



**ISEL**

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA  
ÁREA DEPARTAMENTAL DE ENGENHARIA QUÍMICA**

# **SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS DE CURCUMINA COM POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

**ANA PATRÍCIA SEQUEIRA LOPES**

(Licenciada em Engenharia Química e Biológica)

Trabalho Final de Mestrado para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia  
Química e Biológica

Orientadores:

Professora Doutora Maria Paula Alves Robalo

Professora Doutora Maria de Fátima Monteiro Martins Minas da Piedade

Júri:

Presidente: Professora Doutora Rita Isabel Dias Pacheco

Vogais:

Professora Doutora Ana Catarina Cardoso Sousa

Professora Doutora Maria Paula Alves Robalo

Lisboa

2018





**ISEL**

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA  
ÁREA DEPARTAMENTAL DE ENGENHARIA QUÍMICA**

# **SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS DE CURCUMINA COM POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

**ANA PATRÍCIA SEQUEIRA LOPES**

(Licenciada em Engenharia Química e Biológica)

Trabalho Final de Mestrado para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia  
Química e Biológica

Orientadores:

Professora Doutora Maria Paula Alves Robalo

Professora Doutora Maria de Fátima Monteiro Martins Minas da Piedade

Júri:

Presidente: Professora Doutora Rita Isabel Dias Pacheco

Vogais:

Professora Doutora Ana Catarina Cardoso Sousa

Professora Doutora Maria Paula Alves Robalo

Lisboa

2018



## Agradecimentos

Este trabalho surgiu de muito esforço, dedicação e de um intenso trabalho no Instituto Superior de Engenharia de Lisboa e no Centro de Química Estrutural do Instituto Superior Técnico. Muitas foram as pessoas que passaram pelo meu caminho ao longo da elaboração deste trabalho e as merecem o meu agradecimento genuíno.

Quero começar por agradecer à Professora Paula Robalo, na qualidade de orientadora, por todo o conhecimento transmitido, esforço e dedicação, por toda a paciência e apoio. Quero agradecer principalmente por, para além de ter sido minha orientadora, ter sido uma grande amiga e alguém que irei guardar sempre com um enorme carinho ao longo de toda a minha vida.

Quero agradecer também à Professora Fátima Piedade, na qualidade de co-orientadora, por todo o conhecimento transmitido e conselhos, por toda a dedicação e disponibilidade demonstrada.

Quero agradecer também à Professora Catarina Sousa pelo apoio e força que me deu ao longo destes longos meses e também por toda a disponibilidade dada.

E como este trabalho advém de um longo percurso académico, quero agradecer aos meus amigos que me acompanham desde início, ao Diogo Sousa, à Joana Filipa, ao Ricardo Ferreira, ao meu Manuel Verganista, ao meu afilhado André Shimura, ao Luís Almeida e à Carina Fialho, por todo apoio, conselhos e ajuda, por todos os momentos em que trabalhamos juntos e por todos os momentos de lazer. Um especial agradecimento à minha afilhada Catarina Henriques pela ajuda e apoio a nível laboratorial, foi fundamental e também a nível pessoal por todos os conselhos. A estas pessoas que passaram pela minha vida um enorme obrigada por fazerem parte desta história e por me ajudarem a crescer enquanto pessoa e profissional, não seria possível sem eles.

Às meninas do laboratório, Joana e Beatriz e à Dona Amélia, que me apoiaram, ouviram e facilitaram a minha vida durante esta última etapa, o meu sincero obrigada.

Quero agradecer por último, mas não menos importante, à minha família. Aos meus pais e à minha irmã pelo apoio incondicional que me deram ao longo destes anos e por nunca terem duvidado de mim. Nada seria possível sem eles, são sem dúvida os melhores do mundo. Ao meu namorado, por todas as noites de escrita, pela compreensão, paciência e apoio que demonstrou ao longo deste percurso.



## Resumo

A curcumina é um dos compostos presente no açafrão-da-índia, da planta *Curcuma longa*. Tem despertado imensa curiosidade na comunidade científica devido às suas diversas atividades biológicas atuando em várias doenças inflamatórias, em vários tipos de cancro, diabetes, entre outras. No entanto, a curcumina, apesar dos seus benefícios, apresenta uma baixa biodisponibilidade devido à sua baixa solubilidade em água, ou seja, têm uma má absorção, metabolismo rápido e uma rápida eliminação o que limita significativamente os efeitos terapêuticos da mesma.

De forma a melhorar a solubilidade da curcumina em água e conseqüentemente as suas propriedades medicinais sintetizaram-se com sucesso diversos derivados curcuminóides utilizando dois métodos de síntese com condições reacionais distintas. Todos os derivados curcuminóides foram caracterizados por técnicas como RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC, COSY), FT-IR, UV-vis e raios-X de cristal único.

Foram efetuados testes antioxidantes de forma a se poder analisar a capacidade antioxidante de cada derivado curcuminóide sintetizado.

Foi necessário, também, estudar a solubilidade dos vários derivados em água, DMSO e meios fisiológicos, como o soro, com vista a estudar os curcuminóides como antidiabético visto que é uma das propriedades da curcumina.

Outra técnica utilizada para melhorar as propriedades físico-químicas de alguns dos compostos sintetizados, nomeadamente, a curcumina e alguns dos derivados curcuminóides, foi a co-cristalização por mecanoquímica, utilizando có-formeros, como o resorcinol, paracetamol, piperazina, entre outros, onde se obteve alguns co-cristais, analisados por raios-X de pós. No entanto, devido à solubilidade de algumas misturas ter aumentado significativamente põe-se a hipótese da existência de misturas eutécticas.

**Palavras-chave:** curcumina, derivados curcuminóides, solubilidade, co-cristalização, mecanoquímica, có-formeros.



## Abstract

Curcumin is one of the compounds present in the turmeric of the *Curcuma longa* plant. It has attracted immense curiosity in the scientific community due to its diverse biological activities acting in several inflammatory diseases, in several types of cancer, diabetes, amongst others. However, curcumin has a low bioavailability because of its low solubility in water. Curcumin has poor absorption, rapid metabolism and rapid elimination which significantly limits its therapeutic effects.

To improve the solubility of curcumin in water and consequently its medicinal properties, several curcuminoid derivatives have been successfully synthesized using two synthetic methods with different reaction conditions. All the curcuminoid derivatives were characterized by techniques such as NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC, COSY), FT-IR, UV-vis and single crystal X-rays.

Antioxidant tests were carried out to analyze the antioxidant capacity of each curcuminoid synthesized.

It was also necessary to study the solubility of the various derivatives in water, DMSO and biological environment, such as saline, to study the antidiabetic properties of curcuminoids.

Co-crystallization by mechanochemistry was used to improve the physicochemical properties of some of the synthesized compounds, namely curcumin and some curcuminoid derivatives. The co-formers used in the co-crystallization were resorcinol, paracetamol, piperazine, among others. Some crystalline powders were obtained and were analyzed by powder X-rays diffraction. However, the hypothesis is that are eutectic mixtures because the solubility of some blends has increased significantly.

**Keywords:** curcumin, curcuminoid derivatives, solubility, co-crystallization, mechanochemistry, co-formers.



## Lista de Abreviaturas

### A

*atm* - atmosfera

### B

*BDMC* - Bisdimetoxicurcumina  
*BONO* - 4,4-bipiridina N,N'dióxido

### C

*c.a.* - cerca  
*CE* - ceto-enólico  
*COSY* - <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COrrrelation SpectroscopY  
*CRP* - proteína C-reativa  
*CUR* - curcumina  
*CUR-FUR* - curcumina-ácido ferúlico  
*CUR-HQ* - curcumina-hidroquinona  
*CUR-NAM* - curcumina-nicotinamina  
*CUR-PHBA* - curcumina-ácido hidroxibenzóico  
*CUR-TA* - curcumina-ácido-L-tartárico

### D

*d* - duplete  
*DC* - diceto  
*DCM* - diclorometano  
*DMC* - dimetoxicurcumina  
*DMF* - N,N-dimetilformamida  
*DMSO* - dimetilsulfóxido

### E

*EAFUS* - Everything Added to Foods in the United States  
*eq.* - equivalentes

### F

*FAO* - Food and Agriculture Organization  
*FDA* - Food and Drug Administration  
 (agência reguladora de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos da América)  
*FT-IR* - Fourier Transform Infrared Spectroscopy  
 (espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier)

### G

*GRAS* - Geralmente Reconhecidos como Seguros

### H

*HXQ* - hidroxiquinol  
*HMQC* - <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

### I

*IV* - infravermelho

### J

*J* - constante de acoplamento

### M

*m* - multiplete

### N

*NaOEt* - Etóxido de sódio

**O**

<i>OMS</i>	- Organização Mundial de Saúde
------------	--------------------------------

**P**

<i>PFA</i>	- Produto Farmacologicamente Ativo
<i>PHL</i>	- floroglucinol
<i>PYR</i>	- pirogalol

**R**

<i>RES</i>	- resorcinol
<i>RMN</i>	- espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear
<i><sup>1</sup>H RMN</i>	- espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de próton
<i><sup>13</sup>C RMN</i>	- espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de carbono
<i>RNS</i>	- espécies reativas de azoto
<i>ROS</i>	- espécies reativas de oxigénio

**S**

<i>s</i>	- singuleto
<i>SLA</i>	- ácido salicílico

**T**

<i>t</i>	- tripleto
<i>TFA</i>	- ácido trifluoroacético

**U**

<i>UV</i>	- ultravioleta
<i>UV-vis</i>	- ultravioleta visível

**Símbolos**

$\lambda$	- comprimento de onda
$\eta$	- rendimento
$\varepsilon$	- coeficiente de absorção molar
$\delta$	- desvio químico

# Índice

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>v</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>vii</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>ix</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>xi</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>xvii</b>
<b>Índice de Tabelas</b> .....	<b>xxi</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>3</b>
1.1. Propriedades antioxidantes de curcuminóides.....	6
1.2. Propriedades anti-inflamatórias de curcuminóides.....	8
1.3. Doenças inflamatórias .....	10
1.3.1. Doenças cardiovasculares .....	10
1.3.2. Doenças neurodegenerativas .....	12
1.3.3. Alergias e asma bronquial.....	13
1.3.4. Obesidade .....	14
1.4. Cancro.....	14
1.5. Diabetes .....	15
1.6. Métodos de obtenção da curcumina .....	16
1.6.1. Extração e purificação da curcumina .....	16
1.6.2. Síntese da curcumina .....	17
1.6.3. Síntese dos derivados curcuminóides.....	18
1.6.4. Síntese da curcumina por micro-ondas.....	21
1.7. Co-cristalização .....	22
1.7.1. Co-cristais.....	22
1.7.2. Métodos de obtenção de co-cristais.....	24
1.7.3. Co-cristalização da curcumina e derivados curcuminóides .....	25
1.7.4. Misturas eutécticas .....	26
<b>2. Resultados e Discussão</b> .....	<b>31</b>

2.1.	Síntese dos derivados curcuminóides.....	31
2.2.	Modificações estruturais dos materiais de partida.....	34
2.2.1.	Funcionalização da posição $\alpha$ da acetilacetona .....	34
2.2.2.	Funcionalização do anel aromático do benzaldeído .....	35
2.3.	Caracterização estrutural dos compostos sintetizados:.....	36
2.3.1.	Análise por FT-IR .....	36
2.3.2.	Análise por ultravioleta-visível.....	39
2.3.2.1.	Análise comparativa dos vários compostos em acetona .....	39
2.3.2.2.	Análise comparativa dos compostos em vários solventes .....	41
2.3.3.	Caracterização estrutural por RMN.....	43
2.3.3.1.	$^1\text{H}$ -RMN.....	43
2.3.3.2.	$^{13}\text{C}$ -RMN .....	46
2.3.3.3.	RMN bidimensional – COSY .....	48
2.3.3.4.	RMN bidimensional – HMQC .....	49
2.3.4.	Raios-X de cristal único .....	49
2.4.	Testes de solubilidade para posterior aplicação .....	54
2.5.	Capacidade antioxidante da curcumina e derivados curcuminóides .....	54
2.6.	Co-cristalização por mecanoquímica .....	56
2.6.1.	Misturas Eutéticas .....	60
<b>3.</b>	<b>Conclusão e Perspetivas Futuras.....</b>	<b>63</b>
<b>4.</b>	<b>Procedimento Experimental.....</b>	<b>67</b>
4.1.	Considerações Gerais .....	67
4.1.1.	Reagentes e Solventes .....	67
4.1.2.	Cromatografia em camada fina .....	67
4.1.3.	Ponto de Fusão.....	67
4.1.4.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	67
4.1.5.	Espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-Vis) .....	67
4.1.6.	Micro-ondas .....	67
4.1.7.	Co-cristalização por mecanoquímica.....	68

4.1.8.	Difração de Raios-X.....	68
4.2.	Funcionalização da posição $\alpha$ – Sínteses e caracterização .....	68
4.2.1.	Síntese do 3-acetil-4oxopentanoato de terc-butilo (24) .....	68
4.2.2.	Síntese do ácido 3-acetil-4-oxopentanóico (25)· .....	69
4.2.3.	Outros métodos de síntese de ácido 3-acetil-4-oxopentanóico (25).....	70
4.2.3.	Síntese da 3-hidroxiiminopentano-2,4-diona (19) .....	70
4.2.4.	Tentativa de síntese de 3-aminopentano-2,4-diona (26) · .....	71
	Através da análise de RMN conclui-se que não era o produto pretendido.....	71
	Procedimento de ativação do zinco em pó .....	71
4.2.5.	Tentativas de síntese do 3-amino-4-hidroxibenzaldeído (27) .....	71
4.3.	Síntese e caracterização dos derivados curcuminóides.....	74
4.3.1.	Síntese do composto 1 .....	74
4.3.2.	Síntese do composto 12 .....	75
4.3.3.	Tentativa de síntese do composto 20 .....	77
4.3.4.	Síntese do composto 7 .....	78
4.3.5.	Tentativa de síntese do composto 21 .....	79
4.3.6.	Síntese do composto 16 · .....	79
4.3.7.	Tentativa de síntese do composto 22 .....	81
4.3.8.	Síntese do composto 13 .....	81
4.3.9.	Tentativa de síntese do composto 23 .....	82
4.3.10.	Síntese do composto 14 .....	83
4.3.11.	Síntese do composto 8 .....	84
4.3.12.	Síntese do composto 17 .....	84
4.3.13.	Síntese do composto 15 .....	85
4.3.14.	Tentativa de síntese do composto 18.....	86
4.4.	Co-cristalização por mecanoquímica .....	87
4.4.1.	Moinho de Bolas .....	87
4.4.2.	Moagem manual em almofariz .....	90
4.5.	Testes de solubilidades .....	91

4.5.1.	Em água e meio fisiológico para posterior aplicação em testes biológicos	91
4.5.2.	Em solventes orgânicos .....	92
4.6.	Teste da capacidade antioxidantes dos curcuminóides .....	92
	Referências Bibliográficas .....	97
	Anexo 1 .....	109
	Anexo 2 .....	111
	Anexo 3 .....	114

## Índice de Figuras

Figura 1 – Rizoma da <i>Curcuma longa</i> . .....	3
Figura 2 - Curcuminóides presentes no rizoma da curcuma (adaptado de 3) .....	4
Figura 3 - Tautomerismo ceto-enólico (adaptado de 5) .....	4
Figura 4 - Características estruturais da curcumina (adaptado de 7) .....	6
Figura 5 - Esquema da atuação da curcumina no processo de inflamação (adaptado 13) .....	9
Figura 6 – Compostos testados que apresentam uma melhor capacidade inflamatória: <b>a)</b> teste in vivo utilizando o edema da pata de rato- composto 4 ; <b>b)</b> composto estudado por Andler e colaboradores- composto 5 .....	10
Figura 7 - Derivado açucarado sintético da curcumina .....	12
Figura 8 - Curcumina e o seu análogo tetrahydrocurcumina (6) .....	16
Figura 9 – Método de síntese de curcumina segundo o método usado por Pabon ..	18
Figura 10 - Síntese do composto 2 (DMC) .....	19
Figura 11 - Principais unidades estruturais da curcumina.....	19
Figura 12 - Síntese de curcuminóides que utiliza 2,4-pentadiona ou 2,4-pentadiona 3- substituído .....	20
Figura 13 - Síntese de curcuminóides que utiliza 3-acetil-4oxopentanoato de terc-butilo ou ácido 3-acetil-4oxopentanóico .....	20
Figura 14 - Síntese para obter novos curcuminóides a partir da curcumina .....	21
Figura 15 - Síntese para a obtenção de compostos substituídos na posição central da cadeia carbonada .....	21
Figura 16 - Isoxazol da curcumina (11) .....	22
Figura 17 - Moinho de bolas Mixer Mill MM 4000 .....	24
Figura 18 - Tautómeros da curcumina .....	25
Figura 19 - Representação esquemática de (a) - co-cristal, (b) – mistura eutéctica .	26
Figura 20 - Derivados curcuminóides sintetizados.....	31
Figura 21 - Esquema geral de síntese dos derivados curcuminóides .....	31
Figura 22 - Esquema de síntese da alternativa de obtenção dos compostos 8 e 17.	32
Figura 23 - Composto 18.....	33
Figura 24 – Alternativa para a síntese do composto 18 .....	33
Figura 25- Compostos monosubstituídos.....	34
Figura 26 - Esquema de síntese para a obtenção do composto 24 .....	34
Figura 27 -Esquema de síntese para a obtenção do composto 25 .....	35
Figura 28 - Esquema de síntese para a obtenção dos compostos 19 e 26.....	35

Figura 29 - Esquema da tentativa de síntese do composto 27.....	35
Figura 30 - Esquema da síntese do composto 28.....	36
Figura 31 - Espectro de FT-IR do composto 16.....	37
Figura 32 – Espectros de absorção de UV-vis dos compostos 1, 7, 12-16 em acetona .....	39
Figura 33 – Espectros de absorção de UV-vis do composto 12 em vários solventes .	42
Figura 34 - Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (acetona-d <sub>6</sub> , 400 MHz) do composto 12.....	44
Figura 35 - Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (MeOD- d <sub>4</sub> , 400 MHz) do composto 7 .....	45
Figura 36 - Espectro de <sup>13</sup> C-RMN (acetona- d <sub>6</sub> , 400 MHz) do composto 12.....	46
Figura 37 – Composto 7 e 16 .....	47
Figura 38 - Espectro bidimensional de RMN - COSY – do composto 12 (MeOD- d <sub>4</sub> , 400 MHz).....	48
Figura 39 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C - <sup>1</sup> H HMQC (acetona- d <sub>6</sub> , 400 MHz) do composto 12 .....	49
Figura 40 - Estrutura de raios-X do composto 7.....	50
Figura 41 - Estrutura de raios-X do composto 7 com acetona .....	51
Figura 42 - Estrutura de raios-X de cristal único de 13, com a nomenclatura dos átomos .....	52
Figura 43 - Sobreposição do composto 7 com e sem solvente .....	53
Figura 44 - Sobreposição da curcumina, com o composto 7 (laranja) e com o composto 13 (rosa) .....	53
Figura 45 - Resultados dos testes antioxidantes.....	55
Figura 46 – Difractogramas de raios-X de pós do co-cristal do composto 12 com o ácido cítrico com os respetivos difractogramas de pós dos materiais de partida .....	58
Figura 47 - Difractogramas de raios-X de pós da reação do composto 13 com o paracetamol comparado com os respetivos difractogramas de pós dos materiais de partida	58
Figura 48 - Difractogramas de raios-X de pós do co-cristal do composto 13 com o resorcinol e os respetivos diagramas de pós dos materiais de partida.....	59
Figura 49 - Difractogramas de raios-X de pós da reação do composto 13 com piperazina e os respetivos diagramas de pós dos materiais de partida .....	59
Figura 50 - Esquema reacional da síntese do 3-acetil-4oxopentanoato de terc-butilo .....	68
Figura 51 - Esquema reacional da síntese de ácido 3-acetil-4-oxopentanóico.....	69
Figura 52 - Esquema reacional da síntese de 3-hidroxiiminopentano-2,4-diona .....	70
Figura 53 - Esquema reacional da síntese de 3-aminopentano-2,4-diona .....	71
Figura 54 - Esquema reacional da síntese do 3-amino-4-hidróxibenzaldeído .....	71

Figura 55 - Esquema reacional da reação .....	72
Figura 56 - Esquema reacional da síntese de 1.....	74
Figura 57 - Esquema reacional da síntese de 12.....	75
Figura 58 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 20 .....	77
Figura 59 - Esquema Reacional da síntese do composto 7 .....	78
Figura 60 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 21 .....	79
Figura 61 - Esquema reacional da síntese de 16.....	79
Figura 62 - Tentativa de síntese do composto 22.....	81
Figura 63 - Esquema reacional de síntese de 13.....	81
Figura 64 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 23 .....	82
Figura 65 - Esquema Reacional da síntese de 14 .....	83
Figura 66 - Esquema reacional da síntese do composto 8 .....	84
Figura 67 - Esquema reacional da síntese do composto 17 .....	84
Figura 68 - Esquema de reacional da síntese do composto 17 .....	85
Figura 69 - Esquema reacional da síntese do composto 15 .....	85
Figura 70 - Esquema reacional da síntese do composto 18 .....	86
Figura 71 - Espetro de FT-IR do composto 1.....	109
Figura 72 - Espetro de FT-IR do composto 7.....	109
Figura 73 - Espetro de FT-IR do composto 12.....	109
Figura 74 - Espetro de FT-IR do composto 13.....	110
Figura 75 - Espetro de FT-IR do composto 14.....	110
Figura 76 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 24.....	111
Figura 77 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 25.....	111
Figura 78 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 19.....	111
Figura 79 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 1.....	112
Figura 80 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 13.....	112
Figura 81 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{MeOD-}d_4$ , 400 MHz) do composto 14.....	113
Figura 82 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{MeOD-}d_4$ , 400 MHz) do composto 15.....	113
Figura 83 - Espetro de $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{MeOD-}d_4$ , 400 MHz) do composto 16.....	113
Figura 84 - Espetro de $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 1.....	114
Figura 85 - Espetro de $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 7.....	114
Figura 86 - Espetro de $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 13.....	114
Figura 87 - Espetro de $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 14.....	115
Figura 88 - Espetro de $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 16.....	115



## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Propriedades anti-inflamatórias dos análogos da curcumina e as respectivas referências.....	10
Tabela 2 - Rendimentos obtidos para cada uma das sínteses.....	32
Tabela 3 - Caracterização dos derivados curcuminóides por FT-IR.....	37
Tabela 4 - Dados relativos à absorvância e aos correspondentes comprimentos de onda dos vários derivados curcuminóides em acetona .....	40
Tabela 5 - Dados relativos à absorvância e aos correspondentes comprimentos de onda em diferentes solventes para o composto 12 .....	42
Tabela 6 - Distribuição dos tautômeros determinados por <sup>1</sup> H-RMN .....	45
Tabela 7 - <sup>13</sup> C-RMN de todos os derivados curcuminóides.....	47
Tabela 8 - Dados cristalográficos para o composto 7. ....	50
Tabela 9 - Dados cristalográficos para o composto 7 solvatado .....	51
Tabela 10 - Dados cristalográficos para o composto 13 .....	52
Tabela 11 - Reações de co-cristalização por mecanoquímica efetuadas.....	56
Tabela 12 - Resultados das várias reações efetuadas .....	57
Tabela 13 - Reações efetuadas pelo método 1 .....	88
Tabela 14 - Reações efetuadas pelo método 2 .....	90
Tabela 15 - Testes em água, meio fisiológico e DMSO .....	91
Tabela 16 - Tabela de solubilidades dos vários derivados curcuminóides .....	92
Tabela 17 – Resultados dos testes antioxidantes efetuados .....	93



# **Capítulo 1**

## **Introdução**



## INTRODUÇÃO

### 1. Introdução

A curcuma (*Curcuma longa*) (Figura 1), mais conhecida como açafrão-das-Índias, é uma especiaria que tem despertado bastante interesse na comunidade científica devido às suas propriedades medicinais. É uma planta herbácea, perene, tuberosa de folhas grandes e longas pertencente à família do gengibre que cresce num clima tropical sendo nativa do Sul da Ásia, Índia e Indonésia. As condições geográficas da região e as características do solo podem afetar o seu crescimento, a composição nutricional e a qualidade da planta.<sup>1, 2</sup>



Figura 1 – Rizoma da *Curcuma longa*.

