

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GUILHERME JOSÉ SCHWARZT SAMPAIO

**AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE CHALCONAS SINTÉTICAS EM
SISTEMA NANOESTRUTURADO**

VITÓRIA

2024

GUILHERME JOSÉ SCHWARZT SAMPAIO

**AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE CHALCONAS SINTÉTICAS EM
SISTEMA NANOESTRUTURADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rezende Kitagawa

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Gracielle Ferreira Andrade

VITÓRIA

2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S192a Sampaio, Guilherme José Schwarz, 1993-
Avaliação antitumoral de chalconas sintéticas em sistema nanoestruturado / Guilherme José Schwarz Sampaio. - 2024.
115 f. : il.

Orientador: Rodrigo Rezende Kitagawa.
Coorientadora: Gracielle Ferreira Andrade.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Nanopartículas. 2. Câncer. 3. Síntese orgânica. 4. Agentes antineoplásicos. I. Kitagawa, Rodrigo Rezende. II. Andrade, Gracielle Ferreira. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 615.1

GUILHERME JOSÉ SCHWARZT SAMPAIO

**AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DE CHALCONAS SINTÉTICAS EM SISTEMA
NANOESTRUTURADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Rodrigo Rezende Kitagawa (Orientador) - UFES

Prof^a. Dr^a. Gracielle Ferreira Andrade (Coorientadora) - UFES

Prof. Dr. Marcelo Antonio de Oliveira - UFES

Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame - UEPG





Folha de Aprovação - Guilherme José Schwarz Sampaio

Data e Hora de Criação: 29/02/2024 às 07:07:10

Documentos que originaram esse envelope:

- Folha de Aprovac,a-o - Guilherme José Schwarz Sampaio.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)



Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: a0af06cdf26587e783fc04c00e3f9c5b7b518f27deb9b91d5f58b7684059ebe3

[SHA512]: 0d80337e6e9d2ee7542ef95ec5ea7784e716f05387c80ea9feba5c1443e4861b7e2ffd807faa1ed99460ab37da064fe71cadcec9e0a84186ed7fe80335efb780

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope



ASSINADO - Flavio Luis Beltrame (flaviobeltra@gmail.com)

Data/Hora: 29/02/2024 - 09:24:31, IP: 177.220.177.100, Geolocalização: [-25.072958, -50.164616]

[SHA256]: 0fa4132010ca3b90fbd00b60e8d5d4f04712d54042891be3bcf7ffe807be2ef3



ASSINADO - Gracielle Ferreira Andrade (gracielle.andrade@ufes.br)

Data/Hora: 29/02/2024 - 08:44:18, IP: 189.91.159.218

[SHA256]: 20630bdddf71d69bf7d37c0fbd61706d4303e03f2f58e6f780e49f09879481b7



ASSINADO - Marcelo Oliveira (oliveirama.ufes@gmail.com)

Data/Hora: 29/02/2024 - 08:29:03, IP: 189.91.154.162, Geolocalização: [-18.725813, -39.847613]

[SHA256]: d36b7e7fa05825c869b67e2d8b01ab062757298ca9d9c13a1fde46bf66d57049



ASSINADO - Rodrigo Rezende Kitagawa (rodrigo.kitagawa@ufes.br)

Data/Hora: 29/02/2024 - 07:08:28, IP: 186.233.129.168, Geolocalização: [-20.333495, -40.281177]

[SHA256]: c5cd338d9d5fea49faa4517b7a25f664be1419cdf551266ecd743dd908f2dfe

Histórico de eventos registrados neste envelope

29/02/2024 09:24:31 - Envelope finalizado por flaviobeltra@gmail.com, IP 177.220.177.100

29/02/2024 09:24:31 - Assinatura realizada por flaviobeltra@gmail.com, IP 177.220.177.100

29/02/2024 09:17:43 - Envelope visualizado por flaviobeltra@gmail.com, IP 177.220.177.100

29/02/2024 08:44:18 - Assinatura realizada por gracielle.andrade@ufes.br, IP 189.91.159.218

29/02/2024 08:29:03 - Assinatura realizada por oliveirama.ufes@gmail.com, IP 189.91.154.162

29/02/2024 08:28:58 - Envelope visualizado por oliveirama.ufes@gmail.com, IP 189.91.154.162

29/02/2024 07:08:28 - Assinatura realizada por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 186.233.129.168

29/02/2024 07:08:23 - Envelope visualizado por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 186.233.129.168

29/02/2024 07:08:16 - Envelope registrado na Blockchain por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 186.233.129.168

29/02/2024 07:08:15 - Envelope encaminhado para assinaturas por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 186.233.129.168

29/02/2024 07:07:11 - Envelope criado por rodrigo.kitagawa@ufes.br, IP 186.233.129.168

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter chegado até aqui, por toda força e por tudo que tem me proporcionado.

Agradeço a minha mãe por todo apoio, amor, incentivo e por todo esforço realizado para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradeço a minha avó por todo apoio, toda dedicação e por tudo que tem feito por mim.

Agradeço a toda a minha família e a todos meus amigos, se eu estou aqui hoje, foi porque recebi apoio e incentivo de pessoas importantes na minha vida.

Em especial, agradeço ao meu orientador, professor Rodrigo Rezende Kitagawa e a minha coorientadora, professora Gracielle Ferreira Andrade por todo apoio, dedicação, orientação, paciência, ensinamentos, empenho, inclusive com a realização de análises com as amostras. Sem o empenho e a compreensão deles o trabalho não teria como ser concluído. Obrigado por tudo!

Agradeço aos membros do Laboratório de Triagem Biológica de Produtos Naturais pelo auxílio durante a realização do meu projeto, especialmente aos alunos Rodrigo Romagna e Kristian Klein pelos testes realizados com a sílica, sem auxílio deles o projeto não seria concluído.

Agradeço o Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) pela realização das imagens de microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão utilizadas nesse trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pelas análises de termogravimetria e análise elementar (CHN) realizadas.

Agradeço aos membros da banca examinadora da minha dissertação de mestrado pela disponibilidade para avaliação do meu trabalho.

Por fim, orgulhosamente, agradeço a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e aos seus funcionários e professores por toda dedicação e ensinamentos.

RESUMO

A dificuldade enfrentada no tratamento do câncer tem levado a diversas pesquisas visando o desenvolvimento de sistemas que realizem a entrega direcionada de fármacos, com o objetivo de aumentar a eficácia do tratamento e a diminuição de efeitos adversos. No presente estudo, uma série de chalconas substituídas foram avaliadas quanto a ação citotóxica sobre células de adenocarcinoma gástrico (AGS) e células de câncer de mama (MCF-7) pelo método de MTT-tetrazólio, destacando-se os compostos 3-metoxichalcona, 3-clorochalcona e 3-hidroxichalcona. Considerando as características físico-químicas desses compostos, escolheu-se a 3-hidroxichalcona para incorporação em nanopartículas de sílica mesoporosa devido à presença do grupo hidroxila, que poderia favorecer o processo de incorporação por meio de interações de hidrogênio. A síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa (MSN) e sua modificação superficial com 3-aminopropiltrietoxilano (APTES) foram realizadas e, posteriormente, a 3-hidroxichalcona foi incorporada nesses materiais. As nanopartículas de sílica mesoporosa foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), análise elementar (CHN), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), potencial zeta e adsorção de nitrogênio. Além disso, ensaios de liberação *in vitro* foram realizados para verificação do perfil de liberação de 3-hidroxichalcona a partir das amostras de sílica mesoporosa. Os resultados obtidos demonstraram que as nanopartículas de sílica mesoporosa exibiram perfil de liberação gradual e prolongado. No teste de citotoxicidade com as amostras de sílica incorporadas com 3-hidroxichalcona observou-se importante atividade citotóxica ($IC_{50} = 12,93$ a $106,67 \mu M$) contra as células AGS e MCF-7, sendo que a amostra MSN-CHO ($IC_{50} = 12,93$ a $22,30 \mu M$) exibiu efeito citotóxico superior a 3-hidroxichalcona livre ($IC_{50} = 47,58$ a $47,97 \mu M$). Os resultados indicam que as nanopartículas influenciam de maneira positiva a interação da chalcona com as células tumorais. Apesar de inúmeros estudos publicados relatando o potencial farmacológico das chalconas, poucos trabalhos relatam a aplicação desses compostos em sistemas de liberação de fármacos e os resultados obtidos neste trabalho indicam o grande potencial que esses materiais possuem para aplicação no tratamento do câncer.

Palavras-chave: Chalconas, câncer, antitumoral, nanopartículas de sílica mesoporosa, síntese orgânica.

ABSTRACT

The difficulty faced in treating cancer has led to several researches aimed at developing systems that perform targeted drug delivery, with the aim of increasing the effectiveness of treatment and reducing adverse effects. In the present study, a series of substituted chalcones were evaluated for their cytotoxic action on gastric adenocarcinoma cells (AGS) and breast cancer cells (MCF-7) using the MTT-tetrazolium method, highlighting 3-methoxychalcone, 3-chlorochalcone and 3-hydroxychalcone. Considering the physicochemical characteristics of these compounds, 3-hydroxychalcone was chosen for incorporation into mesoporous silica nanoparticles due to the presence of the hydroxyl group, which could favor the incorporation process through hydrogen interactions. The synthesis of mesoporous silica nanoparticles (MSN) and their surface modification with 3-aminopropyltriethoxylane (APTES) were carried out and, subsequently, 3-hydroxychalcone was incorporated into these materials. The mesoporous silica nanoparticles were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), elemental analysis (CHN), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), zeta potential and nitrogen adsorption. Furthermore, *in vitro* release tests were carried out to verify the release profile of 3-hydroxychalcone from mesoporous silica samples. The results obtained demonstrated that the mesoporous silica nanoparticles exhibited a gradual and prolonged release profile. In the cytotoxicity test with silica samples incorporated with 3-hydroxychalcone, important cytotoxic activity was observed ($IC_{50} = 12.93$ to $106.67 \mu\text{M}$) against AGS and MCF-7 cells, with the MSN-CHO sample ($IC_{50} = 12.93$ to $22.30 \mu\text{M}$) exhibited a cytotoxic effect superior to free 3-hydroxychalcone ($IC_{50} = 47.58$ to $47.97 \mu\text{M}$). The results indicate that the nanoparticles positively influence the interaction of chalcone with tumor cells. Despite numerous published studies reporting the pharmacological potential of chalcones, few studies report the application of these compounds in drug delivery systems and the results obtained in this work indicate the great potential that these materials have for application in cancer treatment.

Keywords: Chalcones, cancer, antitumor, mesoporous silica nanoparticles, organic synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenvolvimento do câncer (criado com BioRender.com).....	16
Figura 2 – Número de casos de câncer no mundo em 2022 (IARC, 2024).....	17
Figura 3 – Número de óbitos por câncer no mundo em 2022 (IARC, 2024).	18
Figura 4 – Estrutura geral das chalconas (adaptado de SHAIK; VIDYA; SHAIK, 2015).	21
Figura 5 – Síntese de chalconas através da reação de <i>Claisen-Schmidt</i> (adaptado de SUWITO <i>et al.</i> , 2014).	22
Figura 6 – Estrutura da 3-hidroxichalcona (1), 4-bromo-4'-metoxichalcona (2), 4- hidroxichalcona (3) e 4-hidroxi-4'-metoxichalcona (4).	23
Figura 7 – Estrutura da chalcona Xanthohumol.	23
Figura 8 – Tipos de nanopartículas (adaptado de MITCHELL <i>et al.</i> , 2021) (criado com BioRender.com).	25
Figura 9 – Tipos de materiais mesoporosos (adaptado de o OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2023).	27
Figura 10 – Funcionalização de nanopartículas de sílica mesoporosa (MSN) com 3- aminopropiltriétoxissilano (APTES).....	29
Figura 11 – Direcionamento passivo de nanopartículas para células tumorais (adaptado de KHETAN <i>et al.</i> , 2022) (criado com BioRender.com).	30
Figura 12 – Direcionamento ativo de nanopartículas para células tumorais (adaptado de ŽIVOJEVIĆ <i>et al.</i> 2021; KHETAN <i>et al.</i> , 2022) (criado com BioRender.com).	31
Figura 13 – Microscopia eletrônica de varredura de MSN.	48
Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura de MSN-APTES.....	49
Figura 15 – Microscopia eletrônica de transmissão de MSN.	50
Figura 16 – Microscopia eletrônica de transmissão de MSN-APTES.....	50
Figura 17 – Espectro de infravermelho de MSN.....	51
Figura 18 – Espectro de infravermelho de MSN-APTES.....	52
Figura 19 – Espectro de infravermelho de 3-hidroxichalcona.	53
Figura 20 – Espectro de infravermelho de MSN-CHO.	54
Figura 21 – Espectro de infravermelho de MSN-APTES-CHO.....	54
Figura 22 – Isotermas de adsorção de nitrogênio de MSN e MSN-APTES.	58
Figura 23 – Curva termogravimétrica das amostras MSN e MSN-CHO.....	60

Figura 24 – Curva termogravimétrica das amostras MSN-APTES e MSN-APTES-CHO.	61
Figura 25 – Curva de calibração de 3-hidroxichalcona.	64
Figura 26 – Perfil de liberação de 3-hidroxichalcona das amostras MSN-CHO e MSN-APTES-CHO.	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tipos de câncer de maior incidência nos homens no Brasil em 2023 (⁵ INCA, 2023).	18
Tabela 2 – Número de óbitos por tipo de câncer nos homens em 2021, no Brasil (⁵ INCA, 2023).	19
Tabela 3 – Tipos de câncer de maior incidência nas mulheres no Brasil em 2023 (⁵ INCA, 2023).	19
Tabela 4 – Número de óbitos por tipo de câncer nas mulheres em 2021, no Brasil (⁵ INCA, 2023).	19
Tabela 5 – Diluições para construção das curvas analíticas para quantificação da chalcona por UV-Vis.	38
Tabela 6 – IC ₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) das chalconas e cisplatina contra células AGS e L-929.	42
Tabela 7 – IC ₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) das chalconas e cisplatina contra células MCF-7 e L-929.	45
Tabela 8 – Análise de potencial zeta.	55
Tabela 9 – Adsorção/dessorção de nitrogênio.	56
Tabela 10 – Perda de massa das amostras de nanopartículas de sílica mesoporosa.	59
Tabela 11 – Análise elementar (CHN).	62
Tabela 12 – Eficiência de incorporação de 3-hidroxichalcona nas amostras de sílica.	63
Tabela 13 – Curva de calibração de 3-hidroxichalcona.	64
Tabela 14 – IC ₅₀ e índice de seletividade (IS) das amostras de sílica.	66

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGS – Células de adenocarcinoma gástrico

APTES – 3-aminopropiltriétoxissilano

BET – Brunauer-Emmet-Teller

BJH – Barrett-Joyner-Halenda

CHN – Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

DMEM – *Dulbecco's modified Eagle's*

DMSO – Dimetilsulfóxido

F127 – Pluronic 127 - poli(óxido de etileno)₁₀₆-poli(óxido de propileno)₇₀-poli(óxido de etileno)₁₀₆

FTIR – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

IC₅₀ – índice citotóxico 50%

L-929 – Células de fibroblastos NCTC clone 929

MCF-7 – Linhagem de células de adenocarcinoma de mama

MCM – Mobil Composition of Matter

MCM-41 – Mobil Composition of Matter Number 41

MCM-48 – Mobil Composition of Matter Number 48

MCM-50 – Mobil Composition of Matter Number 50

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MSN – Nanopartícula de sílica mesoporosa

MSN-APTES – Nanopartícula de sílica mesoporosa funcionalizada com 3-aminopropiltriétoxissilano

MSN-CHO – Nanopartícula de sílica mesoporosa incorporada com 3-hidroxichalcona

MSN-APTES-CHO – Nanopartícula de sílica mesoporosa funcionalizada com 3-aminopropiltriétoxisilano incorporada com 3-hidroxichalcona

MSU – Michigan State University Materials

MTT – Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio

P/P₀ – Pressão Relativa

SBA – Santa Barbara Amorphous

SBA-15 – Santa Barbara Amorphous Number 15

SBA-16 – Santa Barbara Amorphous Number 16

SFB – Soro fetal bovino

TEOS – Tetraetila ortossilicato

TGA – Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	CÂNCER.....	15
1.2	CHALCONAS.....	21
1.3	NANOTECNOLOGIA E O TRATAMENTO DO CÂNCER.....	24
1.4	NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA.....	26
2	JUSTIFICATIVA.....	33
3	OBJETIVOS.....	34
3.1	OBJETIVO GERAL.....	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1	OBTENÇÃO DAS CHALCONAS SUBSTITUÍDAS.....	35
4.2	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	35
4.2.1	Linhagens celulares.....	35
4.2.2	Procedimento.....	35
4.2.3	Índice de seletividade.....	36
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4.4	OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA.....	36
4.4.1	Síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa.....	37
4.4.1.1	Modificação da superfície das matrizes com 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES)	37
4.5	INCORPORAÇÃO DA 3-HIDROXICHALCONA NAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA.....	38
4.6	CHARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA.....	39
4.6.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	39
4.6.2	Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	39
4.6.3	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	40
4.6.4	Potencial zeta.....	40
4.6.5	Adsorção de nitrogênio.....	40
4.6.6	Análise Termogravimétrica (TGA) e análise elementar (CHN).....	41
4.7	TESTE DE LIBERAÇÃO <i>IN-VITRO</i>	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1	ATIVIDADE CITOTÓXICA CONTRA LINHAGEM CELULAR DE ADENOCARCINOMA GÁSTRICO (AGS) E ÍNDICE DE SELETIVIDADE.....	42

5.2 ATIVIDADE CITOTÓXICA DE CHALCONAS CONTRA LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) E ÍNDICE DE SELETIVIDADE	45
5.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA (MSN e MSN-APTES).....	47
5.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	48
5.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	49
5.3.3 Espectroscopia na região do infravermelho	50
5.3.4. Análise de potencial zeta.....	55
5.3.5 Adsorção de nitrogênio.....	56
5.3.6 Análise termogravimétrica (TGA) e análise elementar (CHN).....	58
5.4 TESTE DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	63
5.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS AMOSTRAS DE SÍLICA CONTRA LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) E ADENOCARCINOMA GÁSTRICO (AGS)	66
6 CONCLUSÕES.....	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
8 APÊNDICE	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento incomum e descontrolado das células, que podem invadir tecidos vizinhos ou órgãos à distância e atinge milhões de pessoas anualmente em todo o mundo. As células cancerosas se dividem de forma incontrolável e rapidamente, provocando a formação de tumores, que podem espalhar-se para outros locais do corpo, processo conhecido como metástase (¹INCA, 2021; OUYANG *et al.*, 2021).

Por ser uma doença multifatorial, o câncer pode se originar de diversos fatores, como os fatores externos (presentes no meio ambiente) e os fatores internos (hormônios, condições imunológicas e mutações genéticas). Esses fatores podem interagir de diferentes formas, dando início ao surgimento do câncer. Entre 80% e 90% dos casos de câncer estão relacionados a causas externas. Diversos fatores podem aumentar o risco para o desenvolvimento do câncer, como as mudanças provocadas no meio ambiente pela população, hábitos e comportamento humano, como por exemplo, o ato de fumar, consumir alimentos prejudiciais à saúde, entre outros. Os fatores internos estão ligados à capacidade do organismo de se defender dos fatores externos causadores do câncer. Apesar do importante papel do fator genético na formação do câncer, são raros os casos de câncer que são causados exclusivamente por fatores hereditários, familiares e étnicos. Alguns fatores genéticos podem tornar determinadas pessoas mais suscetíveis a ação dos agentes cancerígenos ambientais. Isso pode explicar por que algumas pessoas desenvolvem o câncer e outras não, mesmo quando expostas a um mesmo agente cancerígeno (HANAHAN; WEINBERG, 2011; ²INCA, 2021).

O câncer surge a partir de mutações genéticas, por meio de alterações no DNA da célula. As células com DNA alterado passam a receber instruções incorretas que modificam as funções normais das células (CROCE, 2008; ³INCA, 2021). O desenvolvimento do câncer se inicia, principalmente, por mutações em proto-oncogenes que codificam proteínas envolvidas na proliferação e diferenciação celular e danos em genes supressores de tumor que codificam proteínas envolvidas na inibição do crescimento celular e no processo de apoptose (PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015). Alterações genéticas

ativam os proto-oncogenes provocando sua transformação em oncogenes, que são responsáveis pela multiplicação celular descontrolada, assumindo um papel central na patogênese do câncer (KONTOMANOLIS *et al.*, 2020).

Alterações nos proto-oncogenes e nos genes supressores de tumor (Figura 1) são necessárias para o desenvolvimento do câncer e são favorecidas por mutação em genes que codificam proteínas envolvidas no reparo de danos ao DNA. As mutações que iniciam o desenvolvimento do câncer são clonalmente selecionadas para favorecer a divisão celular descontrolada, a ausência de inibição do crescimento celular em excesso, evasão do sistema imune, inibição da apoptose celular e transmissão e acúmulo de erros de material genético (PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015).

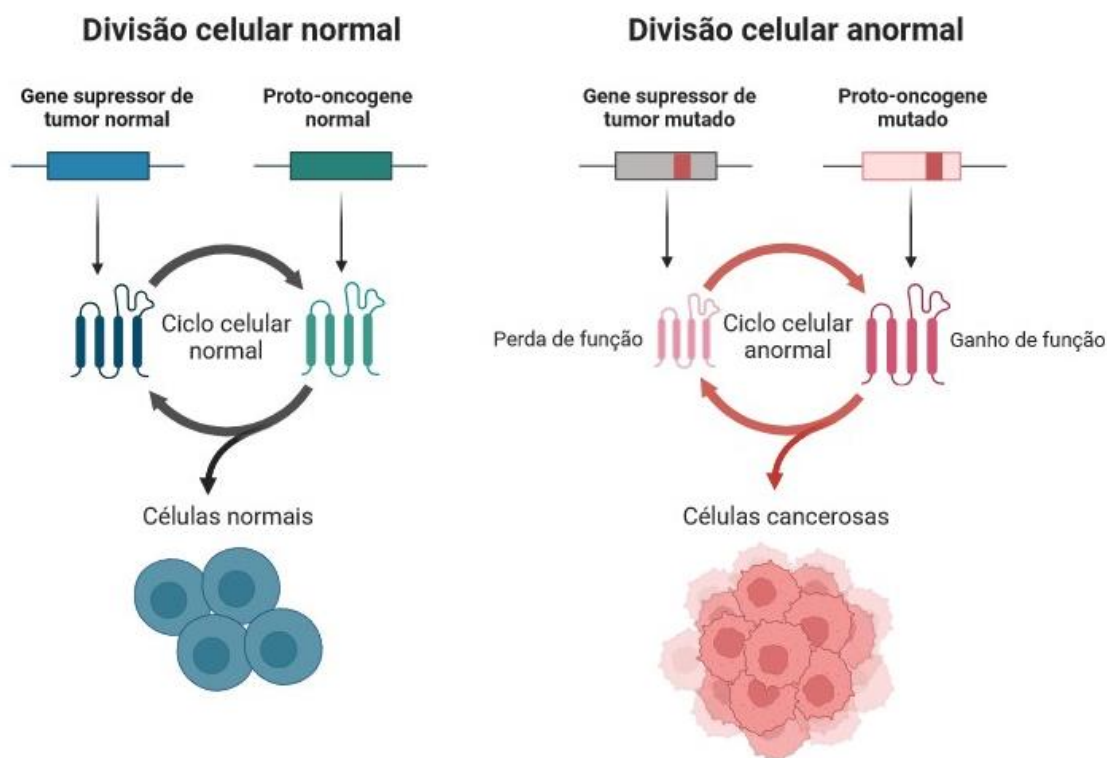


Figura 1 – Desenvolvimento do câncer (criado com BioRender.com).

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. A cada ano o número elevado de novos casos e os altos índices de mortalidade preocupam especialistas e organizações envolvidas em pesquisas sobre o tema. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), foram registrados 19.976.499 de novos casos de câncer no mundo em 2022 (Figura 2), sendo o

câncer de pulmão o tipo de câncer de maior incidência com 2.480.675 novos casos, seguidos pelo câncer de mama (2.310.051 novos casos), colorretal (1.926.425 novos casos), de próstata (1.467.854 novos casos) e estômago (968.784 novos casos). Os índices de mortalidade (Figura 3) também chamam a atenção, com 9.743.832 mortes provocadas pelo câncer em 2022 no mundo. Sendo, o câncer de pulmão (1.817.469 casos), câncer colorretal (904.019 casos), câncer de fígado (758.725 casos), câncer de mama (669.846 casos) e o câncer de estômago (660.175 casos) os tipos de câncer com maior número de mortes mundialmente (IARC, 2024).

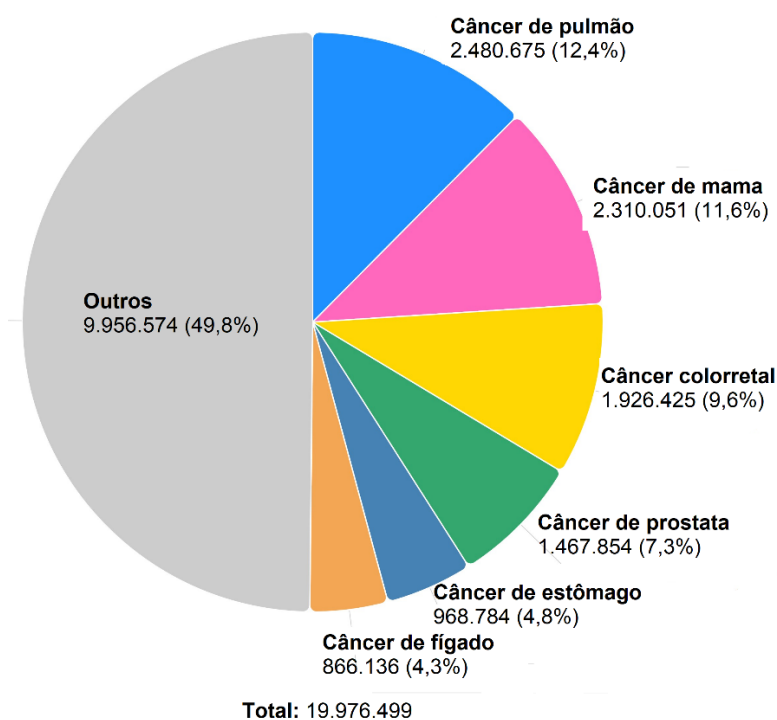


Figura 2 – Número de casos de câncer no mundo em 2022 (IARC, 2024).

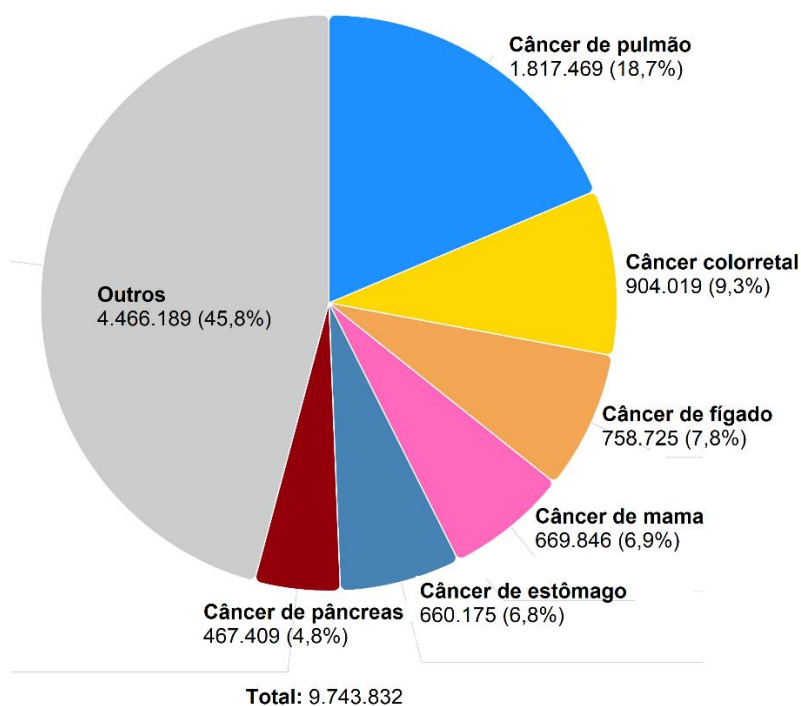


Figura 3 – Número de óbitos por câncer no mundo em 2022 (IARC, 2024).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA) são esperados 704 mil casos novos de câncer no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025 (⁴INCA, 2023).

Nas tabelas 1 e 2, são mostrados os tipos de câncer de maior incidência no Brasil nos homens em 2023 e o número de óbitos em 2021, respectivamente.

Tabela 1 – Tipos de câncer de maior incidência nos homens no Brasil em 2023 (⁵INCA, 2023).

Tipo de câncer	Casos novos	%
Próstata	71.730	30
Cólon e reto	21.970	9,2
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.020	7,5
Estômago	13.340	5,6
Cavidade oral	10.900	4,6
Todas as neoplasias	341.350	

Tabela 2 – Número de óbitos por tipo de câncer nos homens em 2021, no Brasil (5INCA, 2023).

Tipo de câncer	Óbitos	%
Próstata	16.300	13,5
Traqueia, Brônquio e Pulmão	15.987	13,2
Cólon e reto	10.662	8,8
Estômago	9.007	7,5
Esôfago	6.612	5,5
Todas as neoplasias	120.784	

Nas tabelas 3 e 4, são mostrados os tipos de câncer de maior incidência no Brasil nas mulheres em 2023 e o número de óbitos em 2021, respectivamente.

Tabela 3 – Tipos de câncer de maior incidência nas mulheres no Brasil em 2023 (5INCA, 2023).

Tipo de câncer	Casos novos	%
Mama	73.610	30,1
Cólon e reto	23.660	9,7
Colo do útero	17.010	7,0
Traqueia, Brônquio e Pulmão	14.540	6,0
Glândula Tireoide	14.540	5,4
Estômago	8.140	3,3
Todas as neoplasias	362.730	

Tabela 4 – Número de óbitos por tipo de câncer nas mulheres em 2021, no Brasil (5INCA, 2023).

Tipo de câncer	Óbitos	%
Mama	18.139	16,4
Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.977	11,7
Cólon e reto	10.598	9,6
Colo do útero	6.606	6,0
Pâncreas	6.022	5,4
Todas as neoplasias	108.318	

O tratamento do câncer pode ser feito através de cirurgia, quimioterapia e radioterapia. O uso de quimioterapia contra o câncer é a principal escolha para o tratamento de muitos tipos de câncer, devido a sua capacidade de atingir todos os órgãos pelo corpo através da corrente sanguínea. Os quimioterápicos consistem em compostos tóxicos que atuam sobre células com alta taxa de divisão celular, inibindo a rápida proliferação das células cancerosas. Porém, devido a sua baixa especificidade, os quimioterápicos também atuam sobre células normais de rápido crescimento, como as células dos folículos capilares, da medula óssea e do trato gastrointestinal, causando efeitos colaterais, como diarreia, perda de peso, hipertensão, reações na pele, queda de cabelo, etc, que acabam diminuindo a qualidade de vida dos pacientes e limitando o uso desses medicamentos (MANSOURI *et al.*, 2021; PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015). Além disso, os quimioterápicos apresentam baixa solubilidade aquosa, baixa biodisponibilidade e muitas vezes baixa eficácia. Outro ponto negativo da quimioterapia é o longo tempo de tratamento, muitas vezes o tratamento leva vários meses a anos para ser concluído (HUDA; ALAM; SHARMA, 2020).

Apesar de importantes avanços no tratamento do câncer, como a terapia alvo e a terapia combinatória, a destruição indiscriminada de células normais e os efeitos colaterais tóxicos dos quimioterápicos, bem como o desenvolvimento de resistência são um grande problema no tratamento contra o câncer, sustentando a necessidade de se encontrar novos agentes terapêuticos mais eficazes e mais específicos para as células tumorais e com menor incidência de efeitos colaterais (CHABNER; ROBERTS, 2005; PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015).

Em razão desses problemas, pesquisadores buscam alternativas para o tratamento do câncer. Entre os diversos compostos estudados, as chalconas, uma importante classe de produtos naturais, que também pode ser obtida por rota sintética, vem se destacando devido sua atividade antitumoral promissora, além de sua fácil obtenção, baixo custo e baixa toxicidade (MAHAPATRA; BHARTI; ASATI, 2015; OUYANG *et al.*, 2021).

1.2 CHALCONAS

Chalconas (1,3-diaril-prop-2-en-1-onas) são uma importante classe de produtos naturais. Elas são importantes precursores na biossíntese dos flavonoides e exibem diversas atividades biológicas, tais como ação anticâncer, antimalárica, antibacteriana, anti-inflamatória, antiprotozoária, antifúngica, antiviral e antioxidante (DONG *et al.*, 2008; SINGH; ANAND; KUMAR, 2014). Quimicamente, as chalconas (1) podem ser definidas como cetonas α,β -insaturadas onde tanto a carbonila quanto a porção olefínica estão ligadas a grupamentos aromáticos (Figura 4) (SHAIK; VIDYA; SHAIK, 2015). Elas podem ser encontradas nas duas formas estereoisoméricas, *cis* e *trans*, porém a *trans* prevalece por ser termodinamicamente mais estável (AKSÖZ; ERTAN, 2011).

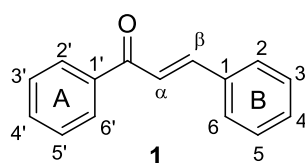


Figura 4 – Estrutura geral das chalconas (adaptado de SHAIK; VIDYA; SHAIK, 2015).

As chalconas e seus derivados têm atraído cada vez mais a atenção de pesquisadores devido a inúmeras aplicações farmacológicas que apresentam. As chalconas são capazes de se ligar a múltiplas classes de receptores e enzimas com elevada afinidade. As diversas atividades biológicas que as chalconas apresentam são em grande parte atribuídas aos diferentes padrões de substituições nos anéis aromáticos que elas podem exibir, e essas atividades podem ser alteradas dependendo do tipo e da posição dos substituintes nos anéis aromáticos (PAREEK *et al.*, 2013; SINGH; ANAND; KUMAR, 2014; UGWU *et al.*, 2015).

Diversas vias sintéticas são relatadas para a preparação de chalconas, porém a metodologia mais utilizada é a reação de condensação de *Claisen-Schmidt* com catálise básica ou ácida. Embora ambos os catalisadores possam ser usados nestas reações, os catalisadores básicos (NaOH, KOH) fornecem melhores rendimentos em comparação com os catalisadores ácidos, como HCl ou H₂SO₄ (AKSÖZ; ERTAN, 2011; BUKHARI *et al.*, 2013).

A reação de condensação de *Claisen-Schmidt* sob catálise básica pode ser visualizada como exemplo, pela reação da acetofenona (2) com o benzaldeído (3) utilizando-se uma base forte como catalisador, tal como NaOH ou KOH em um solvente polar como metanol (SUWITO *et al.*, 2014), Figura 5.

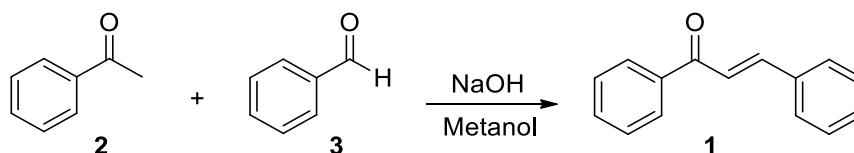
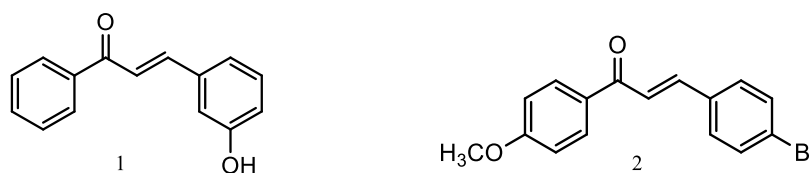


Figura 5 – Síntese de chalconas através da reação de *Claisen-Schmidt* (adaptado de SUWITO *et al.*, 2014).

Diversos estudos têm relatado que as chalconas podem ter como alvo as principais vias envolvidas no início e na progressão do câncer. As chalconas possuem uma estrutura que pode ser convenientemente modificada para potencializar e alterar as atividades biológicas desses compostos. Diferentes grupos funcionais (carboxilas, hidroxilas, metoxilas, halogênios, etc) podem ser adicionados à estrutura das chalconas, permitindo a ligação desses compostos a diferentes alvos moleculares envolvidos no câncer, potencializando a atividade desses compostos (OUYANG *et al.*, 2021).

Muitos estudos foram publicados relacionados a atividade antitumoral das chalconas contra diversos tipos de câncer, inclusive resistentes aos quimioterápicos utilizados atualmente (MAI *et al.*, 2014; SYAM *et al.*, 2012). Por exemplo, WILHELM *et al.* (2022) avaliaram a atividade citotóxica de 4 chalconas (Figura 6) contra células de câncer de mama (MCF-7) e verificaram que os compostos mais ativos foram a 3-hidroxicalcona (IC_{50} de 12,9 μ M) e a 4-bromo-4'-metoxicalcona (IC_{50} de 13,1 μ M), enquanto que a 4-hidroxicalcona (IC_{50} de 22,5 μ M) e a 4-hidroxi-4'-metoxicalcona (IC_{50} de 30,9 μ M) apresentaram citotoxicidade moderada em comparação com os compostos mais ativos.



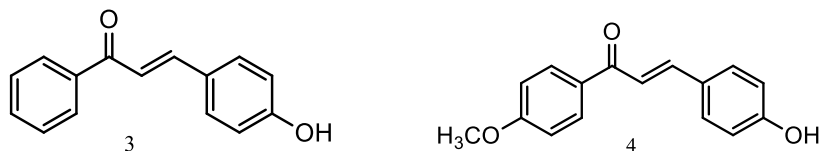


Figura 6 – Estrutura da 3-hidroxicalcona (1), 4-bromo-4'-metoxicalcona (2), 4-hidroxicalcona (3) e 4-hidroxi-4'-metoxicalcona (4).

