



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José do Rio Preto

**SÍNTESE E CITOTOXICIDADE DE CURCUMINOIDES E
HÍBRIDOS CURCUMINA-CINAMALDEÍDO**

CARLOS ROBERTO POLAQUINI

São José do Rio Preto

2016

CARLOS ROBERTO POLAQUINI

**SÍNTESE E CITOTOXICIDADE DE CURCUMINOIDES E
HÍBRIDOS CURCUMINA-CINAMALDEÍDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

Coorientadora: Dra. Isabel Cristiane da Silva

São José do Rio Preto

2016

Polaquini, Carlos Roberto.

Síntese e citotoxicidade de curcuminoides e híbridos curcuminacinaldeído / Carlos Roberto Polaquini. -- São José do Rio Preto, 2016
114 f. : il., tabs.

Orientador: Luis Octavio Regasini

Coorientador: Isabel Cristiane da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química farmacêutica. 2. Citotoxicidade. 3. Curcumina. 4. Agentes antineoplásicos. 5. Câncer. I. Regasini, Luis Octavio. II. Silva, Isabel Cristiane da. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 615.07

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

CARLOS ROBERTO POLAQUINI

**SÍNTESE E CITOTOXICIDADE DE CURCUMINOIDES E
HÍBRIDOS CURCUMINA-CINAMALDEÍDO**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

Profa. Dra. Débora Aparecida Pires de Campos Zucari

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Prof. Dr. Eduardo Borges de Melo

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

São José do Rio Preto, 04 de março de 2016

*Só quem já perdeu na vida sabe o que é ganhar
Porque encontrou na derrota algum motivo para lutar*

Padre Fábio de Melo

*Dedico este trabalho aos meus pais, Zenilda e
Valdecir Polaquini, a minha irmã, Catiane Polaquini,
a minha avó, Maria, e a todas as pessoas que me
incentivaram e ajudaram a conquistar esse sonho.*

Allegria

Come un lampo di vita

Allegria

Come un pazzo gridar

Allegria

Del delittuoso grido

Bella ruggente pena, seren

Come la rabbia di amar

Allegria

Come un assalto di gioia

Allegria, Cirque du Soleil

“Plante seu jardim e decore sua alma, em vez de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprenderá que pode suportar, que realmente é forte e pode ir muito além. Descobrirá que a vida tem valor e que você tem valor diante da vida”

O Menestrel, William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por todo amor e proteção. Nos momentos em que minhas forças não eram suficientes para continuar, Ele me levou nos braços.

Ao meu orientador, Prof. **Luis Octavio Regasini**, por ter me acolhido como um filho e me ensinado a amar a Síntese Orgânica/Química Medicinal. Agradeço por todo auxílio e por me inspirar profissionalmente, por ser uma pessoa tão visionária e positiva.

Aos meus pais, **Zenilda e Valdecir Polaquini**, e a minha irmã, **Catiane Polaquini**. Eles que mesmo não compreendendo minhas escolhas e decisões, me apoiaram e compartilharam comigo os momentos bons e difíceis. À minha avózinha, **Maria Pain**, por todo o carinho e intercessão.

À **Mariana Bastos, Éder Paganini, Gabriela Ayusso, Beatriz Carvalho, Guilherme Torrezan, Caroline Sprengel, Matheus Ortolan** e toda a família LQVM. Agradeço por todo auxílio na execução da parte experimental e por tornarem esses dois anos tão especial, serão amigos que levarei para sempre no meu coração!

Ao **Willian Xavier**, por todos os momentos vividos durante esses dois anos, os quais guardarei para sempre em meu coração!

Aos amigos externo à Universidade, **Beatriz Murcia, Wendel Martines** (*in memorian*), **Luiz Paulo Diogo** e **Lucas Elias**. Por todas baladas, risos e momentos de descontração. Obrigado por serem minha válvula de escape.

Aos amigos de graduação **Naiara Cantão, Jéssika Rossi, Jéssica Coelho, Amanda Coto, Adriano Maioralli** e **Danielli Pereira**, os quais dividi quatro anos de muitas alegrias, tristezas e, sobretudo, VITÓRIAS!

Ao Prof. **Henrique Ferreira** e **Luana Mourão** por acreditarem e confiarem no meu trabalho. Agradeço por toda ajuda e cooperação com os ensaios antibacterianos.

Aos amigos **Luiz Felipe (Moíses)** e **Victor Ribeiro (Minhoca)** por me acolherem durante minha estadia em Araraquara. Me ensinaram a arte de conviver e dividir quando estamos longe de casa.

Ao Prof. **Fernando Pavan, Isabel Silva, Débora Leite, Paula Souza e Camila Maringolo** por terem me acolhido durante minha estadia na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/Araraquara. Agradeço pelos ensinamentos e assistência nos ensaios de celulares.

À **CAPES** pela bolsa concedida. À **FAPESP** e **CNPq** pelo financiamento dos projetos de pesquisa. À **PROPG-UNESP** pelo auxílio concedido para realizar parte do projeto de mestrado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/Araraquara.

RESUMO

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desregulado de células, as quais invadem órgãos e tecidos, resultando no desenvolvimento de tumores. Apesar do tratamento quioterápico contra neoplasias ter se desenvolvido nos últimos anos, ainda se faz necessária a busca por novos agentes antineoplásicos que atuem com maior seletividade contra as células tumorais, a fim de atenuar os efeitos adversos do tratamento. A curcumina é um pigmento amarelo presente no açafrão que possui um amplo espectro de atividades biológicas, destacando-se o seu potencial antineoplásico. O cinamaldeído é a substância responsável pelo odor e sabor da canela e apresenta atividade citotóxica contra várias linhagens tumorais. Assim, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e avaliar a citotoxicidade de curcuminoides e híbridos moleculares curcumina-cinamaldeído contra as linhagens celulares humanas de carcinoma de próstata (DU-145), hepatocarcinoma (HepG2), adenocarcinoma de pulmão (A549) e fibroblasto normal de pulmão (MRC-5). Os curcuminoides foram sintetizados pela metodologia de Pabon pela reação entre a acetilacetona e derivados de aldeídos benzoicos com rendimentos entre 47 e 95 %. Os híbridos curcumina-cinamaldeído foram sintetizados pela reação de condensação aldólica entre a benzalacetona e derivados de aldeídos benzoicos, sob catálise básica ou ácida, com rendimentos entre 40 e 98 %. A citotoxicidade das substâncias foi determinada pelo método de *Resazurin Microtiter Assay* (REMA). O curcuminóide **I.25** (3-OH) apresentou a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens, com valores de IC_{50} variando de 28,6 a 34,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, **I.25** demonstrou potência citotóxica e IS superiores a curcumina, com destaque para a atividade contra a linhagem A549, a qual exibiu potência três vezes superior a curcumina. Os híbridos moleculares curcumina-cinamaldeído **II.25** (3-OH) e **II.30** (3,4-diOH) apresentaram a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens, com valores de IC_{50} entre 14,4 e 27,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Em relação aos seus protótipos naturais, curcumina e cinamaldeído, **II.25** e **II.30** apresentaram potência superior, principalmente em comparação com o cinamaldeído, o qual teve ação até vinte vezes inferior aos híbridos. Os híbridos **II.21** e **II.30** são inéditos na literatura, sendo este trabalho o primeiro que descreveu a síntese e citotoxicidade dessas substâncias.

Palavras-chave: química farmacêutica; citotoxicidade; curcumina; agentes antineoplásicos; câncer.

ABSTRACT

Cancer is the name given to a group of diseases that have in common the poorly adjusted cell growth. These cells invade the organs and tissues, resulting in the development of tumors. Although the treatment against neoplasia have been developed in the last years, there is still the need for searching new antineoplastic agents, that can act with a higher selectivity against the tumoral cells, in order to attenuate the adverse effects of the treatment. The curcumin is a yellow pigment present in the saffron, and has a wide spectra of biological activities, highlighting its antineoplastic potential. The cinnamaldehyde is the compound responsible for the smell and flavor of the cinnamon, and presents cytotoxic activity against many tumoral lineages. The aim of this work was to synthesize and evaluate the cytotoxicity of the curcuminoids and curcumin-cinnamaldehyde hybrids against the human cells lines of prostate cancer (DU-145), hepatocellular carcinoma (HepG2), lung adenocarcinoma (A549) and normal lung fibroblast (MRC-5). The curcuminoids were synthesized via Pabon methodology, through the reaction between the acetylacetone and benzoic aldehydes derivatives with yields between 47 and 95%. The curcumin-cinnamaldehyde hybrids were synthesized through the aldol condensation between the benzalacetone and benzoic aldehydes derivatives, under basic or acid catalysis, with yields between 43 and 98%. The cytotoxicity of the substances was determined by the Resazurin Microtiter Assay (REMA) method. The curcuminoid **I.25** (3-OH) showed more cytotoxic potency against the four lines, with IC_{50} values of varying from 28,6 to 34,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Besides, **I.25** showed cytotoxic potency and IS values superior to the curcumin, especially for activity against the lineage A549, which showed potency three times superior to the curcumin. The curcumin-cinnamaldehyde hybrids **II.25** (3-OH) and **II.30** (3,4-diOH) showed the biggest cytotoxic potency against the four lineages, with IC_{50} values of between 14,4 and 27,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Regarding their natural prototypes, curcumin and cinnamaldehyde, **II.25** and **II.30** showed superior potency, mainly in relation with the cinnamaldehyde, which had an action twenty times inferior to the hybrids. The analogues **II.21** and **II.30** are unpublished, and this work is the first one to describe its synthesis and cytotoxicity.

Keywords: pharmaceutical chemistry; cytotoxicity; curcumin; antineoplastic agents; cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Substâncias derivadas de plantas com potencial antineoplásico.....	22
Figura 2. Tautomerismo ceto-enólico da curcumina forma cetônica (1a) forma enólica (1b).....	23
Figura 3. Principais metabólitos da curcumina após administração por via oral.....	24
Figura 4. Estrutura otimizada do análogo de curcumina com maior potência citotóxica contra células HCT-116.....	25
Figura 5. Derivados sintéticos do cinamaldeído com potencial antitumoral.....	27
Figura 6. Planejamento dos híbridos paclitaxel-discodermolídeo.....	29
Figura 7. Planejamento dos híbridos chalcona- β -lactâmico.....	30
Figura 8. Planejamento dos híbridos curcumina-talidomida.....	31
Figura 9. Planejamento dos curcuminoides.....	33
Figura 10. Planejamento dos híbridos curcumina-cinamaldeído	34
Figura 11. Reação geral para a síntese dos curcuminoides pela metodologia de Pabon...	36
Figura 12. Reação geral de condensação aldólica para obtenção dos híbridos curcumina-cinamaldeído.....	37
Figura 13. Fluxograma do processo de purificação para os curcuminoides que apresentaram formação de produto constatada por meio de CCDA.....	38
Figura 14. Fluxograma do processo de purificação para os híbridos curcumina-cinamaldeído que apresentaram formação de produto constatada por meio de CCDA.....	39
Figura 15. Mecanismo geral para a reação de obtenção dos curcuminoides pela metodologia de Pabon.....	42
Figura 16. Metodologia para a síntese dos curcuminoides polihidroxilados a partir de curcuminoides polimetoxilados.....	45
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide I.26 (DMSO- d_6 ; 600 MHz).....	46

Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.26 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	47
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.1 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	48
Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.1 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	48
Figura 21. Deslocalização eletrônica para <i>para</i> -hidroxibenzaldeído em meio alcalino...	55
Figura 22. Mecanismo da reação de condensação aldólica para a síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído sob catálise básica.....	56
Figura 23. Mecanismo da reação de condensação aldólica para a obtenção dos híbridos curcumina-cinamaldeído sob catálise ácida.....	57
Figura 24. Reação geral para a obtenção de difenilpropanoides polihidroxilados protegidos pelo grupo MOM	58
Figura 25. Mecanismo para a reação dismutação de Cannizaro para o benzaldeído.....	59
Figura 26. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.6 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	61
Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.6 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estrutura dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído.....	35
Tabela 2. Estruturas e rendimentos de síntese para os curcuminoides	43
Tabela 3. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H para os curcuminoides: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (m) e constante de acoplamento em Hz (J).....	49
Tabela 4. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os curcuminoides: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade do sinal (m) e constante de acoplamento carbono-fluor, em Hz (J_{CF}).....	50
Tabela 5. Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) dos curcuminoides e IS entre as linhagens pulmonares.....	51
Tabela 6. Estruturas e rendimentos para os híbridos curcumina-cinamaldeído.....	54
Tabela 7a. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H dos híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (m) e constante de acoplamento em Hz (J).....	63
Tabela 7b. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (m) e constante de acoplamento em Hz (J).....	64
Tabela 8a. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade do sinal (m) e constante de acoplamento carbono-fluor em Hz (J_{CF}).....	65
Tabela 8b. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade de sinal (m) e constante de acoplamento carbono-fluor em Hz (J_{CF}).....	66

Tabela 9. Valores de IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) dos híbridos curcumina-cinamaldeído e IS entre as linhagens pulmonares.....	67
--	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.2 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	88
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.2 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	88
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.4 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	89
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.4 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	89
Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.5 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	90
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.5 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	90
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.6 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	91
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.6 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	91
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.7 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	92
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.7 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	92
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.12 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	93
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.12 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	93
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.13 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	94
Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.13 ($\text{DMSO}-d_6$; 150 MHz).....	94
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.16 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	95
Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.16 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	95
Anexo 17. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.17 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	96
Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.17 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	96
Anexo 19. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.18 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	97
Anexo 20. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.18 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	97
Anexo 21. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.20 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	98
Anexo 22. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.20 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	98
Anexo 23. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.21 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	99
Anexo 24. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.21 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	99

Anexo 25. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.22 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	100
Anexo 26. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.22 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	100
Anexo 27. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.25 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	101
Anexo 28. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.25 ($\text{DMSO}-d_6$; 150 MHz).....	101
Anexo 29. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.2 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	102
Anexo 30. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.2 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	102
Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.3 (CDCl_3 ; 400 MHz)	103
Anexo 32. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.3 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	103
Anexo 33. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.4 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	104
Anexo 34. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.4 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	104
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.5 (CDCl_3 ; 400 MHz)	105
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.5 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	105
Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.7 (CDCl_3 ; 600 MHz)	106
Anexo 38. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.7 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	106
Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.10 (CDCl_3 ; 600 MHz)	107
Anexo 40. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.10 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	107
Anexo 41. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.12 (CDCl_3 ; 400 MHz)	108
Anexo 42. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.12 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	108
Anexo 43. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.13 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	109
Anexo 44. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.13 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	109
Anexo 45. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.16 (CDCl_3 ; 400 MHz).....	110
Anexo 46. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.16 (CDCl_3 ; 100 MHz).....	110
Anexo 47. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.21 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	111
Anexo 48. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.21 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	111
Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.23 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	112

Anexo 50. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.23 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	112
Anexo 51. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.25 (CDCl_3 ; 600 MHz).....	113
Anexo 52. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.25 (CDCl_3 ; 150 MHz).....	113
Anexo 53. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.30 ($\text{DMSO}-d_6$; 600 MHz).....	114
Anexo 54. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.30 ($\text{DMSO}-d_6$; 150 MHz).....	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

3LL - Carcinoma pulmonar de Lewis

5-FU - 5-fluorouracila

A549 - Células de adenocarcinoma de pulmão humano

Caco-2 - Células de adenocarcinoma de cólon humano

CC - Cromatografia em coluna

CCDA - Cromatografia em camada delgada analítica

CC-FN - Cromatografia em coluna de fase normal

CC-FR - Cromatografia em coluna de fase reversa

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado

CPG - Cromatografia de permeação em gel

δ_H - Deslocamento químico de hidrogênio

δ_C - Deslocamento químico de carbono treze

d - Dubleto

dd - Duplo dubleto

ddd - Duplo duplo dubleto

DMF - Dimetilformamida

DMSO-*d*₆ - Dimetilsulfóxido hexadeuterado

DU-145 - Células carcinoma de próstata humano

ED₅₀ - Dose efetiva que produz metade da eficácia de uma substância

HCT-15 - Células de adenocarcinoma do cólon humano

HCT-116 - Células de carcinoma de cólon humano

HepG2 - Células de hepatocarcinoma humano

HL-60 - Células de leucemia promielocítica humano

IC₅₀ - Concentração capaz de inibir 50% de um sistema específico

IS - Índice de seletividade

J - Constante de acoplamento

L-1210 - Células de leucemia linfoblástica aguda murina

MCF-7 - Células de adenocarcinoma de mama humano

MDA-MB-231 - Células de adenocarcinoma de mama humano

MM1S - Células de mieloma múltiplo humano

MOM - Grupo protetor metoximetila

MRC-5 - Células de fibroblasto normal de pulmão humano

MTX - Metotrexato

NF- κ B - Fator nuclear kappa B

ODS-C₁₈ - Octadecilsilano

OVCAR-3 - Células de carcinoma de ovário humano

P-388 - Células de carcinoma de linfóide de camundongo

PC-3 - Células de adenocarcinoma de próstata humano

ppm - Parte por milhão

REMA - *Resazurin microtiter assay*

Rf - Fator de retardamento

RMN de ¹H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono treze

RPMI8226 - Células de mieloma múltiplo humano

ROS - Espécies reativas de oxigênio

s - Singleto

SNU-C5 - Células de carcinoma de estômago humano

SP1 - Proteína de especificidade 1

THP-1 - Células de leucemia monocítica aguda humano

TRAIL - Ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF

TNF - Fator de necrose tumoral

U266 - Células de mieloma múltiplo humano

U-937 - Células de macrófago humano

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Câncer e Antineoplásicos.....	20
1.2 Curcumina.....	22
1.3 Cinamaldeído.....	25
1.4 Hibridação molecular.....	27
2. OBJETIVOS.....	32
2.1 Objetivo geral.....	32
2.2 Objetivos específicos.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Planejamento dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído..	33
3.2 Síntese dos curcuminoides.....	35
3.3 Síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído.....	36
3.4 Purificação dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído.....	37
3.5 Confirmação estrutural dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído.....	40
3.6 Ensaios de citotoxicidade dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
4.1 Síntese e rendimentos dos curcuminoides.....	42
4.2 Confirmação estrutural dos curcuminoides.....	45
4.3 Avaliação citotóxica dos curcuminoides.....	51
4.4 Síntese e rendimentos dos híbridos curcumina-cinamaldeído	53
4.5 Confirmação estrutural dos híbridos curcumina-cinamaldeído.....	60
4.6 Avaliação citotóxica dos híbridos curcumina-cinamaldeído.....	67

5. CONCLUSÕES.....	71
6. REFERÊNCIAS	72
7. ANEXOS.....	88

1. INTRODUÇÃO

1.1 Câncer e Antineoplásicos

O câncer é uma desordem hiperproliferativa em que células normais, devido a alterações genéticas e epigenéticas, perdem a sua homeostase e começam a ativar uma variedade de genes, os quais estão envolvidos no ciclo celular, invasão, sobrevivência, metástase e angiogênese, resultando no desenvolvimento de neoplasias (Parmigiani & Camargo, 2004; Shanmugam et al., 2015).

O processo de carcinogênese é altamente complexo e com etapas múltiplas que podem persistir ao longo de vários anos, envolvendo genes que regulam a estabilidade e reparo do material genético, crescimento celular, instabilidade genômica e mecanismos epigenéticos (Henderson & Feigelson, 2000; Reddy, Odhav & Bhoola, 2003). O dano oxidativo ao material genético é um dos principais mecanismos de iniciação da carcinogênese. Células que se dividem rapidamente são mais suscetíveis à carcinogênese, pois tem tempo menor para reparar danos no material genético (Valko et al., 2006; Urtasun, Berasain & Avila, 2015).

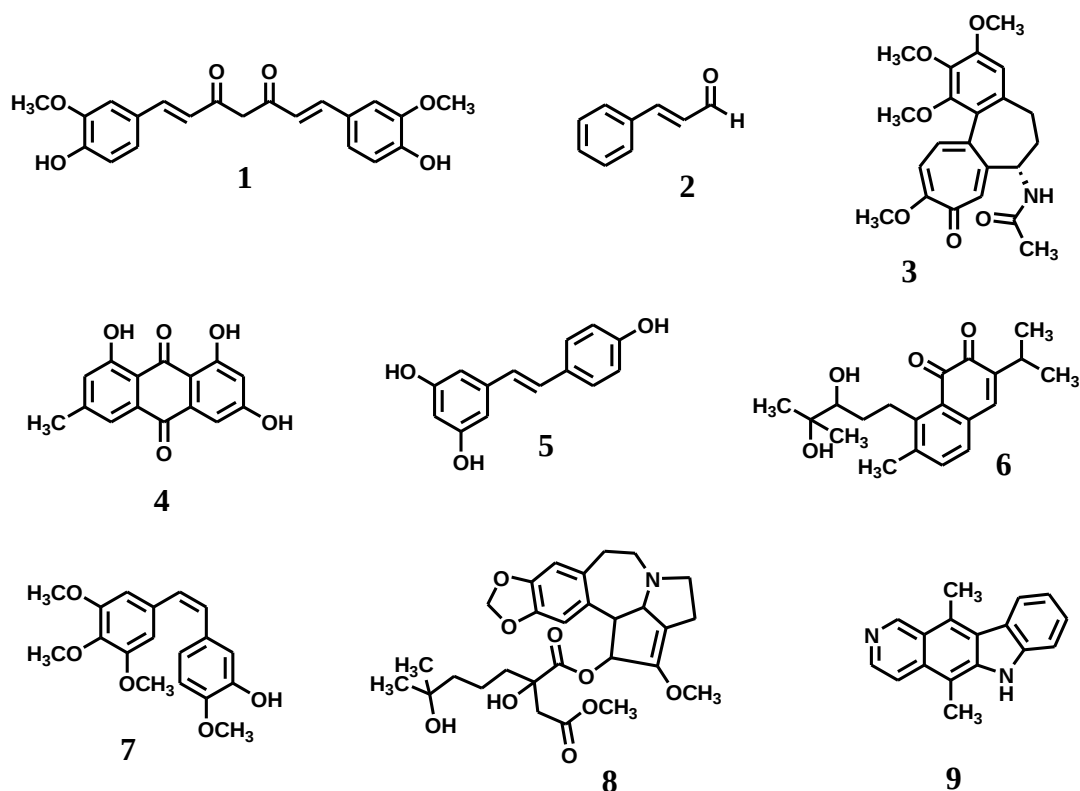
De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde, foram diagnosticados 14,1 milhões de casos novos e um total de 8,2 milhões de mortes por câncer no mundo durante o ano de 2012. No Brasil, a estimativa para o ano de 2015 foi de 576 mil casos novos. O câncer de pele do tipo não melanoma (182 mil casos novos) foi o mais incidente na população brasileira, seguido pelos de próstata (69 mil), mama feminina (57 mil), cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil), estômago (20 mil) e colo do útero (15 mil) (INCA, 2014).

Apesar da alta incidência de casos novos, a taxa de mortalidade por câncer tem diminuído nos últimos anos segundo relatório da *American Cancer Society*. A taxa de morte por câncer nos Estados Unidos da América diminuiu 22 % entre os anos de 1991 e 2011. Isso se deve, entre outros fatores, ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de novos tratamentos aos pacientes, como cirurgia, radioterapia e quimioterapia, bem como o diagnóstico precoce (Siegel, Miller & Jemal, 2015). A quimioterapia tem como objetivo eliminar as células cancerígenas, mantendo as células normais. No entanto, a maior parte dos antineoplásicos age de forma não seletiva, afetando igualmente células normais e tumorais, incluindo as células normais com crescimento acelerado (Grant et al., 1997; Almeida et al., 2005; Harris et al., 2005).

Os fármacos antineoplásicos podem ser classificados em; **(i)** *agentes alquilantes* - atuam por meio da formação de ligações covalentes com o DNA, impedindo a sua replicação (ex: ciclofosfamida, lomustina e cisplatina); **(ii)** *antimetabólitos* - inibem vias metabólicas relacionadas à síntese do DNA, mimetizando os metabólitos dessa via (ex: 5-fluorouracila (5-FU), metotrexato (MTX) e 6-mercaptopurina); **(iii)** *antibióticos citotóxicos* - grupo de substâncias de origem microbiana com estrutura química variada que interagem com o DNA e inibem a síntese de proteínas (ex: doxorubicina, mitomicina C e bleomicina); **(iv)** *antimitóticos* - normalmente inibem a divisão celular por atuarem sobre a tubulina (ex: vimblastina, vincristina, paclitaxel e docetaxel) ou inibir topoisomerasas (ex: etoposídeo e topotecano) (Brandão et al., 2010; Brunton, Chabner & Knollmann, 2012; INCA, 2014).

Os produtos naturais, principalmente os derivados de plantas, desempenham um importante papel na descoberta de novos agentes antineoplásicos. Foram relatadas algumas substâncias presentes em plantas com potencial antineoplásico (Dirar et al., 2014; Bailon-Moscoso et al., 2015; Shukla & Metha, 2015). Dentre essas substâncias, destacam-se: curcumina **(1)** (Shakibaei et al., 2015), cinamaldeído **(2)** (Zhao et al., 2015), colchicina **(3)** (Ji, Liu & Liu, 2015), emodina **(4)** (Thimmegowda et al., 2015), resveratrol **(5)** (Dai et al., 2015a), salvicina **(6)** (Zhang et al., 2013), combretastatina-A4 **(7)** (McNulty et al., 2015), homoharringtonina **(8)** (Li et al., 2014) e elipticina **(9)** (Savorani et al., 2015). A figura 1 sumarizou as estruturas desses derivados de plantas com potencial antineoplásico.

Figura 1. Substâncias derivadas de plantas com potencial antineoplásico



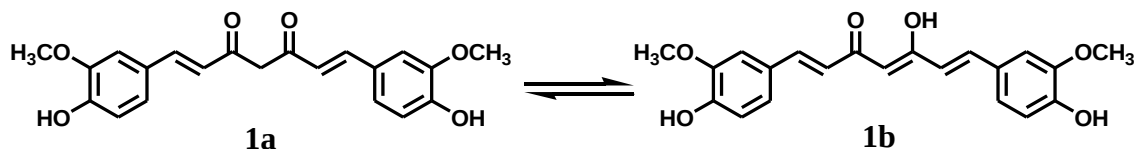
1 – curcumina; 2 – cinamalaldeído; 3 – colchicina; 4 – emodina; 5 – resveratrol; 6 – salvicina; 7 – combretastatina-A4; 8 – homoharringtonina; 9 – elipticina.

1.2 Curcumina

A curcumina (1) é um pigmento amarelo intenso, isolado dos rizomas da *Curcuma longa* (Zingiberaceae), uma espécie de amplo emprego medicinal e culinário, sendo comumente conhecida como “açafrão-da-índia”, “açafrão-da-terra”, “cúrcuma” ou “turmeric” (Anand et al., 2008).

A curcumina é caracterizada por dois anéis benzênicos ($2 \times C_6$) espaçados por uma β -dicetona *bis- α' , β'* -insaturada (C_7) apresentando um esqueleto carbônico $C_6C_7C_6$, ou difenileptanoidico. A curcumina exibe tautomerismo cetona-enólico, com predominância da forma cetônica em soluções ácidas e neutras, e a forma enólica prevalece em soluções com pH acima de 8 (figura 2) (Sharma, Gescher & Steward, 2005). As substâncias naturais ou sintéticas que possuem esqueleto carbônico similar ao da curcumina são denominadas como curcuminoides (Anand et al., 2008).

Figura 2. Tautomerismo cetó-enólico da curcumina forma cetônica (**1a**) forma enólica (**1b**)

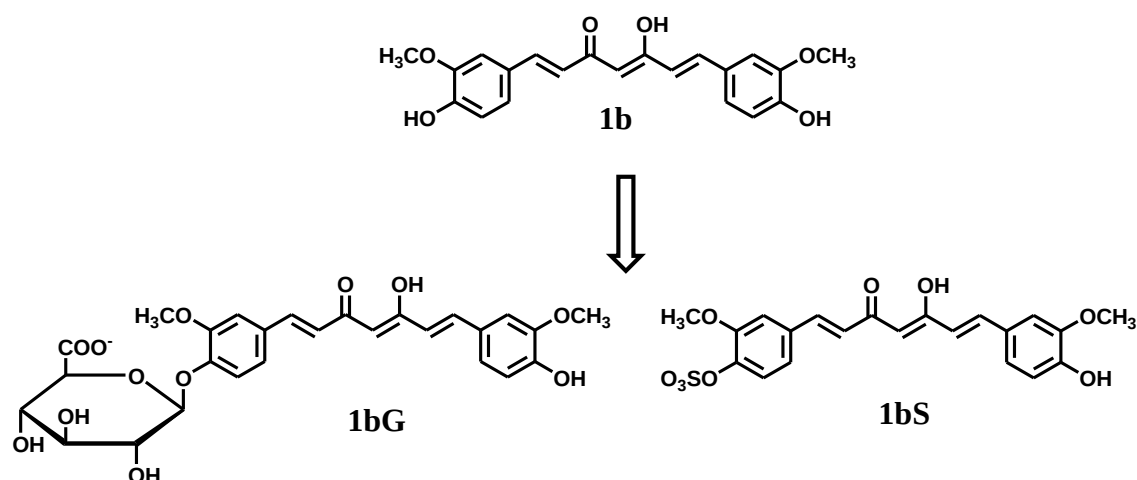


A curcumina apresenta amplo espectro de atividades biológicas, tais como: antibacteriana (Rai et al., 2008; Cuong et al., 2015), antifúngica (Ungphaiboon et al., 2005; Lee, 2015), antiviral (Mishra et al., 2015; Sordillo & Helson, 2015), anti-inflamatória (Wang et al., 2015; Esatbeyoglu et al., 2015) e antioxidante (Receno, Benson & Deruisseau, 2015; Zaidi & Mahboob, 2015).

Dentre essas atividades, a ação antitumoral da curcumina se destaca, sendo capaz de suprimir fatores biológicos responsáveis pela proliferação de células tumorigênicas. Ela atua sobre o fator nuclear κ B (NF- κ B), inibindo a expressão de produtos dos genes que estão envolvidos na proliferação, angiogênese, metástase e anti-apoptose (Mukhopadhyay et al., 2002; Aggarwal et al., 2006; Kunnumakkara et al., 2007; Kunnumakkara, Anand & Aggarwal, 2008). A curcumina exerceu uma diminuição gradual na taxa de crescimento de tumores *in vivo*, com um aumento significativo no tempo de sobrevivência dos animais. Além disso, o tratamento com a curcumina inibiu a angiogênese pela diminuição na vascularização dos tumores (Perry et al., 2010). Ela ainda foi capaz de induzir a apoptose em células tumorais por meio da ativação de caspases, clivagem da proteína pró-apoptótica BID e liberação do citocromo c (Anto et al., 2002).

Embora os ensaios clínicos de Fase I tenham demonstrado que a curcumina foi segura para os seres humanos, mesmo em doses elevadas (12 g dia⁻¹), ela apresentou baixa biodisponibilidade (Aggarwal et al., 2003). As principais razões que contribuem para o seu nível baixo no plasma e nos tecidos são à má absorção, metabolismo de primeira passagem e eliminação sistêmica rápida (Anand et al., 2007). O fígado é o principal órgão responsável pelo seu metabolismo. Asai e Miyazawa identificaram que os principais metabólitos da curcumina após administração oral foram os conjugados glicuronídeos (**1bG**) e sulfatos (**1bS**) (figura 3) (Asai & Miyazawa, 2000).

Figura 3. Principais metabólitos da curcumina após administração por via oral

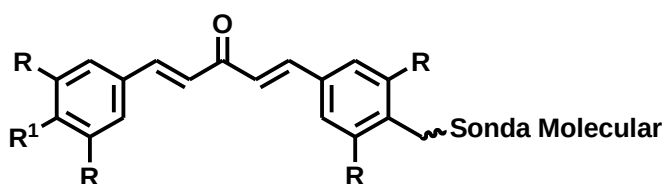


Várias abordagens vêm sendo utilizadas para melhorar a biodisponibilidade da curcumina. Essas envolvem desde o uso de adjuvantes, como a piperina, uma amida piperidínica isolada da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), a qual interfere com a glicuronidação (Shoba et al., 1998; Ryu et al., 2006); o emprego de lipossomas, micelas e nanopartículas (Li, Braiteh & Kurzrock, 2005; Bisht et al., 2010; Gou et al., 2011); e até o desenvolvimento de análogos sintéticos com atividade biológica igual ou superior à curcumina, mas que otimizem seu desempenho farmacocinético (Selvam et al., 2005; Anand et al., 2008; Anthwal et al., 2014; Zhai et al., 2015).

Trabalhos na literatura relatam a síntese de curcuminoides com atividade biológica. O curcuminóide difenileptanoide *p*-hidroxilado (IC_{50} 3,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) apresentou potência citotóxica equivalente a curcumina (IC_{50} 4,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para células do câncer de ovário humano (OVCAR-3) (Syu Jr et al., 1998). Esse curcuminóide foi mais potente na inibição do tumor ascítico de Ehrlich do que a curcumina, prolongando o tempo de sobrevivência dos ratos (Ruby et al., 1995). O curcuminóide difenileptanoide *o*-hidroxilado apresentou um efeito protetor durante a carcinogênese de cólon induzida por 1,2-dimetilhidrazina (Devasena et al., 2003). O curcuminóide difenileptanoide 3,4-dimetoxilado apresentou potência citotóxica dez vezes maior em relação à curcumina para células do câncer de cólon humano (HCT-116) (Yamakoshi et al., 2010).

Yamakoshi e colaboradores após avaliar a citotoxicidade de vários análogos sintéticos da curcumina contra células HCT-116, concluíram que **(i)** *bis*(arilmetilideno)acetona foi um promissor esqueleto para a indução de citotoxicidade; **(ii)** a estrutura de 1,4-pentadieno-3-oxo é essencial para a citotoxicidade; **(iii)** análogos hexassubstituídos exibiram alta citotoxicidade, sendo que os análogos 3,4,5-hexassubstituídos apresentaram a maior potência; **(iv)** a simetria entre as unidades arílicas não é um fator estrutural essencial para a indução de citotoxicidade nos análogos 3,4,5-hexassubstituídos; **(v)** a posição *para* permite a ligação de subunidades que podem ser utilizadas como sondas moleculares, como azidas e alcinos (Yamakoshi et al., 2010). A figura 4 resumizou os resultados relatados nesse trabalho para a otimização da atividade citotóxica de análogos sintéticos da curcumina.

Figura 4. Estrutura otimizada do análogo de curcumina com maior potência citotóxica contra células HCT-116



1.3 Cinamaldeído

O cinamaldeído (2) é uma substância altamente volátil e responsável pelo odor e sabor das cascas dos caules de plantas do gênero *Cinnamomum* (Lauraceae). Dentre essas está a *C. zeylanicum*, cujas cascas dos caules são popularmente conhecidas como “canelas”, uma especiaria de amplo emprego culinário e medicinal (Ranasinghe et al., 2013). O cinamaldeído é um aldeído aromático α,β -insaturado, caracterizado por um esqueleto fenilpropanoídico do tipo C_6C_3 .

A administração oral do extrato das cascas dos caules do *C. cassia* inibiu o desenvolvimento de melanoma em ratos por meio da supressão dos fatores anti-apoptóticos Bcl-2, Bcl-XL e da survivina. Como o cinamaldeído foi o principal constituinte identificado no extrato de *C. cassia*, atribuindo-se a ele a atividade antineoplásica (Kwon et al., 2010).

O cinamaldeído apresenta um amplo espectro de ação antiproliferativa e pró-apoptótica, sendo citotóxico para uma variedade de linhagens celulares, tais como as

provenientes de tumor linfóide de camundongo (P-388 - IC_{50} 45,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$), leucemia linfoblástica aguda murina (L-1210 - IC_{50} 56,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$), carcinoma pulmonar de Lewis (3LL Lewis - IC_{50} 49,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$), macrófago humano (U-937 - IC_{50} 146,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$), leucemia promielocítica humana (HL-60 - IC_{50} 30,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e câncer de estômago humano (SNU-C5 - IC_{50} 89,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (Ka et al., 2003).

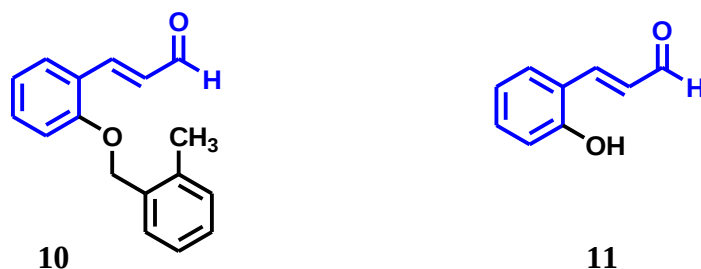
Ng e Wu relataram que o cinamaldeído foi capaz de atuar sobre a via p53 em células de hepatocarcinoma humano (HepG2). A p53 é uma proteína que identifica danos no DNA e para o ciclo de replicação, permitindo o reparo do conteúdo danificado. Em condições irreversíveis, a via p53 dirige a célula para sofrer apoptose, aumentando a expressão da proteína Bax (pró-apoptótica) e inibindo a expressão de Bcl-XL (anti-apoptótica). A via p53 foi induzida pelo cinamaldeído, aumentando a apoptose de células do hepatoma pela regulação positiva de Bax e regulação negativa de Bcl-XL. Além disso, Ng e Wu relataram que o cinamaldeído (IC_{50} 9,76 $\pm$ 0,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$) exibiu potência equivalente ao fármaco de referência 5-fluoruracila (IC_{50} 9,57 $\pm$ 0,61 $\mu\text{mol L}^{-1}$) contra células HepG2 (Ng & Wu, 2011).

O cinamaldeído induziu a apoptose em células HL-60 via geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) que alteraram a permeabilidade da membrana mitocondrial, resultando na liberação do citocromo c para o citosol, desencadeando a apoptose (Ka et al., 2003).

Roth-Warltter e colaboradores atribuíram à propriedade anti-inflamatória do cinamaldeído a sua capacidade para bloquear a ativação do NF- κ B em células do sistema imunológico. O tratamento com cinamaldeído inibiu a viabilidade celular e induziu células primárias e imortais do sistema imunológico à apoptose. Apesar de sua propriedade antitumoral, o tratamento com cinamaldeído em pacientes com câncer pode ser contra-indicado devido à sua capacidade de inibir a ação das células do sistema imunológico (Roth-Walter et al., 2014).

Trabalhos descreveram a atividade antitumoral de derivados sintéticos do cinamaldeído. Jeong e colaboradores relataram que o derivado éter benzílico do cinamaldeído (**10**) (figura 5) apresentou atividade antimitótica, o que se correlacionou com o aumento acentuado na quantidade de ciclina B1. Além disso, ele bloqueou o crescimento de tumores do cólon e de mama em ratos (Jeong et al., 2003). O derivado 2-hidroxi-cinamaldeído (**11**) (figura 5) (ED_{50} 0,63 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi mais potente que a cisplatina (ED_{50} 2,13 $\mu\text{g mL}^{-1}$) contra células de carcinoma do cólon humano (HCT-15) (Kwon et al., 1998).

Figura 5. Derivados sintéticos do cinamaldeído com potencial antitumoral



1.4 Hibridação Molecular

A hibridação molecular é uma estratégia utilizada no planejamento de substâncias biologicamente ativas. Compreende a união de características estruturais de substâncias bioativas em uma única estrutura. Após a junção dessas duas subunidades, por meio de uma ligação covalente, obtém-se um híbrido, o qual pode apresentar propriedades biológicas similares ou superiores às subunidades de origem (Viegas-Júnior et al., 2007).

A seleção dos protótipos é baseada em suas atividades farmacológicas, juntamente com os estudos de relação estrutura-atividade, o que permite o desenvolvimento de substâncias ativas. Os híbridos são planejados para atenuar tanto os efeitos negativos dos protótipos, tais como toxicidade ou baixa biodisponibilidade, bem como para amplificar sua potência por meio da ação sobre um novo alvo biológico ou por interagir com múltiplos alvos (híbridos duais e híbridos simbióticos), diminuindo o risco de interações medicamentosas e minimizando a resistência e tolerância aos tratamentos (Barreiro & Fraga, 2014; Nepali et al., 2014; Araújo et al., 2015).

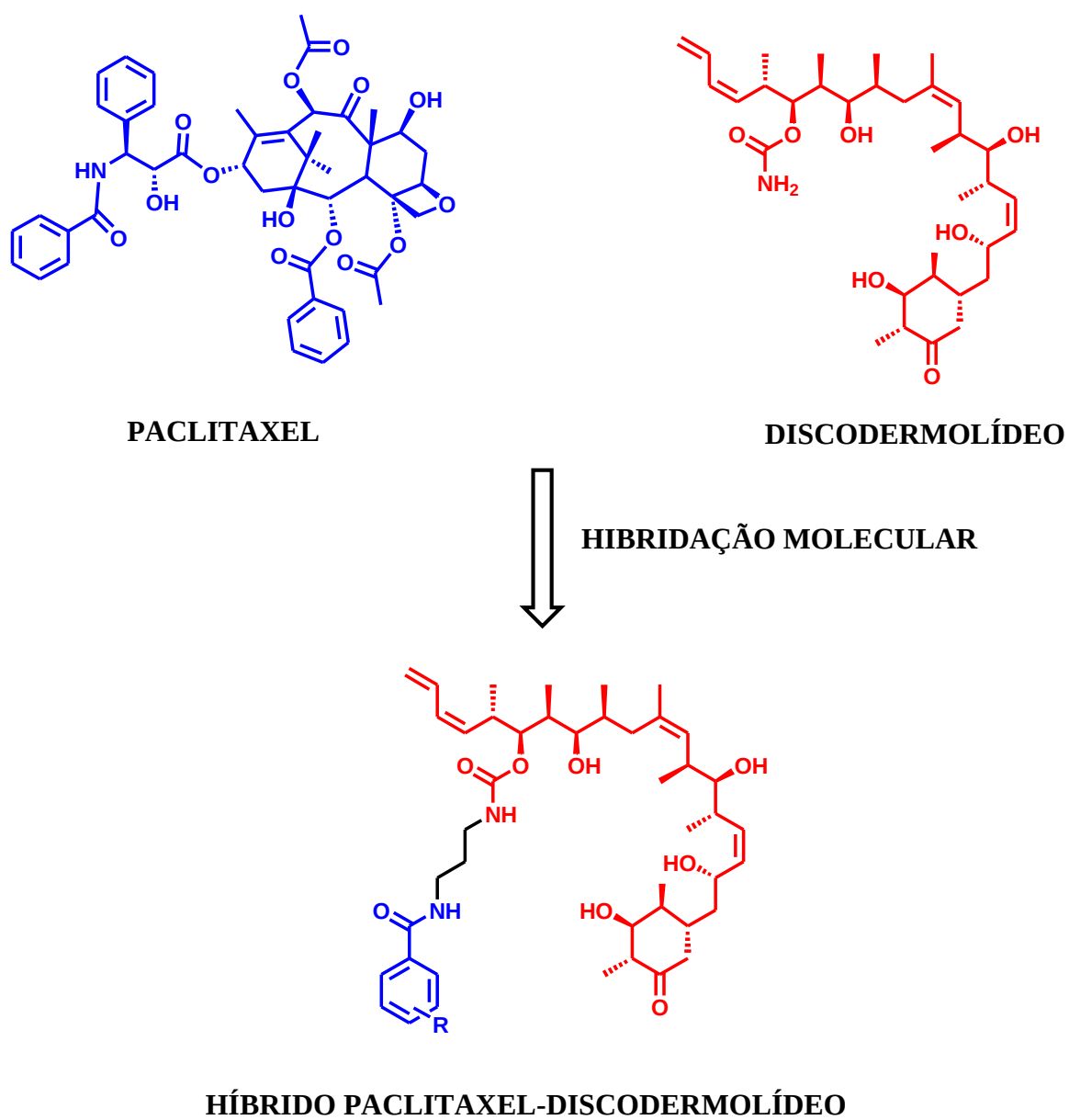
A ferramenta de hibridação molecular tem sido utilizada para o desenvolvimento de agentes antitumorais, principalmente na busca por substâncias que atuem sobre a tubulina, uma proteína que constitui os microtúbulos no processo de divisão celular (Jordan & Willson, 1998; Zhou & Giannakakou, 2005; Margolis & Yenjerla, 2015). Alguns produtos naturais, como os taxanos, chalconas e colchicina, inibem a dinâmica dos microtúbulos ao se ligarem a locais distintos da tubulina, conduzindo à morte celular

por apoptose ou necrose (Nepali et al., 2014; Yu et al., 2015). Essas substâncias têm sido utilizadas como protótipos para o desenvolvimento de híbridos com potente ação antineoplásica em níveis nanomolares (Wittman et al., 2001; Bourdron et al., 2006; Singh et al., 2012).