Esta planta tem diversas utilizações por todo o mundo, por exemplo, na Índia, é utilizada como especiaria, no Japão é servida como chá, na Tailândia, é usada como cosmético e na China como corante, entre outras utilizações.<sup>3</sup>

Os extratos em pó das raízes secas desta planta podem conter óleos não voláteis e voláteis, proteínas, gordura, minerais, hidratos de carbono e curcuminóides. Os curcuminóides são uma mistura de três compostos principais: curcumina (1) (77 %), desmetóxicurcumina (2) (DMC, 17 %) e bisdesmetóxicurcumina (3) (BDMC, 3 %) – apesar dos estudos, efetuados nos dias de hoje, se focarem mais na curcumina, os outros curcuminóides também possuem atividade biológica, no entanto, a curcumina é muito mais eficaz devido à presença dos grupos metóxi no anel fenólico (curcumina (1) > DMC (2) > BDMC (3)). (Figura 2)<sup>3</sup>

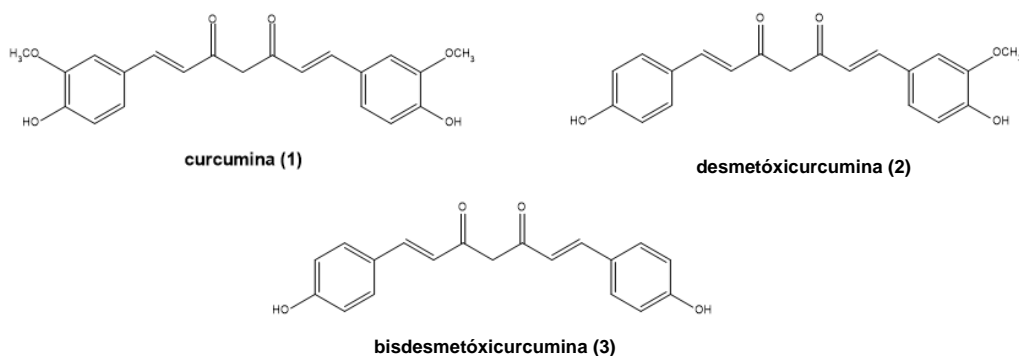


Figura 2 - Curcuminóides presentes no rizoma da curcuma (adaptado de 3)

A curcuma (1,7-bis(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona), cuja a fórmula química é  $C_{21}H_{20}O_6$ , é o componente mais ativo encontrado no rizoma da curcuma, constituindo 2-5 % do pó da mesma e é a responsável pela cor amarela da especiaria. Consiste em duas unidades aromáticas cada uma contendo um grupo metóxi e um fenólico, ligadas por uma cadeia polieno, dentro da qual existe um grupo ceto-enólico ou di-ceto. Foram determinadas três constantes de acidez, duas pertencentes aos grupos hidróxilo e um para o enol. <sup>4</sup>

O facto de a curcuma ser uma  $\beta$ -dicetona  $\alpha, \beta$ -insaturada faz com que esta apresente tautomerismo ceto-enólico, ou seja, a forma ceto existe em equilíbrio com o tautómero enol. A forma ceto predomina em soluções aquosas ácidas/neutras e no estado sólido enquanto que a forma enólica da cadeia heptadiona predomina em soluções aquosas alcalinas. As ligações C-H do carbono central são muito fracas devido à deslocalização de eletrões com os oxigénios vizinhos. A porção de equilíbrio ceto-enólico da curcuma determina as suas propriedades físico-químicas e antioxidantes. (Figura 3) <sup>5, 6</sup>

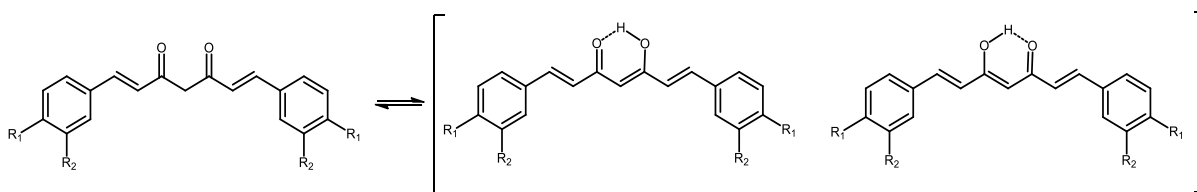


Figura 3 - Tautomerismo ceto-enólico (adaptado de 5)

É uma substância cujo ponto de fusão é aproximadamente 182 °C, lipofílica e fotossensível que não é solúvel em água a valores de pH ácido e neutro, no entanto, é altamente solúvel em solventes orgânicos próticos e apróticos polares – DMSO é o solvente recomendado para o trabalho biológico. <sup>2, 3</sup>

## INTRODUÇÃO

Em relação às propriedades fotofísicas, a curcumina tem o seu máximo de absorção dependente do solvente – varia entre 408 e 430 nm – e o seu máximo de emissão ainda mais dependente de solvente – ocorre entre 460 e 560 nm. A curcumina é fracamente fluorescente na água – emite aproximadamente a 540 nm e após a excitação a aproximadamente 465 nm – mas ao ligar-se a superfícies hidrofóbicas de proteínas, a fluorescência máxima muda para azul e a emissão é bastante aumentada.<sup>4</sup>

Nos tempos antigos, a curcumina apareceu nos métodos de tratamento da medicina Ayurveda – aplicados na Índia – para o tratamento de doenças de pele, lesões, infeções oculares e acne. Também era utilizada nos métodos tradicionais de tratamento designados por Jiawei-Xiaoyao – aplicados na China – no tratamento de várias doenças, nomeadamente, dispepsia, *stress* e depressão. Nos últimos 30 anos, a curcumina demonstrou ter propriedades antidiabéticas, antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, anti tumorais entre outras. Provou-se também que esta é capaz de modular efetivamente alvos moleculares que têm um papel importante na patogénese de muitas doenças. Determinou-se também que a curcumina desempenha um papel importante na regulação de citocinas, cinases, enzimas, fatores de crescimento e de transcrição, recetores, moléculas metastáticas em quase todas as fases do desenvolvimento de muitas doenças. O facto da sua estrutura possuir um alto nível de metilação e um baixo nível de hidrogenação, confere à curcumina melhores propriedades antioxidantes.<sup>2,3</sup>

Existem vários recursos na estrutura química da curcumina que a tornam favorável e versátil como parceira de ligação para uma variedade de moléculas alvo. Por exemplo, a curcumina possui dois grupos hidrofóbicos fenólicos conectados por uma cadeia relativamente flexível, o que permite que a molécula assuma diferentes conformações que podem maximizar as interações  $\pi$ - $\pi$  e de van der Waals com aromáticos e outros aminoácidos hidrofóbicos presentes nas proteínas. Os grupos hidróxi e metóxi, tal como os grupos cetona e enol, presentes nas extremidades e no centro da molécula, respetivamente, podem participar em interações fortes por pontes de hidrogénio. Por fim, a possibilidade do tautomerismo ceto-enólico introduz uma funcionalidade adicional para arranjar grupos doadores e aceitadores de ligações de hidrogênio. Além disso, as insaturações presentes na molécula podem servir como aceitadores de Michael para ataque nucleófilo por grupos tiol de resíduos de cisteína. (Figura 4)<sup>7-10</sup>

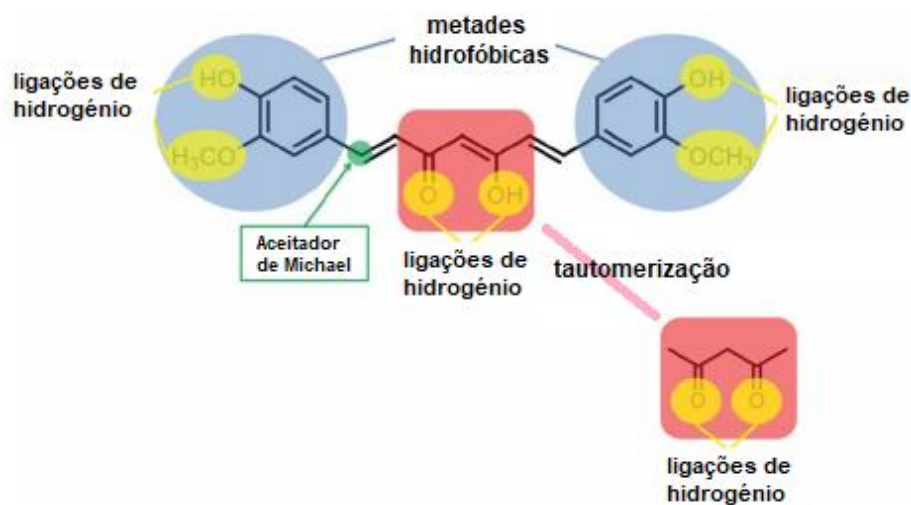


Figura 4 - Características estruturais da curcumina (adaptado de 7)

Através de estudos clínicos realizados com seres humanos, foi determinado que a curcumina era segura e eficaz mesmo quando usada em doses elevadas. Os curcuminóides foram aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) como ‘Geralmente Reconhecidos como Seguros’ – GRAS. <sup>2, 3</sup>

Por exemplo, a administração oral na dose de 6 g/dia por 4-7 semanas foi segura em humanos – no entanto, deve ser mencionado que a curcumina pode ser absorvida em pequenas quantidades no sistema gastrointestinal. Verificou-se também que esta era segura em determinadas doses (inferiores às doses orais) na administração intravenosa em seres humanos. Além disso, a curcumina é um agente não mutagénico e não genotóxico. <sup>11</sup>

Apesar dos seus benefícios, um dos principais problemas alimentares da ingestão de curcumina por si só é a sua baixa biodisponibilidade devido, principalmente, à sua má absorção, metabolismo rápido e rápida eliminação – o que limita significativamente os efeitos terapêuticos da mesma. Um estudo feito <sup>11</sup> provou que 60-70 % da curcumina administrada por via oral é eliminada nas fezes devido à baixa solubilidade em água, menor absorção e rápido metabolismo intestinal. De forma a melhorar a biodisponibilidade, foram testados vários agentes, sendo que a maioria deles foram desenvolvidos para resistir ao processo metabólico da mesma. Por exemplo, a piperina – componente ativo da pimenta do reino – um intensificador de biodisponibilidade está associado a um aumento de 2000 % na biodisponibilidade da curcumina criando um complexo com a mesma. <sup>2, 3</sup>

### 1.1. Propriedades antioxidantes de curcuminóides

A produção de espécies reativas nos organismos vivos decorre do normal metabolismo celular, inclusive durante o processo normal de cicatrização de feridas, são formadas, em

## INTRODUÇÃO

baixos níveis, espécies reativas de oxigénio (ROS) para uma defesa mais eficaz de invasores patógenos e para a sinalização intracelular – especialmente para a angiogénese. Uma vez produzidos, muitos dos radicais livres são neutralizados pelas defesas celulares antioxidantes (enzimas e outras moléculas). As espécies reativas exibem um papel duplo, apresentando simultaneamente ação benéfica e tóxica.

De forma a neutralizar os efeitos tóxicos dessas espécies, todas as células de mamíferos contêm um sistema de enzimas antioxidantes, bem como pequenas moléculas antioxidantes que podem desintoxicar radicais ou reparar moléculas oxidadas no local das feridas.<sup>12, 13</sup>

Em condições normais, a célula é capaz de manter um equilíbrio adequado entre oxidantes e antioxidantes. A produção excessiva de espécies reativas de oxigénio ou a diminuição dos níveis de espécies antioxidantes conduzem ao *stress* oxidativo, ou seja, a alteração do equilíbrio oxidante/antioxidante em favor do primeiro o que contribui para uma vasta gama de doenças como doenças inflamatórias, cancro, entre outras.<sup>12, 13</sup>

Em suma, existem vários fatores que podem retardar o processo de cicatrização o que resulta numa ferida crónica ou debilitada – um exemplo, é o *stress* oxidativo – sendo que nestes casos, existe a necessidade de uma terapia antioxidante. Esta terapia consiste na introdução de antioxidantes para atacar as espécies reativas de oxigénio – a sua eliminação na área da ferida é considerada uma abordagem vital para melhorar a cicatrização de feridas crónicas.<sup>12, 13</sup>

A curcumina melhora a cicatrização de feridas dérmicas, reduzindo as espécies oxidativas. A potente atividade antioxidante desta resulta da sua capacidade de transferir eletrões – devido à variedade de grupos funcionais, nomeadamente, dicetonas. No estudo de Sardjiman<sup>14</sup> concluiu-se que os compostos metóxicos são mais potentes que a curcumina, o que mostrou que os grupos metóxi são essenciais para uma melhor capacidade antioxidante. Os grupos hidróxi na posição *para* dos anéis aromáticos fornecem também a capacidade de remoção de ROS – estudos realizados mostram que estes grupos são fundamentais na atividade antioxidante – pois, estes reagem com os radicais livres de oxigénio.<sup>2, 15</sup>

O efeito da curcumina sobre os radicais livres é realizado por vários mecanismos diferentes: pode eliminar de diferentes formas os radicais livres, como espécies reativas de oxigénio e azoto (ROS e RNS, respetivamente), pode modular a atividade das enzimas ativas na neutralização de radicais livres e, além disso, pode inibir as enzimas geradoras de ROS.<sup>1,</sup>

A curcumina acelera o processo de cicatrização da ferida cicatricial, trabalhando nas fases inflamatórias, proliferativas e de remodelação da cicatrização de feridas sendo que a administração oral e aplicações tópicas são as formas preferidas para a toma. No entanto, na aplicação terapêutica, demonstrou um papel farmacológico restrito devido à sua baixa disponibilidade oral, metabolismo rápido e meia-vida curta. Para além disso, como visto anteriormente, o facto de ser um composto hidrofóbico – tendo assim uma baixa solubilidade em meios aquosos – torna-a num fármaco não adequado para a aplicação tópica na área da ferida. Recentemente, neste contexto, a utilidade tópica terapêutica da curcumina para a cicatrização de feridas foi otimizada pelo desenvolvimento de diferentes sistemas de entrega eficientes, cujo objetivo principal é alcançar uma melhor solubilização, proteger a curcumina contra a inativação por hidrólise e, acima de tudo, para formular uma plataforma para libertação sustentada e lenta do fármaco na forma solubilizada.<sup>12, 13</sup>

É de notar que a capacidade antioxidante da curcumina está diretamente ligada à capacidade preventiva do cancro. A sua simplicidade estrutural e a sua não toxicidade, juntamente com seus problemas, como a baixa biodisponibilidade, fizeram desta molécula um promissor composto líder para o desenvolvimento de potenciais agentes antioxidantes e quimiopreventivos do cancro.<sup>13</sup>

Embora a curcumina apresente atividade antioxidante, vários análogos foram desenvolvidos para melhorar essa propriedade. Estudos feitos concluíram que:

- a 5-clorocurcumina, preparada a partir da curcumina natural, possui atividade sequestradora de radicais livres;<sup>17</sup>
- um derivado pirazólico da curcumina, protege as células neuronais contra a toxicidade, diminuindo a formação de ROS, reduzindo também a apoptose - atuando nas mitocôndrias;<sup>18</sup>
- outro derivado da semicarbazona da curcumina (CRSC) também mostrou uma atividade antioxidante eficiente.<sup>19</sup>

## 1.2. Propriedades anti-inflamatórias de curcuminóides

A curcumina também é conhecida pela sua eficácia na inibição da proliferação de células inflamatórias, metástase e angiogénese através de vários alvos moleculares. Estudos de larga escala mostraram que a inflamação altera as vias de sinalização e, portanto, os mecanismos estão relacionados com o aumento de biomarcadores inflamatórios, peróxidos lípidos e radicais livres.<sup>13</sup>

Muitas doenças crónicas estão diretamente ligadas ao *stress* oxidativo, sendo que os processos patológicos estão relacionados com os da inflamação – um pode ser facilmente

## INTRODUÇÃO

induzido por outro – as células inflamatórias libertam uma série de espécies reativas no local da inflamação levando ao stress oxidativo.

O fator de transcrição NF- $\kappa$ B que se encontra ligado ao seu inibidor I $\kappa$ B $\alpha$  encontra-se inativo no citoplasma. As espécies reativas de oxigénio provocam uma série de sinalizações intracelulares que aumentam a expressão génica pró-inflamatória. Consequentemente o inibidor I $\kappa$ B $\alpha$  sofre uma fosforilação e o NF- $\kappa$ B é levado para o núcleo das células onde irá promover a transcrição de diversos genes relacionados com resposta inflamatória aguda, aumentando a inflamação.<sup>13, 20</sup>

A curcumina pode inibir o fator de transcrição inibindo a fosforilação do I $\kappa$ B $\alpha$ , prevenindo a sua deslocação para o núcleo e provocando, por sua vez, não ativando a transcrição de vários genes responsivos. (Figura 5)<sup>13</sup>

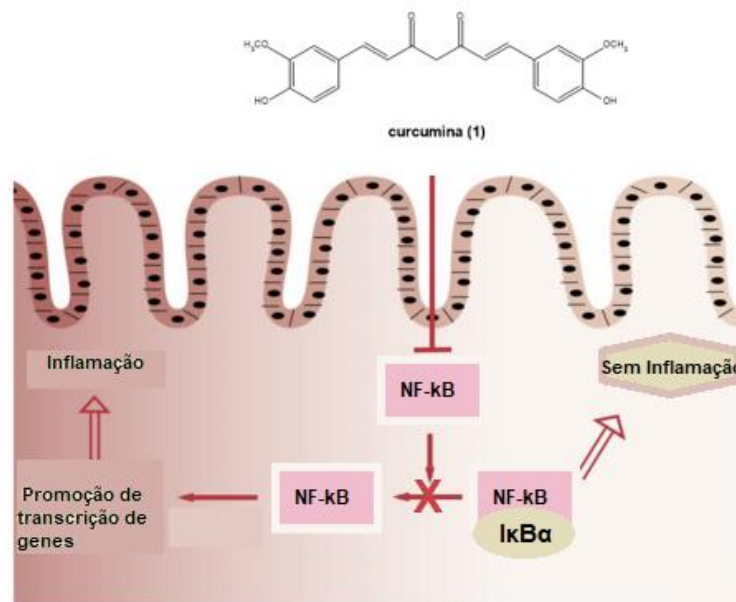


Figura 5 - Esquema da atuação da curcumina no processo de inflamação (adaptado 13)

Esta propriedade está associada à simetria da estrutura, posição dos substituintes juntamente com o número de grupos metóxi, para além disso, um estudo realizado mostrou que a presença das ligações duplas na cadeia linear e os grupos hidróxi na posição *para* do anel aromático são bastante importantes para esta propriedade.<sup>2, 21, 22</sup>

Sendo assim, a curcumina é indicada pela sua eficácia no tratamento de várias doenças inflamatórias, como obesidade, diabetes, doenças neurológicas e doenças inflamatórias intestinais.<sup>2</sup>

Apesar da curcumina ser bastante eficaz, outros análogos foram testados *in vivo* utilizando o edema da pata de rato.<sup>23</sup> Dos compostos testados o que apresentou maior

percentagem de inibição é o que contem, na posição *para* e na posição *meta* dos anéis aromáticos, grupos hidróxilo (Figura 6a). Outra conclusão foi que o facto de substituir o esqueleto de  $\beta$ -dicetona da curcumina por um anel pirazol aumentou também a atividade anti-inflamatória.<sup>13</sup>

Andler e colaboradores<sup>24</sup> examinaram uma série de análogos de curcumina e todos mostraram uma elevada taxa de inibição de mediadores inflamatórios, mas o composto que contem apenas um grupo éster na posição *para* do anel aromático (Figura 6b) foi o mais eficiente, o que tornou possível concluir que substituintes lipofílicos e polares no anel aromático, como grupos metóxi ou metil éster, melhoram as capacidades anti-inflamatórias dos compostos.<sup>13</sup>

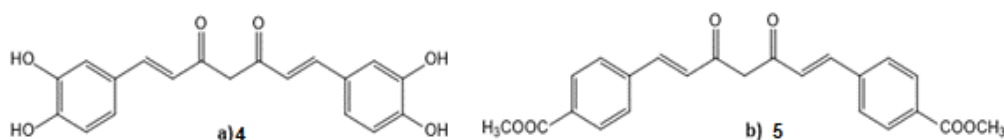


Figura 6 – Compostos testados que apresentam uma melhor capacidade inflamatória: **a)** teste *in vivo* utilizando o edema da pata de rato- composto 4<sup>23</sup>; **b)** composto estudado por Andler e colaboradores- composto 5.<sup>24</sup>

A Tabela 1 mostra quais os grupos funcionais que melhor promovem a atividade anti-inflamatória dos análogos da curcumina.

Tabela 1 - Propriedades anti-inflamatórias dos análogos da curcumina e as respetivas referências

Grupo funcional promotor da atividade	Referência
Anel pirazólico	23
Grupo metóxi ou metil éster no anel aromático	24
Grupo dietilamina na posição <i>para</i> do anel aromático	25
Aumento do número de grupos metóxi	26
Análogo enona com espaço de 5 carbonos entre os anéis aromáticos	27

### 1.3. Doenças inflamatórias

#### 1.3.1. Doenças cardiovasculares

De acordo com o *Heart Disease and Stroke Statistics*, as doenças cardiovasculares são atualmente uma das principais causas de mortalidade nos países desenvolvidos e em desenvolvimento – superando em grande escala as mortes relacionadas com o cancro –

## INTRODUÇÃO

consistindo num amplo espectro de doenças, como isquemia miocárdica, cardiomiopatia, hipertensão e arritmia.<sup>28</sup>

Segundo um relatório da OMS/ FAO (1974), as populações indígenas que ingerem entre 2 e 2,5 g de curcuma por dia são mais saudáveis e apresentam menor risco de doenças cardíacas o que sugere que as doenças cardíacas são preventivas e dependem largamente dos hábitos alimentares, apoiando assim a curcumina como um candidato terapêutico para doenças cardíacas.<sup>28, 29</sup>

A inflamação desempenha um papel importante no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Em primeiro lugar é amplamente conhecido que a inflamação e o *stress* oxidativo contribuem para a aterosclerose que se caracteriza pelo dano oxidativo que afeta as lipoproteínas e as paredes dos vasos sanguíneos. Em segundo lugar, as citocinas pró-inflamatórias reguladas pelo NF-κB são ativadas e causam lesões cardiovasculares juntamente com a proteína C-reativa (CRP) –proteína produzida no fígado que está presente em pequenas quantidades no sangue das pessoas saudáveis. Sendo assim, a curcumina é indicada para o tratamento deste tipo de doenças por ter o efeito anti-inflamatório por meio de vários mecanismos diferentes.<sup>30, 31</sup>

Outra doença cardíaca bastante conhecida é a arritmia caracterizada por um batimento cardíaco irregular. A curcumina alivia a arritmia de várias formas, direcionando os canais iónicos envolvidos na excitabilidade cardíaca e na propagação do potencial de ação. Brosková e colaboradores<sup>32</sup> relataram que a curcumina reduz os batimentos prematuros ventriculares, a taquicardia ventricular e a fibrilação ventricular. Estudos demonstraram ainda que esta pode melhorar as taquiarritmias ventriculares induzidas pelo síndrome de Brugada – é uma arritmia hereditária que predispõe arritmias ventriculares fatais.<sup>33</sup>

Sendo assim, apesar de ser um potente agente protetor contra várias doenças cardíacas, não é utilizada para tal, devido a fatores descritos anteriormente, nomeadamente, o facto ter uma baixa disponibilidade sistémica e o facto de possuir efeitos colaterais como prolongar o intervalo QT e causar uma cardiotoxicidade potente no miocárdio.<sup>34</sup>

Devido a estes obstáculos, os investigadores tentaram mudar a sua estrutura molecular. O grupo de Azis<sup>35</sup> relatou que um novo derivado da curcumina (NCD) superava a sua baixa biodisponibilidade *in vivo* devido ao facto de ser solúvel em água e consequentemente melhorava os sintomas de cardiomiopatia nas mesmas doses de curcumina original em ratos diabéticos.<sup>36</sup>

Além disso, combinações adequadas de medicamentos que podem otimizar as propriedades terapêuticas da curcumina são uma via promissora. Wang e seus investigadores

<sup>37</sup>calcularam o índice de combinação (CI) de várias drogas com a curcumina para otimizar a sinergia dessa combinação contra a isquemia miocárdica e descobriram que a co-administração de curcumina e celecoxib (um fármaco anti-inflamatório não esteroide) pode melhorar os efeitos protetores contra a isquemia sendo melhor do que a curcumina sozinha.

### 1.3.2. Doenças neurodegenerativas

As doenças neurodegenerativas são causadas pela regulação anormal de proteínas e neurónios lesionados. O envelhecimento é um fator de risco significativo para as doenças neurodegenerativas. Considera-se que a curcumina pode ser eficaz nos mecanismos de envelhecimento, pois, pode impedir as alterações nas proteínas celulares que ocorrem mantendo a homeostase proteica. <sup>38</sup>

Em doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, caracterizada pela inflamação e lesão oxidativa, o desenvolvimento anormal de proteínas causa mutações genéticas. A curcumina, nesta doença, como antioxidante e devido às suas propriedades anti-inflamatórias, pode melhorar as funções cognitivas retardando a deterioração dos neurónios em pacientes.

<sup>38,39</sup>

Dolai e colaboradores <sup>40</sup> mostraram que, em comparação com a curcumina, um derivado açucarado sintético (Figura 7) apresenta uma capacidade antioxidante mais poderosa, enquanto que a curcumina inibe a agregação de péptidos, característico deste tipo de doenças, em concentrações micromolares esse análogo inibe em concentrações nanomolares.

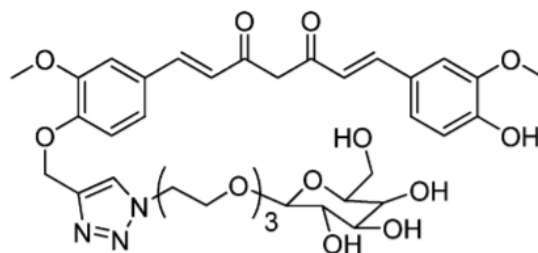


Figura 7 - Derivado açucarado sintético da curcumina <sup>40</sup>

A doença de Parkinson, uma das doenças neurodegenerativas mais comuns caracterizada pela perda de neurónios na substância negra é classificada como um transtorno do movimento causando uma marcha anormal, tremores, rigidez e lentidão dos movimentos. A curcumina, tem como efeito biológico mais importante, relacionado à neuroprotecção, a sua

## INTRODUÇÃO

função antioxidante que protege os neurónios da *substantia nigra* melhorando os níveis de dopamina. <sup>41, 42</sup>

Por fim, outros estudos têm-se focado na ação da curcumina sobre a depressão e foram observados efeitos positivos no tratamento. Esta alterou os biomarcadores da depressão melhorando o humor dos pacientes. <sup>42</sup>

Lopresti e os seus colaboradores <sup>43</sup> conduziram um estudo, controlado por placebo, que concluiu que 4 a 8 semanas de tratamento com curcumina foi eficaz na melhoria dos sintomas relacionado com o humor dos pacientes. Posteriormente, o mesmo grupo <sup>44</sup> demonstrou que a suplementação de curcumina afetou vários biomarcadores que podem ser responsáveis pelo efeito antidepressivo.