WEI *et al.* (2018) avaliaram a atividade citotóxica da chalcona Xanthohumol (5) (Figura 7) contra células de câncer gástrico (AGS) e observaram importante atividade citotóxica com IC_{50} de 16,04 μ M. Foi observado também que o Xanthohumol exibiu baixa toxicidade contra células epiteliais gástricas normais (GES-1) com IC_{50} de 285,26 μ M, indicando que essa chalcona possui maior seletividade para células de câncer do que para células normais do corpo humano.

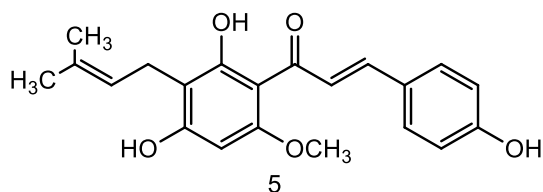


Figura 7 – Estrutura da chalcona Xanthohumol.

Esses resultados mostram que as chalconas exibem importante atividade citotóxica e que essa atividade pode ser influenciada pelos substituintes presentes em sua estrutura, indicando o potencial que esses compostos possuem para emprego no tratamento do câncer.

Nesse mesmo campo, muitos estudos têm sido feitos para caracterizar o mecanismo de ação antitumoral das chalconas. As chalconas podem interagir com diversos alvos celulares, como a proteína MDM2 (importante inibidor da proteína supressora de tumor p53), proteína p53 (desempenha um papel importante no controle do ciclo celular, no reparo do DNA e na indução de apoptose), tubulina, NF- κ B (fator nuclear kappa B), VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), VEGFR-2 (receptor do VEGF), Bax/Bcl-2 (proteínas envolvidas no processo de apoptose), caspases (enzimas envolvidas no processo de apoptose), entre outros. Essa capacidade de interagir com múltiplos alvos celulares, torna as chalconas muito atraentes para o desenvolvimento de

compostos com atividade anticâncer direcionados a um ou mais alvos específicos (MAHAPATRA; BHARTI; ASATI, 2015; OUYANG *et al.*, 2021).

Um agente anticâncer ideal deve ter alta especificidade para as células tumorais, alta eficácia e baixa incidência de efeitos colaterais. Nesse sentido, a nanotecnologia vem ganhando bastante destaque na área de desenvolvimento farmacêutico, devido a possibilidade de contornar problemas de baixa especificidade apresentado pelos fármacos anticâncer e de minimizar a toxicidade exibida por esses compostos (ALI *et al.*, 2021).

1.3 NANOTECNOLOGIA E O TRATAMENTO DO CÂNCER

A nanotecnologia oferece novas possibilidades para a criação de novos materiais e para o desenvolvimento de novas formas de liberação de fármacos. Dessa forma, a nanotecnologia tem sido utilizada para melhorar a funcionalidade de fármacos e excipientes utilizados na produção de medicamentos. Por exemplo, as nanopartículas podem melhorar a dissolução de fármacos administrados por via oral o que pode acarretar uma maior absorção e biodisponibilidade. Para formas de liberação parenteral, as nanopartículas podem aumentar o volume de distribuição, melhorando as propriedades farmacocinéticas dos fármacos ativos (TYAGI; SUBRAMONY, 2018).

Os sistemas baseados em nanotecnologia vêm ganhando popularidade como veículos para o transporte e entrega de medicamentos quimioterápicos devido a sua capacidade de direcionar os quimioterápicos especificamente para as células cancerosas (ALI *et al.*, 2021). Os fármacos podem ser ligados covalentemente, conjugados ou aprisionados nas estruturas dos nanocarreadores, que podem ser feitas de diferentes materiais, como polímeros, lipídeos e moléculas inorgânicas (Figura 8) (DANHIER; PRÉAT, 2010; PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015; MITCHELL *et al.*, 2021).

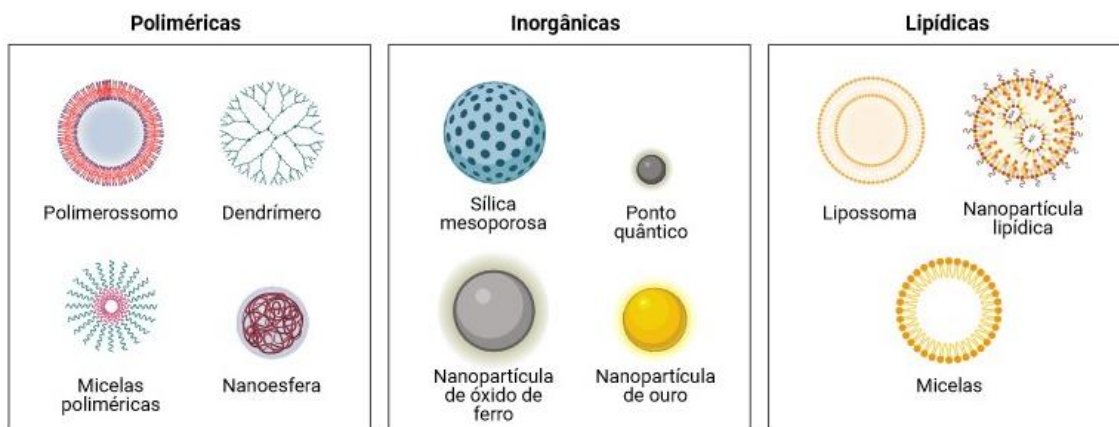


Figura 8 – Tipos de nanopartículas (adaptado de MITCHELL *et al.*, 2021) (criado com BioRender.com).

Nanocarreadores são sistemas coloidais em escala nanométrica capazes de transportar agentes anticâncer, como moléculas de baixo peso molecular e macromoléculas como genes e proteínas, diretamente para as células tumorais alcançando concentrações citotóxicas maiores, com menor incidência de efeitos colaterais em comparação com os fármacos na sua forma livre. Além disso, os nanocarreadores podem proteger o fármaco da degradação pelo metabolismo, reduzem a depuração renal, aumentam a biodisponibilidade do fármaco, permitem o controle da cinética de liberação e melhoram a solubilidade de compostos insolúveis (DAVIS; CHEN; SHIN, 2008; PÉREZ-HERRERO; FERNÁNDEZ-MEDARDE, 2015).

Atualmente, existem no mercado diversos medicamentos produzidos a partir da nanotecnologia, como, por exemplo, o medicamento Doxil® (doxorubicina lipossomal peguilada), o primeiro nanofármaco aprovado pela FDA, utilizado no tratamento de câncer de mama metastático, câncer de ovário avançado e sarcoma de Kaposi, os medicamentos Abraxane® (nanopartículas de paclitaxel ligado à albumina) e o Myocet® (complexo de doxorubicina-citrato encapsulado em lipossomas). Esses medicamentos nanotecnológicos apresentam melhores benefícios em relação aos medicamentos na forma isolada, como maior tempo de meia-vida, podendo ser administrados com menor frequência entre uma dose e outra, além de exibirem melhor perfil de captação por parte das células tumorais, reduzindo os níveis plasmáticos dos fármacos citotóxicos e a sua toxicidade em tecidos normais, exibindo menos efeitos adversos (POONIA; LATHER; PANDITA, 2018).

Entre os nanocarreadores utilizados, a sílica mesoporosa vem se destacando devido as suas propriedades físico-químicas, como a possibilidade de liberação controlada de fármacos, alto grau de pureza, boa compatibilidade química e biológica, grande área de superfície e volume ajustável dos poros. A grande área de superfície presente na sílica mesoporosa permite que vários grupos funcionais sejam ligados a um local específico na superfície da nanopartícula. A sílica mesoporosa pode promover a difusão dos fármacos inseridos nos seus poros, bem como prevenir a liberação precoce dos compostos transportados (HUDA; ALAM; SHARMA, 2020).

1.4 NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA

Sílicas mesoporosas são compostos a base de silicatos que apresentam estruturas altamente organizadas. Os materiais porosos podem ser classificados em três grupos com base no tamanho dos poros das nanopartículas - microporosos, mesoporosos e macroporosos, apresentando tamanho de poro menor que 2 nm, entre 2 e 50 nm e maior que 50 nm, respectivamente (GUPTA; QUADROS; MOMIN, 2023).

Os primeiros materiais mesoporosos foram desenvolvidos pela *Mobil Research and Development Corporation* no ano de 1992. As nanopartículas produzidas pelos pesquisadores da Mobil foram denominadas de *Mobil Composition of Matter* nº 41 (MCM-41) e possuíam morfologia hexagonal e poros uniformes. Inicialmente, esses materiais foram utilizados como peneiras moleculares para adsorção de gases e para separações cromatográficas em coluna. Após isso, diversos tipos de nanopartículas mesoporosas foram sintetizadas e utilizadas para diferentes tipos de aplicações (GUPTA; QUADROS; MOMIN, 2023; DE OLIVEIRA *et al.*, 2023).

As nanopartículas de sílica mesoporosa podem ser divididas em diferentes famílias (Figura 9), dependendo de características como tamanho dos poros, diâmetro das partículas, área superficial e método de síntese. Entre as várias estruturas de sílica mesoporosa, as famílias *Santa Barbara Amorphous* (SBA-), *Mobil Composition of Matter* (MCM-) e *Michigan State University Materials* (MSU-) são amplamente estudadas no campo da nanotecnologia. Uma numeração é utilizada para diferenciar os materiais, que podem exibir diferentes formas, arranjos e tamanhos de poros dentro de uma mesma família de materiais

mesoporosos. Por exemplo, a sílica mesoporosa MCM-41 possui estrutura de poros hexagonal e unidirecional, enquanto que a sílica MCM-48 possui estrutura de poros cúbicos tridimensionais (AHMADI *et al.*, 2022; DE OLIVEIRA *et al.*, 2023).

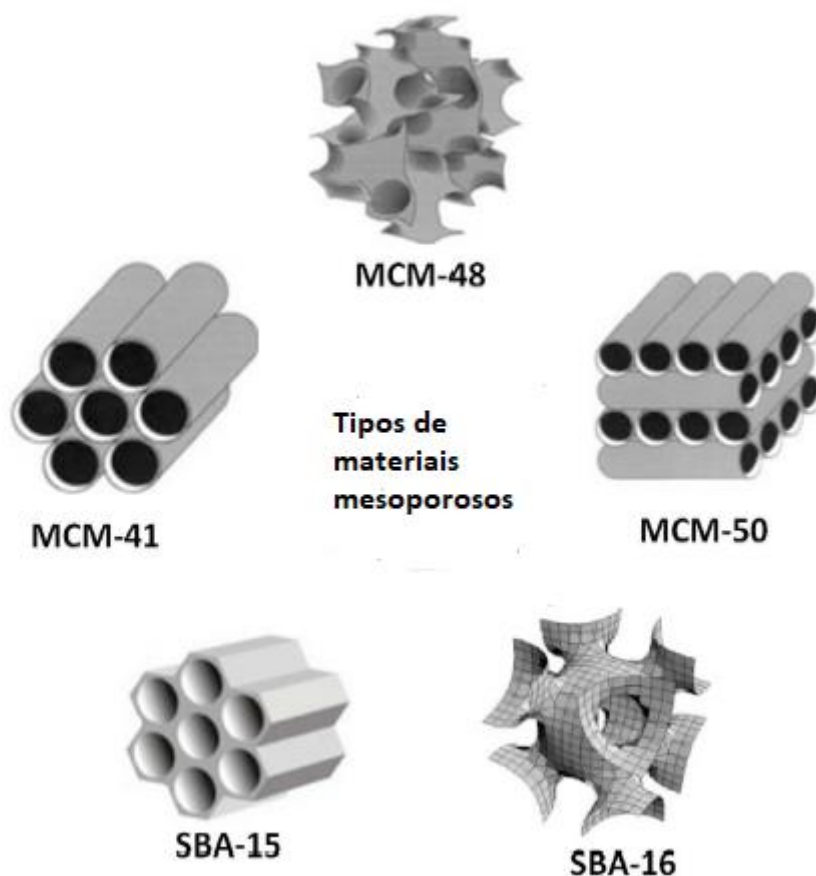


Figura 9 – Tipos de materiais mesoporosos (adaptado de o OLIVEIRA *et al.*, 2023).

O método geral de preparação das nanopartículas de sílica mesoporosa consiste na utilização de precursores de sílica, como tetraetila ortossilicato (TEOS), tetrametoxissilano e silicato de sódio para geração de sílica. Surfactantes como brometo de cetiltrimetilamônio, Pluronic® P123 e Pluronic® F127 são utilizados como direcionadores de estrutura. Catalisadores básicos como hidróxido de amônio, hidróxido de sódio e trietanolamina são utilizados para hidrolisar os precursores de sílica. Após esse processo, os monômeros de sílica hidrolisados são condensados com as micelas do surfactante que atuam como modelos para a formação de nanocompósitos mesoestruturados. Esses nanocompósitos são então calcinados ou tratados com solventes que irão promover a retirada dos direcionadores de estrutura formando, assim, os poros das nanopartículas de

sílica mesoporosa. Um solvente alcoólico como etanol, butanol, metanol ou propanol pode ser adicionado à reação para aumentar a solubilidade do precursor de sílica, aumentando assim a sua taxa de hidrólise (GUPTA; QUADROS; MOMIN, 2023). O processo de formação do agente responsável por promover o direcionamento da estrutura baseia-se na ação de um tensoativo que, ao entrar em contato com um solvente, desencadeia um processo de autoagregação, ocasionando a formação de micelas poliméricas em um mecanismo conhecido como Moldagem de Cristal Líquido (LCT). Desde a descoberta dos materiais mesoporosos ordenados pela *Mobil Corporation*, a composição dos surfactantes que direcionam a estrutura, bem como as condições sob as quais ocorre a formação de uma estrutura ordenada, têm sido exploradas e os surfactantes catiônicos, poliméricos e não iônicos têm sido usados para sintetizar novos compostos mesoporosos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Características como tamanho de partícula, morfologia e tamanho de poro dependem da concentração dos componentes utilizados na síntese e nas condições reacionais. As variáveis que controlam a formação da nanopartícula de sílica mesoporosa incluem o tipo de precursor de sílica e o agente direcionador de estrutura utilizado, juntamente com a temperatura da reação, pH do meio, velocidade e tempo de agitação. Qualquer variação nesses parâmetros afeta a morfologia e o tamanho dos poros da nanopartícula (AHMED *et al.*, 2022; GUPTA; QUADROS; MOMIN, 2023).

As nanopartículas de sílica mesoporosa são particularmente atraentes para aplicação no tratamento do câncer devido a possibilidade de síntese de nanopartículas de diferentes morfologias, diâmetros e arranjos de poros, grande área de superfície e diversas opções para funcionalização da superfície. A funcionalização de nanopartículas de sílica mesoporosa pode ser feita a partir de moléculas orgânicas e inorgânicas, polímeros, ligantes, receptores, encapsulação de moléculas com capacidade de liberação controlada, entre outros. Essa característica leva a possibilidades aparentemente infinitas para projetar nanocarreadores avançados que exercem múltiplas funções, como o direcionamento específico para as células cancerosas (KNEŽEVIĆ *et al.*, 2013; ŽIVOJEVIĆ *et al.*, 2021).

Os grupos silanóis presentes na superfície das nanopartículas ajuda no fácil processo de funcionalização. Várias abordagens têm sido empregadas para funcionalizar ligantes na superfície das nanopartículas. Esse processo modifica as propriedades físico-químicas desses materiais, auxiliando no processo de incorporação de substâncias bioativas, no processo de direcionamento sítio específico e na liberação controlada de fármacos. Grupos funcionais como hidroxilas, carboxilas, polietilenoglicóis (PEG) e aminas têm sido amplamente empregados no processo de funcionalização das nanopartículas. Por exemplo, materiais mesoporosos funcionalizados com grupos amino exibem propriedades de liberação controlada de fármacos devido a interações eletrostáticas e de hidrogênio com as moléculas carregadas (AHMED *et al.*, 2022; CIPRESTE *et al.*, 2021).

Uma abordagem importante consiste na funcionalização das nanopartículas de sílica com 3-aminopropiltrietoxissilano (APTES) (Figura 10), um alcoxissilano frequentemente utilizado no processo de modificação superficial de nanopartículas. A funcionalização dos materiais mesoporosos com APTES adiciona grupos amino a superfície das nanopartículas, que passam a exibir propriedades de adsorção e liberação controlada de fármacos distintas em comparação com os materiais não funcionalizados. Além de servir como base para adição de outras moléculas com diferentes propriedades a superfície das nanopartículas e a possibilidade interações com novos alvos terapêuticos (AHMED *et al.*, 2022; JIA *et al.*, 2013; MOHEBIAN *et al.*, 2021).

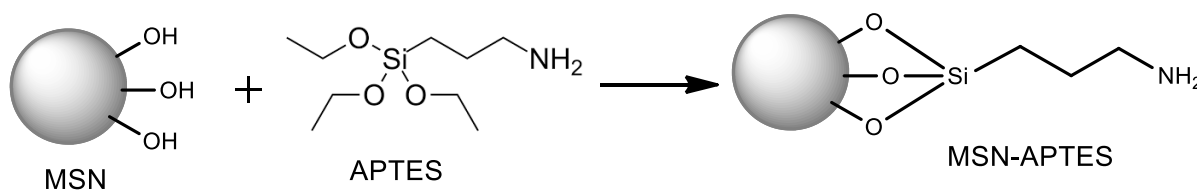


Figura 10 – Funcionalização de nanopartículas de sílica mesoporosa (MSN) com 3-aminopropiltrietoxissilano (APTES).

Outra característica importante que torna as nanopartículas atraentes para utilização no tratamento do câncer consiste na possibilidade de direcionamento sítio específico ativo ou passivo para as células cancerosas. O direcionamento passivo (Figura 11) consiste na acumulação das nanopartículas nos tecidos tumorais devido ao efeito de permeação e retenção aumentados (EPR). Esse

efeito acontece devido ao processo de angiogênese irregular que ocorre nos tecidos tumorais levando ao desenvolvimento de espaçamentos nas células dos vasos sanguíneos com diâmetros entre 100 nm a 2 μm . Dessa forma, as células endoteliais que formam os vasos sanguíneos dos tecidos tumorais apresentam permeabilidade aumentada em relação aos vasos sanguíneos dos tecidos normais. Além disso, a vasculatura tumoral é caracterizada por um sistema linfático com drenagem deficiente que possibilita o acúmulo de fármacos nesses tecidos. Essas características facilitam o extravasamento das nanopartículas para o interior dos tecidos tumorais e o seu acúmulo em maior quantidade do que nos tecidos normais, permitindo que os tratamentos sejam mais eficientes e seletivos e com a menor incidência de efeitos colaterais (CIPRESTE *et al.*, 2021).

Direcionamento passivo

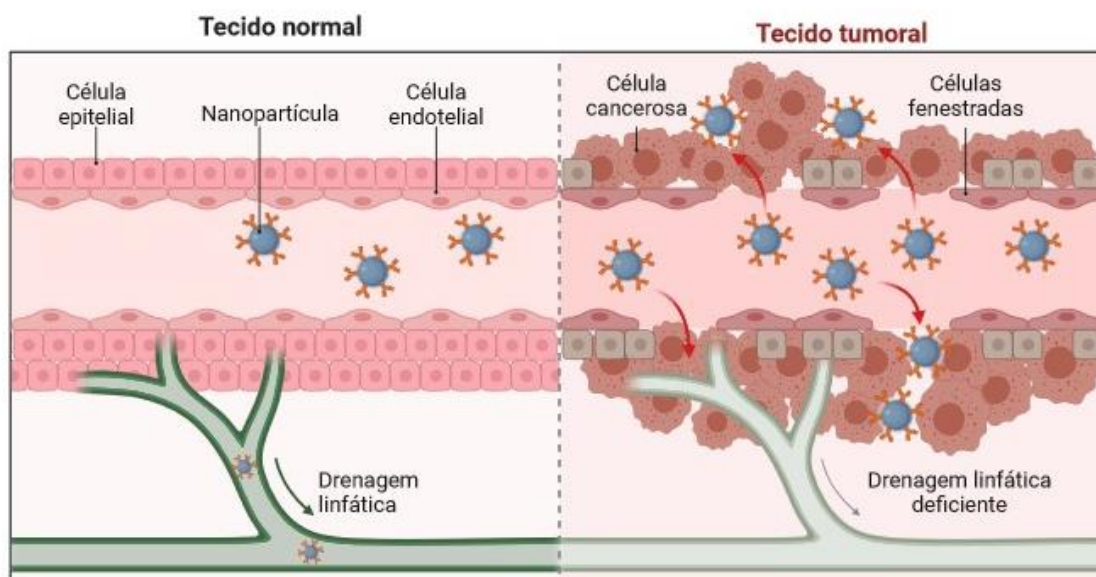


Figura 11 – Direcionamento passivo de nanopartículas para células tumorais (adaptado de KHETAN *et al.*, 2022) (criado com BioRender.com).

O direcionamento ativo (Figura 12) consiste na funcionalização da superfície das nanopartículas com ligantes específicos que possuem afinidade para receptores superexpressos nas células cancerosas, com objetivo de entregar seletivamente um fármaco anticâncer. As nanopartículas de sílica mesoporosa podem ser conjugadas a vários ligantes, como ácido fólico, proteínas, peptídeos, anticorpos monoclonais, manose, galactose, ácido hialurônico, transferrina, aptâmeros e outros. A ligação das nanopartículas aos receptores expressos nas células cancerosas promove a endocitose das nanopartículas, permitindo uma entrega

mais específica de agentes terapêuticos diretamente para as células tumorais (ZHOU *et al.*, 2018; CIPRESTE *et al.*, 2021).

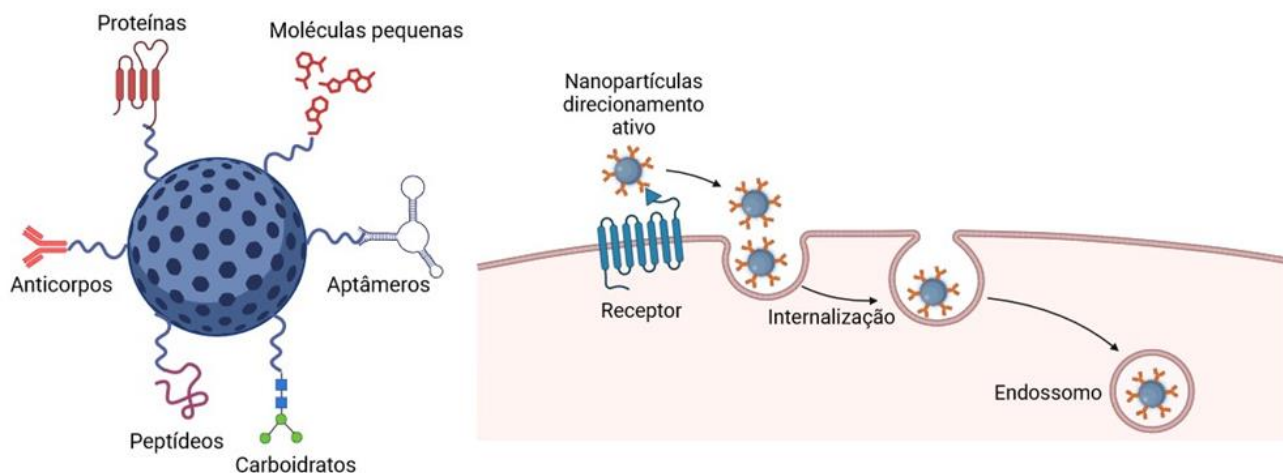


Figura 12 – Direcionamento ativo de nanopartículas para células tumorais (adaptado de ŽIVOJEVIĆ *et al.* 2021; KHETAN *et al.*, 2022) (criado com BioRender.com).

As nanopartículas de sílica mesoporosa exibem grande área de superfície e porosidade bem estruturada. Essas características podem ser utilizadas para transportar diferentes tipos de compostos, incluindo fármacos, nucleotídeos, compostos insolúveis em água, entre outros, bem como a combinação destes que podem ser liberados dentro das células cancerosas para aumentar a concentração de um agente anticâncer, visando o aumento da eficácia do tratamento e a minimização de efeitos adversos (CHEN *et al.*, 2019; ŽIVOJEVIĆ *et al.*, 2021).

Mesmo com o avanço farmacêutico e tecnológico nos últimos anos, o câncer ainda é uma das principais causas de morte em todo o mundo. Conseqüentemente, há uma necessidade urgente para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos. Nesse contexto, inúmeras pesquisas buscam novas estratégias para o tratamento do câncer, incluindo o tratamento direcionado, onde se busca como alvo apenas a célula cancerosa, minimizando os efeitos colaterais (ALI *et al.*, 2021).

Apesar de inúmeros estudos publicados relatando o potencial farmacológico das chalconas, poucos trabalhos relatam a aplicação desses compostos em sistemas mesoporosos de liberação de fármacos (SAYED *et al.*, 2018;

ALHARTHI *et al.*, 2022; KRAJNOVIĆ *et al.*, 2022) e nenhuma publicação cita a aplicação desses compostos e sistemas contra as células testadas neste trabalho, tornando relevante o estudo realizado por ser tratar de um trabalho inédito. Dessa forma, a formulação de nanopartículas com chalconas podem surgir como potenciais candidatas a fármacos para o tratamento do câncer, devido a síntese econômica, fácil e rápida das chalconas e a possibilidade de tratamento direcionado com emprego das nanopartículas de sílica mesoporosa, que podem aumentar a especificidade e a efetividade das chalconas contra as células tumorais.

2 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, o câncer tem sido um dos principais problemas de saúde pública no Brasil e no mundo. A incidência e a mortalidade vêm crescendo ano após ano devido ao envelhecimento da população, ao crescimento populacional e à prevalência de fatores de riscos, especialmente aos associados ao desenvolvimento socioeconômico. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), em 2022, surgiram mais de 19 milhões de novos casos de câncer no mundo e até 2045 estima-se que esse número seja superior a 30 milhões de novos casos. No Brasil, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), são esperados 704 mil novos casos de câncer para cada ano do triênio 2023-2025. Para o câncer de mama, estimam-se 74 mil casos novos previstos por ano até 2025. Além disso, o câncer de estômago está entre os tipos de câncer de maior incidência no Brasil, com 21.480 casos novos casos no ano de 2023.

Esses números alarmantes têm levado cientistas a uma busca constante por novos tratamentos para o câncer, que sejam eficazes e com menor incidência de efeitos colaterais, alinhado com formulações farmacêuticas que promovam a entrega de fármacos com alta especificidade, como as em sistema nanoestruturado. Diante do exposto, propomos nesse trabalho a avaliação da atividade antitumoral em linhagem celular de câncer de mama e de estômago de chalconas sintéticas em sistema nanoestruturado, visando a produção de potenciais candidatos a fármacos antineoplásicos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antitumoral de uma série de chalconas substituídas e de nanopartículas de sílica mesoporosa incorporadas com chalcona contra linhagens de células do câncer de mama (MCF-7) e de adenocarcinoma gástrico (AGS).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito citotóxico das chalconas obtidas sobre linhagem celular de câncer de mama e de adenocarcinoma gástrico;
- Analisar a relação da estrutura das chalconas com sua atividade antitumoral;
- Preparar e caracterizar a nanopartícula de sílica mesoporosa (MSN).
- Funcionalizar e caracterizar a sílica mesoporosa MSN com APTES.
- Verificar a influência da funcionalização nas propriedades físico-químicas da sílica mesoporosa.
- Realizar a formulação e a caracterização da chalcona mais ativa e com características físico-químicas que favoreçam a incorporação em nanopartículas de sílica mesoporosa e posterior avaliação de atividade antitumoral.
- Avaliar o perfil de liberação da chalcona incorporada nas nanopartículas de sílica mesoporosa.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS CHALCONAS SUBSTITUÍDAS

Para a preparação das chalconas substituídas utilizou-se a metodologia descrita por NGO *et al.* (2014). A um erlenmeyer de 50 mL, equipado com agitação magnética, adicionou-se 5 mmol de aldeído aromático, 5 mmol de cetona aromática, 10 mL de metanol e 1 mL de solução de hidróxido de sódio 30%. A mistura resultante foi agitada magneticamente por aproximadamente 1,5 h a temperatura ambiente. Após esse tempo, a mistura reacional foi deixada na geladeira durante a noite. O produto obtido foi filtrado a vácuo com funil de Buchner e lavado com água e etanol gelado.

As estruturas das chalconas foram confirmadas por análises de Infravermelho e RMN de ^{13}C e ^1H (material suplementar – apêndice).

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

4.2.1 Linhagens celulares

Células de fibroblastos NCTC clone 929 (L-929) (ATCC CCL-1™), células de câncer de mama (MCF-7) (ATCC HTB-22™) e células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS) (ATCC CRL – 1739™) foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células AGS foram mantidas em meio DMEM F-12 (Dulbecco's modified eagle médium Nutrient Mixture F-12) (Vitrocell cod. 02037, São Paulo, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (v/v) e as células L-929 e MCF-7 foram mantidas em meio DMEM alta glicose suplementado com 10% e 20% de soro fetal bovino, respectivamente, e incubadas em estufa a 37 °C com atmosfera contendo 5% de CO₂ em diferentes períodos até atingirem confluência de aproximadamente 80-90%. Após, as células foram removidas com solução de tripsina e contadas em câmara de Neubauer para obtenção dos valores de concentração celular.

4.2.2 Procedimento

100 µL de DMEM suplementado com aproximadamente 1,2 x 10⁴ células/mL (AGS) e 1 x 10⁵ células/mL (L-929 e MCF-7) foram distribuídos em microplacas de 96 poços para cultura e incubadas a 37 °C/5% CO₂ por 24 horas. Após esse período, o meio foi removido e as células aderidas foram tratadas com 100 µL de diferentes concentrações de amostras de chalconas e de amostras de sílica em DMEM suplementado e incubadas a 37 °C/5% de CO₂ por 48 horas para as

células AGS ou 24 horas para as células L-929 e MCF-7. Após incubação, as placas foram preparadas para o teste do MTT-tetrazólio (MOSMANN, 1983). Cisplatina foi utilizada como controle positivo (padrão citotóxico). Os testes foram acompanhados de crescimento controle negativo (sem tratamento), realizados em triplicata e repetidos no mínimo 3 vezes.

4.2.3 Índice de seletividade

O índice de seletividade (IS) indica a seletividade de uma substância entre células neoplásicas e não neoplásicas, e é determinado pela relação dos valores obtidos de IC₅₀ (índice citotóxico 50%) destas linhagens. A relação é obtida através da seguinte fórmula:

$$IS = IC_{50} \text{ célula não neoplásica} / IC_{50} \text{ célula neoplásica}$$

Onde célula não neoplásica é a linhagem de células de fibroblastos NCTC clone 929 (L-929) e célula neoplásica, a linhagens de câncer de mama (MCF-7) e/ou de adenocarcinoma gástrico (AGS).

O IS indica o potencial destas substâncias para testes pré-clínicos e clínicos. É considerado significativo valor de IS maior ou igual a 2,0 demonstrando que a substância é mais ativa em células neoplásicas (BADISA *et al.*, 2009).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise estatística descritiva foi realizada a fim de verificar a reprodutibilidade e validação dos resultados e análise por ANOVA combinada com teste de Dunnet para averiguar diferenças estatisticamente significativas dos resultados obtidos após tratamento com a amostra e controle (sem tratamento). Análises de regressão não linear de quatro parâmetros e resposta normalizada foram empregadas para cálculos do índice citotóxico 50% (IC₅₀).

4.4 OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA

Para incorporação nas nanopartículas de sílica mesoporosa, escolheu-se a chalcona que apresentou, em conjunto, melhor atividade citotóxica e que possuía características físico-químicas que poderiam favorecer o processo incorporação. Posteriormente, foi testada a citotoxicidade das nanopartículas incorporadas com a chalcona contra células de câncer de mama (MCF-7) e de adenocarcinoma gástrico (AGS).

4.4.1 Síntese das nanopartículas de sílica mesoporosa

Para a preparação das nanopartículas de sílica mesoporosa (MSN) foi utilizada a metodologia descrita por SHI *et al.* (2016) com alterações. Em um balão de fundo redondo adicionou-se 250 mL de água e o balão foi colocado em banho de glicerina. Posteriormente, preparou-se uma solução com água e 3 g de NH_4F (pH ~ 7). Em seguida, adicionou-se 1,8 g do copolímero em bloco Pluronic® - F127 e o ortossilicato de tetraetila (TEOS) a 40,3 mmol, sob agitação magnética. A reação foi mantida por 1 hora na temperatura de 78 °C. Em seguida, a mistura foi resfriada com ajuda de banho de gelo e água e após 10 min, o material foi centrifugado e coletado.

Extração do template F127 por solvente

Para realizar a extração do template por solvente, a amostra (500 mg) foi dispersa em 50 mL de solução de etanol/ácido clorídrico 1% v/v permanecendo em agitação à 80 °C. Essa amostra foi centrifugada e lavada por uma sequência de solventes: etanol, acetona e água. Após remoção do surfactante F127 pelo método de extração com solvente, usando etanol e ácido clorídrico a 1% v/v, as nanopartículas de sílica mesoporosa foram obtidas.

4.4.1.1 Modificação da superfície das matrizes com 3-aminopropiltrietoxissilano (APTES)

Foi utilizado o método pós-síntese para realizar a modificação superficial dos nanomateriais estudados. As sílicas mesoporosas foram modificadas superficialmente por meio da reação entre a sílica e 3-aminopropiltrietoxissilano – APTES. Para funcionalização foi utilizada a mesma metodologia descrita por ANDRADE *et al.* (2020), na qual a análise de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS) confirmou que a ligação entre os grupos silanóis presentes na superfície da sílica e as moléculas de 3-aminopropiltrietoxissilano ocorreu de forma covalente.

Nesta etapa, utilizou-se 500 mg de sílica mesoporosa MSN previamente seca em um balão de fundo redondo de três bocas em agitação mecânica em 30 mL de tolueno. Em seguida foi adicionado a esta suspensão 4 *mEq* do agente funcionalizante APTES. Esta mistura foi mantida sob refluxo durante 24 horas à temperatura de 80 °C. O sólido resultante foi filtrado em funil de placa porosa, lavado com o tolueno e acetona. O filtrado foi seco a 60 °C por 24 horas.

4.5 INCORPORAÇÃO DA 3-HIDROXICALCONA NAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA

Uma solução de chalcona de concentração 2 mg/mL foi preparada em acetonitrila ou acetato de etila. A sílica foi pesada na quantidade de 50 mg em um vidro de frasco âmbar com tampa e a solução de chalcona foi adicionada no respectivo frasco. A solução foi mantida sob agitação magnética e após dois dias de incorporação, a solução foi filtrada e seca à temperatura ambiente.

Para a quantificação da chalcona incorporada nas amostras de MSN e MSN-APTES foi feita uma curva de calibração no espectrofotômetro de UV-Vis. A preparação da curva para avaliação da linearidade foi realizada a partir de sete concentrações diferentes, seguida do tratamento estatístico dos dados para determinação da equação da reta e do coeficiente de determinação (R^2). Para a construção das curvas analíticas foi preparada uma solução estoque de chalcona na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$: pesaram-se cerca de 10 mg de chalcona e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com acetonitrila. Por meio de subseqüentes diluições da solução estoque de chalcona, foram obtidas as soluções nas concentrações teóricas para a construção da curva analítica com as devidas diluições (Tabela 5).

Tabela 5 – Diluições para construção das curvas analíticas para quantificação da chalcona por UV-Vis.

Solução	Alíquotas da solução estoque de chalcona (mL)	Balões utilizados para diluição (mL)	Concentração teórica final ($\mu\text{g/mL}$)
1	0,1	10	1
2	0,2	10	2
3	0,3	10	3
4	0,4	10	4
5	0,5	10	5
6	0,6	10	6
8	0,8	10	8

As amostras incorporadas foram denominadas como MSN-CHO (nanopartícula de sílica mesoporosa incorporada com 3-hidroxichalcona), MSN-APTES-CHO (nanopartícula de sílica mesoporosa funcionalizada com APTES e incorporada

com 3-hidroxichalcona) e MSN-CHO Ac (nanopartícula de sílica mesoporosa incorporada com 3-hidroxichalcona utilizando o solvente acetato de etila).

4.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA

Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram utilizadas para caracterizar a morfologia do material. A caracterização qualitativa dos grupos funcionais foi realizada por espectroscopia no infravermelho (FTIR). Análise de potencial zeta foi utilizada para determinação da carga elétrica superficial das nanopartículas. Análise de adsorção de nitrogênio foi utilizada para avaliar as características texturais das nanopartículas, como área superficial, diâmetros e volume de poros. A estabilidade térmica, temperatura de degradação e quantidade de chalcona carregada na rede de sílica foram investigadas por análise termogravimétrica (TGA). A técnica de análise elementar (CHN) foi utilizada para analisar o conteúdo de carbono das amostras de sílica funcionalizada com APTES e incorporadas com a chalcona.

4.6.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens da sílica mesoporosa para a análise da morfologia foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura modelo JSM 6610 LV (JEOL) do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) para a realização dessas imagens. As amostras foram suspensas em água destilada e gotas dessa suspensão foram adicionadas no suporte para amostras.

4.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens da sílica mesoporosa para a análise da estrutura dos poros foram obtidas por microscopia eletrônica de transmissão. Utilizou-se o microscópio eletrônico de transmissão modelo JEM 1400 (JEOL) do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) para a realização dessas imagens. As amostras foram adicionadas diretamente no suporte para amostras e realizado as leituras para obtenção das imagens.

4.6.3 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na Região de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para caracterizar os grupos funcionais típicos da sílica MSN, da sílica MSN funcionalizada com APTES (MSN-APTES) e dos grupos funcionais da chalcona incorporada nas amostras de sílica. Os espectros de IV abrangendo a região de 400-4000 cm^{-1} foram obtidos por meio de um espectrofotômetro Thermo Scientific Nicolet 6700. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente, em pastilhas sólidas do pó com KBr, e foram adquiridos com resolução de 4 cm^{-1} e 64 scans/min.

4.6.4 Potencial zeta

A análise do potencial zeta foi utilizada para determinação da carga elétrica superficial das nanopartículas de sílica mesoporosa. As medidas foram realizadas em triplicata, com amostras de sílica mesoporosa diluídas em solução de NaCl 0,9 M, utilizando-se o equipamento Litesizer 500 (Anton Paar).