Smith e colaboradores planejaram e sintetizaram uma série de híbridos paclitaxel-discodermolídeo com potente atividade antitumoral (figura 6) (Smith III et al., 2011). O (+)-discodermolídeo é um produto natural isolado a partir de extratos da esponja marinha *Discodermia dissoluta*, que apresenta como modo de ação antitumoral a aceleração da senescência celular. O paclitaxel e o discodermolídeo são conhecidos por atuarem sinergicamente em linhagens tumorais devido à capacidade de induzir a estabilidade em lados opostos da interface dos microtúbulos (Khrapunovich-Baine et al., 2009). Com o auxílio de estudos computacionais, identificou que o modo de ligação do discodermolídeo e do paclitaxel são diferentes, pois a cavidade aromática ocupada pela cadeia lateral de paclitaxel não é ocupada pelo discodermolídeo. O preenchimento desta cavidade pelo discodermolídeo poderia potencializar sua atividade antitumoral (Smith III et al., 2011).

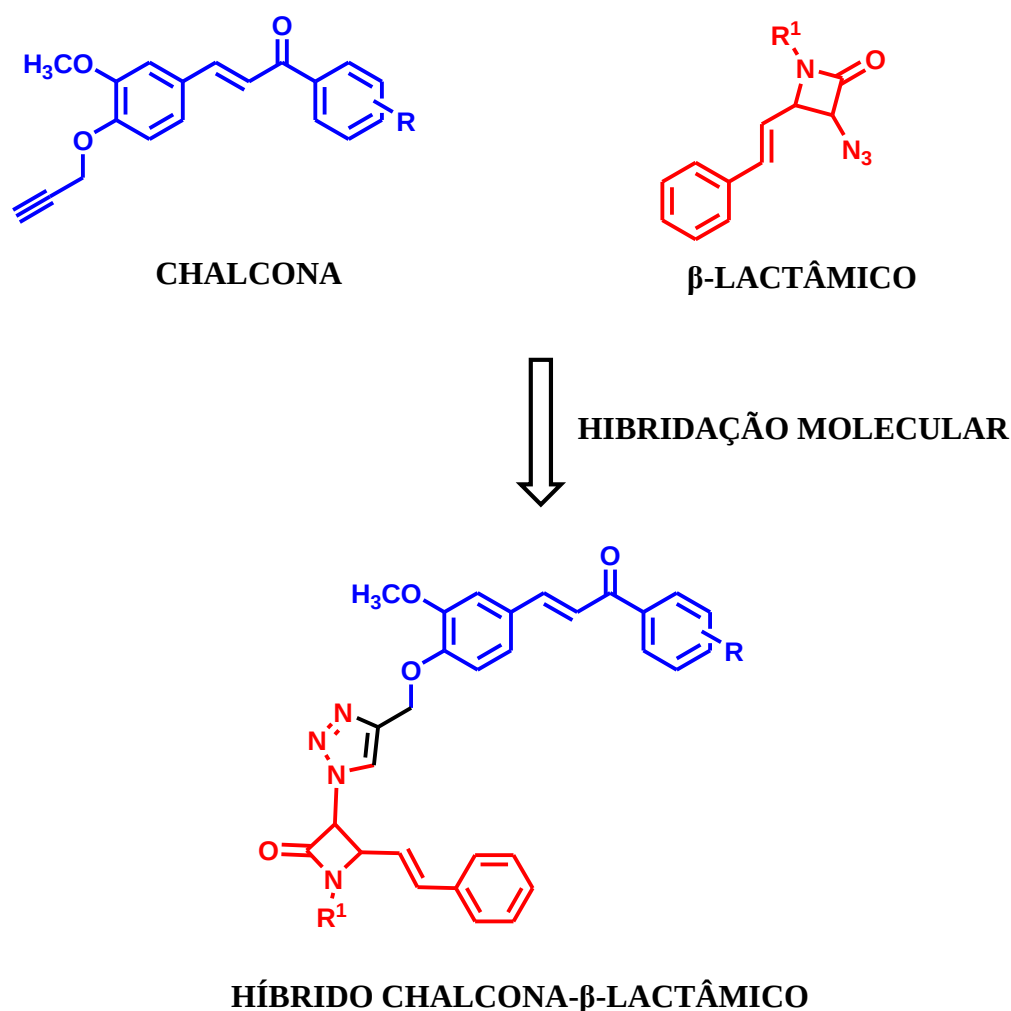
A citotoxicidade dos híbridos paclitaxel-discodermolídeo foi avaliada contra as linhagens de câncer de pulmão humano (A549) e de mama (MCF-7), observando-se que os híbridos apresentaram atividade citotóxica até oito vezes mais potente do que o discodermolídeo. Além disso, todos os híbridos aumentaram a quantidade de polimerização dos microtúbulos, indicando sua ação pelo mesmo mecanismo de ação que seus protótipos (Smith III et al., 2011).

Figura 6. Planejamento dos híbridos paclitaxel-discodermolídeo



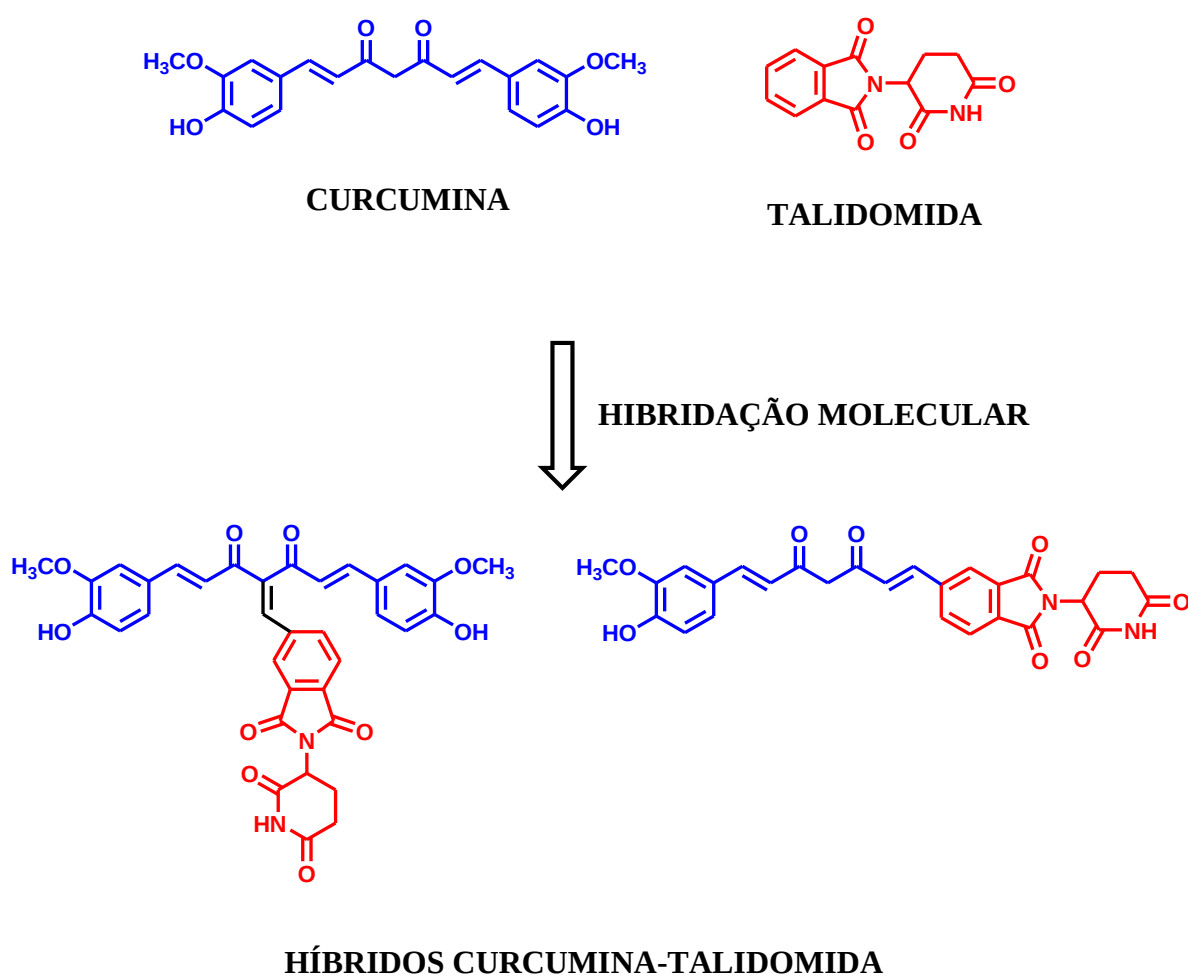
Singh e colaboradores descreveram a síntese de híbridos chalcona- β -lactâmico e sua avaliação citotóxica contra linhagens tumorigênicas humanas (figura 7). O híbrido mais potente exibiu valores de IC_{50} variando de 1 a $67,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ contra as linhagens de pulmão (A549), próstata (PC-3), leucemia (THP-1) e cólon (Caco-2) (Singh et al., 2012). Esses híbridos foram planejados devido aos relatos da atividade antitumoral de β -lactâmicos contra linhagens celulares de câncer de mama humano (MCF-7 e MDA-MB-231) por meio da inibição da tubulina e subsequente detenção do ciclo celular em G2/M (Carr et al., 2010).

Figura 7. Planejamento dos híbridos chalcona- β -lactâmico



Liu e colaboradores descreveram o planejamento de híbridos curcumina-talidomida (figura 8) contra as linhagens celulares de mieloma múltiplo humano MM1S, RPMI8226 e U266. A avaliação biológica demonstrou que dois híbridos curcumina-talidomida apresentaram maior potência citotóxica do que os seus protótipos, assim como a combinação entre eles. Além disso, os estudos do mecanismo de ação revelaram que os dois híbridos induziram a produção de ROS e interromperam o ciclo celular em G1/S, conduzindo assim a células U266 à apoptose (Liu et al., 2013a).

Figura 8. Planejamento dos híbridos curcumina-talidomida



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi sintetizar e avaliar a ação citotóxica de curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído.

2.2 Objetivos Específicos

- i.** Sintetizar uma série de curcuminoides (difênileptanoides) simétricos substituídos por grupos aceptores e doadores de elétrons, utilizando a metodologia de Pabon
- ii.** Sintetizar uma série de híbridos curcumina-cinamaldeído (difênilpentanoides) assimétricos substituídos por grupos aceptores e doadores de elétrons, utilizando reações de condensação aldólica sob catálise básica ou ácida
- iii.** Confirmar as estruturas moleculares dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído por meio de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Carbono Treze (RMN de ^{13}C);
- iv.** Avaliar a citotoxicidade pelo método de REMA dessas substâncias contra as linhagens celulares humanas carcinoma de próstata (DU-145), hepatocarcinoma (HepG2), adenocarcinoma de pulmão (A549) e fibroblasto normal de pulmão (MRC-5), e determinar o índice de seletividade (IS) entre as linhagens pulmonares;
- v.** Estabelecer dados preliminares da relação estrutura-atividade, destacando a importância dos grupos aceptores e doadores de elétrons.

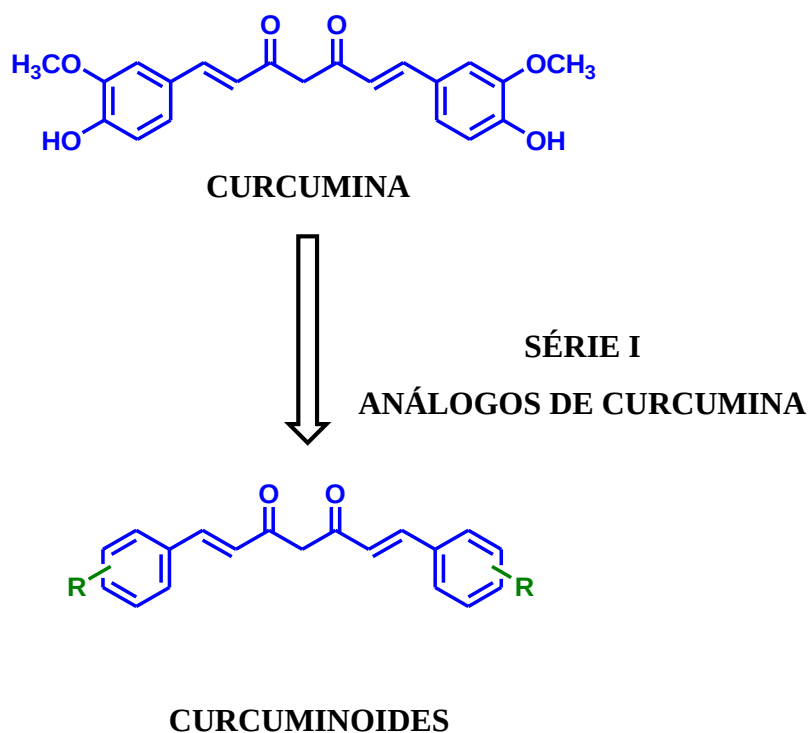
3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Planejamento dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído

Foram planejadas duas séries de substâncias: a **série I** foi constituída por análogos de curcumina (curcuminoides ou difenileptanoides) e a **série II** de híbridos curcumina-cinamaldeído (difenilpentanoides).

Os curcuminoides da **série I** (figura 9) foram planejados visando mensurar a influência do número e a posição de grupos doadores e aceptores de elétrons, indicando a importância da densidade eletrônica dos anéis benzênicos na atividade citotóxica. Esses difenileptanoides ($C_6C_7C_6$) apresentam dois anéis benzênicos substituídos simetricamente por grupos aceptores e doadores de elétrons ($2 \times C_6$), separados por uma β -dicetona *bis- α' , β'* -insaturada (C_7).

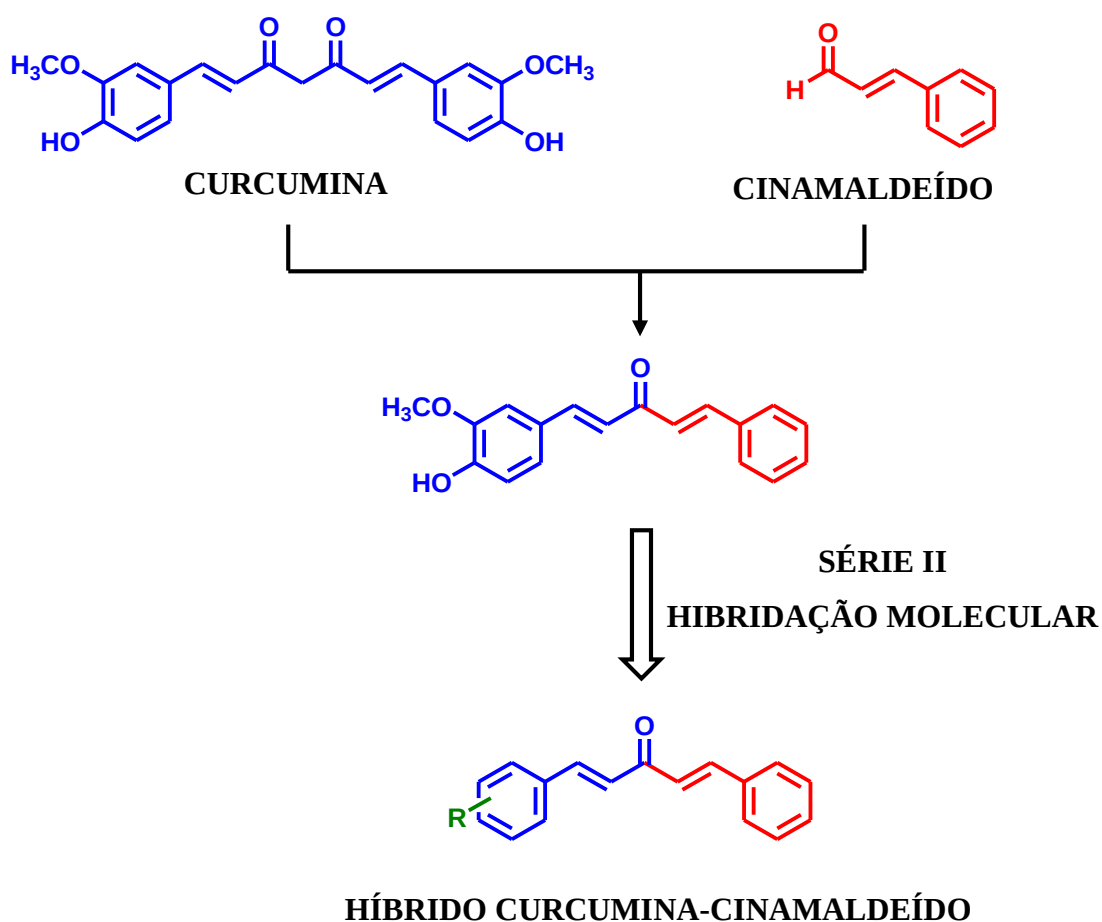
Figura 9. Planejamento dos curcuminoides



R = -H, -F, -Cl, -Br, -CF₃, -CN, -NO₂, -CH₃, -N(CH₃)₂, -OCH₃ e -OH

Os híbridos curcumina-cinamaldeído da **série II** (figura 10) foram planejados pela junção da subunidade C_6C_3 da curcumina com a subunidade C_2C_6 do cinamaldeído, culminando em híbridos difenilpentanoides assimétricos ($C_6C_5C_6$) que suprimem tanto a subunidade β -dicetona da curcumina, a qual está relacionada com sua rápida metabolização (Liang et al., 2009), como a subunidade aldoxila do cinamaldeído, um grupo reativo e tóxico (LoPachin & Gavin, 2014). Assim como os curcuminoides, os híbridos curcumina-cinamaldeído foram substituídos por grupos aceptores e doadores de elétrons.

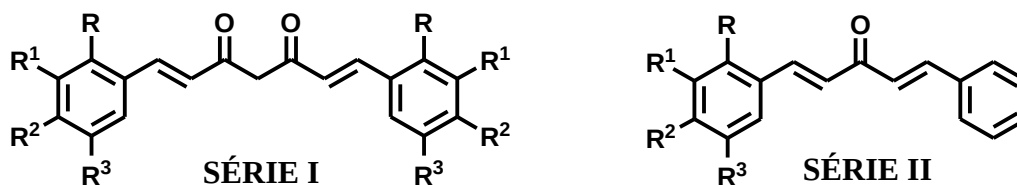
Figura 10. Planejamento dos híbridos curcumina-cinamaldeído



R = -H, -F, -Cl, -Br, -CF₃, -CN, -NO₂, -CH₃, -N(CH₃)₂, -OCH₃ e -OH

Foram planejadas 64 substâncias, sendo 32 curcuminoides e 32 híbridos curcumina-cinamaldeído. Os curcuminoides foram di-, tetra- e hexassubstituídos por grupos aceptores e doadores de elétrons (**I.1** a **I.32**), bem como os híbridos curcumina-cinamaldeído foram mono-, di- e trissubstituídos por grupos doadores e aceptores de elétrons (**II.1** a **II.32**). Os grupos doadores e aceptores de elétrons incluem aqueles presentes na curcumina ($-\text{OCH}_3$ e $-\text{OH}$), que foram mais explorados neste trabalho, e outros ($-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CH}_3$ e $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$). A tabela 1 sumarizou as estruturas das 64 substâncias propostas inicialmente para este trabalho.

Tabela 1. Estrutura dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído



I e II	R	R ¹	R ²	R ³
1	H	H	H	H
2	H	H	F	H
3	H	Cl	H	H
4	H	H	Cl	H
5	H	Cl	Cl	H
6	H	H	Br	H
7	H	H	CF ₃	H
8	H	H	CN	H
9	NO ₂	H	H	H
10	H	NO ₂	H	H
11	H	H	NO ₂	H
12	H	H	CH ₃	H
13	H	H	N(CH ₃) ₂	H
14	OCH ₃	H	H	H
15	H	OCH ₃	H	H
16	H	H	OCH ₃	H

I e II	R	R ¹	R ²	R ³
17	OCH ₃	OCH ₃	H	H
18	OCH ₃	H	OCH ₃	H
19	OCH ₃	H	H	OCH ₃
20	H	OCH ₃	OCH ₃	H
21	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃
22	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
23	H	OCH ₃	OH	H
24	OH	H	H	H
25	H	OH	H	H
26	H	H	OH	H
27	OH	OH	H	H
28	OH	H	OH	H
29	OH	H	H	OH
30	H	OH	OH	H
31	H	OH	H	OH
32	OH	H	OH	OH

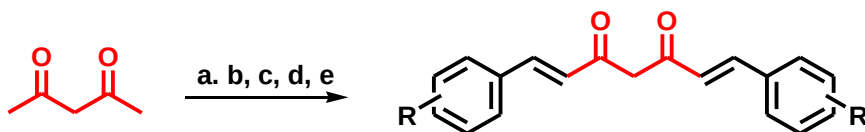
3.2 Síntese dos curcuminoides

As substâncias da série I foram sintetizadas pela metodologia de Pabon com pequenas modificações (Pabon, 1964; Venkateswarlu, Ramachandra & Subbaraju, 2005; Ahmed, Khan & Rainsford, 2013; Konno et al., 2014), a qual emprega compostos de

boro, como o anidrido bórico (B_2O_3) e o borato de tributila [$B(OC_4H_9)_3$], para a proteção do carbono metilênico e ativação dos carbonos metílicos da acetilacetona.

À uma suspensão de anidrido bórico (350,0 mg, 5,0 mmol) em dimetilformamida (DMF) (2,0 mL) adicionou-se a acetilacetona (0,50 mL, 5,0 mmol) e agitou-se por 15 min a 65 °C. Transcorrido esse período, adicionou-se borato de tributila (2,7 mL, 10,0 mmol) e agitou-se durante 15 min a 65 °C. Em seguida, os aldeídos benzaldeídicos (10,0 mmol) foram solubilizados em DMF (1,0 mL) e então adicionados à mistura reacional, a qual foi mantida sob agitação durante 5 min. Uma solução de amilamina (0,1 mL) e ácido acético (0,3 mL) em DMF (1,0 mL) foi adicionada ao meio reacional e agitou-se por 4 h a 95 °C. Após resfriar o meio reacional para 15 °C sob banho de gelo, uma solução de ácido acético (20 %, 50,0 mL) foi adicionada à mistura reacional e agitou-se durante 1 h a 70 °C. O meio reacional foi resfriado a 15 °C e o sólido formado foi submetido à filtração simples, lavado com água destilada e seco à temperatura ambiente por 48 h. A figura 11 representa a reação geral para a obtenção dos curcuminoides.

Figura 11. Reação geral para a síntese dos curcuminoides pela metodologia de Pabon



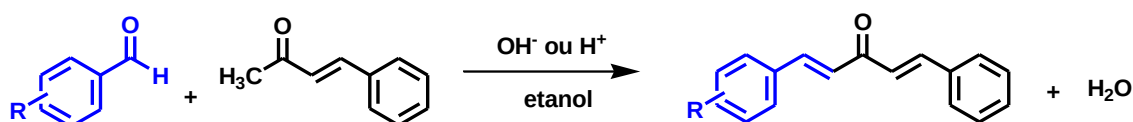
Condições: **a)** B_2O_3 , 15 min, 65 °C; **b)** $B(OC_4H_9)_3$, 15 min, 65 °C; **c)** aldeídos benzaldeídicos, 5 min, 65 °C; **d)** amilamina, 4 h, 95 °C; **e)** ácido acético, 1h, 70 °C.

3.3 Síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído

Os híbridos curcumina-cinamaldeído foram sintetizados por meio das reações de condensação aldólica entre derivados de aldeído benzoico e a benzalacetona. Os derivados de aldeído benzoico (5,0 mmol) foram solubilizados em etanol (10,0 mL) e então adicionados à solução de benzalacetona (690,0 mg, 5,3 mmol) em etanol (5,0 mL) e agitados por 30 min à temperatura ambiente. Adicionou-se ao meio reacional solução etanólica de hidróxido de sódio ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$, 5,0 mL) em pequenas alíquotas durante 4 h. Para os derivados benzaldeídicos que possuíam os substituintes $-NO_2$, $-OCH_3$ e $-OH$, utilizou-se a catálise ácida, adicionando quantidades catalíticas de H_2SO_4 ao meio reacional durante 4 h.

As reações foram mantidas sob agitação constante à temperatura ambiente e acompanhadas por meio de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) até ser constatada a conversão dos reagentes. Os meios reacionais foram vertidos em gelo triturado observando-se a formação de um precipitado, o qual foi mantido a 7 °C por 24 h. O precipitado foi submetido à filtração simples e seco à temperatura ambiente por 48 h. Os meios reacionais que não formaram precipitado foram submetidos à extração líquido-líquido com acetato de etila (3×, 20,0 mL) e água destilada como contra-fase. A fase orgânica foi seca à temperatura ambiente. A figura 12 representa a reação geral para a obtenção dos híbridos curcumina-cinamaldeído.

Figura 12. Reação geral de condensação aldólica para obtenção dos híbridos curcumina-cinamaldeído

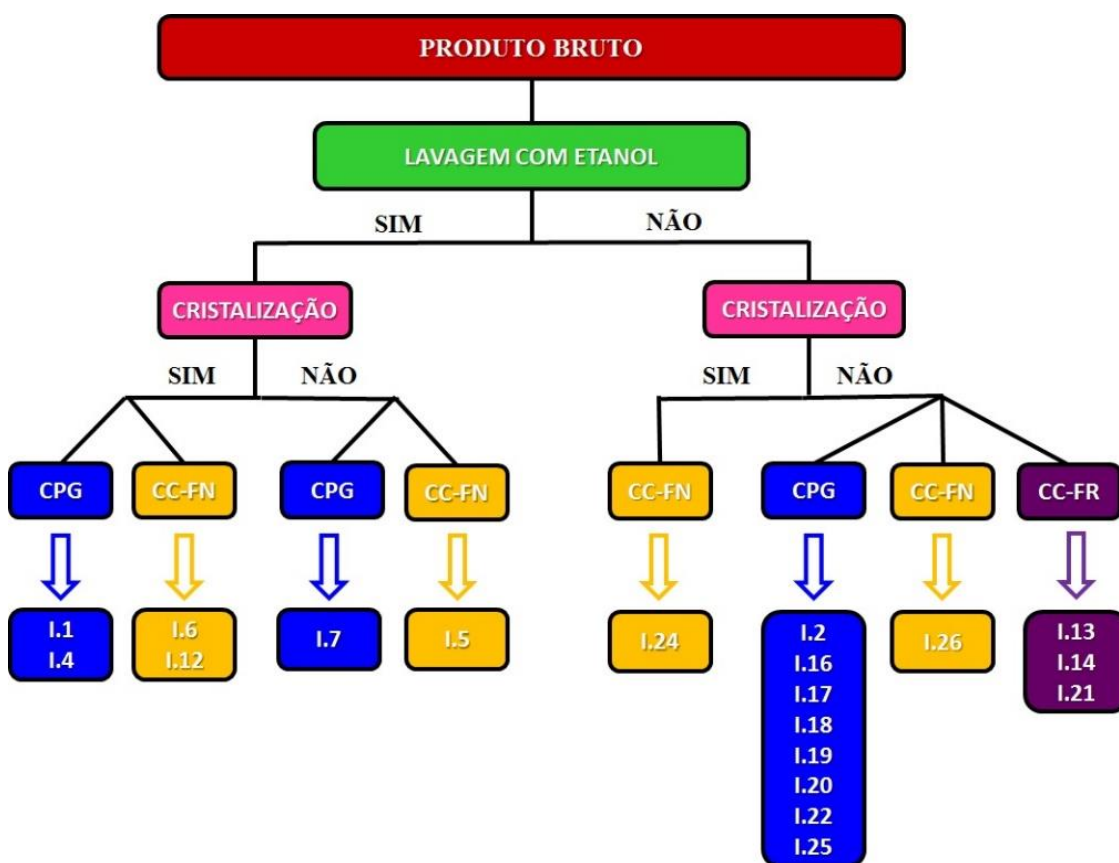


3.4 Purificação dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído

Para a purificação dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído foram utilizadas técnicas de lavagem com etanol à frio, cristalização e de Cromatografia em Coluna (CC), tais como; **(i)** Cromatografia de Permeação em Gel (CPG), empregando-se como fase estacionária LH-20 (Sephadex[®]) e etanol como fase móvel; **(ii)** Cromatografia em Coluna de Fase Normal (CC-FN), utilizando-se como fase estacionária gel de sílica com tamanho de partícula de 100 a 200 Mesh (Sigma-Aldrich[®]) e misturas de hexano e acetato de etila como fase móvel de acordo com os fatores de retardamento (R_f) obtidos para os analitos nas observações por CCDA e **(iii)** Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (CC-FR), empregando-se octadecilsilano (ODS – C₁₈) como fase estacionária e misturas de etanol e água como fase móvel, sob pressão reduzida de 25 mbar.

Os curcuminoides (**I.1**, **I.4–I.7** e **I.12**) foram primeiramente submetidos a lavagem com etanol à frio para retirada dos complexos de boro que estavam presentes no precipitado. Após a etapa de lavagem alguns curcuminoides foram submetidos à cristalização em etanol ou misturas de etanol e acetato de etila (**I.1**, **I.4**, **I.6** e **I.12**). Por fim, os curcuminoides (**I.1**, **I.2**, **I.4–I.7**, **I.12–I.14**, **I.16–I.26**) foram submetidos à técnicas de cromatografia em coluna. A figura 13 ilustra o processo de purificação para cada uma das substâncias da série I que apresentaram a formação de produto por meio de CCDA.

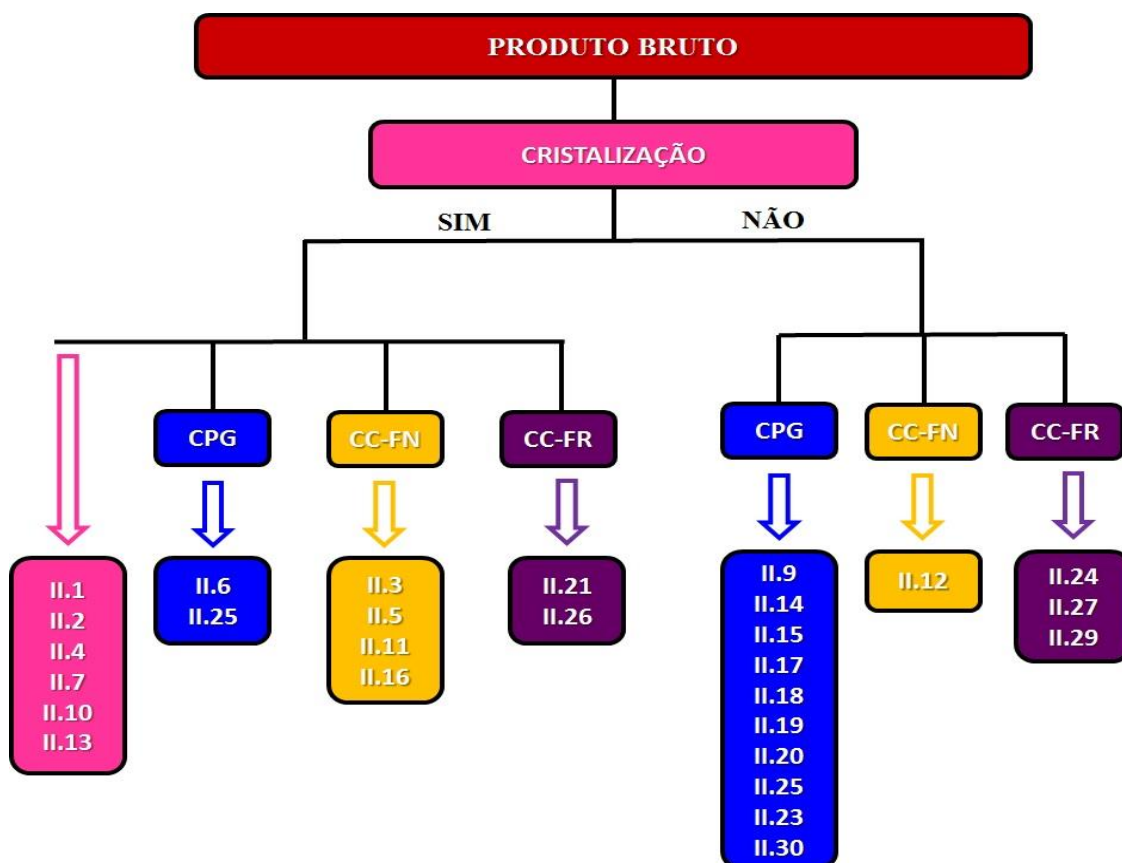
Figura 13. Fluxograma do processo de purificação para os curcuminoides que apresentaram formação de produto constatada por meio de CCDA



CPG: Cromatografia de Permeação em Gel (LH-20, etanol); **CC-FN:** Cromatografia em Coluna de Fase Normal (gel de sílica, hexano:acetato de etila); **CC-FR:** Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (octadecilsilano, água:etanol).

Os híbridos curcumina-cinamaldeído foram primeiramente submetidos à cristalização em etanol (II.1–II.7, II.10, II.11, II.13, II.16, II.21, II.25 e II.26). Diferentemente dos curcuminoides da série I, alguns híbridos foram purificados por apenas essa técnica. Posteriormente, as substâncias impuras foram submetidas à técnicas de cromatografia em coluna (II.3, II.5, II.6, II.9, II.11, II.12, II.14–II.27, II.29 e II.30). A figura 14 resumizou o processo de purificação para cada uma das substâncias da série II que apresentaram a formação de produtos por meio de CCDA.

Figura 14. Fluxograma do processo de purificação para os híbridos curcumina-cinamaldeído que apresentaram formação de produto constatada por meio de CCDA



CPG: Cromatografia de Permeação em Gel (LH-20, etanol); **CC-FN:** Cromatografia em Coluna de Fase Normal (gel de sílica, hexano:acetato de etila); **CC-FR:** Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (octadecilsilano, água:etanol).

3.5 Confirmação estrutural dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído

As estruturas moleculares dos curcuminoides e os híbridos curcumina-cinamaldeído foram confirmadas por meio de técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Carbono Treze (RMN de ^{13}C)

Os espectros de RMN foram obtidos no Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular – IBILCE/UNESP em Espectrômetro Bruker Avance III de 14,0 Tesla operando a 600 MHz para o núcleo de ^1H e a 150 MHz para o núcleo de ^{13}C , e de 9,4 Tesla, operando a 400 MHz para o núcleo de ^1H e a 100 MHz para o núcleo de ^{13}C . Os solventes utilizados para a solubilização das substâncias foram dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO-}d_6$) e clorofórmio deuterado (CDCl_3).

3.6 Ensaios de citotoxicidade dos curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído

Os ensaios citotóxicos foram realizados nas dependências do Laboratório de Micobacteriologia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP/Araraquara.

As linhagens celulares humanas HepG2 (ATCC HB-8065; hepatocarcinoma), MRC-5 (ATCC CCL-171; fibroblasto normal de pulmão), A549 (ATCC CCL-185; adenocarcinoma de pulmão) e DU-145 (ATCC HTB-81; carcinoma de próstata) foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (<http://bcrj.org.br/>). As linhagens HepG2, MRC-5 e DU-145 foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Sigma-Aldrich®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (v:v) (Vitrocell®), solução de antibiótico/antimicótico (Sigma-Aldrich®, 100 U de penicilina, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sulfato de estreptomicina e 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de anfotericina B) e sulfato de kanamicina (Sigma-Aldrich®, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A linhagem A549 foi cultivada da mesma forma, no entanto utilizou-se o meio Ham's F-12 (Nutrient Mixture F-12 Ham) (Sigma-Aldrich®). As culturas foram mantidas a 37 °C em atmosfera de 5 % de CO_2 .

A avaliação citotóxica foi realizada a partir do ensaio REMA, onde a resazurina (Sigma-Aldrich®), corante de cor azul não fluorescente foi reduzido por desidrogenases mitocondriais ao corante resofurina por células metabolicamente ativas ao corante resofurina, de cor rosa e fluorescente (Palomino et al., 2002).

Inicialmente, $2,5 \times 10^5$ células mL^{-1} foram semeadas em placas de 96 poços com volume de 100 μL por poço de meio de cultura e incubadas até a aderência das células (24 horas) a 37 °C. Em seguida, o meio foi removido e as células foram tratadas com as

substâncias em concentrações que variaram de 100 a 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com volume final de 100 μL por poço, durante um período de 24 h. As substâncias foram dissolvidas em DMSO (solução estoque na concentração de 10 mg mL^{-1}) e diluídas no meio de cultivo sem antibiótico para os testes. A máxima quantidade de DMSO utilizada nos ensaios foi de 1 %.

Após o tratamento, o meio foi removido e uma solução de 50 μL de resazurina (0,01 %, dissolvida em meio de cultura) foi adicionada e incubada a 37 °C por três horas.

Como controles foram utilizados: **(i)** branco (apenas meio de cultura, sem células); **(ii)** controle negativo (com células e sem tratamento); **(iii)** controle positivo (com células tratadas com a doxorrubicina na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$); **(iv)** controle de veículo (com células tratadas com DMSO 1 %). Foram realizados três experimentos independentes.

As placas foram lidas em leitor de fluorescência (Synergy H1, Biotek®) utilizando-se os comprimentos de onda de 530 nm (excitação) e 590 nm (emissão). A citotoxicidade de cada tratamento foi expressa pela porcentagem de células mortas, calculada em relação ao controle negativo, a partir da equação abaixo:

$$\% \text{ células mortas} = (\text{UF}_{\text{CN}} - \text{UF}_{\text{EN}} / \text{UF}_{\text{CN}}) \cdot 100$$

UF_{CN} : Unidade de fluorescência média do controle negativo

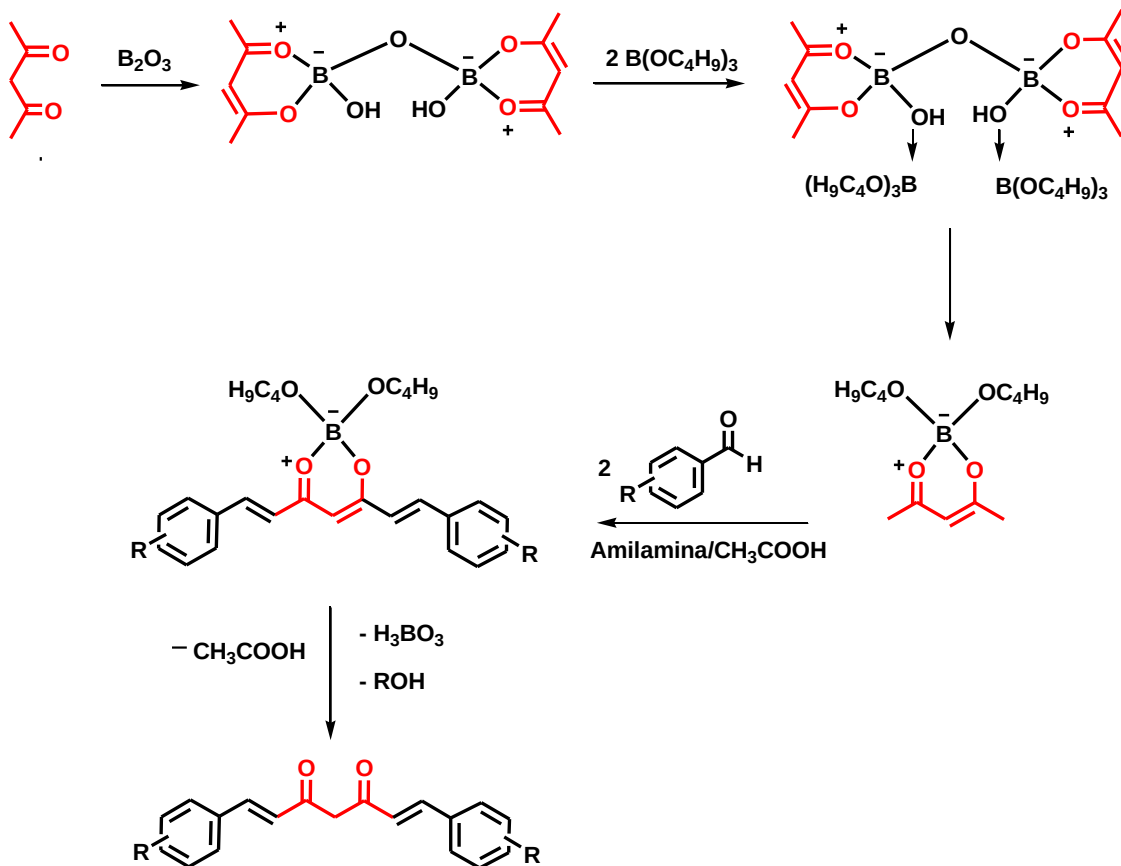
UF_{EN} : Unidade de fluorescência do ensaio com as substâncias

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Síntese e rendimentos dos curcuminoides

A metodologia de Pabon foi adotada para a síntese dos curcuminoides para evitar a formação de diversos subprodutos, incluindo aqueles gerados pela diferença de reatividade dos carbonos metílicos (α') e carbono metilênico (α) da acetilacetona (Reação de Knoevenagel) (Qiu et al., 2010). A principal etapa da reação consiste na esterificação da acetilacetona pelo anidrido bórico (B_2O_3) e borato de tributila [$B(OC_4H_9)_3$], para posterior condensação com os respectivos aldeídos benzoicos. A hidrólise do grupo éster foi realizada *in situ* com solução de ácido acético (Bratu, 2005; Robu et al., 2009). A figura 15 ilustra o mecanismo geral para a reação de condensação entre a acetilacetona e aldeídos benzoicos pela metodologia de Pabon (Pabon, 1964; Venkateswarlu, Ramachandra & Subbaraju, 2005).

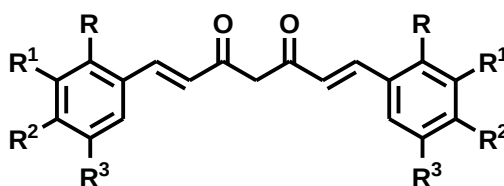
Figura 15. Mecanismo geral para a reação de obtenção dos curcuminoides pela metodologia de Pabon (Bratu, 2005; Robu et al., 2009).



A metodologia de Pabon mostrou-se eficiente para a síntese dos curcuminoides da **série I**, com exceção dos substituídos pelos grupos –CN, –NO₂ e polihidroxilados. Foram planejadas 32 substâncias, destas, observou-se à formação de produtos por CCDA para 23, sendo que para os curcuminoides **I.3**, **I.11**, **I.15** e **I.24**, apesar de constatada a formação de produtos por CCDA, a purificação foi ineficiente. As demais substâncias foram purificadas e suas estruturas confirmadas por meio de técnicas espectroscópicas.

Os curcuminoides foram obtidos com rendimentos entre 47 e 95 %, sendo que 72 % das substâncias foram sintetizadas com rendimentos superiores a 70 %. Dentre as substâncias planejadas, os curcuminoides **I.3**, **I.8**, **I.27**, **I.31** e **I.32** são inéditos na literatura, no entanto, não obteve-se sucesso na síntese dessas substâncias. A tabela 2 sumarizou as estruturas e os rendimentos dos procedimentos de síntese para os curcuminoides.

Tabela 2. Estruturas e rendimentos de síntese para os curcuminoides



I	R	R¹	R²	R³	Rend (%)	I	R	R¹	R²	R³	Rend (%)
1	H	H	H	H	61	17	OCH ₃	OCH ₃	H	H	94
2	H	H	F	H	92	18	OCH ₃	H	OCH ₃	H	91
3	H	Cl	H	H	b	19	OCH ₃	H	H	OCH ₃	81
4	H	H	Cl	H	95	20	H	OCH ₃	OCH ₃	H	95
5	H	Cl	Cl	H	83	21	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	83
6	H	H	Br	H	80	22	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	86
7	H	H	CF ₃	H	47	23	H	OCH ₃	OH	H	74
8	H	H	CN	H	a	24	OH	H	H	H	b
9	NO ₂	H	H	H	a	25	H	OH	H	H	79
10	H	NO ₂	H	H	a	26	H	H	OH	H	68
11	H	H	NO ₂	H	b	27	OH	OH	H	H	a
12	H	H	CH ₃	H	63	28	OH	H	OH	H	a
13	H	H	N(CH ₃) ₂	H	57	29	OH	H	H	OH	a
14	OCH ₃	H	H	H	89	30	H	OH	OH	H	a
15	H	OCH ₃	H	H	b	31	H	OH	H	OH	a
16	H	H	OCH ₃	H	87	32	OH	H	OH	OH	a

a) Não constatou a formação de produtos; **b)** Constatou a formação de produtos, porém a purificação foi ineficiente.

