



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE BAURU – FACULDADE DE CIÊNCIAS

ANIELE DE MOURA

**NOVOS DERIVADOS DE CURCUMINA E PEG OBTIDOS VIA
MÉTODO MECANOQUÍMICO: INVESTIGAÇÃO, ROTAS VERDES,
CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAIS APLICAÇÕES**

Bauru, 2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE BAURU – FACULDADE DE CIÊNCIAS

**NOVOS DERIVADOS DE CURCUMINA E PEG OBTIDOS VIA
MÉTODO MECANOQUÍMICO: INVESTIGAÇÃO, ROTAS
VERDES, CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAIS APLICAÇÕES**



POSMAT

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

ANIELE DE MOURA

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração: Química de Materiais, ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais – POSMAT, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Campus Bauru, sob orientação do Prof. Dr. Flávio Junior Caires.

Bauru, 2023

De Moura, Aniele

M929n Novos Derivados De Curcumina e PEG Obtidos Via
Método Mecanoquímico: Investigação, Rotas Verdes,
Caracterização e Potenciais Aplicações / Aniele de
Moura, Bauru, 2023.

Total de folhas: 188 f.

Orientador: Flávio Junior Caires;

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista,
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de
Materiais, Bauru, 2023.

1. Curcuminoides 2. Método mecanoquímico
3. PEGylation 4. espectroscopia 5. Análise
Térmica.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Bauru



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE ANIELE DE MOURA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 22 dias do mês de setembro do ano de 2023, às 08:00 horas, no(a) Anfiteatro da Pós-Graduação/ FC, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de ANIELE DE MOURA, intitulada **Novos Derivados De Curcumina E PEG Obtidos Via Método Mecanoquímico: Investigação, Rotas Verdes, Caracterização E Potenciais Aplicações**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. FLAVIO JUNIOR CAIRES (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Química / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Prof. Dr. JOSÉ AUGUSTO TEIXEIRA (Participação Presencial) do(a) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná - IFPR - Paranavaí, Prof. Dr. WILHAN DONIZETE GONÇALVES NUNES (Participação Presencial) do(a) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Ilha Solteira, Prof. Dr. FENELON MARTINHO LIMA PONTES (Participação Presencial) do(a) Departamento de Química / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Prof. Dr. AROLDO GERALDO MAGDALENA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Química / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. FLAVIO JUNIOR CAIRES

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família por todo suporte sempre, em especial aos meus pais Antônio e Josinete, que sempre me auxiliaram, independente das minhas escolhas. Agradeço também à minha irmã Annelise, que sempre esteve ao meu lado, sempre me apoiando.

Agradeço ao Ivan, pela parceria e companheirismo, sempre me incentivando a alcançar os meus objetivos.

Agradeço ao Prof. Dr. Flávio Junior Caires, pelo aceite de orientação do doutorado, e pelas oportunidades acadêmicas concedidas ao longo desses 4 anos, bem como ao longo do mestrado.

Agradeço pela amizade, conversas e discussões científicas ou não dos colegas de laboratório, do LATIG de Bauru Carol, Rafael, Raquel e Gabriel, e do Grupo LATQES Ana, Patrícia, Amanda, Laura e Guilherme. Um agradecimento em especial a Carol e Ana, que foram tão presentes e importantes ao longo dessa jornada.

Agradeço aos alunos do Laboratório LSOP de Bauru Lucas, Vitor e Laís, que sempre que preciso auxiliaram com as realizações de análises espectroscópicas. Agradeço também ao supervisor deste Grupo de Pesquisa, o Prof. Dr. Luiz Carlos da Silva Filho, que sempre foi parceiro do nosso grupo de pesquisas com discussões científicas, e análises.

Agradeço aos membros do departamento de Química que sempre deram suporte ao longo destes 4 anos de doutorado, em especial ao Vágner, Prof. Dr. Gilbert Bannach, Prof. Aroldo Geraldo Magdalena, Prof. Dr. Fenelon Martinho Lima Pontes, Prof. Dr. Daniel Rinaldo e Prof. Dr. Alexandre de Oliveira Legendre.

Agradeço o Prof. Dr. Daniel Rinaldo por dispor o equipamento de HPLC sempre que preciso, ao Prof. Dr. Fenelon Martinho pelos difratogramas de Raios X, e também ao Prof. Dr. Valdecir Ximenes, pelos espectros de absorção de emissão.

Agradeço ao técnico Nivaldo Boralle, do IQ de Araraquara, pelas aulas de RMN, e por todo o suporte sempre que foi preciso para fazer as análises de RMN. Agradeço também a todos os membros da POSMAT da seção de pós-graduação de Bauru, que sempre nos auxiliaram prontamente durante o período do doutorado.

Agradeço ao Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi e seus alunos Anderson e Guilherme pelos ensaios de citotoxicidade.

Aos antigos amigos, Lari, Dani, Gabi, ainda que em cidades distintas, obrigada por se fazerem presentes na minha vida.

Agradeço também aos órgãos de Fomento CAPES, CNPq, e FAPESP, pelo financiamento da minha bolsa, editais para conserto de equipamentos ou para providenciar/financiar materiais para o laboratório, viabilizando que a pesquisa pudesse de fato ser conduzida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – com nº de processos 88887.351690/2019-00 e 88887.817521/2023-00. Além disso, a missão de capacitação realizada na University of Limerick – Irlanda, foi realizada com apoio da CAPES, sob nº88887.685596/2022-00.

Por fim, agradeço a todos aqueles que passaram pelo meu caminho na UNESP, e que de alguma forma de ajudaram ou ensinaram algo. Meu crescimento pessoal e profissional é resultado dessas interações, e sou muita grata e orgulhosa dessa trajetória.

...Remember, research is a vehicle fuelled by your imagination.

Dr. Kevin A. Heyes – University of Limerick

RESUMO

As sínteses realizadas pelo método mecanoquímico têm se mostrado vantajosas, pois evitam o uso de grandes quantidades de solventes. Esse aspecto está de acordo com o Princípio 5 da Química Verde, que visa a redução do uso de solventes e reagentes tóxicos nas sínteses. Além disso, muitas sínteses realizadas em estado sólido por meio do método mecanoquímico ocorrem de forma mais rápida, pois não é necessário solubilizar os reagentes. Nesse contexto, esse trabalho fez uso do método mecanoquímico para obter uma série de derivados de curcumina e PEG. Este composto é muito estudado na comunidade científica em função das diversas propriedades biológicas que apresenta. Porém, a curcumina é pouco solúvel em água, o que resulta em baixa bioabsorção no organismo. Dessa forma, a síntese de derivados de curcumina é uma alternativa para potencializar suas propriedades biológicas, e aumentar sua estabilidade físico-química em solução. Esse trabalho reporta a síntese de uma base de Schiff derivada de curcumina-glicina, e seus complexos $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$. Como resultado observou-se que a solubilidade dos compostos de coordenação é ligeiramente maior do que a curcumina e seu derivado. Almejando aumentar a solubilidade desses compostos, foram realizadas sínteses do tipo *PEGylation*. Essa abordagem visa funcionar moléculas bioativas, a partir da incorporação de PEG em suas estruturas. Em função disso, foi realizada a síntese mecanoquímica da funcionalização de PEG a partir da reação com anidrido succínico, gerando um PEG-succínico. Essa substância foi útil para realizar as reações de esterificação dos complexos mencionados e do derivado de curcumina-glicina. Estes ésteres apresentaram maiores solubilidades em comparação com os demais compostos. Dessa forma, pode-se sugerir que esta estratégia foi útil no aumento da solubilidade desses derivados. Ressalta-se que nenhuma síntese descrita nesse trabalho ultrapassou uma hora. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por meio de técnicas espectroscópicas (Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia eletrônica na região do UV-VIS), técnicas termoanalíticas (Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial Simultâneas, e Calorimetria Exploratória Diferencial). As amostras também foram caracterizadas por Difractometria de Raios X pelo método do pó, o que permitiu inferir as transições de fase que tanto a curcumina, quanto o derivado de curcumina-glicina podem realizar a partir de moagem mecanoquímica ou por aquecimento. Por fim uma breve caracterização acerca da luminescência desses compostos foi realizada, mostrando que com exceção do PEG e PEG-succínico, todos os demais compostos sintetizados são luminescentes.

ABSTRACT

The syntheses carried out through the mechanochemical method have proven to be advantageous as they request amounts of solvents. This aspect is in agreement with Principle 5 of Green Chemistry, which aims to reduce the utilization of solvents and toxic reagents in chemical syntheses. Furthermore, many syntheses conducted in the solid state via the mechanochemical method occur more rapidly, as there is no need to solubilize the reagents. In this way, this study employed the mechanochemical method to obtain several curcumin and PEG derivatives. Curcumin is extensively studied in the scientific community due to its various biological properties. However, curcumin exhibits low solubility in water, resulting in limited bioabsorption within the organism. Therefore, the synthesis of curcumin derivatives serves as an alternative to enhance its biological properties and physicochemical stability in solution. This work reports the synthesis of a Schiff base derived from curcumin-glycine, as well as its complexes $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$, and $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$. The results demonstrated that the solubility of the coordination compounds is slightly higher than curcumin and its derivative solubility. To enhance the solubility of these compounds, PEGylation syntheses were performed. This approach aims to modify bioactive molecules by incorporating PEG into their structures. Consequently, mechanochemical synthesis of PEG functionalization was carried out through a reaction with succinic anhydride, resulting in PEG-succinic. This substance was beneficial in esterifying the mentioned complexes and the curcumin-glycine derivative. These esters exhibited greater solubility compared to other compounds. Thus, it can be suggested that this strategy was effective in increasing the solubility of these derivatives. It is worth report that none of the syntheses described in this study exceeded one hour. All the synthesized compounds were characterized using spectroscopic techniques, including Vibrational Spectroscopy in the Infrared Region, Nuclear Magnetic Resonance, and Electronic Spectroscopy in the UV-VIS region, as well as thermoanalytical techniques such as Simultaneous Thermogravimetry and Differential Thermal Analysis, and Differential Exploratory Calorimetry. The samples were also characterized through X-ray Powder Diffraction, allowing to study phase transitions of curcumin and curcumin-glycine derivative via mechanochemical synthesis or by heating. Lastly, a brief luminescence characterization of these compounds was performed, indicating that, with the exception of PEG and PEG-succinic, all the other synthesized compounds exhibit luminescent properties.

Lista de Siglas

AS: Anidrido succínico

BCS: Sistema de Classificação Biofarmacêutica (*Biopharmaceutics Classification System*)

BDMC: Bisdemetóxicurcumina

CCD: Cromatografia em camada delgada

$CDCl_3$: Clorofórmio deuterado

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CoL: Complexo de cobalto anidro

CuL: Complexo de cobre anidro

CUR: Curcumina

DCC: N,N'-Diciclohexilcarbodiimida

DCG: Derivado de curcumina-glicina

DCM: Diclorometano

DCU: N,N-Diciclohexilureia

DIES_DCG: Derivado de curcumina-glicina diesterificado

DMAP: 4-Dimetilaminopiridina

DMC: Demetóxicurcumina

DMSO: Dimetilsulfóxido

DRXP: Difractometria de raios X pelo pó

DSC: Calorimetria Exploratória Diferencial

DTA: Análise Térmica Diferencial

PEG: Polietilenoglicol

FDA: Food and Drug Administration

GLI: Glicina

L: Ligante derivado de curcumina-glicina, termo abreviado análogo à DCG, que foi utilizado nos compostos sintetizados no Capítulo 4.

LAG CUR: curcumina moída com alguns microlitros de solvente

LAG DCG: derivado de curcumina-glicina sintetizado com alguns microlitros solvente

LAG: Metodologia *Liquid-Assited-Grinding*, moagem com alguns microlitros de solvente

MIR: Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho médio

Mn: Massa molar média

MONO_DCG: Derivado de curcumina-glicina monoesterificado

MS: Espectrometria de massas

MTT: brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio

Na₂_DCG: Ligante derivado de curcumina e glicina sódico

NG CUR: Curcumina moída sem solvente

NG DCG: Derivado de curcumina-glicina sintetizado sem solvente

NG: Metodologia *Neat Grinding*, moagem sem solvente

P.A.: Para análise

PEG: Polietilenoglicol

PEG_AS: PEG funcionalizado com anidrido succínico

ppm: Partes por milhão

RMN: ¹³C: Ressonância magnética nuclear de carbono

RMN: ¹H: Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN: Ressonância magnética nuclear

TG: Termogravimetria

THF: Tetraidrofurano

TMD: Taxa máxima de degradação

TOA: Trioctilamina

TTMD: Temperatura associada à taxa máxima de degradação

UV-VIS: Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível

ZnL: Complexo de zinco anidro

LISTA DE SÍMBOLOS

*: exoterma

↑: evento exotérmico

↓: evento endotérmico

°C: graus Celsius

m/z : relação massa/ carga

mL: mililitro

Tp: temperatura de pico

ΔH : entalpia

Δm : variação de massa

δ : deslocamento químico

η : parâmetro eta

μL : microlitro

θ : intervalo de temperatura

ν : estiramento vibracional

: método mecanoquímico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Publicações que apresentam o termo “Mechanochemistry” no título ou no corpo do texto, de artigos indexados na base de dados Scifinder®, até maio de 2023	1
Figura 2. Comparações entre as sínteses em solução e em estado sólido para o derivado de curcumina sintetizado pelo grupo.....	3

CAPÍTULO 1

Figura 1.1. Fórmula estrutural da curcumina e seus potenciais farmacológicos.	7
Figura 1.2. Dados de junho de 2023, associados à estudos clínicos envolvendo a curcumina de acordo com o site clinicaltrials.gov (a). Publicação de artigos e depósito de patentes nos últimos 10 anos de acordo com a base de dados Scifinder® fazendo uso do termo “Curcumin” (b).....	8
Figura 1.3. Representação de distintas cadeias de PEG/ PEG funcionalizado que podem ser utilizadas nas reações PEGylation.....	9
Figura 1.4. Aparatos usados para realizar sínteses mecanoquímicas: almofariz e pistilo (a), Moinho vibracional de bolas (b), Moinho planetário de bolas (c), e os acessórios usados nos moinhos (d).....	11

CAPÍTULO 2

Figura 2. 1. Fórmula estrutural do PEG.....	20
Figura 2. 2. Sistema de classificação BCS.	22
Figura 2. 3. Exemplos de funcionalizações que podem ser feitas na molécula de PEG.	23
Figura 2. 4. Esquema de síntese do PEG_AS.....	25
Figura 2. 5. MIR PEG, PEG_AS e SA.	27
Figura 2. 6. Espectros de RMN ¹ H do PEG_AS em comparação com PEG e AS.	28
Figura 2. 7. Espectros de RMN ¹ H do sistema PEG_AS moído durante 15, 30, 45 e 60 minutos, sem purificação.....	29
Figura 2. 8. Curvas TG/DTG-DTA do PEG, PEG_AS e AS.	31
Figura 2. 9. Curvas DSC do PEG, PEG_AS e AS.....	33
Figura 2. 10. Difrátogramas de raios X do PEG, PEG_AS e AS.	34
Figura 2. 11. Curva DSC ciclo de aquecimento e resfriamento do PEG e PEG_AS.	35
Figura 2. 12. Valores das Temperaturas de pico de cada evento durante o aquecimento e	

cristalização do PEG e PEG_AS (a), e valores de entalpia de cada evento durante cada ciclo de aquecimento e resfriamento de PEG e PEG_AS (b).	37
Figura 2. 13. Imagens DSC fotovisual do PEG_AS.....	39

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Fórmula estrutural da CUR, DMC e BDMC.	45
Figura 3.2. Formas do aminoácido glicina em estado sólido e em solução.	46
Figura 3.3. Fórmulas estruturais das moléculas orgânicas sintetizadas pelo grupo, fazendo uso do método mecanoquímico.....	47
Figura 3.4. Esquema de síntese da curcumina (CUR), Glicina (GLi), e derivado de curcumina-glicina (DCG).	48
Figura 3.5. Espectro de massas no modo negativo do reagente curcumina proveniente da Merck (pureza $\geq 65\%$).	51
Figura 3.6. Composição dos reagentes curcumina de acordo com a procedência/pureza e seus respectivos produtos.	52
Figura 3.7. Espectros de RMN ^1H em CDCl_3 para a DCG moída em diferentes tempos reacionais (a), estrutura da DCG (b) e possíveis intermediários reacionais (c) e (d).	53
Figura 3.8. Espectros de RMN ^1H em CDCl_3 da DCG moída durante 30 minutos.....	54
Figura 3.9. Espectros de MIR da curcumina (CUR), DCG e Glicina (GLI).	55
Figura 3.10. Difratoograma de PXRD da glicina usada neste trabalho (dado experimental) em comparação com os difratogramas teóricas das formas β e γ da glicina.	56
Figura 3.11. Curvas TG/DTG-DTA da CUR, DCG e GLI.	57
Figura 3.12. Curvas DSC da CUR, DCG e GLI.....	59
Figura 3.13. Difratoogramas de raios X da CUR sem moer em comparação com as formas I e II (a) e (b). Curvas DSC ciclo da curcumina: 1º aquecimento e resfriamento- 25-179°C, 2º aquecimento: 25-200 °C (c). Imagens de DSC fotovisual da curcumina (d).	60
Figura 3.14. Imagens de DSC fotovisual da DCG.	62
Figura 3.15. Difratoogramas de PXRD da DCG sem aquecer e aquecida até 175 °C.	63
Figura 3.16. Escala associada ao parâmetro h para sínteses do tipo NG, LAG, LAMA e solução.	64
Figura 3.17. Espectros de MIR da NG DCG e LAG DCG ampliados nas regiões entre 3800-2900 cm^{-1} (a) e 1750-450 cm^{-1} (b).....	65

Figura 3.18. Difrátogramas da NG DCG e LAG DCG (a) e NG DCG, LAG DCG e NG DCG aquecido (b).	66
Figura 3.19. Jarros ao final das sínteses com as amostras NG DCG (Forma I) e LAG DCG (Forma II) (a), esquema de como cada forma pode ser obtida (b).	67
Figura 3.20. Difrátogramas PXRD da DCG moída com diferentes quantidades de etanol/reagentes (η).	68
Figura 3.21. Difrátogramas de raios X da curcumina sem moer em comparação com os difratogramas da NG CUR e LAG CUR (a). Difrátogramas da NG CUR em comparação com os difratogramas das Formas I e II da curcumina (b). Difrátogramas da LAG CUR em comparação com a Forma I da curcumina (c). Disposição das moléculas de curcumina no retículo cristalino (d).	70
Figura 3.22. Organização das moléculas de curcumina na Forma I (monocristalina).	71
Figura 3.23. Organização das moléculas de curcumina na Forma II (ortorrômbica)	73
Figura 3.24: Difrátogramas de raios X pelo método do pó da CUR sem moer, NG CUR e LAG CUR moídas durante 10, 20 e 30 minutos.	74
Figura 3.25. Estrutura da DCG como espécie A^4 (a), Curva de potenciometria para titulação ácido-base de retorno (b), variação de cor de DCG em função da alteração de pH (c); colorimetria de DCG em função da alteração de pH na presença de azul de bromotimol (d). 75	

CAPÍTULO 4

Figura 4.1. Etapas 1 e 2 de síntese e purificação (dispersão das amostras em tolueno).	85
Figura 4.2. Curvas TG/DTG-DTA dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c).	86
Figura 4.3. Curvas DSC e imagens de DSC fotovisual do complexo de cobalto (a) e (d), cobre (b) e (e), e zinco (c) e (f).	88
Figura 4.4. Espectros de massas dos complexos de Cobalto (a), cobre (b) e zinco (c).	90
Figura 4.5. Espectros de RMN 1H de DCG e ZnL (complexo anidro) em $CDCl_3$	91
Figura 4.6. Alguns dos possíveis modos de coordenação envolvendo o grupo carboxilato: Monodentado (Estrutura I), Bidentado quelante (Estrutura II) e em Ponte (Estrutura III).	92
Figura 4.7. Espectros MIR do ligante DCG(a), Na_2L (b) e dos complexos de Co(II) (c), Cu(II) (d) e Zn(II) (e).	94
Figura 4.8. Expansão dos espectros MIR dos complexos $[CoL(OH_2)_2]H_2O$ (a), CoL (b), $[CuL(OH_2)]H_2O$ (c), CuL (d) $[ZnL(OH_2)]H_2O$ (e), ZnL (f). Seguido das propostas de fórmula estrutural dos modos de coordenação para cada complexo (g,h) e dos complexos anidros (i). 95	
Figura 4.9. Espectros de absorção (A) e emissão (B) dos complexos hidratados de cobalto (a),	

cobre (b), e zinco (d), e de DCG (d).....	96
---	----

CAPÍTULO 5

Figura 5.1. Esquema de síntese mecanoquímica para MONO_DCG e DIES_DCG.	107
Figura 5.2. Tentativas de síntese para MONO_DCG.	108
Figura 5.3. Espectros MIR para DCG, PEG_AS, MONO_DCG e DIES_DCG.	109
Figura 5.4. Espectro RMN ^1H na região com deslocamento químico entre 4,50-1,50 ppm. .	110
Figura 5.5. Espectro RMN ^1H na região com deslocamento químico entre 8,00-5,50 ppm. .	111
Figura 5.6. Sugestão de mecanismo de síntese para MONO_DCG e DIES_DCG.	112
Figura 5.7. Curvas TG/DTG-DTA de MONO_DCG (a) e DIES_DCG (b).	113
Figura 5.8. Curvas DSC de MONO_DCG e DIES_DCG.	115
Figura 5.9. Imagens de DSC fotovisual de MONO_DCG e DIES_DCG.	116
Figura 5.10. Curvas DSC ciclo realizadas entre -30 a 70 °C durante os ciclos de aquecimento e resfriamento do MONO_DCG.	117
Figura 5.11. Espectros de absorção na região do UV-VIS (a), espectros de emissão excitados em 450 nm (b), e as soluções de PEG, PEG_AS, CUR, DCG, MONO_DCG e DIES_DCG, respectivamente em luz ambiente (c), e sob luz azul (d).	119
Figura 5.12. Ensaio de viabilidade celular por MTT realizados durante 24 e 48h.	121
Figura 5.13. Espectros de RMN ^1H da DCG (a), e dos complexos esterificados de Co(II)(b), Cu(II)(c) e Zn(II)(d), e as estruturas de DCG e dos complexos esterificados.	122
Figura 5.14. Espectros MIR dos complexos esterificados de Co(II)(a), Cu(II)(b) e Zn(II)(c) em comparação com seus respectivos precursores de síntese. Representação das estruturas dos precursores de síntese e produtos (d).	123
Figura 5.15. Curvas TG/DTG-DTA dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c) esterificados.	125
Figura 5.16. Curvas DSC e imagens de DSC fotovisual, dos complexos de cobalto (a, c), cobre (b, d) e zinco (c, e) esterificados, respectivamente.	127
Figura 5.17. Curvas DSC ciclo dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c) esterificados, realizados no intervalo de temperatura entre -30-70 °C. Curvas de DSC ciclo do PEG_AS (d).	128
Figura 5.18. Espectros de absorção (A) e emissão com excitação em 420 nm (B) de CoL (a), CuL (b), ZnL (c) em comparação com os espectros dos complexos de cobalto (d), cobre (e), e zinco esterificados (d), bem como suas respectivas soluções na ausência de luz UV (C), e sob	

incidência de luz azul (D).....	130
Figura 5.19. Ensaio de solubilidade para CUR e seus derivados orgânicos e inorgânicos nos tempos de 4h (primeira barra para cada composto) e 72h (segunda barra para cada composto).	131
Figura 5.20. Efeito bola de neve observado para as amostras DIES_DCG e para o complexo de zinco esterificado.....	133

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1. Condições experimentais: método de síntese, tempo, temperatura, catalisador, solvente e rendimento obtidos neste trabalho em comparação com trabalhos publicados na literatura.....	30
Tabela 2.2. Dados de Temperatura de pico (T_p / °C), e entalpia (ΔH / Jg ⁻¹) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento do PEG e PEG_AS.	36

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1. Intervalos de temperatura associados a cada etapa de perda de massa (θ), variações de massa (Δm), e temperaturas de pico (T_p).....	58
Tabela 3.2. Valores de absorção no MIR para NG DCG e LAG DCG, e suas respectivas atribuições.....	66

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1. Testes de síntese para obtenção do complexo de cobre.	84
Tabela 4.2. Taxa Máxima de Degradação (TMD), e suas respectivas Temperaturas máximas de degradação (TTMD) associadas à degradação dos complexos.	88
Tabela 4.3. Atribuições de estiramento vibracionais de COO ⁻ e C=N para DCG, DCG sódico e seus complexos.....	95

CAPÍTULO 5

Tabela 5.1. Intervalos de temperatura (θ °C), perdas de massa (Δm) e temperatura do pico (TP) observados em cada etapa nas curvas TG/DTG-DTA.....	114
Tabela 5.2. Dados de Temperatura de pico (T_p / °C), e entalpia (ΔH / Jg ⁻¹) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento de MONO_DCG.	118
Tabela 5.3. Dados de Temperatura de pico (T_p / °C), e entalpia (ΔH / Jg ⁻¹) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento dos complexos esterificados, em comparação com PEG_AS.	129

APÊNDICE

FIGURAS

Figura A3.1. Cromatograma de DCG.....	140
Figura A3.2. Imagens resultantes do teste qualitativo realizado no equipamento de ponto de fusão. Imagens em 25 °C (a), 240 °C (b) e 260 °C(c).	140
Figura A3.3. Difrátogramas da glicina, glicina aquecida até 212°C e da γ -glicina.....	141
Figura A3.4. Imagens DSC fotovisual da GLI.	142
Figura A3.5. Espectros de RMN ¹ H de NG DCG e LAG DCG.	142
Figura A4. 1. Difrátogramas dos óxidos obtidos ao final das curvas TG-DTA.	143
Figura A4. 2. Difrátogramas dos compostos de coordenação antes (A) e após o aquecimento (B).	144
Figura A4. 3. Espectros MIR do complexo de cobalto hidratado e anidro.....	145
Figura A4. 4. Espectros MIR do complexo de cobre hidratado e anidro.	146
Figura A4. 5. Espectros MIR do complexo de zinco hidratado e anidro.....	147
Figura A5. 1. Expansão dos espectros de RMN ¹ H de MONO_DCG e DIES_DCG.....	148
Figura A5. 2. Espectros de RMN ¹ H de MONO_DCG e DIES_DCG completos.....	148
Figura A5. 3. Curvas TG/DTG-DTA do complexo de zinco esterificado (a), mistura física de zinco(b), e do PEG_AS	150
Figura A5. 4. Difrátograma da amostra MONO_DCG.	149
Figura A5. 5. Difrátograma da amostra DIES_DCG.....	149
Figura A5. 6. Difrátogramas dos complexos esterificados de Co(II) (a), Cu(II) (b) e Zn(II) (c).	152

Figura A5.7. Espectros MIR da CUR antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.	153
Figura A5.8. Espectros MIR da DCG antes do ensaio de solubilidade (a) e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h(b) e 72h.)	154
Figura A5.9. Espectros MIR de MONO_DCG antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.	155
Figura A5.10. Espectros MIR de DIES_DCG antes do ensaio de solubilidade (a) e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h(b) e 72h.)	156
Figura A5.11. Espectros MIR do $[\text{Co}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.	157
Figura A5.12. Espectros MIR do $[\text{Cu}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.	158
Figura A5.13. Espectros MIR do $[\text{Zn}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.	159
Figura A5.14. Espectros MIR do complexo de cobalto esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.....	160
Figura A5.15. Espectros MIR do complexo de cobre esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.....	161
Figura A5.16. Espectros MIR do complexo de zinco esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.....	162

TABELAS

Tabela A2. 1. Dados de Temperatura de pico (T_p), entalpia (ΔH) do PEG, obtidos a partir das curvas DCS nos ciclos de resfriamentos e aquecimento, realizados em triplicata.	138
Tabela A2. 2. Dados de Temperatura de pico (T_p), entalpia (ΔH) do PEG_AS, obtidos a partir das curvas DCS nos ciclos de resfriamentos e aquecimento, realizados em triplicata.....	139
Tabela A5. 1. Resultados dos valores médios de solubilidade mg/mL e desvio padrão.....	163

Sumário

PRODUÇÃO CIENTÍFICA– ARTIGOS	XXIII
MOTIVAÇÃO, E ESTRUTURA DA TESE	1
Referências	5
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS.....	7
1.1 A curcumina e seus derivados.....	7
1.2 Incorporação do PEG em moléculas bioativas – PEGylation.	9
1.3 O método mecanoquímico.....	10
1.4 A mecanoquímica e a Química Verde.....	13
1.5 Objetivos da tese.....	15
1.6 Referências	15
CAPÍTULO 2- SÍNTESE MECANOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DO PEG-SUCCÍNICO.....	20
2.1 Introdução.....	20
2.2 Materiais e Métodos	24
2.2.1 Materiais	24
2.2.2 Síntese mecanoquímica do PEG- succínico (PEG_AS).....	24
2.2.3 Caracterização	25
2.3 Resultados e Discussões	26
2.3.1 Caracterização espectroscópica e estudo de condição de síntese.	26
2.3.2 Caracterização termoanalítica.....	31
2.3.3 Titulação ácido-base para determinação de grupos ácido carboxílico livres.....	39
2.4. Conclusões.....	40
2.5 Referências	41
CAPÍTULO 3- SÍNTESE MECANOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE UMA BASE DE SCHIFF CURCUMÍNICA	45
3.1 Introdução.....	45
3.2 Materiais e Métodos	48

3.2.1 Materiais	48
3.2.2 Síntese mecanoquímica do derivado de curcumina-glicina (DCG).	48
3.2.3 Sínteses Neat Grinding (NG) e Liquid-Assisted-Grinding (LAG) para avaliação de direcionamento do polimorfismo de DCG e CUR em sínteses realizadas em estado-sólido.	49
3.2.4 Equipamentos	50
3.4.1.1 Espectrometria de Massas (MS)	50
3.2.4.2 Titulação de retorno	50
3.2.4.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	50
3.2.4.4 Testes qualitativos realizados no aparelho digital de ponto de fusão	51
3.3 Resultados e Discussões	51
3.3.1 A pureza do reagente curcumina pode afetar nos produtos de síntese?	51
3.3.2 Estudos de condição de síntese e caracterização espectroscópica.	53
3.3.3 Caracterização termoanalítica.	56
3.3.4 Fatores que influenciam na síntese mecanoquímica de DCG.	63
3.3.4.2 Efeito da quantidade de solvente na moagem de LAG DCG.	67
3.3.4.2 A influência do método mecanoquímico no polimorfismo da curcumina, e consequentemente na síntese de DCG.	69
3.3.6 Uso da DCG como indicador em titulações ácido-base.	75
3.4 Conclusões.	76
3.5 Referências	77
CAPÍTULO 4 – SÍNTESE MECANOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Co(II), Cu(II) E Zn(II) COM O DERIVADO DE CURCUMINA-GLICINA.	82
4.1 Introdução	82
4.2 Materiais e Métodos	83
4.2.2 Otimizações de síntese dos compostos de coordenação.	83
4.2.3 Síntese dos compostos de coordenação com o sal acetato dos metais de Co(II), Cu(II) e Zn(II).	84

4.2.4. Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-VIS) e Espectroscopia de Fluorescência.....	85
4.3 Resultados e Discussões	86
4.3.1 Caracterização termoanalítica.....	86
4.3.2 Caracterização espectroscópica.	90
4.3.3 Propriedades fotofísicas.....	96
4.4 Conclusões.....	97
4.5 Referências	98
CAPÍTULO 5 – USO DO MÉTODO MECANOQUÍMICO PARA A REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO DE DCG E DOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO A PARTIR DA REAÇÃO COM PEG-SUCCÍNICO.	102
5.1 Introdução.....	102
5.2 Materiais e métodos.....	103
5.2.1 Materiais	103
5.2.2 Síntese Mecanoquímica.....	103
5.2.2.1 Síntese dos ésteres derivados de DCG.	103
5.2.2.1.1 Síntese Mecanoquímica de MONO_DCG.	103
5.2.2.1.2 Síntese Mecanoquímica de DIES_DCG.....	104
5.2.2.2 Síntese dos ésteres derivados dos compostos de coordenação.	104
5.2.3 Equipamentos	104
5.2.3.1 Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-VIS) e Espectroscopia de Fluorescência.....	105
5.2.4 Ensaios de solubilidade por gravimetria.....	105
5.2.5 Estudo de viabilidade celular por ensaio MTT.	106
5.3 Resultados e Discussões	106
5.3.1 Resultados e Discussões – Ésteres derivados do derivado de Curcumina e Glicina (DCG).	106
5.3.1.1 Estudos de condição de síntese e caracterização espectroscópica dos ésteres	

MONO_DCG e DIES_DCG.	106
5.3.1.2 Caracterização termoanalítica.....	113
5.3.1.3 Caracterização fotofísica de MONO_DCG e DIES_DCG em comparação com seus precursores de síntese.	118
5.3.1.4 Ensaio de viabilidade celular por MTT.	120
5.3.2 Resultados e Discussões – Esterificação dos compostos de coordenação.....	121
5.3.2.1 Caracterização espectroscópica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.	121
5.3.2.2 Caracterização termoanalítica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.	124
5.3.2.3 Caracterização fotofísica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.	129
5.3.2.4 Ensaios de solubilidade por gravimetria.....	130
5.3.2.4 – Efeito bola de neve na síntese de DIES-DCG, e dos complexos de cobre e zinco esterificados.	132
5.4 Conclusões.....	133
5.5 Referências	134
APÊNDICE	138

PRODUÇÃO CIENTÍFICA– ARTIGOS

Artigos publicados durante o Doutorado

Abaixo estão descritos todos os artigos publicados no período do doutorado, sendo estes vinculados ou não (parcerias) a este trabalho.

1. FERREIRA, LAURA TEÓFILO; MANNOCHIO-RUSSO, HELENA; ISQUIBOLA, GUILHERME; FERNANDES, RICHARD PEROSA; **DE MOURA, ANIELE**; DA SILVA BOLZANI, VANDERLAN; CAIRES, FLÁVIO JUNIOR.
Thermal and degradation study of candesartan under pyrolysis and oxidizing conditions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. p. 106058, 2023.
2. GAGLIERI, CAROLINE ; ALARCON, RAFAEL ; **DE MOURA, ANIELE** ; MAGRI, RAQUEL ; RINALDO, DANIEL ; BANNACH, GILBERT
Effect of Isomerization and Copolymerization of Itaconic Anhydride During the Synthesis of Renewable Monomers Using Vegetable Oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*., v.34, p.600-613, 2023.
3. **MOURA, A.** ; GAGLIERI, CAROLINE ; TERCIOTTI, L. O. ; RINALDO, D.; CAIRES, F. J.
Mechanochemical method: a powerful tool to obtain poly (ethylene glycol) functionalized structures and curcumin analogues. *New Journal of Chemistry*. v.47, p. 9392-9400, 2023.
4. **DE MOURA, ANIELE**; BENEDITO JUNIOR, J.; CARVALHO, A. C. S.; CAIRES, F. J.
Green synthesis of a Schiff base ligand and its Co(II), Cu(II) and Zn(II) complexes: Thermoanalytical and Spectroscopic studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*., v.147, p. 11093–11106, 2022.
5. GAGLIERI, CAROLINE ; **DE MOURA, ANIELE** ; ALARCON, RAFAEL T. ; MAGRI, RAQUEL ; BANNACH, GILBERT
Thermal behavior of some cyclic anhydrides: an important characterization for synthesis in the polymer field. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*., v.147, p. 9095–9106 online -, 2022.
6. GAGLIERI, CAROLINE; ALARCON, RAFAEL T.; **DE MOURA, ANIELE**; BANNACH, GILBERT
Vegetable oils as monomeric and polymeric materials: A graphical review. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*., v.5, p.100343 -10345, 2022.
7. **MOURA, ANIELE**; GAGLIERI, CAROLINE; ALARCON, RAFAEL TURRA; FERREIRA, LAURA TEÓFILO; VECCHI, RAFAEL; SANCHES, MARIANA LIESSA ROVIS; OLIVEIRA, RODRIGO CARDOSO; VENTURINI, JAMES; SILVA FILHO, LUIZ CARLOS; JUNIOR CAIRES, FLÁVIO
A New Curcuminoids-Coumarin Derivative: Mechanochemical Synthesis, Characterization and Evaluation of Its In Vitro Cytotoxicity and Antimicrobial Properties. *Chemistry Select*., v.6, p.11352 - 11361, 2021.

8. GAGLIERI, CAROLINE; ALARCON, RAFAEL; **DE MOURA, ANIELE**; MAGRI, RAQUEL; DA SILVA-FILHO, LUIZ; BANNACH, GILBERT
Green and Efficient Modification of Grape Seed Oil to Synthesize Renewable Monomers. *Journal of the Brazilian Chemical Society.*, v.11, p. 2120-2131, 2021.
9. FERREIRA, PATRÍCIA OSÓRIO; **DE MOURA, ANIELE**; DE ALMEIDA, AMANDA COSMO; DOS SANTOS, ÉVERTON CARVALHO; KOGAWA, ANA CAROLINA; CAIRES, FLÁVIO JUNIOR
Mechanochemical synthesis, thermoanalytical study and characterization of new multicomponent solid forms of norfloxacin with saccharin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.*, v.147 p. 1985–1997, 2022.
10. DE GODOI MACHADO, RAFAEL; GAGLIERI, CAROLINE; ALARCON, RAFAEL TURRA; **DE MOURA, ANIELE**; DE ALMEIDA, AMANDA COSMO; CAIRES, FLÁVIO; IONASHIRO, MASSAO
Cobalt selenate pentahydrate: Thermal decomposition intermediates and their properties dependence on temperature changes. *Thermochimica Acta.*, v.689, p.178615 -178622, 2020.
11. **MOURA, A.**; GAGLIERI, C.; SILVA FILHO, Luiz Carlos da; CAIRES, F. J.
Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.*, v.689, p. 178615, 2020.
12. GAGLIERI, CAROLINE; ALARCON, RAFAEL T.; **DE MOURA, ANIELE**; CAIRES, FLÁVIO J.
Nickel selenate: a deep and efficient characterization. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* v.139, p. 1707–1715- , 2019.

Artigos Publicados durante o Mestrado:

1. GAGLIERI, C.; ALARCON, R. T.; **MOURA, A.**; MENDES, R. A.; CAIRES, F. J.
Is Thermogravimetry an efficient alternative to gas chromatography in degree of biodiesel conversion? *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* v.135, p. 2591–2597, 2018.
2. NUNES, WILHAN DONIZETE GONÇALVES; DO NASCIMENTO, ANDRÉ LUIZ CARNEIRO SOARES; **MOURA, ANIELE**; GAGLIERI, CAROLINE; VALLIM, GABRIEL BRUNELLI; NASCIMENTO, LUIZ CARLOS; MENDES, RONI ANTÔNIO; IONASHIRO, MASSAO; CAIRES, FLÁVIO JUNIOR
Thermal, spectroscopic and antimicrobial activity characterization of some norfloxacin complexes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* v.133, p. 1673, 2018.
3. **MOURA, A.**; GAGLIERI, C.; ALARCON, R. T.; FERREIRA, P. O.; MAGDALENA, A. G.; BANNACH, G.
Non-isothermal kinetic study of andiroba and babassu oils. *Brazilian Journal of Thermal Analysis.*, v.6, p.1-6, 2017.

MOTIVAÇÃO, E ESTRUTURA DA TESE

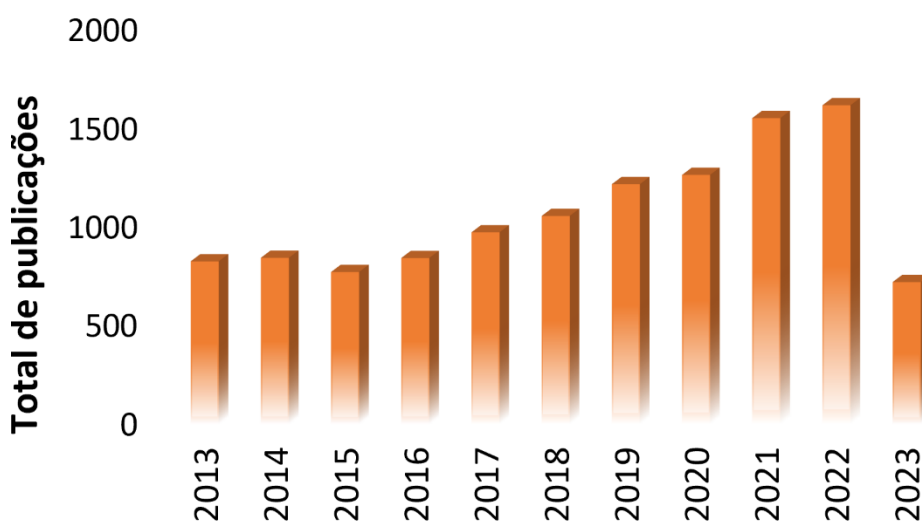
A maior parte das sínteses químicas são conduzidas em solução, que, embora bem conhecidas e viáveis tanto em escala laboratorial quanto industrial, apresentam algumas desvantagens, tais como: diferença de solubilidade entre os reagentes de partida, o que dificulta a escolha do solvente, necessidade de tratar o solvente descartado após a síntese, dentre outros.

Nesse sentido, a mecanoquímica é uma abordagem viável para a realização de reações químicas para a obtenção de uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, nas quais as reações não são conduzidas em solução.^{1,2}

Nessa metodologia, a reação é realizada a partir da moagem dos reagentes. As sínteses são conduzidas no estado físico original do reagente de partida, e quando o uso de solventes é necessário, eles são utilizados em pequenas quantidades insuficientes para solubilizar os reagentes (normalmente microlitros).^{1-4,6} Por esse motivo, a maioria dos trabalhos não considera essas substâncias como solventes, utilizando-se ao invés disso, o termo "líquido".^{1-4,6}

A Figura 1 apresenta o total de publicações que apresentam o termo "*Mechanochemistry*" no título ou no corpo do texto de artigos indexados na base de dados Scifinder® nos últimos dez anos.⁵ O crescente número de publicações acerca desse assunto demonstra o interesse acentuado sobre o mesmo.

Figura 1. Publicações que apresentam o termo "*Mechanochemistry*" no título ou no corpo do texto, de artigos indexados na base de dados Scifinder, até maio de 2023.



Fonte: Da autora.

O uso de solventes é crucial no cotidiano, principalmente em laboratórios químicos. Assim como reagentes químicos, seu uso, armazenamento e descarte deve ser realizado de forma adequada para evitar problemas prejudiciais à saúde e ao meio ambiente.^{2,6} Esse processo

tende a gerar um custo financeiro para os laboratórios, bem como aumentar o risco ao ambiente devido a necessidade de armazenamento temporário.^{2,6} Nesse sentido, a utilização do método mecanoquímico oferece alternativas viáveis a estes problemas.

Além disso, a redução no uso de solventes em reações executadas pelo método mecanoquímico comumente resultam também em processos com maiores valores de conversão e rendimento do que as sínteses realizadas em solução.^{2,6} Tal fato pode ser associado a não existência da competição dos choques entre moléculas reagentes e dentre estas com as moléculas do solvente; logo, a eficiência sintética tende a ser maior.^{2,6}

Um exemplo para esses casos são os fulerenos, que não são solúveis na maioria dos solventes orgânicos, o que torna difícil encontrar um solvente comum para todos os reagentes de partida nas sínteses desses compostos.^{7,8} No entanto, reações mecanoquímicas envolvendo a obtenção e funcionalização de fulerenos, são descritas na literatura, nas quais as sínteses tendem a ser mais rápidas e mais facilmente conduzidas, uma vez que não há necessidade de solubilizar os reagentes.^{7,8 1,2}

Este grupo de pesquisa frequentemente utiliza o método mecanoquímico para obter novas formas sólidas, como cocristais, eutéticos, misturas físicas e co-amorfos.^{9,10} Essas formas sólidas são o resultado de diferentes interações intermoleculares em sistemas multicomponentes.^{11,12} Uma vez que se trata de um processo físico, em que nenhuma nova substância química é formada, o resultado das moagens para este fim gera novas formas no estado sólido, as quais são amplamente visadas no ramo da engenharia de cristais.¹¹⁻¹³

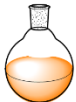
Além disso, o grupo também trabalha com a obtenção de novos compostos a partir de reações químicas, e desde 2017, a curcumina tem sido objeto de estudo neste laboratório. Isso se deve as diversas propriedades biológicas e fotofísicas que essa molécula apresenta.^{14,15} Os primeiros trabalhos envolvendo este composto visavam a obtenção de derivados de curcumina via reações multicomponentes.

Dentre as sucessivas tentativas de obter derivados curcumínicos por meio destas reações, foram encontrados diversos obstáculos quando as sínteses realizadas em solução. Por exemplo, geralmente, era necessário que a reação procedesse por mais de 48 horas para que algum produto fosse obtido.

Além disso, era obtido uma mistura de produtos reacionais, as quais eram resultado de reações paralelas que ocorriam no meio reacional. Como resultado, após a purificação, era obtido um produto com baixo rendimento reacional (< 20%) e o processo sintético com baixa seletividade.

Na tentativa de contornar esses problemas, e tendo em vista a experiência do grupo com o uso do método mecanoquímico, inicialmente realizou-se um teste de síntese para conduzir essa reação no estado sólido. Posteriormente, as condições de síntese foram otimizadas até a obtenção do produto desejado. A Figura 2 sumariza os principais avanços em relação à mesma síntese realizada em solução.

Figura 2. Comparações entre as sínteses em solução e em estado sólido para o derivado de curcumina sintetizado pelo grupo.

 <u>Síntese em solução</u>	 <u>Síntese em estado sólido</u>
✗ Mais de 48h de síntese;	✓ 1h de síntese;
✗ Rendimento reacional <20%;	✓ Rendimento reacional 98%;
✗ Reações paralelas;	✓ Reação mais seletiva;
✗ Necessário o uso de catalisador;	✓ Reação conduzida sem o uso catalisador;
✗ Purificação feita com coluna cromatográfica.	✓ Não houve necessidade de purificação;
	✓ Uso de 30μL de etanol nas sínteses.

Fonte: Da autora.

Um dos principais destaques do uso do método mecanoquímico na síntese desses derivados curcuminicos, foi redução do tempo de reação, obtendo o produto desejado em apenas 1 hora. Desde então, o grupo expandiu o escopo de uso dessa metodologia, que atualmente abrange a síntese e caracterização de diferentes substâncias e formas sólidas.¹⁶

Um ponto importante a ser ressaltado, é que o método mecanoquímico, nesses casos, reduz o uso de solventes em comparação com as sínteses realizadas em solução, tornando-o um método mais “verde”.¹⁻⁴ Isso não implica necessariamente que nenhum solvente será utilizado, especialmente durante os processos de purificação. O destaque está na redução do uso desses

solventes em diferentes tipos de reações, e não necessariamente na eliminação total dos mesmos.

Assim, este trabalho abordará as sínteses em estado sólido de distintas moléculas derivadas de curcumina e PEG, assim como a caracterização de cada composto. É importante destacar que os derivados curcumínicos a serem estudados são inéditos. O objetivo principal deste trabalho é avaliar a eficácia do método mecanoquímico na obtenção de compostos com diversas aplicações, além de identificar possíveis desafios encontrados nestas rotas sintéticas.

Com o intuito de facilitar a compreensão do leitor e aprofundar a discussão dos dados, a tese está organizada em capítulos. Cada capítulo desta tese aborda as sínteses e a caracterização de compostos específicos. Essa estrutura permitirá uma apresentação mais clara e organizada dos resultados obtidos para cada composto, além de facilitar a comparação entre as diferentes sínteses realizadas.

O **Capítulo 1** aborda o método mecanoquímico e explora as razões pelas quais as sínteses em estado sólido têm sido amplamente relatadas na obtenção de substâncias existentes (como sínteses inéditas) e novos compostos orgânicos e inorgânicos. Além disso, é realizada uma breve revisão sobre a curcumina e seus derivados, destacando-se as reações de *PEGylation* como uma abordagem viável para melhorar a solubilidade de compostos com baixa solubilidade.

O **Capítulo 2** descreve o estudo da síntese mecanoquímica do PEG-succínico, incluindo sua caracterização e a dos reagentes utilizados.

No **Capítulo 3** é apresentada a síntese mecanoquímica e caracterização de uma nova base de Schiff derivada de curcumina com glicina. São abordados também os fatores que influenciam na síntese desse composto, os quais podem resultar em diferentes polimorfos. Por fim, é sugerida uma possível aplicação para o derivado de curcumina-glicina como indicador de pH colorimétrico em titulações de retorno.

O **Capítulo 4** apresenta a síntese e caracterização de compostos de coordenação envolvendo o derivado de glicina-curcumina apresentado no Capítulo 3. Além disso, discute-se como as estabilidades térmicas e as propriedades fotofísicas são alteradas em função da natureza de cada centro metálico.

No **Capítulo 5** são apresentados os resultados da funcionalização dos compostos sintetizados nos **Capítulos 3 e 4**, por meio da reação com o PEG-succínico (apresentado no **Capítulo 1**). A funcionalização ocorre por meio da reação de esterificação entre o grupo ácido carboxílico do PEG-succínico e OH fenólico da parte curcumínica dos demais composto. São

detalhadas as metodologias de síntese em estado sólido para cada composto funcionalizado, além da caracterização dos mesmos. Também é realizada uma análise quanto à viabilidade de reprodução dessas sínteses. Por fim, são apresentados os resultados do ensaio de solubilidade gravimétrico de cada composto, discutindo-se assim, esta propriedade alterada após a funcionalização de DCG e dos complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II).

Referências

1. BOLDYREVA, Elena. Mechanochemistry of inorganic and organic systems: what is similar, what is different? **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 18, p. 7719, 2013.
2. DO, Jean-Louis; FRIŠČIĆ, Tomislav. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. **ACS Central Science**, v. 3, n. 1, p. 13–19, 2016.
3. ACHAR, Tapas Kumar; BOSE, Anima; MAL, Prasenjit. Mechanochemical synthesis of small organic molecules. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 13, p. 1907–1931, 2017.
4. LIU, Xingang; LI, Yijun; ZENG, Li; *et al.* A Review on Mechanochemistry: Approaching Advanced Energy Materials with Greener Force. **Advanced Materials**, v. 5, p. 2108327, 2022.
5. Base de dados Scifinder: <https://scifinder.cas.org/>. Acesso em 30 de maio para consultar as publicações que mencionam o termo “*Mechanochemistry*”.
6. ARDILA-FIERRO, Karen J.; HERNÁNDEZ, José G. Sustainability Assessment of Mechanochemistry Using the Twelve Principles of Green Chemistry. **ChemSusChem**, v. 14, p. 2145–2162, 2021.
7. WANG, Guan-Wu. Fullerene Mechanochemistry: Serendipitous Discovery of Dumb-Bell-Shaped C₁₂₀ and beyond. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 1797–1803, 2021.
8. ZHU, San-E; LI, Fei; WANG, Guan-Wu. Mechanochemistry of fullerenes and related materials. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 18, p. 7535, 2013.
9. FERREIRA, Patricia Osorio; DE ALMEIDA, Amanda Cosmo; DOS SANTOS, Éverton Carvalho; *et al.* A norfloxacin-nicotinic acid cocrystal: Mechanochemical synthesis, thermal and structural characterization and solubility assays. **Thermochimica Acta**, v. 694, p. 178782, 2020.
10. FERNANDES, Richard; FERREIRA, André; ANA MARIA CARVALHO; *et al.* Mechanochemical synthesis, characterization, and thermal behavior of meloxicam cocrystals with salicylic acid, fumaric acid, and malic acid. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry volume**, v. 138, n. 1, p. 765–777, 2019.

11. KARIMI-JAFARI, Maryam; PADRELA, Luis; WALKER, Gavin M.; *et al.* Creating Cocrystals: A Review of Pharmaceutical Cocrystal Preparation Routes and Applications. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 10, p. 6370–6387, 2018.
12. GUO, Minshan; SUN, Xiaojie; CHEN, Jiahui; *et al.* Pharmaceutical cocrystals: A review of preparations, physicochemical properties and applications. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 11, p. 2537–2564, 2021.
13. HASA, Dritan ; JONES, William. Screening for new pharmaceutical solid forms using mechanochemistry: A practical guide. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 147–161, 2017.
14. HUSSAIN, Zahid; THU, Hnin Ei; AMJAD, Muhammad Wahab; *et al.* Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1316–1326, 2017.
15. SALEHI, Bahare; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Zorica; MATEJIĆ, Jelena; *et al.* The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 527–545, 2019.
16. MOURA, Aniele *et al.*, A New Curcuminoids-Coumarin Derivative: Mechanochemical Synthesis, Characterization and Evaluation of Its In Vitro Cytotoxicity and Antimicrobial Properties, **ChemistrySelect**, v. 6, n. 41, p. 11352–11361, 2021.
17. GÓRNICKA, Julia *et al.*, Methods to Improve the Solubility of Curcumin from Turmeric, **Life**, v. 13, n. 1, p. 207–219, 2023.
18. ALCONCEL, Steevens N. S.; BAAS, Arnold S.; MAYNARD, Heather D. FDA-approved poly(ethylene glycol)–protein conjugate drugs. **Polymer Chemistry**, v. 2, n. 7, p. 1442–1448, 2011.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS

1.1 A curcumina e seus derivados.

A curcumina (CUR) faz parte da classe de curcuminóides encontrados nos rizomas da *cúrcuma longa*, um turmérico que pertence à família *Zingiberaceae*.¹⁻³ Ao longo dos séculos, distintas culturas, como a chinesa, egípcia e árabe faziam uso da cúrcuma longa (também conhecida como açafrão-da-terra) na medicina. Estas visavam curar diferentes enfermidades, incluindo resfriados, doenças parasitárias, lepra, doenças de pele, bronquite, artrite, inflamação da bexiga, entre outros.^{4,5}

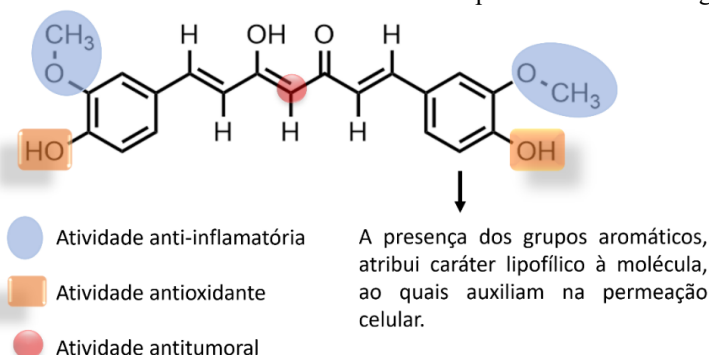
Estudos posteriores confirmaram que a curcumina pode apresentar uma ação mais ampla em diversas doenças. Dentre as diversas propriedades farmacológicas estudadas, pode-se citar, as ações antimicrobiana e antibacteriana que abrangem tanto bactérias gram-positivas, quanto gram-negativas. Além disso, apresenta atividade antitumoral, atividade antirretroviral, capacidade de agir contra a diabetes, entre outros benefícios.¹⁻⁵

Essa ampla gama de propriedades biológicas levou algumas pessoas a considerar a curcumina como uma panaceia, ou seja, uma substância quase milagrosa, uma vez que é de origem vegetal e possui amplo potencial para tratar diferentes enfermidades.^{6,7}

Entretanto, resultados de estudos *in vivo* e *in vitro*, comprovaram que os curcuminóides, dentre eles a curcumina possuem diversas atividades biológicas, não se tratando apenas de uma crença popular.⁵⁻⁷

Tem sido estudado ainda, como cada grupo funcional presente na molécula da curcumina influencia em cada atividade biológica. Dentre os mecanismos de atividade biológica conhecidos, é reportado que os grupos metóxi (-OCH₃) presentes na curcumina podem estar relacionados à atividade anti-inflamatória da molécula (Figura 1.1).^{2,11-13}

Figura 1.1. Fórmula estrutural da curcumina e seus potenciais farmacológicos.



Fonte: Da autora.

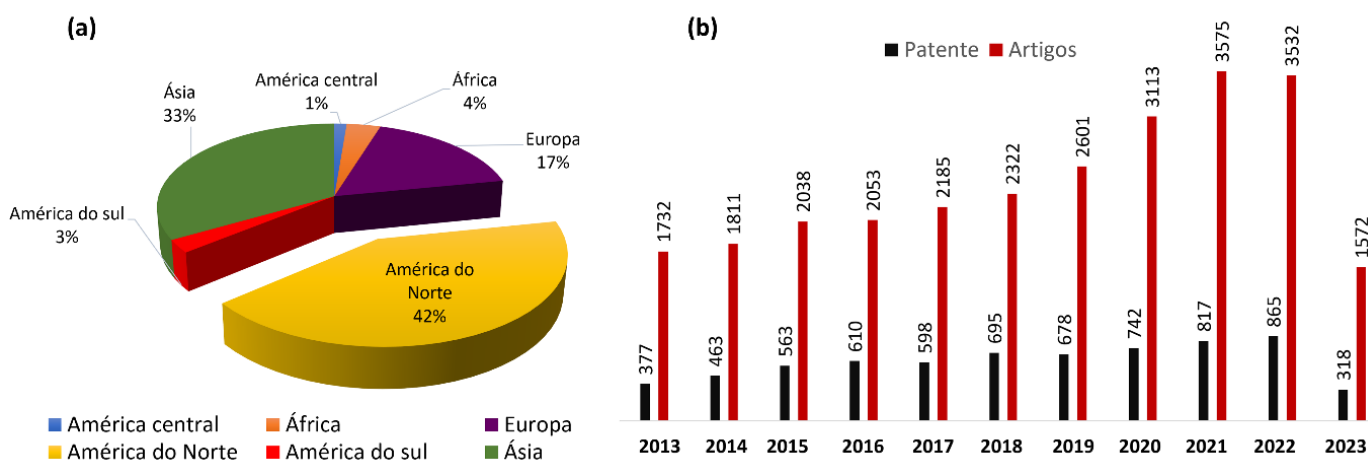
Os grupos fenol, por sua vez, auxiliam na atividade antioxidante. O carbono vinílico central da molécula pode atuar nos mecanismos antitumorais, e a introdução de grupos substituintes nesta posição podem potencializar essa atividade.^{2,11-13}

Além disso, os anéis aromáticos presentes na estrutura da curcumina auxiliam no caráter hidrofóbico, o que tende a facilitar a permeação celular.^{2,3,12,13} Porém, devido à baixa solubilidade da curcumina em meio aquoso, esse efeito não é tão pronunciado, resultando na rápida eliminação da substância pelo organismo.^{2,3,12,13}

Até o presente momento são reportados 315 estudos clínicos utilizando a curcumina no site *clinicaltrials.gov*, um banco de dados de estudos clínicos com financiamento privado e público realizados no mundo, o qual é um recurso fornecido pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América.¹⁴

Destes 315 estudos, 128 estão ativos, e estão associados às pesquisas envolvendo distintas enfermidades, dentre estes, seu uso está associado ao tratamento de leucemia pediátrica, diabetes, hipertensão, câncer de mama, câncer de próstata. Os testes clínicos são majoritariamente dominados pela América do Norte, a qual representa 42% de foco em testes clínicos envolvendo a curcumina (Figura 1.2-a).¹⁴

Figura 1.2. Dados de junho de 2023, associados à estudos clínicos envolvendo a curcumina de acordo com o site *clinicaltrials.gov* (a). Publicação de artigos e depósito de patentes nos últimos 10 anos de acordo com a base de dados Scifinder® fazendo uso do termo “Curcumin” (b).



Fonte: Dados obtidos a partir das referências 14 e 15.

A Figura 1.2-b apresente os gráficos de barras correspondentes às publicações em periódicos científicos e ao registro de patentes envolvendo o termo "*curcumin*" na base de dados Scifinder®, até junho de 2023. Observa-se um interesse crescente nesta molécula e seus derivados, bem como em suas aplicações biológicas e tecnológicas, tais como polímeros,

sensores e entrega de medicamentos.¹⁵ Essa tendência crescente reflete o potencial significativo associado a essa substância.

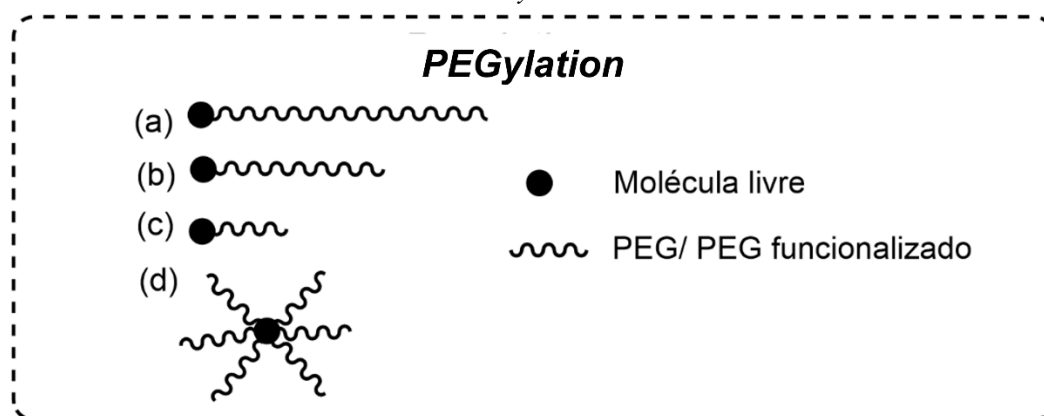
1.2 Incorporação do PEG em moléculas bioativas – *PEGylation*.

As sínteses do tipo *PEGylation* visam inserir a estrutura do polietilenoglicol (PEG) em moléculas bioativas orgânicas ou inorgânicas, enzimas, proteínas, dentre outras.¹⁵⁻¹⁷ A funcionalização de moléculas bioativas a partir dessas sínteses, almejam aumentar o caráter hidrofílico e a estabilidade da molécula bioativa em meio biológico.¹⁶⁻¹⁹ Assim, o aumento da solubilidade de uma dada molécula, poderá acarretar melhor bioabsorção desse composto pelo organismo.¹⁶⁻¹⁹

O tamanho e a estrutura da cadeia PEG, que pode ser linear ou ramificada, podem influenciar nas propriedades dos compostos funcionalizados, incluindo o tempo de retenção no sangue e a citotoxicidade.^{16,19-21} É reportado na literatura que alterações nas propriedades físico-químicas das moléculas bioativas covalentemente ligadas ao PEG são dependentes do tamanho da cadeia molecular do PEG (Figura 1.3-a-c), resultando também em diferentes características farmacocinéticas.¹⁹⁻²¹

Estudos *in vivo* demonstraram que o uso de PEG ramificado (Figura 1.3-d) pode aumentar a meia-vida de moléculas bioativas, prolongando assim sua presença no organismo, e reduzindo a possibilidade de a molécula bioativa degradar antes de interagir com o sítio de interação específico.

Figura 1.3. Representação de distintas cadeias de PEG/ PEG funcionalizado que podem ser utilizadas nas reações *PEGylation*.



Fonte: Da autora.

Algumas substâncias inorgânicas, como compostos de coordenação e nanopartículas, podem ser aplicadas como sondas fluorescentes para terapia fotodinâmica.²²⁻²⁶ Esses compostos

possuem propriedades luminescentes, o que permite que sejam ativados por luz e gerem espécies reativas de oxigênio, levando à morte seletiva de células tumorais.²²⁻²⁶

A incorporação de PEG nestes compostos pode ser uma aplicação viável, pois pode melhorar a biodistribuição dessas moléculas no organismo, promovendo o acúmulo tumoral e aumentando da eficácia desses compostos no tratamento de tumores.²⁷⁻²⁹ Essa estratégia também viabiliza a aplicação destes compostos em sistemas de liberação controlada de fármacos (*drug delivery*), visto que a solubilidade e aumento da meia vida dos mesmos tendem a ser melhorados.^{27,28}

Até o momento, mais de 20 medicamentos aprovados pela Agência dos Estado Unidos *Food and Drug Administration*, contêm compostos contendo PEG, tal como Doxil® que desempenha um papel extremamente importante no tratamento do câncer.^{30,31}

Apesar desses dados positivos, recentemente algumas substâncias derivadas de PEG levantaram algumas preocupações relacionadas principalmente à formação de anticorpos anti-PEG e da possibilidade do acúmulo de polímeros no corpo após tratamentos de longo prazo.^{31,32}

Esta preocupação se deu por conta do uso de substâncias contendo PEG nas primeiras vacinas Covid-19 (Pfizer e Moderna), os quais foram suspeitos de serem responsáveis por reações alérgicas em alguns pacientes após a administração da vacina.³²⁻³⁴ Em função disso, alguns estudos tem sugerido o uso de outros polímeros ao invés de PEG em vacinas.³⁵⁻³⁷

Entretanto, essas sínteses não são exclusivas para aplicações biológicas. Na literatura, é relatada a incorporação de PEG funcionalizado em moléculas orgânicas, como bases de Schiff, que atuam como sensores específicos para identificação de alguns metais em meio aquoso.³⁵⁻³⁷

Nesses casos, o objetivo é aumentar a solubilidade da base de Schiff, permitindo que o produto seja solúvel em água.³⁵⁻³⁷ Isso evita a necessidade de solubilização desses compostos em solventes orgânicos durante os testes para detecção de metais, o que torna o processo mais prático, e barato, evitando o uso de substâncias como solventes que possam ser prejudiciais ao meio ambiente.³⁵⁻³⁷

1.3 O método mecanoquímico.

De acordo com a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*- União Internacional de Química Pura e Aplicada), uma reação mecanoquímica é definida como reações que são causadas por energia mecânica, e é representada pelo símbolo ³⁸ Diversas reações podem ser realizadas pelo método mecanoquímico, tanto para sínteses de compostos

orgânicos, quanto para compostos inorgânicos.³⁹⁻⁴² A moagem mecanoquímica pode resultar na formação de ligações covalentes, ligações coordenadas e/ou interações intermoleculares (sendo estas não resultantes de reações químicas).³⁹⁻⁴²

As primeiras sínteses mecanoquímicas da história da química, foram realizadas utilizando almofariz e pistilo (Figura 1.4-a).^{39,40,42} No entanto, o modo como a reação é conduzida depende inteiramente do operador, uma vez que cada indivíduo pode aplicar uma força específica durante a síntese.^{39,40,42} Esse é um dos primeiros fatores que dificultam a reprodução das sínteses realizadas com esse aparato.³⁹⁻⁴² Além disso, realizar a síntese por muitos minutos pode ser desafiador para o operador, já que a sua exaustão será proporcional ao tempo.

Nesse sentido, o design de equipamentos que auxiliem na condução de sínteses mecanoquímicas não é apenas uma ideia útil, mas também promissora. Entre os diferentes tipos de moinhos, os mais utilizados em escala laboratorial são: o moinho vibratório de bolas (Figura 1.4-b) e o moinho planetário de bolas (Figura 1.4-c).³⁹⁻⁴²

Figura 1.4. Aparatos usados para realizar sínteses mecanoquímicas: almofariz e pistilo (a), Moinho vibracional de bolas (b), Moinho planetário de bolas (c), e os acessórios usados nos moinhos (d).



Fonte: Da autora.

Ambos os moinhos requerem acessórios para que a reação mecanoquímica seja conduzida, sendo estes jarros e esferas (Figura 1.4-d). Dessa forma, cada reagente é inserido no jarro no momento adequado da síntese, seguido da adição de uma ou mais esferas.³⁹⁻⁴²

O moinho vibratório de bolas faz uso do movimento das esferas para aplicar força mecânica aos reagentes. Os jarros são alinhados horizontalmente no moinho, e moagem é então conduzida na frequência desejada. A energia mecânica aplicada aos reagentes é resultante da força de impacto das esferas no interior do jarro, que promovem as colisões entre as moléculas.