4.6.5 Adsorção de nitrogênio

As características dos poros das amostras foram analisadas utilizando o equipamento Quantachrome SiQwin™, composto por um sistema de adsorção física automatizado que fornece dados de equilíbrio de adsorção e dessorção. As amostras de sílica mesoporosa foram desgaseificadas por 2 horas a 120 °C, antes dos ensaios. Os dados de volume adsorvido e dessorvido em diferentes pressões relativas foram utilizados para se obter informações sobre a área superficial por BET, distribuição e tamanho médio de poros, volume de poros, e área superficial de mesoporos. Medidas da área superficial específica foram baseadas nas teorias de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (BRUNAUER *et al.*, 1940) utilizando os dados de adsorção na faixa de pressão de 0,05 a 0,25. Análises do tamanho de poros e volume total de poros foram obtidas pelo método de Barret, Joyner e Halenda (BJH) (BARRETT; JOYNER; HALENDA, 1951). O volume total de poros foi estimado pela quantidade de nitrogênio adsorvida a uma pressão relativa P/P_0 de aproximadamente 0,99 (SING *et al.*, 1985). O software NovaWin 1994–2011 da Quantachrome Instruments, foi utilizado para realização do cálculo de distribuição de tamanho de poros.

4.6.6 Análise Termogravimétrica (TGA) e análise elementar (CHN)

A análise de termogravimetria (TGA) foi realizada no equipamento TGA 50WS (Shimadzu). As amostras foram analisadas nas seguintes condições: razão de aquecimento $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, faixa de temperatura de 25 a $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ e sob atmosfera de N_2 com fluxo de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e cadinho de alumina aberta. As curvas termogravimétricas obtidas relacionam perda de massa a um gradiente de temperatura. Através dessas análises foi possível avaliar a estabilidade térmica dos materiais estudados e estimar a quantidade de chalcona presente nas amostras.

A técnica de análise elementar (CHN) foi utilizada para análise do conteúdo de carbono e nitrogênio das amostras de sílica funcionalizada com APTES e incorporadas com chalcona em um equipamento de CHNSO da Perkin-Elmer, modelo 2400.

4.7 TESTE DE LIBERAÇÃO *IN-VITRO*

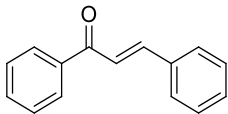
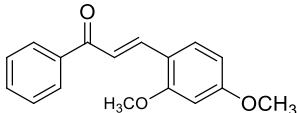
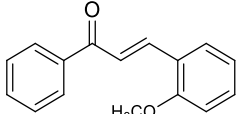
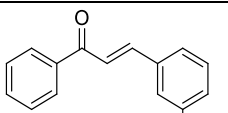
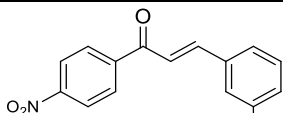
Para o teste de liberação da 3-hidroxichalcona das nanopartículas de sílica mesoporosa incorporadas (MSN-CHO e MSN-APTES-CHO) utilizou-se 10 mg de ambas as amostras, que foram adicionadas em 10 mL de solução tampão PBS com pH de 7,4. As soluções preparadas foram colocadas em uma incubadora com agitação orbital (marca INNOVA 4200) a uma temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ e permaneceram em agitação (50 rpm) por período de até 54 horas. Para quantificar a concentração de 3-hidroxichalcona liberada das amostras de sílica retirou-se alíquotas em determinados intervalos de tempo, que foram analisadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS V-2401 em comprimento de onda de 305 nm.

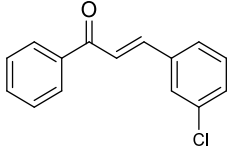
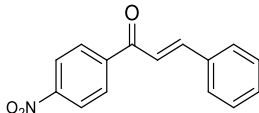
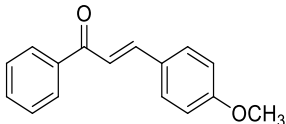
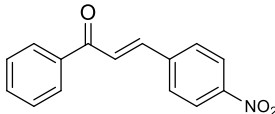
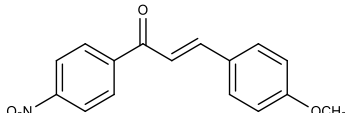
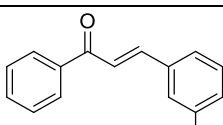
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ATIVIDADE CITOTÓXICA CONTRA LINHAGEM CELULAR DE ADENOCARCINOMA GÁSTRICO (AGS) E ÍNDICE DE SELETIVIDADE

Durante o estudo 11 chalconas com diferentes substituintes foram submetidas ao teste de citotoxicidade contra linhagens de células de adenocarcinoma gástrico (AGS) e câncer de mama (MCF-7) visando a identificação da chalcona mais citotóxica para posterior incorporação dessa chalcona nas nanopartículas de sílica mesoporosa. Os resultados obtidos mostraram que as chalconas exibiram significativa citotoxicidade. Na Tabela 6 são apresentados os valores de IC₅₀ e a seletividade das chalconas para células AGS frente a células de fibroblastos (L-929).

Tabela 6 – IC₅₀ (µM) e índice de seletividade (IS) das chalconas e cisplatina contra células AGS e L-929.

Chalcona	Estrutura	IC ₅₀ L-929	IC ₅₀ AGS	IS
1	 Benzalacetofenona	242,65±1,80****	53,11±1,63	4,24***
2	 2,4-metoxichalcona	530,73±8,96****	105,59±2,69* **	4,30***
3	 2-metoxichalcona	389,75±2,79****	46,96±3,38	6,74****
4	 3-metoxichalcona	261,16±7,18****	44,55±0,09	4,79****
5	 3-cloro-4'-nitrochalcona	491,31±0,25****	163,26±8,36* ***	2,92*

6	 3-clorochalcona	203,91±1,52****	44,54±1,24	4,58****
7	 4'-nitrochalcona	123,36±26,36*** *	408,82±8,70* ***	0,30
8	 4-metoxichalcona	346,59±1,69****	65,97±0,55	5,25****
9	 4-nitrochalcona	173,58±7,15****	286,06±1,48* ***	0,59
10	 4-metoxi-4'-nitrochalcona	246,88±55,88*** *	149,46±5,84* ***	1,60
11	 3-hidrochalcona	275,03±5,96****	47,58±0,16	5,78****
Cisplatina		24,03±7,42	39,59±0,66	0,61

IC₅₀ e IS das chalconas e cisplatina (****: p < 0.0001; ***: p < 0.001; **: p < 0.01; *: p < 0.1 comparado a cisplatina).

De acordo com os resultados, observa-se que as chalconas foram mais ativas contra as células AGS do que contra as células de fibroblastos (L-929). Além disso, esses compostos exibiram maior seletividade para as células AGS do que a cisplatina. As chalconas **3** (IC₅₀ = 46,96 ± 3,38 μM), **4** (IC₅₀ = 44,55 ± 0,09 μM), **6** (IC₅₀ = 44,54 ± 1,24 μM) e **11** (IC₅₀ = 47,58 ± 0,16 μM) exibiram efeitos citotóxicos próximos aos da cisplatina (IC₅₀ = 39,59 ± 0,66 μM).

Observa-se a partir da Tabela 6 que os diferentes tipos de substituições presentes nas chalconas resultaram em diferentes graus de citotoxicidade.

O composto **1** que é a chalcona não-substituída (benzalacetofenona) já demonstrou uma boa atividade citotóxica, com IC_{50} de $53,11 \pm 1,63 \mu M$, nos guiando a investigar a influência dos diferentes substituintes nesta atividade.

Grupos metoxilas são conhecidos por aumentar a atividade citotóxica das chalconas (KARTHIKEYAN *et al.*, 2015). O composto **4** (3-metoxichalcona) apresentou melhor ação citotóxica entre as chalconas metoxiladas, com IC_{50} de $44,55 \pm 0,09 \mu M$, podendo ser justificada pela presença do grupo metoxi na posição 3 do anel B. A chalcona **3** (2-metoxichalcona) também apresentou boa atividade citotóxica (IC_{50} de $46,96 \pm 3,38 \mu M$), mostrando que o grupo metoxi na posição 2 exerce efeito positivo nessa atividade, porém, de forma menos acentuada que na posição 3 do anel. Outras chalconas testadas que possuíam grupos metoxilas nos anéis aromáticos (2,4-metoxichalcona, 4-metoxichalcona e 4-metoxi-4'-nitrochalcona) apresentaram valores de IC_{50} mais elevados, mostrando que a posição do grupo metoxi no anel aromático influencia de forma significativa a atividade desses compostos.

A presença de grupos hidroxilas também são conhecidas por influenciar de forma positiva a atividade citotóxica das chalconas (MAHAPATRA; BHARTI; ASATI, 2015), isso pode ser visto pela atividade da chalcona **11** (3-hidroxichalcona), que apresentou importante citotoxicidade (IC_{50} de $47,58 \pm 0,16 \mu M$), mostrando que a presença do grupo hidroxila na posição 3 do anel exerce importante efeito sobre a citotoxicidade das chalconas.

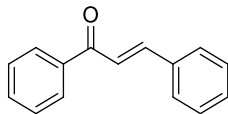
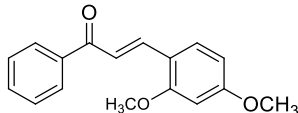
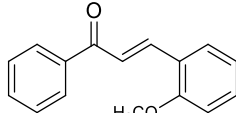
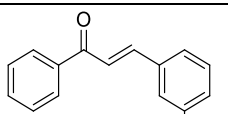
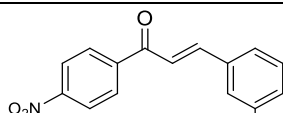
Outros grupos que exercem efeitos importantes sobre a atividade citotóxica das chalconas são os grupos retiradores de elétrons (nitro, flúor, cloro e bromo). A chalcona **6** (3-clorochalcona) apresentou boa atividade citotóxica (IC_{50} de $44,54 \pm 1,24 \mu M$), enquanto que as chalconas **5** (3-cloro-4'-nitrochalcona), **7** (4'-nitrochalcona), **9** (4-nitrochalcona) e **10** (4-metoxi-4'-nitrochalcona) apresentaram moderada atividade citotóxica. A presença do grupo cloro na posição 3 do anel B exerce importante influência na atividade das chalconas, enquanto que a presença do grupo nitro na posição 4 do anel A e do anel B parece provocar um efeito negativo sobre a atividade citotóxica, como pode-se observar nos compostos **5** ($IC_{50} = 163,26 \pm 8,36 \mu M$), **7** ($IC_{50} = 408,82 \pm 8,70 \mu M$), **9** ($IC_{50} = 286,06 \pm 1,48 \mu M$) e **10** ($IC_{50} = 149,46 \pm 5,84 \mu M$).

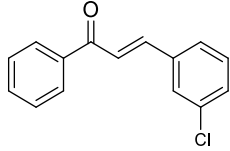
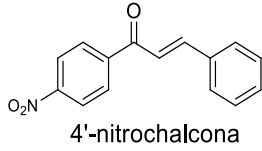
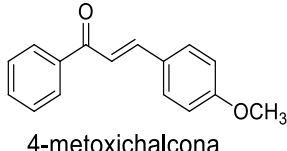
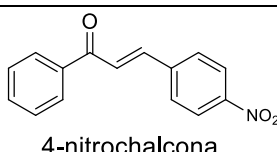
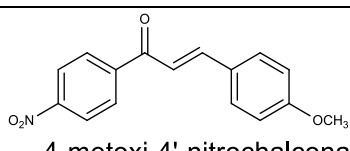
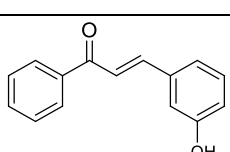
Vale destacar que algumas chalconas apresentaram menor citotoxicidade quando comparadas a chalcona sem substituintes (chalcona 1), mostrando que a posição e o tipo de substituinte exercem importante influência na atividade citotóxica das chalconas. Dessa forma, pode-se concluir que a presença de grupos hidroxila, metoxila e cloro no anel B das chalconas são importantes para a citotoxicidade e seletividade desses compostos.

5.2 ATIVIDADE CITOTÓXICA DE CHALCONAS CONTRA LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) E ÍNDICE DE SELETIVIDADE

Na Tabela 7 são apresentados os valores de IC₅₀ e a seletividade das chalconas para células MCF-7 frente as células de fibroblastos (L-929).

Tabela 7 – IC₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) das chalconas e cisplatina contra células MCF-7 e L-929.

Chalcona	Estrutura	IC ₅₀ L-929	IC ₅₀ MCF-7	IS
1	 Benzalacetofenona	242,65±1,80*** *	57,93±19,59	3,73***
2	 2,4-metoxichalcona	530,73±8,96*** *	105,06±6,77**	5,07****
3	 2-metoxichalcona	389,75±2,79*** *	81,04±16,52	4,96****
4	 3-metoxichalcona	261,16±7,18*** *	48,12±2,21	5,43****
5	 3-cloro-4'-nitrochalcona	491,31±0,25*** *	65,62±12,78	6,63****

6	 3-clorochalcona	203,91±1,52*** *	45,58±4,66	4,50****
7	 4'-nitrochalcona	123,36±26,36* ***	217,77±2,40****	0,52
8	 4-metoxichalcona	346,59±1,69*** *	92,18±4,01	4,64****
9	 4-nitrochalcona	173,58±7,15*** *	275,77±15,67*** *	0,63
10	 4-metoxi-4'-nitrochalcona	246,88±55,88* ***	94,32±21,27**	3,27**
11	 3-hidroxichalcona	275,03±5,96*** *	47,97±2,56	5,75****
Cisplatina		24,03±7,42	52,85±4,80	0,46

IC50 e IS das chalconas e cisplatina (****: $p < 0.0001$; ***: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$; *: $p < 0.1$ comparado a cisplatina).

De acordo com os resultados, observa-se que as chalconas apresentaram importante atividade citotóxica contra as células MCF-7, sendo que a maioria delas foram mais ativas contra as células MCF-7 do que contra as células de fibroblastos (L-929). As chalconas **4** ($IC_{50} = 48,12 \pm 2,21 \mu M$), **6** ($IC_{50} = 45,58 \pm 4,66 \mu M$) e **11** ($IC_{50} = 47,97 \pm 2,56 \mu M$) apresentaram atividade citotóxica melhor do que a cisplatina ($IC_{50} = 52,85 \pm 4,80 \mu M$), mostrando o potencial de aplicação desses compostos.

No geral, os efeitos dos substituintes sobre a atividade citotóxica das chalconas contra as células MCF-7 foram parecidos com os efeitos exibidos contra as células AGS. As chalconas mais ativas contra as células MCF-7 foram a 3-

clorochalcona ($IC_{50} = 45,58 \pm 4,66 \mu M$), 3-hidroxicalcona ($IC_{50} = 47,97 \pm 2,56 \mu M$) e 3-metoxicalcona ($IC_{50} = 48,12 \pm 2,21 \mu M$). Vale destacar que a presença de grupo nitro na posição 4 do anel A e B parece exercer um menor efeito negativo sobre a atividade citotóxica das chalconas contra as células MCF-7 do que contra as células AGS, no qual pode ser observado ao se comparar a atividade dos compostos **5**, **7**, **9** e **10** contra as duas linhagens de células. Além disso, o grupo nitro na posição 4 do anel A e B parece diminuir a especificidade desses compostos para as células AGS e MCF-7, aumentando a seletividade para as células de fibroblastos. Essa característica pode ser observada, principalmente, nas chalconas **7** e **9**, que exibiram maior atividade citotóxica contra as células de fibroblastos ($IC_{50} = 123,36$ e $173,58 \mu M$) do que contra as células AGS ($IC_{50} = 408,82$ e $286,06 \mu M$) e MCF-7 ($IC_{50} = 217,77$ e $275,77 \mu M$).

No geral, as chalconas apresentaram significativa atividade citotóxica contra as células AGS e MCF-7, destacando-se as chalconas **4** (3-metoxicalcona), **6** (3-clorochalcona) e **11** (3-hidroxicalcona). Dentre esses compostos, a 3-hidroxicalcona foi escolhida para incorporação nas nanopartículas de sílica mesoporosa considerando o perfil de citotoxicidade apresentado em ambas as linhagens celulares tumorais e as características físico-químicas do composto, como a presença do grupo hidroxila, que poderia favorecer o processo de incorporação devido a interações com os grupos silanóis da sílica através de ligações de hidrogênio. O processo de funcionalização foi realizado, posteriormente, com a finalidade de adicionar grupos amino a superfície da sílica. A presença desses grupos na superfície da sílica pode favorecer ainda mais o processo de incorporação por meio da ampliação das interações de hidrogênio entre as nanopartículas e a 3-hidroxicalcona, com a possibilidade de incorporação de uma quantidade maior de chalcona na sílica.

5.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA (MSN e MSN-APTES)

Durante o estudo preparou-se dois tipos de nanopartículas de sílica mesoporosa. Primeiramente foi preparada a nanopartícula de sílica mesoporosa (MSN) e, posteriormente, foi realizado a funcionalização de MSN visando verificar a influência da funcionalização nas propriedades físico-químicas da sílica. A seguir

são mostrados os resultados dos procedimentos realizados para caracterização das amostras de sílica mesoporosa.

5.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma importante técnica utilizada para o estudo da morfologia (textura, forma e tamanho) de um material. Com as imagens de MEV foi possível estimar a forma das partículas de MSN (Figura 13) e de MSN-APTES (Figura 14). As sílicas MSN e MSN-APTES apresentam partículas esféricas, resultados condizentes com o descrito na literatura (WANG *et al.*, 2004). Entretanto, é possível observar agregados de tamanhos diversos, que são comuns em partículas de tamanho em escala nanométrica.

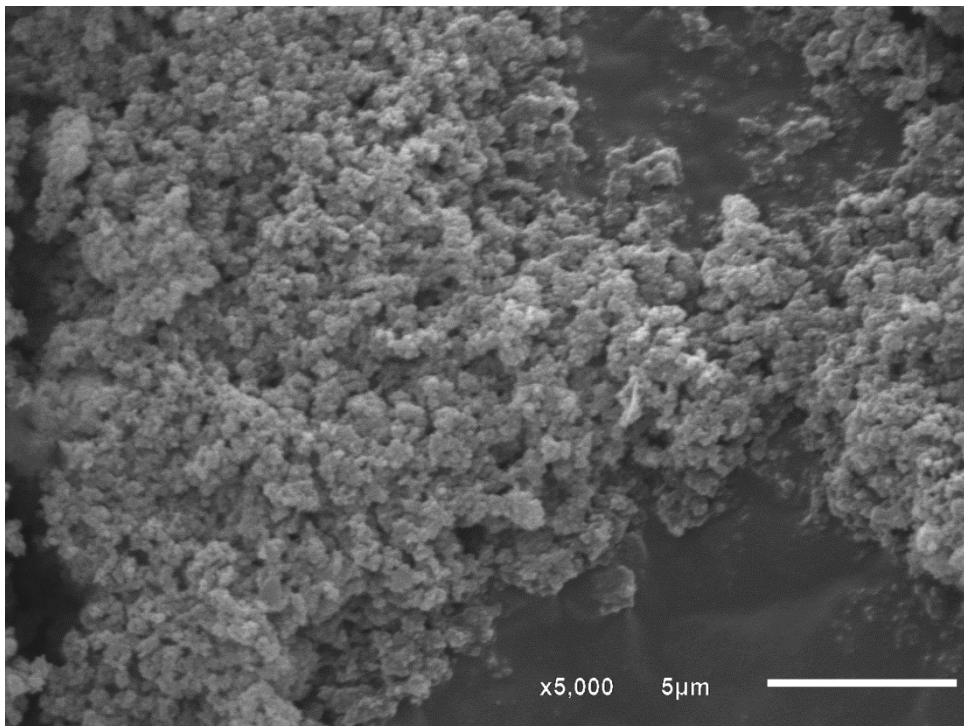


Figura 13 – Microscopia eletrônica de varredura de MSN.

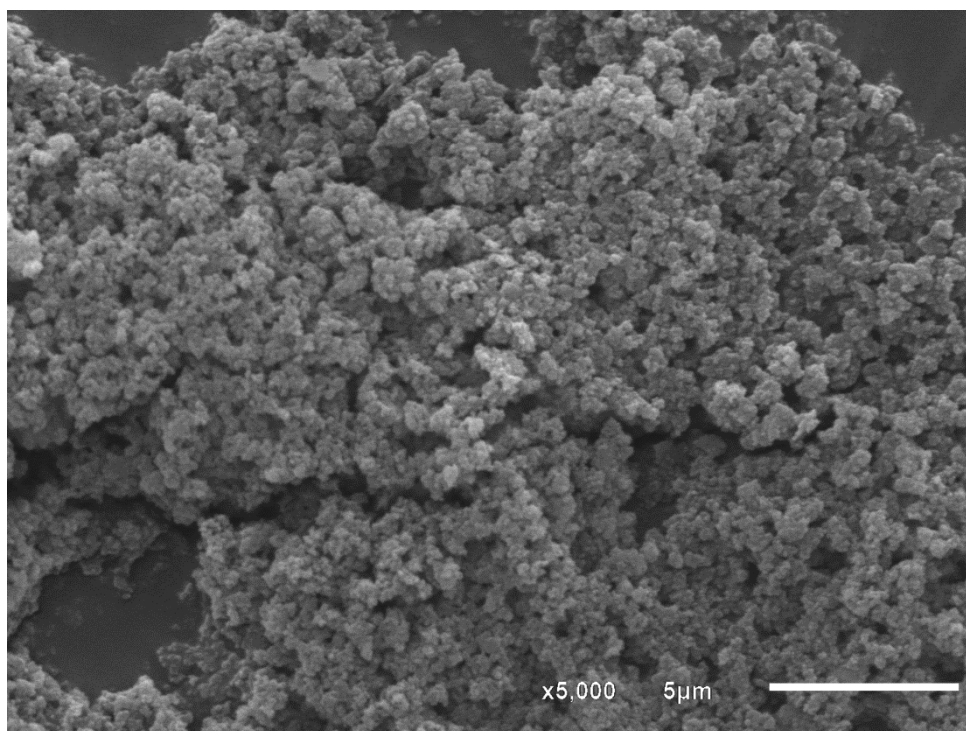


Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura de MSN-APTES.

5.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi utilizada para caracterização da estrutura dos poros e estimar o tamanho da partícula das sílicas mesoporosas MSN e MSN-APTES. Analisando as imagens é possível verificar a existência dos poros, que aparecem em formato esférico e em tonalidade mais clara pelas partículas da sílica (Figuras 15 e 16). Assim como observado na análise de MEV, as partículas de sílica se encontram aglomeradas, característica comum em partículas de tamanho nanométrico, e que pode ser considerado um fator limitante nesse tipo de análise, pois dificulta a visualização de estruturas da sílica de forma mais nítida. Além disso, verificou-se que o tamanho das nanopartículas ficou entre 80 a 100 nm.

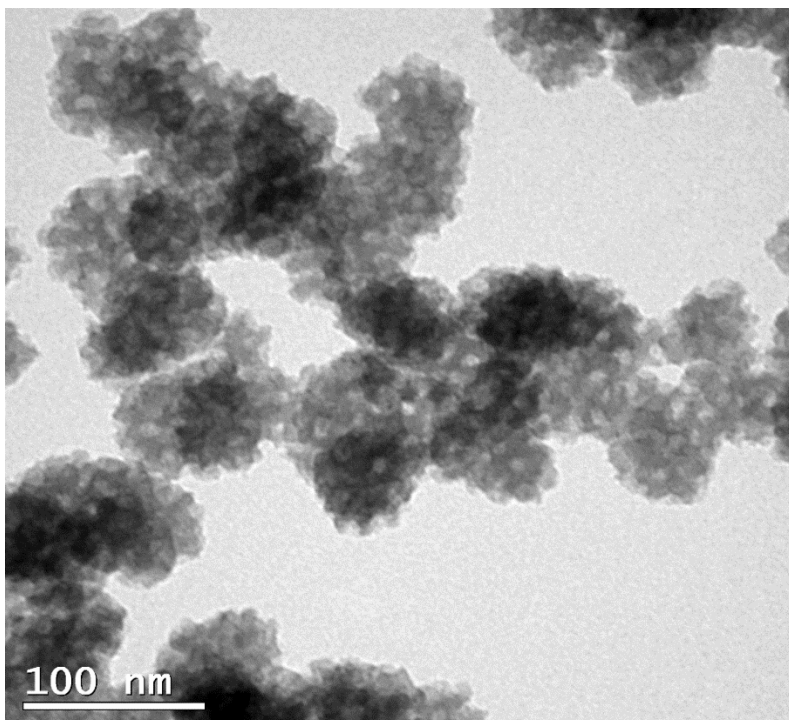


Figura 15 – Microscopia eletrônica de transmissão de MSN.

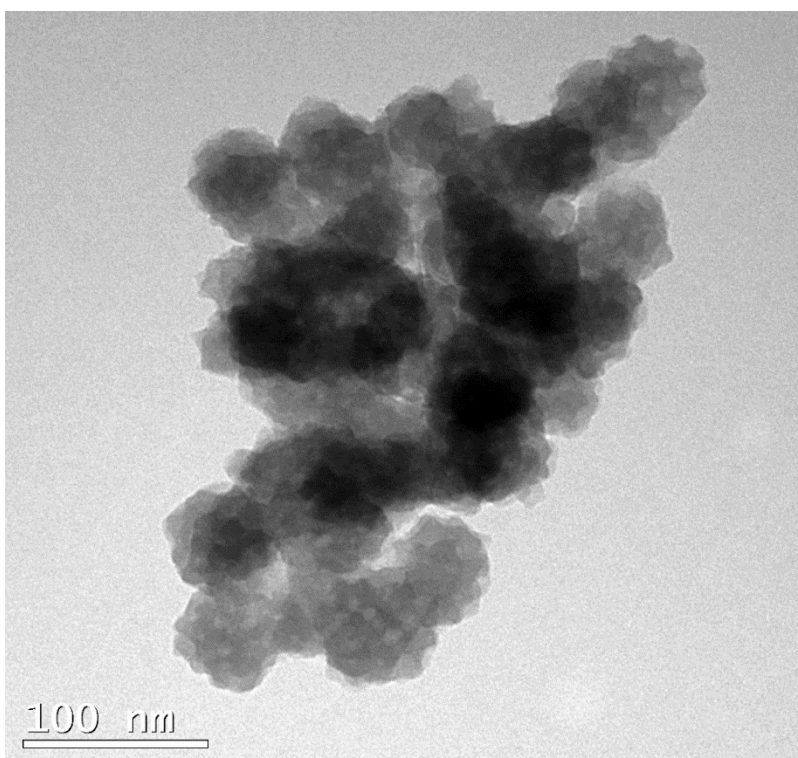


Figura 16 – Microscopia eletrônica de transmissão de MSN-APTES.

5.3.3 Espectroscopia na região do infravermelho

A análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) utilizando equipamento espectrofotômetro Thermo Scientific

Nicolet 6700 foi utilizada para caracterizar os componentes químicos das amostras de sílica mesoporosa antes e depois da incorporação com 3-hidroxichalcona.

No espectro de infravermelho da amostra MSN (Figura 17) foram observadas bandas de absorção referentes às vibrações fundamentais da rede de sílica, em torno de 460, 810, 960, 1080-1200, 3100-3700 cm^{-1} . A banda entre 1080 e 1160 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si do SiO_4 . As bandas em 960 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} correspondem aos grupos silanóis (Si-OH) presentes na estrutura da sílica. A banda em torno de 800 cm^{-1} é relativa ao estiramento simétrico da ligação Si-O-Si. A banda na região de 3100-3550 cm^{-1} , relaciona-se ao grupo hidroxila de moléculas de água e ao modo de vibração de deformação axial de OH do grupo Si-OH. As bandas obtidas são típicas da rede de sílica e estão de acordo com o descrito por DURAN *et al.* (1986).

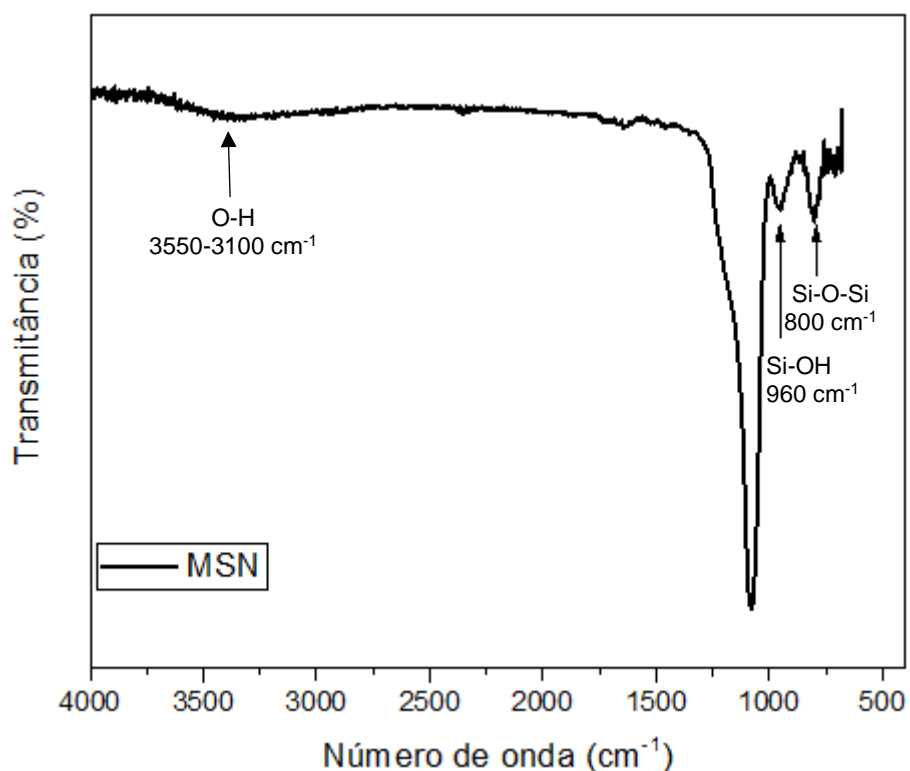


Figura 17 – Espectro de infravermelho de MSN.

Analisando os espectros de infravermelho das amostras funcionalizada (MSN-APTES) (Figura 18) é possível observar, além da presença das bandas de absorção características dos grupos funcionais da rede de sílica, a presença de outras bandas, atribuídas a funcionalização com APTES na superfície da sílica.

Também se observa uma redução na intensidade da banda em 960 cm^{-1} , que pode ser atribuída pela redução no número de grupos silanóis presentes na estrutura da sílica, devido ao processo de ligação do agente funcionalizante a esses grupos funcionais.

Dois picos de absorção em torno de 690 cm^{-1} e 1560 cm^{-1} correspondentes a vibração de deformação de N-H e vibração de estiramento simétrico NH_2 , respectivamente, indicam a presença dos grupos amino funcionalizantes na superfície da nanopartícula de sílica mesoporosa (SHI *et al.*, 2009).

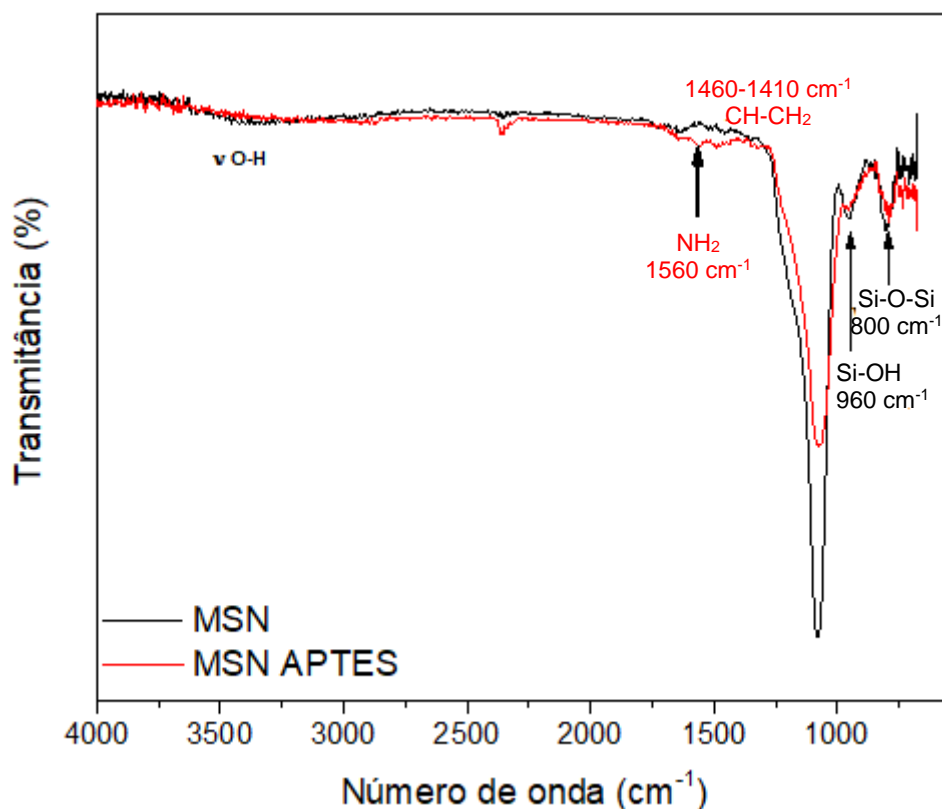


Figura 18 – Espectro de infravermelho de MSN-APTES.

Para caracterizar a estrutura de MSN e MSN-APTES após o processo de incorporação com 3-hidroxichalcona foi feito também a análise de infravermelho na chalcona para que fosse possível comparar os grupos funcionais presentes na sílica antes e depois do processo de incorporação. A partir desse espectro (Figura 19) é possível observar a presença de 3 grupos funcionais característicos da 3-hidroxichalcona, em 1651 e 1602 cm^{-1} correspondente a carbonila (C=O), 1490 e 1465 cm^{-1} correspondente a dupla ligação entre o carbono alfa e beta

(C=C) e em 3328 cm^{-1} correspondente a hidroxila (OH) presente na posição 3 do anel B (YADAV *et al.*, 2011).

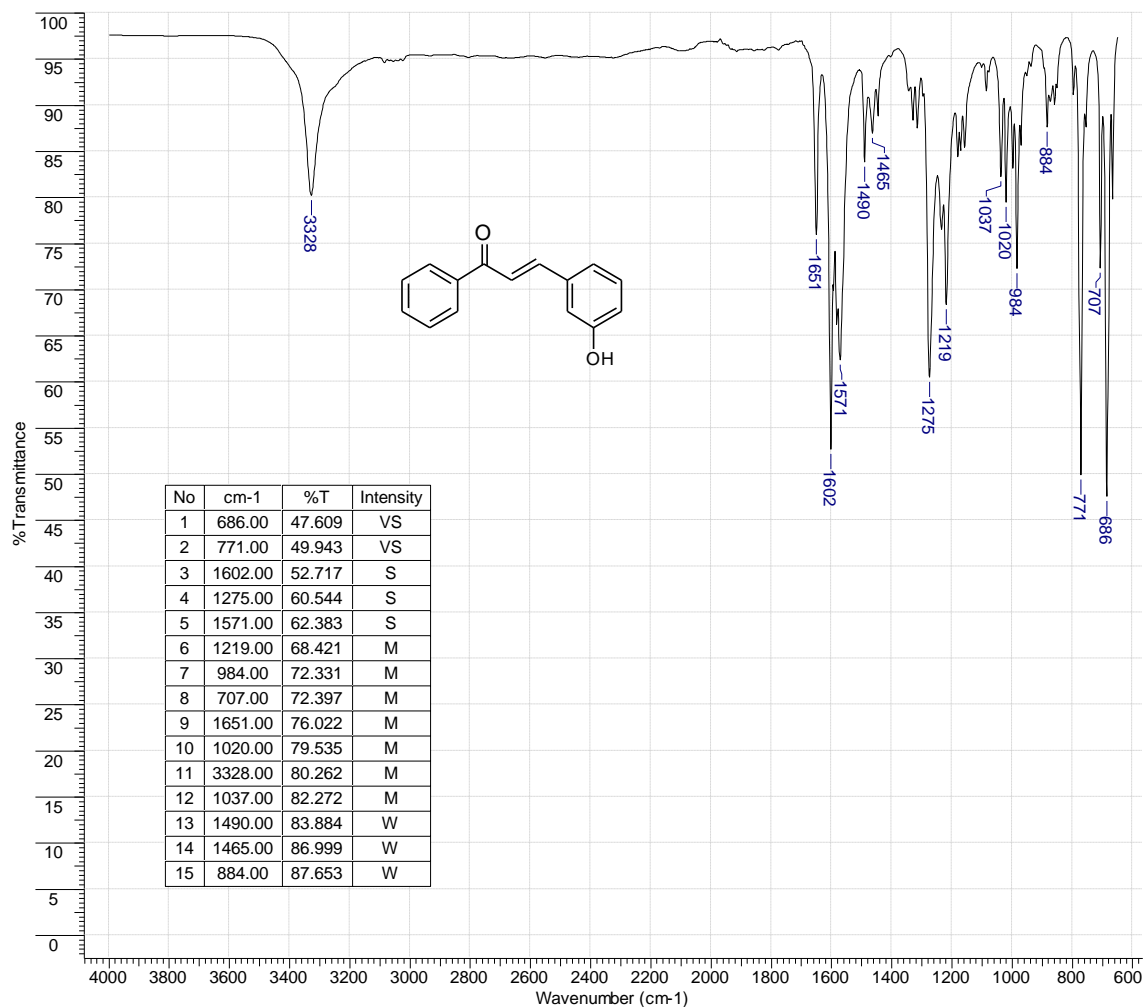


Figura 19 – Espectro de infravermelho de 3-hidroxicalcona.

No espectro de FTIR das amostras MSN e MSN-APTES contendo a 3-hidroxicalcona (MSN-CHO e MSN-APTES-CHO) (Figuras 20 e 21), observa-se que as bandas referentes aos grupos funcionais contidos na chalcona estão sobrepostas, não sendo possível uma correta visualização. Isso pode ser explicado pelo fato de que possivelmente as chalconas não estão presentes de maneira significativa na superfície da sílica e, sim, nos poros, não sendo possível identificar por infravermelho as chalconas incorporadas nas amostras de sílica.

