

UNESP-UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANIELE DE MOURA

**Novo ligante derivado cumarínico curcuminico e seus complexos metálicos
com alguns elementos de transição: sínteses verdes, caracterização e
investigação da atividade biológica contra *E. coli* e *S. aureus***

Araraquara

2019

ANIELE DE MOURA

**Novo ligante derivado cumarínico curcuminico e seus complexos metálicos
com alguns elementos de transição: sínteses verdes, caracterização e
investigação da atividade biológica contra *E. Coli* e *S. Aureus***

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Junior Caires

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos da Silva Filho

Araraquara

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Moura, Aniele de

M929n Novo ligante derivado cumarínico curcumínico e seus complexos metálicos com alguns elementos de transição: sínteses verdes, caracterização e investigação da atividade biológica contra *E. coli* e *S. Aureus* / Aniele de Moura. –

Araraquara : [s.n.], 2019
103 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Flávio Junior Caires

Coorientador: Luiz Carlos da Silva Filho

1. Curcumina. 2. Espectroscopia de infravermelho. 3. Análise térmica. 4. *Escherichia coli*. 5. *Staphylococcus aureus*. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação Biblioteca do
Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

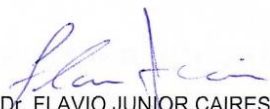
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Novo Ligante derivado cumarínico curcuminico e seus complexos metálicos com alguns elementos de transição: sínteses verdes, caracterização e investigação da atividade biológica contra *E. Coli* e *S. Aureus*"

AUTORA: ANIELE DE MOURA

ORIENTADOR: FLAVIO JUNIOR CAIRES

COORDENADOR: LUIZ CARLOS DA SILVA FILHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FLAVIO JUNIOR CAIRES
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru


Prof. Dr. DANIEL RINALDO
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru


Prof. Dr. RONI ANTÔNIO MENDES
Instituto de Ciência e Tecnologia / Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - Alfenas

Araraquara, 28 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Aniele de Moura

Nome em citações bibliográficas: MOURA, A.; MOURA, ANIELE; DE MOURA, ANIELE

ENDEREÇO PROFISSIONAL: Avenida Engenheiro Luiz Edmundo Carrijo Coube, Núcleo Residencial Presidente Geisel, 17033360 - Bauru, SP - Brasil

FORMAÇÃO ACADÊMICA: Licenciatura em Química (2016) - UNESP Campus de Bauru

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Artigos completos publicados em periódicos

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, n.4, p.2591-2597, 2018.

NUNES, W. D. G.; DO NASCIMENTO, A. L. C. S.; **MOURA, A.**; GAGLIERI, C.; VALLIM, G. B.; NASCIMENTO, L. C.; MENDES, R. A.; IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J. Thermal, spectroscopic and antimicrobial activity characterization of some norfloxacin complexes- **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 133, n.3, p.1673-1686, 2018.

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, n.4, p.2-11, 2018.

2. Trabalhos publicados em anais de eventos científicos:

MOURA, A.; GAGLIERI, C. ; SILVA FILHO, Luiz Carlos da ; CAIRES, F. J. . A new copper (II) complex of a coumarin curcumin derivative for medicinal application: Synthesis, spectroscopic and thermal characterization. XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018, Fortaleza-CE.

MOURA, A.; GAGLIERI, C.; ALARCON, R. T.; MAGDALENA, A. G.; CAIRES, F. J.

A influência do processo de extração na degradação dos óleos de andiroba e babaçu. VIII SiAT - Simpósio de Análise Térmica, 2017, Ponta Grossa-PR.

MOURA, A.; ALARCON, R. T.; GAGLIERI, C.; FERREIRA, L. T.; HOLANDA, B. B. C.; FERREIRA, P. O.; BANNACH, G.; CAIRES, F. J. Estudo da interação de excipientes com maleato de enalapril por meio de análise térmica e espectroscopia de absorção no infravermelho. VIII SiAT - Simpósio de Análise Térmica, 2017, Ponta Grossa-PR.

GAGLIERI, C.; ALARCON, R. T.; **MOURA, A.;** MENDES, R. A.; CAIRES, F. J.

Utilização da termogravimetria como alternativa á cromatografia gasosa na determinação de grau de conversão para biodiesel. VIII SiAT - Simpósio de Análise Térmica, 2017, Ponta Grossa-PR.

DINHANI, L. L.; **MOURA, A.;** FERREIRA, L. T.; SILVA FILHO, Luiz Carlos da; LEGENDRE, A. O; CAIRES, F. J. Síntese, caracterização espectroscópica e estudo térmico de uma nova base de Schiff derivada do 2-amino-4-nitrofenol. VIII SiAT - Simpósio de Análise Térmica, 2017, Ponta Grossa-PR.

3. Apresentação de trabalho em congresso

MOURA, A.; VECCHI, R. ; SILVA FILHO, Luiz Carlos da ; CAIRES, F. J. . Estudo da atividade antimicrobiana de um derivado cumarínico curcuminico obtido por método mecanoquímico. In: III Simpósio de Química Medicinal-IBILCE UNESP, 2018, São José do Rio Preto. II Simpósio de Química Medicinal –“Desafios na Pesquisa e Inovação de Antibióticos” –IBILCE/UNESP, 2018, São José do Rio Preto- SP.

DINHANI, L. L.; **MOURA, A.;** FERREIRA, L. T.;; CAIRES, F. J. Caracterização térmica e espectroscópica da mistura eutética de Valsartana e Ácido Nicotínico. III Simpósio de Química Medicinal-IBILCE UNESP, 2018, São José do Rio Preto. II Simpósio de Química Medicinal – “Desafios na Pesquisa e Inovação de Antibióticos”-IBILCE/UNESP, 2018, São José do Rio Preto-SP.

4. Participações em Bancas

CAIRES, F. J.; FERREIRA, P. O.; **MOURA, A.** Participação em banca de Juliana Sayuri Omai. 2018. Defesa de estágio em indústria realizado na empresa “Santisa Laboratório Farmacêutico”, (Graduação em Bacharel em Química) - Faculdade de Ciências- UNESP BAURU.

GAGLIERI, CAROLINE; GALASSI, G. R.; **MOURA, A.** Participação em banca de Fábio José Tasca Aguiar. Efeito da Suplementação com Nutrientes no Tratamento de Leveduras em Fermentação Alcoólica. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Faculdade de Ciências- UNESP BAURU.

CAIRES, F. J.; **MOURA, A.**; ALMEIDA, A. C.. Participação em banca de Carolina Torquetti. Síntese Mecanoquímica e caracterização dos cocristais e misturas eutéticas de ciprofloxacino com alguns coformadores. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Faculdade de Ciências- UNESP BAURU.

5. Participações em eventos científicos

XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry |VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry |VII Brazilian Meeting on Rare Earths, 2018, Fortaleza-CE;

VIII SiAT - Simpósio de Análise Térmica, 2017, Ponta Grossa-PR.

6. Outros:

Estágio Docência: Faculdade de Ciências-DQ/ UNESP Bauru. Disciplina de Química Inorgânica (II), sob responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre de Oliveira Legendre.

Dedico este trabalho a minha família, em específico aos meus pais Antônio e Josinete e à minha irmã, por sempre se fazerem presentes na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Antônio e Josinete, e a minha irmã Annelise por estarem sempre ao meu lado, me dando suporte sempre para que pudesse alcançar meus objetivos, sempre demonstrando muito amor e respeito as minhas escolhas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Flávio Júnior Caires por aceitar me orientar, pela confiança depositada e acreditar no desenvolvimento deste trabalho e também pela amizade, sempre procurando evoluir, me aconselhar e auxiliar no que fosse possível, tanto como acadêmico, quanto como um amigo.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Luiz Carlos Silva Filho, por me auxiliar com toda a parte de química orgânica desenvolvida neste trabalho, pela paciência e pelos ensinamentos desde a graduação.

Ao meu antigo orientador Prof. Dr. Alexandre de Oliveira Legendre, por se fazer presente sempre que necessário, pelos ensinamentos e pela amizade ao longo desses anos.

Aos amigos de longa data e companheiros diários de laboratório Carol Gaglieri, Rafael Alarcon e Laura Teófilo, por todas as discussões, pela amizade e amparo ao longo desses anos, teria sido difícil sem vocês.

Ao Prof. Dr. Gilbert Bannach por todos os ensinamentos e confiança depositada. Agradeço aos companheiros do laboratório LATIG-Bauru: Bruno, Caroline Torquetti, Fayene, Arthur e Rafael Godoi pelo companheirismo, pelas discussões e aprendizados ao longo deste tempo; mas em especial: Larissa, com quem tive a oportunidade de conhecer a dinâmica e visão de co-orientar, Patrícia Osório e Amanda Cosmo, que além das caronas e risadas sempre me auxiliaram no que fosse preciso. Aos integrantes do grupo LATIG-Araraquara por todo suporte quando preciso e pela amizade: Bruno, Ana, Richard, Georgia e André e ao Prof. Dr. Massao Ionashiro por disponibilizar sempre seu laboratório, reagentes e equipamentos.

Ao mestrando Rafael Vecchi por me auxiliar com desenvolvimentos dos testes biológicos e ao Prof. Dr. James Venturini por se disponibilizar a auxiliar no desenvolvimento dos testes biológicos e disponibilizar o laboratório LIPE sempre que necessário.

Aos alunos do LASOP UNESP-Bauru por se disponibilizarem sempre, em especial Willian, Giovanni e Vitor.

Ao mestrando João Henrique Pelissari, pelas caronas para o IQ e risadas durante todo a trajetória do mestrado.

Ao Prof. Dr. Aroldo Magdalena por auxiliar sempre os alunos do LATIG. Ao Prof. Dr. Fenelon Martinho Lima Pontes, e suas alunas Larissa Garcia e Regina Capelli pelas medidas de

Difratometria de Raios X. Aos técnicos de laboratório da UNESP de Bauru Antônio Carlos, Ralph e David. Ao técnico Nivaldo do RMN (UNESP Araraquara) e ao técnico de Espectrometria de Massas João.

Agradeço a todos os membros da Pós-Graduação em Química, em especial a Wennia, Ana Paula, Cíntia e Robson e aos órgãos de fomento CAPES/ CNPQ e FAPESP, pela bolsa e pelo suporte durante este projeto de pesquisa.

A diferença entre o remédio e o veneno é a dose

Phillipus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (Paracelsus)

“...aprende que não importa onde já chegou, mas para onde está indo; mas, se você não sabe para onde está indo, qualquer caminho serve...aprende a construir todas as suas estradas no hoje, porque o terreno do amanhã é incerto demais para os planos, e o futuro tem o costume de cair em meio ao vão..., portanto, plante seu jardim e decore sua alma, em vez de esperar que alguém lhe traga flores...”

-O menestrel de Willian Shakespeare

RESUMO

Diversos produtos naturais apresentam atividades biológicas variadas, tais como bactericida, fungicida, anti-inflamatória e antitumoral. As cumarinas e curcuminóides se encaixam na classe de compostos naturais que apresentam atividade contra um amplo espectro de bactérias comprovados por testes *in vitro* e *in vivo*. Apesar disto, ambos compostos apresentam baixa solubilidade em água, acarretando em baixa absorção pelo organismo. Isto justifica o volume acentuado das pesquisas relacionadas a síntese de seus derivados e de seus complexos, visando a melhoria dessas propriedades. Tendo em vista os princípios da Química Verde, e a necessidade de minimizar a geração de resíduos e utilização de métodos alternativos com menor impacto na natureza, neste trabalho utilizou-se metodologias verdes, tais como: método mecanoquímico e síntese via irradiação de micro-ondas e em meio aquoso. A partir do método mecanoquímico, recorrendo a uma reação multicomponente, foi possível sintetizar o ligante e seu intermediário, o que auxiliou a propor o mecanismo reacional. Posteriormente foram sintetizados compostos de coordenação de Fe(II), Co(II), Cu(II) Zn(II) fazendo uso de sínteses em meio aquoso e por irradiação de micro-ondas. Assim sendo, este trabalho tem como objetivo a síntese de um novo ligante derivado de 4-hidroxicumarina e curcumina, para ser complexado com Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II), com o intuito de avaliar a ação dos centros metálicos sobre a atividade do ligante na presença das cepas de *E. Coli* e *S. aureus*. As estruturas do ligante e intermediário reacional foram caracterizadas e determinadas pelas técnicas de RMN unidimensional (RMN ^1H e DEPTQ) e bidimensionais (HSQC E HMBC). Além disso, foram utilizadas as técnicas de espectrometria de massas e IV para caracterizar o ligante, sendo que os resultados de IV proporcionaram a identificação dos sítios de coordenação do ligante aos metais e sugere-se que os metais de coordenam pelo carboxilato do ligante. As propriedades termoanalíticas tanto do ligante quanto dos complexos foram determinadas pelas técnicas TG-DTA e DSC, além disso foram utilizadas as técnicas DRXP e UV-Vis durante o processo de caracterização destes compostos. De acordo os resultados de TG-DTA foram sugeridas as seguintes formulas mínimas para os compostos de coordenação $[\text{Fe}_3\text{L}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CoL}_2]$, $[\text{Cu}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e $[\text{Zn}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. As investigações da atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados foram realizadas utilizando-se a técnica de Microdiluição em caldo contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus* e a partir dos resultados obtidos foi possível determinar a concentração mínima para inibir o crescimento das bactérias (CIM). Os resultados mostraram que o ligante apresentou melhor atividade contra a *S. aureus*, enquanto que na presença das cepas de *E. Coli* a melhor atividade foi obtida para o complexo de zinco.

Palavras-chave: curcumina, cumarina, análise térmica, espectroscopia, atividade *in vitro*

ABSTRACT

Several natural compounds contain bioactive substances with varied biological activities as bactericidal fungicidal, anti-inflammatory, antioxidant and anti-tumor. Coumarins and curcuminoids fill into the class of natural compounds that exhibit activity against a broad spectrum of gram-positive and gram-negative bacteria, proven by *in vitro* and *in vivo* tests. Despite this, both compounds present low solubility in water, providing low absorption by the body. This justifies the high amount of related research about the synthesis of their derivatives; such as their coordination compounds, aiming to improve their properties. Considering the Green Chemistry principles, and the need to minimize the residues generation, as well as alternative methods use with less impact on nature, in this work we have been used green methodologies such as mechanochemical method and synthesis through microwave irradiation and an aqueous medium. From the mechanochemical method, has been possible to synthesize the ligand, this method also has provided the reaction intermediary synthesis; which supported to propose the reaction mechanism. Subsequently, Fe (II), Co (II), Cu (II) Zn (II) coordination compounds have been synthesized using an aqueous medium and by microwave irradiation. Hence, this work aims to synthesize a new ligand derived from 4-hydroxycoumarin and curcumin to be complexed with Fe (II), Co (II), Cu (II) and Zn (II), with the aim to evaluate the action of the metal centers on the activity of the ligand in the presence of *E. coli* and *S. aureus* strains. The ligand structure and reaction intermediary have been characterized and determined by one-dimensional (NMR ^1H and DEPTQ) and two-dimensional NMR techniques (HSQC and HMBC). In addition, mass spectrometry and IV techniques have been used to characterize the ligand, have been suggested that the emtals are coordinating by the ligand carboxilates. Through IV, it has been possible to identify the coordination sites of the ligand that interacted with the metals. The thermoanalytical properties of ligand and complexes have been characterized by TG-DTA and DSC techniques; furthermore, DRXP and UV-Vis techniques have been used during the characterization process of these compounds. Have been suggested the minimal formulas of the coordination compounds by the TG-DTA results $[\text{Fe}_3\text{L}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CoL}_2]$, $[\text{Cu}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, and $[\text{Zn}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. The investigations about the antimicrobial activity of the synthesized compounds were carried out using broth Microdilution method against *E. coli* and *S. aureus* strains. The results have provided the determination of minimum concentration to inhibit the growth of the bacteria (MIC). The promising results have shown that the ligand exhibited the best activity against *S. aureus*, whereas in the presence of *E. coli* strains zinc complex exhibited the best activity.

Keywords: curcumin, coumarin, thermal analysis, spectroscopy, *in vitro* activity

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura geral das cumarinas	21
Figura 2: Estrutura química das moléculas da Visnadina (a) e Kelactona (b).....	22
Figura 3: Estrutura química da Curcumina	22
Figura 4: Estrutura química dos curcuminoides curcumina, demetoxicurcumina e bis- demetoxicurcumina	23
Figura 5: Tautomerismo ceto-enólico apresentado da molécula curcumina	23
Figura 6: Esquema que compara as reações lineares e reações multicomponentes	25
Figura 7: Gradientes de temperatura observados em uma amostra submetida ao aquecimento por irradiação de micro-ondas e pelo método convencional.	29
Figura 8: Esquema de síntese do intermediário reacional.....	33
Figura 9: Esquema de síntese do ligante.	33
Figura 10: Espectro de IV dos precursores de síntese (a) 4-hidroxicumarina, (b) curcumina, (c) 4-carboxibenzaldeído	40
Figura 11: Curvas TG/DTG-DTA da 4-hidroxicumarina.	42
Figura 12: Curva DSC da 4-hidroxicumarina.	43
Figura 13: Difrátogramas da 4-hidroxicumarina sem aquecer (a) e aquecida até 77 °C (b)..	44
Figura 14: Imagens foto DSC da 4-hidroxicumarina	45
Figura 15: Curvas TG/DTG-DTA da Curcumina.....	46
Figura 16: Curva DSC cíclica da Curcumina no intervalo compreendido entre 25-200 °C, razão de aquecimento/ resfriamento de 10 °C min ⁻¹ e atmosfera de ar seco.	47
Figura 17: Curvas TG/DTG-DTA do 4-carboxibenzaldeído em (a) atmosfera de ar seco, (b) atmosfera de N ₂	48
Figura 18: Curva DSC cíclica do 4-carboxibenzaldeído realizada no intervalo de temperatura entre 25-165 °C, a razão de aquecimento/ resfriamento de 10 °C min ⁻¹ e atmosfera de ar seco.	49
Figura 19: Espectro de RMN ¹ H do derivado cumarínico curcumínico em (CD ₃) ₂ CO.....	51
Figura 20: Espectro de DEPTQ do derivado cumarínico curcumínico em (CD ₃) ₂ CO (C↓, CH↑, CH ₂ ↓, CH ₃ ↑).	53
Figura 21: Espectro de HSQC do derivado cumarínico curcumínico.....	55
Figura 22: Espectro de HMBC do derivado cumarínico curcumínico.....	56
Figura 23: Espectro MS com ionização por electrospray do ligante.....	57
Figura 24: Esquema de síntese dos compostos obtidos com base no resultado do espectro	

electrospray.	58
Figura 25: Espectro de IV do derivado cumarínico curcumínico.	59
Figura 26: Curvas TG/DTG-DTA do ligante derivado cumarinico curcuminico.....	60
Figura 27: Curva DSC do derivado cumarínico curcumínico obtida no intervalo entre 25-150 °C, razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ e atmosfera de ar seco	61
Figura 28: Curva DSC do ligante obtida no intervalo entre 25-150 °C, nas razões de aquecimento de 5°C/min (a); 10 °C/min (b) e atmosfera de ar seco.	62
Figura 29: Imagens do DSC-fotovisual do ligante na razão de 5°C/min e atmosfera de ar seco	63
Figura 30: Imagens de PLTM do composto derivado cumarínico curcumínico, com aumento de 200 X nas temperaturas de (a)30 °C, (b) 50 °C, (c) 70 °C, (d) 80 °C, (e) 90 °C, (f) 100 °C, (g) 115 °C, (h) 120 °C, (i) 125 °C, (j) 130°C, (k) 132 °C, (l) 134 °C, (m) 138 °C, (n) 140 °C, (o)142 °C, (p)144 °C, (q)146 °	64
Figura 31: Espectros de UV-Vis da 4-hidroxycumarina (a), curcumina (b), 4-carboxibenzaldeído (c) e do derivado cumarínico curcumínico (d).	65
Figura 32: Espectro de RMN ¹ H do composto MI em (CD ₃) ₂ CO.....	67
Figura 33: espectro de ¹³ C-DEPTQ do intermediário reacional.....	69
Figura 34: Proposta de mecanismo reacional do ligante.....	71
Figura 35: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de ferro.	72
Figura 36: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobalto.	73
Figura 37: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobre.....	74
Figura 38: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de zinco.	76
Figura 39: Espectros de IV da curcumina ,do ligante (a) , NaL (b) e dos complexos [Fe ₃ L ₂]·4H ₂ O (c) , [CoL ₂] (d) , [Cu ₃ L ₂ (OH ₂) ₈]·4H ₂ O (e) e [Zn ₃ L ₂ (OH ₂) ₈]·4H ₂ O (f)	79
Figura 40: Espectros UV-Vis dos complexos de Fe(II) (a) e Co(II) (b), da 4-hidroxycumarina (c), curcumina (d), 4-CBA (e) e do ligante (f).	80
Figura 41: Proposta de estrutura para o complexo de Ferro II.	81
Figura 42: Proposta de estrutura para o complexo de Cobalto II.	82
Figura 43: Espectros UV-Vis dos complexos de Cu(II) (a) e Zn(II) (b), da 4-hidroxycumarina (c), curcumina (d), 4-CBA (e) e do ligante (f).	83
Figura 44: Proposta de estrutura para o complexo de Cobre (II)	84
Figura 45: Proposta de estrutura para o complexo de Zinco (II)	84
Figura 46: Difrátogramas dos complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II).	85
Figura 47: Gráfico de barras representado a CIM para a 4-hidroxycumarina, curcumina,	

ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II) frente as cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Figura 48: Compostos com melhor atividade biológica e menor CIM na presença das bactérias de <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Figura 49: Gráfico com os valores de CIM para a 4-hidroxycumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn II) frente as cepas de <i>Escherichia coli</i>	90
Figura A 1: Espectro de HSQC do intermediário reacional.....	100
Figura A 2: Espectro HMBC do intermediário reacional.....	101

Lista de tabelas

Tabela 1: Reagentes e solventes utilizados nas sínteses, formula química, procedência e pureza.....	32
Tabela 2: Principais bandas de absorção no infravermelho dos precursores de síntese orgânica	41
Tabela 3: Dados espectrais de RMN ^1H do derivado cumarínico curcumínico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada hidrogênio, o desdobramento do sinal e as constantes de acoplamento (J) para cada sinal.	52
Tabela 4: dados espectrais de ^{13}C -DEPTQ do derivado cumarínico curcumínico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada carbono.	54
Tabela 5: Dados espectrais dos deslocamentos de Carbono e Hidrogênio e as correlações ^{13}C - ^1H a 1 J pelo HSQC e ^{13}C - ^1H ^3J -4J pelo HMBC.	57
Tabela 6: Dados espectrais de RMN ^1H do intermediário reacional, em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada hidrogênio, o desdobramento do sinal e as constantes de acoplamento (J) para cada sinal.	68
Tabela 7: Dados espectrais de ^{13}C -DEPTQ do intermediário reacional em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada carbono.	70
Tabela 8: 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 complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II).	76
Tabela 9: Principais absorções do ligante, ligante sódico e dos complexos.	78
Tabela 10: Valores de CIM em quadruplicata e valores médios ($\mu\text{g/mL}$) dos ensaios para a 4-hidroxycumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co (II), Cu(II) e Zn(II) frente as cepas de Staphylococcus aureus	87
Tabela 11: Valores de CIM em quadruplicata e valores médios ($\mu\text{g/mL}$) dos ensaios para a 4-hidroxycumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe (II), Co (II), Cu (II) e Zn (II) frente as cepas de Escherichia coli	89
Tabela A 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	102
Tabela A 2: dados espectrais dos deslocamentos de Carbono e Hidrogênio e as correlações ^{13}C - ^1H a 1 J pelo HSQC e ^{13}C - ^1H ^3J -4J pelo HMBC	103

Lista de símbolos e abreviaturas

2θ	Ângulo de difração de Bragg
4-CBA	4-carboxibenzaldeído
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BDMC	Bis-demetóxicurcumina
CIM	concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMC	carboximetilcelulose
DEPTQ	Distorsionless enhancement by polarization transfer including the detection of quaternary nuclei
DMC	demetóxicurcumina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DRXP	Difratometria de raios X do pó
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
IV	Espectroscopia vibracional Região do Infravermelho
L	Ligante (derivado cumarínico curcumínico)
<i>m</i>	Absorção no IV de intensidade média
MH	Müller-Hinton
MS	Espectrometria de massas
NAL	ligante sódico
RMC	Reação Multicomponente
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Absorção no IV de intensidade forte
TG-DTA	Termogravimetria-Análise Térmica Diferencial Simultânea
T_p	Temperatura de pico

TTC	cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
UFC	Unidade de formação de colônias
UV-VIS	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível
w	Absorção no IV de intensidade fraca
ΔH	Entalpia
Δm	Variação de massa
δ	Deformação angular
λ	Comprimento de onda
θ °C	Intervalos de temperatura
ν	Estiramento vibracional

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Considerações gerais	20
1.2 Cumarinas.....	21
1.3 Curcumina	22
1.4 Reações Multicomponentes	24
1.5 A Importância da Química Inorgânica para a Química medicinal	25
1.6 Química Verde e metodologias alternativas na síntese de compostos orgânicos e inorgânicos.....	27
1.6.1 Método Mecanoquímico.....	27
1.6.2 Irradiação de micro-ondas	28
2. OBJETIVOS	31
3. PARTE EXPERIMENTAL:.....	32
3.1 Materiais e Métodos	32
3.2 Sínteses pelo método mecanoquímico.....	32
3.2.1 Síntese do intermediário reacional	32
3.2.2. Síntese do ligante derivado cumarínico curcumínico	33
3.3 Sínteses dos compostos de coordenação	33
3.3.1 Síntese do ligante sódico em meio aquoso	34
3.3.2 Síntese do ligante sódico em meio etanólico.....	34
3.3.3 Síntese do Complexo de Ferro.....	34
3.3.5 Síntese do Complexo de Cobre	34
3.3.6 Síntese do complexo de Zinco.....	35
3.4 Espectrometria de Massas	35
3.5 Ressonância Magnética Nuclear DEPTQ e ¹ H (DEPTQ e RMN ¹ H)	35
3.6 Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho (IV)	35
3.7 Termogravimetria- Análise Térmica Diferencial (TG-DTA).....	35
3.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	35
3.9 Termomicroscopia de luz plano polarizada (PLTM)	36
3.10 Difractometria de Raios X do pó (DRXP)	36

3.11 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível (UV-Vis).....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
4.1 Caracterização dos precursores de síntese do ligante	39
4.1.1 Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho	39
4-hidroxicumarina.	41
Curcumina.	45
4-Carboxibenzaldeído (4-CBA).	47
4.2 Caracterização do Ligante	50
4.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e DEPTQ ...	50
4.2.2 Espectrometria de Massas com ionização por <i>electrospray</i>	57
4.2.3 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho.	59
4.2.4 Caracterização termoanalítica.....	60
4.2.5 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível / UV-Vis	64
4.3 Caracterização do intermediário de síntese e proposta de mecanismo reacional	66
4.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e DEPTQ ...	66
4.3.2 Proposta de mecanismo reacional.....	71
4.4 Caracterização Complexos de Co(II), Fe(II), Cu(II) e Fe(II)	72
4.4.1 Caracterização termoanalítica.....	72
Complexo de Ferro.	72
Complexo de Cobalto.	73
Complexo de Cobre.....	74
Complexo de Zinco	75
4.4.2 Caracterização espectroscópica dos complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II)..	77
4.4.2.1 Espectroscopia vibracional Região do Infravermelho / IV	77
4.4.2.2 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível / UV-VIS	80
4.4.3 Difractometria de raios X do pó / DRXP	85
4.5 Determinação da atividade biológica <i>in vitro</i> por microdiluição em caldo.....	86
5. CONCLUSÕES	91
6. REFERÊNCIAS	92
7. APÊNDICE	100

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

A necessidade de novos quimioterápicos tem sido reportada em jornais e artigos científicos cada dia mais, uma vez que é crescente a disseminação de diversos micro-organismos com resistência a variados quimioterápicos e antibióticos.¹⁻³ Neste caso, a carência destes antimicrobianos, ocorre principalmente nos âmbitos hospitalares, onde os casos antes dito como isolados, de infecções resistentes, tem sido crescente.^{1,2}

Desde a Pré-História diversas populações fazem uso de variadas plantas com fins medicinais, tanto na amenização de dores, quanto no tratamento de diferentes enfermidades.^{3,4} Pensando nos crescentes casos de resistência bacteriana, muitos pesquisadores têm voltado sua atenção ao desenvolvimento de novas moléculas para atuarem como princípio ativo de futuros medicamentos.⁵⁻⁷

Uma das alternativas utilizadas nas sínteses desses compostos é o uso de moléculas que sejam produzidas na natureza, uma vez que distintas classes apresentam ação anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica, dentre outros.^{3,4,8-10}

Yousef, Hamulakova e colaboradores mostraram que a compostos sintéticos de derivados de curcumina e cumarinas tendem a apresentar atividade biológica considerável, ao ponto de torná-los interessantes no desenvolvimento de novos medicamentos.^{8,10}

Tanto a cumarina quanto a curcumina são compostos que podem ser encontrados na natureza, e conforme relatado na literatura são molécula biotivas, com distintos e extensos estudos farmacológicos realizados acerca de suas propriedades biológicas.¹¹⁻¹⁵ Entretanto, não foram citados ainda, trabalhos que venham a unir suas propriedades visando um composto derivado cumarina e curcumina com a finalidade de estudar suas propriedades biológicas.

O crescente avanço nas pesquisas na área da bioinorgânica envolvendo metalo-drogas é devido ao fato de que a complexação de fármacos, ou compostos com potencial terapêutico, pode afetar suas propriedades, tais como citotoxicidade, reatividade e solubilidade.¹⁶ O interesse em metais da primeira série de transição para estas pesquisas se dá por atuarem como elementos essenciais ao organismo, como Cu(II), Zn(II), Co(II) e Fe(II), o que pode ocasionar uma menor toxicidade.¹⁶

1.2 Cumarinas

As cumarinas fazem parte de uma classe de compostos naturais que foram isolados pela primeira vez em 1820 por Vogel a partir das flores de trevo (*Melilotus Officinalis*) e sementes de Cumaru.¹⁷⁻¹⁹ São classificadas como benzo- α -pironas, também conhecidas como cromonas e podem apresentar origem natural ou sintética.^{19,20}

Seu nome é oriundo do cumaru, uma árvore que pertence à família das leguminosas e seu fruto contém compostos cumarínicos.^{14,20} Existem quatro grupos principais de cumarinas em relação à sua substituição: hidroxycumarinas ou metoxycumarinas, piranocumarinas, furanocumarinas e cumarinas isoprênicas.²¹ A Figura 1 mostra sua estrutura genérica, na qual os grupos R^1 e R^2 indicam as possíveis modificações estruturais deste composto, podem apresentar diversos grupos funcionais em sua estrutura, dentre eles: OH, OCH₃, C=O.^{19,20}

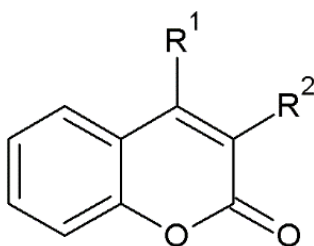


Figura 1: Estrutura química geral das cumarinas

Estes compostos podem ocorrer em diversas plantas, mas suas maiores concentrações são encontradas nos frutos e flores.¹⁵ De acordo com alguns trabalhos, estes compostos podem apresentar ação anti-inflamatória, antimicrobiana, anticoagulante, antibiótica, anticancerígena e antioxidante.^{15,20}

Algumas moléculas como a Visnadina e Kelactona (Figura 2), são exemplos de derivados cumarínicos naturais. São extraídas das plantas *Ammi Visnaga* (erva palito) e *Phlojodicarpus sibiricus*, e são usadas no tratamento de doenças coronárias e como vasodilatadores, respectivamente.^{15,17,20}

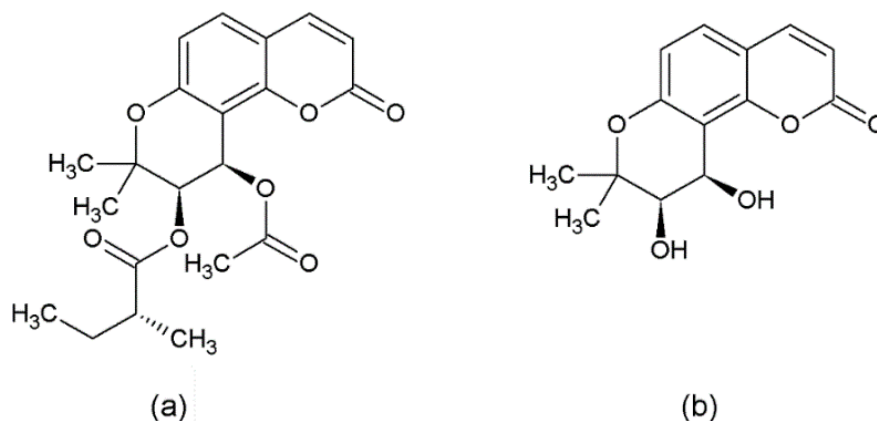


Figura 2: Estrutura química das moléculas da Visnadina (a) e Kelactona (b)

Alguns autores reportam que compostos de coordenação de elementos da primeira série de transição com determinados derivados cumarínicos apresentaram aumento na atividade fungicida e bactericida em relação ao composto cumarínico, contra micro-organismos como *Escherichia Coli*, *K. pneumoniae* e *Cândida albicans*.^{23,24} Esses estudos demonstram o grande potencial de sintetizar compostos de coordenação a partir de derivados cumarínicos para o aumento da atividade biológica.

1.3 Curcumina

A curcumina ((1E,6E) -1,7-bis (4-hidroxi- 3-metoxifenil) -1,6- heptadien-3,5-diona) é um pó amarelo, popularmente conhecido como açafrão-da-terra, cúrcuma ou turmerico.^{4,13} Este composto foi isolado por Vogel em 1815 (Figura 3), e sua estrutura foi determinada por Milobedzka e Lampe em 1910.^{4,13}

Desde então, é uma molécula que desperta o interesse de pesquisadores na área da química medicinal em função das diversas propriedades biológicas apresentadas, tais como anticoagulante, antifúngica, antioxidante, antitumoral anti-inflamatória e ação cicatrizante.^{4,13}

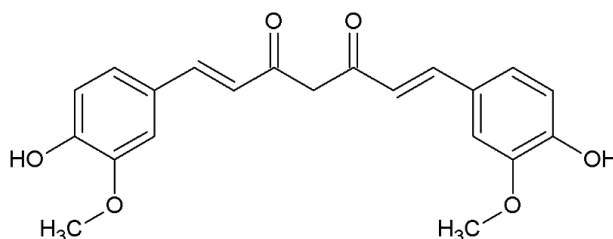


Figura 3: Estrutura química da Curcumina

A curcumina é o principal constituinte da rizoma do turmerico *Curcuma Longa*, outros curcuminoides também se encontram presentes nesta planta, dentre eles, majoritariamente demetoxicurcumina (DMC) e bismetoxicurcumina (BDMC).