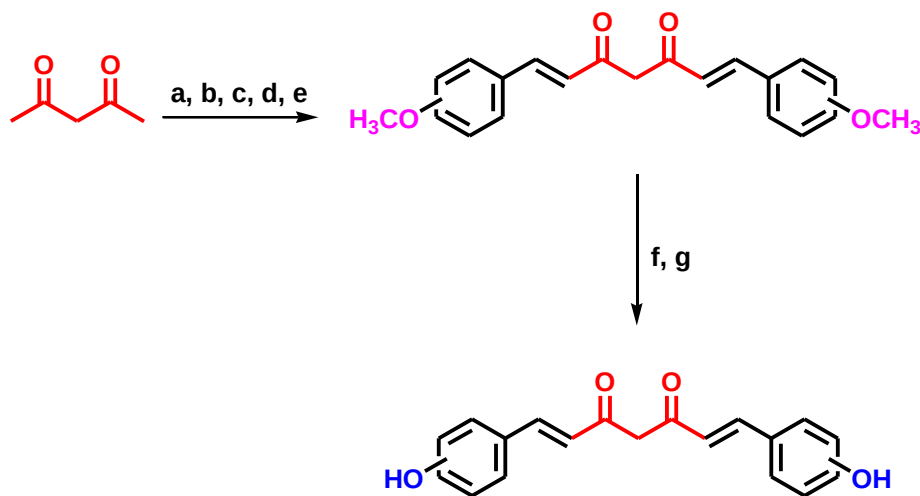
Para os curcuminoides contendo os grupos $-\text{CN}$ e $-\text{NO}_2$ a metodologia de Pabon não demonstrou eficiência, apesar de alguns trabalhos relataram a obtenção de análogos substituídos pelo grupo nitro pela metodologia de Pabon (Hahm et al., 2002; Park, Lee & Yang, 2005). Como o curcuminóide contendo o grupo nitrila (**I.8**) é inédito, não há relatos bibliográficos sobre metodologias para a sua obtenção.

Para o curcuminóide **I.11** ($4-\text{NO}_2$), além da metodologia adotada neste trabalho para os demais curcuminoides, foi realizada a tentativa de síntese por outras metodologias descritas na literatura. Na primeira, após a formação do complexo acetilacetona-anidrido bórico, este foi filtrado e lavado com hexano para a posterior adição do borato de tributila e do aldeído benzoico em acetato de etila. Quantidades catalíticas de amilamina foram adicionadas à mistura reacional e agitou-se a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Após esse período adicionou-se HCl 1 mol L^{-1} até pH 5 e agitou-se a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. O meio reacional foi vertido em gelo e o produto extraído por partição líquido-líquido com acetato de etila e água como contra-fase (Qiu et al., 2008). Na segunda metodologia, o procedimento experimental foi praticamente o mesmo adotado neste trabalho, com algumas alterações no tempo e temperatura de agitação, porém após a extração líquido-líquido, adicionou-se à fração orgânica 10,0 mL de metanol e manteve-se a $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Os cristais formados foram lavados com metanol à frio e seco a temperatura ambiente (Hahm et al., 2002). Observou a formação de produtos para as duas metodologias, entretanto, devido a presença de diversos subprodutos, a purificação foi ineficiente.

A dificuldade na preparação de nitrocurcuminoides pode estar relacionada à alta reatividade do grupo nitro, principalmente em reações paralelas. O grupo Ar-NO_2 pode sofrer redução, gerando as espécies $\text{Ar-NO}_2\text{H}$, Ar-N(OH)_2 , Ar-NO e Ar-NH_2 (Ono, 2003; Sharma, Kumari & Sharma, 2009)

Já para os curcuminoides **I.27–I.32**, a presença do grupo hidroxila dificulta a obtenção desses análogos. Alguns trabalhos relatam a síntese de curcuminoides polihidroxilados pela metodologia de Pabon, porém com rendimentos baixos ($\sim 10\%$) (Deng et al., 2006; Costi et al., 2007; Feng & Liu, 2009). No entanto, outros trabalhos utilizam métodos alternativos devido à influência dos grupos hidroxilas sobre os aldeídos de partida (Sagnou et al., 2012; Konno et al., 2014). Venkateswarlu e colaboradores relatam a obtenção de curcuminoides polihidroxilados por meio da reação de *O*-desmetilação de curcuminoides polimetoxilados, utilizando cloreto de alumínio como ácido de Lewis (figura 16) (Venkateswarlu, Ramachandra & Subbaraju, 2005).

Figura 16. Metodologia para a síntese dos curcuminoides polihidroxiados a partir de curcuminoides polimetoxilados (Venkateswarlu, Ramachandra & Subbaraju, 2005)



Condições: **a)** B_2O_3 , 65 °C; 15 min; **b)** $B(OC_4H_9)_3$, 65 °C, 15 min; **c)** Aldeído benzoico metoxilados, 65 °C, 5 min; **d)** 1,2,3,4-tetrahidroquinolina, 95 °C, 4 h; **e)** CH_3COOH , 70 °C, 1 h (DMF como solvente) **f)** $AlCl_3$, piridina, refluxo, 36 h; **g)** HCl , 10 °C (Dicloroetano como solvente)

4.2 Confirmação estrutural dos curcuminoides

Os curcuminoides foram caracterizados por meio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Carbono Treze (RMN de ^{13}C).

O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, $DMSO-d_6$) da substância **I.26** (figura 17) apresentou um singlete com δ_H 6,04 ppm referente aos hidrogênios metilênicos (H-4), confirmando que a reação de condensação ocorreu nos carbonos metílicos (α') ao invés do carbono metilênico (α). A presença de um par de dubletos com δ_H 6,70 ppm (H-2) e δ_H 7,55 ppm (H-1) com constantes de acoplamento de 16,2 Hz, confirmou a formação das duas ligações duplas, com geometria *trans*.

O espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, $DMSO-d_6$) (figura 18) apresentou oito sinais referentes a 13 carbonos, confirmando a estrutura de um difenileptanoide simétrico, destacando-se os sinais em δ_C 121,2, 140,8 e 183,7 ppm atribuídos aos carbonos C-2 ($C=C$), C-1 ($C=C$) e C-3 ($C=O$), respectivamente. Este conjunto de dados espectroscópicos permitiu confirmar a substância **I.26** como sendo o produto desejado.

O espectro de RMN de ^1H apresentou dubletos em δ_{H} 6,82 ppm (H-3' e H-5') e δ_{H} 7,57 ppm (H-2' e H-6') com constantes de acoplamentos de 8,7 Hz (*orto*), sugerindo uma unidade benzênica *para*-substituída. O singlete em δ_{H} 10,1 ppm foi atribuído aos hidrogênios das hidroxilas fenólicas (4-OH).

Os sinais de maior amplitude no espectro de RMN de ^{13}C em δ_{C} 116,3 e 130,8 ppm foram atribuídos aos pares de carbono (C-3'/C-5') e (C-2'/C-6'), respectivamente.

A partir dos dados espectroscópicos (figura 17 e 18) obtidos neste trabalho e pela comparação com os relatados por Sagnou e colaboradores foi possível concluir que a substância **I.26** pode ser caracterizada como (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona (Sagnou et al., 2012).

CURCUMINOIDE I.26 (Sagnou et al., 2012; Cao et al., 2014)

Sólido laranja - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Figura 17. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.26** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)

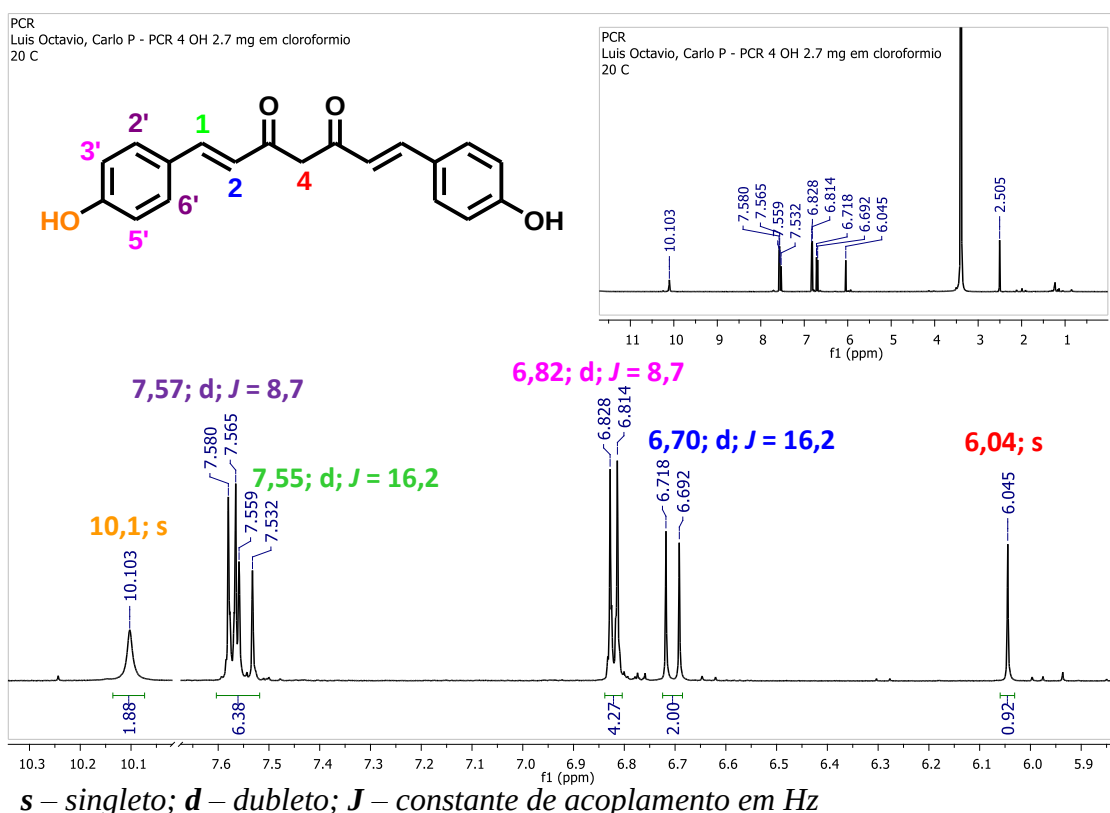
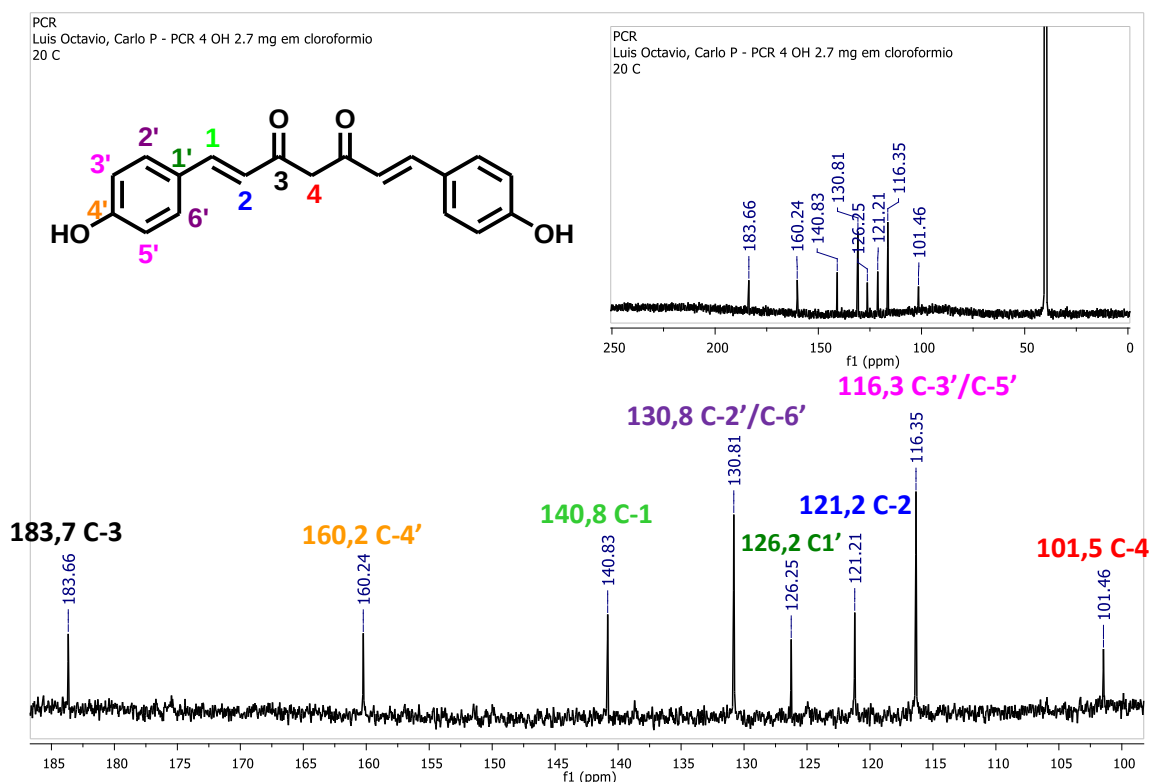


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.26** ($\text{DMSO}-d_6$; 150 MHz)



O espectro de RMN de ^1H (600 MHz; CDCl_3) da substância **I.1** (figura 19) apresentou perfil similar ao do curcuminóide **I.26** com singlete em δ_{H} 5,89 ppm (H-4), dois pares de dubleto em δ_{H} 6,67 ppm (H-2) e 7,70 ppm (H-1) com $J = 16,2$ Hz e um duplo dubleto δ_{H} 7,59 ppm (H-2' e H-6'). Os sinais referentes aos hidrogênios H-3', H-4' e H-5' coaleceram em δ_{H} 7,43 ppm, não sendo possível determinar, com clareza, a multiplicidade e suas constantes de acoplamentos.

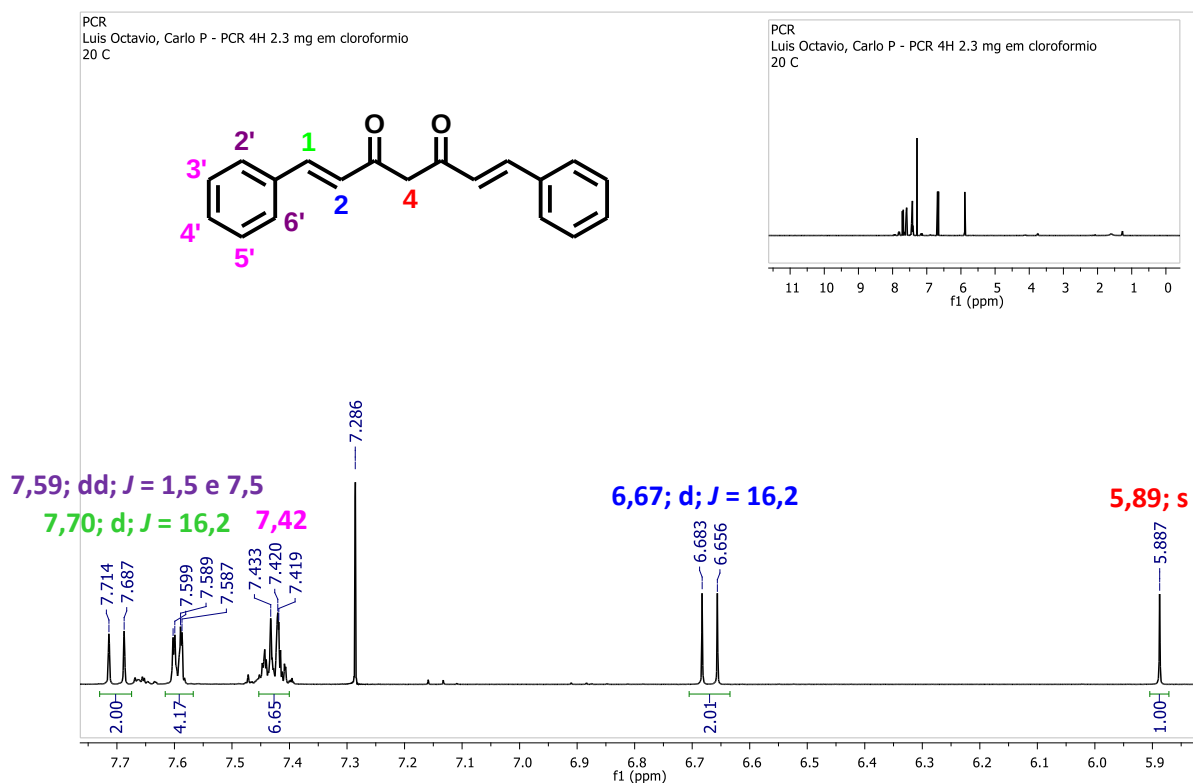
O espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) (figura 20) apresentou oito sinais referentes a 13 carbonos, confirmando a estrutura de um difenileptanoide simétrico, destacando-se os sinais em δ_{C} 101,9, 128,2 130,0 e 183,3 ppm atribuídos aos carbonos C-4 (CH_2), C-1 ($\text{C}=\text{C}$), C-2 ($\text{C}=\text{C}$) e C-3 ($\text{C}=\text{O}$), respectivamente.

Os dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C dos demais curcuminóides foram sumarizados nas tabelas 3 e 4, respectivamente. Estas tabelas contem os valores de deslocamento químico de hidrogênio e carbono, multiplicidades dos sinais e constantes de acoplamento.

CURCUMINOIDE I.1 (Khan et al., 2012; Konno et al., 2014)

Cristais amarelo - (1E,6E)-1,7-difenil-1,6-heptadieno-3,5-diona

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.1** (CDCl_3 ; 600 MHz)



s – singleto; *d* – dubleto; *dd* – duplo dubleto; *J* – constante de acoplamento em Hz

Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.1** (CDCl_3 ; 150 MHz)

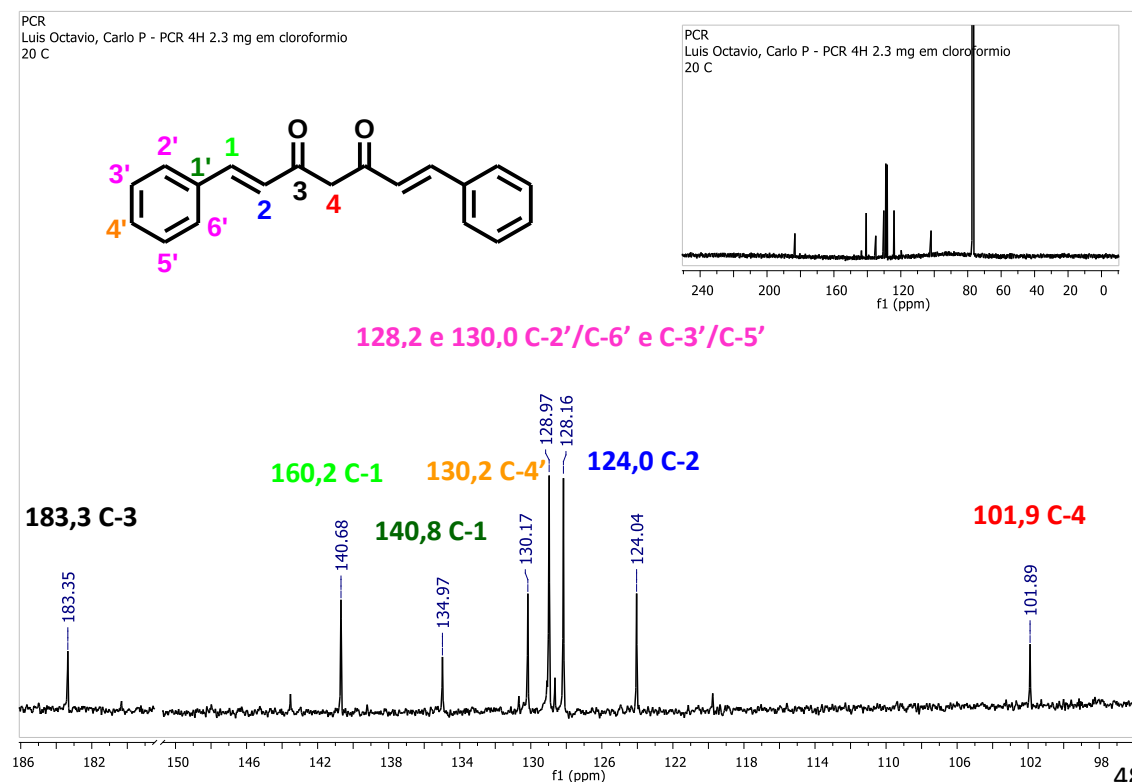
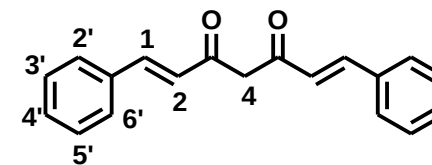


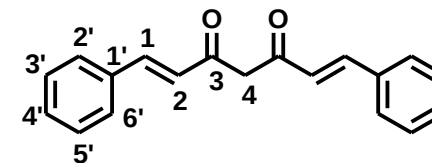
Tabela 3. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H para os curcuminoides: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (**m**) e constante de acoplamento em Hz (**J**) (anexo 1 a 28; p. 88 a 101)



I	H-1 $\delta_{\text{H-1}}$; m; <i>J</i>	H-2 $\delta_{\text{H-2}}$; m; <i>J</i>	H-4 $\delta_{\text{H-3}}$; m	H-2' $\delta_{\text{H-2'}}$; m; <i>J</i>	H-3' $\delta_{\text{H-3'}}$; m; <i>J</i>	H-4' $\delta_{\text{H-4'}}$; m; <i>J</i>	H-5' $\delta_{\text{H-5'}}$; m; <i>J</i>	H-6' $\delta_{\text{H-6'}}$; m; <i>J</i>	Substituinte δ_{H} ; m
1^A	7,70; d; 16,2	6,67; d; 16,2	5,89; s	7,59; dd; 1,5 e 7,5	7,42	7,42	7,42	7,59; dd; 1,5 e 7,5	-
2^B	7,65; d; 16,0	6,57; d; 16,0	5,84; s	7,57; 8,6	7,11; dd; 8,6 e 8,6	-	7,11; dd; 8,6 e 8,6	7,57; 8,6	4'-F
4^B	7,64; d; 15,6	6,62; d; 15,6	5,85; s	7,51; d; 8,2	7,39; d; 8,2	-	7,39; d; 8,2	7,51; d; 8,2	4'-Cl
5^B	7,58; d; 16,0	6,62; d; 16,0	5,85; s	7,67; d; 2,0	-	-	7,50; d; 8,4	7,89; dd; 2,0 e 8,4	3',4'-Cl
6^A	7,62; d; 15,6	6,63; d; 15,6	5,85; s	7,44; d; 8,4	7,55; d; 8,4	-	7,55; d; 8,4	7,44; d; 8,4	4'-Br
7^B	7,71; d; 16,0	6,73; d; 16,0	5,92; s	7,68	7,68	-	7,68	7,68	4'-CF₃
12^A	7,66; d; 15,6	6,61; d; 15,6	5,85; s	7,48; d; 7,8	7,23; d; 7,8	-	7,23; d; 7,8	7,48; d; 7,8	4'-CH₃ - 2,41; s
13^C	7,51; d; 15,6	6,61; d; 15,6	5,96; s	7,54; d; 9,0	6,74; d; 9,0	-	6,74; d; 9,0	7,54; d; 9,0	4'-N(CH₃)₂ - 3,00; s
14^B	8,01; d; 16,0	6,75; d; 16,0	5,90; s	-	6,98	7,37; ddd; 1,6, 7,8, 7,8	6,98	7,58; dd; 1,6 e 7,8	2'-OCH₃ - 3,93; s
16^A	7,62; d; 15,6	6,50; d; 15,6	5,78; s	7,51; d; 9,0	6,91; d; 9,0	-	6,91; d; 9,0	7,51; d; 9,0	4'-OCH₃ - 3,84; s
17^B	7,99; d; 16,0	6,72; d; 16,0	5,92; s	-	-	7,22; d; 8,0	7,10; d; 8,0 e 8,0	6,93; d; 8,0	2',3'-OCH₃ - 3,91; s
18^B	7,92; d; 16,0	6,65; d; 16,0	5,82; s	-	6,51	-	6,51	7,51; d; 8,4	2',4'-OCH₃ - 3,87 e 3,91; s
19^B	7,97; d; 16,0	6,71; d; 16,0	5,91; s	-	6,88; d; 9,0	6,93; dd; 2,8 e 9,0	-	7,11; d; 2,8	2',5'-OCH₃ - 3,88 e 3,83; s
20^B	7,63; d; 15,6	6,52; d; 15,6	5,85; s	7,10; d; 2,0	-	-	6,90; d; 8,4	7,17; d; 2,0 e 8,4	3',4'-OCH₃ - 3,95 e 3,96; s
21^B	7,96; d; 16,0	6,59; d; 16,0	5,88; s	-	6,53; s	-	-	7,08; s	2',4',5'-OCH₃ - 3,91 e 3,96; s
22^B	7,61; d; 16,0	6,55; d; 16,0	5,89; s	6,81; s	-	-	-	6,81; s	3',4',5'-OCH₃ - 3,92 e 3,93; s
23^B	7,61; d; 16,0	6,50; d; 16,0	5,82; s	7,07; d; 1,6	-	-	6,95; d; 8,3	7,14; dd; 1,6 e 8,3	3'-OCH₃ - 3,97; s e 4'-OH
25^C	7,56; d; 16,2	6,85; d; 16,2	6,23; s	7,07	-	6,84	7,25; dd; 7,5 e 7,8	7,16; d; 7,2	3'-OH - 9,70; s
26^C	7,55; d; 16,2	6,70; d; 16,2	6,04; s	7,57; d; 8,7	6,82; d; 8,7	-	6,82; d; 8,7	7,57; d; 8,7	4'-OH - 10,10; s

A) 600 MHz, CDCl_3 ; **B)** 400 MHz, CDCl_3 ; **C)** 600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **d** – dubleto; **dd** – duplo dubleto; **ddd** – duplo duplo dubleto; **s** - singlete

Tabela 4. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os curcuminoides: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade do sinal (**m**) e constante de acoplamento carbono-fluor, em Hz (J_{CF}) (anexo 1 a 28; p 88 a 101)



I	C-1 $\delta_{\text{C-1}}$	C-2 $\delta_{\text{C-2}}$	C-3 $\delta_{\text{C-3}}$	C-4 $\delta_{\text{C-4}}$	C-1' $\delta_{\text{C-1'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-2' $\delta_{\text{C-2'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-3' $\delta_{\text{C-3'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-4' $\delta_{\text{C-4'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-5' $\delta_{\text{C-5'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-6' $\delta_{\text{C-6'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	Substituinte δ_{C}
1^A	140,7	124,0	183,3	101,9	135,0	128,2 ou 129,0	128,2 ou 129,0	130,2	128,2 ou 129,0	128,2 ou 129,0	-
2^B	139,4	123,7	183,2	101,8	131,2; d; 2,0	130,0; d; 8,0	116,1; d; 22	163,8; d; 250	116,1; d; 22	130,0; d; 8,0	4'-F
4^B	139,3	124,5	183,0	102,1	133,4	129,2 ou 129,3	129,2 ou 129,3	136,0	129,2 ou 129,3	129,2 ou 129,3	4'-Cl
5^B	138,2	125,5	182,7	102,5	133,3	127,2, 129,5 ou 130,9	134,0 ou 134,9	134,0 ou 134,9	127,2, 129,5 ou 130,9	127,2, 129,5 ou 130,9	3',4'-Cl
6^A	139,4	124,5	183,1	102,2	133,8	129,5 ou 132,2	129,5 ou 132,2	142,2	129,5 ou 132,2	129,5 ou 132,2	4'-Br
7^B	139,1	125,9	182,9	102,5	131,3	128,2	126,1	138,3	126,1	128,2	4'-CF₃ - 125,2
12^A	140,6	123,1	183,4	101,7	128,7	128,1 ou 129,7	128,1 ou 129,7	132,3	128,1 ou 129,7	128,1 ou 129,7	4'-CH₃ - 21,5
13^C	141,0	122,6	183,4	101,0	119,0	130,5	112,3	152,1	112,3	130,5	4'-N(CH₃)₂ - 40,3
16^A	140,1	121,8	183,3	101,4	127,8	129,8	114,4	161,3	114,4	129,8	4'-OCH₃ - 55,4
17^B	135,2	129,2	183,6	101,6	119,2	148,6 ou 153,2	148,6 ou 153,2	113,8	125,6	124,2	2',3'-OCH₃ - 55,9 e 61,4
18^B	135,5	122,5	183,8	101,1	117,4	159,9 ou 162,6	98,4	159,9 ou 162,6	105,4	130,1	2',4'-OCH₃ - 55,5
19^B	135,5	125,0	183,7	101,5	124,6	152,9 ou 153,5	116,9	113,1	152,9 ou 153,5	112,5	2',5'-OCH₃ - 55,8 e 56,1
20^B	140,4	122,6	183,3	101,3	128,1	109,8 ou 111,1	149,2 ou 151,1	149,2 ou 151,1	109,8 ou 111,1	122,0	3',4'-OCH₃ - 55,9 e 56,0
21^B	135,1	122,3	183,7	100,9	110,8	143,3, 152,0 ou 154,0	96,9	143,3, 152,0 ou 154,0	143,3, 152,0 ou 154,0	115,8	2',4',5'-OCH₃ - 56,1, 56,4 e 56,5
22^B	140,6	123,4	183,1	101,5	130,5	105,3	153,5	140,1	153,5	105,3	3',4',5'-OCH₃ - 56,2 e 61,0
23^B	140,6	122,9	183,3	101,2	127,7	109,6	146,8 ou 147,8	146,8 ou 147,8	114,8	121,8	3'-OCH₃ - 56,0 e 4'-OH
25^C	141,1	124,6	183,7	102,3	136,4	115,0	158,2	118,0	130,5	119,9	3'-OH
26^C	140,8	121,2	183,7	101,5	126,2	130,8	116,3	160,2	116,3	130,8	4'-OH

A) 150 MHz, CDCl_3 ; **B)** 100 MHz, CDCl_3 ; **C)** 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **d** – duplete

4.3 Avaliação citotóxica dos curcuminoides

A citotoxicidade dos curcuminoides foi avaliada contra as linhagens celulares humanas de carcinoma de próstata (DU-145), hepatocarcinoma (HepG2), adenocarcinoma de pulmão (A549) e fibroblasto normal de pulmão (MRC-5). O índice de seletividade (IS) foi determinado pela razão entre os valores da IC_{50} nas linhagens pulmonares normal e tumoral ($IS = IC_{50 \text{ MRC-5}} / IC_{50 \text{ A549}}$). O IS é um parâmetro que expressa a seletividade de uma substância entre a linhagem tumoral e a normal, demonstrando a segurança de um agente citotóxico para ensaios pré-clínicos. Segundo Bézivin e colaboradores, somente compostos que apresentarem valores de IS iguais ou superiores a 3,0 possuem potencial para ensaios em animais (Bézivin et al, 2003). A tabela 5 sumarizou os valores de IC_{50} para as substâncias nas linhagens avaliadas e o IS entre as linhagens pulmonares.

Tabela 5. Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) dos curcuminoides e IS entre as linhagens pulmonares

Série I	Substituintes	DU-145	HepG2	A549	MRC-5	$IS_{\text{MRC-5/A549}}$
I.1	-	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.2	4-F	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.4	4-Cl	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.5	3,4-Cl	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.6	4-Br	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.7	4-CF ₃	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.12	4-CH ₃	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.13	4-N(CH ₃) ₂	247,6 ± 21,7	> 360	> 360	> 360	-
I.14	2-OCH ₃	187,0 ± 23,9	203,0 ± 18,2	159,7 ± 14,8	196,4 ± 4,8	1,2
I.16	4-OCH ₃	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.17	2,3-OCH ₃	104,3 ± 10,6	106,5 ± 1,1	79,0 ± 9,1	114,7 ± 16,4	1,4
I.18	2,4-OCH ₃	> 360	> 360	> 360	> 360	-
I.19	2,5-OCH ₃	> 360	> 360	136,4 ± 14,7	> 360	-
I.20	3,4-OCH ₃	39,0 ± 5,5	58,7 ± 1,5	55,3 ± 2,1	131,5 ± 14,5	2,4
I.21	2,4,5-OCH ₃	85,6 ± 2,9	> 360	> 360	> 360	-
I.22	3,4,5-OCH ₃	68,7 ± 10,9	140,3 ± 11,2	46,7 ± 5,9	42,2 ± 4,5	0,9
I.25	3-OH	28,6 ± 3,1	31,1 ± 4,9	31,9 ± 2,4	34,3 ± 3,4	1,1
I.26	4-OH	151,9 ± 13,8	151,3 ± 16,0	125,1 ± 11,3	78,3 ± 15,2	0,6
curcumina	3-OCH ₃ ,4-OH	47,1 ± 7,3	46,0 ± 7,4	87,7 ± 9,1	42,0 ± 0,68	0,5
doxorrubicina		0,5 ± 0,02	1,0 ± 0,08	1,8 ± 0,15	0,7 ± 0,04	0,4

O curcuminoide **I.25** (3-OH) apresentou a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens, com valores de IC_{50} variando de 28,6 a 34,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Quando comparado à substância **I.26** (4-OH), a qual exibiu valores de IC_{50} entre 78,3 a 151,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$, o curcuminoide **I.25** demonstrou potência citotóxica até cinco vezes superior ao seu regioisômero. Esses resultados sugerem que não apenas a presença das hidroxilas nos anéis aromáticos é importante para a indução de citotoxicidade, mas também a posição, visto o incremento na citotoxicidade que resultou a permutação da hidroxila nos anéis aromáticos.

A substância **I.25**, quando comparada à curcumina, demonstrou maior potência contra as quatro linhagens, destacando a ação contra a linhagem A549 (IC_{50} $31,9 \pm 2,4$ $\mu\text{mol L}^{-1}$), a qual exibiu potência três vezes superior ao protótipo natural (IC_{50} $87,7 \pm 9,1$ $\mu\text{mol L}^{-1}$). Em relação à doxorubicina, **I.25** exibiu potência inferior contra as quatro linhagens, variando de 17 a 57 vezes menos potente. No entanto, **I.25** apresentou valor de IS 1,1, superior a doxorubicina (IS 0,4), indicando maior segurança que o antineoplásico de referência.

Este trabalho foi o primeiro a descrever a ação citotóxica do análogo **I.25** contra as linhagens DU-145, A549 e MRC-5, uma vez que a toxicidade dessa substância foi apenas relatada em uma patente devido a sua ação mais potente que a curcumina (**I.25** – IC_{50} 15,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$; curcumina – IC_{50} 52,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) contra células HepG2 (Liu, Yang & Guo, 2015).

Os curcuminoides metoxilados **I.14**, **I.17**, **I.20** e **I.22** exibiram citotoxicidade contra todas as linhagens avaliadas, com valores IC_{50} variando entre 39,0 a 203,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, destacando-se os compostos **I.20** (3,4-diOCH₃) e **I.22** (3,4,5-triOCH₃), os quais demonstraram as maiores potências citotóxicas dentre as substâncias metoxiladas. Além disso, o curcuminoide **I.20** apresentou o maior valor no índice de seletividade (IS 2,4) dentre todas as substâncias analisadas, enquanto a curcumina exibiu IS 0,5. Esse resultado indica que a permutação da hidroxila por uma metoxila na posição 4' do anel aromático, similarmente à curcumina, conferiu ao análogo **I.20** maior seletividade em relação ao seu protótipo natural.

O potencial citotóxico do análogo **I.20** foi relatado na literatura contra várias linhagens celulares, como MCF-7 (Kunwar et al., 2012), L929 (John & Krishnankutty, 2005), PC-3 e DU-145 (Ohtsu et al., 2002). Kunwar e colaboradores descreveram os fatores responsáveis pela indução de morte em células de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7) pelo curcuminoide **I.20**, como a geração de ROS, redução no nível de

glutathiona, danos genético e disfunção mitocondrial. Além disso, **I.20** levou as células MCF-7 à apoptose devido à alterações nas expressões das proteínas p53, p21, CDK4, Bax e Bcl-2 (Kunwar et al., 2012).

Os análogos **I.21** (2,4,5-triOCH₃) e **I.19** (2,5-diOCH₃) exibiram ação contra as linhagens DU-145 (IC₅₀ 85,6 ± 2,9 µmol L⁻¹) e A549 (IC₅₀ 136,4 ± 14,7 µmol L⁻¹), respectivamente. As substâncias **I.16** (4-OCH₃) e **I.18** (2,4-diOCH₃) não foram citotóxicos contra nenhuma linhagem. Esse dado indicou que a ação dos análogos metoxilados pode estar ligada ao número e posição dos substituintes nos anéis aromáticos.

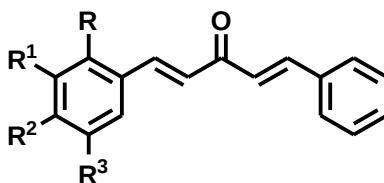
Os curcuminoides, **I.1**, **I.2**, **I.4–I.7** e **I.12** não foram citotóxicos para nenhuma linhagem mesmo na concentração máxima (360 µmol L⁻¹), com exceção do análogo **I.13** (4-N(CH₃)₂) que apresentou citotoxicidade contra a linhagem DU-145 (247,6 ± 21,7 µmol L⁻¹). A ausência de substituição (**I.1**), substituição por halogênios (**I.2**, **I.4–I.7**) ou por metila (**I.12**) resultou em curcuminoides biologicamente inativos.

4.4 Síntese e rendimentos dos híbridos curcumina-cinamaldeído

Para a obtenção das 32 substâncias planejadas para a **série II**, utilizou reações de condensação aldólica. Esta mostrou-se eficaz para a preparação dos híbridos moleculares, exceto para os híbridos substituídos por grupos fortemente aceptores de elétrons (–CN e –NO₂), polimetoxilados e polihidroxilados. Apesar da ineficácia da reação de condensação aldólica para esses substituintes, alguns compostos foram sintetizados, incluindo **II.10** (3-NO₂), **II.21** (2,4,5-triOCH₃) e **II.30** (3,4-diOH). Dessas 32 substâncias, observou a formação de produtos para 26, sendo que dez, apesar de observada a formação dos produtos por CCDA, não foi possível obtê-las puras (**II.9**, **II.11**, **II.14**, **II.15**, **II.17–II.20**, **II.22** e **II.24**), as dezesseis restantes foram purificadas e suas estruturas confirmadas por meio de técnicas espectroscópicas.

Os híbridos curcumina-cinamaldeído obtidos apresentaram rendimentos entre 40 e 98 %, sendo que 63 % exibiram rendimentos maiores que 70 %. Dentre os 32 híbridos, nove ainda não foram relatados na literatura (**II.14**, **II.19**, **II.21**, **II.27–II.32**), contudo conseguiu obter o produto apenas para os híbridos **II.21** e **II.30**. A tabela 6 sumarizou as estruturas e os rendimentos da síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído.

Tabela 6. Estruturas e rendimentos para os híbridos curcumina-cinamaldeído

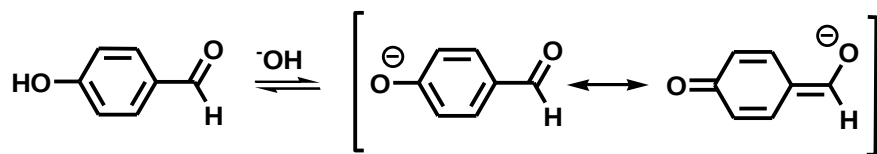


II	R	R ¹	R ²	R ³	Rend (%)	II	R	R ¹	R ²	R ³	Rend (%)
1	H	H	H	H	72	17	OCH ₃	OCH ₃	H	H	b
2	H	H	F	H	89	18	OCH ₃	H	OCH ₃	H	b
3	H	Cl	H	H	74	19	OCH ₃	H	H	OCH ₃	b
4	H	H	Cl	H	98	20	H	OCH ₃	OCH ₃	H	b
5	H	Cl	Cl	H	90	21	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	94
6	H	H	Br	H	71	22	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	b
7	H	H	CF ₃	H	96	23	H	OCH ₃	OH	H	43
8	H	H	CN	H	a	24	OH	H	H	H	b
9	NO ₂	H	H	H	b	25	H	OH	H	H	49
10	H	NO ₂	H	H	55	26	H	H	OH	H	40
11	H	H	NO ₂	H	b	27	OH	OH	H	H	a
12	H	H	CH ₃	H	53	28	OH	H	OH	H	a
13	H	H	N(CH ₃) ₂	H	86	29	OH	H	H	OH	a
14	OCH ₃	H	H	H	b	30	H	OH	OH	H	95
15	H	OCH ₃	H	H	b	31	H	OH	H	OH	a
16	H	H	OCH ₃	H	59	32	OH	H	OH	OH	a

a) Não constatou a formação de produtos; b) Constatou a formação de produtos, porém a purificação foi ineficiente.

A reação de condensação aldólica utilizada para a preparação dos híbridos hidroxilados, tanto sob catálise ácida ou básica, foi ineficiente a partir de seus respectivos hidroxibenzaldeídos e benzalacetona. Em meio básico, os grupos hidroxilas dos hidroxibenzaldeídos encontram-se majoritariamente desprotonados, o que facilita a deslocalização dos elétrons não-ligantes *n* do oxigênio com o anel benzênico (figura 21). Consequentemente, a intensificação do efeito mesomérico culmina na diminuição da reatividade dos benzaldeídos *orto*- e *para*-hidroxilados, nos quais a ressonância se estende dos elétrons *n* até o oxigênio carbonílico, diminuindo a eletrofilicidade do carbono aldoxílico (Patil, Mahajan & Katti, 2010).

Figura 21. Deslocalização eletrônica para *para*-hidroxibenzaldeído em meio alcalino



O aumento da deslocalização eletrônica oriundo da ionização do grupo hidroxila é minimizado em meio ácido. Entretanto, esse fato conduz a reações mais lentas, exigindo altas temperaturas como contra-partida, resultando em reações colaterais e inúmeros subprodutos, e subsequentemente a rendimentos baixos (Patil, Mahajan & Katti, 2010). A redução na reatividade em meio ácido deve-se ao favorecimento na formação do enol, o qual é um nucleófilo mais fraco do que o íon enolato, favorecido em condições alcalinas, tornando a etapa de adição nucleofílica ao carbono aldoxílico mais lenta (Martins, 2009).

As figuras 22 e 23 ilustram os mecanismos da reação de condensação aldólica para a síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído sob catálise básica e ácida, respectivamente.