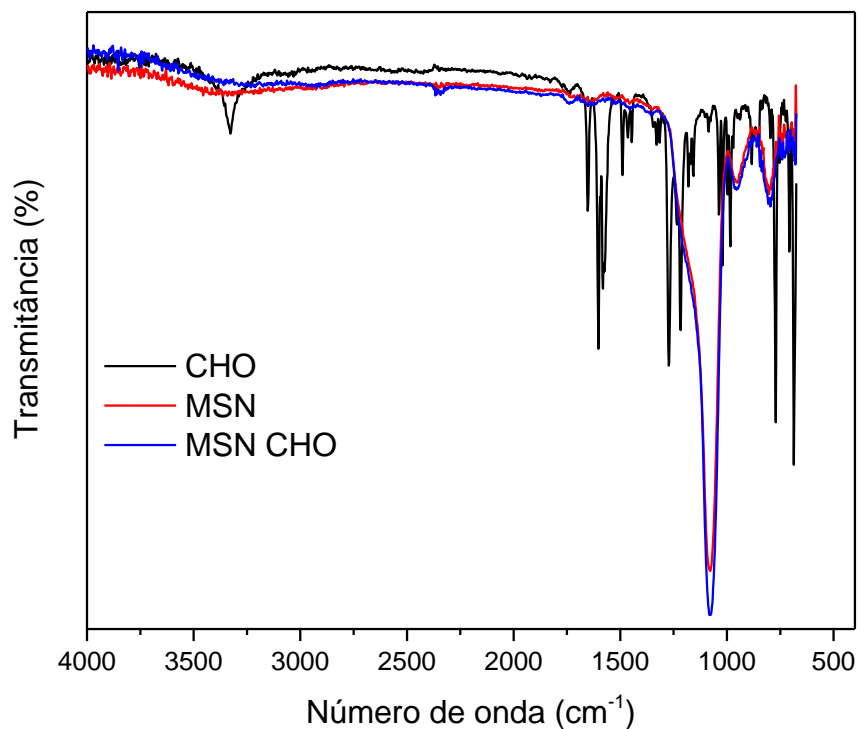


Figura 20 – Espectro de infravermelho de MSN-CHO.

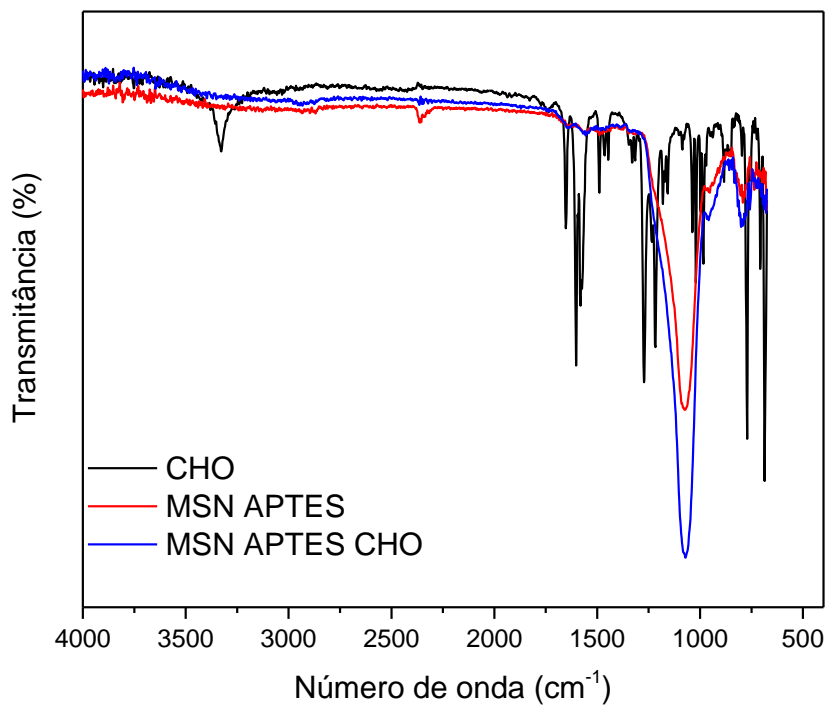


Figura 21 – Espectro de infravermelho de MSN-APTES-CHO.

5.3.4. Análise de potencial zeta

A análise do potencial zeta foi utilizada para avaliação da carga elétrica superficial das partículas das amostras de sílica mesoporosa MSN e MSN-APTES e essas amostras incorporadas com 3-hidroxichalcona (MSN-CHO e MSN-APTES-CHO). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Análise de potencial zeta.

Amostra	Potencial zeta \pm DP (mV)
MSN	-6,65 \pm 0,93
MSN-CHO	-3,37 \pm 0,92
MSN-APTES	-2,93 \pm 0,99
MSN-APTES-CHO	-2,89 \pm 0,95

A sílica MSN apresenta carga negativa (-6,65 mV) devido aos grupos silanóis presentes em sua superfície. Após o processo de incorporação da 3-hidroxichalcona (MSN-CHO) é possível observar uma diminuição na carga negativa da amostra, passando de -6,65 mV na amostra MSN para -3,37 mV na amostra MSN-CHO. Esse resultado pode ser atribuído a presença de grupos químicos presentes na molécula de 3-hidroxichalcona, que contribuem para redução da carga negativa da amostra.

Para as amostras funcionalizadas com APTES observa-se uma diminuição na carga negativa devido a contribuição dos grupos aminos da agente funcionalizante. A funcionalização da sílica MSN com APTES promove a formação de ligações covalentes entre as moléculas dos grupos silanóis presentes na superfície da sílica com os grupos aminosilanos do agente funcionalizante. Dessa forma, ocorre uma diminuição na carga negativa das nanopartículas passando de -6,65 mV na amostra MSN para -2,93 mV na amostra MSN-APTES. Os resultados obtidos indicam que o processo de funcionalização foi eficiente (ANDRADE *et al.*, 2020) e estão de acordo com os resultados obtidos na técnica de FTIR, em que se observou uma redução na intensidade da banda característica dos grupos silanóis (960 cm^{-1}), indicando uma diminuição no número de grupos silanóis presentes na superfície da sílica devido ao processo de ligação do agente funcionalizante, tornando a carga elétrica da partícula menos negativa.

Após a incorporação da sílica funcionalizada com 3-hidroxichalcona observa-se uma discreta diminuição da carga negativa da nanopartícula, passando de -2,93 mV na amostra MSN-APTES para -2,89 mV na amostra MSN-APTES-CHO. Essa redução pode ser atribuída a contribuição de carga elétrica da molécula de 3-hidroxichalcona.

5.3.5 Adsorção de nitrogênio

Outra técnica utilizada para caracterizar as estruturas das sílicas MSN e MSN-APTES foi a medida de adsorção de nitrogênio. Essa técnica é utilizada para obtenção de informações como tamanho da área superficial específica, diâmetro de poros, sua distribuição e volume total, mediante a medida da área ocupada por moléculas de nitrogênio adsorvidas na superfície da sílica (SING, 1989). Valores de área superficial específica das amostras de sílica MSN e MSN-APTES foram calculados pelo método de BET, valores de volume total e diâmetro de poros foram calculados pelo método BJH (Tabela 9).

Tabela 9 – Adsorção/dessorção de nitrogênio.

Amostra	Área superficial $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$	Diâmetro de poros BJH/DFT	Volume cc/g
MSN	115	3,5 nm	0,391
MSNAPTES	20	3,3 nm	0,060

A partir dos resultados, observa-se uma pequena variação nos diâmetros de poros das amostras MSN (3,5 nm) e MSN-APTES (3,3 nm). Demonstrando a ocupação dos poros pelos grupos aminos após o processo de funcionalização.

O valor da área superficial da amostra MSN foi de $115 \text{ m}^2/\text{g}^{-1}$ e para MSN-APTES foi de $20 \text{ m}^2/\text{g}^{-1}$, indicando que o processo de funcionalização da sílica MSN com APTES teve êxito devido a diminuição da área superficial. Vale destacar, que mesmo apresentando uma área menor, a sílica MSN-APTES possui área suficiente para incorporar moléculas.

O volume de poros para a amostra MSN foi de $0,391 \text{ cc}^3\cdot\text{g}^{-1}$ e da sílica MSN-APTES foi de $0,060 \text{ cc}^3\cdot\text{g}^{-1}$. Esse resultado pode ser explicado pelo processo de funcionalização que diminuiu a área superficial da sílica e, conseqüentemente, o seu volume de poros.

Análise das Isotermas

A adsorção de gases em um sólido pode ser explicada pelas isotermas de adsorção. As isotermas de adsorção são curvas de volume de gás adsorvido em relação a pressão relativa (P/P_0), onde p corresponde a pressão de vapor do gás e P_0 corresponde a pressão de saturação registrada durante o processo de adsorção e dessorção. O processo de adsorção permite o preenchimento dos poros de um material na medida que a pressão relativa é aumentada. Nos materiais mesoporosos, o preenchimento dos poros ocorre pelos processos de adsorção em monocamada e multicamada seguido de um processo de condensação. O processo de condensação é normalmente acompanhado de histerese (SING, 1985). Na etapa de condensação, para sílica mesoporosa observa-se isotermas relacionada ao tamanho dos seus poros.

As isotermas das amostras de sílica MSN e MSN-APTES apresentam ramos de adsorção e dessorção que formam uma histerese do tipo H1 de acordo com a classificação feita pela *International Union of Pure Applied Chemistry* (IUPAC) (Figura 22). Para a sílica MSN-APTES, verificou-se um menor volume de nitrogênio adsorvido do que na sílica MSN para quase todas as pressões relativas, indicando que o processo de funcionalização teve êxito devido ao preenchimento dos poros pelo agente funcionalizante, corroborando com os resultados demonstrados na Tabela 9, onde observa-se valores de diâmetro e volume de poros menores para sílica MSN-APTES em comparação a sílica MSN.

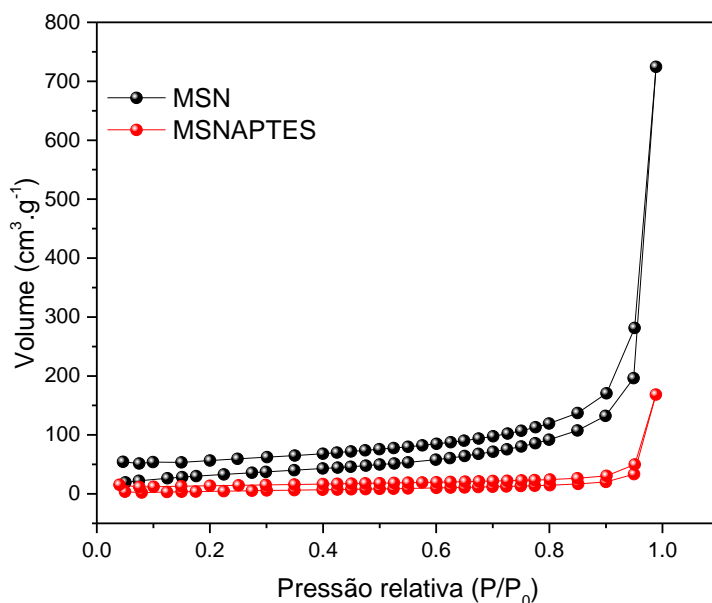


Figura 22 – Isotermas de adsorção de nitrogênio de MSN e MSN-APTRES.

5.3.6 Análise termogravimétrica (TGA) e análise elementar (CHN)

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para verificar o comportamento térmico de MSN e MSN-APTRES e avaliar a porcentagem de 3-hidroxichalcona incorporada nas nanopartículas de sílica mesoporosa. O princípio dessa técnica baseia-se na perda de massa progressiva de uma amostra em função da variação da temperatura, que produz curvas termogravimétricas. Nesse teste submete-se uma quantidade conhecida da amostra a um aumento gradual de temperatura em um forno, com atmosfera controlada, e a perda de massa resultante do processo de aumento de temperatura é detectada por uma termobalança.

A curva termogravimétrica foi expressa relacionando a perda de massa em função da variação de temperatura. A porcentagem de 3-hidroxichalcona incorporada nas matrizes MSN e MSN-APTRES pode ser estimada pela técnica de TGA. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Perda de massa das amostras de nanopartículas de sílica mesoporosa.

Amostra	Perda de massa (% m/m) 25-150 °C	Perda de massa (% m/m) 150-750 °C	Resíduo (%m/m) > 800 °C
MSN	3,7	9,5	86,8
MSN-CHO	3,4	11,3	85,3
MSN-APTES	7,6	20,2	72,2
MSN-APTES- CHO	7,0	25,8	67,2

A Figura 23 mostra a curva termogravimétrica das amostras MSN e MSN-CHO. Para a amostra MSN observou-se uma perda de massa de 3,7% na faixa de temperatura de 25 a 150 °C. De 150 °C a 750 °C observou-se uma perda de massa de 9,5%. Essa perda maior de massa pode ser explicada pela degradação do copolímero F127 que não foi completamente removido durante o processo de extração. Os resultados indicam que a sílica mesoporosa MSN apresenta boa estabilidade térmica, sem sofrer degradação estrutural, como pode ser observado pelas baixas taxas de perda de massa em altas temperaturas.

Para a amostra MSN-CHO observou-se uma perda de massa de 3,4% na faixa de temperatura de 25 a 150 °C. De 150 a 750 °C ocorreu uma perda de massa de 11,3%. A perda de massa na faixa de temperatura de 150 a 750 °C pode ser atribuída a degradação térmica de 3-hidroxichalcona incorporada. Como pode-se observar na faixa de temperatura entre 150 a 750 °C ocorreu um aumento na porcentagem de perda de massa em comparação entre as amostras MSN (9,5%) e MSN-CHO (11,3%). Esse aumento na porcentagem de perda de massa de 1,8% na amostra incorporada com a 3-hidroxichalcona (MSN-CHO) comparada a amostra não carregada (MSN) é um indício da presença da chalcona nessa amostra e que o processo de incorporação teve êxito. Além disso, observa-se que a sílica mesoporosa protegeu a chalcona da degradação térmica, como pode ser verificado pelas diferenças nas temperaturas de degradação de 3-hidroxichalcona livre (CHO) e da amostra incorporada (MSN-CHO).

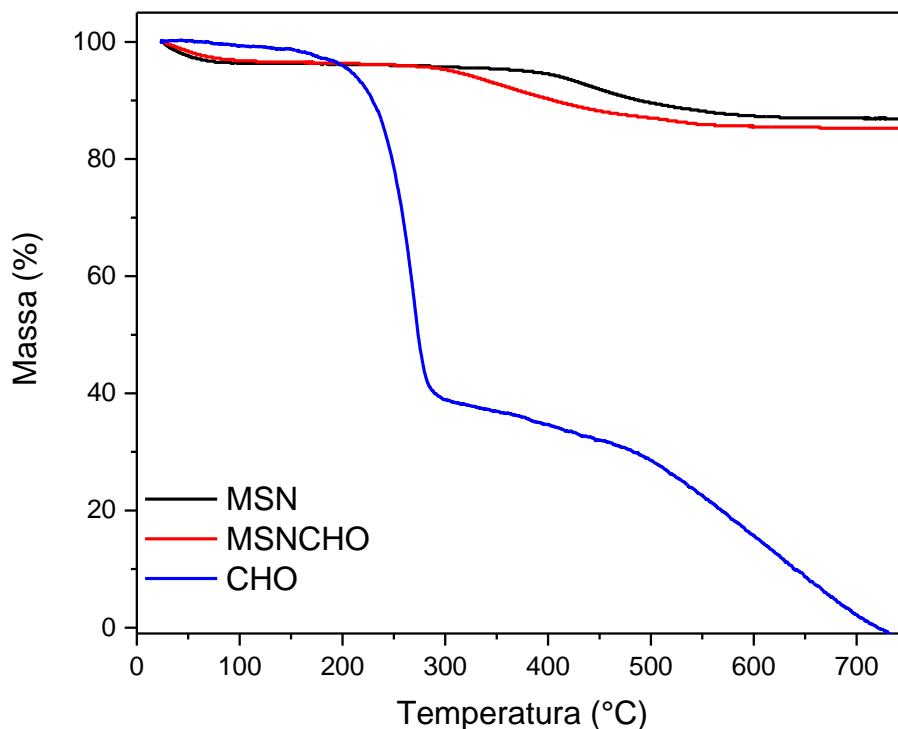


Figura 23 – Curva termogravimétrica das amostras MSN e MSN-CHO.

A Figura 24 mostra a curva termogravimétrica das amostras MSN-APTES e MSN-APTES-CHO. Para a amostra MSN-APTES a perda de massa no intervalo de temperatura de 25-150 °C foi de 7,6%. De 150 °C até 750 °C observou-se uma perda de massa de 20,2%. Essa perda maior de massa presente nas amostras funcionalizadas com APTES (20,2%) em comparação com as amostras não funcionalizadas (9,5%) se deve a degradação dos grupos aminos do agente funcionalizante ligados a superfície da sílica, indicando que o processo de funcionalização teve êxito.

Para a amostra MSN-APTES-CHO observou-se no intervalo de temperatura de 25 a 150 °C uma perda de massa de 7,0% e de 150 °C até 750 °C a perda de massa foi de 25,8%. Semelhante ao que foi observado para a sílica não funcionalizada, houve um aumento na porcentagem de perda de massa comparando-se as amostras não incorporadas com a 3-hidroxichalcona (MSN-APTES) e incorporadas (MSN-APTES-CHO), uma diferença de 5,6%. Esses resultados indicam que o processo de incorporação teve êxito.

Vale destacar que a porcentagem de perda de massa foi mais significativa para a amostra MSN-APTES-CHO (5,6%) do que para a amostra MSN-CHO (1,8%) na faixa de temperatura de 150 a 750 °C. Isso significa que o processo de incorporação de 3-hidroxicalcona ocorre de forma mais eficiente na sílica funcionalizada (MSN-APTES) do que na sílica normal (MSN). Esse resultado pode ser explicado devido a adição de grupos aminos a superfície da sílica, que favorece o processo de incorporação através do aumento no número de interações de hidrogênio que ocorrem entre a sílica e a 3-hidroxicalcona.

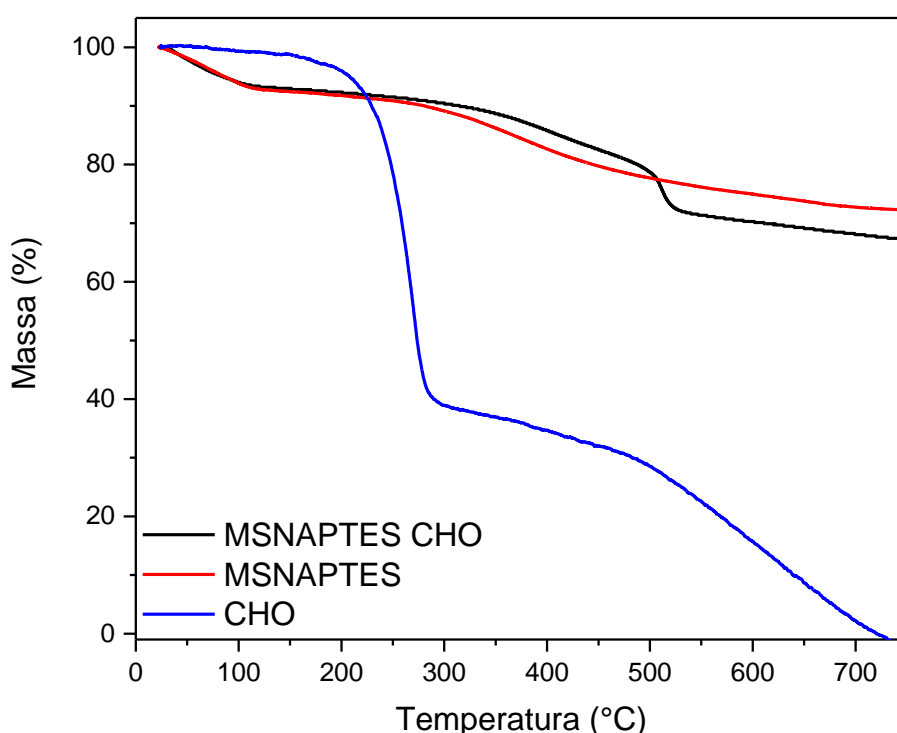


Figura 24 – Curva termogravimétrica das amostras MSN-APTES e MSN-APTES-CHO.

A técnica de análise elementar (CHN) foi utilizada para verificar a presença de moléculas orgânicas nas amostras de sílica. A partir dessa técnica, é possível verificar variações no conteúdo de carbono nas amostras e estimar a porcentagem de 3-hidroxicalcona que foi incorporada nas nanopartículas de sílica mesoporosa. Os resultados obtidos forneceram uma evidência adicional de que as amostras de sílica foram carregadas com a 3-hidroxicalcona e que o processo de funcionalização foi bem-sucedido (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise elementar (CHN).

Amostra	% Carbono	% Nitrogênio
MSN	5,43 ± 0,04	-0,18 ± 0,011
MSN-CHO	5,91 ± 0,04	-0,64 ± 0,0025
MSN-APTES	13,02 ± 0,06	2,70 ± 0,055
MSN-APTES-CHO	14,30 ± 0,06	2,55 ± 0,025
MSN-CHO Ac	6,54 ± 0,17	-0,58 ± 0,021

A amostra MSN apresentou porcentagem de carbono de 5,43%, essa porcentagem pode ser explicada pela presença do copolímero F127 que não foi completamente removido durante o processo de extração. Após o processo de incorporação com a 3-hidroxichalcona, a amostra MSN (5,43%) apresentou aumento na porcentagem de carbono (5,91%), indicando que o processo de incorporação foi bem-sucedido. Entretanto, as variações de carbono entre as amostras MSN e MSN-CHO foram mínimas, indicando que 0,48% de 3-hidroxichalcona (Tabela 12) foi incorporada nas nanopartículas de sílica mesoporosa na concentração testada (2 mg/mL). Dessa forma, a quantidade de 3-hidroxichalcona incorporada na amostra MSN foi de 9,6 µg. Conforme verificado na análise termogravimétrica, houve um aumento na porcentagem de perda de massa entre as amostras MSN (9,5%) e MSN-CHO (11,3%). Essas diferenças encontradas na análise elementar (CHN) e na análise termogravimétrica indicam a presença da 3-hidroxichalcona nas nanopartículas e que o processo de incorporação foi bem-sucedido.

Em razão da baixa eficiência de incorporação de 3-hidroxichalcona na sílica MSN, foi realizada uma nova incorporação utilizando acetato de etila como solvente para verificar se o tipo de solvente exerce alguma influência no processo de incorporação. A amostra de sílica incorporada com 3-hidroxichalcona utilizando o solvente acetato de etila (MSN-CHO Ac) apresentou aumento na porcentagem de carbono (6,54%) maior do que a amostra incorporada com acetonitrila (5,91%), indicando que o solvente utilizado no processo de incorporação exerce importante influência na quantidade de chalcona incorporada nas nanopartículas. Os resultados indicam que foi incorporado 1,11% (22,2 µg) de 3-hidroxichalcona nas nanopartículas utilizando

acetato de etila como solvente, quantidade um pouco maior do que a obtida ao utilizar acetonitrila como solvente (0,48% ou 9,6 µg).

Além disso, a amostra MSN apresentou um aumento na porcentagem de carbono e nitrogênio após o processo de funcionalização (MSN-APTES), indicando que o processo de funcionalização foi bem-sucedido e que ocorreu a ligação do agente funcionalizante 3-aminopropiltriétoxissilano na superfície da sílica. Um aumento na porcentagem de carbono também foi observado na amostra funcionalizada incorporada com 3-hidroxichalcona (MSN-APTES-CHO), indicando que o processo de incorporação na sílica funcionalizada teve êxito. Para sílica APTES a taxa de incorporação encontrada foi de 1,28% ou 25,6 µg, a maior entre as amostras de sílica. Conforme explicado anteriormente, a funcionalização com APTES favorece o processo de incorporação devido a um acréscimo nas interações de hidrogênio que podem ocorrer entre os grupos aminos da sílica funcionalizada e as moléculas de 3-hidroxichalcona, levando a uma maior taxa de incorporação.

Os resultados encontrados na análise elementar estão de acordo com os resultados obtidos na análise termogravimétrica em que foi verificado maiores porcentagens de perda de massa para as amostras funcionalizadas, indicando a presença dos grupos aminosilano na superfície da sílica e para as amostras funcionalizadas incorporadas, mostrando uma maior eficiência de incorporação nessas amostras.

Tabela 12 – Eficiência de incorporação de 3-hidroxichalcona nas amostras de sílica.

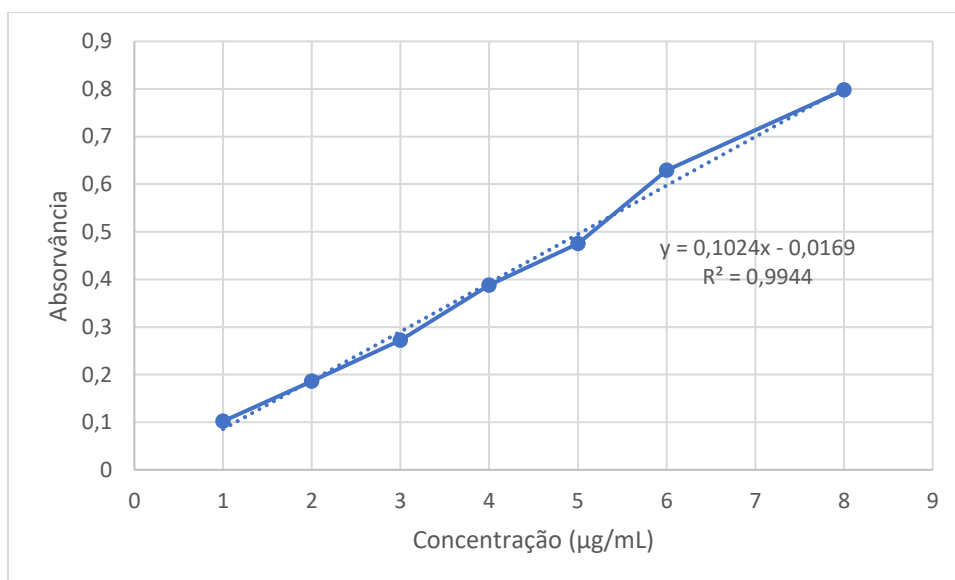
Amostra	% de incorporação	Quantidade de chalcona em µg
MSN-CHO	0,48	9,6
MSN-CHO Ac	1,11	22,2
MSN-APTES-CHO	1,28	25,6

5.4 TESTE DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Para a realização do teste de liberação foi feito uma curva de calibração com a 3-hidroxichalcona utilizada para quantificar a chalcona liberada das amostras de sílica (Tabela 13 e Figura 25).

Tabela 13 – Curva de calibração de 3-hidroxichalcona.

Curva	Abs (305nm)
1	0,102
2	0,186
3	0,272
4	0,388
5	0,475
6	0,629
8	0,798

**Figura 25** – Curva de calibração de 3-hidroxichalcona.

A avaliação da liberação de 3-hidroxichalcona foi realizada para as amostras MSN-CHO e MSN-APTES-CHO. Para quantificar a concentração de 3-hidroxichalcona liberada das amostras de sílica, retiraram-se alíquotas em períodos pré-estabelecidos, que foram analisadas pela técnica de UV-VIS.

A amostra MSN-CHO liberou 52,5% de 3-hidroxichalcona nas primeiras 25 horas (1500 minutos) do ensaio de liberação. Após 54 horas (3240 minutos), a liberação de 3-hidroxichalcona foi de 52,6% (Figura 26).

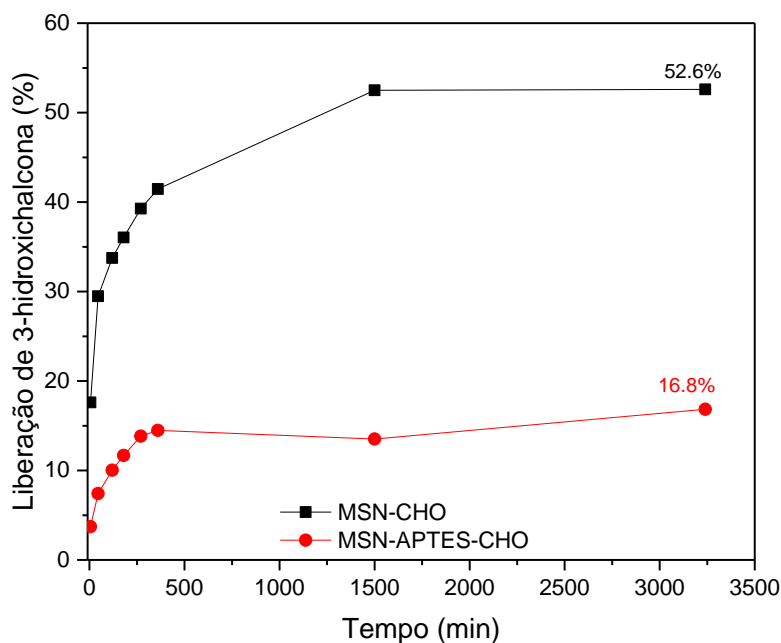


Figura 26 – Perfil de liberação de 3-hidroxicalcona das amostras MSN-CHO e MSN-APTES-CHO.

De acordo com os resultados, observa-se inicialmente uma rápida liberação de 3-hidroxicalcona, em torno de 30% em uma hora, seguido de uma liberação gradual e prolongada, com a liberação de pequenas quantidades de chalcona ao longo do tempo. Após 25 horas parece haver uma estabilização na liberação, com quantidades muito pequenas de 3-hidroxicalcona sendo liberadas. Esses resultados podem ser explicados devido a interação entre os grupos silanóis da sílica com os grupos hidroxila e carbonila da 3-hidroxicalcona por meio de ligações de hidrogênio, resultando em uma liberação mais lenta da 3-hidroxicalcona da matriz da sílica.

Para a amostra MSN-APTES-CHO ocorreu a liberação de 13,52% de 3-hidroxicalcona nas primeiras 25 horas (1500 minutos) de ensaio e, após 54 horas (3240 minutos), a liberação foi de 16,8% (Figura 26).

A amostra MSN-APTES-CHO apresentou perfil de liberação significativamente mais lento do que a amostra MSN-CHO. Enquanto que a amostra MSN-CHO havia liberado 52,6% de 3-hidroxicalcona em 54 horas, a amostra MSN-APTES-CHO liberou apenas 16,8% no mesmo período de tempo. Essa característica pode ser explicada por uma possível interação mais intensa da 3-

hidroxichalcona com a sílica funcionalizada. A adição de grupos amino a superfície da sílica pode promover um maior número de interações de hidrogênio entre as nanopartículas e a 3-hidroxichalcona, levando a taxas mais lentas de liberação.

Essas descobertas mostram que as nanopartículas de sílica mesoporosa podem ser adaptadas para fornecer uma liberação inicial, em um curto período, de uma dose adequada do composto bioativo, seguida de uma liberação lenta e gradual, que pode ser útil para manter os níveis e a ação do composto de maneira prolongada.

5.5 ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS AMOSTRAS DE SÍLICA CONTRA LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE MAMA (MCF-7) E ADENOCARCINOMA GÁSTRICO (AGS)

As amostras de sílica incorporadas com 3-hidroxichalcona (MSN-CHO, MSN-APTES-CHO e MSN-CHO Ac) e amostras de sílica isoladas (MSN e MSN-APTES) foram submetidas ao teste de citotoxicidade contra linhagens de células de adenocarcinoma gástrico (AGS) e de câncer mama (MCF-7) visando verificar a efetividade desses sistemas contra as células de câncer. Como descrito anteriormente, a 3-hidroxichalcona exibiu importante atividade citotóxica com IC_{50} de $47,58 \pm 0,16 \mu\text{M}$ para as células AGS e de $47,97 \pm 2,56 \mu\text{M}$ para as células MCF-7. Com isso, investigou-se o comportamento das nanopartículas de sílica mesoporosa contra as células AGS, MCF-7 e L-929.

Na Tabela 14 são apresentados os valores de IC_{50} e a seletividade das amostras de sílica contra as células AGS e MCF-7 frente a células de fibroblastos (L-929).

Tabela 14 – IC_{50} e índice de seletividade (IS) das amostras de sílica.

Amostra	IC_{50} L-929	IC_{50} AGS	IC_{50} MCF-7	IS AGS	IS MCF-7
3-hidroxichalcona	$275,03 \pm 5,96 \mu\text{M}^{****}$	$47,58 \pm 0,16 \mu\text{M}$	$47,97 \pm 2,56 \mu\text{M}$	5,78****	5,75****
MSN	>6000 $\mu\text{g/mL}$	>6000 $\mu\text{g/mL}$	>6000 $\mu\text{g/mL}$	1,00	1,00
MSN-CHO	$2334,50 \pm 53,03 \mu\text{g/mL}$ ($49,99 \pm 1,11 \mu\text{M}$)	$604,15 \pm 43,91 \mu\text{g/mL}$ ($12,93 \pm 0,94 \mu\text{M}$)	$1041,5 \pm 194,45 \mu\text{g/mL}$ ($22,30 \pm 4,15 \mu\text{M}$)	4,16***	2,06
MSN-APTES	$1619 \pm 69,30 \mu\text{g/mL}$	>7300 $\mu\text{g/mL}$	>7300 $\mu\text{g/mL}$	0,22	0,22
MSN-APTES-CHO	$1291 \pm 141,42 \mu\text{g/mL}$ ($73,67 \pm 8,07 \mu\text{M}$)	$1869 \pm 137,18 \mu\text{g/mL}$ ($106,67 \pm 7,80 \mu\text{M}$)	$1418,75 \pm 258,45 \mu\text{g/mL}$ ($80,98 \pm 14,76 \mu\text{M}$)	0,82	0,83
MSN-CHO Ac	$1838 \pm 224,86 \mu\text{g/mL}$ ($91,01 \pm 11,15 \mu\text{M}$)	$1089 \pm 16,97 \mu\text{g/mL}$ ($53,91 \pm 0,85 \mu\text{M}$)	$1345,50 \pm 25,5 \mu\text{g/mL}$ ($66,58 \pm 1,29 \mu\text{M}$)	1,61	1,37
Cisplatina	$24,03 \pm 7,42 \mu\text{M}$	$39,59 \pm 0,66 \mu\text{M}$	$52,85 \pm 4,80 \mu\text{M}$	0,61	0,46

IC₅₀ e IS das chalconas e cisplatina (****: $p < 0.0001$; ***: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$; *: $p < 0.1$ comparado a cisplatina); (): valor real de IC₅₀ de 3-hidroxicalcona incorporada nas nanopartículas.

Ao realizar o teste de citotoxicidade com as amostras de sílica carregadas com 3-hidroxicalcona levou-se em consideração as quantidades de 3-hidroxicalcona incorporadas obtidas a partir dos resultados do teste de análise elementar (CHN), que indicaram uma taxa de incorporação de 0,48% (9,6 µg) para MSN-CHO, 1,28% (25,6 µg) para MSN-APTES-CHO e 1,11% (22,2 µg) para MSN-CHO Ac. Os valores de IC₅₀ das amostras incorporadas estão relacionados ao peso da sílica junto com o da chalcona adsorvida. Dessa forma, foi realizado a conversão dos valores de IC₅₀ encontrados para as amostras de sílica incorporadas para encontrar o valor real de IC₅₀ da 3-hidroxicalcona incorporada, considerando as porcentagens obtidas no teste de análise elementar (CHN). A conversão dos valores de IC₅₀ para o valor real foi realizado multiplicando-se o valor de IC₅₀ encontrado para cada amostra pela porcentagem de 3-hidroxicalcona encontrada no teste de análise elementar e, posteriormente, os valores foram convertidos para micromolar (µM). Os resultados estão descritos entre parênteses na Tabela 14.

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que as amostras de sílica incorporadas com 3-hidroxicalcona exibiram atividade citotóxica maior do que as amostras de sílica não carregadas. Esses resultados indicam que as amostras de sílica incorporadas ao entrar em contato com as células de câncer liberam a 3-hidroxicalcona que exerce sua atividade citotóxica.

As amostras de sílica incorporadas com 3-hidroxicalcona exibiram atividades citotóxicas significativas (IC₅₀ entre 12,93 a 106,67 µM) contra as células AGS e MCF-7, sendo que a amostra MSN-CHO exibiu melhor efeito citotóxico (IC₅₀ entre 12,93 a 22,30 µM) do que a 3-hidroxicalcona livre (IC₅₀ entre 47,58 a 47,97 µM). Esses resultados indicam que as nanopartículas de sílica mesoporosa incorporadas influencia de maneira significativa a interação da chalcona com as células tumorais, necessitando de menores concentrações de 3-hidroxicalcona para exercer uma atividade citotóxica maior em comparação com a chalcona livre. Os maiores efeitos citotóxicos apresentados pela amostra MSN-CHO em comparação com a 3-hidroxicalcona livre podem ser explicados pelos diferentes mecanismos de captação celular apresentados por essas moléculas.

Enquanto o mecanismo de captação celular de 3-hidroxichalcona pode ocorrer por difusão passiva (SINGH *et al.*, 2020), para as nanopartículas de sílica mesoporosa a absorção ocorre por meio de endocitose. Estudos relataram que as nanopartículas de sílica mesoporosa possuem grande afinidade pelos fosfolípidios da membrana plasmática e a adsorção dessas moléculas nas superfícies celulares levaria a absorção por meio de um mecanismo de endocitose (JIA *et al.*, 2013).

Como pode-se observar, as amostras de sílica apresentaram variações de atividades citotóxicas, com diferentes valores de IC_{50} . Por exemplo, mesmo apresentando taxas maiores de incorporação, as amostras MSN-APTES-CHO e MSN-CHO Ac exibiram valores de IC_{50} (53,91 a 106,67 μ M) maiores que do a amostra MSN-CHO (12,93 a 22,30 μ M), que apresentou baixa taxa de incorporação. Essas variações de atividade citotóxicas podem ser explicadas pelos diferentes perfis de liberação apresentados pelas amostras de sílica. Como descrito no teste de liberação, a amostra MSN-CHO exibiu um perfil de liberação em que uma maior quantidade de 3-hidroxichalcona foi liberada ao longo do tempo do que a amostra MSN-APTES-CHO, devido interações mais intensas entre a 3-hidroxichalcona e a sílica funcionalizada por meio de um aumento no número de ligações de hidrogênio. Esse tipo de interação afeta o perfil de liberação das nanopartículas funcionalizadas e, conseqüentemente, a sua atividade citotóxica, resultando em valores maiores de IC_{50} . Para a amostra MSN-CHO Ac será necessário a realização do teste de liberação para verificação do perfil de liberação dessa amostra.