A Figura 4 apresenta suas estruturas moleculares, e como pode ser observado, apenas ocorre uma variação nos substituintes laterais em relação a curcumina.⁴ São polifenóis que também apresentam coloração amarela, e assim como a curcumina, são pouco solúveis em água, além disso exibem amplo espectro de pesquisas acerca de suas atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante.²⁷

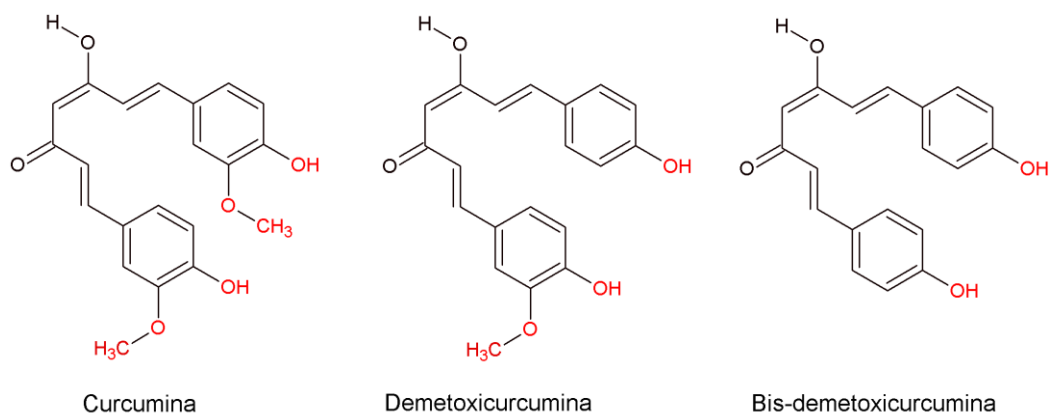


Figura 4: Estrutura química dos curcuminoides curcumina, demetoxicurcumina e bis-demetoxicurcumina

A molécula da curcumina pode apresentar tautomerismo ceto-enólico em faixas de pH entre 3-7, deslocado preferencialmente no sentido de formação do enol.^{4,25} Isto é devido a princípio a presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular com o oxigênio da carbonila.⁴ Outro fator preponderante a uma maior concentração da forma enólica da curcumina é a planaridade, que permite e facilita que a sobreposição sobre os orbitais π , em função da geometria trigonal planar, visto que o carbono entre as carbonilas apresente configuração sp^2 , facilitando a conjugação eletrônica, estabilizando o composto.^{4,25} A Figura 5 mostra o tautomerismo ceto-enólico da curcumina.

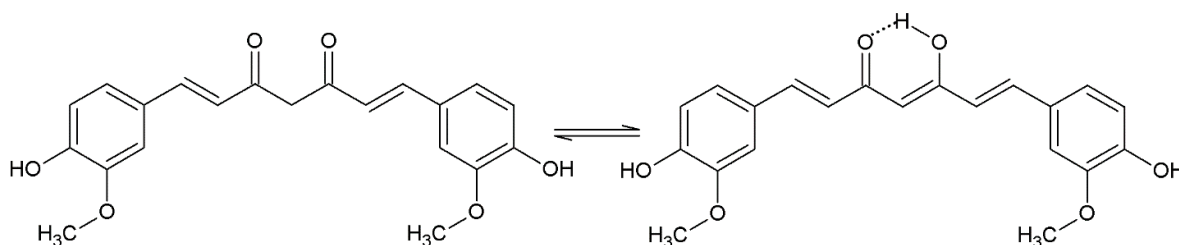


Figura 5: Tautomerismo ceto-enólico apresentado da molécula curcumina

Com a finalidade de sintetizar derivados curcúmicos, muitos pesquisadores destacam a metodologia de síntese via reação de Biginelli.⁴ Nesta reação multicomponente, um dos reagentes é um composto beta-dicarbonílico, e conforme reportado em muitos trabalhos, através destas rotas de síntese podem ser obtidos compostos com variadas e complexas estruturas.^{4,25}

Santiago e colaboradores relataram que por intermédio deste tipo de reação, foi possível sintetizar uma classe de compostos derivados curcúminicos, com capacidade de inibir a enzima

acetilcolinesterase, dentre os compostos sintetizados, uma molécula apresentou maior ação do que o fármaco Galantamina, referência, no tratamento de doenças como Alzheimer.⁴

As sínteses de compostos de coordenação com a curcumina é crescente, tal como no caso de sínteses de complexos com derivados cumarínicos.^{24,26,27} Além da possibilidade de aumentar sua solubilidade em meio aquoso, existem casos reportados na literatura, em que a ligação coordenada metal- ligante (curcumina) potencializa as ações farmacológicas deste composto.^{24,27}

A curcumina apresenta propriedades fotofísicas como fluorescência e solvatocromismo mediante variados solventes orgânicos.^{9,11,24,27} Este composto absorve no UV-Vis na região entre 410-430 nm, com emissão entre 460-560 nm, variando estes valores para o solvente.⁴ Estas características espectrais fazem deste composto, um excelente fotossensibilizante em quimioterápicos fotoativados.^{28,29} Em função disso, a síntese de alguns complexos com curcumina tem sido direcionada na aplicação de biomarcadores fluorescentes em células cancerígenas, pois por meio destas propriedades, estes podem indicar as interações da molécula com as células.^{11,24}

1.4 Reações Multicomponentes

Atualmente a ideia primordial numa síntese não está diretamente vinculada apenas a altos rendimentos e pureza do produto requerido, mas também aos fatores ambientais, e como a geração de resíduos a partir delas irá impactar na natureza.³⁰

Em função do desenvolvimento crescente da Química Verde, que visa “desenvolvimento de produtos químicos e seus processos com redução, eliminação, não uso e/ou geração de substâncias perigosas”;^{30,31} intensifica-se a necessidade de novos métodos de síntese, que sejam mais benignos ao meio ambiente.³¹

As sínteses orgânicas nomeadas como reações multicomponentes (RMC) são reações em que geralmente três ou mais reagentes se combinam em um mesmo “*pot*” reacional formando um produto que incorpora as características estruturais de todos os reagentes.³⁰⁻³²

A formação de um composto via RMC se dá através de reações químicas sequenciais, desta forma são gerados intermediários reativos frente ao outro reagente disposto no meio reacional, seguindo assim até a formação do produto final.³⁰ Uma vez que não há a necessidade de isolar o intermediário de reação para dar continuidade a síntese, o número de etapas de síntese e purificações são reduzidas.^{30,31} Isto torna estas sínteses mais vantajosas em relação as reações lineares.^{30,31} A Figura 6 ilustra as diferenças entre reações lineares e RMC's.

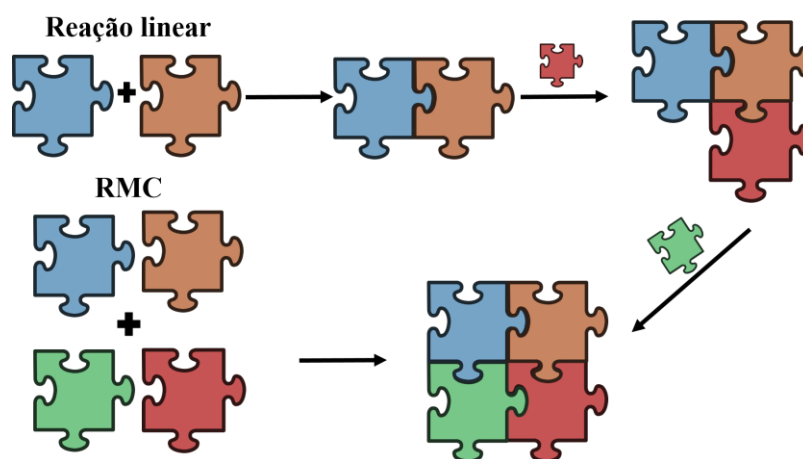


Figura 6: Esquema que compara as reações lineares e reações multicomponentes

A primeira RMC é datada a partir de 1850, a partir da reação de Strecker, posteriormente surgiram outras reações importantes como de Hantzsch (1882), Biginelli (1891), Mannich (1917), Passerini (1921), e Ugi (1959).^{28,30,32}

Estas sínteses permaneceram inexploradas por alguns anos pelas indústrias, a falta de interesse era devido aos poucos estudos de aplicação dos produtos de síntese de RMC's.³⁰ O crescimento desse ramo de pesquisa se deu após a descoberta de que alguns compostos obtidos pelas RMC podiam apresentar aplicações biológicas.³⁰ A exemplo a reação de Strecker, que originalmente reagia acetaldeído, amônia e ácido cianídrico, a hidrólise do produto, gera o aminoácido alanina.^{28,30}

1.5 A Importância da Química Inorgânica para a Química medicinal

Muitos metais se encontram presentes em sistemas vivos, sendo incorporados as funções essenciais tais como o processo de transporte de oxigênio pela hemoglobina. Tal capacidade se dá pela presença do grupo heme, o qual é formado pela coordenação de um átomo de Fe(II)

com quatro anéis pirrólicos.³³ A presença de metais essenciais em organismos vivos, não se limita apenas ao ferro, mas também aos metais zinco (sistema imunológico, coenzimas, etc), cobre (participação em processos enzimáticos), magnésio (contribui para o funcionamento de enzimas essenciais, e também na absorção de cálcio), cálcio (constituente dos ossos), cobalto (vitamina B12), dentre outros.^{33,34}

A química inorgânica medicinal tem avançado suas pesquisas ao longo dos anos, data-se que há cerca de 5000 anos, os egípcios já faziam uso de metais na medicina popular.³⁵ No século XVI, o famoso médico suíço Theophrastus Paracelsus (1493-1541) sugeriu que o uso de medicamentos à base de mercúrio poderia tratar a sífilis.³⁵

Atualmente a química inorgânica medicinal é melhor compreendida, com estudos mais

detalhados sobre a atividade biológica e citotóxica de alguns complexos, tais como os compostos de coordenação a base ouro, no tratamento de artrite e artrose.^{35,36} No entanto, foi a partir da descoberta da atividade antitumoral da *cis*-platina [Pt(NH₃)₂Cl₂] em 1965, por Barnett Rosenberg, que a química inorgânica medicinal ou química bioinorgânica (como tem sido descrita por muitos pesquisadores em seus trabalhos) teve seu progresso mais acentuado.^{34,35}

Desde então tem sido crescente o interesse no estudo de possíveis agentes terapêuticos que contenham metais em sua estrutura.³⁴ Além disso, tem sido focado também o estudo em torno dos mecanismos de ação destes compostos no organismo.^{34,35}

Posteriormente, sabendo que muitos compostos orgânicos apresentam atividade biológica e que podem ser utilizados como ligantes na síntese de compostos de coordenação, muitos pesquisadores têm concentrado suas atividades no desenvolvimento de estratégias de potencializar a ação destes compostos orgânicos por meio da complexação com diversos metais.
33-36

A coordenação destes compostos orgânicos com cátions metálicos pode vir a alterar de modo significativo o perfil da atividade biológica do mesmo. A combinação metal-ligante tende a modificar a lipofilia do composto formado, sendo assim, muitos complexos apresentam maior atividade do que o ligante livre.³³⁻³⁶ Além disso, a coordenação pode auxiliar na redução da resistência celular, uma vez que o mecanismo de resistência é conhecido pelo organismo somente para o ligante livre, existindo assim a possibilidade de não reconhecer o mesmo após ser complexado com o metal³³⁻³⁷.

Contudo, um dos desafios impostos a química inorgânica é o controle da citotoxicidade dos complexos, que tendem a ser maiores do que os ligantes livres, mas vale lembrar que não é um problema exclusivo da química inorgânica, sendo aplicada na química orgânica medicinal também.³⁴

Muitos autores têm preterido trabalhar com metais ditos como essenciais, ou seja, aqueles que apresentam traços no organismo dos seres vivos. Em função disso, alguns trabalhos restringem suas pesquisas a alguns metais alcalinos e alcalino terrosos como sódio e magnésio e aos metais da primeira série de transição.^{34,36} Ou seja, por estarem presentes no organismo humano, acredita-se que isto possam ocasionar um menor efeito de rejeição do organismo em relação aos mesmos.^{34,36,37}

1.6 Química Verde e metodologias alternativas na síntese de compostos orgânicos e inorgânicos

A Química Verde pode ser definida como o desenvolvimento de produtos químicos e seus processos com redução, eliminação, não uso e/ou geração de substâncias perigosas.³⁸ Desde a década de 90, quando o termo começou a ser utilizado, tem sido proposto diversas sínteses e processos químicos que sigam os doze princípios, ou que possam fazer uso a maioria dos Princípios da Química Verde, os quais estão listados abaixo :³⁸⁻⁴⁰

- 1-Prevenir a formação de resíduos;
- 2-Minimizar a massa dos compostos utilizados;
- 3-Projetar sínteses químicas com menores toxicidades;
- 4-Projetar produtos químicos eficientes e menos tóxicos;
- 5-Evitar a utilização de solventes, quando necessário estes devem ser inócuos;
- 6-Aumentar a eficiência energética;
- 7-Utilizar fontes renováveis;
- 8-Evitar a utilização grupos protetores ou qualquer modificação química temporal na realização das sínteses;
- 9-Utilizar catalisadores;
- 10- Os produtos finais devem ser biodegradáveis após serem utilizados;
- 11- Monitorar em tempo real a síntese, para que não forme substâncias tóxicas;
- 12- Minimizar o risco de acidentes

1.6.1 Método Mecanoquímico

De acordo com a IUPAC, a mecanoquímica é definida como o ramo onde as reações são causadas por energia mecânica.^{32,34} Diversas reações podem ser realizadas pelo método mecanoquímico, desde reações orgânicas, como reações de condensação, amidação e polimerização; a síntese de compostos inorgânicos, tais como compostos de coordenação e *MOF (Metal- Organic-Frameworks)*.^{36,41-47}

O processo de moagem mecanoquímica pode envolver a formação de ligações

covalentes como carbono-carbono, ligações coordenadas, ligações não covalentes como ligação de Hidrogênio ou π - π em sistemas conjugados.⁴⁸

O ato de moer os reagentes a fim de se obter um dado produto é antigo, comumente realizado com almofariz e pistilo; entretanto neste caso, a reprodutibilidade da síntese pode ser comprometida.^{32,48} Em contraste com a moagem manual, as sínteses realizadas em moinhos de bolas minimizam os fatores externos que podem interferir nas reações;^{32,48,49} uma vez que a frequência e o tempo utilizados podem variar, interferindo nas propriedades do produto final.³²

As sínteses realizadas por método mecanoquímico apresentam diversas vantagens em relação às realizadas pelo método convencional, dentre elas estão: redução do uso de grandes quantidades de solventes, rendimentos reacionais altos, redução do uso de catalisadores e diminuição de tempo reacional.³² Por estes motivos, diversos autores têm preterido este tipo de método nas sínteses multicomponentes, às sínteses convencionais, sob refluxo.^{32,48}

Alguns autores afirmam que o uso de pequenas quantidades de solvente (alguns microlitros) aos reagentes durante a moagem pode diminuir significativamente o tempo reacional. Neste caso, o solvente atua como um lubrificante, facilitando que as moléculas entrem em contato e reajam entre si.^{32,42-44,49,50}

Ainda que sejam diversas as vantagens das sínteses mecanoquímicas em relação as convencionais, existem algumas limitações tais como purificação e escala laboratorial.^{49,50} Dado que muitas sínteses não ocorrem completamente, posteriormente existe a necessidade do uso de solventes para extração e ou recristalizações com o intuito de aumentar a pureza dos compostos preparados.^{49,50}

Além disso, em virtude de as sínteses realizadas em laboratórios de pesquisas serem de baixa escala, variando suas massas entre miligramas e gramas, ainda é necessário avaliar se muitas das sínteses relatadas na literatura podem vir a ser reproduzidas em escalas maiores, tal como ocorre nas indústrias.⁴⁶⁻⁵⁰

1.6.2 Irradiação de micro-ondas

As micro-ondas estão localizadas entre o infravermelho e ondas de rádio no espectro eletromagnético e apresentam frequência entre 0.3 e 300 GHz, com comprimento de onda variando entre 0,01 e 1 m.⁵¹ Em função da sua capacidade de transformar a energia eletromagnética em energia térmica, a irradiação de micro-ondas está sendo cada vez mais aplicada como metodologia nas sínteses químicas de compostos orgânicos e inorgânicos.^{52,53}

Tal propriedade de converter energia eletromagnética em térmica de algumas substancias, está relacionada com a constante dielétrica do material, a qual irá determinar o quanto de energia será absorvida.^{51,52-54}

As sínteses realizadas por irradiação de micro-ondas apresentam diversas vantagens em relação às realizadas pelo aquecimento convencional, dentre elas estão: aquecimento rápido e homogêneo; alcance da temperatura desejada em tempo menores e aquecimento seletivo.⁵¹

O aquecimento homogêneo é uma das principais diferenças quando comparado com as sínteses em refluxo, pois neste caso, se faz necessário aquecer primeiramente as vidrarias e posteriormente a solução.^{51,55,56} Dessa forma o aquecimento ocorre da superfície do material para o seu interior, por convecção e/ou condução; não havendo um controle exato de temperatura, o que pode desencadear O início de um processo de degradação dos reagentes.^{51,j1-56}

Além disso, por se tratar de um processo com homogeneidade térmica, o tempo reacional tende a ser muito reduzido quando comparado com as sínteses convencionais.⁵¹ Isto se deve ao acoplamento a nível molecular que ocorre ao fazer uso da irradiação de micro-ondas, já que os materiais são aquecidos do núcleo para fora (Figura 7).⁵¹

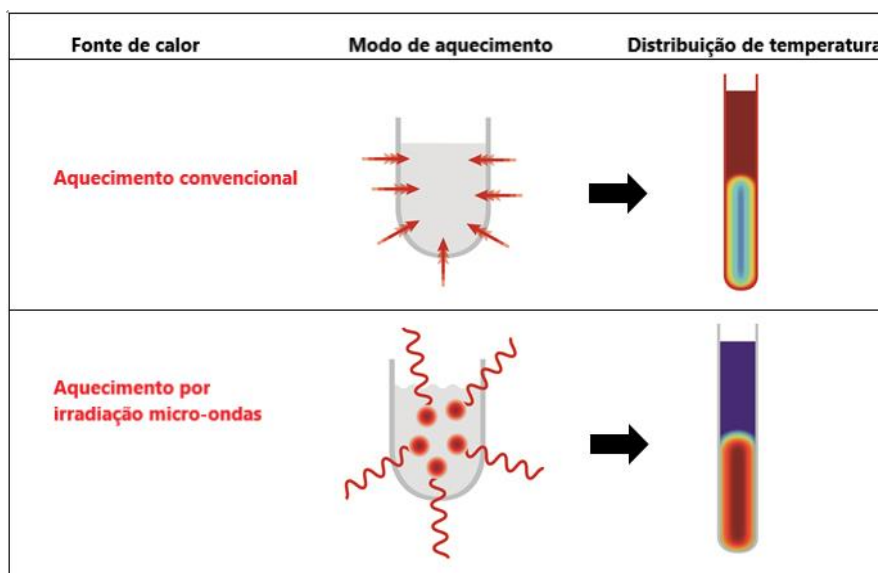


Figura 7: Gradientes de temperatura observados em uma amostra submetida ao aquecimento por irradiação de micro-ondas e pelo método convencional.

Fonte: Adaptado de 57.

Portanto, em função disto, as reações assistidas por irradiação micro-ondas comumente apresentam altos valores de rendimento reacionais, o que facilita o processo de purificação do produto, o que faz com que esta metodologia se adeque aos princípios 1 e 6 da Química Verde.^{39,40}

No entanto, é necessário ressaltar que a principal desvantagem no uso da irradiação de micro-ondas nas sínteses químicas, é a inviabilidade de se trabalhar com qualquer solvente.^{52,53} Devido ao fato de que compostos convertem a irradiação de microondas de modo distinto, em função de sua constante dielétrica, cada qual apresenta diferentes propriedades de absorção de microondas, o que torna este aquecimento seletivo.^{39,40,51}

2. OBJETIVOS

- Sintetizar um novo ligante derivado cumarínico curcumínico a partir de uma reação multicomponente entre a curcumina, 4-hidroxycumarina e 4-carboxibenzaldeído.
- Sintetizar os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II) com o ligante derivado cumarínico curcumínico e determinar a forma como o ligante se coordena aos íons metálicos.
- Estudar a ação antimicrobiana tanto do derivado cumarínico curcumínico, quanto dos compostos de coordenação, a fim de avaliar o potencial antimicrobiano destas estruturas e se a presença dos metais potencializa ou diminui tal ação; sendo realizados através de testes *in vitro* pela técnica de microdiluição em caldo.
- Fazer uso de metodologias verdes na síntese dos compostos orgânicos e inorgânicos sempre que possível

3. PARTE EXPERIMENTAL:

3.1 Materiais e Métodos

A Tabela 1 apresenta os reagentes e solventes utilizados neste trabalho, além da pureza e procedência dos mesmos.

Tabela 1: Reagentes e solventes utilizados nas sínteses, fórmula química, procedência e pureza.

Reagente/Solvente	Fórmula química	Procedência	Pureza
4-carboxibenzaldeído	$C_8H_6O_3$	Sigma Aldrich	97%
4-hidroxycumarina	$C_9H_6O_3$	Sigma Aldrich	98%
Cloreto de cobalto hexa-hidratado	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	Synth	97%
Curcumina	$C_{21}H_{20}O_6$	Sigma Aldrich	65%
Dimetilsulfóxido	$(CH_3)_2SO_2$	LabSynth	PA
Etanol	CH_3CH_2OH	LabSynth	PA
Nitrato de cobre penta-hidratado	$Cu(NO_3) \cdot 5H_2O$	Synth	96%
Sulfato de ferro (II) hepta-hidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	Synth	98%
Nitrato de zinco hexa-hidratado	$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Synth	96%

3.2 Sínteses pelo método mecanoquímico

As sínteses foram realizadas em moinho de bolas da Retsch MM 400, utilizando jarros de aço inoxidável de 10 mL, uma esfera de aço inoxidável de 7 mm e frequência de 30 Hz. Os tempos de moagem foram variados para determinar o melhor tempo reacional para a síntese dos compostos.

3.2.1 Síntese do intermediário reacional

Para a síntese do intermediário de reação (Figura 8) foi utilizado 1 mmol de curcumina, 1 mmol de 4-carboxibenzaldeído e 40 μ L de etanol. Foram variados os tempos de moagem em 30, 60 e 120 minutos, a fim de determinar o melhor tempo reacional, fazendo uso de cromatografia em camada delgada (CCD), ao fim de cada síntese, para melhor avaliar os resultados. O melhor tempo reacional foi de 60 minutos e o composto precisou ser purificado em coluna cromatográfica de sílica, com solução eluente de hexano: acetato de etila, na proporção 6:5. Após a purificação obteve-se um composto de cor alaranjada com rendimento de 45%.

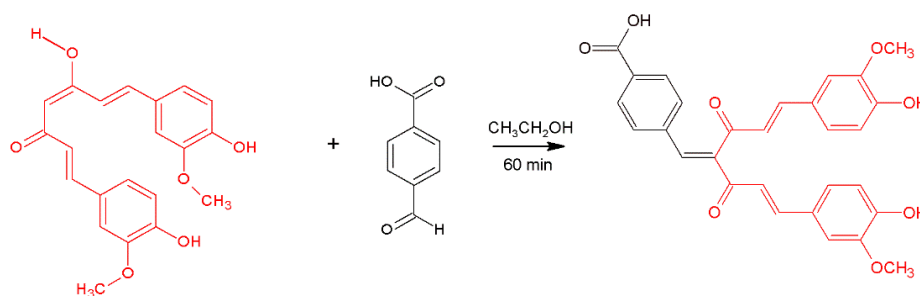


Figura 8: Esquema de síntese do intermediário reacional.

3.2.2. Síntese do ligante derivado cumarínico curcumínico

Para a síntese do ligante derivado de cumarina e curcumina (Figura 9) foram reagidos 1 mmol de curcumina, 1 mmol de 4-carboxibenzaldeído, 1 mmol de 4-hidroxicumarina na presença de 40 μ L de etanol. Os tempos de moagem avaliados foram 30, 60 e 120 minutos de duração para cada síntese. O melhor tempo reacional foi de 60 minutos, pois houve a formação do produto sem a presença dos reagente e subprodutos, como indicado pela CCD. O composto de coloração amarela apresentou rendimento reacional de 92% visto que parte do produto não pode ser recuperado do jarro.

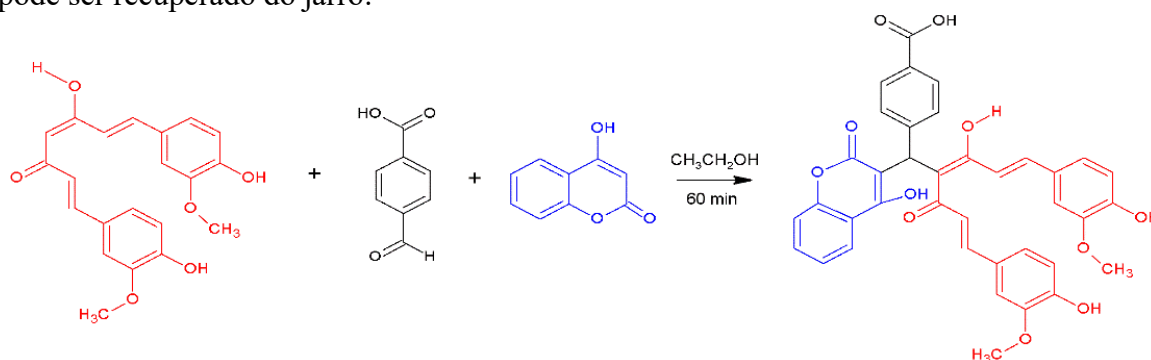


Figura 9: Esquema de síntese do ligante.

3.3 Sínteses dos compostos de coordenação

A princípio foram realizadas tentativas de sintetizar todos os complexos reagindo as soluções do ligante sódico com a dos sais dos metais de transição em meio aquoso, controlando o pH em phmetro. Entretanto, somente foi possível obter o complexo de cobre e ferro por esta metodologia de síntese, para os outros casos a cinética reacional era muito lenta, ou não houve reação. Portanto foi necessário utilizar outras rotas de síntese, levando em consideração os Princípios da Química Verde, os complexos de Cobalto e Zinco foram sintetizados via irradiação de micro-ondas.

3.3.1 Síntese do ligante sódico em meio aquoso

Em um béquer sob agitação magnética constante foi adicionado uma solução aquosa de hidróxido de sódio (10 mL) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a 20 mL uma suspensão aquosa do ligante (0,5100 g). Uma vez que o ligante é pouco solúvel em água, após a adição total de NaOH, foi necessário filtrar a suspensão a fim de eliminar parte do ligante que não tenha reagido. Posteriormente a solução após ser filtrada foi evaporada em rota-evaporador para obter o precipitado sólido de cor amarela.

3.3.2 Síntese do ligante sódico em meio etanólico

Para a síntese do ligante sódico (0,2 mmol), foram adicionados em um béquer 10 mL de etanol para solubilizar 0,1325 g de amostra do ligante. Posteriormente o composto foi desprotonado com solução aquosa de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (3,02 mL), a mistura seguiu sob agitação magnética durante o processo de síntese, e foi obtido uma solução de cor laranja.

3.3.3 Síntese do Complexo de Ferro

Para a realização da síntese do complexo, primeiramente manteve-se a solução etanólica de ligante sódico (0,2 mmol) em atmosfera de N_2 por 30 minutos. Após isto, adicionou-se a solução etanólica de ligante sódico à solução aquosa (5 mL) de sulfato de ferro (II) (0,3 mmol). A reação procedeu em sistema fechado, purgando N_2 , para evitar a oxidação de Fe(II) a Fe(III). O pH final da reação foi de 6,5 e foi observada a formação de um precipitado marrom, que foi lavado com água destilada e etanol para eliminar os íons sulfato e ligante que não tenha reagido completamente (teste qualitativo com solução de BaCl_2 para íons sulfato). A reação apresentou rendimento de 56,85%.

3.3.4 Síntese do Complexo de Cobalto

Adicionou-se a solução etanólica (0,2 mmol) de ligante sódico à solução etanólica de cloreto de cobalto (0,1 mmol, 5 mL), e reagiu-se por 60 segundos em micro-ondas convencional ($\text{pH}_{\text{final}} = 6,1$). A solução apresentou variação de cor (de alaranjada para avermelhada), a partir de 30 segundos, tal variação se estendeu até 60 segundos. O solvente foi evaporado no rota-evaporador e foi obtido um precipitado vermelho, que foi lavado com água destilada e etanol, até a eliminação dos íons cloreto e ligante que não tenha reagido completamente (teste qualitativo com solução de $\text{AgNO}_3/\text{HNO}_3$ para íons cloreto). A reação apresentou rendimento de 56,85%.

3.3.5 Síntese do Complexo de Cobre

O complexo foi preparado adicionando lentamente solução aquosa (0,2 mmol) de ligante sódico (preparado conforme indicado na seção 3.3.) à solução aquosa de nitrato de cobre

(0,3 mmol, 5 mL), posteriormente ocorreu a precipitação do complexo. O pH final da reação foi de 5,7, precipitado verde foi lavado com água destilada até a eliminação dos íons nitrato (teste qualitativo com solução de difenilamina). A reação apresentou rendimento de 71,89%.

3.3.6 Síntese do complexo de Zinco

De modo análogo a síntese do complexo de cobalto a solução de etanólica de nitrato de zinco (0,3 mmol, 5 mL) a solução etanólica de ligante sódico (0,2 mmol) e reagiu-se por 60 segundos em micro-ondas convencional, ($\text{pH}_{\text{final}} = 5,8$). O solvente foi evaporado em rota-evaporador, e o precipitado laranja foi lavado com água destilada e etanol até a eliminação dos íons cloreto e ligante que não tenha reagido (teste qualitativo com solução de difenilamina para íons nitrato). A reação apresentou rendimento de 70,41%.

3.4 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos por meio do espectrômetro da Bruker, modelo Q-TOF Maxis Impact. A análise foi realizada por infusão direta fazendo uso de metanol padrão como solvente. A análise foi realizada no modo negativo de ionização (4,5 kV) por *electrospray*, usando aditivo de solução de hidróxido de amônio 0,1%.

3.5 Ressonância Magnética Nuclear DEPTQ e ^1H (DEPTQ e RMN ^1H)

Os espectros de RMN DEPTQ e ^1H e os bidimensionais HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) 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. As amostras foram solubilizadas em acetona deuterada e os respectivos picos dos solventes e de TMS foram utilizados como referência interna.

3.6 Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho dos compostos foram obtidos no espectrômetro da Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10, por meio da técnica de refletância total atenuada com cristal de germânio, no intervalo de $4000\text{--}675\text{ cm}^{-1}$, resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro.

3.7 Termogravimetria- Análise Térmica Diferencial (TG-DTA)

As curvas TG-DTA foram obtidas no equipamento Netzsch modelo STA 449 F3, utilizando-se a massa de amostras próximas a 5 mg e razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de ar com vazão de 50 ml min^{-1} e intervalo de temperatura de 30 a $800\text{ }^{\circ}\text{C}$. Quando necessário, foi utilizada atmosfera de N_2 , sob mesma vazão.

3.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC e imagens foram obtidos pelo equipamento Mettler-Toledo modelo DSC

1 Star^e System com câmera digital SC 30 acoplada, que incorpora um sensor CMOS de 3,3 megapixel, sub-conjunto óptico 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 com vazão de 50 ml min⁻¹, cadinho de alumínio de 40 µL, com tampa prensada e perfurada (para os compostos que não foram filmados) e cadinho de α -alumina aberto, 30 µL (para os sistemas que foram filmados) e intervalos de aquecimento de acordo com a estabilidade térmica de cada composto.

3.9 Termomicroscopia de luz plano polarizada (PLTM)

As imagens foram obtidas pelo Microscópio Óptico Olympus BX51, com Câmera Olympus SC30 acoplada ao Hot Stage Mettler Toledo HS82. As análises foram realizadas em uma razão de aquecimento de 4 °C min⁻¹ nos intervalos de temperatura com maior interesse nos eventos observados nas curvas DSC.

3.10 Difractometria de Raios X do pó (DRXP)

Os difratogramas de raios X do pó foram obtidos no Difrátômetro Rigaku modelo MiniFlex 600 utilizando-se tubo de cobre, submetido a 20 kV, corrente de 20 mA, Cu κ_α , $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$, no intervalo compreendido entre 10-80 °, com passo de 10° por minuto.

3.11 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos dos compostos dissolvidos em DMSO (10⁻⁵ M) foram obtidos no equipamento Cary 2848 (Agilent Technologies) na região entre 200-800 nm em cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

3.12 Determinação da atividade biológica da cumarina, curcumina, do ligante (L), ligante sódico (NaL) e dos complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II) *in vitro*

A atividade biológica da cumarina, da curcumina, do ligante, do ligante sódico, bem como dos compostos de coordenação foram determinadas pela técnica de Microdiluição em caldo, padrão-ouro para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de compostos com atividade antimicrobiana, de acordo com a metodologia descrita segundo orientações do Manual M100S do *Clinical and Laboratory Standards Institute* para as bactérias aeróbicas, com modificações.⁵⁸

- **Preparo do inóculo bacteriano**

Para realizar os ensaios foram utilizadas as cepas-padrão *Escherichia coli* ATCC® 25922TM e *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923TM. Os inóculos bacterianos foram preparados a partir da turvação de salina fisiológica estéril até 0,5 na escala de McFarland, equivalente à 1.10⁸ UFC mL⁻¹, determinada em equipamento *DensiCHEK Plus*® (BioMérieux). Na

sequência, estas soluções foram diluídas até a obtenção da concentração de 1.10^5 UFC mL⁻¹, ideal para a realização do ensaio.

- **Preparo dos compostos**

Todos os compostos citados anteriormente foram diluídos em caldo Müller-Hinton (MH), meio de cultivo rico em nutrientes que favorece o crescimento de espécimes bacterianos, na concentração de 2 mg mL⁻¹ com 10% do solvente DMSO (solução-estoque). Posteriormente, 9 tubos de ensaio contendo 500 µL de MH foram utilizados para a realização das diluições seriadas, de modo que, ao final delas, cada tubo continha 500 µL de solução do composto, em diferentes concentrações, partindo da solução-estoque inicial.

- **Microplaca de poliestireno de 96 poços**

A determinação da atividade biológica teve seguimento na microplaca de poliestireno de 96 poços. Na primeira coluna da microplaca foi realizado o controle de esterilidade (controle negativo), sendo adicionado a cada poço desta coluna apenas 50 µL de MH a 10% de DMSO. Já a segunda coluna foi utilizada na realização do controle de crescimento (controle positivo), onde 50 µL da mesma solução foi pipetada, junto de 50 µL de inóculo bacteriano na concentração de 1.10^5 UFC mL⁻¹. Estas duas colunas, uma vez que atuam como controle de qualidade da técnica de Microdiluição em caldo, são de suma importância na validação do ensaio.

Na sequência, nos poços das colunas 3 a 12, foram pipetados 50 µL das diferentes concentrações dos compostos, sendo a concentração dos poços da coluna 3 a menor obtida na etapa de diluição seriada, enquanto que nos poços da coluna 12 havia a maior concentração. A cada um dos poços foi adicionado 50 µL de inóculo bacteriano contendo 1.10^5 UFC mL⁻¹, desta forma diluindo as concentrações pipetadas em 50%.