Figura 22. Mecanismo da reação de condensação aldólica para a síntese dos híbridos curcumina-cinamaldeído sob catálise básica

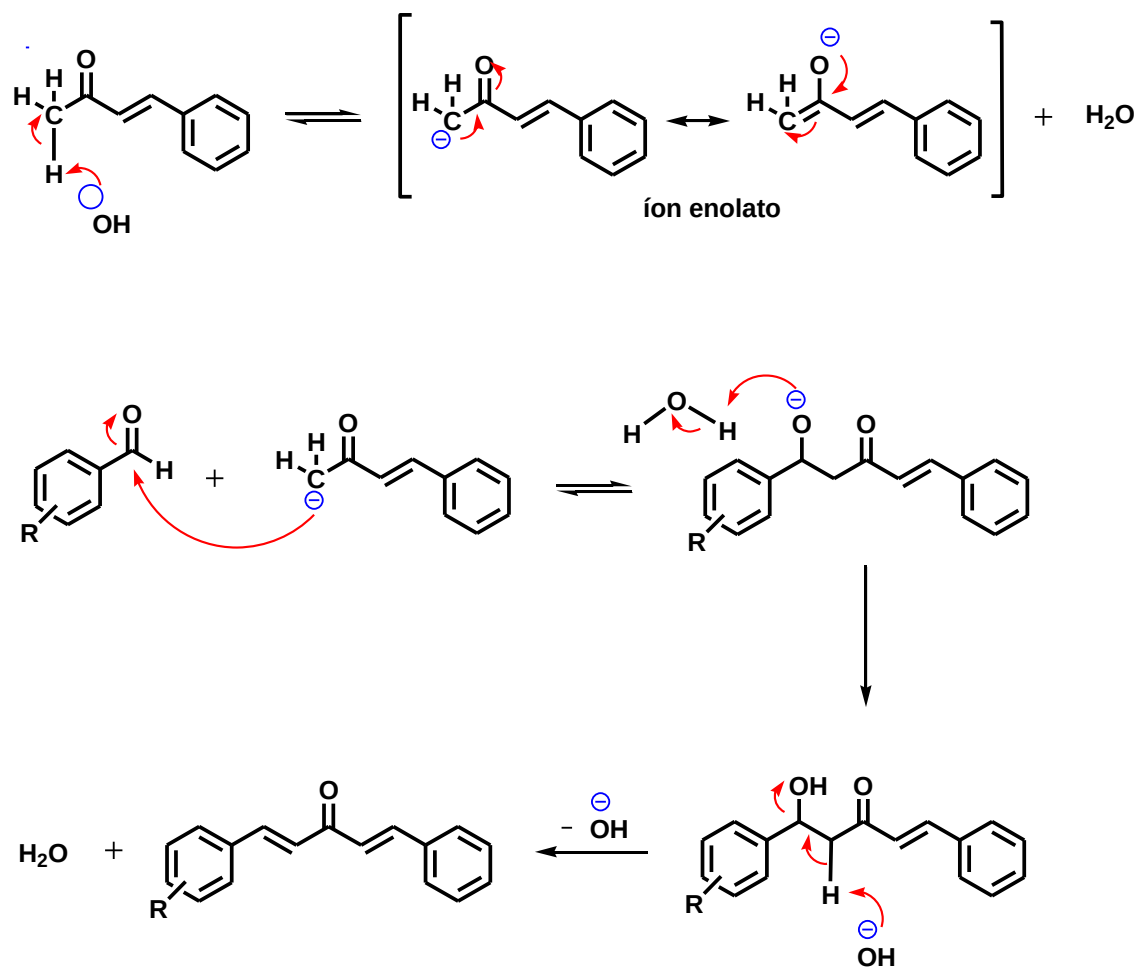
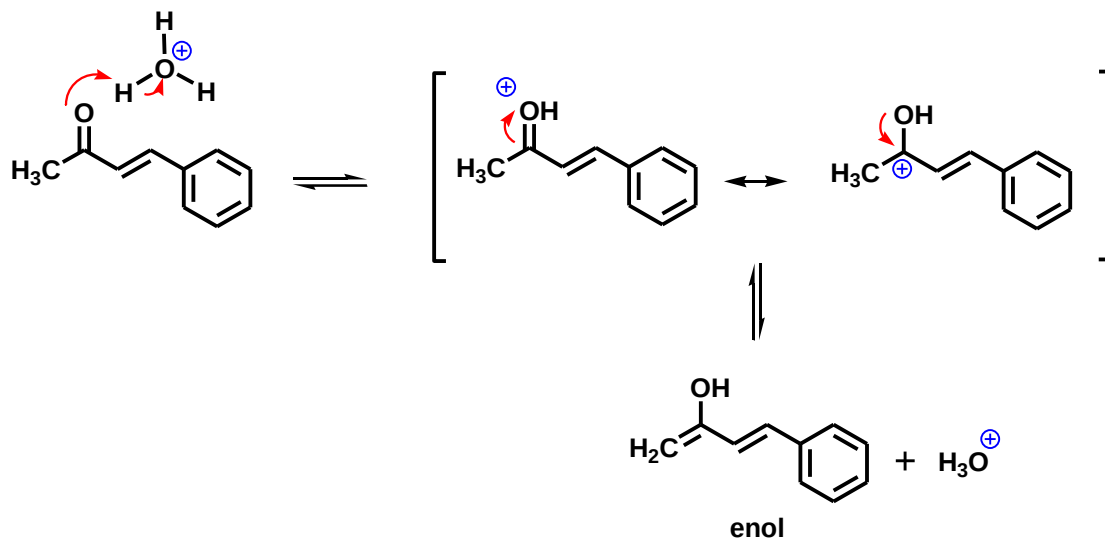
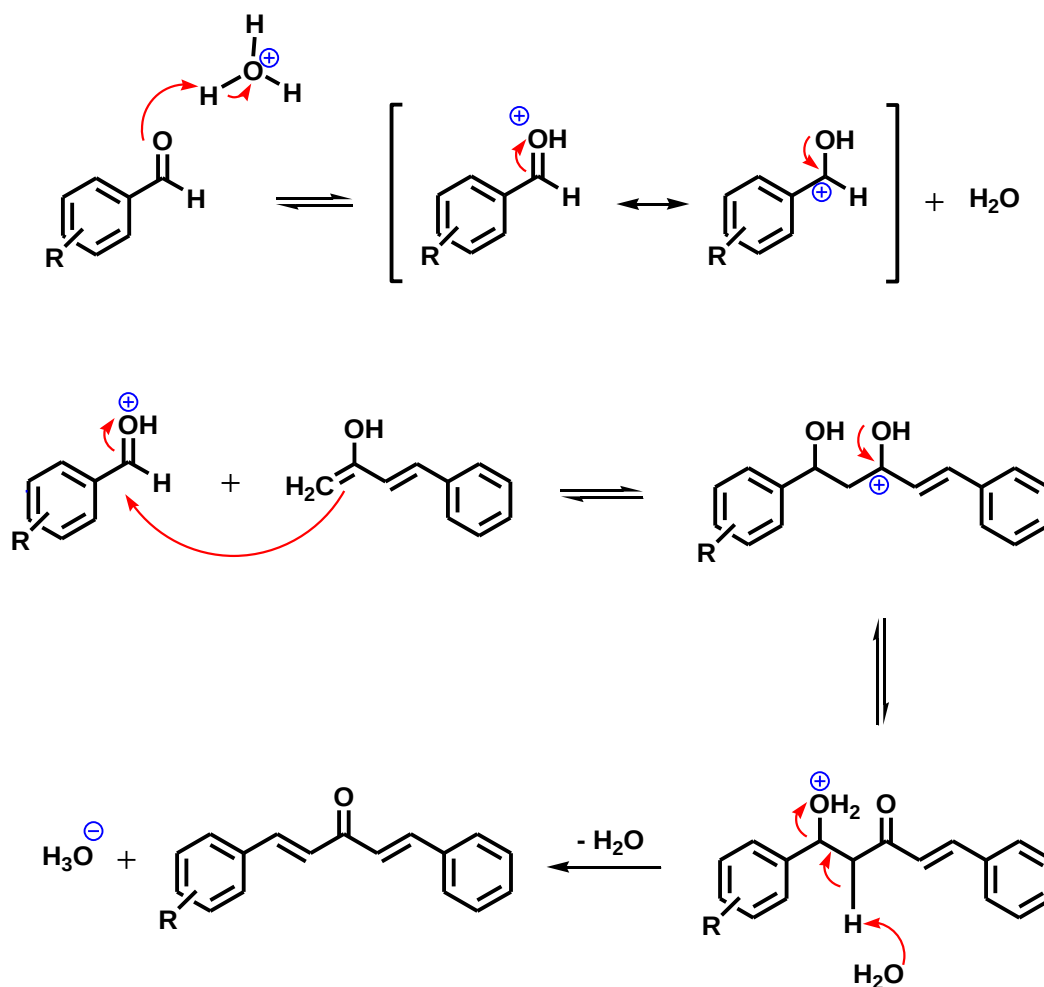


Figura 23. Mecanismo da reação de condensação aldólica para a obtenção dos híbridos curcumina-cinamaldeído sob catálise ácida

Protonação da benzalacetona e formação do nucleófilo enol

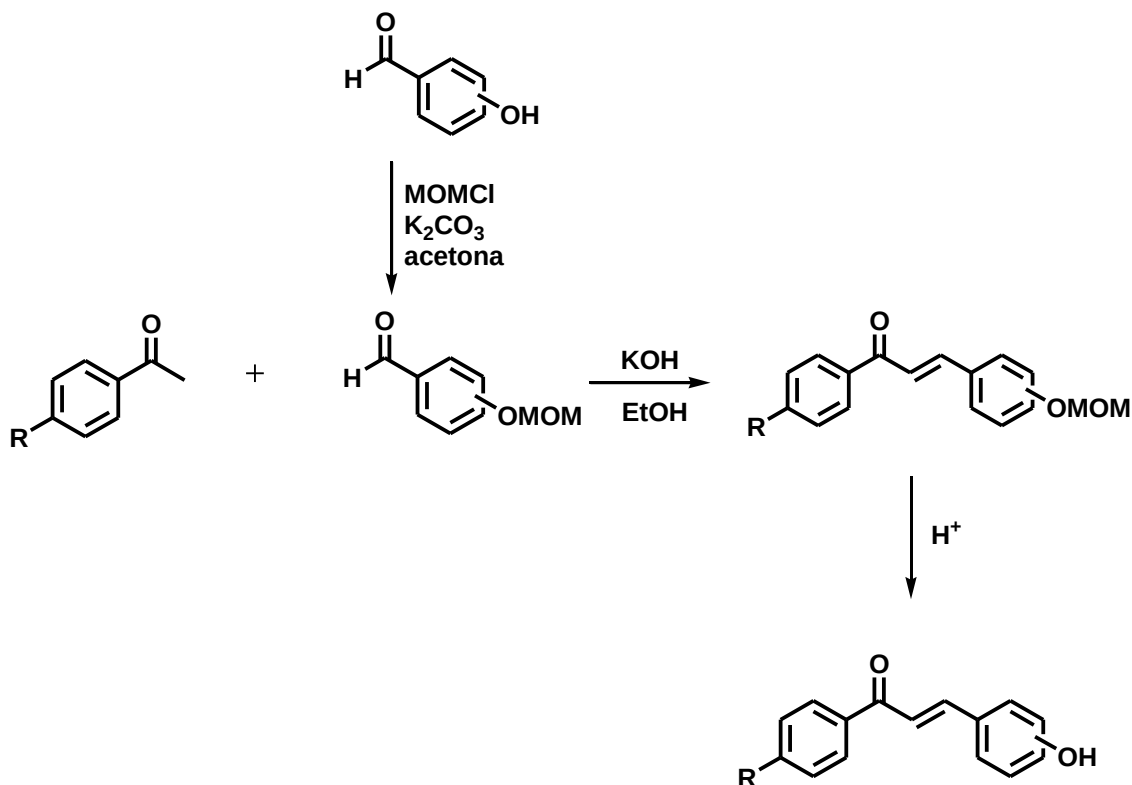


Protonação do aldeído benzóico



Para as sínteses de substâncias hidroxiladas por meio da reação de condensação aldólica alguns trabalhos fazem o uso de grupos protetores. Kim e colaboradores relatam a obtenção derivados chalcônicos dihidroxilados (difetilpropanoides – C₆C₃C₆) pela reação de condensação aldólica com hidroxibenzaldeídos protegidos pelo grupo MOM (metoximetila; CH₃OCH₂-) (figura 24). Os hidroxibenzaldeídos protegidos são facilmente preparados com o cloreto de metoximetila (CH₃OCH₂Cl - MOMCl) sob condições alcalinas (K₂CO₃/acetona) e sua desproteção é realizada *in situ* após a constatação da conversão dos reagentes em produtos por hidrólise ácida (Kim et al., 2008).

Figura 24. Reação geral para a obtenção de difetilpropanoides polihidroxilados protegidos pelo grupo MOM (Kim et al., 2008)

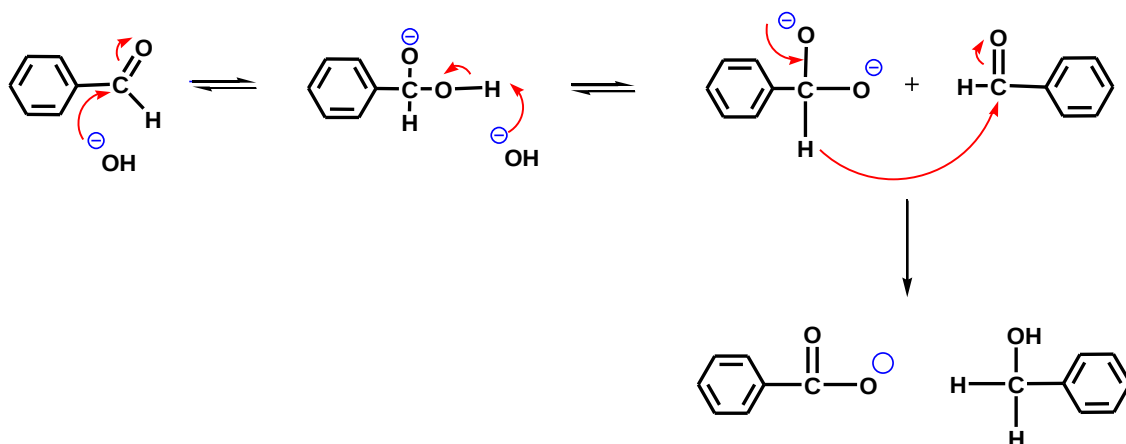


Os híbridos curcumina-cinamaldeído metoxilados (**II.14–II.22**) foram sintetizados tanto sob catálise básica e ácida. No entanto, devido a presença de inúmeros subprodutos, o processo de purificação para esses difenilpentanoides foi ineficiente, exceto para os híbridos **II.16** e **II.21**.

A observação de inúmeros subprodutos utilizando catálise básica pode estar correlacionado à reação de dismutação benzaldeídos em meio básico (pH > 11), levando à formação de quantidades equimolares de álcoois benzílicos (produto reduzido) e sais de ácidos benzoicos (produto oxidado). Essa reação é conhecida como Reação de Cannizzaro (Ruiz-Sanchez et al., 2008), e ocorre devido à ausência do hidrogênio alfa-carbonila, pois na presença ocorreria reação de condensação aldólica. A dismutação dos aldeídos benzoicos em pH elevado conduz a formação de subprodutos envolvendo, simultaneamente, reações com os álcoois benzílicos e sais de ácido benzoico. Essa gama de produtos resultam na dificuldade no processo de purificação e rendimentos baixos.

A figura 25 ilustrou o mecanismo da reação de dismutação de Cannizzaro para o benzaldeído, o qual envolve uma transferência de hidreto. O primeiro passo da reação é adição nucleofílica da base ao carbono aldoxílico. O alcóxido resultante é desprotonado para dar um ânion divalente, conhecido como o intermediário de Cannizzaro. A estabilização deste intermediário requer um ambiente fortemente alcalino (pH > 11). Os álcoois são formados como produtos da redução e sais de ácido carboxílico no resultado da oxidação.

Figura 25. Mecanismo para a reação dismutação de Cannizzaro para o benzaldeído



Os híbridos curcumina-cinamaldeído substituídos pelo grupo nitro (**II.9–II.11**) foram previamente preparados sob catálise básica. Somente para a preparação dos nitrocompostos **II.10** (3-NO₂) e **II.11** (4-NO₂) observou a formação de produtos via CCDA. Apenas a purificação da substância **II.10** foi eficiente. A preparação dos híbridos **II.9** (2-NO₂) e **II.11**, sob catálise ácida não conduziu a formação de produto.

Como já citado no item **4.1**, o grupo nitro ligado a sistemas aromáticos sofre várias reações paralelas, levando à geração de espécies reduzidas. Alguns trabalhos ainda relatam a conversão do Ar-NO₂ em Ar-NH₂ na presença de bases fortes, por meio da reação de dismutação Cannizzaro-like, gerando o ânion nitrobenzoato correspondente (Wan & Xu, 1989; Cruz, 2013).

4.5 Confirmação estrutural dos híbridos curcumina-cinamaldeído

Os híbridos curcumina-cinamaldeído foram caracterizados por meio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹H) e Carbono Treze (RMN de ¹³C).

O espectro de RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) do híbrido **II.6** (figura 26) apresentou dois pares de dubletos com δ_H 7,09 e 7,69 ppm (H-4 e H-5, respectivamente), com constante de acoplamento de 15,6 Hz, e δ_H 7,10 e 7,77 ppm (H-2 e H-1, respectivamente) com constantes de acoplamento de 16,2 Hz, evidenciando a presença de duas duplas ligações com a configuração *trans* (*E*).

O espectro de RMN de ¹³C (150 MHz, CDCl₃) do híbrido **II.6** (figura 27) apresentou treze sinais referentes a dezessete carbonos, confirmando a assimetria molecular, destacando-se os sinais em δ_C 141,9, 143,7 e 188,7 atribuídos aos carbonos C-5 (C=C), C-1 (C=C) e C-3 (C=O), respectivamente. O conjunto de dados espectroscópicos permitiu caracterizar a substância **II.6** como sendo o produto oriundo da reação de condensação aldólica entre a benzalacetona e o 4-bromobenzaldeído.

O espectro de RMN de ¹H apresentou dubletos em δ_H 7,51 (H-2'/H-6') e δ_H 7,57 (H-3'/H-5') com constantes de acoplamentos de 8,4 Hz (*orto*), sugerindo uma unidade fenila *para*-substituída.

Os sinais de maior amplitude no espectro de RMN de ¹³C em δ_C 128,5, 129,0, 129,8 e 132,2 indicam os quatro pares de carbonos *sp*² (C-2''/C-6'', C-3''/C-5'', C-2'/C-6', C-3'/C-5'), confirmando a assimetria do difenilpentanoide.

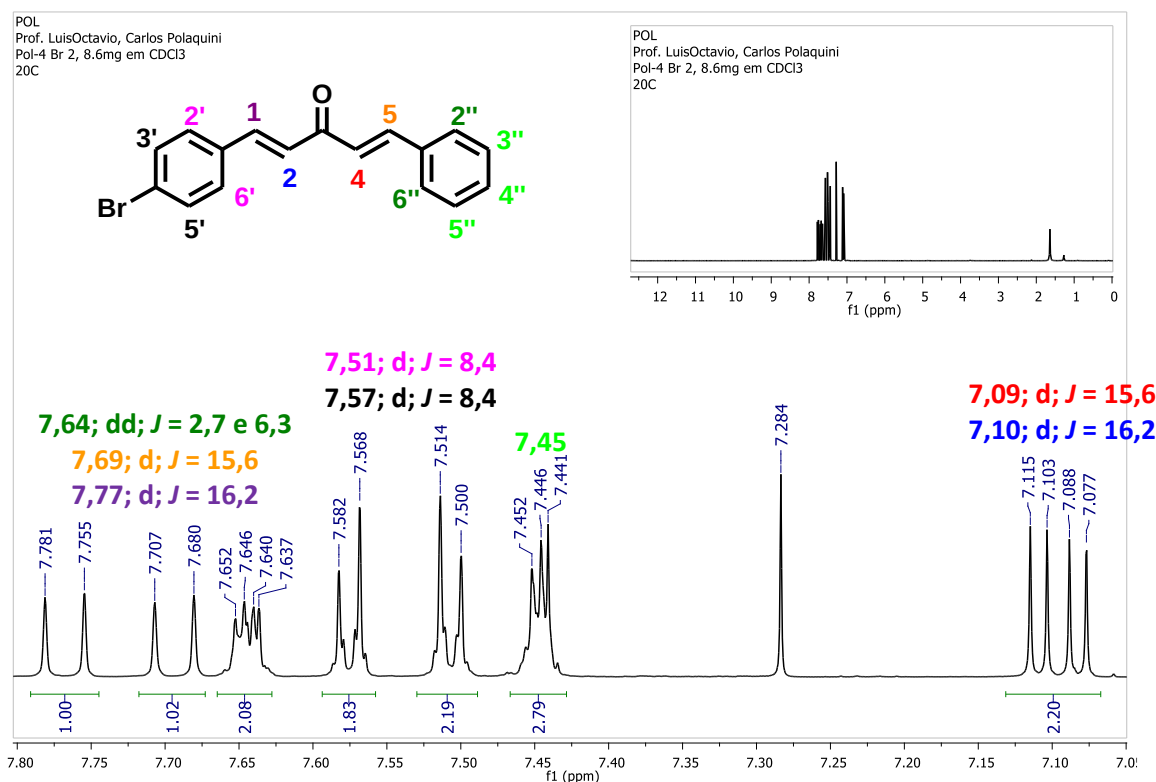
A partir dos dados espectroscópicos obtidos neste trabalho e pela comparação com os relatados por Weber, Frey & Peters foi possível concluir que a substância **II.6** pode ser caracterizada como (1*E*,4*E*)-1-(4-bromofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona. (Weber, Frey & Peters, 2013).

Os dados espectroscópicos referentes aos demais híbridos curcuminacinaldeído foram sumarizados nas tabelas 7a e 7b (RMN de ^1H) e 8a e 8b (RMN de ^{13}C), onde constam os deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono treze, respectivamente, multiplicidade dos sinais e constantes de acoplamento.

HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.6 (Weber, Frey & Peters, 2013)

Cristais amarelo - (1*E*,4*E*)-1-(4-bromofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Figura 26. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.6** (CDCl_3 ; 600 MHz)



d – dubleto; *dd* – duplo dubleto; *J* – constante de acoplamento em Hz

Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.6** (CDCl_3 ; 150 MHz)

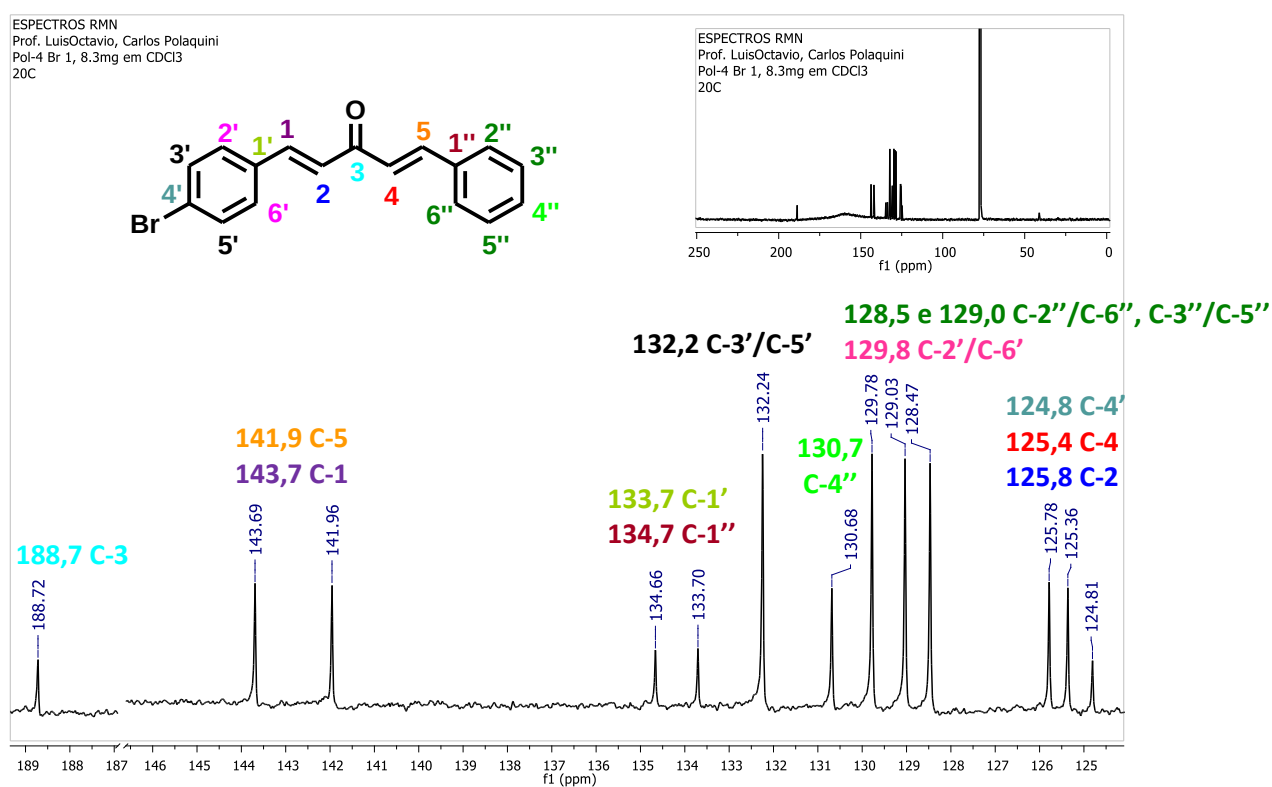
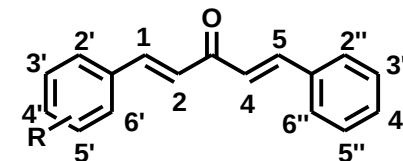


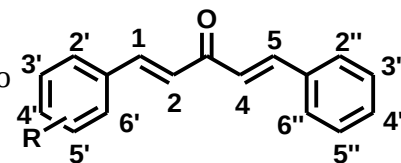
Tabela 7a. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H dos híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (**m**) e constante de acoplamento em Hz (**J**).



II	H-1 $\delta_{\text{H-1}}$; m ; J	H-2 $\delta_{\text{H-2}}$; m ; J	H-4 $\delta_{\text{H-4}}$; m ; J	H-5 $\delta_{\text{H-5}}$; m ; J	H-2' $\delta_{\text{H-2'}}$; m ; J	H-3' $\delta_{\text{H-3'}}$; m ; J	H-4' $\delta_{\text{H-4'}}$; m ; J	H-5' $\delta_{\text{H-5'}}$; m ; J	H-6' $\delta_{\text{H-6'}}$; m ; J
1^B	7,70; d; 15,6	7,03; d; 15,6	7,03; d; 15,6	7,70; d; 15,6	7,30; dd; 1,8 8,0	7,40	7,40	7,40	7,30; dd; 1,8 e 8,0
2^A	7,77; d; 16,2	7,10; d; 16,2	7,05; d; 16,2	7,73; d; 16,2	7,64	7,14; dd; 8,7 8,7	-	7,14; dd; 8,7 8,7	7,64
3^B	7,77; d; 16,0	7,11; d; 16,0	7,09; d; 16,0	7,69; d; 16,0	7,65	-	7,65	7,45 ou 7,65	7,45 e 7,65
4^A	7,77; d; 16,2	7,09; d; 16,2	7,08; d; 15,6	7,71; d; 15,6	7,58; d; 8,4	7,42; d; 8,4	-	7,42; d; 8,4	7,58; d; 8,4
5^B	7,77; d; 16,0	7,09; d; 16,0	7,07; d; 16,0	7,64; d; 16,0	7,73; d; 2,0	-	-	7,52; d; 8,0	7,46
6^A	7,77; d; 16,2	7,10; d; 16,2	7,09; d; 15,6	7,69; d; 15,6	7,51; d; 8,4	7,57; d; 8,4	-	7,57; d; 8,4	7,51; d; 8,4
7^A	7,79; d; 16,2	7,18; d; 16,2	7,11; d; 16,4	7,77; d; 16,2	7,70; d; 7,8	7,75; d; 7,8	-	7,75; d; 7,8	7,70; d; 7,8
10^A	7,81; d; 16,2	7,25; d; 16,2	7,10; d; 15,6	7,79; d; 15,6	8,52; dd; 2,1 2,4	-	8,28; ddd; 1,2 2,4 8,3	7,93; d; 7,2	7,65
12^B	7,76; d; 16,0	7,07; d; 16,0	7,11; d; 16,0	7,75; d; 16,0	7,54; d; 8,0	7,25; d; 8,0	-	7,25; d; 8,0	7,54; d; 8,0
13^A	7,73; d; 15,6	6,92; d; 15,6	7,12; d; 15,6	7,74; d; 15,6	7,56; d; 8,4	6,76	-	6,76	7,56; d; 8,4
16^B	7,74; d; 15,6	6,99; d; 15,6	7,10; d; 16,0	7,75; d; 16,0	7,60; d; 8,4	6,96; d; 8,4	-	6,96; d; 8,4	7,60; d; 8,4
21^A	8,09; d; 16,2	6,99; d; 16,2	7,18; d; 16,2	7,75; d; 16,2	-	6,54; s	-	-	7,14; s
23^A	7,71; d; 16,2	6,96; d; 16,2	7,12; d; 15,6	7,76; d; 15,6	7,14; d; 1,8	-	-	6,98; d; 8,1	7,21; dd; 1,8 e 8,1
25^A	7,72; d; 16,2	7,08; d; 16,2	7,10; d; 16,2	7,77; d; 16,2	7,16; dd; 1,2 1,8	-	6,94; ddd; 1,2 2,4 7,8	7,30; dd; 7,8 7,8	7,20; d; 7,8
26^B	7,69; d; 16,2	7,05; d; 16,2	7,11; d; 16,2	7,77; d; 16,2	7,13; d; 7,8	6,68; d; 7,8	-	6,68; d; 7,8	7,13; d; 7,8
30^C	7,66; d; 16,2	7,01; d; 16,2	7,37; d; 16,2	7,71; d; 16,2	7,17; d; 2,1	-	-	6,81; d; 8,4	7,10; dd; 2,1 e 8,4

A) 600 MHz, CDCl_3 ; **B)** 400 MHz, CDCl_3 ; **C)** 600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **d** – dubleto; **dd** – duplo dubleto; **s** - singleto (anexo 29 a 54; p 102 a 114)

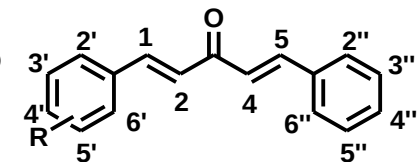
Tabela 7b. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{H}), multiplicidade do sinal (**m**) e constante de acoplamento em Hz (**J**)



II	H-2'' $\delta_{\text{H-2''}}$; m; J	H-3'' $\delta_{\text{H-3''}}$	H-4'' $\delta_{\text{H-4''}}$	H-5'' $\delta_{\text{H-5''}}$	H-6'' $\delta_{\text{H-6''}}$; m; J	Substituintes δ_{H} ; m
1^B	7,30; dd; 1,8 e 8,0	7,40	7,40	7,40	7,30; dd; 1,8 e 8,0	-
2^A	7,64	7,45	7,45	7,45	7,64	4'-F
3^B	7,65	7,45	7,45	7,45	7,65	3'-Cl
4^A	7,64; dd; 3,0 e 6,6	7,45	7,45	7,45	7,64; dd; 3,0 e 6,6	4'-Cl
5^B	7,65	7,46	7,46	7,46	7,65	3',4'-Cl
6^A	7,64; dd; 2,7 e 6,3	7,45	7,45	7,45	7,64; dd; 2,7 e 6,3	4'-Br
7^A	7,66; dd; 2,7 e 6,9	7,46	7,46	7,46	7,66; dd; 2,7 e 6,9	4'-CF₃
10^A	7,65	7,46	7,46	7,46	7,65	3'-NO₂
12^B	7,64	7,44	7,44	7,44	7,64	4'-CH₃ - 2,42; s
13^A	7,64; dd; 1,5 e 7,2	7,42	7,42	7,42	7,64; dd; 1,5 e 7,2	4'-N(CH₃)₂ - 3,01; s
16^B	7,64	7,43	7,43	7,43	7,64	4'-OCH₃ - 3,88; s
21^A	7,65; dd; 1,5 e 7,5	7,43	7,43	7,43	7,65; dd; 1,5 e 7,5	2',4',5'-OCH₃ - 3,92, 3,94 e 3,97; s
23^A	7,64; dd; 2,4 e 7,2	7,44	7,44	7,44	7,64; dd; 2,4 e 7,2	3'-OCH₃ - 3,98; s e 4'-OH - 9,85; s
25^A	7,64; dd; 3,0 e 6,6	7,44	7,44	7,44	7,64; dd; 3,0 e 6,6	3'-OH
26^B	7,64; dd; 1,6 e 7,1	7,45	7,45	7,45	7,64; dd; 1,6 e 7,1	4'-OH
30^C	7,79; dd; 1,5 e 7,5	7,46	7,46	7,46	7,79; dd; 1,5 e 7,5	3',4'-OH

A) 600 MHz, CDCl_3 ; **B)** 400 MHz, CDCl_3 ; **C)** 600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **dd** – duplo dubleto; **s** - singlete (anexo 29 a 54; p 102 a 114)

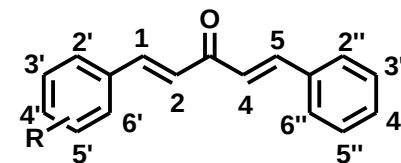
Tabela 8a. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade do sinal (**m**) e constante de acoplamento carbono-fluor em Hz (J_{CF})



II	C-1 $\delta_{\text{C-1}}$	C-2 $\delta_{\text{C-2}}$	C-3 $\delta_{\text{C-3}}$	C-4 $\delta_{\text{C-4}}$	C-5 $\delta_{\text{C-5}}$	C-1' $\delta_{\text{C-1'}}$	C-2' $\delta_{\text{C-2'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-3' $\delta_{\text{C-3'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-4' $\delta_{\text{C-4'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-5' $\delta_{\text{C-5'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$	C-6' $\delta_{\text{C-6'}}; \text{m}; J_{\text{CF}}$
1 ^B	144,9	123,4	188,6	123,4	144,9	135,2	127,4 ou 128,7	127,4 ou 128,7	128,0	127,4 ou 128,7	127,4 ou 128,7
2 ^A	143,5	125,1	188,8	125,4	142,1	131,0	130,3; d; 9,0	116,2; d; 22,5	164,1; d; 250,5	116,2; d; 22,5	130,3; d; 9,0
3 ^B	143,8	126,4	188,6	125,4	141,6	134,7, 135,0 ou 136,7	126,7 ou 127,9	134,7, 135,0 ou 136,7	130,2, 130,3 ou 130,7	130,2, 130,3 ou 130,7	126,7 ou 127,9
4 ^A	143,7	125,7	188,7	125,4	141,9	133,3	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	136,4	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6
5 ^B	144,0	126,6	188,3	125,4	140,4	133,3	129,7, 130,7 ou 131,0	134,6 ou 134,9	134,6 ou 134,9	129,7, 130,7 ou 131,0	127,4
6 ^A	143,7	125,8	188,7	125,4	141,9	133,7	129,8	132,2	124,8	132,2	129,8
7 ^A	144,1	125,9	188,5	125,2	144,3	138,2	128,5	127,3	131,6; d; 31,5	127,3	128,5
10 ^A	144,3	127,5	188,2	125,4	140,2	136,6	124,7	148,7	122,4	130,1 ou 130,9	134,3
12 ^B	143,1	124,5	189,0	125,5	143,4	132,1	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	141,1	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7
13 ^A	130,2	125,8	188,9	125,8	142,5	121,0	128,3, 128,9 ou 130,4	112,2	144,3	112,2	128,3, 128,9 ou 130,4
16 ^B	142,8	123,3	188,9	125,6	143,2	127,5	128,3, 128,9 ou 130,2	114,5	161,7	114,5	128,3, 128,9 ou 130,2
21 ^A	138,4	124,1	189,4	125,1	142,5	110,6	152,5 ou 154,4	96,6	152,5 ou 154,4	143,3	115,2
23 ^A	142,9	123,6	188,9	125,3	143,7	127,3	109,7	146,8 ou 148,3	146,8 ou 148,3	114,9	123,4
25 ^A	143,5	125,3	189,3	125,5	143,7	136,2	114,9	156,5	117,9	130,2 ou 130,6	120,9
26 ^B	143,0	124,0	189,1	125,3	143,6	127,8	126,4, 128,3 ou 129,1	115,8	157,7	115,8	126,4, 128,3 ou 129,1
30 ^C	142,3	123,0	189,6	126,2	144,2	126,6	115,4	146,1 ou 149,2	146,1 ou 149,2	116,3	122,4

A) 150 MHz, CDCl_3 ; **B)** 100 MHz, CDCl_3 ; **C)** 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **d** – dubleto (anexo 29 a 54; p 102 a 114)

Tabela 8b. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C para os híbridos curcumina-cinamaldeído: deslocamento químico em ppm (δ_{C}), multiplicidade de sinal (**m**) e constante de acoplamento carbono-fluor em Hz (J_{CF}).



II	C-1'' $\delta_{\text{C-1''}}$	C-2'' $\delta_{\text{C-2''}}$	C-3'' $\delta_{\text{C-3''}}$	C-4'' $\delta_{\text{C-4''}}$	C-5'' $\delta_{\text{C-5''}}$	C-6'' $\delta_{\text{C-6''}}$	Substituintes $\delta_{\text{C''}}$; m ; J_{CF}
1^B	135,2	127,4 ou 128,7	127,4 ou 128,7	129,9	127,4 ou 128,7	127,4 ou 128,7	-
2^A	134,7	128,4 ou 129,0	128,4 ou 129,0	130,6	128,4 ou 129,0	128,4 ou 129,0	4'-F
3^B	134,7, 135,0 ou 136,7	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	130,2, 130,3 ou 130,7	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	3'-Cl
4^A	134,7	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	130,7	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	128,5, 129,0, 129,3 ou 129,6	4'-Cl
5^B	134,3	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	129,7, 130,7 ou 131,0	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	3',4'-Cl
6^A	134,7	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	130,7	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	4'-Br
7^A	134,6	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	130,8	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	4'-CF₃ - 123,8; d ; 270
10^A	134,5	128,5 ou 129,1	128,6 ou 129,1	130,1 ou 130,9	128,5 ou 129,1	128,6 ou 129,1	3'-NO₂
12^B	134,9	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	130,4, 132,1 ou 134,9	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	128,3, 128,4, 129,0 ou 129,7	4'-CH₃ - 21,5
13^A	135,1	128,3, 128,9 ou 130,4	128,3, 128,9 ou 130,4	130,2	128,3, 128,9 ou 130,4	128,3, 128,9 ou 130,4	4'-N(CH₃)₂ - 40,4
16^B	134,9	128,3, 128,9 ou 130,2	128,3, 128,9 ou 130,2	130,4	128,3, 128,9 ou 130,2	128,3, 128,9 ou 130,2	4'-OCH₃ - 55,4
21^A	135,1	128,4 ou 128,9	128,4 ou 128,9	130,5	128,4 ou 128,9	128,4 ou 128,9	2',4',5'-OCH₃ - 56,1, 56,4 e 56,4
23^A	134,9	128,4 ou 129,0	128,4 ou 129,0	130,4	128,4 ou 129,0	128,4 ou 129,0	3'-OCH₃ - 56,0 e 4'-OH
25^A	134,7	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	130,2 ou 130,6	128,5 ou 129,0	128,5 ou 129,0	3'-OH
26^B	135,2	126,4, 128,3 ou 129,1	126,4, 128,3 ou 129,1	130,6	126,4, 128,3 ou 129,1	126,4, 128,3 ou 129,1	4'-OH
30^C	135,3	129,0 ou 129,4	129,0 e 129,4	130,8	129,0 ou 129,4	129,0 ou 129,4	3',4'-OH

A) 150 MHz, CDCl_3 ; **B)** 100 MHz, CDCl_3 ; **C)** 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; **d** – dubleto (anexo 29 a 54; p 102 a 114)

4.6 Avaliação citotóxica dos híbridos curcumina-cinamaldeído

A citotoxicidade dos híbridos curcumina-cinamaldeído foi avaliada contra as linhagens celulares humanas DU-145, HepG2, A549 e MRC-5. O índice de seletividade (IS) foi determinado pela razão entre os valores da IC_{50} nas linhagens pulmonares normal e tumoral ($IS = IC_{50 \text{ MRC-5}} / IC_{50 \text{ A549}}$). A tabela 9 sumarizou os valores de IC_{50} para as substâncias nas linhagens avaliadas e o IS entre as linhagens pulmonares.

Com exceção das substâncias **II.10**, **II.13** e **II.26**, todos os híbridos curcumina-cinamaldeído apresentaram potente atividade citotóxica contra as quatro linhagens avaliadas, com valores de $IC_{50} < 65 \mu\text{mol L}^{-1}$, confirmando a eficiência da ferramenta de hibridação molecular no desenvolvimento de moléculas bioativas. Como relatado por Yamakoshi e colaboradores, substâncias contendo o esqueleto 1,4-pentadieno-3-oxo foram potentes indutoras de citotoxicidade. O perfil de substituição no anel aromático resultou na potencialização da atividade citotóxica, evidenciando grupos auxofóricos (Yamakoshi et al., 2010).

Tabela 9. Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) dos híbridos curcumina-cinamaldeído e IS entre as linhagens pulmonares

Híbridos	Substituintes	DU-145	HepG2	A549	MRC-5	$IS_{MRC5/A549}$
II.1	-	26,2 ± 3,8	21,7 ± 3,2	48,5 ± 5,7	49,5 ± 5,4	1,0
II.2	4-F	23,0 ± 0,5	25,5 ± 1,4	48,2 ± 5,2	48,9 ± 4,7	1,0
II.3	3-Cl	19,5 ± 1,0	30,8 ± 4,9	22,9 ± 3,3	44,8 ± 4,5	1,9
II.4	4-Cl	22,8 ± 2,9	22,9 ± 1,6	42,5 ± 5,0	32,2 ± 4,5	0,7
II.5	3,4-Cl	33,7 ± 1,3	60,1 ± 7,2	35,9 ± 5,8	35,3 ± 4,2	1,0
II.6	4-Br	36,2 ± 2,4	65,0 ± 7,7	55,1 ± 3,9	50,4 ± 5,2	0,9
II.7	4-CF₃	26,9 ± 3,3	30,6 ± 0,2	37,6 ± 6,6	22,0 ± 3,8	0,6
II.10	3-NO₂	161,8 ± 22,7	179,0 ± 5,6	118,0 ± 10,9	146,0 ± 20,1	1,2
II.12	4-CH₃	36,0 ± 0,7	41,0 ± 0,8	46,3 ± 7,9	52,8 ± 8,2	1,1
II.13	4-N(CH₃)₂	97,4 ± 2,9	157,9 ± 22,0	182,0 ± 20,1	249,0 ± 17,6	1,4
II.16	4-OCH₃	22,9 ± 3,7	44,1 ± 8,9	38,5 ± 1,7	53,7 ± 7,3	1,4
II.21	2,4,5-OCH₃	20,9 ± 3,5	31,6 ± 2,9	55,2 ± 4,6	45,3 ± 9,4	0,8
II.23	3-OCH₃,4-OH	18,8 ± 2,1	26,8 ± 3,4	29,1 ± 3,0	28,0 ± 3,1	1,0
II.25	3-OH	15,4 ± 0,7	20,6 ± 2,7	19,4 ± 2,5	23,0 ± 3,2	1,2
II.26	4-OH	108,5 ± 4,8	127,4 ± 8,9	161,1 ± 26,9	100,5 ± 2,7	0,6
II.30	3,4-OH	17,7 ± 2,3	27,7 ± 3,4	18,6 ± 1,1	14,4 ± 2,7	0,8
curcumina	3-OCH₃,4-OH	47,1 ± 7,3	46,0 ± 9,4	87,7 ± 11,1	42,0 ± 0,7	0,5
cinamaldeído	-	109,9 ± 8,1	179,8 ± 30,4	217,8 ± 16,1	291,6 ± 0,4	1,3
doxorubicina		0,5 ± 0,02	1,1 ± 0,08	1,8 ± 0,15	0,7 ± 0,04	0,4

Os híbridos **II.25** (3-OH) e **II.30** (3,4-diOH) apresentaram a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens, com valores de IC_{50} que variaram de 14,4 e 27,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Por outro lado, o híbrido **II.26** (4-OH) demonstrou baixa citotoxicidade com valores de $IC_{50} > 100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Assim sendo, a comparação dos valores de IC_{50} de **II.25**, **II.26** e **II.30** corroboram com a essencialidade da hidroxila na posição 3' para uma citotoxicidade potente. Ao contrário, a hidroxila na posição 4' promoveu decréscimo significativo na atividade citotóxica, uma vez que o híbrido hidroxilado foi significativamente menos ativo que seu análogo não-substituído (**II.1**).

Dai e colaboradores estudaram a ação citotóxica de difenilpentanoides simétricos e identificaram que o análogo *meta*-hidroxilado ($IC_{50} 18,6 \pm 1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou potência superior ao análogo *para*-hidroxilado ($IC_{50} 36,3 \pm 1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) contra células A549. No entanto, esse comportamento não foi verificado para os difenilpentanoides assimétricos, visto que os análogos *meta* e *para*-hidroxilados exibiram potência equivalente ($IC_{50} 81,3 \pm 6,9$ e $82,5 \pm 4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente) (Dai et al, 2015b).

Em relação aos seus protótipos naturais (curcumina e cinamaldeído), **II.25** e **II.30** apresentaram potência superior, principalmente em comparação com o cinamaldeído que teve ação até vinte vezes inferior a esses híbridos. O análogo **II.25** apresentou IS 1,2, valor maior do que o observado para **II.30** (IS 0,8) e para a curcumina (IS 0,5). No entanto, este valor é equivalente ao cinamaldeído (IS 1,3). Em relação à doxorrubicina, **II.25** e **II.30** exibiram potência inferior contra as quatro linhagens, variando de dez a trinta vezes menos potente. Apesar disso, os híbridos curcumina-cinamaldeído **II.25** e **II.30** apresentaram IS superior a doxorrubicina.

O análogo **II.30** é inédito na literatura, portanto este trabalho foi o primeiro a relatar sua síntese e ação citotóxica. Já a substância **II.25** não é inédita na literatura, havendo apenas um relato de sua citotoxicidade. Dai e colaboradores relataram a ação citotóxica de **II.25** contra células A549 ($IC_{50} 81,3 \pm 6,9 \mu\text{mol L}^{-1}$) utilizando o ensaio de viabilidade celular MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]) em 48 h de tratamento (Dai et al., 2015b). Sugere-se que o valor de IC_{50} obtido neste trabalho divergiu dos dados de Dai e colaboradores devido ao ensaio (indicador de viabilidade celular) e tempo de tratamento diferentes.

Luo e colaboradores descreveram que o difenilpentanoide simétrico *m*-hidroxilado, 1,5-*bis*(3-hidroxifenil)-1,4-pentadieno-3-ona, suprimiu tanto a proliferação de células do câncer de próstata (PC-3 e DU-145) bem como o crescimento do tumor em

modelo xenográfico murino. Além disso, a combinação dessa substância com a curcumina resultou em um efeito antineoplásico sinérgico. A geração de ROS, bloqueio do ciclo celular, bem como a indução de apoptose em células PC-3, desempenharam papel vital na ação antineoplásica dessa substância (Luo et al., 2014).

A comparação da citotoxicidade de **II.30** (3,4-diOH) e **II.23** (3-OCH₃,4-OH), o qual possui o grupo vanilila, similarmente à curcumina, sugere que a substituição da hidroxila por uma metoxila na posição 3' do anel aromático não alterou o desempenho citotóxico contra as linhagens DU-145 e HepG2, uma vez que os valores de IC₅₀ foram equivalentes. No entanto, essa permuta de 3-OH por 3-OCH₃ resultou em uma pequena diminuição na potência contra as linhagens pulmonares.

Os híbridos halogenados **II.2–II.7** apresentaram citotoxicidade equivalente ou inferior a **II.1** (híbrido não-substituído) contra todas as linhagens tumorais. No entanto, **II.3** (3-Cl) apresentou potência superior a **II.1** contra DU-145 e A549, além de disso, apresentou o maior valor de IS (1,9) dentre todas as substâncias estudadas, revelando que a presença do cloro na posição 3' do anel aromático é impressindível para o incremento na potência e seletividade desse composto. O híbrido **II.6** (4-Br) apresentou a menor potência dentre os halogenados contra todas as linhagens.