No geral, as amostras de sílica exibiram maior atividade citotóxica contra as células AGS e MCF-7 do que contra as células de fibroblastos (L-929), com exceção das amostras MSN-APTES e MSN-APTES-CHO que exibiram maior atividade citotóxica para as células de fibroblastos do que para as células de câncer. Esses resultados podem ser explicados devido a características das células testadas. A superfície da sílica APTES, normalmente, fica com uma carga menos negativa do que a amostra MSN, isso promove uma maior interação com as membranas plasmáticas das células normais, que são carregadas negativamente, atraindo as nanopartículas funcionalizadas por meio de interações eletrostáticas. Essas interações poderiam ocasionar a

desestabilização da membrana plasmática, aumentando a sua permeabilidade e proporcionando maior ação da 3-hidroxicalcona sobre as células de fibroblastos. As membranas plasmáticas das células tumorais exibem alterações na composição e organização dos lipídeos que provocam diversas mudanças nas funções celulares, como alterações na permeabilidade e no transporte de substâncias através da membrana plasmática (PRETA, 2020). Essas alterações poderiam resultar em interações menos intensas entre as nanopartículas de sílica funcionalizadas e as células tumorais, explicando os resultados encontrados no teste de citotoxicidade.

Os resultados obtidos indicam que as nanopartículas de sílica mesoporosa incorporadas com a 3-hidroxicalcona possuem grande potencial de aplicação no tratamento do câncer, como pode ser observado pelos resultados encontrados para a amostra MSN-CHO, que exibiu atividade citotóxica maior do que a 3-hidroxicalcona livre, mostrando que as nanopartículas possuem a capacidade de aumentar a eficácia de moléculas com atividade anticâncer, além de proteger a 3-hidroxicalcona da ação do pH e de enzimas ou proteínas que poderiam impedir a sua ação dificultando o processo de absorção ou facilitando o efluxo daalcona. Estudos mostraram que as nanopartículas de sílica mesoporosa são capazes de contornar os mecanismos de resistência por efluxo das células de câncer e aumentar o acúmulo de fármacos dentro das células (SHEN *et al.*, 2011).

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no trabalho pode-se concluir que as chalconas exibiram importante atividade citotóxica contra as células AGS e MCF-7, destacando-se as chalconas **4** (3-metoxichalcona), **6** (3-clorochalcona) e **11** (3-hidroxichalcona). Dentre esses compostos, a 3-hidroxichalcona foi escolhida para incorporação nas nanopartículas de sílica mesoporosa considerando suas características físico-químicas, como a presença do grupo hidroxila, que poderia favorecer o processo de incorporação através de interações de hidrogênio.

A síntese e funcionalização das nanopartículas e o processo de incorporação da 3-hidroxichalcona foram bem-sucedidos e confirmados por meio das diferentes técnicas de caracterização utilizadas. Além disso, verificou-se que a funcionalização das nanopartículas influencia o processo de incorporação e o perfil de liberação das amostras, devido a interações mais intensas da 3-hidroxichalcona com a sílica funcionalizada.

No teste de citotoxicidade com as amostras de sílica incorporadas com 3-hidroxichalcona observou-se importante atividade citotóxica contra as células AGS e MCF-7, sendo que a amostra MSN-CHO exibiu efeito citotóxico superior a 3-hidroxichalcona livre, indicando que as nanopartículas de sílica mesoporosa influenciam de maneira significativa a interação da chalcona com as células tumorais. Entretanto, a amostra MSN-APTES-CHO exibiu maior atividade citotóxica contra as células de fibroblastos L-929 do que contra as células AGS E MCF-7, não parecendo promissora para aplicação no tratamento do câncer devido a maior citotoxicidade contra células normais.

Os resultados obtidos no trabalho indicam que as nanopartículas de sílica mesoporosa (MSN) incorporadas com 3-hidroxichalcona possuem grande potencial para aplicação no tratamento do câncer de mama e adenocarcinoma gástrico, devido ao aumento na atividade citotóxica apresentada por esta formulação em comparação com a 3-hidroxichalcona livre.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Gracielle Ferreira *et al.* Surface modification and biological evaluation of kojic acid/silica nanoparticles as platforms for biomedical systems. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 17, n. 1, p. 380-391, 2020.

AHMADI, Fatemeh *et al.* A review on the latest developments of mesoporous silica nanoparticles as a promising platform for diagnosis and treatment of cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 122099, 2022.

AHMED, Hafiz *et al.* Biomedical applications of mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery carrier. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, p. 103729, 2022.

AKSÖZ, B. E.; ERTAN, R. Chemical and structural properties of chalcones I. **Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36, p. 223-242, 2011.

ALHARTHI, Sitah *et al.* Formulation and biological evaluation of Mesoporous silica nanoparticles loaded with combinations of sortase a inhibitors and antimicrobial peptides. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 986, 2022.

ALI, Eunus S. *et al.* Targeting cancer cells with nanotherapeutics and nanodiagnostics: current status and future perspectives. **Seminars in cancer biology**, 2021. p. 52-68.

BADISA, Ramesh B. *et al.* Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer research**, v. 29, n. 8, p. 2993-2996, 2009.

BARRETT, E. P.; JOYNER, L. G.; HALENDA, P. P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73, n. 1948, p. 373–380, 1951.

BRUNAUER, S. *et al.* On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 62, n. 6, p. 1723–1732, 1940.

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

CHABNER, Bruce A.; ROBERTS, Thomas G. Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, n. 1, p. 65-72, 2005.

CHEN, Wei *et al.* Nanomachines and other caps on mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. **Accounts of chemical research**, v. 52, n. 6, p. 1531-1542, 2019.

CIPRESTE *et al.* Nanoparticles for Anticancer Therapy. **Nanomaterials and Nanotechnology: Biomedical, Environmental, and Industrial Applications**. 1 ed. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., v. VII, p. 283-311, 2021.

COSTA, Jose Arnaldo S. *et al.* Synthesis, functionalization, and environmental application of silica-based mesoporous materials of the M41S and SBA-n families: a review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 3, p. 105259, 2021.

CROCE, Carlo M. Oncogenes and cancer. **New England journal of medicine**, v. 358, n. 5, p. 502-511, 2008.

DANHIER, Fabienne; FERON, Olivier; PRÉAT, Véronique. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 148, n. 2, p. 135-146, 2010.

DAVIS, M. E.; CHEN, Z. G.; SHIN, D. M. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. **Nature reviews. Drug Discovery**, v. 7, n. 9, p. 771-782, 2008.

DE OLIVEIRA, Alex de Nazaré *et al.* Valorization of silica-based residues for the synthesis of ordered mesoporous silicas and their applications. **Microporous and Mesoporous Materials**, p. 112520, 2023.

DONG, F. *et al.* Synthesis of chalcones via Claisen–Schmidt condensation reaction catalyzed by acyclic acidic ionic liquids. **Catalysis Communications**, v. 9, n. 9, p. 1924-1927, 2008.

DURAN, Alicia *et al.* Structural considerations about SiO₂ glasses prepared by sol-gel. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 82, n. 1-3, p. 69-77, 1986.

GLOBOCAN – The Global Cancer Observatory. Cancer Fact Sheets: **IARC**, 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&types=0>. Acesso em: 18 de Fevereiro de 2024.

GUPTA, Jayesh; QUADROS, Mural; MOMIN, Munira. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis and multifaceted functionalization for controlled drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 81, p. 104305, 2023.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. **cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HUDA, Shamsul; ALAM, Md Aftab; SHARMA, Pramod Kumar. Smart nanocarriers-based drug delivery for cancer therapy: an innovative and developing strategy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, p. 102018, 2020.

¹INCA - Instituto Nacional de Câncer. O que é o Câncer: **INCA**, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 15 de Outubro de 2021.

²INCA - Instituto Nacional de Câncer. O que causa o câncer: **INCA**, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/causas-e-prevencao/o-que-cause-cancer>>. Acesso em: 15 de Outubro de 2021.

³INCA - Instituto Nacional de Câncer. Como Surge o Câncer: **INCA**, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>>. Acesso em: 15 de Outubro de 2021.

⁴INCA - Instituto Nacional de Câncer. INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025: **INCA**, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>>. Acesso em: 08 de Abril de 2023.

⁵INCA - Instituto Nacional de Câncer. Estatísticas de câncer: **INCA**, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>>. Acesso em: 04 de Fevereiro de 2024.

JIA, Lejiao *et al.* In vitro and in vivo evaluation of paclitaxel-loaded mesoporous silica nanoparticles with three pore sizes. **International journal of pharmaceutics**, v. 445, n. 1-2, p. 12-19, 2013.

KARTHIKEYAN, C. *et al.* Advances in Chalcones with Anticancer Activities. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**, v. 10, p. 97-115, 2015.

KHETAN, Riya *et al.* Using GPCRs as molecular beacons to target ovarian cancer with nanomedicines. **Cancers**, v. 14, n. 10, p. 2362, 2022.

KNEŽEVIĆ, Nikola Ž. *et al.* Magnetic mesoporous silica-based core/shell nanoparticles for biomedical applications. **Rsc Advances**, v. 3, n. 25, p. 9584-9593, 2013.

KONTOMANOLIS, Emmanuel N. *et al.* Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. **Anticancer Research**, v. 40, n. 11, p. 6009-6015, 2020.

KRAJNOVIĆ, Tamara *et al.* Anticancer Potential of Xanthohumol and Isoxanthohumol Loaded into SBA-15 Mesoporous Silica Particles against B16F10 Melanoma Cells. **Materials**, v. 15, n. 14, p. 5028, 2022.

MAHAPATRA, Debarshi Kar; BHARTI, Sanjay Kumar; ASATI, Vivek. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 98, p. 69-114, 2015.

MAI, Chun Wai *et al.* Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure–activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 378-387, 2014.

MANSOURI, Vahid *et al.* Recent advances in regenerative medicine strategies for cancer treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 141, p. 111875, 2021.

MITCHELL, Michael J. *et al.* Engineering precision nanoparticles for drug delivery. **Nature reviews drug discovery**, v. 20, n. 2, p. 101-124, 2021.

MOHEBIAN, Zahra *et al.* Anticancer efficiency of curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles/nanofiber composites for potential postsurgical breast cancer

treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102170, 2021.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NGO, D. *et al.* One-pot synthesis of chalcone epoxides—A green chemistry strategy. **Tetrahedron Letters**, v. 55, n. 32, p. 4496-4500, 2014.

PAREEK, A. *et al.* An Efficient Synthesis and Applications of Chalcones in Organic Synthesis. **International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 19-24, 2013.

PÉREZ-HERRERO, Edgar; FERNÁNDEZ-MEDARDE, Alberto. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 93, p. 52-79, 2015.

POONIA, Neelam; LATHER, Viney; PANDITA, Deepti. Mesoporous silica nanoparticles: a smart nanosystem for management of breast cancer. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 2, p. 315-332, 2018.

PRETA, Giulio. New insights into targeting membrane lipids for cancer therapy. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 8, p. 571237, 2020.

OUYANG, Yang *et al.* Chalcone Derivatives: Role in Anticancer Therapy. **Biomolecules**, v. 11, n. 6, p. 894, 2021.

SAYED, Elshaimaa *et al.* Electrospayed mesoporous particles for improved aqueous solubility of a poorly water soluble anticancer agent: in vitro and ex vivo evaluation. **Journal of Controlled Release**, v. 278, p. 142-155, 2018.

SHAIK, Y.; VIDYA, S. G.; SHAIK, A. B. Biological and synthetic potentiality of chalcones: a review. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 11, p. 829-842, 2015.

SHEN, Jianan *et al.* Mesoporous silica nanoparticles loading doxorubicin reverse multidrug resistance: performance and mechanism. **Nanoscale**, v. 3, n. 10, p. 4314-4322, 2011.

SHI, Mengchao *et al.* Copper-doped mesoporous silica nanospheres, a promising immunomodulatory agent for inducing osteogenesis. **Acta biomaterialia**, v. 30, p. 334-344, 2016.

SHI, B. *et al.* Aminopropyl-functionalized silicas synthesized by W/O microemulsion for immobilization of penicillin G acylase. **Catalysis Today**, v. 148, n. 1-2, p. 184–188, 30 out. 2009.

SING, Kenneth SW. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and applied chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985.

SING, Kenneth SW. The use of gas adsorption for the characterization of porous solids. **Colloids and Surfaces**, v. 38, n. 1, p. 113-124, 1989.

SINGH, P.; ANAND, A.; KUMAR, V. Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 85, p. 758-777, 2014.

SINGH, Nidhi *et al.* Privileged scaffold chalcone: synthesis, characterization and its mechanistic interaction studies with BSA employing spectroscopic and chemoinformatics approaches. **ACS omega**, v. 5, n. 5, p. 2267-2279, 2020.

SUWITO, H. *et al.* Chalcones: synthesis, structure diversity and pharmacological aspects. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 5, p. 1076-1088, 2014.

SYAM, Suvitha *et al.* Synthesis of chalcones with anticâncer activities. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6179-6195, 2012.

TYAGI, Puneet; SUBRAMONY, J. Anand. Nanotherapeutics in oral and parenteral drug delivery: Key learnings and future outlooks as we think small. **Journal of Controlled Release**, v. 272, p. 159-168, 2018.

UGWU, D. I. *et al.* Synthesis and Antimalarial Activities of Chalcone Derivatives. **International Journal of ChemTech Research**, v. 7, n. 4, p. 1966-1984, 2015.

WANG, L. *et al.* Synthesis and characterization of small pore thick-walled SBA-16 templated by oligomeric surfactant with ultra-long hydrophilic chains. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 67, p. 135–141, 2004.

WEI, Shanshan *et al.* Xanthohumol, a prenylated flavonoid from Hops, exerts anticancer effects against gastric cancer in vitro. **Oncology reports**, v. 40, n. 6, p. 3213-3222, 2018.

WILHELM, Anke *et al.* Synthesis, characterization and cytotoxic evaluation of chalcone derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1251, p. 132001, 2022.

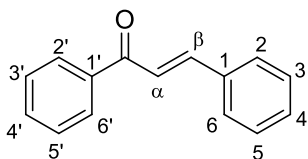
YADAV, Hardwari L. *et al.* Synthesis and biological evaluation of anti-inflammatory activity of 1, 3 diphenyl propenone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, n. 4, p. 461-465, 2011.

ZHOU, Yixian *et al.* Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. **Acta pharmaceutica sinica B**, v. 8, n. 2, p. 165-177, 2018.

ŽIVOJEVIĆ, Kristina *et al.* Advanced mesoporous silica nanocarriers in cancer theranostics and gene editing applications. **Journal of Controlled Release**, 2021.

8 APÊNDICE

1. (E)-1,3-difenil-2-propen-1-ona (benzalacetofenona):

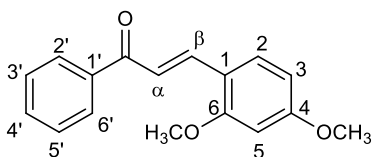


IV (ATR, cm^{-1}): 1662 (C=O), 1604 e 1575 (C=C).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,03-8,00 (2H, m, H $_{2'}$ e H $_{6'}$), 7,81 (1H, d, H $_{\beta}$, J=16,0 Hz), 7,64-7,62 (2H, m, H $_{3'}$ e H $_{5'}$), 7,59-7,47 (3H, m, H $_{4'}$, H $_2$ e H $_6$), 7,53 (1H, d, H $_{\alpha}$, J=16,0 Hz), 7,42-7,39 (3H, m, H $_3$, H $_4$ e H $_5$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 190,5 (C=O), 144,8 (C $_{\beta}$), 138,2 (C $_{1'}$), 134,8 (C $_1$), 132,7 (C $_{4'}$), 130,5 (C $_{3'}$ e C $_{5'}$), 128,9 (C $_{2'}$ e C $_{6'}$), 128,6 (C $_2$ e C $_6$), 128,4 (C $_3$ e C $_5$), 128,4 (C $_4$), 122,0 (C $_{\alpha}$).

2. (E)-3-(2,4-dimetoxifenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (2,4-metoxichalcona):

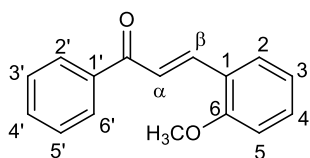


IV (ATR, cm^{-1}): 1649 (C=O), 1580 e 1558 (C=C), 1295 e 1276 (OCH $_3$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.04 (1H, d, H $_{\beta}$, J=16 Hz), 8.00-7.98 (2H, m, H $_{2'}$ e H $_{6'}$), 7.57-7.51 (2H, m, H $_{3'}$ e H $_{5'}$), 7.53 (1H, d, H $_{\alpha}$, J=15.6 Hz), 7.49-7.45 (2H, m, H $_3$ e H $_5$), 6.52 (1H, dd, H $_2$, J=8.4, 2.4 Hz), 6.46 (1H d, H $_{4'}$, J=2.4 Hz), 3.88 (s, 3H, OCH $_3$), 3.84 (s, 3H, OCH $_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 191.18 (C=O), 163.0 (C $_4$), 160.38 (C $_6$), 140.51 (C $_{\beta}$), 138.84 (C $_{1'}$), 132.24 (C $_{4'}$), 130.91 (C $_2$), 128.42 (C $_{3'}$ e C $_{5'}$), 128.40 (C $_{2'}$ e C $_{6'}$), 120.44 (C $_{\alpha}$), 117.13 (C $_1$), 105.39 (C $_3$), 98.44 (C $_5$), 55.47 (OCH $_3$), 55.52 (OCH $_3$).

3. (E)-3-(2-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (2-metoxichalcona):

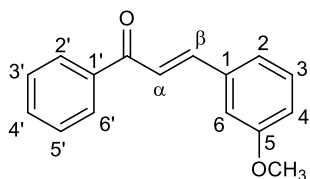


IV (ATR, cm^{-1}): 1661 (C=O), 1602 (C=C), 1248 (OCH₃).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 8,11 (1H, d, H β , $J=15,6$ Hz), 8,01 (2H, m, H2' e H6'), 7,61 (1H, d, H α , $J=16,0$ Hz), 7,62 (1H, dd, H4', $J=7,2, 1,2$ Hz), 7,56 (1H, tt, H2, $J=7,2, 1,2$ Hz), 7,50-7,46 (2H, m, H3' e H5'), 7,38-7,34 (1H, m, H4), 6,98 (1H, t, H3, $J=8,0$ Hz), 6,93 (1H, d, H5, $J=8,0$ Hz), 3,89 (3H, s, OCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 191,1 (C=O), 158,7 (C6), 140,3 (C β), 138,5 (C1'), 132,5 (C4'), 131,7 (C1), 129,2 (C2), 128,5 (C3' e C5'), 128,5 (C2' e C6'), 123,9 (C4), 122,8 (C α), 120,7 (C3), 111,2 (C5), 55,5 (OCH₃).

4. (E)-3-(3-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (3-metoxichalcona):

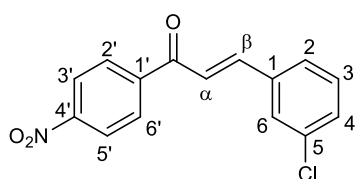


IV (ATR, cm^{-1}): 1655 (C=O), 1600 (C=C), 1262 (OCH₃).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 8,00 (2H, d, H2' e H6', $J=7,2$ Hz), 7,76 (1H, d, H β , $J=15,6$ Hz), 7,60-7,55 (1H, m, H4'), 7,50 (2H, d, H3' e H5', $J=8$ Hz), 7,49 (1H, d, H α , $J=15,6$ Hz), 7,32 (1H, t, H3, $J=7,6$ Hz), 7,24-7,22 (1H, m, H2), 7,15-7,14 (1H, m, H6), 6,96 (1H, dd, H4, $J=8; 2$ Hz), 3,84 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 190.53 (C=O), 159.93 (C5), 144.73 (C β), 138.16 (C1'), 136.24 (C1), 132.76 (C4'), 129.92 (C3), 128.60 (C3' e C5'), 128.48 (C2' e C6'), 122.40 (C α), 121.06 (C2), 116.28 (C4), 113.41 (C6), 55.33 (OCH₃).

5. (E)-3-(3-clorofenil)-1-(4-nitrofenil)-prop-2-en-1-ona (3-cloro-4'-nitrochalcona):

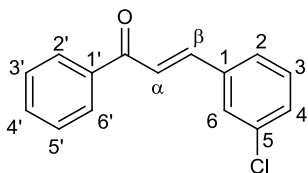


IV (ATR, cm^{-1}): 1667 (C=O), 1609 (C=C), 1518 e 1346 (NO_2).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,36-8,33 (2H, m, H3' e H5'), 8,15-8,12 (2H, m, H2' e H6'), 7,76 (1H, d, H β , $J=15,6$ Hz), 7,64-7,63 (1H, m, H2), 7,52-7,49 (1H, m, H4), 7,47 (1H, d, H α , $J=15,6$ Hz), 7,43-7,40 (1H, m, H3), 7,38 (1H, d, H6, $J=7,6$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 188,5 (C=O), 150,1 (C4'), 144,9 (C1'), 142,6 (C β), 136,0 (C1), 135,1 (C5), 130,9 (C2' e C6'), 130,3 (C3), 129,4 (C4), 128,0 (C2), 127,0 (C6), 123,8 (C3' e C5'), 122,3 (C α).

6. (E)-3-(3-clorofenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (3-clorochalcona):

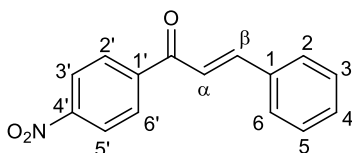


IV (ATR, cm^{-1}): 1656 (C=O), 1605 (C=C).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,02-8,00 (2H, m, H2' e H6'), 7,72 (1H, d, H β , $J=15,6$ Hz), 7,63-7,57 (2H, m, H3' e H5'), 7,51 (1H, d, H α , $J=16,0$ Hz), 7,52-7,48 (3H, m, H4', H2 e H4), 7,39-7,32 (2H, m, H3 e H6).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 190,0 (C=O), 143,0 (C β), 137,8 (C1'), 136,7 (C1), 134,9 (C5), 132,9 (C4'), 130,3 (C3), 130,1 (C3' e C5'), 128,6 (C2' e C6'), 128,5 (C4), 127,8 (C6), 126,7 (C2), 123,2 (C α).

7. (E)-1-(4-nitrofenil)-3-fenil-prop-2-en-1-ona (4'-nitrochalcona):

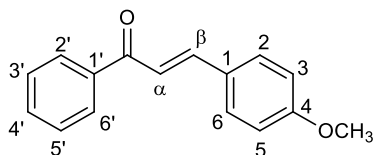


IV (ATR, cm^{-1}): 1662 (C=O), 1590 (C=C), 1515 e 1334 (NO_2).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,34 (2H, d, H3' e H5', $J=8,4$ Hz), 8,13 (2H, d, H2' e H6', $J=8,4$ Hz), 7,83 (1H, d, H β , $J=15,6$ Hz), 7,66-7,64 (2H, m, H2 e H6), 7,47 (1H, d, H α , $J=16,0$ Hz), 7,44-7,43 (3H, m, H3, H4 e H5).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 189,0 (C=O), 150,0 (C4'), 146,8 (C β), 143,0 (C1'), 134,2 (C1), 131,2 (C2' e C6'), 129,3 (C3 e C5), 129,0 (C2 e C6), 128,6 (C4), 123,8 (C3' e C5'), 121,2 (C α).

8. (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (4-metoxichalcona):

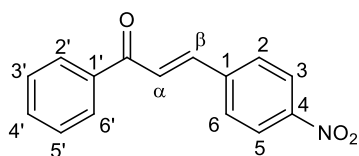


IV (ATR, cm^{-1}): 1656 (C=O), 1595 (C=C), 1250 (OCH_3).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.01-7.98 (2H, m, H2' e H6'), 7.78 (1H, d, 1H, H β , $J=15.6$ Hz), 7.59 (2H, d, H3' e H5', $J=8.8$ Hz), 7.56-7.54 (1H, m, H4'), 7.50-7.46 (2H, m, H2 e H6), 7.40 (1H, d, H α , $J=16.0$ Hz), 6.92 (2H, d, H3 e H5, $J=8.8$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 190.58 (C=O), 161.65 (C4), 144.69 (C β), 138.47 (C1'), 132.54 (C4'), 130.21 (C2 e C6), 128.54 (C3' e C5'), 128.39 (C2' e C6'), 127.58 (C1), 119.75 (C α), 114.39 (C3 e C5), 55.40 (OCH_3).

9. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenil-prop-2-en-1-ona (4-nitrochalcona):

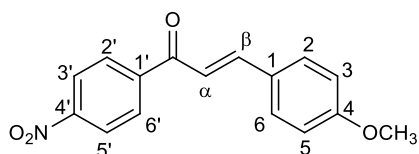


IV (ATR, cm^{-1}): 1656 (C=O), 1592 (C=C), 1512 e 1331 (NO_2).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,26 (2H, d, H3 e H5, $J=8,8$ Hz), 8,02 (2H, d, H2 e H6, $J=7,2$ Hz), 7,80 (1H, d, H β , $J=16,0$ Hz), 7,77 (2H, d, H2' e H6', $J=8,8$ Hz), 7,64 (1H, d, H α , $J=15,6$ Hz), 7,63-7,59 (1H, m, H4'), 7,54-7,50 (2H, m, H3' e H5').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 189,5 (C=O), 148,5 (C4), 141,4 (C β), 141,0 (C1), 137,5 (C1'), 133,3 (C4'), 128,8 (C3' e C5'), 128,7 (C2 e C6), 128,5 (C2' e C6'), 125,7 (C α), 124,1 (C3 e C5).

10. (E)-3-(4-metoxifenil)-1-(4-nitrofenil)-prop-2-en-1-ona (4-metoxi-4'-nitrochalcona)

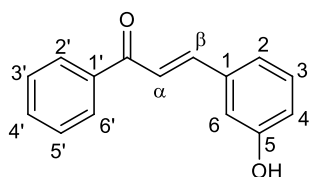


IV (ATR, cm^{-1}): 1656 (C=O), 1603 (C=C), 1511 e 1339 (NO_2), 1254 (OCH_3).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8.32 (2H, d, $\text{H}_{3'}$ e $\text{H}_{5'}$, $J=8.8$ Hz), 8.11 (2H, d, $\text{H}_{2'}$ e $\text{H}_{6'}$, $J=8.8$ Hz), 7.80 (1H, d, H_β , $J=15.6$ Hz), 7.34 (1H, d, H_α , $J=15.6$ Hz), 7.60 (2H, d, H_2 e H_6 , $J=8.8$ Hz), 6.94 (2H, d, H_3 e H_5 , $J=8.8$ Hz), 3.85 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 188.96 (C=O), 162.23 (C_4), 149.90 ($\text{C}_{4'}$), 146.67 (C_β), 143.42 ($\text{C}_{1'}$), 130.59 ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$), 129.26 (C_2 e C_6), 127.01 (C_1), 123.76 ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$), 118.92 (C_α), 114.56 (C_3 e C_5), 55.45 (OCH_3).

11. (E)-3-(3-hidroxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (3-hidroxichalcona):



IV (ATR, cm^{-1}): 1651 (C=O), 1602 (C=C), 3328 (OH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,07-8,04 (2H, m, $\text{H}_{2'}$ e $\text{H}_{6'}$), 7,71 (1H, d, H_β , $J=15,6$ Hz), 7,67-7,60 (2H, m, $\text{H}_{3'}$ e $\text{H}_{5'}$), 7,56-7,52 (1H, m, $\text{H}_{4'}$), 7,54 (1H, d, H_α , $J=14,8$ Hz), 7,27-7,23 (1H, m, H_3), 7,22-7,19 (1H, m, H_2), 7,14-7,13 (1H, m, H_4), 6,87 (1H, ddd, H_6 , $J=7,6, 2,4, 1,2$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 191,0 (C=O), 157,7 (C_5), 145,0 (C_β), 137,9 ($\text{C}_{1'}$), 136,0 (C_1), 132,7 ($\text{C}_{4'}$), 129,6 (C_3), 128,4 ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$), 128,1 ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$), 121,4 (C_α), 119,8 (C_2), 117,5 (C_4), 114,3 (C_6).

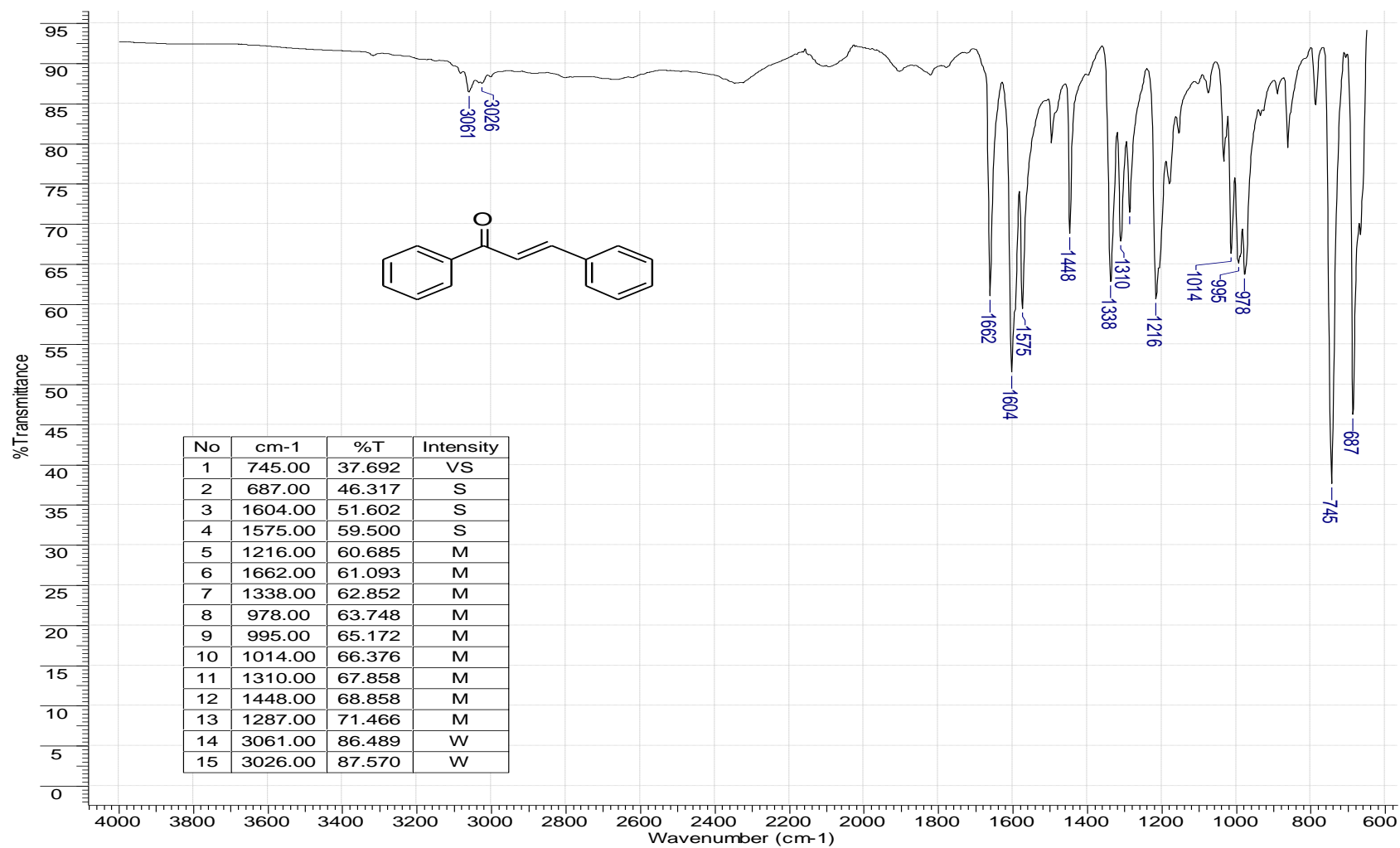


Figura 1A – Espectro de Infravermelho da chalcona 1.

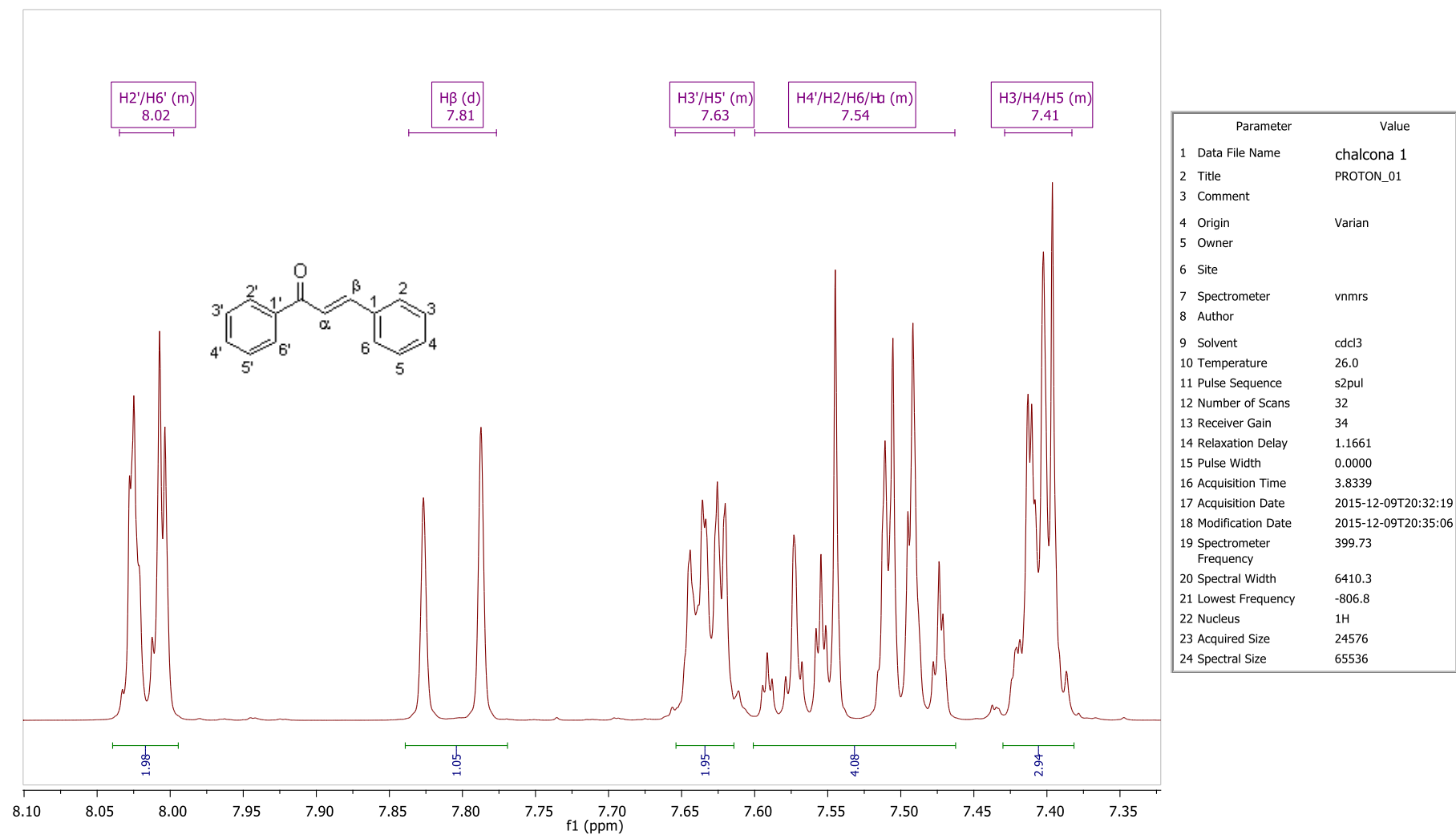


Figura 2A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 1.

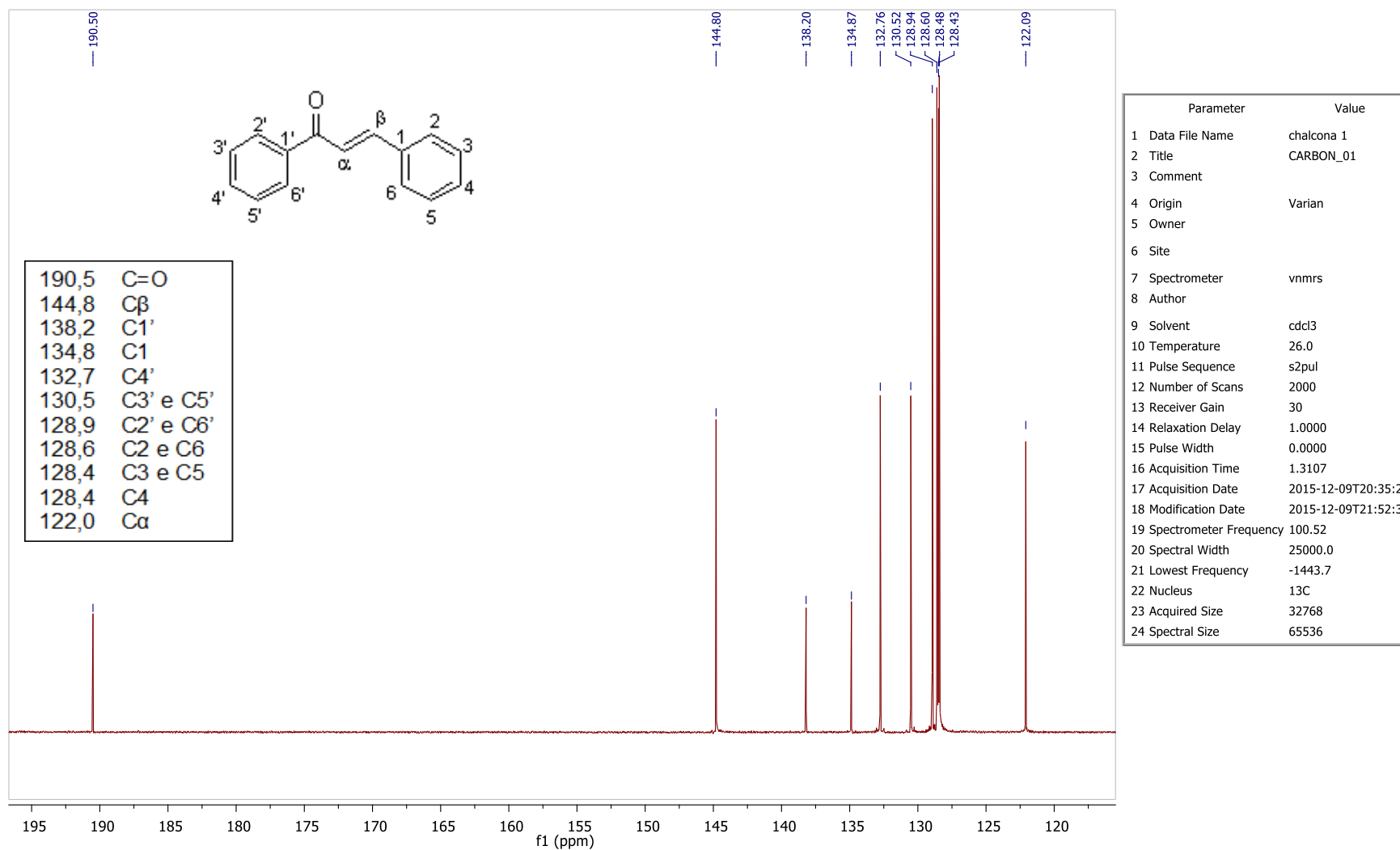


Figura 3A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 1.