A capacidade de a curcumina atravessar a barreira hematoencefálica é fundamental para o seu desenvolvimento como agente neuroprotetor e embora se tenha sugerido essa capacidade para fornecer neuroprotecção em modelos animais pré-clínicos de doenças neurodegenerativas este assunto requer ainda uma investigação significativa. Srinivas <sup>45</sup> demonstrou que a curcumina permanecia no cérebro dos ratos após a sua ingestão oral durante um período de 96 horas, com um efeito de pico observado em 48 horas. Begun <sup>46</sup> detetaram a presença de curcumina no tecido nervoso após a administração de curcumina por sonda oral, bem como por injeção intramuscular. Mythri e Bharath <sup>39</sup> após uma revisão minuciosa de vários estudos em que investigaram a capacidade da curcumina de atravessar a barreira hematoencefálica concluíram que, embora a curcumina acumule no cérebro, a sua biodisponibilidade é limitada e de curta duração. Assim, é necessário um esforço adicional para aumentar a sua capacidade de se acumular no cérebro visto que é um parâmetro extremamente crítico no seu potencial neuroterapêutico.

No entanto, Cole e colaboradores <sup>47</sup> concluíram que os efeitos mecanísticos e bioquímicos da curcumina, principalmente em estudos *in vitro*, têm uma resposta bifásica e dependente da dose. O sucesso terapêutico depende da obtenção das concentrações séricas em estudos clínicos; altas doses de curcumina não só possuem uma potencial toxicidade como também são improváveis de serem alcançadas através da administração oral. Nas doenças neurodegenerativas os regimes de dosagens também têm uma importância significativa para o sucesso terapêutico da curcumina. <sup>42</sup>

### 1.3.3. Alergias e asma bronquial

Em 2010, um total de 25,7 milhões de pessoas no mundo sofriam de asma sendo que as citocinas inflamatórias são mediadoras deste tipo de doenças pró-inflamatórias. Há relatos de que o uso de curcumina pode reduzir as reações alérgicas e melhorar o

descongestionamento das vias nasais devido ao facto de possuir grupos hidróxilos na sua estrutura. <sup>48</sup>

A administração intranasal de curcumina num modelo de asma crônica preveniu a acumulação de células inflamatórias nas vias aéreas e mudanças estruturais associadas à asma crónica. <sup>49</sup>

Abidi e colaboradores <sup>50</sup> investigou a eficácia desta como terapia adicional em pacientes com asma brônquica. A administração de cápsulas de curcumina melhorou os valores obtidos o que significa uma melhoria na desobstrução das vias aéreas. Além disso, também foram obtidos melhores parâmetros hematológicos.

#### **1.3.4. Obesidade**

A obesidade é o aumento anormal do peso corporal causando problemas de saúde e na qualidade de vida geral é considerada o maior fator de risco para o aparecimento de diversos distúrbios de saúde como hipertensão, diabetes e diversos tipos de cancro. <sup>38, 51</sup>

Um estudo publicado demonstrou o efeito hipolipemiante da curcumina na diminuição dos triglicéridos e dos ácidos gordos livres no plasma de ratos alimentados com um alto teor de gordura. Outro estudo efetuado provou que a capsaicina (componente ativo do pimentão vermelho), quando testado para reduzir o colesterol sanguíneo em ratos alimentados com um alto teor de gordura não foi eficaz, no entanto, em conjunto com a curcumina foi bastante eficaz. <sup>52-54</sup>

A alimentação de curcumina (1 % m/m) em ratos diminuiu significativamente os níveis de triglicéridos no fígado, o que sugere que essa possa ser uma estratégia terapêutica útil para o tratamento da obesidade. <sup>54</sup>

#### **1.4. Cancro**

O cancro é uma doença multifacetada caracterizada pela acumulação gradual mutantes a nível genético seguindo-se pela proliferação e crescimento anormal das células. O efeito anticancerígeno e anti-inflamatório da curcumina tem uma ampla gama de efeitos terapêuticos em vários tipos de cancro como o cancro intestinal, pâncreas, ossos, mama e cérebro. <sup>50</sup>

A curcumina tem mostrado um efeito bastante positivo nas diversas fases do desenvolvimento do cancro, para suprimir a transformação, o começo, o desenvolvimento e a invasão do tumor, a angiogénese e a metástase. Sendo, no entanto, necessário ainda um ajuste da dose terapêutica que possa induzir a apoptose das células cancerígenas e que reforce a imunidade ao cancro. <sup>55-57</sup>

## INTRODUÇÃO

A curcumina também pode matar uma grande variedade de tipos de células tumorais por meio de diversos mecanismos o que torna possível que as células não desenvolvam resistência à apoptose celular induzida pela mesma. O que desperta interesse por parte dos investigadores na curcumina é o facto de esta ser seletiva às células cancerígenas, no entanto, embora numerosos estudos em animais e ensaios clínicos tenham sido realizados, são necessários estudos adicionais para ultrapassar diversos problemas tais como a baixa biodisponibilidade.<sup>58</sup>

### 1.5. Diabetes

A diabetes é causada primeiramente pela obesidade e pelos maus hábitos de vida. Existem dois tipos de diabetes, Tipo 1 e Tipo 2, sendo que o mais comum é o Tipo 2, contando com mais de 85 % do total da diabetes, é frequente em pessoas mais velhas e, é caracterizado pela ineficácia do corpo à insulina, já a diabetes do Tipo 1 é mais comum em crianças ou jovens adultos e é um distúrbio autoimune que ataca as células  $\beta$  pancreáticas, prejudicando a produção de insulina, fazendo com que os doentes necessitem de insulina exógena, pois, a morte das células  $\beta$  do pâncreas causa uma produção deficiente de insulina.<sup>59-63</sup>

Considera-se que o *stress* oxidativo e a inflamação desempenham um papel central na patogénese da diabetes e é devido a este fator que a curcumina e os seus análogos desempenham um papel importante como antidiabéticos. Já foi estudado em animais, nomeadamente, ratos e em testes clínicos que a curcumina provoca a diminuição da glicose no sangue, sendo que essas propriedades são atribuídas às suas ações em numerosos alvos relacionados com o metabolismo da glicose e lípidos, *stress* oxidativo, crescimento celular, inflamação e apoptose.<sup>64-68</sup>

Como consequência, a diabetes, ao longo dos anos, podem provocar cardiomiopatia diabética. Estudos realizados de forma a testar a possibilidade de a curcumina poder reduzir o dano cardíaco em animais diabéticos mostraram que esta melhora a função cardíaca e reduz o *stress* oxidativo.<sup>69-74</sup>

Alguns dos mecanismos de ação conhecidos para a curcumina também foram explorados para os seus análogos, sendo que alguns destes compostos apresentam efeitos redutores da glicose. A tetrahydrocurcumina (6) (Figura 8) é um composto sintético análogo importante da curcumina. Experiências *in vitro* e *in vivo* mostram que esta é mais eficaz que a curcumina na redução da glicose sanguínea, no entanto, como com a curcumina, a sua biodisponibilidade na administração oral é limitada. Em ratos com diabetes a tetrahydrocurcumina exibiu efeitos antidiabéticos, melhorando a ligação específica da insulina aos seus recetores e modulando as atividades de múltiplas enzimas.<sup>75-79</sup>

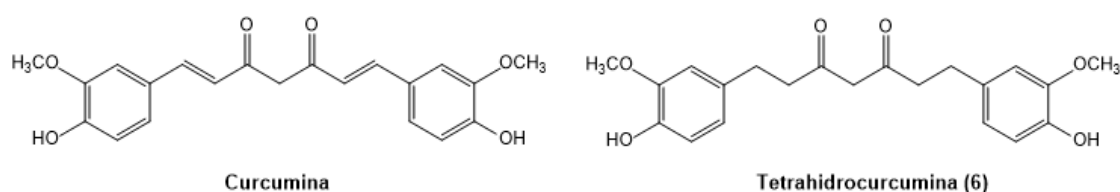


Figura 8 - Curcumina e o seu análogo tetrahydrocurcumina (6) <sup>75</sup>

A curcumina é responsável por induzir e/ou ativar a enzima heme oxigenase 1 que contém propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-apoptóticas, fazendo com que indiretamente atenuar a morte celular e além disso, também aumente a sensibilidade à insulina nas células do pâncreas. Tem sido sugerido que a presença do grupo carbonilo  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado é essencial para estimular a expressão dessa enzima, uma vez que a tetrahydrocurcumina, que possui uma cadeia central saturada, não apresenta essa atividade. Os grupos metóxi também são considerados importantes para essa atividade biológica, pois, quanto mais grupos existirem na molécula mais a expressão da heme oxigenase 1 é observada. <sup>80-83</sup>

Concluindo, pesquisas recentes forneceram a base científica para a curcumina “tradicional” e confirmaram o importante papel da curcumina na prevenção e tratamento de diabetes e seus distúrbios associados, no entanto, são necessários estudos em humanos para confirmar o potencial da curcumina. Além disso, múltiplas abordagens também são necessárias para superar a solubilidade limitada e a baixa biodisponibilidade da curcumina. Estes incluem a síntese de curcuminóides e o desenvolvimento de novas formulações de curcumina, tais como nanopartículas, encapsulação lipossômica, emulsões e comprimidos de liberação prolongada. Com a biodisponibilidade melhorada e os resultados dos ensaios clínicos da curcumina provavelmente esta tornar-se-á num produto natural à frente dos agentes terapêuticos num futuro próximo. <sup>84-86</sup>

## 1.6. Métodos de obtenção da curcumina

### 1.6.1. Extração e purificação da curcumina

Em 1815, a curcumina foi inicialmente isolada, pela primeira vez, da curcuma por extração, no entanto, até a década de 1970 houve apenas alguns relatos sobre sua estrutura química, síntese, atividade bioquímica e antioxidante. Embora a extração e a separação desta tenham sido relatadas em 1815, os métodos de extração, após dois séculos, têm sido cada vez mais aperfeiçoados e melhorados. <sup>87-89</sup>

O método mais comum para a extração e purificação da curcumina e outros curcuminóides a partir da curcuma, é o da extração por solvente seguido por uma

## INTRODUÇÃO

cromatografia em coluna. Utilizam-se diferentes solventes orgânicos e após vários estudos, concluiu-se que o melhor solvente seria o etanol, pois, embora os solventes clorados extraíssem a curcumina de uma forma bastante eficiente, no que diz respeito às indústrias alimentares não são bem aceites.<sup>90</sup> Existem outros métodos de extração que já foram testados e que, nos dias de hoje, são os mais utilizados, nomeadamente, extração de Soxhlet,<sup>91, 92</sup> extração por ultrassons e por micro-ondas.<sup>93</sup> Recentemente, os métodos de extração por ultrassons e por micro-ondas foram relatados como os melhores métodos contínuos.<sup>89 - 94</sup>

Outro método de extração comercialmente viável e bastante eficiente é a extração com fluido supercrítico utilizando dióxido de carbono, pois está livre de solventes orgânicos. Sendo que as condições normais de operação são pressões entre 25-30 MPa e temperaturas de aproximadamente 45 °C.<sup>95-100</sup>

A curcumina pode ser posteriormente separada da mistura de curcuminóides obtida pelos métodos de extração por cromatografia em coluna usando sílica gel e misturas de solventes como diclorometano/ácido acético ou metanol/clorofórmio.<sup>97-102</sup>

### 1.6.2. Síntese da curcumina

Em 1918, surgiu o primeiro artigo sobre a síntese da curcumina por Lampe.<sup>103</sup> Este método envolvia cinco etapas a partir do cloreto de carbometóxiferuloilo com acetoacetato de etilo. Mais tarde, em 1964, Pabon<sup>104</sup> reportou um método de síntese mais simples e com rendimentos altos ( $\eta=80\%$ ) usando acetilacetona (1 equivalente) e vanilina (2 equivalentes) na presença de trióxido de boro ( $B_2O_3$ ), borato de triálquilo e n-butilamina a temperaturas elevadas. Antes da adição da vanilina, o trióxido de boro é misturado com a acetilacetona evitando a condensação de Knoevenagel do grupo metileno reativo e permitindo assim que os grupos metilo laterais da acetilacetona ativados pela n-butilamina – utilizada como reagente de extração de próton – reajam com o aldeído da vanilina. É utilizado como solvente da reação acetato de etilo e após o complexo reagir com a vanilina o borato de tributilo é utilizado para absorver a água produzida durante a reação. Por fim é adicionado ácido, HCl, para decompor o complexo levando à obtenção da curcumina (Figura 9). Também é possível sintetizar os derivados curcuminóides utilizando temperaturas mais baixas e utilizando como solvente acetato de etilo.<sup>103, 104</sup>

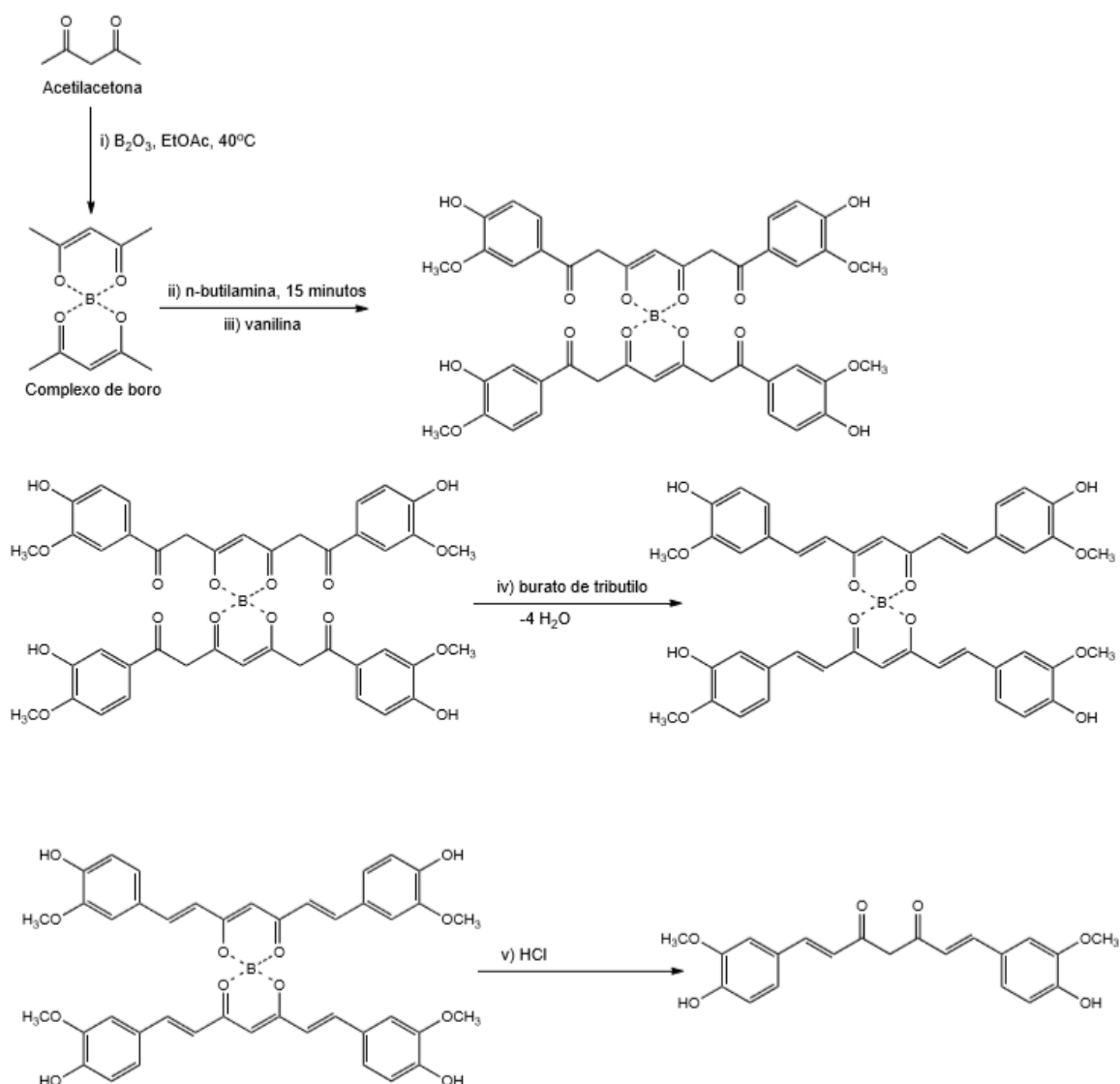


Figura 9 – Método de síntese de curcumina segundo o método usado por Pabon <sup>104</sup>

### 1.6.3. Síntese dos derivados curcuminóides

A síntese do curcuminóide BDMC é similar à síntese da curcumina, ou seja, segue o método de Pabon, no entanto, a síntese do DMC já difere um pouco, pois, este último trata-se de um derivado curcuminóide assimétrico. A síntese deste curcuminóide encontra-se descrita na Figura 10. O intermediário monosubstituído desta reação é primeiro preparado por uma condensação aldólica entre a vanilina e a acetilacetona em quantidades equimolares. Em seguida este é submetido a uma segunda condensação com 4-hidróxibenzaldeído de forma a obter-se o composto final. <sup>105</sup>

## INTRODUÇÃO

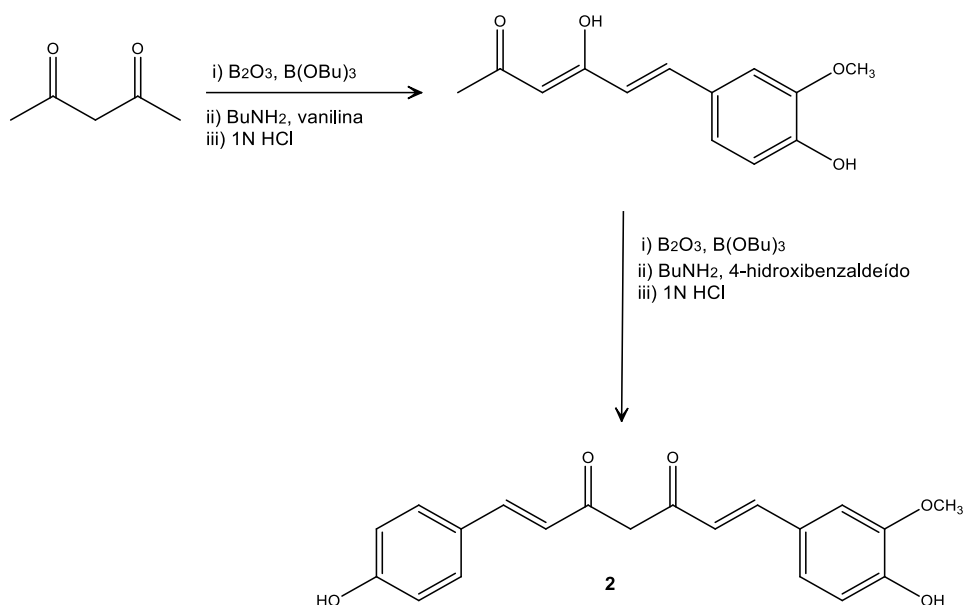


Figura 10 - Síntese do composto 2 (DMC)

Vários grupos de pesquisa fizeram pequenas alterações ao método utilizado por Pabon de forma a se obter vários derivados curcuminóides. A estrutura molecular da curcumina é dividida em três regiões principais: dois anéis aromáticos substituídos ligados por uma dicetona conjugada e os derivados produzidos apresentam modificações moleculares em uma ou mais dessas regiões. (Figura 11)<sup>106</sup>

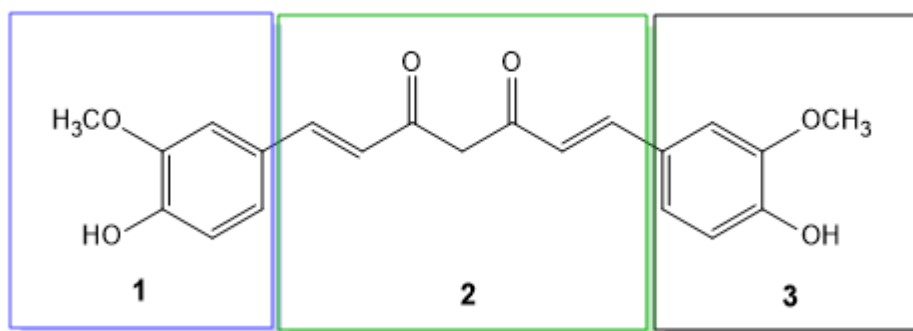


Figura 11 - Principais unidades estruturais da curcumina

Um método de síntese de curcuminóides (Figura 12) utiliza 2,4-pentanodiona ou 2,4-pentanodiona 3-substituída dependendo do curcuminóide requerido e óxido bórico numa primeira fase. São aquecidos a 120 °C e numa segunda fase, o benzaldeído apropriado é dissolvido com borato de tributilo em acetato de etilo. Estes são adicionados gradualmente à mistura anterior e em seguida, adiciona-se a n-butilamina e acetato de butilamónio.<sup>107</sup>

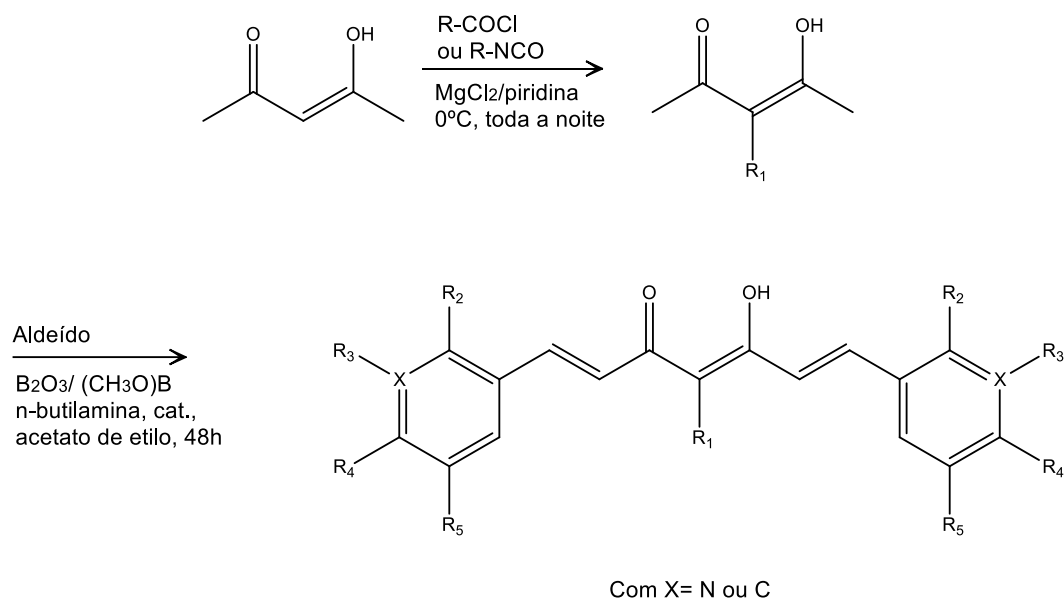


Figura 12 - Síntese de curcuminóides que utiliza 2,4-pentadiona ou 2,4-pentadiona 3-substituído <sup>107</sup>

Outro método de síntese <sup>108</sup> para a obtenção de derivados curcuminóides, neste caso substituídos na posição central da cadeia carbonada, utiliza o 3-acetil-4-oxopentanoato de terc-butilo ou o ácido 3-acetil-4-oxopentanóico (Figura 13). Este é adicionado a uma suspensão de  $B_2O_3$  em DMF e em seguida é adicionado borato de tributilo. Após 30 minutos é adicionado o benzaldeído apropriado e uma solução de n-butilamina em DMF. No caso do ácido 3-acetil-4-oxopentanóico a base utilizada é a morfolina

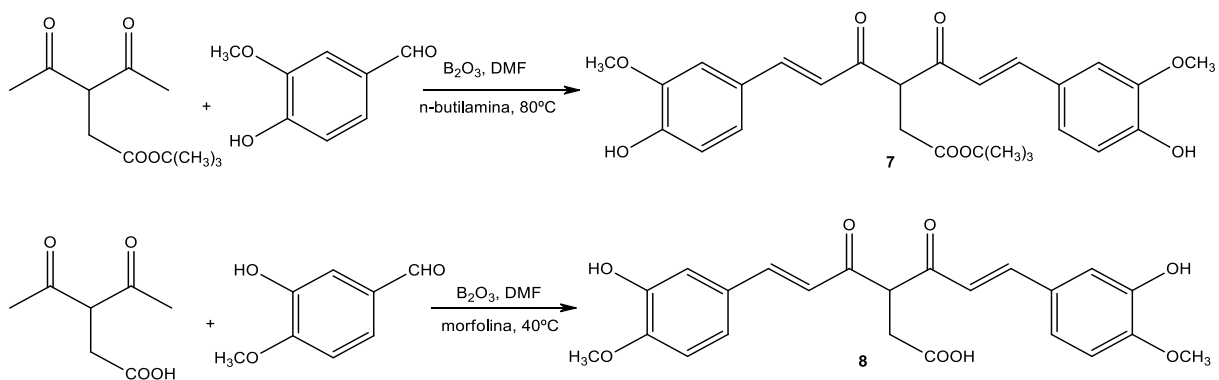


Figura 13 - Síntese de curcuminóides que utiliza 3-acetil-4-oxopentanoato de terc-butilo ou ácido 3-acetil-4-oxopentanóico

A maioria dos análogos é obtida por condensação entre uma cetona e um benzaldeído, embora alguns análogos possam ser obtidos a partir da curcumina ou outro derivado curcuminóide, por modificações moleculares sob condições que não causam sua degradação como meio ácido. <sup>109</sup>

Um exemplo de síntese para obter novos curcuminóides a partir da curcumina (Figura 14) é a utilização de NaOEt para ativar o grupo  $CH_2$  na posição central. O sal posteriormente

## INTRODUÇÃO

obtido é envolvido na formação de ciclos 1,4-dibromobutano ou 1,5-dibromopentano para produzir os compostos finais. <sup>110</sup>