A substituição por um grupo fortemente aceptor de elétrons (**II.10** – 3-NO₂) resultou na perda de potência, com valores de IC₅₀ > 118 µmol L⁻¹ contra todas as linhagens.

Avaliando os híbridos substituídos por grupos doadores de elétrons **II.12** (4-CH₃), **II.13** (4-N(CH₃)₂), **II.16** (4-OCH₃) e **II.21** (2,4,5-triOCH₃) apresentaram potência inferior ao híbrido sem substituinte **II.1**, com exceção dos híbridos hidroxilados **II.23** (3-OCH₃,4-OH), **II.25** (3-OH) e **II.30** (3,4-diOH). No entanto, **II.16** apresentou potência superior a **II.1** contra a A549. A presença de um grupo fortemente doador de elétrons e com características básicas (**II.13**) resultou na diminuição da potência, com valores de IC₅₀ > 97 µmol L⁻¹

O potencial antineoplásico da substância **II.1** tem sido amplamente estudado em diversos trabalhos. Lee e colaboradores relataram que **II.1** inibiu a expressão da proteína de especificidade 1 (SP1) em tumores xenográficos murinos de carcinoma humano mucoepidermoide. Além disso, **II.1** regulou positivamente a expressão das proteínas pró-apoptóticas Bim e t-Bid nesses tumores sem qualquer toxicidade sistêmica (Lee et al., 2014). Prasad e colaboradores descreveram que **II.1** aumentou a apoptose induzida por TRAIL (ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF – fator de necrose tumoral) em

células de adenocarcinoma de cólon humano (HCT116) por vários mecanismos que incluem a regulação negativa da survivina, cFLIP, XIAP e Bcl-2, indução de Bax, supressão de DCR2 e regulação positiva de fatores de morte via expressão de CHOP e geração de ROS (Prasad et al., 2011).

5. CONCLUSÕES

i. Foram sintetizadas 35 substâncias neste trabalho, sendo dezenove curcuminoides (difenileptanoides simétricos) e dezesseis híbridos curcumina-cinamaldeído (difenilpentanoides assimétricos). Este trabalho é o primeiro a descrever a obtenção dos híbridos **II.21** e **II.30** na literatura;

ii. Os curcuminoides foram sintetizados pela metodologia de Pabon, a qual emprega compostos de boro para a proteção do carbono metilênico da acetilacetona, com rendimentos entre 47 e 95 %, sendo que 72 % das substâncias exibiram rendimentos superiores a 70 %;

iii. Os híbridos curcumina-cinamaldeído foram sintetizados utilizando reações de condensação aldólica com rendimentos entre 40 e 98 %, sendo que 63 % exibiram rendimentos maiores que 70 %;

iv. A obtenção de curcuminoides e híbridos curcumina-cinamaldeído polihidroxilados pela metodologia de Pabon e por reação de condensação aldólica, respectivamente, requer a proteção dos grupos hidroxilas dos hidroxibenzaldeídos de partida, pois esse grupo exerce forte influência na reatividade e formação de subprodutos;

v. As técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C são eficientes na confirmação estrutural das substâncias, uma vez que se observa com clareza a obtenção de cetonas α,β -insaturadas com geometria *trans*;

vi. O curcuminóide **I.25** (3-OH) apresenta a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens avaliadas, com valores de IC_{50} entre 28,6 a 34,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, ele apresenta potência citotóxica e valor de IS superior a curcumina (protótipo natural);

vii. Com ressalva para **II.10**, **II.13** e **II.26**, todos os híbridos curcumina-cinamaldeído apresentam elevada potência citotóxica, com valores de IC_{50} equivalentes ou superiores aos protótipos naturais, confirmando a eficiência da ferramenta de hibridação molecular no desenvolvimento de moléculas bioativas inovadoras;

viii. Os híbridos **II.25** (3-OH) e **II.30** (3,4-diOH) apresentam a maior potência citotóxica contra as quatro linhagens, com valores de IC_{50} entre 14,4 e 27,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

ix. Dados preliminares de relação estrutura-atividade são observados; destacando a importância da posição e do número de hidroxilas para a citotoxicidade, bem como a influência de diferentes grupos aceptores e doadores de elétrons.

6. REFERÊNCIAS

AGGARWAL, B. B. et al. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, Attiki, v. 23, n. 1A, p. 363-398, 2003.

AGGARWAL, S. et al. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of I κ B α kinase and Akt activation. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 69, n. 1, p. 195-206, 2006.

AHMED, M. M.; KHAN, M. A.; RAINSFORD, K. D. Synthesis of thiophene and NO-curcuminoids for antiinflammatory and anti-cancer activities. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 2, p. 1483-1501, 2013.

ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 118-29, 2005.

ANAND, P. et al. Bioavailability of curcumin: problems and promises. **Molecular Pharmaceutics**, Washington, v. 4, n. 6, p. 807-818, 2007.

ANAND, P. et al. Biological activities of curcumin and its analogues (congeners) made by man and mother nature. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 76, n. 11, p. 1590-1611, 2008.

ANTHWAL, A. et al. Synthesis, characterization and in vitro anticancer activity of C-5 curcumin analogues with potential to inhibit TNF- α -induced NF- κ B activation. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, p. 1-10, 2014.

ANTO, R. J. et al. Curcumin (diferuloylmethane) induces apoptosis through activation of caspase-8, BID cleavage and cytochrome c release: its suppression by ectopic expression of Bcl-2 and Bcl-xl. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 143-150, 2002.

ARAÚJO, C. R. M. et al. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual SciFinder[®]. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 868-873, 2015.

ASAI, A.; MIYAZAWA, T. Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronide/sulfate conjugates in rat plasma. **Life Sciences**, Elmsford, v. 67, n. 23, p. 2785-2793, 2000.

BAILON-MOSCOSO, N. et al. Medicinal plants of Ecuador: a review of plants with anticancer potential and their chemical composition. **Medicinal Chemistry Research**, Cambridge, v. 24, n. 6, p. 2283-2296, 2015.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

BÉZIVIN, C. et al. Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. **Phytomedicine**, Jena, v. 10, n. 6, p. 499-503, 2003.

BISHT, S. et al. Systemic administration of polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin (NanoCurc) blocks tumor growth and metastases in preclinical models of pancreatic cancer. **Molecular Cancer Therapeutics**, Birmingham, v. 9, n. 8, p. 2255-2264, 2010.

BOURDRON, J. et al. Caulerpenyne–colchicine hybrid: synthesis and biological evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 14, n. 16, p. 5540-5548, 2006.

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

BRATU, M. G. Synthesis of curcumin derivatives. **Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology**, Sibiu, v. 9, n. 1, p. 11-16, 2005.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre, McGraw Hill Brasil, 2012.

CAO, Y. K. et al. Synthesis and biological evaluation of novel curcuminoid derivatives. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 10, p. 16349-16372, 2014.

CARR, M. et al. Lead identification of conformationally restricted β -lactam type combretastatin analogues: synthesis, antiproliferative activity and tubulin targeting effects. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 45, n. 12, p. 5752-5766, 2010.

COSTI, R. et al. Cinnamoyl compounds as simple molecules that inhibit p300 histone acetyltransferase. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 50, n. 8, p. 1973-1977, 2007.

CREMLYN, R. J. et al. Chlorosulfonation of α,β -unsaturated arylidene ketones. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related elements**, New York, v. 84, n. 1-4, p. 135-142, 1993.

CRUZ, R. S. **Síntese de aminochalconas e nitrochalconas como potenciais inibidores de alfa-glucosidases**. 2013. 91 f. Trabalho de conclusão de curso (Farmácia-Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Araraquara, 2013.

CUI, M. et al. Synthesis and structure–affinity relationships of novel dibenzylideneacetone derivatives as probes for β -amyloid plaques. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 54, n. 7, p. 2225-2240, 2011.

CUONG, N. V. et al. Preparation, characterization and antibacterial curcumin encapsulated chitosan-PAA silver nanocomposite films. In: **5th International Conference on Biomedical Engineering in Vietnam**. Springer International Publishing, 2015. p. 58-61.

DAI, Z. et al. Antitumor effect of resveratrol on chondrosarcoma cells via phosphoinositide 3-kinase/AKT and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. **Molecular Medicine Reports**, Athens, v. 12, n. 2, p. 3151-3155, 2015a.

DAI, F. et al. Insights into the importance for designing curcumin-inspired anticancer agents by the prooxidant strategy: the case of diarylpentanoids. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 85, p. 127-137, 2015b.

DENG, S. L. et al. Protective effects of curcumin and its analogues against free radical-induced oxidative haemolysis of human red blood cells. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 1, p. 112-119, 2006.

DEVASENA, T. et al. Anticarcinogenic effect of bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione a curcumin analog on DMH-induced colon cancer model. **Pharmacological Research**, London, v. 47, n. 2, p. 133-140, 2003.

DIRAR, A. I. et al. A phytopharmacological review on four antitumor medicinal plants grown in Sudan. **American Journal of Pharmtech Research**, v. 4, n. 5, p. 28-41, 2014.

ELAVARASAN, S. et al. Iodine impregnated nano neutral alumina as an efficient catalyst for one pot green synthesis of curcumin analogues by microwave irradiation. **Letters in Organic Chemistry**, Bussum, v. 11, n. 4, p. 237-243, 2014.

ESATBEYOGLU, T. et al. Thermal stability, antioxidant, and anti-inflammatory activity of curcumin and its degradation product 4-vinyl guaiacol. **Food & Function**, Cambridge, v. 6, n. 3, p. 887-893, 2015.

FENG, J. Y.; LIU, Z. Q. Phenolic and enolic hydroxyl groups in curcumin: which plays the major role in scavenging radicals?. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 22, p. 11041-11046, 2009.

GOMES, D. C. et al. Total synthesis and anti-leishmanial activity of some curcumin analogues. **Drug Research**, Aulendorf, v. 52, n. 9, p. 695-698, 2001.

GOU, M. L. et al. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy *in vitro* and *in vivo*. **Nanoscale**, Cambridge, v. 3, n. 4, p. 1558-1567, 2011.

GRANT, W. E. et al. Photodynamic therapy: an effective, but non-selective treatment for superficial cancers of the oral cavity. **International Journal of Cancer**, New York, v. 71, n. 6, p. 937-942, 1997.

HAHM, E. R. et al. New and known symmetrical curcumin derivatives inhibit the formation of Fos-Jun-DNA complex. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 184, n. 1, p. 89-96, 2002.

HAHM, E. R. et al. Synthetic curcumin analogs inhibit activator protein-1 transcription and tumor-induced angiogenesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 321, n. 2, p. 337-344, 2004.

HARRIS, R. E. et al. Aspirin, ibuprofen, and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention: a critical review of non-selective COX-2 blockade (review). **Oncology Reports**, Athens, v. 13, n. 4, p. 559-583, 2005.

HENDERSON, B. E.; FEIGELSON, H. S. Hormonal carcinogenesis. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 427-433, 2000.

HUO, Y. P. et al. Synthesis of new 2-aryl-6-styryl-2,3-dihydropyridin-4(1H)-one derivatives from curcuminoids. **Chinese Chemical Letters**, London, v. 20, n. 11, p. 1291-1295, 2009.

Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em: 1 set. 2015.

JEONG, H. W. et al. Antitumor effect of the cinnamaldehyde derivative CB403 through the arrest of cell cycle progression in the G2/M phase. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 65, n. 8, p. 1343-1350, 2003.

Jl, Y. T.; LIU, Y. N.; LIU, Z. P. Tubulin colchicine binding site inhibitors as vascular disrupting agents in clinical developments. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 22, n. 11, p. 1348-1360, 2015.

JOHN, V. D.; KRISHNANKUTTY, K. Synthesis, characterization and antitumour activities of some synthetic curcuminoid analogues and their copper complexes. **Transition Metal Chemistry**, Weinheim, v. 30, n. 2, p. 229-233, 2005.

JORDAN, M. A.; WILSON, L. Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v. 10, n. 1, p. 123-130, 1998.

KA, H. et al. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 196, n. 2, p. 143-152, 2003.

KATSUYAMA, Y. et al. Precursor-directed biosynthesis of curcumin analogs in *Escherichia coli*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 74, n. 3, p. 641-645, 2010.

KHAN, M. A. et al. Synthesis and anti-inflammatory properties of some aromatic and heterocyclic aromatic curcuminoids. **Bioorganic Chemistry**, New York, v. 40, p. 30-38, 2012.

KHRAPUNOVICH-BAINE, M. et al. Distinct pose of discodermolide in taxol binding pocket drives a complementary mode of microtubule stabilization. **Biochemistry**, v. 48, n. 49, p. 11664-11677, 2009.

KIM, B. T. et al. Synthesis of dihydroxylated chalcone derivatives with diverse substitution patterns and their radical scavenging ability toward DPPH free radicals. **ChemInform**, Weinheim, v. 39, n. 42, p. i, 2008.

KONATHAM, S.; KUMAR, P.; AUKUNURU, J. J. Synthesis and screening of antidiabetic activity of some novel curcumin analogues. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 1, n. 2, p. 1-6, 2010.

KONNO, H. et al. Synthesis and evaluation of curcumin derivatives toward an inhibitor of beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 24, n. 2, p. 685-690, 2014.

KUNNUMAKKARA, A. B. et al. Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor- κ B-regulated gene products. **Cancer Research**, Baltimore, v. 67, n. 8, p. 3853-3861, 2007.

KUNNUMAKKARA, A. B.; ANAND, P.; AGGARWAL, B. B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 269, n. 2, p. 199-225, 2008.

KUNWAR, A. et al. Dimethoxycurcumin-induced cell death in human breast carcinoma MCF7 cells: evidence for pro-oxidant activity, mitochondrial dysfunction, and apoptosis. **Archives of Toxicology**, New York, v. 86, n. 4, p. 603-614, 2012.

KWON, B. M. et al. Synthesis and *in vitro* cytotoxicity of cinnamaldehydes to human solid tumor cells. **Archives of Pharmacal Research**, Seoul, v. 21, n. 2, p. 147-152, 1998.

KWON, H. K. et al. Cinnamon extract induces tumor cell death through inhibition of NF- κ B and AP1. **BMC Cancer**, London, v. 10, n. 1, p. 392, 2010.

LEE, H-E. et al. Inhibition of specificity protein 1 by dibenzylideneacetone, a curcumin analogue, induces apoptosis in mucoepidermoid carcinomas and tumor xenografts through Bim and truncated Bid. **Oral Oncology**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 189-195, 2014.

LEE, W. Curcumin exerts antifungal activity via inducing disruption of plasma membrane. In: **Natural product discovery & development in the post genomic era**. Simb, 2015.

LEI, Y. J.; BI, Y.; JIE, O. Y. Synthesis of some curcumin analogues under ultrasound irradiation. In: **Advanced Materials Research**, Pfaffikon, 2011. v. 332, p. 1623-1626.

LI, L.; BRAITEH, F. S.; KURZROCK, R. Liposome-encapsulated curcumin. **Cancer**, Hoboken, v. 104, n. 6, p. 1322-1331, 2005.

LI, Y. et al. Homoharringtonine combined with cytarabine to treat chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis and its impact on bone marrow CD34+ CD7+cells. **Acta Haematologica**, Basel, v. 132, n. 2, p. 172-176, 2014.

LIANG, G. et al. Exploration and synthesis of curcumin analogues with improved structural stability both in vitro and *in vivo* as cytotoxic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, n. 6, p. 2623-2631, 2009.

LIU, G.; YANG, J.; GUO, S. **3,3'-hydroxyl curcumin analog useful in treatment of liver cancer and its preparation**. CN 105152892, 16 dez. 2015.

LIU, K. et al. Design and biological characterization of hybrid compounds of curcumin and thalidomide for multiple myeloma. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 29, p. 4757-4763, 2013a.

LIU, X. et al. Efficient synthesis of trifluoromethylated cyclopentadienes /fulvenes/norbornenes from divinyl ketones. **Organic & biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 39, p. 6703-6706, 2013b.

LoPACHIN, R. M.; GAVIN, T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: a chemical perspective. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, v. 27, n. 7, p. 1081-1091, 2014.

LUO, C. et al. A monocarbonyl analogue of curcumin, 1,5-bis(3-hydroxyphenyl)-1,4-pentadiene-3-one (Ca 37), exhibits potent growth suppressive activity and enhances the inhibitory effect of curcumin on human prostate cancer cells. **Apoptosis**, New York, v. 19, n. 3, p. 542-553, 2014.

LUO, X. et al. Asymmetric double Michael reaction catalyzed by simple primary amine catalysts: a straightforward approach to construct spirocyclic oxindoles. **Chinese Journal of Chemistry**, Shanghai, v. 30, n. 5, p. 1185-1188, 2012.

MARGOLIS, R. L.; YENJERLA, M. Non-motor spindle proteins as cancer chemotherapy targets. In: **Kinesins and cancer**. Springer Netherlands, 2015.

MARTINS, D. L. Reações aldólicas. **Revista Virtual de Química**, Niteroi, v. 1, n. 3, p. 186-211, 2009.

McNULTY, J. et al. Antimitotic activity of structurally simplified biaryl analogs of the anticancer agents colchicine and combretastatin-A4. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 25, n. 1, p. 117-121, 2015.

MISHRA, A. et al. Curcumin modulates cellular AP-1, NF-kB, and HPV16 E6 proteins in oral cancer. **Ecancermedicalsecience**, Bristol, v. 9, 2015.

MUKHOPADHYAY, A. et al. Curcumin-induced suppression of cell proliferation correlates with down-regulation of cyclin D1 expression and CDK4-mediated retinoblastoma protein phosphorylation. **Oncogene**, Basingstoke, v. 21, n. 57, p. 8852-8861, 2002.

NAIK, N.; KUMAR, H. V.; SWETHA, S. 1,5-diphenylpenta-1,4-dien-3-ones: a novel class of free radical scavengers. **Bulgarian Chemical Communications**, Sofia, v. 43, n. 3, p. 460-464, 2011.

NAIR, V. et al. A novel reaction of the “Huisgen Zwitterion” with chalcones and dienones: an efficient strategy for the synthesis of pyrazoline and pyrazolopyridazine

derivatives. **Angewandte Chemie (International ed.)**, Weinheim, v. 46, n. 12, p. 2070-2073, 2007.

NEPALI, K, et al. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 77, p. 422-487, 2014.

NG, L. T.; WU, S. J. Antiproliferative activity of *Cinnamomum cassia* constituents and effects of pifithrin-alpha on their apoptotic signaling pathways in HepG2 cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2011, 2011.

NURFINA, A. N. et al. Synthesis of some symmetrical curcumin derivatives and their antiinflammatory activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 32, n. 4, p. 321-328, 1997.

OHTSU, H et al. Antitumor agents. 217. curcumin analogues as novel androgen receptor antagonists with potential as anti-prostate cancer agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 45, n. 23, p. 5037-5042, 2002.

ONO, N. **The nitro group in organic synthesis**. New York: John Wiley & Sons, 2003.

ORLANDO, R. A. et al. A chemical analog of curcumin as an improved inhibitor of amyloid Abeta oligomerization. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 3, p. e31869, 2012.

PABON, H. J. J. A synthesis of curcumin and related compounds. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, Leiden, v. 83, n. 4, p. 379-386, 1964.

PALOMINO, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PARK, C. H; LEE, J. H.; YANG, C. H. Curcumin derivatives inhibit the formation of Jun-Fos-DNA complex independently of their conserved cysteine residues. **BMB Reports**, Seoul, v. 38, n. 4, p. 474-480, 2005.

PARMIGIANI, R. B.; CAMARGO, A. A. O genoma humano e o câncer. **Ferreira CG; Casali JC. Oncologia molecular**. São Paulo: Atheneu, 2004.

PATIL, C. B.; MAHAJAN, S. K.; KATTI, S. A. Chalcone: a versatile molecule. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, {s.l.}, v. 41, n. 25, p. i, 2010.

PERRY, M. C. et al. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in glioblastoma xenografts. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 54, n. 8, p. 1192-1201, 2010.

PRASAD, S. et al. ROS and CHOP are critical for dibenzylideneacetone to sensitize tumor cells to TRAIL through induction of death receptors and downregulation of cell survival proteins. **Cancer Research**, Baltimore, v. 71, n. 2, p. 538-549, 2011.

QIU, X. et al. Synthesis and evaluation of curcumin analogues as potential thioredoxin reductase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 16, n. 17, p. 8035-8041, 2008.

QIU, X. et al. Synthesis and identification of new 4-arylidene curcumin analogues as potential anticancer agents targeting nuclear factor- κ B signaling pathway. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 53, n. 23, p. 8260-8273, 2010.

RAI, D. et al. Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity. **Biochemical Journal**, London, v. 410, n. 1, p. 147-155, 2008.

RANASINGHE, P. et al. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 13, n. 1, p. 1, 2013.

RECENO, C.; BENSON, M.; DERUISSEAU, K. Effects of curcumin on the expression of antioxidants in single myofibers from aged mice. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 29, n. 1 Supplement, p. 825.16, 2015.

REDDY, L.; ODHAV, B.; BHOOLA, K. D. Natural products for cancer prevention: a global perspective. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 99, n. 1, p. 1-13, 2003.

ROBU, M. et al. Curcumin derivatives with potential biological activity. **Circulation**, Baltimore, v. 4, p. 5, 2009.

ROMAGNOLI, R. et al. Design, synthesis and biological evaluation of hybrid molecules containing conjugated styryl ketone and α -bromoacryloyl moieties. **Letters in drug design & Discovery**, Oak Park, v. 9, n. 2, p. 140-152, 2012.

ROMAN, B. I. et al. Further studies on anti-invasive chemotypes: an excursion from chalcones to curcuminoids. **Bioorganic & Medicinal chemistry Letters**, New York, v. 25, n. 5, p. 1021-1025, 2015.

ROTH-WALTER, F. et al. Immune suppressive effect of cinnamaldehyde due to inhibition of proliferation and induction of apoptosis in immune cells: implications in cancer. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 10, p. e108402, 2014.

RUBY, A. J. et al. Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 79-83, 1995.

RUIZ-SANCHEZ, A. J. et al. Cation template assisted oligoethylene glycol desymmetrization by intramolecular Cannizzaro reaction of topologically remote aldehydes. **Tetrahedron**, Oxford, v. 64, n. 51, p. 11661-11665, 2008.

RYU, E. K. et al. Curcumin and dehydrozingerone derivatives: synthesis, radiolabeling, and evaluation for β -amyloid plaque imaging. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 49, n. 20, p. 6111-6119, 2006.

SAGNOU, M. et al. Evaluation of naturally occurring curcuminoids and related compounds against mosquito larvae. **Acta Tropica**, Basel, v. 123, n. 3, p. 190-195, 2012.

SAVORANI, C. et al. Ellipticine induces apoptosis in T-cell lymphoma via oxidative DNA damage. **Leukemia & Lymphoma**, Reading, v. 56, n. 3, p. 739-747, 2015.

SELVAM, C. et al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of curcumin analogues as antioxidant, cyclooxygenase inhibitory and anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 15, n. 7, p. 1793-1797, 2005.

SHAKIBAEI, M. et al. Curcumin potentiates antitumor activity of 5-fluorouracil in a 3D alginate tumor microenvironment of colorectal cancer. **BMC Cancer**, London, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2015.

SHANMUGAM, M. K. et al. The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. **Molecules**, Basel, v. 20, n. 2, p. 2728-2769, 2015.

SHARMA, R. A.; GESCHER, A. J.; STEWARD, W. P. Curcumin: the story so far. **European Journal of Cancer**, New York, v. 41, n. 13, p. 1955-1968, 2005.

SHARMA, S.; KUMARI, M.; SHARMA, D. K. Electro-reduction of 4-nitrobenzaldehyde in basic medium at Different Electrodes. **Nature and Science**, Richmond Hill, v.7, n. 3, p.84-98, 2009.

SHOBA, G et al. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 64, n. 4, p. 353-356, 1998.

SHUKLA, S.; MEHTA, A. Anticancer potential of medicinal plants and their phytochemicals: a review. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 199-210, 2015.

SMITH III, A. B. et al. Design and synthesis of (+)-discodermolide–paclitaxel hybrids leading to enhanced biological activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 54, n. 18, p. 6319-6327, 2011.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2015. **CA: a cancer journal for clinicians**, New York, v. 65, n. 1, p. 5-29, 2015.

SINGH, P. et al. 1,2,3-Triazole tethered β -lactam-chalcone bifunctional hybrids: synthesis and anticancer evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 47, p. 594-600, 2012.

SORDILLO, P. P.; HELSON, L. Curcumin suppression of cytokine release and cytokine storm. A potential therapy for patients with Ebola and other severe viral infections. **In vivo**, Attiki, v. 29, n. 1, p. 1-4, 2015.

SYU JR, W. et al. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 61, n. 12, p. 1531-1534, 1998.

THIMMEGOWDA, N. R. et al. Synthesis and antitumor activity of natural compound aloe emodin derivatives. **Chemical Biology & Drug Design**, Oxford, v. 85, n. 5, p. 638-644, 2015.

UNGPHAIBOON, S. et al. Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, Hat Yai, v. 27, n. 2, p. 269-578, 2005.

URTASUN, R.; BERASAIN, C.; AVILA, M. A. Oxidative stress mechanisms in hepatocarcinogenesis. In: **Studies on hepatic disorders**. Springer International Publishing, 2015.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VENKATESWARLU, S.; RAMACHANDRA, M. S.; SUBBARAJU, G. V. Synthesis and biological evaluation of polyhydroxycurcuminoids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 13, n. 23, p. 6374-6380, 2005.

VIEGAS-JUNIOR, C. et al. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 14, n. 17, p. 1829-1852, 2007.

WADA, K. et al. Novel curcumin analogs to overcome EGFR–TKI lung adenocarcinoma drug resistance and reduce EGFR–TKI-induced GI adverse effects. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 23, n. 7, p. 1507-1514, 2015.

WAN, P; XU, X. Disproportionation of 4-nitroacetophenone to 4-aminoacetophenone and 4-nitrobenzoic acid. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 54, p. 4473-4474, 1989.

WANG, J. et al. Anti-inflammatory activity of curcumin-loaded solid lipid nanoparticles in IL-1 β transgenic mice subjected to the lipopolysaccharide-induced sepsis. **Biomaterials**, Surrey, v. 53, p. 475-483, 2015.

WEBER, M.; FREY, W.; PETERS, R. Catalytic asymmetric synthesis of spirocyclic azlactones by a Double Michael-Addition approach. **Chemistry: a european journal**, v. 19, n. 25, p. 8342-8351, 2013.

WITTMAN, M. D. et al. Synthesis and antitumor activity of novel paclitaxel–chlorambucil hybrids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 11, n. 6, p. 811-814, 2001.

YAMAKOSHI, H. et al. Structure–activity relationship of C5-curcuminoids and synthesis of their molecular probes thereof. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 1083-1092, 2010.

YU, Y. et al. Inhibition of spleen tyrosine kinase potentiates paclitaxel-induced cytotoxicity in ovarian cancer cells by stabilizing microtubules. **Cancer Cell**, Cambridge, v. 28, n. 1, p. 82-96, 2015.

ZAIDI, S. N. F.; MAHBOOB, T. Effect of curcumin supplementation on antioxidant enzymes in liver cirrhosis: study in rats. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Lahore, v. 48, n. 1, p. 3-6, 2015.

ZHAI, P. et al. Syntheses and evaluation of asymmetric curcumin analogues as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. **Current Alzheimer Research**, Oak Park, v. 12, n. 5, p. 403-414, 2015.

ZHANG, Y. et al. Design, synthesis and biological activity of new polyenolic inhibitors of matrix metalloproteinases: a focus on chemically-modified curcumins. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 19, n. 25, p. 4348-4358, 2012.

ZHANG, Y. et al. Anti-angiogenic activity of salvicine. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 51, n. 8, p. 1061-1065, 2013.

ZHAO, H. et al. Cinnamaldehyde in a novel intravenous submicrometer emulsion: pharmacokinetics, tissue distribution, antitumor efficacy, and toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 63, n. 28, p. 6386-6392, 2015.

ZHOU, J.; GIANNAKAKOU, P. Targeting microtubules for cancer chemotherapy. **Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 1, p. 65-71, 2005.

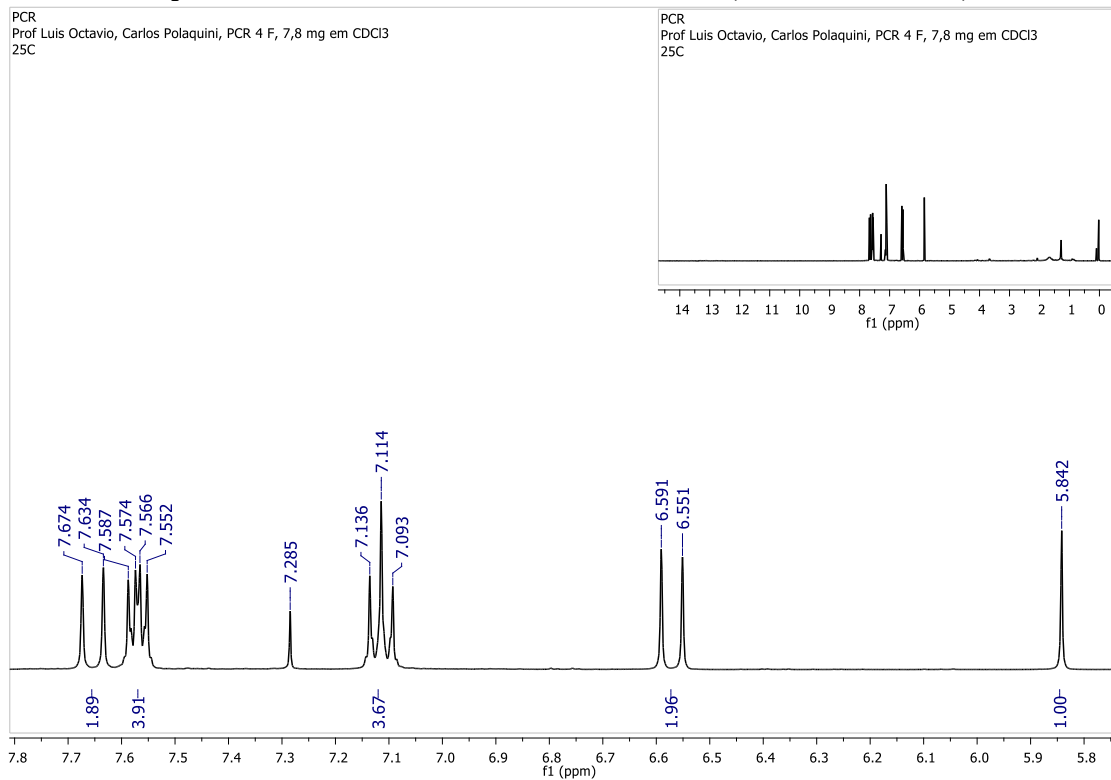
ZUO, Y. et al. Synthesis, cytotoxicity of new 4-arylidene curcumin analogues and their multi-functions in inhibition of both NF- κ B and Akt signalling. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 55, p. 346-357, 2012.

7. ANEXOS

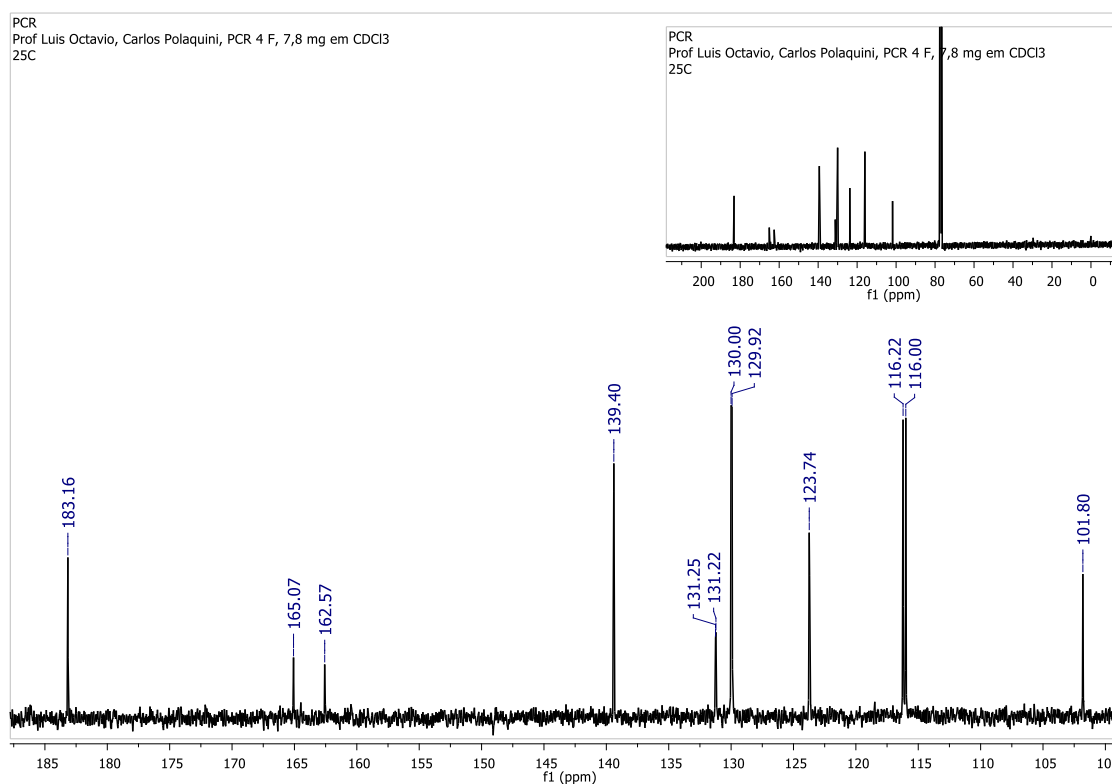
CURCUMINOIDE I.2 (Huo et al., 2009; Elavarasan et al., 2014)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1,7-bis(4-fluorfenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide I.2 (CDCl_3 ; 400 MHz)



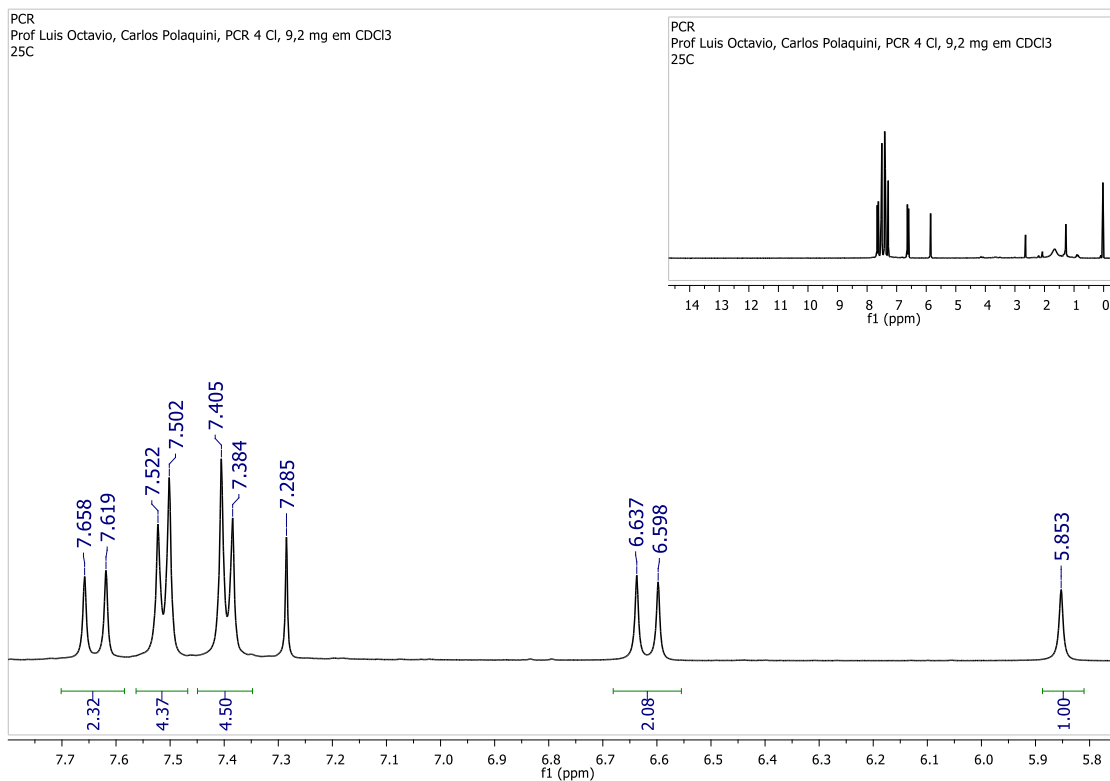
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide I.2 (CDCl_3 ; 100 MHz)



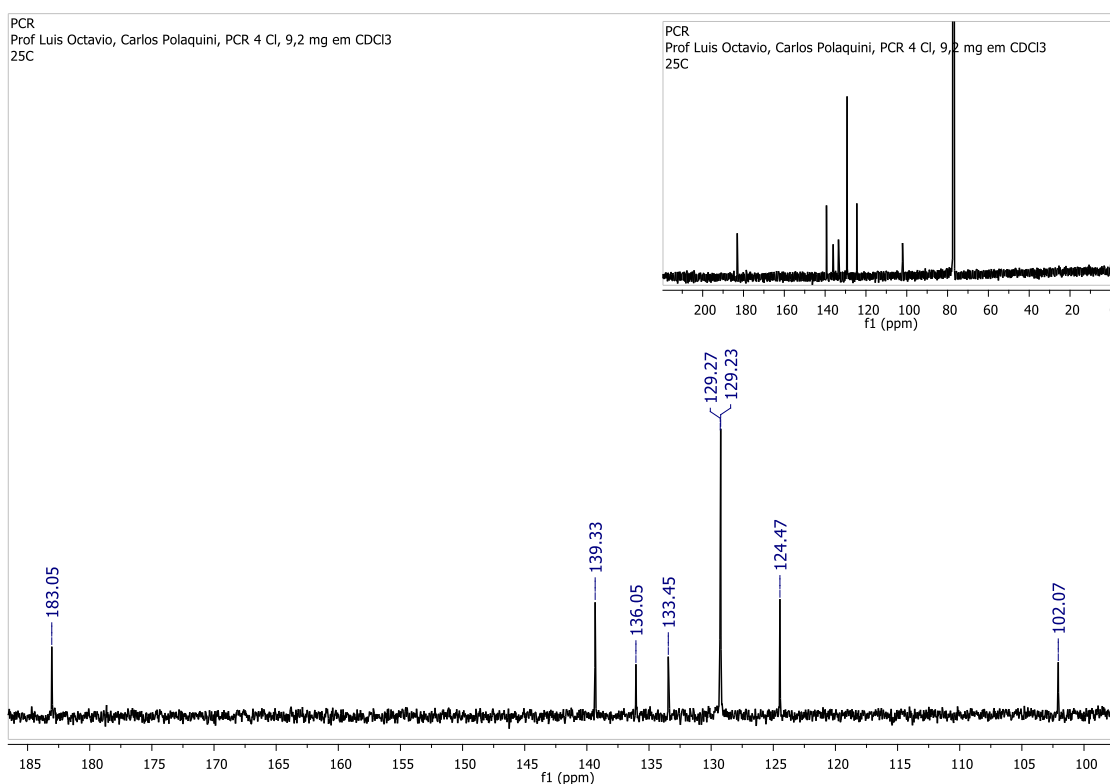
CURCUMINOIDE I.4 (Nurfina et al., 1997; Konatham, Kumar & Aukunuru, 2010)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1,7-bis(4-clorofenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.4 (CDCl_3 ; 400 MHz)



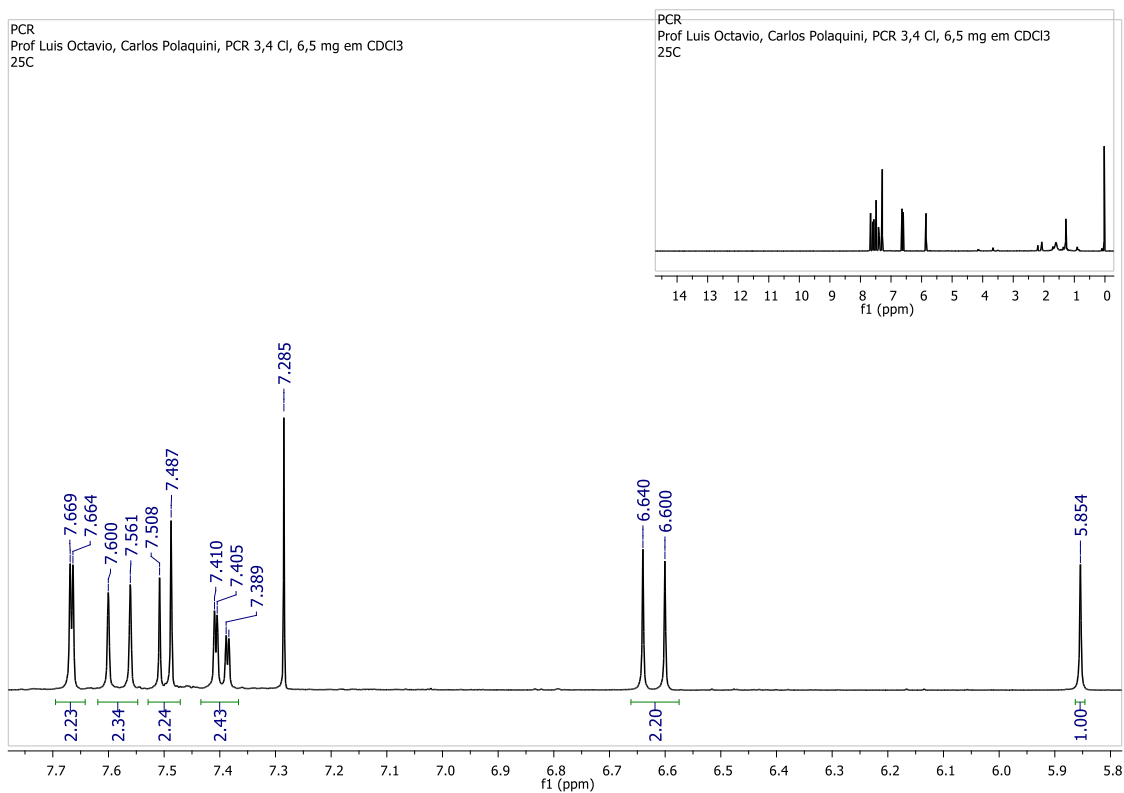
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.4 (CDCl_3 ; 100 MHz)



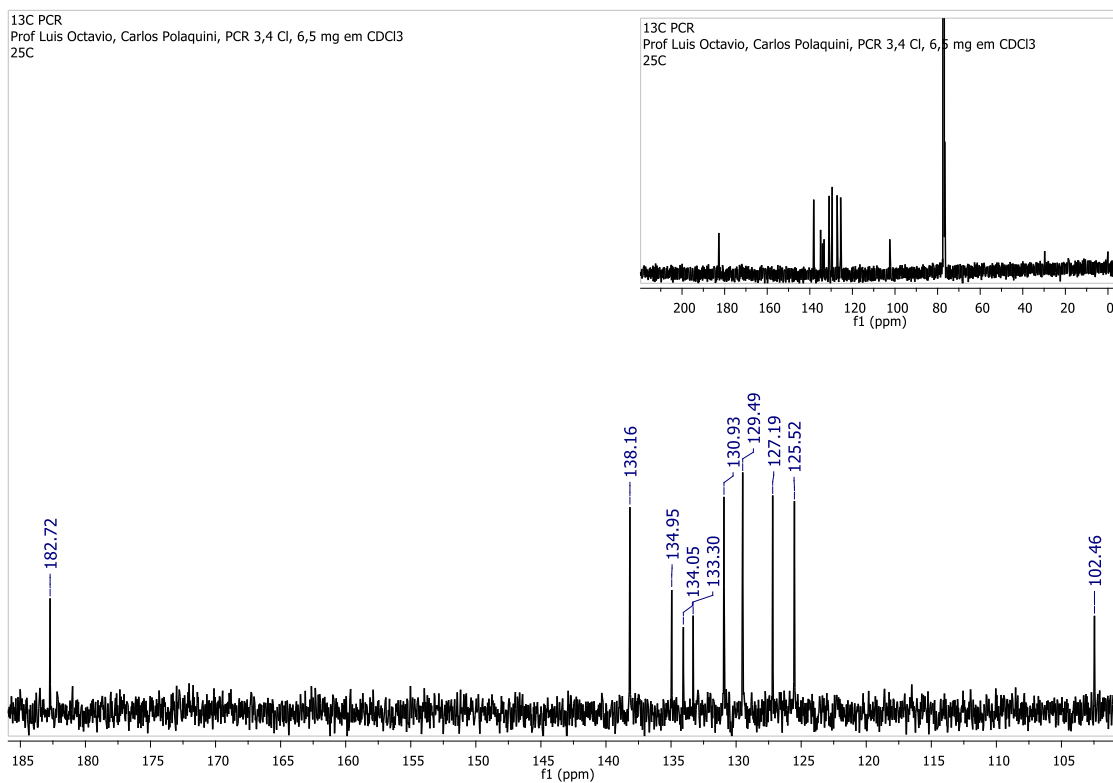
CURCUMINOIDE I.5 (Gomes et al., 2001)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1,7-bis(3,4-diclorofenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide **I.5** (CDCl_3 ; 400 MHz)