Em cada microplaca foi testado um dos compostos supracitados frente as duas cepas-padrão utilizadas, em duplicata. Como cada ensaio foi realizado duas vezes, cada composto foi testado em tetraplicata contra cada uma das cepas-padrão empregadas.

- **Determinação da CIM**

Após as diversas etapas acima descritas, todas realizadas em cabine de segurança biológica, a placa foi homogeneizada por 4 minutos em agitador orbital e, subsequentemente, incubada em estufa de crescimento microbiológico à 36 ± 1 °C por 16-20 horas. Após este período, 20 µL do composto incolor cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) foi acrescentado a cada poço da microplaca, que foi reencubada por 20 minutos, sob as mesmas condições acima

descritas. A CIM, foi determinada visualmente como o primeiro poço que se apresentava incolor após incubação com TTC.

O TTC é um indicador de oxirredução utilizado para diferenciar organismos metabolicamente ativos daqueles não ativos. O mecanismo baseia-se na redução enzimática do 2,3,5-trifeniltetrazólio (incolor) em 1,3,5-trifenilformazan (cor avermelhada) em tecidos vivos devido à atividade de várias enzimas desidrogenases, enzimas importantes na oxidação de compostos orgânicos e, portanto, no metabolismo celular.⁵⁹

- **Curcumina e ligante derivado cumarínico curcumínico**

A curcumina e o ligante se mostraram insolúveis na presença da solução aquosa do caldo de crescimento MH. Para solucionar este impasse, foi preparada uma solução a 0,1% de carboximetilcelulose (CMC) partindo da solução-estoque. A CMC é um polímero aniônico derivado da celulose, muito solúvel em água, o qual foi empregado com o objetivo de deixar os compostos em questão em solução, evitando a sua precipitação. A partir desta solução, as diluições foram realizadas de acordo com a técnica descrita acima.

- **Complexos de Fe(II), Co(II) e Zn(II)**

Após a etapa de incubação em estufa por 16-20 horas, observou-se que os complexos de ferro, cobalto e zinco haviam precipitado um pouco naqueles poços da microplaca de poliestireno em que sua concentração era maior, dificultando a interpretação da CIM. Dessa forma, com o objetivo de minimizar essa interferência, as soluções dos poços em que houve precipitação de parte dos compostos foram cuidadosamente transferidas para outra microplaca de poliestireno, estéril, e só então o composto TTC foi adicionado para interpretação da CIM. É interessante ressaltar que para o complexo de Fe(II) houve uma variação na coloração do composto inicial para o precipitado, de marrom para preto, indicando que esta precipitação seja referente a oxidação dos íons $\text{Fe(II)} \rightarrow \text{Fe(III)}$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização dos precursores de síntese do ligante

A seção 4.1 aborda a caracterização espectroscópica por IV e termoanalítica por meio das técnicas TG/DTG-DTA dos precursores de síntese do ligante e do intermediário reacional, os quais serão melhor discutidos ao longo do trabalho. Não foram abordadas as caracterizações dos sais dos metais utilizados nas sínteses dos compostos de coordenação, pois já existe um vasto estudo acerca destes compostos na literatura, e a discussão dos precursores de síntese orgânica colaboram mais para as interpretações dos resultados obtidos no presente trabalho.

4.1.1 Espectroscopia vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros de IV da 4-hidroxycumarina, curcumina e do 4-carboxibenzaldeído são apresentados na Figura 10.

No espectro de IV do composto 4-hidroxycumarina (Figura 10.a) a banda em 1685 cm^{-1} é referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$, a presença do sistema conjugado induz a absorção para regiões mais baixas.⁶⁰⁻⁶² A baixa frequência de absorção em relação aos valores padrão são devidos a conjugação com o anel aromático. As bandas de média intensidade em 1609 e 1564 cm^{-1} são atribuídas a absorção de estiramento $\text{C}=\text{C}$ do anel. Já as bandas finas com absorção de média intensidade em 1303 e 1276 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de deformação $\text{C}-\text{O}$.^{60,61}

Analisando o espectro de IV da curcumina (Figura 10.b) é observado uma banda em 3511 cm^{-1} referente ao estiramento $\text{O}-\text{H}$ das hidroxilas ligadas aos anéis aromáticos do composto. Posteriormente é observado um duplete de picos em 1628 e 1603 cm^{-1} referente aos estiramentos simétrico e assimétrico $\text{C}=\text{O}$ da carbonila na forma enólica.⁶⁰ Entretanto, alguns autores sugerem também que a banda em 1603 cm^{-1} seja referente a absorção $\text{C}=\text{C}$ com a absorção da carbonila.⁶⁰⁻⁶³

Os baixos valores de absorção das bandas de carbonila, são resultantes da conjugação dos alcenos laterais as carbonilas com os anéis aromáticos. A presença de uma banda larga de baixa intensidade em 3371 cm^{-1} é referente ao estiramento $\text{O}-\text{H}$ da forma enólica, confirmando que a molécula não se encontra na forma dicetônica. As bandas em 1509 e 1429 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos $\text{C}=\text{C}$, e a baixa frequência de absorção também é relativa à presença do sistema conjugado da molécula. Já a banda em 1282 cm^{-1} é referente ao deformação $\text{C}-\text{O}$. As absorções referentes à deformação fora do plano, das ligações $\text{C}-\text{H}$ presentes no anel aromático se encontram presentes na região entre $900-690\text{ cm}^{-1}$.

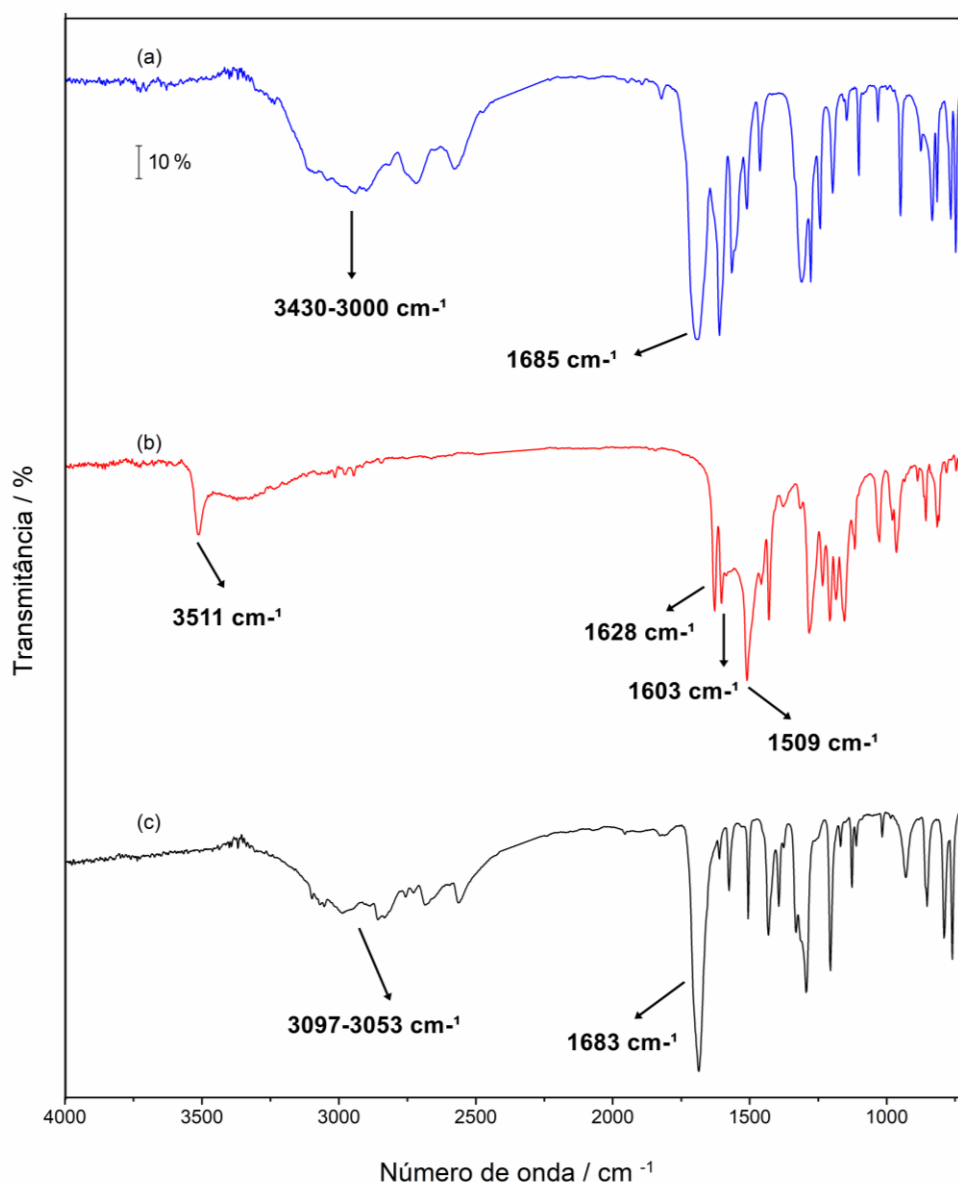


Figura 10: Espectro de IV dos precursores de síntese (a) 4-hidroxycumarina, (b) curcumina, (c) 4-carboxibenzaldeído

O espectro de IV do 4-carboxibenzaldeído (Figura 10.c) apresenta as bandas em 3053, 2833 e 2756 cm^{-1} , que são atribuídas as absorções de estiramento O–H do grupo carboxílico (–COOH) e C–H (–CHO) do aldeído, respectivamente. A banda em 1683 cm^{-1} é referente ao estiramento C=O das carbonilas presentes na molécula, o alargamento na banda é devido ao fato de que são duas carbonilas em ambientes químicos muito semelhantes. As bandas em 1575 e 1505 cm^{-1} são atribuídas as absorções de estiramento do anel. As bandas em 851, 788, 687 cm^{-1} são atribuídas as absorções de deformação angular de C=C do anel aromático. A Tabela 2 resume as principais absorções descritas no texto, para cada composto.

Tabela 2: Principais bandas de absorção no infravermelho dos precursores de síntese orgânica

Atribuições	4-hidroxicumarina (cm ⁻¹)	Curcumina (cm ⁻¹)	4-carboxibenzaldeído (cm ⁻¹)
-OH (ν)	3430-3000 <i>m</i>	3511, 3371 <i>m</i>	3097-3053 <i>m</i>
-CH sp ³ / =C-H sp ² (ν)	3187 <i>m</i>	3014 <i>m</i>	2986 <i>w</i>
C-H(-CHO) (ν)	-	-	2833, 2756 <i>w</i>
C=O (ν)	1685 <i>s</i>	1628, 1603 <i>m</i>	1683 <i>s</i>
-C=C _(ar) (ν)	1609 <i>s</i> , 1564 <i>m</i>	1509 <i>s</i> , 1429 <i>m</i>	1575, 1505 <i>m</i>
C-O (δ)	1303, 1276 <i>m</i>	1282 <i>m</i>	1206 <i>m</i>
-C=C (δ)	874, 832, 815, 746 <i>m</i>	851, 788, 687 <i>m</i>	851, 788, 687 <i>m</i>

ν = estiramento vibracional; δ = deformação; absorções de *s* = forte, *m* = média e *w* = fraca intensidade

4.1.2 Estudo termoanalítico (TG/DTG-DTA e DSC)

4-hidroxicumarina.

As curvas TG/DTG-DTA da 4-hidroxicumarina estão dispostas na Figura 11. Analisando as curvas TG/DTG pode ser observado uma etapa de perda de massa entre 43,2-89,6 °C (Δm = 3,20%), associada ao evento endotérmico como pico em 73,2 °C na curva DTA, relativa á perda de solvente de cristalização presente no composto. Posteriormente é observado um segundo evento endotérmico em 216,1 °C na curva DTA, associado a fusão da 4-hidroxicumarina.

Segundo as curvas TG/DTG, o composto degrada em pelo menos três etapas de perda de massa sobrepostas. A primeira etapa ocorre entre 195,2-302,6 °C (Δm = 40,18%), seguido de uma segunda etapa sobreposta que ocorre entre 302,6- 384,5 °C (Δm = 20,02%), estão associados a discreta exoterma presente na curva DTA entre 280,1-360,4 °C.

De acordo com testes realizados em teste de bancada, em um equipamento de ponto de fusão, observou-se que antes da fusão, no intervalo compreendido entre de 125-194 °C parte da amostra sublima e condensa na parede do tubo, e, de modo simultâneo ocorre fusão do composto não sublimado no fundo do béquer. Após este intervalo de temperatura inicia-se um processo de degradação do composto condensado e da fase que fundiu.

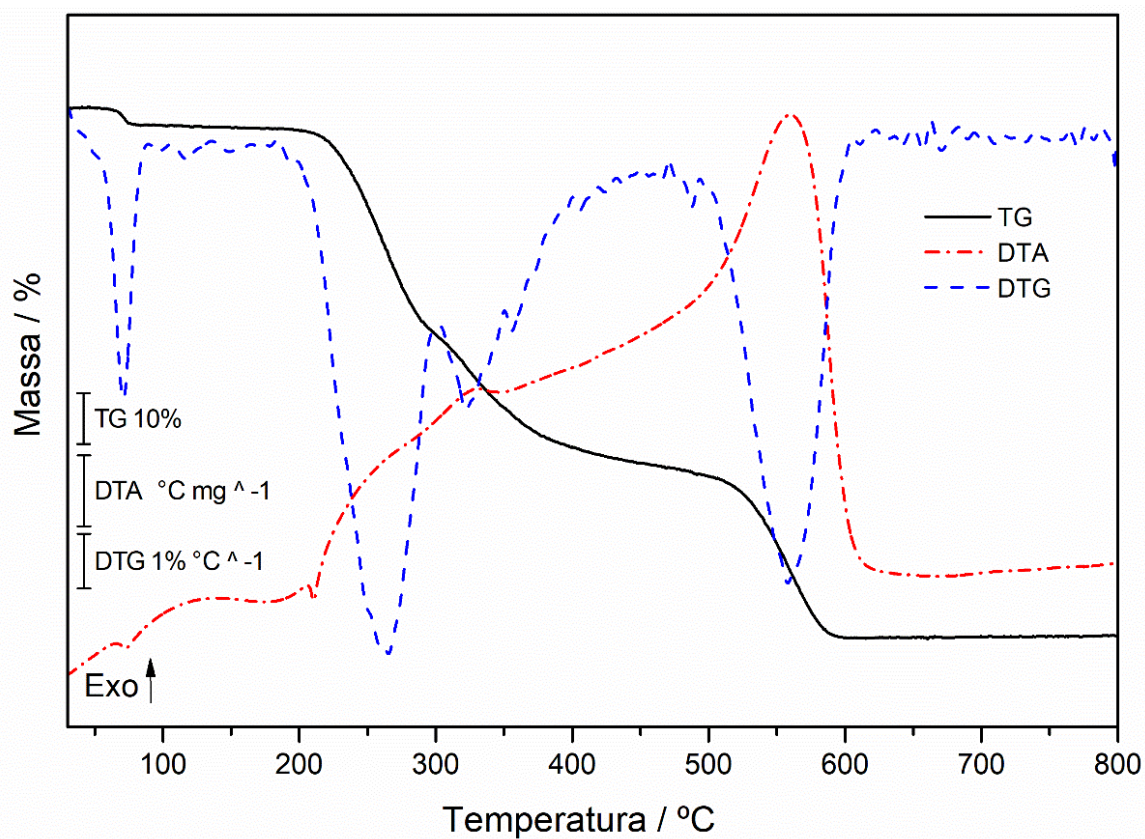


Figura 11: Curvas TG/DTG-DTA da 4-hidroxycumarina.

A terceira e última etapa de perda de massa entre 384,5-636,5 °C ($\Delta m = 36,42\%$), correspondendo ao pico exotérmico em 559,8 °C na curva DTA, é atribuído a oxidação do material carbonizado formado nas etapas anteriores.

A curva DSC da 4-hidróxicumarina está disposta na Figura 12. O composto foi submetido ao aquecimento no intervalo de temperatura compreendido entre 25-223 °C. Uma vez que este composto degrada após sua fusão, descartou-se a possibilidade de analisar seu comportamento sob ciclos de resfriamento e aquecimento consecutivos.

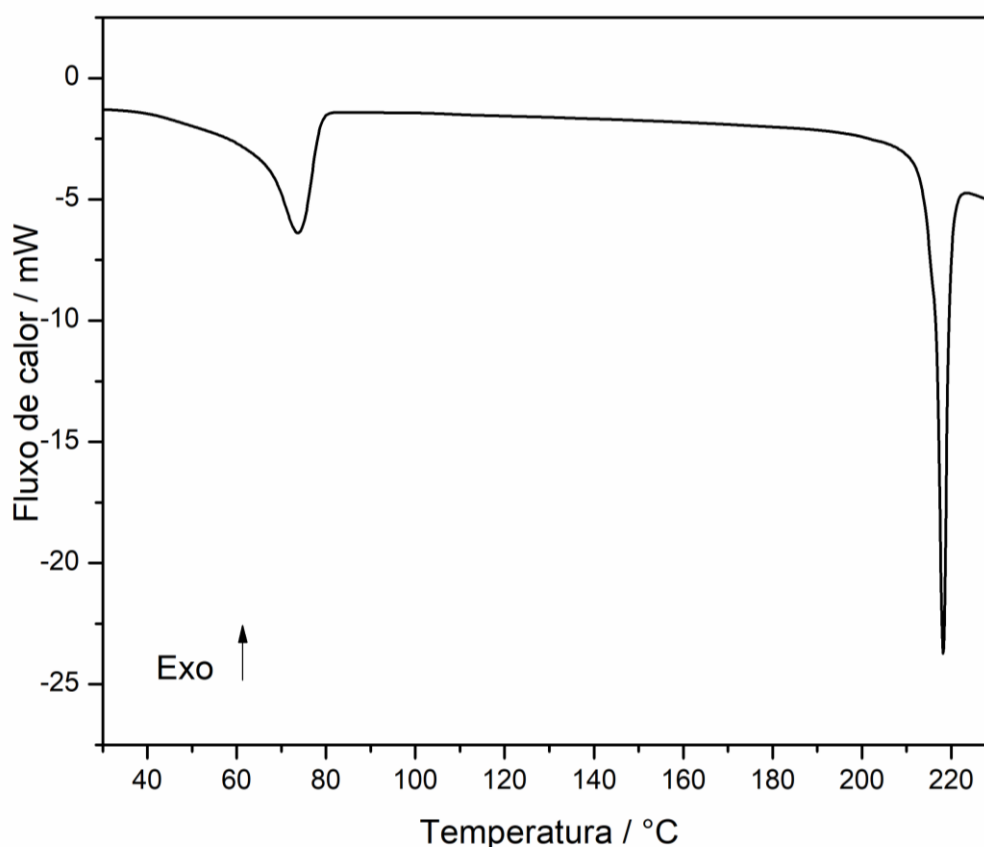


Figura 12: Curva DSC da 4-hidroxicumarina.

Ao analisar a curva DSC da 4-hidroxicumarina podem ser observados dois eventos endotérmicos com picos em 76,4 °C ($\Delta H = 120,28 \text{ J g}^{-1}$) e 217,7°C($\Delta H = 194,12 \text{ J g}^{-1}$), sendo associados á perda de solvente de cristalização e fusão do composto, respectivamente.

A fim de confirmar que se tratava de uma perda de solvente de cristalização, o composto foi aquecido até 77 °C e foi analisado por difratometria de raios X do pó, como pode ser observado na Figura 13. O difratograma da amostra aquecida existe um halo de difração e a ausência de picos presentes no difratograma da 4-hidroxicumarina comercializada (sem aquecer), o que sugere que o solvente é de cristalização e confirma portanto que o primeiro evento na curva DSC se trata de uma perda de solvente de cristalização.

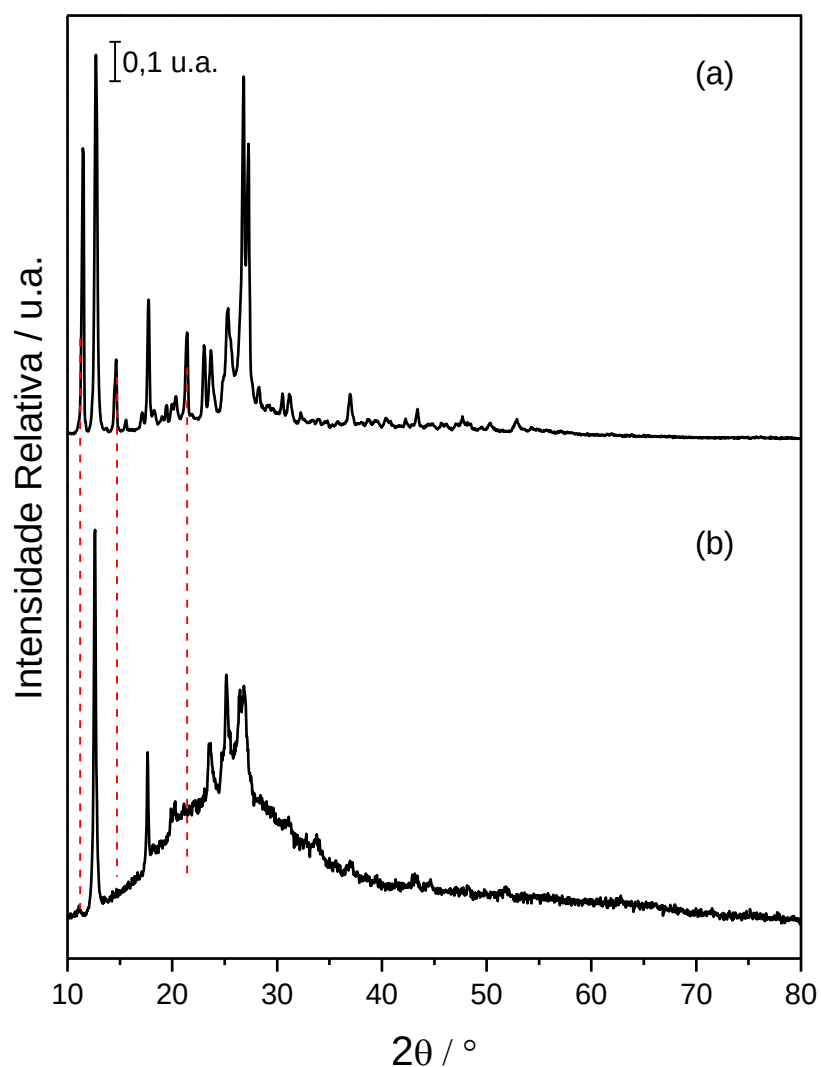


Figura 13: Difratomogramas da 4-hidroxycumarina sem aquecer (a) e aquecida até 77 °C (b).

As imagens de foto DSC (Figura 14) mostram que próximo a temperatura do primeiro evento (76,4 °C), a camera fica um pouco embaçada, provavelmente pela perda de solvente presente no composto; posteriormente o composto funde, aos 220 °C é possível observar a fusão completa da 4-hidroxycumarina. A sublimação por ser apenas superficial não pode ser observada na filmagem.

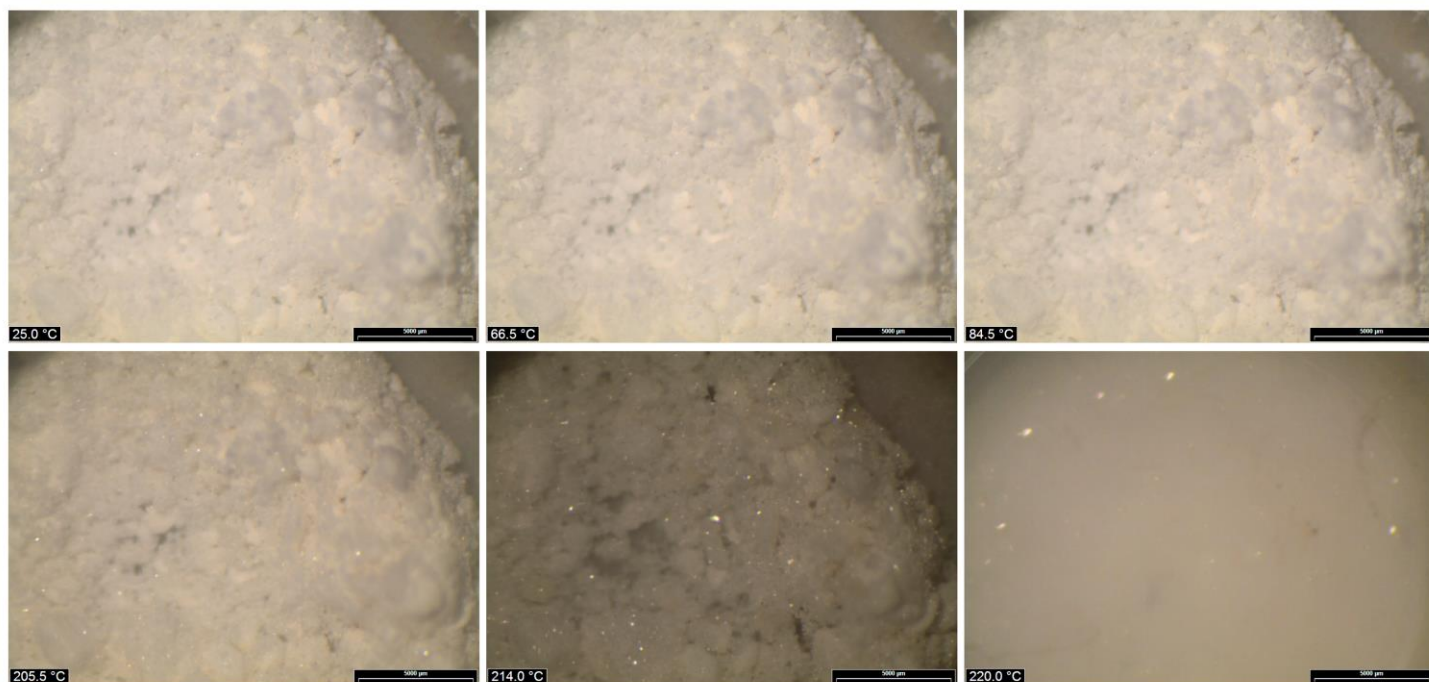


Figura 14: Imagens foto DSC da 4-hidroxycumarina

Curcumina.

As curvas TG/DTG-DTA da curcumina estão apresentadas na Figura 15. Nota-se que o composto é termicamente estável até 202,9°C e, segundo a DTG, decompõe-se em pelo menos três etapas de perdas de massa sobrepostas. O pico endotérmico em 171,1 °C na curva DTA, sem perda de massa na curva TG, é atribuído à fusão. A primeira e segunda etapa de decomposição ocorrem no intervalo entre 202,9-382,9 °C ($\Delta m=31,80\%$), associadas ao início de exoterma entre 236,6-321,4 °C na curva DTA. Enquanto a terceira etapa de perda de massa ocorre entre 382,9-682,0 ($\Delta m=68,20\%$), associada a exoterma entre 364,8 -586,2 °C.

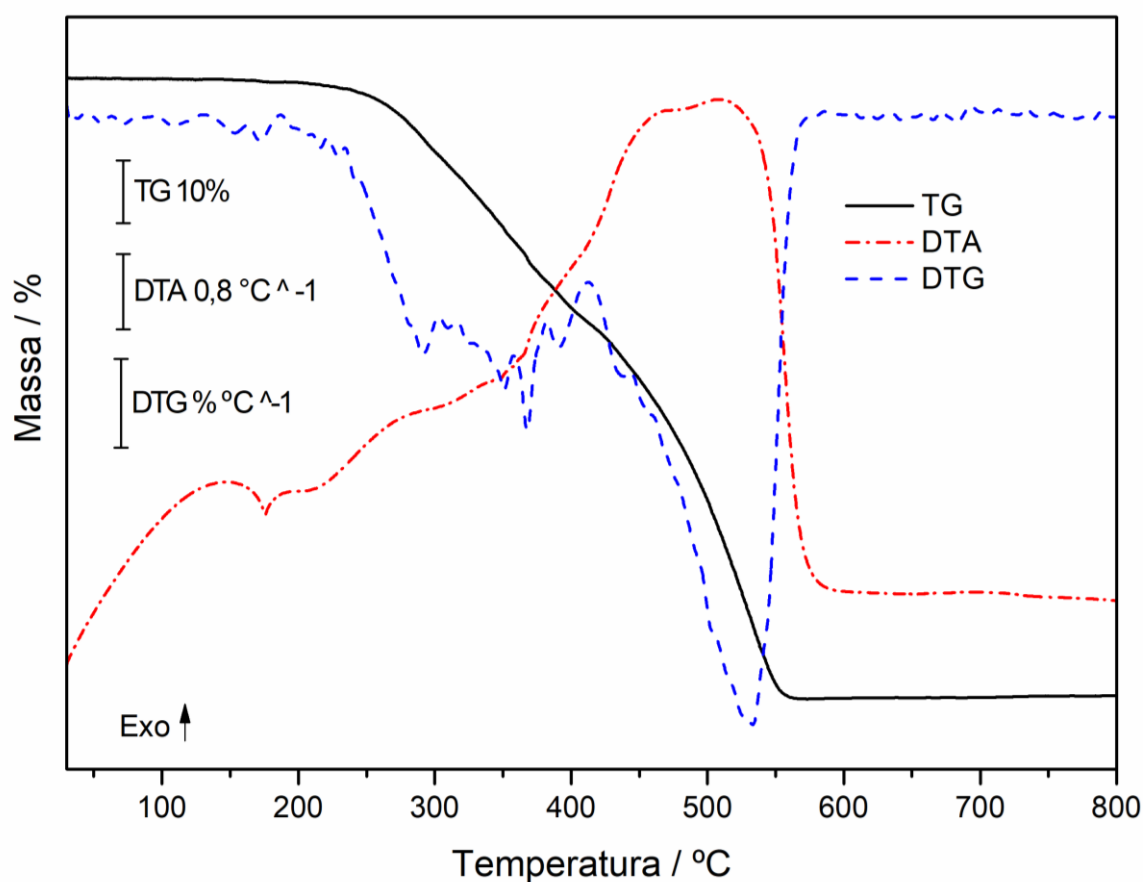


Figura 15: Curvas TG/DTG-DTA da Curcumina.

As curvas DSC cíclica da curcumina estão apresentadas na Figura 16. Como pode ser observado, no primeiro aquecimento é visto apenas um evento endotérmico em 182,1 °C, associado à fusão do composto. Durante o primeiro resfriamento não é observado evento térmico associado a cristalização do composto, apenas uma mudança de linha de base em 111,91°C com ponto de inflexão em 92,3°C referente a uma transição vítrea. Nos ciclos de aquecimento e resfriamento posteriores são observados consecutivos eventos de transições vítreas em 29,9°C (2º aquecimento); 121,7 °C (2º resfriamento); 95 ,2 °C (3º aquecimento) e 81,7 °C (3ºresfriamento).

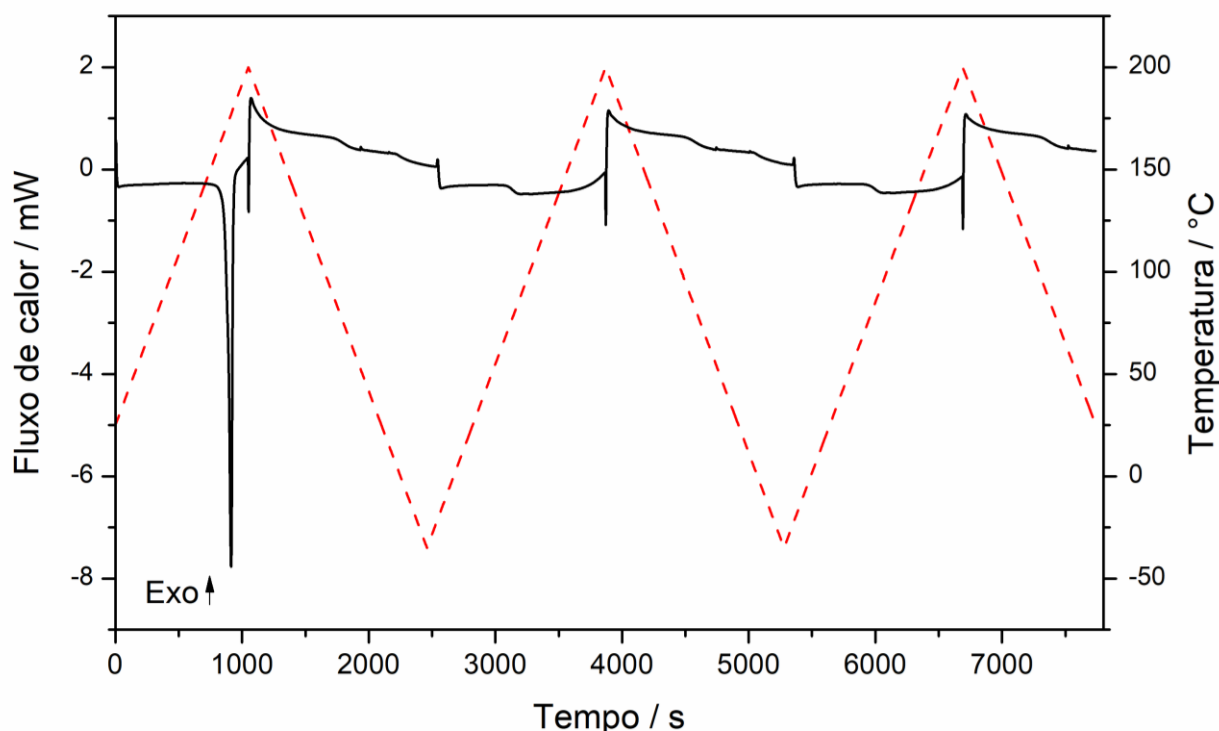


Figura 16: Curva DSC cíclica da Curcumina no intervalo compreendido entre 25-200 °C, razão de aquecimento/ resfriamento de 10 °C min⁻¹ e atmosfera de ar seco.

4-Carboxibenzaldeído (4-CBA).

De acordo com as curvas TG/DTG-DTA do 4-carboxibenzaldeído obtidas em atmosfera de ar (Figura 17.a) pode ser observado que o composto apresenta estabilidade térmica até 167,1 °C, após isto ele sofre degradação térmica em três etapas de perda de massa sobrepostas.

A primeira etapa de perda de massa ocorre no intervalo entre 167,1-215,3 °C ($\Delta m = 6,16\%$) atribuído a sublimação parcial da amostra. A segunda e terceira etapas de perda de massa ocorrem entre 215,3-354,0 °C ($\Delta m = 83,77\%$), e 354,0-530,5 °C ($\Delta m = 10,07\%$), com picos exotérmicos na curva DTA em 219,1 °C e 314,6 °C referentes a oxidação da matéria orgânica.

Em atmosfera de N₂ (Figura 17.b) a curva TG mostra perda de massa em duas etapas. A primeira etapa de perda de massa entre 169,7-278,9 °C ($\Delta m = 95,61\%$), correspondendo ao pico endotérmico em 247,2 °C na curva DTA, é referente à sublimação da amostra. Esses resultados estão em desacordo ao reportado, que afirma que este pico é referente à fusão do composto.⁶⁴ A segunda etapa de perda de massa entre 278,9-317,6 °C ($\Delta m = 3,08\%$), corresponde a degradação térmica do 4-carboxibenzaldeído remanescente no cadinho.