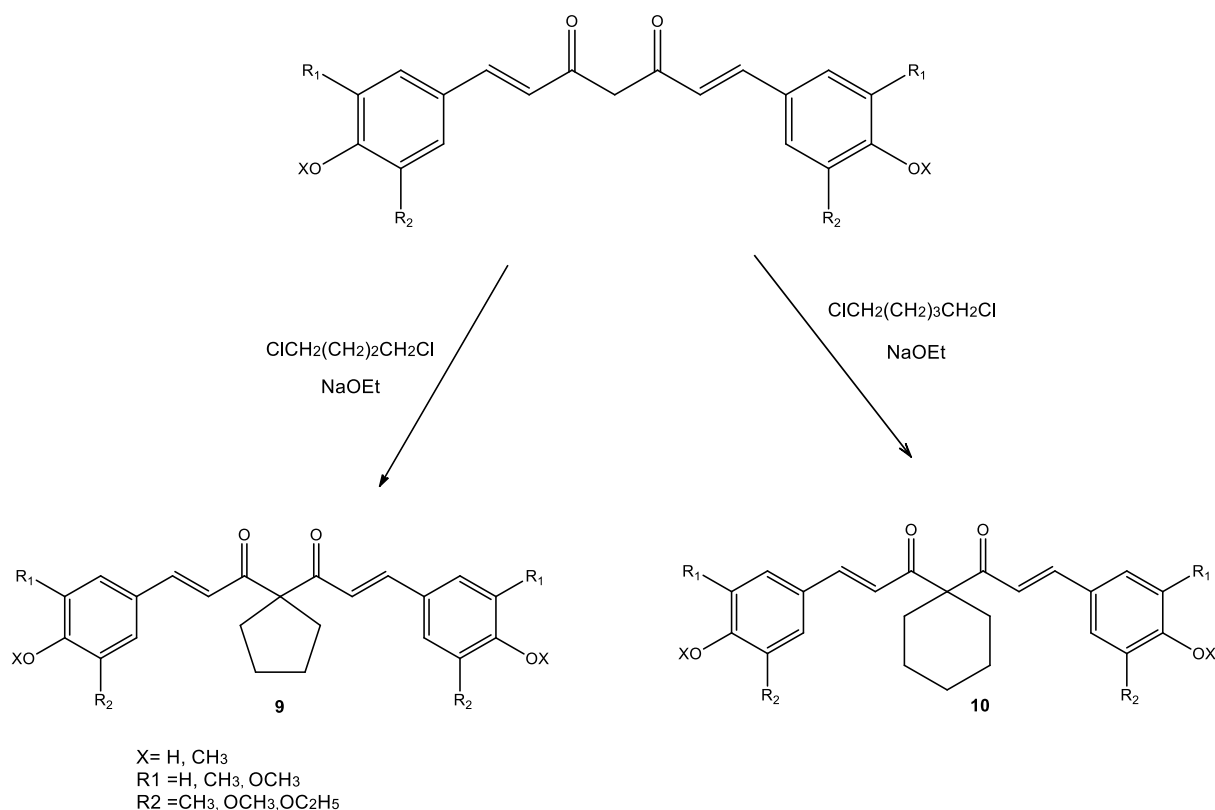


Figura 14 - Síntese para obter novos curcuminóides a partir da curcumina <sup>110</sup>

É possível também obter derivados curcuminóides por transformação de outros (Figura 15). Esta síntese consiste na adição de TFA (50 % em diclorometano) ao composto 7 com agitação por 1h a 0 °C. <sup>108</sup>

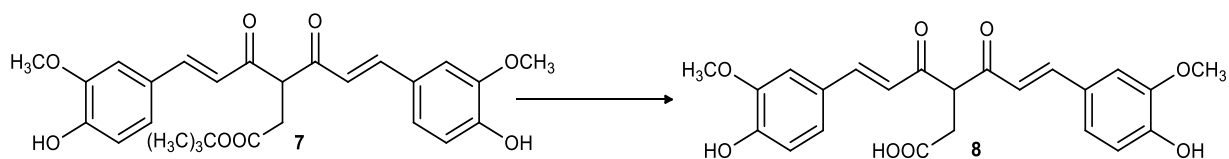


Figura 15 - Síntese para a obtenção de compostos substituídos na posição central da cadeia carbonada

### 1.6.4. Síntese da curcumina por micro-ondas

Já vários estudos foram efetuados sobre condensações aldólicas assistidas por micro-ondas utilizando ácido bórico, nomeadamente, as sínteses dos curcuminóides 1-3 e de alguns outros derivados, como análogos carbocíclicos da curcumina e heteroaril-hidrazinocurcuminas. A reação nesses casos mostrou ter maiores rendimentos do que os métodos convencionais e diminuiu significativamente o tempo de reação. <sup>88, 109, 111</sup>

Um estudo feito obteve, através da condensação da curcumina com hidrocloreto de hidróxilamina em ácido acético a 120 °C durante 10 minutos, o isoxazol da curcumina (11) (Figura 16). Utilizando um reator de micro-ondas sob condições de aquecimento *flash* em vasos selados. Mais uma vez os tempos de reação diminuiram e, em alguns casos, os rendimentos melhoraram relativamente aos métodos clássicos. <sup>112</sup>

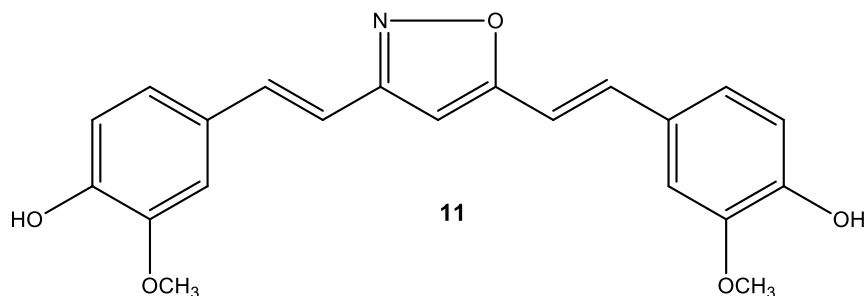


Figura 16 - Isoxazol da curcumina (11) <sup>112</sup>

Outro tipo de síntese utilizada para se obter análogos carboxílicos utiliza cicloalcanona misturada com o óxido de boro, onde posteriormente é adicionado o aldeído aromático apropriado, e o ácido acético e a morfolina para catalisarem a reação. A mistura é colocada no micro-ondas a uma potência elevada (900 W) e uma frequência de 2450 MHz durante 1 minuto sendo de seguida arrefecido durante 2 minutos. Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica de gel, utilizando diclorometano-metanol como solvente para a eluição. <sup>113</sup>

## 1.7. Co-cristalização

### 1.7.1. Co-cristais

A solubilidade e a dissolução são fatores chave na determinação da eficácia e da atividade de um determinado medicamento. A melhoria dos perfis de solubilidade e dissolução de moléculas de fármacos lipofílicos sem alterar a estrutura molecular e a sua atividade farmacológica – é um desafio particular para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos.

114

Surge assim um grande interesse na co-cristalização, em especial de produtos farmacêuticos, visto que, o número de formas sólidas disponíveis para a formulação aumenta drasticamente.

Co-cristais são uma classe de materiais bastante importantes que podem aumentar a solubilidade e a dissolução através da formação de um cristal de um fármaco – produto farmacologicamente ativo (PFA) – e outra molécula designada por co-fórmico com composições estequiométricas específicas através de interações não covalentes, ou seja, é

## INTRODUÇÃO

um cristal molecular multicomponente – uma substância cristalina que compreende duas ou mais moléculas quimicamente diferentes, na sua rede cristalina. Estes compostos têm propriedades físicas diferentes do PFA puro, nomeadamente, a densidade relativa, a solubilidade, a compressibilidade, o ponto de fusão, entre outras. Os co-fórmers não devem ser tóxicos, sem efeitos colaterais e devem conter grupos complementares aos do PFA, idealmente, devem estar incluídos na lista do EAFUS, que compreende mais de 3000 substâncias que são adequadas como aditivos alimentares ou, aprovadas como Geralmente Consideradas Seguras (GRAS), por exemplo, flavonóides e nutracêuticos, como quercetina, pterostilbeno e ácido *p*-cumárico.<sup>114, 115</sup>

A solubilidade é determinada por dois fatores independentes: a força da rede cristalina e a solvatação dos componentes do co-cristal. Para aumentar a solubilidade deve-se baixar a energia da rede e/ou aumentar a afinidade com o solvente. Os co-cristais têm a capacidade de influenciar ambos os fatores em diferentes níveis. A rede controla a solubilidade em solventes onde há pouca resistência à solvatação, ou quando as interações solvente-soluto são semelhantes às interações solvente-solvente, como nas soluções ideais. Por outro lado, a solvatação terá um papel decisivo na solubilidade aquosa dos co-cristais como resultado da hidrofobicidade do fármaco. A maioria dos co-cristais de fármacos hidrofóbicos exibem esse comportamento, pois, as limitações impostas pelas interações solvente-soluto reduzem a solubilidade observada abaixo da determinada pela energia de rede. Em solventes orgânicos, a magnitude da interação solvente-soluto é frequentemente proporcional à magnitude da força da rede e os aumentos na solubilidade do co-cristal estão correlacionados com a diminuição do ponto de fusão. Na água, no entanto, a situação é bem diferente, pois, a solvatação limita a solubilidade em maior grau que a força da rede e a magnitude de cada fator não é proporcional. Consequentemente, o ponto de fusão será um indicador fraco da solubilidade aquosa para estes co-cristais.<sup>114</sup>

Um co-cristal pode também ser arquitetado de modo a diminuir a solubilidade do PFA, o que pode ser muito útil na indústria agroquímica. Por exemplo, baixar a solubilidade de um PFA ativo altamente solúvel é desejável para evitar a rápida lixiviação da substância aplicada no escoamento.<sup>115, 116</sup>

A formação de um co-cristal oferece muitas vezes a hipótese de transformar um PFA amorfo ou difícil de cristalizar num sólido cristalino estável e facilmente manuseável. Embora os PFA's amorfos sejam utilizados os produtos cristalinos são geralmente preferidos devido à sua fácil reprodutibilidade, caracterização e maior estabilidade química.<sup>115</sup>

### 1.7.2. Métodos de obtenção de co-cristais

Algumas técnicas de obtenção de co-cristais são a cristalização por solução, por fusão e por mecanoquímica.<sup>114</sup>

A cristalização por solução é a mais comum, tendo como base, a dissolução completa dos reagentes, numa quantidade estequiométrica apropriada, e posterior evaporação do solvente. A principal desvantagem desta técnica é o facto de os componentes do co-cristal terem de ser solúveis no solvente seleccionado para a cristalização.<sup>114</sup>

A síntese por mecanoquímica é sustentada pela força mecânica, ou seja, por moagem, sem a necessidade de dissolução dos reagentes, e, portanto, sem a utilização de grandes quantidades de solventes, uma das bases da química verde. A aplicação deste método de síntese de novos compostos nas indústrias químicas e farmacêutica promove transformações mais limpas, seguras e mais eficientes.<sup>117</sup>

A técnica por mecanoquímica utiliza moinhos de bolas automatizados (Figura 17) onde as reações químicas ocorrem num ambiente fechado com parâmetros bem definidos para otimizar a reatividade, como por exemplo, a frequência, o tempo de reação e a razão de peso médio para a amostra. Uma das chaves do sucesso da mecanoquímica é o uso de aditivos catalíticos de solvente para controlar a reatividade. Destes, a moagem com pequenas quantidades de solvente, moagem assistida por solvente, é particularmente importante para acelerar as reações, bem como para possibilitar e direccionar transformações que não ocorrem por moagem simples, ou seja sem solvente. A definição empírica de moagem assistida por solvente, é baseada na razão entre o aditivo líquido e o peso dos reagentes, sendo que a razão está na faixa de  $\approx 0\text{-}1\mu\text{L}/\text{mg}$ . A origem do efeito direccionado da estrutura – na moagem assistida por solvente, não é clara, no entanto, estudos recentes apontam para a polaridade do líquido e interações específicas entre o líquido e os reagentes.<sup>117-119</sup>



Figura 17 - Moinho de bolas Mixer Mill MM 4000

## INTRODUÇÃO

Embora o termo mecanoquímica auxiliada por líquido não pressuponha que o líquido adicionado desempenhe o papel de solvente, foram observadas, em alguns casos, correlações de reatividade com a solubilidade do reagente. A natureza da moagem assistida por solvente também pode determinar o produto obtido devido à solvatação que pode ser significativa <sup>118-119</sup>

A técnica de mecanoquímica na ausência de solvente ou na presença de uma quantidade de líquido é mais eficiente do que métodos de cristalização de solução que dependem de evaporação e arrefecimento de soluções estequiométricas, pois, são utilizadas pequenas quantidades de líquido para que a formação do co-cristal ocorra por reação numa pequena fase líquida e/ou através de uma fase amorfa. <sup>117</sup>

### 1.7.3. Co-cristalização da curcumina e derivados curcuminóides

De forma a explorar as vantagens farmacológicas dos co-cristais e de forma a ultrapassar o facto da insolubilidade da curcumina em água, esta foi submetida a técnicas de co-cristalização com diferentes co-fórmers que contivessem grupos hidróxilo e fenólicos de forma a formarem-se ligações de hidrogénio com os grupos funcionais  $\beta$ -dicetol e  $\beta$ -diceto da curcumina (Figura 18). Os grupos funcionais -OH da curcumina podem ser associados via síntões supramoleculares O-H...O e O-H...N no co-cristal com grupos funcionais hidróxilo, amina, amida, ácido ou base nos co-fórmers. Têm sido reportados co-cristais de curcumina com resorcinol (RES), pirogalol (PYR), floriglucinol (PHL) e 4,4'-bipiridina-*N,N'*dióxido (BPNO). O primeiro relato de co-cristais de curcumina com RES e PYR com uma estequiometria de 1:1 foi dado por Nangia <sup>120</sup> e os seus investigadores onde utilizaram moagem assistida por etanol. <sup>121</sup>



Figura 18 - Tautómeros da curcumina <sup>121</sup>

No referido estudo <sup>120</sup> mediram a taxa de solubilidade e dissolução em 40 % de meio etanol-água para CUR-RES e CUR-PYR. Descobriram que os co-cristais tinham uma taxa de dissolução maior que a curcumina pura, nomeadamente, a CUR-PYR apresentava uma taxa 12 vezes maior e a CUR-RES 5 vezes maior. O aumento da solubilidade seguiu o modelo “*spring and parachute*” e este modelo prevê que um co-fórmero de alta solubilidade dará origem a um co-cristal de alta solubilidade. Se o co-fórmero tiver baixa solubilidade em água, ele não se dissociará tão facilmente da rede, o que na verdade controla a solubilidade/dissolução do fármaco. Entre os dois co-cristais, o pirogalol altamente solúvel

(620 mg/mL) confere uma maior taxa de dissolução do que o resorcinol co-cristal menos solúvel em água (143 mg/L).

#### 1.7.4. Misturas eutécticas

Mistura eutéctica (Figura 19) é um sistema multicomponente definido por uma mistura de componentes não isomórficos com uma relação estequiométrica que apresentam um ponto de fusão mais baixo em comparação com qualquer outra composição de constituintes ou dos componentes individuais.

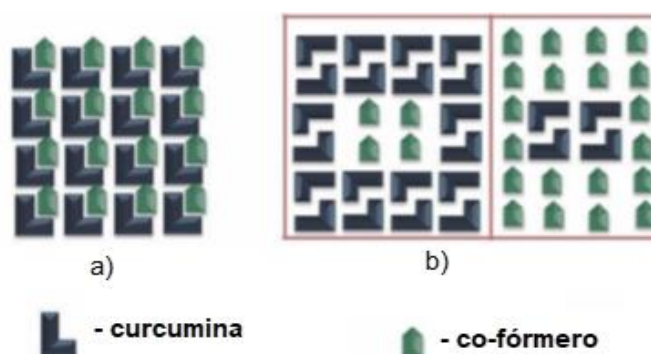


Figura 19 - Representação esquemática de (a) - co-cristal, (b) – mistura *eutéctica* <sup>121</sup>

A formação de misturas eutécticas é usualmente caracterizada pela ausência de interações auxiliares na rede cristalina e predominando interações coesivas ao invés de interações adesivas. Ao contrário dos co-cristais, onde o rearranjo interno é infinito e periódico, nas misturas eutécticas é complexo e heterogêneo e composto de domínios de soluções sólidas sustentadas por interações fracas. Sendo assim, essas misturas são definidas como conglomerados de soluções sólidas ou soluções sólidas descontínuas. As diferenças nas interações a nível molecular estão na ordem de curto alcance e no limite da difração raios-X de forma que é praticamente impossível detetar tais mudanças, sendo o ponto de fusão o único indicador de formação eutéctica. Normalmente, misturas eutécticas são preparadas pelo método de fusão (método de Kofler), mecanoquímica e co-precipitação utilizando solvente. <sup>121</sup>

Encorajados pelos resultados com co-cristais de curcumina o grupo de Nangia <sup>122</sup> realizou vários ensaios de co-cristalização com vários co-fórmeros para melhorar as propriedades físico-químicas, obtendo materiais eutécticos binários, nomeadamente, curcumina-nicotinamida (CUR-NAM, 1:2), curcumina-ácido ferúlico (CUR-FUR, 1:1), curcumina-ácido hidroxibenzóico (CUR-PHBA, 1:1), curcumina-hidroquinona (CUR-HQ, 1:1) e ácido curcumina- ácido L-tartárico (CUR-TA, 1:1).

Sendo que em testes de dissolução, os picos de solubilidade, aos 120 min, seguiram a seguinte ordem: CUR-FA 244 mgL<sup>-1</sup> > CUR- TA 226 mg L<sup>-1</sup> > CUR-HQ 219 mg L<sup>-1</sup> > CUR-PHBA 214 mg L<sup>-1</sup> > CUR-NAM 197 mg L<sup>-1</sup> > CUR 99 mg L<sup>-1</sup>.

## INTRODUÇÃO

Mais recentemente, um eutético de CUR com ácido salicílico (SLA) e dois novos co-cristais com hidróiquinol (HXQ) em diferentes relações estequiométricas foram estudados. A mistura eutética CUR-SLA exibiu uma taxa de dissolução mais rápida do que os co-cristais CUR-HXQ.<sup>121</sup>



# **Capítulo 2**

## **Resultados e Discussão**



## 2. Resultados e Discussão

### 2.1. Síntese dos derivados curcuminóides

Neste trabalho foram sintetizados 9 compostos diferentes, cujas principais alterações são as substituições nos anéis aromáticos e na posição  $\alpha$  da acetilacetona. (Figura 20)

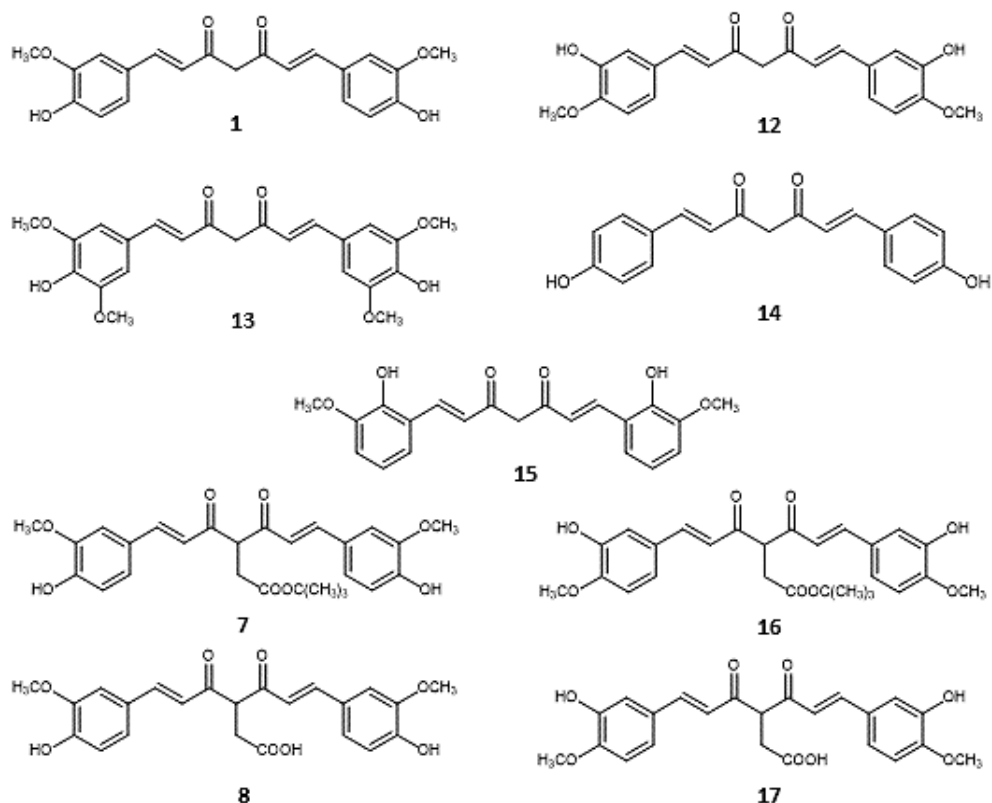


Figura 20 - Derivados curcuminóides sintetizados

Todos os derivados curcuminóides foram sintetizados a partir do método geral de condensação da acetilacetona com um aldeído (numa proporção de 1:2). (Figura 21) <sup>108, 123</sup>

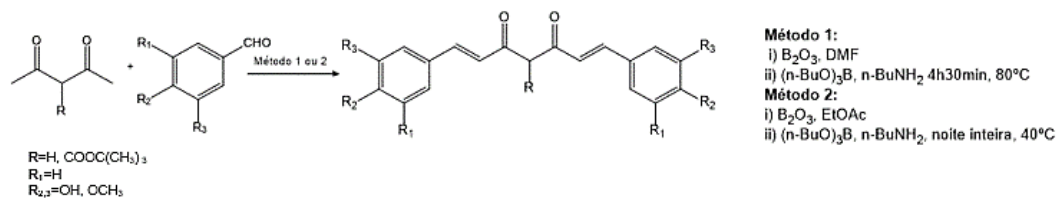


Figura 21 - Esquema geral de síntese dos derivados curcuminóides

Para a síntese dos curcuminóides foram utilizados dois métodos distintos, cujas principais diferenças consistem no solvente utilizado, o tempo de reação e a temperatura.

Através da análise dos rendimentos obtidos (Tabela 2) foi possível concluir que o método 2 é o mais eficaz, uma vez que, se obtiveram rendimentos mais altos ( $\eta=70-88\%$ ) e compostos mais puros. Outra razão para a eficácia deste método é o facto de o solvente utilizado ter um ponto de ebulição mais baixo o que facilitou a purificação dos compostos, pois, era bastante difícil, pelo método 1, os compostos não conterem dimetilformamida. Também foi possível concluir que os compostos que contêm o grupo hidróxi na posição *meta* e o grupo metóxi na posição *para* têm rendimentos superiores comparativamente aos que têm o grupo hidróxi na posição *para* e o grupo metóxi na posição *meta*.

Tabela 2 - Rendimentos obtidos para cada uma das sínteses

Composto	Método 1	Método 2
1	42	72
12	54	88
13	a	80
14	a	70
7	25	70
16	a	88
17	a	17
8	<5	a

(a) – Não sintetizados pelo método em questão

Uma vez que os rendimentos obtidos para os compostos 8 e 17, pelos métodos 1 e 2, foram bastante baixos foi ainda testada como alternativa <sup>124</sup> a transformação do esqueleto dos compostos 7 e 16 através da hidrólise do grupo éster substituído na posição central. (Figura 22) No entanto esta alternativa não se mostrou.

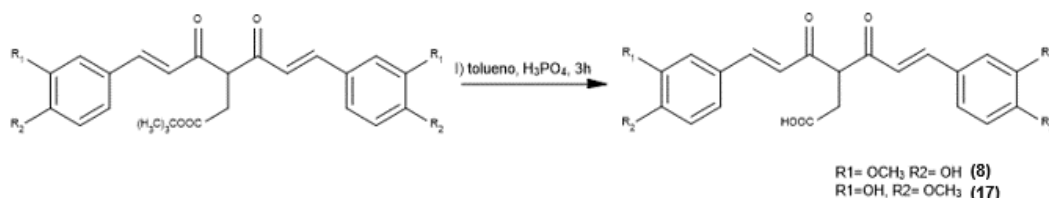


Figura 22 - Esquema de síntese da alternativa de obtenção dos compostos 8 e 17

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a síntese do composto 15, como não se obteve qualquer eficácia utilizando os métodos 1 e 2, efetuou-se uma reação por micro-ondas, onde se obteve o composto praticamente puro e um rendimento elevado ( $\eta=81\%$ ).

Houve algumas tentativas de síntese de novos derivados curcuminóides, nomeadamente, o composto 18. (Figura 23) Para o composto 18 utilizaram-se dois métodos distintos, nomeadamente, o método 1 e um outro <sup>125, 126</sup> cujo as condições reacionais se encontram na Figura 24. Em nenhum dos métodos foi possível sintetizar o composto pretendido.

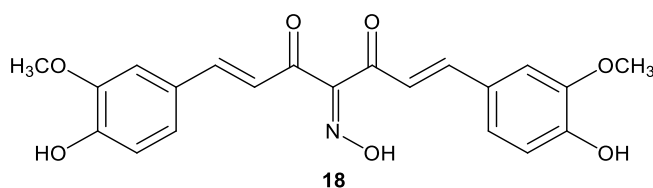


Figura 23 - Composto 18

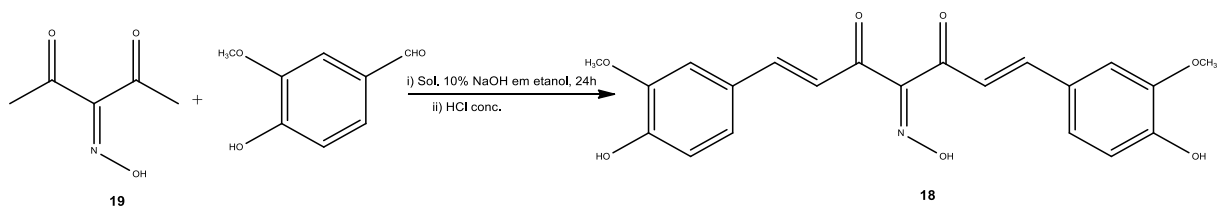


Figura 24 – Alternativa para a síntese do composto 18

Tentou-se também sintetizar curcuminóides monosubstituídos (Figura 25), nomeadamente, os compostos 20, 21, 22 e 23 utilizando os métodos 1 e 2 e uma proporção de 1:1 (derivados acetilacetona:derivados do benzaldeído), no entanto, através da análise por <sup>1</sup>H-RMN foi possível concluir que se obteve, em todas as tentativas, derivados disubstituídos com rendimentos mais baixos.