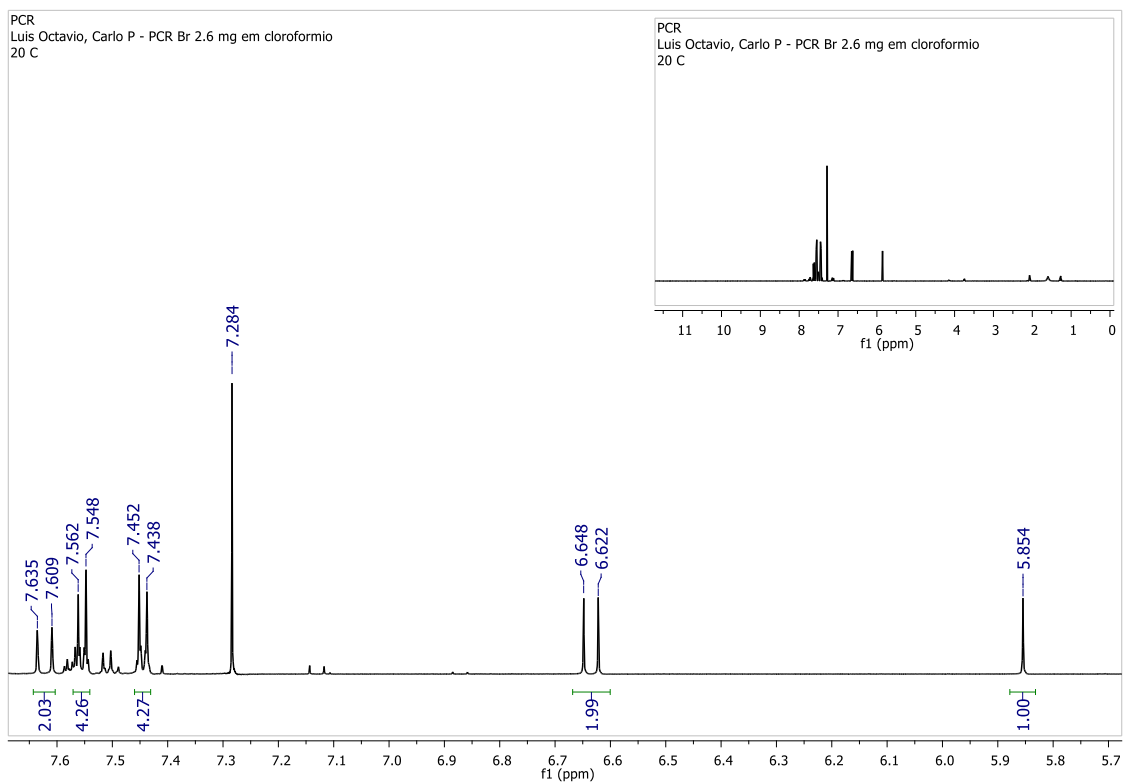
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide **I.5** (CDCl_3 ; 100 MHz)



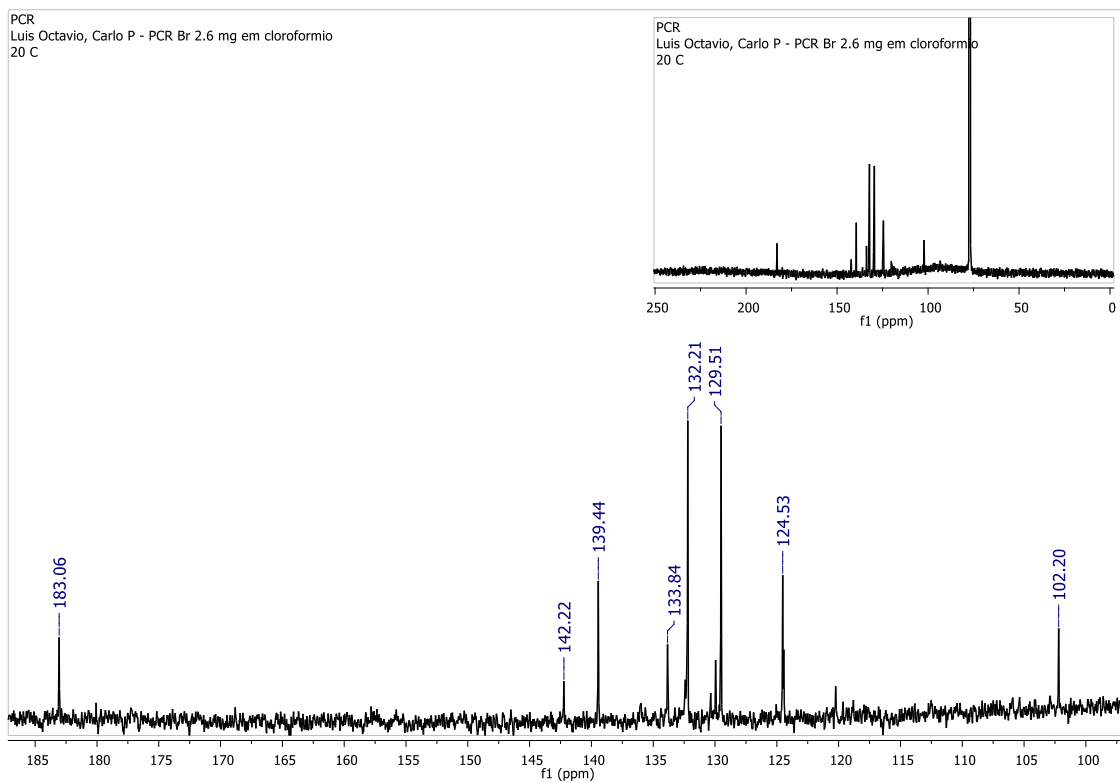
CURCUMINOIDE I.6 (Gomes et al., 2001)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1,7-bis(4-bromofenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.6** (CDCl_3 ; 600 MHz)



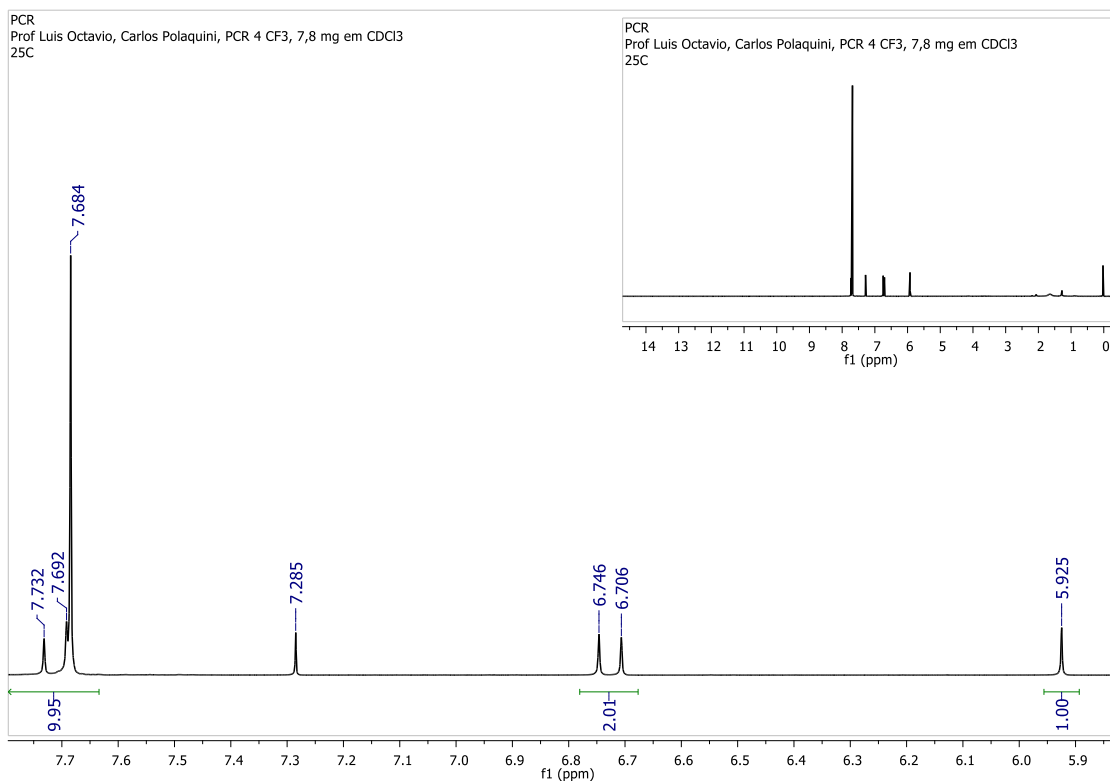
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.6** (CDCl_3 ; 150 MHz)



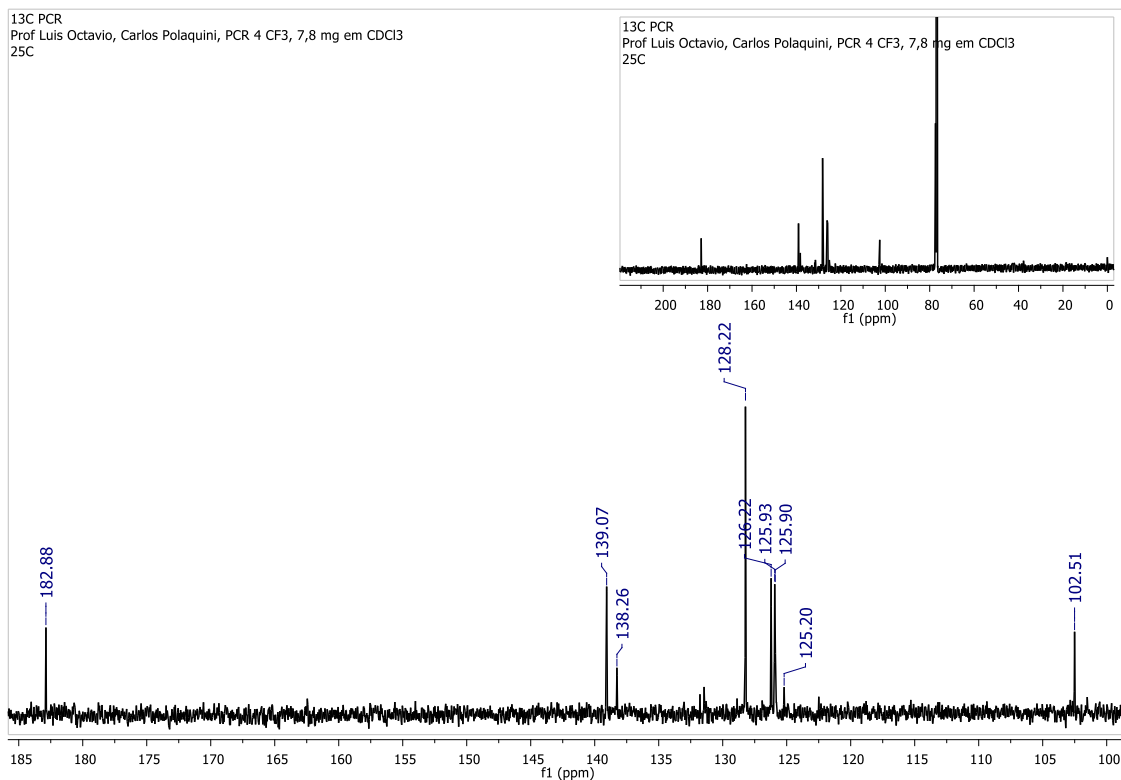
CURCUMINOIDE I.7

Cristais amarelo - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-(trifluormetil)-fenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.7** (CDCl_3 ; 400 MHz)



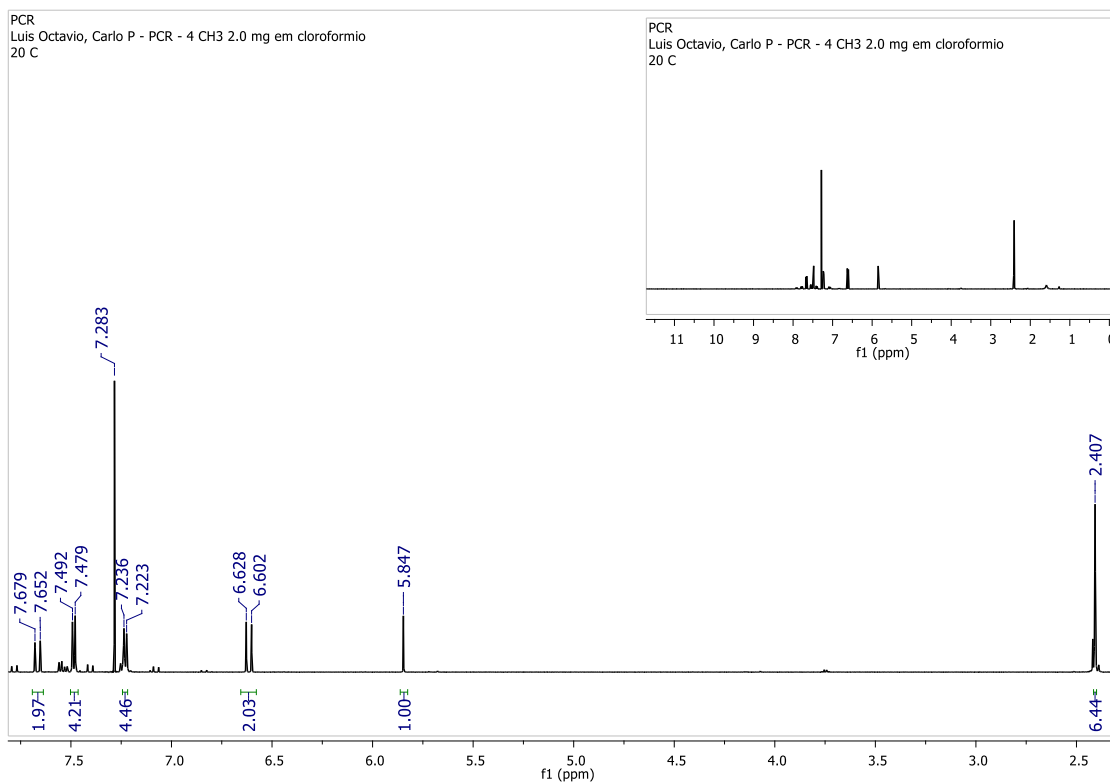
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.7** (CDCl_3 ; 100 MHz)



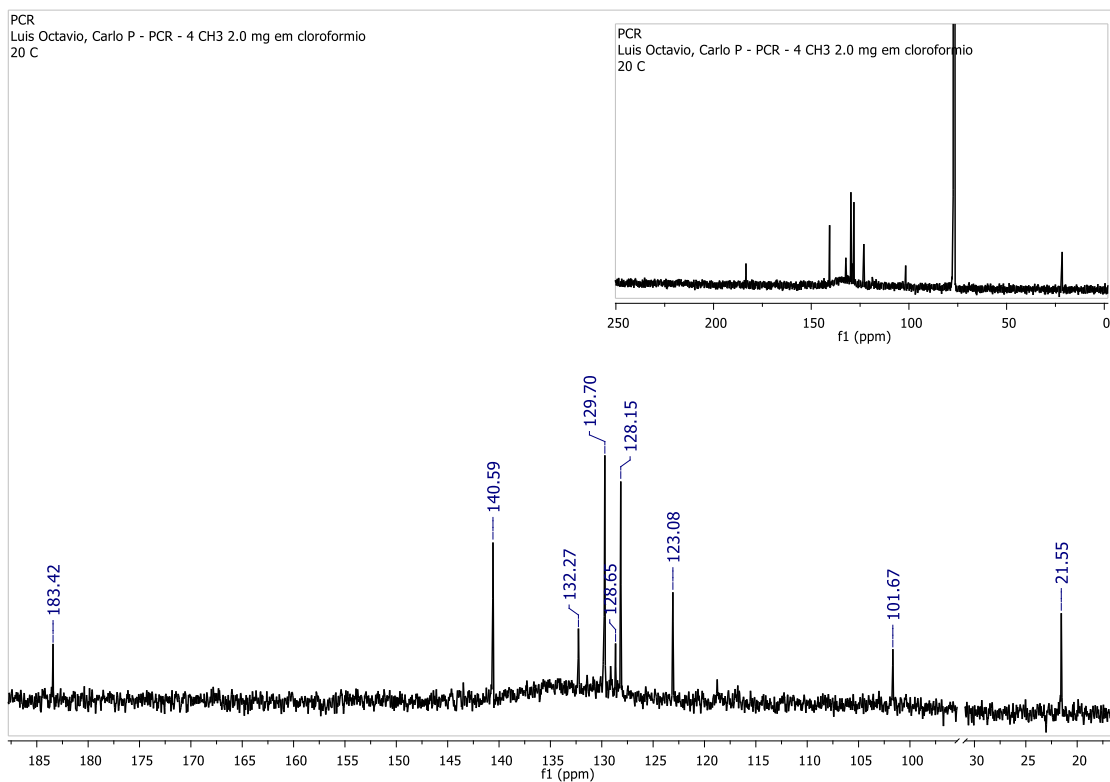
CURCUMINOIDE I.12 (Konatham, Kumar & Aukunuru, 2010; Khan et al., 2012)

Cristais amarelo - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-metilfenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.12** (CDCl_3 ; 600 MHz)



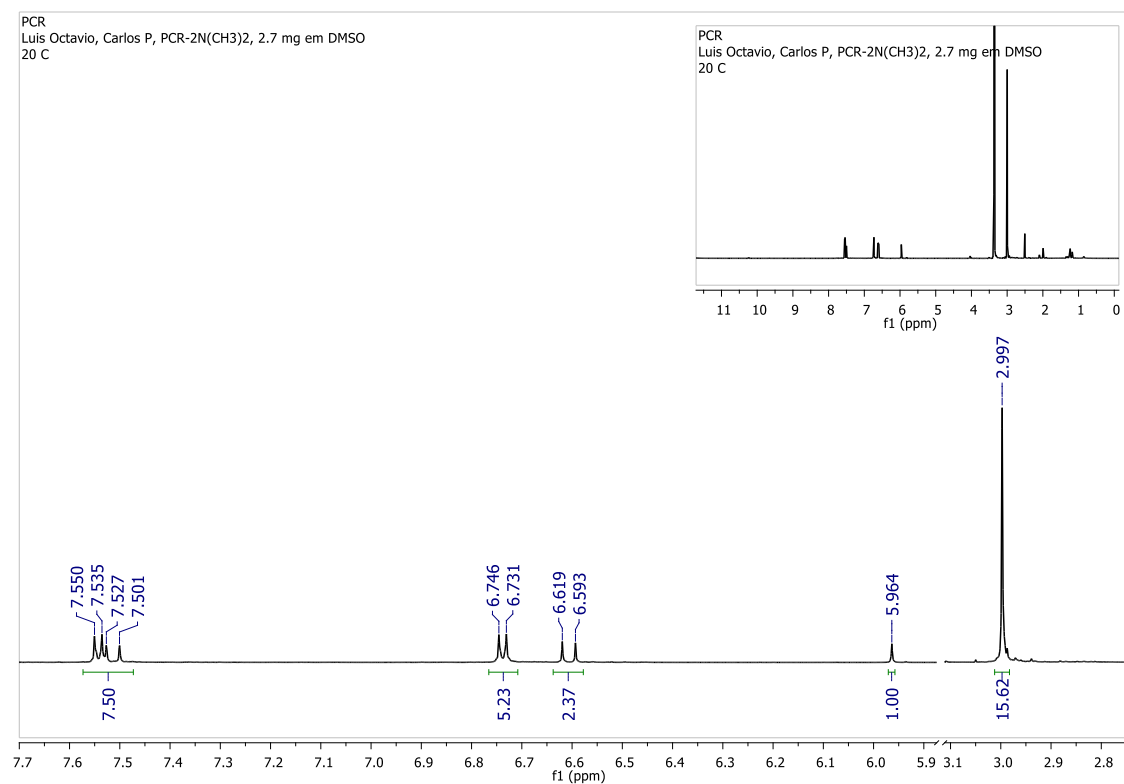
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.12** (CDCl_3 ; 150 MHz)



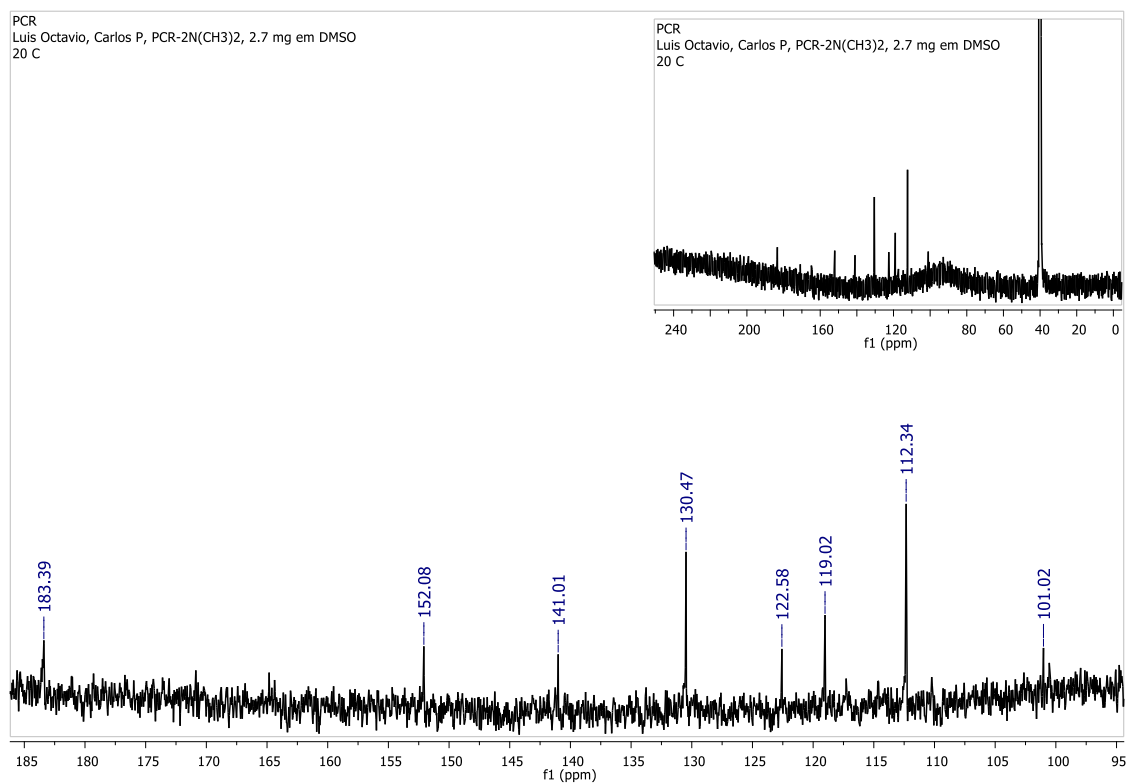
CURCUMINOIDE I.13 (Konatham, Kumar & Aukunuru, 2010; Zhang et al., 2012)

Cristais vermelho -*(1E,6E)-1,7-bis(4-(dimetilamino)-fenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona*

Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.13** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.13** ($\text{DMSO-}d_6$; 150 MHz)



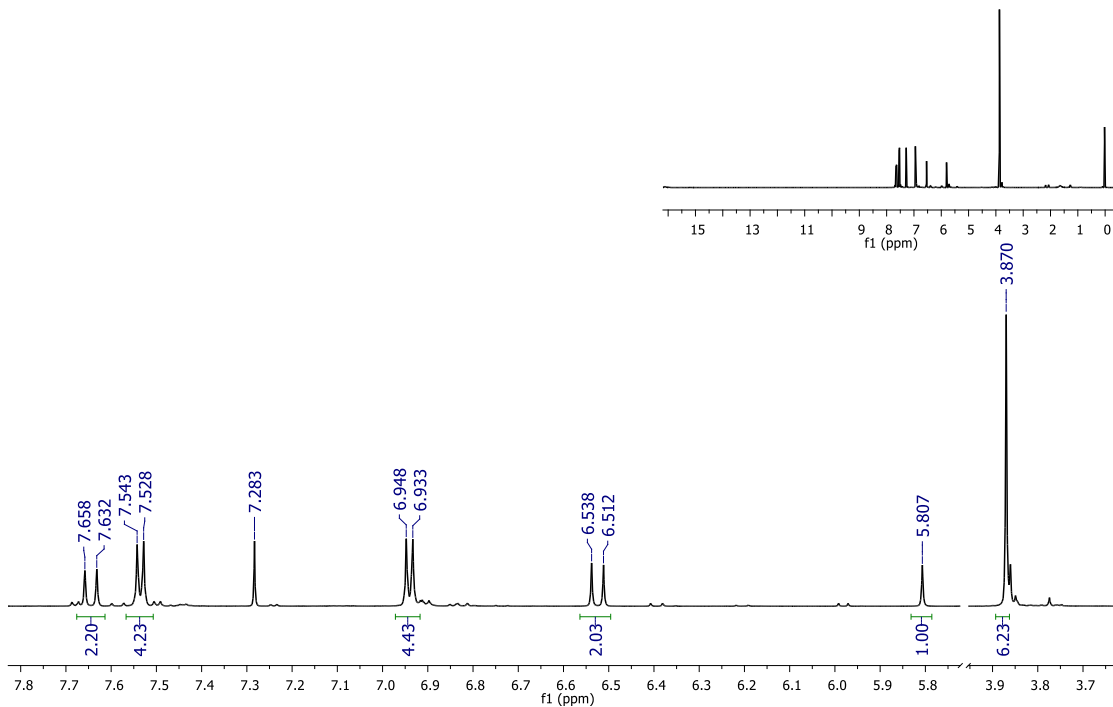
CURCUMINOIDE I.16 (Khan et al., 2012)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1,7-bis(4-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide I.16 (CDCl_3 ; 600 MHz)

PCR
Prof. Luis Octavio, amostra Pol-OCH3 (10.8 mg) em CDCl_3
20 C

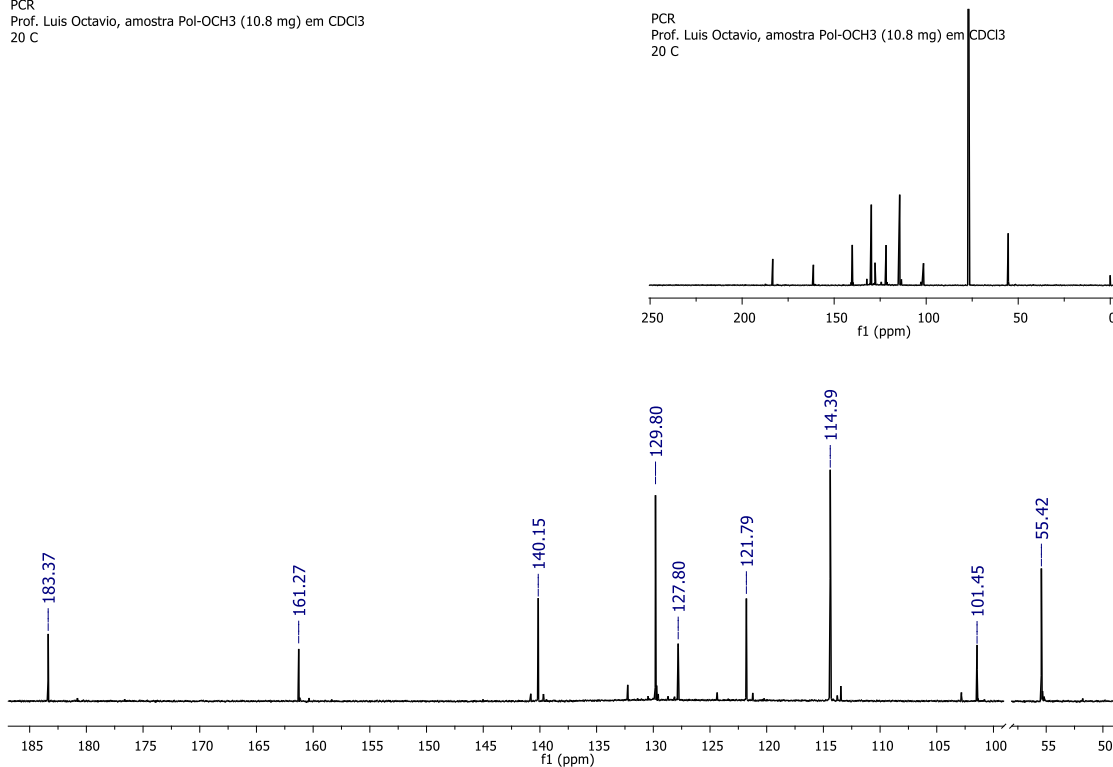
PCR
Prof. Luis Octavio, amostra Pol-OCH3 (10.8 mg) em CDCl_3
20 C



Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide I.16 (CDCl_3 ; 150 MHz)

PCR
Prof. Luis Octavio, amostra Pol-OCH3 (10.8 mg) em CDCl_3
20 C

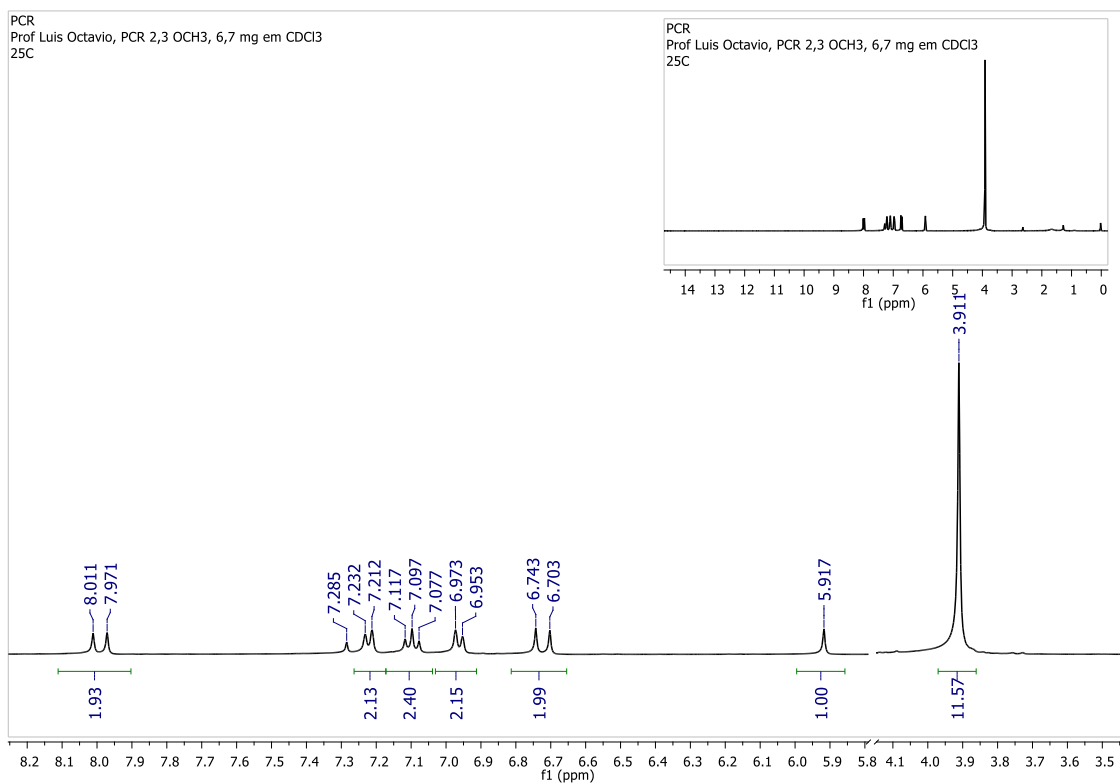
PCR
Prof. Luis Octavio, amostra Pol-OCH3 (10.8 mg) em CDCl_3
20 C



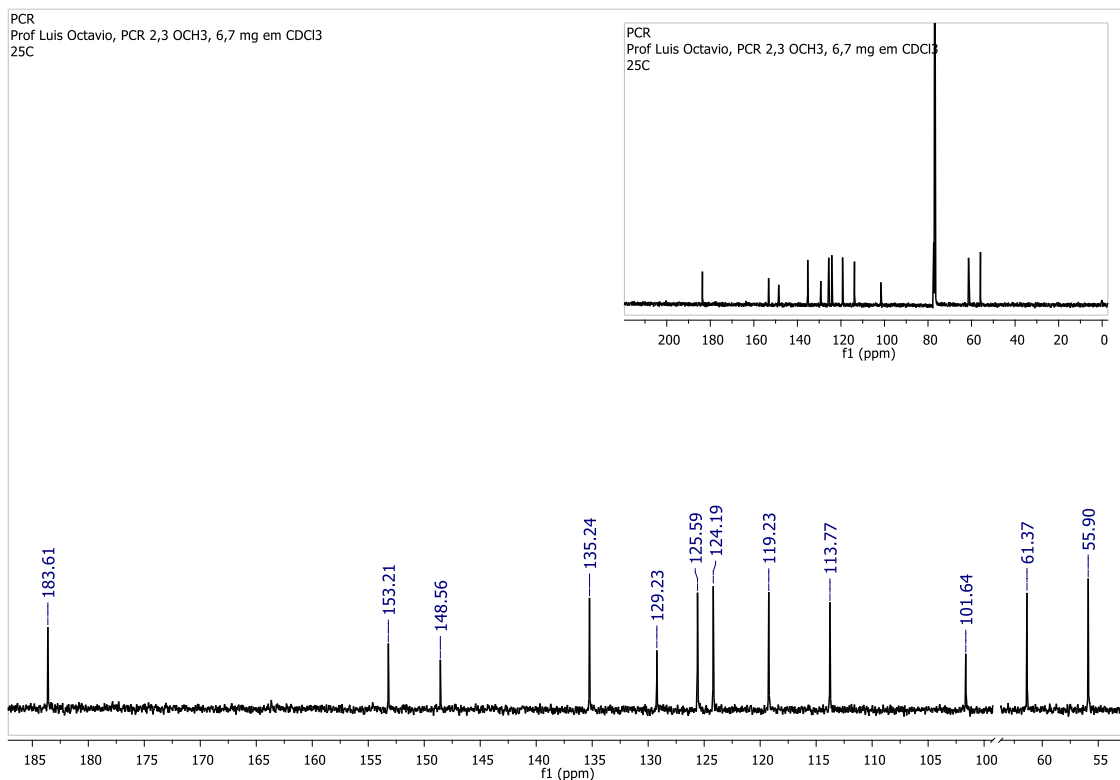
CURCUMINOIDE I.17 (Lei, Bi & Jie, 2011)

Sólido laranja - (1E,6E)-1,7-bis(2,3-dimetoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 17. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.17** (CDCl_3 ; 400 MHz)



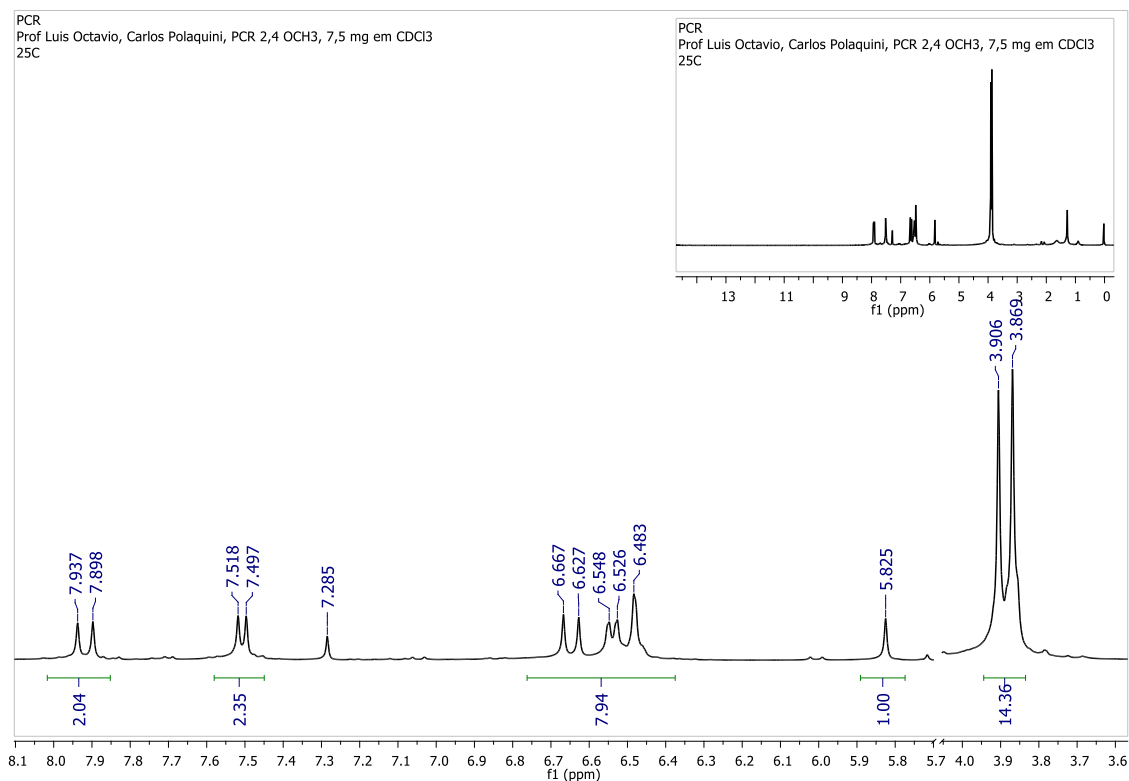
Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.17** (CDCl_3 ; 100 MHz)



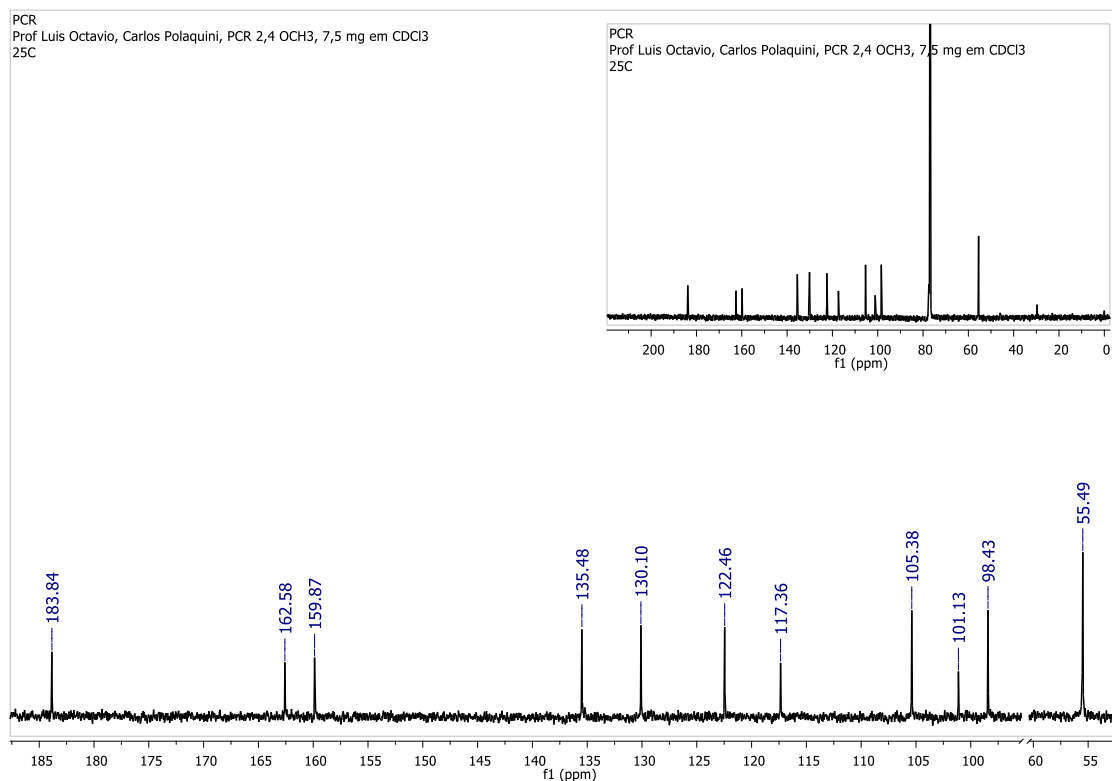
CURCUMINOIDE I.18 (Zuo et al., 2012)

Sólido laranja - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(2,4-dimetoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 19. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.18** (CDCl_3 ; 400 MHz)



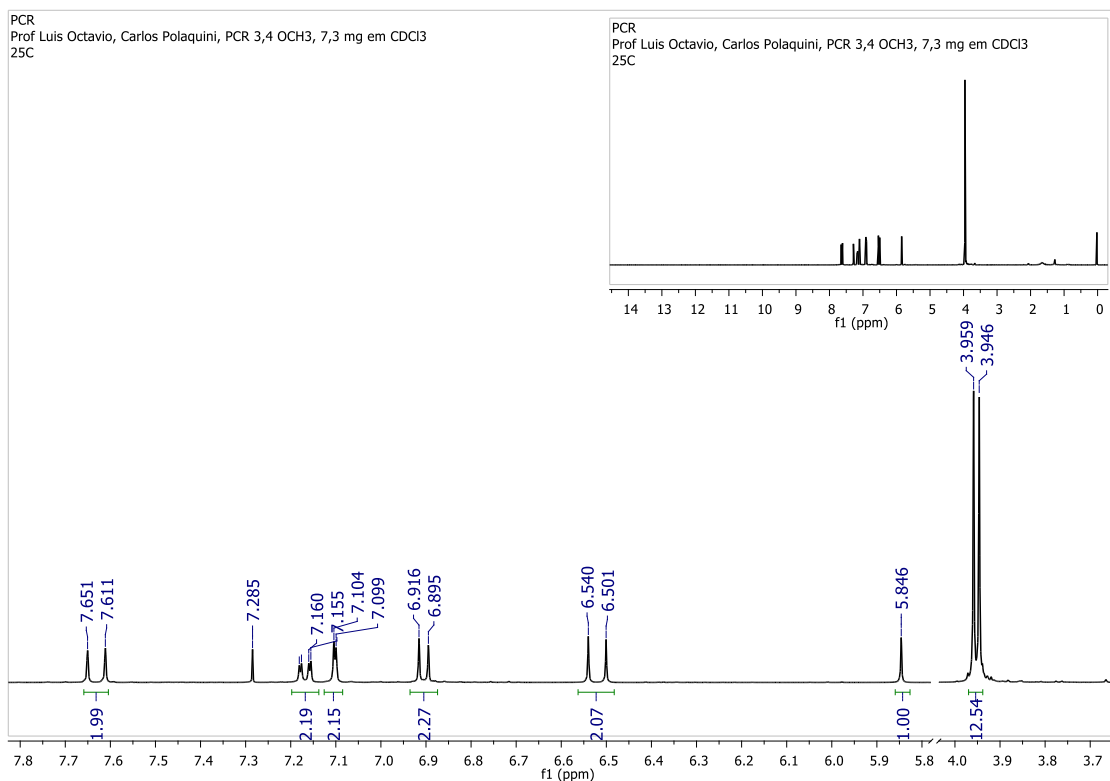
Anexo 20. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.18** (CDCl_3 ; 100 MHz)



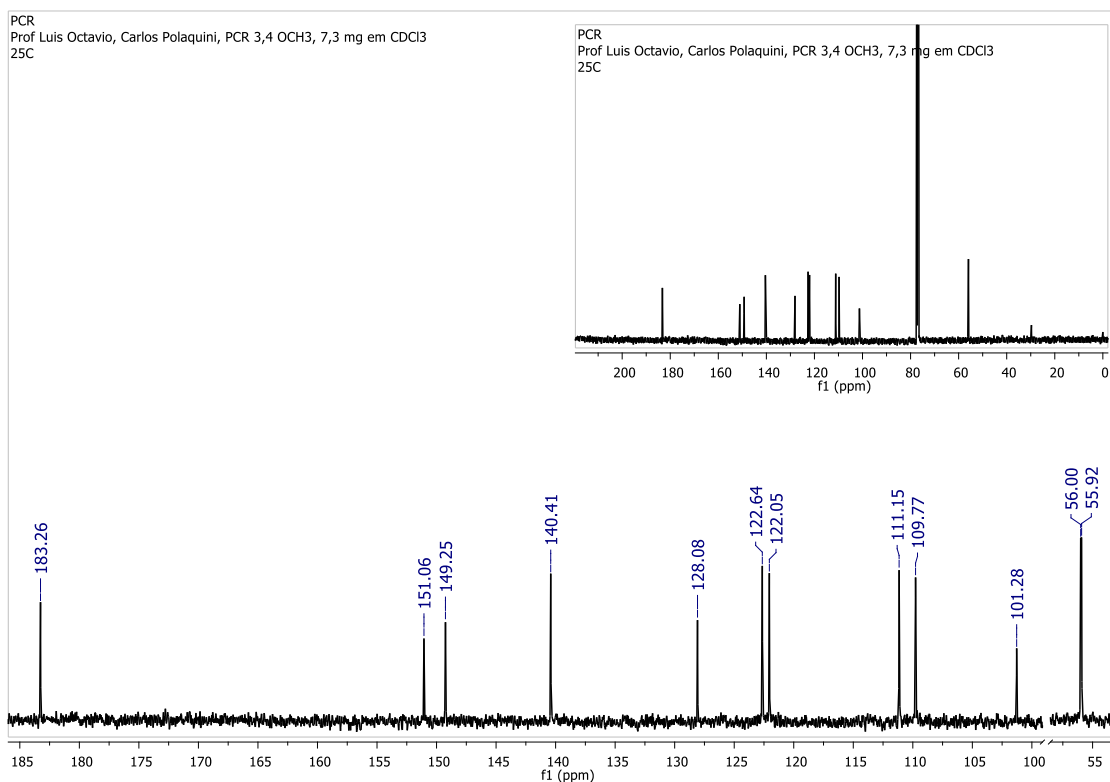
CURCUMINOIDE I.20 (Konno et al., 2014)