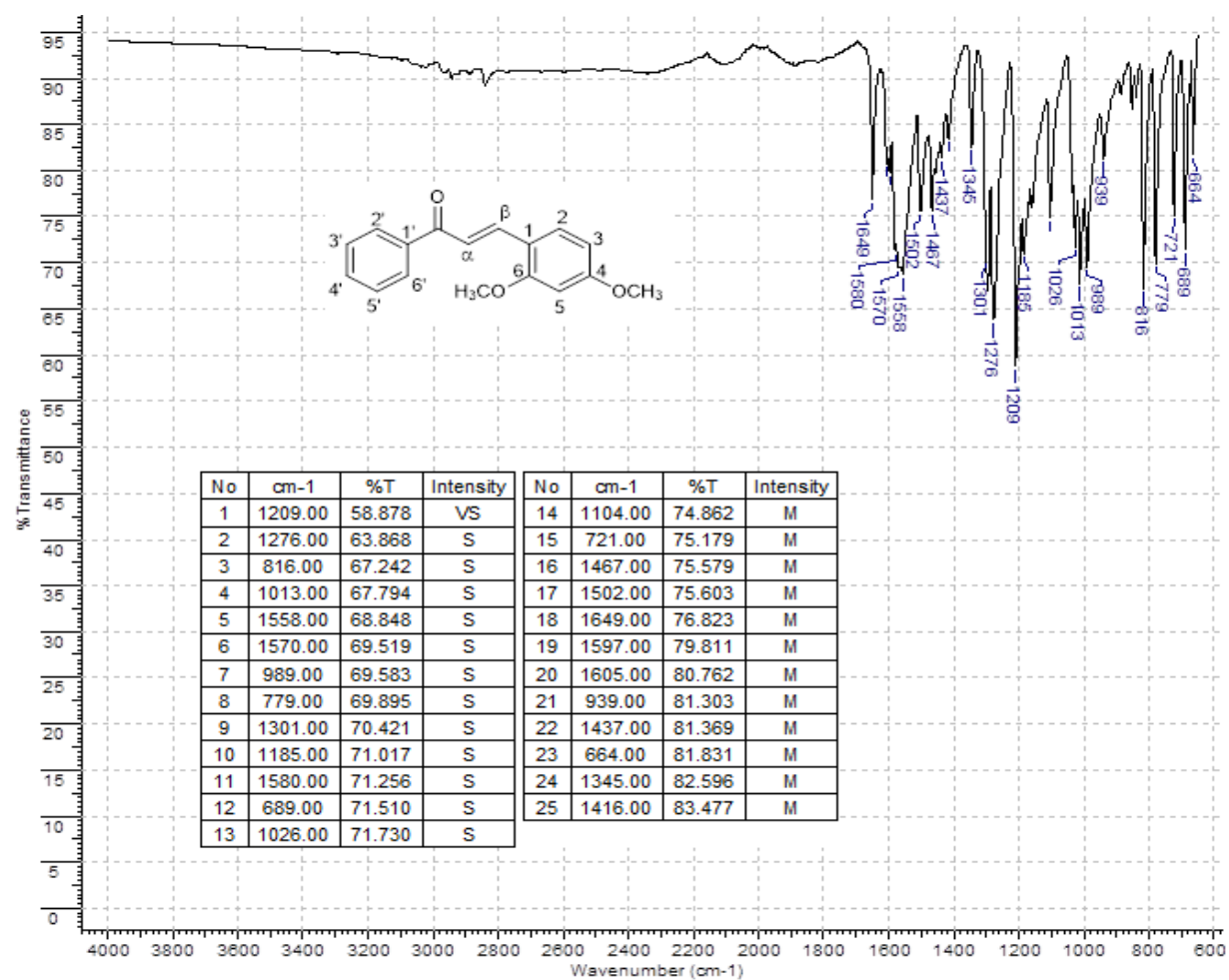


Figura 4A – Espectro de Infravermelho da chalcona 2.

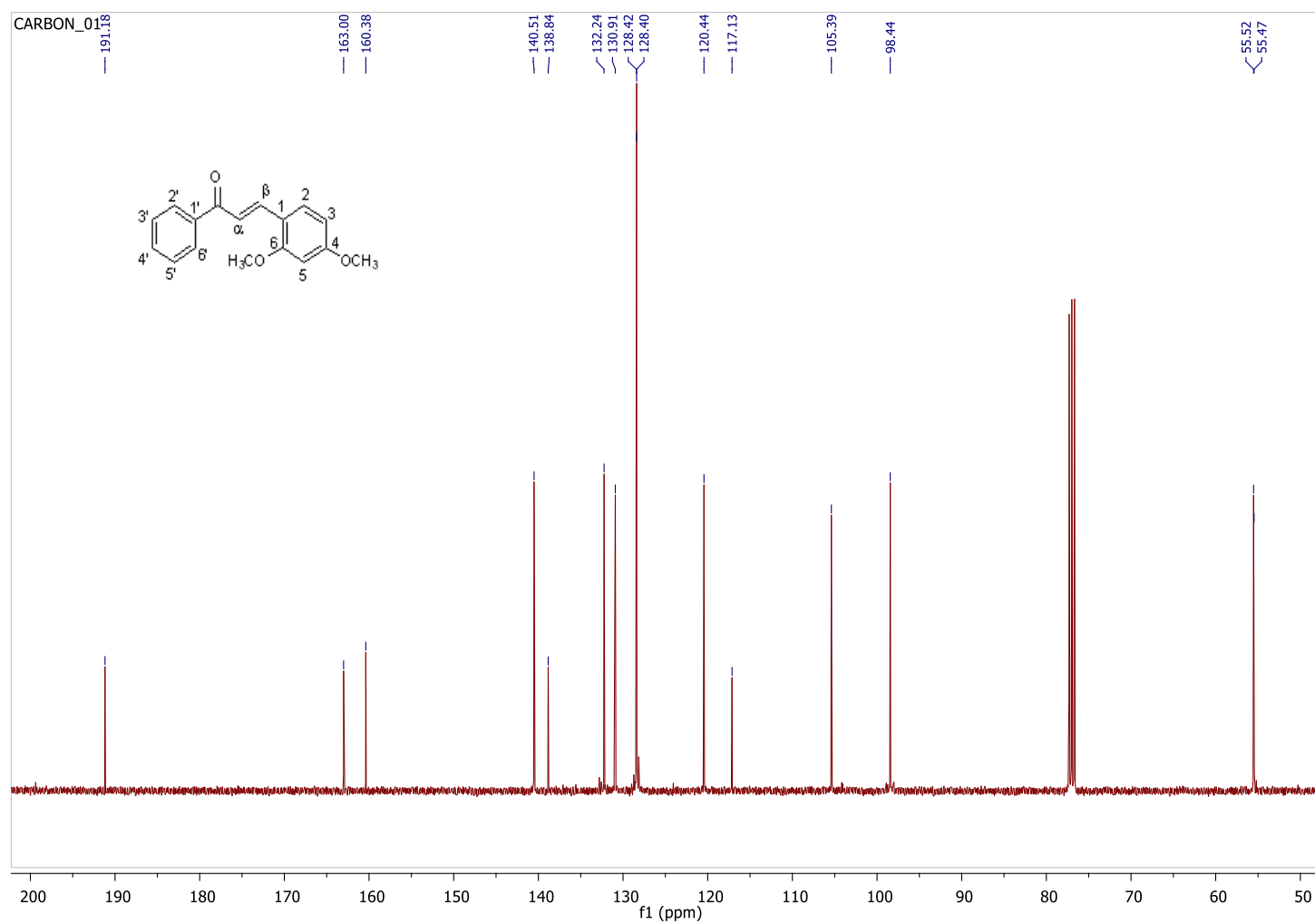


Figura 5A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 2.

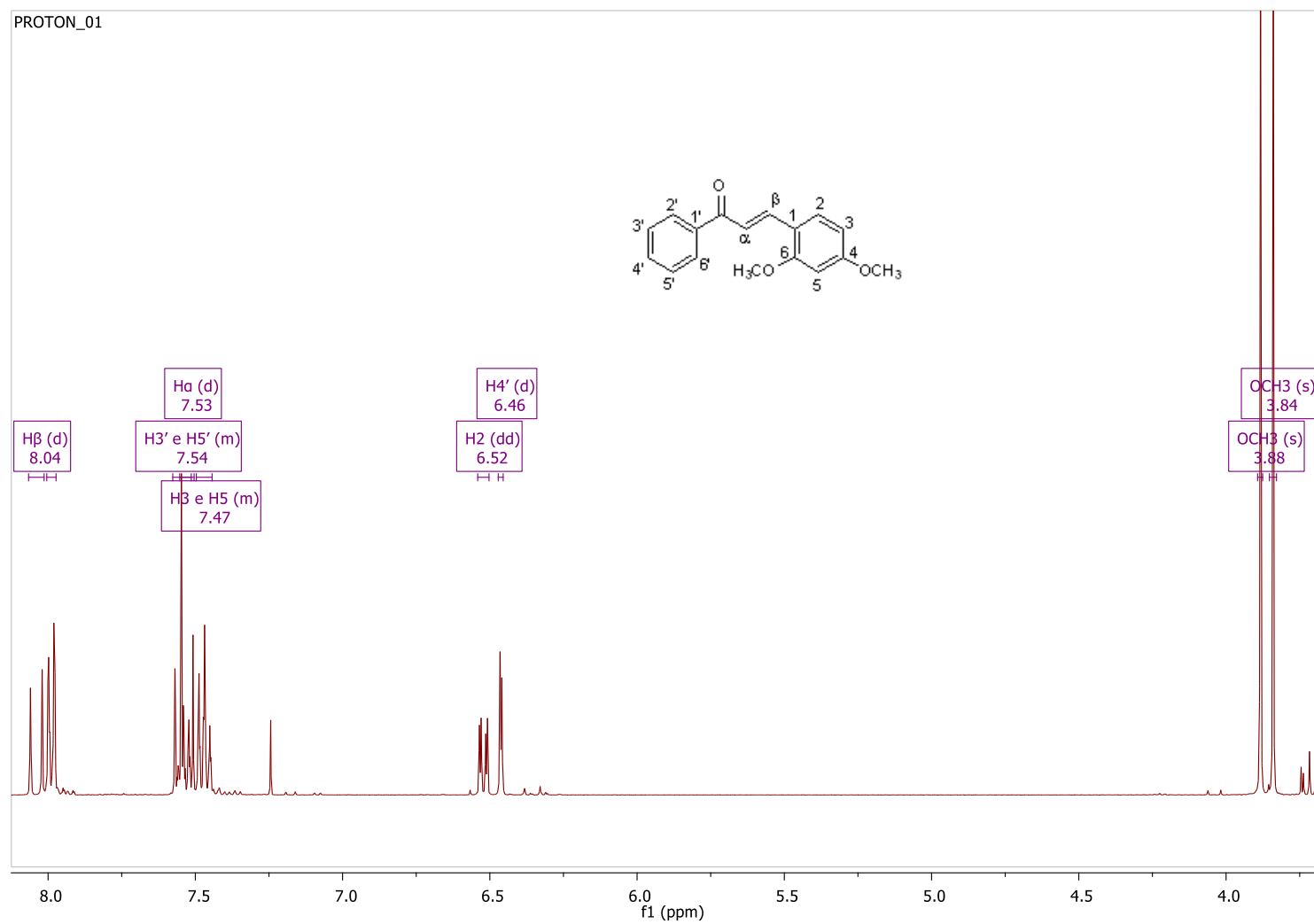


Figura 6A – Espectro de RMN de 1H da chalcona 2.

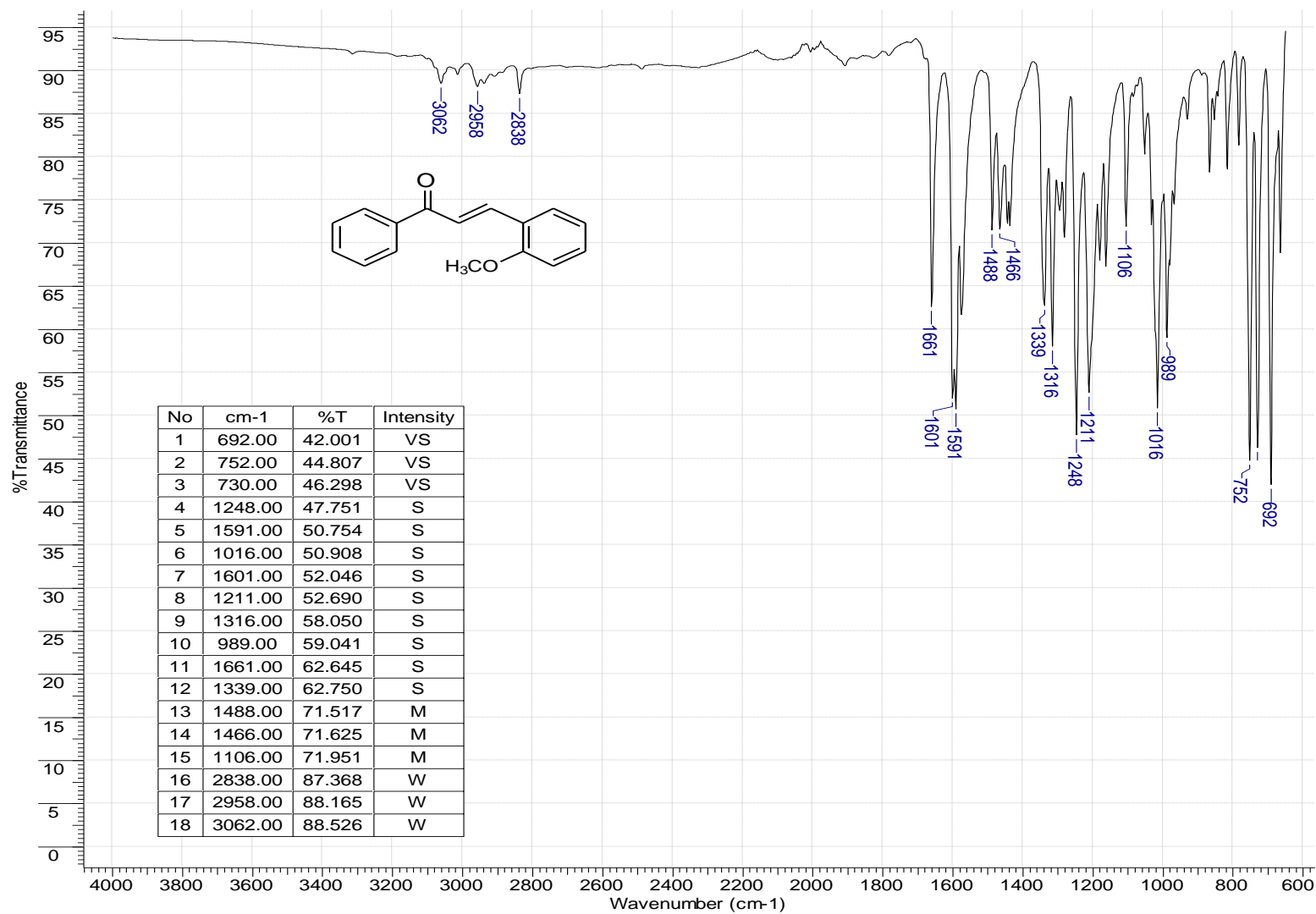


Figura 7A – Espectro de Infravermelho da chalcona 3.

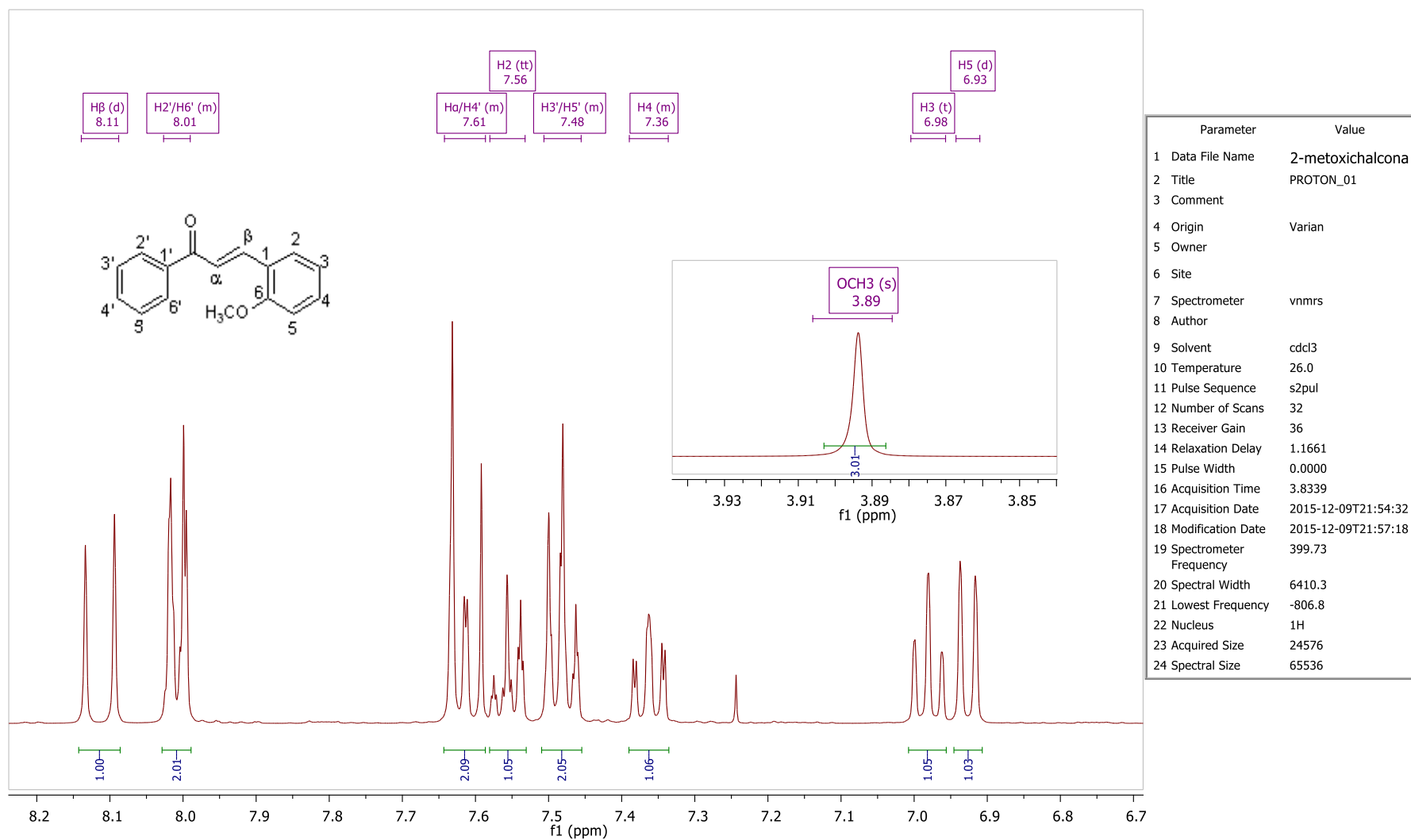


Figura 8A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 3.

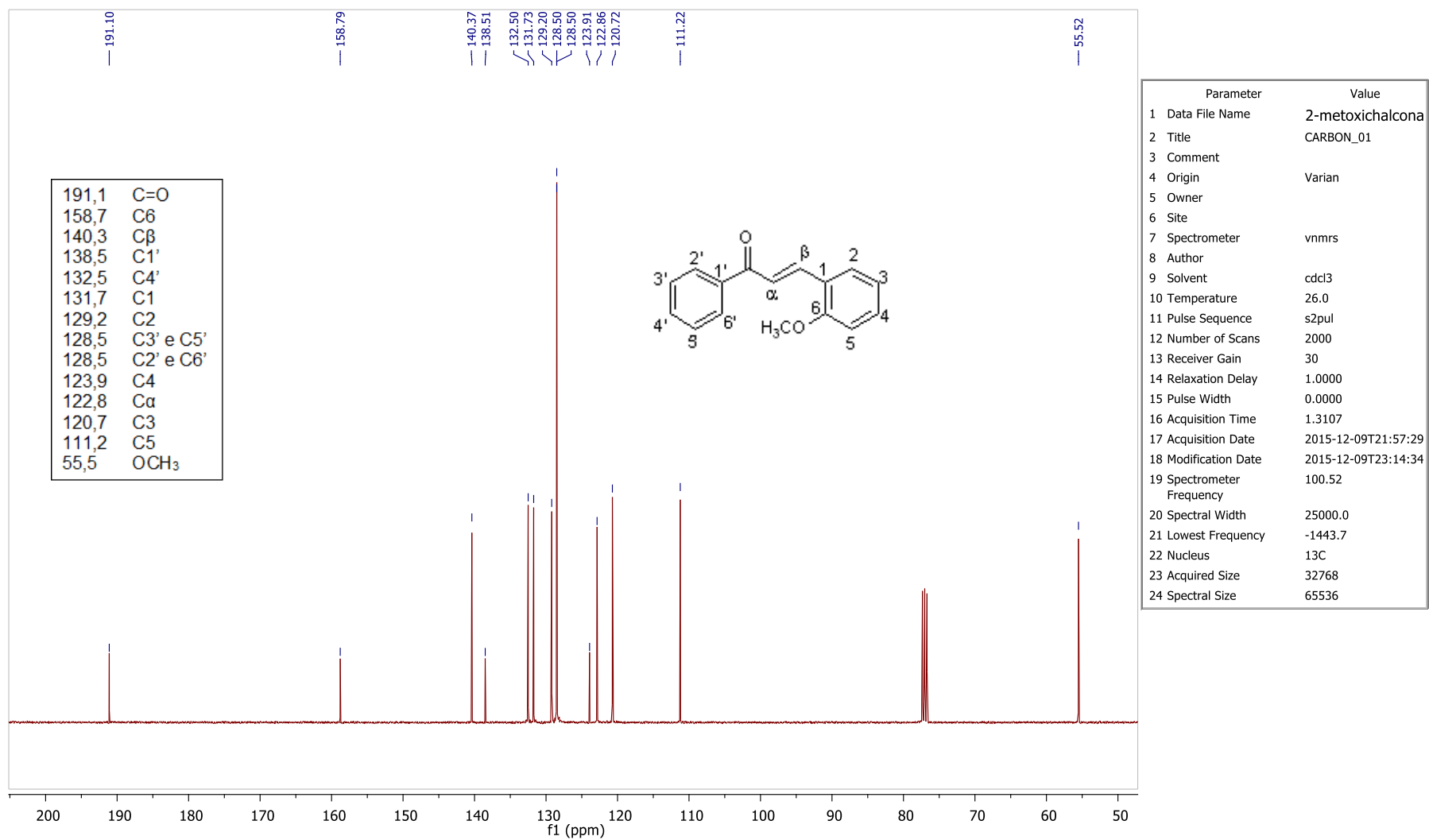


Figura 9A – Espectro de RMN de ¹³C da chalcona 3.

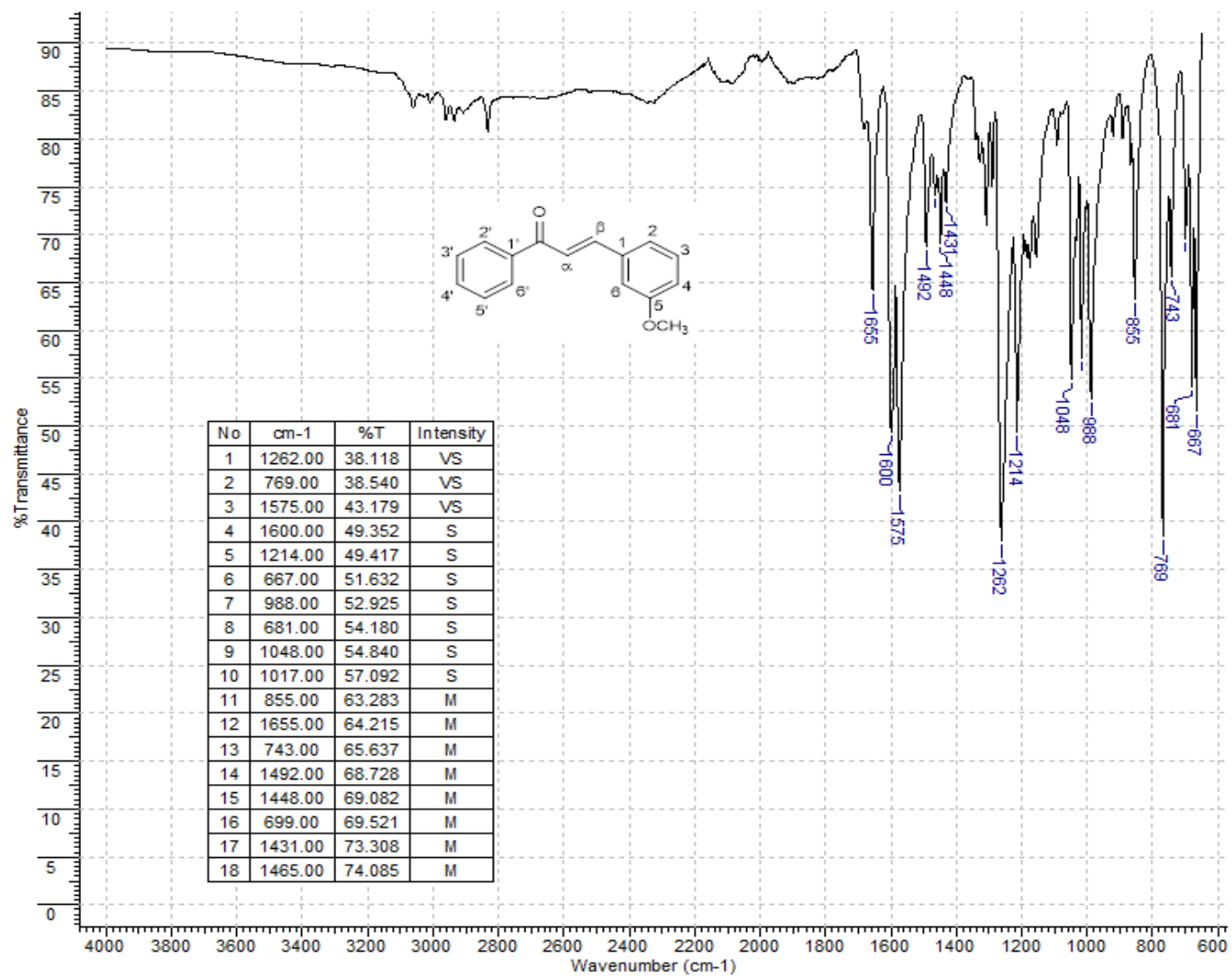


Figura 10A – Espectro de Infravermelho da chalcona 4.

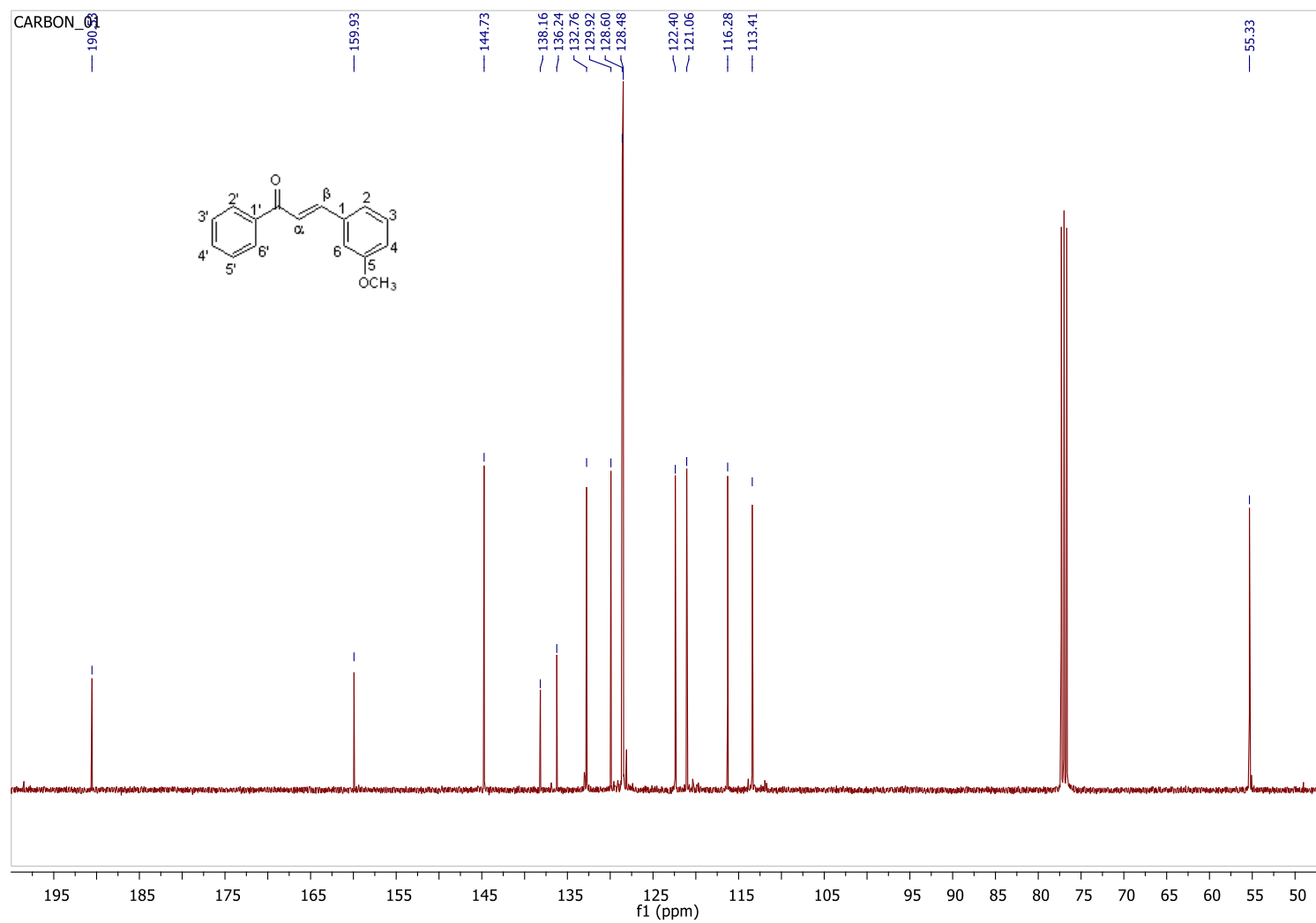


Figura 11A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 4.

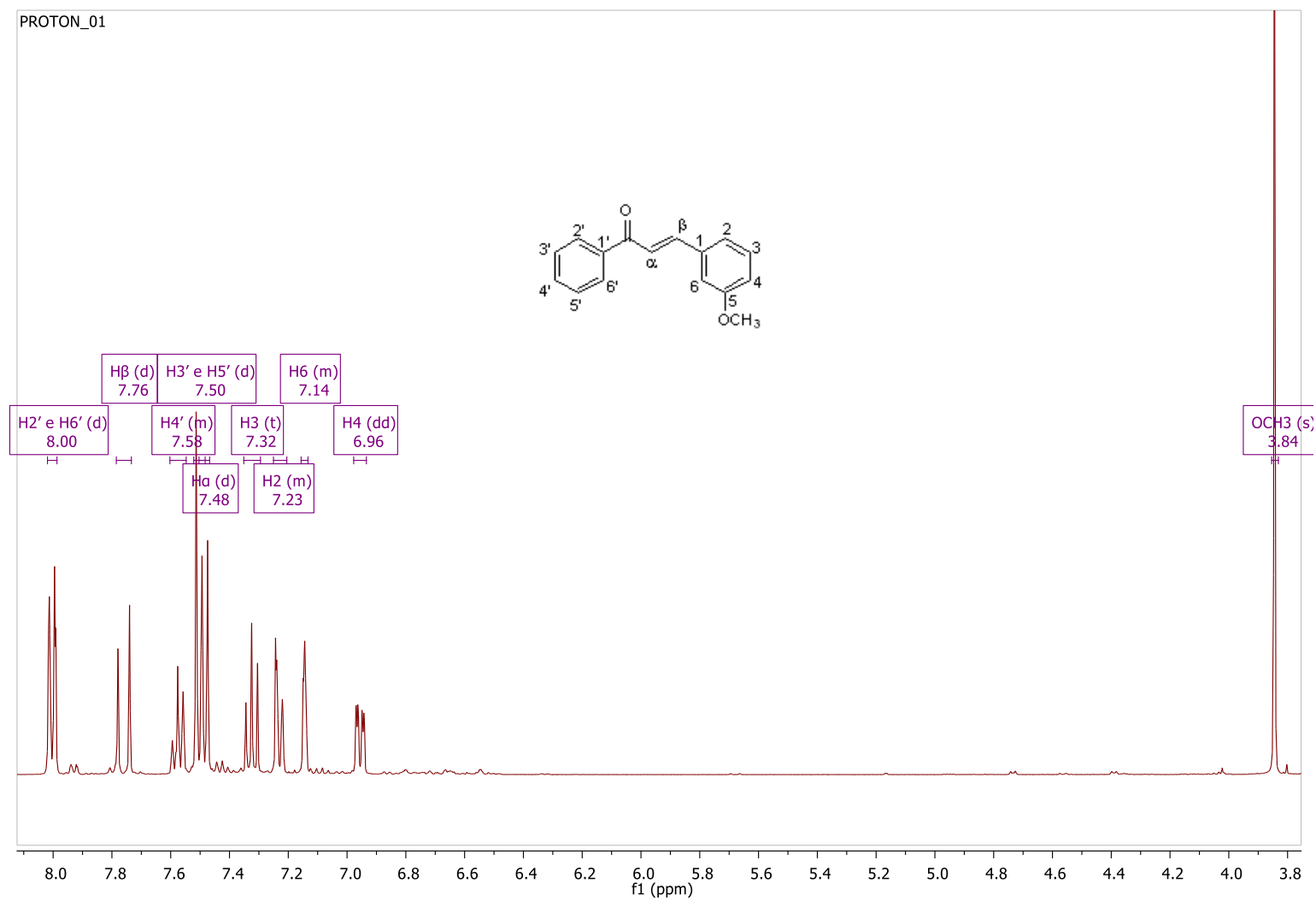


Figura 12A – Espectro de RMN de ¹H da chalcona 4.

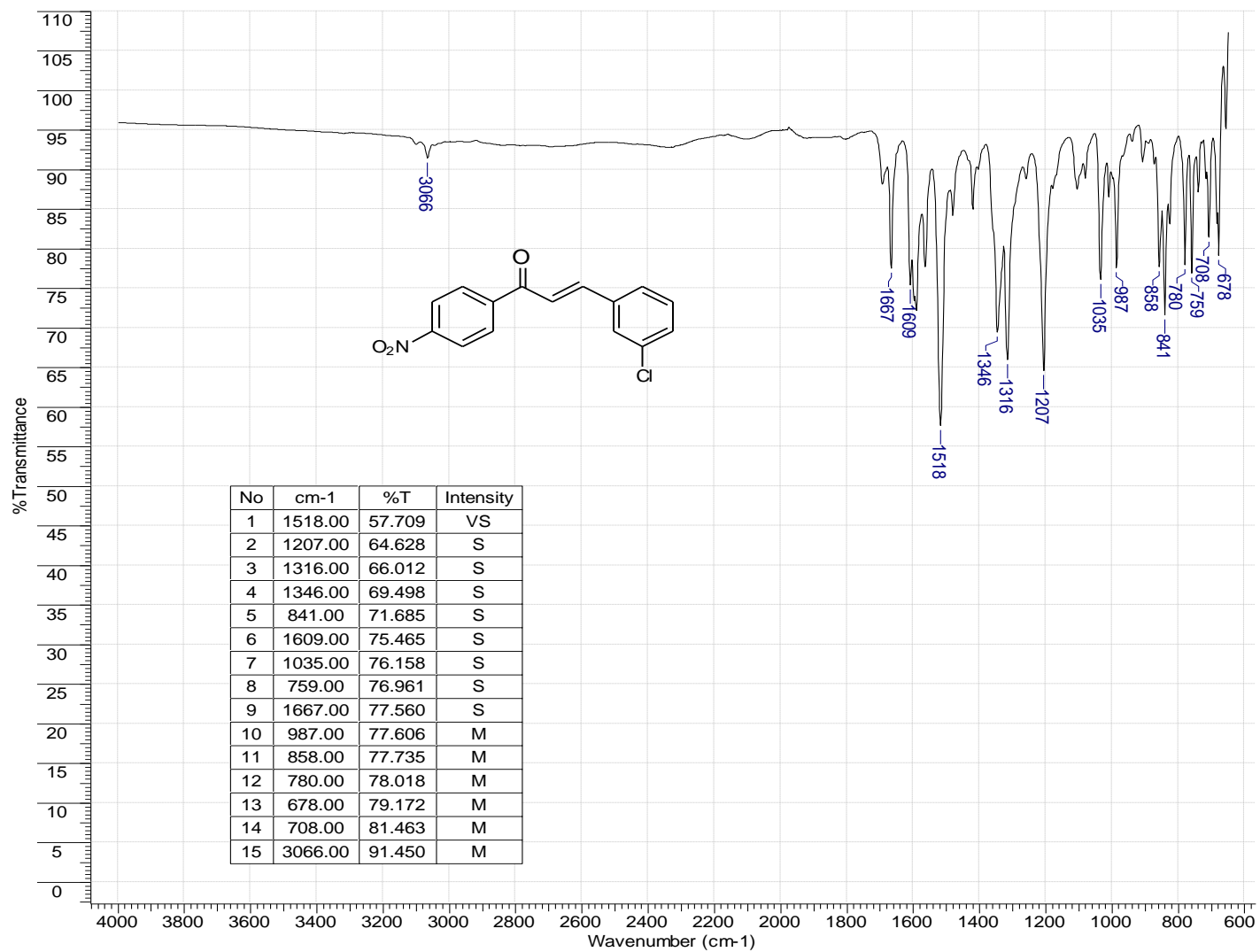


Figura 13A – Espectro de Infravermelho da chalcona 5.