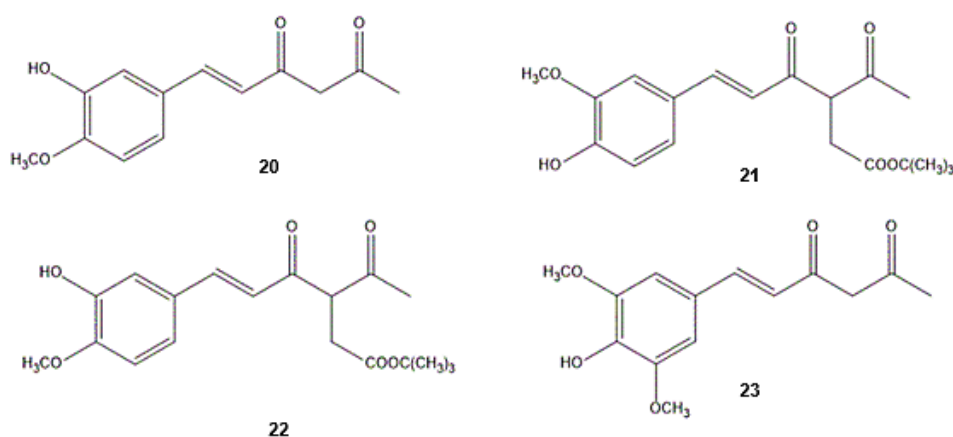


Figura 25- Compostos monosubstituídos

## 2.2. Modificações estruturais dos materiais de partida

Um dos objetivos da síntese destes derivados curcuminóides seria melhorar as suas solubilidades em água, sendo assim, recorreu-se a modificações nos materiais de partida.

### 2.2.1. Funcionalização da posição $\alpha$ da acetilacetona

De forma a se obter os derivados curcuminóides (7,8) foi necessário fazer alterações na estrutura molecular de alguns materiais de partida. Efetuaram-se quatro modificações distintas no que diz respeito à posição  $\alpha$  da acetilacetona, obtendo-se três compostos diferentes.

O método utilizado (Figura 26) para sintetizar o composto 24 foi um método eficaz <sup>108</sup> com rendimentos elevados ( $\eta=85\%$ ).

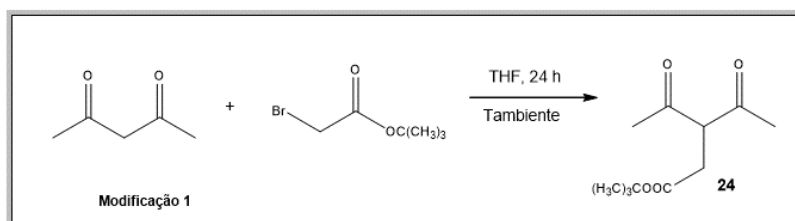


Figura 26 - Esquema de síntese para a obtenção do composto 24

Partindo do composto 24, e de forma a sintetizar o composto 25, utilizaram-se três métodos distintos (Figura 27):

1. i) tolueno,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $100\text{ }^\circ\text{C}$  durante 10 minutos <sup>108, 124</sup>
- ii) temperatura ambiente, 12 h;

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

2. diclorometano, atmosfera inerte, TFA, 1h30; <sup>124</sup>
3. THF, KOH, 3h40. <sup>127</sup>

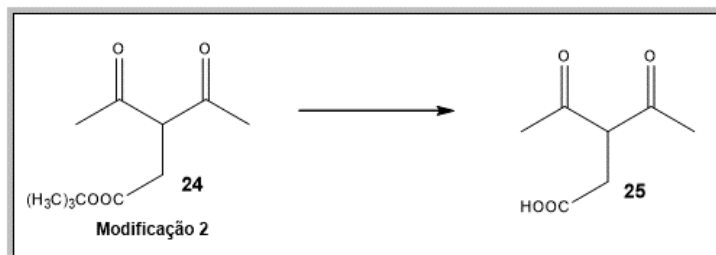


Figura 27 -Esquema de síntese para a obtenção do composto 25

Dos três métodos utilizados o único que foi eficaz foi o 1 ( $\eta=67\%$ ).

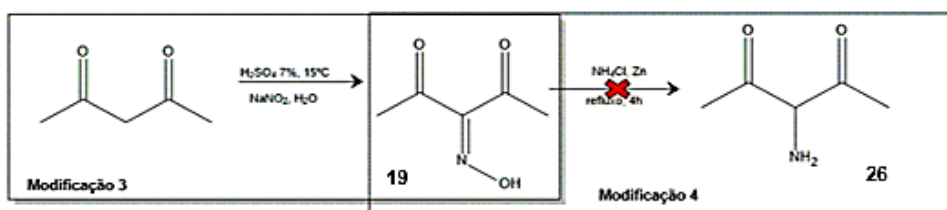


Figura 28 - Esquema de síntese para a obtenção dos compostos 19 e 26

Outra alteração efetuada na acetilacetona foi a que originou o composto 19 cujo o método <sup>125</sup> utilizado também resultou com um rendimento elevado ( $\eta=86\%$ ), já a sua redução não foi eficaz pois não se conseguiu sintetizar o composto 26, obtendo-se apenas o material de partida. (Figura 28)

### 2.2.2. Funcionalização do anel aromático do benzaldeído

De forma a introduzir um grupo -NH<sub>2</sub> na posição *meta* do anel aromático do benzaldeído de partida partiu-se do derivado nitro, promovendo a sua redução. (Figura 29)

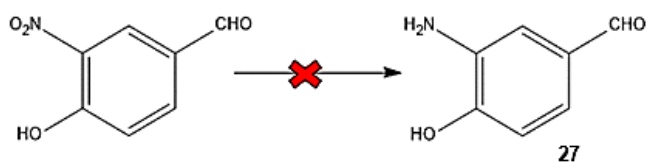


Figura 29 - Esquema da tentativa de síntese do composto 27

Para tentar sintetizar o composto 27, utilizou-se os seguintes métodos:

1. Sn (4,8 eq), HCl/H<sub>2</sub>O, 100 °C, 1h30; <sup>128</sup>
2. SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (5 eq), etanol, 70 °C, 30 minutos, sob atmosfera inerte; <sup>129</sup>
3. Zn (1,2 eq), HCOOH/ metanol, temperatura ambiente, 40 minutos; <sup>130</sup>

4. Fe (1 eq), H<sub>2</sub>O, 50 °C, 29 h; <sup>131</sup>
5. Fe (3 eq), CaCl<sub>2</sub> (1 eq.), etanol/H<sub>2</sub>O, 60 °C, 30 minutos; <sup>132</sup>
6. i) Fe (1 eq), HCl, etanol, 65 °C, 2 h;<sup>133, 134</sup>  
 ii) NH<sub>4</sub>Cl 25 %, 100 °C, 12 h

Todas as tentativas efetuadas não foram eficazes. Para os métodos 1 e 3 houve decomposição do composto final. Nos métodos 4, 5 e 6 não ocorreu reação. Por fim, no método 2, concluiu-se que ocorreu a redução do aldeído, logo este método não é seletivo ao grupo nitro, obtendo-se assim o composto 28.

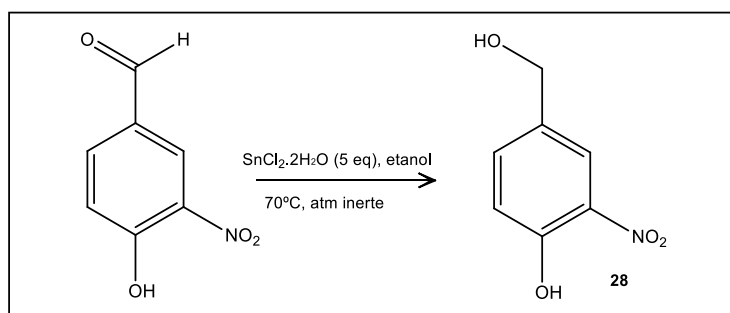


Figura 30 - Esquema da síntese do composto 28<sup>135</sup>

### 2.3. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados:

Os compostos sintetizados foram caracterizados por várias técnicas, nomeadamente, FT-IR, UV-vis, RMN e raios-X de cristal único.

#### 2.3.1. Análise por FT-IR <sup>a</sup>

Na Figura 31 apresenta-se, como exemplo, o espectro de FT-IR do composto 16 onde estão evidenciadas as bandas características do mesmo. A banda que diz respeito à presença do grupo hidróxilo encontra-se na região entre 3530-3206 cm<sup>-1</sup>. As bandas presentes na zona 3045-2840 cm<sup>-1</sup> dizem respeito, às ligações C-H dos anéis aromáticos, dos alifáticos e do grupo metóxi. As bandas correspondentes aos grupos carbonilo das cetonas e do éster encontram-se entre 1724-1557 cm<sup>-1</sup>, enquanto que as bandas correspondentes às ligações C=C encontram-se entre 1629-1509 cm<sup>-1</sup> e dos grupos metilo a 1276 cm<sup>-1</sup>.

Foi possível verificar, através da análise, que a troca de posições no anel aromático, afetava as bandas dos grupos hidróxilo, uma vez que quando este se encontra em posição *para* as bandas são mais largas e acentuadas, o que não acontece quando estes se encontram em posição *meta*.

<sup>a</sup> Anexo I

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

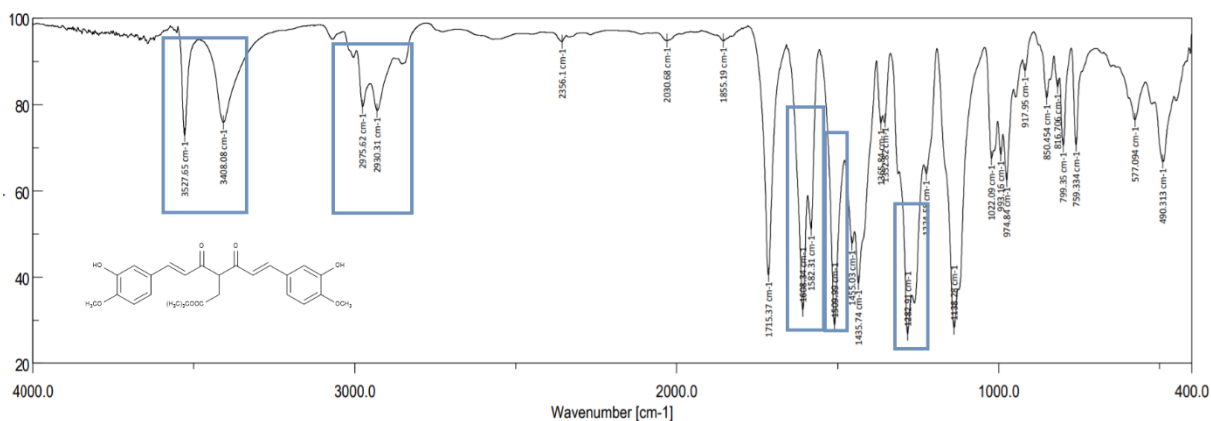
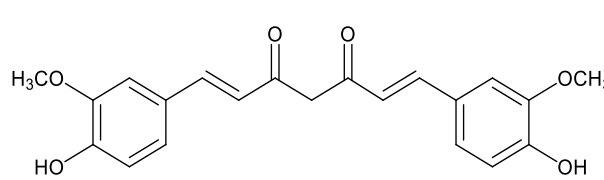
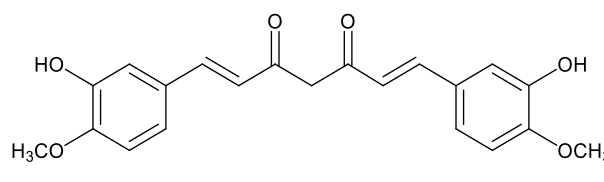
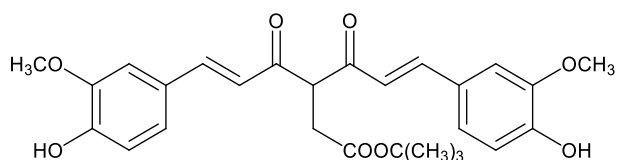


Figura 31 - Espectro de FT-IR do composto 16

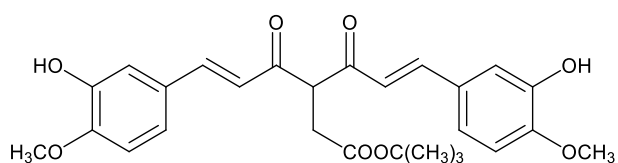
Na Tabela 3 são apresentadas as bandas características para cada um dos derivados curcuminóides.

Tabela 3 - Caracterização dos derivados curcuminóides por FT-IR

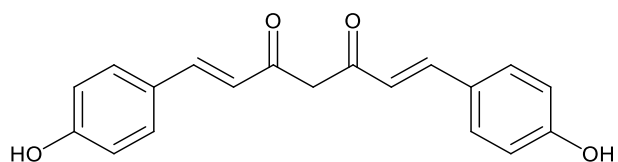
Composto	Atribuição	Bandas no IV
	C-H (alifáticos)	2940
	-C=C-	1629
	C=O	1589
	-OCH <sub>3</sub>	2842
	-C=C- (aromático)	1514
	-OH	3443
	C-H (aromático)	3045
	C-H (alifáticos)	2932
	-C=C-	1624
	C=O	1590
	-OCH <sub>3</sub>	2840
	-C-H (aromático)	3002
	-C=C- (aromático)	1518
	-OH	3406 e 3206



- C-H (alifáticos)	2900-3000
-C=C-	1587
C=O	1587
-OCH <sub>3</sub>	-
-C-H (aromático)	3000
-C=C- (aromático)	1514
-OH	3219
C=O (éster)	1724
C-O (éster)	1283
- C-C- (alifáticos)	2976
-C=C-	1608
C=O	1582

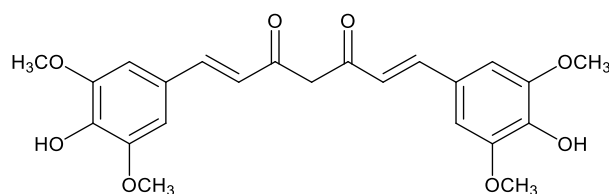


-OCH <sub>3</sub>	2930 cm <sup>-1</sup>
-C-C- (aromático)	3004 cm <sup>-1</sup>
-C=C- (aromático)	1509 cm <sup>-1</sup>
C=O (éster)	1715 cm <sup>-1</sup>
C-O (éster)	1283 cm <sup>-1</sup>
-OH	3530 cm <sup>-1</sup> e a 3407 cm <sup>-1</sup>



- C-H- (alifáticos)	2926 cm <sup>-1</sup>
-C=C-	1600 cm <sup>-1</sup>
C=O	1581 cm <sup>-1</sup>
-C-H- (aromático)	3021 cm <sup>-1</sup>
-C=C- (aromático)	1512 cm <sup>-1</sup>
-OH	3482 cm <sup>-1</sup>
- C-H- (alifáticos)	2922 cm <sup>-1</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



-C=C-	1605 $\text{cm}^{-1}$
C=O	1557 $\text{cm}^{-1}$
-OCH <sub>3</sub>	2847 $\text{cm}^{-1}$
-C-H- (aromático)	3000 $\text{cm}^{-1}$
-C=C- (aromático)	1511 $\text{cm}^{-1}$
-OH	3436 $\text{cm}^{-1}$

### 2.3.2. Análise por ultravioleta-visível

Com vista ao estudo do comportamento dos vários compostos na zona do visível, recorreu-se à análise dos espectros de ultravioleta-visível - alargou-se o estudo para vários solventes de forma a analisar o possível solvatocromismo.

#### 2.3.2.1. Análise comparativa dos vários compostos em acetona

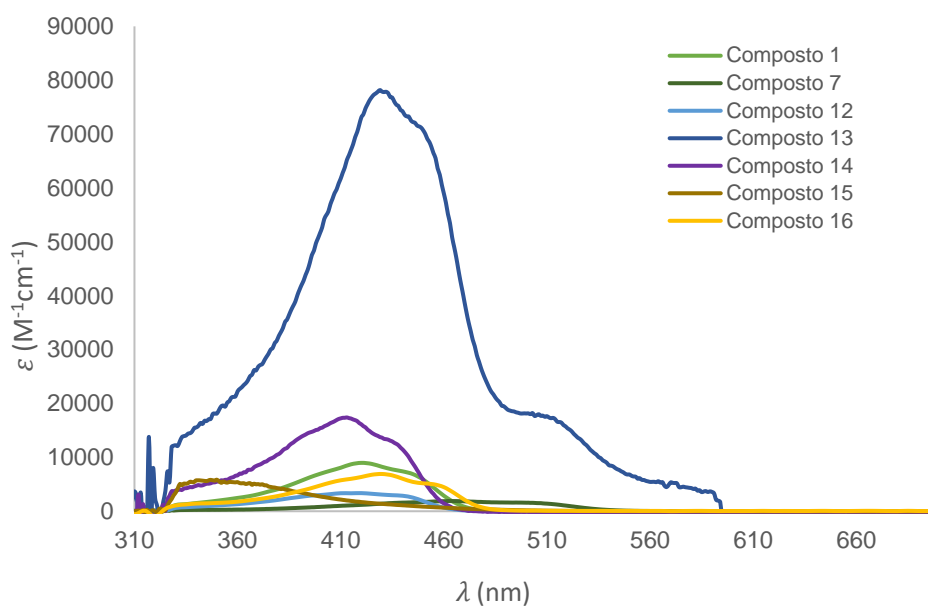


Figura 32 – Espectros de absorção de UV-vis dos compostos 1, 7, 12-16 em acetona

Tabela 4 - Dados relativos à absorvância e aos correspondentes comprimentos de onda dos vários derivados curcuminóides em acetona

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\varepsilon$ ( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )
1	420	8 980
	440	Ombro
	337	245
7	464	1 860
	503	Ombro
12	420	3 360
	440	Ombro
	429	77 180
13	448	Ombro
	517	Ombro
14	414	17 285
	437	Ombro
15	350	5 840
16	430	6 910
	455	Ombro

O solvente escolhido para esta análise foi a acetona e, como é possível verificar pela Figura 32 e pela Tabela 4, o comportamento é semelhante para todos os compostos, uma vez que todos absorvem na gama entre os 400-550 nm, embora com intensidades diferentes. É de notar também que o composto que apresenta um coeficiente de absorção molar maior é o 13, sendo que o composto que apresenta uma menor  $\varepsilon$  é o 7.

Comparativamente à estrutura do composto 1, é possível verificar que:

- a introdução de um grupo metóxi no anel aromático (composto 13) desloca a banda para um comprimento de onda máximo mais elevado e o coeficiente de absorção molar aumenta cerca de 9 vezes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

- a troca de posições dos grupos que se encontram no anel aromático (composto 12) não afeta o comprimento de onda máximo, no entanto, o coeficiente de absorção molar diminui significativamente, exceto quando a troca consiste no grupo hidroxilo da posição *para* ou *meta* para a posição *orto* (composto 15), pois, nesse caso o comprimento de onda máximo diminui.
- quando o composto apenas contém o grupo hidróxilo na posição *para* (composto 14), o comprimento de onda máximo onde este absorve diminui ligeiramente, no entanto, o coeficiente de absorção molar aumenta.
- a introdução do grupo éster ao composto aumenta significativamente o comprimento de onda máximo, no entanto, o coeficiente de absorção molar diminui drasticamente (composto 7).

Comparativamente à estrutura do composto 12, quando se introduz o grupo éster (composto 16), o comprimento de onda máximo aumenta em conjunto com o coeficiente de absorção molar.

Por fim, comparando os dois compostos que contêm um grupo éster na posição central da cadeia carbonada, é de notar que quando o grupo hidróxilo se encontra na posição *meta* e o grupo metóxi na posição *para*, o comprimento de onda máximo diminui e o coeficiente de absorção aumenta.

### 2.3.2.2. Análise comparativa dos compostos em vários solventes

O estudo foi efetuado para todos os derivados apresentando-se como exemplo os espectros de absorção de UV-vis obtidos para o composto 12 (Figura 33) resumindo-se os dados na Tabela 5.

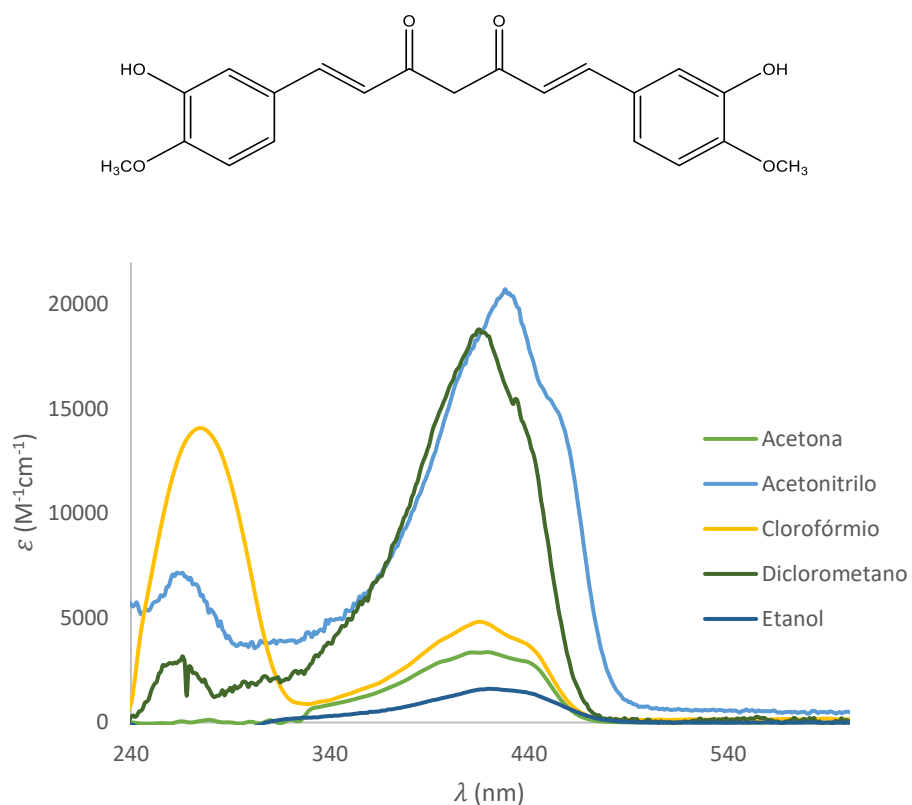


Figura 33 – Espectros de absorção de UV-vis do composto 12 em vários solventes

Tabela 5 - Dados relativos à absorvância e aos correspondentes comprimentos de onda em diferentes solventes para o composto 12

Solvente	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	$\epsilon$ ( $M^{-1}cm^{-1}$ )
Acetona	420	3 360
	440	Ombro
Acetonitrilo	266	7 150
	430	20 535
	452	Ombro
Clorofórmio	275	14 080
	415	4 820
	440	Ombro
Diclorometano	266	3 170
	415	18 795
	428	Ombro
Etanol	422	1 610
	432	Ombro

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível verificar, através da análise da Figura 33 e da Tabela 5, que o composto escolhido – representativo dos outros compostos sintetizados – apresenta um comportamento diferente dependendo do solvente onde se encontra dissolvido. Os solventes apresentados têm polaridades diferentes, sendo assim, através da análise da Tabela 5 é de notar que com o aumento da polaridade, o comprimento de onda correspondente à banda característica da cor aumenta ligeiramente. O solvente onde o composto apresenta um maior coeficiente de absorção é em diclorometano e no que apresenta menor é em etanol, isto está relacionado com o solvatocromismo, ou seja, diferentes solventes provocam alterações de posição e/ou intensidades de uma banda de absorção de um espectro de UV-vis que são acompanhadas pela mudança de polaridade do meio. É de notar também que em acetonitrilo, clorofórmio e diclorometano o composto apresenta duas bandas uma no visível e outra na região de UV, enquanto que nos outros solventes escolhidos apresenta apenas a banda característica da cor.

### 2.3.3. Caracterização estrutural por RMN

#### 2.3.3.1. $^1\text{H}$ -RMN<sup>b</sup>

A caracterização por RMN de próton confirmou as estruturas dos derivados curcuminóides sintetizados. A Figura 34 apresenta o espectro de  $^1\text{H}$ -RMN para o composto 12, sendo que os espectros foram feitos em vários solventes, nomeadamente, acetona, DMSO e metanol de forma a ser possível uma melhor dissolução do composto e por sua vez uma melhor resolução do espectro de  $^1\text{H}$ -RMN.