³⁹⁻⁴²

O moinho de bolas planetário (Figura 1.4-c) se trata de outra opção para sínteses realizadas via mecanoquímica. Nesse caso é possível trabalhar com uma maior quantidade de reagentes, podendo ser trabalhado cerca de 220 mL em cada jarro.^{39,43} Nesse sistema, reagentes e as esferas são inseridas nos jarros, como mencionado anteriormente, mas o movimento durante o processo de moagem é diferente.³⁹⁻⁴² O moinho planetário possui um disco central (também denominado roda do sol), no qual, os jarros são inseridos sobre ele. Durante a moagem, os jarros giram sobre o próprio eixo, porém, no sentido contrário ao de movimentação do disco giratório central. O material dentro dos jarros é moído através do impacto de alta energia resultante das colisões com as esferas, que se movimentam em função da rotação dos jarros.^{39,41-43}

Progressos recentes nessa área, feitos pelo grupo da pesquisadora Boldyreva,⁴⁴ demonstraram que diferentes tipos de movimento mecânico durante a moagem, podem levar a diferentes produtos e cinéticas de reação. Portanto, o uso de diferentes moinhos pode resultar em distintas purezas, produtos e tempo de síntese. Assim, para garantir a reprodutibilidade dos resultados, é essencial que cada síntese seja cuidadosamente estudada.^{44,45}

Em ambos os moinhos, é possível alterar o material e o tamanho dos jarros e das esferas. Diferentes estudos relatam o uso de várias esferas durante as sínteses, visando aumentar as colisões entre os reagentes para realizar diferentes tipos de síntese, resultando em menor tempo reacional.^{39,44}

Dentre os parâmetros importantes numa síntese mecanoquímica, envolvendo os equipamentos de moagem, pode-se destacar:^{39,40,42,43}

- Volume do jarro;
- Diâmetro/ quantidade das esferas;
- Frequência;
- Tempo de moagem;
- Uso de pequenas quantidades de solvente.

Dentre esses fatores, o volume do jarro será determinante na quantidade máxima de reagentes que poderá ser utilizado em cada síntese, visto que utilizar massas que ocupem a

maior parte do volume do jarro poderá proporcionar não homogeneidade no meio.^{39,42} O diâmetro das esferas utilizadas na síntese mecanoquímica também é de suma importância para a condução da reação, visto que a energia cinética da(s) esfera(s) antes da colisão será transferida para os reagentes durante a condução da síntese.^{39,42}

Dessa forma, o tamanho e a quantidade de esferas usadas poderão resultar numa maior colisão dos reagentes, aumentando a cinética reacional, reduzindo o tempo de síntese, por exemplo.^{39,42} Vale ressaltar, que é importante estudar a viabilidade do uso de várias esferas durante a reação, já que pode resultar em degradação mecanoquímica dos compostos de trabalho.³⁹⁻⁴²

As reações entre sólidos pouco solúveis, ou aquelas que ao menos um reagente não é solúvel no mesmo solvente, são bem adequadas à mecanoquímica.^{39-42,44} Essas reações podem ser mais facilmente conduzidas do que em solução, visto que o problema da solubilidade no solvente é descartado.

A adição de pequenas quantidades de solvente na moagem mecanoquímica, pode resultar na obtenção de distintas formas polimórficas de diferentes compostos.^{39,42,43,46} As sínteses mecanoquímicas realizadas sem solvente são denominadas *Neat Grinding* (NG), enquanto as sínteses que são assistidas por pequenas quantidades de um dado solvente são denominadas *Liquid-assisted-Grinding* (LAG).^{39,42,43,46}

Os mecanismos envolvidos na formação de polimorfos em sínteses LAG ainda não são bem conhecidos, entretanto, de acordo com Frišćić,^{42,43} a polaridade/constante dielétrica do solvente usado na moagem pode ser um fator que pode influenciar na formação de diferentes polimorfos durante a moagem.^{42,43}

Embora, o papel do solvente na moagem seja incerto, isso pode estar associado à lubrificação superficial e/ou à interação entre as moléculas de reagentes e dos solventes, que auxilia o processo de cristalização.^{42,43} De toda forma, a obtenção de polimorfos pela metodologia LAG é atrativa, visto que o direcionamento da formação de polimorfos em sínteses em estado sólido podem ser vantajosas, e podem vir a ser mais facilmente reprodutíveis do que as clássicas recristalizações em solução.^{42,43}

1.4 A mecanoquímica e a Química Verde.

A Química Verde pode ser definida como o desenvolvimento de produtos químicos e processos visando a redução, eliminação e não utilização e/ou geração de substâncias perigosas,

sempre que possível.⁴⁶ Desde a década de 90, quando o termo começou a ser utilizado, os estudos envolvendo a Química Verde têm crescido significativamente. Desde então, têm sido propostas diversas sínteses e processos químicos que seguem os doze princípios da Química Verde. Estes estão listados abaixo:^{45,47}

1. Prevenção de resíduos: visando não gerar ou reduzir a geração de resíduos.
2. Economia de átomos: visa-se a projeção de reações químicas de forma a maximizar a incorporação dos átomos das matérias-primas, minimizando a geração de subprodutos.
3. Síntese mais segura: desenvolvimento de métodos sintéticos que evitem a formação de produtos tóxicos ou perigosos para os seres humanos ou para a natureza.
4. Produtos mais seguros: projetar produtos químicos que possuam menor toxicidade, bem como baixo impacto ambiental.
5. Uso de solventes e auxiliares de reação menos tóxicos: visando minimizar ou eliminar o uso de solventes perigosos e auxiliares de reação.
6. Eficiência energética: otimização dos processos químicos de forma a minimizar o consumo de energia.
7. Uso de fontes renováveis: utilização de matérias-primas provenientes de fontes renováveis, sempre que possível.
8. Redução de derivados: minimizar a formação de subprodutos indesejados.
9. Catálise: fazer uso de catalisadores seletivos para aumentar a eficiência das reações químicas.
10. Projetar para a degradação: desenvolvimento de produtos químicos que sejam facilmente degradáveis no meio ambiente.
11. Análise em tempo real: utilizar métodos de monitoramento sempre que possível em tempo real para controlar e otimizar os processos químicos.
12. Prevenção de acidentes químicos: evitar acidentes químicos através do design seguro de produtos químicos e processos.

Os princípios 1, 2, 5, 6 e 9 são amplamente abrangidos pela mecanoquímica, pois muitas reações ocorrem sem a necessidade de processos de purificação (devido a eficiência sintética), minimizando a presença de impurezas. Muitas sínteses são realizadas sem a necessidade do uso de solventes, como sínteses multicomponentes, maximizando a economia atômica e reduzindo a utilização de solventes.⁴⁶⁻⁴⁹

Considerando que, em geral, as sínteses mecanoquímicas são realizadas em pressão ambiente, o Princípio 6 também pode ser atendido. Além disso, o uso de catalisadores também pode ser aplicado nessas sínteses (princípio 9).^{39,46-49}

Com base nas considerações discutidas, este trabalho apresenta o método mecanoquímico como uma ferramenta para obter distintas moléculas derivadas de curcumina, e PEG. Será avaliado se a funcionalização destes derivados de curcumina a partir da reação com PEG funcionalizado irá influenciar nas propriedades destes derivados curcumínicos. A seguir são apresentados os objetivos desta tese.

1.5 Objetivos da tese.

- Avaliar se o método mecanoquímico é uma metodologia eficaz para obter-se distintos derivados de curcumina e PEG.
- Avaliar fatores que possam influenciar na síntese mecanoquímica dos compostos sintetizados.
- Promover a reação entre o polietilenoglicol com anidrido succínico para obter um poliéter carboxilado (PEG -succínico), para posteriormente conduzir reações de esterificação.
- Reagir curcumina e glicina para obter-se uma base de Schiff.
- Reagir a base de Schiff curcumina-glicina com sais de metais de Co(II), Cu(II) e Zn(II).
- Realizar a esterificação da base de Schiff e os compostos de coordenação a partir da reação com o PEG-succínico.
- Avaliar as propriedades espectroscópicas, termoanalíticas e fotofísicas dos compostos sintetizados.
- Avaliar como a solubilidade se altera para cada composto em comparação com a curcumina.
- Avaliar possíveis aplicações dos compostos sintetizados neste trabalho.

1.6 Referências

1. AJAVAKOM, Vachiraporn; YUTTHASERI, Thatsawan; CHANTANATRAKUL, Rachata; *et al.* Curcuminoids in Multi-Component Synthesis. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 13–20, 2017.

2. AMALRAJ, Augustine; PIUS, Anitha; GOPI, Sreerag; *et al.* Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, p. 205–233, 2017.
3. DE MOURA, Aniele; GAGLIERI, Caroline; DA SILVA-FILHO, Luiz Carlos; *et al.* Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 146, n. 2, p. 587–594, 2020.
4. HUSSAIN, Zahid; THU, Hnin Ei; AMJAD, Muhammad Wahab; *et al.* Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1316–1326, 2017.
5. LIU, Siyu; LIU, Jie; HE, Lan; *et al.* A Comprehensive Review on the Benefits and Problems of Curcumin with Respect to Human Health. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4400, 2022.
6. MUANGNOI, Chawanphat; JITHAVECH, Ponsiree; RATNATILAKA NA BHUKET, Pahweenvaj; *et al.* A curcumin-diglutaric acid conjugated prodrug with improved water solubility and antinociceptive properties compared to curcumin. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, n. 8, p. 1301–1308, 2018.
7. RACZ, Levente Zsolt; RACZ, Csaba Pal; POP, Lucian-Cristian; *et al.* Strategies for Improving Bioavailability, Bioactivity, and Physical-Chemical Behavior of Curcumin. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6854, 2022.
8. SALEHI, Bahare; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Zorica; MATEJIĆ, Jelena; *et al.* The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 527–545, 2019.
9. SHARMA, R.A.; GESCHER, A.J.; STEWARD, W.P. Curcumin: The story so far. **European Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1955–1968, 2005.
10. SUETH-SANTIAGO, Vitor; MENDES-SILVA, Gustavo Peron; DECOTÉ-RICARDO, Débora; *et al.* CURCUMIN, THE GOLDEN POWDER FROM TURMERIC: INSIGHTS INTO CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES. **Química Nova**, v. 38, n. 4, 2015.
11. UROŠEVIĆ, Maja; NIKOLIĆ, Ljubiša; GAJIĆ, Ivana; *et al.* Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. **Antibiotics**, v. 11, n. 2, p. 135, 2022.
12. XIANG, De-Biao; ZHANG, Kai-Qiang; ZENG, Ya-Ling; *et al.* Curcumin: From a controversial “panacea” to effective antineoplastic products. **Medicine**, v. 99, n. 2, p. e18467, 2020.

13. YAKUB, Guldjan; NEVENA MANOLOVA; RASHKOV, Iliya B; *et al.* Pegylated Curcumin Derivative: Water-Soluble Conjugates with Antitumor and Antibacterial Activity. **ACS Omega**, v. 7, n. 41, p. 36403–36414, 2022.
14. Site do ClinicalTrials.gov é um banco de dados de estudos clínicos com financiamento privado e público realizados em todo o mundo: <https://clinicaltrials.gov/>. Acesso em 9 de junho de 2023.
15. Site da base de dados Scifinder: <https://scifinder.cas.org>. Acesso em 9 de junho de 2023.
16. YAKUB, Guldjan; MANOLOVA, Nevena E.; RASHKOV, Iliya B.; *et al.* Pegylated Curcumin Derivative: Water-Soluble Conjugates with Antitumor and Antibacterial Activity. **ACS Omega**, v. 7, n. 41, p. 36403–36414, 2022.
17. MORGENSTERN, Josefine; BAUMANN, Pascal; BRUNNER, Carina; *et al.* Effect of PEG molecular weight and PEGylation degree on the physical stability of PEGylated lysozyme. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1-2, p. 408–417, 2017.
18. HARRIS, J. Milton; CHESS, Robert. Effect of PEGylation on pharmaceuticals. **Nature reviews**, v. 2, p. 214–221, 2003.
19. HUSSAIN, Zahid; KHAN, Shahzeb; IMRAN, Muhammad; *et al.* PEGylation: a promising strategy to overcome challenges to cancer-targeted nanomedicines: a review of challenges to clinical transition and promising resolution. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 9, n. 3, p. 721–734, 2019.
20. YADAV, Deepa; DEWANGAN, Hitesh Kumar. PEGYLATION: an important approach for novel drug delivery system. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 32, n. 2, p. 266–280, 2020.
21. YANG, Chuanxu, *et al.* Impact of PEG Chain Length on the Physical Properties and Bioactivity of PEGylated Chitosan/siRNA Nanoparticles in Vitro and in Vivo. **ACS Applied Material Interfaces**, v. 9, p. 12203–12216, 2017.
22. LIU, Xiao; KOUASSI, Kobenan G. W.; VANBEVER, Rita; *et al.* Impact of the PEG length and PEGylation site on the structural, thermodynamic, thermal, and proteolytic stability of mono-PEGylated alpha-1 antitrypsin. **Protein Science**, v. 31, n. 9, 2022.
23. LEE, Lawrence Cho-Cheung; LO, Kenneth Kam-Wing. Luminescent and Photofunctional Transition Metal Complexes: From Molecular Design to Diagnostic and Therapeutic Applications. **Journal of the American Chemical Society**, v. 144, n. 32, p. 14420–14440, 2022.
24. LI, Rsc; YANG, xinyue; TONG, Jialin; *et al.* Cite this: Dalton Trans. **dalton transactions**, v. 52, p. 1105, 2023.

25. CHEN, Lei; HUANG, Jiahui; LI, Xiaotong; *et al.* Progress of Nanomaterials in Photodynamic Therapy Against Tumor. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 1–28, 2022.
26. HE, Zhenyan; TIAN, Sidan; GAO, Yuting; *et al.* Luminescent AIE Dots for Anticancer Photodynamic Therapy. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 1–13, 2021.
27. SHI, Liwang; ZHANG, Jinqui; ZHAO, Man; *et al.* Effects of polyethylene glycol on the surface of nanoparticles for targeted drug delivery. **Nanoscale**, v. 13, n. 24, p. 10748–10764, 2021.
28. JOKERST, Jesse V; LOBOVKINA, Tatsiana; ZARE, Richard N; *et al.* Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. **Nanomedicine**, v. 6, n. 4, p. 715–728, 2011.
29. PERRY, Jillian L.; REUTER, Kevin G.; KAI, Marc P.; *et al.* PEGylated PRINT Nanoparticles: The Impact of PEG Density on Protein Binding, Macrophage Association, Biodistribution, and Pharmacokinetics. **Nano Letters**, v. 12, n. 10, p. 5304–5310, 2012.
30. SWIERCZEWSKA, Magdalena; LEE, Kang Choon; LEE, Seulki. What is the future of PEGylated therapies? **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 20, n. 4, p. 531–536, 2015.
31. RODRÍGUEZ, Francisco; CARUANA, Pablo; DE LA FUENTE, Noa; *et al.* Nano-Based Approved Pharmaceuticals for Cancer Treatment: Present and Future Challenges. **Biomolecules**, v. 12, n. 6, p. 784, 2022.
32. KONG, Yi Wen; DREADEN, Erik C. PEG: Will It Come Back to You? Polyethelyne Glycol Immunogenicity, COVID Vaccines, and the Case for New PEG Derivatives and Alternatives. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 1–8, 2022.
33. JU, Yi; CARREÑO, Juan Manuel; SIMON, Viviana; *et al.* Impact of anti-PEG antibodies induced by SARS-CoV-2 mRNA vaccines. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 3, p. 135–136, 2022.
34. LAZEWSKI, Dawid, *et al.* Enhanced Cytotoxic Activity of PEGylated Curcumin Derivatives: Synthesis, Structure–Activity Evaluation, and Biological Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 1467–1497, 2023.
35. BAI, Liping; LI, Guang; LI, Leixuan; *et al.* Schiff base functionalized PEG as a high efficient fluorescent chemosensor for Al³⁺ detection in 100% aqueous solution. **Reactive and Functional Polymers**, v. 139, p. 1–8, 2019.
36. BAI, Liping; XU, Yuhang; LI, Leixuan; *et al.* An efficient water-soluble fluorescent chemosensor based on furan Schiff base functionalized PEG for the sensitive detection of Al³⁺ in pure aqueous solution. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 26, p. 11148–11154, 2020.

37. BAI, Liping; XU, Yuhang; LI, Guang; *et al.* A Highly Selective Turn-on and Reversible Fluorescent Chemosensor for Al³⁺ Detection Based on Novel Salicylidene Schiff Base-Terminated PEG in Pure Aqueous Solution. **Polymers**, v. 11, n. 4, p. 573, 2019.
38. Site da IUPAC <https://goldbook.iupac.org/terms/view/MT07141>. Acesso em 26 de maio.
39. HOWARD, Joseph L.; CAO, Qun; BROWNE, Duncan L. Mechanochemistry as an emerging tool for molecular synthesis: what can it offer? **Chemical Science**, v. 9, n. 12, p. 3080–3094, 2018.
40. MICHALCHUK, Adam A. L.; BOLDYREVA, Elena V.; BELENGUER, Ana M.; *et al.* Tribochemistry, Mechanical Alloying, Mechanochemistry: What is in a Name? **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 1–29, 2021.
41. FRISCIC, Tomislav, MOTILLO, Cristina, TITI, M. H. Mechanochemistry for Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 59, p. 1018-1029.
42. DO, Jean-Louis; FRIŠČIĆ, Tomislav. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. **ACS Central Science**, v. 3, n. 1, p. 13–19, 2016.
43. <https://www.retsch.pt/pt/produtos/trituracao/moinhos-planetarios-e-de-bolas/pm-100-cm/>. Acesso em 26 de maio.
44. BOLDYREVA, Elena. Mechanochemistry of inorganic and organic systems: what is similar, what is different? **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 18, p. 7719, 2013.
45. ANASTAS, Paul; EGHBALI, Nicolas. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.
46. SOLARES-BRIONES, Mizraín; COYOTE-DOTOR, Guadalupe; PÁEZ-FRANCO, José C.; *et al.* Mechanochemistry: A Green Approach in the Preparation of Pharmaceutical Cocrystals. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 6, p. 790, 2021.
47. ARDILA-FIERRO, Karen J.; HERNÁNDEZ, José G. Sustainability Assessment of Mechanochemistry by Using the Twelve Principles of Green Chemistry. **ChemSusChem**, v. 14, n. 10, p. 2145–2162, 2021.
48. PAGOLA, Silvina. Outstanding Advantages, Current Drawbacks, and Significant Recent Developments in Mechanochemistry: A Perspective View. **Crystals**, v. 13, n. 1, p. 124, 2023.
49. FANTOZZI, Nicolas; VOLLE, Jean-Noël; PORCHEDDU, Andrea; *et al.* Green metrics in Mechanochemistry. **ChemRxiv**, v. p.1-26, 2022.

se mostrado uma estratégia eficiente para superar a baixa solubilidade aquosa.^{5,10} O PEG, devido às suas propriedades mencionadas anteriormente, desperta um grande interesse nestas reações. Portanto, a funcionalização das bases de Schiff com PEG tem como um dos principais objetivos, melhorar a solubilidade e estabilidade dessas moléculas em água.¹¹⁻¹⁴

Dependendo do pH, estas bases de Schiff funcionalizadas podem hidrolisar, resultando na fragmentação da molécula funcionalizada.^{15,16} Esse processo leva à liberação das moléculas bioativas em regiões específicas do organismo.^{15,16}

O processo de adição de moléculas de PEG em um composto com ação biológica, visa sua proteção quanto à degradação em meio biológico, resultando em aumento da meia-vida biológica e entrega direcionada, é denominado como “*PEGylation*”.^{5,17,18} Em suma, se trata de uma estratégia de conjugação de polímeros em moléculas bioativas, que visa minimizar problemas de instabilidade, meia-vida de circulação e solubilidade de fármacos ou de moléculas candidatas à farmacos.^{5,17,18} Davies e Abuchowski foram os pioneiros neste tipo síntese, tendo publicado seu trabalho em 1970.¹⁹

Um exemplo de aplicação comercial, é o medicamento Oncaspar®, que resulta da conjugação do PEG com a enzima asparaginase.^{5,20} Esse medicamento desempenha um papel importante no tratamento da leucemia linfoblástica aguda.⁵ A conjugação com o PEG além de poder atuar na eficácia terapêutica, pôde ainda auxiliar na redução da imunogenicidade e prolongar a circulação sanguínea do medicamento.

Nesse sentido, o PEG é comumente utilizado em associação com moléculas bioativas que pertencem às classes II (baixa solubilidade/alta permeabilidade) e IV (baixa solubilidade/baixa permeabilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (*Biopharmaceutics Classification System* - BCS).²¹⁻²³

A Figura 2.2 apresenta as classificações BCS para compostos biologicamente ativos, permitindo a identificação e categorização de substâncias de acordo com suas propriedades solubilidade e permeabilidade.²⁴

Figura 2.2. Sistema de classificação BCS.

Classe I	Alta solubilidade Alta permeabilidade
Classe II	Baixa solubilidade Alta permeabilidade
Classe III	Alta solubilidade Baixa permeabilidade
Classe IV	Baixa solubilidade Baixa permeabilidade

Fonte: Da autora com base nas Referências 21-24.

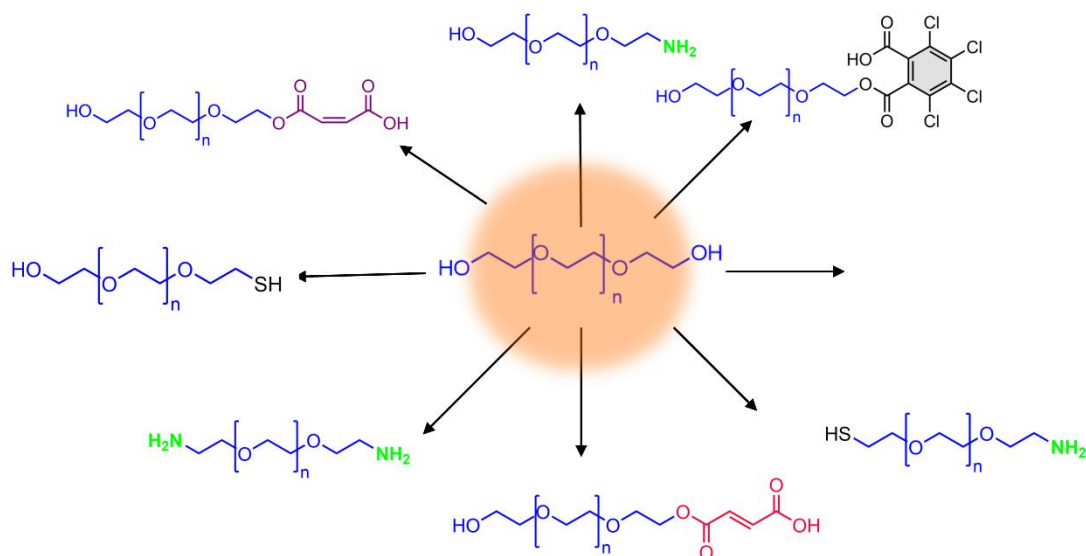
Dentre as substâncias bioativas, que apresentam baixa solubilidade, pode-se destacar a curcumina, a qual apresenta diversas propriedades farmacológicas, é pertence à classe II do sistema de classificação BCS.^{25,26} Sua baixa solubilidade aquosa atua como um desafio para os testes biológicos *in vitro* e *in vivo*, uma vez que resulta em baixa biodisponibilidade, prejudicando a viabilidade de tratamentos promissores.

Como resultado, vários trabalhos almejam aumentar a solubilidade da curcumina, dentre estes, pode-se citar a sua funcionalização com PEG/ derivados de PEG.^{27,28} Alguns autores citam que este procedimento aumenta a solubilidade da curcumina, sem alterar sua atividade antimicrobiana e cancerígena, mantendo ainda sua baixa citotoxicidade.^{27,28}

É relevante destacar que em alguns casos é necessário funcionalizar a molécula de PEG a fim de aumentar sua reatividade em relação a outras moléculas orgânicas, possibilitando a síntese de novas substâncias.^{2,29-31} Por esse motivo, é comum realizar a funcionalização do PEG por meio de reações como esterificação, amidação, aminação, dentre outras (Figura 2.3).²⁹⁻³³ Essa modificação permite que o PEG possa reagir posteriormente com outras substâncias, por meio de reações comumente chamadas de *PEGylation*.

Embora existam várias metodologias descritas na literatura para a obtenção do PEG funcionalizado, é comum estas sínteses serem realizadas em solução, empregando aquecimento e catalisadores, não sendo comumente trabalhada a síntese desses compostos em estado sólido.^{4,30-33} Nesse sentido, até o presente momento, somente dois trabalhos na literatura relatam este tipo de síntese realizada em estado sólido, sendo um deles, um trabalho publicado pelo presente grupo de pesquisa.^{2,29}

Figura 2.3.Exemplos de funcionalizações que podem ser feitas na molécula de PEG.



Fonte: Da autora.

Esta metodologia permite que uma reação química ocorra em estado sólido, a qual é induzida pela absorção direta de energia mecânica. Este método é considerado verde, posto que minimiza o uso de solventes.^{35,36} Além disso, em alguns casos as reações se procedem mais rapidamente, reduzindo o tempo reacional, e minimizando ainda a geração impurezas.³⁵⁻³⁷

Portanto, essa metodologia viabiliza a síntese de compostos orgânicos, inorgânicos, organometálicos, misturas físicas, misturas eutéticas, cocristais, os quais podem ser obtidos pela formação de ligações covalentes, ou mesmo interações intermoleculares.^{29,35-37} Nesse sentido, o método mecanoquímico pode ser considerado uma abordagem promissora na síntese de compostos de PEG funcionalizados.^{29,35,36}

A partir das informações supracitadas, o presente capítulo tem como objetivo principal usar o método mecanoquímico na funcionalização do PEG (M_n 8000) visando sempre minimizar a geração de resíduos, e reduzir o uso de solventes. Para isso, o mesmo foi reagido com o anidrido succínico, para obter-se o PEG-succínico (PEG_AS), o qual foi caracterizado e suas propriedades foram comparadas com as propriedades dos seus precursores.

2.2 Materiais e Métodos

2.2.1 Materiais

Todos os reagentes foram recebidos e utilizados sem nenhuma purificação prévia.

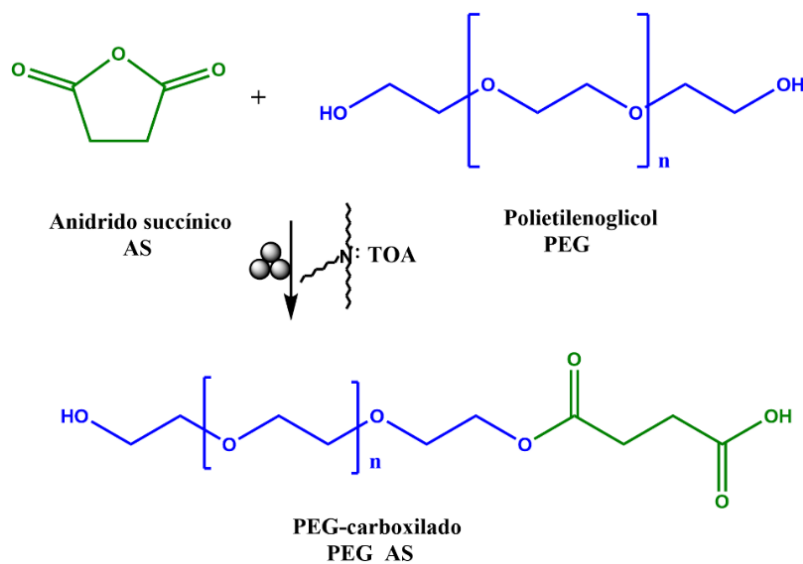
- Anidrido succínico (AS, Sigma Aldrich, 99%);
- Clorofórmio deuterado (CDCl_3 , 99,8%)
- Hidrogenoftalato de potássio (Sigma Aldrich, 99,9%)
- Hidróxido de sódio (NaOH, Synth P.A.)
- Polietilenoglicol (PEG, M_n 8000, Sigma Aldrich, 99%);
- Tolueno (Synth, 99,5%);
- Trioctilamina (TOA, Sigma Aldrich, 98%);

2.2.2 Síntese mecanoquímica do PEG- succínico (PEG_AS)

As sínteses foram realizadas no moinho de bolas vibratório da Retsch, modelo MM 400. Foram utilizados jarros de aço inoxidável revestidos internamente com óxido de zircônio (10 mL), uma esfera de zircônio de 10 mm e frequência de 30 Hz. A síntese foi procedida pela adição dos reagentes no jarro na seguinte ordem: Polietilenoglicol (PEG M_n 8000, 1 mmol), trioctilamina (TOA, 0,02 mmol) e anidrido succínico (AS, 1,1 mmol). A reação foi conduzida por moagem mecanoquímica durante 45 minutos (Figura 2.4). Ao final do processo, um produto de coloração branca (PEG_AS) foi obtido, que após ser retirado do jarro foi purificado em quatro etapas:

- i. Solubilização do PEG_AS em água destilada (50 mL);
- ii. Extração líquido-líquido fazendo uso de água destilada e tolueno (50 mL), visando retirar o catalisador TOA do meio;
- iii. Filtração a vácuo para retirar possíveis resíduos de AS não reagido, o qual precipita em meio aquoso;
- iv. Retirada total da fase aquosa (solvente) por evaporação rotativa.

Figura 2.4. Esquema de síntese do PEG_AS.



Fonte: Da autora.

Após purificar o PEG-Succínico (PEG_AS), o rendimento reacional obtido foi de 83%, e o produto foi caracterizado por técnicas espectroscópicas e por análise térmica.

2.2.3 Caracterização

2.2.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN 1H e ^{13}C)

Os espectros de RMN dos núcleos de 1H e ^{13}C e foram obtidos pelo espectrômetro Bruker Avance III HD 600 (14,1 Tesla), operando em frequências de 600 MHz para os núcleos de hidrogênio e 150 MHz para o carbono.

2.2.3.2 Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho Médio (MIR)

Os espectros no infravermelho dos compostos foram obtidos no espectrômetro da Nicolet iS10 (Thermo Scientific), através da técnica de refletância total atenuada com cristal de germânio, no intervalo de $4000-600\text{ cm}^{-1}$, resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro.

2.2.3.3 Termogravimetria- Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG-DTA)

As curvas TG-DTA foram obtidas no equipamento da Netzsch, modelo STA 449 F3, utilizando-se cadinho de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ (150 μL) abertos, massa de amostras próximas a 5 mg e razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar seco com vazão de 70 mL min^{-1} e intervalo de temperatura de 30 a $800\text{ }^\circ\text{C}$.

2.2.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC e imagens de DSC fotovisual foram obtidos pelo equipamento da Mettler-Toledo, modelo DSC 1 Star^e System, com câmera digital SC 30 acoplada, que incorpora um sensor CMOS de 3,3 megapixel, subconjunto optico mecânico Navitar 1-6232D com zoom de 6,5X. Utilizou-se massas de amostras de aproximadamente 3,5 mg, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em atmosfera de ar seco com vazão de 50 mL min⁻¹. As análises foram realizadas em cadinho de alumínio de 40 µL, com tampa prensada e perfurada (para os compostos que não foram filmados) e cadinho de alumina aberto, 40 µL (para os sistemas que foram filmados). Por fim, os intervalos de aquecimento foram definidos de acordo com a estabilidade térmica de cada composto.

2.2.3.5 Difratometria de Raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas de raios X do pó foram obtidos no Difratomômetro da Rigaku, modelo MiniFlex 600, utilizando-se tubo de cobre, submetido a 40 kV, corrente de 15 mA, Cu $\kappa\alpha$, $\lambda = 1,544 \text{ \AA}$, no intervalo compreendido entre 5-50°, com passo de 4° por minuto.

2.2.3.6 Titulação ácido-base

A titulação ácido-base foi realizada fazendo uso de uma bureta automática digital (Jencons, Digitate Pro, 50 mL $\pm$ 0,2). A titulação foi feita em triplicata, na qual foi utilizado o indicador fenolftaleína em solução alcoólica 1%. Devido a estrutura do PEG_AS apresentar apenas um grupo carboxílico, a estequiometria da reação ácido-base será na proporção estequiométrica de 1:1 (Ácido:Base). O experimento foi realizado dissolvendo-se PEG_AS em água, seguido de titulação com solução aquosa de hidróxido de sódio (0,093 mol L⁻¹), previamente padronizado com hidrogenoftalato de potássio.

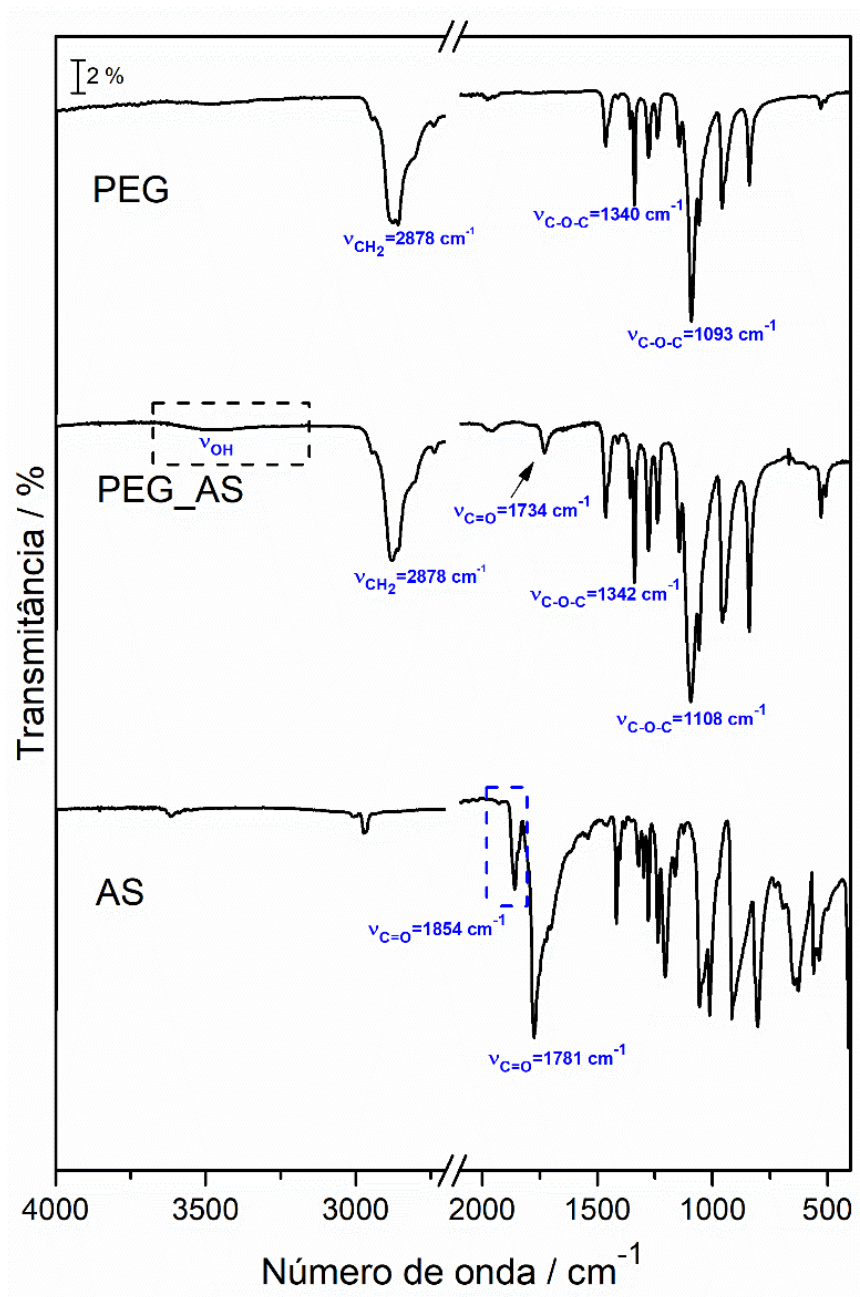
2.3 Resultados e Discussões

2.3.1 Caracterização espectroscópica e estudo de condição de síntese.

A síntese do PEG_AS foi conduzida durante 45 minutos, seguindo o padrão do trabalho apresentado pelo grupo da pesquisadora Moores,² que trabalhou com o PEG M_n400 e M_n2000.² Após purificar o produto, foram realizadas as caracterizações por Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho Médio (MIR) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H), visando confirmar a eficiência da síntese e do processo de purificação do PEG_AS.

A Figura 2.5 apresenta o espectro de MIR do PEG_AS em comparação com os reagentes PEG e AS. O espectro de MIR do PEG apresenta uma banda intensa em 2878 cm^{-1} característica do estiramento de νCH_2 , as bandas em 1340 cm^{-1} e em 1093 cm^{-1} são referentes a vibração $\nu\text{C-O-C}$. Tais bandas também estão presentes no espectro do PEG_AS, sendo observadas em 2878 cm^{-1} , 1342 cm^{-1} , e 1108 cm^{-1} , respectivamente.^{29,38}

Figura 2.5. MIR PEG, PEG_AS e SA.



Fonte: Da autora.

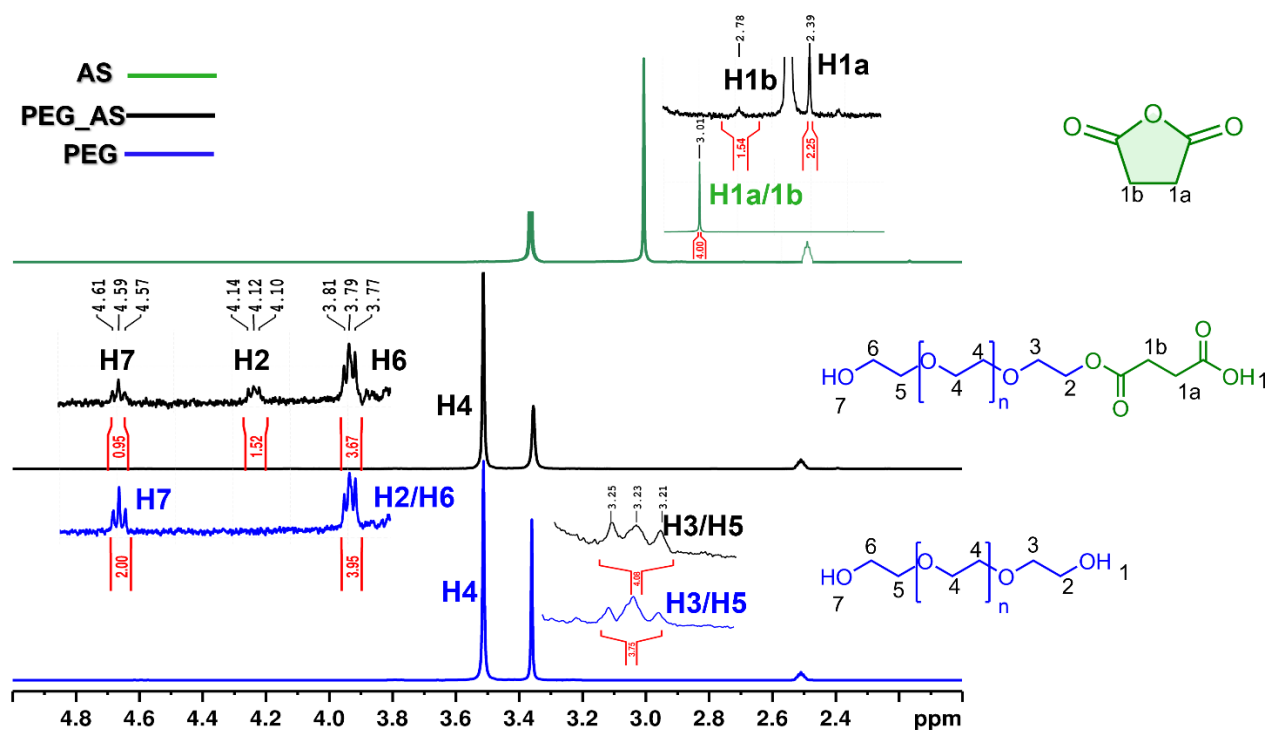
O surgimento da banda em 1734 cm^{-1} , aliado a presença da banda alargada entre $3626\text{--}338\text{ cm}^{-1}$, referentes aos respectivos estiramentos $\nu\text{C=O}$ (ácido carboxílico e éster) e νOH ,

sugerem que a reação conduzida em estado sólido se procedeu de modo eficiente, resultando na esterificação do PEG. Além disso, a ausência das bandas associadas aos estiramentos de $\nu\text{C=O}$ do AS em 1854 cm^{-1} (simétricos) e 1781 cm^{-1} (assimétricos), sugerem a ausência de AS residuais no PEG_AS.^{29,38,39}

Posteriormente, foi conduzida a análise de RMN ^1H , com o objetivo de confirmar a estrutura do PEG_AS, moído durante 45 minutos.

A Figura 2.6 exhibe de modo comparativo os espectros de RMN ^1H do PEG_AS (linha preta) com os espectros dos reagentes AS (linha verde) e PEG (linha azul). O sinal de maior intensidade presente nos espectros do PEG e PEG_AS, com deslocamento químico em 3,51 ppm é referente aos prótons do grupo $-\text{OCH}_2$, atribuído aos hidrogênios H4 (mostrados nas estruturas da Figura 2.6). Os sinais dos metilenos H2/H6, com integração ($\int$) para quatro hidrogênios, e H3/H5 ($\int=4\text{H}$) do PEG são observados nos tripletos em 3,79 ppm e 3,23 ppm, respectivamente.^{2,29,40}

Figura 2.6. Espectros de RMN ^1H do PEG_AS em comparação com PEG e AS.



Fonte: Da autora.

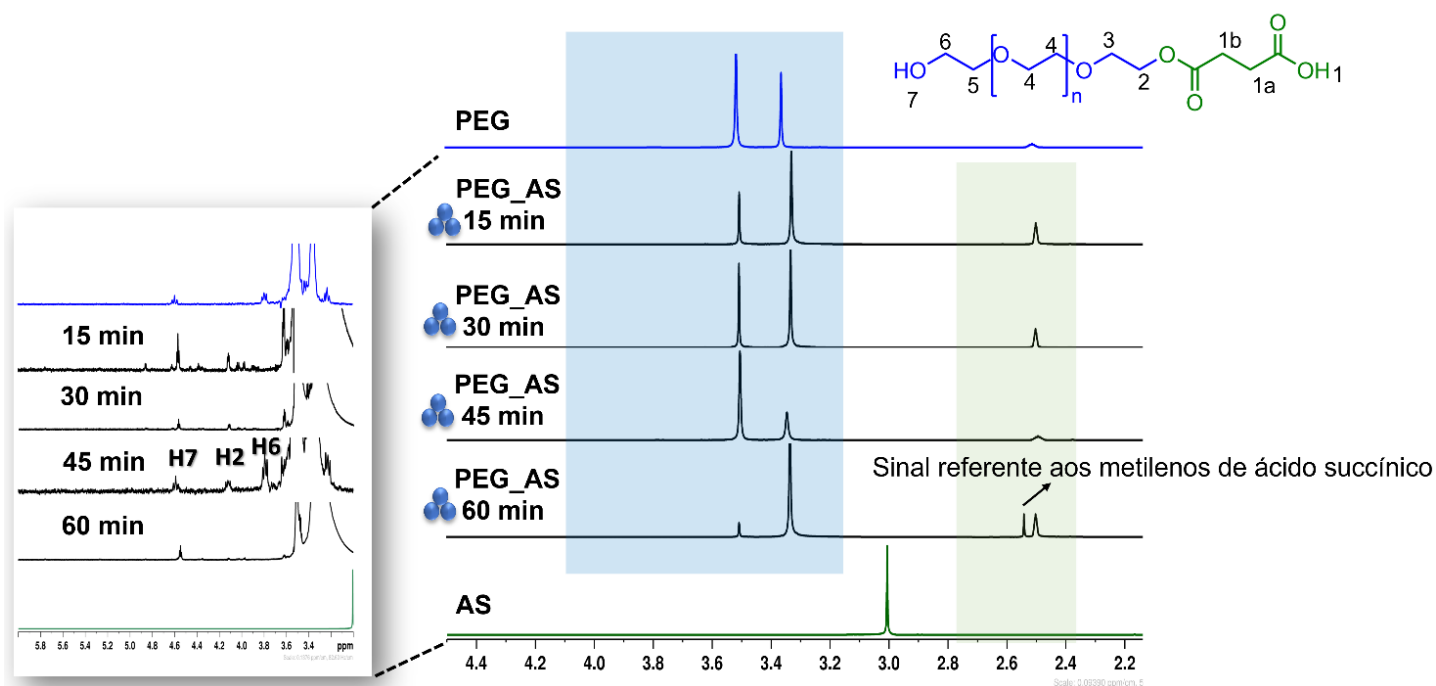
Em virtude da quebra de simetria da molécula de PEG após a funcionalização e consequentemente mudança no ambiente químico, os prótons H2 e H6 do PEG_AS são observados em sinais tripletos distintos, com deslocamentos químicos em 4,12 ppm ($\int=4\text{H}$) e

3,79 ppm ($J=4H$). Já os sinais H3/H4 do PEG_AS são observados no tripleto em 3,23 ppm.^{2,29} Além disso, O sinal tripleto em 4,59 ppm referente ao hidrogênio de OH com $J=1H$ confirma que houve uma monossustituição no PEG (visto que a dissustituição levaria ao desaparecimento deste sinal). Finalmente, os sinais do AS, H1a e H1b, são observados no singlete em 3,01 ppm ($J=4H$), estão presentes nos sinais em 2,39 ppm (H1a) e 2,78 ppm (H1b) no espectro do PEG_AS.^{2,29}

Dessa forma, os resultados de MIR e RMN 1H confirmam que as condições sintéticas e de purificação foram eficientes para a obtenção de PEG_AS. É importante ressaltar que o protocolo de síntese utilizado como referência neste estudo empregava o mPEG M_n 2000/ M_n 400,² enquanto este trabalho utiliza o PEG M_n 8000. Com o intuito de reduzir o tempo reacional, a síntese do PEG_AS foi realizada em diferentes tempos (de 15 a 30 minutos) utilizando-se o método mecanoquímico.

Após cada síntese mecanoquímica, os produtos de síntese foram analisados por RMN 1H , sem passar pelo processo de purificação. Os espectros de RMN 1H resultantes são mostrados na Figura 2.7.

Figura 2.7. Espectros de RMN 1H do sistema PEG_AS moído durante 15, 30, 45 e 60 minutos, sem purificação.



Fonte: Da autora.

Os espectros de RMN 1H do produto obtido após moagem durante 15 e 30 minutos indicam que o PEG_AS não foi formado neste tempo reacional, posto que os sinais H2 (4,12 ppm) e H6 (3,79 ppm) não são observados, o que pode ser observado na imagem expandida do

lado esquerdo da Figura 2.7. Conforme discutido anteriormente, estes sinais são observados no espectro do produto moído por 45 minutos, o que sugere que até 30 minutos de síntese mecanoquímica não é possível obter PEG_AS.

Ademais, também foi realizada uma moagem em tempo superior a 45 minutos, visando avaliar a possibilidade de obter-se um maior rendimento de PEG_AS. O último espectro apresentado na Figura 2.7, corresponde a moagem realizada durante 60 minutos. Como resultado, sugere-se que neste tempo reacional, a síntese em estado sólido proporciona a degradação mecanoquímica do PEG_AS, pois não são observados os sinais H2 e H7. Por fim, o surgimento do sinal em 2,55 ppm sugere a presença de ácido succínico no meio reacional, o qual pode ser resultado a degradação mecanoquímica de PEG_AS (região destacada em cinza claro na Figura 2.7).^{2,29}

Portanto, foi mantido o tempo reacional de 45 minutos, para síntese mecanoquímica do PEG_AS. A Tabela 2.1 apresenta de modo comparativo a metodologia de síntese do PEG_AS de alguns trabalhos descritos na literatura, obtidos por diferentes métodos, em comparação com o apresentado neste trabalho.

Tabela 2.1. Condições experimentais: método de síntese, tempo, temperatura, catalisador, solvente e rendimento obtidos neste trabalho em comparação com trabalhos publicados na literatura.

Referência	PEG	Método de síntese	Tempo reacional	Temperatura	Catalisador	Solvente	Rendimento PEG_AS
2	mPEG _{Mn2000}	Estado-sólido	45 min	-	DIPEA	-	90%
4	PEG _{Mn1500}	Agitação magnética	1440 min	-	DMAP/TEA	dioxano	90%
32	PEG _{Mn310-375}	Agitação magnética	1440 min	70 °C	-	Água deionizada	-
33	mPEG _{Mn2000}	Agitação magnética	360 min	130 °C	-		53.1%
Este trabalho	PEG _{Mn8000}	Estado-sólido	45 min	-	TOA	-	83%

* DIPEA: N, N-Di-isopropiletilamina; DMAP: 4-dimetilaminopiridina; TEA: Trietanolamina; TOA: trioctilamina.

** Estado sólido: refere-se as sínteses conduzidas aplicando o método mecanoquímico.

Além de evitar o uso de solventes durante o processo sintético, a síntese mecanoquímica descrita também apresenta uma redução considerável no tempo de reação, o qual geralmente é de no mínimo 6 horas nas sínteses em solução desse composto. Além disso, destaca-se que nenhum tipo de aquecimento externo precisa ser fornecido durante o processo de síntese mecanoquímica. Esses aspectos demonstram a vantagem e a eficiência da abordagem mecanoquímica no contexto da obtenção desse composto.

Apesar dos resultados semelhantes deste trabalho em comparação com a referência 2, este trabalho apresenta contribuições quando a possibilidade de se obter um PEG

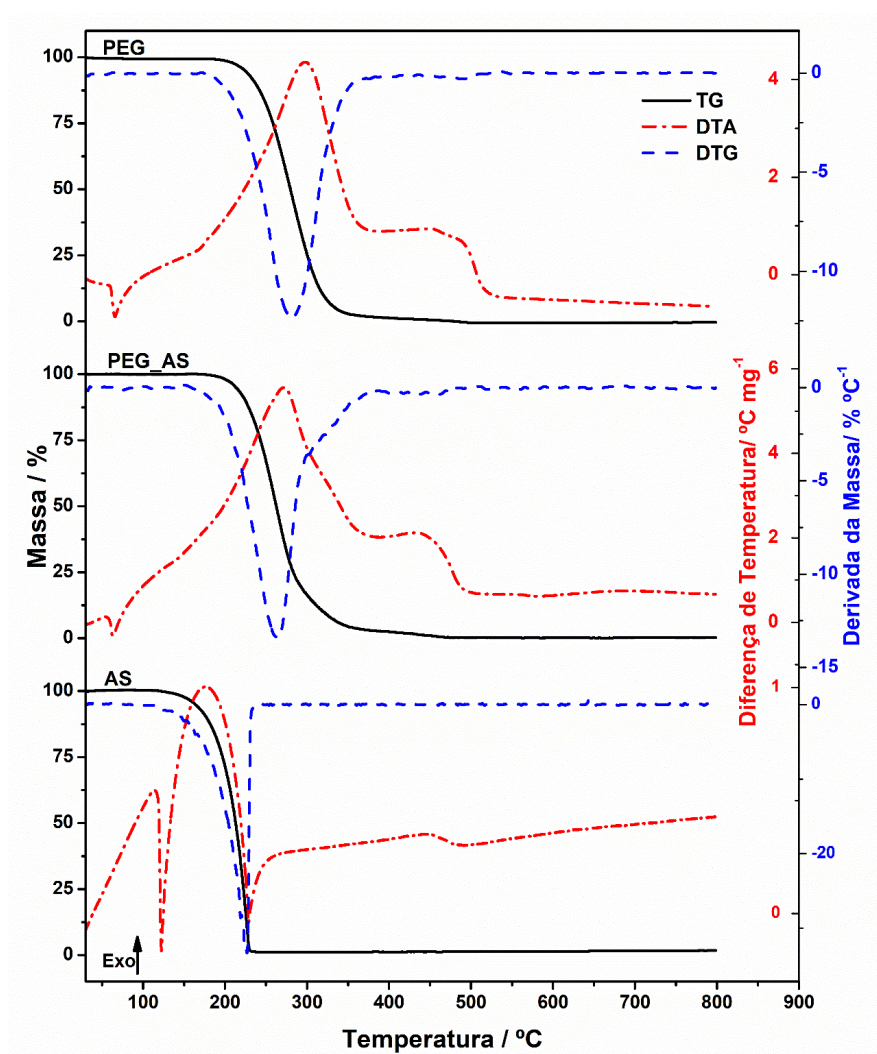
funcionalizado com maiores valores de M_n , por meio de uma reação em estado sólido. Ressalta-se que o processo de purificação apresentado nesse trabalho também é distinto ao previamente publicado.² No caso, o tolueno usado na extração líquido-líquido pode vir a ser utilizado posteriormente em demais processos de purificados do PEG_AS.

2.3.2 Caracterização termoanalítica.

A caracterização termoanalítica do PEG_AS e seus precursores de síntese foi realizada utilizando-se as técnicas de Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultâneas (TG-DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

As curvas TG/DTG-DTA das amostras PEG, AS e PEG_AS estão apresentadas na Figura 2.8. Analisando as curvas TG/DTG do PEG, observa-se que o composto é termicamente estável até 171,7 °C. O pico endotérmico observado na curva DTA em 65,9 °C, antes da degradação, é referente a fusão da amostra.

Figura 2.8. Curvas TG/DTG-DTA do PEG, PEG_AS e AS.



Fonte: Da autora.

Após a temperatura de estabilidade o composto se decompõe em duas etapas de perda de massas consecutivas, como evidenciado pelas curvas TG/DTG. A primeira etapa ocorre entre 171,7-388,6 °C ($\Delta m = 97,90 \%$) associado ao pico exotérmico em 298,4 °C na curva DTA, enquanto que a segunda etapa ocorre entre 388,6-658,8 °C ($\Delta m = 2,02 \%$) associado à exoterma entre 390,3-521,1 °C, na curva DTA.

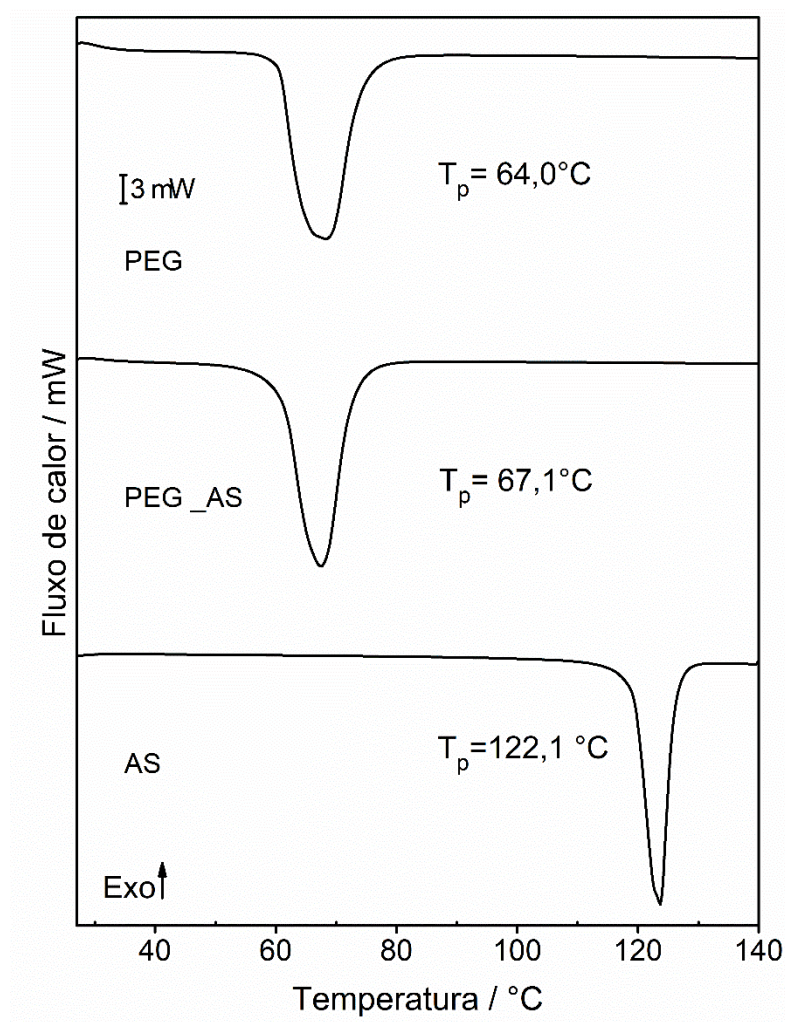
As curvas TG/DTG-DTA do AS também estão apresentadas na Figura 2.8. O composto é termicamente estável até 113,6 °C.³⁹ As curvas TG/DTG mostram apenas uma etapa de perda de massa entre 113,6-232,6 °C ($\Delta m = 98,79 \%$), resultado da evaporação do mesmo. Nesse intervalo de temperatura podem ser observados dois eventos endotérmicos com pico em 122,5 e 228,7 °C na curva DTA, os quais são referentes à fusão e evaporação da amostra, respectivamente. O AS inicia seu processo de fusão após 100,0 °C, e após a estabilidade térmica da amostra, inicia-se um processo simultâneo de evaporação, sendo que este último tem pico em 228,7 °C, na curva DTA.

Em virtude da geometria do cadinho usado nesta análise, o qual apresenta formato de tulipa, é formado um material carbonáceo, e a degradação oxidativa ocorre lentamente a partir de 232,6 °C até o final da análise.⁴³ Este processo está associado a exoterma de baixa intensidade observada entre 424,1-466,8 °C na curva DTA, sendo referente à degradação do material carbonáceo.

Por fim, observa-se que o perfil térmico da curva TG do PEG_AS (Figura 2.8) é similar ao do precursor PEG. O composto é termicamente estável até 168,9 °C e apresenta um pico endotérmico na curva DTA em 63,3 °C, referente à fusão do mesmo.^{41,42} A primeira etapa de degradação do PEG_AS ocorre entre 168,9-362,2 °C ($\Delta m = 96,40 \%$), o qual está associada ao pico exotérmico em 271,3 °C. A segunda etapa de perda de massa é observada entre 362,2-594,1 °C ($\Delta m = 3,47 \%$), associada a exoterma entre 380,1-508,2 °C na curva DTA, e é resultante da decomposição oxidativa da matéria carbonácea.

As Curvas DSC do PEG, PEG_AS e AS estão apresentadas na Figura 2.9. Cada curva DSC apresenta um pico endotérmico, os quais são correspondentes à fusão das amostras em 64,0 °C (PEG), 67,1 °C (PEG_AS), e 122,1 °C (AS).^{39,41,42} A pequena variação de temperatura de fusão entre o PEG e PEG_AS se dá devido à similaridade nas estruturas, sendo assim, as propriedades físico-químicas do PEG_AS se assemelham as propriedades do PEG.

Figura 2.9. Curvas DSC do PEG, PEG_AS e AS.

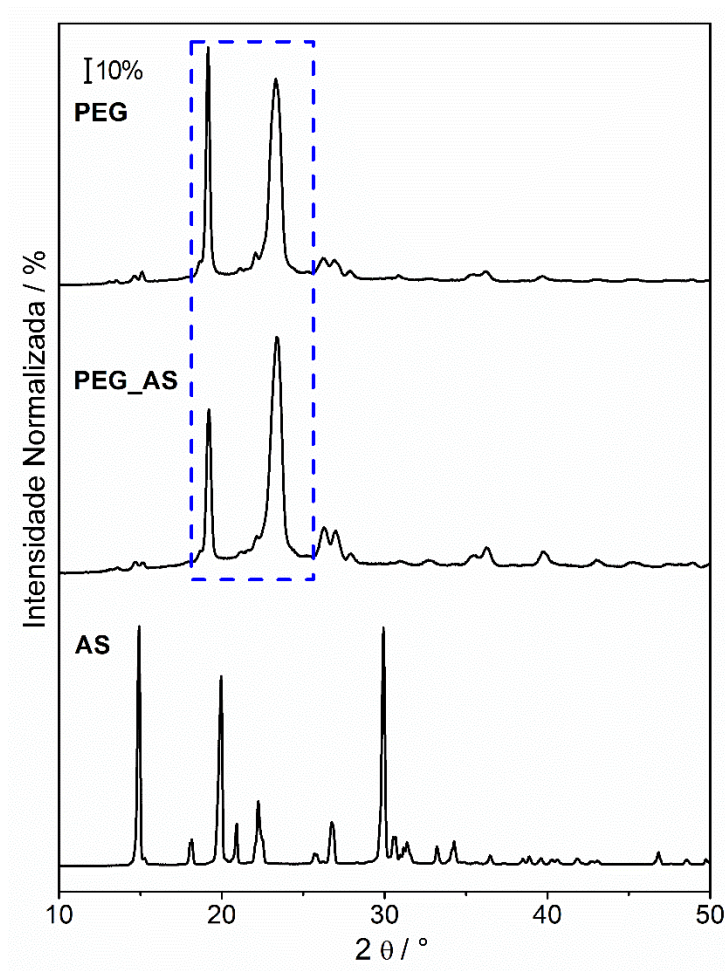


Fonte: Da autora.

O PEG é um polímero semicristalino, cuja estrutura é descrita como esferulítica, caracterizada por um agrupamento de cristalitos de cadeia dobrada.^{44,45} Cada esferulita é composta por cristais lamelares distintos, enquanto uma porção do material apresenta-se na forma amorfa.⁴⁶ A Figura 2.10 apresenta os difratogramas dos reagentes PEG e AS, bem como do produto PEG_AS.

Observa-se que todos os compostos apresentam picos de difração um pouco alargados, ademais é observado uma semelhança entre os difratogramas do PEG e PEG_AS com valores de 2θ em $19,20^\circ$ e $33,37^\circ$. Esta similaridade entre os difratogramas corrobora com as curvas DSC (Figura 2.9), em que os eventos de fusão do PEG e PEG-AS são muito similares. O difratograma da amostra AS apresenta um padrão distinto, com picos de difração mais estreitos do que o PEG e PEG_AS, apresentando os picos em 2θ com maior intensidade em $14,92^\circ$, $19,95^\circ$ e $30,10^\circ$.

Figura 2.10. Difratomogramas de raios X do PEG, PEG_AS e AS.



Fonte: Da autora.

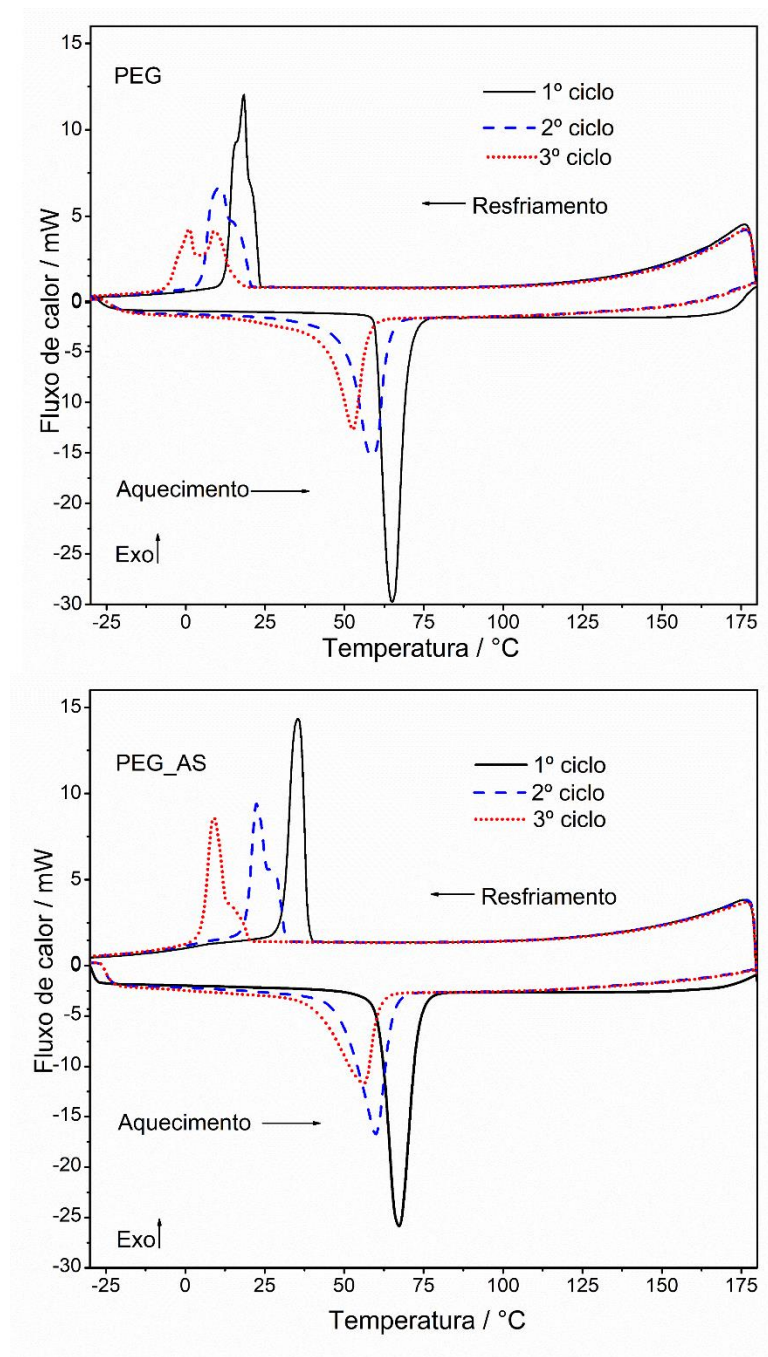
Alguns trabalhos na literatura reportam que o PEG pode cristalizar quando resfriado sob uma razão de resfriamento controlada, e que este evento pode ser observado utilizando a técnica de DSC.^{41,47} É relatado ainda, que a cristalinidade de um polímero é determinada por fatores relacionados à capacidade de empacotamento das cadeias poliméricas.⁴⁶ O grau de cristalinidade está diretamente relacionado à flexibilidade das cadeias, uma vez que essa flexibilidade afeta a mobilidade das moléculas, permitindo que elas se reorganizem e formem uma estrutura cristalina.⁴⁶

Dessa forma, foram obtidas curvas DSC de aquecimento e resfriamento (ciclos) das amostras PEG e PEG_AS (Figura 2.11), visando avaliar como a funcionalização de PEG pode influenciar no comportamento térmico do mesmo. No primeiro aquecimento o PEG apresenta um evento endotérmico em 64,0 °C, associado à fusão do material.

Posteriormente, no primeiro resfriamento pode ser observado um pico exotérmico alargado, com dois ombros, com temperatura de pico (T_p) em 18,7 °C, o qual está associado à cristalização do PEG. No segundo aquecimento é observado um pico endotérmico na curva

DSC em 58,2 °C, indicando a temperatura de fusão da amostra. Posto que a temperatura de fusão deste ciclo é distinta da observada no primeiro ciclo de aquecimento, sugere-se que o PEG cristalizou em uma fase diferente durante o primeiro ciclo de resfriamento (Forma II), em relação à fase inicial (Forma I).

Figura 2.11. Curva DSC ciclo de aquecimento e resfriamento do PEG e PEG_AS.



Fonte: Da autora.

A segunda curva de resfriamento do PEG mostra um evento exotérmico alargado com $T_p = 11,0$ °C e com um ombro em 14 °C. Tal resultado sugere que o PEG esteja cristalizando e formando uma mistura de polimorfos, referentes a Forma II e a nova Forma III. No terceiro e

último ciclo de aquecimento, o evento endotérmico correspondente à fusão do PEG ocorre em 52,3 °C, e novamente, nota-se que o ponto de fusão apresentado não corresponde aos valores observados no primeiro e segundo ciclos de aquecimento, o que corrobora com a hipótese de que uma nova forma polimórfica pode ter sido formada no resfriamento do ciclo anterior (2º ciclo).

Uma vez que o evento de fusão do PEG está mais alargado, isso pode ter resultado na sobreposição de eventos endotérmicos, visto que se sugere uma mistura de polimorfos, era esperado ser observado mais de um pico de fusão. Por fim, a curva referente ao terceiro ciclo de resfriamento do PEG apresenta dois picos exotérmicos em 9,40 °C e 0,91 °C, os quais podem ser correspondentes a cristalização do material nas Formas III e IV.

As curvas DSC de aquecimento/ resfriamento do PEG_AS também estão apresentadas na Figura 2.11. Como pode ser visto, o PEG_AS apresenta um comportamento similar ao PEG, tanto nos ciclos de aquecimento, em que em todos eles são observados eventos endotérmicos, correspondentes à fusão do material; quanto nos ciclos de resfriamento, na qual são observados eventos exotérmicos referentes à cristalização do mesmo. Os valores de T_p e entalpia (ΔH) para cada evento em cada ciclo pode ser vistos na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Dados de Temperatura de pico (T_p / °C), e entalpia (ΔH / J g⁻¹) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento do PEG e PEG_AS.