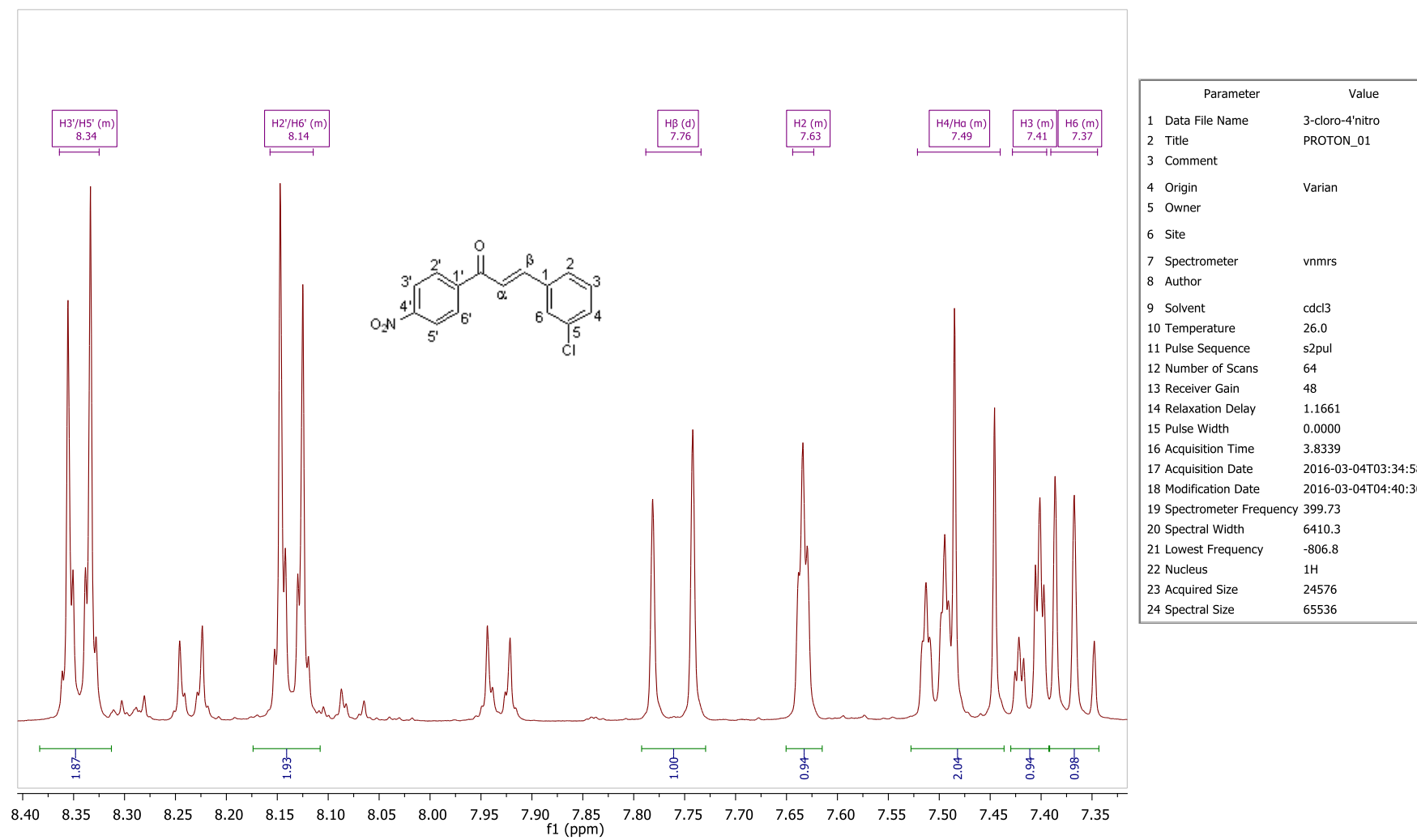


Figura 14A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 5.

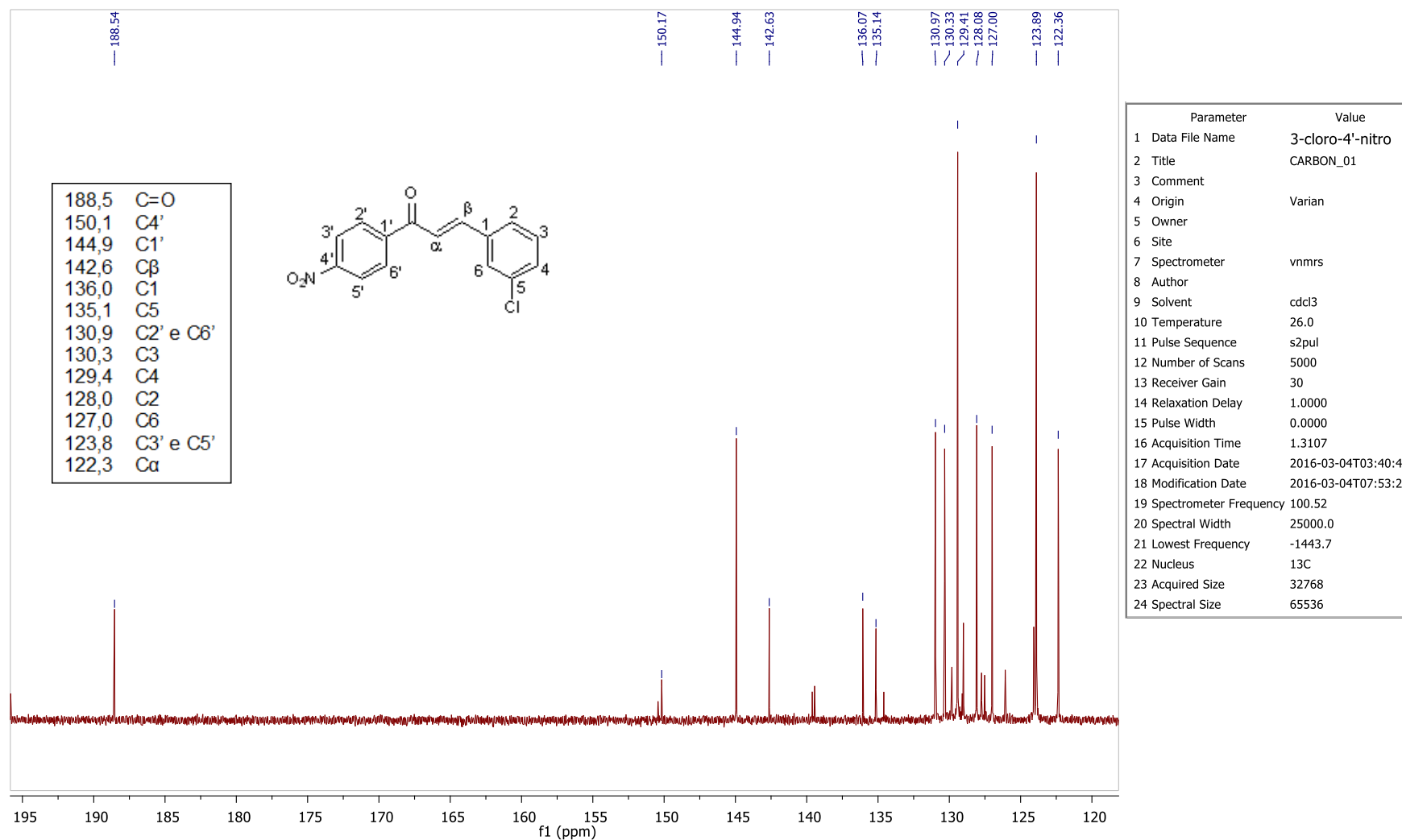


Figura 15A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 5.

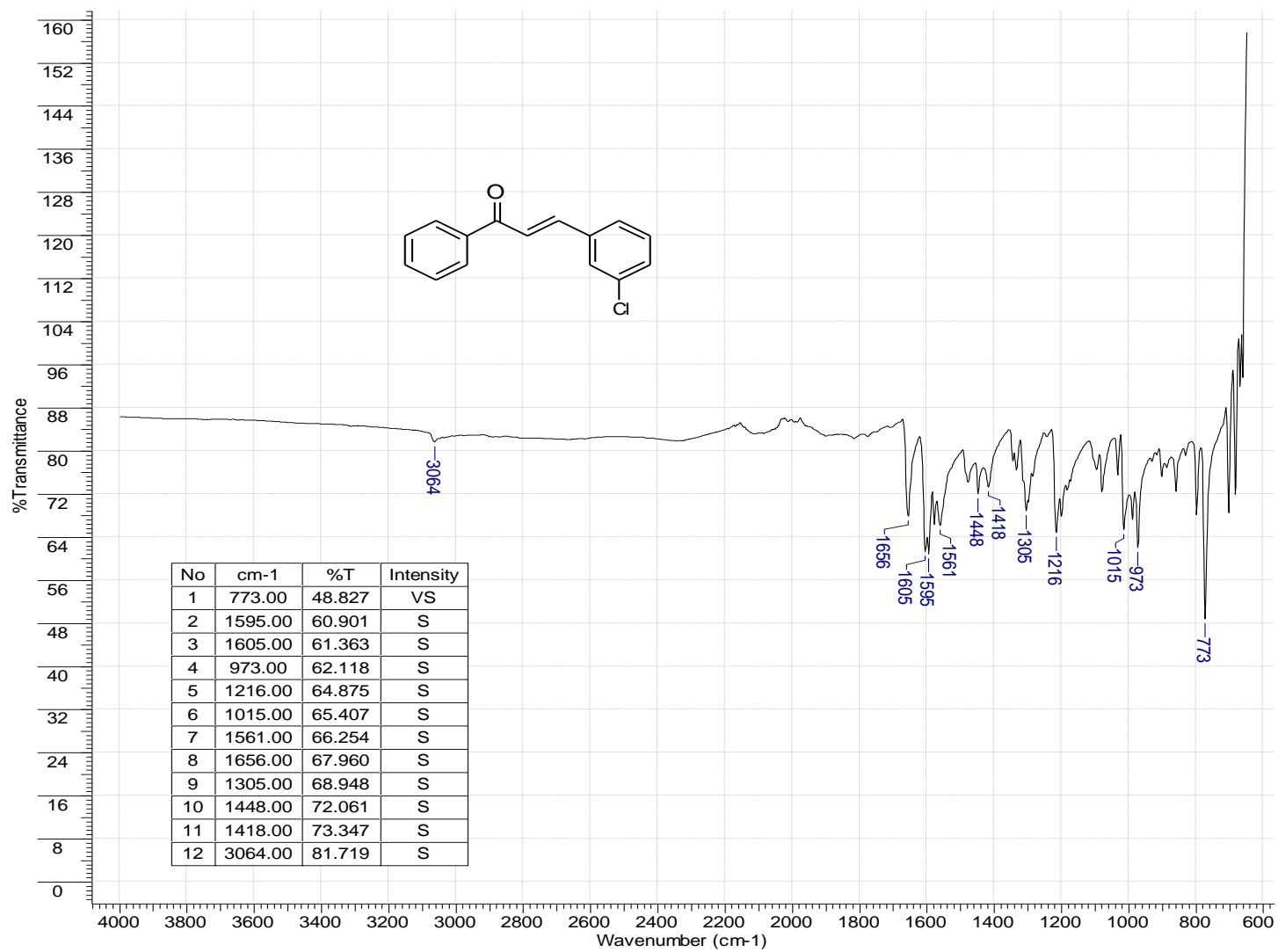


Figura 16A – Espectro de Infravermelho da chalcona 6.

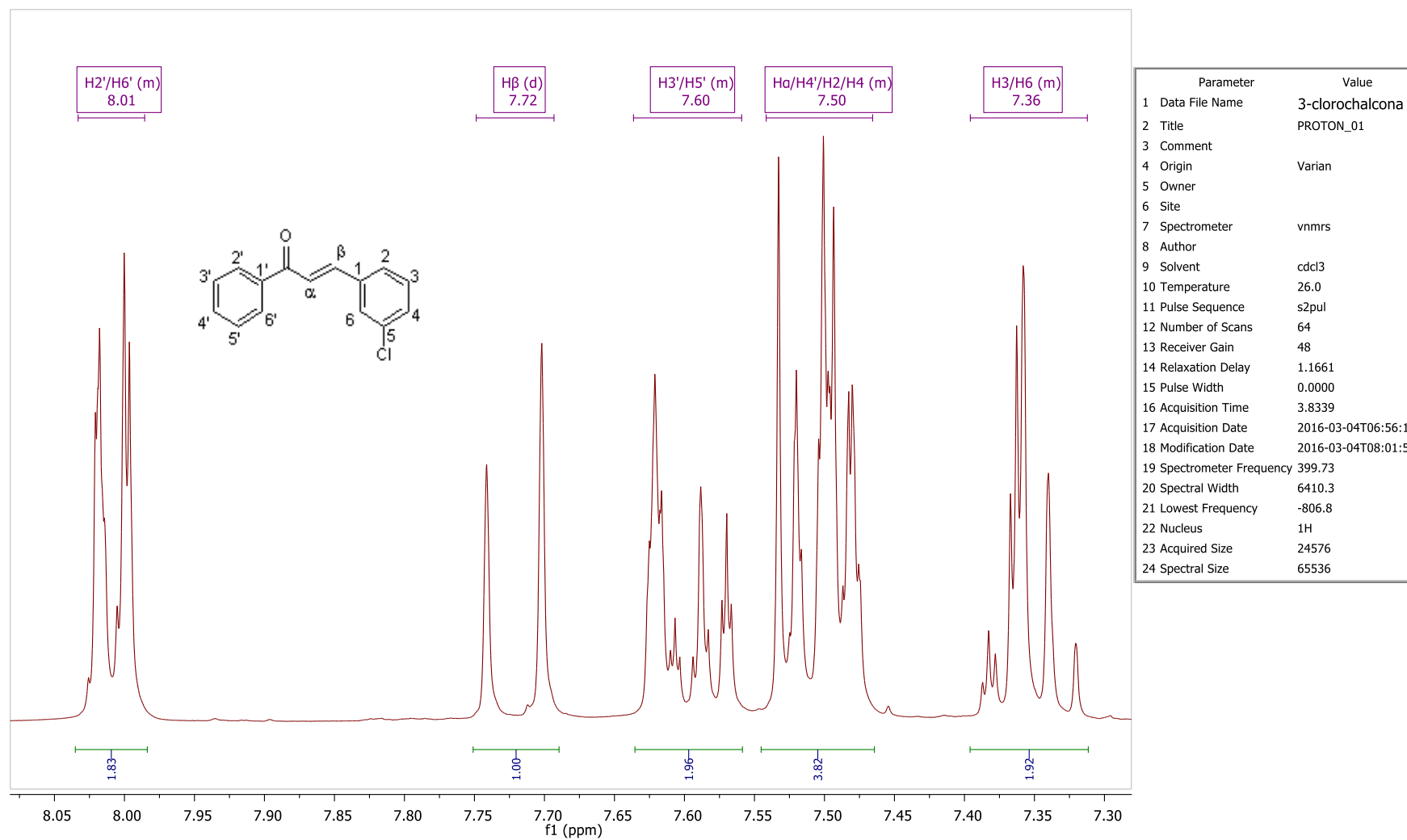


Figura 17A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 6.

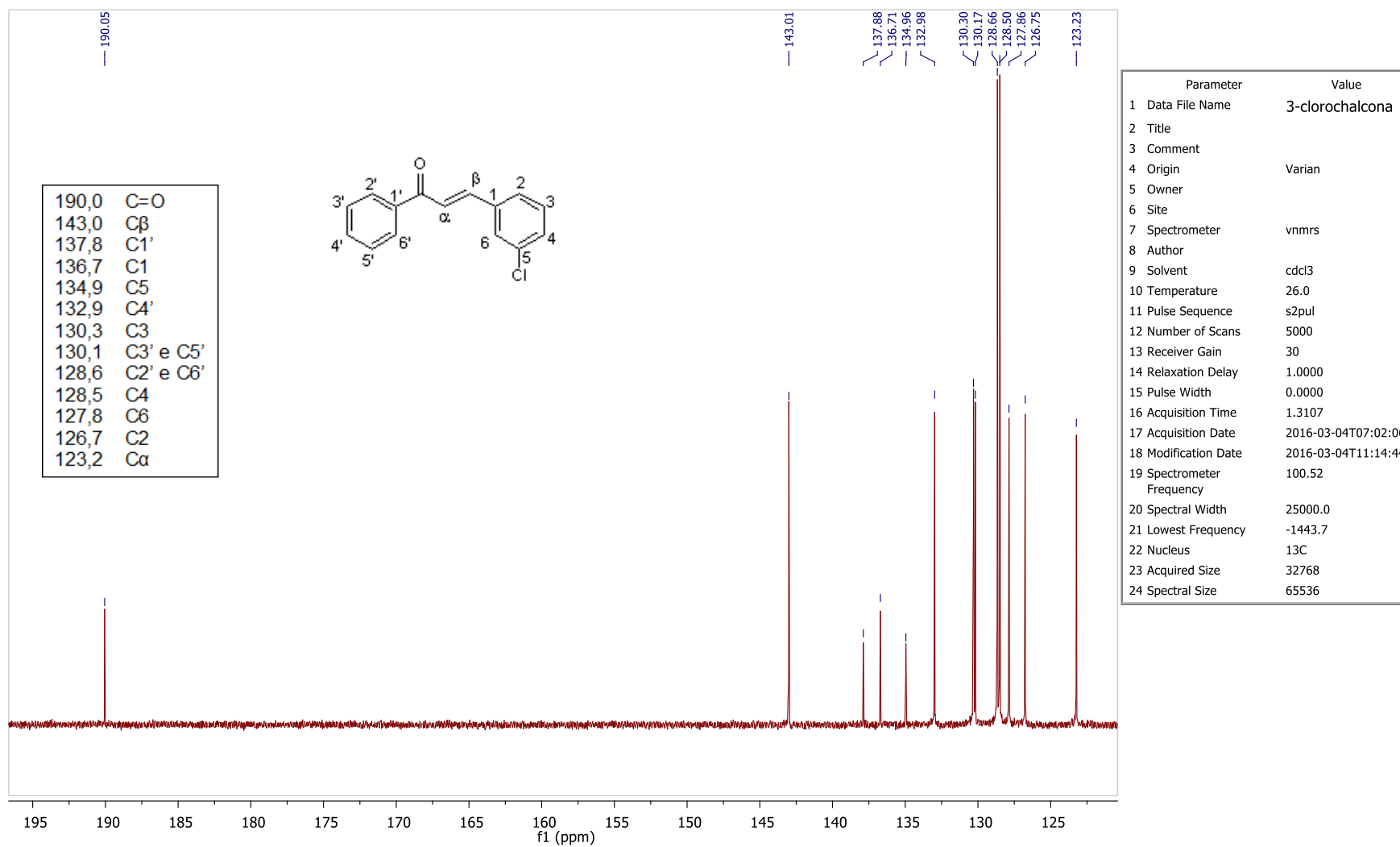


Figura 18A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 6.

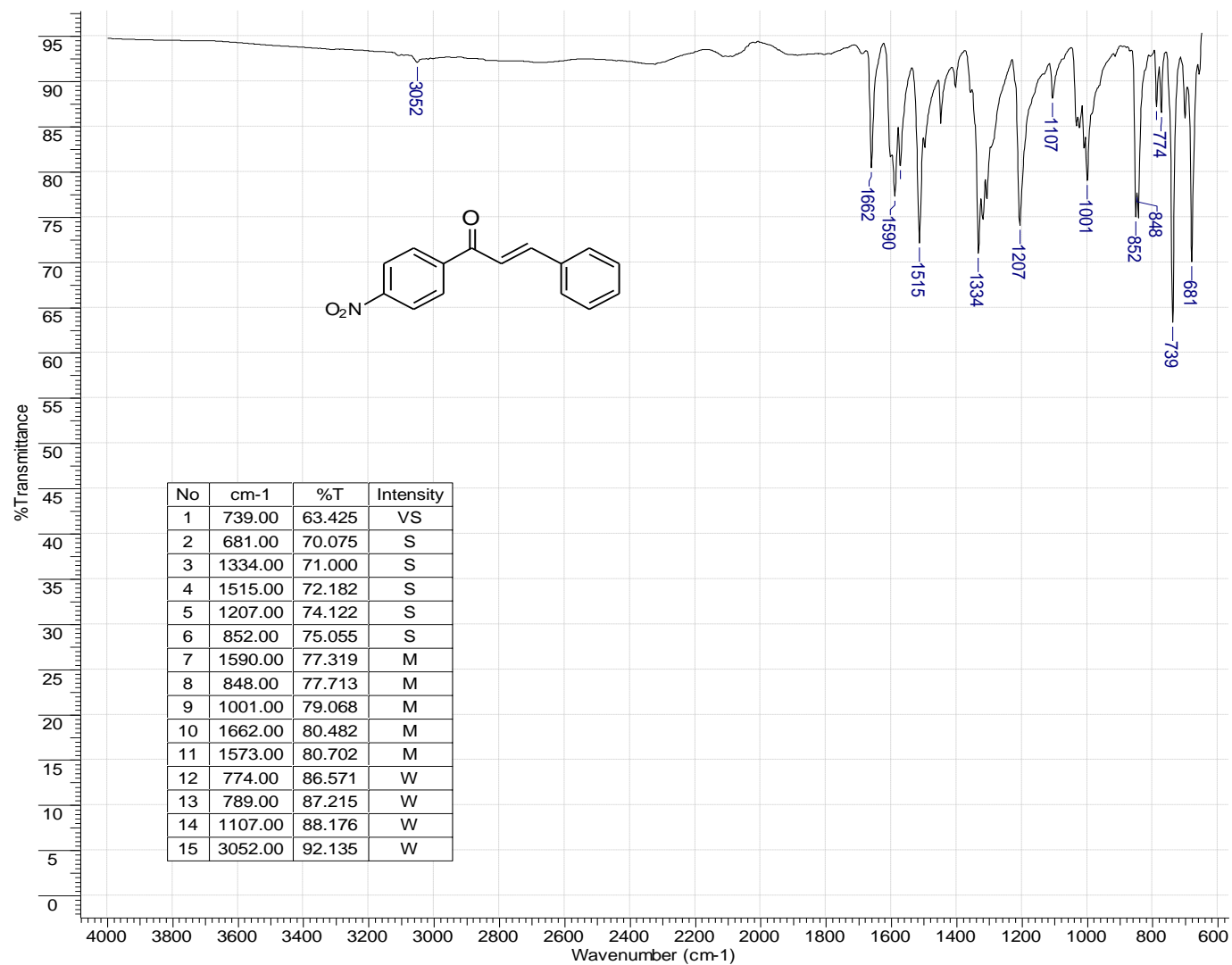


Figura 19A – Espectro de Infravermelho da chalcona 7.

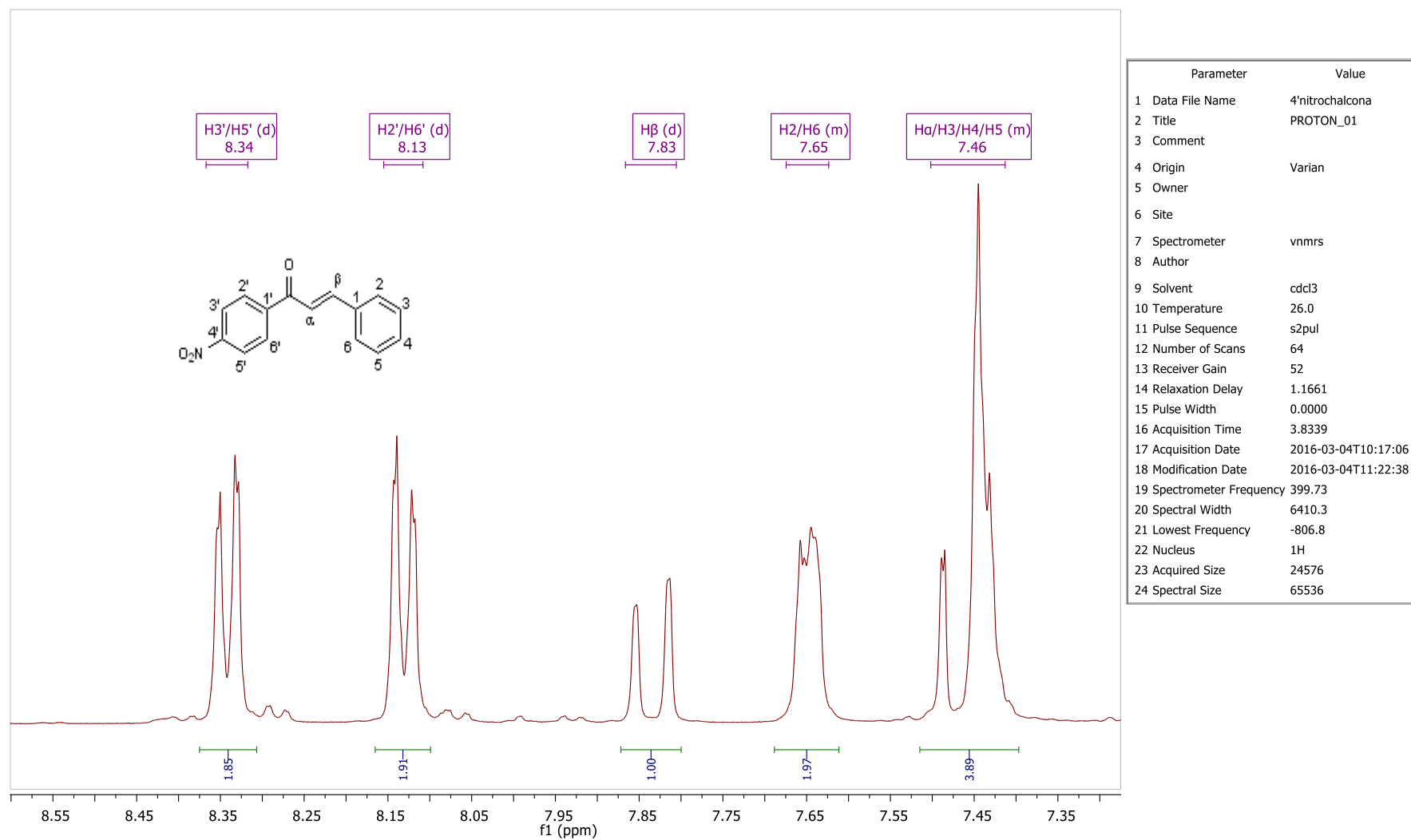


Figura 20A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 7.

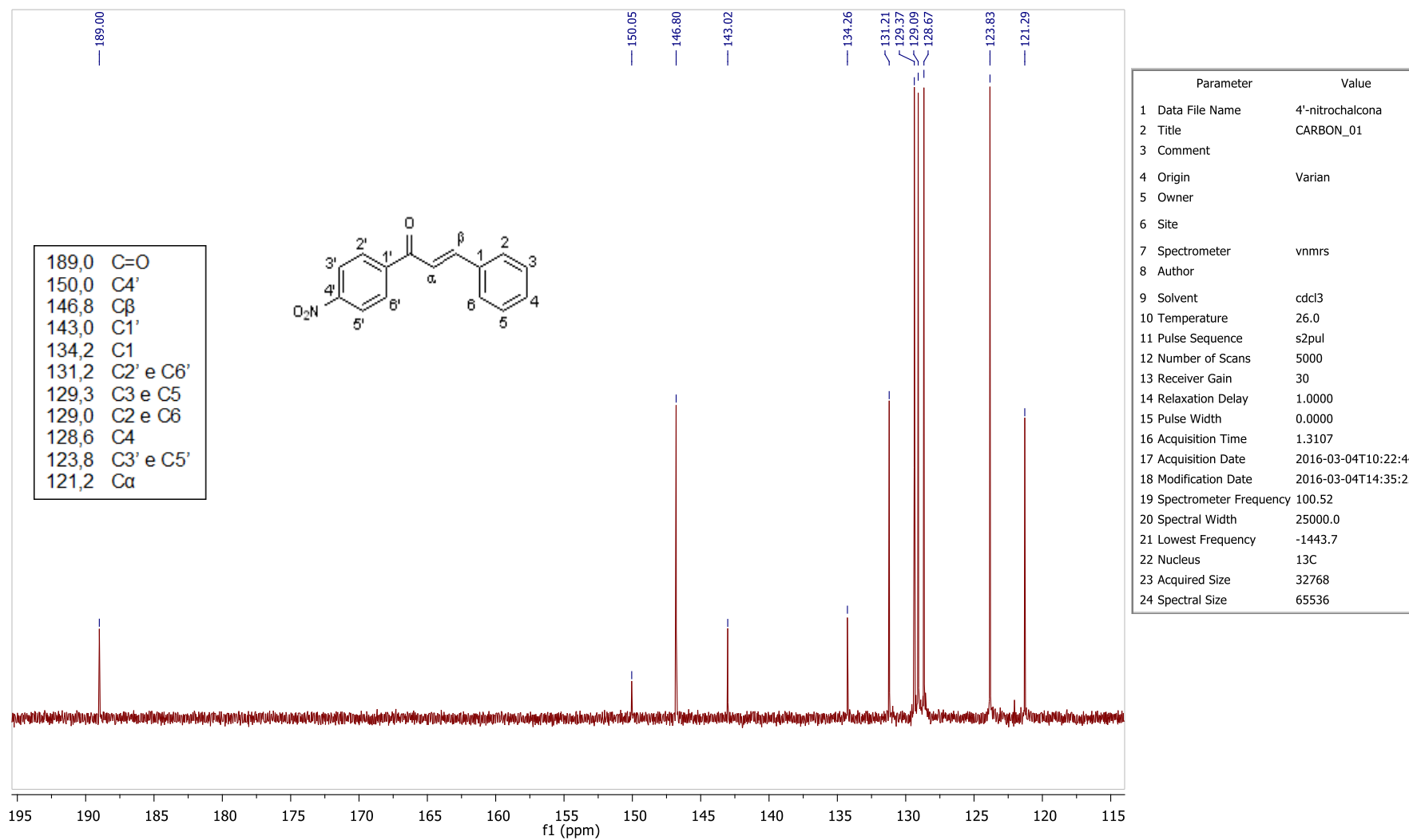


Figura 21A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 7.

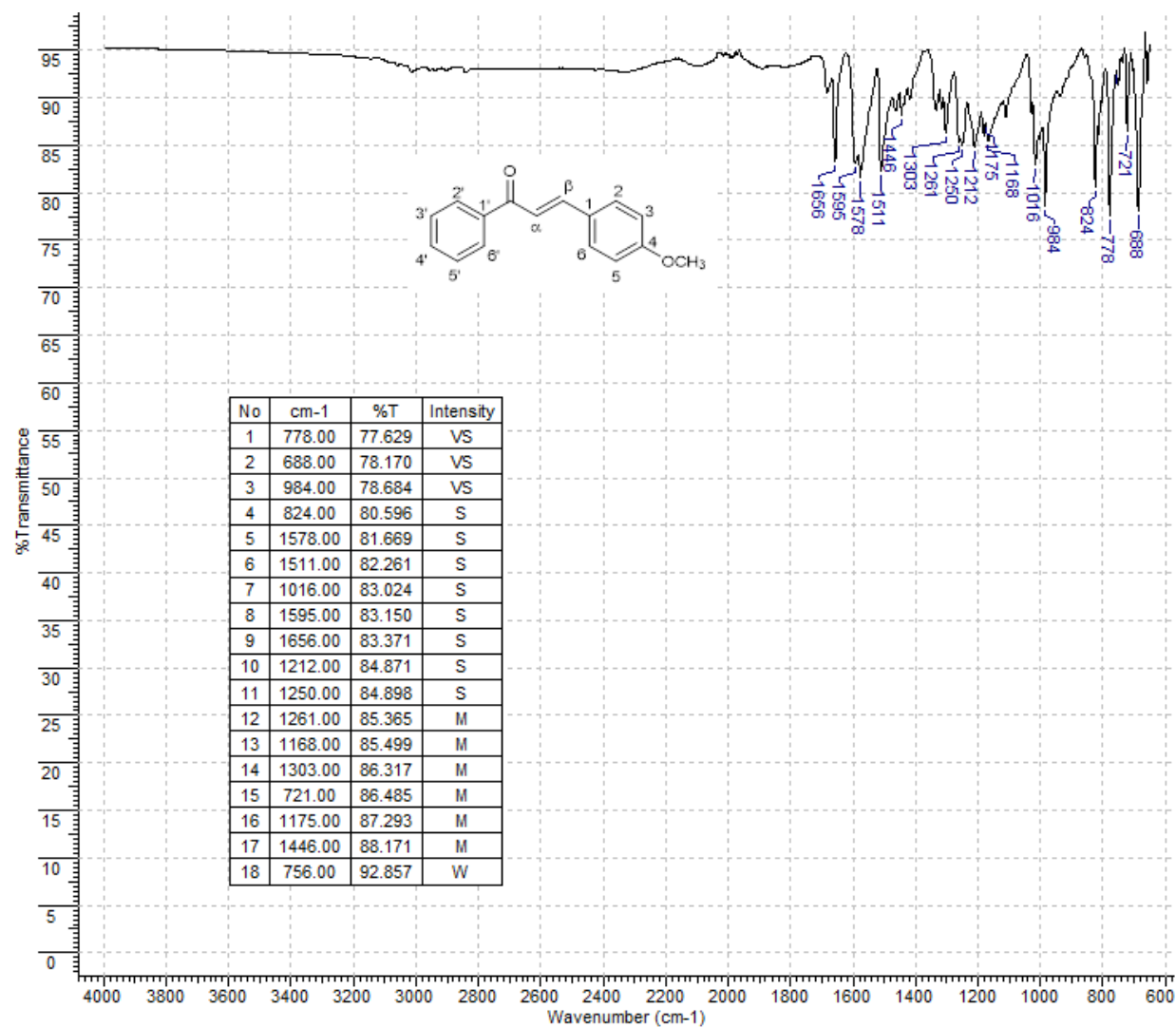


Figura 22A – Espectro de Infravermelho da chalcona 8.

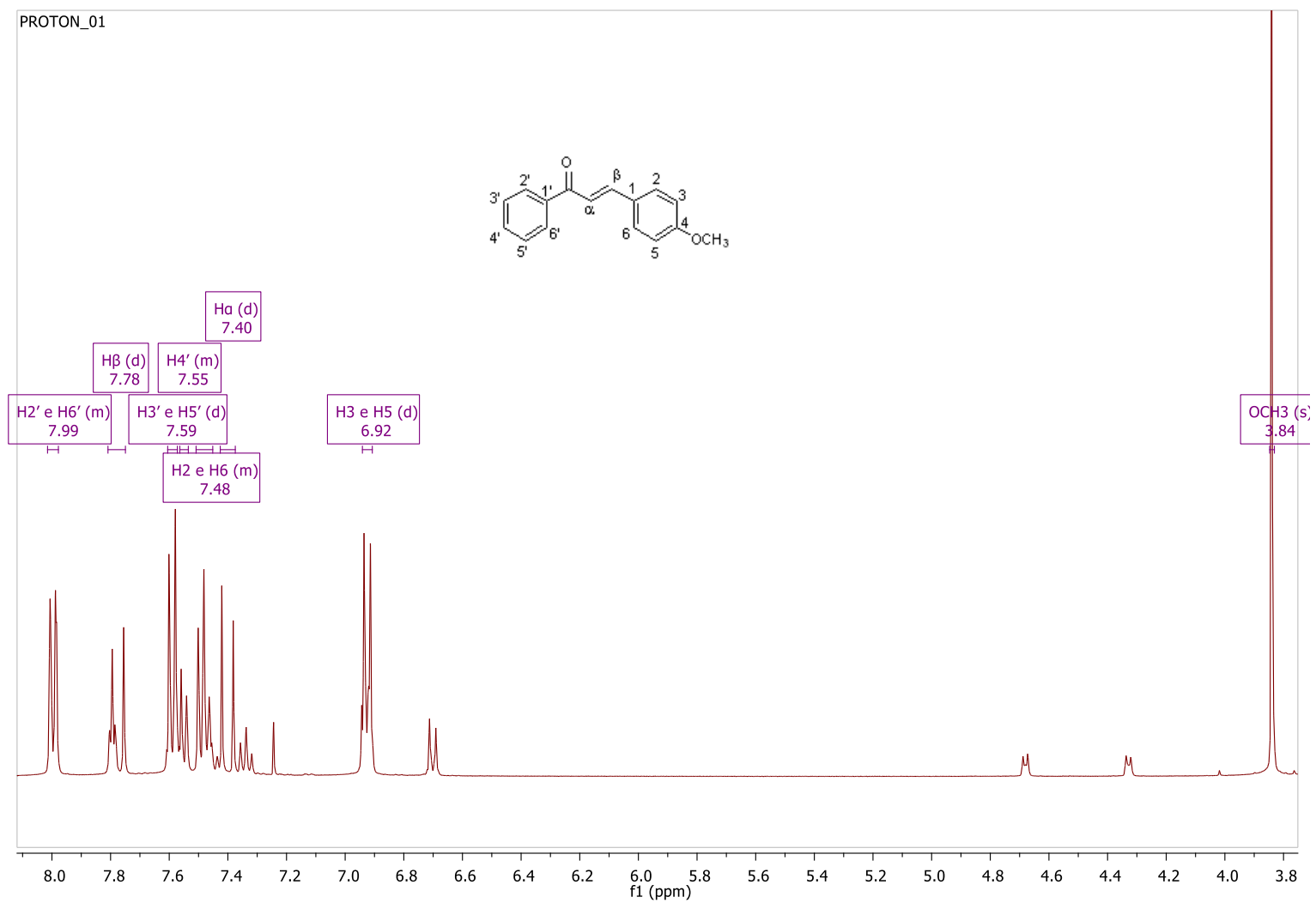


Figura 23A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 8.