---

<sup>b</sup> Anexo II

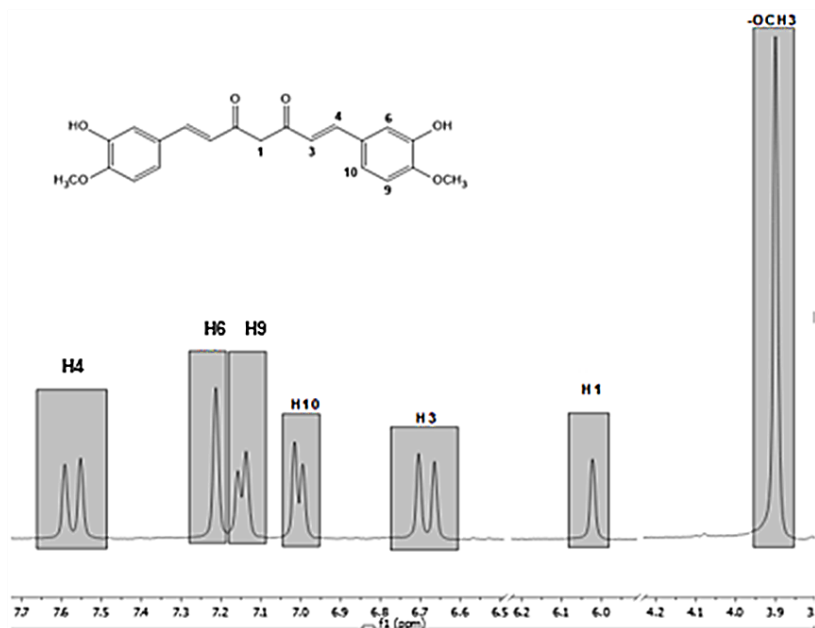


Figura 34 - Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 12

É possível verificar através da análise da Figura 34 os sinais pertencentes ao anel aromático (dois dupletos e um singuleto a 7,00 ppm, 7,14 ppm e 7,21 ppm, respetivamente, numa razão 1:1:1), os prótons pertencentes às ligações C=C (dois dupletos a 6,66 ppm e 7,55 ppm, numa razão 1:1) e os prótons correspondentes aos grupos metóxi a 3,90 ppm. Como este composto se encontra apenas na forma enólica apresenta um próton a 6,02 ppm para o grupo  $\text{CH}_2$  central.

A caracterização por RMN de próton dos outros derivados apresenta algumas diferenças, ou seja, os compostos 7 e 16 apresentam mais um sinal a aproximadamente 1,43 ppm que diz respeito ao grupo t-butilo.

O facto de os derivados curcuminóides serem  $\beta$ -dicetonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas faz com que estes possam apresentar tautomerismo ceto-enólico, ou seja, a forma ceto existe em equilíbrio com o tautómero enol. Esta propriedade é possível avaliar através de  $^1\text{H}$ -RMN. Por exemplo, o espectro do composto 7 (Figura 35) em  $\text{CD}_3\text{OD}$  mostra a existência das duas formas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

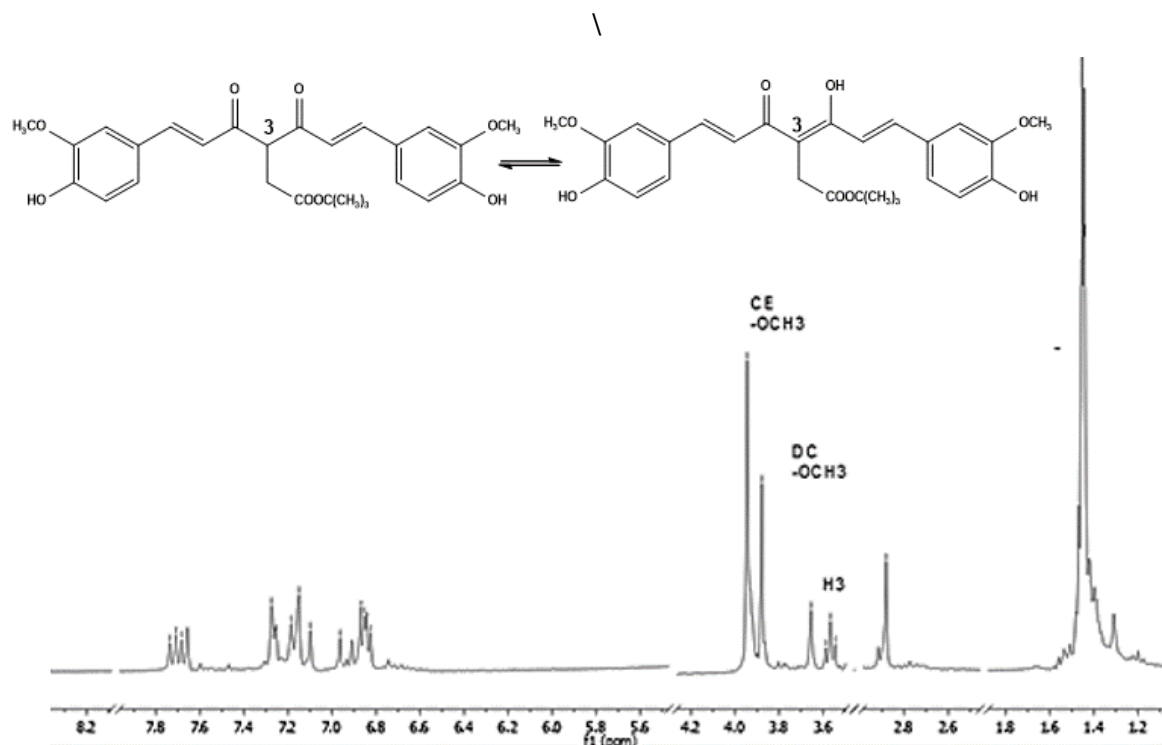


Figura 35 - Espetro de  $^1\text{H-RMN}$  (MeOD-  $d_4$ , 400 MHz) do composto 7

Como é possível verificar pelo espectro de  $^1\text{H-RMN}$  o composto na forma enólica não apresenta o próton central (H3) enquanto que na forma ceto já apresenta, sendo assim possível notar a existência das duas formas. Para além disso as duas formas apresentam sinais diferentes para os grupos metóxi, sendo assim possível quantificar as duas formas.

Ao fazer a análise de todos os derivados através da Tabela 6 é possível notar que apenas os compostos 7 e 16 se apresentam nas duas formas, enquanto que todos os outros apenas se apresentam na forma enólica. Esta diferença de comportamentos será provavelmente devido à presença do grupo substituinte volumoso na posição central do esqueleto da dicetona.

Tabela 6 - Distribuição dos tautômeros determinados por  $^1\text{H-RMN}$

Composto	Forma ceto (%)	Forma enólica (%)
1	0	100
7	35	65
12	0	100
13	0	100
14	0	100
16	54	46

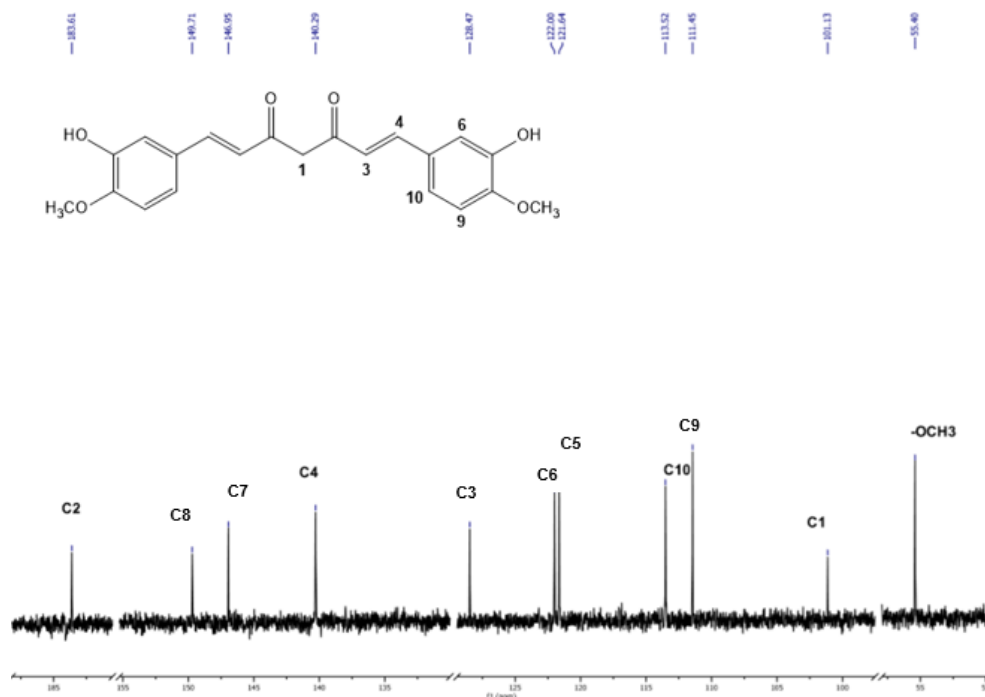
2.3.3.2.  $^{13}\text{C}$ -RMN<sup>c</sup>

Figura 36 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 12

Através da análise de RMN de carbono foi mais uma vez possível confirmar as estruturas dos derivados curcuminóides. A Figura 36 corresponde ao espectro de carbono do composto 12, sendo possível verificar que o sinal pertencente aos dos grupos carbonilos se encontram presente (C<sub>2</sub>, C'<sub>2</sub>, a 184 ppm), juntamente com os sinais das ligações duplas (C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, a 129 e 140 ppm respectivamente). Já os sinais dos carbonos pertencentes aos anéis aromáticos encontram-se num intervalo entre 110-150 ppm (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) e o carbono pertencente ao grupo metóxi a aproximadamente 55 ppm.

Este espectro é representativo dos derivados curcuminóides, no entanto, com algumas diferenças:

- quando o grupo hidróxi se encontra na posição *para* e o grupo metóxi na posição *meta*, os sinais do carbono 7 e 8 encontram-se trocados e esta alteração também afeta os carbonos 3 e 4, correspondentes às insaturações da cadeia central, sendo esta diferença mais notória nos compostos 7 e 16. (Tabela 7)
- os compostos 7 e 16 contêm mais 4 sinais correspondentes ao éster (C<sub>11</sub> e C<sub>14</sub> a 29 ppm, C<sub>12</sub> a 173 ppm e C<sub>13</sub> a 82, aproximadamente). (Figura 37)

<sup>c</sup> Anexo 3

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

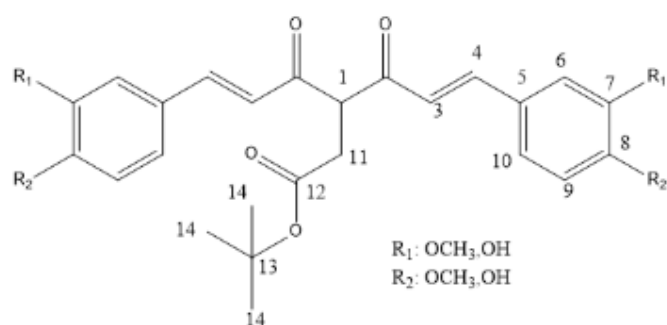


Figura 37 – Composto 7 e 16

Tabela 7 -  $^{13}\text{C}$ -RMN de todos os derivados curcuminóides

		Composto							
		1	12	13	14	7		16	
						DC	CE	DC	CE
Carbono	1	-	-	-	-	59,6	-	62,4	-
	2	183,6	184,0	184,6	183,6	184,7	184,7	184,6	184,6
	3	127,3	128,5	127,5	130,1	118,9	118,9	123,0	123,0
	4	140,5	140,0	142,4	140,1	143,5	143,5	137,6	137,6
	5	122,9	121,6	122,0	126,8	128,9	128,9	128,8	128,8
	6	110,7	122,0	106,9	115,9	112,0	112,0	112,6	112,6
	7	149,9	146,95	149,5	121,2	150,6	150,6	146,6	146,6
	8	146,9	149,9	139,6	159,6	149,4	149,4	148,1	148,1
	9	121,4	111,5	149,5	121,2	116,0	116,0	115,1	115,1
	10	115,31	113,5	106,9	115,9	124,3	124,3	123,8	123,8
	11	-	-	-	-	34,1	34,1	38,6	38,6
	12	-	-	-	-	173,6	173,6	172,0	172,0
	13	-	-	-	-	82,5	82,5	82,4	82,4
	14	-	-	-	-	28,4	28,4	19,0	19,0
-OCH <sub>3</sub>	55,4	55,0	56,8	-	56,5	56,5	56,4	56,4	

### 2.3.3.3. RMN bidimensional – COSY

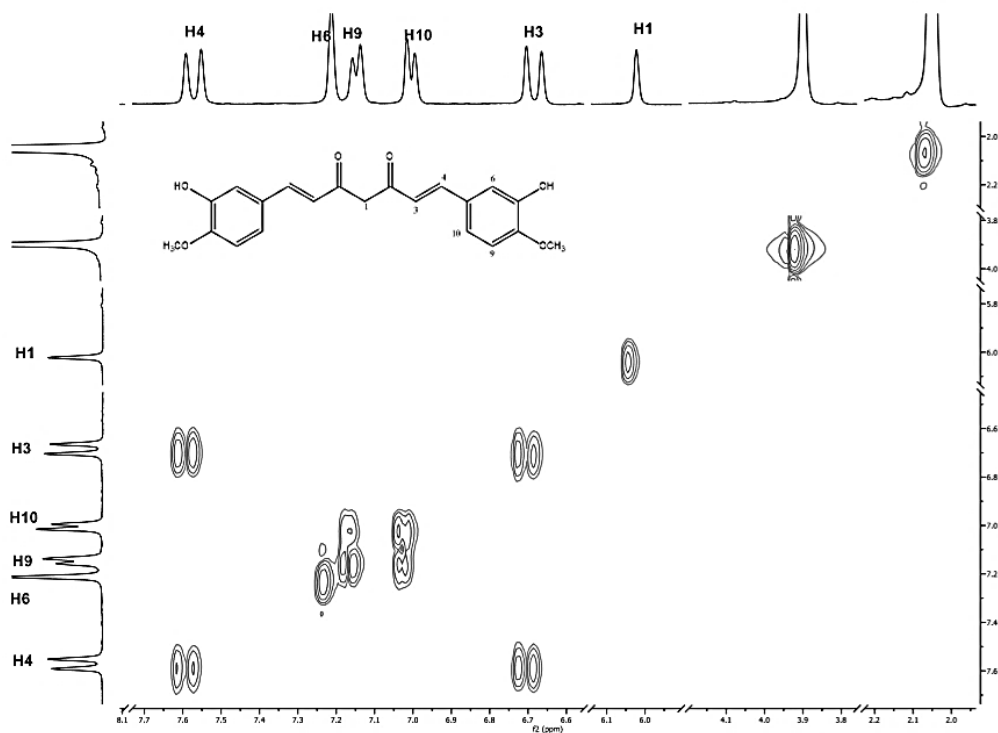


Figura 38 - Espectro bidimensional de RMN - COSY – do composto 12 (MeOD- *d*<sub>4</sub>, 400 MHz)

Os espectros de RMN bidimensionais de COSY permitiram uma confirmação estrutural mais completa dos derivados curcuminóides. Sabendo que este tipo de análise permite saber quais os prótons que estão acoplados entre si, analisando a Figura 38, é possível confirmar a correlação entre os prótons H<sub>3</sub> e H<sub>4</sub> prótons correspondentes à ligação dupla da cadeia carbonada – e os prótons H<sub>9</sub> e H<sub>10</sub> pertencentes ao anel aromático.

O espectro da Figura 38 é representativo de todos os outros, apenas há uma diferença no que diz respeito ao espectro de RMN bidimensional do composto 14, pois este contém mais dois prótons acoplados lado a lado, nomeadamente o H<sub>6</sub> e H<sub>7</sub>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.3.4. RMN bidimensional – HMQC<sup>d</sup>

Por último, a nível de caracterização por RMN, efetuaram-se o espectro HMQC que permitiu estabelecer as correlações  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  e atribuir os sinais respetivos na estrutura dos derivados curcuminóides, como é possível verificar através da Figura 39 – representativa de todos os outros espectros de HMQC.

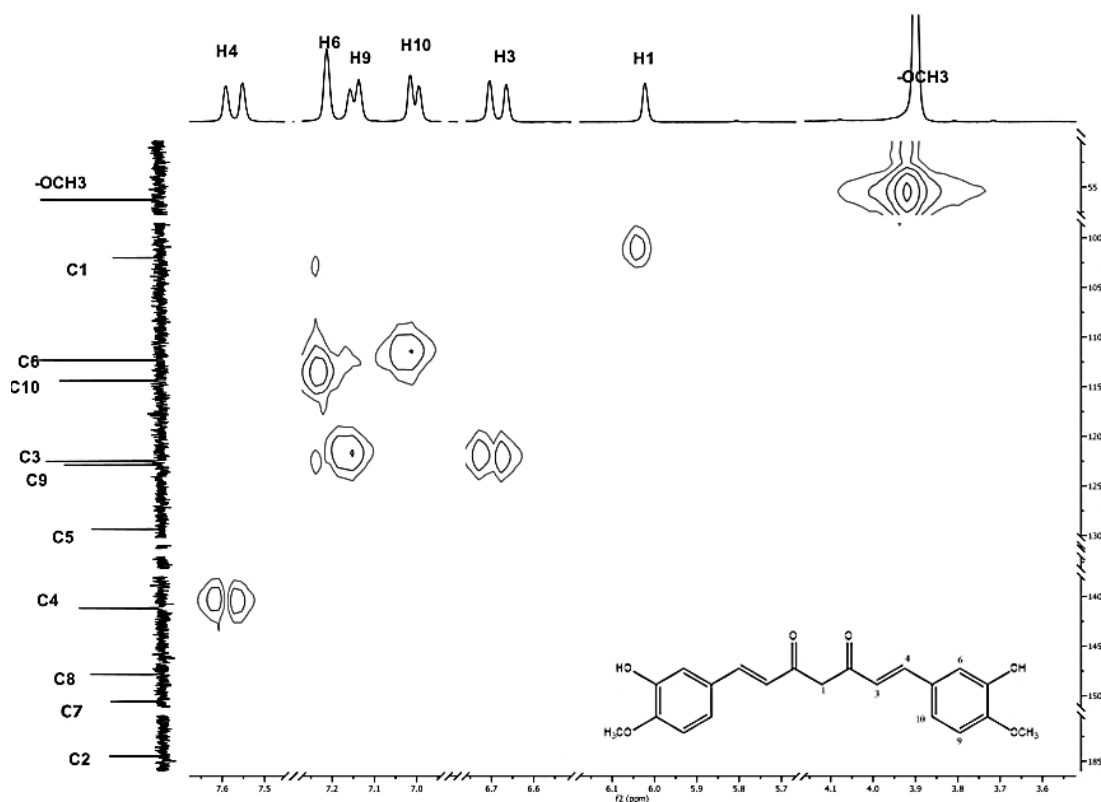


Figura 39 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - $^1\text{H}$  HMQC (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 12

### 2.3.4. Raios-X de cristal único

Através da recristalização de alguns dos derivados curcuminóides foi possível obter cristais com qualidade suficiente para utilizar a técnica de caracterização de raios-X de cristal único.

- **Composto 7:**

A Figura 40 diz respeito à estrutura molecular do composto 7. Este composto é um derivado da curcumina em que a diferença se encontra no facto deste composto ter a posição

<sup>d</sup> Anexo IV

$\alpha$  funcionalizada com um grupo t-butilo. É de notar que a determinação estrutural do composto 7 permitiu verificar que, no estado sólido, a molécula não é simétrica.

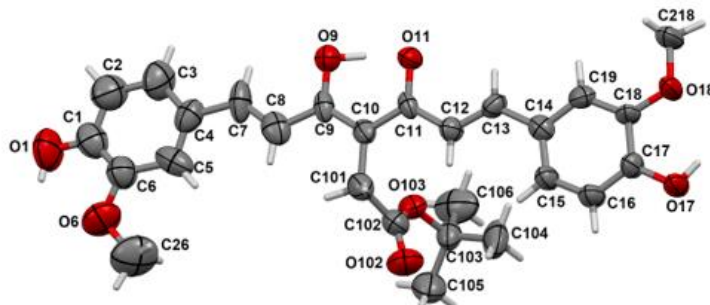


Figura 40 - Estrutura de raios-X do composto 7

A Tabela 8 contém os parâmetros cristalográficos da estrutura cristalina do composto 7.

Tabela 8 - Dados cristalográficos para o composto 7.

<i>Fórmula Empírica</i>	<b>C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>8</sub></b>	
<b>Massa molecular</b>	481,50	
<b>Sistema de cristal, grupo espacial</b>	Monoclínico, P 21 / n	
<b>Dimensões da célula unitária</b>	a = 7,402 Å	$\alpha=90^\circ$
	b = 22,466 Å	$\beta=95,3^\circ$
	c = 14,792 Å	$\gamma=90^\circ$
<b>Volume</b>	2449,0(11) Å <sup>3</sup>	
<b>Z, densidade calculada</b>	4, 1,306 Mg/m <sup>3</sup>	
<b>Coefficiente de absorção</b>	0,096 mm <sup>-1</sup>	
<b>Faixa <math>\theta</math></b>	1,813 - 25,729°	
<b>Índices limitados</b>	-8 $\leq$ h $\leq$ 9, -27 $\leq$ k $\leq$ 26, -17 $\leq$ l $\leq$ 17	
<b><math>\theta</math> perfeito = 25.242</b>	99,1 %	
<b>Reflexões coletadas / exclusivas</b>	16548 / 4588 [R(int) = 0,1627]	
<b>Bondade de ajuste em F ^</b>	0,863	
<b>Dados / Restrições / Parâmetros</b>	4588 / 1 / 320	
<b>Índices R finais [<math>I &gt; 2\sigma(I)</math>]</b>	R1 = 0,1027, wR2 = 0,2449	
<b>Índices R (todos os dados)</b>	R1 = 0,3040, wR2 = 0,3148	

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível ainda obter uma outra estrutura do composto 7 (Figura 41) que continha uma molécula de solvente, nomeadamente, acetona. Neste caso o composto solvatado apresenta uma estrutura molecular simétrica.

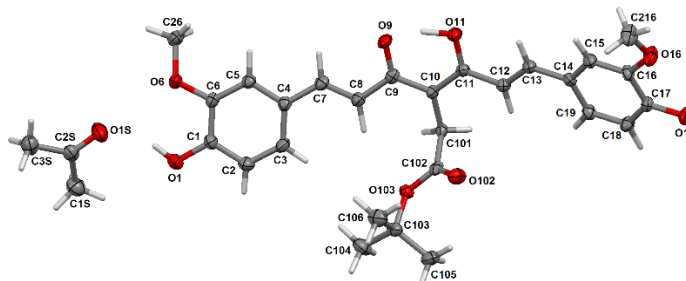


Figura 41 - Estrutura de raios-X do composto 7 com acetona

A Tabela 9 contém os parâmetros cristalográficos da estrutura cristalina do composto 7 solvatado.

Tabela 9 - Dados cristalográficos para o composto 7 solvatado

<i>Fórmula Empírica</i>	<b>C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>O<sub>9</sub></b>	
<b>Massa molecular</b>	540,59	
<b>Sistema de cristal, grupo espacial</b>	Monoclínico, P 21 / c	
<b>Dimensões da célula unitária</b>	a = 15,459 Å	α=90°
	b = 6,779 Å	β=94,2°
	c = 26,515 Å	γ=90°
<b>Volume</b>	2771,2(5) Å <sup>3</sup>	
<b>Z, densidade calculada</b>	4, 1,296 Mg/m <sup>3</sup>	
<b>Coeficiente de absorção</b>	0,095 mm <sup>-1</sup>	
<b>Faixa θ</b>	3,283 - 26,474°	
<b>Índices limitados</b>	-19<=h<=19, -6<=k<=8, -33<=l<=33	
<b>θ perfeito = 25.242</b>	99,8 %	
<b>Reflexões coletadas / exclusivas</b>	22541 / 5693 [R(int) = 0,0772]	
<b>Bondade de ajuste em F<sup>2</sup></b>	0,976	
<b>Dados / Restrições / Parâmetros</b>	5693 / 2 / 411	
<b>Índices R finais [I &gt; 2σ(I)]</b>	R1 = 0,0524, wR2 = 0,1030	
<b>Índices R (todos os dados)</b>	R1 = 0,1158, wR2 = 0,1227	

- **Composto 13:**

A Figura 42 mostra a estrutura molecular do composto 13. Este derivado da curcumina apresenta uma estrutura monoclinica e o grupo espacial é P2(1)/n, como se pode ver na Tabela 10, que contém todos os parâmetros cristalográficos da estrutura cristalina deste composto. Este é um derivado da curcumina cuja alteração estrutural se encontra nos anéis aromáticos, visto que, contém mais um grupo metóxi na posição *meta*.

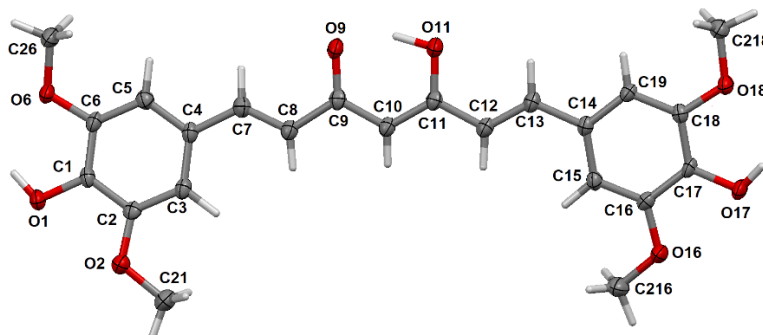


Figura 42 - Estrutura de raios-X de cristal único de 13, com a nomenclatura dos átomos

A Tabela 10 contém os parâmetros cristalográficos da estrutura cristalina do composto 13.

Tabela 10 - Dados cristalográficos para o composto 13

<i>Fórmula Empírica</i>	<b>C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub></b>	
<b>Massa molecular</b>	428,42	
<b>Sistema de cristal, grupo espacial</b>	Monoclinico, P 21/n	
<b>Dimensões da célula unitária</b>	a = 8,490 A	$\alpha=90^\circ$
	b = 20,203 A	$\beta=106,1^\circ$
	c = 12,385 A	$\gamma=90^\circ$
<b>Volume</b>	2040,83(17) A <sup>3</sup>	
<b>Z, densidade calculada</b>	4, 1,394 Mg/m <sup>3</sup>	
<b>Faixa <math>\theta</math></b>	2,645 - 26,061 <sup>o</sup>	
<b>Índices limitados</b>	-10<=h<=7, -24<=k<=24, -14<=l<=15	
<b><math>\theta</math> perfeito = 25.242</b>	99,2 %	
<b>Reflexões coletadas / exclusivas</b>	12784 / 4008 [R(int) = 0,0460]	
<b>Dados / Restrições / Parâmetros</b>	4008 / 0 / 332	
<b>Índices R finais [<math>I &gt; 2\sigma(I)</math>]</b>	R1 = 0,0415, wR2 = 0,0955	
<b>Índices R (todos os dados)</b>	R1 = 0,0726, wR2 = 0,1080	

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### • Comparação de estruturas dos compostos obtidos

A diferença estrutural entre o composto 7 com e sem solvente mais relevante é o ângulo diedro (C101-C102-O103-C103) do grupo terc-butilo, que no composto sem solvente tem o valor  $176,6^\circ$  e no composto com acetona tem o valor  $-177,0^\circ$ , estando, portanto, em posições simétricas. Outra das desigualdades existentes e que já foi referida anteriormente é o facto de grupo metóxi, no composto sem solvente, estar em posição inversa à do composto 7 solvatado (encontra-se a laranja na Figura 43). Esta assimetria não é muito relevante uma vez que a ligação carbono-carbono C13-C14 é simples o que implica ter rotação livre.