Sólido laranja - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(3,4-dimetoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 21. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.20** (CDCl_3 ; 400 MHz)



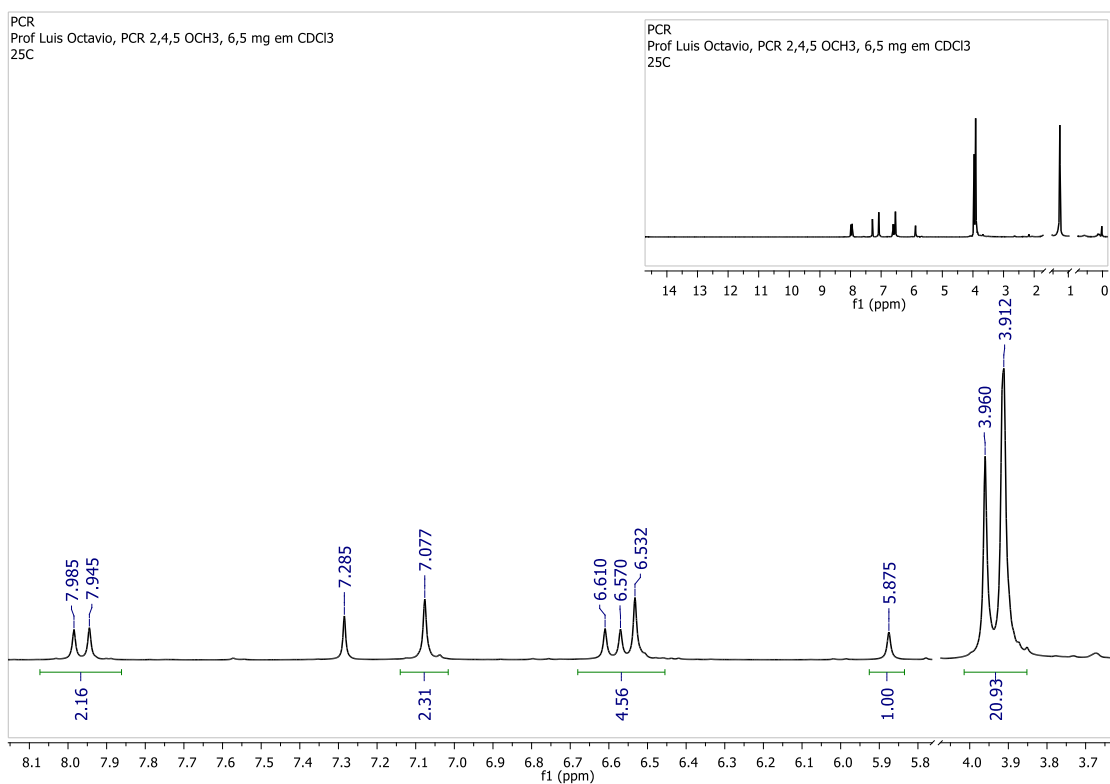
Anexo 22. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.20** (CDCl_3 ; 100 MHz)



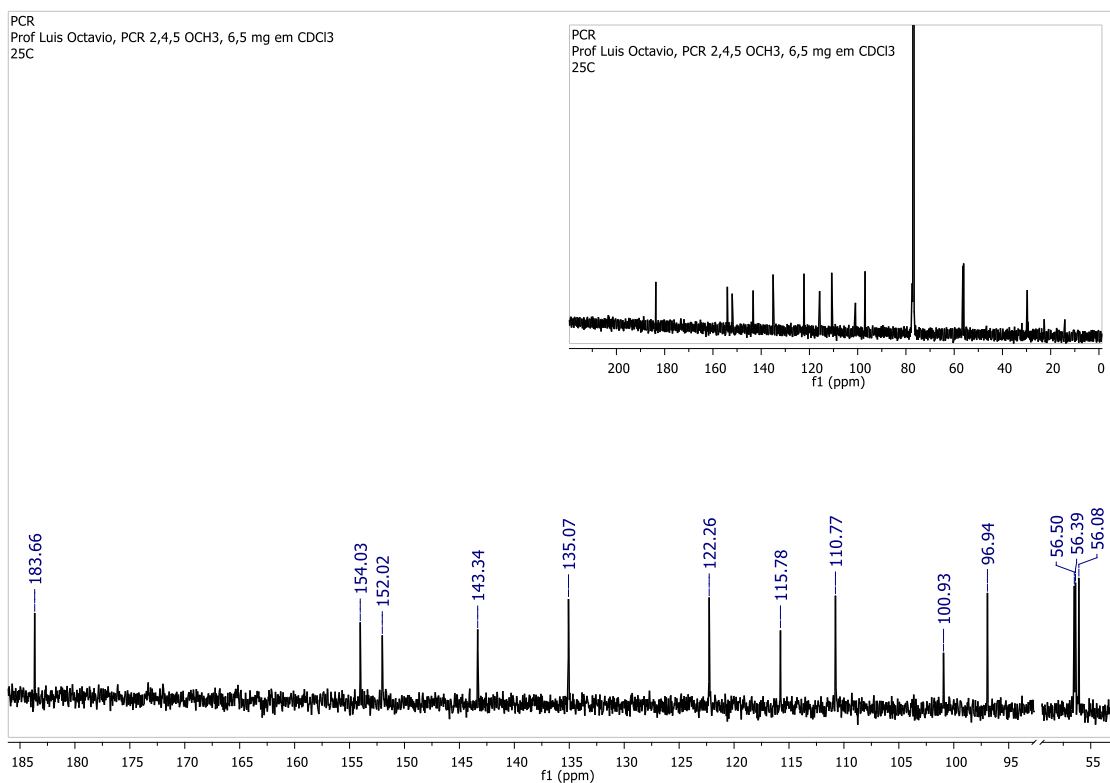
CURCUMINOIDE I.21 (Wada et al., 2015)

Sólido laranja - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(2,4,5-trimetoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 23. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.21** (CDCl_3 ; 400 MHz)



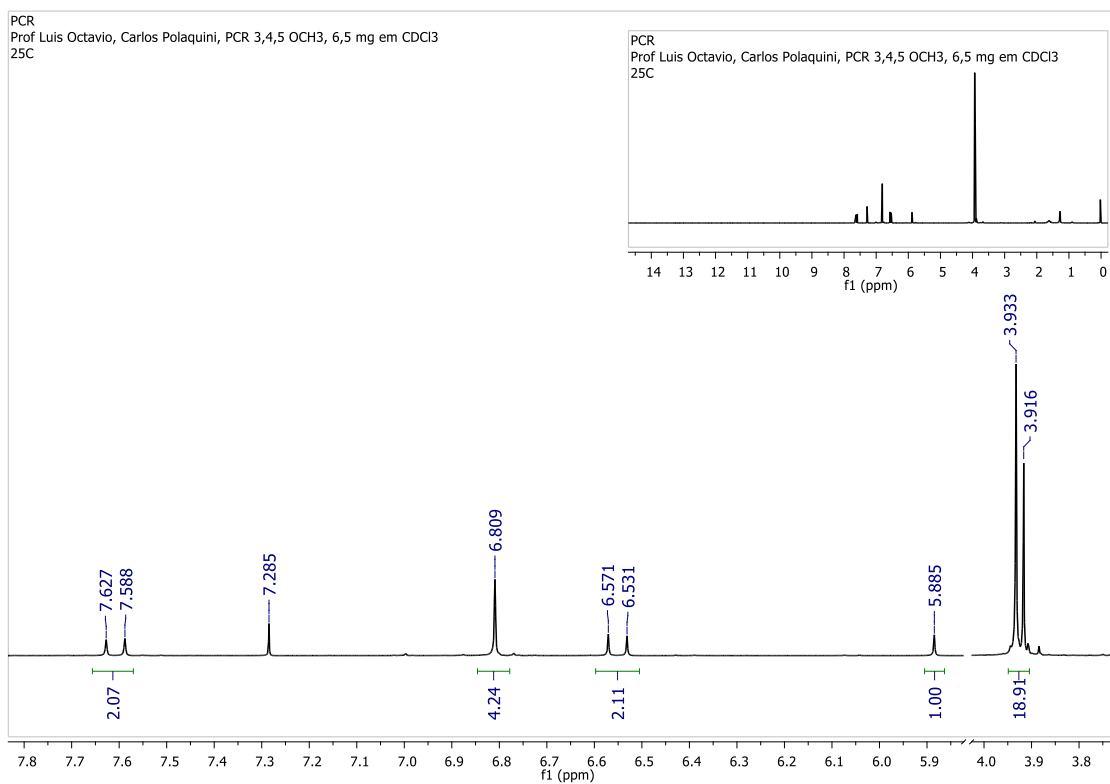
Anexo 24. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.21** (CDCl_3 ; 100 MHz)



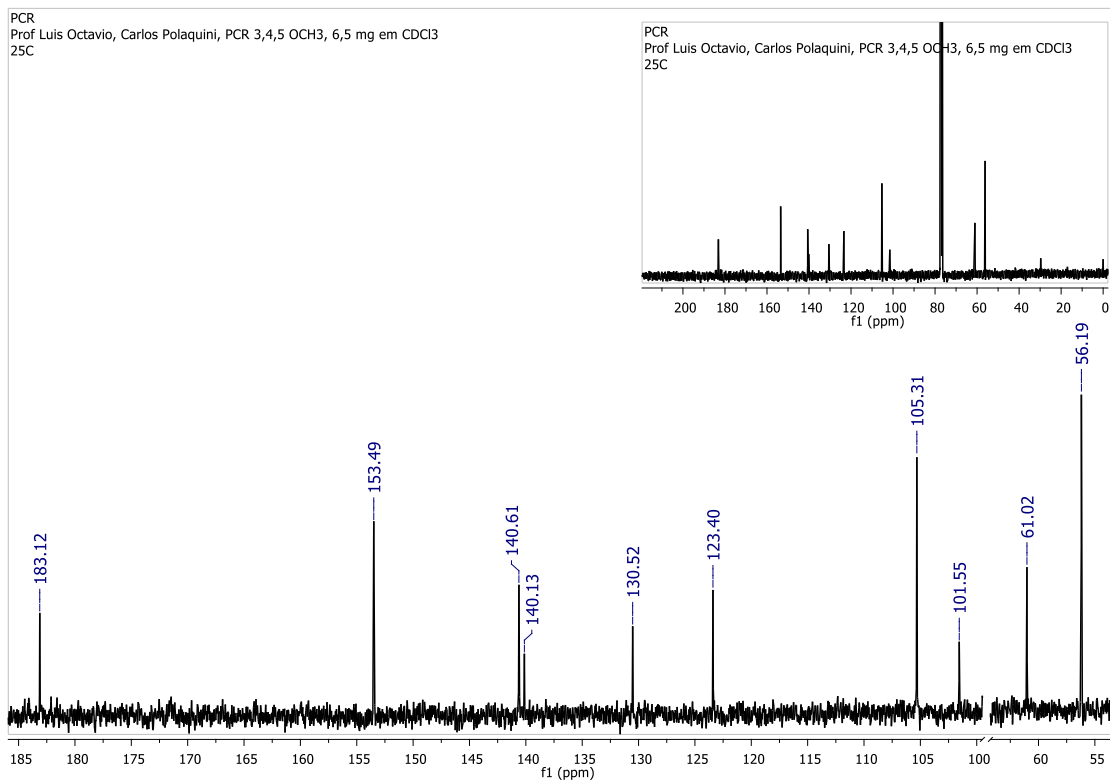
CURCUMINOIDE I.22 (Hahm et a., 2004)

Sólido laranja – (1E,6E)-1,7-bis(3,4,5-trimetoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 25. Espectro de RMN de ^1H do curcuminoide **I.22** (CDCl_3 ; 400 MHz)



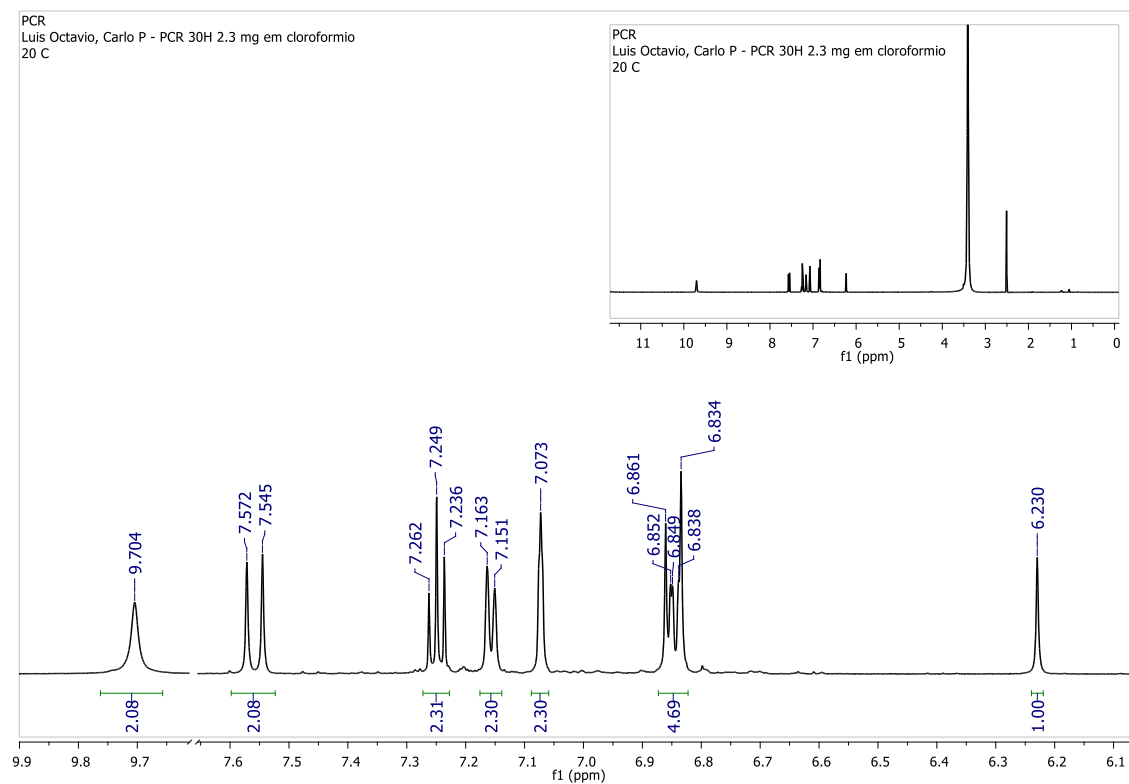
Anexo 26. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminoide **I.22** (CDCl_3 ; 100 MHz)



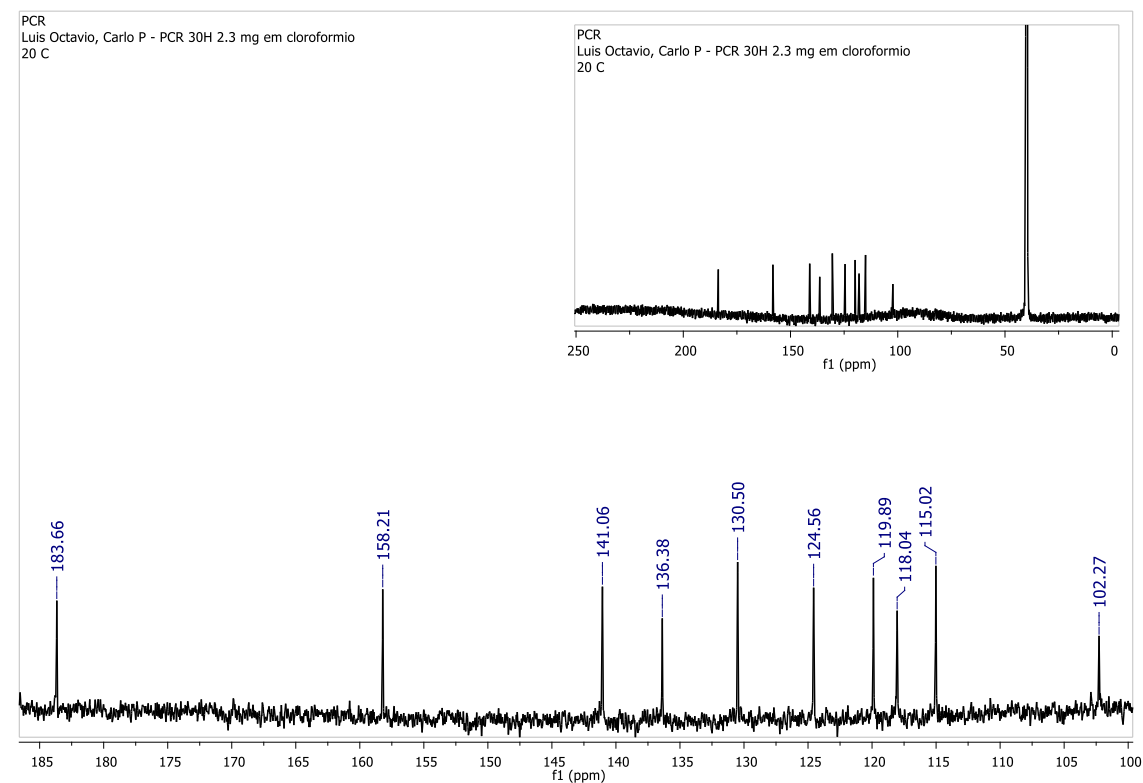
CURCUMINOIDE I.25 (Hahm et al., 2002; Katsuyama et al., 2010)

Cristal amarelo - (1*E*,6*E*)-1,7-bis(3-hidroxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona

Anexo 27. Espectro de RMN de ^1H do curcuminóide **I.25** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



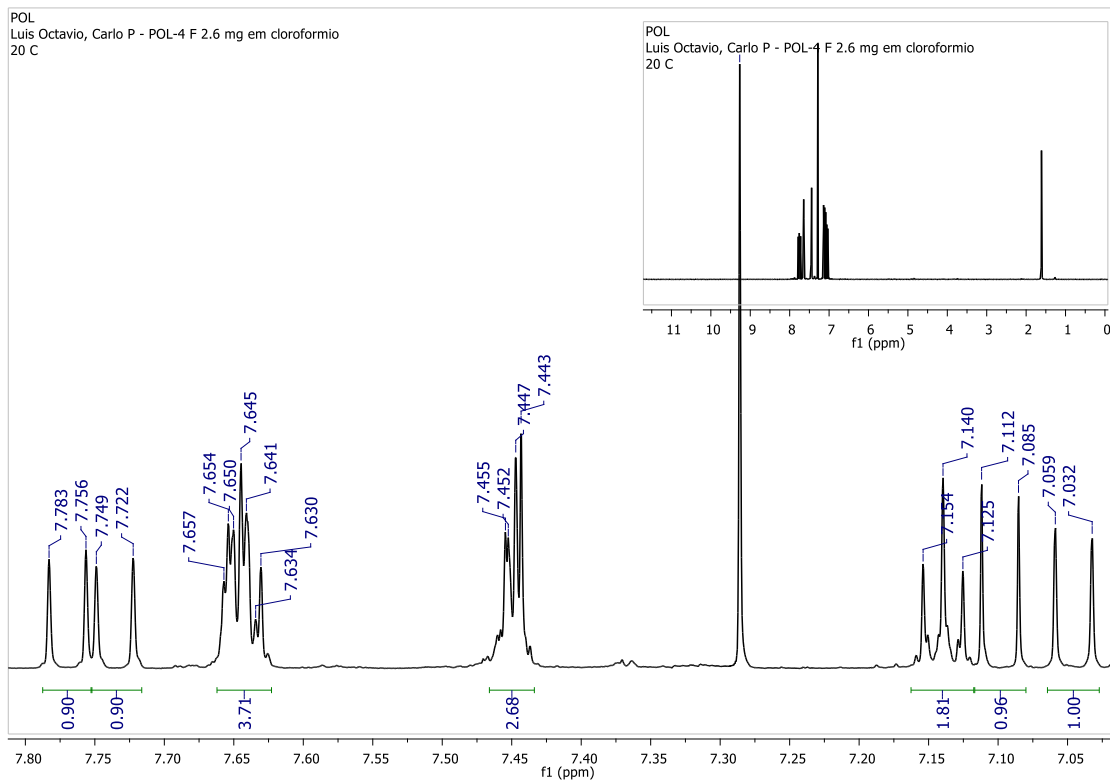
Anexo 28. Espectro de RMN de ^{13}C do curcuminóide **I.25** ($\text{DMSO-}d_6$; 150 MHz)



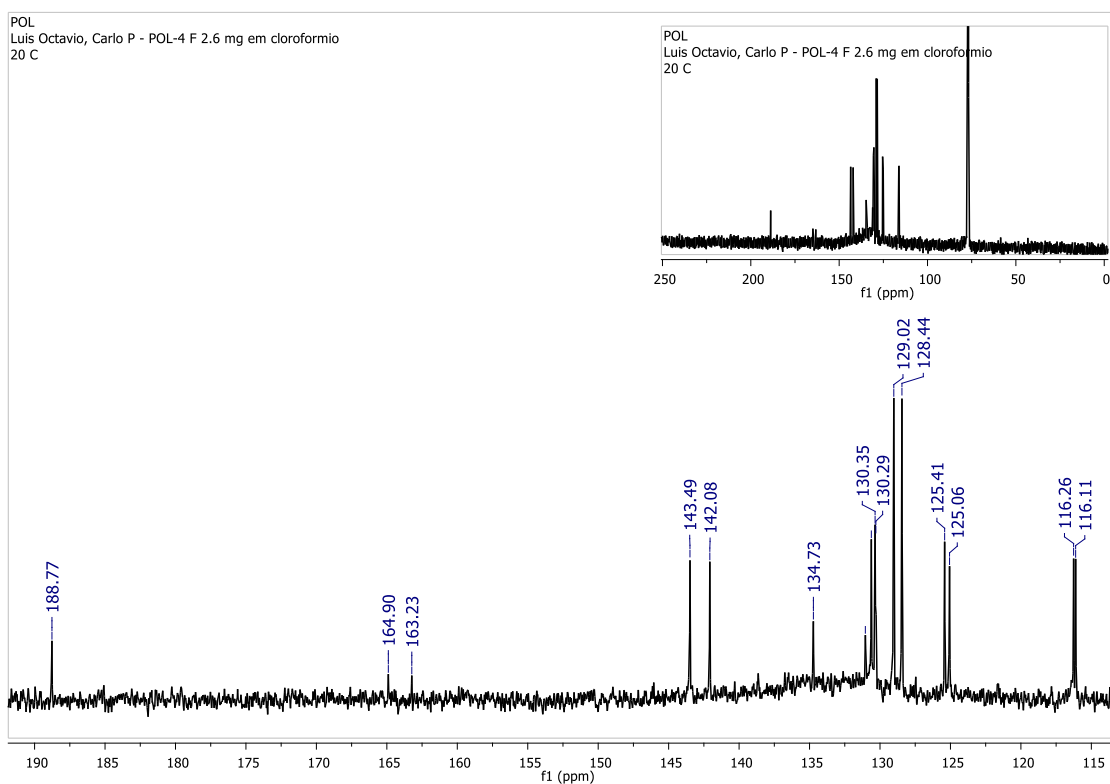
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.2 (Liu et al., 2013b)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(4-fluorfenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 29. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.2** (CDCl_3 ; 600 MHz)



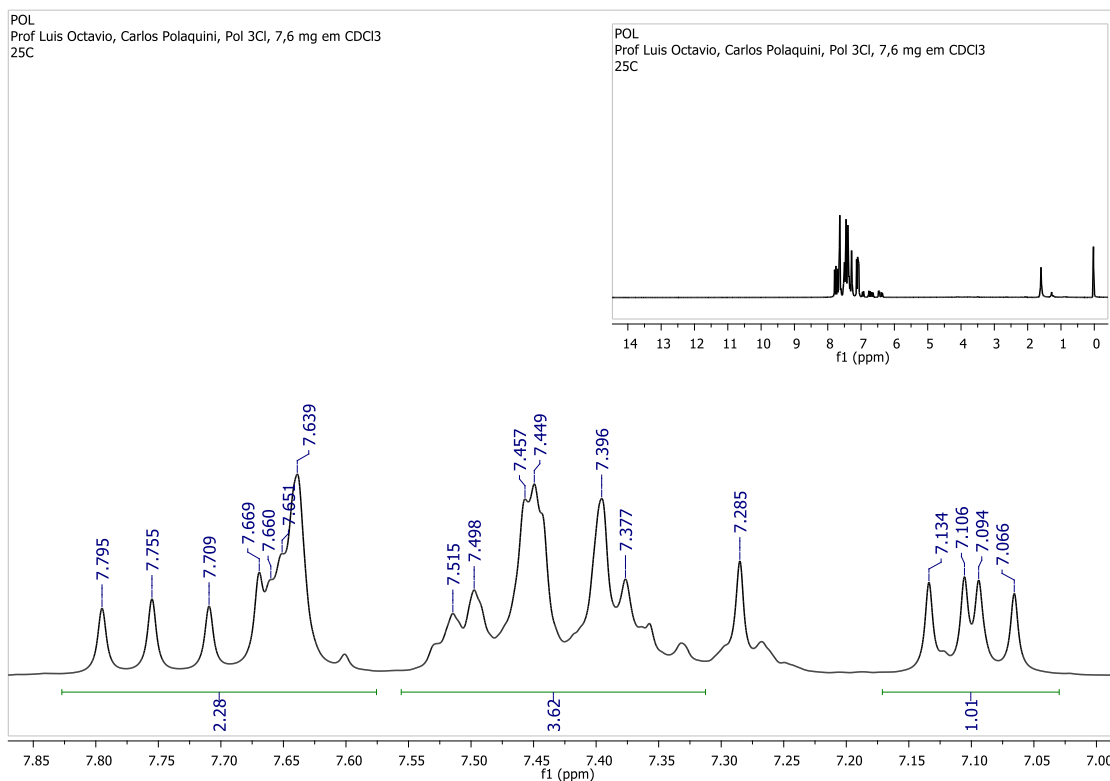
Anexo 30. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.2** (CDCl_3 ; 150 MHz)



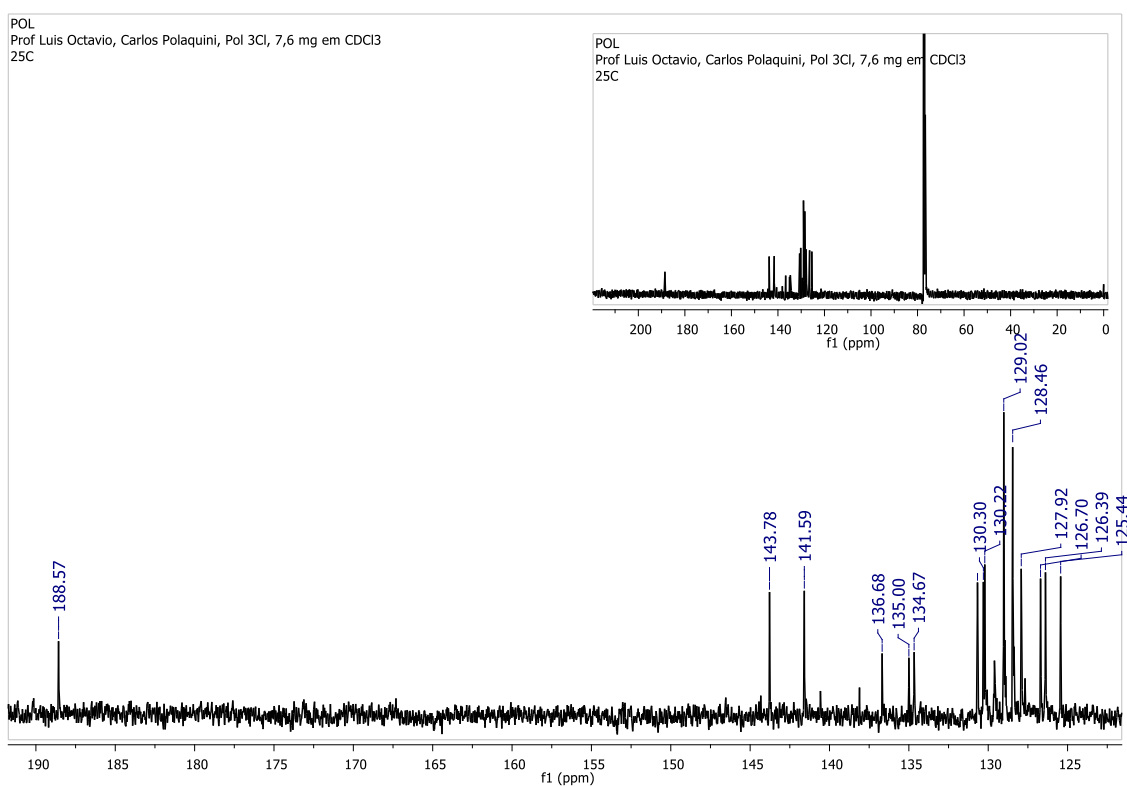
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.3 (Nair et al., 2007)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(3-clorofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.3** (CDCl_3 ; 400 MHz)



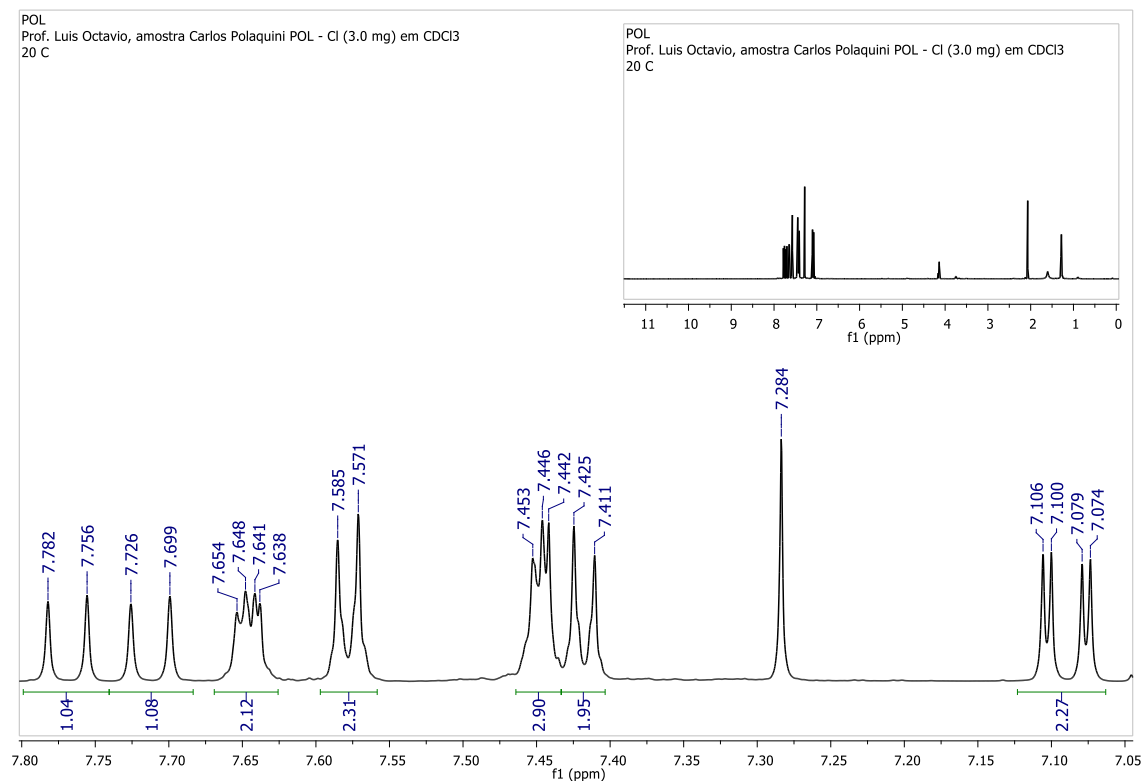
Anexo 32. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.3** (CDCl_3 ; 100 MHz)



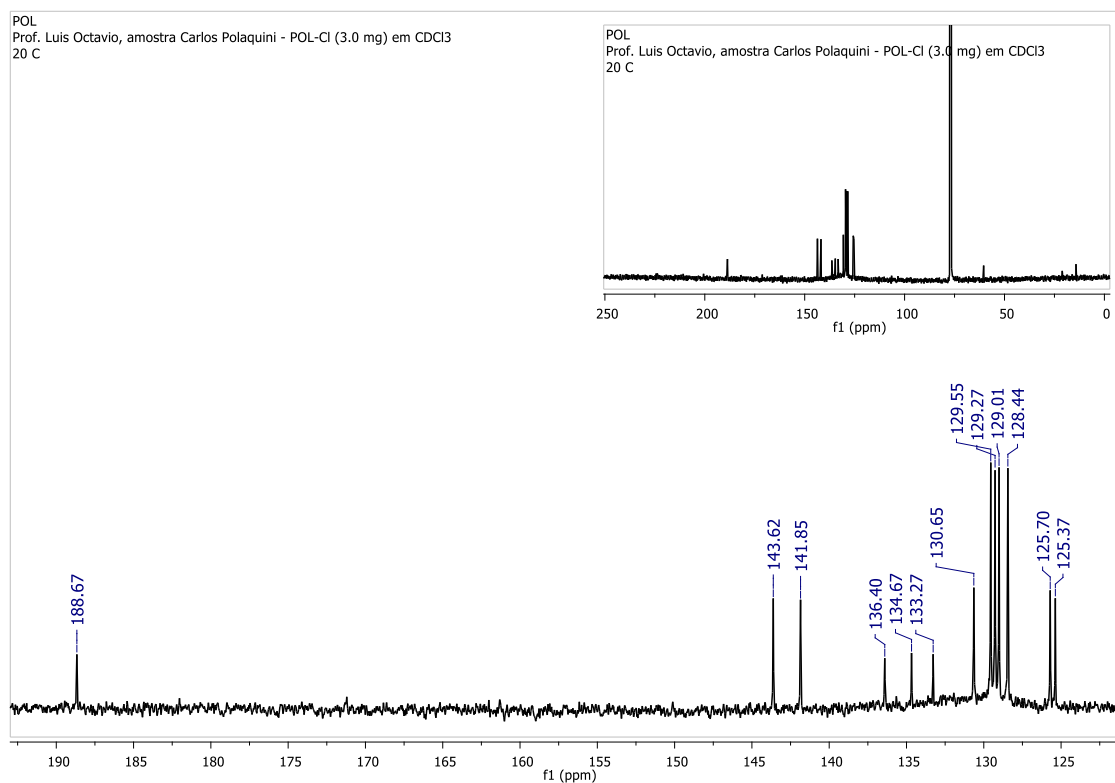
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.4 (Roman et al., 2015)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(4-clorofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 33. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.4** (CDCl_3 ; 600 MHz)



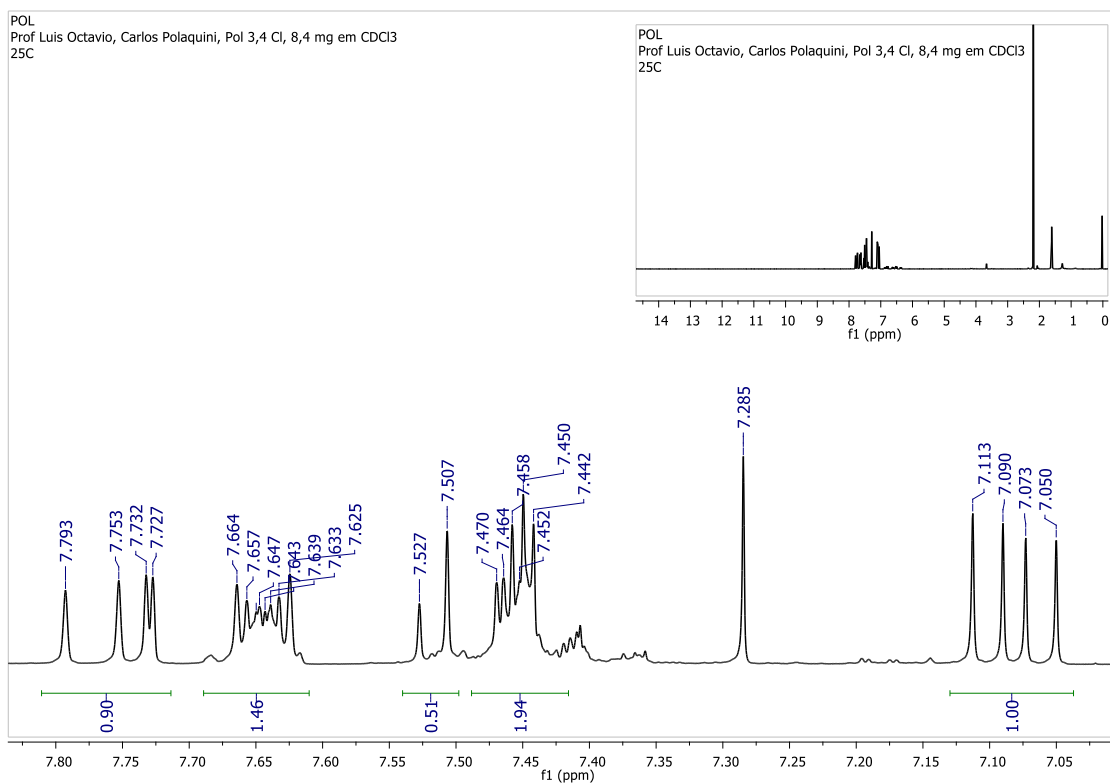
Anexo 34. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.4** (CDCl_3 ; 150 MHz)



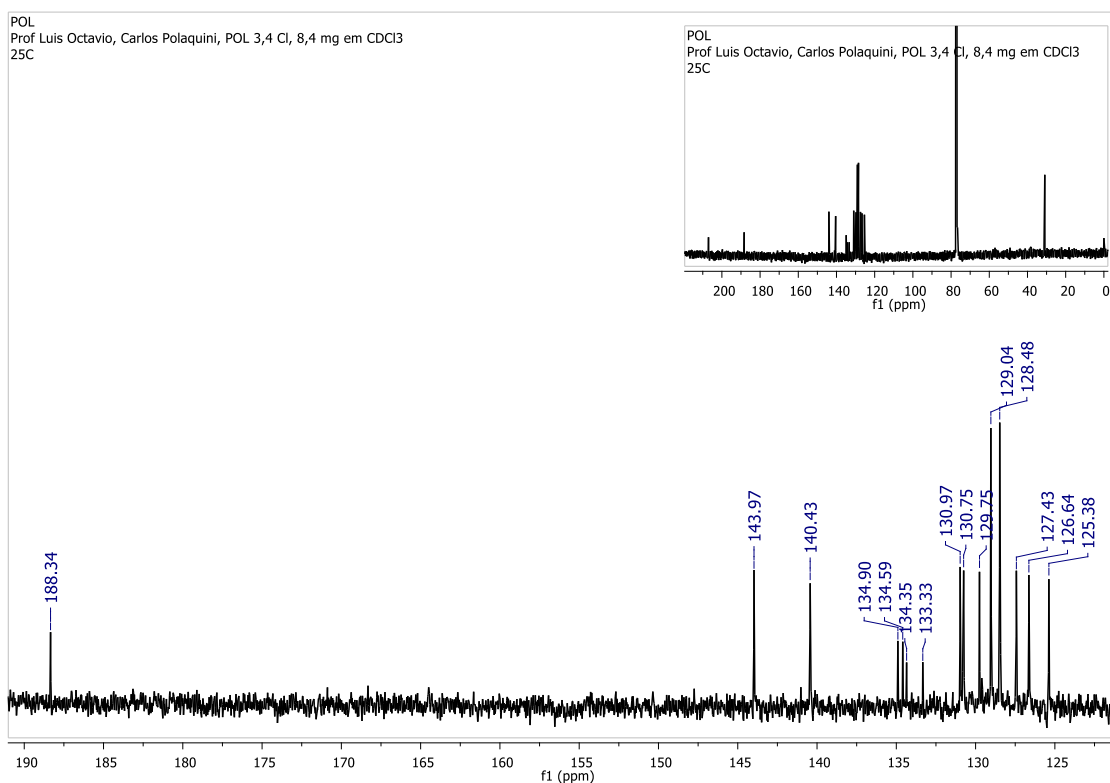
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.5 (Cremlyn et al., 1993)

Sólido amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(3,4-diclorofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.5 (CDCl_3 ; 400 MHz)



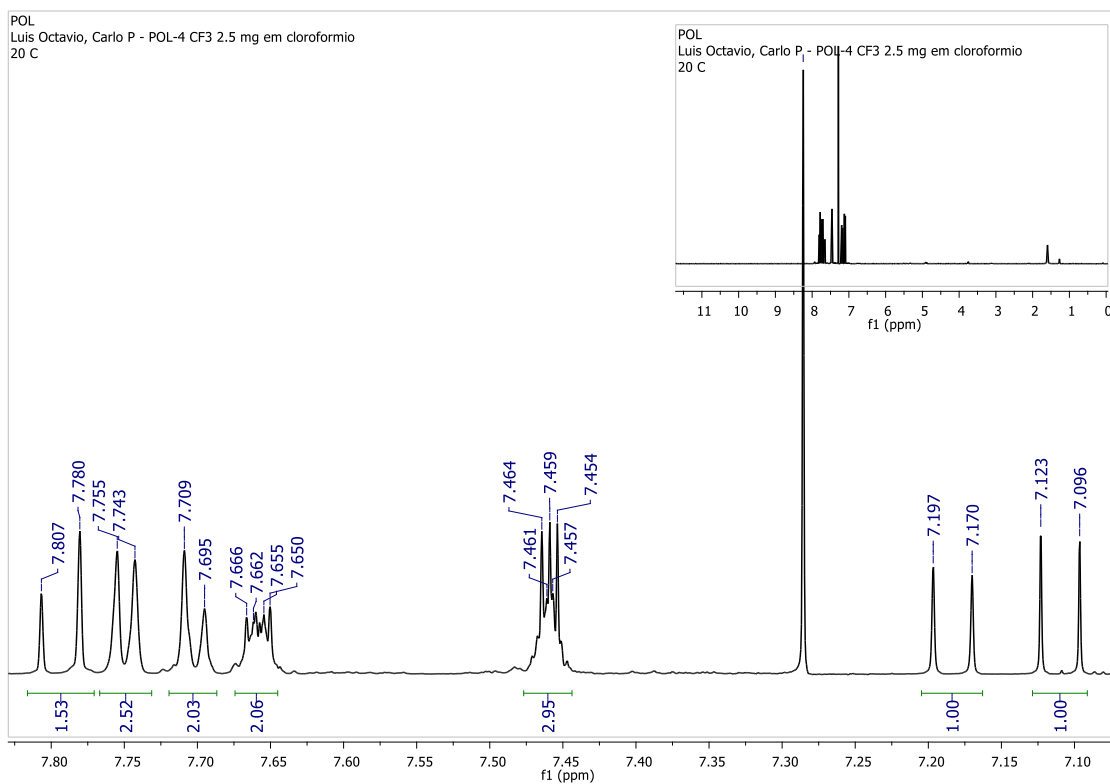
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.5 (CDCl_3 ; 100 MHz)