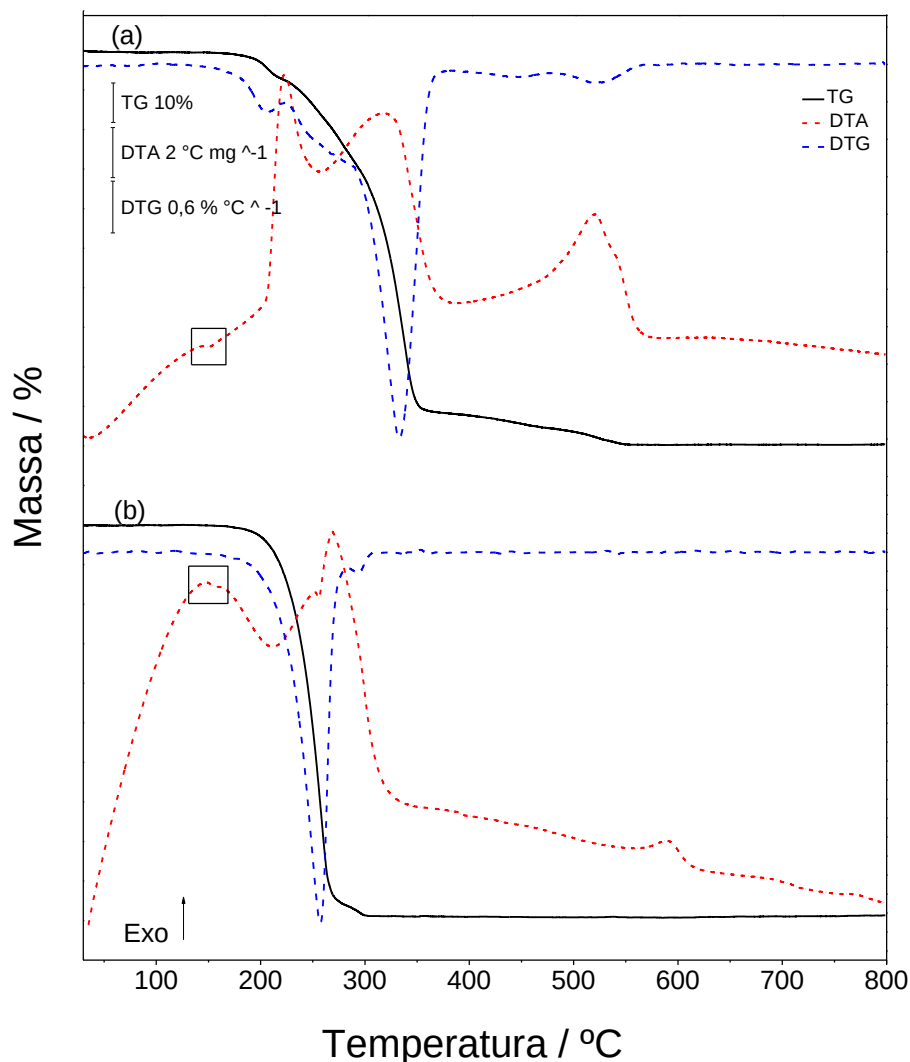


Figura 17: Curvas TG/DTG-DTA do 4-carboxibenzaldeído em (a) atmosfera de ar seco, (b) atmosfera de N₂.

A curva DTA mostra um evento endotérmico em 147,9 °C em ambas as curvas, sem perda de massa na curva TG, referente á uma transição de fase cristalina, que segundo os autores Haisa e Kashino, se trata de uma transição de fase.⁶⁵

Como observado na curva DSC (Figura 18) o evento endotérmico em 150,8 °C ($\Delta H = 19.53 \text{ J g}^{-1}$) é referente a uma transição de fase, Haisa e Kashino mostraram, por Difractometria de raios X de monocristal, que se trata de uma transição da fase monoclínica para triclínica.⁶⁵

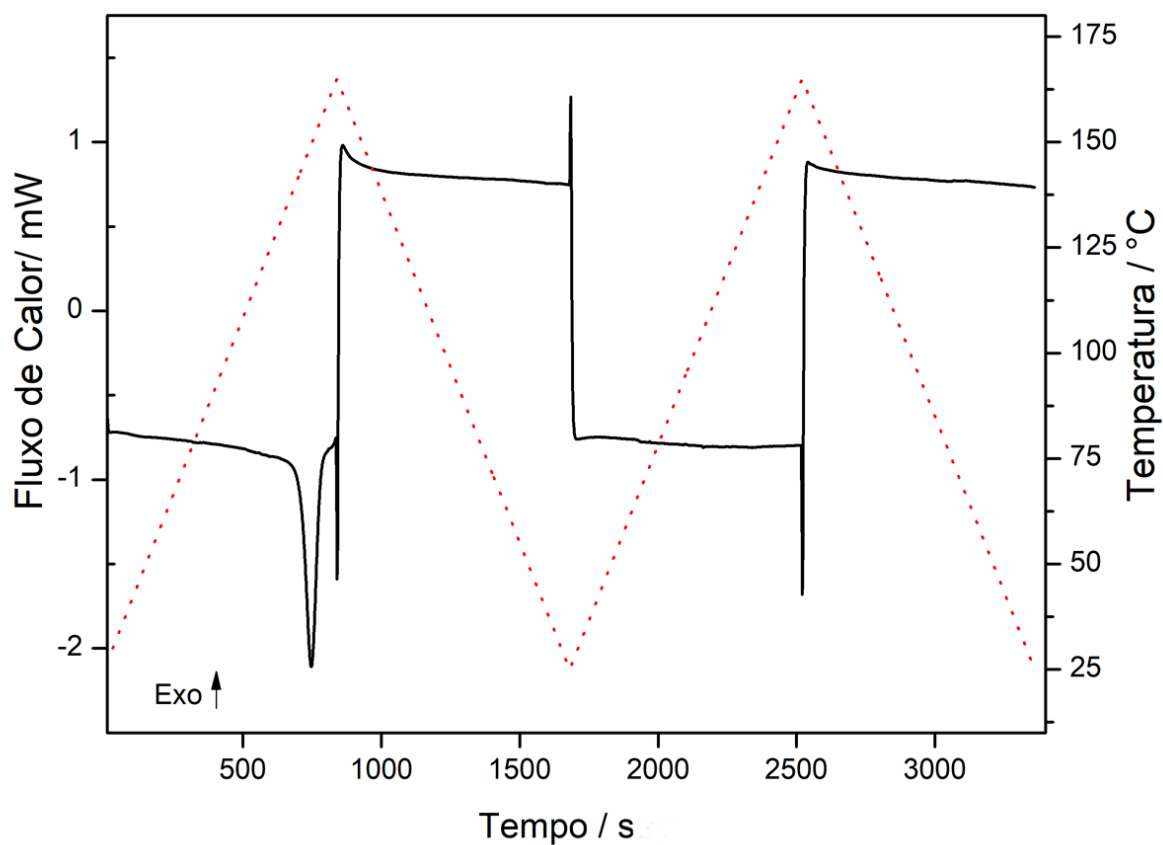


Figura 18: Curva DSC cíclica do 4-carboxibenzaldeído realizada no intervalo de temperatura entre 25-165 °C, a razão de aquecimento/ resfriamento de 10 °C min⁻¹ e atmosfera de ar seco.

A Tabela A1 (apêndice) apresenta todos os dados termoanalíticos obtidos a partir das curvas TG/TDG-DTA dos precursores 4-hidroxycumarina, curcumina e 4-carboxibenzaldeído. Nele estão apresentados os intervalos de temperatura (θ °C), perdas de massa (Δm) e temperatura do pico (T_p) observados em cada etapa nas curvas TG/DTG-DTA destes compostos.

4.2 Caracterização do Ligante

4.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e DEPTQ

O espectro de RMN ^1H se do ligante se encontra disposto na Figura 19. O espectro mostra o sinal singlete em 10,17 ppm correspondente ao hidrogênio H25a presente no ácido carboxílico. O sinal dubleto em 8,25-8,23 ppm integrando para dois hidrogênios corresponde aos hidrogênios H23/H23' ($J=8,07$ Hz). Em 8,19 ppm, o singlete com integral para dois hidrogênios é referente aos hidrogênios H3a/H3a'. O sinal de duplo dubleto entre 8,07-8,0 ppm com integral para dois hidrogênios corresponde aos hidrogênios H22/H22' ($J=8,07$ Hz). O sinal duplo dubleto entre 7,67-7,64 ppm, integrando para um hidrogênio é referente ao H18 ($J=8,07$ Hz), que está acoplado com o hidrogênio H17, presente no sinal entre 7,92-7,89 e constante de acoplamento $J=8,07$ Hz. O sinal 7,62-7,57 ppm referente ao tripleto de dubletos exibe integral para três hidrogênios, sendo dois deles referentes aos hidrogênios H7/H7', enquanto o terceiro hidrogênio, se encontra encoberto na multiplicidade dos sinais, podendo ser referente ao H16a. O sinal de dubleto de tripletos e o sinal seguinte de tripleto de dubletos em 7,38-7,36 e 7,35-7,32 ppm integrados para 4 hidrogênios ao total, são referentes aos hidrogênios H19/H20 e H1/H1' respectivamente. O sinal duplo dubleto em 7,20-7,17 ppm é respectivo aos hidrogênios H5/H5' ($J=8,07$ Hz). O sinal duplo dubleto em 6,90-6,88 ppm é referente aos hidrogênios H4/H4', com integral para dois hidrogênios e $J=8,07$ Hz indicando que os hidrogênios H4/H4' e H5/H5 estão acoplado em orto. Já o sinal de duplo dubleto em 6,73-6,70 ppm, integrando para dois hidrogênios são relativos aos hidrogênios H8/H8'. Os sinais singlete, integrando para um hidrogênio cada, em 5,98 e 5,67 ppm são referentes aos hidrogênios H9a e H11 respectivamente. Enquanto o singlete em 3,93 ppm, integrando para seis hidrogênios, corresponde aos hidrogênios das metilas, H26/ H26'.

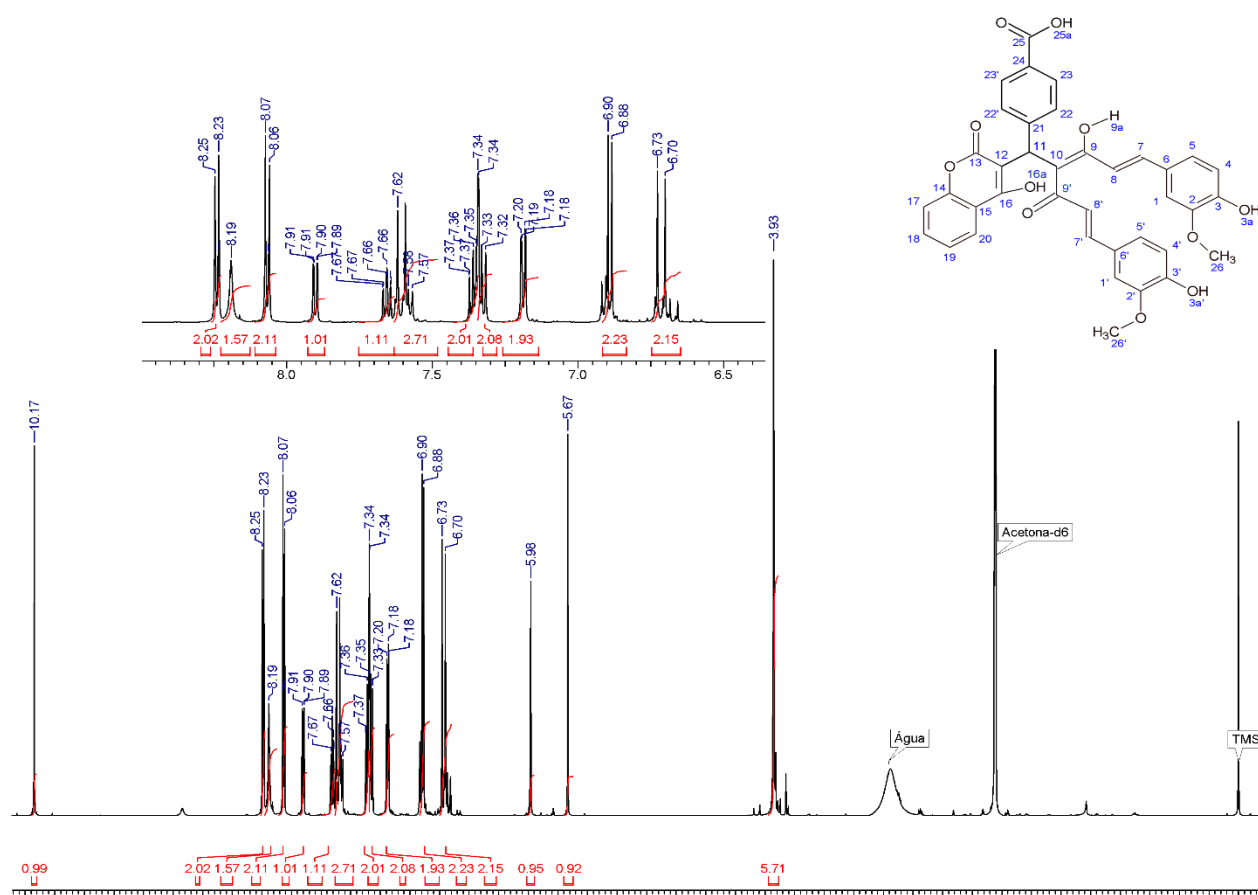


Figura 19: Espectro de RMN ^1H do derivado cumarínico curcumínico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

A Tabela 3 reúne todas as informações mencionais no texto, apresentando os dados espectrais de RMN ^1H do ligante em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, valores de deslocamento (δ), e as atribuições para cada hidrogênio, além do desdobramento do sinal e as constantes de acoplamento (J) para cada sinal.

Tabela 3: Dados espectrais de RMN ^1H do derivado cumarínico curcumínico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada hidrogênio, o desdobramento do sinal e as constantes de acoplamento (J) para cada sinal.

δ (ppm)	Atribuição	Sinal	J (Hz)
10,17	H25a	s	-
8,25-8,23	H23/H23'	dd	$^3J=8,07$
8,19	H3a/H3a'	s	-
8,07-8,0	H22/H22'	d	$^3J=8,07/ ^4J=1,83$
7,92-7,89	H17	dd	$^3J=8,07$
7,67-7,64	H18	dd	$^3J=8,07/ ^4J=1,83$
7,62-7,57	H7/H7' e H16a	td	$^3J=15,77$
7,38-7,36	H19/H20	dt	$^4J=1,11$
7,35-7,32	H1/H1'	td	-
7,20-7,17	H5/H5'	dd	$^3J=8,07/ ^4J=1,83$
6,90-6,88	H4/H4'	dd	$^3J=8,07$
6,73-6,70	H8/H8'	dd	$^3J=15,77$
5,98	H9a	s	-
5,67	H11	s	-
3,93	H26/H26'	s	-

s = singlete, d =dubleto, dd =duplo dubleto, m = multipleteo

A partir do espectro de DEPTQ do ligante (Figura 20), com auxílio dos espectros bidimensionais de HSQC e HMBC (Figuras 21 e 22, respectivamente) foi possível identificar os carbonos presentes no composto. A esquerda do espectro, podem ser observados os carbonos carbonílicos em 191,14 ppm; 183,64 ppm e 164,97 ppm referentes aos carbonos C25, C9/C9' e C13 respectivamente. Em função do efeito anisotrópico do anel aromático para o C25, e da presença do sistema conjugado para os carbonos C9/C9' estes carbonos são mais desblindados em relação ao C13. Os carbonos C8/C8' presentes nas ligações de alceno, são observados em 123,72 ppm, enquanto os carbonos C7/C7' podem ser vistos em 140,53 ppm; o segundo par de carbonos se encontram mais desblindado em função do acoplamento em W que os carbonos podem fazer no sistema insaturado. Os carbonos do anel aromático referentes a parte do ácido na molécula C23/C23' e C22/C22' são observados no espectro com deslocamento químico em 132,55,37 e 123, 22 ppm, sendo os carbonos C23/C23' mais desblindados em função da ressonância do ácido carboxílico com o sistema conjugado do anel aromático. Da mesma forma o carbono C24 se encontra mais desblindado que o carbono C21 com deslocamento químico em 135,35 ppm e 127,78 ppm, respectivamente. O carbono 11 se encontra mais blindado em 91,73 ppm, enquanto o carbono C10 é referente ao deslocamento em 100,77 ppm, mais desblindado em função da presença de carbonos sp^2 adjacentes. Já o carbono C12 apresenta deslocamento em 115,85. Os carbonos C17 e C20 apresentam ambientes químicos semelhantes, entretanto são magneticamente distintos, pois apresentam deslocamento químico

em 116,37 e 130,10 ppm. Os carbonos C18 e C19 são vistos em 129,37 e 130,18 ppm. Enquanto os carbonos C15 e C14 se encontram em 161,68 e 153,02 ppm. As metilas referentes aos carbonos C26/C26' como esperado se encontram mais blindadas em 55,42 ppm.

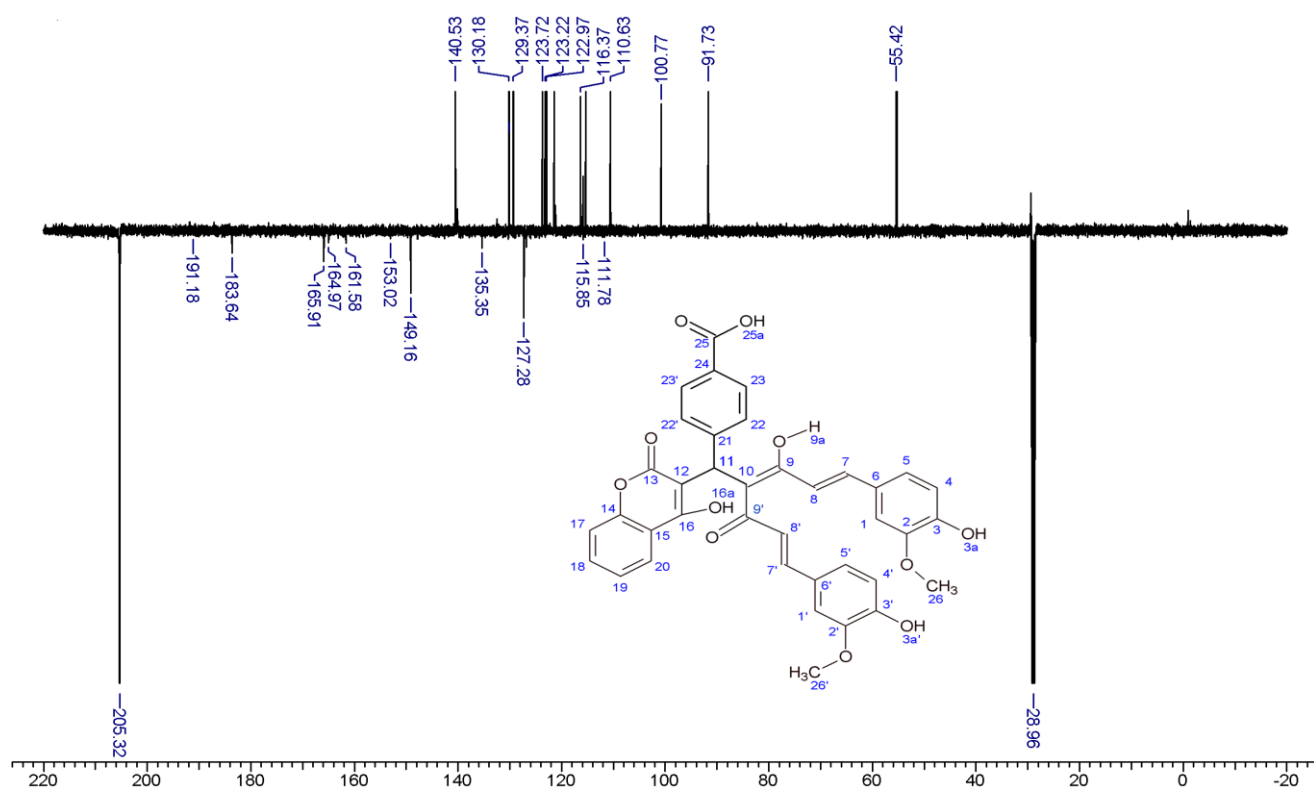


Figura 20: Espectro de DEPTQ do derivado cumarínico curcuminico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ($\text{C}\downarrow$, $\text{CH}\uparrow$, $\text{CH}_2\downarrow$, $\text{CH}_3\uparrow$).

Na Tabela 4, estão dispostas as atribuições dos carbonos com seus respectivos deslocamentos químicos.

Tabela 4: dados espectrais de ^{13}C -DEPTQ do derivado cumarínico curcumínico em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada carbono.

δ (ppm)	Atribuição
191,18	C25
183,64	C9/C9'
165,91	C13
164,97	C16
161,68	C15
153,02	C14
149,16	C3/C3'
142,65	C6/C6'
140,53	C7/C7'
135,35	C24
130,18	C23/C23'
130,10	C20
129,37	C22/C22'
127,78	C21
127,28	C2/C2'
123,72	C8/C8'
123,22	C18
122,97	C5/C5'
116,37	C17
115,91	C19
115,85	C12
115,35	C4/C4'
110,43	C1/C1'
100,77	C10
91,73	C11
55,42	C26/C26'

As Figuras 21 e 22 são respectivas aos espectros de HSQC e HMBC do ligante a partir dos mesmos foi possível identificar a correlação heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ a curta distância, até 3J pelo HSQC e a também a longa distância, até 5J pelo espectro de HMBC

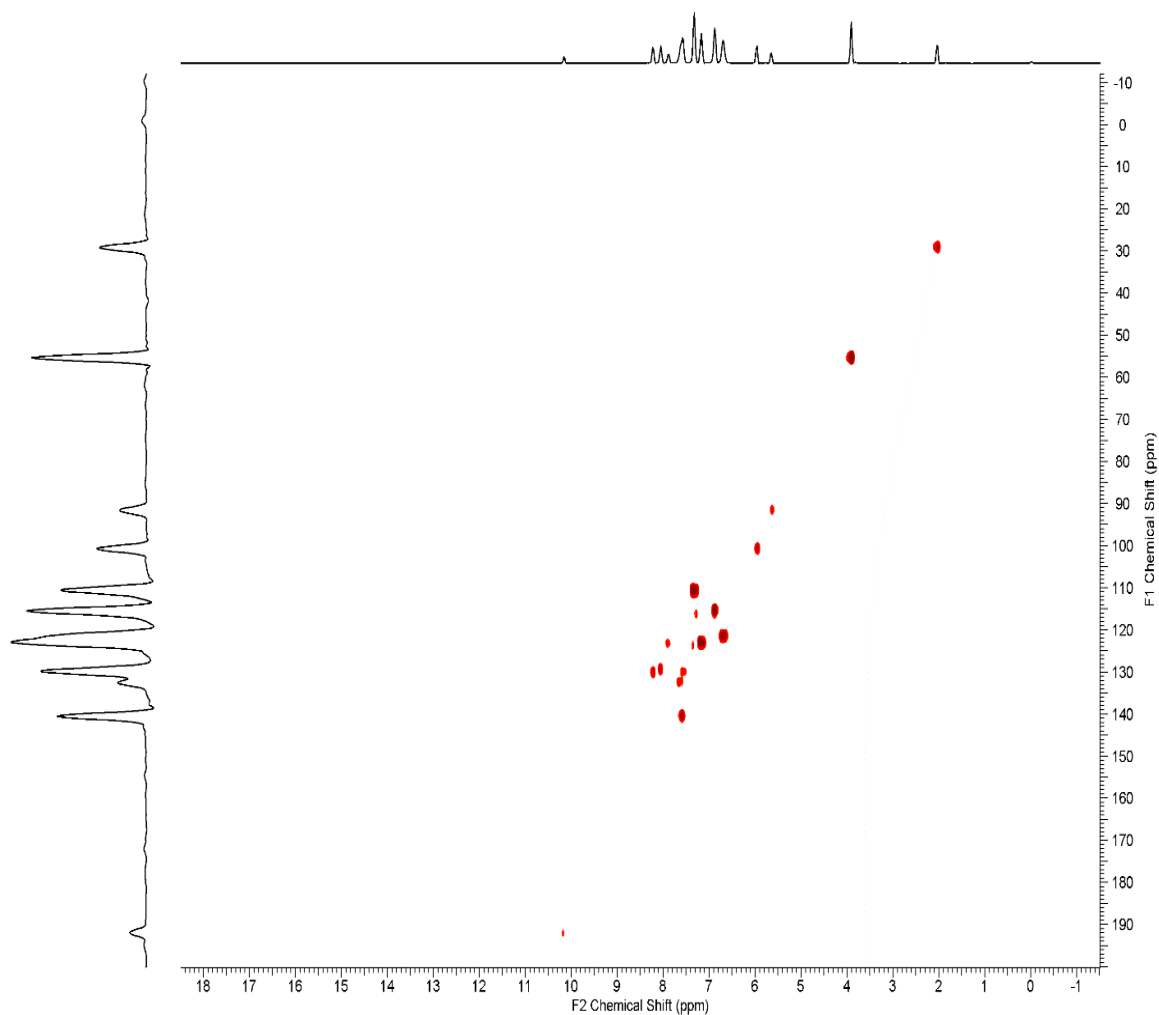


Figura 21: Espectro de HSQC do derivado cumarínico curcumínico.

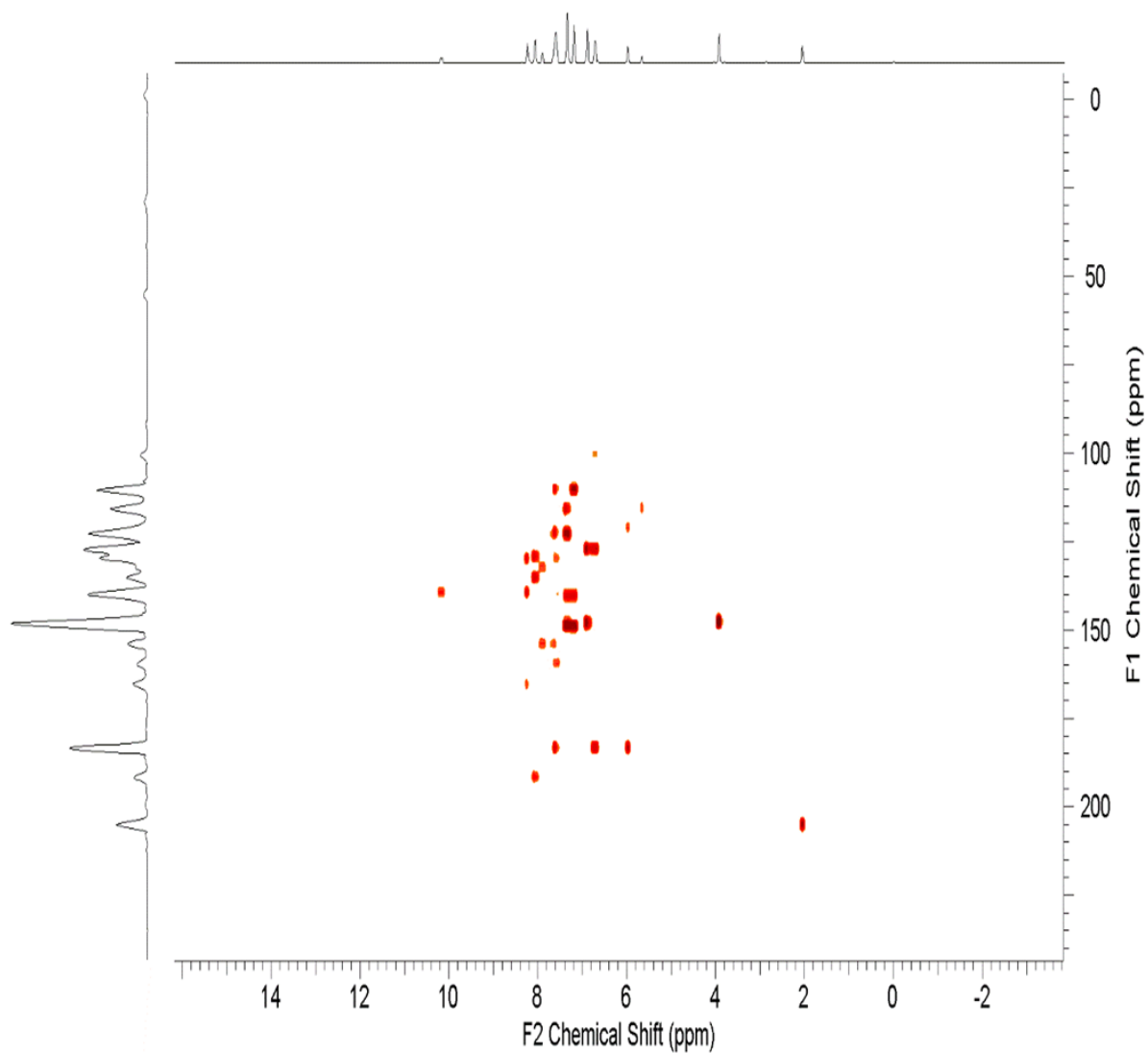


Figura 22: Espectro de HMBC do derivado cumarínico curcumínico

A Tabela 5 resume as informações obtidas pelas correlações heteronucleares através dos espectros de HSQC e HMBC.

Tabela 5: Dados espectrais dos deslocamentos de Carbono e Hidrogênio e as correlações ^{13}C - ^1H a 1 J pelo HSQC e ^{13}C - ^1H ^3J -4J pelo HMBC.

H	δ (ppm)	HSQC ^{13}C - ^1H δ (ppm)	HMBC ^{13}C - ^1H ^3J -4J
16a	10,17	C16	C15
14/14'	8,24-23	C14	C13/C15
13/13'	8,07-8,0	C13	C12/C16
7/7'	7,62-7,59	C7	C5/C8/C9
5/5'	7,35-7,34	C5	C1/C6
1/1'	7,19-7,18	C1	C5/ C3
2/2'	6,92-6,88	C2	C6
8/8'	6,73-6,71	C8	C11/C9
11	5,99	C11	C8/C9
17/17'	3,92	C17	C3

4.2.2 Espectrometria de Massas com ionização por *electrospray*

O espectro de massas do ligante no modo negativo $[\text{M}-\text{H}]^-$ do ligante (Figura 23) revelou a presença dos íons moleculares com m/z 661,1639; 631,1537 e 601,1441. A presença dos três sinais decorre do fato que o reagente reacional, curcumina apresentar 65% de pureza, sendo os outros 35% referentes a existência dos curcuminoides DMC e BDMC.

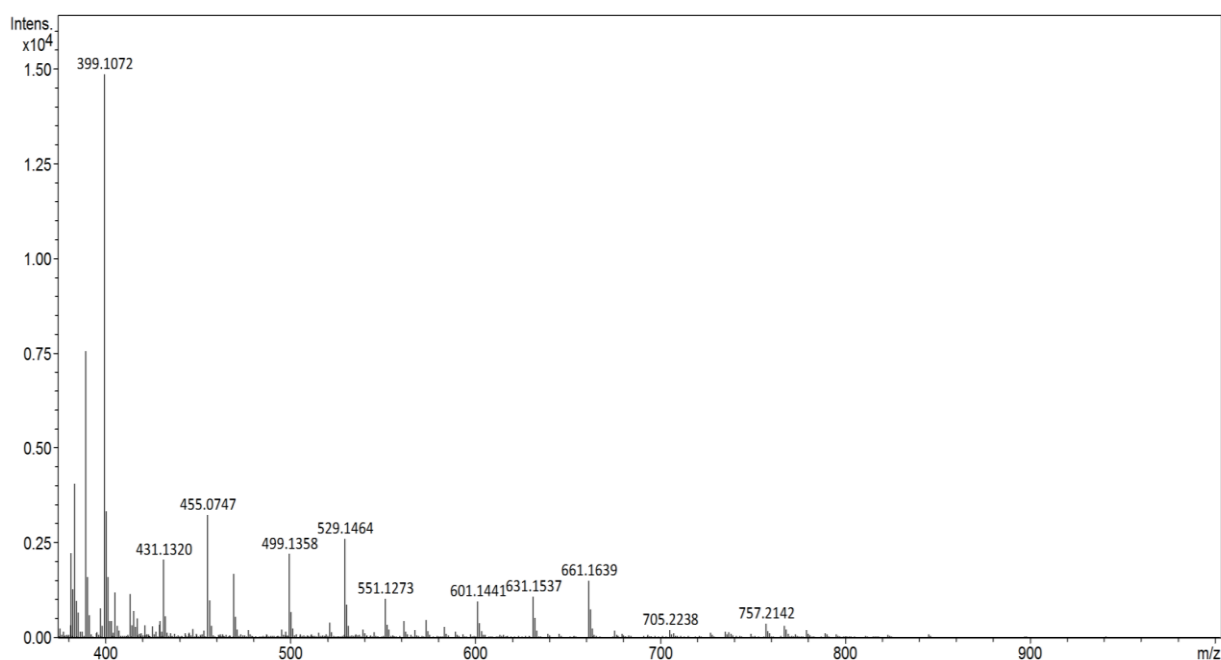


Figura 23: Espectro MS com ionização por *electrospray* do ligante.

Em função disto, o produto majoritário apresenta íon molecular m/z 661,1639, o qual apresenta concordância o valor teórico 662,62 e portanto, após a síntese mecanoquímica foram obtidos três produtos, como apresentado na Figura 24.

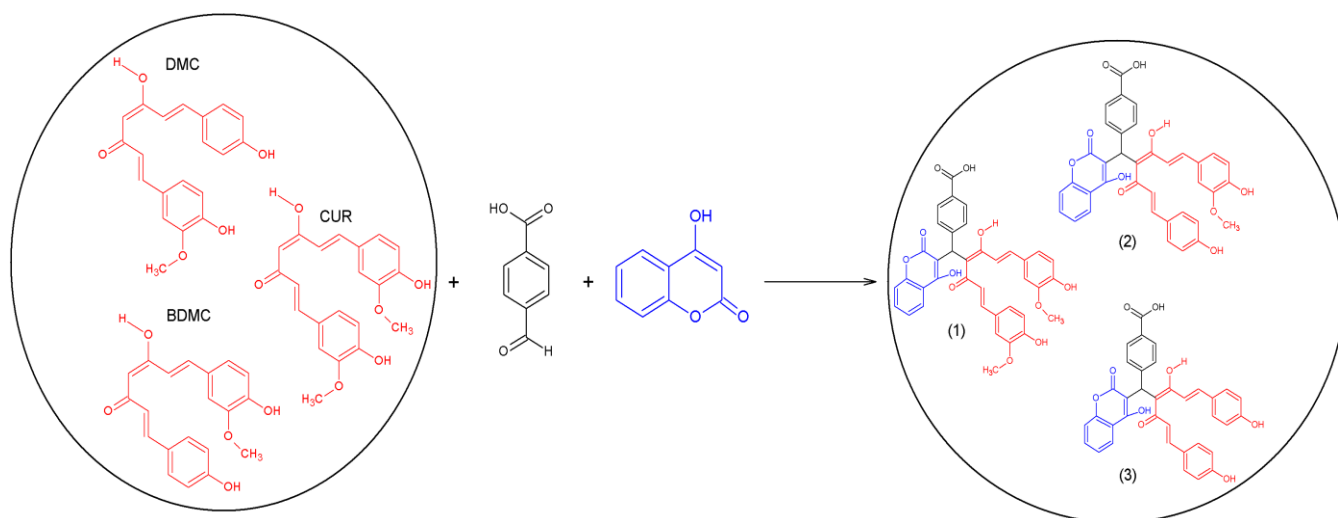


Figura 24: Esquema de síntese dos compostos obtidos com base no resultado do espectro *electrospray*.