Ciclo →	1ºAquecimento		1ºResfriamento		2ºAquecimento		2ºResfriamento		3ºAquecimento		3ºResfriamento	
Temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH)	T_p / °C	ΔH /Jg ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH /Jg ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹
PEG	64,0↓	176,9	18,7↑	128,7	58,2↓	130,8	11,0↑	106,3	52,3↓	94,3	0,91↑/ 9,40↑	82,5
PEG_AS	67,1↓	160,9	35,4↑	131,3	60,1↓	138,9	22,4↑	100,2	56,3↓	101,9	9,1↑	91,6

↓=pico endotérmico; ↑=pico exotérmico.

Cabe ressaltar ainda, que, assim como o PEG, o PEG_AS tende a formar 4 Formas polimórficas, resultantes da cristalização do material após cada ciclo de resfriamento. O surgimento das formas polimórficas sugeridas pode estar relacionado à organização da porção amorfa do material. Essa organização, ainda que parcial, pode resultar em eventos de cristalização alargados, conforme são observados ombros nas curvas DSC, levando à formação das misturas polimórficas mencionadas.^{41,47}

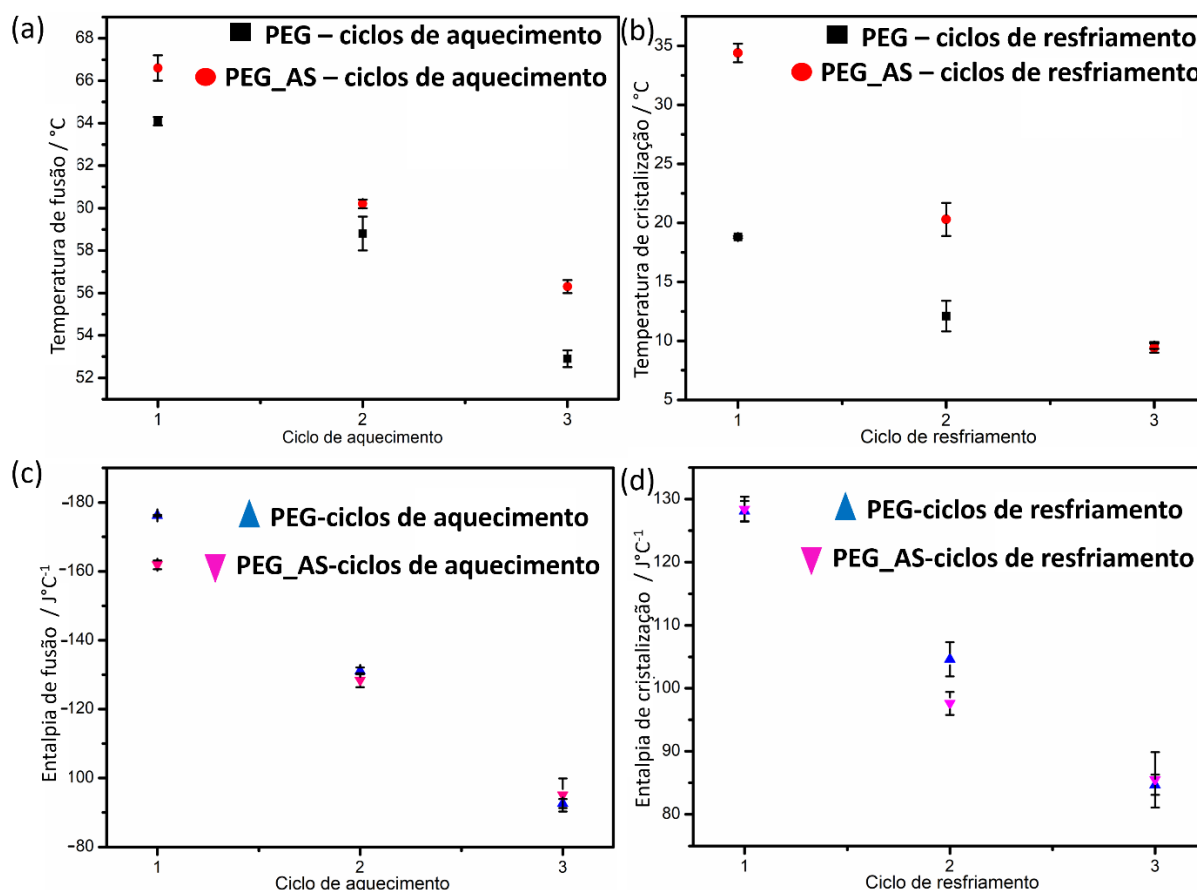
No entanto, devido aos valores das temperaturas de cristalização serem abaixo ou muito próximos da temperatura ambiente (25 °C), e nas condições utilizadas para coletar os

difratogramas de raios X das amostras deste trabalho; não foi possível obter os difratogramas das amostras do PEG e PEG_AS cristalizados durante os ciclos de resfriamento.

Conforme demonstrado na Figura 2.11, e nos dados fornecidos pela Tabela 2.2, é possível identificar uma tendência observada ao longo dos ciclos de aquecimento e resfriamento. Na Figura 2.12-a/2.12-b são apresentados os dados de temperatura de pico dos eventos mencionados anteriormente, em função do ciclo de aquecimento ou resfriamento do PEG (representado pelo quadrado preto), e PEG_AS (representado pelo círculo vermelho).

Esses valores são resultantes das médias de temperatura de pico, visto que essas análises foram realizadas em triplicatas. Os valores de temperatura de pico, bem como as suas médias e desvio padrão, podem ser observados nas Tabelas A2.1 e A2.2, dispostas no apêndice.

Figura 2.12. Valores das Temperaturas de pico (T_p) endotérmico durante os ciclos de aquecimento (a) e valores T_p de cristalização durante o resfriamento para o PEG e PEG_AS (b). Valores de entalpia de cada evento durante cada ciclo de aquecimento (c) e resfriamento de PEG e PEG_AS (d).



Fonte: Da autora.

Nos ciclos de aquecimento (Figura 2.12-a), é perceptível que o PEG_AS (representado pelo círculo vermelho) apresenta pontos de fusão em temperaturas relativamente mais elevadas em comparação ao PEG (representado pelo quadrado preto). Nesse sentido, nos ciclos de

resfriamento (Figura 2.12-b), o PEG_AS cristaliza em temperaturas superiores do que o PEG o que poderia ser esperado, visto que as temperaturas de fusão do PEG_AS são superiores às do PEG.

O aumento nos valores de temperatura de fusão do PEG_AS em comparação com o PEG pode estar atribuído à maior quantidade e/ou tipos de interações intermoleculares que este composto pode fazer. Essas interações resultam em uma necessidade maior de energia para que ocorra a fusão, levando a uma temperatura de fusão mais elevada.

O aumento na temperatura de cristalização do PEG_AS em relação ao PEG, indica diferentes cinéticas de cristalização para cada composto, o que pode estar relacionado com processo de nucleação em cada ciclo de resfriamento. Em função dos valores de T_p de cristalização observados nas curvas DSC, sugere-se que este processo tende a ser mais rápido para o PEG_AS, que conforme comentado anteriormente pode realizar mais interações intermoleculares. Isso pode viabilizar uma maior eficiência na intersecção e interação das cadeias moleculares, resultando em um processo de cristalização mais rápido durante o resfriamento.

A nucleação é o estágio inicial do processo de cristalização, no qual os primeiros cristais se formam a partir da fase líquida. Logo, se a nucleação é mais rápida, será necessário um menor tempo para que ocorra a cristalização completa. Visto que se trata de um processo de resfriamento, resulta-se em uma temperatura de cristalização mais alta para o PEG_AS.

Na Figura-2.12-c, nos ciclos de aquecimento, os valores de entalpia são relativamente maiores para o PEG_AS do que para o PEG. Enquanto para os valores de entalpia de cristalização (Figura 2.12-d), com exceção do segundo ciclo, estes valores são consistentemente superiores para o PEG_AS em comparação com o PEG. Nas Figuras 2.12-c e 2.12-d, o PEG é representado pelo triângulo Δ azul, enquanto o PEG_AS é representado pelo ∇ rosa.

À medida que o número de ciclos aumenta, observa-se uma diminuição nas entalpias de fusão e cristalização, tanto do PEG. Esse resultado implica que a fração da estrutura cristalina formada na temperatura mais baixa diminui a cada ciclo.

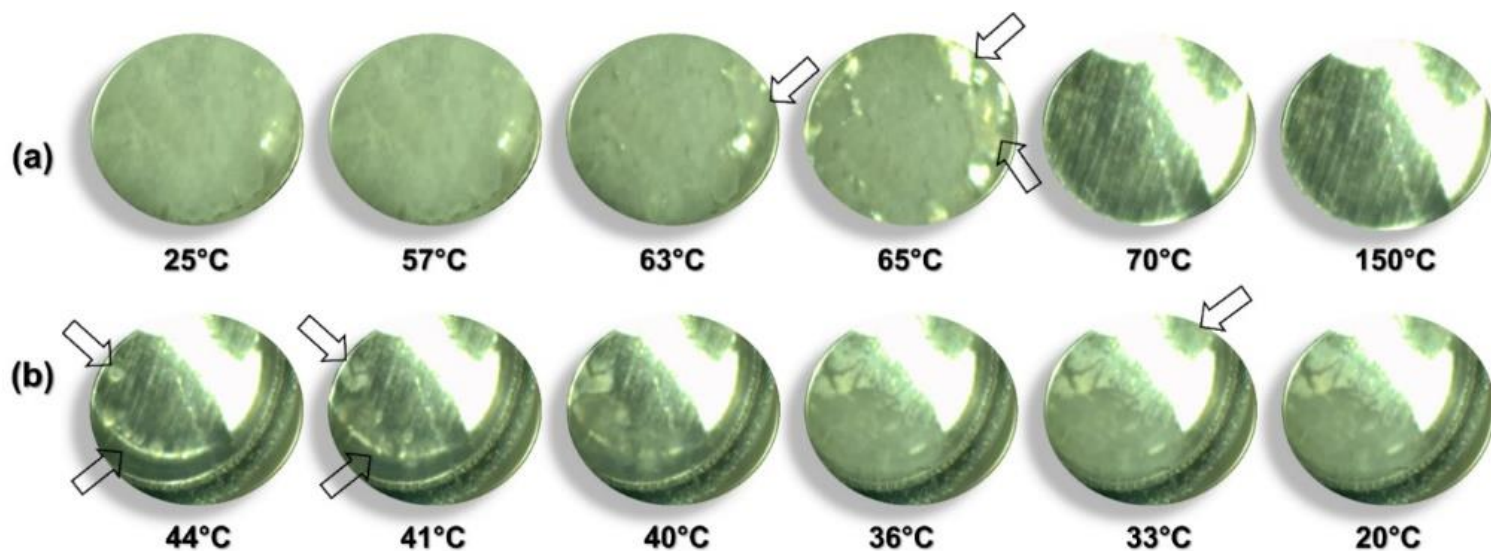
Além disso, a redução da temperatura de cristalização com ciclos térmicos sucessivos pode indicar uma diminuição dos processos de cristalização, ou uma alteração na estrutura química do PEG/PEG_AS. Por exemplo, isso pode ser de cisões parciais da cadeia polimérica em função do estresse térmico gerado na amostra, que afetam a capacidade de formação da estrutura cristalina.

A Figura 2.13 apresenta as imagens de DSC fotovisual obtidas durante o primeiro e

segundo ciclo de aquecimento e resfriamento.

Conforme indicado pelas setas na Figura 2.13-a, a partir de 63 °C pode-se observar que a amostra inicia o processo de fusão, estando completamente líquida em 70 °C. Posteriormente na Figura 2.13-b, podem ser observadas núcleos em que a amostra solidifica a partir de 44 °C. Tais dados estão em acordo com o proposto nos parágrafos anteriores.

Figura 2.13. Imagens DSC fotovisual do PEG_AS.



Fonte: Da autora.

2.3.3 Titulação ácido-base para determinação de grupos ácido carboxílico livres

Foram realizadas titulação ácido-base em triplicatas, almejando quantificar os grupos ácidos carboxílicos (RCOOH) em PEG_AS. Posteriormente, a partir destes dados é possível calcular a quantidade de RCOOH em PEG_AS por grama, resultado que será importante para as reações de esterificação que serão apresentadas no Capítulo 4.

De acordo com os resultados de RMN ^1H , o PEG_AS é monossustituído, logo sua estrutura deverá apresentar apenas um grupo carboxílico. Consequentemente, a reação ácido-base deverá estar associada a uma proporção molar 1:1 (Ácido:Base).

Assim, a titulação foi realizada com uma solução de hidróxido de sódio previamente padronizada, e a partir dos dados obtidos, observou-se que 0,85286 g de PEG_AS titulado, apresentava $2,23 \times 10^{-4}$ mols de grupos COOH.

O cálculo do número de mols por grama de grupos COOH presentes em PEG_AS foi feito a partir da Equação 1:

$$n_{\text{NaOH}} = n_{\text{COOH}}$$

$$[M_{\text{NaOH}} \times V_{\text{gasto de NaOH}}] = n_{\text{COOH}} \quad \text{Equação 1}$$

Sendo n= número de mols

M= molaridade em mol L⁻¹

V= volume em litros gasto na bureta em cada titulação.

Logo, a quantidade de ácido carboxílico em 1 g de PEG_AS foi calculada usando as seguintes considerações:

$$0,85286 \text{ g PEG-AS} \text{----} 2,23 \times 10^{-4} \text{ mol de COOH}$$

$$1 \text{ g PEG_AS} \text{----} 2,62 \times 10^{-4} \text{ mol de COOH}$$

Portanto, neste caso cada grama da amostra PEG_AS contém $2,62 \times 10^{-4}$ mol de grupos carboxílicos, os quais são resultantes da incorporação do anidrido succínico na estrutura do PEG.

2.4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos, foi verificado que o método mecanoquímico foi eficiente para a obtenção do PEG-succínico (PEG_AS). O tempo de reação foi reduzido em mais de 50% em comparação aos métodos convencionais realizados em solução, resultando em um rendimento final do produto superior a 80%.

As análises espectroscópicas de MIR e RMN ¹H confirmaram a obtenção da molécula proposta. Ademais os resultados de RMN ¹H suportaram a sugestão de que 45 minutos de síntese mecanoquímica é ideal para a síntese de PEG_AS.

Os resultados da análise térmica indicaram que, de acordo com a curva TG, os perfis de decomposição do PEG e PEG_AS são similares. Além disso, as curvas de DSC durante os ciclos de aquecimento e resfriamento revelaram que tanto o PEG quanto o PEG_AS podem cristalizar em formas distintas quando resfriados em uma razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

2.5 Referências

1. LI, B.; DONG, X.; FANG, S.; et al. Systemic toxicity and toxicokinetics of a high dose of polyethylene glycol 400 in dogs following intravenous injection. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 34, p. 208–212, 2011.
2. MALCA, M. Y.; FERKO, P.; FRIŠCIC, T.; MOORES, A. Solid-state mechanochemical ω - functionalization of poly (ethylene glycol). *Beilstein Journal Organic Chemistry*, v 13, p. 1963–1968, 2017.
3. FLEISCHMANN, C.; WÖHLK, H.; RITTER, H. End group functionalization of poly (ethylene glycol) with phenolphthalein: towards star-shaped polymers based on supramolecular interactions. *Beilstein Journal Organic Chemistry*, v.10, p. 2263–2269, 2014.
4. GAO, Youya. Introduction and synthesis of polymeric prodrugs. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*, v. 5, n. 3, p.125-128, 2018.
5. VERONESE, Francesco M.; MERO, Anna, The impact of PEGylation on biological therapies, *BioDrugs: Clinical Immunotherapeutics, Biopharmaceuticals and Gene Therapy*, v. 22, n. 5, p. 315–329, 2008.
6. LI, Wenjun; Zhan Peng, CLERCQ, E. LOU, H. Current drug research on PEGylation with small molecular agents. *Progress in Polymer Science*. v.38, p.421-444, 2013.
7. 31. SANTOS, J. H. P. M.; TORRES-OBREQUE, K. M. et al. Protein PEGylation for the design of biobetters: from reaction to purification processes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.54, p.5-15, 2018.
8. MARIN, V.; HOLDER, E.; MEIER, M. A. R.; HOOGENBOOM, R.; SCHUBERT, U. S. A Mixed Ruthenium Polypyridyl Complex Containing a PEG-Bipyridine Macroligand. *Macromolecular Rapid Communication*, v.25, p. 793–798, 2004.
9. ABDELLATIF, Ahmed A. H.; EL-TELBANY, Dalia Farag A.; ZAYED, Gamal; et al. Hydrogel Containing PEG-Coated Fluconazole Nanoparticles with Enhanced Solubility and Antifungal Activity. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, v. 14, n. 2, p. 112–122, 2019.
10. KOLATE, Atul; BARADIA, Dipesh; PATIL, Sushilkumar; et al. PEG — A versatile conjugating ligand for drugs and drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, v. 192, p. 67–81, 2014.
11. BAI, Liping; XU, Yuhang; LI, Leixuan; et al. An efficient water-soluble fluorescent chemosensor based on furan Schiff base functionalized PEG for the sensitive detection of Al³⁺ in pure aqueous solution. *New Journal of Chemistry*, v. 44, n. 26, p. 11148–11154, 2020.
12. XU, Yuhang; LI, Leixuan; BAI, Liping; et al. Water-soluble fluorescent chemosensor based on

- Schiff base derivative terminated PEG for highly efficient detection of Al^{3+} in pure aqueous media. *Tetrahedron Letters*, v. 61, n. 40, p. 152335, 2020.
13. QIU, Xiaoyong; HUANG, Jun; WANG, Ning; et al. Facile Synthesis of Water-Soluble Rhodamine-Based Polymeric Chemosensors via Schiff Base Reaction for Fe^{3+} Detection and Living Cell Imaging. *Frontiers in Chemistry*, v. 10, 2022.
 14. BAI, Liping; XU, Yuhang; LI, Guang; et al. A Highly Selective Turn-on and Reversible Fluorescent Chemosensor for Al^{3+} Detection Based on Novel Salicylidene Schiff Base-Terminated PEG in Pure Aqueous Solution. *Polymers*, v. 11, n. 4, p. 573, 2019.
 15. NICASTRO, Gloria; BLACK, Louise Mary; RAVARINO, Paolo; et al. Controlled Hydrolysis of Odorants Schiff Bases in Low-Molecular-Weight Gels. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 6, p. 3105, 2022.
 16. MISRA, Pramila; MISHRA, Bijaya K.; BEHERA, Gopa B., Hydrolysis of schiff bases, 1: Kinetics and mechanism of spontaneous, acid, and base hydrolysis of N-(2/4-hydroxybenzylidene)-2-aminobenzothiazoles, *International Journal of Chemical Kinetics*, v. 23, n. 7, p. 639–654, 1991.
 17. HARRIS, J. Milton; CHESS, Robert B. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 2, n. 3, p. 214–221, 2003.
 18. SANTOS, João Henrique Picado Madalena; TORRES-OBREQUE, Karin Mariana; MENEGUETTI, Giovanna Pastore; et al. Protein PEGylation for the design of biobetters: from reaction to purification processes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 54, 2018.
 19. DAVIS, F. F.; ABUCHOWSKI, A.; VAN ES, T.; et al. Enzyme-Polyethylene Glycol Adducts: Modified Enzymes with Unique Properties. *Enzyme Engineering*, p. 169–173, 1978.
 20. MENEGUETTI, Giovanna Pastore; SANTOS, João Henrique Picado Madalena; OBREQUE, Karin Mariana Torres; et al. Novel site-specific PEGylated L-asparaginase. *PLOS ONE*, v. 14, n. 2, p. e0211951, 2019.
 21. RETNO SARI, Dwi; WINDHU WARDHANA, Yoga; RUSDIANA, Taofik. Enhancement of Solubility BCS Class II and IV Pharmaceuticals by Liquesolid Technique: A review. *Indonesian Journal of Pharmaceutics*, v. 2, n. 2, p. 77, 2020.
 22. BERTONI, Serena; ALBERTINI, Beatrice; PASSERINI, Nadia. Different BCS Class II Drug-Gelucire Solid Dispersions Prepared by Spray Congealing: Evaluation of Solid State Properties and In Vitro Performances. *Pharmaceutics*, v. 12, n. 6, p. 548, 2020.
 23. DEVALAPALLY, Harikrishna; ZHOU, Feng; MCDADE, Jessica; et al. Optimization of PEGylated nanoemulsions for improved pharmacokinetics of BCS class II compounds. *Drug Delivery*, v. 22, n. 4, p. 467–474, 2013.

24. MEHTA, Mehul U.; UPPOOR, Ramana S.; CONNER, Dale P; et al. Impact of the US FDA “Biopharmaceutics Classification System” (BCS) Guidance on Global Drug Development. *Molecular Pharmaceutics*, v. 14, n. 12, p. 4334–4338, 2017.
25. HU, Liandong; SHI, Yanjing; LI, Jian Heng; et al. Enhancement of Oral Bioavailability of Curcumin by a Novel Solid Dispersion System. *AAPS PharmSciTech*, v. 16, n. 6, p. 1327–1334, 2015.
26. TRUZZI, Francesca; TIBALDI, Camilla; ZHANG, Yanxin; et al. An Overview on Dietary Polyphenols and Their Biopharmaceutical Classification System (BCS). *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 11, p. 5514, 2021.
27. KIM, Choon Young; BORDENAVE, Nicolas; FERRUZZI, Mario G.; et al. Modification of curcumin with polyethylene glycol enhances the delivery of curcumin in preadipocytes and its antiadipogenic property. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, n. 3, p. 1012–1019, 2011.
28. ZHANG, Guiyang; LI, Xinle; LIAO, Qiaobo; et al. Water-dispersible PEG-curcumin/amine-functionalized covalent organic framework nanocomposites as smart carriers for in vivo drug delivery. *Nature Communications*, v. 9, n. 1, 2018.
29. MOURA, Aniele de; GAGLIERI, Caroline; TERCOTTI, Luiz Octavio; et al. Mechanochemical method: a powerful tool to obtain ω -poly(ethylene glycol)-functionalized structures and curcumin analogues. *New Journal of Chemistry*, v. 47, p. 9392–9400, 2023.
30. FREIRE HADDAD, Helena; BURKE, Jacqueline A.; SCOTT, Evan A.; et al. Clinical Relevance of Pre-Existing and Treatment-Induced Anti-Poly (Ethylene Glycol) Antibodies. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, v. 8, n. 1, p. 32–42, 2021.
31. LI, Yunjie; HU, Xiaoxiao; DING, Ding; et al. In situ targeted MRI detection of *Helicobacter pylori* with stable magnetic graphitic nanocapsules. *Nature Communications*, v. 8, n. 1, p. 15653–15659, 2017.
32. JAFARI, Arman; HASSANAJILI, Shadi; AZARPIRA, Negar; et al. Development of thermal-crosslinkable chitosan/maleic terminated polyethylene glycol hydrogels for full thickness wound healing: In vitro and in vivo evaluation. *European Polymer Journal*, v. 118, p. 113–127, 2019.
33. KUMAR, M.; ALEXANDAR, S.; KUMUDHAVALLI, M. V.; et al. Synthesis, enzymatic stability and oral bioavailability of poly (Ethylene glycol) acyclovir prodrug. *The Pharma Innovation Journal*, v. 8, n. 7, p. 74–79, 2019.
34. KUMAR, M.; ALEXANDAR, S.; KUMUDHAVALLI, M. V.; et al. Synthesis, enzymatic stability and oral bioavailability of poly (Ethylene glycol) acyclovir prodrug. *The Pharma Innovation Journal*, v. 8, n. 7, p. 74–79, 2019.

35. DO, Jean-Louis; FRIŠČIĆ, Tomislav. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. *ACS Central Science*, v. 3, n. 1, p. 13–19, 2016.
36. FRIŠČIĆ, Tomislav; MOTTILLO, Cristina; TITI, Hatem M. Mechanochemistry for Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 59, n. 3, p. 1018–1029, 2020.
37. LIU, Xingang; LI, Yijun; ZENG, Li; et al. A Review on Mechanochemistry: Approaching Advanced Energy Materials with Greener Force. *Advanced Materials*, p. 2108327-2108347, 2022.
38. ROBERT MILTON SILVERSTEIN; WEBSTER, Francis X; KIEMLE, David J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 8. ed. Rio De Janeiro: Ltc, 2006.
39. GAGLIERI, Caroline; ANIELE DE MOURA; RAFAEL TURRA ALARCON; et al. Thermal behavior of some cyclic anhydrides: an important characterization for synthesis in the polymer field. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 147, n. 16, p. 9095–9106, 2022.
40. HONG, Sung Woo; AHN, Cheol-Hee; HUH, June; et al. Synthesis of a PEGylated Polymeric pH Sensor and Its pH Sensitivity by Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Macromolecules*, v. 39, n. 22, p. 7694–7700, 2006.
41. PABERIT, Robert; RILBY, Erik; GÖHL, Johan; et al. Cycling Stability of Poly(ethylene glycol) of Six Molecular Weights: Influence of Thermal Conditions for Energy Applications. *ACS Applied Energy Materials*, v. 3, n. 11, p. 10578–10589, 2020.
42. PIELICHOWSKI, Krzysztof; FLEJTUCH, Kinga. Differential scanning calorimetry studies on poly(ethylene glycol) with different molecular weights for thermal energy storage materials. *Polymers for Advanced Technologies*, v. 13, n. 10-12, p. 690–696, 2002.
43. IONASHIRO, M., CAIRES, F.J., GOMES, D. J. C. *Giulito: Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/ Calorimetria Exploratória Diferencial*. 2ª ed. 2015.
44. ZHU, Qing; TAYLOR, Lynne S; HARRIS, Michael E. Evaluation of the Microstructure of Semicrystalline Solid Dispersions. *Molecular pharmaceutics*, v. 7, n. 4, p. 1291–1300, 2010.
45. L. PATERNOSTRE; DAMMAN, Pascal; DOSIÈRE, Marcel; et al. Integral and Nonintegral Folding in Lamellar Crystals of Molecular Complexes of Poly(ethylene oxide). *Macromolecules*, v. 29, n. 6, p. 2046–2052, 1996.
46. HOFFMAN, John M; LAURITZEN, John I. Crystallization of bulk polymers with chain folding: theory of growth of lamellar spherulites. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, v. 65A, n. 4, p. 297–297, 1961.
47. ZHU, Suhong; JI, Tao; YANG, Bin; et al. Preparation and characterization of PEG/surface-modified layered double hydroxides as a new shape-stabilized phase change material. *RSC Advances*, v. 9, n. 41, p. 23435–23443, 2019.

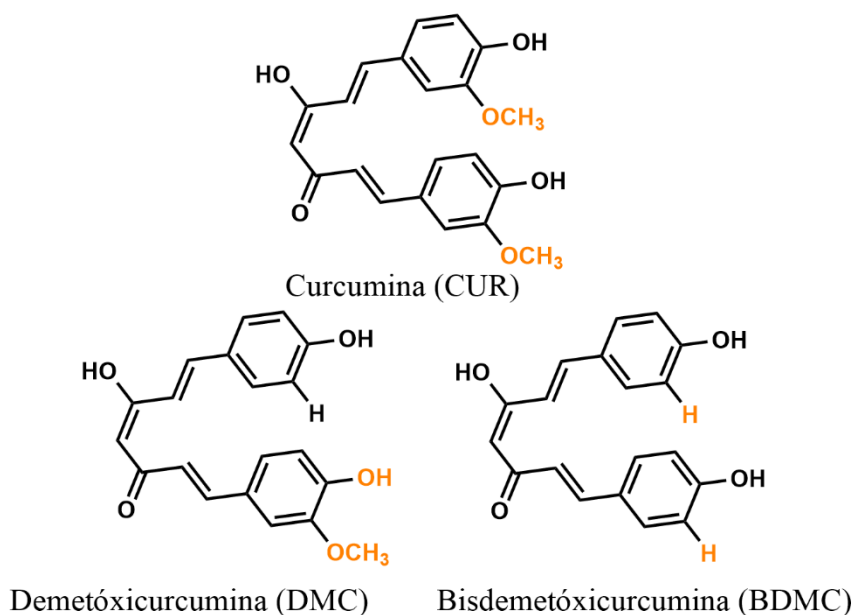
CAPÍTULO 3- SÍNTESE MECANOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE UMA BASE DE SCHIFF CURCUMÍNICA

3.1 Introdução

A *Curcuma longa* é uma das plantas mais amplamente estudadas, devido às diversas propriedades farmacológicas que seus compostos apresentam, aliado as suas baixas toxicidades.¹⁻¹⁰

A curcumina (CUR) é o principal composto presente nos rizomas da *Curcuma longa*; coexistindo com outros curcuminóides, como a demetóxicurcumina (DMC) e a bisdemetóxicurcumina (BDMC), sendo a curcumina o composto majoritário.¹⁻⁵ A Figura 3.1 apresenta as respectivas estruturas de cada composto.

Figura 3.1. Fórmula estrutural da CUR, DMC e BDMC.



Fonte: da autora.

Ainda que a curcumina apresente baixa citotoxicidade, seu maior problema está associado à sua baixa solubilidade em água, acarretando em má absorção e consequentemente baixa biodisponibilidade, no organismo.⁶⁻¹¹ Assim, o desenvolvimento de derivados da curcumina tem sido uma alternativa viável para potencializar suas propriedades biológicas, aumentar sua solubilidade e/ou melhorar suas propriedades físico-químicas.^{2,3,6,7,13}

Nesses derivados de curcumina, a presença de grupos como anéis aromáticos na molécula a ser adicionada, tende a aumentar a hidrofobicidade da curcumina; enquanto a adição de moléculas que contenham grupos polares, tende a aumentar a sua solubilidade em meio

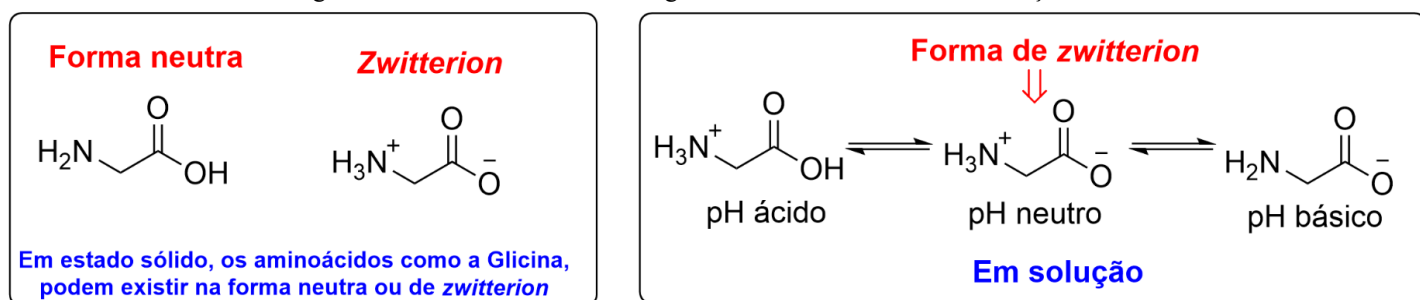
aquoso.^{14,15}

Ao decorrer dos anos, alguns estudos têm demonstrado que a conjugação da curcumina com aminoácidos pode atuar como uma estratégia interessante para aumentar a solubilidade desta molécula em meio aquoso.^{16,17} Nesses estudos foi reportado que derivados de curcumina com aminoácidos como a alanina, cisteína, tiramina, arginina, asparagina, glutamina e histidina, apresentaram um aumento significativo, de até 20% na solubilidade aquosa em comparação à curcumina.^{16,17}

Os aminoácidos são compostos solúveis em água e não são citotóxicos, além de serem absorvidos pelo organismo.^{16,17} Essas características tornam a ideia de conjugação destes compostos com a curcumina, uma alternativa interessante, visando o aumento na solubilidade.

No estado sólido, os aminoácidos podem existir na forma neutra ou *zwitteriônica*, assim como demonstrado para a molécula do aminoácido glicina, conforme apresentado na Figura 3.2.¹⁸ No entanto, esse comportamento não impede que diversas sínteses sejam realizadas com estes compostos.

Figura 3.2. Formas do aminoácido glicina em estado sólido e em solução.



Fonte: Da autora.

A proposta deste trabalho busca sempre que possível atender aos Princípios da Química Verde, a qual almeja a obtenção de produtos químicos e processos mais sustentáveis e ambientalmente corretos.^{19,20} Em função disso, a proposta deste capítulo almejou à minimização do uso de solventes na síntese de uma base de Schiff, bem como redução de tempo de síntese, visto que as sínteses tradicionais usam solventes, e muitas vezes tempos reacionais, superiores a 6 horas.²¹⁻²⁴

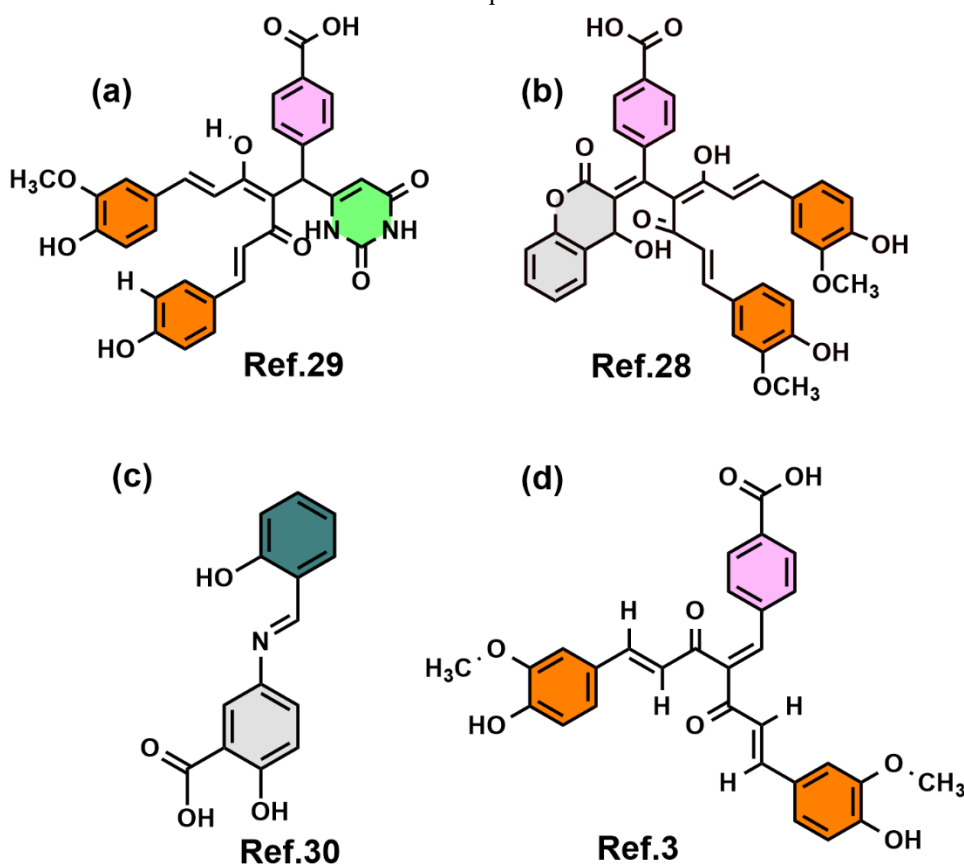
Para evitar o uso de solventes nas sínteses, esta proposta visou a obtenção de uma base de Schiff, utilizando o método mecanoquímico. Dessa forma, acredita-se que o Princípio 5 da Química Verde (redução do uso de solventes) possa ser atendido durante essas sínteses.^{19,20}

O método mecanoquímico tem se demonstrado eficiente na obtenção de distintas classes de moléculas orgânicas, sendo que em alguns casos, ao final da reação é possível obter um produto que não requer purificação.²⁵⁻²⁸ Isto se dá pelo fato de a conversão de reagentes em produtos ser

alta, o que torna o processo sintético ainda mais interessante, posto que não solicita o uso de solventes, tanto na síntese quanto na purificação.²⁵⁻²⁸

Ademais, com base em diversos trabalhos reportados na literatura,²⁵⁻²⁷ e na experiência deste grupo de pesquisa, sabe-se que o método mecanoquímico pode ser eficientemente empregado na síntese de novas moléculas. Dentre estas, reações multicomponentes (Figura 3.3-a, 3.3-b)^{28,29} e reações de condensação (Figura 3.3-c e 3.3-d),^{3,30} podendo ser destacado o uso desta metodologia na obtenção de derivados de curcumina com estruturas variadas.^{3,28,29}

Figura 3.3. Fórmulas estruturais das moléculas orgânicas sintetizadas pelo grupo, fazendo uso do método mecanoquímico.



Fonte: Da autora.

Portanto, o objetivo deste capítulo é apresentar a síntese mecanoquímica e a caracterização de um novo derivado de curcumina-glicina. Além disso, serão apresentadas as caracterizações dos precursores de síntese, e particularidades relacionadas ao uso do método mecanoquímico na obtenção do derivado de curcumina-glicina.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Materiais

Todos os reagentes foram recebidos e utilizados sem nenhuma purificação prévia:

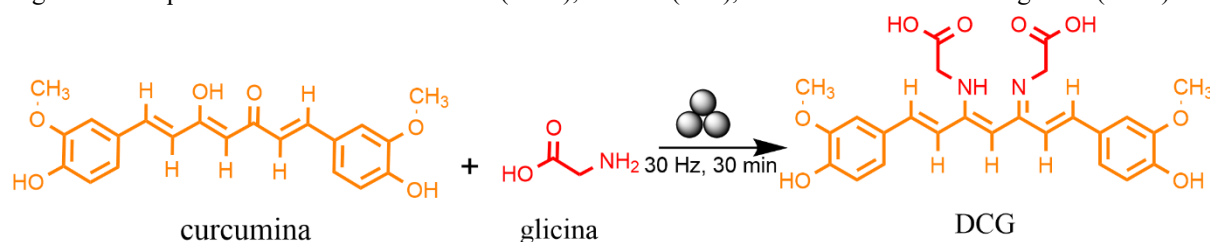
- Azul de bromotimol (Synth, P.A.)
- Clorofórmio deuterado ($CDCl_3$, 99,8%).
- Curcumina (CUR, 92%);
- Etanol (Synth, 99,5%);
- Glicina (Gli, Sigma Aldrich, 98,5%);
- Hidrogenoftalato de potássio (Sigma Aldrich, 99,9%)
- Hidróxido de sódio (NaOH, Synth P.A.)

3.2.2 Síntese mecanoquímica do derivado de curcumina-glicina (DCG).

A síntese do composto apresentado neste capítulo foi realizada no moinho da Restch, MM 400. Somente neste caso foram utilizados jarros de aço inox (10 mL), fazendo uso de uma esfera de aço inox de 7 mm. Alguns testes foram feitos nos jarros revestidos com óxido de zircônio (os quais foram utilizados na síntese do PEG_AS, apresentado no Capítulo 2), entretanto, o derivado de curcumina aderiu muito às paredes dos jarros, o que resultou em uma maior dificuldade de retirar o material, bem como no processo de limpeza dos jarros.

Foram reagidos 1 mmol de curcumina e 4 mmol de glicina, para obter-se a base de Schiff curcumina-glicina (DCG, Figura 3.4). A síntese foi conduzida na frequência de 30 Hz, durante 30 minutos. Após o final da síntese, o produto foi purificado lavando-o com água destilada, para retirar a glicina residual. Posteriormente, a amostra foi seca a 100 °C em estufa, durante 10 minutos, e obteve-se rendimento reacional de 86%.²⁹

Figura 3.4. Esquema de síntese da curcumina (CUR), Glicina (GLi), e derivado de curcumina-glicina (DCG).



Fonte: Da autora.

3.2.3 Sínteses *Neat Grinding* (NG) e *Liquid-Assisted-Grinding* (LAG) para avaliação de direcionamento do polimorfismo de DCG e CUR em sínteses realizadas em estado-sólido.

Dentre as abordagens que podem ser utilizadas no método mecanoquímico, há duas comumente comparadas: *Neat Grinding* (NG) e *Liquid-Assisted-Grinding* (LAG), as quais se referem às sínteses na ausência e na presença de pequenas quantidades de solvente, respectivamente.²⁵⁻²⁷

Na seção 3.3.4 desta tese, será discutido a obtenção de diferentes polimorfos do derivado de curcumina-glicina (DCG) e também da curcumina (CUR), em função da presença de uma pequena quantidade de solvente na síntese mecanoquímica.

A metodologia de síntese do DCG, reportada no item 3.2.1, que não faz solvente, é denominada como “*Neat Grinding* (NG)”, e por este motivo, na seção 3.3.4, este composto será nomeado como NG DCG, ao passo que para a síntese LAG, este composto será nomeado como LAG DCG.

Vale a pena destacar que exclusivamente para este estudo de polimorfismo, posto que foram realizados vários testes reacionais até encontrar as condições ideais para os resultados obtidos, a síntese de NG DCG e LAG DCG foi conduzida na proporção 1:4, entretanto trabalhando as concentrações 0,5 mmol de curcumina e 2 mmol de glicina, almejando evitar o desperdício de reagentes.

Além disso, todas as sínteses descritas nos subitens abaixo, foram conduzidas no moinho de bolas vibracional da Restch, MM 400, utilizando jarros de aço inox (10 mL), fazendo uso de uma esfera de aço inox de 7 mm.

3.2.3.1 Síntese *Liquid-Assisted-Grinding* – derivado curcumina-glicina (LAG DCG).

Foram reagidos 0,5 mmol de curcumina e 2 mmol de glicina, seguido da adição de 30 µL de etanol para obter-se LAG DCG. A síntese foi conduzida na frequência de 30 Hz, durante 30 minutos. Após o final da síntese, o produto foi purificado lavando-o com água destilada, para retirar a glicina residual. Posteriormente a amostra foi seca na estufa, em 100 °C, durante 10 minutos, e obteve-se rendimento reacional de 80%.

3.2.3.2 Moagem *Neat Grinding* - curcumina (NG CUR).

100 mg de curcumina foram moídos no moinho de bolas Restch MM 400, fazendo uso de jarros e esferas de aço-inox, durante 30 minutos, operando na frequência de 30 Hz.

3.2.3.3 Moagem *Liquid-Assisted-Grinding* – curcumina (LAG CUR).

100 mg de curcumina foram moídos na presença de 30 µL de etanol, em um moinho de

bolas Restch MM 400, fazendo uso de jarros e esferas de aço-inox, durante 30 minutos, operando na frequência de 30 Hz.

3.2.4 Equipamentos

Com exceção da espectrometria de massas, os mesmos equipamentos e condições de análise apresentados no Capítulos 2 foram empregados na caracterização das substâncias abordadas tanto neste capítulo, quanto nos capítulos subsequentes (Capítulos 4 e 5). Dessa forma, somente serão descritas as condições de análise caso elas se diferenciem das apresentadas no capítulo 2, com o objetivo de evitar-se a repetição da informação.

3.4.1.1 Espectrometria de Massas (MS)

Foi realizada a análise por espectrometria de massa da curcumina (Sigma, 65%), visando identificar a presença de outros curcuminoides, como demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina. A análise foi realizada no modo negativo, no equipamento 3200 QTRAP®, AB SCIEX, usando um íon *trap*, e triplo quadrupolo-linear.²⁸ A amostra foi dissolvida em metanol e foi adicionado 0,1% de hidróxido de amônio como aditivo.

3.2.4.2 Titulação de retorno

50 mg do derivado de curcumina-glicina (NG DCG) foi misturado com 100 mL de água destilada, 15 mL de hidróxido de sódio ($0,094 \text{ mol L}^{-1}$), previamente padronizado com hidrogenoftalato de potássio e a mistura foi agitada até completa dissolução de NG DCG. A titulação foi realizada em triplicata utilizando uma bureta automática digital (Digitrate Pro, 50 mL $\pm 0,2$), pHmetro Hanna 2221 e ácido clorídrico padronizado ($0,097 \text{ mol L}^{-1}$) como titulante. Utilizou-se o azul de bromotimol como indicador para averiguar a variação colorimétrica de NG DCG em função da variação do pH. O resultado da titulação demonstrou que o composto foi obtido com uma pureza de 89% para o DCG (NG DCG).

3.2.4.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As análises foram realizadas no equipamento da Shimadzu Sistema LC-20AT, utilizando o detector SPD-M20 DAD. O equipamento possui um amostrador automático modelo SIL-20A HT, e um Forno de coluna CTO-10AS. Foi utilizada a coluna cromatográfica da Phenomenex C18 (250 mm x 4,6 mm) juntamente com uma pré-coluna. A fase móvel da análise foi composta por água ultrapurificada e acetonitrila (solução eluente) na proporção de 95:5 (v/v). Essa solução eluente foi passada pelo sistema CLAE por 1 h, com fluxo de 1 mL min^{-1} . Posteriormente volume total de injeção de amostra no equipamento foi fixado em 1 mL.

3.2.4.4 Testes qualitativos realizados no aparelho digital de ponto de fusão

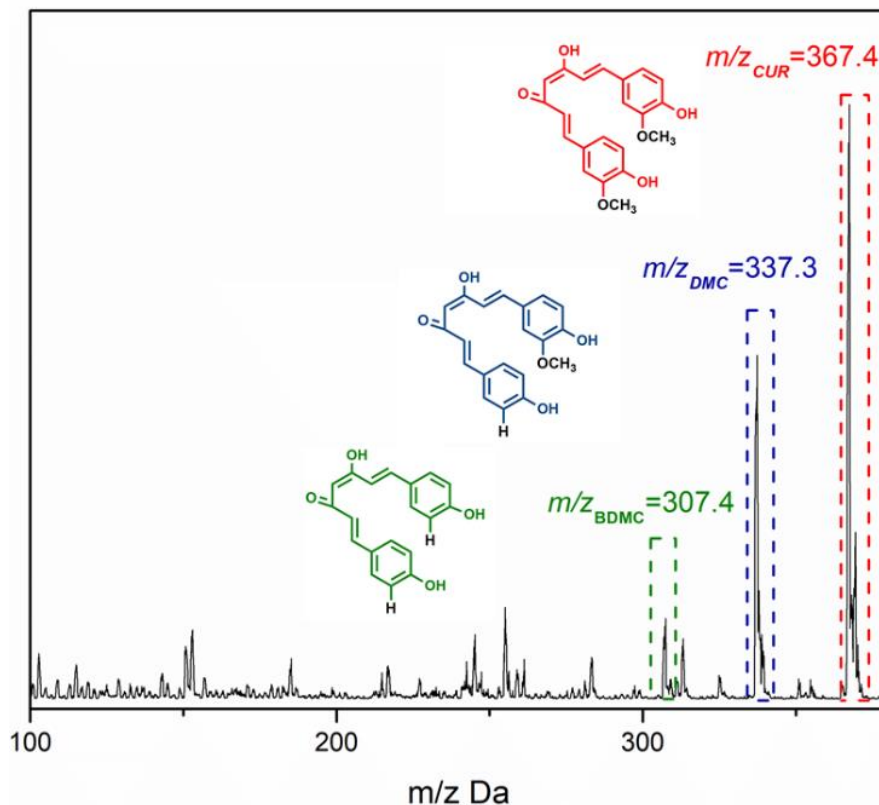
Os testes qualitativos foram realizados no equipamento de ponto de fusão da empresa microquímica, modelo MQAPD-302. Para isso, uma pequena quantidade de amostra (ponta de espátula) foi adicionada em um béquer de 10 mL, e a amostra foi aquecida até a temperatura máxima de 350 °C, almejando observar o comportamento térmico dos compostos de trabalho.

3.3 Resultados e Discussões

3.3.1 A pureza do reagente curcumina pode afetar nos produtos de síntese?

É reportado na literatura que a curcumina (CUR) pode coexistir com outros curcuminóides, dentre eles, ressalta-se que a presença de demetoxicurcumina (DMC) e bisdemetoxicurcumina (BDMC) é mais acentuada.^{1,28,29} O reagente curcumina proveniente da empresa Merck (CAS: 458-37-7) é comumente comercializado com a pureza $\geq 65\%$. Na intenção de confirmar a presença dos curcuminóides DMC e BDMC neste reagente, a amostra foi analisada por MS (Figura 3.5).

Figura 3.5. Espectro de massas no modo negativo do reagente curcumina proveniente da Merck (pureza $\geq 65\%$).



Fonte: Da autora.

A Figura 3.5 apresenta também as estruturas dos curcuminóides CUR, DMC e BDMC. Pode ser observado no espectro, que os sinais de íons moleculares de maior intensidade

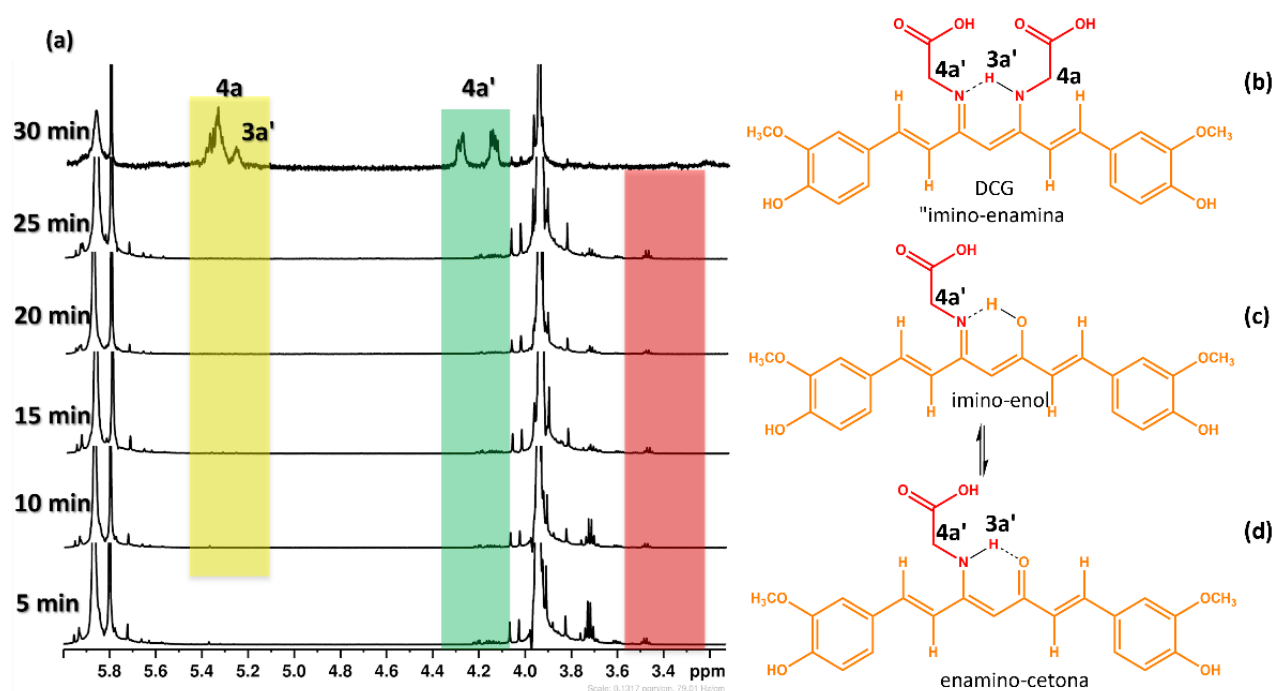
pureza de 86%, como apresentado na Figura A3.1 presente no Apêndice.

3.3.2 Estudos de condição de síntese e caracterização espectroscópica.

A síntese da base de Schiff derivada de curcumina e glicina (DCG) foi feita conforme descrito na literatura,²⁹ utilizando uma frequência de 30 Hz, sem solvente (*Neat Grinding*) e para avaliar o melhor tempo de síntese, as moagens foram conduzidas durante 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. Para cada produto moído num dado tempo de síntese, foram feitas análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H).

A Figura 3.7-a exibe os espectros de RMN ^1H de cada amostra preparadas em diferentes tempos de reação. Foi observado que a base de Schiff dissubstituída (Figura 3.7-b) pôde ser obtida com 30 minutos de moagem. Os sinais H4a (5,34 ppm), H4a' (4,30-4,14 ppm), e H3a' (5,27 ppm) observados para o tempo de 30 minutos (Figura 3.7-a), indicam a formação da base de Schiff dissubstituída (Figura 3.7-b). No entanto, uma vez que a análise é feita em solução, há a possibilidade de o composto apresentar tautomeria, formando assim uma imina-enamina (Figura 3.7-b.)^{29,33}

Figura 3.7. Espectros de RMN ^1H em CDCl_3 para a DCG moída em diferentes tempos reacionais (a), estrutura da DCG (b) e possíveis intermediários reacionais (c) e (d).



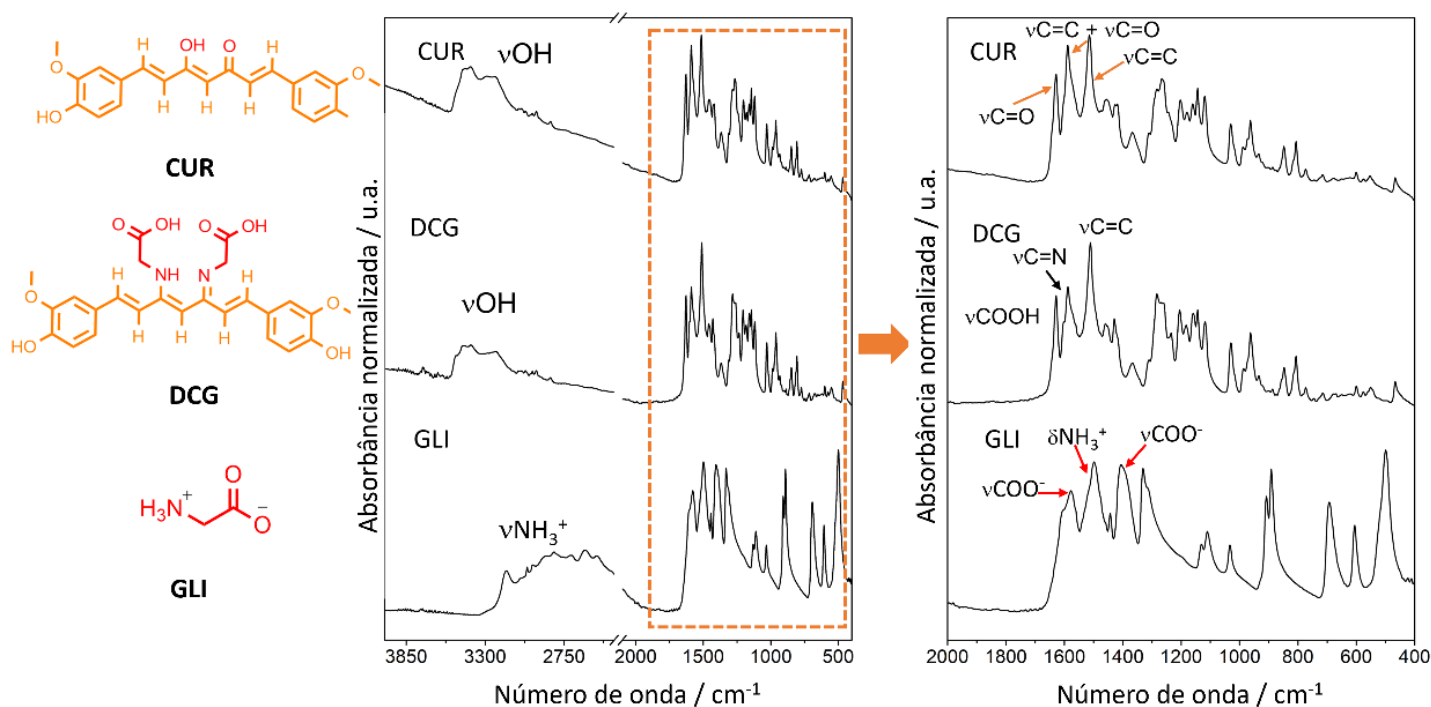
Fonte: Da autora.

As estruturas representadas nas Figuras 3.7-c e 3.7-d mostram os possíveis intermediários que podem existir durante a obtenção de um produto dissubstituído (d).

tautômero enol em estado sólido. Assim, a forma enólica da curcumina tem a capacidade de realizar interações intramoleculares do tipo ligações de hidrogênio entre o oxigênio da cetona e o hidrogênio do grupo OH do enol ($-RC=O---H-O-R$), o que resulta na diminuição da frequência de absorção das carbonilas, bem como da intensidade das bandas $C=O$.³² Além disso, alguns autores reportam que a banda em 1603 cm^{-1} também está associada ao estiramento $\nu C=C$, sugerindo uma sobreposição das absorções de estiramento $\nu C=C$ e $\nu C=O$.^{28,32,33} Por fim, as bandas de estiramento do anel aromático podem ser observadas em 1509 cm^{-1} e 1429 cm^{-1} .

Como pode ser observado, o espectro MIR da DCG (Figura 3.9) é muito semelhante ao espectro MIR da CUR. As principais bandas são observadas em 1627 , 1587 e 1509 cm^{-1} , e estão relacionadas aos estiramentos $\nu COOH$, $\nu C=N$, $\nu C=C$, respectivamente. Além disso, a banda em 1587 cm^{-1} também pode ser atribuída a $\nu C=C_{\text{aromático}}$, sobreposta a $\nu C=N$.^{28,29,32}

Figura 3.9. Espectros de MIR da curcumina (CUR), DCG e Glicina (GLI).

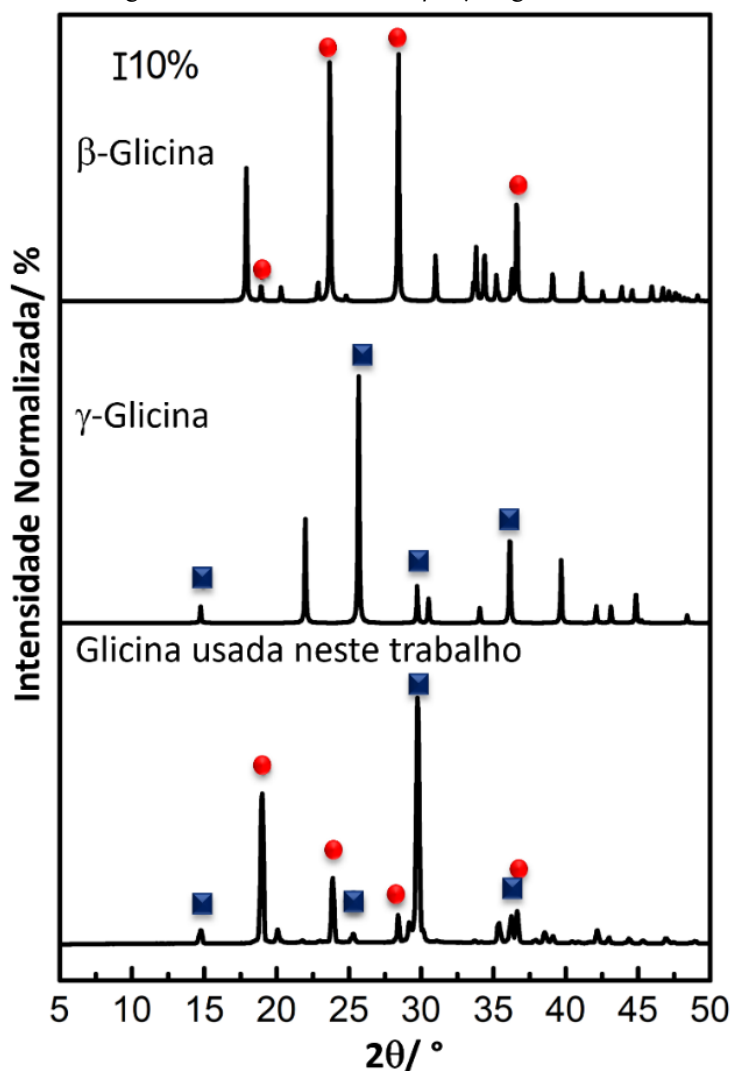


Fonte: Da autora.

O espectro MIR da GLI não apresenta nenhuma banda intensa na região entre 1600 - 1700 cm^{-1} , o que sugere que as moléculas do composto usado na síntese estão na forma *zwitterionica* no estado sólido.³² Dessa forma, é esperado observar os estiramentos dos grupos carboxilato (νCOO^-) e amina protonada (NH_3^+). Assim, as bandas em 1576 e 1411 cm^{-1} , podem ser atribuídas aos estiramentos νCOO^- (assimétrico), e νCOO^- (simétrico), respectivamente, enquanto a banda em 1502 cm^{-1} é referente a vibração associada à deformação angular $\delta N-H$ (de NH_3^+). Por fim, a banda alargada entre 3250 - 2500 cm^{-1} é referente ao estiramento $N-H$.^{29,32}

Posteriormente foi coletado o difratograma de raios X pelo método pó (DRXP) da glicina, e este foi comparado com os difratogramas calculados de diferentes formas polimórficas da glicina depositadas na plataforma Cambridge Structural Database (CSD, código de referência 4504971 e 4504969)³⁴ (Figura 3.10). Com base nos resultados obtidos sugere-se que GLI utilizada seja uma mistura das formas polimórficas β e γ .^{35,36} É importante ressaltar que em ambas as formas polimórficas da glicina ocorrem na forma de *zwitterions*, estando assim em concordância com o espectro MIR da GLI.

Figura 3.10. Difratograma de PXRD da glicina usada neste trabalho (dado experimental) em comparação com os difratogramas teóricas das formas β e γ da glicina.



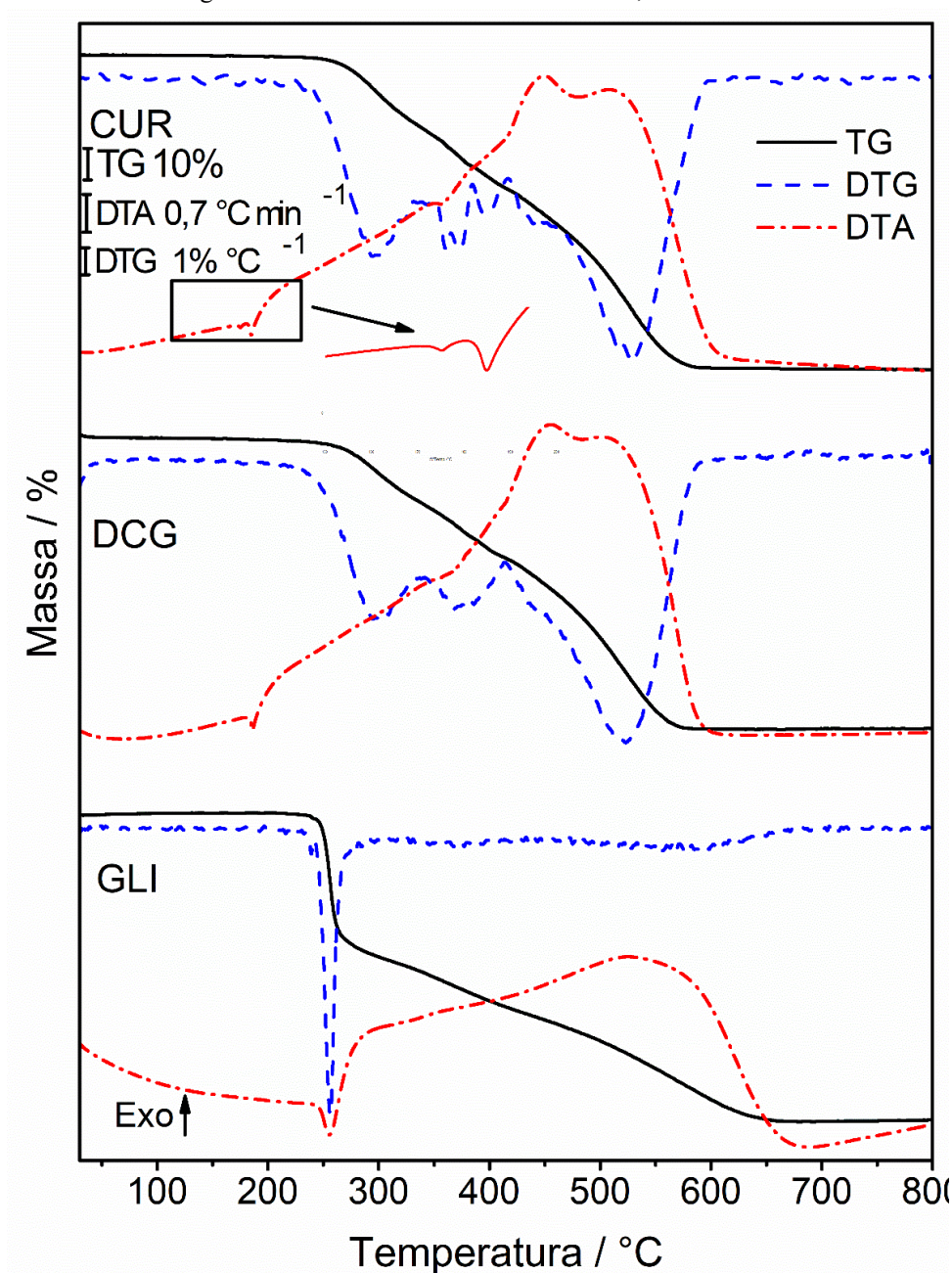
Fonte: Glicina usa neste trabalho (da autora), Difratogramas da glicina β (CIF 5000008) e γ CIF(4504971) obtidos pelo Programa Mercury.

3.3.3 Caracterização termoanalítica.

A curvas TG/DTG-DTA da CUR, DCG e GLI estão apresentadas na Figura 3.11. Pelas curvas TG/DTG da CUR é possível determinar que sua estabilidade térmica é até 228,7 °C, e a

decomposição térmica deste composto ocorre em 3 etapas de perda de massa consecutivas e sobrepostas. Estas etapas de perda de massa ocorrem sobrepostas entre 228,7-602,9 °C ($\Delta m_{total}=99,48\%$), associadas as exotermas entre 372,6-601,9 °C na curva DTA. A Tabela 3.1 apresenta os intervalos de temperatura associados a cada etapa de perda de massa (θ), variações de massa (Δm), e temperaturas de pico (T_p).

Figura 3.11. Curvas TG/DTG-DTA da CUR, DCG e GLI.



Fonte: da autora.

Além disso, antes da decomposição da CUR, são observados dois eventos endotérmicos na curva DTA em 175,1 °C e 184,9 °C, os quais provavelmente estão associados à dois processos de fusão da amostra, os quais serão melhor discutidos a partir dos resultados de DSC.

Tabela 3.1. Intervalos de temperatura associados a cada etapa de perda de massa (θ), variações de massa (Δm), e temperaturas de pico (T_p).

Composto			1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa
CUR	$\theta/^\circ\text{C}$		228,7-331,5	331,5-417,5	417,5-604,8
	$\Delta m/\%$		20,67	21,30	57,45
	$T_p/^\circ\text{C}$	175,1 ↓/184,9 ↓	-	356,9↓	381,5-610,0*
DCG	$\theta/^\circ\text{C}$		220,8-336,5	336,5-415,6	415,6-695,8
	$\Delta m/\%$		20,54	19,62	59,74
	$T_p/^\circ\text{C}$	186,5	-	337-598,8*	
GLI	$\theta/^\circ\text{C}$		224,1-271,9	271,9-672,0	
	$\Delta m/\%$	255,3	40,33	59,57	
	$T_p/^\circ\text{C}$		255,3↓	414,3-661,3*	

↓=evento endotérmico; *=exoterma.

As curvas TG/DTG-DTA da GLI estão apresentadas na Figura 3.11. De acordo com as curvas TG/DTG, a GLI é termicamente estável até 224,1 °C, e se decompõe em duas etapas de perdas de massa. A primeira etapa de perda de massa ocorre entre 224,1-271,9 °C ($\Delta m=39,91\%$), e está associado ao evento endotérmico em 255,3 °C na curva DTA. Para compreender o comportamento térmico da amostra, foi realizado um teste qualitativo, aquecendo um pouco de glicina em um béquer de 10 mL no equipamento digital de ponto de fusão (Figura A3.2). Foi observado, que a partir de 190 °C ocorre uma sublimação parcial da amostra, que condensou nas paredes do béquer.