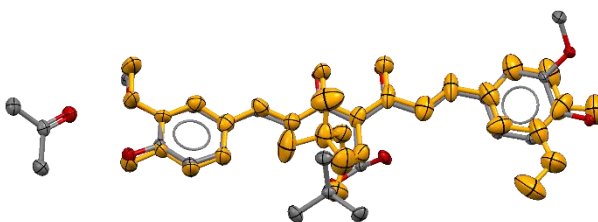


Figura 43 - Sobreposição do composto 7 com e sem solvente

A Figura 44 mostra o composto 1 (cinza), o composto 7 (laranja) e o composto 13 (rosa) sobrepostos. A estrutura do composto 1 é muito semelhante à do composto 13, como se vê pela sobreposição quase perfeita das duas estruturas. No entanto o composto 7 tem uma estrutura um pouco diferente da curcumina e do composto 13. A razão mais provável para isto é que este composto cristalizou com um dos anéis aromáticos (C1-C6) rodado, ficando com o grupo metóxi invertido em relação ao do outro anel. Esta diferença nas estruturas é um desvio do fragmento O1C1-C8 nas três moléculas, medido pelo ângulo entre os planos destes fragmentos:  $30,54^\circ$  (curcumina/composto 7),  $18,51^\circ$  (composto 7/composto 13), enquanto que o ângulo entre os planos dos fragmentos entre a curcumina e o composto 13 é bastante menor ( $12^\circ$ ).

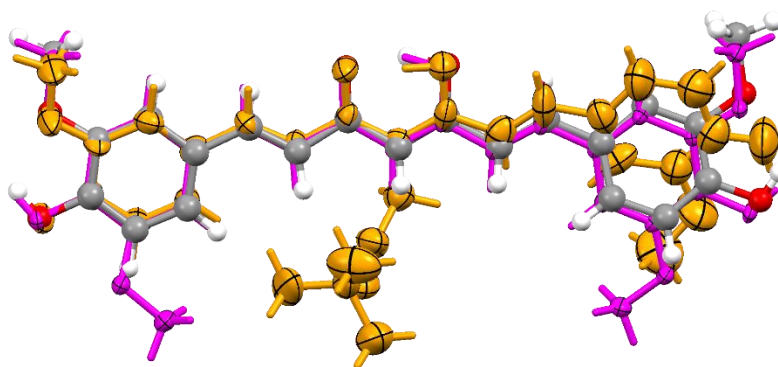


Figura 44 - Sobreposição da curcumina, com o composto 7 (laranja) e com o composto 13 (rosa)

## 2.4. Testes de solubilidade para posterior aplicação

Uma das possíveis aplicações da curcumina é como antidiabético e com vista a estudar os derivados curcuminóides nesse mesmo âmbito foi necessário estudar as suas solubilidades em água, DMSO e meios fisiológicos como o soro.

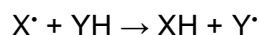
Após vários testes concluiu-se que todos os compostos são insolúveis em água e soro e solúveis em DMSO. Ao adicionar água à solução do composto com DMSO, todos os compostos têm o mesmo comportamento, ou seja, precipitam à exceção do composto 13 que fica parcialmente solúvel, o que é possível concluir que todos os compostos, tirando a exceção, não são solúveis numa solução de DMSO 25 %.

Todos os compostos apresentam uma solubilidade muito reduzida (<10mg/L) exceto no caso do composto 7 que é completamente insolúvel. Foi possível concluir que a troca de posições no anel aromático aumentou relativamente a solubilidade.

A nível de solubilidade em solventes orgânicos concluiu-se que todos os compostos são solúveis em acetona e acetonitrilo. No entanto, o composto 1 e o composto 12 são parcialmente solúveis em acetato de etilo, o composto 13 e o composto 14 são parcialmente solúveis em diclorometano, sendo que este último é insolúvel em clorofórmio. No que diz respeito ao composto 15 este é solúvel em clorofórmio, acetonitrilo e acetona, sendo parcialmente solúvel em etanol e insolúvel em diclorometano e metanol.

## 2.5. Capacidade antioxidante da curcumina e derivados curcuminóides

Os testes sobre a atividade antioxidante dependem da medição do consumo de radicais livres estáveis de forma a avaliar a atividade captadora de radicais livres por parte dos compostos. A metodologia pressupõe que o consumo do radical livre estável ( $X^{\bullet}$ ) por antioxidantes doadores de hidrogénio (YH) é determinado pela seguinte reação:



A percentagem da eficiência do processo é medida em termos da diminuição da concentração de  $X^{\bullet}$ , ou seja, está relacionada com a capacidade dos compostos YH captarem radicais livres. A diminuição da intensidade de cor da solução de radicais livres – devido à eliminação do radical livre pelo material antioxidante – é medida colorimetricamente em um comprimento de onda específico. <sup>125</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste ensaio foi utilizado um radical catiónico derivado do ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) como radical livre estável, como oxidante o dióxido de manganês e como padrões utilizaram-se o ácido ascórbico e o Trolox. O radical ABTS<sup>•+</sup> tem uma absorvância na zona do visível ( $\lambda = 734 \text{ nm}$ ) sendo a capacidade antioxidante seguida pelo desaparecimento da cor e consequentemente a diminuição da absorvância a 734 nm.

$$\% \text{inibição} = \frac{A_{(\text{ABTS}^{\bullet+})} - A_{(\text{amostra})}}{A_{(\text{ABTS}^{\bullet+})}} \times 100$$

Através da análise dos resultados obtidos (Figura 45) é possível verificar que:

- Os compostos que contêm o grupo metóxi na posição *meta* e o grupo hidróxi na posição *para* (compostos 1, 7, 13) têm uma capacidade antioxidante melhor;
- O aumento de grupos metóxi no anel aromático (composto 13) melhora a capacidade antioxidante;
- Quando o grupo hidróxi se encontra na posição *orto* e o grupo metóxi na posição *meta* (composto 15) a capacidade antioxidante diminui drasticamente;

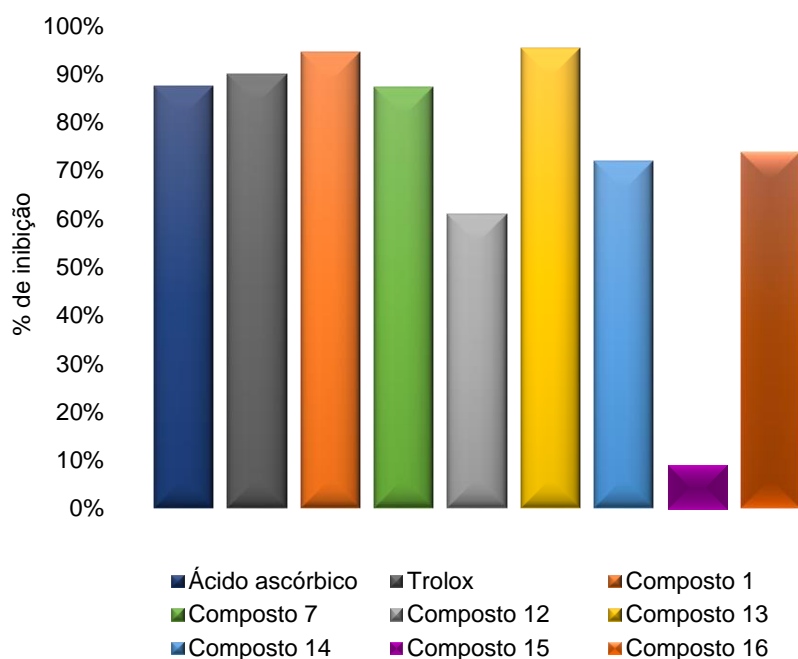


Figura 45 - Resultados dos testes antioxidantes

Sendo assim, o composto mais eficaz no que diz respeito à capacidade antioxidante é o 13, devido a ter um maior número de grupos metóxi no anel aromático juntamente com o

facto de ter o grupo hidróxilo na posição *para*. No entanto, o composto que se mostrou menos eficaz foi o 15, este resultado deve-se ao facto deste composto não ter o grupo hidróxilo na posição *para* não havendo deslocalização eletrónica ao longo da molécula – este resultado também se pode dever ao facto de se ter utilizado um solvente diferente aquando o teste – no entanto, é de verificar que o composto 12 também possui uma capacidade antioxidante mais baixa o que vem reforçar o que foi referido acima. É possível concluir assim que esta condição se sobrepõe ao facto de o composto possuir um maior número de grupos metóxi, pois, se assim não fosse o composto menos eficaz seria o 14.

## 2.6. Co-cristalização por mecanoquímica

A curcumina comercial (1) e os compostos 12 e 13 foram sujeitos a técnicas de co-cristalização com diversos co-fórmers de forma a melhorar algumas propriedades físico-químicas dos mesmos, em especial, a solubilidade. Utilizou-se um moinho de bolas para efetuar as reações (Tabela 11), numa estequiometria de 1:1, e pequenas quantidades de vários solventes, no entanto, notou-se que em alguns casos se obteve compostos amorfos sendo necessário também utilizar a moagem manual num almofariz de forma a ultrapassar esse problema.

Tabela 11 - Reações de co-cristalização por mecanoquímica efetuadas

PFA	Co-fórmero	Solventes
Curcumina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piperazina;</li> <li>• Alopurinol;</li> <li>• Ácido cítrico;</li> <li>• Ácido maleico;</li> <li>• Ácido cítrico;</li> </ul>	
Composto 12	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Naringina;</li> <li>• Resorcinol;</li> <li>• L-asperigina;</li> <li>• Prolina.</li> <li>• Resorcinol;</li> <li>• Paracetamol;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etanol;</li> <li>• Acetato de etilo;</li> <li>• Acetona;</li> <li>• DMSO;</li> <li>• Acetonitrilo;</li> <li>• Clorofórmio.</li> </ul>
Composto 13	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piperazina;</li> <li>• Ácido gálico;</li> <li>• Ácido cítrico;</li> <li>• Ácido maleico;</li> <li>• Naringina;</li> </ul>	

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Prolina;
- L-asperigina.

Os resultados das várias reações entre os derivados da curcumina e os vários co-fórmers nem sempre tiveram sucesso, como se pode ver pela Tabela 12.

Tabela 12 - Resultados das várias reações efetuadas

Sucessos	Insucessos
<input type="checkbox"/> Composto 13:resorcinol (Figura 48)	<input type="checkbox"/> Curcumina:alopurinol
<input type="checkbox"/> Composto 13:paracetamol (Figura 47)	<input type="checkbox"/> Curcumina:piperazina
<input type="checkbox"/> Composto 13:piperazina (Figura 49)	<input type="checkbox"/> Curcumina:ácido cítrico
<input type="checkbox"/> Composto 12:ácido cítrico (Figura 46)	<input type="checkbox"/> Curcumina:ácido maleico
	<input type="checkbox"/> Composto 13:Naringina
	<input type="checkbox"/> Composto 12:Naringina
	<input type="checkbox"/> Composto 13:ácido gálico
	<input type="checkbox"/> Composto 13: prolina
	<input type="checkbox"/> Composto 12:L-asperigina

A caracterização dos co-cristais e das misturas obtidas foi feita por difração de raios-X em pós. Os difratogramas dos co-cristais estão apresentados nas figuras 46, 47, 48 e 49 para cada co-cristal formado. Nestas figuras as reflexões características do co-cristal encontram-se assinaladas. Nestas figuras encontram-se também os difratogramas dos reagentes que formaram cada co-cristal, para comparação. Sempre que houve formação do co-cristal o seu difratogramas era diferente dos reagentes de partida. As reflexões características dos co-cristais encontram-se assinaladas nas figuras.

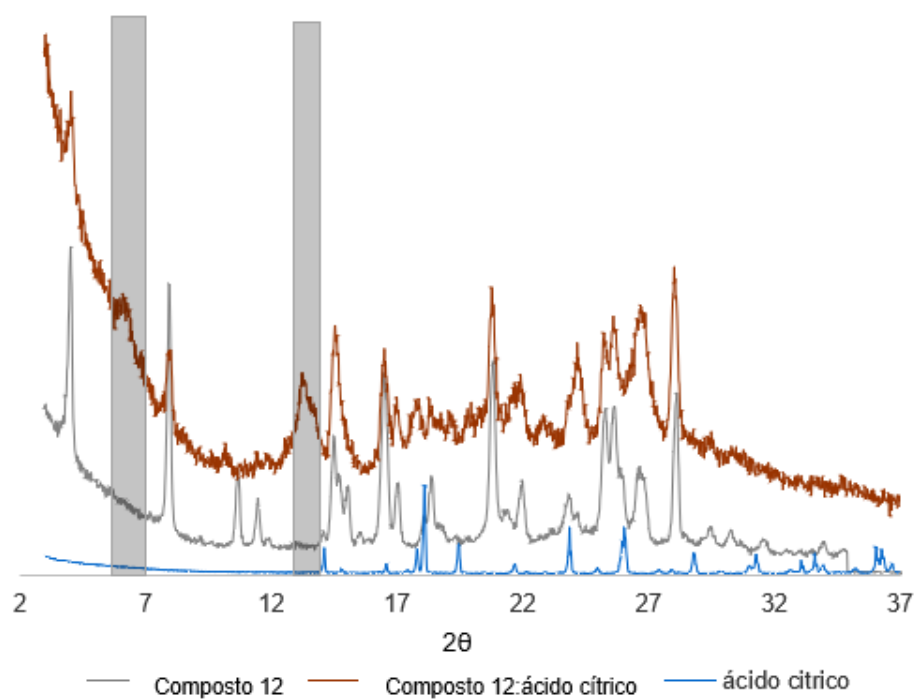


Figura 46 – Difratoformas de raios-X de pós do co-cristal do composto 12 com o ácido cítrico com os respectivos difratoformas de pós dos materiais de partida

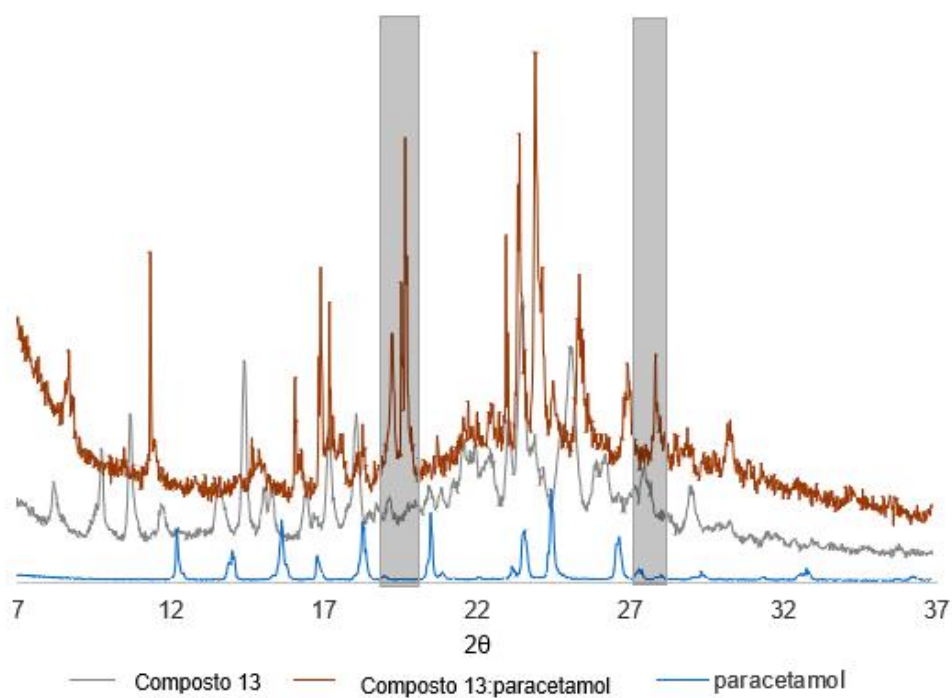


Figura 47 - Difratoformas de raios-X de pós da reação do composto 13 com o paracetamol comparado com os respectivos difratoformas de pós dos materiais de partida

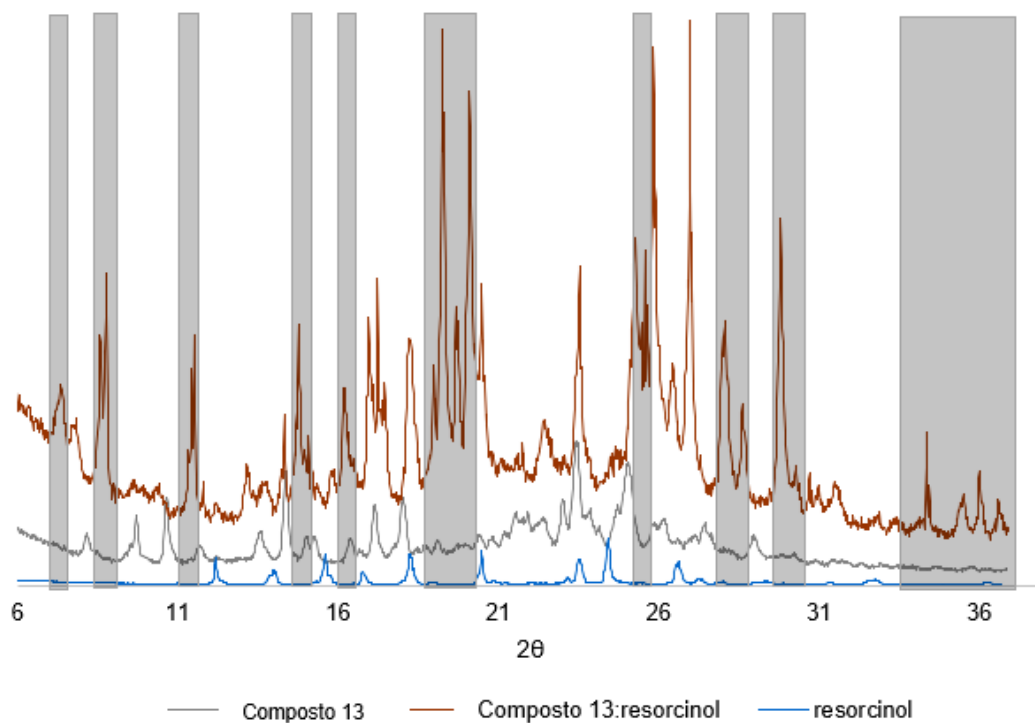


Figura 48 - Difratoogramas de raios-X de pós do co-cristal do composto 13 com o resorcinol e os respectivos diagramas de pós dos materiais de partida

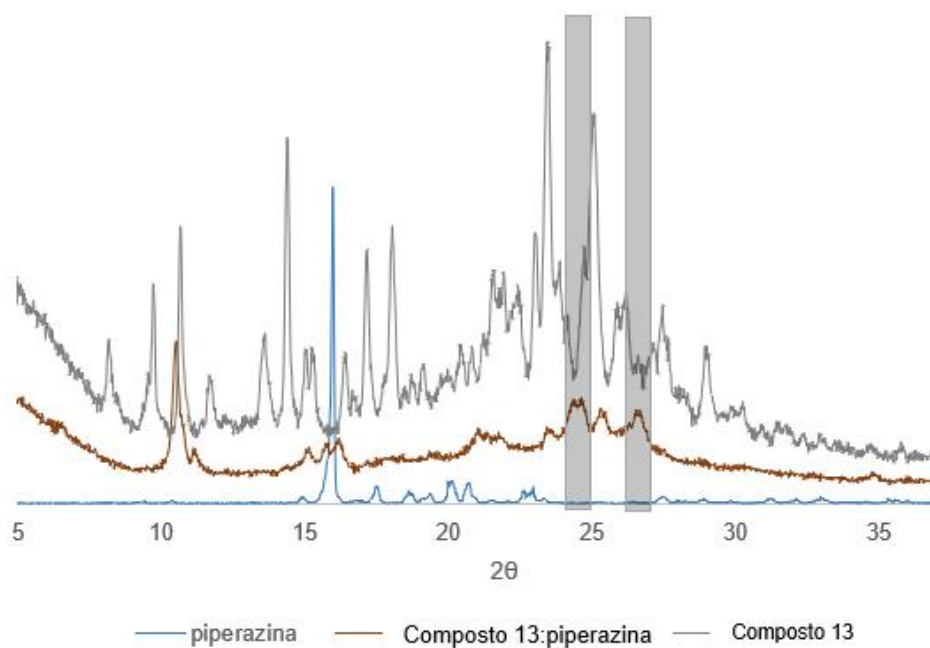


Figura 49 - Difratoogramas de raios-X de pós da reação do composto 13 com piperazina e os respectivos diagramas de pós dos materiais de partida

É de notar que nos sucessos obtidos a solubilidade em água aumentou em todos, sendo que o que se obteve melhores resultados em termos de solubilidade foi na reação do composto 13 com o ácido cítrico. Não foi possível efetuar o raios-X de cristal único, pois, apesar de se obter compostos cristalinos, não se conseguiu obter cristais com tamanho suficiente para esse tipo de técnica.

### **2.6.1. Misturas Eutéticas**

De algumas das reações efetuadas obtiveram-se misturas cuja solubilidade em água aumentou, mas que, a análise dos difratogramas de raios-X de pós mostrava que não tinha havido formação do co-cristal, ou seja, os compostos não tinham reagido, coloca-se a hipótese assim de possíveis misturas eutéticas. Essas misturas foram as seguintes a curcumina com piperazina e o composto 13 com prolina. É necessário fazer mais estudos para provar a formação destas misturas eutéticas.

# **Capítulo 3**

## **Conclusão e Perspetivas Futuras**



### 3. Conclusão e Perspetivas Futuras

O principal objetivo deste trabalho foi sintetizar a curcumina e vários derivados curcuminóides, onde fosse possível, através da diferença a nível da estrutura molecular, perceber que grupos moleculares influenciavam nas várias propriedades provenientes da curcumina. Foram sintetizados um total de nove curcuminóides diferentes através de dois principais métodos de síntese e através de micro-ondas. Foi possível concluir que, dos métodos de síntese utilizados, o que se obteve melhores rendimentos foi o que utilizava como solvente acetato de etilo e uma temperatura de 40 °C, pois, obtiveram-se compostos mais puros e com rendimentos mais elevados. Comparando os métodos de síntese tradicionais com o método por micro-ondas foi possível concluir também que, os primeiros são mais demorados e que os rendimentos são equivalentes. Tentou-se sintetizar derivados curcuminóides monosubstituídos utilizando os métodos de síntese referidos anteriormente, no entanto, sem sucesso pois apenas se obteve compostos disubstituídos e com rendimentos inferiores.

De forma a se conseguir obter os derivados curcuminóides substituídos na posição central do esqueleto da acetilacetona foi necessário recorrer à sua modificação, ou seja, efetuaram-se quatro modificações à acetilacetona obtendo-se os compostos 19, 24 e 25, tentou-se ainda uma quarta alteração de forma a se conseguir obter o composto 26, mas sem qualquer sucesso. As tentativas de funcionalização do anel aromático dos derivados do benzaldeído não se mostraram eficazes, pois, de todos os métodos utilizados em nenhum ocorreu reação.

Todos os compostos foram caracterizados por ponto de fusão, UV-vis, FT-IR e RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC e COSY), sendo que, alguns compostos, nomeadamente, o 7 e o 13 foram caracterizados ainda por raios-X de cristal único.

Com vista ao estudo do comportamento dos vários compostos na zona do ultravioleta e visível, recorreu-se à análise dos espetros de ultravioleta-visível, onde, comparando todos os compostos no mesmo solvente (acetona) foi possível concluir que o comportamento é idêntico, pois, absorvem entre os 400-550 nm e que o composto que apresenta um maior coeficiente de absorção é o 13 e o menor é o 7. A nível da comparação entre os vários solventes é possível concluir que o solvente onde o composto 12 apresenta um maior coeficiente de absorção é em diclorometano e no que apresenta menor é em etanol, isto está relacionado com o solvatocromismo.

Através da caracterização efetuada por  $^1\text{H-RMN}$  foi possível analisar o equilíbrio ceto-enólico deste tipo de compostos onde se concluiu que apenas os compostos 7 e 16 se apresentam nas duas formas.

Outro objetivo deste trabalho foi estudar a capacidade antioxidante dos vários compostos, onde foi possível ver que o composto que apresenta uma melhor capacidade antioxidante é o 13 e o que apresenta a pior é o 15 isto leva a concluir que os compostos que contêm o grupo metóxi na posição *meta* e o grupo hidróxi na posição *para* têm uma capacidade antioxidante melhor, que o aumento de grupos metóxi no anel aromático melhora a capacidade antioxidante e que os compostos que não contêm a posição  $\alpha$  funcionalizada têm uma melhor capacidade antioxidante.

Por fim, efetuou-se co-cristalização por mecanoquímica com vista a melhorar as propriedades físicas dos compostos 1, 12 e 13 utilizando vários co-fórmers e diferentes condições reacionais, onde se obteve vários co-cristais, nomeadamente, o composto 13 com resorcinol, piperazina, paracetamol e ácido cítrico e o composto 12 com o ácido cítrico. Coloca-se a hipótese também da obtenção de misturas eutéticas, nomeadamente, a curcumina com a piperazina e o composto 13 com a prolina, pois houve um aumento da solubilidade em água relativamente aos dos compostos curcuminóides. No entanto, são necessários mais estudos de forma a caracterizar melhor as misturas.

