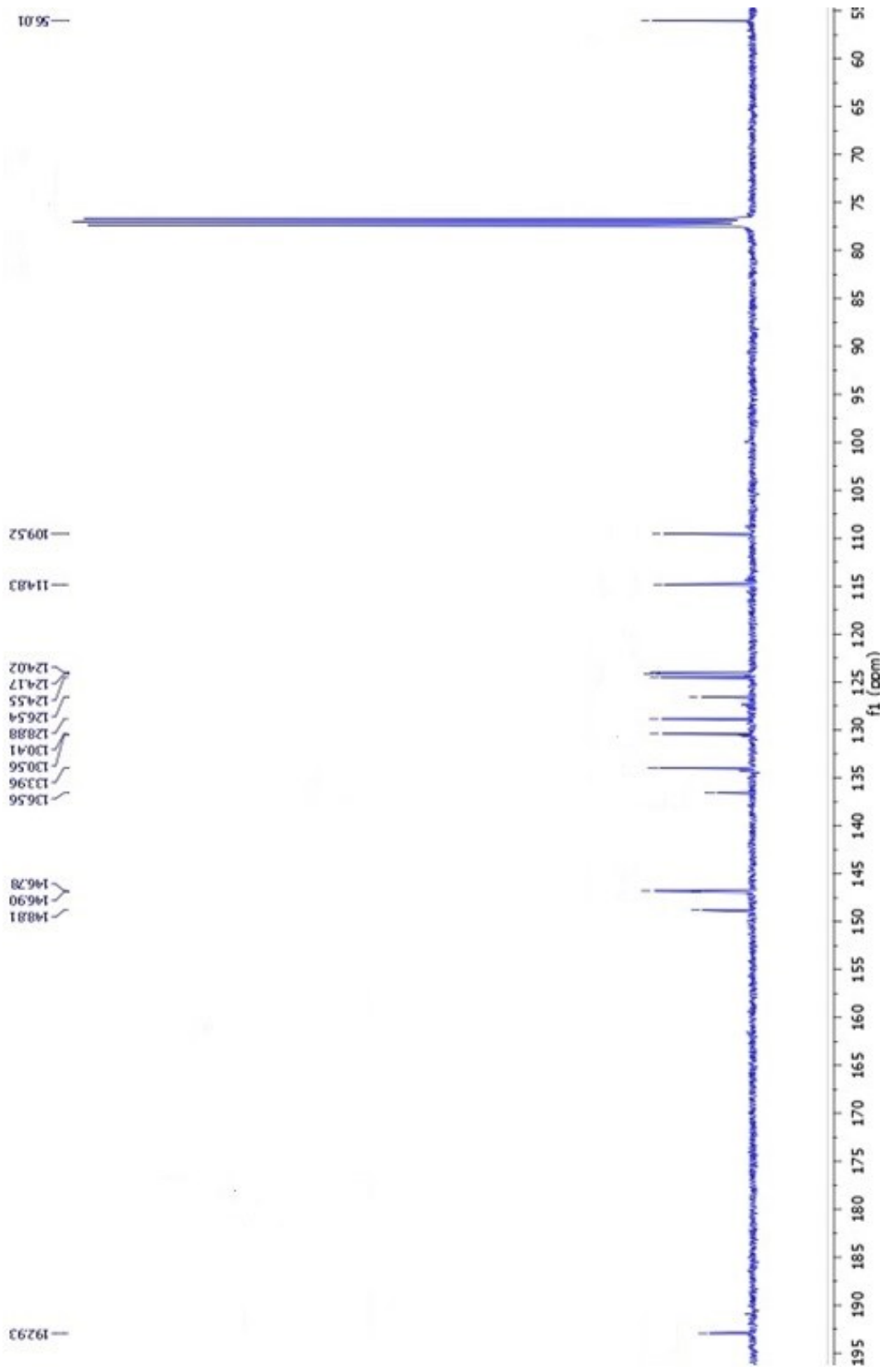
YEUM, K.J. et al. Synergistic interactions of antioxidant nutrients in a biological model system. **Nutrition**, v. 25, n. 7–8, p. 839–846, 2009.

ZHUANG, C. et al. Chalcone : A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. **Chem Rev.** p. 7762–7810, 2017.