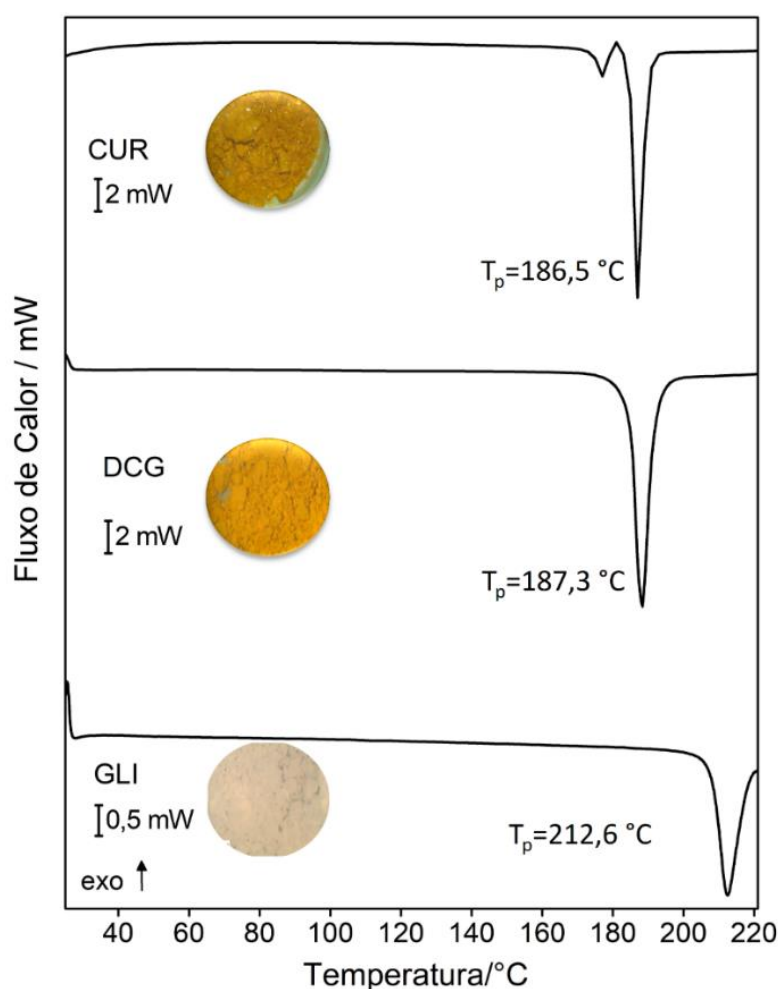
O intervalo de perda de massa entre 190,0 °C-224,8°C ($\Delta m = 0,60\%$), correspondente a um processo sublimação superficial da amostra, o que está em acordo com o observado na Figura A3.2. A partir de 225 °C, a amostra remanescente no fundo do béquer escurece. De acordo com reportado na literatura,³⁷ o evento endotérmico em 255,3 °C na curva DTA, é resultado na liberação dos gases CO₂, NH₃ e H₂O durante a primeira etapa de degradação térmica de GLI.³⁷ Posteriormente, na segunda etapa de degradação na curva TG, ocorre a degradação oxidativa do material remanescente, que não sublimou. Cada intervalo de temperatura pode ser observado na Tabela 3.1.

Por fim, as curvas TG/DTG do DCG (Figura 3.11), mostram que o composto é termicamente estável até 220,8 °C, e posteriormente sua decomposição térmica ocorre em duas etapas de perda de massa consecutivas, e sobrepostas, compreendidas no intervalo entre 220,8-672,0 °C ($\Delta m=99,90\%$). Estas etapas de degradação estão associadas aos eventos exotérmicos entre 356,3-604,1 °C na curva DTA. Além disso, o evento endotérmico observado na curva DTA

em 186,5 °C, conforme avaliado por testes qualitativos, está associado à fusão da amostra.

As curvas DSC da CUR, DCG e GLI estão apresentadas na Figura 3.12. A Curva DSC da CUR apresenta dois picos endotérmicos. Até o presente momento são conhecidas três formas polimórficas da curcumina pura: A Forma I da curcumina cristaliza-se no sistema monoclinico e grupo espacial P2/n, e as Formas II e III são formas metaestáveis, que se cristalizam no sistema ortorrômbico e grupo espacial Pca2₁, apresentando cada qual parâmetros de rede distintos.³⁸⁻⁴⁰ Na Forma I, a conformação da curcumina é ligeiramente torcida, enquanto nas Formas II e III ela é linear.³⁸⁻⁴⁰

Figura 3.12. Curvas DSC da CUR, DCG e GLI.



Fonte: da autora.

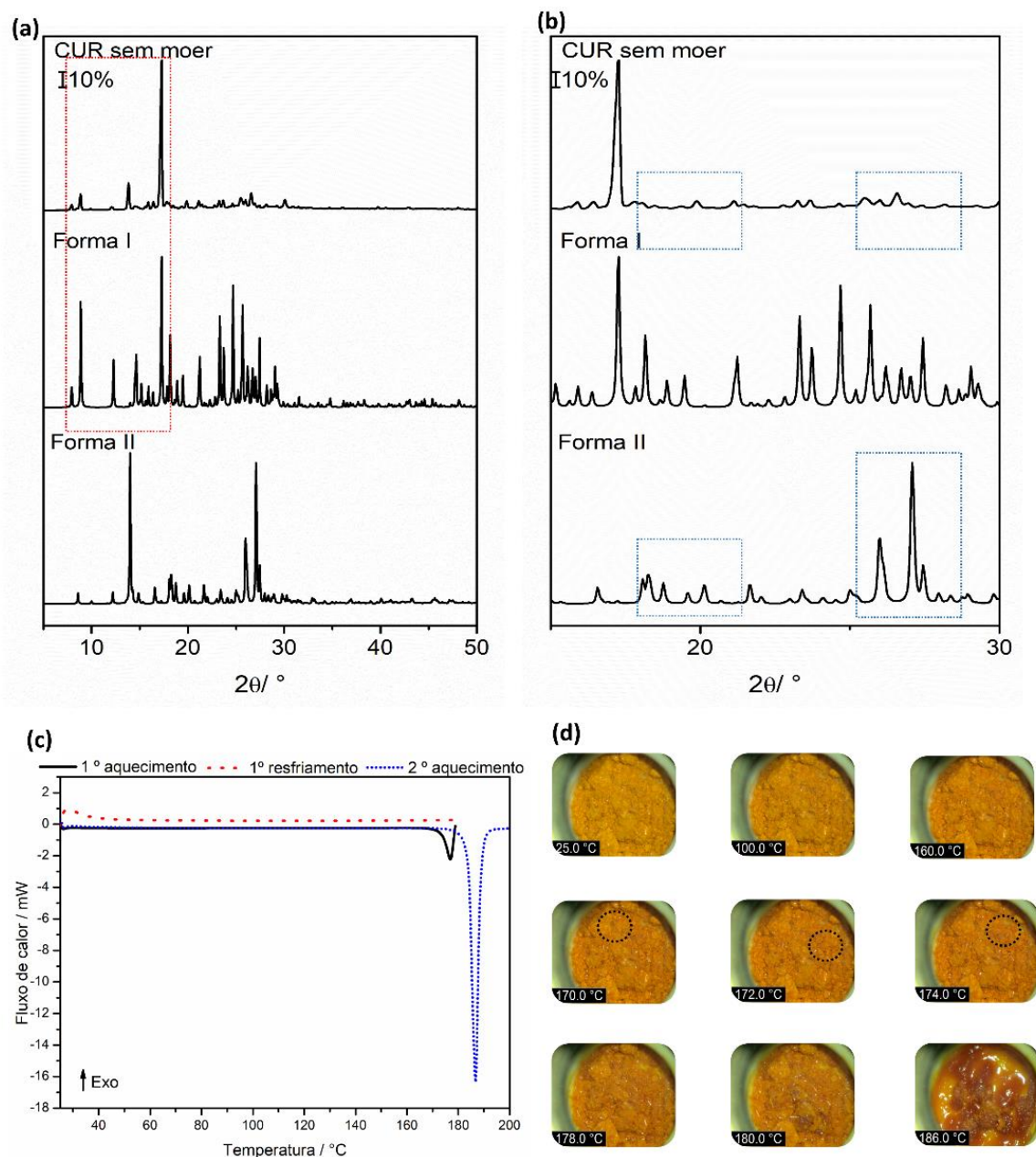
Com o intuito de confirmar qual é a forma polimórfica da curcumina usada neste trabalho, e assim compreender seu comportamento térmico, foi coletado o difratograma de raios X da amostra. Como pode ser observado nas Figuras 3.13-a e 3.13-b, a curcumina é uma mistura dos polimorfos referentes a Forma I e Forma II.³⁸⁻⁴⁰

Nesse sentido, com base em trabalhos anteriores apresentados na literatura, é possível

sugerir que o primeiro pico endotérmico na curva DSC da CUR (Figura 3.12), em 176,7 °C corresponde à fusão da forma metaestável II presente na amostra, seguido da cristalização desta de líquido na Forma I da CUR, conforme pode ser visto pelo evento exotérmico 180,1 °C.

Esta cristalização provavelmente está associado à uma relação monotrópica, em que ocorre a conversão da Forma II em Forma I, seguido da fusão da última, em 186,5 °C. Tais resultados estão em acordo com trabalhos semelhantes encontrados na literatura.^{38,41}

Figura 3.13. Difratomogramas de raios X da CUR sem moer em comparação com as formas I e II (a) e (b). Curvas DSC ciclo da curcumina: 1º aquecimento e resfriamento (25-179°C), 2º aquecimento (25-200 °C) (c). Imagens de DSC fotovisual da curcumina (d).



Fonte: da autora.

A fim de avaliar uma possível reversibilidade do primeiro evento endotérmico em 176,7 °C,

foi realizada um DSC cíclico, na qual o primeiro ciclo de aquecimento/ resfriamento foi realizado no intervalo compreendido entre 25-179 °C e o segundo aquecimento foi feito até 200 °C.

A curva DSC apresentada na Figura 3.13-c, mostra um evento endotérmico no primeiro aquecimento, em 176,7 °C, enquanto no resfriamento, não são observados eventos térmicos. Já na segunda rampa de aquecimento, somente é observado o evento em 185,8 °C, referente a fusão da amostra.

A partir das imagens de DSC fotovisual (Figura 3.13-d), pode-se observar que em 176 °C existem algumas regiões da amostra em que ocorre o processo de fusão, e que posteriormente partir de 180 °C é observada a fusão completa da amostra no cadinho. Este dado corrobora a sugestão de mistura de polimorfos na CUR.

A curva DSC da GLI (Figura 3.12) apresenta um pico endotérmico em 212,6 °C, o qual é referente à uma transição de fase. Foram obtidos os difratogramas de raios X da GLI sem aquecer, e aquecida até 212 °C (Figura A3.3), os quais confirmaram que houve uma transição polimórfica após aquecer amostra até 212 °C. Conforme apresentado na Figura 3.10, a glicina utilizada neste trabalho é uma mistura de polimorfos nas fases β e γ .

Portanto, ao aquecer a amostra, ocorre a conversão da fase $\beta \rightarrow \gamma$. Foram obtidas também as imagens de DSC fotovisual da GLI (Figura A3.4), as quais mostram que a amostra apresenta uma contração, referente à uma sublimação parcial, e em 212 °C observa-se que não ocorre uma fusão, o que está em acordo com os dados anteriores.

Por fim, a curva DSC da DCG também está apresentada na Figura 3.12. O pico em 187,3 °C, corresponde à fusão da amostra. Esse evento físico pode ser confirmado pelas imagens de DSC fotovisual, apresentadas na Figura 3.14.

Curiosamente, ao analisar as imagens de DSC fotovisual a partir de 168 °C pode ser observado uma variação na tonalidade da amostra de laranja para amarela, a qual é mais nítida em 174 °C, antes do processo de fusão.

Figura 3.14. Imagens de DSC fotovisual da DCG.

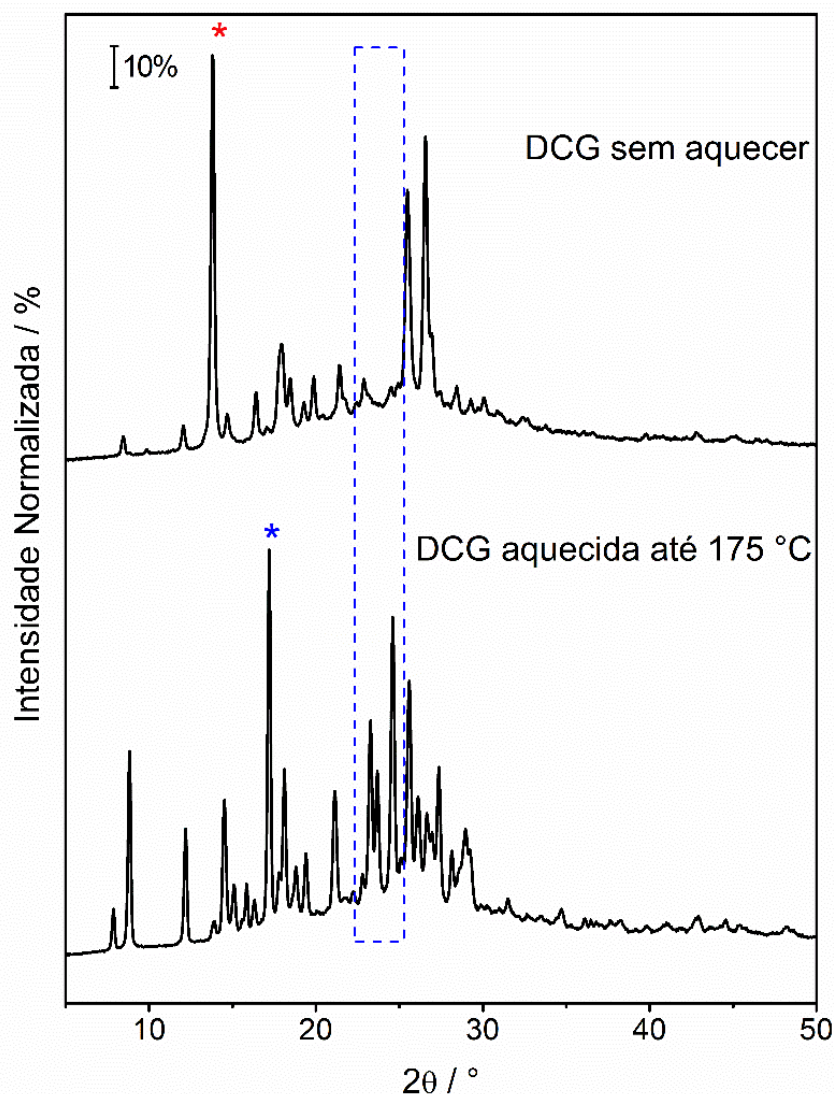


Fonte: da autora.

Almejando compreender se esta variação de cor poderia se tratar de alguma transição de fase, foi aquecida uma amostra de DCG até 175 °C, e foi coletado seu difratograma de PXRD (Figura 3.15).

Conforme pode ser notado na Figura 3.15, os padrões de difração da DCG antes e após ser aquecido se diferem muito, principalmente pelo pico de difração com maior intensidade, na qual é observado em 13,87° na amostra antes de aquecer (asterisco vermelho), e em 17,21° após ser aquecido (asterisco azul). Além disso há o surgimento de novos picos de difração na amostra aquecida, entre 22-25° no 2 θ (destacado em azul). Tais dados sugerem então que a DCG apresenta uma transição de fase antes da fusão, sendo que esta transição não apresenta sinal na curva DSC, nas condições desta análise.

Figura 3.15. Difratomogramas de PXRD da DCG sem aquecer e aquecida até 175 °C.



Fonte: da autora.

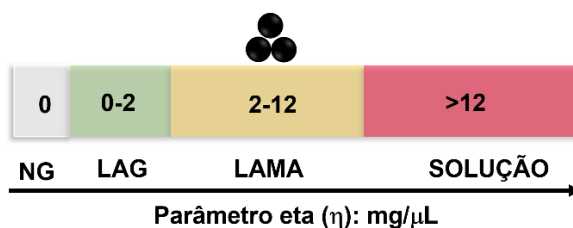
3.3.4 Fatores que influenciam na síntese mecanoquímica de DCG.

3.3.4.1 Efeito do solvente na moagem.

É reportado na literatura que alguns fatores como a adição de solvente na moagem mecanoquímica, podem resultar na obtenção de distintas formas polimórficas de diferentes compostos.^{25,26} O controle de polimorfismo em estado sólido, é vantajoso, visto que estas sínteses tendem a ser mais facilmente reproduzíveis do que as convencionais recristalizações utilizando solventes.

A relação entre a quantidade de solvente em microlitros por miligrama dos reagentes na síntese/moagem mecanoquímica dá origem ao parâmetro η (η),^{26,42,43} e dependendo dos valores de n , podem ser classificadas distintas metodologias, conforme apresentado na Figura 3.16.

Figura 3.16. Escala associada ao parâmetro η para sínteses do tipo NG, LAG, LAMA e solução.



Fonte: Da autora.

As sínteses que utilizam a metodologia *Liquid-Assited-Grinding* (LAG), devem apresentar valores de η na faixa entre $0 < \eta \leq 2$, apresentando a unidade de $\mu\text{L}/\text{mg}$. Valores acima disso, são conderadas metodologias do tipo lama ($2 < \eta \leq 12$) ou solução ($\eta > 12$).^{25,26}

Na seção 3.3.3 deste capítulo, foi discutido que a base de Schiff DCG, quando aquecida, antes de da sua fusão ($187,3\text{ }^{\circ}\text{C}$), apresentou uma variação de coloração laranja-amarelo, que está associada a formação de um polimorfo da DCG.

Dessa forma, foi realizada uma síntese da DCG pelo método LAG, utilizando $30\text{ }\mu\text{L}$ de etanol, almejando averiguar se a este tipo de síntese poderia resultar na obtenção de um polimorfo de DCG. Nesse tópico do Capítulo 3, o composto DCG será nomeado como NG DCG e LAG DCG, e estas nomenclaturas estão associadas com o método de síntese *Neat Grinding* (NG) e *Liquid-Assited-Grinding* (LAG).

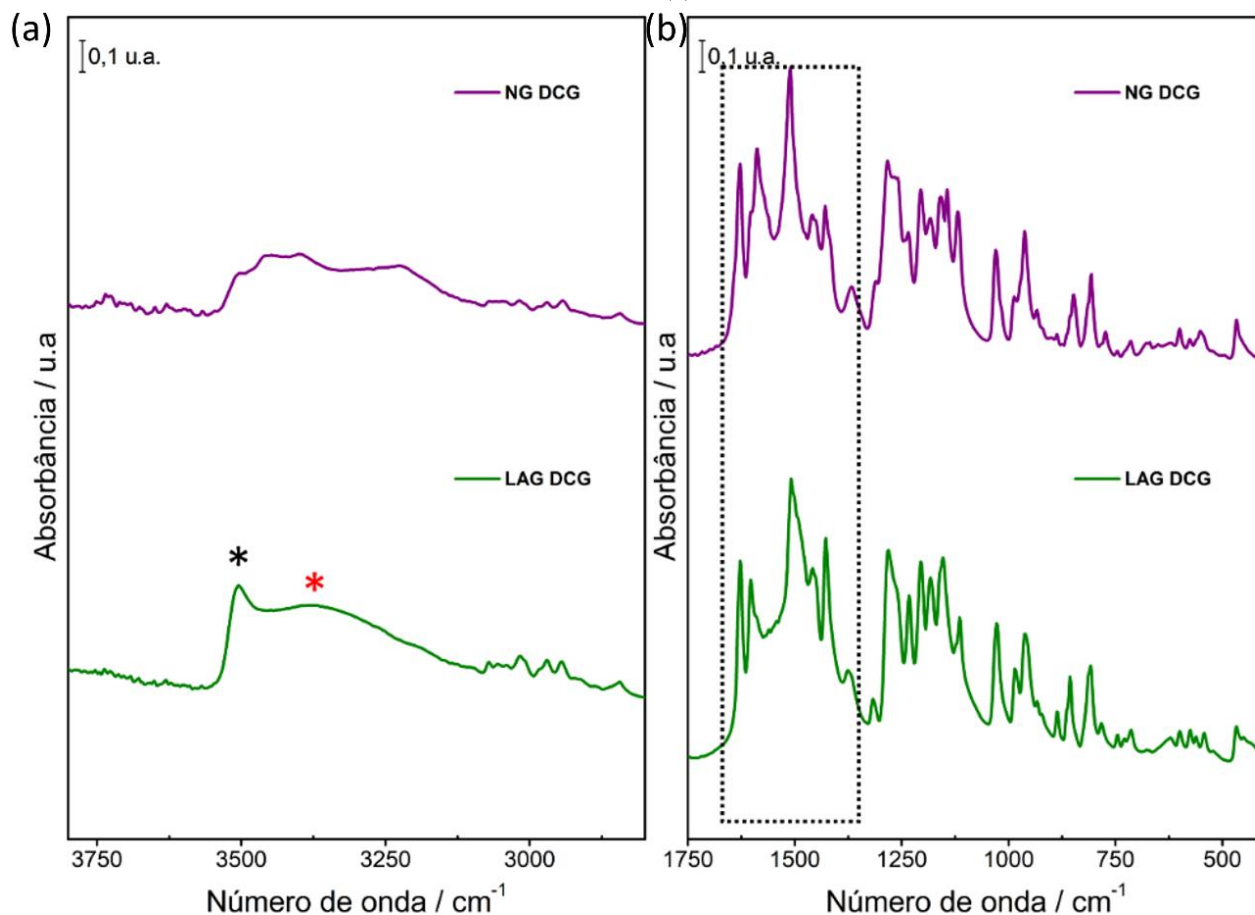
Ressalta-se que o composto DCG que foi discutido nos tópicos anteriores é referente ao NG DCG, visto que sua síntese foi realizada sem solvente, logo esta nomenclatura deste composto será discutida dessa forma, somente nessa seção deste capítulo.

Ao final da síntese de LAG DCG, foi obtido um composto de coloração amarela, em contraposição com NG DCG, que apresenta coloração alaranjada.

A Figura A3.5, disposta no apêndice, apresenta os espectros de RMN ^1H das amostras NG DCG e LAG DCG. Conforme pode ser observado, os espectros se assemelham, sendo observados os mesmos deslocamentos químicos para NG DCG e LAG DCG. Este resultado indica que ambas as metodologias resultam na mesma base de Schiff.

A Figura 3.17 apresenta os espectros de MIR dos compostos NG DCG e LAG DCG. A banda destacada pelo asterisco preto no espectro MIR da LAG DCG (linha verde) em 3504 cm^{-1} , é característica de estiramento da ligação OH fenólica.

Figura 3.17. Espectros de MIR da NG DCG e LAG DCG ampliados nas regiões entre 3800-2900 cm^{-1} (a) e 1750-450 cm^{-1} (b)



Fonte: Da autora.

Posteriormente a banda alargada entre 3350-3200 cm^{-1} pode ser atribuída à banda de estiramento associada ao grupo OH de ácido carboxílico (asterisco vermelho). Comumente estes grupos podem realizar interações de dímeros, o que justifica o alargamento da mesma.

Já no espectro de MIR da amostra NG DCG (linha roxa) não são observadas bandas tão definidas nesta região. Observa-se uma banda alargada entre 3543-3086 cm^{-1} (Figura 3.17-a) que pode ser atribuída à sobreposição dos estiramentos dos grupos OH fenólico e OH de ácido carboxílico. O perfil destas bandas indica que o OH fenólico pode estar realizando de ligações de hidrogênio na estrutura de NG DCG.

Além disso, assim como destacado pelo quadrado tracejado preto na Figura 3.17-b, algumas bandas são observadas deslocadas quando comparados os espectros MIR de NG DCG e LAG DCG na região entre 1630-1500 cm^{-1} (Figura 3.16-b). A Tabela 3.2 agrupa as principais bandas, suas respectivas absorções e atribuições em cada amostra.

Tabela 3.2. Valores de absorção no MIR para NG DCG e LAG DCG, e suas respectivas atribuições.

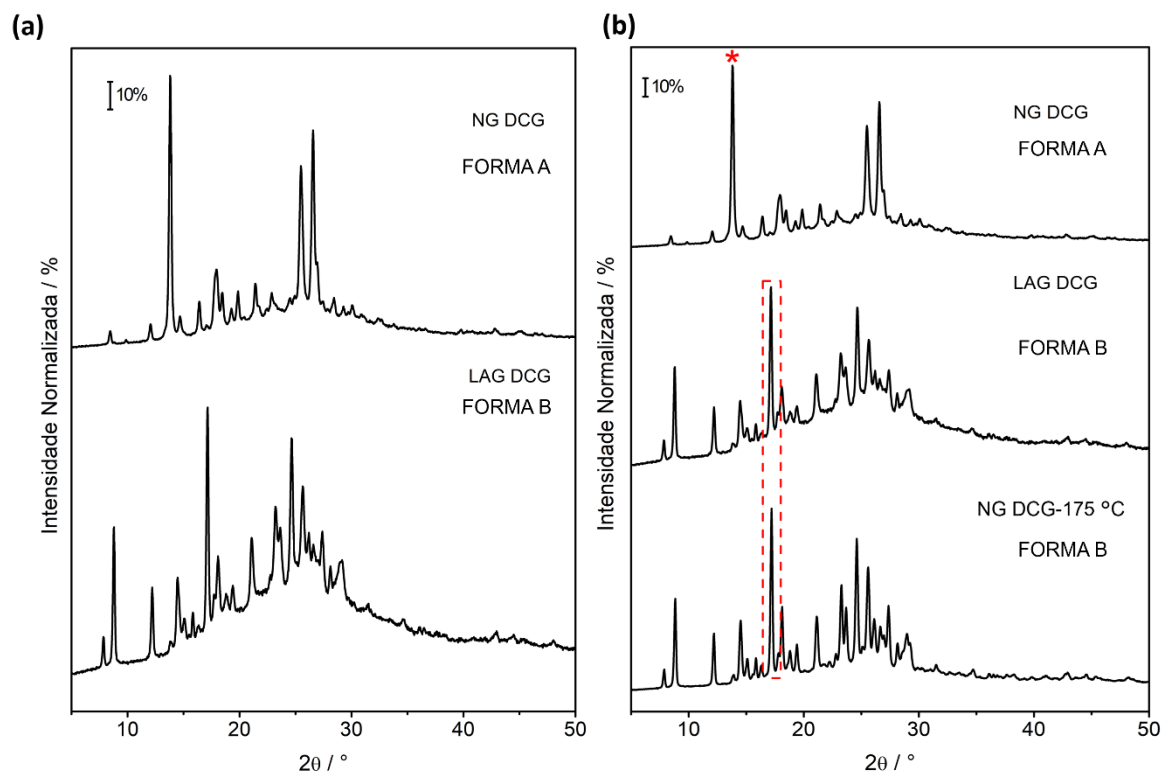
Atribuição	NG DCG (cm ⁻¹)	LAG DCG (cm ⁻¹)
ν O-H (fenol)	3543-3086	3504
ν O-H (ácido)	3543-3086	3437-3111
ν C=O (ácido)	1628	1627
ν C-N	1588	1602
ν C-O-C	1280	1277
ν C=C	1509	1508

Modo de vibração: ν =estiramento

Assim, os dados espectroscópicos de RMN ^1H e MIR confirmam que a base de Schiff proposta pode ser obtida tanto pelas metodologias em estado sólido pela moagem a seco (NG) ou pela moagem assistida por solvente (LAG) sem alterações na estrutura química final.

A caracterização seguinte visou confirmar a uma obtenção de polimorfos através das metodologias NG e LAG. Na Figura 3.18-a são apresentados os difratogramas pelo método do pó de NG DCG e LAG DCG. Nota-se que cada difratograma apresenta padrões de difrações distintos, bem como variações nos valores de 2θ para os picos de maior intensidade, ou seja, em $13,90^\circ$ (NG DCG) e $17,17^\circ$ (LAG DCG).

Figura 3.18. Difratogramas da NG DCG e LAG DCG (a) e NG DCG, LAG DCG e NG DCG aquecido (b).



Fonte: Da autora.

Assim, os distintos padrões de difração apresentados, associado ao cuidado experimental prévio para realização da análise, descarta-se a possibilidade de ter ocorrido uma orientação

preferencial durante o preparo de amostra.

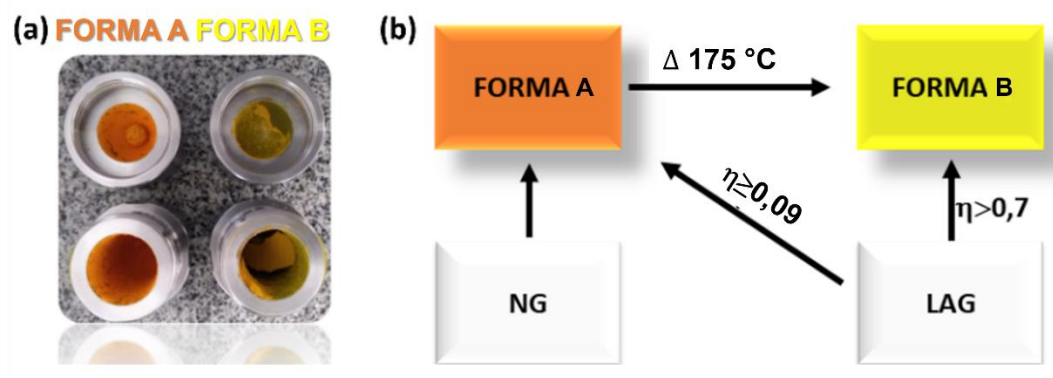
Dessa forma, as metodologias NG e LAG, resultaram na obtenção de distintos polimorfos de DCG. Sugere-se que a síntese NG DCG resulta na Forma A do composto DCG, enquanto a síntese LAG DCG resulta na obtenção da Forma B deste composto. Estes resultados são interessantes, uma vez que mostram que o método mecanoquímico pode ser útil não somente na obtenção da base de Schiff, mas também para a obtenção de polimorfos deste composto.

Foi observado ainda, que a forma polimórfica obtida pelo aquecimento de NG DCG (conforme reportado na seção 3.3.3), apresenta difratograma semelhante à Forma B (LAG DCG), obtida pela metodologia LAG (Figura 3.18-b).

Comparando o perfil do difratograma de raios X da amostra NG DCG aquecida, com o da amostra LAG DCG, observa-se que em ambos difratogramas o pico de difração em $17,17^\circ$ em 2θ está presente (destacado em vermelho). Além disso, os demais picos dispostos no difratograma de LAG DCG coincidem com os picos de difração do difratograma do composto NG DCG aquecido.

Portanto, pode-se concluir que este polimorfo em questão pode ser obtido tanto pelo método LAG, quanto por aquecimento da amostra NG DCG. A figura 3.19-a mostra as amostras NG DCG e LAG DCG após a síntese mecanoquímica. Enquanto a Figura 3.19-b esquematiza as diferentes formas polimórficas para o derivado curcuminico, conforme discutido nesta seção, e as condições para se obter a Forma A ou B de DCG.

Figura 3.19. Jarros ao final das sínteses com as amostras NG DCG (Forma I) e LAG DCG (Forma II) (a), esquema de como cada forma pode ser obtida (b).



Fonte: Da autora.

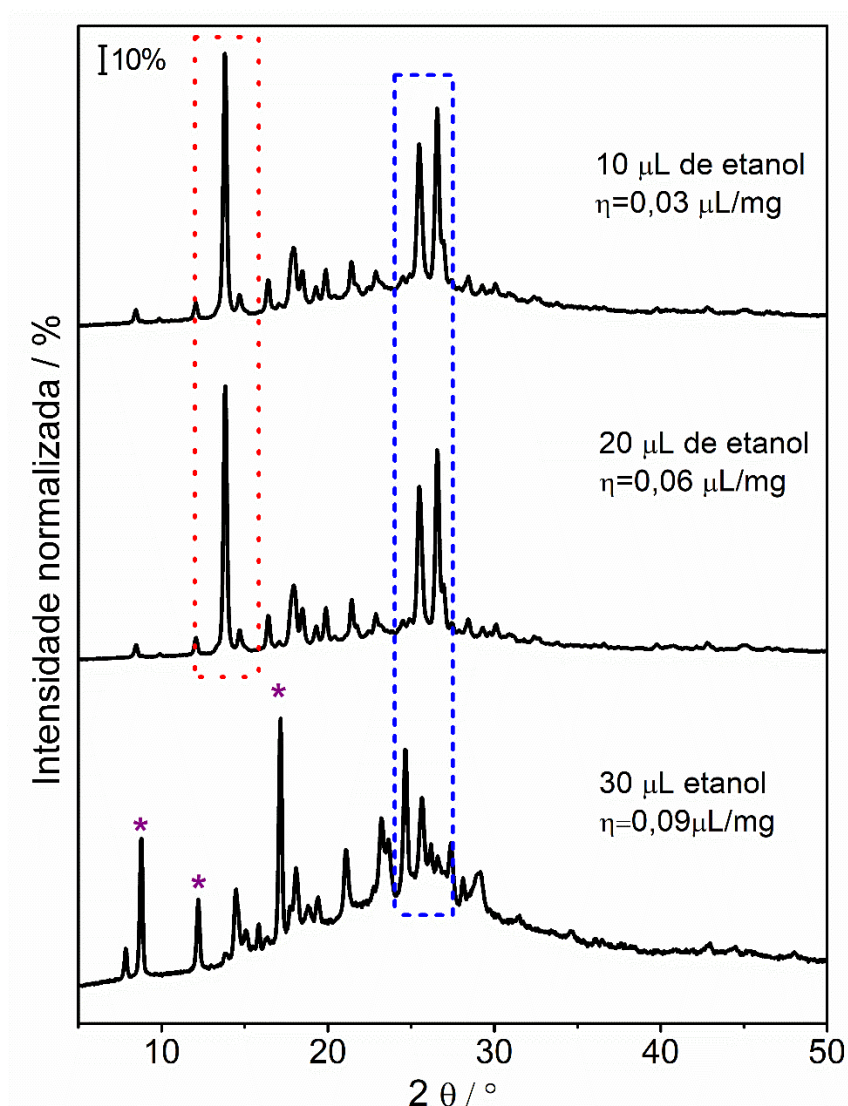
3.3.4.2 Efeito da quantidade de solvente na moagem de LAG DCG.

Tendo em vista que a quantidade de solvente poderá influenciar na formação de um dado polimorfo, foi avaliada a como a variação de quantidade de solvente na síntese LAG pode influenciar na formação do polimorfo B de DCG, ou seja-trabalhando-se com distintos valores do

parâmetro eta (η).^{26,42,43}

Conforme apresentado na Figura 3.20, somente a partir da utilização de 30 μL ($\eta = 0,09$ $\mu\text{L}/\text{mg}$) na síntese foi observado a obtenção de uma nova fase polimórfica de DCG. Além disso, as análises visuais feitas em laboratório mostraram que somente com 30 μL de etanol para a quantidade de 336,6 mg total dos reagentes curcumina e glicina, pode ser observada a formação de um composto de coloração amarela. Desta maneira, pode-se inferir que para obter o produto LAG DCG (Forma B) é preciso que o parâmetro η seja de no mínimo de 0,09 $\mu\text{L}/\text{mg}$.

Figura 3.20. Difratogramas PXRD da DCG moída com diferentes quantidades de etanol/reagentes (η).



Fonte: Da autora.

3.3.4.2 A influência do método mecanoquímico no polimorfismo da curcumina, e consequentemente na síntese de DCG.

Conforme discutido no tópico 3.3.3, a curcumina, que é precursora da síntese do composto DCG, apresenta 3 formas polimórficas, descobertas até o momento, em que as 3 estruturas mais conhecidas são comumente denominadas como Forma I-monocristalina ($P2/n$), Forma II-ortorrômbica ($Pca2_1$), Forma III-ortorrômbica ($Pbca$).^{39,40}

Nesse sentido, almejando compreender se o método mecanoquímico poderia resultar na formação destes polimorfos de curcumina, e se este resultado poderia influenciar na obtenção dos polimorfos de DCG (Forma A e Forma B), a curcumina foi moída nas condições NG e LAG, empregando os mesmos parâmetros sintéticos utilizados para DCG (seção 3.2.4.2 e 3.2.4.3).

A moagem NG CUR foi realizada moendo 100 mg de curcumina durante 30 minutos, na frequência de 30 Hz, enquanto a moagem da LAG CUR foi feita nas mesmas condições, se diferenciando apenas pela adição de 30 μ L de etanol na moagem. Ao abrir os jarros, observou-se que assim como para NG DCG e LAG DCG, as amostras NG CUR e LAG CUR apresentavam colorações distintas, sendo laranja e amarela, respectivamente. Coincidentemente este padrão de cor se assemelha com a coloração de NG DCG e LAG DCG, laranja e amarelo, respectivamente.

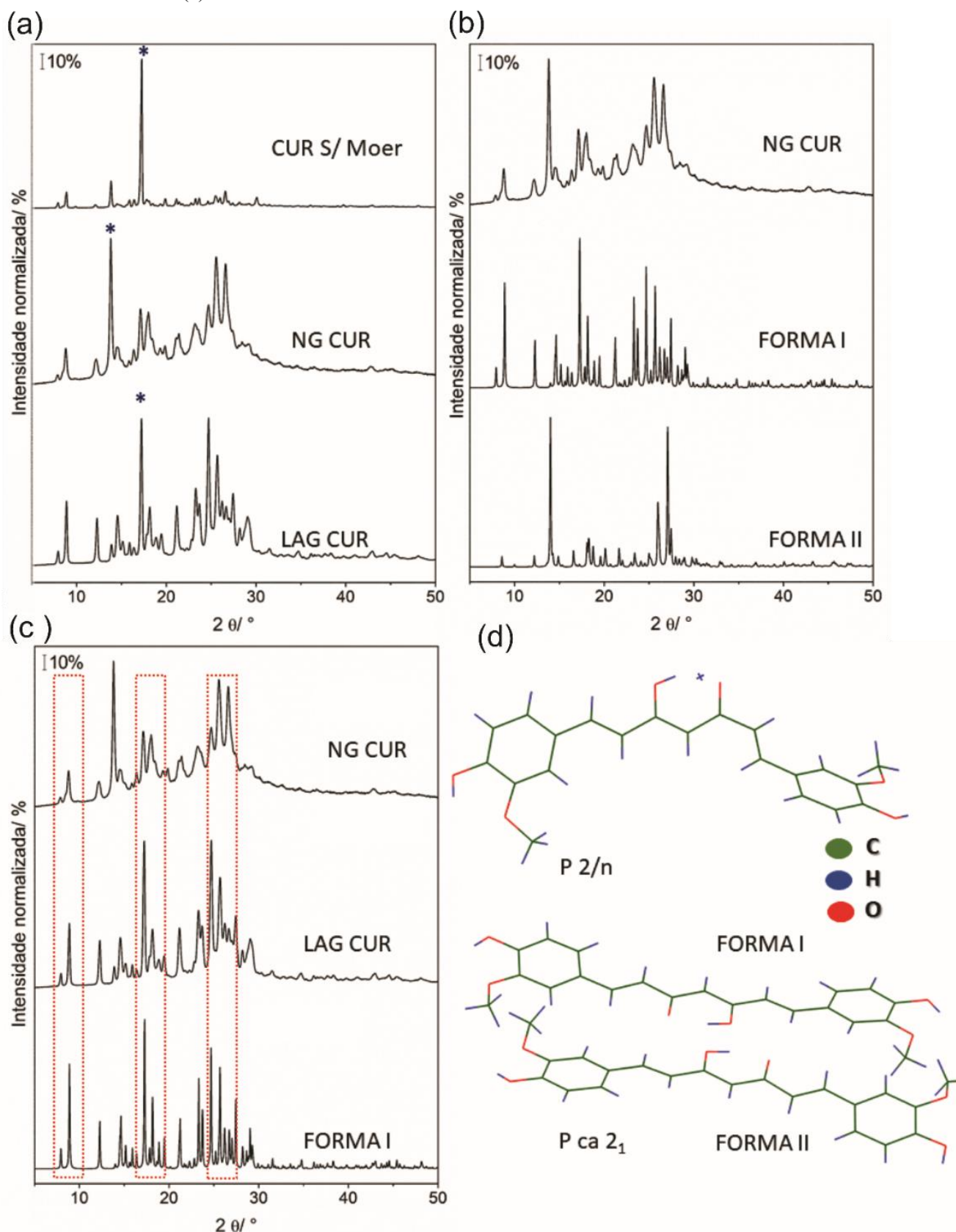
Os difratogramas das amostras de curcumina moída em comparação com o difratograma da curcumina sem moer são apresentados na Figura 3.21-a.

Nitidamente os padrões de difração se diferem, o que reforça a proposta de que distintos polimorfos são gerados em diferentes aborgagens de síntese mecanoquímica (NG e LAG). A partir da comparação dos difratogramas coletados para NG CUR e LAG CUR, com os difratogramas teóricos das Formas I e II da curcumina, foi possível sugerir que a NG CUR é uma mistura de polimorfos referentes às Formas I e II da curcumina (Figura 3.21-b).

Neste caso, tendo em vista que a curcumina sem moer também é uma mistura de polimorfos das Formas I e II, acredita-se, que pode ter sido formado uma maior quantidade do polimorfo II após a moagem, posto que alguns picos ficam mais proeminentes, tais como em $13,82^\circ$, $25,71^\circ$ e $26,72^\circ$. Já a LAG CUR, apresenta um halo comumente associado à uma amorfização, ainda que parcial da amostra, principalmente entre $25-30^\circ$. Entretanto, seu padrão de difração coincide com o padrão de difração referente à Forma I da curcumina (Figura 3.21-c).

Quando cristalizada na Forma I, a curcumina existe na Forma monoclinica (grupo espacial $P2/n$), apresentando-se como uma única molécula em sua unidade assimétrica, enquanto a forma II é ortorrômbica (grupo espacial $Pca2_1$), apresentando duas moléculas cristalograficamente distintas, designadas como moléculas A e B, em sua unidade assimétrica (Figura 3.21-d).³⁸⁻⁴⁰

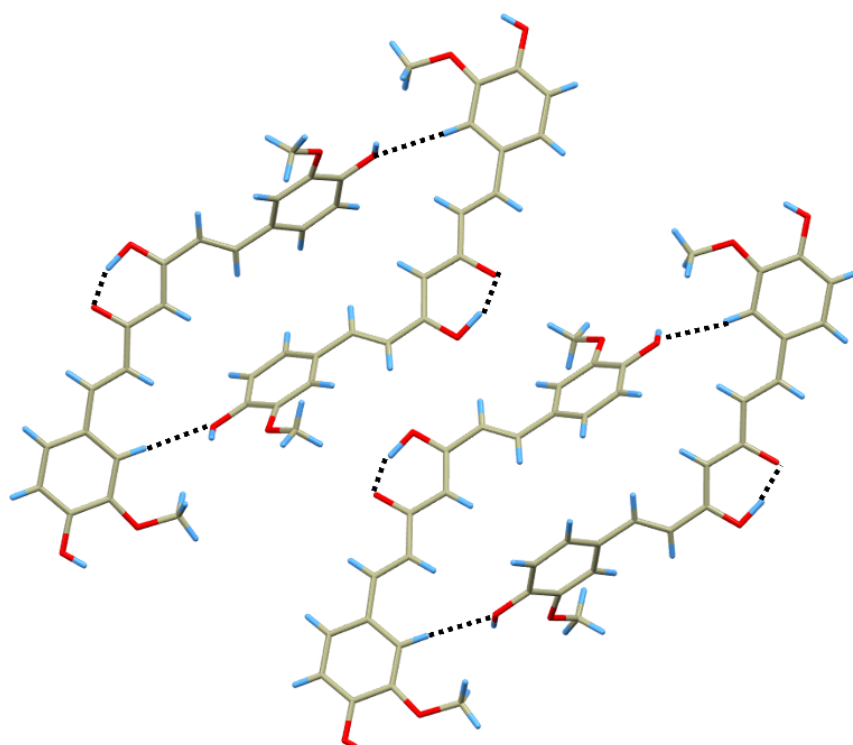
Figura 3.21. Difratogramas de raios X da curcumina sem moer em comparação com os difratogramas da NG CUR e LAG CUR (a). Difratogramas da NG CUR em comparação com os difratogramas das Formas I e II da curcumina (b). Difratogramas da LAG CUR em comparação com a Forma I da curcumina (c). Disposição das moléculas de curcumina no retículo cristalino (d).



Fonte: Da autora.

Comparando a estabilidade das formas polimórficas, é relatado que a forma I é a forma mais estável da curcumina. Tem sido relatado ainda, que a forma monoclinica da curcumina consiste em um anel macrocíclico formado pela interação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre moléculas vizinhas de curcumina. E é justamente devido à presença destas ligações de hidrogênio que esta forma polimórfica apresenta estrutura mais curvada (Figura 3.22).^{39,40}

Figura 3.22. Organização das moléculas de curcumina na Forma I (monocristalina).



Fonte: Da autora (Imagem criada a partir do programa Mercury)

Uma das maneiras de se avaliar as interações entre grupos funcionais aceptores e doadores de ligações de hidrogênio (indicados pelos pontos tracejados na Figura 3.22) avaliando que formam os síntons supramoleculares, é por meio da identificação dos *motifs*.⁴⁴

Os *motifs* nada mais são do que uma abordagem de um conjunto gráfico utilizado na identificação e classificação dos síntons supramoleculares, e são representados genericamente como G_d^a .⁴⁴ Nos *motifs* as redes complexas de hidrogênio (G) são representadas por quatro padrões: cadeia (C), anel (R), ligações de hidrogênio intramolecular (S) e estruturas discretas (D).

Enquanto padrões de ligações de hidrogênio são detalhados pela adição do número de doadores de ligação de hidrogênio (d, como subscrito) e do número de aceptores de ligação de hidrogênio (a, como sobrescrito) ao padrão designado, enquanto o número de átomos envolvidos no padrão de ligação de hidrogênio (n) é indicado entre parênteses.⁴⁴ Por meio desta análise é

possível entender como as moléculas se organizam no estado sólido e estudar interações específicas.⁴⁴

Desta maneira, por meio da análise informações depositadas no *Cambridge Structural Database* (CSD), foi observado que ambas as formas I e II da curcumina apresentam ligações de hidrogênio intramoleculares entre o O da carbonila e o H da hidroxila (OH) formando o *motif* do tipo $S_1^1(6)$.³⁸⁻⁴¹ Apesar de serem o mesmo tipo *motif*, as distâncias e ângulos de ligações são distintos, o que influencia em suas propriedades.

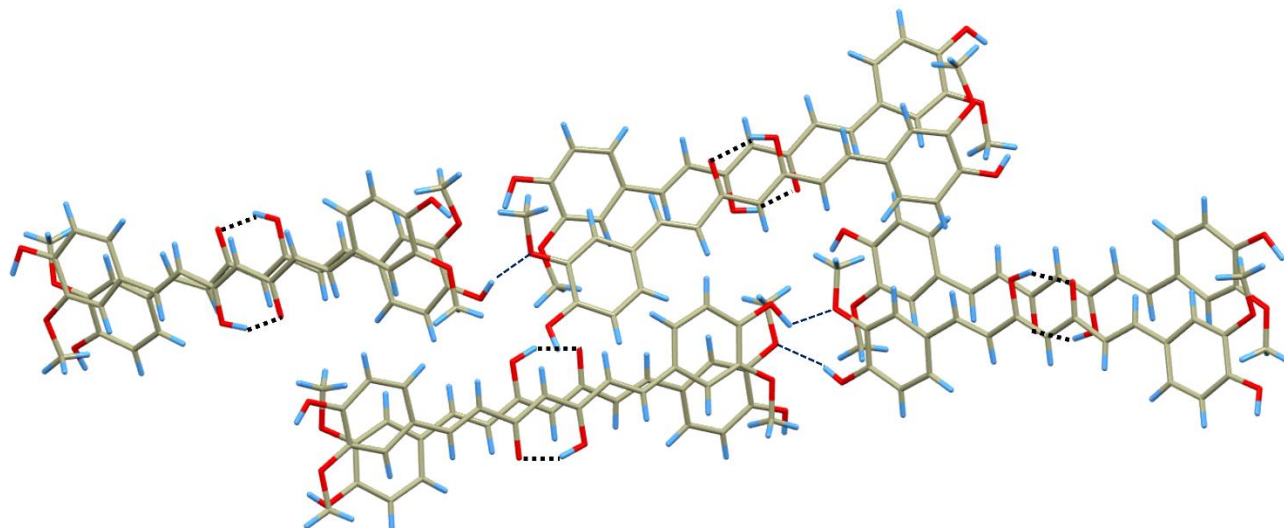
Para tal análise considere “d” como a menor distância da ligação de hidrogênio, “D” como a maior distância da ligação de hidrogênio, e “<” como ângulo envolvido na ligação de hidrogênio. Assim, para a **Forma I**: $OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=1,435$ Å, $D_{O\cdots O}=2,441$ Å, $\angle_{O-H\cdots O}=154,36^\circ$; **Forma II**: $S_1^1(6)a$ $OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=1,676$ Å, $D_{O\cdots O}=2,527$ Å, $\angle_{O-H\cdots O}=148,03^\circ$; $S_1^1(6)d$ $OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=1,616$ Å, $D_{O\cdots O}=2,498$ Å, $\angle_{O-H\cdots O}=155,04^\circ$.

Vale ressaltar que é reportado que distâncias da ligação de hidrogênio maiores podem resultar em uma energia de rede mais baixa, permitindo assim uma quebra mais fácil do cristal, podendo assim afetar diretamente a estabilidade do composto.⁴⁵

Foi observado ainda que a Forma I da curcumina é sustentada por interações de hidrogênio intermoleculares do tipo cadeia antes o OH do anel aromático com O do enol ligados pelo *motif* $C_1^1(12)a$ ($OH\cdots O$, $d_{O-H\cdots O}=2,366$ Å, $D_{O\cdots O}=2,904$ Å). Além disso esta mesma hidroxila participa de ligações de hidrogênio com o O da carbonila, estendendo a cadeia por meio do *motif* $C_1^1(12)b$ ($OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=2,069$ Å, $D_{O\cdots O}=2,793$ Å). A forma I apresenta ainda ligações de hidrogênio de segundo nível por meio dos *motifs* $C_2^2(20)$, $C_2^2(24)$, $R_4^4(44)$, $R_6^6(68)$.³⁸⁻⁴¹

A Forma II da curcumina além de cristalizar-se no sistema ortorrômbico, contém duas moléculas não centrossimétricas no seu retículo cristalino, as quais comumente são denominadas como Forma A e Forma B.³⁸⁻⁴¹ Na Figura 3.23 é possível observar que ambas moléculas apresentam interações intramoleculares entre o grupo β -ceto-enol por meio do *motif* $S_1^1(6)a$ $OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=1,676$ Å, $D_{O\cdots O}=2,527$ Å, $\angle_{O-H\cdots O}=148,03^\circ$ e $S_1^1(6)d$ $OH\cdots O=C$, $d_{O-H\cdots O}=1,616$ Å, $D_{O\cdots O}=2,498$ Å, $\angle_{O-H\cdots O}=155,04^\circ$. Além disso, a forma II também apresenta interações intermoleculares em cadeias extensas formando o *motifs* do tipo $C_1^1(10)$, $C_1^1(17)$, $C_1^1(18)$ ao qual estende-se por toda estrutura da molécula, conferindo maior estrutura com conformação mais planar.³⁹⁻⁴¹ Além disso, também são observadas ainda ligações de hidrogênio de segundo nível por meio da formação dos *motifs* $C_2^2(17)$, $C_2^2(27)$, $C_4^4(44)$, $R_6^6(64)$, $R_6^6(78)$.³⁹⁻⁴¹

Figura 3.23. Organização das moléculas de curcumina na Forma II (ortorrômbica)



Fonte: Da autora (Imagem criada a partir do programa Mercury)

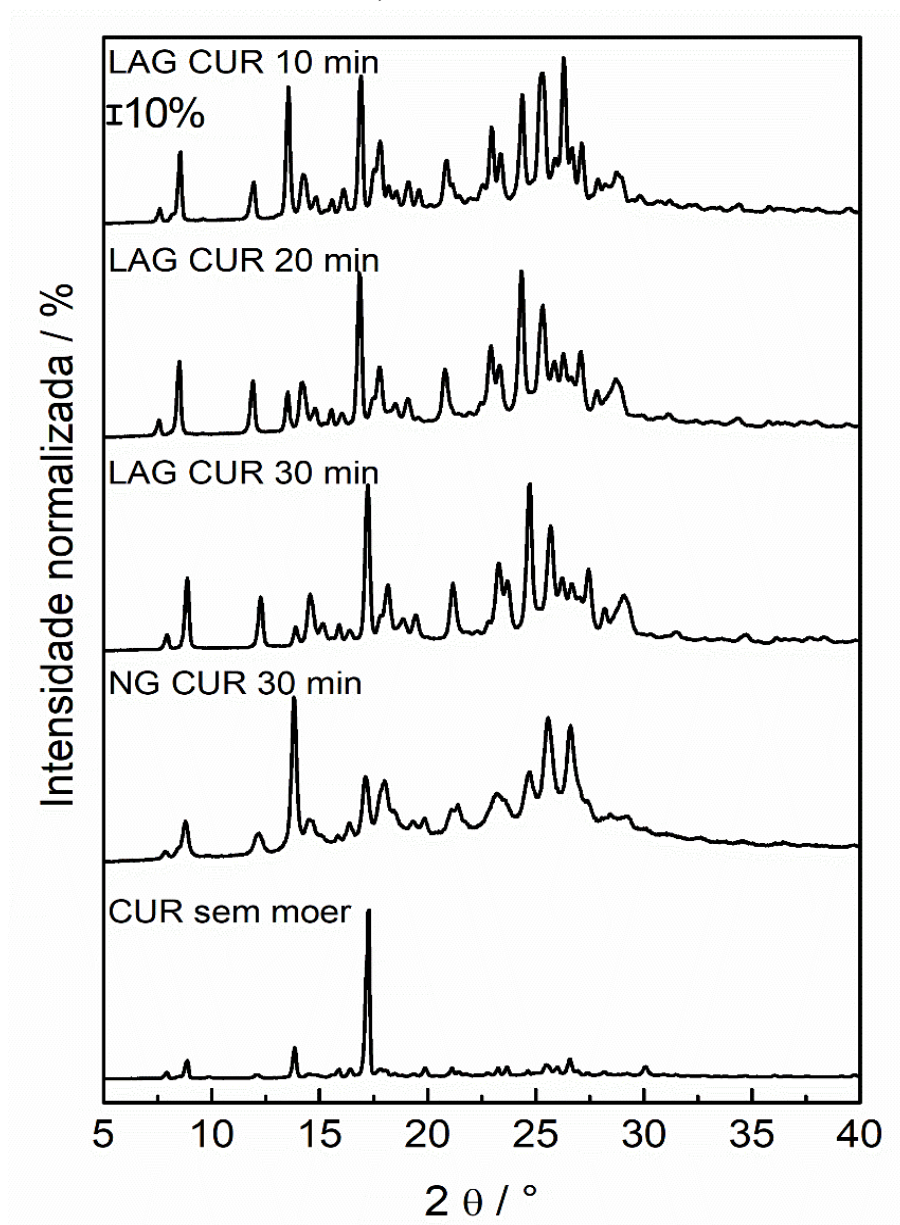
Com base nestes dados é facilmente compreensível o porquê da forma polimórfica da curcumina monoclinica ser a mais estável dentre os demais polimorfos existentes. Tendo em vista estes dados, é possível citar que existe uma relação monotrópica da Forma II, que é convertida na Forma I da curcumina tanto por aquecimento, conforme foi discutido na seção 3.3.3, quanto pela moagem assistida por solvente.^{41,42}

Assim, acredita-se que a obtenção de polimorfos da DCG pelas metodologias NG e LAG está diretamente associada com a obtenção de polimorfos de curcumina a partir do uso das moagens NG e LAG.

Sugere-se que quando a síntese de DCG é feita pela metodologia LAG, a curcumina consegue interagir com o solvente, gerando como intermediário o polimorfo referente à Forma I da curcumina que apresenta maior estabilidade. Posteriormente é este polimorfo que reage com as moléculas de glicina e gera o produto LAG DCG.

Esta hipótese pode ser confirmada por meio da avaliação da obtenção de polimorfos da curcumina por meio da moagem de 100 mg de curcumina na presença de 30µL de etanol, avaliando diferentes tempos de moagem (10, 20 e 30 minutos). Os difratogramas das amostras moídas em diferentes tempos, estão apresentados na Figura 3.24.

Figura 3.24: Difrátogramas de raios X pelo método do pó da CUR sem moer, NG CUR e LAG CUR moídas durante 10, 20 e 30 minutos.



Fonte: Da autora.

Como pode ser notado, quando comparado os difratogramas das sínteses LAG, com os difratogramas da curcumina sem moer e NG CUR, a partir de 10 minutos já é possível obter a Forma I da curcumina. Isto ocorre, pois, os polimorfos de curcumina são monotropicamente relacionados com a ordem de estabilidade sendo Forma I > Forma II > Forma III,⁴¹⁻⁴³. Assim durante a síntese da DCG há a tendência da Forma I da curcumina ser dominante, o que resulta na obtenção do polimorfo da DCG formado por meio da reação da forma I da curcumina com a glicina.

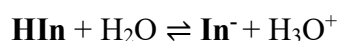
Uma vez que o estudo de condição de síntese para a obtenção de DCG mostrou que a base de Schiff somente é formada com 30 minutos de síntese mecanoquímica (seção 3.3.2), as hipóteses

mencionadas anteriormente são reforçadas, visto que a curcumina irá interagir com o solvente e gerar a Forma I, antes da formação do produto DCG.

3.3.6 Uso da DCG como indicador em titulações ácido-base.

Muitas substâncias de encontradas na natureza ou sintéticas, apresentam a capacidade de mudar de cor, em função do pH do meio. Essas substâncias podem ser usadas como indicadores, podendo ser utilizados em distintas análises, como as análises, titrimétricas.⁴⁶

Um indicador ácido-base é uma substância que é um ácido ou base fraca, na qual, a forma não dissociada (ou espécie neutra) difere da cor de sua base ou ácido conjugados (ou espécie protonada).⁴⁶

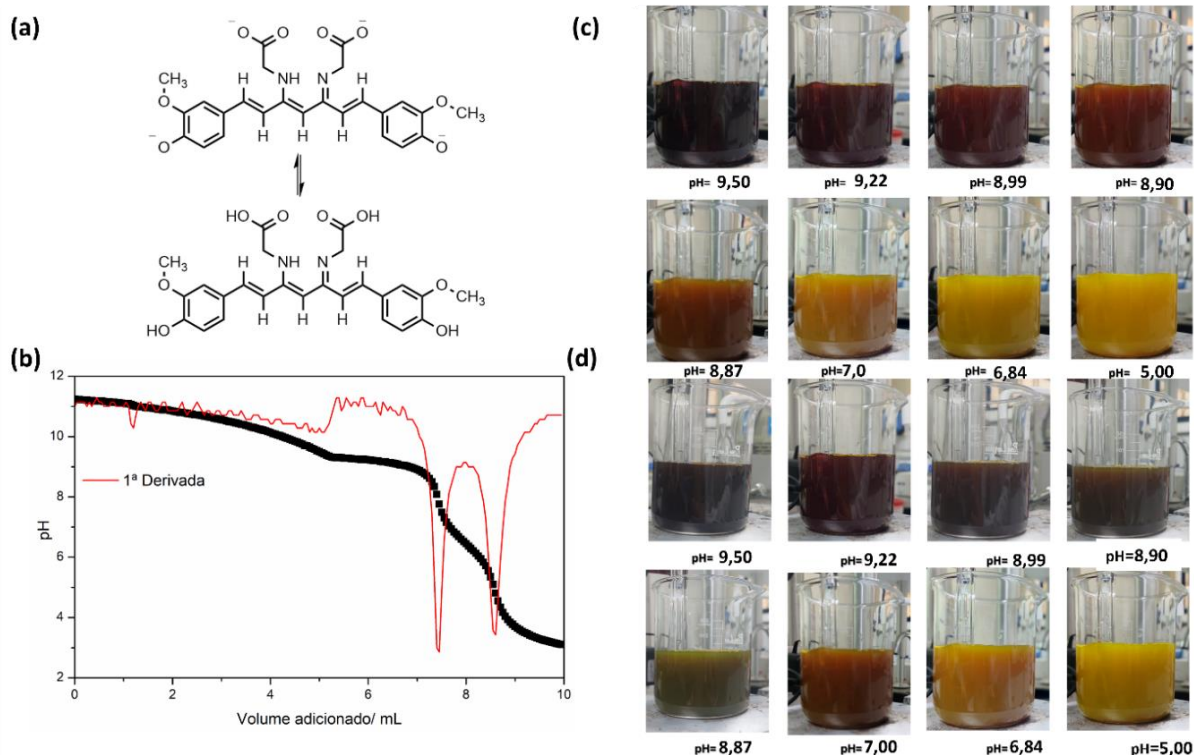


Cor pH ácido

Cor pH básico

Alguns estudos sugerem o uso da CUR como indicador de pH em reações ácido-base devido à sua fácil acessibilidade, podendo ser obtida a partir de fontes sustentáveis, além de não gerar resíduos tóxicos.^{47,48} Com base nisso, foi avaliada a possibilidade de usar o derivado de curcumina-glicina (DCG) como indicador em reações de titulação de retorno. A Figura 3.25 apresenta os resultados obtidos ao realizar uma titulação de retorno utilizando-se o composto DCG.

Figura 3.25. Estrutura da DCG como espécie A^{4-} (a), Curva de potenciometria para titulação ácido-base de retorno (b), variação de cor de DCG em função da alteração de pH (c); colorimetria de DCG em função da alteração de pH na presença de azul de bromotimol (d).



Fonte: Da autora.

Embora o DCG seja pouco solúvel em água, sua conversão em um sal sódico por meio da reação entre DCG e solução de hidróxido de sódio resulta em um composto solúvel. Considerando que DCG é tetraácida, a molécula pode atuar como uma espécie A^{4-} (Figura 3.25-a).

A curva de retrotitulação e a curva da 1ª derivada (Figura 3.25-b) mostram três pontos de inflexão. O primeiro ponto, em 5,07 mL e pH 10,10, indica o consumo do excesso de base. Em seguida, são observados dois valores de inflexão em 7,40 mL (pH 8,50) e 8,56 mL (pH 5,05).

A Figura 3.25-c ilustra a variação colorimétrica do DCG conforme ácido é adicionado à solução. Em um pH básico, a solução apresenta uma coloração avermelhada escura, e à medida que a molécula é protonada e o pH é reduzido, a solução adquire uma coloração amarelada. Paralelamente, a Figura 3.25-d apresenta essa variação colorimétrica na presença do indicador azul de bromotimol.

Esses dados são interessantes visto que a variação colorimétrica desse composto em solução, é resultado da mudança de pH, a qual está associada às variações nas estruturas de DCG.

No entanto, fatores externos como luz, temperatura e presença de água no meio, podem influenciar na estabilidade físico-química da DCG em solução, e consequentemente influenciar nos resultados obtidos.

Portanto, é imprescindível realizar estudos adicionais para avaliar a viabilidade do uso da DCG como indicador de pH para compreender as condições que podem afetar estas propriedades e então criar-se um protocolo de utilização da DCG como indicador ácido-base.

Outro ponto a ser destacado, é que a partir do valor de consumo de íons hidroxila em excesso, detectado a partir do primeiro ponto de inflexão na curva referente à 1ª derivada, foi possível calcular a quantidade de grupos de ácido carboxílico ($RCOOH$) convertidos em grupos carboxilatos ($RCOO^-$). Este valor sugere uma pureza de 89% de DCG, segundo a reação de desprotonação do grupo ácido carboxílico. Este dado é interessante, visto que está em concordância com os resultados de CLAE, que indicou uma pureza de 86% de DCG.

3.4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o método mecanoquímico é uma ferramenta útil na obtenção de uma base de Schiff derivada de curcumina-glicina, o que pode ser confirmado pelos resultados de RMN.

Dependendo da metodologia utilizada, distintos polimorfos podem ser obtidos. A metodologia NG resulta na Forma A do polimorfo derivado de curcumina-glicina (DCG), enquanto

a síntese LAG resulta na obtenção da Forma B.

Os dados de análise térmica mostraram que o perfil de degradação térmica do composto DCG se assemelha muito ao da curcumina.

Por fim, em função da resposta colorimétrica do derivado de curcumina-glicina ao pH, pode-se sugerir o uso do mesmo como um indicador em titulações de retorno ácido base.

3.5 Referências

1. AJAVAKOM, Vachiraporn; YUTTHASERI, Thatsawan; CHANTANATRAKUL, Rachata; *et al.* Curcuminoids in Multi-Component Synthesis. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 13–20, 2017.
2. AMALRAJ, Augustine; PIUS, Anitha; GOPI, Sreerag; *et al.* Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, p. 205–233, 2017.
3. DE MOURA, Aniele; GAGLIERI, Caroline; DA SILVA-FILHO, Luiz Carlos; *et al.* Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 146, n. 2, p. 587–594, 2020.
4. HUSSAIN, Zahid; THU, Hnin Ei; AMJAD, Muhammad Wahab; *et al.* Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1316–1326, 2017.
5. LIU, Siyu; LIU, Jie; HE, Lan; *et al.* A Comprehensive Review on the Benefits and Problems of Curcumin with Respect to Human Health. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4400, 2022.
6. MUANGNOI, Chawanphat; JITHAVECH, Ponsiree; RATNATILAKA NA BHUKET, Pahweenvaj; *et al.* A curcumin-diglutaric acid conjugated prodrug with improved water solubility and antinociceptive properties compared to curcumin. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, n. 8, p. 1301–1308, 2018.
7. RACZ, Levente Zsolt; RACZ, Csaba Pal; POP, Lucian-Cristian; *et al.* Strategies for Improving Bioavailability, Bioactivity, and Physical-Chemical Behavior of Curcumin. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 6854, 2022.
8. SALEHI, Bahare; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Zorica; MATEJIĆ, Jelena; *et al.* The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 163, p. 527–545, 2019.
9. SHARMA, R.A.; GESCHER, A.J.; STEWARD, W.P. Curcumin: The story so far. **European**

- Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1955–1968, 2005.
10. SUETH-SANTIAGO, Vitor; MENDES-SILVA, Gustavo Peron; DECOTÉ-RICARDO, Débora; *et al.* CURCUMIN, THE GOLDEN POWDER FROM TURMERIC: INSIGHTS INTO CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES. **Química Nova**, v. 38, n. 4, 2015.
 11. UROŠEVIĆ, Maja; NIKOLIĆ, Ljubiša; GAJIĆ, Ivana; *et al.* Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. **Antibiotics**, v. 11, n. 2, p. 135, 2022.
 12. XIANG, De-Biao; ZHANG, Kai-Qiang; ZENG, Ya-Ling; *et al.* Curcumin: From a controversial “panacea” to effective antineoplastic products. **Medicine**, v. 99, n. 2, p. e18467, 2020.
 13. YAKUB, Guldjan; NEVENA MANOLOVA; RASHKOV, Iliya B; *et al.* Pegylated Curcumin Derivative: Water-Soluble Conjugates with Antitumor and Antibacterial Activity. **ACS Omega**, v. 7, n. 41, p. 36403–36414, 2022.
 14. YIN, Ying; TAN, Yan; WEI, Xueni; *et al.* Recent Advances of Curcumin Derivatives in Breast Cancer. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 10, 2022.
 15. LEE, Wing-Hin; LOO, Ching-Yee; BEBAWY, Mary; *et al.* Curcumin and its Derivatives: Their Application in Neuropharmacology and Neuroscience in the 21st Century. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 4, p. 338–378, 2013.
 16. PARVATHY, K.S.; NEGI, P.S.; SRINIVAS, P. Curcumin–amino acid conjugates: Synthesis, antioxidant and antimutagenic attributes. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 523–530, 2010.
 17. GUNNAM, Anilkumar; NANGIA, Ashwini K. Solubility improvement of curcumin with amino acids. **CrystEngComm**, v. 23, n. 18, p. 3398–3410, 2021.
 18. GUNNAM, Anilkumar; NANGIA, Ashwini K. Solubility improvement of curcumin with amino acids. **CrystEngComm**, v. 23, n. 18, p. 3398–3410, 2021.
 19. ANASTAS, Paul; EGHBALI, Nicolas. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.
 20. PRAT, Denis; WELLS, Andy; HAYLER, John; *et al.* CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. **Green Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 288–296, 2016.
 21. ZAFAR, Hina; KAREEM, Abdul; SHERWANI, Asif; *et al.* Synthesis and characterization of Schiff base octaazamacrocyclic complexes and their biological studies. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 142, p. 8–19, 2015. Scchiff
 22. WILKINSON, Shane M.; SHEEDY, Timothy M.; Elizabeth J. Synthesis and Characterization of Metal Complexes with Schiff Base Ligands. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 2,

- p. 351–354, 2015.
23. BANERJEE, Abhisek; CHATTOPADHYAY, Shouvik. Synthesis and characterization of mixed valence cobalt(III)/cobalt(II) complexes with N,O-donor Schiff base ligands. **Polyhedron**, v. 159, p. 1–11, 2019.
 24. JOICE, M. Vimala; METILDA, P. Synthesis, characterization and biological applications of curcumin-lysine based schiff base and its metal complexes. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 74, n. 14, p. 2395–2406, 2021.
 25. ACHAR, Tapas Kumar; BOSE, Anima; MAL, Prasenjit. Mechanochemical synthesis of small organic molecules. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 13, p. 1907–1931, 2017.
 26. DO, Jean-Louis; FRIŠČIĆ, Tomislav. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. **ACS Central Science**, v. 3, n. 1, p. 13–19, 2016.
 27. LIU, Xingang; LI, Yijun; ZENG, Li; *et al.* A Review on Mechanochemistry: Approaching Advanced Energy Materials with Greener Force. **Advanced Materials**, v. 5, p. 2108327, 2022.
 28. MOURA, Aniele; GAGLIERI, Caroline; ALARCON, Rafael Turra; *et al.* A New Curcuminoids-Coumarin Derivative: Mechanochemical Synthesis, Characterization and Evaluation of Its In Vitro Cytotoxicity and Antimicrobial Properties. **ChemistrySelect**, v. 6, n. 41, p. 11352–11361, 2021.
 29. MOURA, Aniele De; GAGLIERI, Caroline; TERCIOTTI, Luiz Octavio; *et al.* Mechanochemical method: a powerful tool to obtain ω -poly(ethylene glycol)-functionalized structures and curcumin analogues. **New Journal of Chemistry**, v. 47, p. 9392–9400
 30. DE MOURA, Aniele; JUNIOR, Benedito José; SOBRAL CARVALHO, Ana Carina; *et al.* Green synthesis of a Schiff base ligand and its Co(II), Cu(II) and Zn(II) complexes: thermoanalytical and spectroscopic studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 147, n. 20, p. 11093–11106, 2022.
 31. CARMONA-VARGAS, Christian C.; DE C. ALVES, Leandro; BROCKSOM, Timothy J.; *et al.* Combining batch and continuous flow setups in the end-to-end synthesis of naturally occurring curcuminoids. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 3, p. 366–374, 2017.
 32. PAVIA, Donald L; LAMPMAN, Gary M; KRIZ, George S; *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 4^aed, p.150-250, 2010.
 33. KOLEV, Tsonko M.; VELCHEVA, Evelina A.; STAMBOLIYSKA, Bistra A.; *et al.* DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, n. 6, p. 1069–1079, 2005.

34. Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction
35. IITAKA, YŌICHI. Crystal Structure of β -Glycine. **Nature**, v. 183, n. 4658, p. 390–391, 1959.
36. ANBU ARASI, M.; ALAGAR, M.; RAJA PUGALENTI, M. Growth of γ -glycine single crystals using the tailored additive of potassium chloride and L-Proline and analyzing micro structural, optical, mechanical and electrical parameters. **Chemical Physics Letters**, v. 765, p. 138301, 2021.
37. WEISS, Ingrid M.; MUTH, Christina; DRUMM, Robert; *et al.* Thermal decomposition of the amino acids glycine, cysteine, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, glutamine, arginine and histidine. **BMC Biophysics**, v. 11, n. 1, 2018.
38. PANDEY, Komal Upendra; DALVI, Sameer Vishvanath. Understanding stability relationships among three curcumin polymorphs. **Advanced Powder Technology**, v. 30, n. 2, p. 266–276, 2019.
39. SANPHUI, Palash; GOUD, N. Rajesh; KHANDAVILLI, U. B. Rao; *et al.* New polymorphs of curcumin. **Chemical Communications**, v. 47, n. 17, p. 5013, 2011.
40. MATLINSKA, Maria A; WASYLISHEN, Roderick E; BERNARD, Guy M; *et al.* Capturing Elusive Polymorphs of Curcumin: A Structural Characterization and Computational Study. **Crystal Growth & Design**, v. 18, n. 9, p. 5556–5563, 2018.
41. RATHI, Noopur; PARADKAR, Anant; GAIKAR, Vilas G. Polymorphs of Curcumin and Its Cocrystals with Cinnamic Acid. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 108, n. 8, p. 2505–2516, 2019.
42. HOWARD, Joseph L.; CAO, Qun; BROWNE, Duncan L. Mechanochemistry as an emerging tool for molecular synthesis: what can it offer? **Chemical Science**, v. 9, n. 12, p. 3080–3094, 2018.
43. FRISCIC, Tomislav, MOTILLO, Cristina, TITI, M. H. Mechanochemistry for Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 59, p. 1018-1029.
44. CORPINOT, Mérida K.; BUČAR, Dejan-Krešimir. A Practical Guide to the Design of Molecular Crystals. **Crystal Growth & Design**, v. 19, n. 2, p. 1426–1453, 2018.
45. BRITTAIN, Harry G. Pharmaceutical Cocrystals: The Coming Wave of New Drug Substances. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 2, p. 311–317, 2013.
46. SKOOG, Douglas A *et al.*, **Fundamentos de química analítica** /Mexico, D.F.: Cengage Learning, 2015, p.351–352.

47. SUPHAROEK, Sam-ang; PONHONG, Kraingkrai; SIRIANGKHAWUT, Watsaka; et al. Employing natural reagents from turmeric and lime for acetic acid determination in vinegar sample. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 2, p. 583–590, 2018.
48. CARABALLO, Rolando M.; SALEH MEDINA, Leila M.; GOMEZ, Sergio G. J.; *et al.* Turmeric and RGB Analysis: A Low-Cost Experiment for Teaching Acid–Base Equilibria at Home. **Journal of Chemical Education**, v. 98, n. 3, p. 958–965, 2021.

CAPÍTULO 4 – SÍNTESE MECANOQUÍMICA E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Co(II), Cu(II) E Zn(II) COM O DERIVADO DE CURCUMINA-GLICINA.

4.1 Introdução

Os compostos de coordenação são caracterizados por apresentar um átomo/ íon central que tenha orbitais disponíveis para receber pares de elétrons (ácido de Lewis) de moléculas/ íons denominados ligantes (base de Lewis).¹ Esses ligantes são moléculas ou íons que podem doar pares de elétrons para o átomo central, e formar ligações coordenadas. Estes compostos também são denominados complexos.¹

A natureza e o estado de oxidação do íon central, juntamente com a geometria do composto de coordenação, influenciam nas propriedades, e consequentemente nas aplicações dessas substâncias.^{2,3} Por exemplo, por volta dos anos 60, foi descoberta a atividade antitumoral do complexo cisplatina (*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]), algo interessante é que seu isômero *trans*, não apresenta essa atividade biológica, resultado das distintas geometrias de cada composto.⁴⁻⁷

A cisplatina foi um dos principais responsáveis por despertar o interesse pelo uso de compostos de coordenação como agentes terapêuticos.⁴⁻⁷ Estudos na área da bioinorgânica não se limitam apenas à síntese, caracterização e aplicação de compostos de coordenação com potencial farmacológico, mas também investigam os mecanismos envolvidos nesses sistemas.⁴⁻⁷

Os compostos de coordenação de curcumina com metais da primeira série de transição, têm sido objeto de estudo para potencializar a atividade biológica dessa molécula.^{2,8-11} Além disso, busca-se obter compostos luminescentes estáveis em meio aquoso, que possam ser utilizados como marcadores fluorescentes em células, auxiliando em tratamentos como a fototerapia.^{2,8,11}

Os complexos metálicos com ligantes de bases de Schiff são amplamente reportados na literatura. Essas moléculas atuam como ligantes versáteis, possibilitando a obtenção de complexos com distintos metais de transição¹²⁻¹⁶ e, dependendo da sua estrutura, podem atuar como ligantes bidentados, tridentados, tetradentados.¹²⁻¹⁷

Ainda que o viés deste trabalho foque no interesse biológico, é importante ressaltar que a aplicação dos compostos de coordenação é extensa. Muitos desses compostos podem atuar como catalisadores, em reações orgânicas, tais como reações de carbonatação.^{3,18,19} Seu uso como sensor para detecção de espécies como íon cianeto e/ou dióxido de carbono também é bastante explorado.

Além disso, também pode ser citado o estudo acerca da aplicação desses compostos em células solares.^{3,20,21}

Com base nisso, esse capítulo tem como objetivo a síntese e caracterização de complexos de Co(II), Co(II) e Zn(II) com o derivado de curcumina-glicina (DCG) sintetizado no Capítulo 3. Assim como descrito nos capítulos anteriores, será utilizado o método mecanoquímico para obter esses compostos. Almeja-se obter compostos sem que seja feito uso de solvente durante as sínteses, minimizando a geração de resíduo ao final da reação.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Materiais

- Acetato de cobalto II (Synth, 99%, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)
- Acetato de Cobre II (Synth, 98%, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)
- Acetato de zinco II (Synth, 99%, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)
- Carbonato de sódio (Synth, 98%)
- Clorofórmio (Synth, P.A.)
- Clorofórmio deuterado (CDCl_3 , Sigma Aldrich, 99,8%)
- Nitrato de cobre II (Synth, 99%, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de cobre II (Synth, 99% $[\text{Cu}(\text{OH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Cloreto de cobre II (Sigma-Aldrich, 98,9%, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Sulfato de cobre II (Sigma-Aldrich, 99% $\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Tolueno (Synth, P.A.)

4.2.2 Otimizações de síntese dos compostos de coordenação.

Antes de estabelecer a metodologia padrão de síntese dos compostos de coordenação apresentados neste trabalho, foram realizados testes de síntese almejando compreender qual sal de metal resultaria em maior rendimento reacional para a obtenção de um complexo de cobre, a partir da reação com o derivado de curcumina-glicina (DCG).

Conforme pode ser observado na Tabela 4.1, os testes de síntese 1-5 foram realizados reagindo-se DCG e a base, para que ocorresse a desprotonação dos grupos ácido carboxílico (etapa 1). Posteriormente era adicionado no meio reacional o respectivo sal do metal (etapa 2).

As proporções trabalhadas eram sempre 1:1:1 de DCG:base:sal do metal. A primeira etapa foi conduzida durante 10 minutos, enquanto a segunda etapa foi conduzida por moagem durante 15 minutos, sempre operando na frequência de 30 Hz.

Tabela 4.1. Testes de síntese para obtenção do complexo de cobre.

Teste de síntese	1ª etapa	2ª etapa	Rendimento
1	DCG + Base	CuCl ₂	78%
2	DCG + Base	Cu(NO ₃) ₂	70%
3	DCG + Base	Cu[OH] ₂	65%
4	DCG + Base	CuSO ₄	76%
5	DCG + Base	Cu(CH ₃ COO) ₂	82%
7	DCG + Cu(CH ₃ COO) ₂	-	-

Base: Carbonato de sódio.

Conforme pode ser observado, o melhor rendimento de síntese foi obtido a partir da reação com acetato de cobre. Portanto as demais sínteses foram realizadas reagindo o acetato do respectivo metal com DCG. Adicionalmente, foi realizado um teste de síntese reagindo somente DCG e acetato de cobre, sem a adição da base, no entanto não foi obtido um complexo de cobre, apenas uma mistura física.

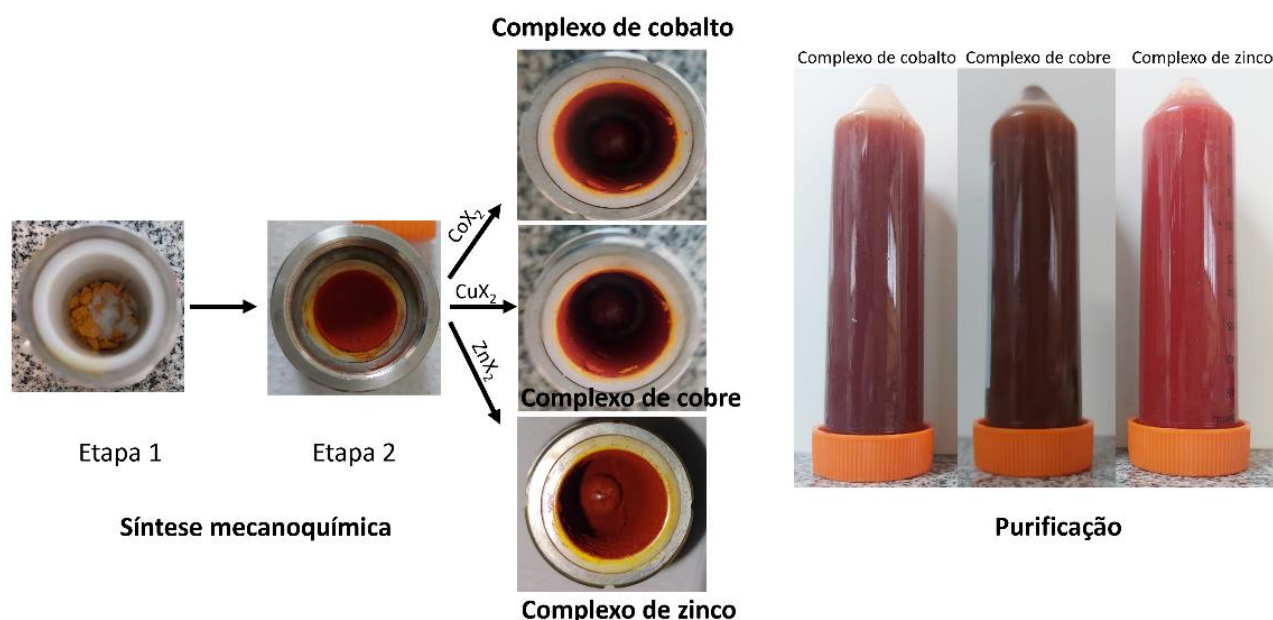
4.2.3 Síntese dos compostos de coordenação com o sal acetato dos metais de Co(II), Cu(II) e Zn(II).

Todas as sínteses dos compostos de coordenação foram conduzidas em jarros revestidos com óxido de zircônio, utilizando uma esfera de óxido de zircônio. A primeira etapa de síntese foi conduzida pela adição no jarro de 1 mmol de DCG e 1 mmol de carbonato de sódio. Posteriormente o jarro foi fechado, e a reação foi conduzida por 10 minutos, na frequência de 30 Hz. Após isto, foi obtido o ligante sódico (Na₂L), que apresentou coloração avermelhada, diferentemente do ligante livre que é laranja. A segunda etapa foi realizada adicionando-se 1 mmol de acetato do respectivo metal (Co(II) ou Cu(II) ou Zn(II)) no jarro, e a síntese foi conduzida por mais 15 minutos, na mesma frequência.

Após o final da síntese, cada composto foi transferido para um tubo Falcon (50 mL) e foi adicionado 50 mL de água destilada. Cada tubo Falcon foi centrifugado (centrífuga Kasvi) durante 30 minutos, em 4000 RPM. Esta etapa visou retirar acetato de sódio residual do meio. Foram realizadas no mínimo três lavagem com água destilada.

A segunda etapa de purificação foi realizada adicionando 50 mL de tolueno em cada tubo falcon, e a mistura foi centrifugada por mais 30 minutos. Estas lavagens com tolueno foram realizadas três vezes. Esta etapa de purificação foi necessária porque, durante a primeira etapa de síntese, em que é gerado ligante sódico (Na_2L), era observado em algumas regiões do jarro, uma pequena quantidade de pó laranja. Isso indicava que não havia sido completa a conversão do ligante (DCG), em ligante sódico. Dessa forma, esta etapa visou solubilizar DCG residual em tolueno, para purificar os complexos, na qual essa impureza era retirada no sobrenadante (Figura 4.1).

Figura 4.1. Etapas 1 e 2 de síntese e purificação (dispersão das amostras em tolueno).



Fonte: Da autora.

Ao final da purificação obteve-se um rendimento de 80% para o complexo de cobalto II, 82% para o complexo de cobre II, e 78% para o complexo de zinco II.

As caracterizações foram conduzidas por meio de TG/DTG-DTA, DSC, DSC fotovisual, MIR, MS, e RMN ^1H . As descrições das condições dos equipamentos, com exceção das análises de UV-VIS e espectroscopia de luminescência podem ser consultadas nos capítulos anteriores.

4.2.4. Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-VIS) e Espectroscopia de Fluorescência.

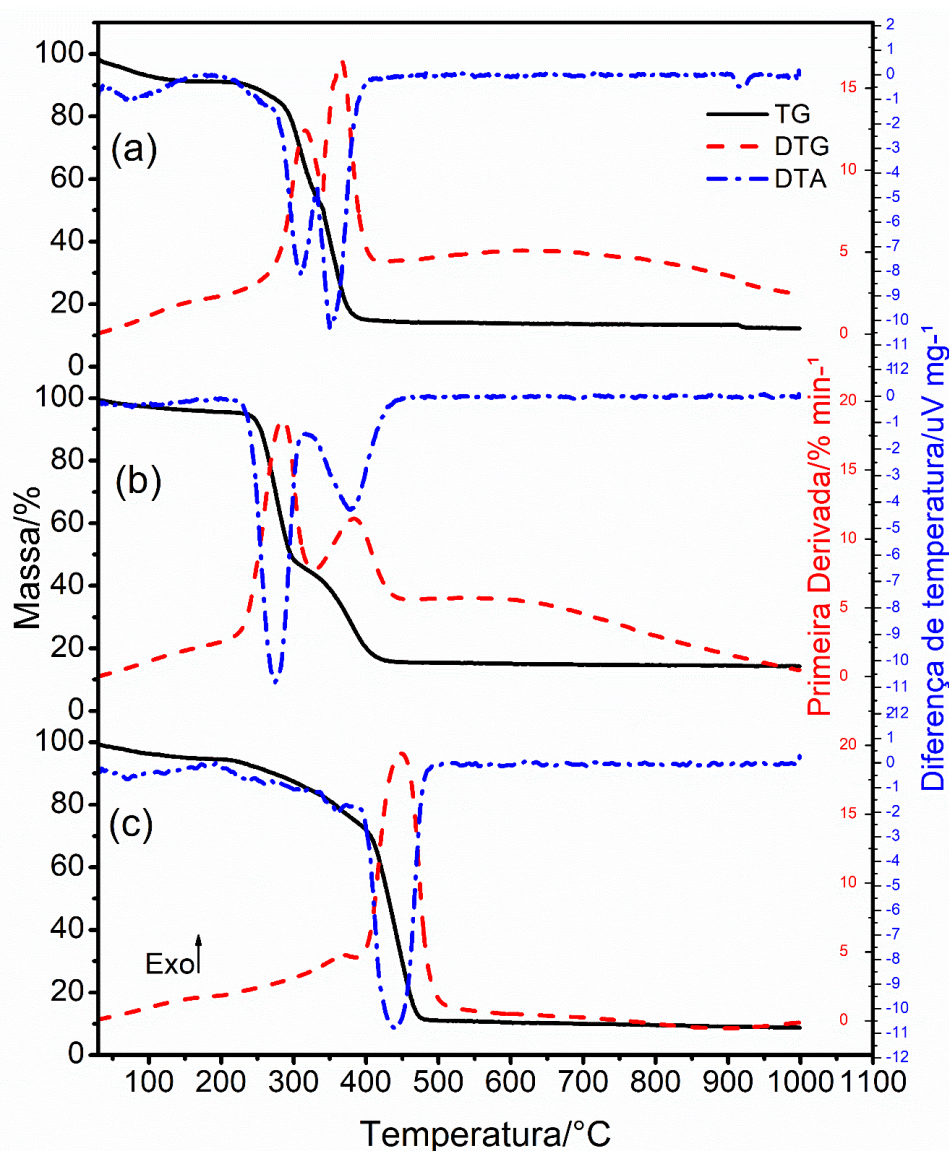
Os espectros de absorções e luminescência foram obtidos no espectrofotômetro SpectraMax M2 utilizando uma cubeta de quartzo de 3 mL com caminho óptico de 10 mm. Todos os compostos foram solubilizados em clorofórmio, na concentração de $0,08 \text{ mg mL}^{-1}$.

4.3 Resultados e Discussões

4.3.1 Caracterização termoanalítica.

As curvas TG/DTG do complexo de cobalto (Figura 4.2-a) mostram que o composto anidro é termicamente estável até 205,9 °C. A primeira etapa de perda massa ocorre entre 30,0-205,9 °C ($\Delta m=8,97\%$) é atribuída ao processo de desidratação, associado à perda de 3 moléculas de água ($\Delta m_{\text{teórico}}=9,11\%$). Posteriormente, de acordo com as curvas TG/DTG, o complexo se degrada em 4 etapas de etapas de perda de massa.

Figura 4.2. Curvas TG/DTG-DTA dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c).



Fonte: Da autora.

A primeira etapa de perda de massa de degradação ocorre entre 205,9-277,9 °C ($\Delta m=5,99\%$), e segunda etapa é consecutiva, sendo observada entre 277,9-340,7 ($\Delta m=34,74\%$).

Em seguida é observada uma perda de massa entre 340,7-429,3 °C ($\Delta m=35,79\%$), a qual é referente à terceira e quartas etapas de perda de massa de degradação, que ocorrem sobrepostas, conforme mostra a curva DTG. Após esta etapa de degradação, observa-se uma perda de massa gradual, que se estende até 940,2 °C, correspondendo ao $\Delta m=2,06\%$, o qual está associado ao pico endotérmico na curva DTA em 917,2 °C. Esta etapa é referente a redução de $\text{Co}_3\text{O}_4 \rightarrow \text{CoO}$.^{22,24} O resíduo experimental de 12,19% está associado à formação de CoO na etapa anterior, o qual, para uma fórmula mínima $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$, está em concordância, visto que $\Delta m_{\text{teórico CoO}}=12,63\%$.

Para fins de nomenclatura, nos complexos, o ligante DCG será nomeado como L. Além disso, será melhor avaliado por DSC se as moléculas de água presentes em cada complexo estão atuando como água de coordenação (sendo apresentada dentro dos colchetes na fórmula mínima) ou de hidratação (sendo apresentada fora dos colchetes na fórmula mínima).

As curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobre estão apresentadas na Figura 4.2-b. De acordo com as curvas TG/DTG o complexo anidro é termicamente estável até 219,2 °C. Entre 30-219,2 °C é observada uma perda de massa $\Delta m=6,67\%$, a qual é referente a liberação de duas moléculas de água ($\Delta m_{\text{teórico}}=6,20\%$). Após a estabilidade térmica da amostra, ela se degrada em duas etapas de perda de massa, a primeira etapa de degradação ocorre entre 219,2-297,3 °C ($\Delta m=45,95\%$), associada ao pico exotérmico na curva DTA em 285,7 °C. Já a segunda etapa de perda de massa de degradação ocorre entre 297,3-440,6 °C ($\Delta m=33,28\%$), e está associada ao pico exotérmico em 382,2 °C na curva DTA. O resíduo de 14,10% é referente a formação de CuO ($\Delta m_{\text{teórico}}=13,20\%$).^{25,26} A partir desses dados é possível sugerir a fórmula mínima $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ para o complexo de cobre.

As curvas TG/DTG mostram que o complexo de zinco anidro é termicamente estável até 205,0 °C (Figura 4.2-c). No intervalo de temperatura entre 30,0-205,0 °C, ocorre uma perda de massa com $\Delta m_{\text{experimental}}=6,21\%$, o qual é referente a um processo de desidratação, resultando na liberação de 2 moléculas de água ($\Delta m_{\text{teórico}}=6,19\%$). Acima de 205,0 °C, segundo as curvas TG/DTG, o material se degrada em duas etapas de perda de massa de degradação térmica consecutivas. A primeira etapa de degradação térmica ocorre no intervalo de temperatura entre 205,0-392,6 °C ($\Delta m=20,92\%$). Em seguida, a segunda etapa de decomposição térmica é observada na curva TG entre 392,6-501,5 °C ($\Delta m=59,75\%$), e está associada ao evento exotérmico na curva DTA em 449,5 °C. O resíduo de 13,12% obtido ao final da análise, refere-se à formação de ZnO. Para uma fórmula mínima do tipo $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$, o resíduo teórico de ZnO ^{27,28}, corresponde ao $\Delta m_{\text{teórico}}=13,98\%$.

A Figura A4.1 apresenta os difratogramas dos óxidos obtidos ao final da análise TG-DTA de cada composto de coordenação. Cada difratograma experimental é comparado com os difratogramas calculados dos respectivos óxidos, confirmando a formação dos óxidos CoO, CuO e ZnO como resíduo das análises de TG destes complexos.

No geral, observa-se que as estabilidades térmicas dos compostos de coordenação anidros são muito próximas à temperatura de estabilidade térmica do ligante DCG (214,0 °C, vide seção 3.3.3, no capítulo 3), sendo respectivamente 219,2 °C (Cu) > 205,9 °C (Co) $\approx$ 205,0 °C (Zn). Assim, observa-se que natureza do metal não influencia significativamente na estabilidade térmica dos compostos.

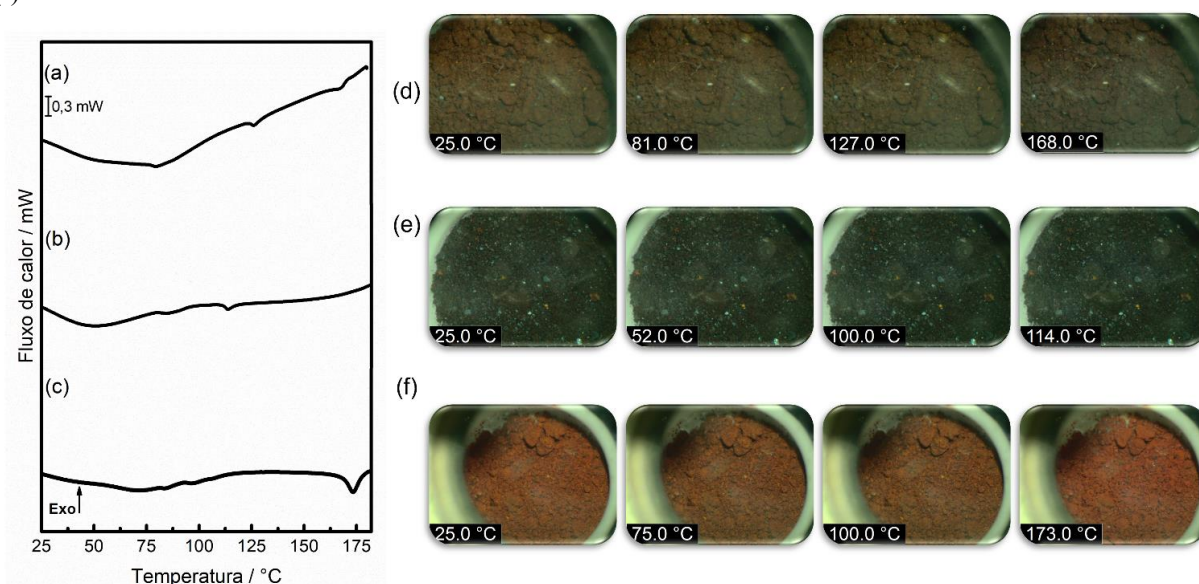
A Taxa Máxima de Degradação (TMD) e suas respectivas Temperaturas máximas de degradação (T_{TMD}) associadas à degradação dos complexos variam bastante (Tabela 4.2). Estes dados suportam a ideia de que cada centro metálico influencia no mecanismo de decomposição térmica em relação ao ligante livre.

Tabela 4.2. Taxa Máxima de Degradação (TMD), e suas respectivas Temperaturas máximas de degradação (T_{TMD}) associadas à degradação dos complexos.

Complexo →	DCG	[CoL(OH ₂) ₂]H ₂ O	[CuL(OH ₂)]H ₂ O	[ZnL(OH ₂)]H ₂ O
TMD	5,07 % min ⁻¹	10,21% min ⁻¹	11,07% min ⁻¹	10,42% min ⁻¹
T_{TMD}	523,4 °C	350,6 °C	275,5 °C	440,3 °C

As curvas DSC estão apresentadas na Figura 4.3. Conforme exibido por cada curva DSC, não são observados eventos intensos, os quais são referentes à desidratação de cada composto de coordenação.

Figura 4.3. Curvas DSC e imagens de DSC fotovisual do complexo de cobalto (a) e (d), cobre (b) e (e), e zinco (c) e (f).



Fonte: Da autora.

A curva DSC do complexo de Co(II) apresenta (Figura 4.3-a) apresenta três eventos endotérmicos, o primeiro sinal é observado em 80,3 °C, e é correspondente à liberação de uma água de hidratação. Já os segundo e terceiro evento endotérmico ocorrem 127,0 °C e 167,6 °C.

Estes sinais térmicos correspondem à perda de duas moléculas de água de coordenação. As imagens de DSC fotovisual (Figura 4.3-d) mostram que a câmera embaça durante o aquecimento, o que suporta a sugestão de desidratação da amostra. A imagem de DSC fotovisual em 167 °C apresenta uma variação de coloração mais intensa, o que suporta a sugestão de perda de uma molécula de água de coordenação.^{29,30}

Já curva DSC do complexo de Cu(II) (Figura 4.3-b) apresenta dois sinais endotérmicos, em 51,6 °C e 113,7 °C, associados à perda de uma molécula de hidratação e uma molécula de água de coordenação, respectivamente. As imagens de DSC fotovisual (Figura 4.3-e) também ficam embaçadas à medida que a amostra é aquecida. A perda da molécula de água de coordenação não resulta em variações significativas de coloração. Tendo em vista que a amostra é escura, é difícil observar alguma mudança de cor, assim como observado para o complexo de cobalto.

Por fim, a curva DSC referente ao complexo de Zn(II) é apresentada pela Figura 4.3-c. Observa-se dois eventos endotérmicos em 74,7 °C, e 173,7 °C, sendo associados à perda de água de uma molécula de água hidratação, e uma molécula de água de coordenação, respectivamente. As imagens de DSC fotovisual (Figura 4.3-f) mostram que a câmera embaça, e em 173 °C, e a amostra muda de cor, resultado da perda da água de coordenação.

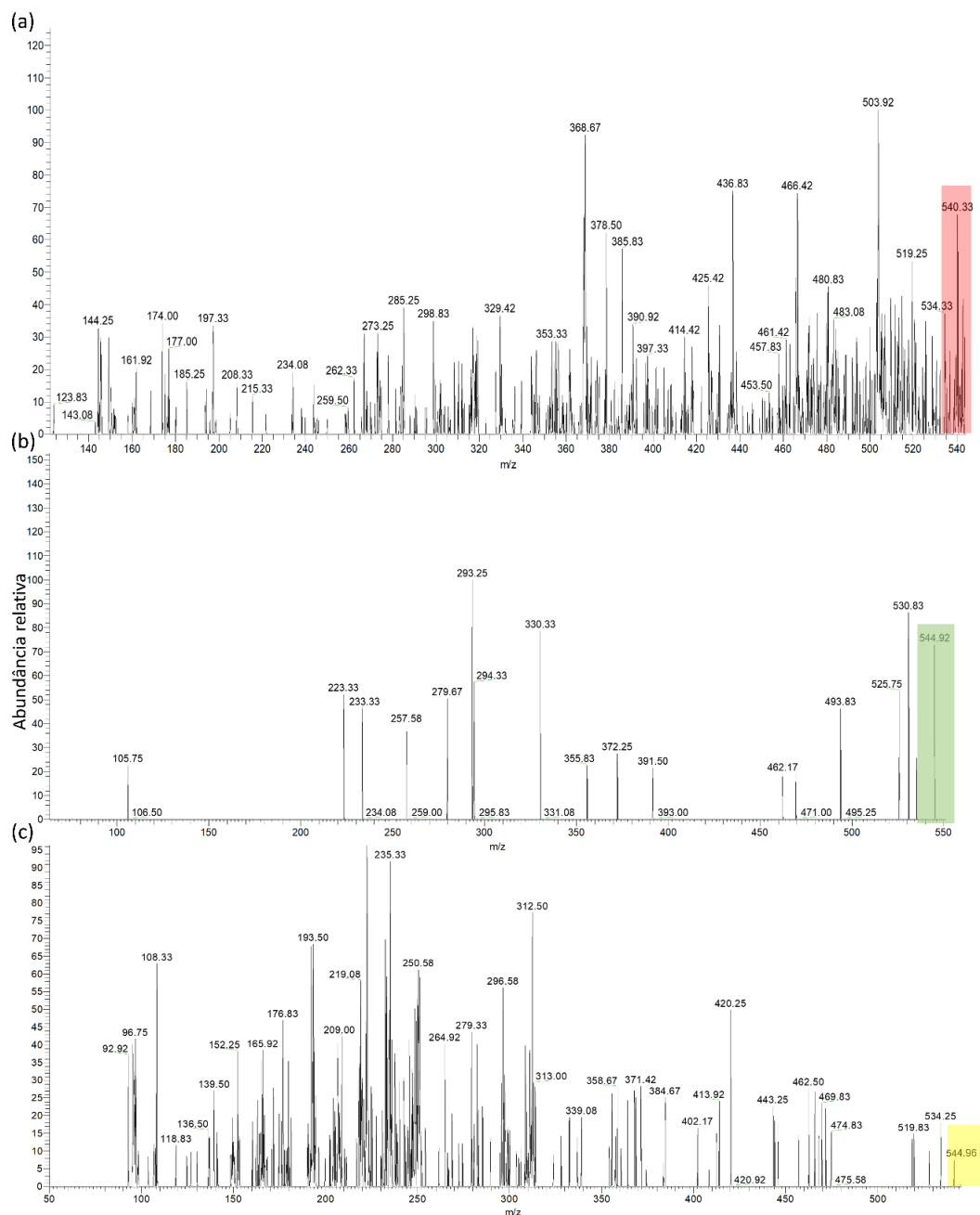
Portanto, por meio dos resultados de TG/DTG-DTA e DSC, sugere-se que a fórmula mínima de cada complexo, levando em consideração as sugestões de que algumas moléculas de água atuam como água de coordenação e/ou água de hidratação, é $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$.

A Figura A4.2 apresenta os difratogramas dos complexos obtidos sem aquecer, e aquecidos até 180 °C, visando desidratar cada composto. Pode-se observar que após o aquecimento o halo de amorfização de cada amostra aumenta. Antes do aquecimento, era observado alguns picos de difração, entretanto, após aquecer cada amostra estes picos somem. Isto pode ser resultado da perda das moléculas de água, que podem ter resultado em uma maior desorganização no retículo cristalino de cada composto de coordenação.

4.3.2 Caracterização espectroscópica.

A Figura 4.4 apresenta os espectros de massas (MS) dos complexos de cobalto (Figura 4.4-a), cobre (Figura 4.4-b), e zinco (Figura 4.4-c).

Figura 4.4. Espectros de massas dos complexos de Cobalto (a), cobre (b) e zinco (c).



Fonte: Da autora.

Os valores dos íons moleculares encontrados na análise realizada em modo positivo para os complexos de cobalto e cobre, e no modo negativo para o complexo de zinco, indicam que os compostos de coordenação apresentam a proporção 1:1 metal:ligante.

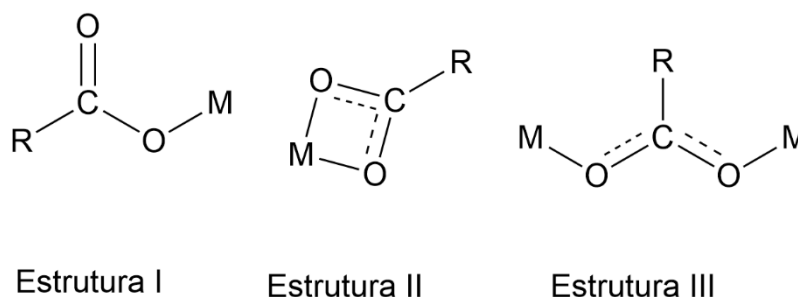
Portanto, com base nos resultados apresentados, é possível sugerir que, para complexo de zinco, a coordenação do metal com o ligante não envolve interação com os hidrogênios fenólicos. Os demais sinais observados no intervalo entre 7,65-5,75 ppm referem-se aos hidrogênios

aromáticos e vinílicos da porção curcuminica na molécula de DCG, e suas integrações não são alteradas após a coordenação, conforme verificado no espectro de ZnL.

Após a desprotonação do grupo ácido carboxílico do composto DCG, durante a síntese dos complexos, pode ser formado o íon carboxilato (COO^-). Este íon origina duas bandas no espectro MIR, uma banda referente ao estiramento assimétrico ($\nu\text{C}=\text{O}_{\text{assim}}$), que costuma ser observada entre 1650 e 1550 cm^{-1} , e a outra banda, que tende a ser menos intensa, referente ao estiramento simétrico ($\nu\text{C}=\text{O}_{\text{sim}}$), que é observada em torno de 1400 cm^{-1} .

Este grupo carboxilato pode interagir de distintas formas com o centro metálico, a Figura 4.6 apresenta estes modos de coordenação. A estrutura I apresenta o modo quelante bidentado, a estrutura II mostra uma coordenação do tipo monodentada, e por fim, a estrutura III apresenta uma coordenação do tipo em ponte.

Figura 4.6. Alguns dos possíveis modos de coordenação envolvendo o grupo carboxilato: Monodentado (Estrutura I), Bidentado quelante (Estrutura II) e em Ponte (Estrutura III).



Fonte: Da autora.

Deacon e Phillips propuseram maneiras para identificar o tipo de ligação entre um ânion carboxilato e o metal,³² em dado complexo, a partir da identificação das bandas simétricas e assimétricas dos carboxilatos. Eles estudaram como a diferença entre os números de onda das bandas simétricas e assimétricas ($\Delta\nu\text{COO}^-_{\text{assym}} - \nu\text{COO}^-_{\text{sim}}$) muda antes e após a coordenação com o metal.³²

Dessa forma, eles sugeriram que para casos em que a coordenação ocorre do tipo quelante, o valor de Δ diminui nos compostos de coordenação, em comparação com o Δ do ânion livre. Quando a coordenação é do tipo monodentada, o Δ aumenta em comparação com o ânion livre.³² Já para o caso em que ocorra uma coordenação em ponte, estes valores de Δ permanecem semelhantes ao ânion livre.³²

Distintos autores reportam na literatura valores esperados deste Δ para a identificação dos modos de coordenação em complexos com ligantes contendo grupos carboxilato.³³⁻³⁶ Por exemplo, Azócar e colaboradores,³⁷ adotaram em seu trabalho a sugestão de que uma coordenação

monodentada deverá apresentar valores de Δ maiores do que 200 cm^{-1} , enquanto a uma ligação do tipo quelante bidentada/em ponte deverão apresentar valores de Δ menores do que 200 cm^{-1} .

Outros trabalhos como o de Barnakov e colaboradores, apresenta valores mais precisos, em que é sugerido que se $\Delta > 110\text{ cm}^{-1}$, a ligação ocorre em ponte, se $\Delta < 110\text{ cm}^{-1}$, a coordenação é do tipo quelante bidentada, e por fim, se $\Delta > 200\text{ cm}^{-1}$, a coordenação provavelmente será do tipo monodentada.

Entretanto, é importante ressaltar, que ainda que alguns trabalhos apresentem valores de Δ específicos para cada tipo de coordenação, somente um estudo de elucidação estrutural a partir de Difractometria de raios X de monocristal irá providenciar um resultado com maior precisão acerca do modo de coordenação e estrutura destes compostos.

Portanto, interações intermoleculares ou intramoleculares, bem como uma possível sobreposição de bandas na mesma região no espectro de MIR, podem influenciar nos valores de Δ , e consequentemente na interpretação destes valores. Em função disso, para a sugestão dos modos de coordenação, neste trabalho foi utilizada a proposta apresentada por Deacon e Phillips.

Os espectros de MIR dos compostos de coordenação em comparação com os espectros MIR de DCG do sal sódico de DCG (Na_2L) estão apresentados na Figura 4.7.

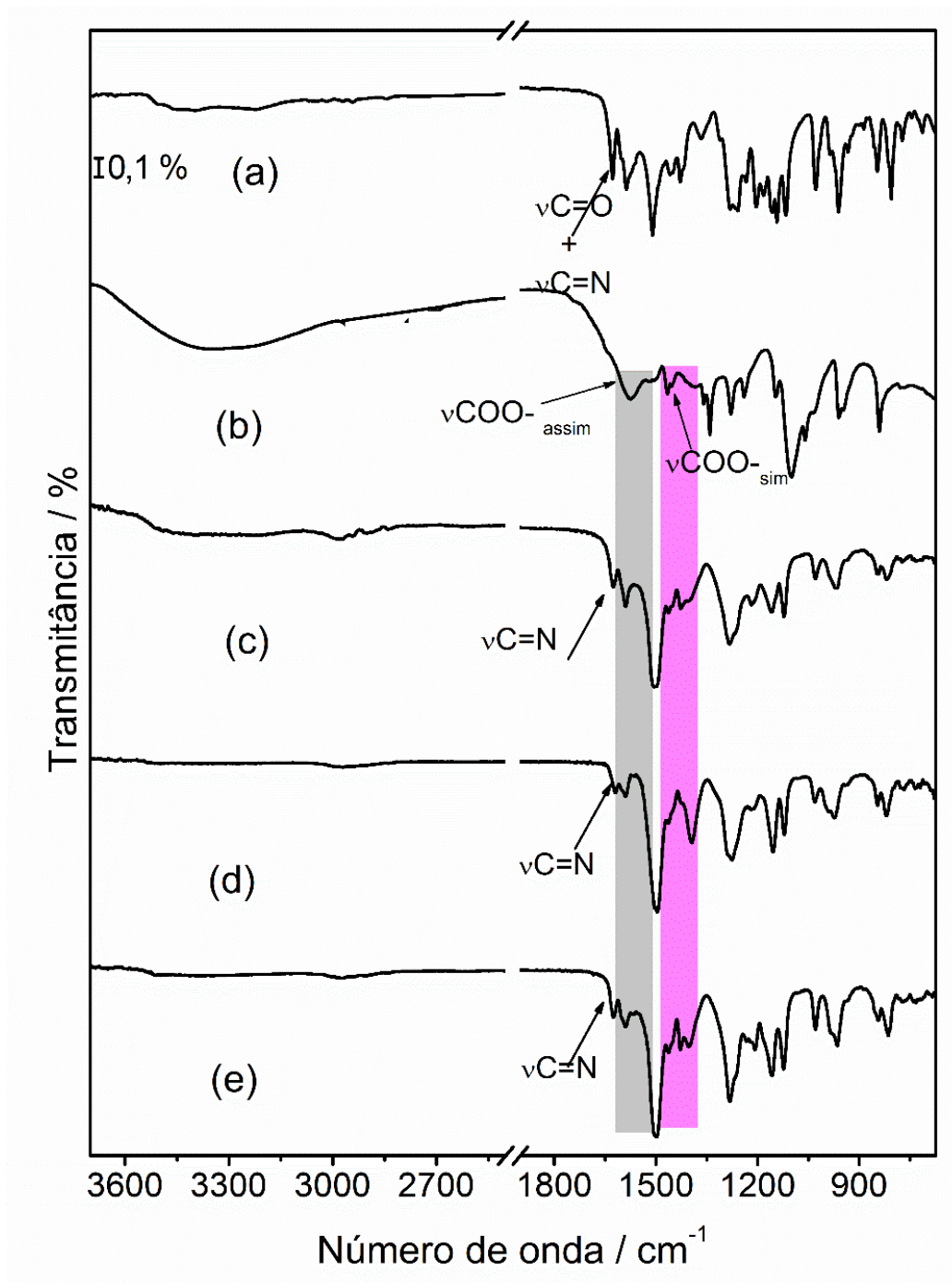
A banda de ácido carboxílico observada no espectro do DCG, está ausente no espectro de Na_2L , indicando que houve a formação do grupo carboxilato (COO^-). A banda larga em 1574 cm^{-1} pode ser associada à sobreposição das bandas de estiramento $\nu\text{C}=\text{N}$ e estiramento assimétrico $\nu\text{C}=\text{O}_{\text{assim}}$ de carboxilato (destacado em cinza), e a banda vibracional simétrica $\nu\text{C}=\text{O}_{\text{sim}}$ de carboxilato em 1396 cm^{-1} (destacado em rosa).

Ao analisar o espectro dos complexos, verifica-se que as bandas referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo carboxilato estão deslocadas em relação aos valores de absorção observados no espectro do ligante sódico. Os valores das bandas no espectro MIR de cada composto de coordenação, podem ser observados na Tabela 4.3. No geral, observa-se que o $\Delta_{\text{complexos}} > \Delta_{\text{Na}_2\text{L}}$, em que os complexos apresentam valores entre $13\text{-}18\text{ cm}^{-1}$ superior ao do ligante sódico.

A partir desses dados, é possível sugerir que a coordenação ocorre do tipo monodentada para os complexos de Co(II) , Cu(II) e Zn(II) . Além disso, o pequeno deslocamento da banda de vibracional de $\nu\text{C}=\text{N}$ nos espectros dos complexos (1624 cm^{-1}) em comparação com o espectro do ligante DCG (1627 cm^{-1}), sugere que este grupo possa estar interagindo com os centros metálicos a partir da interação com os pares de elétrons do nitrogênio do grupo azometina.^{32,38}

Além disso, banda em 1505 cm^{-1} está presente em todos os espectros na Figura 4.7, a qual provavelmente está associada à vibração $\nu\text{C}=\text{C}$ de anel aromático sobrepostas com a vibração de $\nu\text{C}=\text{C}$ da ligação vinílica.³⁶⁻³⁷

Figura 4.7. Espectros MIR do ligante DCG(a), Na_2L (b) e dos complexos de Co(II) (c), Cu(II) (d) e Zn(II) (e).



Fonte: Da autora.

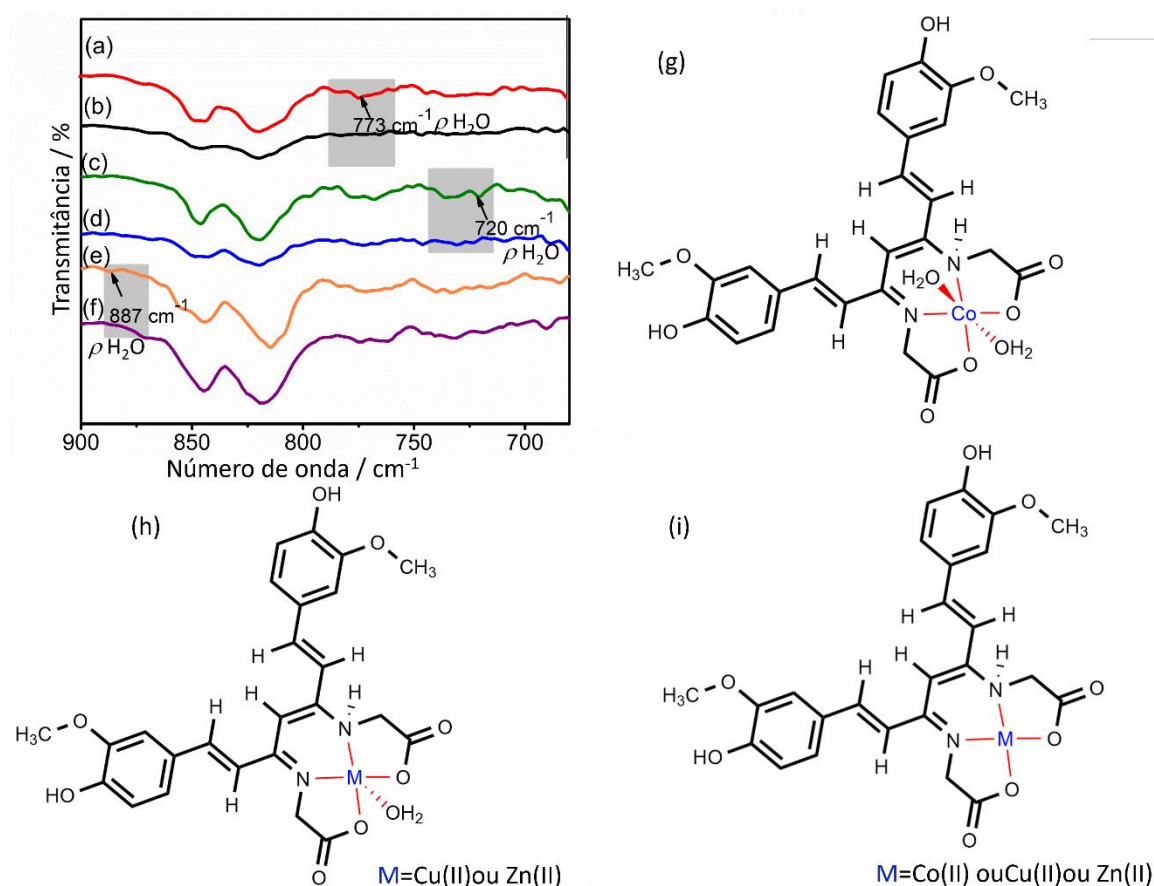
Tabela 4.3. Atribuições de estiramento vibracionais de COO^- e C=N para DCG, Na_2L e seus complexos.

Atribuições ↓ Composto→	L	Na_2L	$[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$	$[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$	$[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$
$\nu\text{C=N} / \text{cm}^{-1}$	1627	-	1624	1624	1624
$\nu\text{COOH} / \text{cm}^{-1}$	1627	-	-	-	-
$\nu\text{COO}^-_{\text{assim}} / \text{cm}^{-1}$	-	1590	1590	1590	1590
$\nu\text{COO}^-_{\text{sim}} / \text{cm}^{-1}$	-	1409	1399	1394	1398
$\Delta\nu \text{COO}^-_{\text{sim}} - \text{COO}^-_{\text{assim}} / \text{cm}^{-1}$	-	181	191	196	192

 ν = estiramento vibracional

Visando desidratar esses compostos de coordenação, eles foram aquecidos até 190 °C, temperatura que viabilizava a desidratação desses compostos, e que é inferior à temperatura de estabilidade térmica de cada um. Os espectros MIR dos complexos aquecidos estão apresentados na Figura 4.8.

Figura 4.8. Expansão dos espectros MIR dos complexos $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$ (a), CoL (b), $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ (c), CuL (d) $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ (e), ZnL (f). Seguido das propostas de fórmula estrutural dos modos de coordenação para cada complexo (g,h) e dos complexos anidros (i).



Fonte: Da autora.

Analisando os espectros na Figura 4.8-a-e, não são observadas muitas mudanças em comparação com os espectros dos complexos hidratados. No geral, observa-se que o Δ ($\Delta\nu\text{COO}^-_{\text{assim}} - \nu\text{COO}^-_{\text{sim}}$) diminuiu apenas cerca de 2 cm^{-1} para cada composto de coordenação. Além disso, no intervalo entre $3600\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$, pode ser visto uma banda alargada, a qual pode ser referente a presença dos grupos OH livres nos complexos.

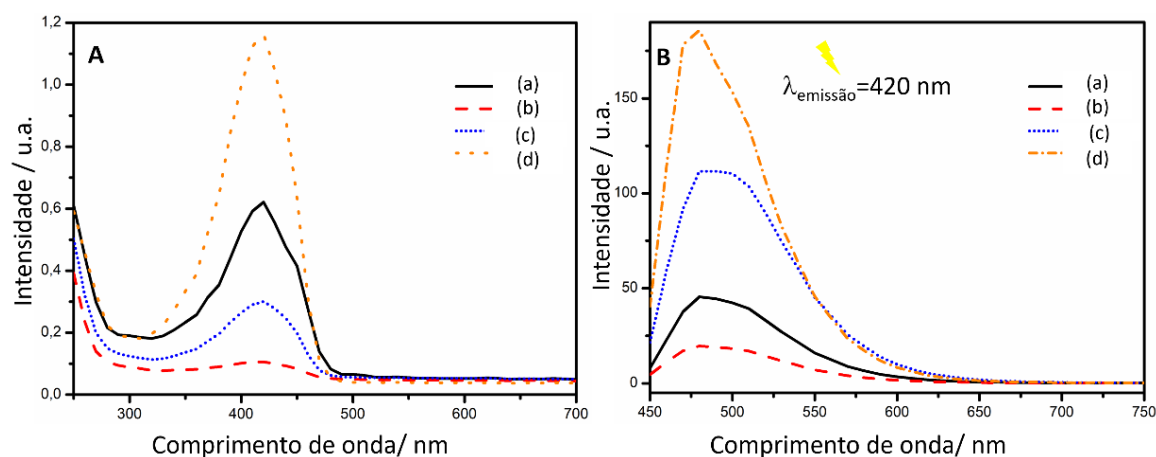
Ademais, as bandas de baixa intensidade em 773 cm^{-1} (Figura 4.8-a), 720 cm^{-1} (Figura 4.8-c) e 887 cm^{-1} (Figura 4.8-e) referentes à vibração de deformação angular no plano (ρ rocking) associadas as ligações OH nas moléculas de água estão nos espectros dos complexos aquecidos (Figuras 4.8-b/d/f).^{39,40}

A Figura 4.8-g apresenta uma proposta de coordenação do complexo de Co(II) hidratado, enquanto a Figura 4.8-h apresenta uma sugestão de coordenação dos complexos de Cu(II) e Zn(II) hidratados. Estas sugestões levaram em consideração os resultados discutidos de espectrometria de massas, MIR e RMN ^1H e Termogravimetria. Por fim, a Figura 4.8-i apresenta uma proposta de coordenação após a desidratação dos complexos.

4.3.3 Propriedades fotofísicas.

A Figura 4.9-A apresenta os espectros de UV-Vis dos complexos hidratados em comparação com o ligante DCG. O composto DCG apresenta uma absorção máxima em 420 nm referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ o qual está associado aos grupos ácido carboxílico (RCOOH) e grupo azometina ($\text{RC}=\text{NR}'$).^{40,41}

Figura 4.9. Espectros de absorção (A) e emissão (B) dos complexos hidratados de cobalto (a), cobre (b), e zinco (d), e de DCG (d).



Fonte: Da autora.

Após a coordenação com os metais Co(II), Cu(II) e Zn(II), observa uma redução intensa na intensidade de absorção desta banda (efeito hipocrômico). Ocorreu ainda, um pequeno deslocamento hipocrômico para cada centro metálico em relação à banda principal para cada centro metálico: Co(II) (419 nm), Cu(II) (418 nm) e Zn(II) (419 nm).

Os espectros de luminescência estão apresentados na Figura 4.9-B, e foram obtidos no λ excitação de 420 nm. O ligante DCG apresenta comprimento de onda máximo de emissão em 479 nm (deslocamento de Stokes de 59 nm), enquanto os complexos apresentaram comprimento de onda máximo de emissão em 488 nm. Além disso, houve um efeito hipocrômico das bandas de emissão dos complexos em relação ao DCG.

Os efeitos hipocrômicos obtidos a partir dos espectros de absorção e luminescência dos complexos, provavelmente são resultado da interação dos grupos ácido carboxílico e azometina com os metais.^{42,43} Estas propriedades dos compostos de coordenação podem ser interessantes para estudos de aplicação tais como sensores químicos, ou mesmo iniciadores em reações de polimerização por luz UV.

4.4 Conclusões

O primeiro ponto de destaque, é que o método mecanoquímico possibilitou a obtenção de complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II) com uma base de Schiff curcuminica, com tempos reacionais inferiores à 30 minutos.

Os resultados termoanalíticos mostraram que as temperaturas de estabilidade térmica desses compostos variam da seguinte forma 219,2 °C (complexo de cobre) > 205,9 °C (complexo de cobalto) $\approx$ 205,0 °C (complexo de zinco). Estes dados sugerem que a fórmula mínima para cada composto de coordenação é $[\text{CoL}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CuL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$, $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$.

Os dados espectroscópicos obtidos a partir de MIR e UV/VIS sugerem que a coordenação ocorre do tipo quelante entre o ácido carboxílico e o nitrogênio do grupo azometina.

Os resultados de RMN ^1H indicam que a coordenação não ocorre com os grupos OH fenólicos do ligante DCG. Por fim, os resultados de espectrometria de massas confirmaram a obtenção de complexos na proporção 1:1 metal:ligante.

4.5 Referências

1. MIESSLER, Gary L; FISCHER, Paul J; TARR, Donald A, **Inorganic chemistry.**, Boston: Pearson, 2014, p. 50–60.
2. SHI, Yang; ZHANG, Wenxian; XUE, Yi; *et al.* Fluorescent Sensors for Detecting and Imaging Metal Ions in Biological Systems: Recent Advances and Future Perspectives. **Chemosensors**, v. 11, n. 4, p. 226, 2023.
3. MALINOWSKI, Jacek; ZYCH, Dominika; JACEWICZ, Dagmara; *et al.* Application of Coordination Compounds with Transition Metal Ions in the Chemical Industry-A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, 2020.
4. GALLUZZI, L; VITALE, I; MICHELS, J; *et al.* Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. **Cell Death & Disease**, v. 5, n. 5, p. e1257–e1257, 2014.
5. GALLUZZI, L; VITALE, I; MICHELS, J; *et al.* Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. **Cell Death & Disease**, v. 5, n. 5, p. e1257–e1257, 2014.
6. GÓMEZ-RUIZ, Santiago; MAKSIMOVIĆ-IVANIĆ, Danijela; MIJATOVIĆ, Sanja; *et al.* On the Discovery, Biological Effects, and Use of Cisplatin and Metallocenes in Anticancer Chemotherapy. **Bioinorganic Chemistry and Applications**. v. 140284, p.1-14, 2012.
7. ALDERDEN, Rebecca A.; HALL, Matthew D.; HAMBLEY, Trevor W. The Discovery and Development of Cisplatin. **Journal of Chemical Education**, v. 83, n. 5, p. 728, 2006.
8. PRASAD, Sahdeo; DUBOURDIEU, Dan; SRIVASTAVA, Ajay; *et al.* Metal–Curcumin Complexes in Therapeutics: An Approach to Enhance Pharmacological Effects of Curcumin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 7094, 2021.
9. WANNINGER, Simon; LORENZ, Volker; SUBHAN, Abdus; *et al.* Metal complexes of curcumin – synthetic strategies, structures and medicinal applications. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 15, p. 4986–5002, 2015.
10. BANERJEE, Samya; CHAKRAVARTY, Akhil R. Metal Complexes of Curcumin for Cellular Imaging, Targeting, and Photoinduced Anticancer Activity. **Accounts of Chemical Research**, v. 48, n. 7, p. 2075–2083, 2015.
11. CĂLINESCU, Mirela; FIASTRU, Mălina; BALA, Daniela; *et al.* Synthesis, characterization, electrochemical behavior and antioxidant activity of new copper(II) coordination compounds with curcumin derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 23, n. 7, p. 817–827, 2019.
12. ABU-DIEF, Ahmed M.; MOHAMED, Ibrahim M.A. A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 2, p. 119–133, 2015.

13. BOULECHFAR, Chérifa; FERKOUS, Hana; DELIMI, Amel; *et al.* Schiff bases and their metal Complexes: A review on the history, synthesis, and applications. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 150, p. 110451, 2023.
14. MORE, M.S.; JOSHI, P.G.; MISHRA, Y.K.; *et al.* Metal complexes driven from Schiff bases and semicarbazones for biomedical and allied applications: a review. **Materials Today Chemistry**, v. 14, p. 100195, 2019.
15. SUNJUK, Mahmoud; AL-NAJJAR, Lana; SHTAIWI, Majed; *et al.* Transition Metal Complexes of Schiff Base Ligands Prepared from Reaction of Aminobenzothiazole with Benzaldehydes. **Inorganics**, v. 10, n. 4, p. 43, 2022.
16. WILKINSON, Shane M.; SHEEDY, Timothy M.; NEW, Elizabeth J. Synthesis and Characterization of Metal Complexes with Schiff Base Ligands. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 2, p. 351–354, 2015.
17. YUSUF, Tunde L.; OLADIPO, Segun D.; ZAMISA, Sizwe; *et al.* Design of New Schiff-Base Copper(II) Complexes: Synthesis, Crystal Structures, DFT Study, and Binding Potency toward Cytochrome P450 3A4. **ACS Omega**, v. 6, n. 21, p. 13704–13718, 2021.
18. TURRA, Rafael A. ; LAMB, Katie J ; GOMES, Tadeu; *et al.* A screening process for carbonation of vegetable oils using an aluminum(salen) complex with a further application as weldable polymers. **Journal of Applied Polymers**, v. 140, n. 24, p. 1–15, 2023.
19. GUO, Liping; LAMB, Katie J.; NORTH, Michael. Recent developments in organocatalysed transformations of epoxides and carbon dioxide into cyclic carbonates. **Green Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 77–118, 2021.
20. GUL, Zarif; KHAN, Sikandar; ULLAH, Shaheed; *et al.* Recent Development in Coordination Compounds as a Sensor for Cyanide Ions in Biological and Environmental Segments. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 7, p. 1–21, 2022.
21. DONG, Mingling; ZHENG, Wenshu; YI-PING PHOEBE CHEN; *et al.* Fe-T₁ Sensor Based on Coordination Chemistry for Sensitive and Versatile Bioanalysis. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 15, p. 9148–9155, 2018.
22. STEFANESCU, Mircea; DIPPONG, Thomas; STOIA, Marcela; *et al.* Study on the obtaining of cobalt oxides by thermal decomposition of some complex combinations, undispersed and dispersed in SiO₂ matrix. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 94, n. 2, p. 389–393, 2008.

23. DE GODOI MACHADO, Rafael; GAGLIERI, Caroline; ALARCON, Rafael Turra; *et al.* Cobalt selenate pentahydrate: Thermal decomposition intermediates and their properties dependence on temperature changes. **Thermochimica Acta**, v. 689, p. 178615, 2020.
24. STOCKA, E. Ingier ; GRABOWSKA, Anna. Thermal Analysis of Cobalt(II) Salts with some Carboxylic Acids. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** , v. 54, n. 1, p. 115–123, 1998.
25. BARTYZEL, A. Synthesis, thermal behavior and some properties of Cu(II) compelxes with N,O Schiff Bases. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 131, p. 1221-1233, 2018.
26. TURKYLMAZ, M.; ONDER, A.; BARAN, Y. Synthesis, spectroscopic and thermal properties of Cu(II), Ni(II) and Pt(II). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 109, p. 991-998, 2012.
27. CHOMIC, J.; GYORGYOVA, K.; SZUNYOGOVA, S.; et al. Thermal study of zinc (II) salicylate complex compounds with bioactive ligands. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 76, p. 33-41, 2004.
28. FINDORAKOVÁ, L.; GYORGYOVA, K.; KOVAROVÁ, J.; et al. Novel Zinc (II) benzoate complex compound with caffeine and urea. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 95, p. 923-928, 2009.
29. DE MOURA, Aniele; JOSE, Benedito; SOBRAL CARVALHO, Ana Carina; *et al.* Green synthesis of a Schiff base ligand and its Co(II), Cu(II) and Zn(II) complexes: thermoanalytical and spectroscopic studies. **Journal of Thermal Analysis And Calorimetry**, v. 147, n. 20, p. 11093–11106, 2022.
30. GOMAJI CHAUDHARY, Ratiram; JUNEJA, Harjeet D; GHARPURE, Mangesh P. Thermal degradation behaviour of some metal chelate polymer compounds with bis(bidentate) ligand by TG/DTG/DTA. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 112, n. 2, p. 637–647, 2012.
31. ZELENÁK, V.; VARGOVÁ, Z.; GYORYOVÁ, K. Correlation of infrared spectra of Zinc (II) carboxylates with their structures. **Spectrochimica Acta Part A**. v. 66, p. 262-272, 2007.
32. JONATHAN DE ROO; BAQUERO, Edwin A; COPPEL, Yannick; *et al.* Insights into the Ligand Shell, Coordination Mode, and Reactivity of Carboxylic Acid Capped Metal Oxide Nanocrystals. **ChemPlusChem**, v. 81, n. 11, p. 1216–1223, 2016.
33. SUBHAM, M. A.; RAHMAN, M.A.; RAHMAN, M.S. et al. Synthesis and Characterization of Metal Complexes Containing Curcumin and Study of their Anti-microbial Activities and DNA Binding Properties. **Journal of Scientific research**, v.6; p. 97-109, 2014.

34. ZHAO, X.; JIANG, T.; et al. Interaction of curcumin with Zn(II) and Cu(II) ions based on experiment and theoretical calculation. **Journal of Molecular Structure**, v. 984, n. 1–3, p. 316–325, 2010.
35. PAVIA, Donald L; LAMPMAN, Gary M; KRIZ, George S; *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 4^aed, p.150-250, 2010.
36. KAZUO NAKAMOTO. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds / Kazuo Nakamoto**. New York Etc.: Wiley, 1997.
37. PRIYADARSINI, K. Indira. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81–95, 2009.
38. KHOPDE, Sujata M. ; INDIRA PRIYADARSINI, K. ; PALIT, Dipak K. ; *et al.* Effect of Solvent on the Excited-state Photophysical Properties of Curcumin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 72, n. 5, p. 625, 2000.
39. MA, Chunyu; YE, Kaiqi; YU, Shukun; *et al.* Synthesis and hypochromic effect of phthalocyanines and metal phthalocyanines. **Dyes and Pigments**, v. 74, n. 1, p. 141–147, 2007.
40. BOYNTON, Adam N; MARCELIS, Lionel; MCCONNELL, Anna J; *et al.* A Ruthenium(II) Complex as a Luminescent Probe for DNA Mismatches and Abasic Sites. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 8381–8389, 2017.

CAPÍTULO 5 – USO DO MÉTODO MECANOQUÍMICO PARA A REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO DE DCG E DOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO A PARTIR DA REAÇÃO COM PEG-SUCCÍNICO.

5.1 Introdução

As sínteses *PEGylation* resultam na incorporação da molécula de polietilenoglicol (PEG) em moléculas bioativas, sejam elas orgânicas ou inorgânicas, enzimas, proteínas, entre outras.¹⁻⁴ Comumente os compostos obtidos via *PEGylation* apresentam propriedades hidrofílicas superiores, e maior estabilidade em meio aquoso em comparação com seus precursores. Por essa razão, muitos compostos derivados dessas reações são usados em sistemas de liberação controlada de fármacos (*drug-delivery*).⁴⁻⁸

Alguns autores relataram que a modificação da curcumina a partir da inserção de polímeros biocompatíveis em sua estrutura, tem sido uma estratégia promissora no campo das formulações de fármacos poliméricos.⁴⁻⁸ Observou-se neste caso, um aumento na sua meia-vida em solução, melhora na permeabilidade lipofílica e maior estabilidade metabólica da molécula bioativa.⁴⁻⁸

Entretanto, apesar dessa abordagem ser considerada promissora para melhorar as propriedades físico-químicas da curcumina, observou-se uma redução nas propriedades terapêuticas deste composto após a inserção de PEG em sua estrutura, o que inviabilizou sua comercialização.⁹⁻¹²

Por isso, alguns estudos buscam trabalhar com curcumina-PEG nanométrica, variando a proporção curcumina:PEG ou avaliar o tamanho das cadeias de PEG para obter esse produto.⁹⁻¹³

Apesar de existirem inúmeras pesquisas associadas às sínteses de *PEGylation* de distintas moléculas bioativas, é pouco reportado o uso do método mecanoquímico como metodologia de síntese para obtenção desses compostos.¹⁴⁻¹⁶

Portanto, o objetivo deste capítulo foi investigar se uso do método mecanoquímico é uma abordagem eficaz para a obtenção de moléculas funcionalizadas a partir da reação de *PEGylation*, utilizando o PEG-succínico. Espera-se que os produtos dessa reação apresentem solubilidade aquosa superior em relação aos seus precursores de síntese.

Nesse sentido, foi avaliada a possibilidade de esterificar tanto o composto orgânico derivado de curcumina-glicina (DCG), apresentado no capítulo 3, quanto os compostos de coordenação sintetizados no capítulo 4.