4.2.3 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho.

Na Figura 25 está disposto o espectro de IV do ligante. A banda de estiramento –OH fenólico pode ser observada em 3512 cm^{-1} , posteriormente é notado um ombro largo entre $3433\text{--}3290\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento OH do ácido carboxílico e OH do enol presente na molécula.

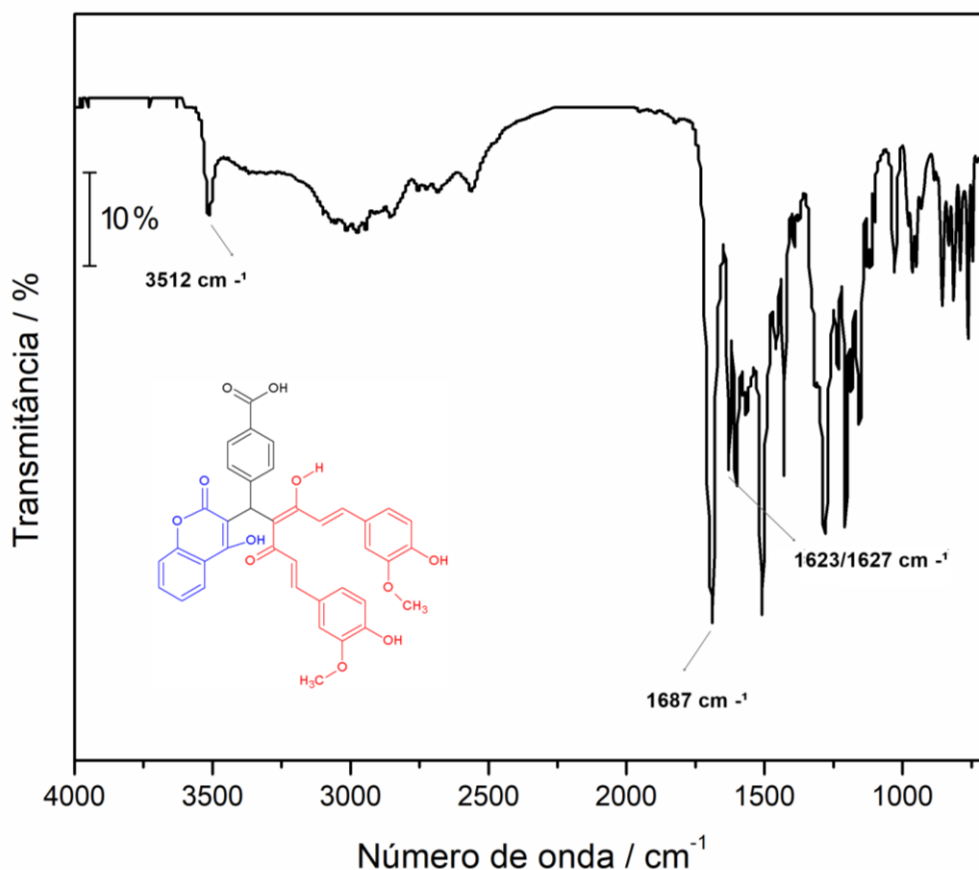


Figura 25: Espectro de IV do derivado cumarínico curcumínico.

A banda em 2976 cm^{-1} corresponde aos estiramentos C-H sp^3 . A banda larga entre $2870\text{--}2501\text{ cm}^{-1}$ é referente ao estiramento O-H do ácido carboxílico e seu alargamento é devido as ligações de hidrogênio que este grupo participa. A banda em 1687 cm^{-1} é referente ao estiramento da carbonila do ácido carboxílico C=O (COOH) e da cumarina. As absorções intensas e típica de carbonila de cetona α, β -insaturada podem ser observadas em $1627\text{ e }1623\text{ cm}^{-1}$; sendo que a segunda banda está sobreposta na mesma região de estiramento C=C. As bandas em $1603\text{ e }1509\text{ cm}^{-1}$ são relativas aos estiramentos simétrico e assimétrico C=C de anel aromático. As absorções entre 1185 cm^{-1} e 1111 cm^{-1} correspondem as deformações angulares C-O-C.

4.2.4 Caracterização termoanalítica

A Figura 26 mostra as curvas TG/DTG-DTA do derivado cumarínico curcuminico, e como pode ser visto, o composto é termicamente estável até 101,6 °C, após esta temperatura conforme mostrado pela curva DTG, são observadas 5 etapas de perda de massa sobrepostas.

A primeira etapa de perda de massa ocorre no intervalo entre 101,6-170,1 °C ($\Delta m = 2,13\%$), associado ao evento endotérmico em 133,8 °C na curva DTA, sendo atribuído à sublimação parcial e fusão da amostra, confirmado em teste realizado na chapa de aquecimento.

A segunda e terceira etapas de perda de massa ocorrem entre 170,1-221,8 °C ($\Delta m = 2,53\%$) e 221,8-308,0 °C ($\Delta m = 2,83\%$), enquanto a quarta etapa de perda de massa ocorre no intervalo entre 308,0-363,1 °C ($\Delta m = 10,24\%$).

A segunda, terceira e quarta etapas de decomposição apresentam um desvio da linha base da curva DTA, entretanto não são susceptíveis de afirmar se são referentes a um evento endotérmico ou exotérmico. Sugere-se que essas etapas sejam referentes a perdas de hidroxilas como H₂O e descarboxilação. Por consequência, ocorre uma sobreposição de eventos endotérmicos e exotérmicos e não é possível observar sinais nítidos na curva DTA.

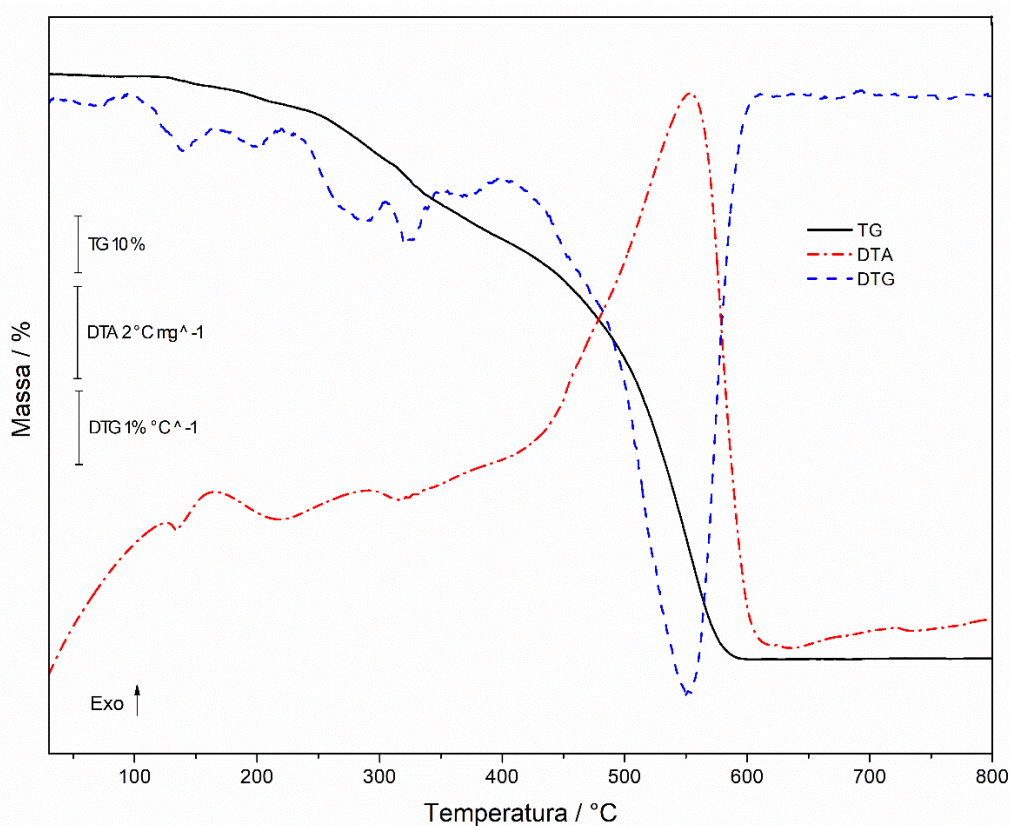


Figura 26: Curvas TG/DTG-DTA do ligante derivado cumarínico curcuminico.

A quinta e última etapa de perda de massa, ocorre no intervalo de temperatura entre 363,1-662,1 °C ($\Delta m = 82,27\%$) com pico exotérmico em 553,1 °C na curva DTA, e é referente a degradação e oxidação do material carbonizado.

A Figura 27 apresenta a curva DSC do composto derivado cumarínico curcumínico. Ao submeter a amostra ao aquecimento, nota-se a presença de dois eventos endotérmicos consecutivos e sobrepostos, com pico em 126,9 e 138,2 °C.

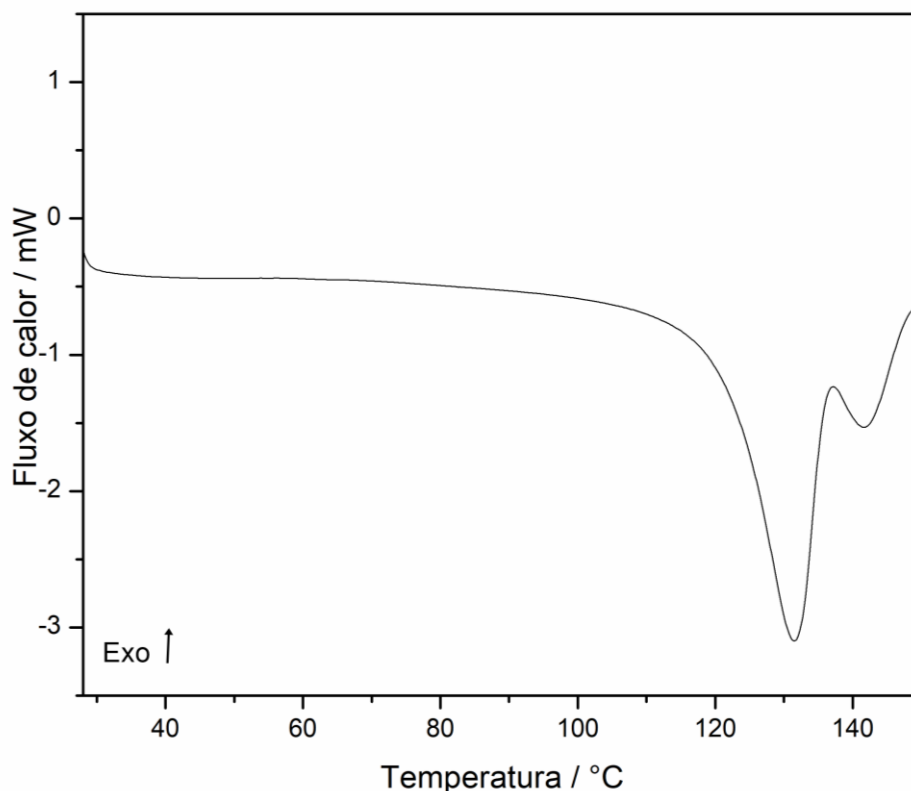


Figura 27: Curva DSC do derivado cumarínico curcumínico obtida no intervalo entre 25-150 °C, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e atmosfera de ar seco

Este composto foi submetido ao aquecimento variando as razões de aquecimento com a finalidade de separar os eventos e facilitar a interpretação dos resultados. A Figura 28 mostra as curvas DSC do derivado cumarínico curcumínico nas razões de aquecimento em 5 °C min⁻¹ e 10 °C min⁻¹.

Como observado, na curva com razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹ (Figura 28.a), os eventos puderam ser separados, uma vez que a temperatura de início para o primeiro evento não é adiantada, descartou-se a possibilidade de degradação associada ao primeiro pico.

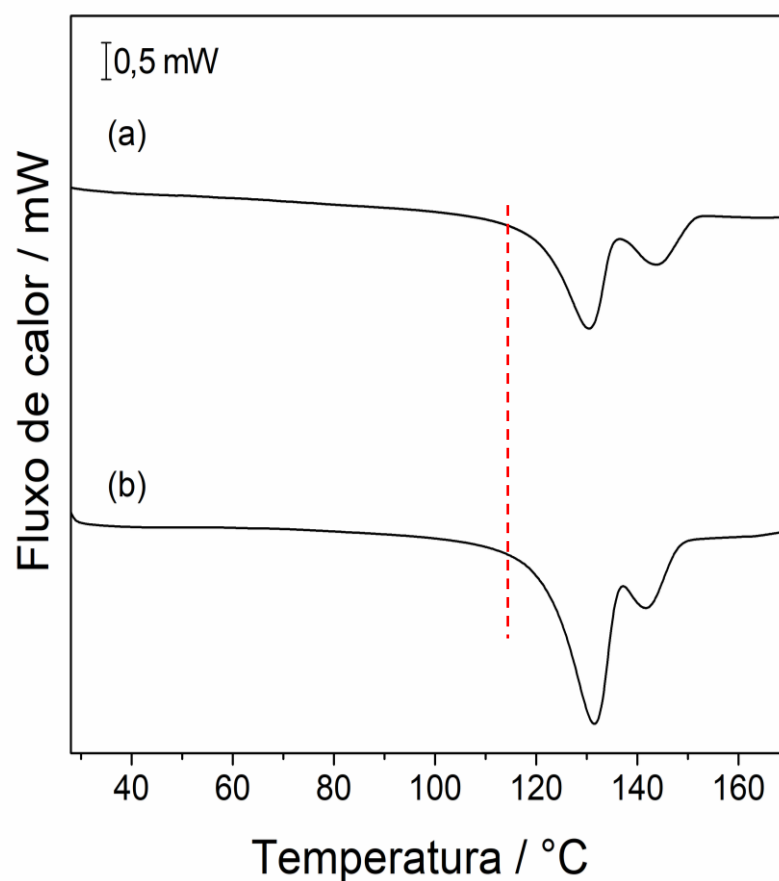


Figura 28: Curva DSC do ligante obtida no intervalo entre 25-150 °C, nas razões de aquecimento de 5°C/min (a); 10 °C/min (b) e atmosfera de ar seco.

A Figura 29, mostra as imagens de DSC-fotovisual do composto na razão de aquecimento de 5 °C min⁻¹, pois nesta razão os eventos não se encontram sobrepostos, facilitando a interpretação dos resultados. As imagens mostram que em 126 °C a lente da câmera fica embaçada, sendo referente a sublimação parcial da amostra, observa-se adiante um processo de fusão, seguido de decomposição, como é evidenciado pelo escurecimento da amostra.

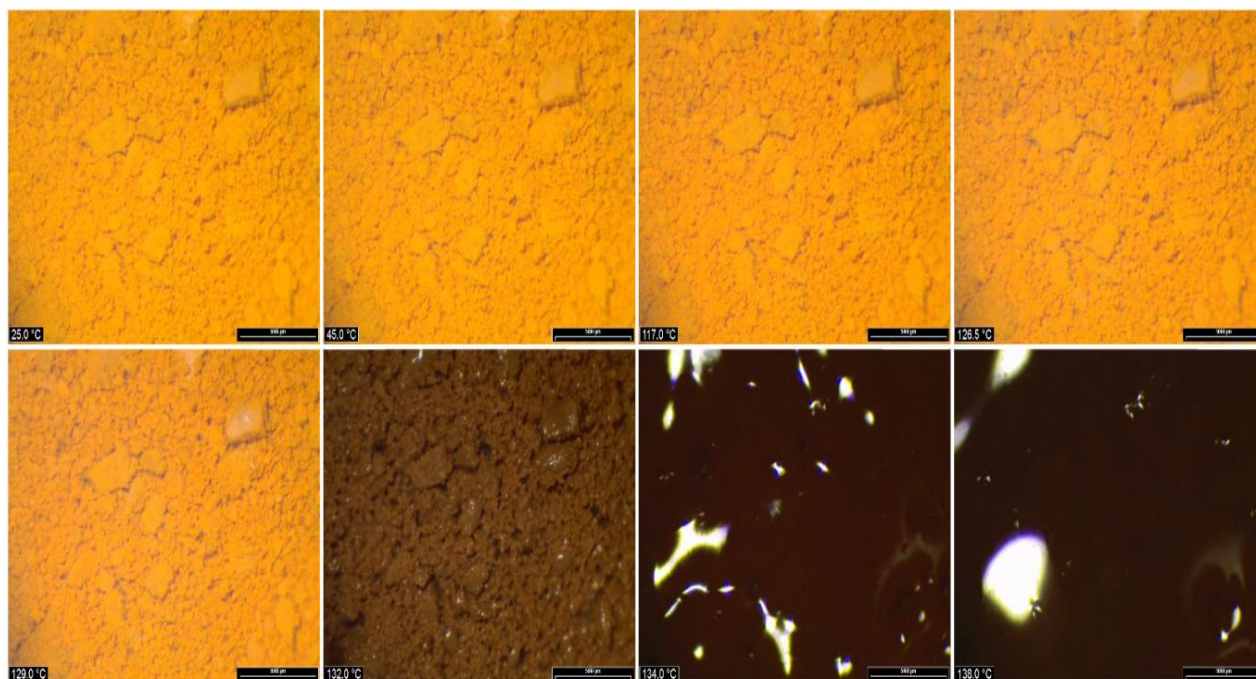


Figura 29: Imagens do DSC-fotovisual do ligante na razão de 5°C/min e atmosfera de ar seco

Como notado pelas imagens de DSC-fotovisual a temperatura da fusão não equivale a temperatura do pico na curva DSC, tal resultado é influenciado pela mudança dos sistemas ao qual a amostra está submetida.

A Figura 30 mostra as imagens obtidas por PLTM do derivado cumarínico curcumínico. Esta técnica foi utilizada por ser mais sensível em relação ao DSC-fotovisual, e assim confirmar que o primeiro evento não se trata de uma fusão incongruente. É importante ressaltar que a técnica foi utilizada como análise complementar, e, que por se tratar de um sistema distinto ao DSC, fazendo uso de uma quantidade menor de massa, e atmosfera estática, os valores das temperaturas para cada evento não podem ser equiparados com as curvas DSC.

Como apontado na Figura, pode ser visto que a partir da imagem 30.f a amostra começa a fundir, e que a partir da imagem 30.i, a fusão segue como um processo incongruente, ou seja com decomposição. Isto é indicado pela variação da cor da amostra, variando sua coloração de amarelo para vermelho. Ademais pode ser visto que durante a fusão, a câmera fica embaçada, referente a sublimação parcial da amostra, conforme observado anteriormente pelas imagens de DSC-fotovisual.

Portanto, por intermédio das imagens de DSC-fotovisual e PLTM, é possível concluir que o evento com pico em 126 °C é referente ao processo de fusão e sublimação parcial da amostra, sendo que o último justifica o alargamento do pico. O segundo evento em 138 °C é relativo a uma fusão incongruente da amostra, posto que existe uma mistura de derivados

curcuminóides deste composto, existe a possibilidade que o primeiro sinal da curva DSC seja referente ao produto majoritário (65%), seguido da fusão dos outros derivados curcuminóides e degradação.

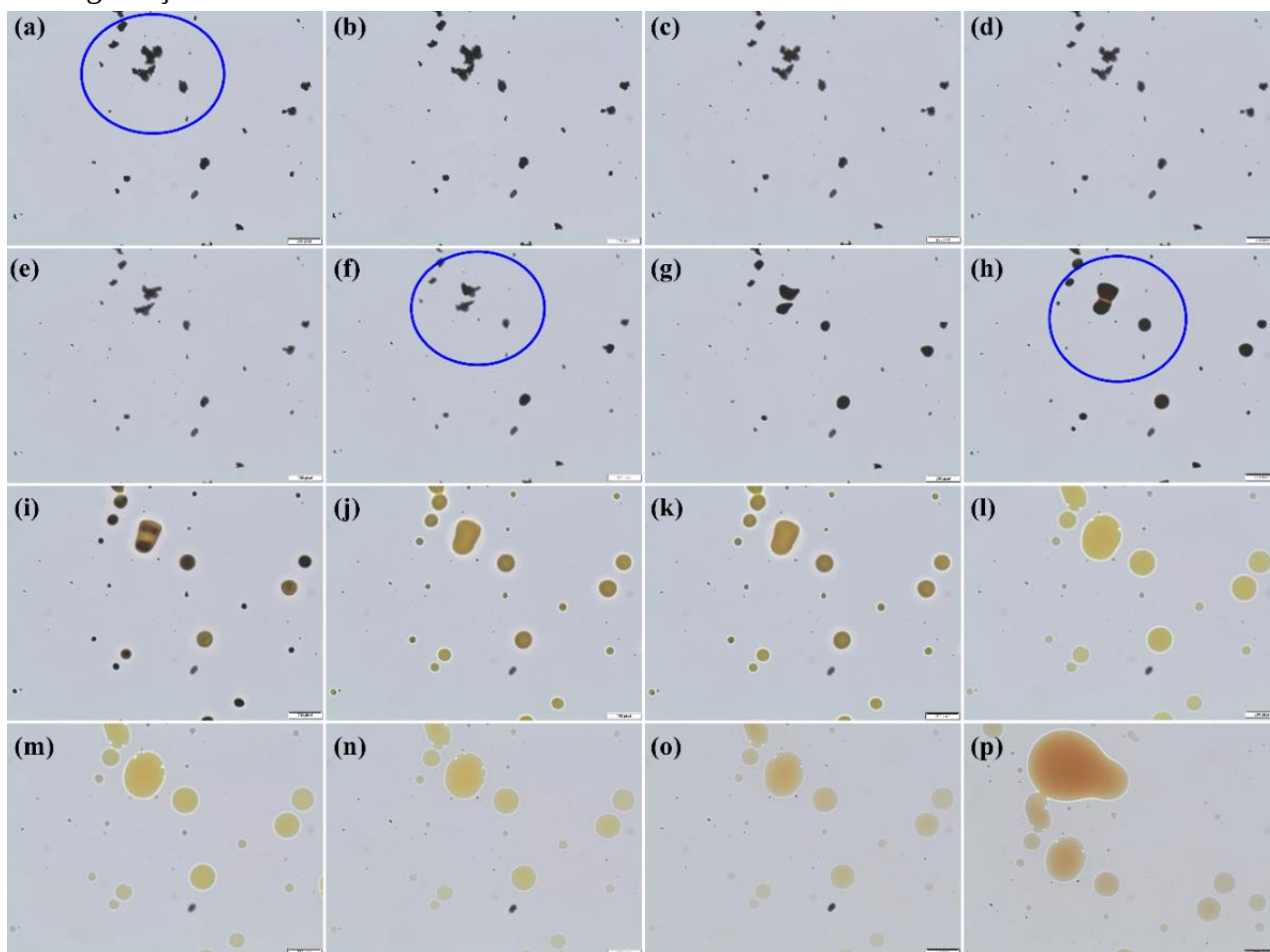


Figura 30: Imagens de PLTM do composto derivado cumarínico curcuminico, com aumento de 200 X nas temperaturas de (a)30 °C, (b) 50 °C, (c) 70 °C, (d) 80 °C, (e) 90 °C, (f) 100 °C, (g) 115 °C, (h) 120 °C, (i) 125 °C, (j) 130°C, (k) 132 °C, (l) 134 °C, (m) 138 °C, (n) 140 °C, (o)142 °C, (p)144 °C, (q)146 °

4.2.5 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível / UV-Vis

No espectro da 4-hidroxycumarina (Figura 31.a) é observado apenas uma banda de alta intensidade em 310 nm, referente a transição $\pi \rightarrow \pi^*$.^{66,67} Analisando o espectro da curcumina (Figura 31.b) pode ser visto duas bandas de absorção em 428 e 449 nm, as quais são atribuídas as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, respectivamente. A presença destas bandas em comprimentos de onda mais altos em relação aos outros reagentes se dá em função da extensão de conjugação das ligações duplas presente na molécula da curcumina.^{68,69} Observa-se que no espectro do 4-CBA (Figura 31.c), pode ser observado uma banda em 261 nm referente a transição $\pi \rightarrow \pi^*$, enquanto o ombro entre 286-324 nm é atribuído a uma transição $n \rightarrow \pi^*$.⁷⁰ A presença da segunda banda ocorre como consequência da presença dos substituintes no anel benzênico.

O espectro referente ao ligante (Figura 31.d) é uma soma das bandas apresentadas dos seus precursores. Pode ser observado a presença de todas as bandas citadas anteriormente. A transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da parte cumarínica se encontra na mesma região da transição $n \rightarrow \pi^*$ do 4-CBA, e em função disso estas bandas estão sobrepostas no espectro do ligante, e podem ser observadas na região compreendida entre 284-352 nm, mas aparentemente a transição referente a 4-hidroxycumarina se destaca, por ser mais intensa.

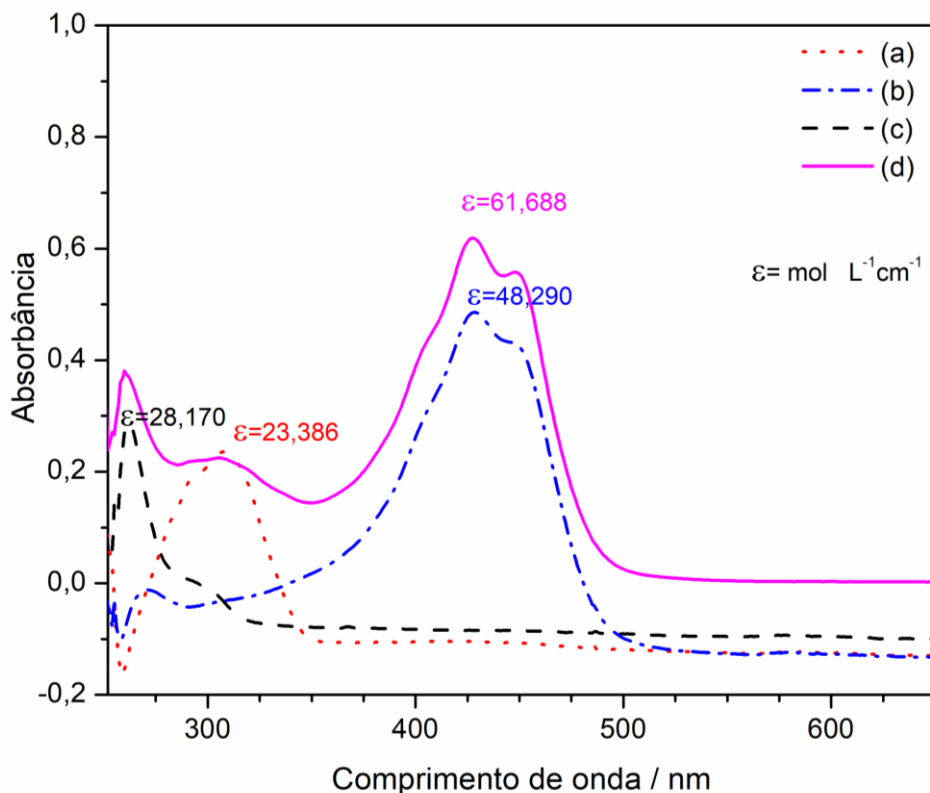


Figura 31: Espectros de UV-Vis da 4-hidroxycumarina (a), curcumina (b), 4-carboxibenzaldeído (c) e do derivado curcumínico (d).

4.3 Caracterização do intermediário de síntese e proposta de mecanismo reacional

4.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e DEPTQ

Na Figura 32 se encontra disposto o espectro de RMN de ^1H do intermediário reacional do derivado cumarínico curcumínico. Analisando o espectro observa-se um sinal singlete com deslocamento químico em 10,17 ppm referente ao hidrogênio H16a. Em seguida são observados dois dubletos entre 8,24 -8,23 ppm e 8,07-8,0 ppm integrando para dois hidrogênios cada, referentes aos hidrogênios H14/H14'e H13/H13' acoplando em orto com constante de acoplamento de $^3J=8,07$ Hz. Posteriormente é observado um sinal de duplo dubleto em 7,62-7,59 ppm ($^3J=15,77$ Hz) relativos aos hidrogênios H7/H7' integrando para dois hidrogênios. O sinal dubleto com deslocamento entre 7,34-7,35 ppm é referente aos hidrogênios H5/H5' ($^4J=1,83$ Hz), enquanto o sinal duplo dubleto em 7,19-7,18 ppm é correlacionado aos hidrogênios H1/H1' ($^3J=8,07$ Hz). Em seguida é observado o sinal dupleto entre 6,92-6,88 ppm referente aos hidrogênios H2/H2' ($^3J=8,07$ Hz), seguido do sinal duplo dubleto em 6,73-6,71 ppm referentes aos hidrogênios H8/H8' ($^3J=15,77$ Hz), estes estão acoplando em trans com os hidrogênios H7/H7'. Posteriormente são observados dois sinais singletos, o primeiro em 5,99 ppm integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H11, enquanto o outro sinal singlete com deslocamento em 3,92 ppm e integral para 6 hidrogênios é referente aos hidrogênios das metilas H17/H17'.

Não foi possível identificar no espectro a presença dos hidrogênios H3a/H3a' presentes nas hidroxilas dos anéis aromáticos. Como pode ser observado no espectro o singlete intenso e largo em 2,91 ppm é referente a presença de água como solvente residual na amostra, isso se dá pelo motivo que o composto é higroscópico e/ou da presença de água no solvente deuterado. Em função disso, e da velocidade de troca que os hidrogênios fazem entre si e com o solvente, é difícil ocorrer o acoplamento de spin, não sendo possível detectá-los.⁶²

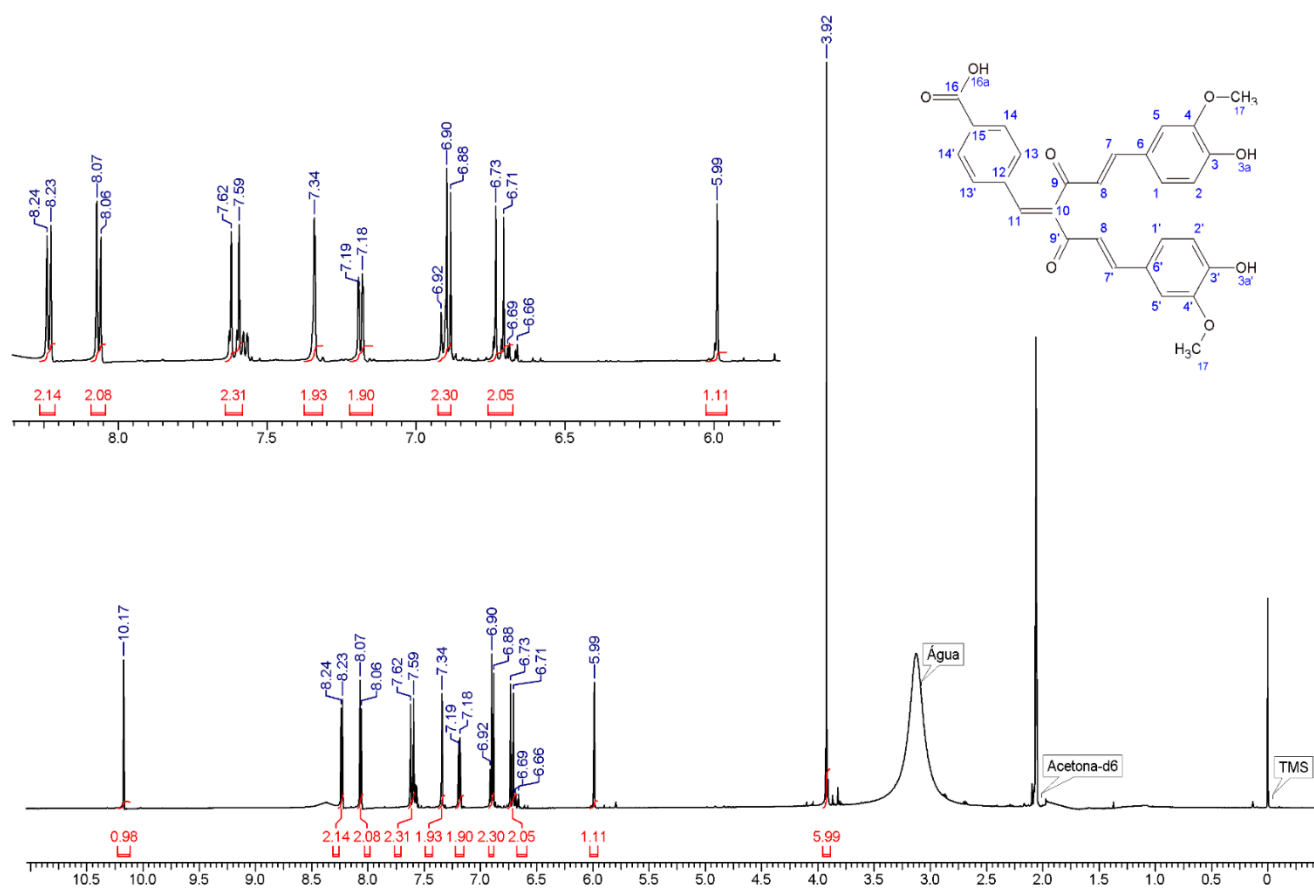


Figura 32: Espectro de RMN ^1H do composto MI em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

Na Tabela 6 podem ser observados os dados referentes ao espectro do RMN ^1H do intermediário reacional, discutidos anteriormente no texto.

Tabela 6: Dados espectrais de RMN ^1H do intermediário reacional, em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada hidrogênio, o desdobramento do sinal e as constantes de acoplamento (J) para cada sinal.

δ (ppm)	Atribuição	Sinal	J (Hz)
10,17	H16a	s	-
8,24-8,23	H14/H14'	d	$^3J=8,07$
8,07-8,0	H13/H13'	d	$^3J=8,07$
7,62-7,59	H7/H7'	dd	$^3J=15,77$
7,34-7,35	H5/H5'	d	$^4J=1,83$
7,19-7,18	H1/H1'	dd	$^3J=8,07/^4J=1,83$
6,92-6,88	H2/H2'	d	$^3J=8,07$
6,73-6,71	H8/H8'	dd	$^3J=15,77$
5,99	H11	s	-
3,92	H17/H17'	s	-

s = singlete, d =dubleto, dd =duplo dubleto, m = multipleteo

No espectro de DEPTQ (Figura 33) os sinais de carbonos quaternários e os metilenos são observados abaixo da fase, enquanto acima da fase são observados os sinais respectivos aos carbonos metino e metilas. A identificação destes carbonos foi auxiliada pelos espectros de correlação bidimensional HSQC e HMBC (Figuras A1 e A2).