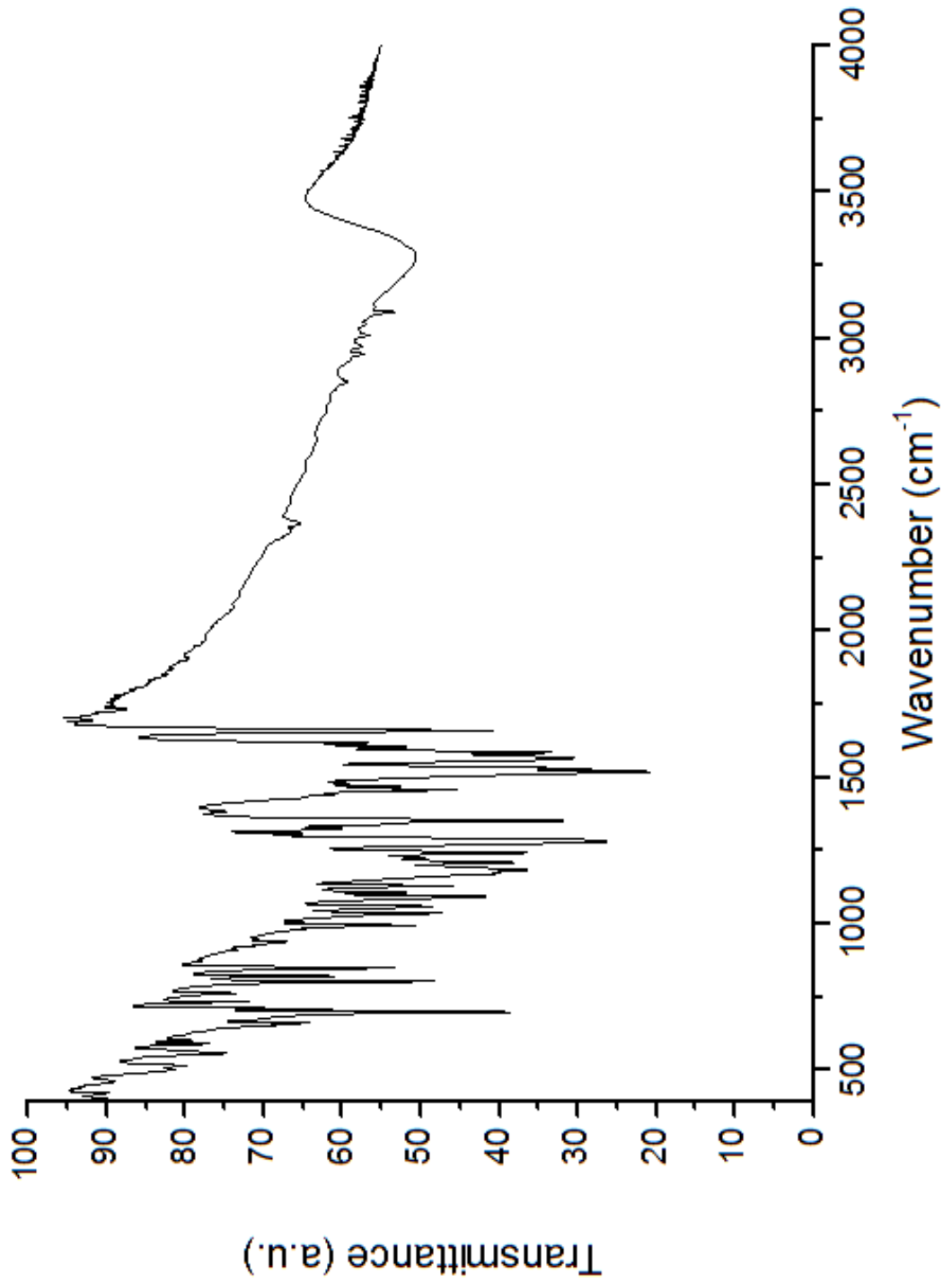
**Anexo A – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz da *m*-Chal em  $\text{CDCl}_3$ .**

**Anexo B – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz da *o*-Chal em  $\text{CDCl}_3$ .**

**ANEXO C – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 400 MHz da *m*-Chal em  $\text{CDCl}_3$ .**

**ANEXO D – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 400 MHz da o-Chal em  $\text{CDCl}_3$ .**



**ANEXO E – Espectro de IV da *m*-Chal em pastilha de KBr.**

**ANEXO F – Espectro de IV da o-Chal em pastilha de KBr.**