5.2 Materiais e métodos

5.2.1 Materiais

- 4-Dimetilaminopiridina (Sigma Aldrich, 99%, DMAP),
- Acetato de etila (Synth, P.A.),
- Clorofórmio (Synth, P.A.),
- Clorofórmio deuterado (Sigma Aldrich, 99,9% $CDCl_3$),
- Placas de cromatografia em Camada Delgada (Sigma Aldrich, CCD).
- Diclorometano (Synth, P.A.),
- Hexano (Synth, P.A.),
- N,N'-Diciclohexilcarbodiimida (Sigma Aldrich, 99%, DCC),
- Tetrahidrofurano (Synth, P.A.),
- Tolueno (Synth, P.A.).

5.2.2 Síntese Mecanoquímica

Todas as sínteses apresentadas neste capítulo foram realizadas fazendo uso do moinho vibratório de bolas da Restch, modelo MM 400. Foram utilizados jarros revestidos com óxido de zircônio (10 mL) e uma esfera de óxido de zircônio (10 mm) para conduzir as sínteses.

5.2.2.1 Síntese dos ésteres derivados de DCG.

Para conduzir as sínteses dos ésteres MONO_DCG e DIES_DCG, foi necessário sintetizar e purificar previamente os compostos DCG (Capítulo 3), e PEG_AS (Capítulo 2).

5.2.2.1.1 Síntese Mecanoquímica de MONO_DCG.

O composto MONO_DCG foi sintetizado a partir da reação entre o PEG_AS (1 mmol) e DMAP (0,15 mmol), que foram moídos por cinco minutos. Em seguida, adicionou-se DCC (0,30 mmol) no jarro, e a mistura foi moída durante 5 minutos. Por fim, foi adicionado no jarro 1 mmol de DCG, e a reação prosseguiu por mais 20 minutos. Todas as etapas de síntese foram realizadas na frequência de 30 Hz.¹⁵

A purificação foi conduzida pela solubilização da amostra MONO_DCG em diclorometano gelado, o que resultou em um precipitado branco, referente a precipitação de DMAP e N,N'-diciclohexilureia (DCU). Após isto, a mistura foi filtrada e, em seguida, a solução foi evaporada e

o produto MONO_DCG foi obtido com um rendimento de 85%. O progresso da reação foi monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD), sendo utilizada uma solução de hexano:acetato de etila na proporção de 7:3. Além disso, uma solução do revelador *p*-anisaldeído foi usada para auxiliar na detecção dos sinais na placa.

5.2.2.1.2 Síntese Mecanoquímica de DIES_DCG.

O composto DIES_DCG foi obtido pela adição de 2,0 mmol de PEG_AS (1,0 mmol) e DMAP (0,3 mmol) no jarro e, seguido da moagem durante 10 minutos. Em seguida foi adicionado DCC no jarro (0,6 mmol) e a mistura foi moída por mais 10 minutos. Por fim, foi adicionado no jarro, 1,0 mmol de DCG, e a reação prosseguiu por mais 40 minutos. Todas as etapas de síntese foram realizadas na frequência de 30 Hz.¹⁵ A purificação foi feita conforme descrito anteriormente para o composto MONO_DCG, e obteve-se um rendimento de 75%.

5.2.2.2 Síntese dos ésteres derivados dos compostos de coordenação.

Após os compostos de coordenação terem sido sintetizados e purificados, conforme discutido no Capítulo 4, cada composto foi armazenado em dessecador, para posteriormente serem esterificados. A síntese foi conduzida de modo semelhante à síntese de MONO_DCG e DIES_DCG.

Primeiramente foram reagidos 1mmol de PEG_AS com 0,15 mmol de DMAP, e a síntese foi procedida durante 5 minutos. Posteriormente foram adicionados mais 0,30 mmol de DCC no jarro, e a reação foi conduzida por mais 5 minutos. Por fim, foi adicionado no jarro, 1 mmol do respectivo composto de coordenação. Nesta etapa, a mistura foi moída durante 20 minutos. A purificação destes compostos se deu da mesma forma que para MONO_DCG e DIES_DCG. Os rendimentos obtidos foram de 70, 75, e 65% para os complexos esterificados de Co(II), Cu(II) e Zn(II), respectivamente.

5.2.3 Equipamentos

- Neste capítulo os compostos sintetizados foram caracterizados pelas seguintes técnicas:
- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho médio (MIR);
- Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ¹H);
- Termogravimetria e Análise térmica Diferencial Simultâneas (TG-DTA);
- Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);

- DSC fotovisual;
- Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-VIS);
- Espectroscopia de Fluorescência.

Todas as condições de análise e os equipamentos utilizados foram descritos no Capítulo 2. Portanto, essas condições não serão abordadas novamente. É importante destacar que, geralmente, as curvas DSC são realizadas até a temperatura de estabilidade térmica de cada composto. No entanto, casos que apresentem variações nesse padrão serão discutidos ao longo do texto.

5.2.3.1 Espectroscopia na região do Ultravioleta-visível (UV-VIS) e Espectroscopia de Fluorescência.

Os espectros de absorções e luminescência foram obtidos no espectrofotômetro SpectraMax M2. Uma cubeta de quartzo de 3 mL com caminho óptico de 10 mm, no equipamento. Todos os compostos foram solubilizados em clorofórmio. Para caracterizar o PEG e PEG_AS, foram utilizadas soluções de 2 mg mL⁻¹, em concentrações menores não foi possível observar nenhuma banda de absorção nos espectros de UV-Vis. Já os demais compostos foram caracterizados na concentração de 0,08 mg mL⁻¹.

5.2.4 Ensaios de solubilidade por gravimetria.

Para o estudo foi utilizado uma incubadora shaker da Marconi, modelo MA 410 / CF. Foram realizados dois ensaios, o primeiro deles foi conduzido durante 4 horas, e o segundo durante 72h, na temperatura de 25 °C±0,01, com agitação de 150 RPM.¹⁷ Após esse período as amostras foram centrifugadas na centrífuga Kasvi, durante 30 minutos, usando 4000 RPM. Foram pesados 7,0000 ±0,2 mg de cada composto, os quais foram inseridos em tubos de ensaio com tampa, seguido da adição de 3 mL de água recém destilada. Cada ensaio foi realizado em triplicatas. Posteriormente, após o fim de cada ensaio, a fase aquosa de cada amostra foi coletada e filtrada em microfiltros de membrana PTFE hidrofílico de 13 mm de diâmetro e com poros de 10 µm. Por fim as soluções filtradas foram evaporadas em estufa Tecnal, Te-395 em 110 °C, fazendo uso de vácuo, utilizando a bomba de vácuo da BIOMECC, marca Eco-350. As amostras sólidas obtidas após a secagem foram analisadas por MIR.

5.2.5 Estudo de viabilidade celular por ensaio MTT.

As células de osteoblastos MC3T3-E1 foi plaqueada na densidade de $2,5 \times 10^3$ células/poço em placas de 96 poços. Após 48 horas, as células foram tratadas em diferentes concentrações de cada composto, em meio acrescido de DMSO (0,02 % v/v). Células controle foram cultivadas com veículo (0,02% DMSO). A viabilidade celular foi avaliada após 24, e 72 horas nas células NIH3T3 por meio do ensaio de MTT. Nos referidos períodos, o meio de cultura foi cuidadosamente aspirado e foram adicionados, 110 µL de meio de cultura contendo solução de 0,5 mg/mL de MTT e incubados por 4 h a 37 °C/5% CO₂ no escuro. A seguir, o volume de 200 µL de DMSO foi adicionado aos poços e deixado por 30 minutos a temperatura ambiente para a completa dissolução dos cristais de formazan. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 550 nm utilizando leitor de placa (Fluostar, OPTIMA).

5.3 Resultados e Discussões

5.3.1 Resultados e Discussões – Ésteres derivados do derivado de Curcumina e Glicina (DCG).

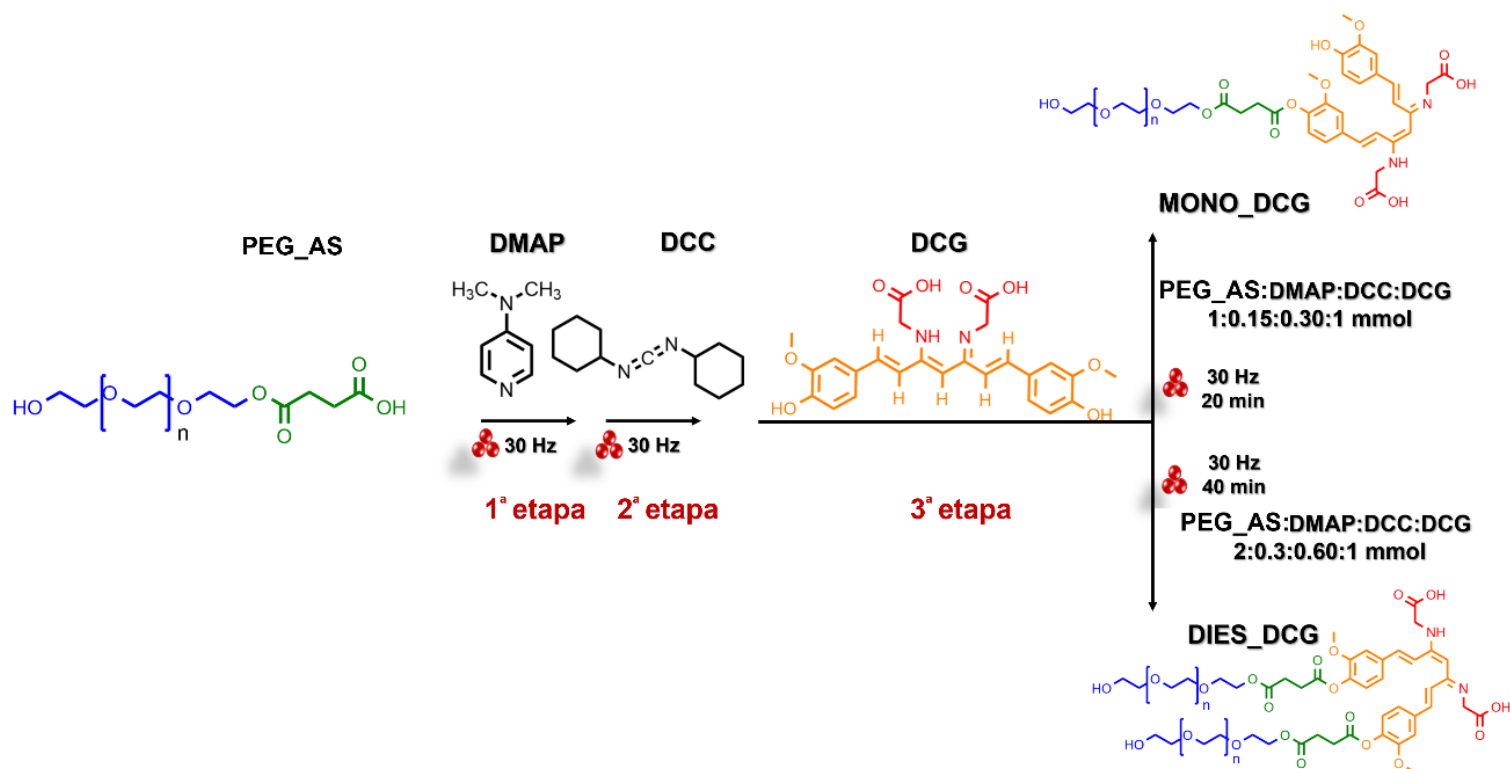
5.3.1.1 Estudos de condição de síntese e caracterização espectroscópica dos ésteres MONO_DCG e DIES_DCG.

A Figura 5.1 apresenta o esquema de síntese mecanoquímica para obtenção dos ésteres MONO_DCG e DIES_DCG, conforme disposto na seção de Materiais e métodos.

Entretanto para estabelecer estas condições como ideais para estas sínteses, foi necessário realizar um estudo de condição de síntese preliminar. Para isso, foram verificados primeiramente a quantidade de DCC e DMAP nas sínteses, e posteriormente verificado como a ordem de inserção de cada substância no jarro afetaria o composto final.

A metodologia utilizada neste capítulo seguiu alguns trabalhos na literatura que reportavam a esterificação da curcumina e/ ou bases de Schiff. A esterificação de Steglich, realizada neste trabalho, é caracterizada por ser uma reação mais branda do que as tradicionais esterificações de Fischer.^{18,19} Nessas esterificações não é demandado o uso de catalisadores ácido, sendo utilizado ao invés disso, DMAP e DCC.

Figura 5.1. Esquema de síntese mecanoquímica para MONO_DCG e DIES_DCG.



Fonte: Da autora.

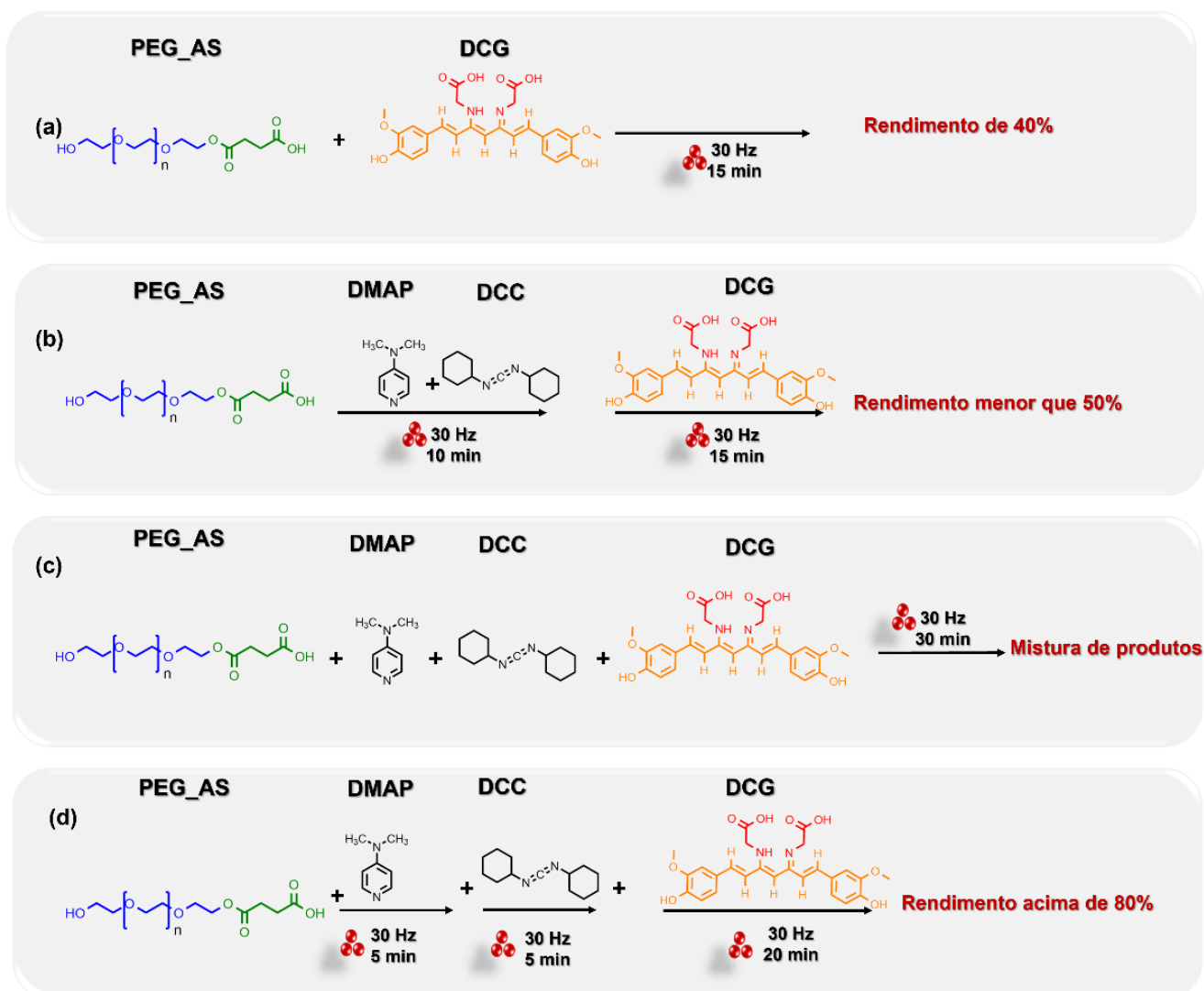
O estudo da melhor condição de síntese foi iniciado com investigação acerca da possibilidade de sintetizar o éster MONO_DCG na ausência de DCC e DMAP, e posteriormente foi avaliado como DCC e DMAP poderiam influenciar nesta reação.

Assim, foram reagidos 1 mmol de PEG_AS e 1 mmol DCG, visando obter-se MONO_DCG. Os reagentes foram moídos durante 20 minutos, na frequência de 30 Hz. Após a purificação, conforme descrito na seção 5.2.1.1.1, obteve-se um produto com rendimento de 40% (Figura 5.2-a). Mesmo alterando o tempo reacional, não foram obtidos maiores rendimentos reacionais.

A fim de aumentar o rendimento reacional, a reação foi realizada utilizando DCC e DMAP. Esta tentativa de síntese consistiu da adição no jarro de 1 mmol de PEG_AS, 0,3 mmol de DCC e 0,15 mmol de DMAP, e a moagem procedeu-se durante 10 minutos. Posteriormente, na segunda etapa reacional, foi adicionado 1 mmol de DCG, e a reação foi conduzida por mais 15 minutos. Após a purificação, obteve-se um produto com rendimento reacional de 49% (Figura 5.2-b).

Este resultado indicou que a adição de DCC e DMAP proporcionou um maior rendimento reacional, entretanto, almejando verificar se a ordem de inserção de DCC e DMAP no jarro poderia influenciar na reação, foi realizada uma terceira tentativa de síntese.

Figura 5.2. Tentativas de síntese para MONO_DCG.



Fonte: Da autora.

Ao tentar realizar síntese somente em uma etapa, reagindo PEG_AS, DCC, DMAP e DCG, obtêm-se uma mistura de produtos. Isso é resultado da interação de DCC e DMAP com os grupos ácido carboxílico presentes nas moléculas PEG_AS e DCG (Figura 5.2-c).

O quarto e último estudo de condição de síntese mostrou que, quando a reação se procede na seguinte ordem: PEG_AS e DMAP (1ª etapa), seguido de moagem durante 5 minutos. Etapa 2: adição de DCC no jarro, seguido de moagem mais 5 minutos. E por fim, adição de DCG no jarro (3ª etapa), e moagem durante 20 minutos. Ao final da reação, obtêm-se um produto com 85% de rendimento de MONO_DCG (Figura 5.2-d).

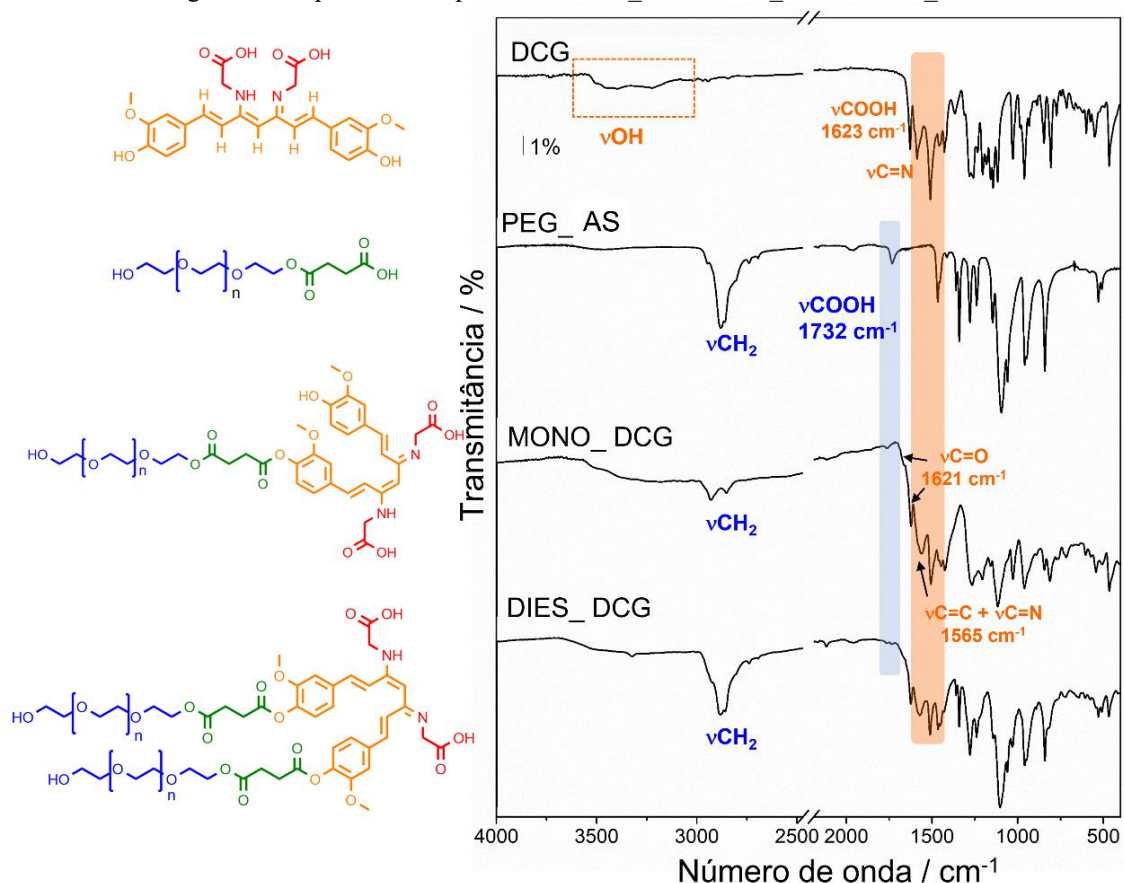
Em função destes resultados, foi adotada a condição de síntese apresentada no item 5.3-d para as sínteses de MONO_DCG e DIES_DCG.¹⁵

Devido à quantidade de reagentes no jarro, a síntese de DIES_DCG exigiu mais tempo em cada etapa, pois foram observados reagentes residuais ao final da síntese, por meio de observação visual e também a partir dos resultados de cromatografia em camada delgada (CCD). Os materiais residuais foram facilmente observados devido às diferentes cores que cada um apresenta. PEG_AS, DCG e DMAP, são brancos, enquanto DCG é laranja, e o produto DIES_DCG apresenta coloração vermelho-carmim.

A Figura 5.3 exibe os espectros MIR de MONO_DCG e DIES_DCG em comparação com os espectros DCG e PEG_AS. A banda de estiramento νCH_2 do PEG_AS em 2884 cm^{-1} também é observada nos espectros dos ésteres MONO_DCG e DIES_DCG. Já a banda relacionada ao νCOOH presente no espectro PEG_AS (destacada em azul) não é observada nem no espectro MONO_DCG nem no espectro de DIES_DCG. Essas bandas são indícios que confirmam que os compostos MONO_DCG e DIES_DCG foram obtidos nas condições de síntese trabalhadas.

Também foram observadas as bandas em 1667 cm^{-1} (ombro) e 1620 cm^{-1} nos espectros dos produtos, correspondendo aos estiramentos $\nu\text{C}=\text{O}$ relacionados ao éster e ao ácido carboxílico, respectivamente. Além disso, as bandas $\nu\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{C}$ provavelmente estão sobrepostas na banda larga em 1565 cm^{-1} (destacada em laranja).^{15,20}

Figura 5.3. Espectros MIR para DCG, PEG_AS, MONO_DCG e DIES_DCG.

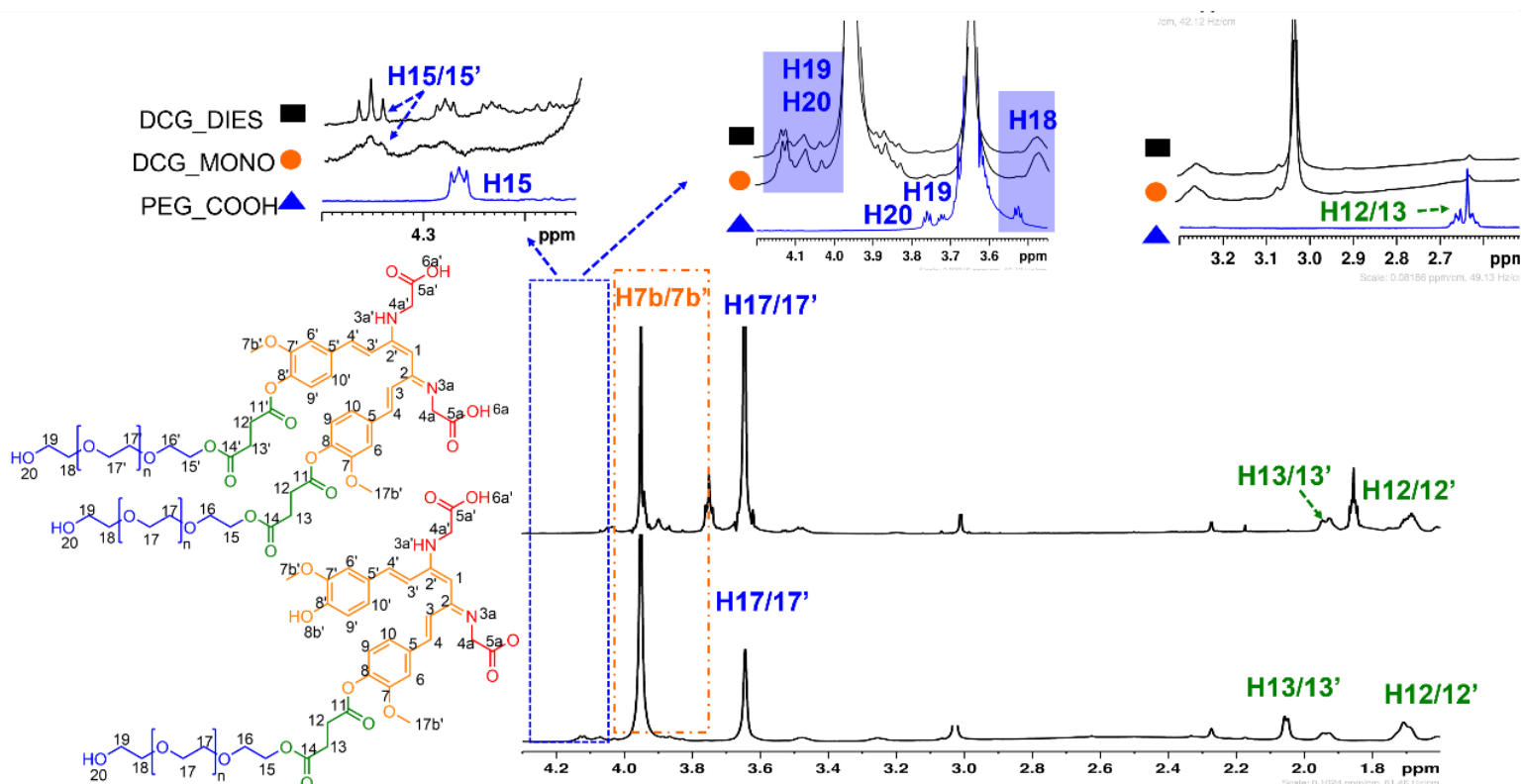


Fonte: Da autora.

A Figura 5.4 apresenta espectros de RMN ^1H das amostras MONO_DCG, e DIES_DCG, em comparação com o espectro de PEG_AS. Uma vez que, a região de interesse associada ao PEG_AS nesses espectros se dá até no máximo 5 ppm, os espectros são apresentados no intervalo de deslocamento químico entre 4,50-1,50 ppm.

O sinal H20, referente à hidroxila PEG_AS, pode ser observado nos espectros MONO_DCG e DIES_DCG, com deslocamento químico em 4,12 ppm.^{15,20} Esse sinal confirma que não houve reação entre o grupo hidroxila do PEG_AS e o grupo COOH de DCG durante a síntese mecanoquímica.

Figura 5.4. Espectro RMN ^1H na região com deslocamento químico entre 4,50-1,50 ppm.



Fonte: Da autora.

Os espectros de RMN ^1H de MONO_DCG e DIES_DCG, em comparação com o espectro DCG estão apresentados na Figura 5.5.

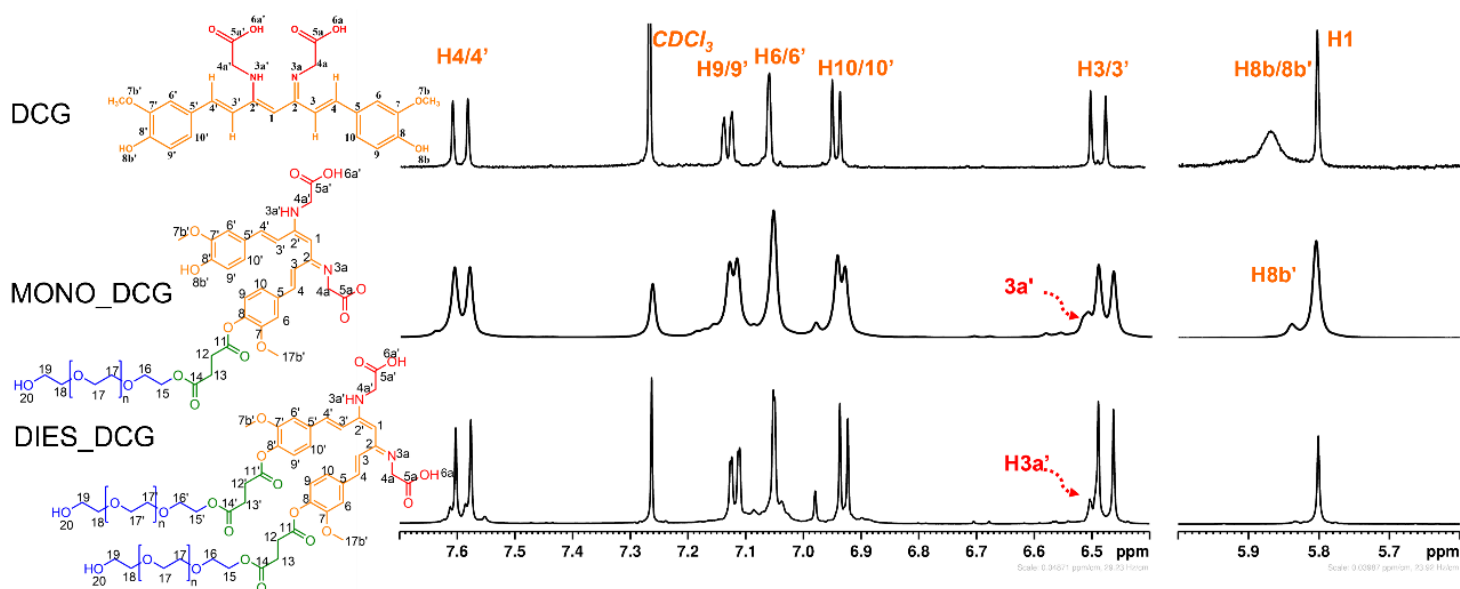
Um dos sinais mais importantes para confirmar a obtenção de compostos esterificados, é o hidrogênio fenólico referente à parte curcuminica de DCG. Este sinal de OH fenólico observado com deslocamento químico em 5,87 ppm (8b/8b') no espectro de DCG.^{15,20} Quando analisado este sinal no espectro de MONO_DCG, observa-se que o mesmo está deslocado, apresentando

deslocamento químico em 5,84 ppm. Já no espectro de DIES_DCG (8b), este sinal não mais observado, confirmando que a reação de diesterificação ocorreu.^{15,20}

O singlete referente ao hidrogênio metílico H1 apresenta integração para 1 hidrogênio nos espectros de MONO_DCG e DIES_DCG, sugerindo a conjugação completa da molécula, tal como observado no espectro de DCG.^{15,20}

Além disso, o sinal alargado com deslocamento químico em 5,27 ppm, no espectro de DCG, que é referente ao hidrogênio intercambiável de NH (H3a'),²⁰ é observado nos espectros de MONO_DCG e DIES_DCG, somente em 6,51 ppm.

Figura 5.5. Espectro RMN ¹H na região com deslocamento químico entre 8,00-5,50 ppm.



Fonte: Da autora.

Os hidrogênios de anel aromático, e os hidrogênios vinílicos não apresentaram deslocamentos químicos distintos nos espectros dos produtos em comparação com o reagente DCG. As Figuras A5.1 e A5.2 apresentam algumas ampliações dos espectros destes compostos, bem como o espectro completo de MONO_DCG e DIES_DCG, que fundamentam as discussões feitas.

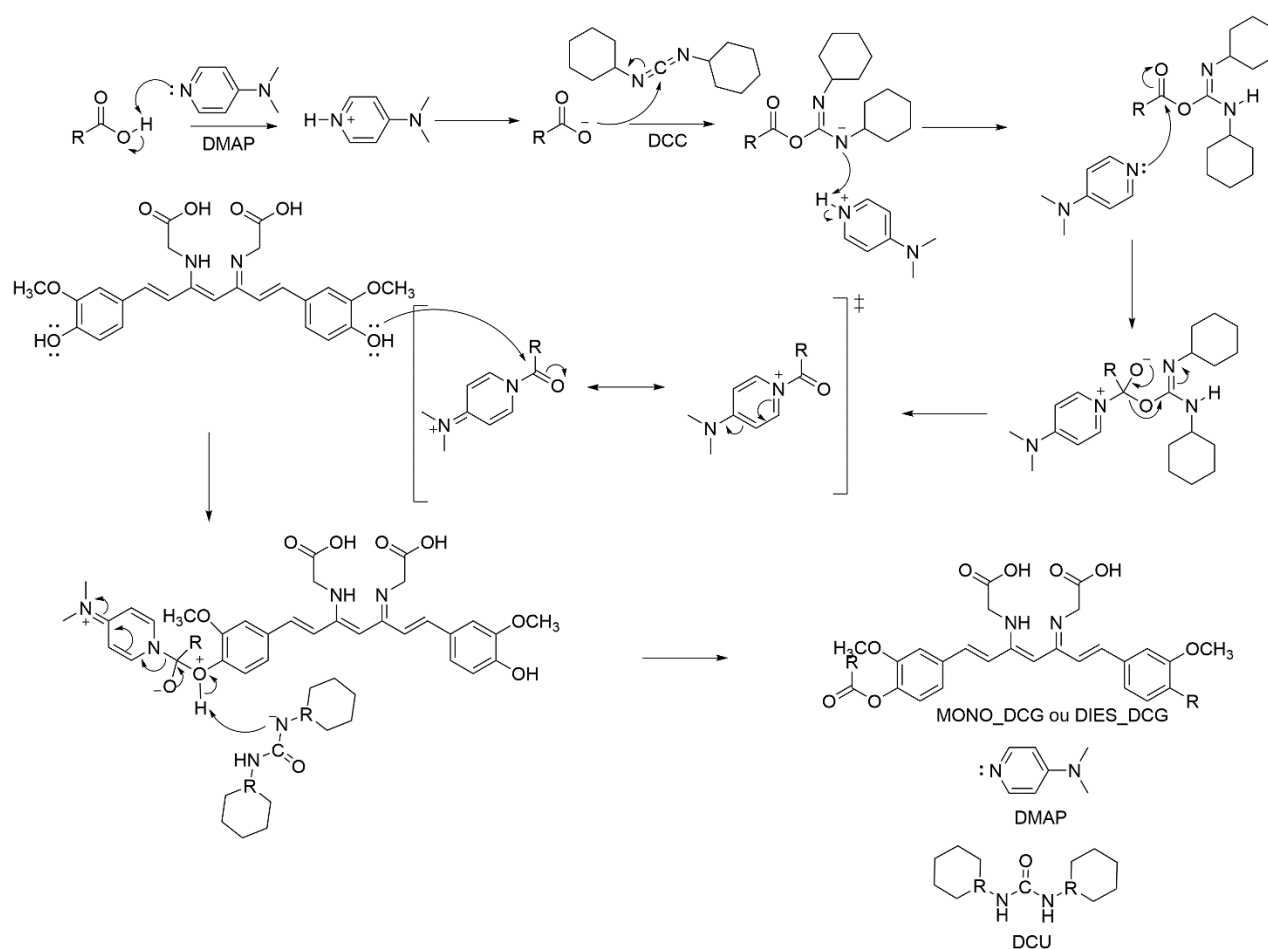
Por fim, com base nos estudos de condição de síntese, e dos resultados de MIR e RMN ¹H, que confirmaram a obtenção dos produtos propostos, foi proposto um mecanismo de reação, o qual está apresentado na Figura 5.6.

Na esterificação de Steglich, o DMAP atua como um catalisador na reação, suportando a transacilação, enquanto a DCC é usada devido à sua eficácia na formação de um intermediário

éster.^{15,19} Normalmente a DCC usada em uma concentração superior ao DMAP na reação, isso se deve à sua oxidação no sistema, formando N,N'-diciclohexilureia (DCU).^{15,19,20}

A primeira etapa da reação é iniciada pela desprotonação ácido carboxílico do PEG_AS, a partir do ataque do par de elétrons de DMAP. Como resultado é gerado um carboxilato no meio reacional e formado o DMAP-protonado. A etapa seguinte envolve a adição nucleofílica do carboxilato à molécula DCC, formando um intermediário na reação.^{15,19,20}

Figura 5.6. Sugestão de mecanismo de síntese para MONO_DCG e DIES_DCG.



Fonte: Da autora.

Então, o intermediário formado faz um ataque nucleofílico na molécula de DMAP-protonado, viabilizando que ocorram uma reação de adição-eliminação. O resultado dessas reações é a formação do derivado acil-DMAP (apresentado no estado de transição entre colchetes) e DCU.^{15,19,20}

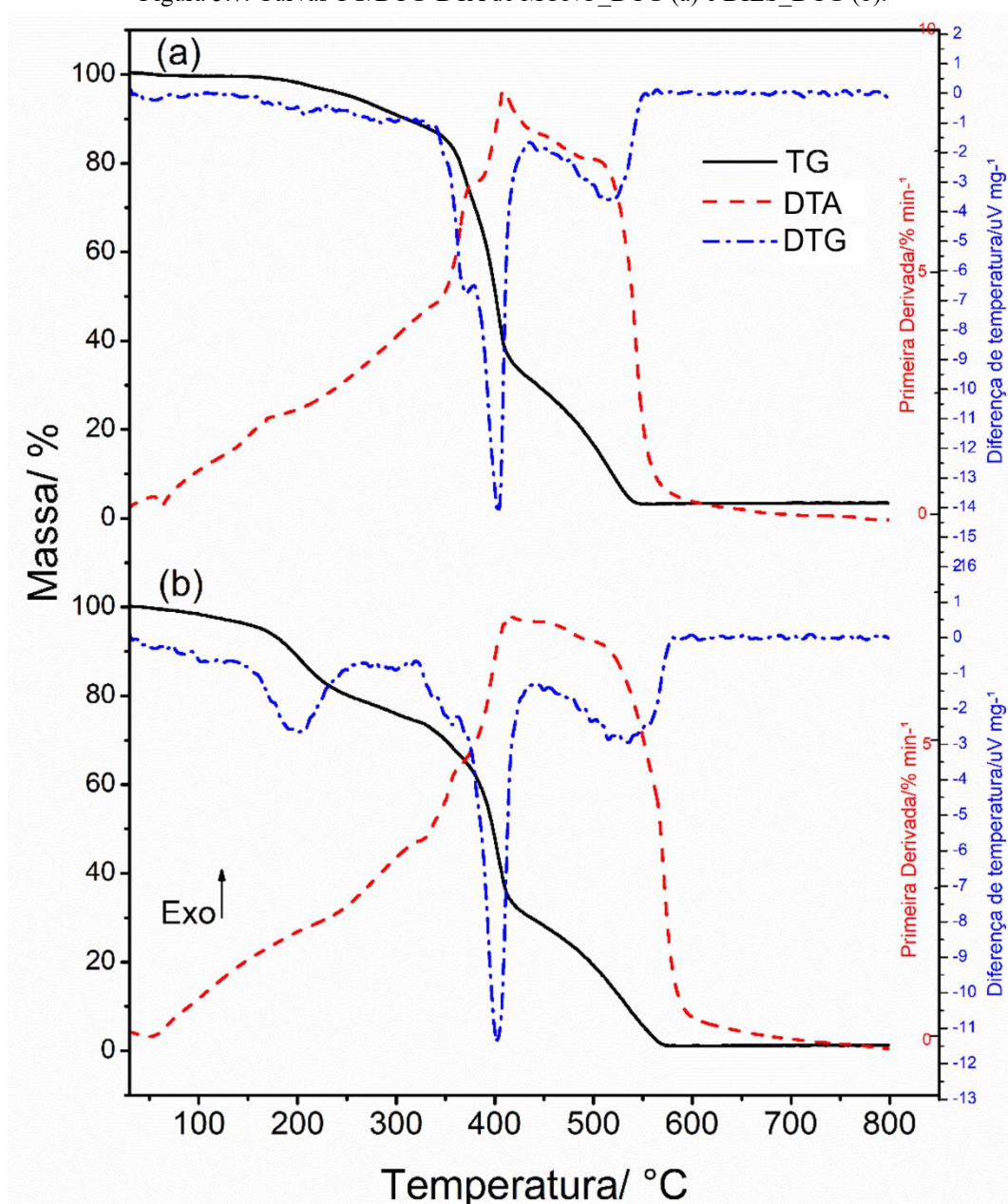
Finalmente, na última etapa reacional, o hidrogênio fenólico do DCG ataca o carbono carbonílico do derivado acil-DMAP, levando a outro processo de adição-eliminação, gerando o

éster MONO_DCG ou DIES_DCG. Além disso, o DMAP é regenerado no sistema, e além do produto secundário DCU também ser observado ao final da reação.^{15,19,20}

5.3.1.2 Caracterização termoanalítica.

As curvas TG/DTG-DTA de MONO_DCG e DIES_DCG estão apresentados na Figura 5.7. As curvas TG/DTG do MONO_DCG mostram que o composto é termicamente estável até 155,7 °C. Após esta temperatura, segundo a curva DTG, o material degrada em quatro etapas de perda de massa. O evento endotérmico na curva DTA em 62,5 °C é referente à fusão da amostra.

Figura 5.7. Curvas TG/DTG-DTA de MONO_DCG (a) e DIES_DCG (b).



Fonte: Da autora.

De acordo com a curva TG, a primeira etapa de degradação ocorre entre 155,7-349,5 °C ($\Delta m_1=14,01\%$). Em seguida, a curva TG mostra uma etapa de perda de massa consecutiva entre 349,5-415,6 °C, em que, conforme indica a curva DTG, se trata de um evento mais complexo, ocorrendo a degradação em duas etapas de perda de massa sobrepostas (2ª e 3ª etapas de perda de massa). Todas as etapas de perda de massa, bem como valores de Δm , e temperaturas de pico podem ser observado na Tabela 5.1.

De acordo com as curvas TG/DTG da amostra DIES_DCG (Figura 5.7), o composto é termicamente estável até 137,3 °C. Após esta temperatura, conforme indica a curva DTG, o composto degrada em quatro etapas de perda de massa. Antes da decomposição do composto, observa-se uma variação de massa com $\Delta m=1,29\%$, sendo referente à volatilização de água de hidratação. A presença de água neste composto é resultado da higroscopicidade de DIES_DCG. Além disso, o desvio na linha da base na curva DTA em 65 °C, provavelmente está associado à fusão de DIES_DCG. Este sinal térmico será melhor discutido com as análises de DSC. Os dados associados as etapas de degradação do DIES_DCG estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Intervalos de temperatura ($\theta/^\circ\text{C}$), perdas de massa (Δm) e temperatura do pico (T_p) observados em cada etapa nas curvas TG/DTG-DTA dos compostos anidros.

Composto		1º etapa	2º etapa	3º etapa	4ª etapa
Mono_DCG	$\theta/^\circ\text{C}$	155,7-349,5	349,5-415,6		415,6-552,1
	$\Delta m/\%$	14,01	49,65		35,62
	$T_p/^\circ\text{C}$	-	378,4↑; 408,8↑		511,7↑
DIES_DCG	$\theta/^\circ\text{C}$	137,3-229,6	229-420,9		420,9-583,1
	$\Delta m/\%$	14,08	51,15		33,48
	$T_p/^\circ\text{C}$	-	337-595*		337-595*

*=exoterma

De acordo com estes resultados, pode-se sugerir que neste caso, a inserção de PEG_AS na base de Schiff DCG, tende a diminuir a estabilidade térmica, já que o aumento no grau de esterificação resulta em compostos com menor estabilidade térmica.

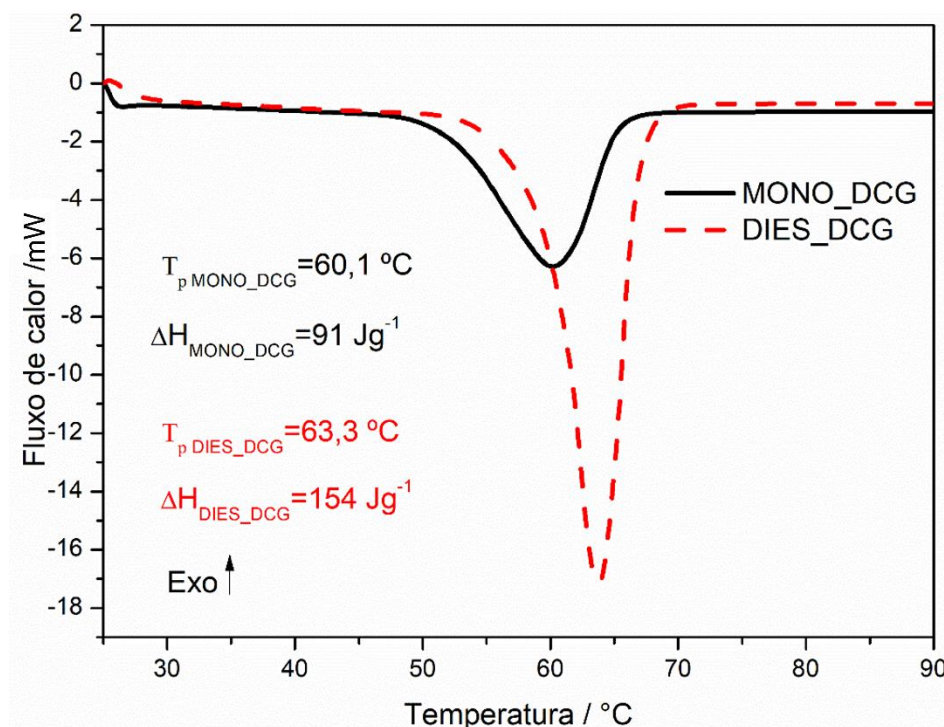
As curvas DSC das amostras MONO_DCG e DIES_DCG estão apresentadas na Figura 5.8. Ambas as curvas DSC exibem um evento endotérmico em 60,1 °C e 63,3 °C, correspondentes à fusão de MONO_DCG e DIES_DCG, respectivamente.

O aumento no grau de esterificação do DCG resulta em um aumento tanto na temperatura de pico, quanto no valor de entalpia do evento de DIES_DCG, em comparação com MONO_DCG.

Considerando que o PEG_AS funde em 67,1 °C (Capítulo 2, seção 2.3.2), o comportamento térmico das amostras MONO_DCG e DIES_DCG apresenta concordância com

seu precursor de síntese. Isso ocorre porque o aumento no grau de esterificação em DIES_DCG resulta em propriedades semelhantes ao PEG_AS, o que faz com que a temperatura de fusão esteja mais deslocada e próxima da temperatura de fusão do PEG_AS.

Figura 5.8. Curvas DSC de MONO_DCG e DIES_DCG.

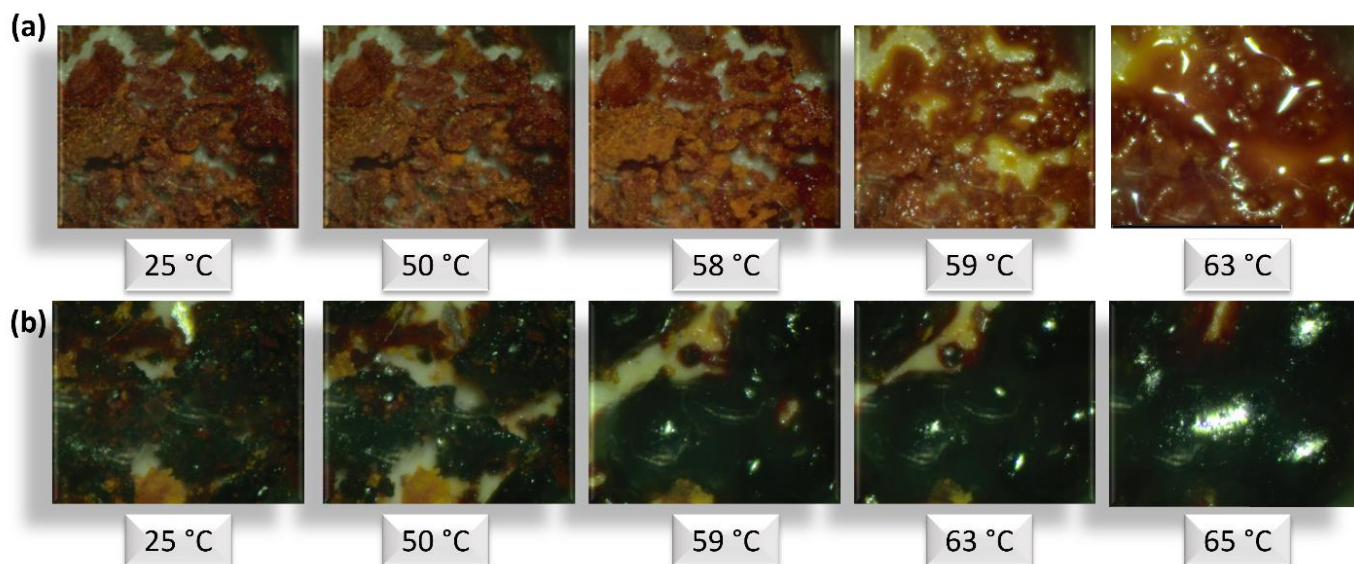


Fonte: Da autora.

Além disso, o alargamento nesse evento de fusão é resultado da porção amorfa de MONO_DCG e DIES_DCG. O difratograma de raios X dessas amostras (Figura A5.3 e A5.4) sugerem uma baixa cristalinidade, apresentando um halo de amorfização, sendo observado somente alguns picos de difração de baixa intensidade, tais como em 19° e 23° em 2 θ .

As imagens de DSC fotovisual do MONO DCG (Figura 5.9-a) e DIES_DCG (Figura 5.9-b) mostram que os compostos fundem a partir de 58 °C. Ademais, a câmera fica um pouco embaçada na imagem referente à 50 °C nas imagens de DSC fotovisual de DIES_DCG, o que é referente à volatilização de água de hidratação, e está em acordo com a curva TG.

Figura 5.9. Imagens de DSC fotovisual de MONO_DCG e DIES_DCG.



Fonte: Da autora.

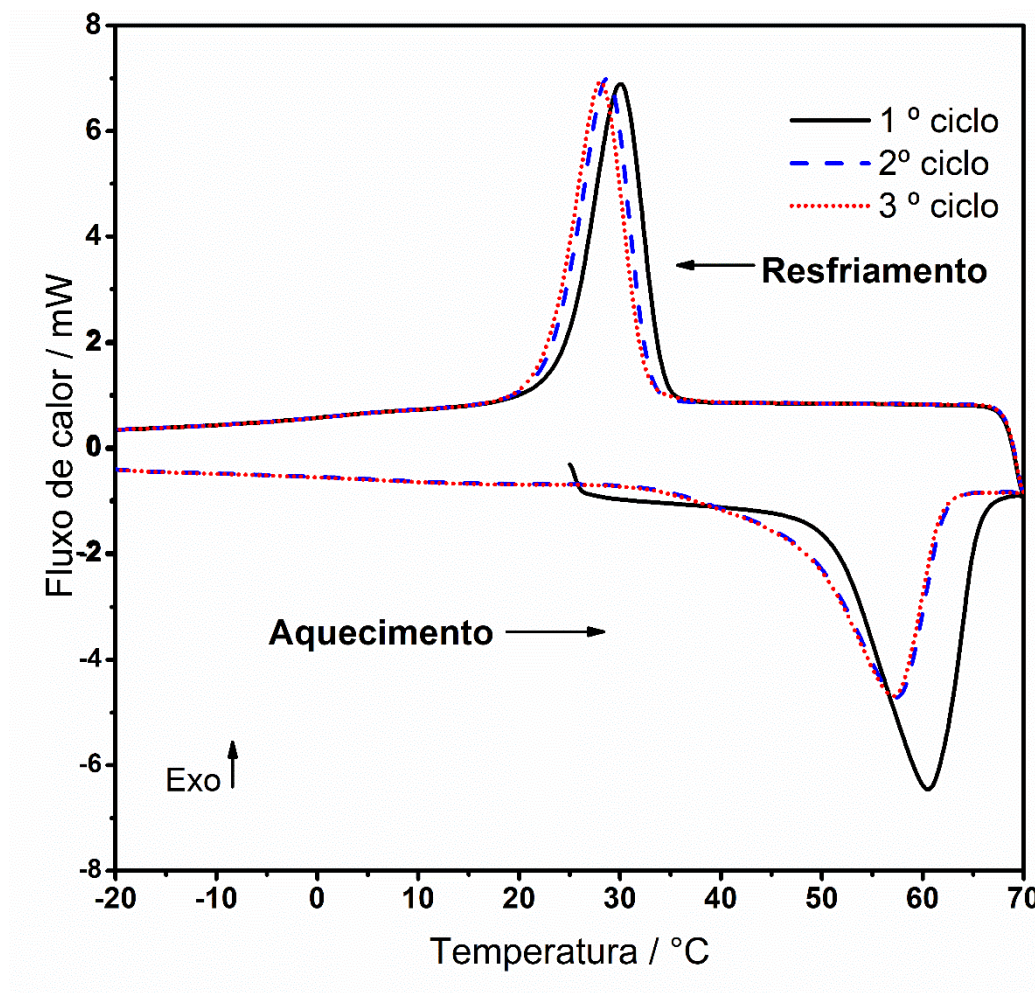
Na seção termoanalítica do Capítulo 2, foi discutido que tanto o PEG, quanto o PEG_AS têm a capacidade de cristalizar durante o resfriamento, nas curvas de DSC ciclo. Dessa forma, foram realizadas curvas de DSC ciclo de MONO_DCG e DIES_DCG, para avaliar se estes compostos apresentam também pode apresentar este comportamento térmico, assim como o precursor de síntese PEG_AS.

A primeira análise de DSC ciclo dessas amostras foi realizada com rampas de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, e o intervalo de temperatura da análise se procedeu entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a respectiva temperatura de estabilidade térmica de cada composto, ou seja, -30 a $155,7$ (MONO_DCG) e -30 a $137,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (DIES_DCG).

Nessas condições de análise não foram observados sinais térmicos nas curvas DSC durante os ciclos de resfriamentos e aquecimento. Posteriormente foi realizada uma segunda análise, na qual os ciclos de aquecimento foram realizados somente até o final da fusão de cada composto, ou seja, o até o *endset* deste evento térmico.

Ao utilizar esta metodologia, foram observados sinais térmicos durante os sucessivos ciclos de aquecimento e de resfriamento de MONO_DCG. Como pode ser visto na Figura 5.10, durante os três ciclos de aquecimento são observados em cada curva um evento endotérmico, o qual está associado à fusão da amostra. Já nos ciclos de resfriamento, pode ser observado um evento exotérmico na curva DSC, correspondente à cristalização da amostra.

Figura 5.10. Curvas DSC ciclo realizadas entre -30 a 70 °C durante os ciclos de aquecimento e resfriamento do MONO_DCG.



Fonte: Da autora.

Sugere-se que a molécula MONO_DCG tenha cristalizado a parte não cristalina da sua estrutura/ ou cristalizado em um polimorfo distinto, o que resultou em uma temperatura de fusão distinta no segundo ciclo de aquecimento. Sugere-se, que essa cristalização possa ser o resultado da organização das longas cadeias de PEG_AS na amostra MONO_DCG.

A tabela 5.2 apresenta os dados de temperatura de picos associados a cada sinal térmico, e também as entalpias correspondes à cada evento. Pode ser observado tanto nessa Tabela, quanto na Figura 5.10, que a temperatura associada ao ponto de fusão de MONO_DCG, não é coincidente no primeiro e segundo ciclo de aquecimento, apresentando valores de 60,3 °C e 57,2 °C, respectivamente.

Tabela 5.2. Dados de Temperatura de pico ($T_p/ ^\circ\text{C}$), e entalpia ($\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento de MONO_DCG.

Ciclo →	1ºAquecimento		1ºResfriamento		2ºAquecimento		2ºResfriamento		3ºAquecimento		3ºResfriamento	
Temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH)	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{Jg}^{-1}$
MONO_DCG	60,3↓	86,6	30,2↑	67,9	57,2↓	63,9	28,9↑	68,1	57,0↓	60,3	28,4↑	65,8

↓=pico endotérmico; ↑=pico exotérmico.

Em contraste com o comportamento térmico do MONO_DCG, a amostra DIES_DCG não cristalizou durante o resfriamento, quando submetida aos ciclos de aquecimento e resfriamento nas análises de DSC. Visto que a molécula é maior em comparação com MONO_DCG, e que de acordo com seu difratograma, a mesma é pouco cristalina (Figura A5.4), isto pode influenciar na possibilidade da molécula se compactar e cristalizar nestas condições.

5.3.1.3 Caracterização fotofísica de MONO_DCG e DIES_DCG em comparação com seus precursores de síntese.

A curcumina é uma molécula que apresenta propriedades fotofísicas, solvatocromismo, e é solúvel em diversos solventes orgânicos como metanol, etanol, DMSO, clorofórmio e acetato de etila. Na maioria dos solventes polares, o máximo de absorção é observado em aproximadamente 420 nm.^{22,23}

Embora a curcumina seja fotodegradável, seu uso como retardante quanto à fotodegradação de drogas tem sido estudado, tal como sua aplicação como agente retardante de fotodegradação da tretinoína, utilizada em aplicações tópicas.^{22,23} Dessa forma, a avaliação de propriedades fotofísicas nos derivados de curcumina pode ser interessante, visto que pode auxiliar no estudo/avaliação de possíveis aplicações destes compostos.

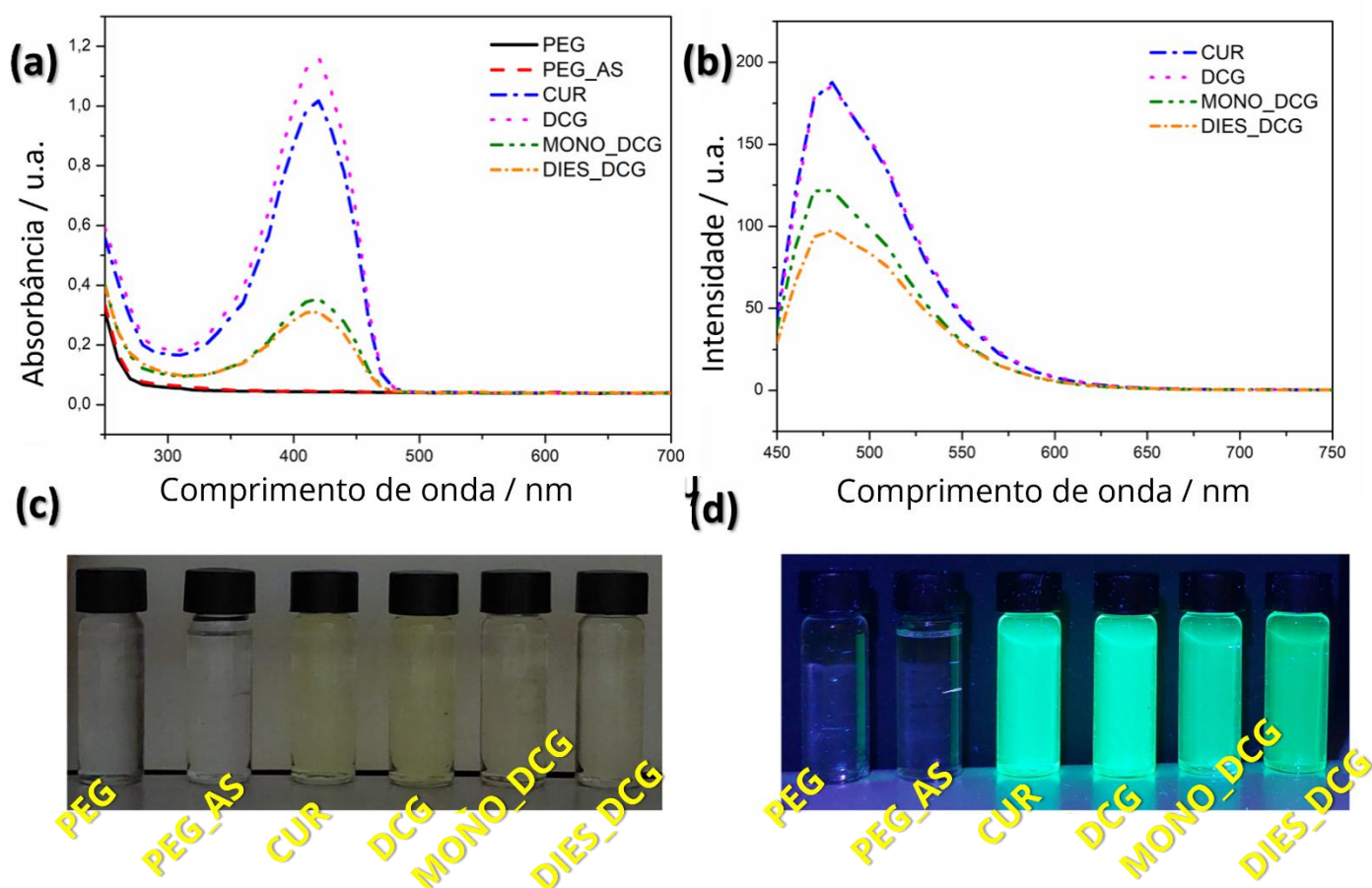
Em função disso, foi avaliado como as alterações nos derivados da curcumina influenciariam em suas propriedades fotofísicas. Em seguida, foram coletados os espectros de absorção UV-VIS, bem como os espectros de emissão para curcumina, DCG, PEG_AS, MONO_DCG e DIES_DCG.

Os espectros de absorção na região UV-VIS são apresentados na Figura 5.11-a. Como esperado, PEG e PEG_AS não apresentam banda de absorção significativa, devido à ausência de grupos cromóforos em sua estrutura. Observa-se que a curcumina e o DCG têm uma absorção

máxima em 420 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$).²⁰ Os grupos polares nestas moléculas são responsáveis por esta transição. Além disso, alguns trabalhos reportam que a transição $n \rightarrow \pi^*$ possa estar sobreposta à esta transição.

Nos espectros de UV-VIS de MONO_DCG e DIES_DCG é observado um pequeno deslocamento hipsocrômico (deslocamento para o azul), com absorção máxima em 415 nm. Além disso, para espectros de amostras esterificadas ocorre um efeito hipocrômico em comparação com os espectros de UV-VIS da curcumina e DCG.

Figura 5.11. Espectros de absorção na região do UV-VIS (a), espectros de emissão excitados em 450 nm (b), e as soluções de PEG, PEG_AS, CUR, DCG, MONO_DCG e DIES_DCG, respectivamente em luz ambiente (c), e sob luz azul (d).



Fonte: Da autora.

Os espectros luminescentes são apresentados na Figura 5.11-b. A curcumina e o DCG têm um comprimento de onda máximo de emissão em 479 nm (deslocamento de Stokes de 59 nm), enquanto MONO_DCG e DIES_DCG exibem um comprimento de onda máximo de 475 nm (deslocamento de Stokes de 60 nm) e 477 nm (deslocamento de Stokes de 62 nm), respectivamente.

Além disso, MONO_DCG e DIES_DCG apresentam um efeito hipocrômico em comparação com a intensidade de fluorescência da curcumina e DCG. As soluções destes

compostos em luz ambiente e sob e UV (370 nm) são exibidas nas Figuras 5.11-c e 5.11-d, respectivamente. A partir dessas imagens é possível observar como cada solução se comporta na ausência e sob incidência de irradiação de luz UV.

Portanto, a partir desses resultados, sugere-se que a incorporação do PEG_AS na estrutura de DCG por meio da reação de esterificação, resulta em compostos que apresentam menores valores de intensidade nos espectros de absorção e luminescência.

Isso pode ser atribuído ao fato de o PEG_AS possuir poucos grupos cromóforos, o que pode influenciar nesses resultados.^{24,25}

Uma vez que a DCG apresenta grupo polares, esta intensidade de absorção/luminescência se assemelha muito com o espectro da CUR. Além disso o deslocamento hipsocrômico observado nos ésteres também embasam essa hipótese, uma vez que a transição eletrônica tende a ser mais energética em MONO_DCG e DIES_DCG, resultando em uma redução no comprimento de onda de absorção.

5.3.1.4 Ensaio de viabilidade celular por MTT.

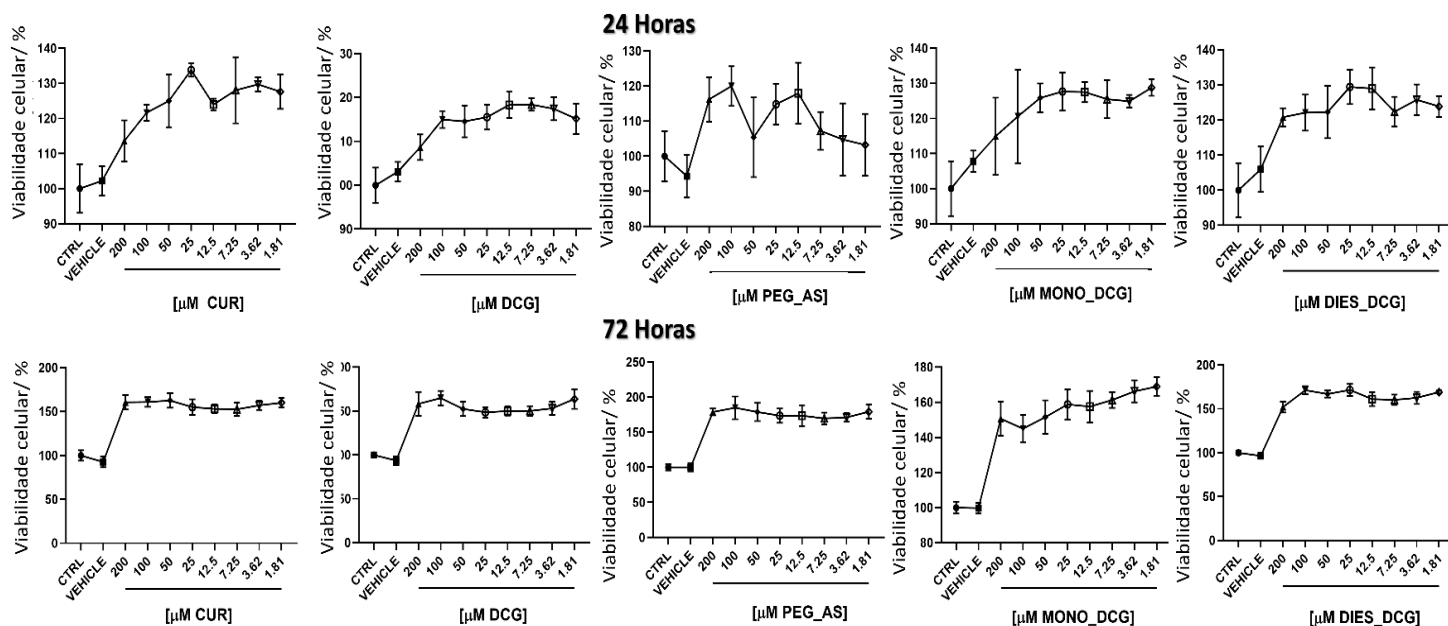
O ensaio de viabilidade celular é útil para mensurar a atividade metabólica celular frente um dado composto, e seus resultados atuam como um indicador de viabilidade e proliferação celular, e consequentemente a citotoxicidade associada ao composto testado.^{26,27}

Estes testes tem sido realizados em parceria com o grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi, lotado no Instituto de Biociências, na UNESP-campus de Botucatu. Os testes ainda estão em andamento, e os resultados preliminares obtidos até o presente momento foram realizados frente à CUR, DCG, PEG_AS, MONO_DCG e DIES_DCG.