Observa-se a presença do carbono carbonílico do ácido carboxílico C16 em 191,89 ppm. Os carbonos carbonílicos referentes às dicetonas C9/C9' apresentam mesmo ambiente químico e, portanto, equivalência magnética, logo apresentam o mesmo deslocamento químico, com sinal em 183,58 ppm. Os carbonos C6/C6' são observados no sinal em 147,90 ppm. Em 140,53 ppm é observado um sinal referente aos carbonos C7/C7', referente aos carbonos do alceno presente no composto. Os carbonos C15 e C12 apresentam ambientes químicos distintos em função dos efeitos dos substituintes aos quais estão ligados, e apresentam sinal em 139,41 e 135,35 ppm. Os carbonos C14'/C14' são observados no sinal em 130,18 ppm, enquanto os carbonos C13/C13' são observados no sinal em 129,37 ppm. A presença do grupo funcional ácido carboxílico por efeito de ressonância torna os carbonos C14/C14' mais desblindados em relação ao C13/C13'. Em 127,30 ppm é observado o sinal para os carbonos quaternários C4/C4'. Os sinais referentes aos carbonos C1/C1' e C8/C8' podem ser vistos em 122,96 e 121,191 ppm. Em 121,19 ppm é observado o sinal referente ao carbono C10, que se encontra mais desblindado que o seu vizinho, o carbono C11, com sinal em 100,75 ppm, pois é um Carbono Sp^2 e se encontra entre carbonos carbonílicos. Os carbonos C2/C2' são associadas ao sinal em 115,35 ppm; em 110,65 ppm pode ser observado o sinal referente aos carbonos C5/C5'.

Já as metilas C17/C17' são atribuídas ao sinal em 55,32 ppm.

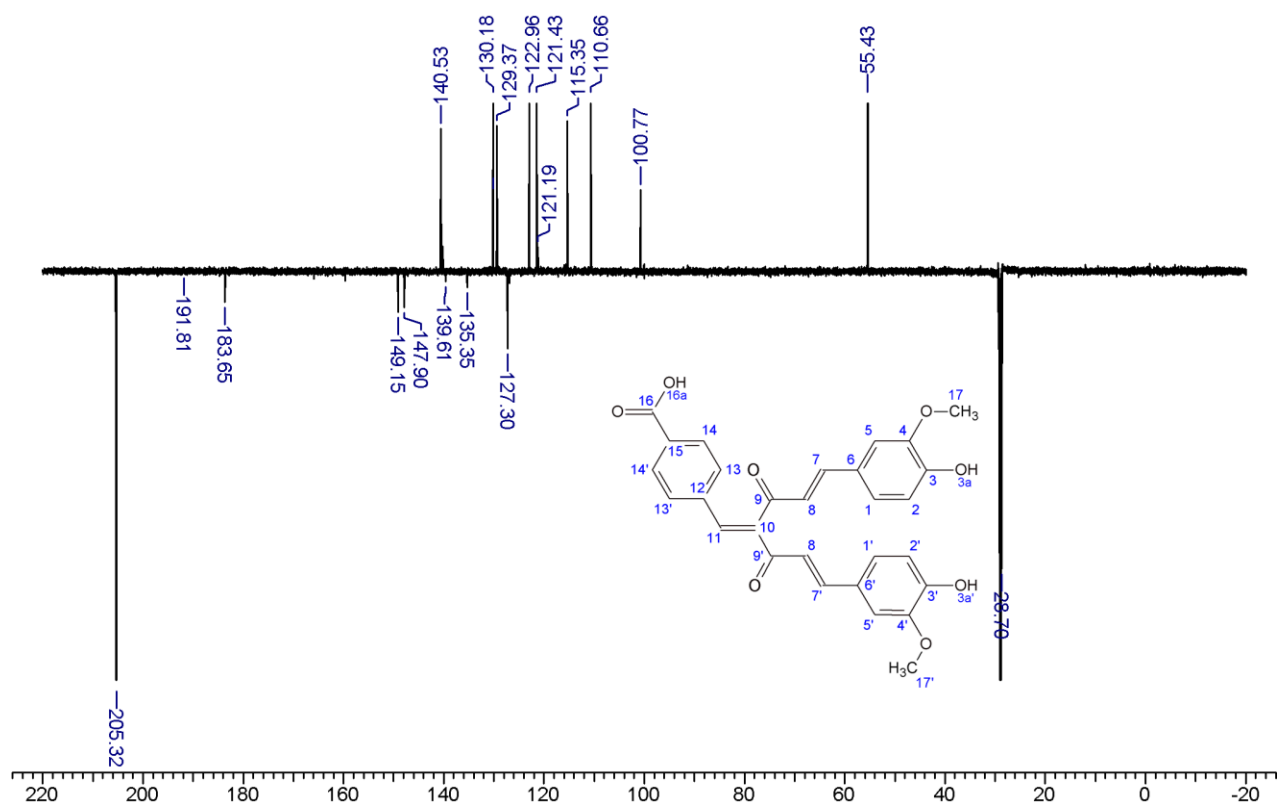


Figura 33: espectro de ^{13}C -DEPTQ do intermediário reacional

Na Tabela 7, estão dispostas as atribuições dos carbonos com seus respectivos deslocamentos químicos para o intermediário reacional.

Tabela 7: Dados espectrais de ^{13}C -DEPTQ do intermediário reacional em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ com os valores de deslocamento (δ), as atribuições para cada carbono.

δ (ppm)	Atribuição
191,89	C16
183,58	C9/C9'
149,15	C3/C3'
147,90	C6/C6'
140,53	C7/C7'
139,49	C15
135,35	C12
130,18	C14/C14'
129,37	C13/C13'
127,30	C4/C4'
122,96	C1/C1'
121,43	C8/C8'
121,19	C10
115,35	C2/C2'
110,65	C5/C5'
100,75	C11
55,43	C17/C17'

É interessante ressaltar que ocorre uma mudança nos valores de deslocamento químico dos carbonos C10 e C11 do intermediário reacional em relação ao derivado cumarínico curcumínico, variando de 121,10 ppm e 100,75 ppm no intermediário para 100,77 ppm e 91,73 ppm no ligante. Como pode ser notado, os carbonos C10 e C11 se encontram mais blindados no ligante, isso decorre do ambiente químico ao redor dos dois. O carbono C10 em ambas as moléculas é sp^2 , entretanto, no ligante este carbono está ligado a um carbono sp^3 , tornando este mais blindado. Por sua vez, o carbono C11 passa de sp^2 no intermediário, para sp^3 no ligante, o que diminui o efeito de anisotropia e, por consequência, torna o carbono mais blindado.

A Tabela A2 apresenta as correlações heteronucleares apresentadas por cada espectro bidimensional HMQC e HSQC para o intermediário reacional.

4.3.2 Proposta de mecanismo reacional

Na Figura 34, pode ser observado uma proposta de mecanismo de síntese do ligante. No mecanismo proposto a reação ocorre em duas etapas distintas. Primeiramente, ocorre uma reação de condensação de Knoevenagel entre os reagentes curcumina e o 4-carboxibenzaldeído. Os elétrons π do carbono sp^2 da curcumina atacam o carbono carbonílico do aldeído, gerando um intermediário tetraédrico, que após uma desidratação, gera o intermediário reacional, o qual foi isolado e sua caracterização foi discutida no trabalho. A formação do produto final ocorre após uma reação de adição de Michael, na qual é adicionada a estrutura da molécula da 4-hidróxicumarina no intermediário. Isto ocorre pelo ataque do carbono sp^2 (próximo ao enol) da cumarina à ligação $C=C$ formada pela adição do aldeído na estrutura da curcumina, seguido da abstração de um próton pela carbonila da cumarina, gerando um enol. Posteriormente é formada a estrutura final, corresponde ao ligante.

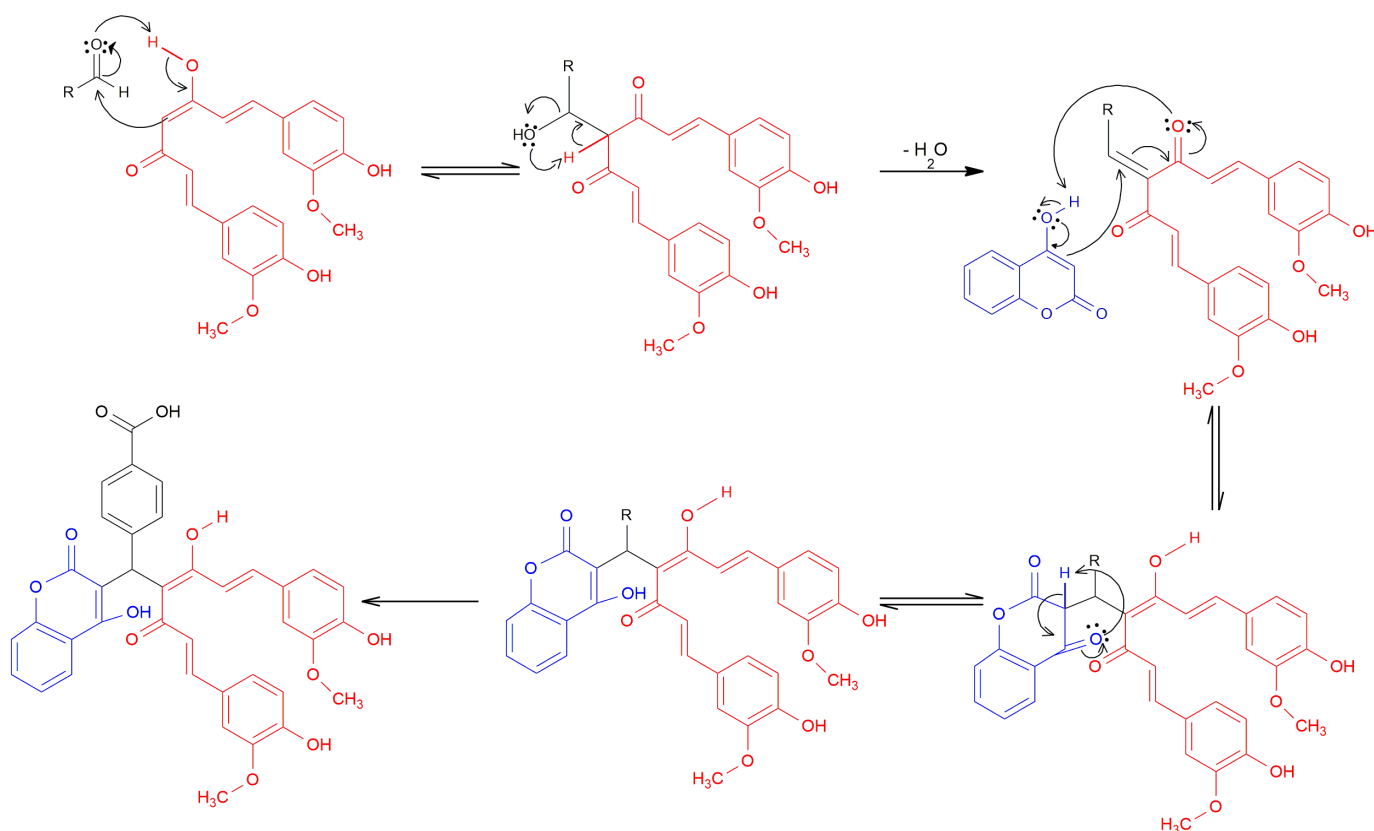


Figura 34: Proposta de mecanismo reacional do ligante.

A Figura 34 mostra o mecanismo proposto para o produto de síntese majoritário, entretanto é necessário relembrar que o mecanismo se aplica aos outros dois compostos formados pelos curcuminoides DMC e BDCM.

4.4 Caracterização Complexos de Co(II), Fe(II), Cu(II) e Fe(II)

4.4.1 Caracterização termoanalítica

Complexo de Ferro.

As curvas TG/DTG-DTA do complexo de Ferro podem ser observadas na Figura 35. Essas curvas mostram que entre 30,0-73,3 °C ocorre uma etapa de perda de massa ($\Delta m_{\text{calc}} = 4,62\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 4,50\%$), referente a perda de 4 moléculas de água de hidratação. O composto anidro é termicamente estável até 229,9 °C e segundo as curvas TG/DTG se decompõe em duas etapas de perda de massa sobrepostas. A primeira etapa de perda de massa de degradação ocorre entre 229,9-373,4 °C ($\Delta m = 21,42\%$), sem indícios de evento térmico na curva DTA, enquanto a segunda perda de massa ocorre entre 373,4-516,9 °C ($\Delta m = 58,93\%$), associada ao pico exotérmico em 412,3°C na curva DTA, referente a oxidação da matéria orgânica. A perda do ligante até 516,9°C ($\Delta m_{\text{calc.}} = 79,29\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 78,73\%$) está em acordo com a formação de Fe_2O_3 ^{71,72,73} (resíduo $\Delta m_{\text{calc}} = 16,11\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 15,15\%$).

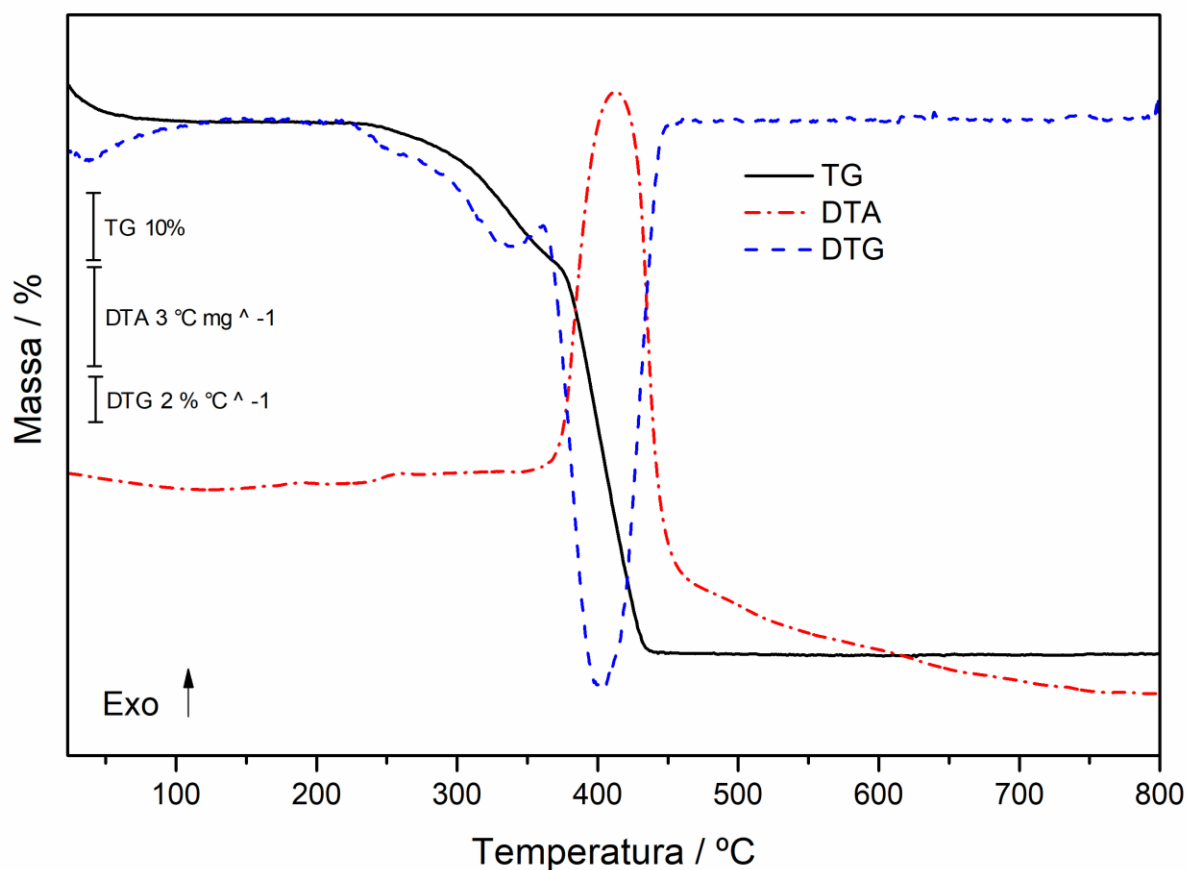


Figura 35: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de ferro.

Complexo de Cobalto.

As curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobalto podem ser observadas na Figura 36. Essas curvas mostram que o composto é termicamente estável até 168,9 °C e posteriormente se decompõe em duas etapas de perda de massa. A primeira etapa de perda de massa ocorre entre 168,9-323,5°C ($\Delta m = 19,73\%$), enquanto a segunda perda de massa é observada entre 323,5-524,4°C ($\Delta m = 73,87\%$), sendo a última associadas ao evento exotérmico em 454,3°C na curva DTA, referente degradação do ligante. A perda de massa total até 524,4°C ($\Delta m_{\text{calc}} = 94,58\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 93,6\%$) está em acordo com a formação de $\text{CoO}^{74,75}$ (resíduo $\Delta m_{\text{calc}} = 5,42\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 6,40\%$).

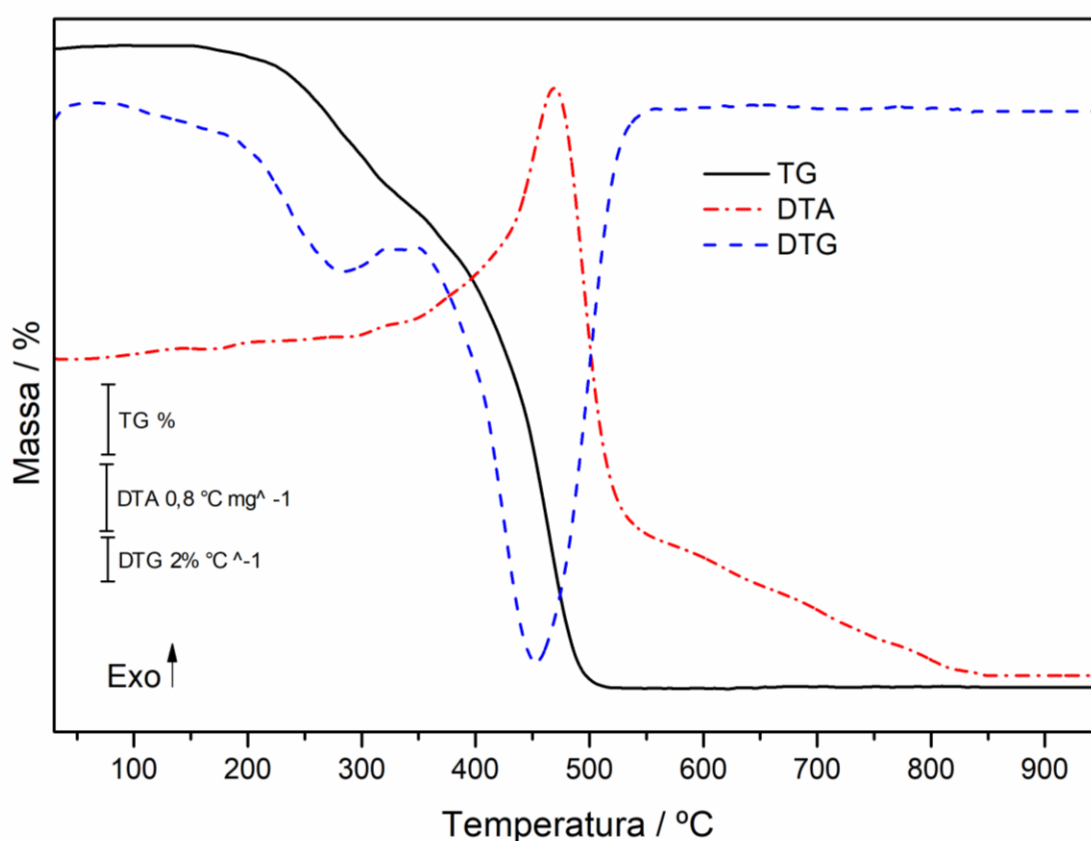


Figura 36: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobalto.

Complexo de Cobre

As curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobre se encontram dispostas na Figura 37. Analisando as curvas TG/DTG entre 30,0-93,1 °C, pode ser visto uma perda de massa de 4,84% ($\Delta m_{\text{calc}} = 4,1\%$), a qual é referente a perda de 4 moléculas de água de hidratação. Em seguida se observa na curva TG que o composto não apresenta estabilidade térmica e continua a perder massa entre 93,1-270,2 °C, esta etapa de perda de massa está associada a endoterma entre 153,1-254,1 °C, sendo referentes a perda de 6 moléculas de água de coordenação ($\Delta m_{\text{calc}} = 8,35\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 7,42\%$). Após 270,2 °C, o composto degrada em uma etapa de perda de massa, entretanto, segundo a DTG, ocorrem duas etapas de perda massa sobrepostas entre 270,2-414,6 °C, corresponde ao pico exotérmico na curva DTA, atribuída a oxidação do ligante ($\Delta m_{\text{calc}} = 73,65\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 72,92\%$). Os cálculos para resíduo condizem para óxido de cobre (CuO)^{76,77} ($\Delta m_{\text{calc}} = 14,80\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 14,80\%$).

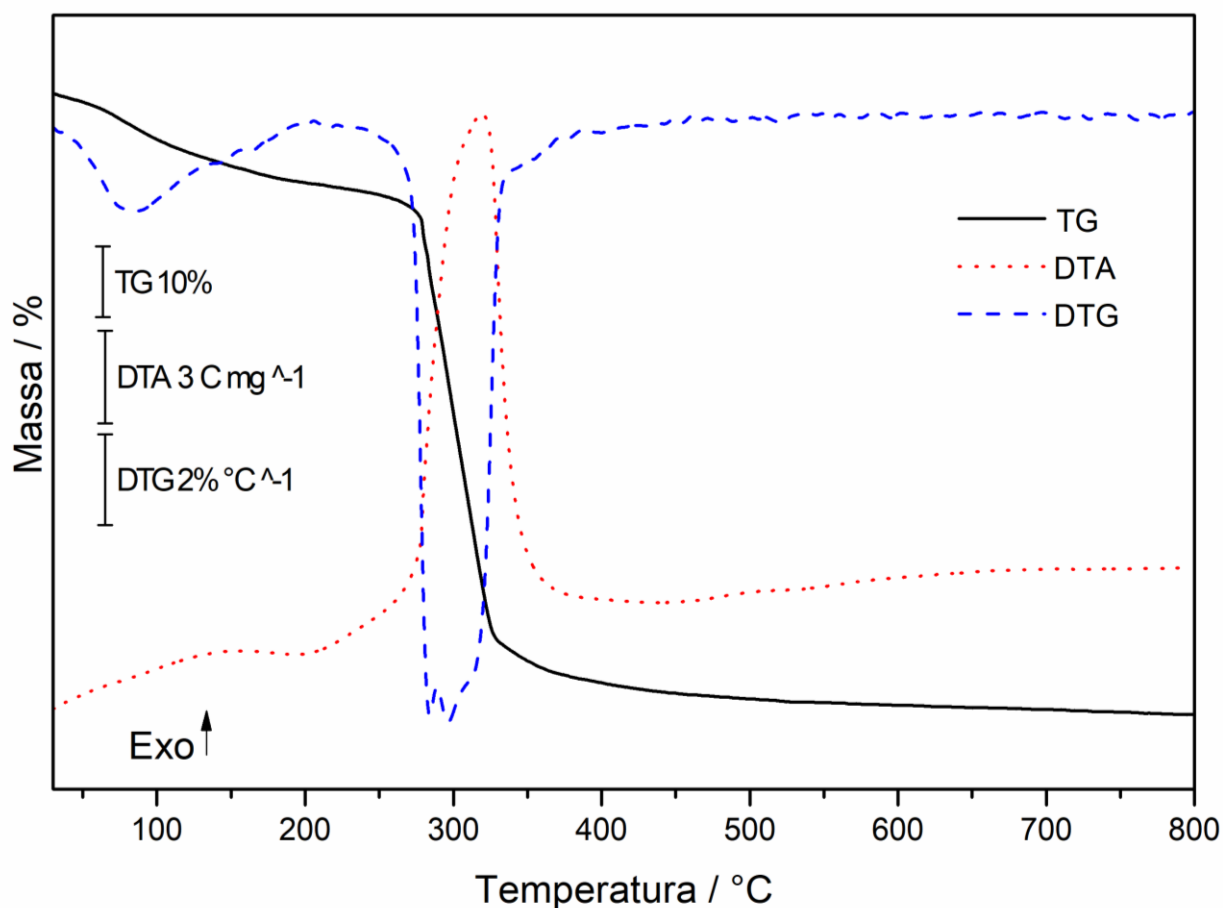


Figura 37: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de cobre.

Complexo de Zinco

As curvas TG/DTG-DTA do complexo de zinco estão apresentadas na Figura 38. Pode ser observado pelo perfil das curvas TG-DTA que o composto está hidratado, em função da perda de massa observada desde o início do aquecimento, aliado ao evento endotérmico alargado no início da curva DTA. A desidratação do composto ocorre em duas etapas de perda de massa, no intervalo compreendido entre 30,0-218,8 °C, correspondendo a perda de 13 moléculas de água ($\Delta m_{\text{calc}} = 13,38\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 12,46\%$) e está associada a endoterma entre 30,0-217,4 °C, presente na curva DTA.

Segundo a curva TG o composto anidro sofre decomposição térmica em três etapas de perda de massa consecutivas, entretanto, conforme a curva DTG mostra, são observadas pelo menos 4 etapas de perda de massa sobrepostas, em um mecanismo de decomposição complexo. Essas etapas de perda de massa ocorrem entre 218,8-496,6°C, sendo referente à decomposição térmica do ligante ($\Delta m_{\text{calc}} = 72,67\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 73,66\%$) e, que corresponde ao pico exotérmico em 447,8 °C na curva DTA. O resíduo final é referente ao ZnO^{78,79} ($\Delta m_{\text{calc}} = 13,95\%$; $\Delta m_{\text{TG}} = 12,97\%$).

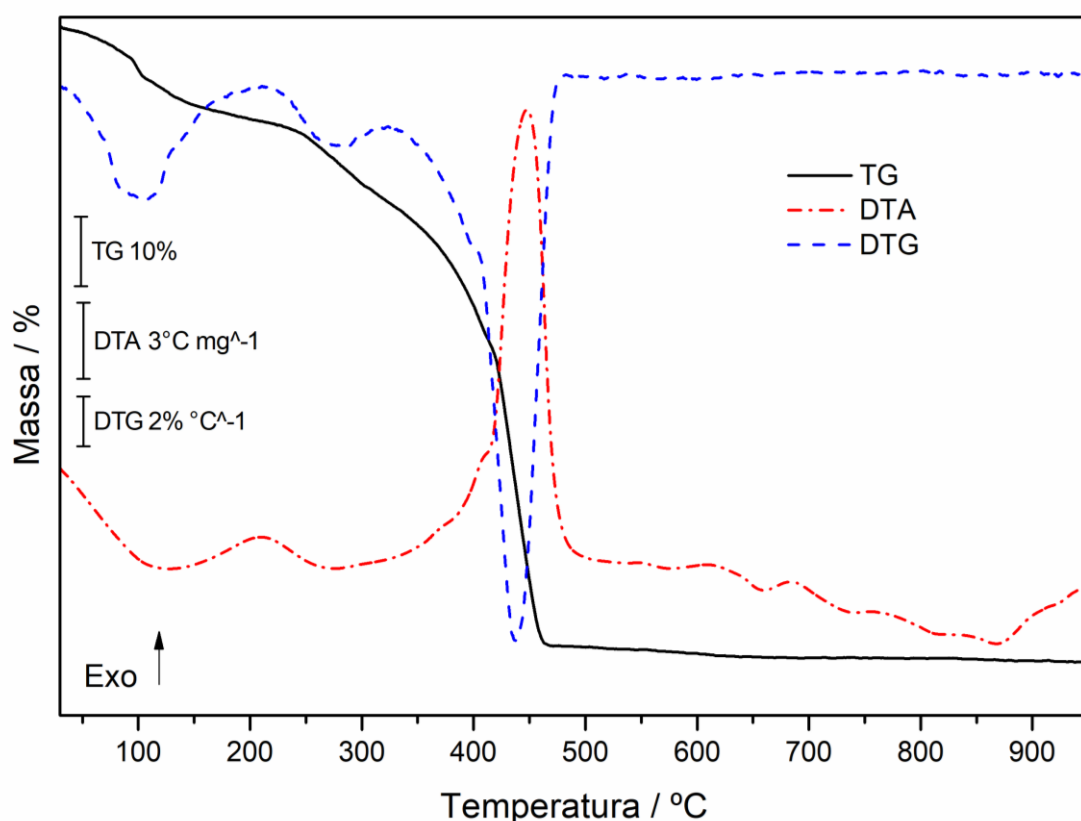


Figura 38: Curvas TG/DTG-DTA do complexo de zinco.

A estabilidade térmica dos compostos obtidos, dependem da natureza do íon metálico, abaixo segue ordem crescente de estabilidade térmica para os complexos em sua forma anidra: Co(II), Zn(II), Fe(II), Cu(II)

A partir estes resultados foi possível estabelecer a estequiometria dos compostos, os quais apresentam a seguinte fórmula mínima: $[\text{Fe}_3\text{L}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CoL}_2]$, $[\text{Cu}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e $[\text{Zn}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Os dados termoanalíticos dos compostos sintetizados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: 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 complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II).

Composto		1º etapa	2º etapa	3º etapa
$[\text{Fe}_3\text{L}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\theta/^\circ\text{C}$	30,0-73,3	229,9-373,4	373,4-516,9
	$\Delta m/\%$	4,23	21,42	58,93
	$T_p/^\circ\text{C}$			412,3↑
$[\text{CoL}_2]$	$\theta/^\circ\text{C}$	168,9-323,5	323,5-524,4	802,1-895,0
	$\Delta m/\%$	19,73	72,58	1,29
	$T_p/^\circ\text{C}$		464,3↑	
$[\text{Cu}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\theta/^\circ\text{C}$	30-93,1	93,1-257,6	257,6-690,2
	$\Delta m/\%$	4,84	7,42	72,82
	$T_p/^\circ\text{C}$	40,2-90,5**	153,1-254,1**	325,7↑
$[\text{Zn}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\theta/^\circ\text{C}$	30,0-73,3	229,9-373,4	373,4-516,9
	$\Delta m/\%$	4,23	21,42	57,31
	$T_p/^\circ\text{C}$	30,0-214,1**		412,3↑

↑=pico exotérmico; ↓=pico endotérmico; *= exoterma; **= endoterma

4.4.2 Caracterização espectroscópica dos complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II)

4.4.2.1 Espectroscopia vibracional Região do Infravermelho / IV

Os espectros de IV do ligante, ligante sódico (NaL) e dos complexos de Fe (II), Co (II), Cu (II) e Zn (II) se encontram dispostos na Figura 39. Sabe-se que ligantes contendo grupos carboxilatos podem apresentar distintos modos de coordenação, tais como monodentados, bidentados quelantes e em ponte.⁸⁰

Muitos trabalhos citam valores específicos de frequências em relação aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo carboxilato (COO^-) que sugerem qual tipo de ligação foi formada entre o grupo COO^- e o metal.^{68,80} Existem trabalhos específicos que mostram a coordenação de metais com a curcumina, 4-CBA e 4-hidroxila, entretanto o ligante sintetizado neste trabalho apresenta 3 carbonilas, sendo duas delas cetônicas e uma referente ao grupo ácido carboxílico. Em função disso, estes grupos tendem a apresentar os estiramentos vibracionais em regiões muito próximas, inclusive em alguns casos estando sobrepostas com os estiramentos vibracionais de $\text{C}=\text{C}$, tal como discutido na seção 4.2.3, tornando a interpretação de IV pouco trivial.

Ao analisar o espectro do NaL (Figura 39.b) nota-se a presença das bandas em 1690 e 1688 cm^{-1} , sendo que a primeira se encontra na mesma região que a carbonila cetônica da cumarina, a segunda é atribuída como estiramento assimétrico do grupo carboxilato, enquanto a banda atribuída ao estiramento simétrico pode ser observada em 1396 cm^{-1} . A banda em 1596 cm^{-1} é atribuída ao estiramento vibracional $\text{C}=\text{O}$ da parte curcuminica sobreposto com os estiramentos de $\text{C}=\text{C}$ do alceno, mesma interpretação para a banda em 1555 cm^{-1} .

Pode ser verificado que alguns padrões espectrais se repetem para todos os complexos, dentre eles: uma banda alargada entre 3695-2930 cm^{-1} , observa-se que para os compostos hidratados ($[\text{Fe}_3\text{L}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}_3\text{L}_2 (\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Zn}_3\text{L}_2 (\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), esta banda se encontra mais acentuada, sendo referente ao estiramento O-H das moléculas de água presente nestes compostos, seu alargamento é devido as ligações de hidrogênio que podem ser realizadas. Mesmo que mais sucinta, esta banda também é vista no complexo anidro ($[\text{CoL}_2]$), entretanto, esta banda é referente ao estiramento de O-H fenólico, a qual está alargada em função das interações de ligação de hidrogênio que este grupo pode participar.

A banda definida em 3512 cm^{-1} referente ao estiramento de OH fenólico presente no espectro do ligante desaparece nos espectros dos complexos, isto ocorre em função da sobreposição com as bandas comentadas anteriormente. Dificilmente este grupo foi

desprotonado, pois o pH trabalhado nas sínteses foi abaixo de 7, e, segundo Santiago e colaboradores, a desprotonação da hidroxila fenólica da curcumina ocorre a partir de pH 8.⁴ Contudo, existe a possibilidade de desprotonação das hidroxilas enólicas presentes na parte curcuminica e cumarinanica do ligante, posto que o pH trabalhado nas sínteses é próximo ao pKa desses grupos.^{4,81,82}

Ao analisar o espectro dos complexos, verifica-se que as bandas referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico estão deslocadas em relação aos observados no espectro do NaL. De acordo com Zelenak e colaboradores, para uma ligação bidentada quelante, o $\Delta(\text{COO}^-)$ complexos sintetizados $\ll \Delta(\text{COO}^-)$ sal sódico, e conforme indicado na Figura 39, e apresentado na Tabela 9, as variações são muito menores para os complexos em comparação com a variação dos estiramentos simétrico e assimétrico dos carboxilatos do sal.⁸⁰ Isto sugere que o grupo carboxilato do está coordenado aos metais de modo quelante bidentado.

Em função da sobreposição das bandas de grupos funcionais semelhantes, e em regiões próximas, é difícil atribuir todas as bandas observadas nos espectros dos complexos, as principais absorções estão apresentadas na Tabela 9. Em função disto, para melhor estudar os sítios de coordenação foram realizadas medidas experimentais de UV-Vis, a fim de estudar outros possíveis sítios de coordenação do ligante que estejam interagindo com os metais.

Tabela 9: Principais absorções do ligante, ligante sódico e dos complexos.