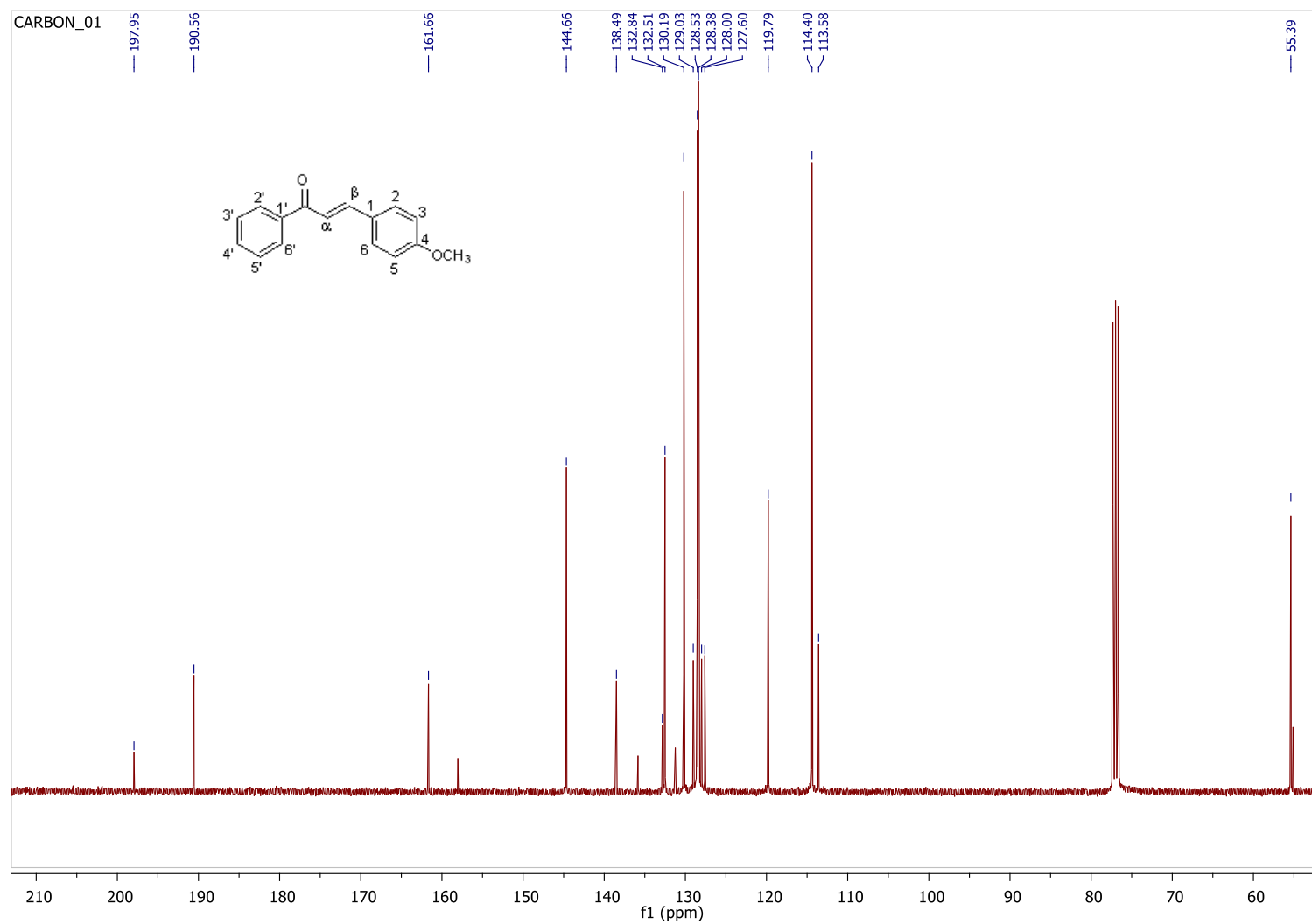


Figura 24A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 8.

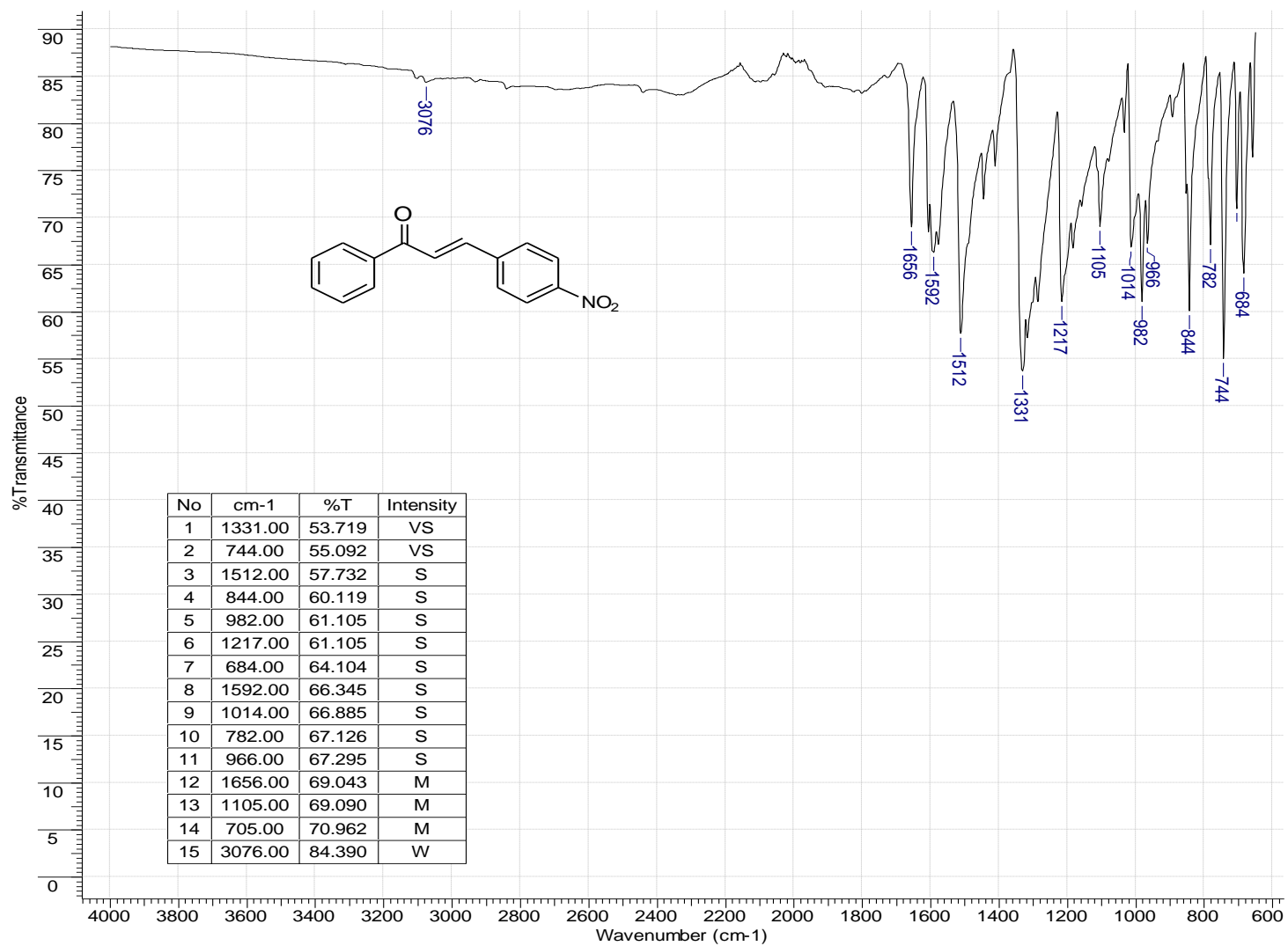


Figura 25A – Espectro de Infravermelho da chalcona 9.

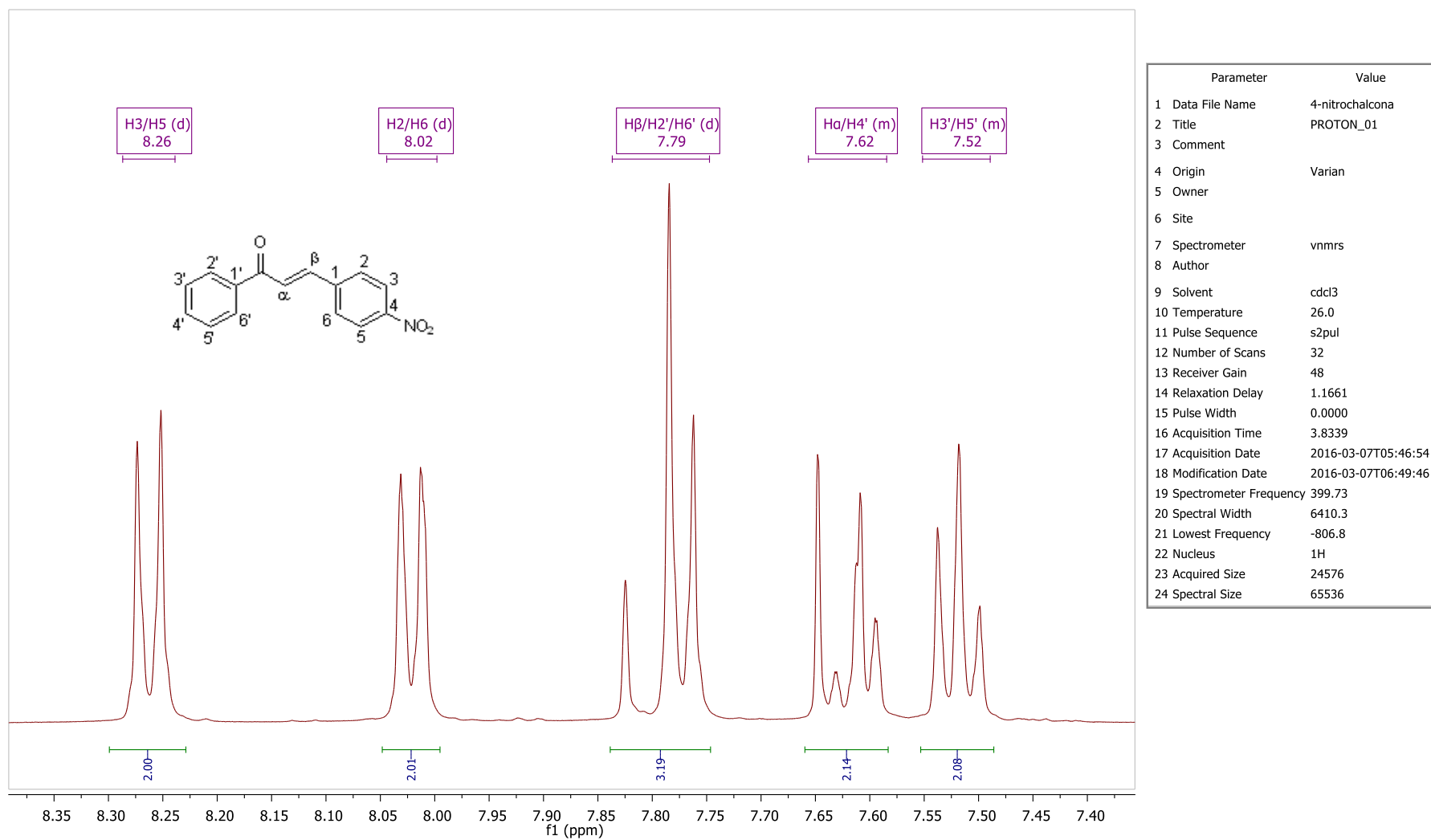


Figura 26A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 9.

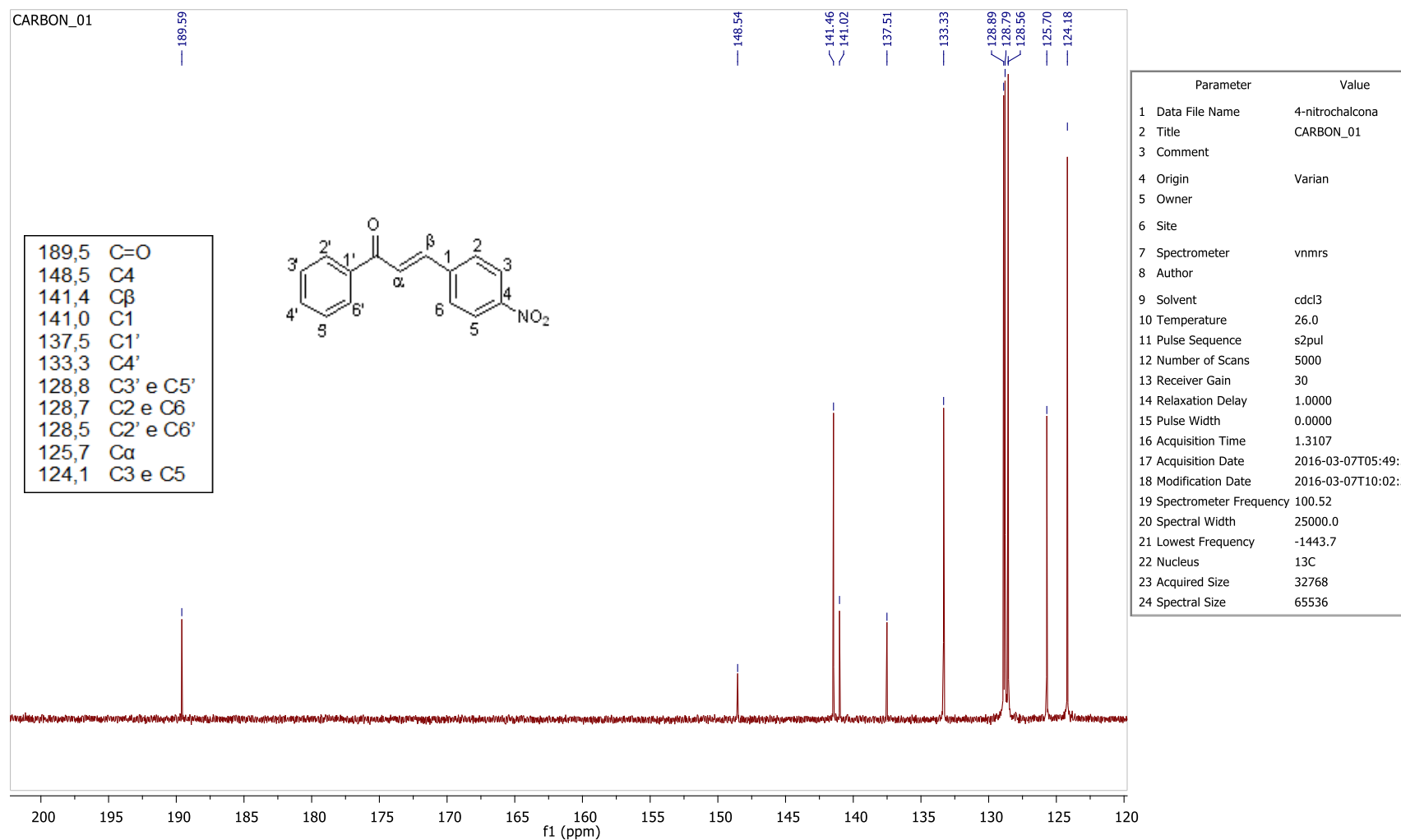


Figura 27A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 9.

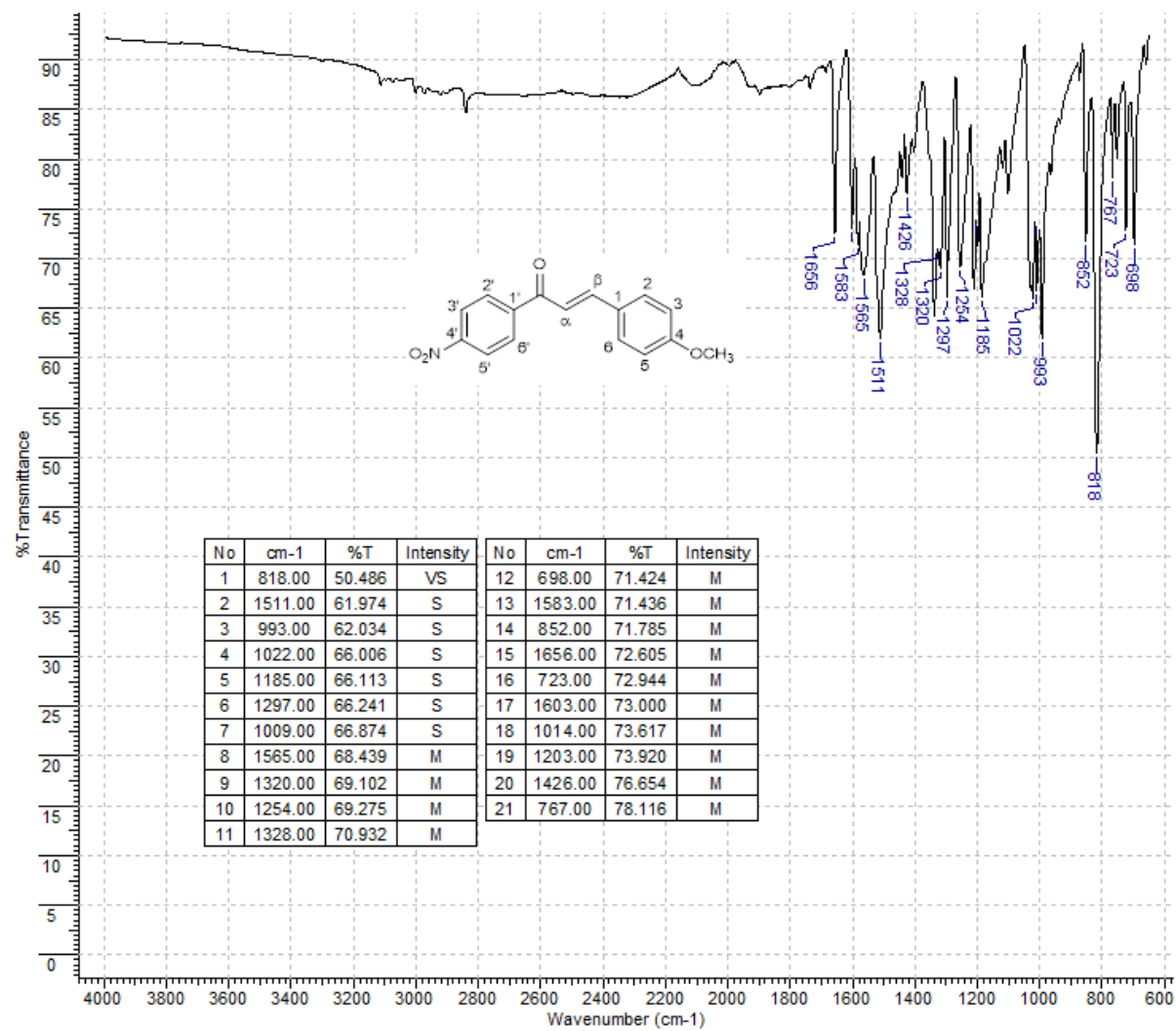


Figura 28A – Espectro de Infravermelho da chalcona 10.

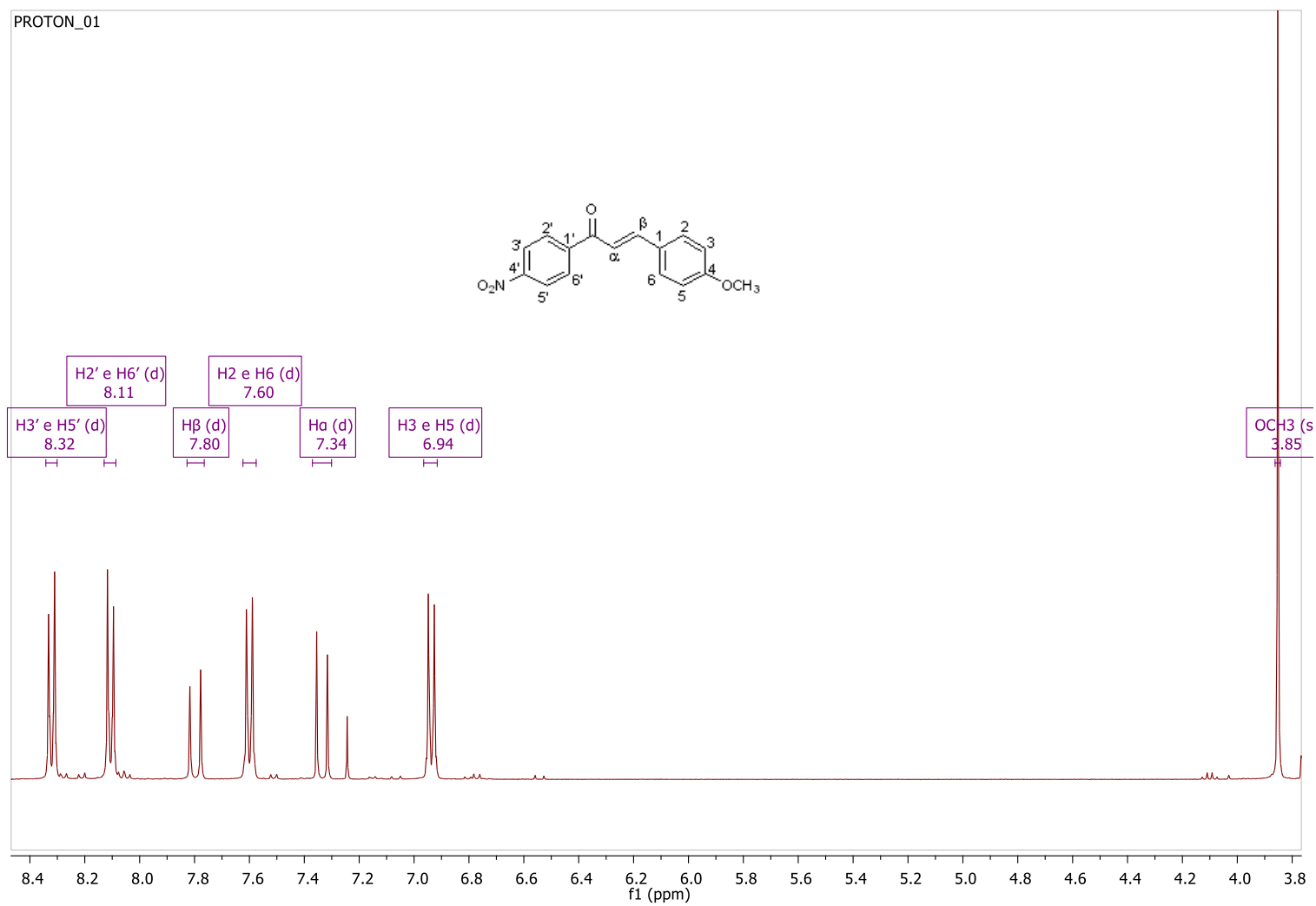


Figura 29A – Espectro de RMN de ^1H da chalcona 10.

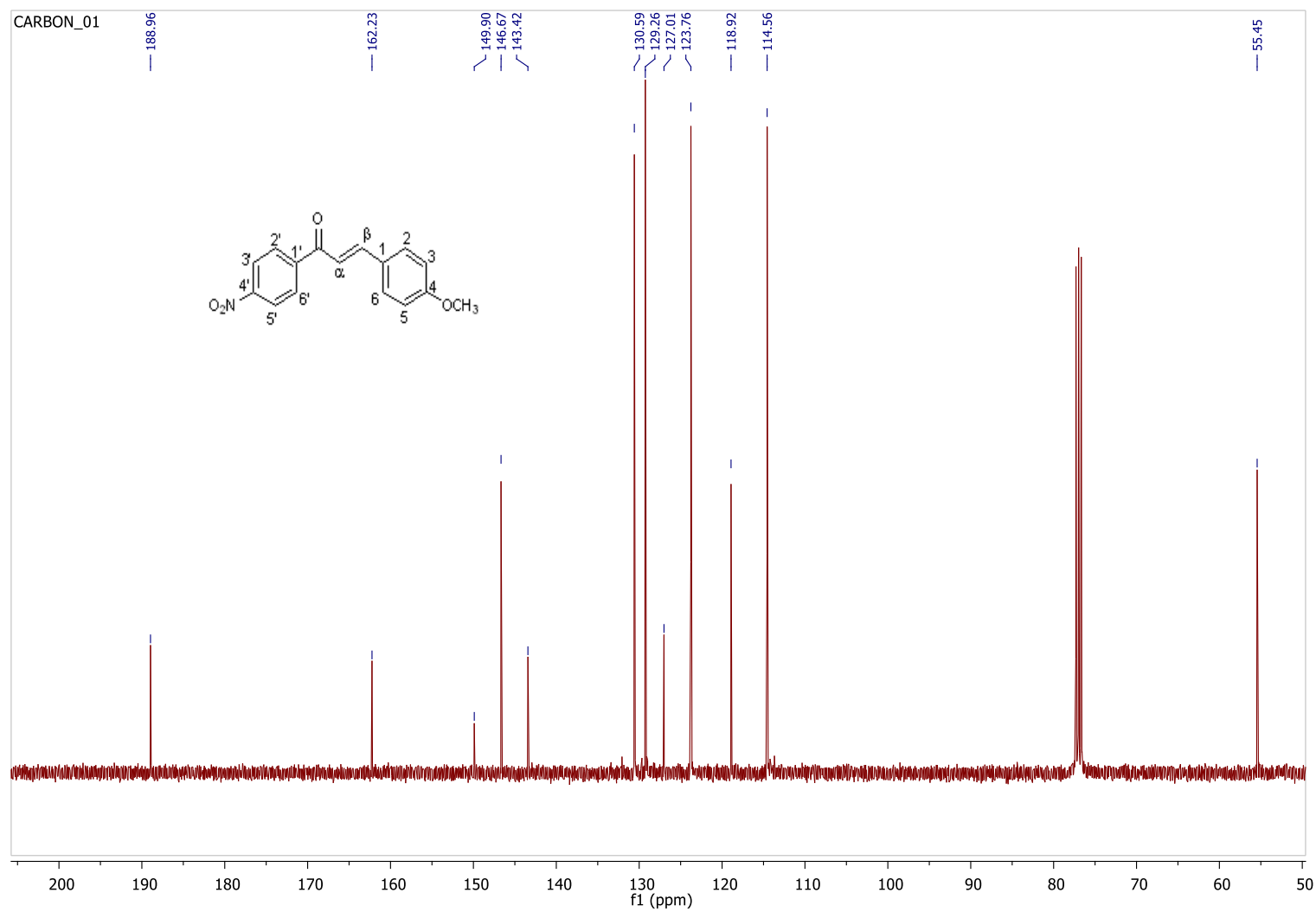


Figura 30A – Espectro de RMN de ¹³C da chalcona 10.

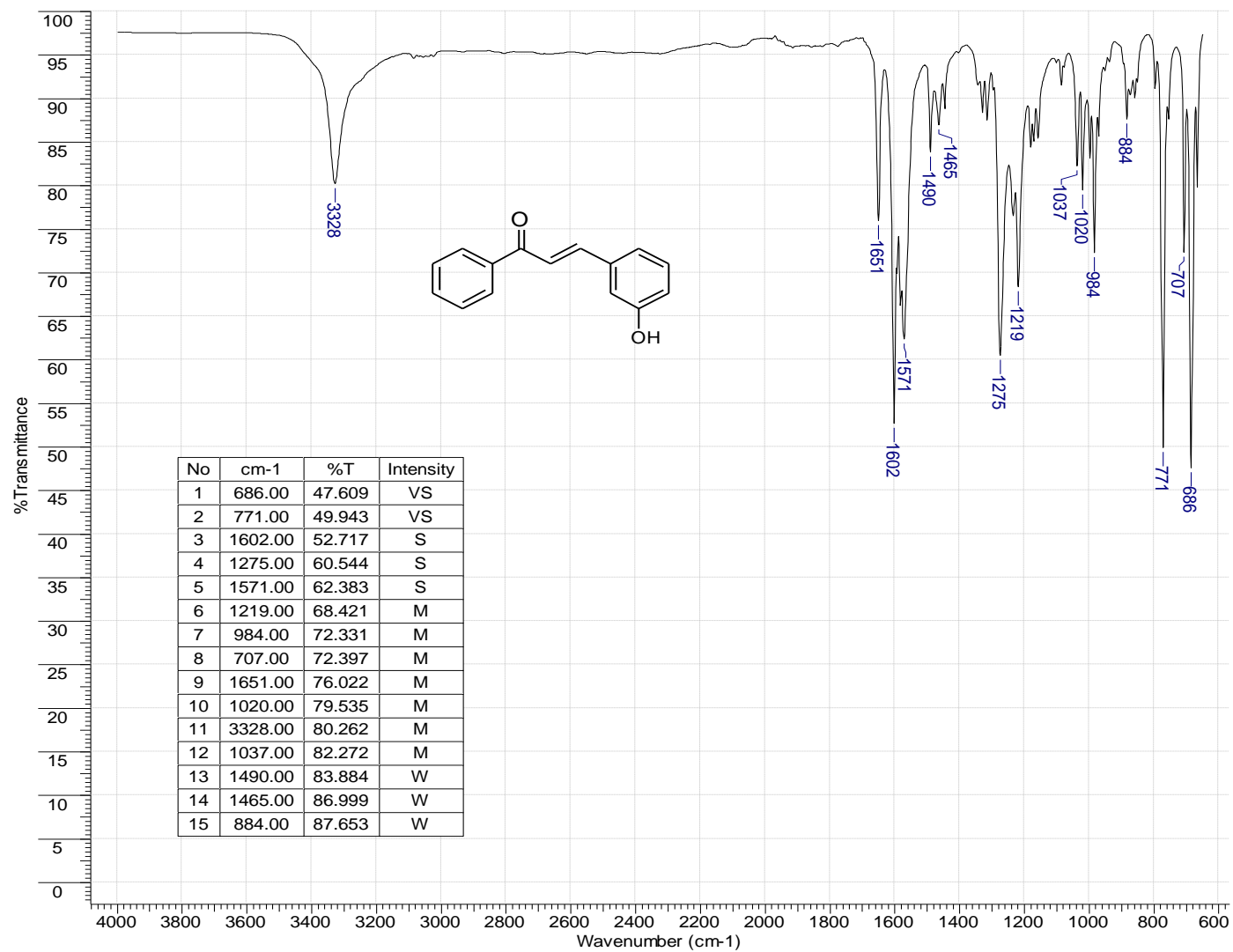


Figura 31A – Espectro de Infravermelho da chalcona 11.

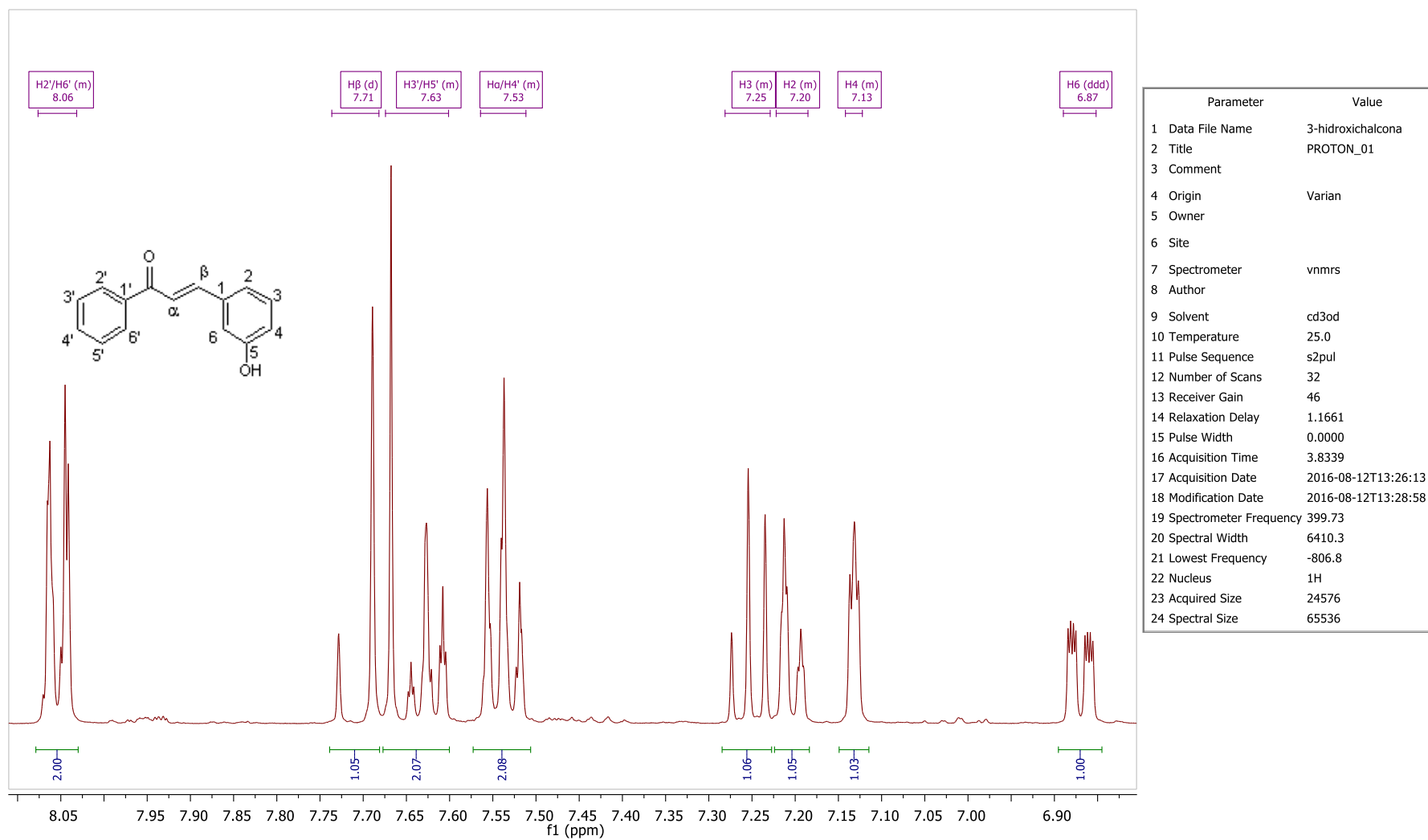


Figura 32A – Espectro de RMN de 1H da chalcona 11.

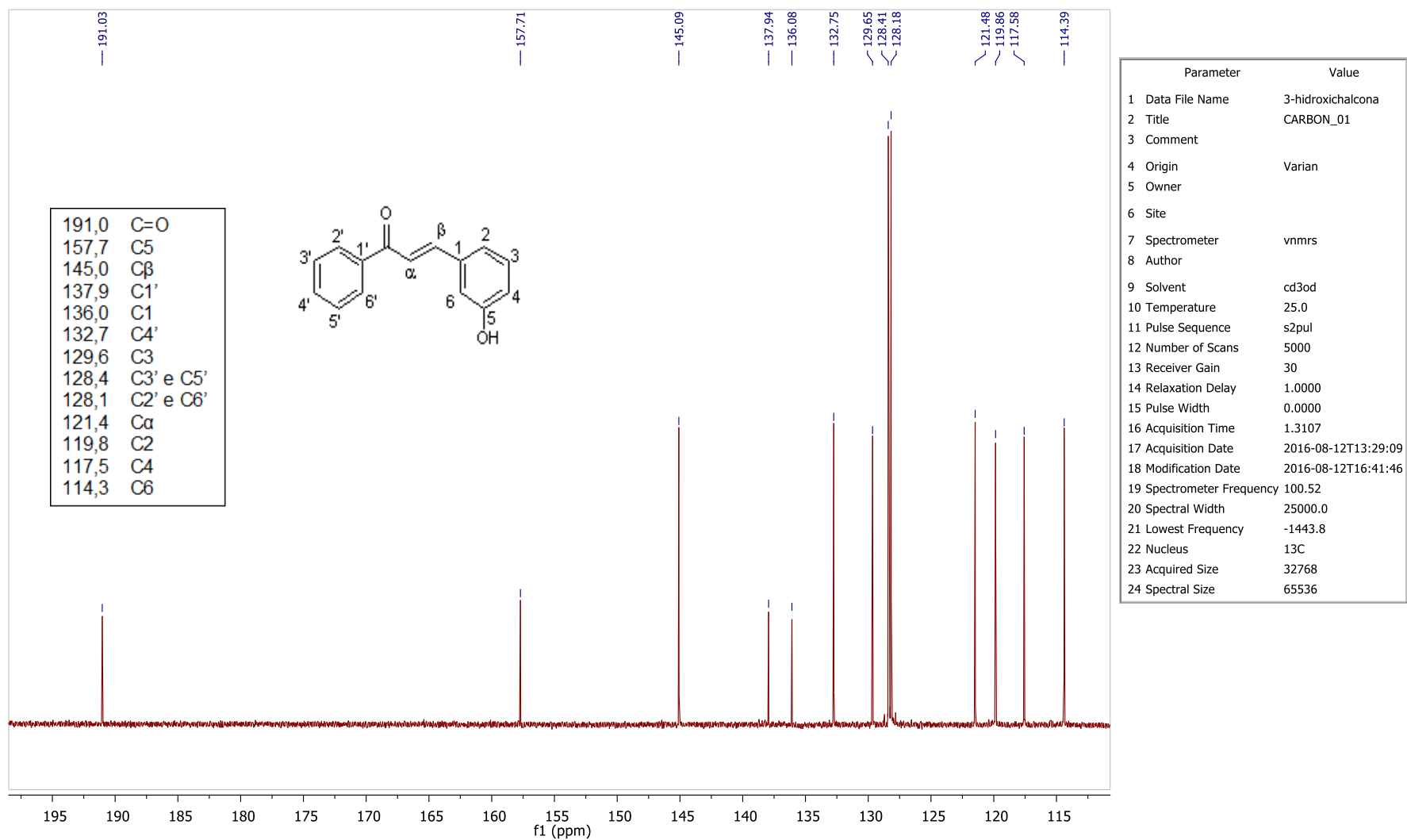


Figura 33A – Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 11.