Os testes foram realizados frente às células de osteoblastos MC3T3-E1, com duração de 24 e 72 horas (Figura 5.12). A concentração máxima analisada foi de 200 μ M. Os resultados mostraram que para todos os compostos testados, houve crescimento celular, mesmo na concentração máxima.

Em função disso, demais testes estão sendo realizados, a fim de determinar a concentração necessária para reduzir pela metade a atividade enzimática (IC_{50}). Ainda assim os resultados obtidos são promissores, mostrando que a modificação da CUR não resultou em compostos com alta citotoxicidade.

Figura 5.12. Ensaio de viabilidade celular por MTT realizados durante 24 e 48h.



Fonte: Da autora.

5.3.2 Resultados e Discussões – Esterificação dos compostos de coordenação.

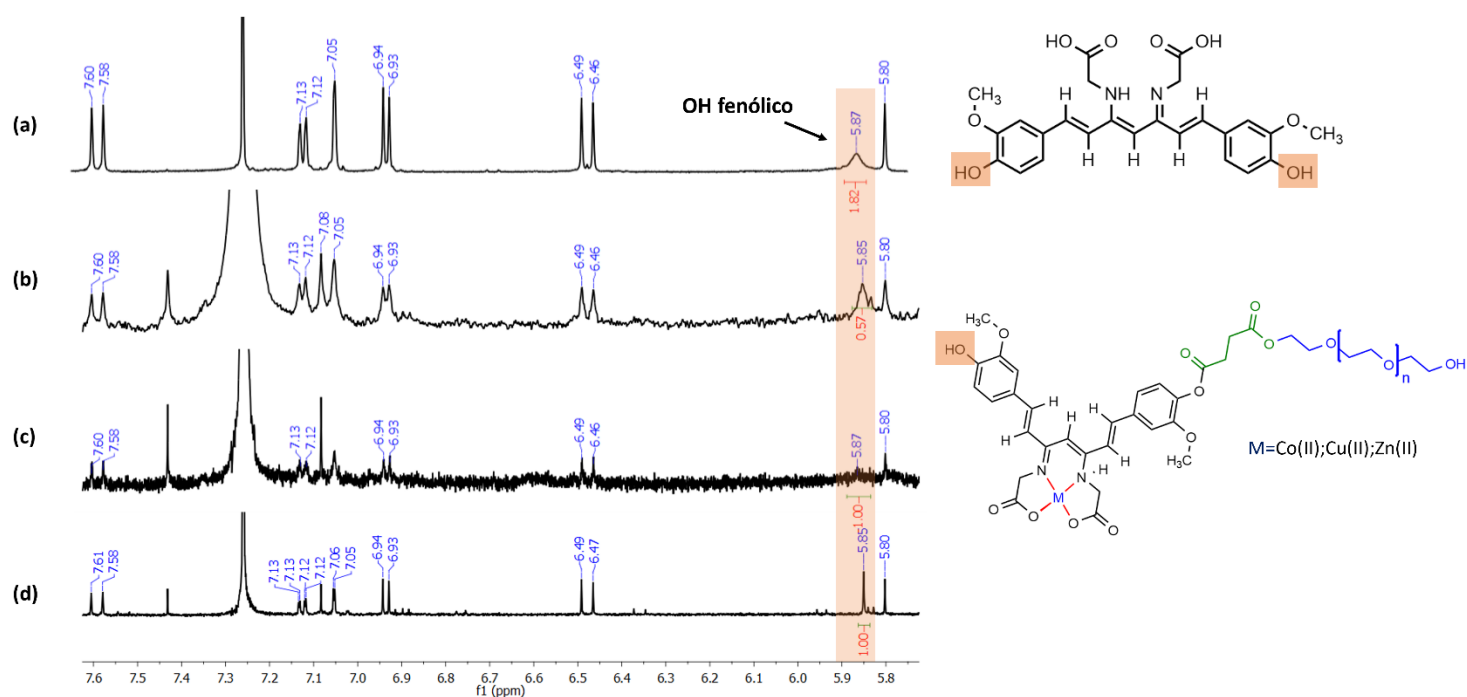
5.3.2.1 Caracterização espectroscópica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.

Uma vez que foi feito o estudo de condição de síntese para a esterificação do DCG, foram utilizados estes parâmetros de síntese para obter-se os ésteres dos complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II) (Capítulo 4).

A Figura 5.13 apresenta os espectros de RMN ^1H dos complexos do DCG(a), e dos complexos esterificados (b-d). A região entre 7,65-6,00 ppm é referente aos hidrogênios aromáticos e vinílicos da parte curcuminica na estrutura do DCG e dos complexos esterificados. Pode-se observar que estes sinais não apresentam deslocamentos significativos, indicando que não houve mudanças nesta região da molécula.

O sinal singlete em 5,87 ppm no espectro do composto DCG é de importância para caracterização se a esterificação ocorreu, visto que está associado ao hidrogênio de OH fenólico. Conforme pode ser observado nos espectros dos complexos esterificados, este sinal está presente, entretanto, os valores de integração estão distintos em comparação com o sinal no espectro do DCG. O singlete integra para 1 hidrogênio, indicando que houve a esterificação somente em um dos hidrogênios fenólicos.

Figura 5.13. Espectros de RMN ^1H da DCG (a), e dos complexos esterificados de Co(II)(b), Cu(II)(c) e Zn(II)(d), e as estruturas de DCG e dos complexos esterificados.



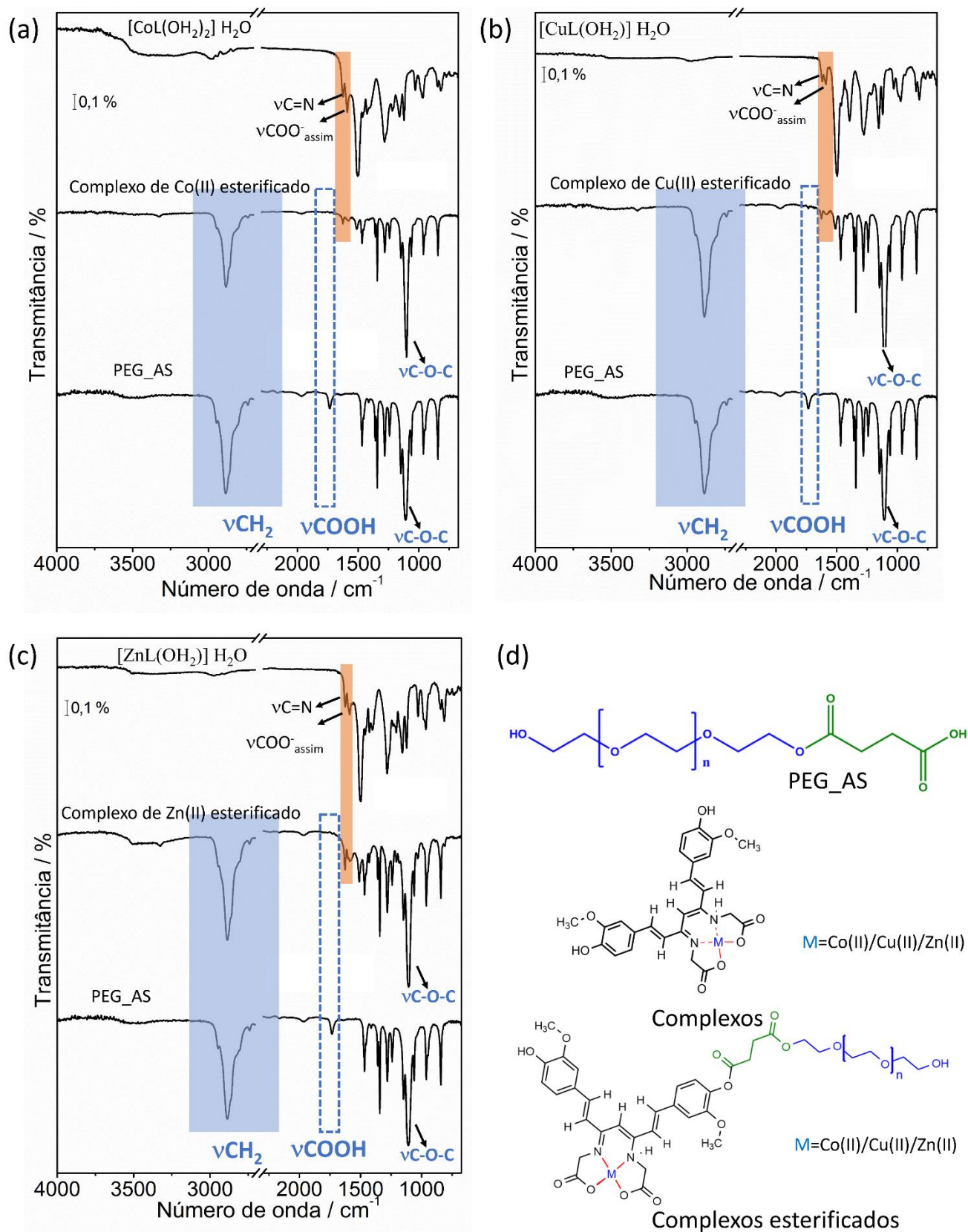
Fonte: Da autora.

Os espectros MIR dos complexos esterificados (Figura 5.14) mostram que a reação mecanoquímica para esterificação dos complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II) foi eficiente. A banda intensa em 2884 cm^{-1} é referente ao νCH_2 (retângulo azul), enquanto a banda em 1700 cm^{-1} (retângulo pontilhado azul) presente no espectro MIR de PEG_AS está ausente nos espectros de cada complexo esterificado. A ausência desta banda sugere que ocorreu a monoesterificação destes compostos.

Ademais, as bandas associadas aos grupos carboxilato assimétrico e $\text{C}=\text{N}$ (destacado pelo retângulo laranja) se encontram presentes nos complexos esterificados, indicando que nenhuma alteração ocorreu nessa região.

Nesse sentido, a partir dos dados espectroscópicos de RMN ^1H e MIR, pode-se inferir que a esterificação dos complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II) foi eficiente.

Figura 5.14. Espectros MIR dos complexos esterificados de Co(II)(a), Cu(II)(b) e Zn(II)(c) em comparação com seus respectivos precursores de síntese. Representação das estruturas dos precursores de síntese e produtos (d).



Fonte: Da autora.

5.3.2.2 Caracterização termooanalítica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.

A partir das curvas TG/DTG do complexo de cobalto esterificado (Figura 5.15-a) é possível observar que o composto é termicamente estável até 187,7 °C, e posteriormente o composto degrada. Conforme exibido pela curva DTG, a degradação deste composto se dá em no mínimo três etapas consecutivas e sobrepostas, as quais ocorrem no intervalo entre 187,1-442,1 °C ($\Delta m=95,86\%$). Estas etapas de perda de massa associadas à degradação do material resultaram em eventos exotérmicos na curva DTA em 394,6 °C e 419,8 °C. O resíduo de 4,14% é referente à formação de CoO.

As curvas TG/DTG do complexo de cobre esterificado (Figura 5.15-b) mostram que o composto é termicamente estável até 264,1 °C e posteriormente se decompõe em 4 etapas de perda de massa. Antes da primeira etapa de degradação é observado um pico endotérmico em 63,7 °C, o qual será melhor avaliado a partir da técnica de DSC. De acordo com a curva DTG, a 1ª, 2ª e 3ª etapas de degradação são consecutivas e sobrepostas, ocorrendo entre 264,1-405,3°C ($\Delta m=84,88\%$), e estão associadas aos picos exotérmicos em 374,8 °C e 396,8 °C, na curva DTA.

A quarta e última etapa de degradação ocorre entre 405,3-476,2 °C ($\Delta m=10,72\%$), e está associada ao pico exotérmico na curva DTA em 451,2 °C. Após esta temperatura, é observado na curva TG que ocorre uma perda de massa lenta e gradual que se estende até 1000 °C ($\Delta m=3,19\%$).

Tal perda de massa é referente a oxidação do material carbonáceo formado no fundo do cadinho, e que em função da geometria do mesmo (formato de tulipa) influência nesse processo. O resíduo de 3,21% é referente à porção inorgânica da amostra, que resulta na formação de CuO.

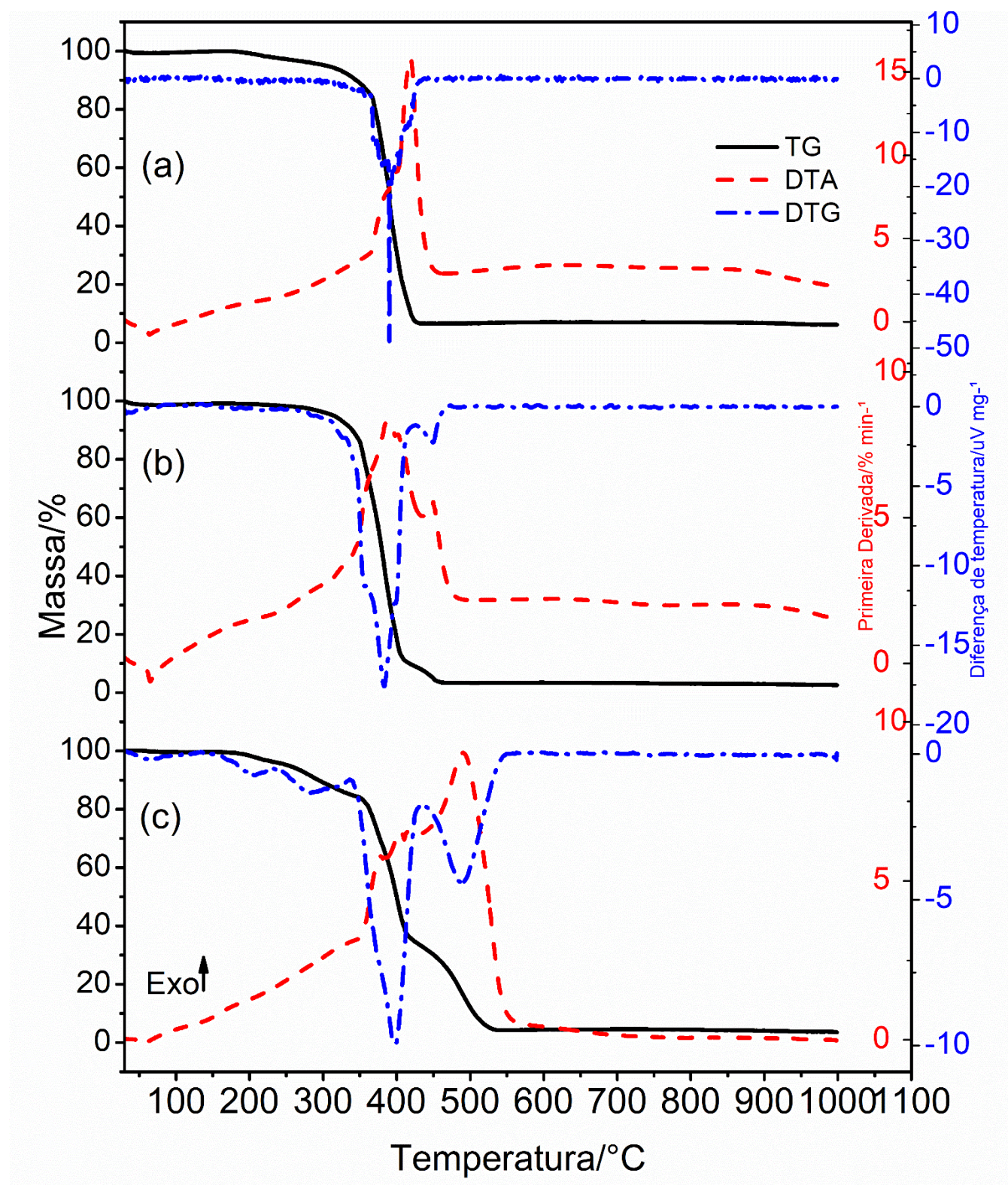
Já a curva TG do complexo de zinco esterificado (Figura 5.15-c) mostra que o composto é termicamente estável até 178,6 °C. De acordo com a curva TG, o composto degrada em quatro etapas de perda de massa consecutivas. Entretanto, a curva DTG mostra que a degradação ocorre em cinco etapas de perda de massa consecutivas e sobrepostas.

A primeira etapa de perda de massa ocorre entre 178,6-236,0 ($\Delta m=3,31\%$), em seguida, segunda etapa de degradação é vista no intervalo entre 236,0-350,9 °C ($\Delta m=12,19\%$). A ausência de sinais endotérmicos ou exotérmicos na curva DTA nestas etapas de perda de massa pode ser resultante da ocorrência de eventos exotérmicos e endotérmicos simultâneos. Dessa forma, o saldo de temperatura não irá resultar em eventos térmicos significativos na curva DTA.

A etapa de perda de massa seguinte pode ser vista no intervalo entre 350,9-413,2 °C ($\Delta m=46,37\%$). De acordo com a curva TG, este intervalo corresponde a terceira etapa de perda de

massa, no entanto, conforme mostra a curva DTG, se tratam de duas etapas consecutivas e sobrepostas, sendo referentes à terceira e quartas etapas de perda de massa.

Figura 5.15. Curvas TG/DTG-DTA dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c) esterificados.



Fonte: Da autora.

A quinta e última etapa de perda de massa ocorre entre 413,2-545,3 °C ($\Delta m=33,24\%$), e está associada ao evento exotérmico em 488,4 °C, na curva DTA. O resíduo de 3,57% é referente a formação de ZnO.

Quando comparadas as curvas TG dos complexos não esterificados, com os complexos esterificados, observa-se que os complexos de cobalto e zinco esterificados apresentam uma redução na estabilidade térmica.

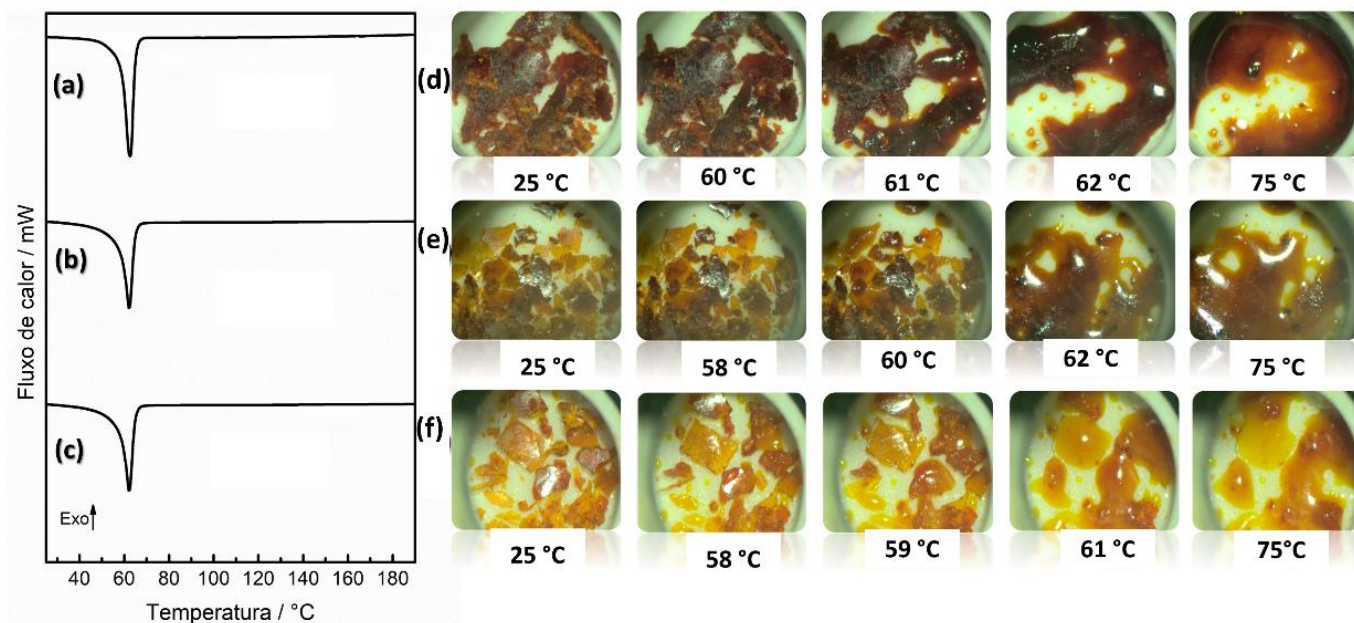
A Figura 5.16 exibe as curvas DSC dos complexos esterificados (5.16-a-c), e as imagens de DSC fotovisual correspondentes a cada composto (5.16-d-f). No capítulo 2, foi discutido o comportamento térmico do PEG_AS, precursor de síntese dos complexos esterificados. As curvas DSC do PEG_AS mostravam que a sua fusão ocorre em 67,1 °C. No capítulo 4, as curvas DSC dos compostos de coordenação não indicavam nenhum processo de fusão, ocorrendo apenas o processo de desidratação de moléculas de água de hidratação e de coordenação.

Os complexos esterificados, sintetizados neste capítulo, apresentaram um evento endotérmico nas curvas DSC, com pico em 61,8 °C (complexo esterificado de Co(II) e Zn(II)), e 62,2 °C (Complexo esterificado de Cu(II)). Esse valor é muito próximo da temperatura de fusão do PEG_AS, assim, para confirmar se esse evento estava relacionado ao processo de fusão, foram coletadas imagens de DSC fotovisual para cada composto.

As imagens de DSC fotovisual foram coletadas até a temperatura de estabilidade de cada composto. Conforme pode ser observado nas Figuras 5.16-d-f, a partir de 60 °C, todas as amostras fundem. Esse evento de fusão, que não era observado nas curvas DSC dos complexos antes das esterificações, está associado à incorporação de PEG_AS nos complexos.

A formação de uma mistura física desses compostos está descartada, visto que os resultados espectroscópicos mostraram a formação de um novo composto. Sabendo disso, foi preparada uma mistura física de $[\text{ZnL}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ e PEG_AS, e foram obtidas as curvas TG/DTG-DTA desta mistura, as quais estão apresentadas na Figura A5.5. Conforme discutido no apêndice, esses dados sugerem que nas condições de síntese apresentadas, ocorre a reação de esterificação e não a formação de uma mistura física dos compostos de coordenação com PEG_AS.

Figura 5.16. Curvas DSC e imagens de DSC fotovisual, dos complexos de cobalto (a, c), cobre (b, d) e zinco (c, e) esterificados, respectivamente.



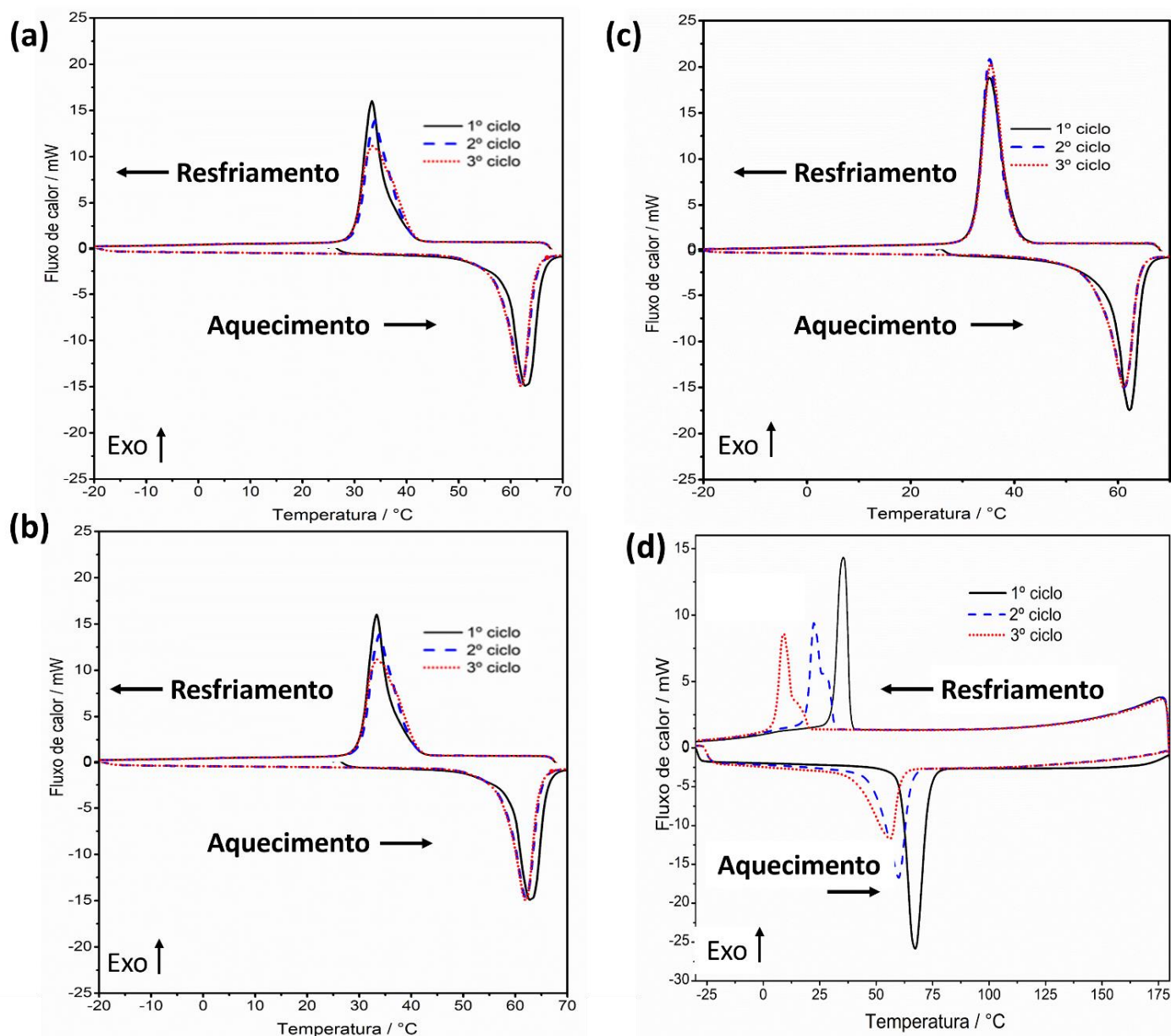
Fonte: Da autora.

Conforme discutido na seção termoanalítica anterior, quando o PEG_AS é submetido ao processo de DSC cíclico, a amostra cristaliza em diferentes temperaturas durante os ciclos de resfriamento, e posteriormente, funde nos ciclos de aquecimento.

Uma vez que a amostra MONO_DCG apresentou comportamento similar ao PEG_AS durante a análise de DSC realizada em ciclos de aquecimento/resfriamento, e que os complexos esterificados são semicristalinos (Figura A5.6), foram realizadas curvas de DSC cíclico para avaliar o comportamento térmico desses compostos sob seguidos ciclos de resfriamento e aquecimento.

A Figura 5.17.a-c apresenta as curvas DSC cíclico para os complexos esterificados, enquanto a Figura 5.17-d apresenta as curvas DSC cíclico do PEG_AS. Assim como observado para os compostos PEG_AS e MONO_DCG (seção 5.3.1.2), os complexos esterificados exibem eventos endotérmicos em todos os três ciclos de aquecimento, bem como eventos exotérmicos em cada ciclo de resfriamento, que correspondem à fusão e cristalização de cada material, respectivamente. As temperaturas de pico associadas à cada sinal térmico, assim como os valores de entalpia referentes a cada evento térmico, pode ser observado na Tabela 5.3.

Figura 5.17. Curvas DSC ciclo dos complexos de cobalto (a), cobre (b) e zinco (c) esterificados, realizados no intervalo de temperatura entre -30-70 °C. Curvas de DSC ciclo do PEG_AS (d).



Fonte: Da autora.

De forma geral, observa-se para cada complexo esterificado, que a entalpia de cristalização tende a diminuir após cada ciclo de resfriamento. Isso pode indicar uma redução no grau de cristalinidade da amostra após cada ciclo de aquecimento/ resfriamento. Ao contrário do precursor PEG_AS, no qual, a cada ciclo de resfriamento, são formadas novas formas cristalinas, os complexos esterificados não exibem valores de temperatura de cristalização muito distintos em cada ciclo de resfriamento (Figura 5.17-d). Isso indica, que provavelmente os complexos esterificados cristalizam na mesma fase cristalina, em cada ciclo de resfriamento.

Esta sugestão é suportada ainda mais pelo perfil das curvas DSC dos complexos esterificados, na qual, ao final de cada ciclo de aquecimento sucessivo, observa-se apenas pequenas variações quanto à temperatura de fusão.

Tabela 5.3. Dados de Temperatura de pico (T_p / °C), e entalpia (ΔH / J g⁻¹) observados em cada evento apresentado nos ciclos de aquecimento e resfriamento dos complexos esterificados, em comparação com PEG_AS.

Ciclo →	1ºAquecimento		1ºResfriamento		2ºAquecimento		2ºResfriamento		3ºAquecimento		3ºResfriamento	
Temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH)	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹	T_p / °C	ΔH / J g ⁻¹
Éster CoL	61,8↓	118,5	33,8↑	110,4	61,5↓	111,3	34,2↑	112,3	61,5↓	113,1	33,8↑	114,3
Ester CuL	62,2↓	143,1	35,9↑	136,4	61,6↓	138,9	34,2↑	136,9	61,5↓	133,2	34,1↑	137,0
Ester ZnL	61,8↓	134,8	35,7↑	133,3	60,7↓	117,3	35,8↑	134,1	60,7↓	116,1	35,9↑	134,5
PEG_AS	67,1↓	160,9	35,4↑	131,3	60,1↓	138,9	22,4↑	100,2	56,3↓	101,9	9,1↑	91,6

↓=pico endotérmico; ↑=pico exotérmico.

5.3.2.3 Caracterização fotofísica dos ésteres derivados de compostos de coordenação.

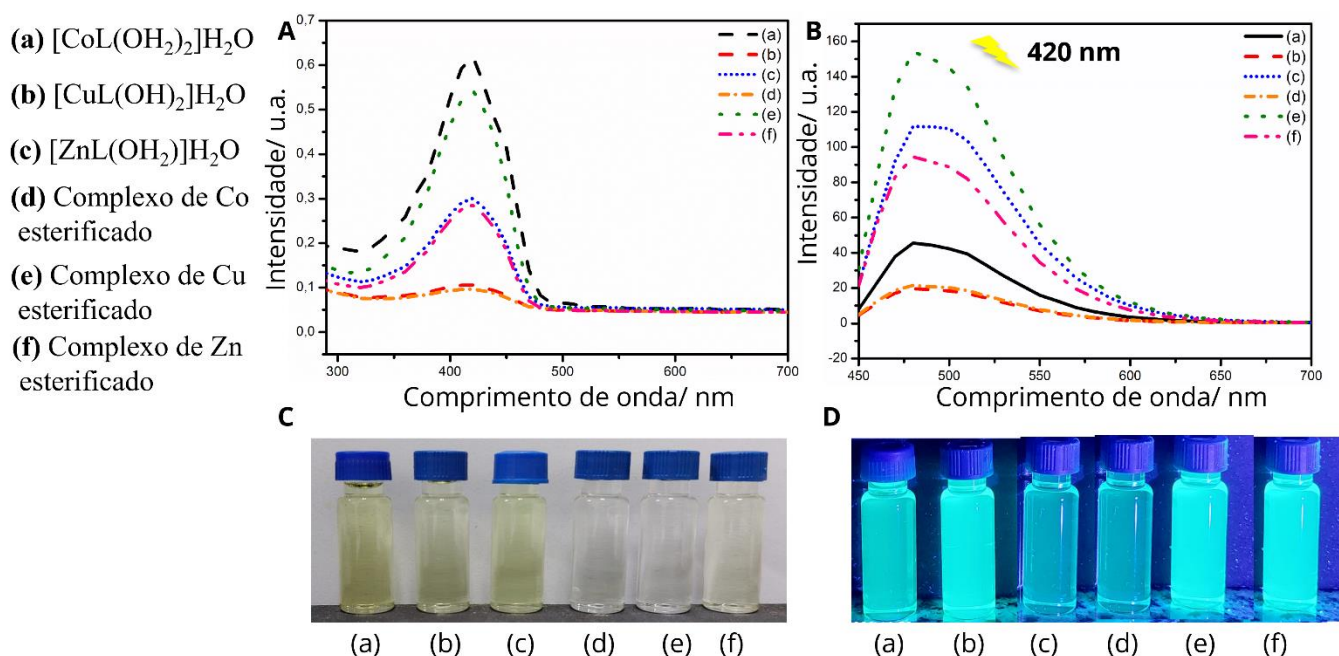
Os espectros de absorção na região do UV-Visível, e os espectros de luminescência estão apresentados na Figura 5.18-A, e 5.18-B. Nos espectros de absorção na região do UV-VIS, nota-se que todos os compostos apresentam uma banda em 420 nm.

Observa-se uma tendência quanto à intensidade de absorção e de emissão nos espectros dos complexos esterificados. Nota-se que o complexo de cobre esterificado é o que apresenta maior intensidade em ambos os espectros, quando comparado com os complexos de cobalto e zinco esterificados. Posteriormente, o complexo de zinco esterificado, apresenta maior intensidade, seguido do complexo de cobalto esterificado.

O aumento na intensidade fotoluminescente do complexo de cobre esterificado em comparação com o complexo de cobre livre pode ser resultado da agregação dos grupos polares presentes na parte do PEG_AS. A presença de longas cadeias de PEG_AS com ligações simples proporciona maior flexibilidade e movimentação, o que em solução tende a aumentar, visto que as moléculas apresentarão maior grau de liberdade. Isso pode permitir que os grupos polares se aproximem mais do centro de coordenação metálico, resultando em um aumento na intensidade luminescente.^{11,12}

Em contrapartida, os demais complexos esterificados apresentaram menores valores de intensidade luminescente, tal como observado para os espectros de absorção e emissão de MONO_DCG e DIES_DCG (Figura 5.11).

Figura 5.18. Espectros de absorção (A) e emissão com excitação em 420 nm (B) de CoL (a), CuL (b), ZnL (c) em comparação com os espectros dos complexos de cobalto (d), cobre (e), e zinco esterificados (d), bem como suas respectivas soluções na ausência de luz UV (C), e sob incidência de luz azul (D).



Fonte: Da autora.

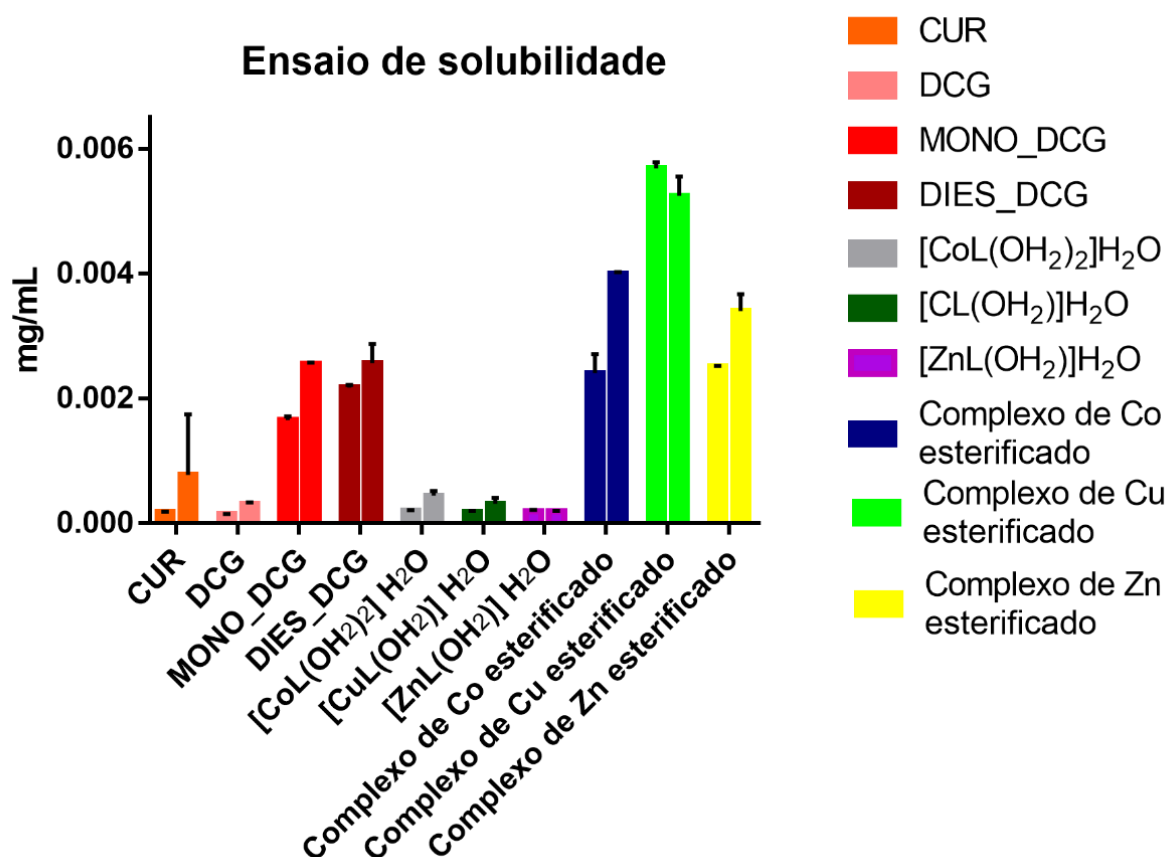
As Figuras 5.18-C e 5.18-D mostram como as soluções de cada composto se comportam em luz ambiente e sob incidência de luz UV. Os dados obtidos são interessantes, visto que apesar das modificações na estrutura da CUR, todos os seus derivados são luminescentes. Logo, demais estudos podem vir a serem realizados, visando aplicações destes compostos como sondas luminescentes, por exemplo.

5.3.2.4 Ensaios de solubilidade por gravimetria.

Conforme tem sido discutido ao longo deste trabalho, a incorporação de PEG numa dada molécula pode resultar no aumento da solubilidade de um dado composto.

Nesse sentido, foram realizados ensaios de solubilidade para os compostos CUR, DCG, MONO_DCG, DIES_DCG, os compostos de coordenação não esterificados, e esterificados, a fim de avaliar como cada alteração na estrutura de CUR influencia na solubilidade de seus derivados. A Figura 5.19, apresenta os valores de solubilidade para cada compostos, para os ensaios realizados em 4 h e 72h.

Figura 5.19. Ensaio de solubilidade para CUR e seus derivados orgânicos e inorgânicos nos tempos de 4h (primeira barra para cada composto) e 72h (segunda barra para cada composto).



Fonte: Da autora.

Sabendo que as bases de Schiff têm a capacidade de hidrolisar em meio aquoso, os testes de solubilidade foram realizados com duração de 4h e 72h. Dessa forma, os dados coletados ao final do teste realizado em 4 horas minimizam as chances de degradação de DCG e seus derivados em meio aquoso. Já os dados do teste realizado durante 72 horas avaliaram não apenas a solubilidade, mas também a estabilidade dos compostos por esse período em meio aquoso.

Conforme pode ser observado na Figura 5.19, a esterificação é eficiente para o aumento da solubilidade tanto da CUR, quanto de DCG e dos complexos de Co(II), Cu(II) e Zn(II). Esses resultados confirmam que, conforme discutido ao longo deste trabalho, a abordagem de sínteses *PEGylation*, é eficiente para o aumento da solubilidade de distintos compostos.

As barras de erros referentes à curcumina e ao complexo de cobre são maiores porque ocorre uma degradação parcial da amostra ao final do ensaio de solubilidade realizado durante 72h. As Figuras A5.7-A5.16 apresentam os espectros de MIR dos compostos testados, e conforme

pode ser observado, variações nas bandas de absorção são observadas somente para a curcumina e o complexo de cobre esterificado.

A tabela A5.1, apresentada no material suplementar apresenta os valores das médias de solubilidade de cada composto.

O aumento da solubilidade dos derivados de curcumina é interessante, visto que os estudos biológicos podem ser mais facilmente realizados, já que os compostos são mais solúveis em água. Estudos posteriores também podem ser realizados para averiguar como ocorre a degradação desses compostos em meio aquoso, em distintos pHs, visto que esses resultados podem ser interessantes para avaliar a possibilidade de liberação controlada de curcumina em locais específicos (*drug-delivery*).

5.3.2.4 – Efeito bola de neve na síntese de DIES-DCG, e dos complexos de cobre e zinco esterificados.

Foi observado um efeito nas sínteses de DIES_DCG e dos complexos esterificado que, quando as quantidades de massa dos reagentes se aproximam de 0,5 g, ocorre um fenômeno descrito na literatura como "efeito bola de neve" ou "*snow ball effect*".²⁸⁻³¹ Esse efeito pode ser problemático nas reações mecanoquímicas, pois dificulta uma mistura adequada dos diferentes reagentes presentes no recipiente, resultando em misturas não homogêneas.

De acordo com o que reportado na literatura até o momento, esse efeito corresponde a uma mudança física no meio, na qual os reagentes e produtos vão cobrindo progressivamente as esferas, formando uma camada relativamente espessa na superfície delas, durante a moagem. Isso dificulta a interação eficiente dos reagentes e pode afetar a reprodutibilidade e a qualidade dos produtos obtidos na síntese mecanoquímica.²⁸⁻³¹

A Figura 5.20 apresenta as imagens dos jarros após o final da síntese de DIES_DCG e do complexo de zinco esterificado. Esse efeito também ocorreu durante a síntese do complexo de cobre, entretanto, o efeito foi mais pronunciado para o complexo de zinco esterificado.

Esse efeito foi inicialmente relatado por Boldyreva,²⁸ durante a síntese mecanoquímica do ácido oxálico di-hidratado e glicina. A autora observou o endurecimento da amostra sobre as esferas, induzido pela liberação de uma quantidade estequiométrica de líquido proveniente das moléculas de água do ácido oxálico di-hidratado.²⁸

Figura 5.20. Efeito bola de neve observado para as amostras DIES_DCG e para o complexo de zinco esterificado.



Fonte: Da autora.

Um trabalho recente reportou que, para sínteses realizadas em escala laboratorial, o aquecimento dos jarros utilizando sopradores térmicos pode ser uma alternativa para reduzir esse efeito.³² Essa metodologia, tem sido denominada "moagem de bolas com aquecimento por indução".³² Na qual é reportado que, ao aumentar da temperatura dos jarros, altera-se a cinética da reação, o que auxilia os reagentes a superarem a energia de ativação mais rapidamente, evitando que este efeito corra.³²

Nesse sentido, acredita-se que a síntese mecanoquímica dos compostos mencionados nesta seção deve ser mais profundamente investigada, especialmente, se em algum momento houver o objetivo de avaliar-se o escalonamento dessas reações. O aumento da temperatura nos jarros, a utilização de jarros de composições diferentes e o uso de esferas de tamanhos distintos podem ser fatores que auxiliam na resolução desses problemas. Além disso, outro ponto a ser considerado é a utilização de outro equipamento de moagem, como o moinho de bolas planetário, que permite estudos com maiores quantidades de reagentes e apresenta uma movimentação diferente do moinho vibracional de bolas.

5.4 Conclusões

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o método mecanoquímico pode ser utilizada como uma metodologia alterativa para as tradicionais sínteses realizadas em solução, para obter-se ésteres a partir de reações de esterificação de Steglich. Ressalta-se que nenhuma síntese apresentada nesse capítulo ultrapassou 1 hora.

Os resultados das técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e MIR confirmaram a obtenção de cada composto proposto monoesterificado e/ou diesterificado.

Os resultados de TG/DTG-DTA mostraram que os compostos esterificados apresentam seu comportamento térmico muito semelhante ao do PEG_AS

As curvas DSC mostraram que os valores de temperatura de fusão dos produtos são próximos das temperaturas de fusão de PEG e PEG_AS. Além disso, quando os compostos esterificados são submetidos às análises de DSC ciclo, durante os ciclos de resfriamento são observados eventos de cristalização, seguido de eventos de fusão durante os ciclos de aquecimento.

Os testes preliminares de viabilidade celular realizado para CUR, DCG, PEG_AS, MONO_DCG, e DIES_DCG, mostraram que para concentrações trabalhadas até 200 μM , não resultam em morte celular.

Os ensaios de solubilidade mostraram que ésteres apresentaram maior solubilidade aquosa do que seus respectivos precursores de síntese, confirmando que as reações de *PEGylation* são eficientes para este viés.

Esse dado, aliado à baixa citotoxicidade destes derivados de curcumina mostram que a abordagem trabalhada foi eficaz. Estudos posteriores, para avaliar a atividade biológica dos mesmos serão úteis para estudar como estas propriedades variam em cada composto.

Os ensaios de absorção e luminescência na região do UV-VIS mostraram que os valores máximos de absorção para cada composto apresentado neste capítulo tendem a variar entre 415-425 nm, e que todos os compostos sintetizados nesse capítulo são luminescentes.

Por fim, o efeito bola de neve, observado nas sínteses de MONO_DCG, e dos complexos de cobre e zinco esterificados, comprometeram um pouco o rendimento reacional. Nesse sentido, demais investigações devem ser realizadas para otimizar estas condições de síntese e obter-se rendimentos superiores aos observados nesse trabalho.

5.5 Referências

1. LI, Wenjun; Zhan Peng, CLERCQ, E. LOU, H. Current drug research on PEGylation with small molecular agents. *Progress in Polymer Science*. v.38, p.421-444, 2013.
2. SANTOS, J. H. P. M. ; TORRES-OBREQUE, K. M. et al. Protein PEGylation for the design of biobetters: from reaction to purification processes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.54, online, 2018.
3. MARIN, V.; HOLDER, E.; MEIER, M. A. R.; HOOGENBOOM, R.; SCHUBERT, U. S. A Mixed Ruthenium Polypyridyl Complex Containing a PEG-Bipyridine Macroligand. *Macromolecular Rapid Communication*, v.25, p. 793–798, 2004.

4. PASUT, G; GUIOTTO, A; VERONESE, FM. Protein, peptide and non-peptide drug PEGylation for therapeutic application. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 14, n. 6, p. 859–894, 2004.
5. VERONESE, Francesco M.; PASUT, Gianfranco. PEGylation, successful approach to drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 10, n. 21, p. 1451–1458, 2005.
6. SANCHEZ ARMENGOL, Eva; UNTERWEGER, Alexander; LAFFLEUR, Flavia. PEGylated drug delivery systems in the pharmaceutical field: past, present and future perspective. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 48, n. 4, p. 129–139, 2022.
7. CAHN, Devorah; DUNCAN, Gregg A. High-Density Branched PEGylation for Nanoparticle Drug Delivery. **Cellular and Molecular Bioengineering**, v. 15, n. 5, p. 355–366, 2022.
8. S, Özer; KM, Khizantsyan. The Usage of PEG in Drug Delivery Systems- A Mini Review. **Polymer Science: Peer Review Journal**, v. 3, n. 4, p. 1–4, 2022.
9. MURPHY, Caitlin J.; TANG, Huadong; VAN KIRK, Edward A.; *et al.* Reproductive effects of a pegylated curcumin. **Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 34, n. 1, p. 120–124, 2012.
10. YAKUB, Guldjan; NEVENA MANOLOVA; RASHKOV, Iliya B; *et al.* Pegylated Curcumin Derivative: Water-Soluble Conjugates with Antitumor and Antibacterial Activity. **ACS Omega**, v. 7, n. 41, p. 36403–36414, 2022.
11. SANTONOCITO, Debora; SARPIETRO, Maria Grazia; CARBONE, Claudia; *et al.* Curcumin Containing PEGylated Solid Lipid Nanoparticles for Systemic Administration: A Preliminary Study. **Molecules**, v. 25, n. 13, p. 2991, 2020.
12. LAZEWSKI, Dawid; KUCINSKA, Malgorzata; POTAPSKIY, Edward; *et al.* Enhanced Cytotoxic Activity of PEGylated Curcumin Derivatives: Synthesis, Structure–Activity Evaluation, and Biological Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 1467, 2023.
13. YUN SUK HUH ; ELURI PAVITRA ; GANJI PURNACHANDRA NAGARAJU; *et al.* Imaging and curcumin delivery in pancreatic cancer cell lines using PEGylated α -Gd₂(MoO₄)₃mesoporous particles. **Dalton Transactions**, v. 43, n. 8, p. 3330–3338, 2014.
14. XUAN, Mingjun; SCHUMACHER, Christian; BOLM, Carsten; *et al.* The Mechanochemical Synthesis and Activation of Carbon-Rich π -Conjugated Materials. **Advanced Science**, v. 9, n. 19, p. 2105497–2105497, 2022.
15. MOURA, Aniele de; GAGLIERI, Caroline; TERCIOTTI, Luiz Octavio; *et al.* Mechanochemical method: a powerful tool to obtain ω -poly(ethylene glycol)-functionalized structures and curcumin analogues. **New Journal of Chemistry**, v. 47, p. 9392–9400, 2023.

16. SEO, Tamae; KUBOTA, Koji; ITO, Hajime. Mechanochemistry-Directed Ligand Design: Development of a High-Performance Phosphine Ligand for Palladium-Catalyzed Mechanochemical Organoboron Cross-Coupling. **Journal of the American Chemical Society**, v. 145, n. 12, p. 6823–6837, 2023.
17. QURESHI, Adeeba; VYAS, Jigar; UPADHYAY, U. Determination of solubility by gravimetric method: A brief review. **National Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 1, 2022.
18. GILLES, Vitor; VIEIRA, Mariana A.; LACERDA JR., Valdemar; *et al.* A New, Simple and Efficient Method of Steglich Esterification of Juglone with Long-Chain Fatty Acids: Synthesis of a New Class of Non-Polymeric Wax Deposition Inhibitors for Crude Oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.
19. JORDAN, Andrew; WHYMARK, Kyran D.; SYDENHAM, Jack; *et al.* A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids. **Green Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 6405–6413, 2021.
20. PAVIA, Donald L; LAMPMAN, Gary M; KRIZ, George S; *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 4^aed, p.150-250, 2010.
21. RUBIO, Noelia; MEI, Kuo-Ching; KLIPPSTEIN, Rebecca; *et al.* Solvent-Free Click-Mechanochemistry for the Preparation of Cancer Cell Targeting Graphene Oxide. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 34, p. 18920–18923, 2015.
22. PRIYADARSINI, K. Indira. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81–95, 2009.
23. KHOPDE, Sujata M. ; INDIRA PRIYADARSINI, K. ; PALIT*, Dipak K. ; *et al.* Effect of Solvent on the Excited-state Photophysical Properties of Curcumin¶. **Photochemistry and Photobiology**, v. 72, n. 5, p. 625, 2000.
24. KARPENKO, Iuliia A; MAYEUL COLLOT; RICHERT, Ludovic; *et al.* Fluorogenic Squaraine Dimers with Polarity-Sensitive Folding As Bright Far-Red Probes for Background-Free Bioimaging. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 1, p. 405–412, 2015.
25. CHIU, Yu-Chieh; BREY, Eric M; PEREZ-LUNA, Victor H. A Study of the Intrinsic Autofluorescence of Poly (ethylene glycol)-co-(L -Lactic acid) Diacrylate. **Journal of Fluorescence**, v. 22, n. 3, p. 907–913, 2012.
26. JENIFER, Josphine; UPPUTURI, Ravi Theaj Prakash. In vitro release mechanism and cytotoxic behavior of curcumin loaded casein nanoparticles. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, 2022.

27. KHOSROPANAH, Mohammad Hossein; DINARVAND, Amin; NEZHADHOSSEINI, Afsaneh; *et al.* Analysis of the Antiproliferative Effects of Curcumin and Nanocurcumin in MDA-MB231 as a Breast Cancer Cell Line. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR**, v. 15, n. 1, p. 231–239, 2016.
28. BOLDYREVA, Elena V. Non-ambient Conditions in the Investigation and Manufacturing of Drug Forms. *Current Pharmaceutical Design*, v. 22, 2016.
29. FÉLIX, Gautier ; FABRÈGUE, Nicolas ; LEROY, César ; *et al.* Induction-heated ball-milling: a promising asset for mechanochemical reactions. *ChemRxiv*, 2022.
30. CARTA, Maria; JAMES, Stuart L. ; DELOGU, Francesco. Phenomenological Inferences on the Kinetics of a Mechanically Activated Knoevenagel Condensation: Understanding the “Snowball” Kinetic Effect in Ball Milling. **Molecules**, v. 24, n. 19, p. 3600, 2019.
31. HUTCHINGS, Benjamin P.; CRAWFORD, Deborah E.; GAO, Lei; *et al.* Feedback Kinetics in Mechanochemistry: The Importance of Cohesive States. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 56, n. 48, p. 15252–15256, 2017.
32. FÉLIX, Gautier ; FABRÈGUE, Nicolas ; LEROY, César ; *et al.* **Induction-heated ball-milling: a promising asset for mechanochemical reactions.** 2023. Disponível em: <https://chemrxiv.org/engage/apigateway/chemrxiv/assets/orp/resource/item/636528d3ac45c7bf9fa56eef/original/induction-heated-ball-milling-a-promising-asset-for-mechanochemical-reactions.pdf>.

APÊNDICE

CAPÍTULO 2

Tabela A2.1. Dados de Temperatura de pico (T_p), entalpia (ΔH) do PEG, obtidos a partir das curvas DCS nos ciclos de resfriamentos e aquecimento, realizados em triplicata.

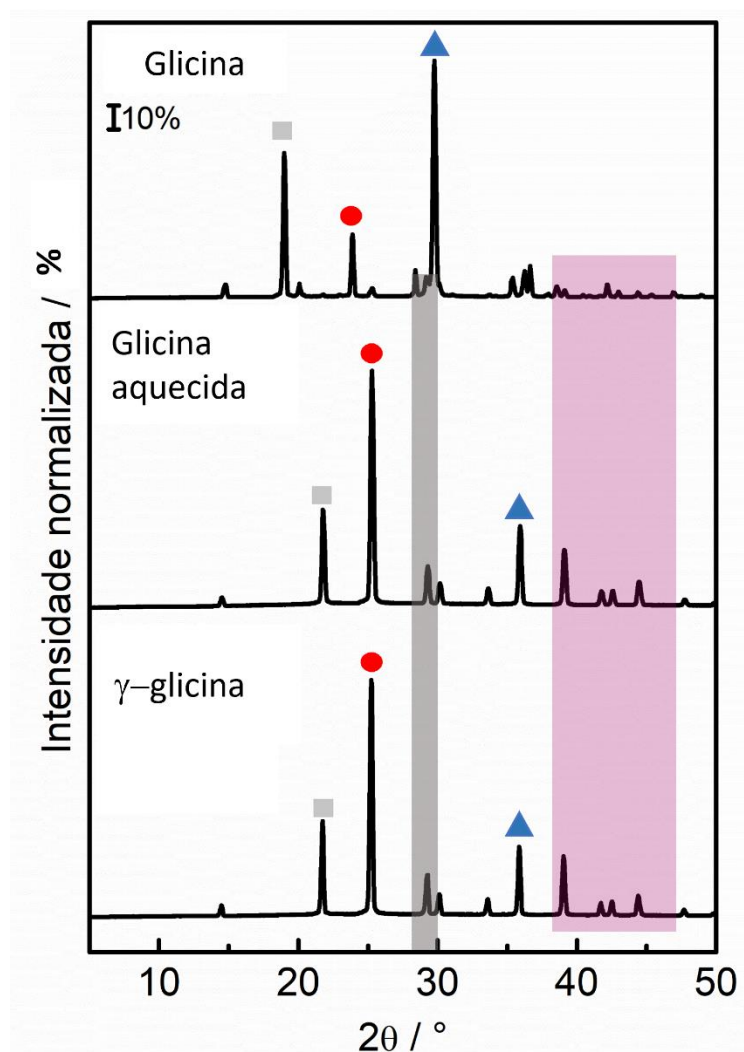
Ciclo →	1ºAquecimento		1ºResfriamento		2ºAquecimento		2ºResfriamento		3ºAquecimento		3ºResfriamento	
Temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH)	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$
1ª análise	64,0↓	176,9	18,7↑	128,7	58,2↓	130,8	11,0↑	106,3	52,3↓	94,3	0,91/9,40↑	82,5
2ª análise	64,4↓	175,3	19,0↑	125,9	60,1↓	132,4	14,1↑	100,8	53,4↓	92,5	1,0/10,1↑	86,2
3ª análise	64,0↓	176,2	18,7↑	129,6	58,2↓	130,1	11,4↑	106,7	52,9↓	91,0	1,3↑/9,4↑	85,3
Médias e desvio padrão	64,1±0,2	176,2±0,2	18,8±0,1	128,1±1,6	58,8±0,8	131,1±1,0	12,1±1,3	104,6±2,7	52,9±0,4	92,6±1,3	1,1±0,2/9,6±0,3	84,7±1,6

↓=pico endotérmico; ↑=pico exotérmico.

Tabela A2.2. Dados de Temperatura de pico (T_p), entalpia (ΔH) do PEG_AS, obtidos a partir das curvas DCS nos ciclos de resfriamentos e aquecimento, realizados em triplicata.

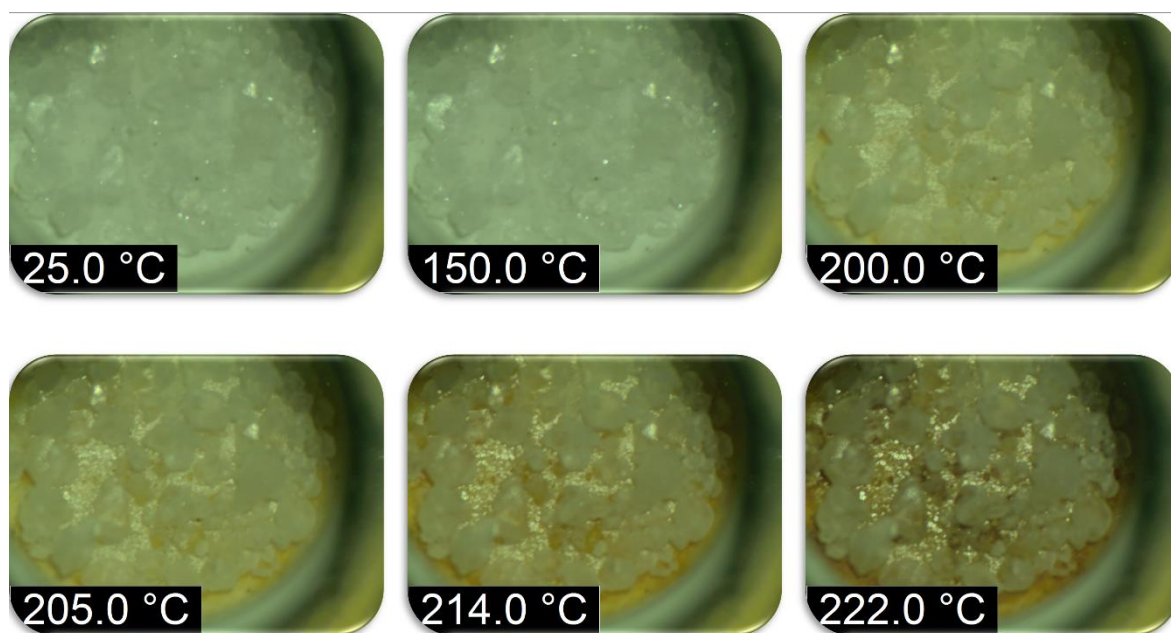
Ciclo →	1ºAquecimento		1ºResfriamento		2ºAquecimento		2ºResfriamento		3ºAquecimento		3ºResfriamento	
Temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH)	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$	$T_p/ ^\circ\text{C}$	$\Delta H/ \text{J g}^{-1}$
1ª análise	67,1↓	160,9	35,4↑	131,3	60,1↓	138,9	22,4↑	100,2	56,3↓	101,9	9,1↑	91,6
2ª análise	66,8↓	163,7	34,4↑	126,7	60,1↓	129,5	19,5↑	96,3	56,0↓	90,8	9,2↑	81,6
3ª análise	65,8↓	161,1	33,4↑	127,3	60,5↓	130,2	19,1↑	96,3	56,7↓	92,5	9,9↑	83,3
Médias e desvio padrão	66,6±0,6	161,9±1,3	34,4±0,8	128,4±2,0	60,2±0,2	128,4±2,0	20,3±1,4	97,6±1,8	56,3±0,3	95,1±4,8	9,4±0,4	85,5±4,4

↓=pico endotérmico; ↑=pico exotérmico.

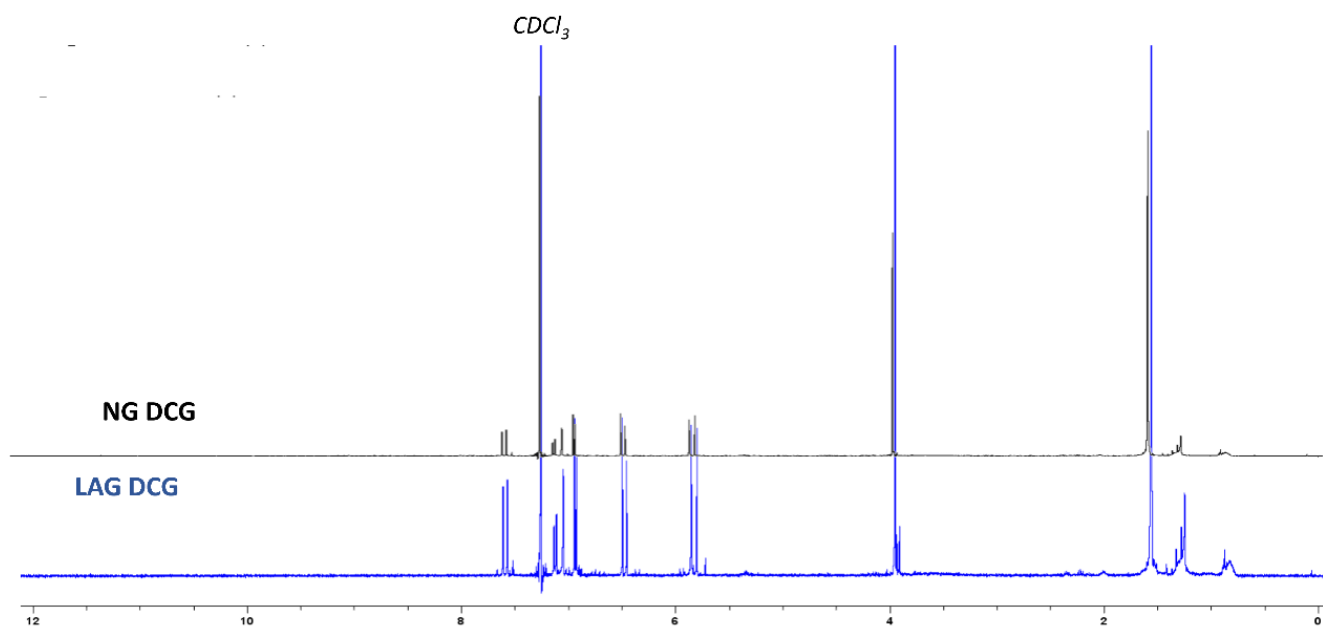
Figura A3.3. Difratomogramas da glicina, glicina aquecida até 212°C e da γ -glicina

Fonte: Da autora.

Figura A3.4. Imagens DSC fotovisual da GLI.



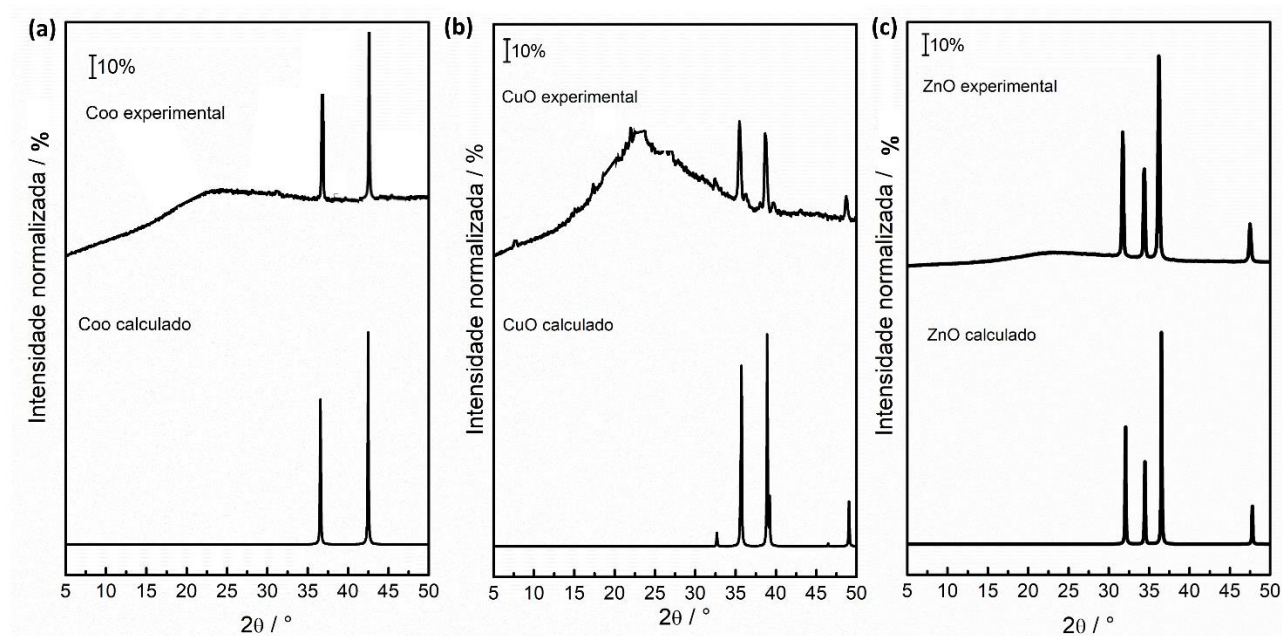
Fonte: da autora.

Figura A3.5. Espectros de RMN ^1H de NG DCG e LAG DCG.

Fonte: da autora.

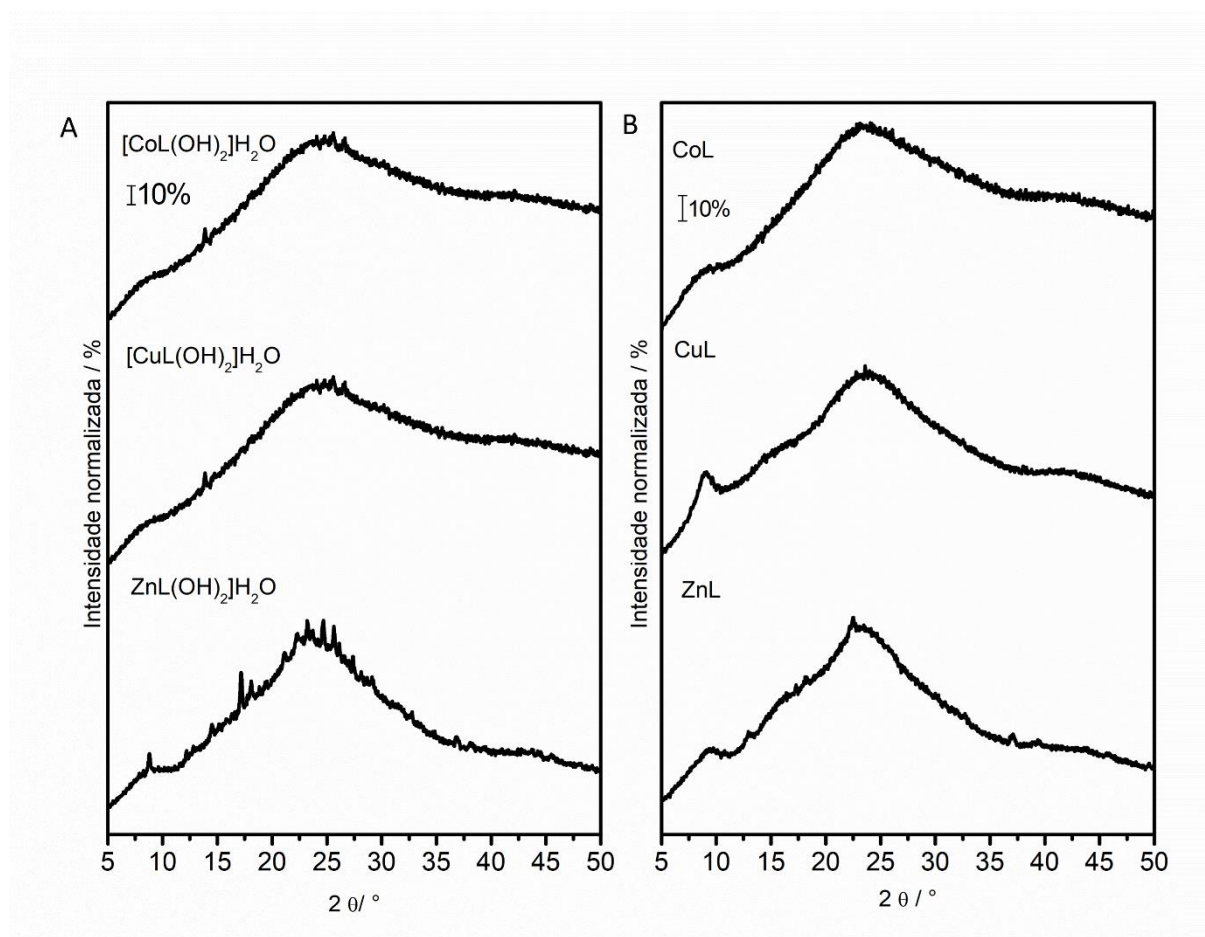
CAPÍTULO 4

Figura A4.1. Difratomogramas dos óxidos obtidos ao final das curvas TG-DTA. DRXP dos óxidos de cobalto experimental e calculado (CIF 9865-ICSD) (a); óxido de cobre experimental e calculado (CIF 1011148) (b) e óxidos de zinco experimental e calculado (CIF 1011258) (c).