Atribuições ↓ Composto→	L	NaL	[Fe ₃ L ₂] ·4H ₂ O	[CoL ₂]	[Cu ₃ L ₂ (OH ₂) ₈] ·4H ₂ O	[Zn ₃ L ₂ (OH ₂) ₈] ·4H ₂ O
νOH	3512/ 3433-3290	3684-3005	3594-2968	3695- 2948	3671-2930	2673-3013
νCOOH	1687		-	-	-	-
$\nu\text{COO}^-_{\text{sim}}$	-	1668	1591	1567	1605	1624
$\nu\text{COO}^-_{\text{assim}}$	-	1396	1397	1428	1408	1416
$\Delta\nu\text{COO}^-_{\text{sim-}}$ $\text{COO}^-_{\text{assi}}$	-	272	194	139	197	208

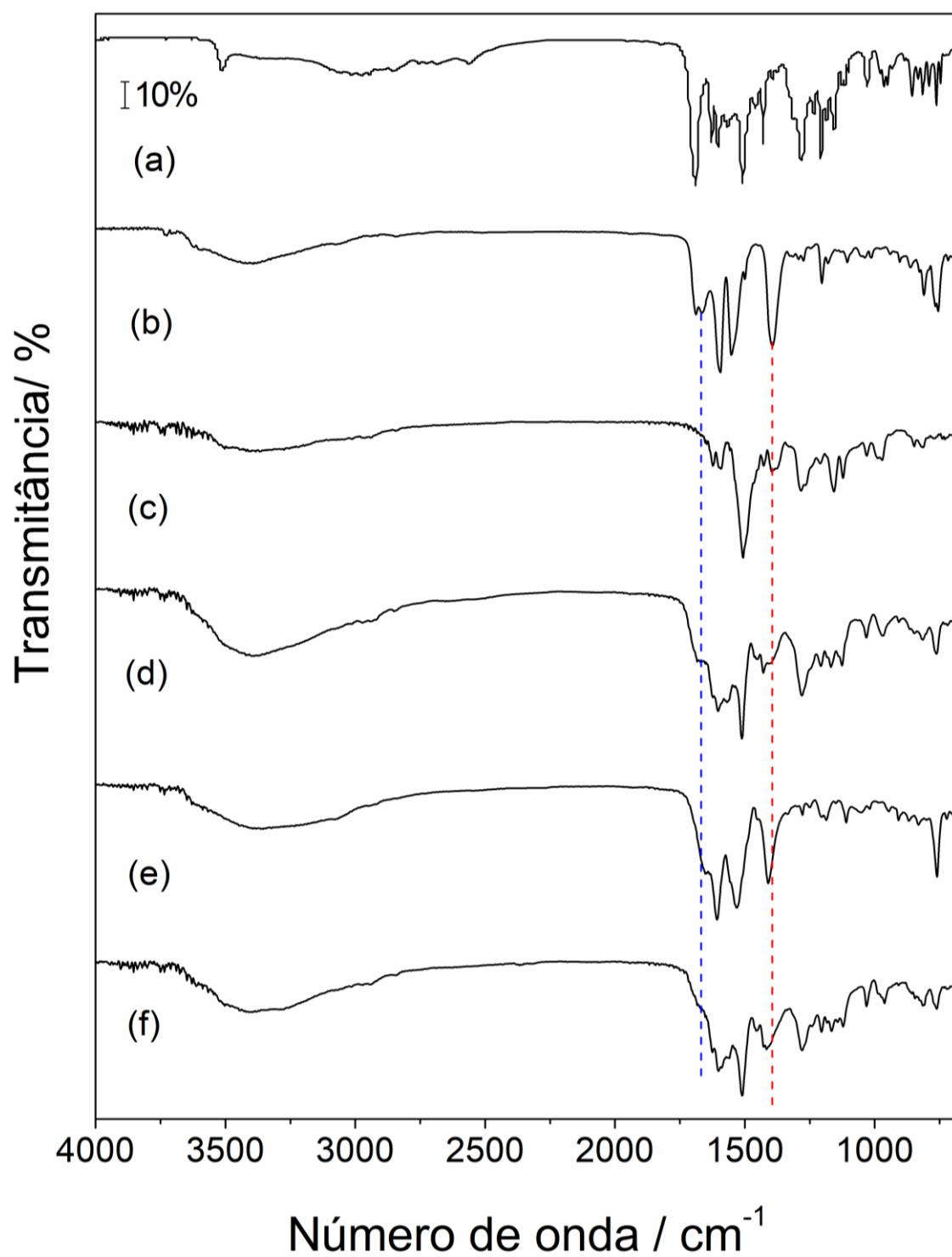


Figura 39: Espectros de IV da curcumina ,do ligante **(a)**, NaL **(b)** e dos complexos [Fe₃L₂]·4H₂O **(c)** , [CoL₂] **(d)**, [Cu₃L₂(OH₂)₈]·4H₂O **(e)** e [Zn₃L₂(OH₂)₈]·4H₂O **(f)**

4.4.2.2 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível / UV-VIS

Analisando o espectro do complexo de Fe (Figura 40.a), e comparando com o ligante e seus precursores de síntese, verifica-se que a banda referente a parte do 4-CBA no ligante se encontra deslocada, sugerindo uma interação pela carbonila do ácido com o metal. Posteriormente a banda observada em 310 nm, associada a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da parte cumarínica do ligante, se encontra um pouco deslocada no complexo, sendo observada em 307 nm, é observado também um efeito hipsocrômico em relação a esta banda, quando comparada com o espectro do ligante, sugerindo uma possível interação do Fe(II) com algum grupo presente nessa parte da molécula. Já a banda entre 406-511 nm está deslocada em relação ao ligante (428 e 449 nm), o que sugere uma interação da parte curcuminica do ligante, provavelmente da carbonila com o metal.

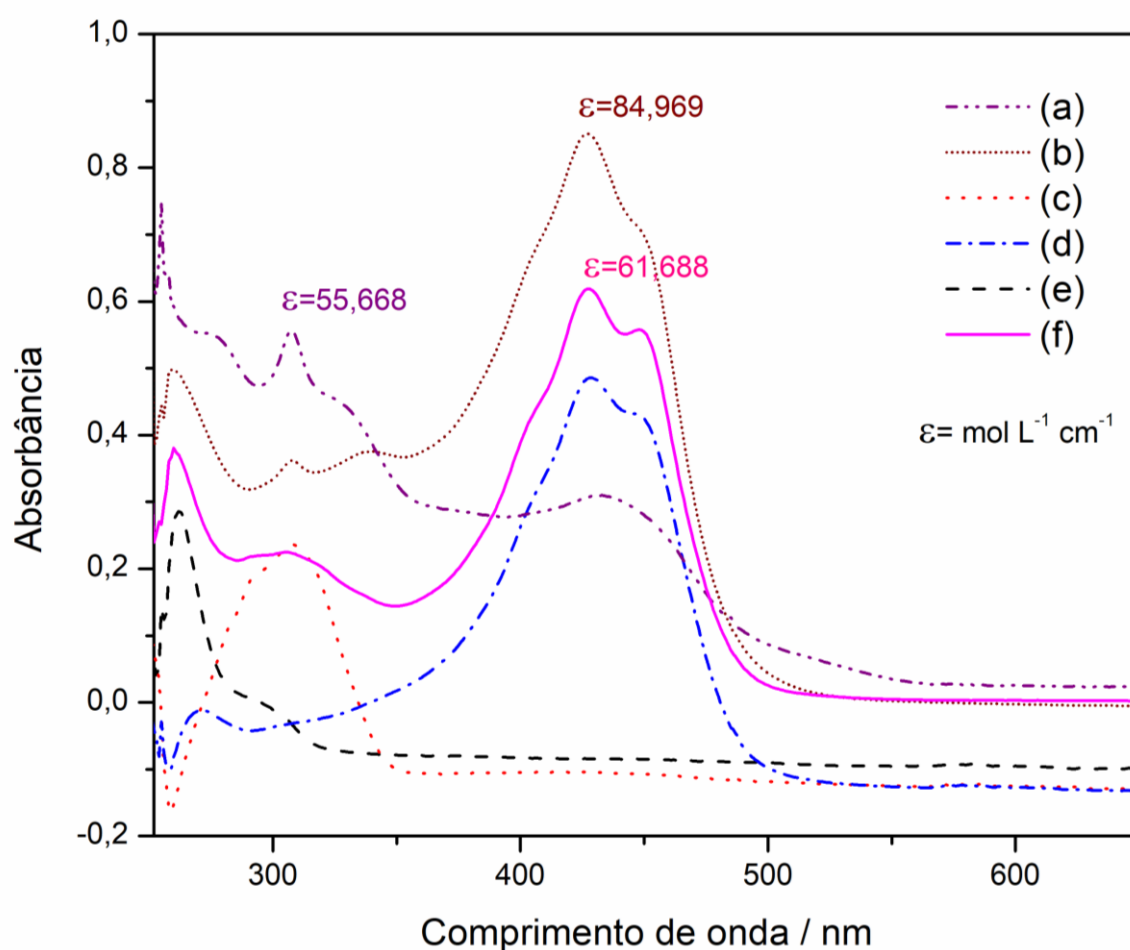


Figura 40: Espectros UV-Vis dos complexos de Fe(II) (a) e Co(II) (b), da 4-hidroxicumarina (c), curcumina (d), 4-CBA (e) e do ligante (f).

Analisando o espectro do complexo de cobalto (Figura 40.b), pode ser observado que o ombro antes visto no espectro do ligante (Figura 40.f) entre 284-352 nm desaparece, e surge uma banda em 310 nm. Estas observações sugerem que o cobalto esteja coordenado ao grupo carboxilado, e que o surgimento desta nova banda seja referente a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da parte cumarínica do ligante, que não interage com o metal.

Além disso, pode ser notado o surgimento de um ombro entre 320-350 nm, a qual pode ser relativa a transição de carga do ligante para o metal. As outras transições praticamente não apresentaram variações em relação ao ligante, o que sugere que não há interação na parte curcuminica do ligante.

As Figuras 41 e 42 mostram propostas de estruturas dos complexos de Fe(II) e Co(II) com base nos resultados termoanalíticos e espectroscópicos.

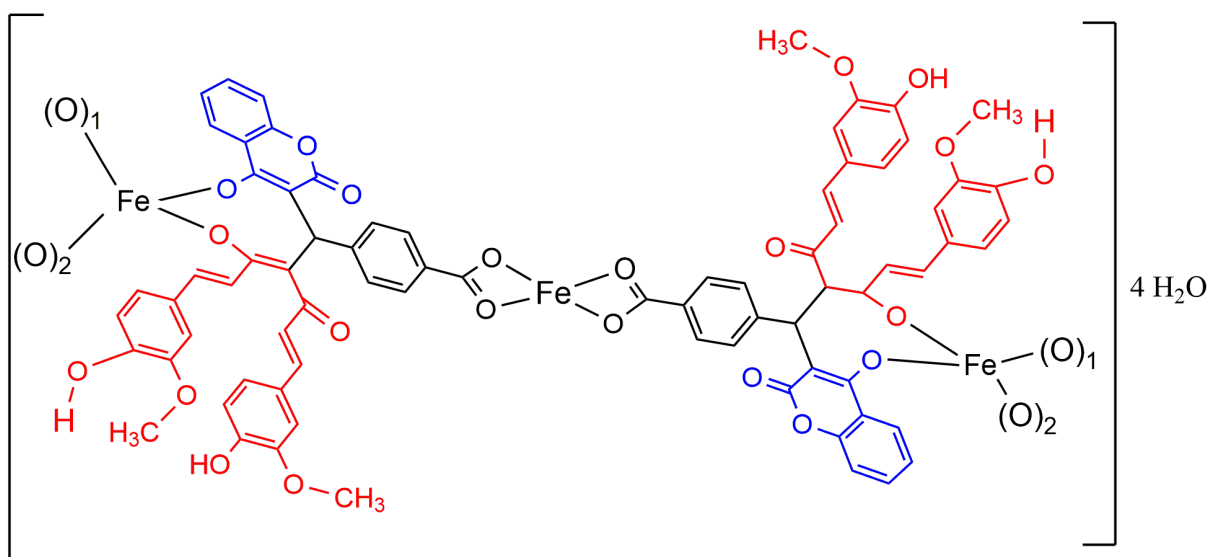


Figura 41: Proposta de estrutura para o complexo de Ferro II.

No caso do complexo de ferro, considerar (O)₁ como uma interação com os elétrons disponíveis de oxigênio da hidroxila fenólica e (O)₂ como uma interação com o oxigênio da carbonila cetônica da curcumina.

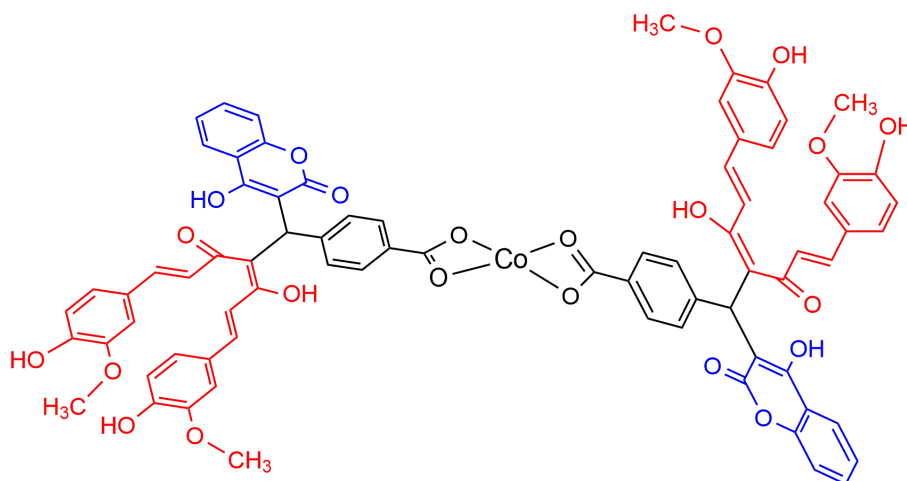


Figura 42: Proposta de estrutura para o complexo de Cobalto II.

O espectro de UV-Vis do complexo de Cu (II) está disposto na Figura 43.a, e como pode ser observado, difere muito do ligante. Analisando este espectro nota-se que a banda referente a parte do 4-CBA no ligante se encontra deslocada, sugerindo uma interação com grupo carboxilato desta parte do ligante. A banda observada em 310 nm no ligante, relativa a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ apresentou um pequeno deslocamento batocrômico, sendo observada em 307 nm no espectro complexo de cobre, e também observado também um efeito hipsocrômico em relação a esta banda, quando comparada com o espectro do ligante, sugerindo uma possível interação do Cu(II) com esta parte da molécula. O não desaparecimento total desta banda pode ser relativo ao fato de que muito provavelmente a hidroxila da parte cumarínica foi desprotonada, e somente este grupo interage com o metal. Por fim, observa-se que no espectro do complexo as bandas referentes a parte curcuminica desaparecem, o que auxilia a propor que provavelmente, os sítios presentes nesta parte do ligante estão coordenados com o cobre. Kanhathaisong e colaboradores sintetizaram um complexo de cobre com curcumina, e em seus estudos observaram que houve um deslocamento batocrômico intenso referente a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da molécula de curcumina, sendo observada em 373 nm no complexo. Isto sugere que esta é uma característica específica da coordenação da curcumina com o cobre, gerando este tipo de padrão espectral.⁸³

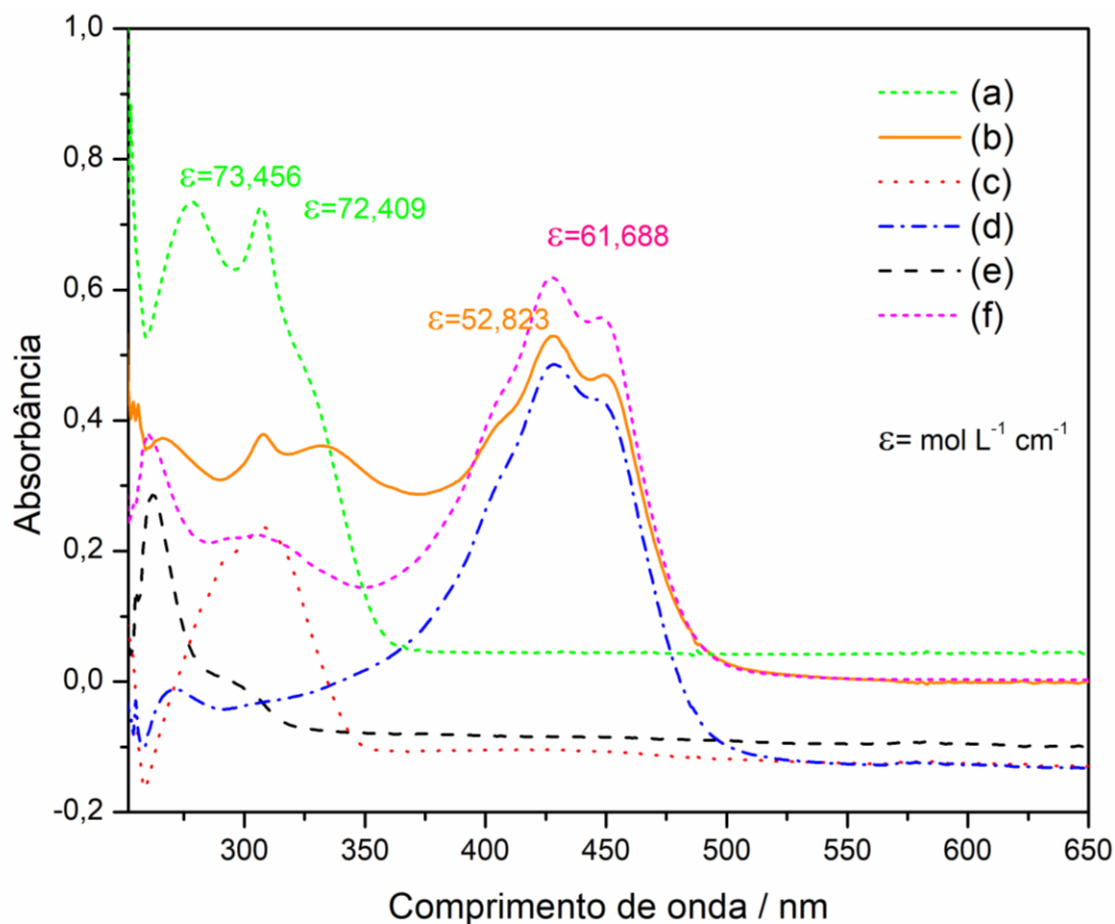


Figura 43: Espectros UV-Vis dos complexos de Cu(II) (a) e Zn(II) (b), da 4-hidroxicumarina (c), curcumina (d), 4-CBA (e) e do ligante (f).

A Figura 43.b mostra o espectro do complexo de zinco, como pode ser visto, a ausência do ombro entre sugere que o metal está coordenado com o grupo carboxílico da parte do 4-CBA no ligante. As bandas presentes no ligante referentes as partes cumarinica e curcumina se encontram deslocadas no espectro do complexo, sendo observadas em 307 cm^{-1} e $430/451\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. Estas observações sugerem que o metal interage com os sítios presentes nesta parte do ligante. De certa forma, este resultado já era esperado, uma vez que segundo as análises TG-DTA o composto apresenta estequiometria 3:2 metal: ligante. Acredita-se que o valor das absorções para cada espectro depende não somente da estequiometria do composto de coordenação, mas também da natureza do centro metálico.^{70,80}

As Figuras 44 e 45 mostram propostas de estruturas dos complexos de Cu (II) e Zn (II) com base nos resultados termoanalíticos e espectroscópicos.

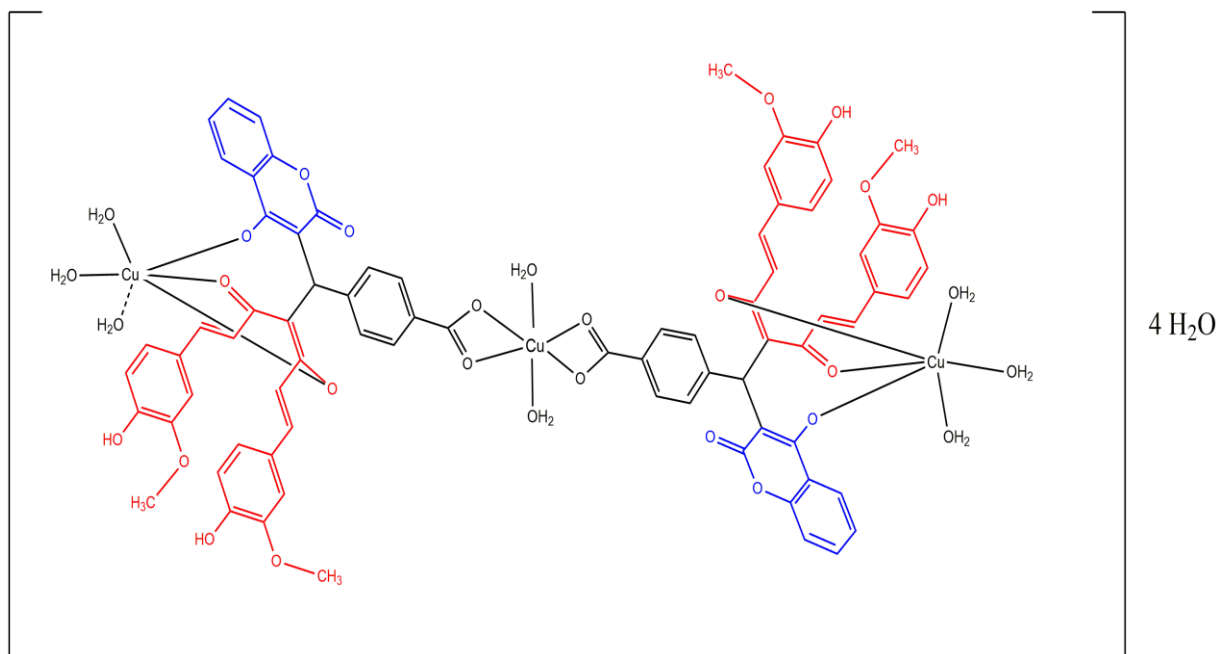


Figura 44: Proposta de estrutura para o complexo de Cobre (II)

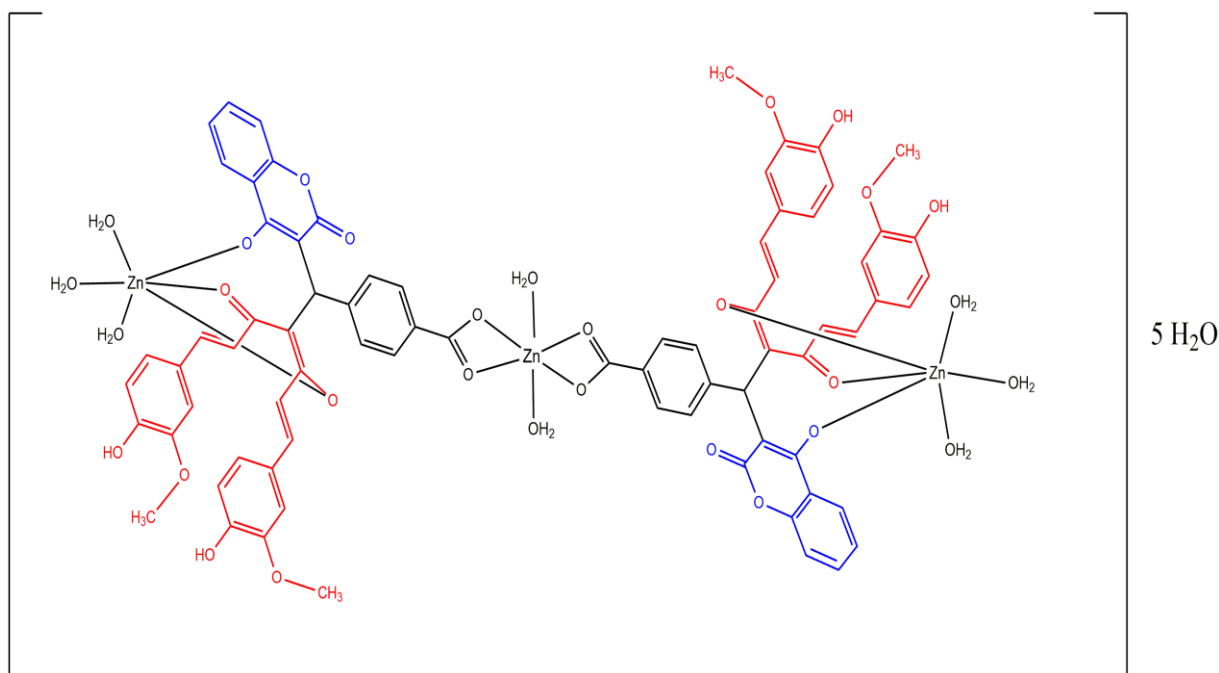


Figura 45: Proposta de estrutura para o complexo de Zinco (II)

4.4.3 Difratometria de raios X do pó / DRXP

Os difratogramas de raios X obtidos pelo método pó (Figura 46), mostram que os complexos de Fe(II), Cu(II) e Zn(II) apresentam baixa cristalinidade, enquanto o complexo de Co(II) apresenta cristalinidade um pouco mais acentuada em relação aos outros compostos de coordenação. Ao que tudo indica, além da velocidade de evaporação não ser controlada, o que pode influenciar na cristalinidade dos compostos, a estequiometria também pode estar influenciando. Os complexos de Fe(II), Cu(II) e Zn(II) apresentam estequiometria 2:3 (ligante:metal); enquanto o complexo de Co(II) apresenta estequiometria 2:1 (ligante:metal); para os três primeiros casos, existe uma maior possibilidade de ter sido gerado uma estrutura mais distorcida, em função da maior quantidade de metais, influenciando posteriormente no empacotamento da estrutura cristalina, gerando uma menor cristalinidade.

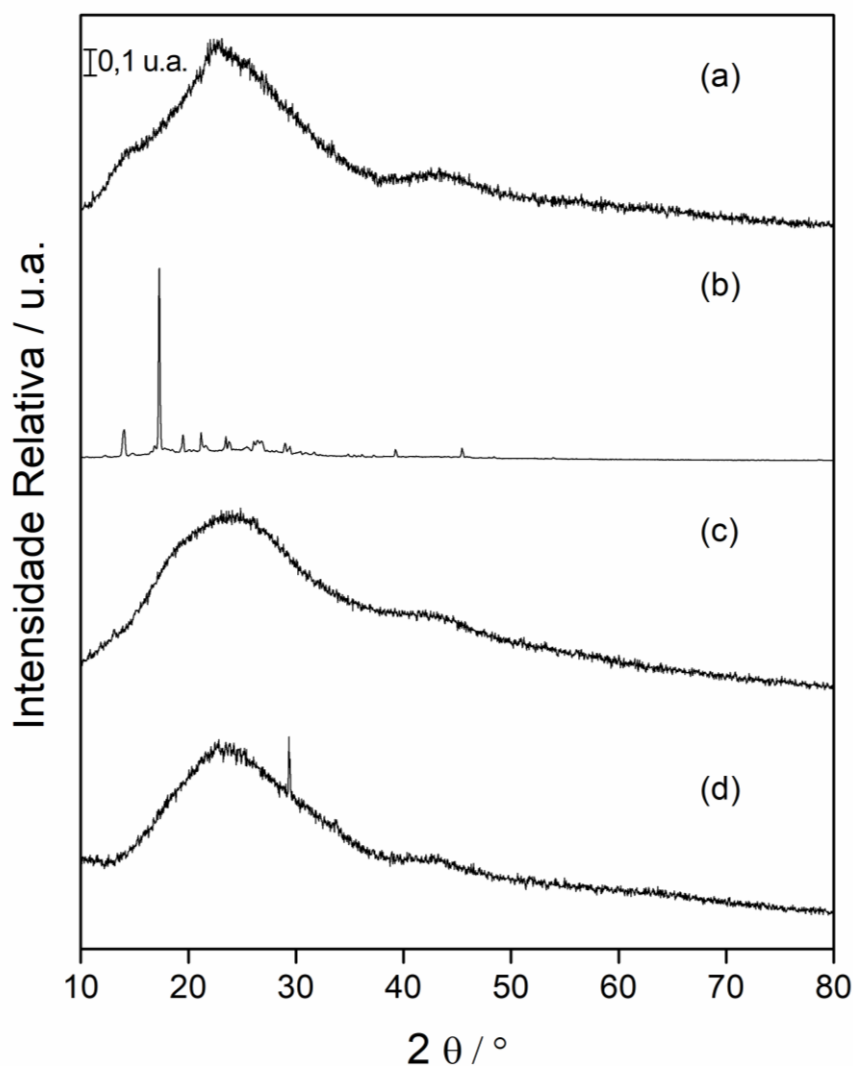


Figura 46: Difratogramas dos complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II).

4.5 Determinação da atividade biológica *in vitro* por microdiluição em caldo

A avaliação da atividade biológica dos precursores de síntese (4-hidroxicumarina e curcumina), bem como dos compostos sintetizados, foi realizada pelo método de Microdiluição em caldo, técnica padrão-ouro preconizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Intitute* (CLSI), órgão norte-americano que norteia os testes de sensibilidade de microrganismos frente as drogas com atividade antimicrobiana.⁵⁸

A 4-hidroxicumarina é molécula de caráter lipofílico e estrutura molecular planar, características que favorecem sua penetração através da membrana celular bacteriana, e, segundo os resultados obtidos, apresenta amplo potencial antibacteriano, uma vez que foi capaz de inibir o crescimento das duas cepas utilizadas nos testes.^{84,85} A CIM para a cepa de *Escherichia coli* foi de 171,57 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que para a cepa de *Staphylococcus aureus* foi de 93,75 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Já a curcumina, um polifenol de origem natural, mostrou excelente atividade antibacteriana frente a cepa de *Staphylococcus aureus*, com CIM de 13,672 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mas não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano da cepa de *Escherichia coli* nas concentrações utilizadas nos ensaios, que variaram de 1,98125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ até 1 mg mL^{-1} .^{86,87} Apesar do seu mecanismo de ação não estar totalmente claro, Rai e colaboradores demonstraram que a curcumina é capaz de interagir *in vitro* com a FtsZ, uma proteína tubulina do citoesqueleto dos procariotos homóloga à dos eucariotos, inibindo a proliferação bacteriana em *Staphylococcus aureus*.⁸⁶⁻⁸⁸

O mesmo estudo discutiu que a curcumina é capaz de formar ligações com o peptidoglicano da membrana externa da célula bacteriana e esta interação facilita a penetração da mesma pela estrutura de microorganismos gram positivos.^{88,89} Estes estudos auxiliam a explicar os resultados obtidos, uma vez que a curcumina exibiu atividade antibacteriana frente ao *Staphylococcus aureus*, um microrganismo Gram Positivo, que apresenta uma camada externa de peptidoglicano, pronunciada.^{88,89}

De modo oposto, observou-se que a curcumina não apresentou atividade significativa frente as cepas de *Escherichia coli*, microrganismo Gram Negativo, que apresenta membrana externa muito mais espessa e complexa, o que dificulta a permeação da molécula na membrana celular bacteriana.⁸⁹

A molécula do ligante derivado de cumarina e curcumina, herdou muitas das características químicas da curcumina, tal como a insolubilidade em meio aquoso, sendo necessário utilizar a CMC como adjuvante para a realização da determinação da atividade

biológica. Os resultados mostraram que frente a cepa de *Staphylococcus aureus*, obteve-se CIM de $2,94375 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto para as cepas de *Escherichia coli* nas concentrações testadas, não foi observado atividade significativa.

Na tentativa de gerar um composto solúvel em solução aquosa, foi realizado a síntese do ligante sódico. Esta etapa revelou importante ganho na solubilidade do composto, mas foi observado uma perda da capacidade de inibir o crescimento da cepa de *Staphylococcus aureus*, que havia sido observada anteriormente. É extremamente importante ressaltar que os compostos L e NaL são novos e independentes, com mecanismos de ação próprios, que precisam ser caracterizados para a correta interpretação destes resultados.

Os valores de CIM em ($\mu\text{g/mL}$) frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, obtidos em quadruplicatas são mostrados na Tabela 10, e como pode ser observado, são poucas as variações dos resultados obtidos.

Tabela 10: Valores de CIM em quadruplicata e valores médios ($\mu\text{g/mL}$) dos ensaios para a 4-hidroxicumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co (II), Cu(II) e Zn(II) frente as cepas de *Staphylococcus aureus* .

<i>S. aureus</i>	4-hidroxicumarina	Curcumina	L	NaL	Fe(II)	Co(II)	Cu(II)	Zn(II)
Teste 1	62,5	7,8125	1,98125	1000	125	125	125	31,25
Teste 2	62,5	15,625	3,90625	1000	125	125	250	31,25
Teste 3	125	15,625	3,90625	1000	125	125	250	31,25
Teste 4	125	15,625	1,98125	1000	125	125	250	31,25
Média	93,75	13,672	2,94375	1000	125	125	218,75	31,25

A Figura 47 mostra o gráfico de barras com erro de modo comparativo de todos os compostos testados, com base nos valores de CIM de cada um, frente as cepas de *S. aureus*. Enquanto a Figura 48 mostra uma expansão do gráfico apresentado na Figura 47, apresentando os compostos com melhor atividade, a fim de facilitar a visualização.

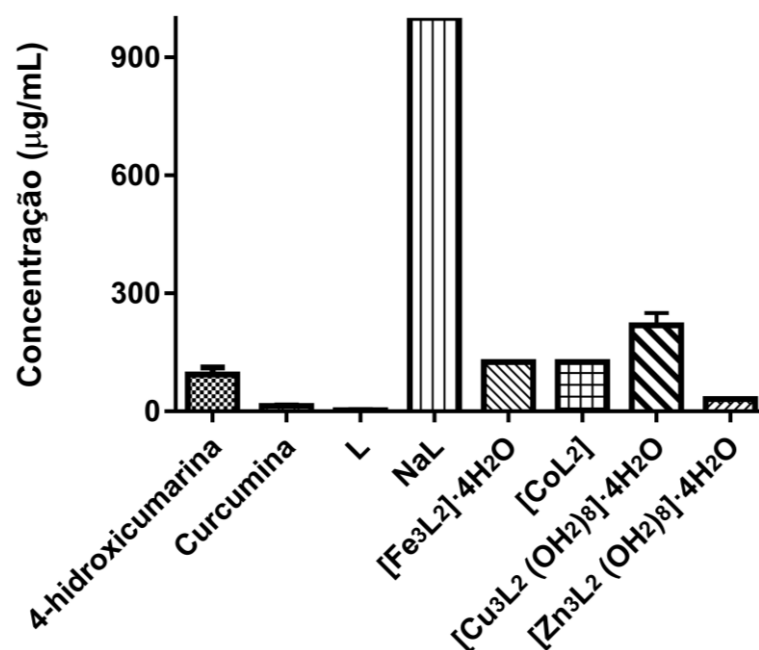


Figura 47: Gráfico de barras representando a CIM para a 4-hidroxicumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II) frente as cepas de *Staphylococcus aureus*

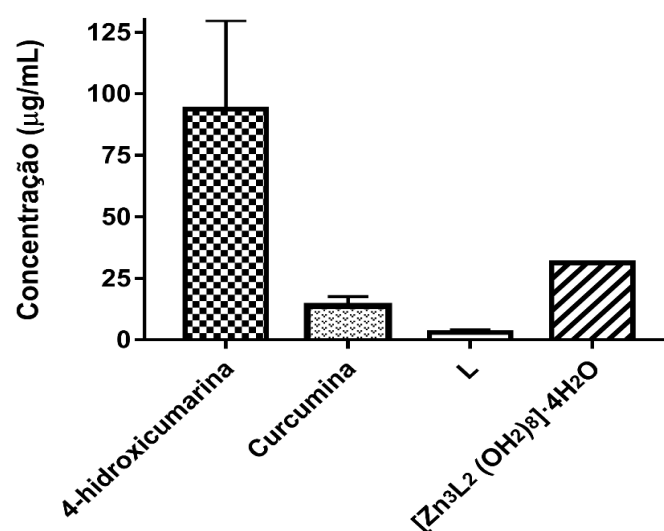


Figura 48: Compostos com melhor atividade biológica e menor CIM na presença das bactérias de *Staphylococcus aureus*

Os compostos de coordenação mostraram um importante ganho na atividade antibacteriana do ligante, já que este passou a ser capaz de inibir o crescimento das duas cepas testadas, mesmo com variações no centro de coordenação. Estes resultados corroboram com descrições da literatura de que a complexação de íons metálicos a moléculas que apresentam atividade antibacteriana faz com que sua capacidade de inibir o crescimento bacteriano seja incrementada (7).⁸⁹⁻⁹² Os complexos de Co(II) e Zn(II) foram os que apresentaram melhor atividade antibacteriana frente a cepa de *Escherichia coli*, com CIMs de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que o complexo de zinco teve melhor atividade frente a cepa de *Staphylococcus aureus*, com CIM de 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Os valores de CIM frente as cepas de *Escherichia coli*, podem ser observados nas quadruplicatas na Tabela 11 e, como pode ser observado, assim como no caso anterior, são poucas as variações dos resultados obtidos.