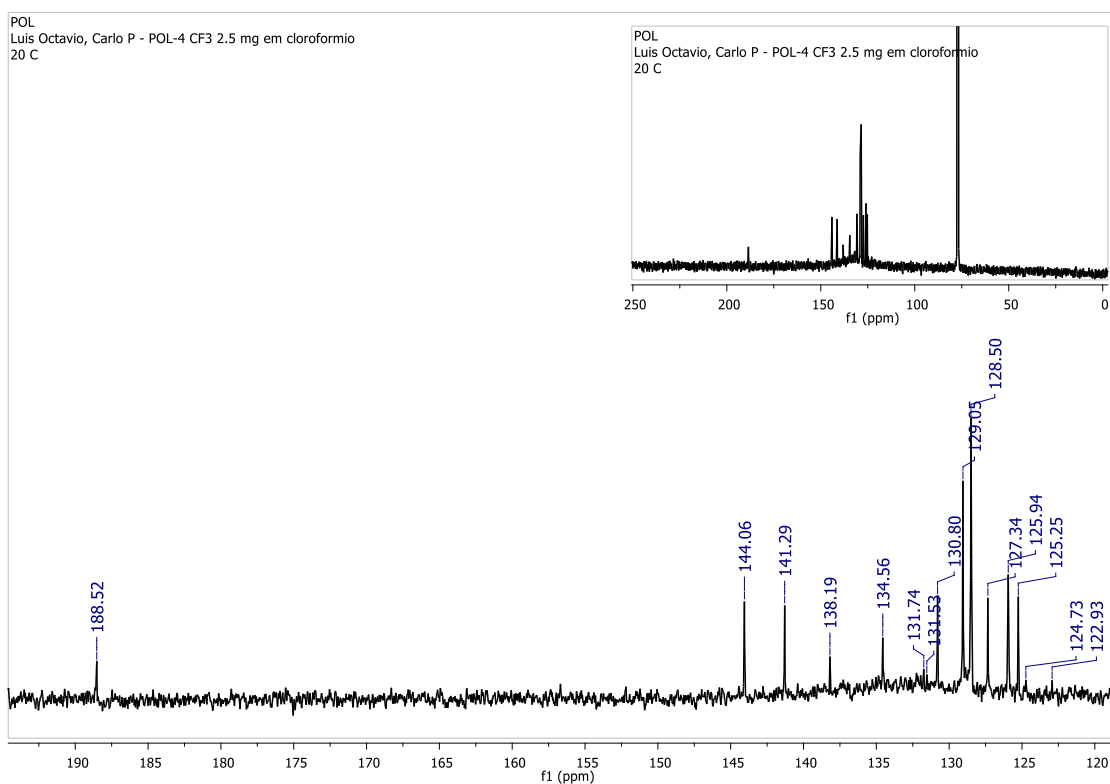
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.7 (Dai et al., 2015b)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(4-(trifluormetil)-fenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.7** (CDCl_3 ; 600 MHz)



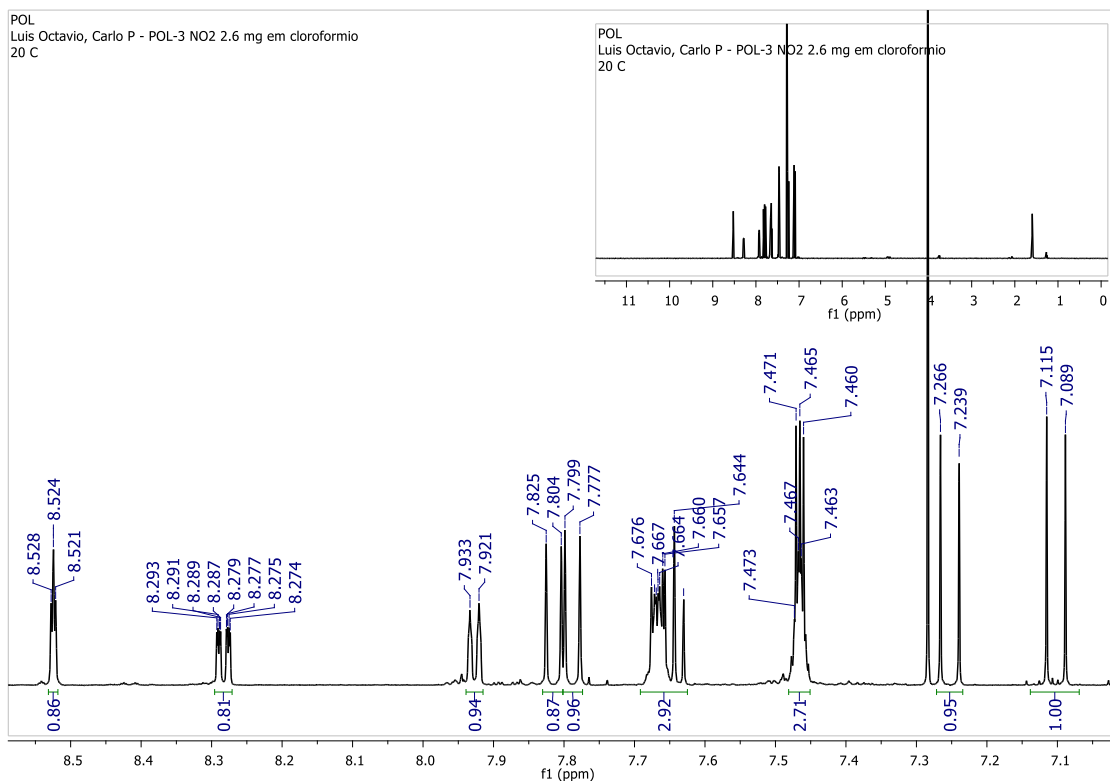
Anexo 38. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.7** (CDCl_3 ; 150 MHz)



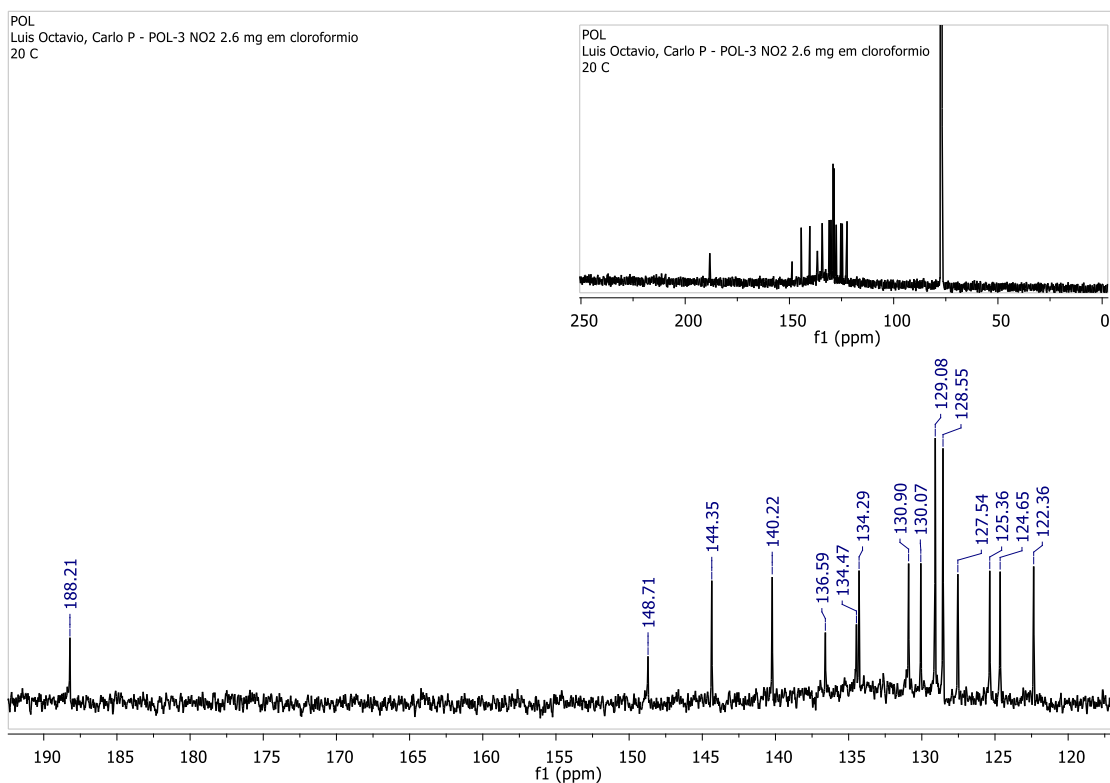
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.10 (Romagnoli et al., 2012)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(3-nitrofenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 39. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.10** (CDCl_3 ; 600 MHz)



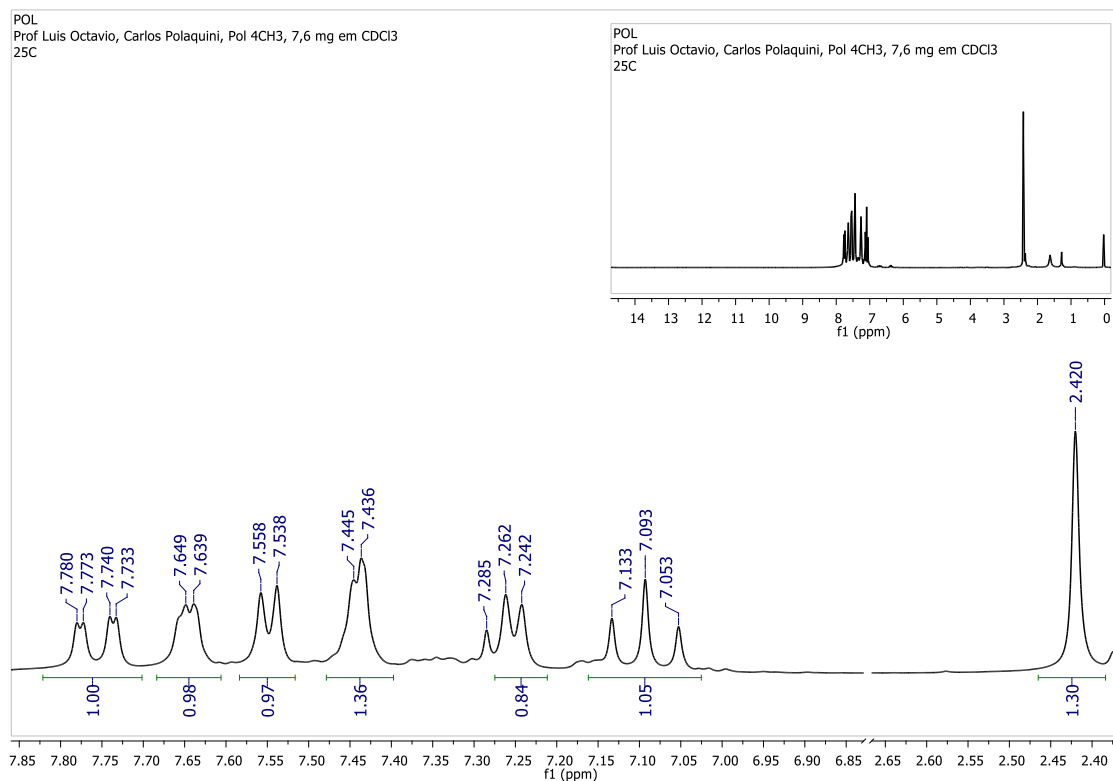
Anexo 40. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.10** (CDCl_3 ; 150 MHz)



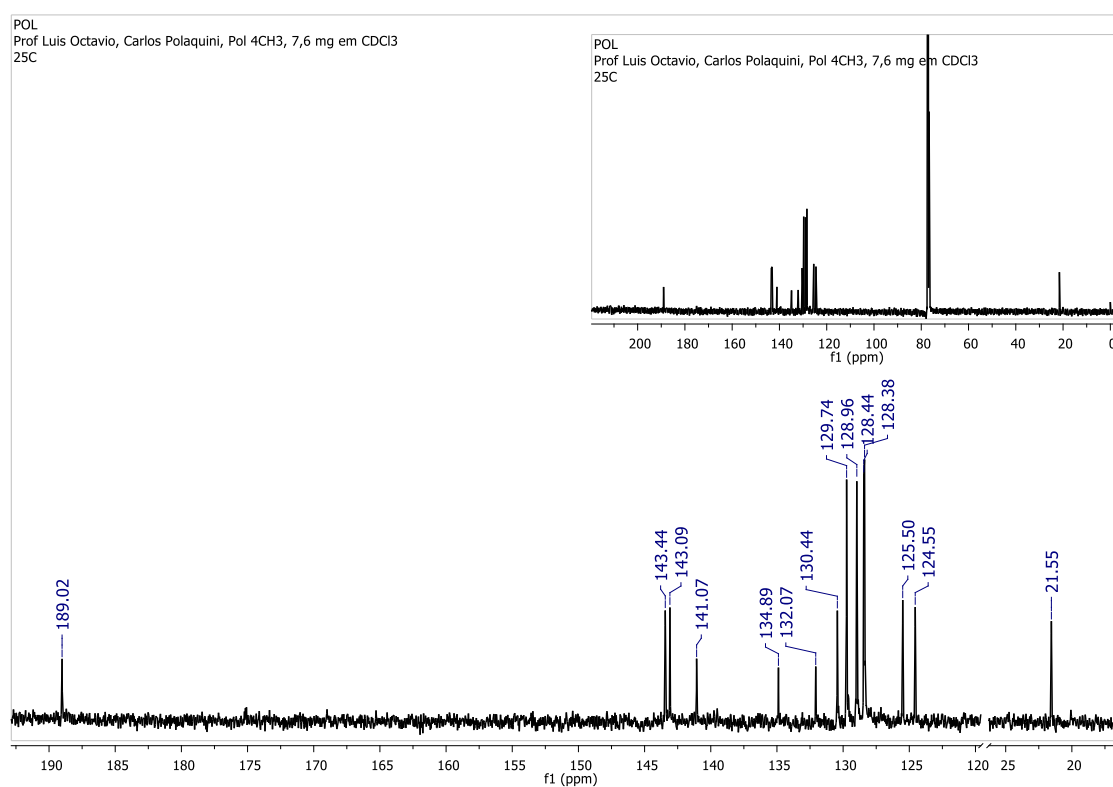
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.12 (Luo et al., 2012)

Cristais amarelo – (1*E*,6*E*)-1-(4-metilfenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 41. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.12** (CDCl_3 ; 400 MHz)



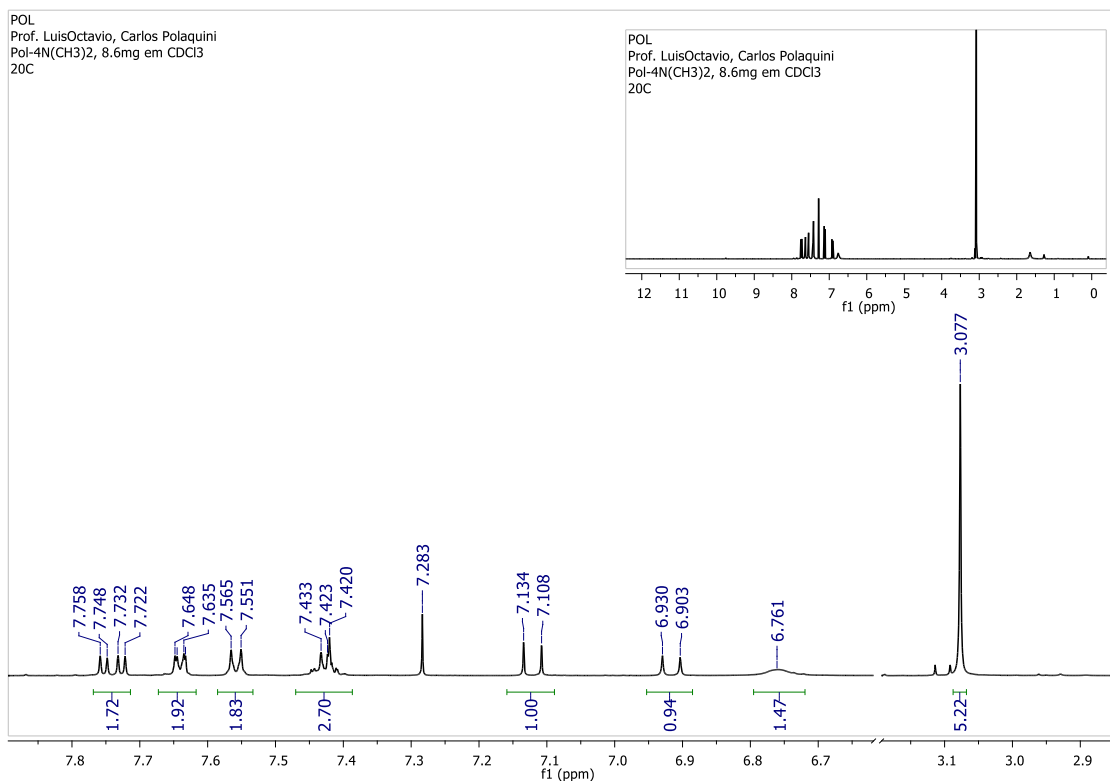
Anexo 42. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.12** (CDCl_3 ; 100 MHz)



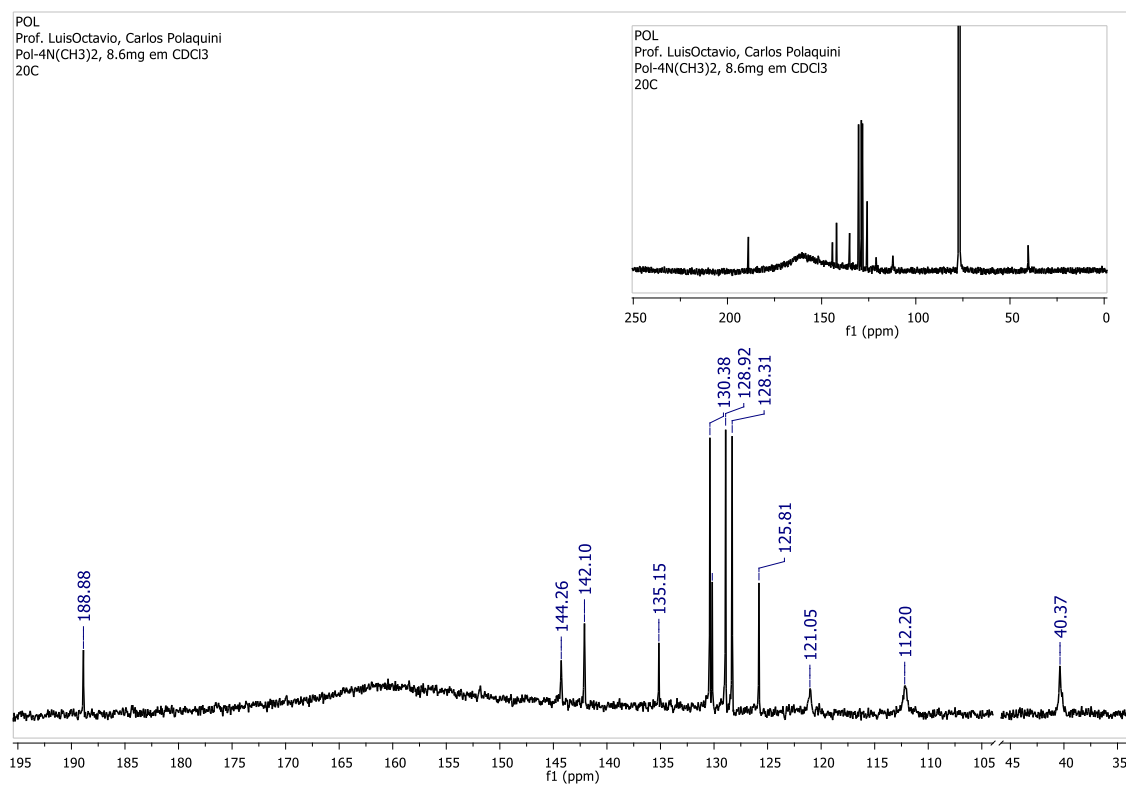
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.13 (Cui et al., 2011)

Cristais vermelho (1*E*,6*E*)-1-(4-(dimetilamino)-fenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 43. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.13** (CDCl_3 ; 600 MHz)



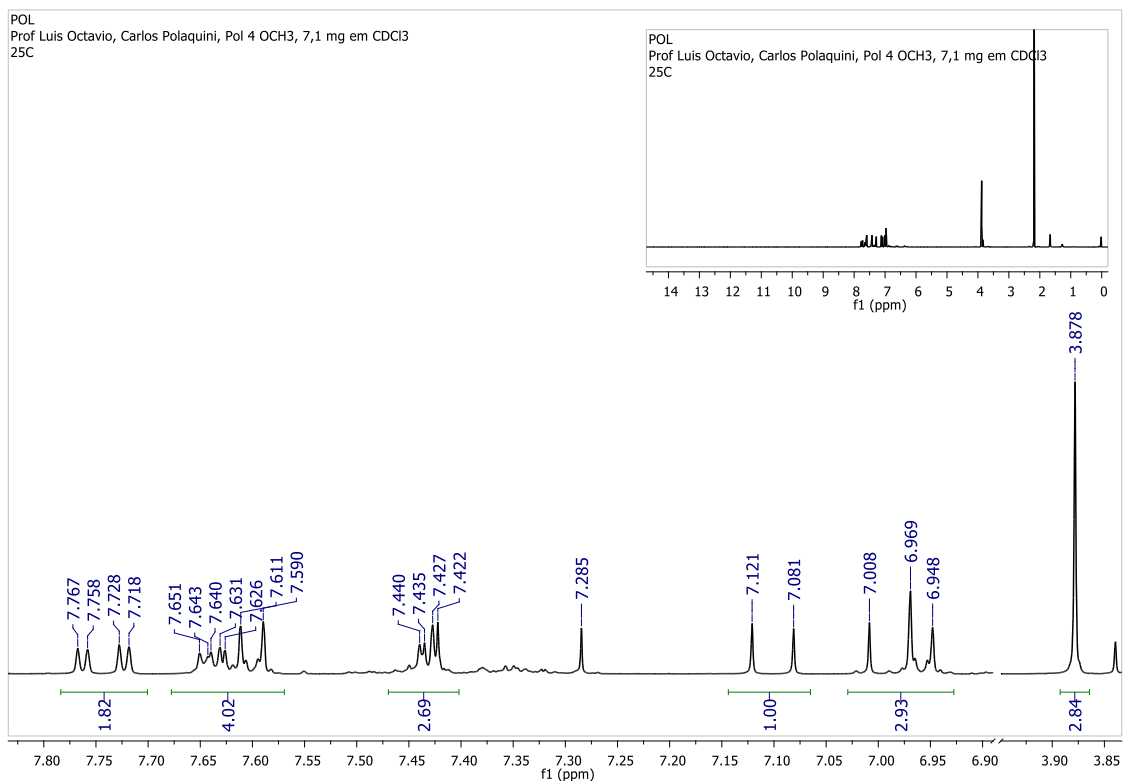
Anexo 44. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.13** (CDCl_3 ; 150 MHz)



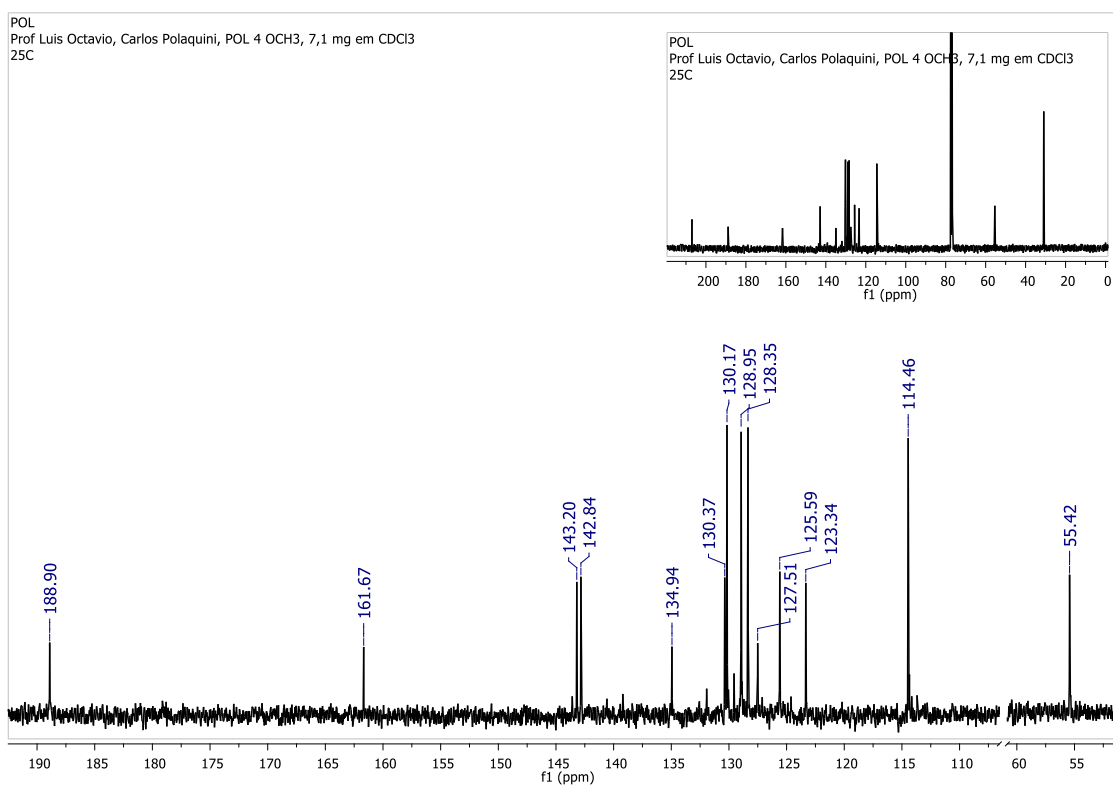
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.16 (Naik, Kumar & Swetha, 2011)

Cristais amarelo (1E,6E)-1-(4-metoxifenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 45. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.16** (CDCl_3 ; 400 MHz)



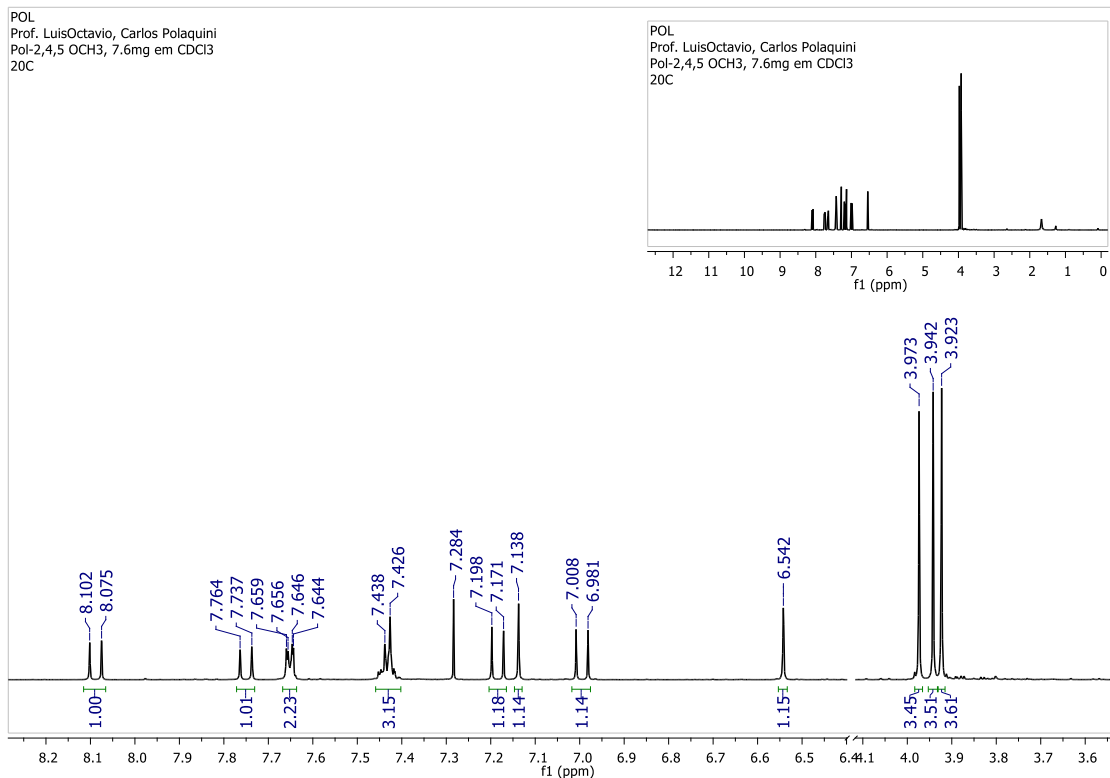
Anexo 46. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.16** (CDCl_3 ; 100 MHz)



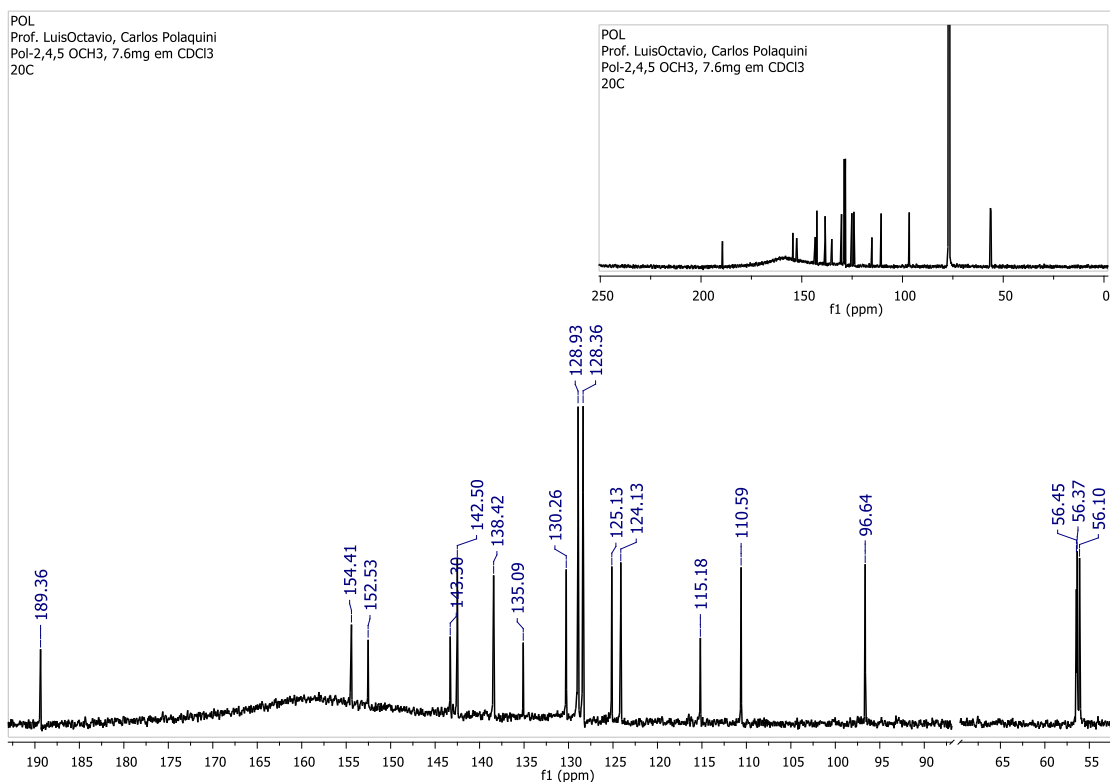
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.21 - SUBSTÂNCIA INÉDITA

Sólido amarelo - (1*E*,6*E*)-1-(2,4,5-trimetoxifenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 47. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.21 (CDCl_3 ; 600 MHz)



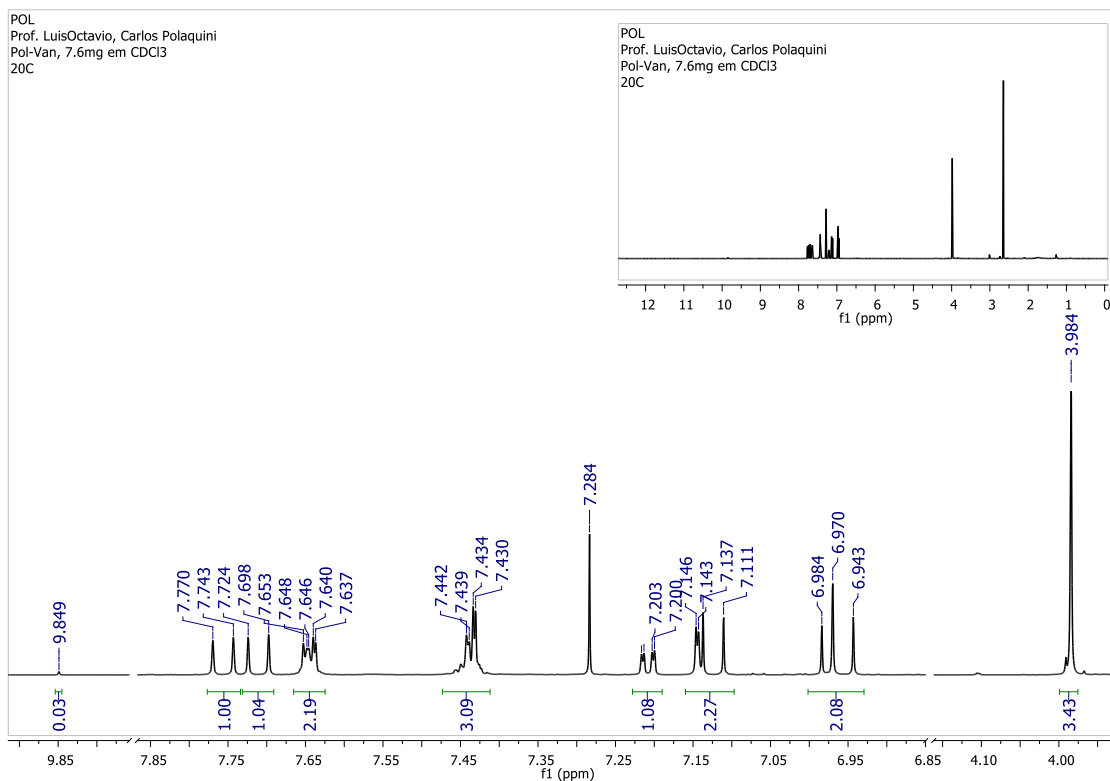
Anexo 48. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.21 (CDCl_3 ; 150 MHz)



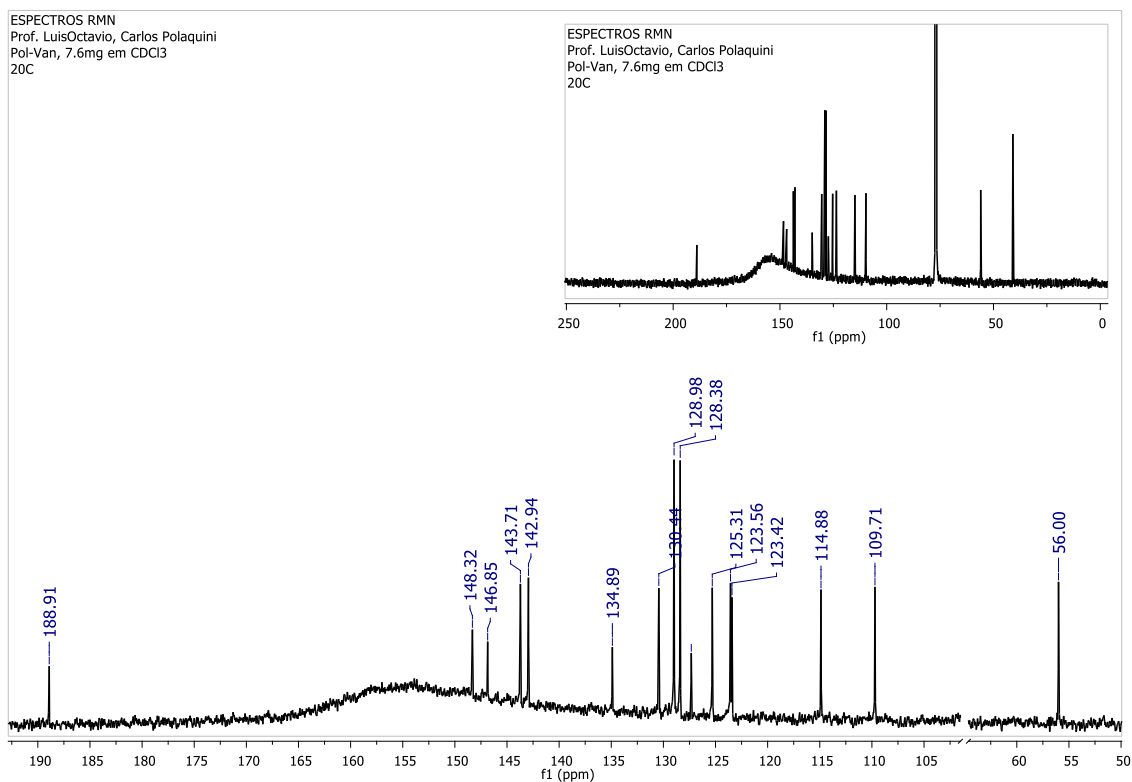
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.23 (Orlando et al., 2012)

Óleo castanho - (1E,6E)-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 49. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.23** (CDCl_3 ; 600 MHz)



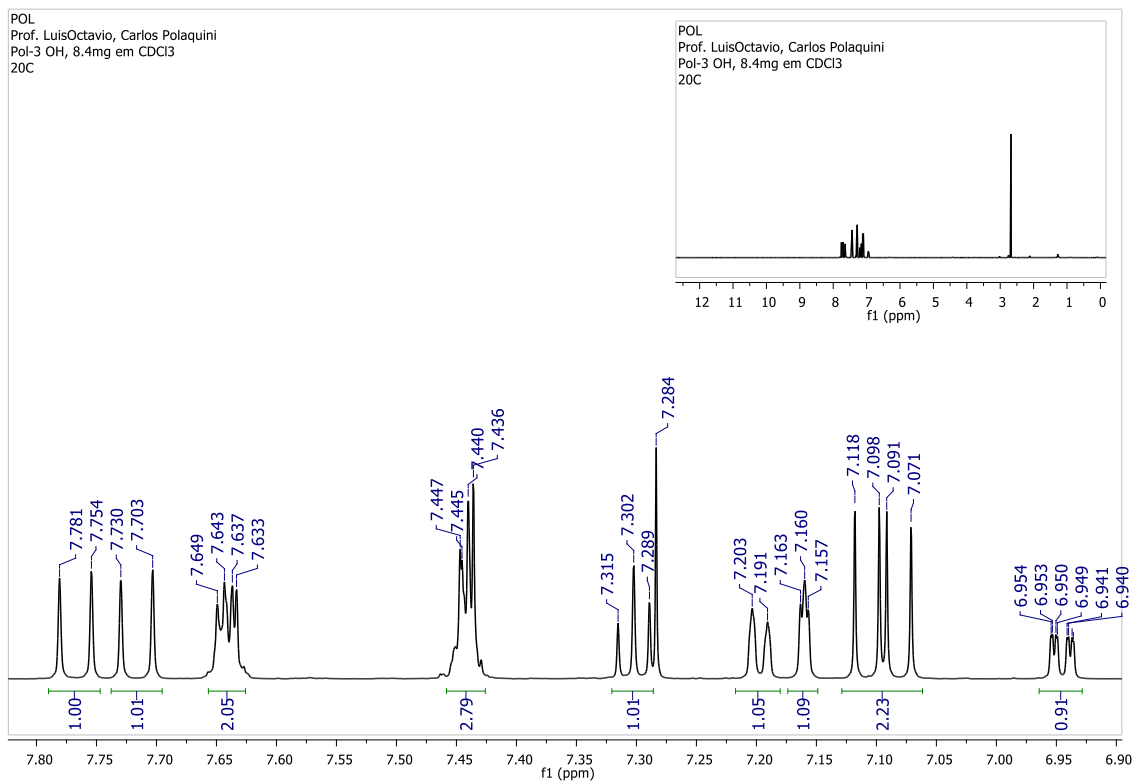
Anexo 50. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.23** (CDCl_3 ; 150 MHz)



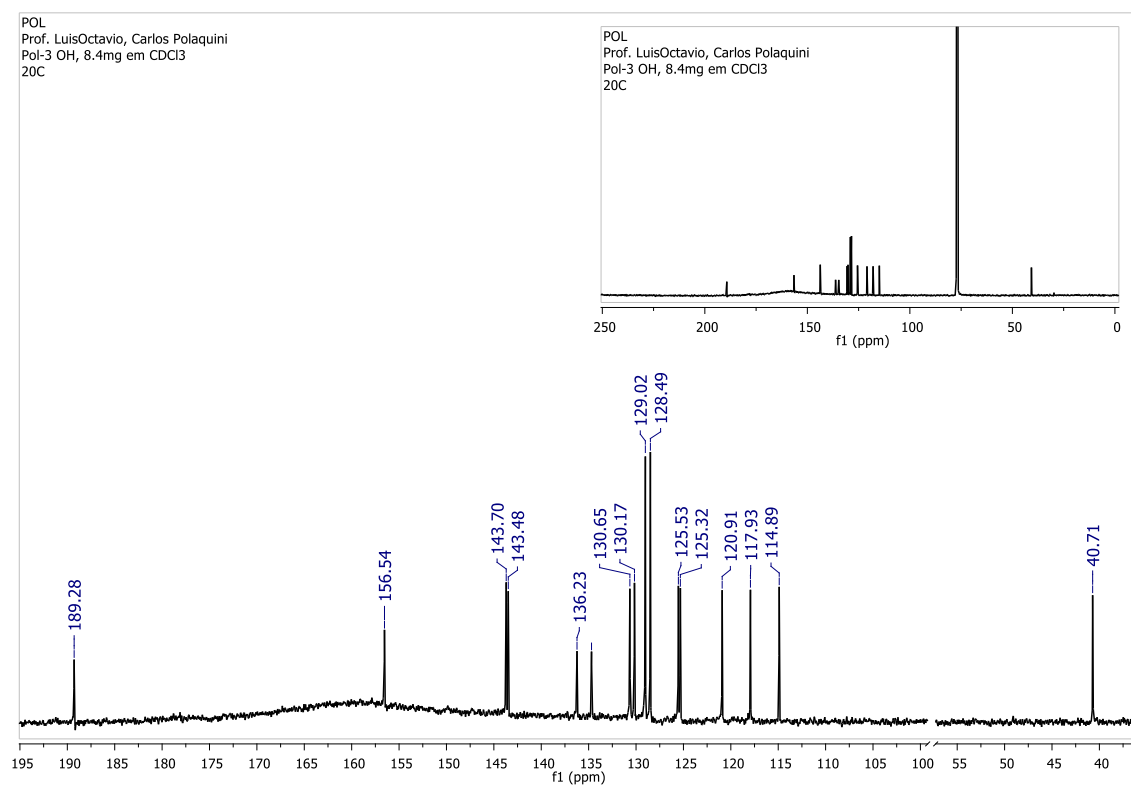
HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.25 (Dai et al., 2015b)

Sólido amarelo - (1E,6E)-1-(3-hidroxifenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 51. Espectro de RMN de ^1H do híbrido **II.25** (CDCl_3 ; 600 MHz)



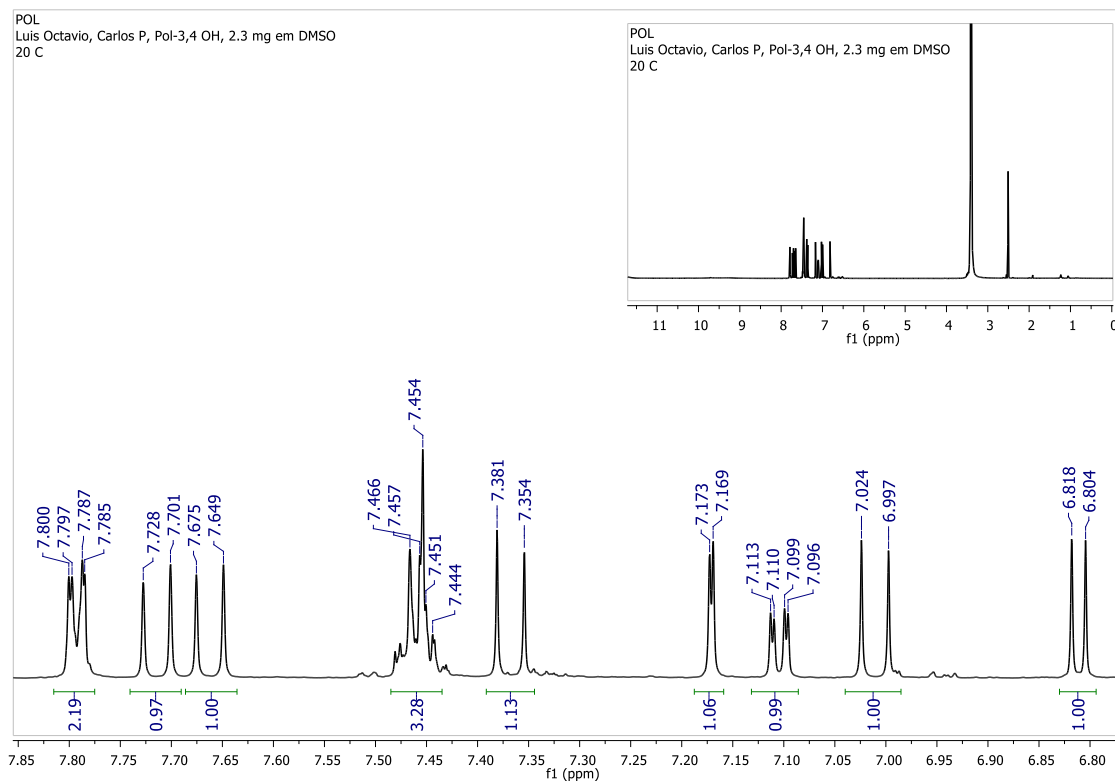
Anexo 52. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido **II.25** (CDCl_3 ; 150 MHz)



HÍBRIDO CURCUMINA-CINAMALDEÍDO II.30 - SUBSTÂNCIA INÉDITA

Sólido laranja - (1*E*,6*E*)-1-(3,4-dihidroxifenil)-5-fenil-penta-1,4-dieno-3-ona

Anexo 53. Espectro de RMN de ^1H do híbrido II.30 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



Anexo 54. Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido II.30 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)