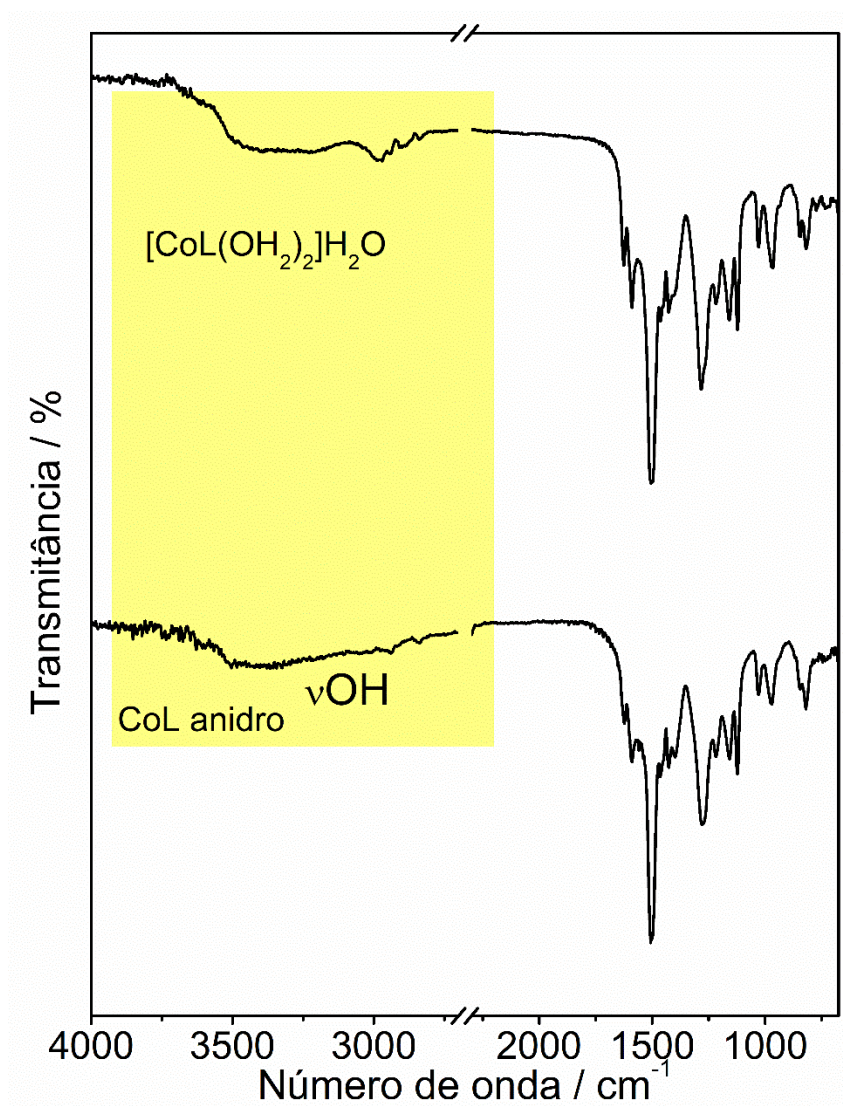
Fonte: da autora.

Figura A4.2. Difratomogramas dos compostos de coordenação antes (A) e após o aquecimento (B).



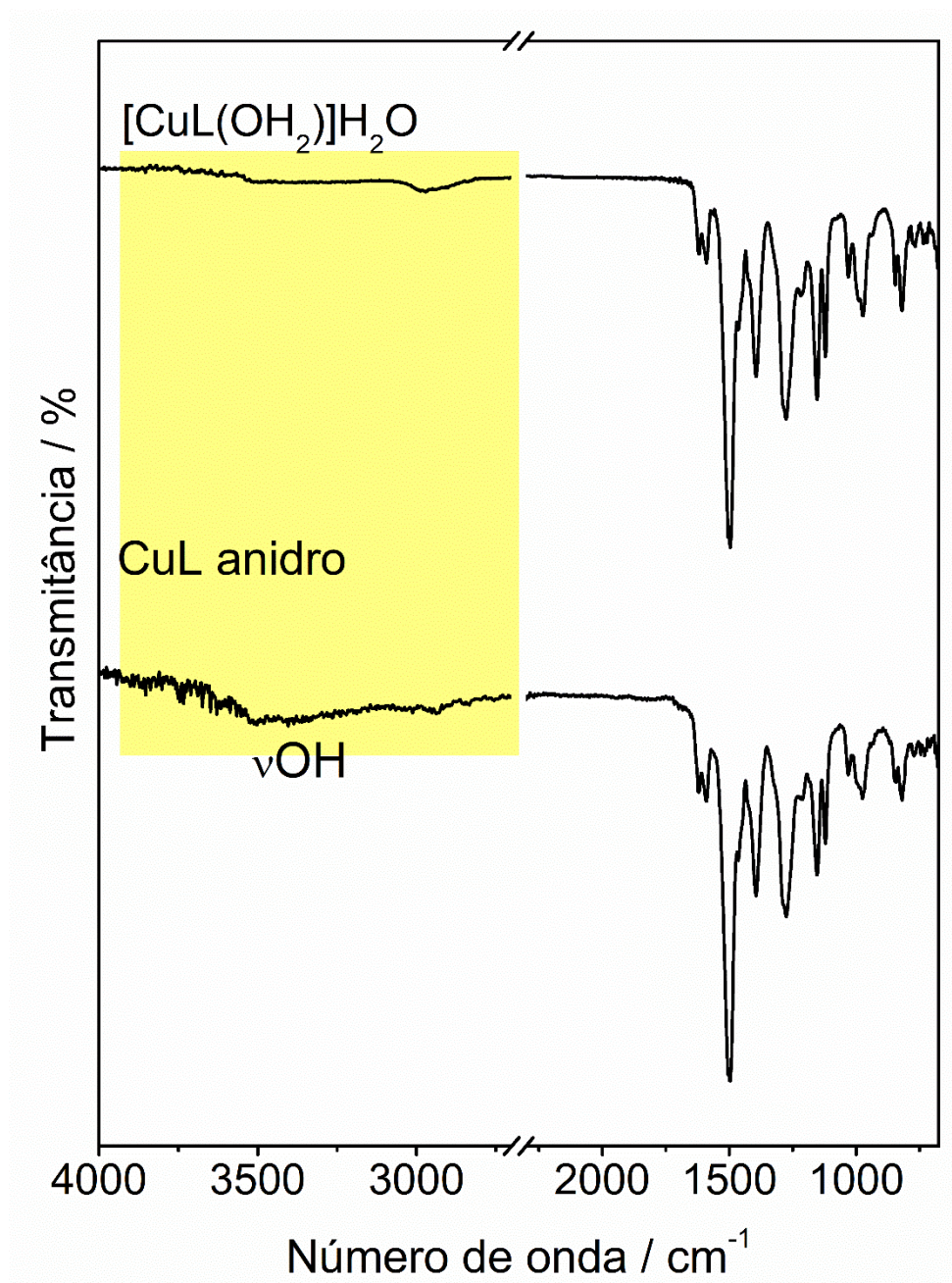
Fonte: da autora.

Figura A4.3. Espectros MIR do complexo de cobalto hidratado e anidro.



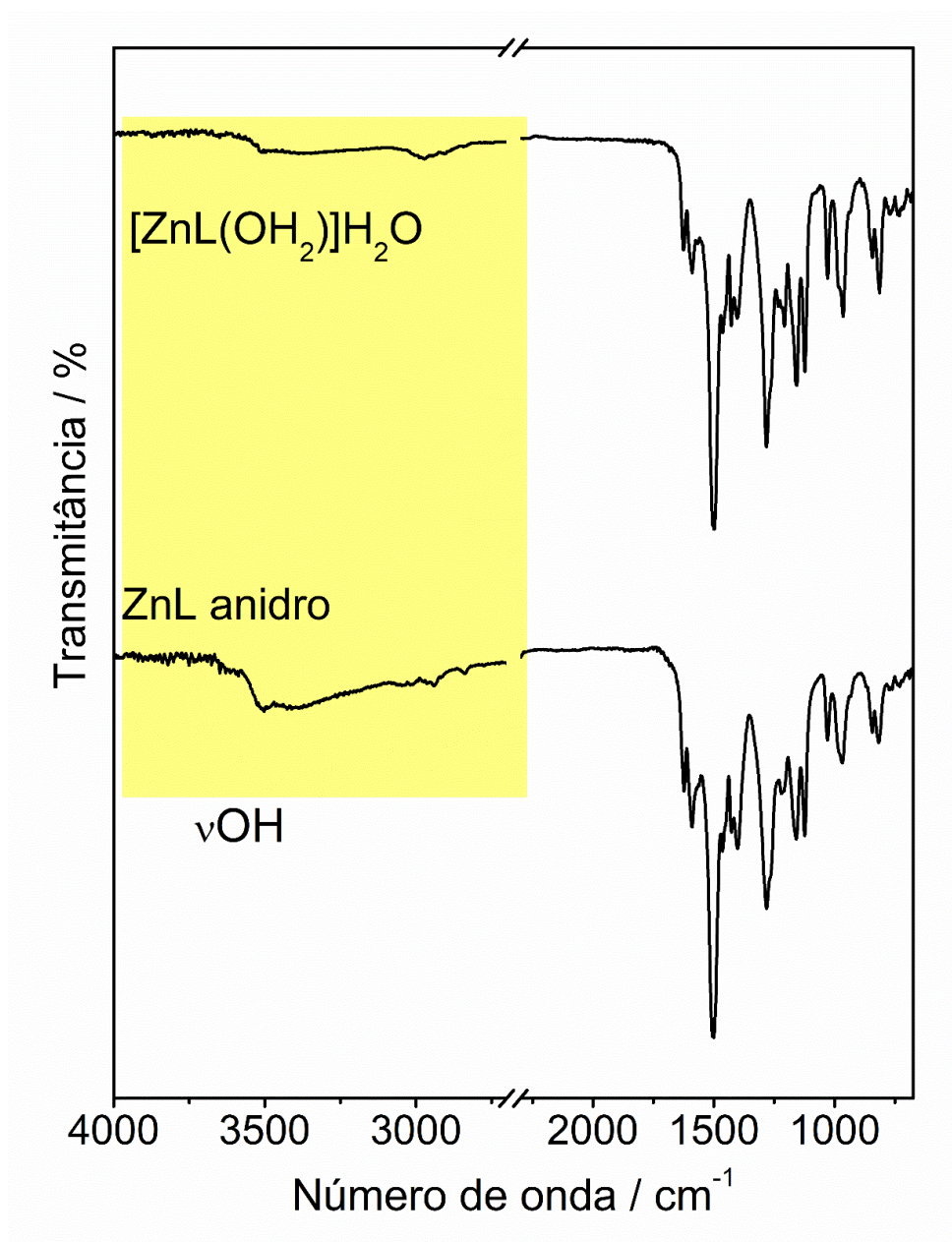
Fonte: Da autora.

Figura A4.4. Espectros MIR do complexo de cobre hidratado e anidro.



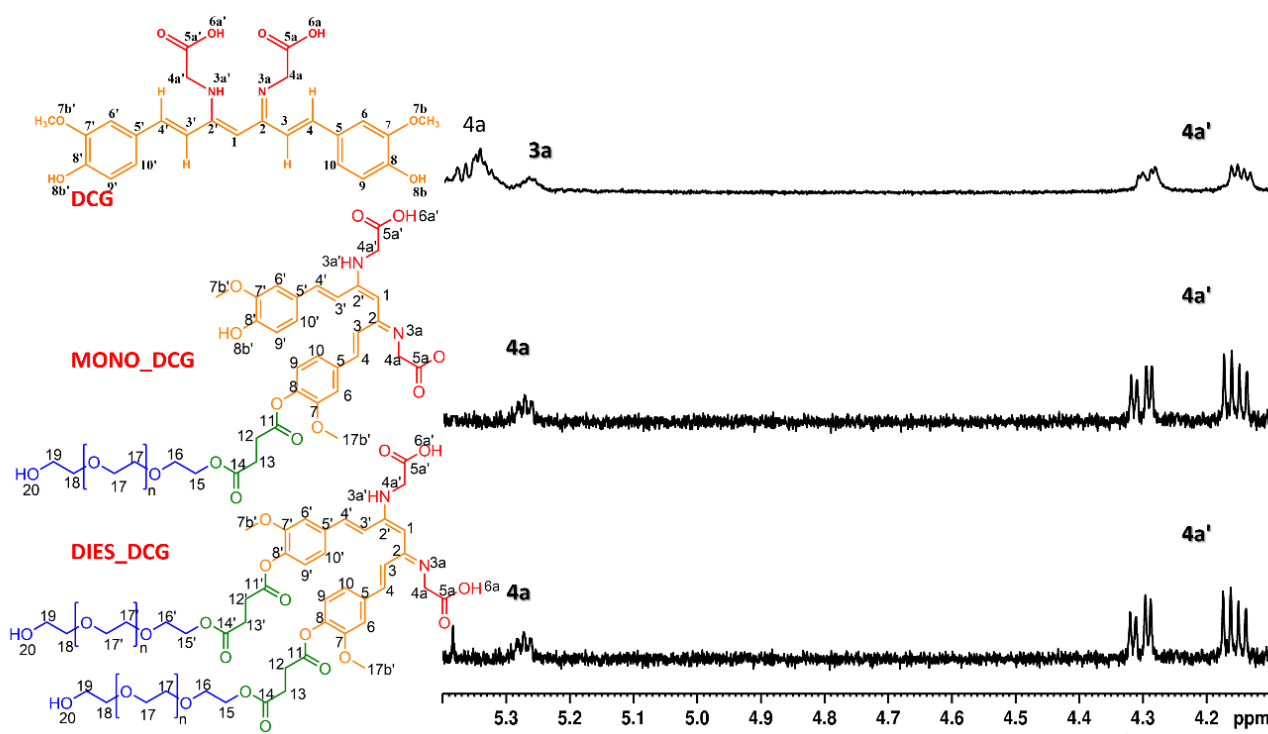
Fonte: Da autora.

Figura A4.5. Espectros MIR do complexo de zinco hidratado e anidro.

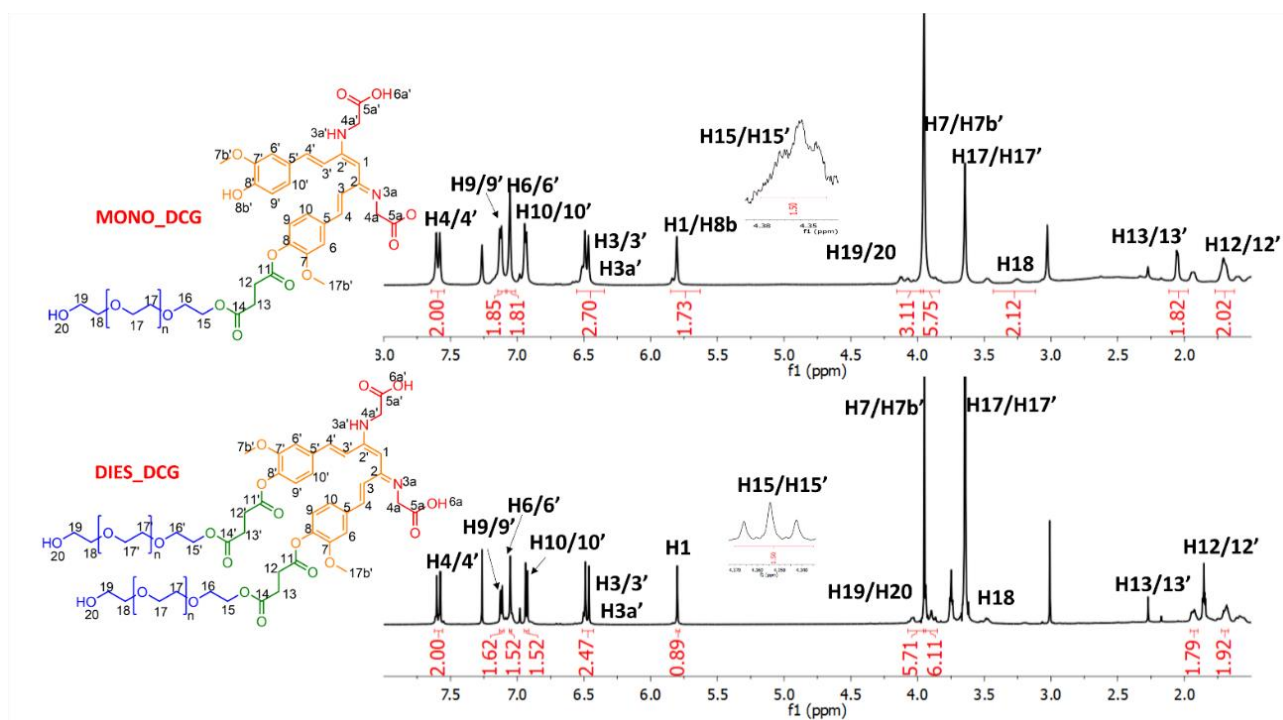


Fonte: Da autora.

CAPÍTULO 5

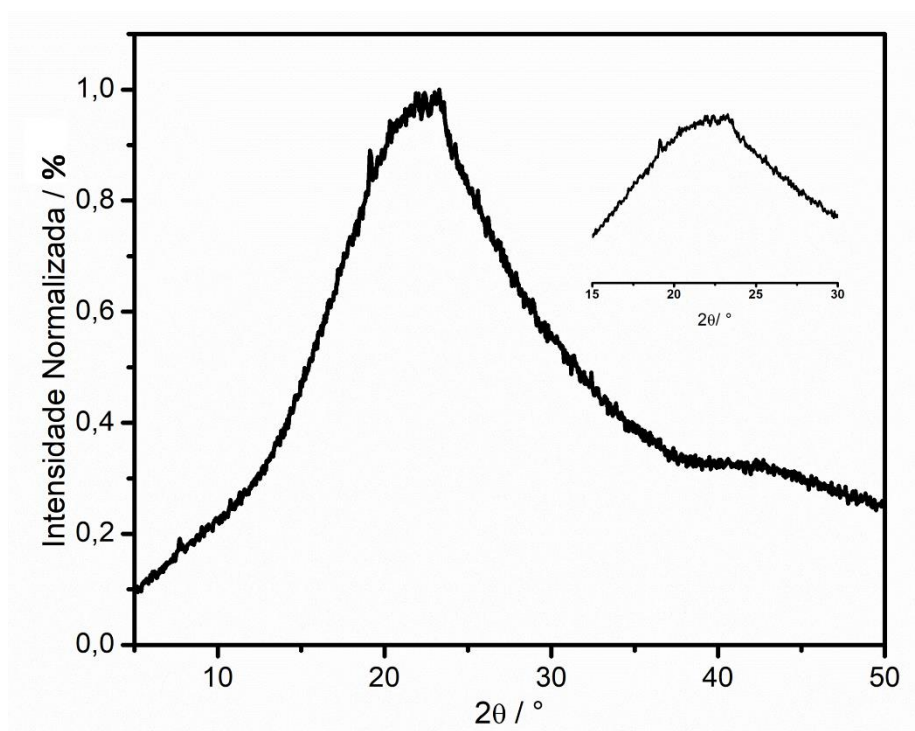
Figura A5.1. Expansão dos espectros de RMN ^1H de MONO_DCG e DIES_DCG.

Fonte: da autora.

Figura A5.2. Espectros de RMN ^1H de MONO_DCG e DIES_DCG completos

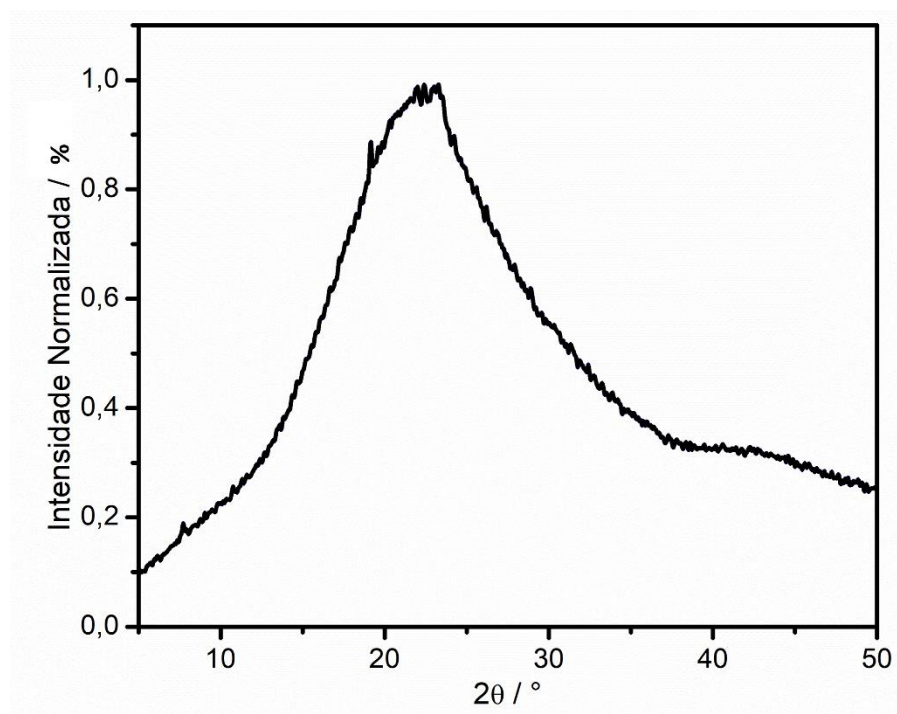
Fonte: da autora.

Figura A5.3. Difratoograma da amostra MONO_DCG.



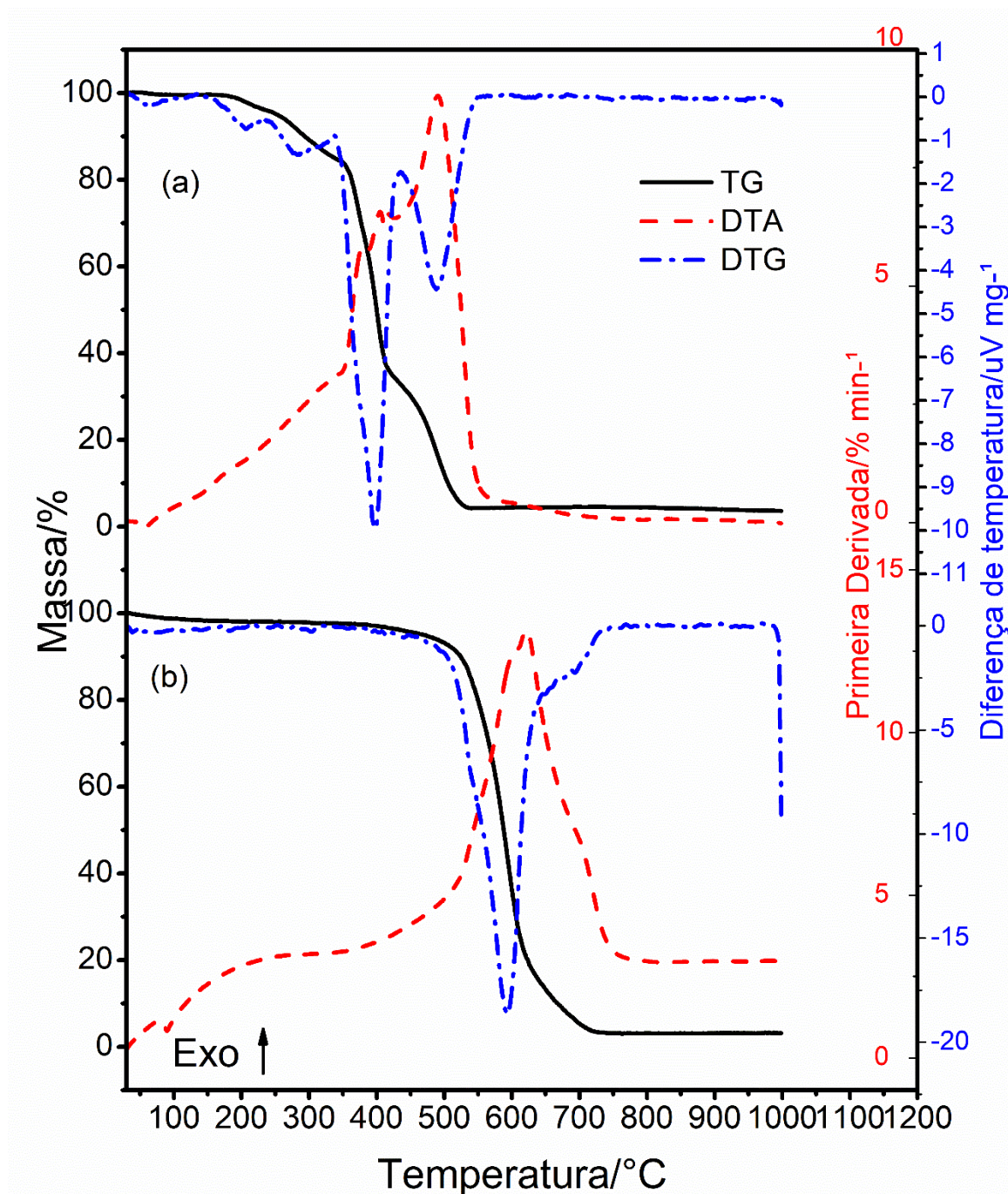
Fonte: da autora.

Figura A5.4. Difratoograma da amostra DIES_DCG.



Fonte: da autora.

Figura A5.5. Curvas TG/DTG-DTA do complexo de zinco esterificado (a), mistura física de zinco(b).



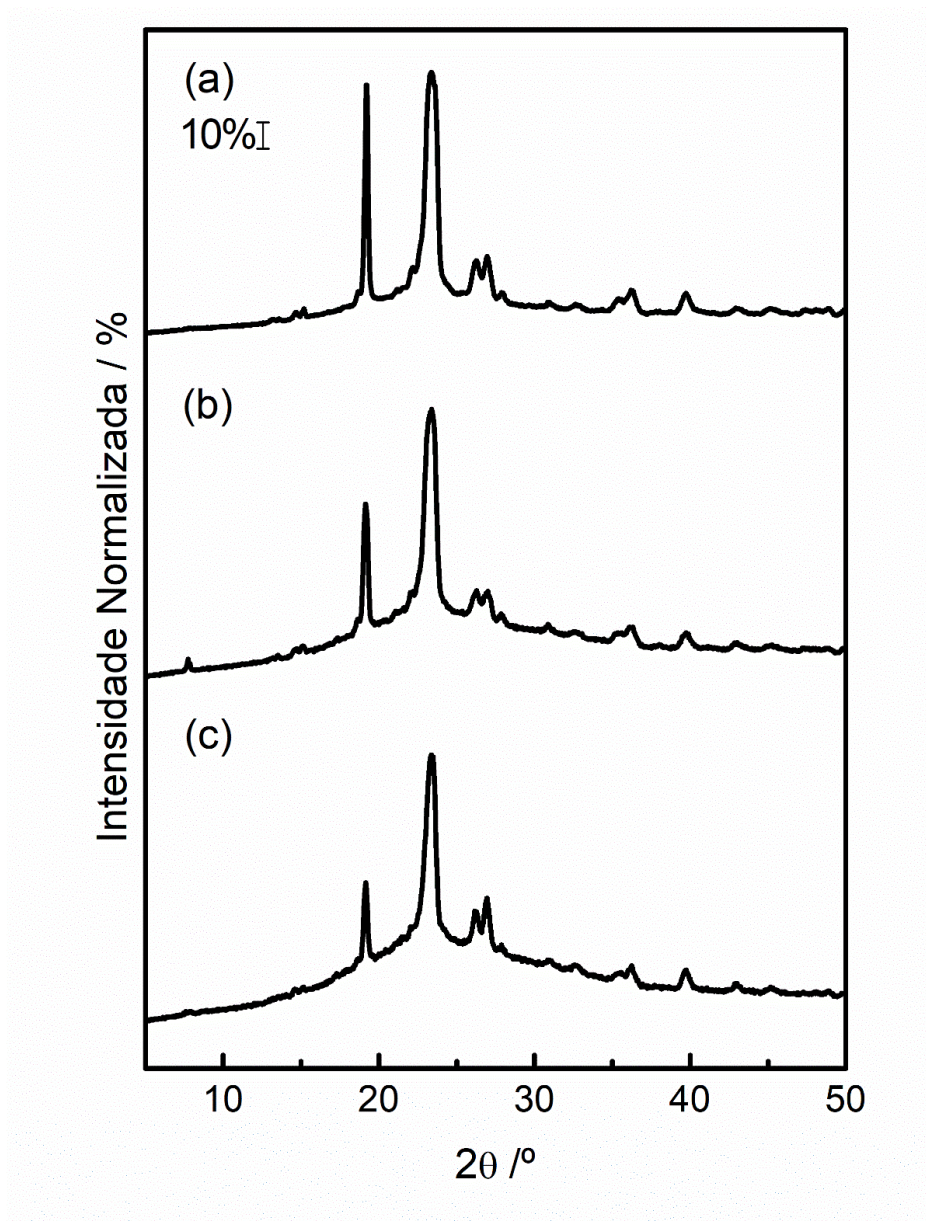
Fonte: da autora.

Conforme discutido anteriormente, curva TG do complexo de zinco esterificado (Figura 5.15-a) mostra que o composto é termicamente estável até 178,6 °C. Além disso, de acordo com a curva TG, o composto degrada em quatro etapas de perda de massa consecutivas. Entretanto, a curva DTG mostra que a degradação ocorre em cinco etapas de perda de massa consecutivas e sobrepostas.

Já as curvas TG/DTG da mistura física de zinco (Figura A5.4-b) mostram que o composto é termicamente estável até 275,1 °C, e posteriormente o composto se decompõe em duas etapas de perda de massa consecutivas e sobrepostas entre 275,1-494,6 °C. Enquanto o complexo de zinco apresenta um evento endotérmico na curva DTA em 63,7 °C, referente à fusão do complexo, a mistura física de zinco apresenta um evento endotérmico em 66,3 °C. Esse evento endotérmico na curva DTA da mistura física de zinco provavelmente está associada à fusão do PEG_AS.

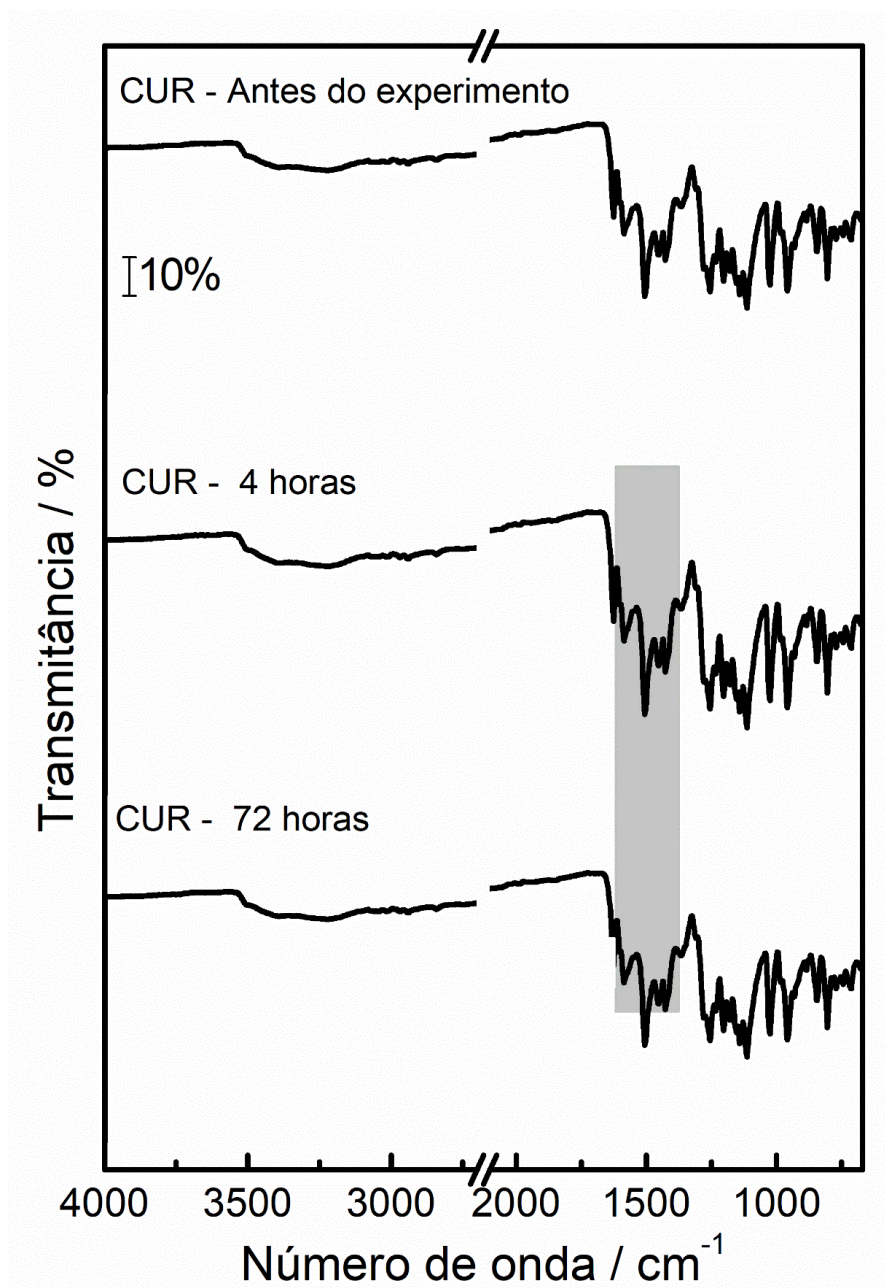
Dessa forma, as variações de estabilidade térmica, perfil das curvas TG/DTG-DTA de ambos os compostos mostram que a mistura física apresenta um comportamento térmico distinto do complexo de zinco esterificado. Esses dados sugerem que de fato, a esterificação ocorreu entre a reação do complexo de zinco $[ZnL(OH_2)]H_2O$ e o PEG_AS.

Figura A5.6. Difrátogramas dos complexos esterificados de Co(II)(a), Cu(II)(b) e Zn(II)(c).



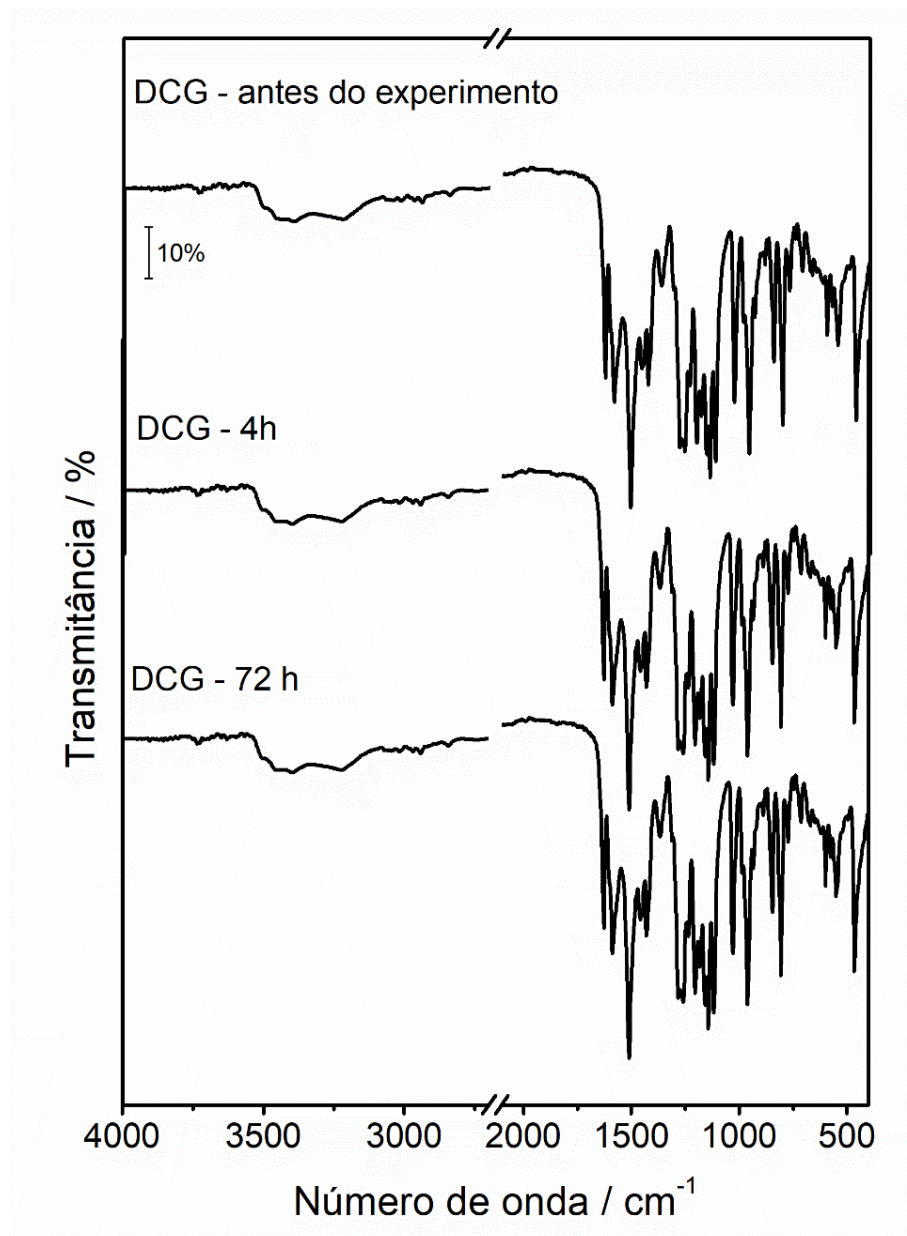
Fonte: da autora.

Figura A5.7. Espectros MIR da CUR antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



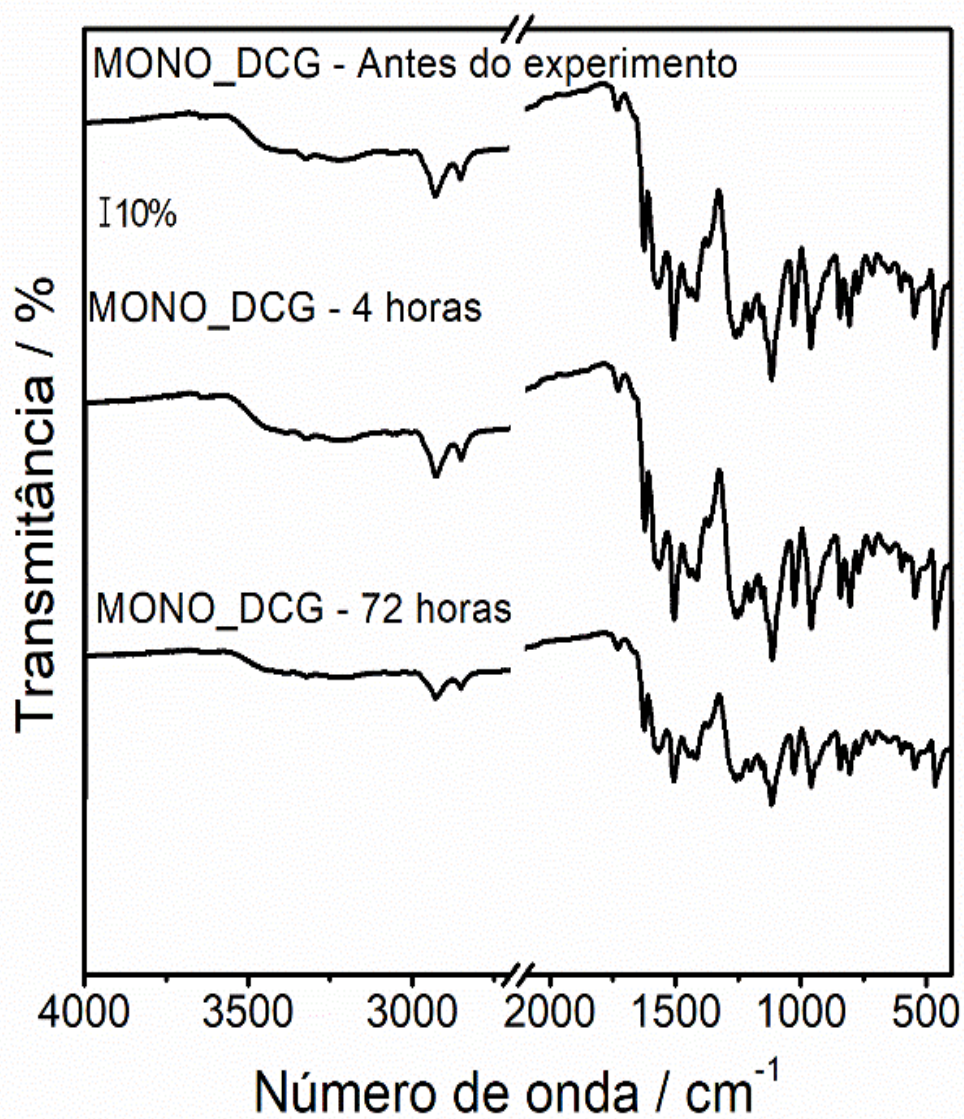
Fonte: da autora.

Figura A5. 8. Espectros MIR da DCG antes do ensaio de solubilidade (a) e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h(b) e 72h.)



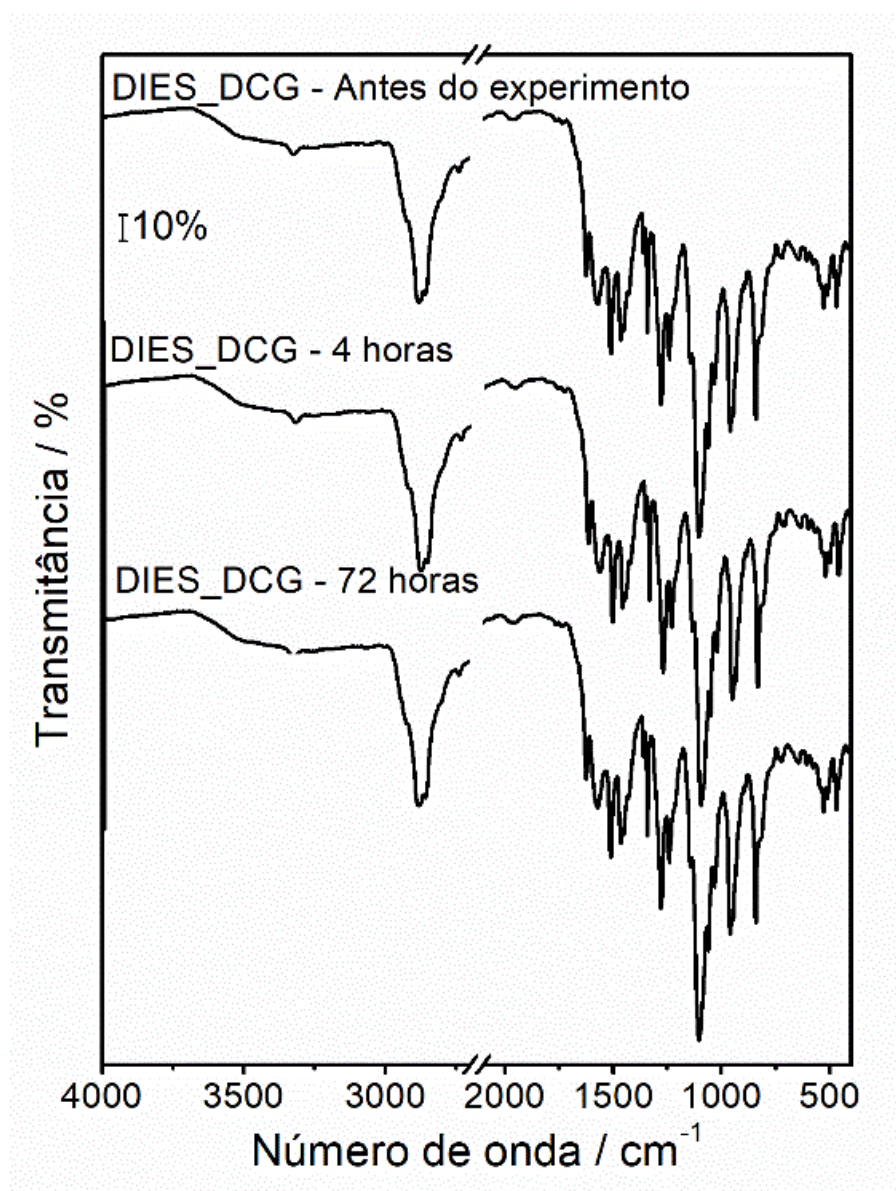
Fonte: da autora.

Figura A5.9. Espectros MIR de MONO_DCG antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



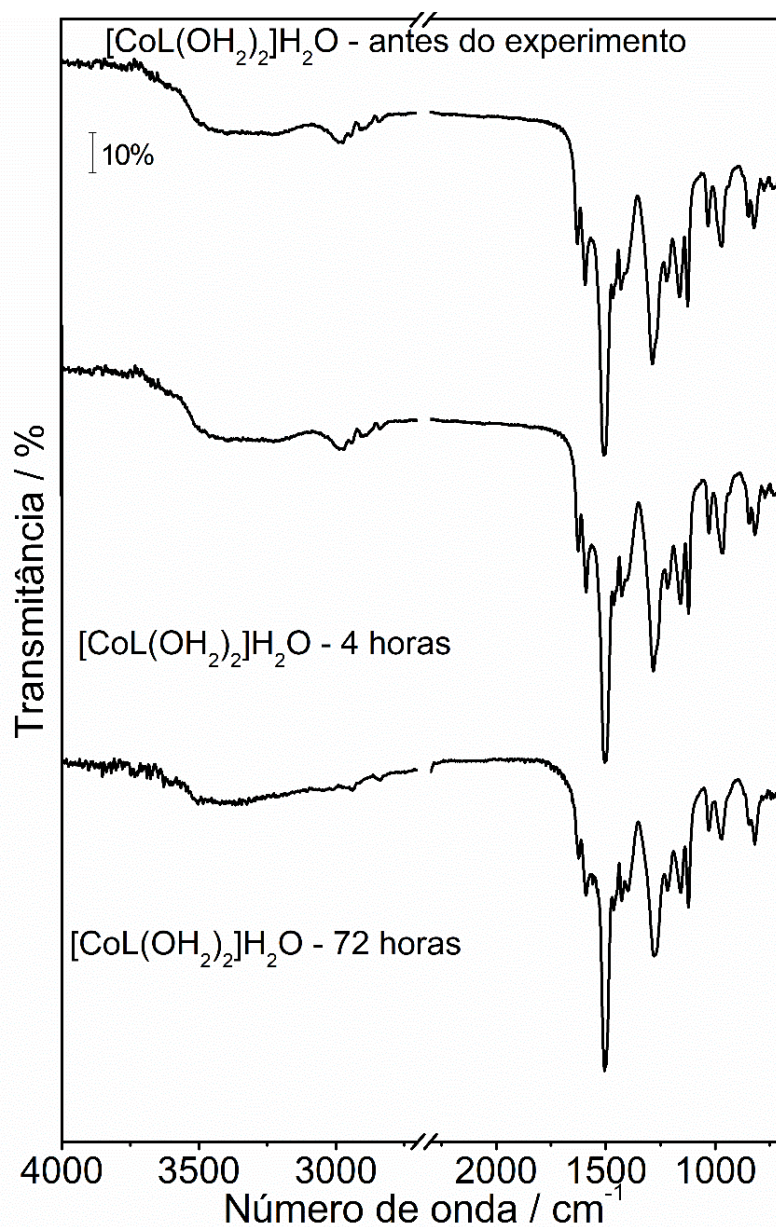
Fonte: da autora.

Figura A5.10. Espectros MIR de DIES_DCG antes do ensaio de solubilidade (a) e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h(b) e 72h.)



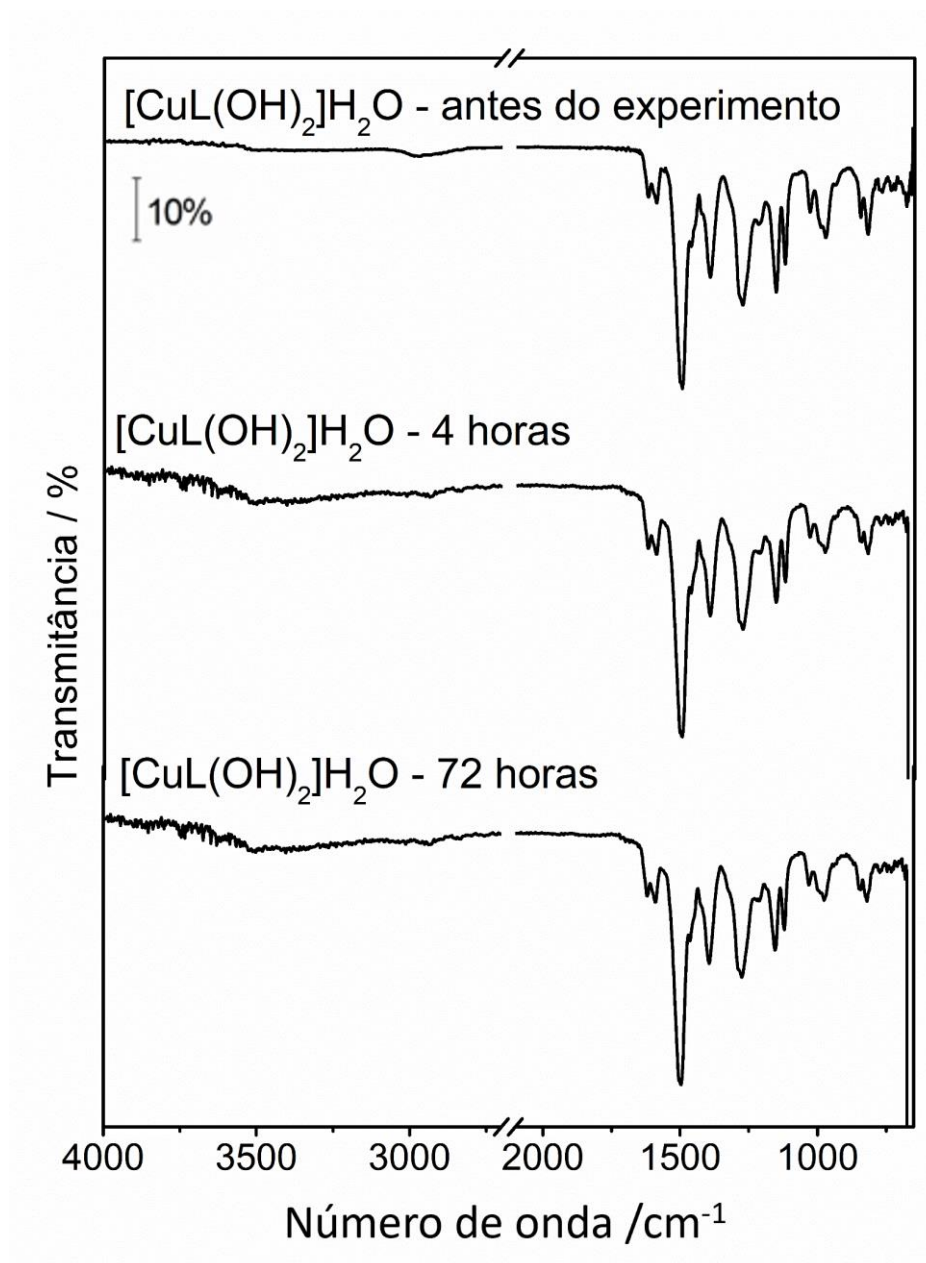
Fonte: da autora.

Figura A5.11. Espectros MIR do $[\text{Co}(\text{OH}_2)_2]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



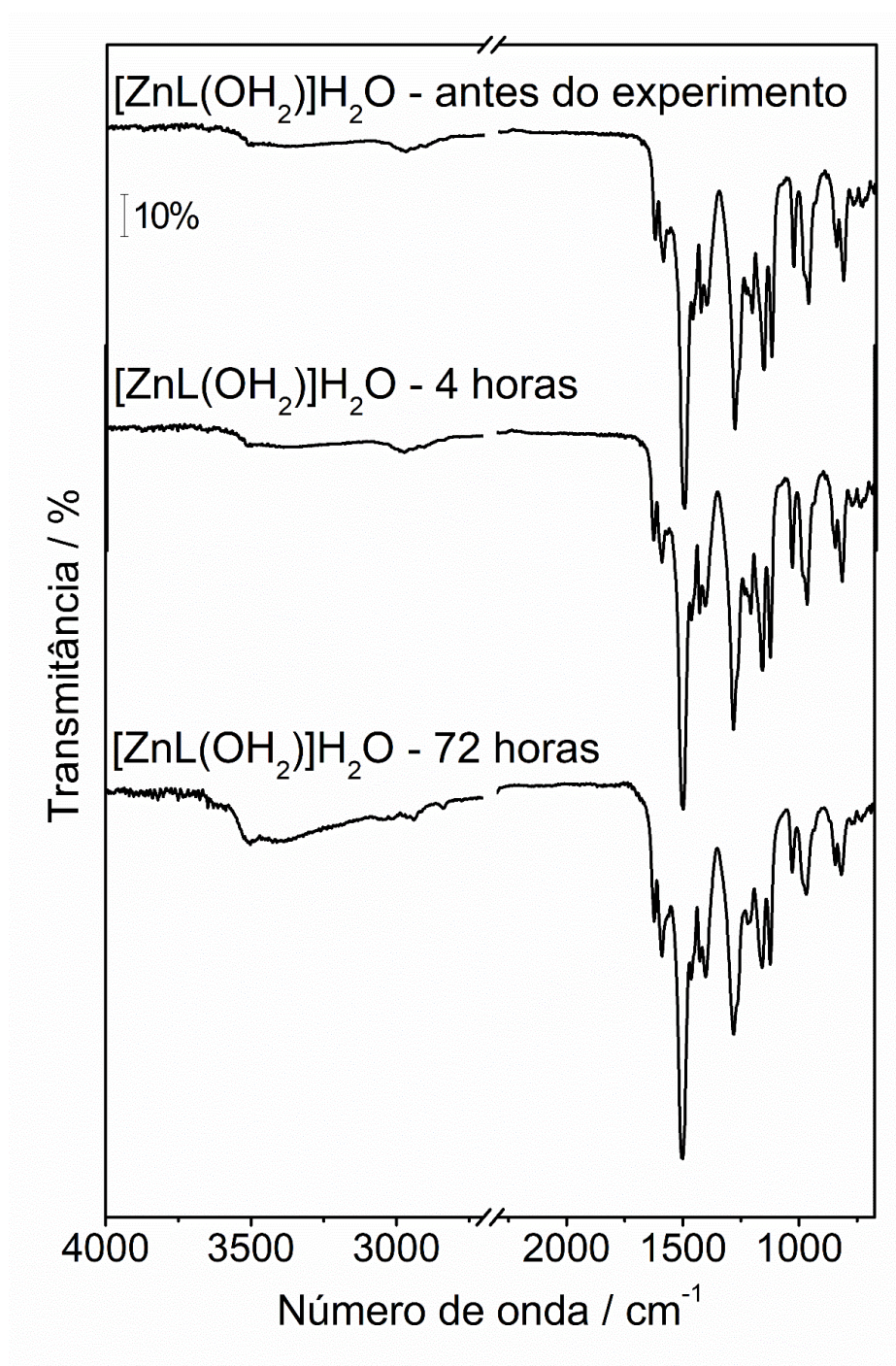
Fonte: da autora.

Figura A5.12. Espectros MIR do $[\text{Cu}(\text{OH})_2]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



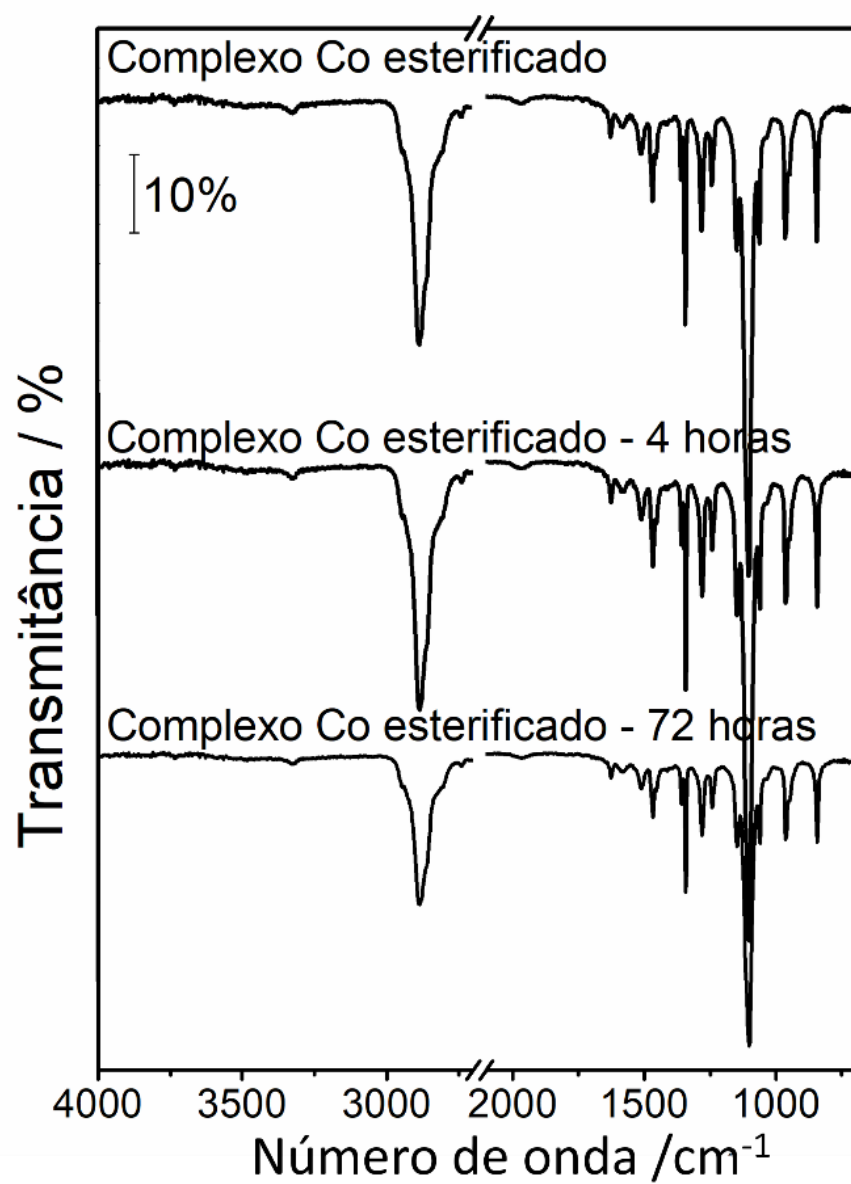
Fonte: da autora.

Figura A5.13. Espectros MIR do $[\text{Zn}(\text{OH}_2)]\text{H}_2\text{O}$ antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



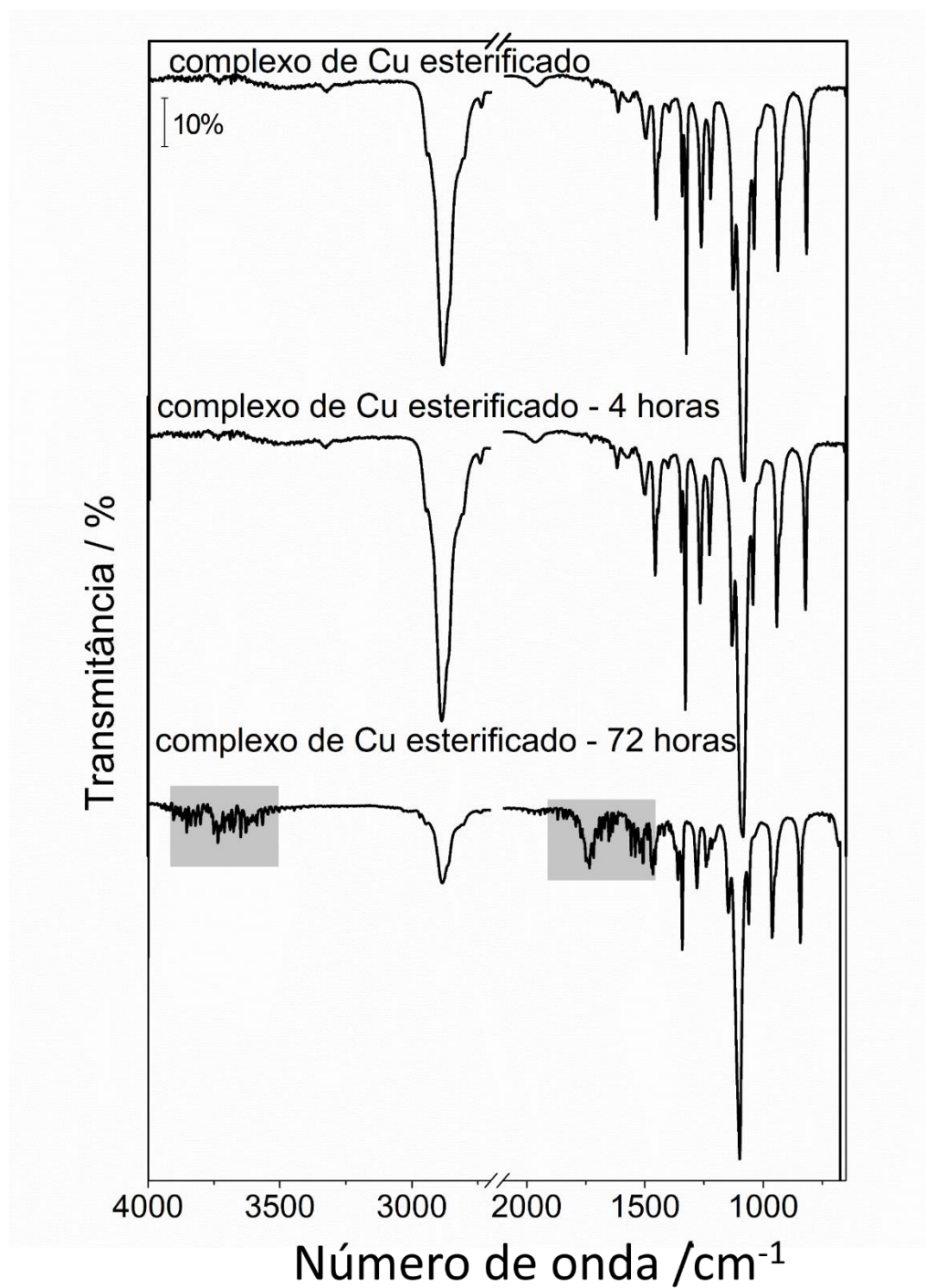
Fonte: da autora.

Figura A5.14. Espectros MIR do complexo de cobalto esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



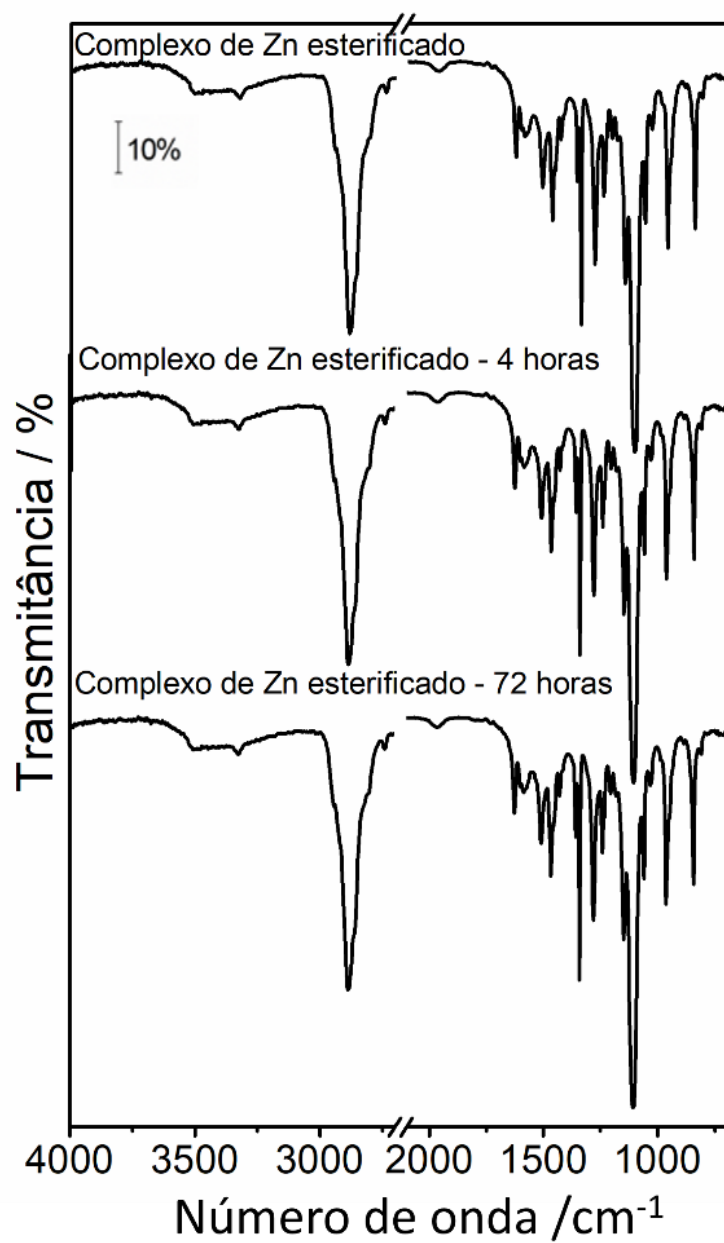
Fonte: da autora.

Figura A5.15. Espectros MIR do complexo de cobre esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



Fonte: da autora.

Figura A5.16. Espectros MIR do complexo de zinco esterificado antes do ensaio de solubilidade, e após o ensaio de solubilidade conduzido durante 4h e 72h.



Fonte: da autora.

Tabela A5.1. Resultados dos valores médios de solubilidade mg/mL e desvio padrão.

Composto	Ensaio 4 h (mg/mL)	Ensaio 72 h(mg/mL)
CUR	0,0002±0,000020	0,0008±0,00009
DCG	0,0001±0,000006	0,0003±0,00002
MONO_DCG	0,0020±0,000060	0,0030±0,00002
DIES_DCG	0,0020±0,000050	0,0030±0,00030
[CoL(OH ₂) ₂]H ₂ O	0,0002±0,000100	0,0004±0,00070
[CuL(OH ₂)]H ₂ O	0,0022±0,000020	0,0003±0,00010
[ZnL(OH ₂)]H ₂ O	0,0002±0,000020	0,0002±0,00001
Complexo de Co esterificado	0,0020±0,000300	0,0040±0,00003
Complexo de Cu esterificado	0,0060±0,000010	0,0050±0,0003
Complexo de Zn esterificado	0,0030±0,000006	0,003±0,00026