Tabela 11: Valores de CIM em quadruplicata e valores médios ($\mu\text{g/mL}$) dos ensaios para a 4-hidroxycumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe (II), Co (II), Cu (II) e Zn (II) frente as cepas de *Escherichia coli*

<i>E. coli</i>	4-hidroxycumarina	Curcumina	L	NaL	Fe(II)	Co(II)	Cu(II)	Zn(II)
Teste 1	250	1000	1000	1000	125	31,25	125	31,25
Teste 2	250	1000	1000	1000	125	31,25	125	31,25
Teste 3	62,5	1000	1000	1000	125	31,25	125	31,25
Teste 4	125	1000	1000	1000	125	31,25	250	31,25
Média	171,87	1000	1000	1000	125	31,25	156,2	31,25

A Figura 49 mostra um gráfico de barras com erros, de modo comparativo de todos os compostos testados, com base nos valores de CIM de cada um contra as cepas de *Escherichia coli*.

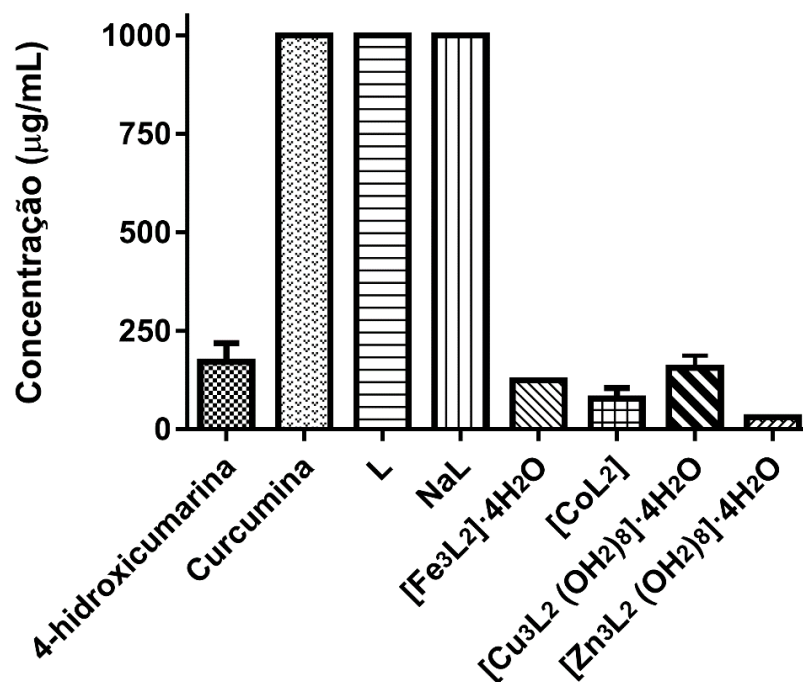


Figura 49: Gráfico com os valores de CIM para a 4-hidroxicumarina, curcumina, ligante (L), ligante sódico (NAL) e os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn II) frente as cepas de *Escherichia coli*

Segundo trabalhos reportados na literatura, levando em consideração o fármaco ciprofloxacino, que é um antibiótico de amplo espectro Gram Positivo e Gram Negativo, são tabelados valores médios de CIM para as cepas de *S. aureus* ATCC 25923 (0,125-0,5 µg/mL) e *E. coli* ATCC 25922 (0,125 µg/mL).⁹³⁻⁹⁵

Comparando estes valores com os resultados obtidos e apresentados neste trabalho, observa-se que para todos os compostos sintetizados, os valores de CIM se apresentam mais pronunciados, o que não é muito visado pela indústria farmacêutica, visto que buscam-se novos quimioterápicos com maior atividade em relação aos compostos existentes. No entanto, para as cepas de *E. coli*, obteve-se um valor médio de 2,94357 para o ligante, valor próximo ao CIM do ciprofloxacino. Isto indica que o ligante apresenta uma atividade biológica semelhante a um fármaco padrão, e instiga a realização de outros testes acerca de sua atividade.

5. CONCLUSÕES

As caracterizações dos precursores de síntese orgânica auxiliaram na discussão dos resultados obtidos para o ligante, de acordo com os espectros de FTIR foi possível identificar as bandas referentes aos principais grupos funcionais das moléculas. Além disso pôde ser estudado o comportamento térmicos destes compostos por meio das técnicas TG-DTA e DSC.

Com base nos resultados apresentados pelos espectros de RMN unidimensionais e bidimensionais, espectrometria de massas e IV, foi possível concluir que o método mecanoquímico foi eficiente na síntese de um novo composto, derivado de cumarina e curcumina. Além disso, a técnica de espectrometria de massas indicou que uma vez que a curcumina apresenta em sua composição outros curcuminoides como DMC e BDMC, foram formados também subprodutos com estes curcuminoides.

Os complexos de Fe(II), Co(II), Cu(II) e Zn(II) foram obtidos a partir de técnicas verdes, tais como precipitação e irradiação por micro-ondas convencional. De acordo os resultados termoanalíticos os compostos de coordenação apresentaram as seguintes estequiometrias: $[\text{Fe}_3\text{L}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{CoL}_2]$, $[\text{Cu}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Zn}_3\text{L}_2(\text{OH}_2)_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

As análises espectroscópicas de IV e UV-VIS dos complexos sugerem que em todos os complexos o ligante está quelando com os metais pelo carboxilato. De acordo com resultados apresentados pelas curvas TG/DTG-DTA as estabilidades térmicas dos compostos de coordenação na sua forma anidra seguem a respectiva ordem de acordo com o centro metálico $\text{Co(II)} < \text{Zn(II)} < \text{Fe(II)} < \text{Cu(II)}$.

Os testes biológicos realizados pela técnica de Microdiluição em caldo *in vitro* na presença das cepas de *S. aureus* mostraram que os compostos com melhor atividade e menor CIM seguem a seguinte ordem crescente $\text{NaL} < \text{Cu} < \text{Co} = \text{Fe} < 4\text{-hidroxicumarina} < \text{Zn} < \text{curcumina} < \text{L}$. Enquanto para as cepas de *E. coli* é observada a ordem crescente de CIM para os compostos testados $\text{NaL} = \text{L} < \text{Curcumina} < 4\text{-hidroxicumarina} < \text{Cu} < \text{Fe} < \text{Co} = \text{Zn}$.

Dessa forma, pode-se influir que a síntese de um derivado cumarínico curcumínico gerou um composto com maior atividade em relação aos precursores de síntese 4-hidroxicumarina e curcumina em relação a bactéria *E.coli*. Ademais, em todos os casos os complexos apresentaram atividade biológica, sendo que os menores valores de CIM são observados para o complexo de zinco.

6. REFERÊNCIAS

- 1 ROLAIN, J. M.; ABAT, C.; JIMENO, M. T. et al. Do we need new antibiotics?. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 5, p. 408–415, 2016.
- 2 LIVERMORE, D. M. The need for new antibiotics. **Clinical microbiology and infection**, v. 10, n. 4, p. 1–9, 2004.
- 3 SHAKYA, A. K. Medicinal plants: Future source of new drugs. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 59, n. 44, p. 59–64, 2016.
- 4 SANTIAGO, S. V.; MENDES –SILVA, G. P. RICARDO, D. D.; et al. Curcumina, o pó dourado do açafraão-da-terra: Introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 538–552, 2015.
- 5 JACKSON, N.; CZAPLEWSKI, L.; PIDOCKY, J. V. L. Discovery and development of new antibacterial drugs: learning from experience?. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.73, n.6, p. 1452-1459, 2018.
- 6 TACCONELLI, E.; CARRARA, E.; SAVOLDI, A.; et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3099, n. 17, p. 1–10, 2017.
- 7 ALANIS, A. J. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era?. **Archives of Medical Research**, v. 36, n. 6, p. 697–705, 2005.
- 8 HAMULAKOVA, S.; KOZURKOVÁ, M.; KUČA, K. Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. **Current Organic Chemistry**, v. 21, p. 602–612, 2017.
- 9 MOHAMMED, F.; DOUBELL, R. CASSIDY, S.; et al. A comparative study of the spectral, fluorometric properties and photostability of natural curcumin, iron- and boron-complexed curcumin. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 183, p. 439–450, 2017.
- 10 YOUSEFI, A.; YOUSEFI, R.; PANAHI, F.; et al. Novel curcumin-based pyrano[2,3-d]pyrimidine anti-oxidant inhibitors for α -amylase and α -glucosidase: Implications for their pleiotropic effects against diabetes complications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 78, p. 46–55, 2015.
- 11 PRÖHL, M.; SCHUBERT, U. S.; WEIGAND, W.; et al. Metal complexes of curcumin and curcumin derivatives for molecular imaging and anticancer therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 307, p. 32–41, 2016.

- 12 YANAGISAWA, D.; IBRAHIM, N.F.; MORIKAWA, S.; et al. Curcumin derivative with the substitution at C-4 position, but not curcumin, is effective against amyloid pathology in APP/PS1 mice. **Neurobiology of Aging**, v. 36, n. 1, p. 201–210, 2015.
- 13 AGGARWAL, B. B.; BHATT, I. D.; ICHIKAWA, H.; et al. Curcumin - Biological and Medicinal properties. **Tumeric: The Genus Curcuma**. Editora CRC Press, 2007, cap. 10, p. 297–368.
- 14 DE SOUZA, L. G.; RENNÄ, M. N.; FIGUEROA J. V. Coumarins as cholinesterase inhibitors: A review. **Chemico-Biological Interactions**, v. 254, p. 11–23, 2016.
- 15 THAKUR, A.; Singla, R.; JAITAK, V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 476–495, 2015.
- 16 SARKAR, K.; SEN, K. Some Drugs in Action: Metal Ions Do Influence the Activity! **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 1, p. 1–13, 2015.
- 17 DOS SANTOS, W. H. ; DA SILVA-FILHO, L. C. New method for the synthesis of chromeno [4,3-b]chromene derivatives via multicomponent reaction promoted by niobium pentachloride. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 9, p. 894–897, 2017.
- 18 DHIMAN, P. Oxidase, X. Antioxidant, Xanthine Oxidase and Monoamine Oxidase Inhibitory Potential of Coumarins: A Review. **Current Organic Chemistry**, v. 21, p. 294–304, 2017.
- 19 SOINE, T. O. Naturally Occuring Coumarin and related Physiological Activities. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53 n. 3, p. 247–255, 1964.
- 20 XU, L.; ZHAO, X. Y.; WU, Y. W.; et al. The Study on Biological and Pharmacological Activity of Coumarins. **Proceedings of the 2015 Asia-Pacific Energy Equipment Engineering Research Conference**, v. 1, p. 135–138, 2015.
- 21 SAHOO, J.; PAIDSETTY, S. K. Antimicrobial activity of novel synthesized coumarin based transitional metal complexes. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 12, n. 2, p. 115–124, 2017.
- 22 MUJAHID, M.; TRENDABILOVA, N.; ARFA, N. A.; et al. Novel silver(I) complexes of coumarin oxyacetate ligands and their phenanthroline adducts: Biological activity, structural and spectroscopic characterisation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 163, p. 53–67, 2016.

- 23 SUNTORSUK, L.; KOIZUMI, K.; SAITOH, Y.; et al. Anti-angiogenic effect of curcumin, curcumin ethylenediamine derivative and curcumin ethylenediamine manganese complex. **Journal of Traditional Medicines**, v. 21, p. 94-99, 2004.
- 24 WANNINGER, S.; LORENZ, V.; SUBHAN, A. et al. Metal complexes of curcumin - synthetic strategies, structures and medicinal applications. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 15, p. 4986–5002, 2015.
- 25 AJAVAKOM, V.; YUTTIHASERI, T.; CHANTANATRAKUL, R.; et al. Curcuminoids in Multi-Component Synthesis. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 13–20, 2017.
- 26 BANERJEE, R. Inhibitory Effect of Curcumin - Cu (II) and Curcumin (Zn) complexes on amyloid-Beta Peptide Fibrillation. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 23, p. 1-8, 2014.
- 27 SU, W.; WANG, X.; LEI, X.; et al. Synthesis, characterization, cytotoxic activity of half-sandwich rhodium(III), and iridium(III) complexes with curcuminoids. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 833, p. 54–60, 2017.
- 28 LO, K. K. W.; LI, S. P. Y. Utilization of the photophysical and photochemical properties of phosphorescent transition metal complexes in the development of photofunctional cellular sensors, imaging reagents, and cytotoxic agents. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 4, n. 21, p. 10560–10585, 2014.
- 29 MOUSSAWI, R.N.; PATRA, D. Modification of nanostructured ZnO surfaces with curcumin: Fluorescence-based sensing for arsenic and improving arsenic removal by ZnO. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 6, n. 21, p. 17256–17268, 2016.
- 30 ROGERIO, K. R. et al. Artigo Reações Multicomponentes : Um breve Histórico e a Versatilidade destas Reações na Síntese de Moléculas Bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6,p., 2016.
- 31 ALVIM, H. G. O.; SILVA Júnior, E. N.; NETO, A, D. B. What do we know about multicomponent reactions? Mechanisms and trends for the Biginelli, Hantzsch, Mannich, Passerini and Ugi MCRs. **Royal Society Chemistry Advances**, v. 4, n. 97, p. 54282–54299, 2014.
- 32 LEONARDI, M.; VILLACAMPA, M.; et al. Multicomponent mechanochemical synthesis. **Chemical Science**,v. 9, p.2042-2064, 2018.
- 33 SPIRO, T.G. Adventures in Bioinorganic Chemistry. **Inorganic Chemistry**, v. 46, n. 26, p. 10968–10980, 2007.

- 34 REGIEL, F.; DABROWSKI, M. J.; KYZIOŁ, A.; A.; et al. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. **Coordination Chemistry reviews** v. 351, p. 76–117, 2017.
- 35 BERALDO, Heloisa. **Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal**. Cadernos temáticos de química nova na escola n.6, p. 4–6, 2005.
- 36 KAIM, W; SCHWEDERSKI, B. Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life: An Introduction and Guide. New York: **John Wiley e Sons**, p-10-20; 1994.
- 37 BENITE, A. M. C. CONSIDERAÇÕES SOBRE A QUÍMICA BIOINORGÂNICA. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 131–142, 2007.
- 38 Anastas, PT, Warner, JC. Green Chemistry: Theory and Practice. 1st ed. Oxford: University Press; 1998.
- 39 DE LA HOZ, A.; DÍAZ-ORTIZ, A.; PRIETO, P. In: STEFANIDIS, G.; STANKIEWIECZ, A. Alternative Energy Sources for Green Chemistry, **Cambridge: Royal Society of Chemistry**, Cap. 1, p. 34-63, 2016
- 40 DE SOUZA, R.O.M.A. In: FANG, Z.; et. al. Production of Biofuels and Chemicals with Microwave, New York: Springer, Cap. 1, p. 3-16, 2015
- 41 ACHAR, K. T.; BOSE, A.; MAL P. Multicomponent synthesis of small molecules. **Journal of Organic Chemistry**, v. 13, p. 1907–1931, 2018.
- 42 3Wang, H. et al. Mechanochemical synthesis of advanced nanomaterials for catalytic applications. **Chemical Communications**, v. 51, p. 6698–6713, 2015.
- 43 CHEN, Y.; WU, H.; LIU, Z. Liquid-Assisted Mechanochemical Synthesis of Copper Based MOF-505 for the Separation of CO₂ over CH₄ or N₂. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 57, n. 2, p. 703–709, 2017.
- 44 BOWMAKER, G. A. et al. Solvent-assisted mechanochemical synthesis of metal complexes. **Dalton Transactions**, n. 22, p. 2926-2928, 2008.
- 45 WANG, M. et al. Ball mill assisted rapid mechanochemical extraction method for natural products from plants. **Journal of Chromatography A**, v. 16, p. 30467-30478, 2016.
- 46 MIAO, Y.R.; SUSLICK, K.S. Cap 9: Mechanochemical Reactions of Metal-Organic Frameworks. **Advances in Inorganic Chemistry**. Cambridge, USA; 2018, Ed. Elsevier, v. 71, p. 403-434.
- 47 LOY, S. V.; BINNEMANS, K. GERVEN, V. T. Mechanochemical-Assisted Leaching of Lamp Phosphors: A Green Engineering Approach for Rare-Earth Recovery. **Engineering**, v. 4, n.3, p. 398-405, 2018.

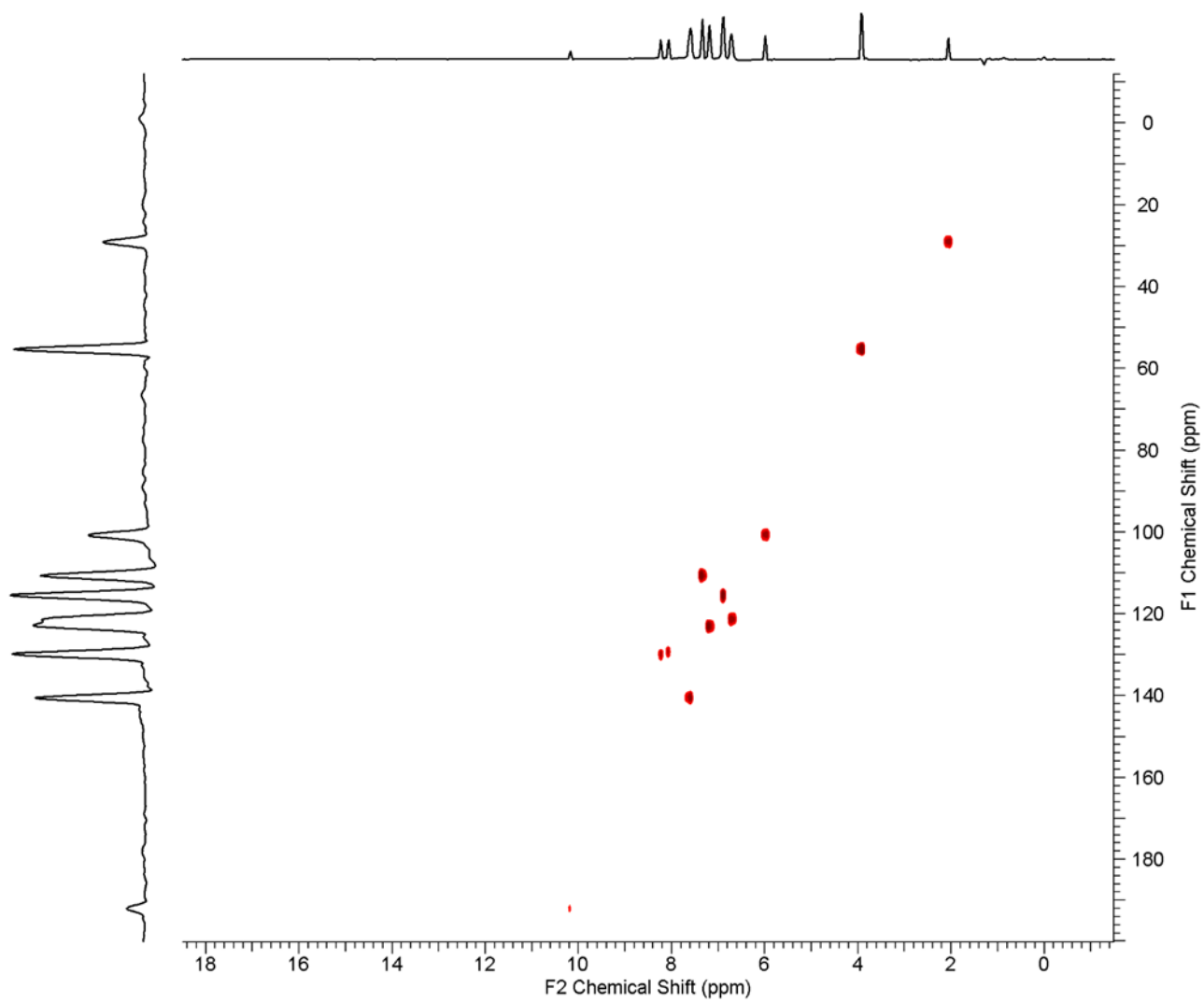
- 48 MARGETIĆ, D.; ŠTRUKIL, V. Cap 1: Practical Considerations in Mechanochemical Organic Synthesis. **Mechanochemical Organic Synthesis**,Amsterdã, 2016, Ed. Elsevier, v.1, p. 1–371.
- 49 Do, J. L.; FRIŠČIĆ, T. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. **Central Science**, v. 3, n. 1, p. 13–19, 2017.
- 50 KAUPP, G. Mechanochemistry: The varied applications of mechanical bond--breaking. **CrystEngComm**, v. 11, n. 3, p. 388–403, 2009.
- 51 SHELDON, R. A.; ARENDS, I.; HANEFELD, U. Green chemistry and catalysis. **WILEY-VCH**, Cap 1, p.1-15, 2007.
- 52 DE la HOZ, A.; DÍAZ-ORTIZ, A.; PRIETO, P.;STEFANIDIS, G.; STANKIEWIECZ, A. Alternative Energy Sources for Green Chemistry, **Cambridge: Royal Society of Chemistry**, Cap. 1, p. 34-63,2016
- 53 DE SOUZA, R.O.M.A.; FANG, Z.; et. al. Production of Biofuels and Chemicals with Microwave, New York: Springer, Cap. 1, p. 3-16, 2015
- 54 SILVA, A.M.G.; SILVA, V. L.M; Pinto, J.; et al. Avanços na Síntese Química: Síntese Assistida por Micro-ondas. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 125, p. 61-68., 2012.
- 55 LISDROM. P. TIERNEY, J.; WHATEY, B.; et al. Microwave assisted organic synthesis- a review. v. 57, n. 589, 2001.
- 56 DE SOUZA, R. O.; MIRANDA. S. S. Irradiação de micro-ondas aplicada à síntese orgânica: uma história de sucesso no Brasil. **Química Nova**, v. 34 p.497-506, 2011.
- 57 <https://wiki.anton-paar.com/en/microwave-assisted-synthesis/> acesso em 26 de novembro às 13:55 h.
- 58 CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
- 59 GABRIELSON, J.; HART, M.; JARELÖV, A.; KUHN, I.; MCKENZIE, D.; MÖLLBY, R. Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 50, p. 63-73, 2002.
- 60 OBASEKI, A. O.; PORTER W. A.; TRAGER W. F. 4-Hydroxycoumarin/2-hydroxychromone tautomerism: Infrared spectra of 2-¹³C and 3-D labeled 4-hydroxycoumarin and its anion. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v.1 , 385–390, 1981.

- 61 FARMER, V. C. Spectra and structure of 4-hydroxycoumarins. **Spectrochimica Acta** v. 15, p. 870-882, 1959 .
- 62 PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; et al Introdução à Espectroscopia. São Paulo, 4 ed: Cengage Learning, p. 35-58/249-260/443-446; 2015
- 63 KOLEV,T. et al. DFT and Experimental Studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, p. 1069-1079, 2005.
- 64 SIGMA Aldrich, Ficha de segurança, disponível em<
<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/124915?lang=pt®ion=BR>>
acesso de 12 de março de 2018.
- 65 HAISA, B.Y.M.; KASHINO, S.; et al. Topochemical Studies. VIII . The Crystal and Molecular Structures of two Polymorphs of 4-Formylbenzoic Acid .**Acta crystallographica**, p. 857–860, 1976.
- 66 ABDOU, M.M. Recent advances in 4-hydroxycoumarin chemistry. Part 1 : Synthesis and reactions. King Saud University, 2018.
- 67 TRAVEN, F. V; VOROBEVA, I. L; CHIBISOVA, T.A. et al. Electronic absorption spectra of hydroxycoumarin derivatives and their ionized forms. **Canada Journal of Chemistry**, v.75, p.365-376, 1997.
- 68 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.
- 69 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.
- 70 ZHANG, J.; ZHANG, L.; CHEN, Y. et al. Influence of Different Carboxylic Acid Ligands on Luminescent Properties of Influence of diferent Carboxylic Acid Ligands on Luminescent Properties of Eu (Lc) 3 phen (Lc = MAA , AA , BA , SA) Complexes. **Journal of nanomaterials**, p. 1-6; 2013.
- 71 MELNIKIV, P.; NASCIMENTO, V. A.; ARKHHANGELSKY, I. V. Thermal decomposition of iron (III) nitrate and characterization of intermediate products by the techniqe of computerized modeling. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 115, p. 145-151, 2013.
- 72 PATRINOIU G.; PATRON, L.; CARP, L.; et al. Thermal Behaviour of some iron (II) complexes with active therapeutically biguanides. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 129, p. 1875-1885, 2017.

- 73 PATRINOIU G.; PATRON, L.; CARP, L.; et al. Thermal Behaviour of some iron (II) complexes with active therapeutically biguanides. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 129, p. 1875-1885, 2017.
- 74 CHENG, J.; ZHENG, Y.; LI, Z.; et al. Catalytic reaction of ammonium perchlorate with energetic cobalt complex of 2, 6-diamino-3, 6-dinitropyrazine-1-oxide during thermal decomposition process. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 115, p. 145-151, 2013.
- 75 KANTOURI, M. L.; PAPADOPOULOS, C.; HATZIDIMITROU, A.; et al. Oxidized cobalt complexes of salicylaldehydes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 126, p. 1579-1590, 2016.
- 76 BARTYZEL, A. Synthesis, thermal behavior and some properties of Cu(II) complexes with N,O Schiff Bases. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 131, p. 1221-1233, 2018.
- 77 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.
- 78 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.
- 79 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.
- 80 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.
- 81 PYTELA, O.; KUHANÉK, J. Ortho effect in dissociation of benzoic acids with electron-acceptor substituents using the aise theory; relation to para substitution and solvent. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**. v.67, p 596-608, 2002.
- 82 NOWAK, P. W.; SAGAN, F.; MITORAJ, M. P. Origin of remarkably different acidity of hydroxycoumarins-Joint experimental and theoretical studies. **Journal of physical chemistry B**. v.121, p. 4454-4561, 2017.
- 83 KANHATHAISONG, S.; RATTANAPHANI, S.; RATTANAPHANI, V. et al. A spectroscopic investigation of the complex of turmeric dye with copper (II) in aqueous solution. **Suranaree Journal of Science and Technology**. v. 18, p. 159-165, 2011.

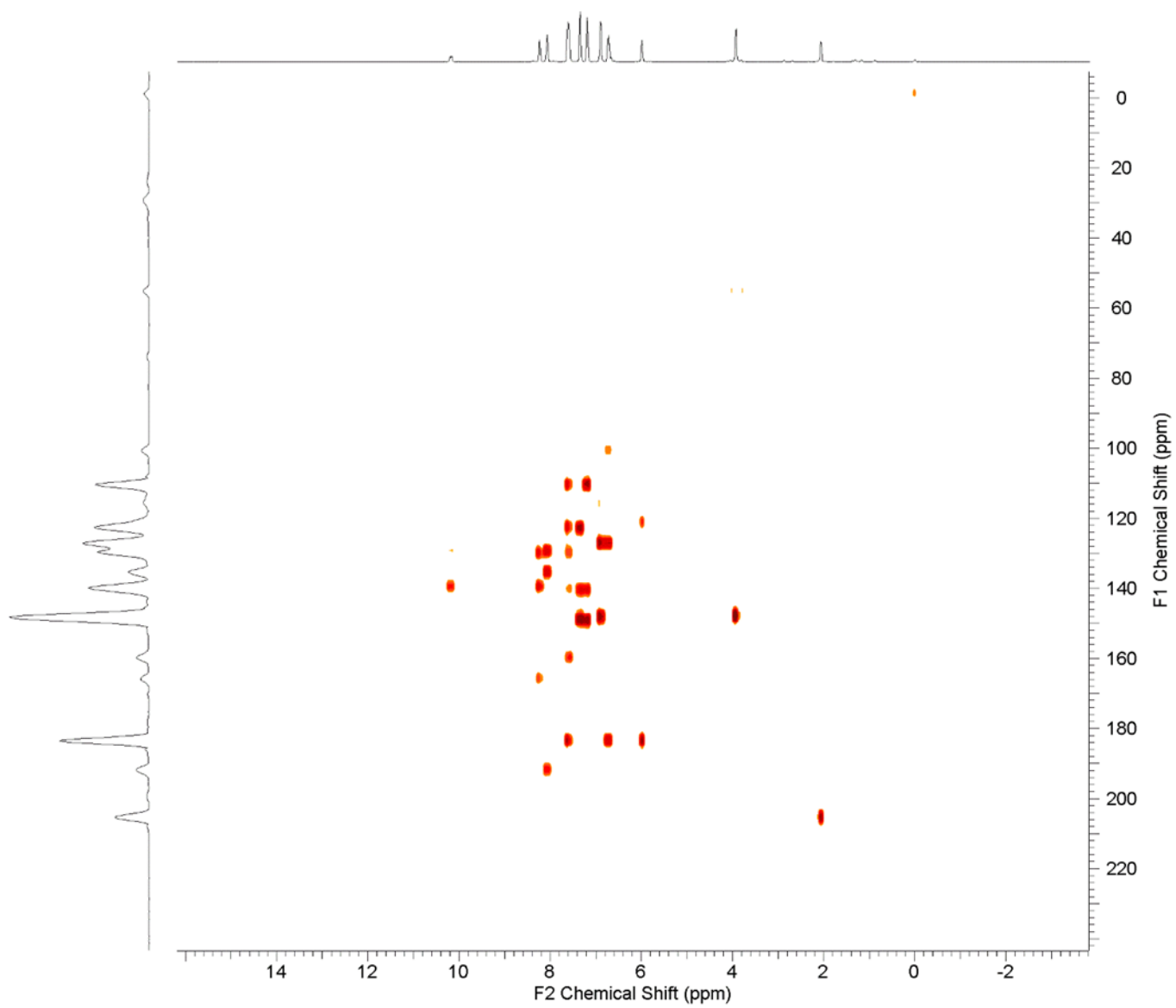
- 84 KAYSER, O; KOLODZIEJ, H. Antibacterial activity of simple coumarins: structural requirements for biological activity. **Z. Naturforsch.** v. 54(c), p.169-174, 1999.
- 85 SOUZA, S. M.; MONACHE, F. D.; SMÂNIA J. A. Antibacterial activity of coumarins. **Z. Naturforsch.**,v. 6, p. 693-700, 2005.
- 86 YUN, D. G.; LEE, D. G. Antibacterial activity of curcumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. **Applied Microbiology Biotechnology**,v. 100, p.5505-5514, 2016
- 87 MOGHADAMTOUSI SZ; Kadir HA; Hassandarvish P; Tajik H; Abubakar S; Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. **BioMed Research International**, 2014.
- 88 TEO SY; LIEW K; ALI,S.A.; KHOO A.S.B.; et al. Antibacterial action of curcumin against *Staphylococcus aureus*: A brief review. **Journal of Tropical Medicine**, 2016
- 89 RAI D.; SINGH J. K.; ROY N; PANDA D. Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity. **Biochemical Journal**, v.99, n.11, p.2217-2225, 2008.
- 90 ROCHA DP, PINTO G.F., RUGGIERO R.; et al. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**. V. 34, n.1, p. 111-118, 2011.
- 91 SUBHAM, M. A.; ALAM, K.; RAHAMAN, M.A; 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,
- 92 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.
- 93 CAMPION, J. J.; MCNAMARA, P. J.; EVANS, M. E. Evolution of Ciprofloxacin-Resistant *Staphylococcus aureus* in *In Vitro* **Pharmacokinetics Environments. Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.48; p. 4733-4744, 2004.
- 94 ROSS, J. E.; LIVERMAN, L. C.; JONES, R. N. Determination of Disk Diffusion and MIC Quality Control Guidelines for JNJ-Q2, a novel Quinolone. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 49, p. 3009-3011, 2011.
- 95 MACHUCA, J.; RECACHA, E.; BRIALES, A.; et al. Cellular response to Ciprofloxacin in Low-Level quinolone-resistant *Escherichia coli*. **Frontiers in Microbiology**. v.8; p-1370-1381, 2017.

7. APÊNDICE

Figura A 1: Espectro de HSQC do intermediário reacional

Fonte: Elaborado pela autora

Figura A 2:Espectro HMBC do intermediário reacional



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela A 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

Composto	Fusão	1° etapa	2° etapa	3 ° etapa
4-hidroxicumarina	$\theta^{\circ}\text{C}$	195,2-302,6	302,6-384,5	384,5-636,5
	$\Delta m/\%$	40,18	20,02	36,42
	$T_p/^{\circ}\text{C}$	216,1↓	280,1-360,4 **	559,8↑
curcumina	$\theta^{\circ}\text{C}$	202,9-382,9		382,9-682,0
	$\Delta m/\%$	31,80		68,20
	$T_p/^{\circ}\text{C}$	171,1↓	236,0-321,4 *	364,8-586,2*
4-carboxibenzaldeído	Ar	$\theta^{\circ}\text{C}$	167,1-215,3	215,3-354,0
		$\Delta m/\%$	6,16	83,77
		$T_p/^{\circ}\text{C}$	219,1 ↑ /314,6 ↑	518,0↑
	N₂	$\theta^{\circ}\text{C}$	169,7-278,9	278,9-317,6
		$\Delta m/\%$	95,61	3,08
		$T_p/^{\circ}\text{C}$	247,2↓	

↑=pico exotérmico; ↓=pico endotérmico; *= exoterma; **= endoterma

Tabela A 2: dados espectrais dos deslocamentos de Carbono e Hidrogênio e as correlações ^{13}C - ^1H a 1 J pelo HSQC e ^{13}C - ^1H ^3J - ^4J pelo HMBC

H	δ (ppm)	HSQC ^{13}C - ^1H δ (ppm)	HMBC ^{13}C - ^1H ^3J - ^4J
16a	10,17	C16	C15
14/14'	8,24-23	C14	C13/C15
13/13'	8,07-8,0	C13	C12/C16
7/7'	7,62-7,59	C7	C5/C8/C9
5/5'	7,35-7,34	C5	C1/C6
1/1'	7,19-7,18	C1	C5/ C3
2/2'	6,92-6,88	C2	C6
8/8'	6,73-6,71	C8	C11/C9
11	5,99	C11	C8/C9
17/17'	3,92	C17	C3