Em relação a perspetivas futuras, serão necessárias novas tentativas de recristalização dos co-cristais formados. Estabeleceu-se uma colaboração com a Faculdade de Farmácia de Coimbra e com o centro de Investigação IBILI – Instituto de Imagem Biomédica onde estão a decorrer os estudos relacionados com das propriedades antidiabéticas dos vários compostos sintetizados e os resultados preliminares são positivos para alguns compostos. Para estes estudos foi necessário efetuar previamente testes de solubilidade em água, soro fisiológico e DMSO, onde se concluiu que todos os compostos eram insolúveis ou pouco solúveis em água e soro e bastantes solúveis em DMSO. Em soluções de 25 % de DMSO todos os compostos precipitavam à exceção do composto 13 que se dissolveu parcialmente. No entanto, é fundamental realizar medidas quantitativas rigorosas da solubilidade de novos curcuminóides e dos co-cristais, essenciais na indústria farmacêutica em possíveis compostos com atividade farmacológica.

# **Capítulo 4**

## **Procedimiento Experimental**



## 4. Procedimento Experimental

### 4.1. Considerações Gerais

#### 4.1.1. Reagentes e Solventes

Os reagentes e os solventes foram fornecidos pela Aldrich, Fisher Scientific, Panreac, Carlo Erba, Alfa Aesar, Sigma, Acrós Organics e Absolve e apresentavam um grau de pureza p.a. utilizados sem posterior purificação.

#### 4.1.2. Cromatografia em camada fina

Para a execução das cromatografias de camada fina (TLC) utilizou-se placas de sílica Gel 60 F<sub>254</sub> da Merck, com espessura de 0,2 mm observadas sobre uma luz ultravioleta a um comprimento de onda de 254 nm e 356 nm.

#### 4.1.3. Ponto de Fusão

Para a determinação dos pontos de fusão utilizou-se um equipamento de medida de ponto de fusão Barnstead Electrothermal IA9100.

#### 4.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton (<sup>1</sup>H-RMN), de carbono (<sup>13</sup>C-RMN) e 2D foram realizados nos espectrômetros Bruker 300 MHz e 400 MHz, com o software Topspin 2.3. As amostras foram preparadas à temperatura ambiente e ao ar, utilizando como solventes deuterados CD<sub>3</sub>OD, DMSO-d<sub>6</sub>, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO. As constantes de acoplamento (*J*) são expressas em (Hz), as multiplicidades são expressas segundo a nomenclatura – s – singuleto, d – duplete, t – tripleto, dt – duplo de tripleto, dq – duplo de quadruplete, m – multiplete – os desvios químicos ( $\delta$ ) são expressos em partes por milhão (ppm).

#### 4.1.5. Espectroscopia de Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Foi utilizado um espectrofotômetro Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis para a realização dos espectros de Ultravioleta-Visível, numa gama de comprimentos de onda entre 200 e 900 nm. Utilizando como solventes acetona, clorofórmio, etanol, diclorometano e acetonitrilo numa gama de concentrações entre  $1 \times 10^{-4}$  M e  $3,3 \times 10^{-5}$  M.

#### 4.1.6. Micro-ondas

Para as reações em micro-ondas utilizou-se um micro-ondas de síntese Discover SP do CEM.

#### 4.1.7. Co-cristalização por mecanoquímica

Para se efetuar as reações de co-cristalização por mecanoquímica utilizou-se um moinho de bolas Mixer Mill MM 4000 da Retsch e um almofariz de ágata quando a moagem foi feita manualmente.

#### 4.1.8. Difração de Raios-X

##### 4.1.8.1. De pós

Os dados foram recolhidos num difratómetro D8 Advance Bruker AXS  $\theta$ - $2\theta$  utilizando uma fonte de radiação de cobre ( $\text{Cu K}\alpha$ ,  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) e um monocromador secundário que operou a 40 kV e 40 mA..

##### 4.1.8.2. De cristal único

Os cristais que eram adequados para o estudo por raios X de cristal único, foram montados no *cryloop* juntamente com óleo protetor Fomblin. Os dados foram recolhidos num difratómetro Bruker AXS-KAPPA APEX II com radiação de grafite-monocromada ( $\text{Mo K}\alpha$ ,  $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) a 150 K. O gerador de raios-X operou a 50 kV e 30 mV e os dados de raios-X foram recolhidos pelo programa APEX2. Todos os dados foram corrigidos a nível de efeitos de Lorentzian, polarização e absorção usando os programas SADABS<sup>136</sup> e SAINT 13<sup>136</sup>. A resolução das estruturas foi feita por métodos diretos com o programa SHELXTL<sup>137</sup> da Bruker e refinadas pelo método de matricial de mínimos quadrados em  $F^2$  pelo programa SHELXL97<sup>138</sup> inserido na plataforma WINGX-versão 2014<sup>139</sup>. Os parâmetros de temperatura dos átomos não-hidrogénio foram refinados anisotropicamente, enquanto que os hidrogénios foram colocados em posições calculadas nas estruturas e refinados isotropicamente. As figuras foram realizadas com o programa Mercury 3.10.3.<sup>140</sup>

## 4.2. Funcionalização da posição $\alpha$ – Sínteses e caracterização

### 4.2.1. Síntese do 3-acetil-4oxopentanoato de terc-butilo (24)<sup>108</sup>

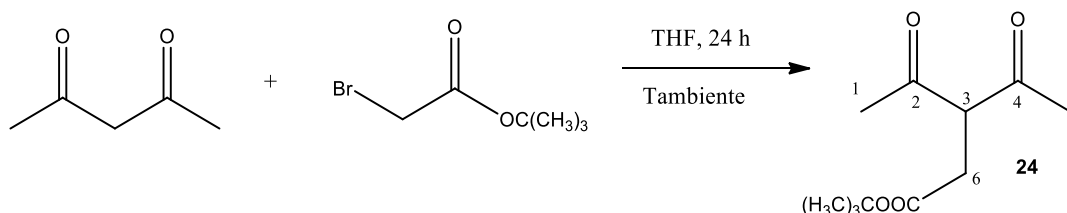


Figura 50 - Esquema reacional da síntese do 3-acetil-4oxopentanoato de terc-butilo

O 3-acetil-4-oxopentanoato de terc-butilo foi obtido a partir de uma variação do método de Tanaka.<sup>141</sup> Foi adicionada uma solução de acetilacetona (1 mL, 10 mmol) em THF (2 mL)

a uma suspensão de NaH (0,48 g, 12 mmol, 0.83 equivalentes) em THF (14 mL) a 0 °C. A mistura permaneceu sob agitação a 0 °C durante 1h, adicionando-se de seguida bromoacetato de terc-butilo (1,47 mL, 10 mmol, 1 equivalente) em THF (6 mL) gota-a-gota. A mistura reacional foi deixada em agitação durante toda a noite. No final, à mistura reacional de cor amarela foi adicionada uma solução aquosa de NH<sub>4</sub>Cl até completa dissolução do precipitado formado e esta foi posteriormente extraída com diclorometano. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura, obtendo-se um óleo amarelo. (1,83 g,  $\eta$ =85 %)

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):

DC (62 %): 2,26 (s, 6H, H-1, H-5), 4,08 (t, 2H, H-3,  $J = 7,3$  Hz), 2,82 (d, 2H, H-6,  $J = 7.3$  Hz), 1,43 (s, 9H, CH<sub>3</sub> (t-Bu));

CE (38 %): 2,16 (s, 6H, H-1, H-5), 3,16 (d, 2H, H-6,  $J = 15.0$  Hz), 1,46 (s, 9H, CH<sub>3</sub> (t-Bu))

#### 4.2.2. Síntese do ácido 3-acetil-4-oxopentanóico (25)<sup>108, 124</sup>

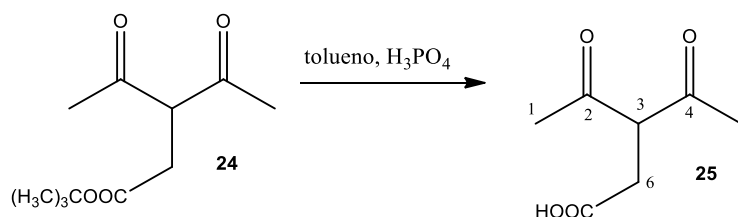


Figura 51 - Esquema reacional da síntese de ácido 3-acetil-4-oxopentanóico

A uma solução do composto 24 (6,53 mmol, 1,4 g) em tolueno (3 mL) adicionou-se ácido fosfórico (32,7 mmol, 1,88 mL, 5 equivalentes) gota-a-gota. A mistura reacional foi aquecida aproximadamente a 100 °C durante 10 minutos, deixada de seguida à temperatura ambiente durante toda a noite. Em seguida, adicionou-se água (10 mL) e extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura. Obteve-se um óleo laranja. (0,693 g,  $\eta$ =67 %).

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

DC (86 %): 2,26 (s, 6H, H-1, H-5), 4,10 (t, 1H, H-3,  $J = 7,3$  Hz), 2,90 (d, 2H, H-6,  $J = 8$  Hz)

CE (14 %): 2,33 (s, 6H, H-1, H-5), 3,45 (s, 1H, H-6,  $J = 15.0$  Hz)

### 4.2.3. Outros métodos de síntese de ácido 3-acetil-4-oxopentanóico (25)

#### Método 1: <sup>124</sup>

A uma solução de composto 24 (9,33 mmol, 2 g) em diclorometano (4 mL) que se encontrava sob atmosfera inerte, com agitação e num banho de gelo, foi adicionado TFA (4 mL) lentamente com a ajuda de uma ampola de adição. Após agitação durante 1h30 a fase orgânica castanha foi extraída com água (4 x 8 mL). A fase aquosa foi concentrada no evaporador rotativo e colocada no congelador e à fase orgânica juntou-se 15 mL de diclorometano e levou-se à secura. Através da análise de RMN concluiu-se que as duas fases da extração apenas continha material de partida

#### Método 2:

Após a dissolução de composto 24 (1 mmol, 0,214 g) em THF (10 mL) foi adicionado hidróxido de potássio triturado (9 mmol, 0,507 g, 9 equivalentes) resultando uma suspensão. Deixou-se a solução amarela escura com agitação durante 3h30. Adicionou-se, de seguida, água (10 mL) e extraiu-se com acetato de etilo (10 mL). Acidificou-se a fase aquosa com HCl concentrado até pH 1 e extraiu-se novamente com acetato de etilo (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e levada à secura no rota-vapor, resultando um óleo amarelo. Através da análise por RMN concluiu-se que apenas continha material de partida.

### 4.2.3. Síntese da 3-hidroxiiminopentano-2,4-diona <sup>125</sup>

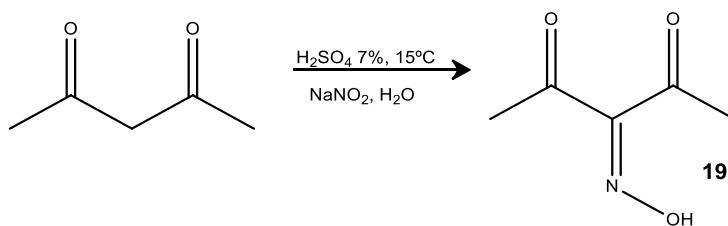


Figura 52 - Esquema reacional da síntese de 3-hidroxiiminopentano-2,4-diona

Dissolveu-se acetilacetona (25 mmol, 2,55 mL) numa solução de ácido sulfúrico 7 % (25 mL) a 15 °C. Adicionando-se de seguida, gota-a-gota, uma solução de nitrito de sódio (25 mmol, 1,73 g, 1 equivalente) em água (7,5 mL). O produto foi extraído com acetato de etilo (3x15 mL) e a fase orgânica foi lavada com água e seca com sulfato de sódio anidro, filtrando-se, de seguida, e levando-se à secura. (1,72 g,  $\eta$ =86 %).

Cristais amarelo pálido.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): 2.41 (s, 6H, -CH<sub>3</sub>)

#### 4.2.4. Tentativa de síntese de 3-aminopentano-2,4-diona (26) <sup>123, 124</sup>

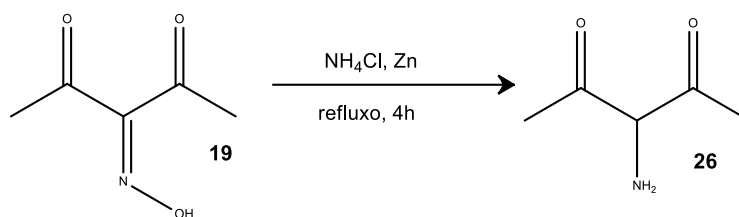


Figura 53 - Esquema reacional da síntese de 3-aminopentano-2,4-diona

A uma solução do composto 19 (5 mmol, 0,65 g) em metanol (15,4 mL) foi adicionado cloreto de amónio (20 mmol, 1,07 g, 4 equivalentes) e zinco previamente ativado (10 mmol, 0,65 g, 2 equivalentes). Colocou-se a mistura reacional em refluxo e com agitação durante 4 horas. Em seguida, filtrou-se sobre celite de forma a retirar o zinco e o filtrado foi levado à secura obtendo-se um óleo castanho que foi tratado com éter. Obteve-se uma fase insolúvel e uma solúvel. Lavou-se posteriormente a fase solúvel com salmoura e água, secando-se com sulfato de sódio anidro, filtrou-se por gravidade e por fim, levou-se à secura obtendo-se um resíduo castanho-escuro.

Através da análise de RMN conclui-se que não era o produto pretendido.

#### Procedimento de ativação do zinco em pó

Juntou-se HCl 1 M a aproximadamente 10 g de zinco até este se encontrar submerso e deixou-se com agitação durante 15 minutos. Posteriormente, decantou-se a solução e lavou-se várias vezes com água destilada, etanol e por fim com éter. Secou-se na linha e manteve-se o sólido cinzento em atmosfera inerte.

#### 4.2.5. Tentativas de síntese do 3-amino-4-hidroxibenzaldeído (27)

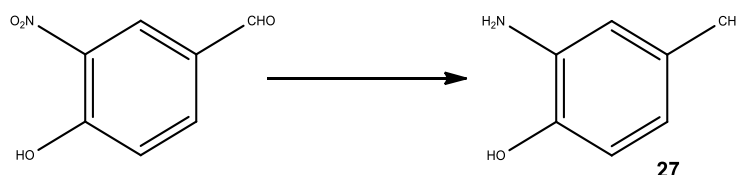


Figura 54 - Esquema reacional da síntese do 3-amino-4-hidróxibenzaldeído

#### Método 1: <sup>128</sup>

Colocou-se num balão de fundo redondo estanho granulado (1,04 g, 11,9 mmol, 4,8 equivalentes), 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (0,419 g, 2,5 mmol), água (6 mL) e HCl concentrado (2,25 mL) adaptando-se posteriormente um refrigerante de Liebig. Agitou-se a mistura reacional por 1h30 a aproximadamente 100 °C. Em seguida, arrefeceu-se até à

temperatura ambiente e adicionou-se NaOH 10 % (5 mL) com agitação, obtendo-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo e lavado abundantemente com água gelada. Após a análise por RMN concluiu-se que o sólido apenas continha o material de partida.

### Método 2: <sup>129</sup>

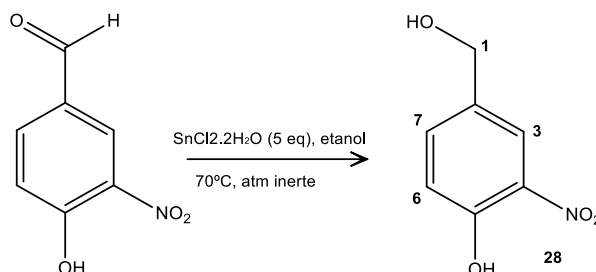


Figura 55 - Esquema reacional da reação

Uma mistura de 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (2,5 mmol, 0,4178 g) e SnCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (12,5 mmol, 2,37 g, 5 equivalentes) em etanol puro (5 mL) foi aquecido até 70 °C em atmosfera de azoto durante 30 minutos, sendo posteriormente arrefecida e colocada sobre gelo. À mistura castanha-alaranjada adicionou-se uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (30 mL) ficando laranja. Em seguida, extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL), sendo que a fase orgânica foi lavada com salmoura, tratada com carvão ativado e seca com sulfato de sódio. Após filtrar por gravidade e levar à secura obteve-se um sólido castanho-escuro.

Após a análise por RMN concluiu-se que o grupo CHO teria sido reduzido não havendo modificações no grupo nitro.

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): 4,03 (s, 2H, H-1), 7,99 (s, 1H, H-3), 7,72 (d, 1H, H-6, *J*=8Hz), 7,01 (d, 1H, H-7, *J*=8Hz)

### Método 3: <sup>130</sup>

Foi adicionado metanol (5 mL) ao 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (1 mmol, 0,162 g) e zinco ativado (1,2 mmol, 0,0798 g, 1,2 equivalentes) sob atmosfera de azoto. De seguida, adicionou-se HCOOH 90 % (1,5 mL) à temperatura ambiente e sob agitação e permaneceu durante 40 minutos. Com a adição do HCOOH a solução passou de verde amarelado para castanho avermelhado. No final recorreu-se a uma filtração por gravidade e levou-se à secura. O óleo castanho obtido foi dissolvido em clorofórmio e lavado com uma solução saturada de NaCl (15 mL), secando-se posteriormente com sulfato de magnésio anidro, seguindo-se de uma filtração e levado à secura obtendo-se um sólido castanho-escuro.

Através da análise por RMN concluiu-se que ocorreu decomposição.

**Método 4:** <sup>131</sup>

Adicionou-se ferro (4 mmol, 0,23 g, 4 equivalentes), água (10 mL) e 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (1 mmol, 0,167 g) num balão e deixou-se sob agitação a 50 °C durante 29 horas. Ao fim das 29 horas a solução castanha continha um precipitado, sendo que foi posteriormente arrefecida até à temperatura ambiente e extraída com éter (4x15 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de magnésio, filtrou-se e levou-se à secura. Obteve-se um sólido amarelo que após a análise por RMN concluiu-se que apenas se tinha material de partida.

**Método 5:** <sup>132</sup>

Adicionou-se a uma suspensão de 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (0,405 g, 2,5 mmol) em etanol (5 mL) e água (0,25 mL), ferro metálico (7,5 mmol, 0,419 g, 3 equivalentes) e cloreto de cálcio (2,5 mmol, 0,277 g, 1 equivalente) e deixou-se por 30 minutos a 60 °C sob agitação. Em seguida, recorreu-se a uma filtração para remover os resíduos de ferro e extraiu-se com acetato de etilo (2x10 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 5 mL), salmoura (2 x 5 mL) e seca com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e levou-se à secura obtendo-se um sólido amarelo escuro.

Através da análise por RMN conclui-se que não ocorreu reação obtendo assim apenas o material de partida.

**Método 6:** <sup>133, 134</sup>

Num balão de duas tubuladuras colocou-se etanol (6,2 mL), HCl (60 µL) e ferro (1 mmol, 0,056 g) e deixou-se durante 2 horas a 65 °C. Ao fim das 2 horas a solução castanha foi colocada em gelo durante 10 minutos e adicionou-se posteriormente uma solução de cloreto de amónio 25 % (1,6 mL). Em seguida, adicionou-se 4-hidróxi-3-nitrobenzaldeído (2 mmol, 0,334 g, 2 equivalentes) em pequenas porções e deixou-se durante toda a noite a aproximadamente 100 °C. A mistura reacional castanha continha um precipitado também castanho foi arrefecida até aos 40 °C e filtrada sobre celite. O filtrado foi levado à secura obtendo-se um sólido amarelo. O precipitado que se encontrava no filtro foi lavado com etanol e extraído com acetato de etilo, filtrado e seco no rota-vapor obtendo-se mais uma vez um sólido amarelo esverdeado.

Através da análise por RMN concluiu-se que ambos os sólidos apenas continham material de partida.

### 4.3. Síntese e caracterização dos derivados curcuminóides

#### 4.3.1. Síntese do composto 1

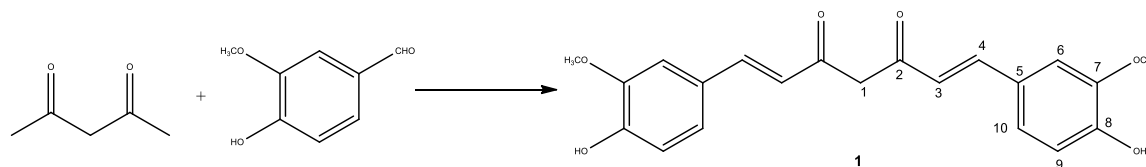


Figura 56 - Esquema reacional da síntese de 1

#### Método 1: <sup>123</sup>

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1mmol) em DMF (1,5 mL) durante 30 minutos a 80 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 0,25 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos.

Ao final de 30 minutos, adicionou-se 4-hidroxi-3-metóxi-benzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de DMF) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4 horas a 80 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observou-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo obtendo-se um precipitado laranja que foi seco na estufa. O filtrado foi extraído com acetato de etilo (3x15 mL), onde a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada à secura, obtendo-se um sólido laranja (156 mg, 42 %)

#### Método 2: <sup>104</sup>

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,70 g, 10 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (1 mL, 10 mmol) em acetato de etilo (20 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (10 mL, 40 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 4-hidroxi-3-metóxi-benzaldeído (3,04 g, 20 mmol, 2 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,4 mL, 4 mmol em 8 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (30 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo e o precipitado foi lavado com acetato de etilo obtendo-se um sólido laranja. O filtrado

foi extraído com acetato de etilo (3 x 15 mL) e a fase orgânica da extração foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo laranja que foi tratado com éter obtendo-se um sólido laranja escuro. Foi recristalizado de etanol:água. (2,64 g, 72 %)

### Método 3: <sup>109</sup>

Num reator de 10 mL adicionou-se acetilacetona (0,1 mL, 1mmol), B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente), 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), 5 gotas de ácido acético e 5 gotas de morfolina. Levou-se a mistura reacional, durante 2 minutos, ao micro-ondas a uma temperatura de 120 °C e 150 W.

Sólido laranja.

<sup>1</sup>H RMN (MeOD-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): CE (100 %): 5,99 (s, 1H, H-1), 6,65 (d, 2H, H-3, *J* = 16 Hz), 7,60 (d, 2H, H-4, *J* = 16 Hz), 7,24 (s, 2H, H-6), 7,15 (d, 2H, H-9, *J* = 8 Hz), 6,84 (d, 2H, H-10, *J*=8 Hz), 3,93 Ar-OCH<sub>3</sub> ;

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): CE (100 %): 6,08 (s, 1H, H-1), 6,76 (d, 2H, H-3, *J* = 15,9 Hz), 7,55 (d, 2H, H-4, *J* = 15,8 Hz), 7,32 (s, 2H, H-6), 7,15 (d, 2H, H-9, *J* = 6,4 Hz), 6,82 (d, 2H, H-10, *J* = 6 Hz), 3,85 Ar-OCH<sub>3</sub>. 9,67 Ar-OH;

<sup>13</sup>C NMR (acetona- *d*<sub>6</sub>): d 183,6 (C-2), 127,3 (C-3), 140,5 (C-4), 122,9 (C-5), 110,7 (C-6), 149,9 (C-7), 146,9 (C-8), 121,4 (C-9), 115,31 (C-10), 115,31 (C-11), 55,4 (-OCH<sub>3</sub>);

IV:  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3443, 3045, 2940, 2842, 1629, 1589, 1514, 1450, 14167, 1365, 1293, 1265, 1204, 1161, 1144, 1120, 1032, 990, 972, 963, 934, 847, 807, 773, 715;

UV-VIS (acetona): (420 nm, 8 980 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (440, ombro);

Ponto de fusão: [178 °C-179 °C]

### 4.3.2. Síntese do composto 12

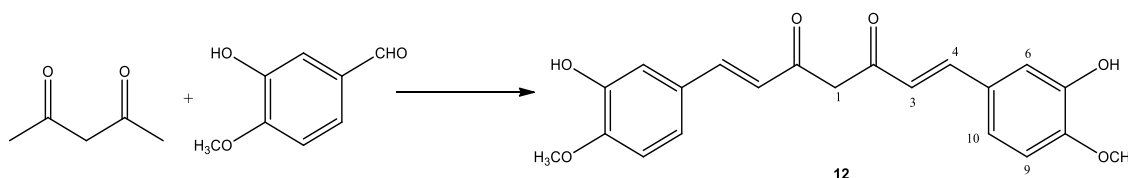


Figura 57 - Esquema reacional da síntese de 12

### Método 1: <sup>123</sup>

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1mmol) em DMF (1,5 mL) durante 30 minutos a 80 °C. De seguida,

adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 0,25 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de DMF) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4 horas a 80 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observou-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo obtendo-se um resíduo castanho avermelhado que foi posteriormente extraído com etanol. Obteve-se uma parte insolúvel que pela análise por RMN se encontrava puro e uma solúvel que se levou à secura obtendo-se um resíduo oleoso castanho. Tratou-se com éter resultando um sólido castanho avermelhada que, pela análise por RMN, continha o produto impuro. Foi recristalizado de etanol obtendo-se um sólido laranja. (200 mg, 54 %)

### Método 2: <sup>104</sup>

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,70 g, 10 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (1 mL, 10 mmol) em acetato de etilo (20 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (10 mL, 40 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (3,04 g, 20 mmol, 2 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,4 mL, 4 mmol em 8 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (30 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo e o precipitado foi lavado com acetato de etilo, obtendo-se um sólido laranja. O filtrado foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado por gravidade e levado ao rota-vapor, obtendo-se um óleo laranja que foi tratado com éter obtendo-se um sólido laranja escuro. (3,17 g, 86 %)

Sólido laranja.

<sup>1</sup>H RMN (MeOD-*d*<sub>4</sub>, 400 MHz): CE (100 %): 6,00 (s, 1H, H-1), 6,62 (d, 2H, H-3, *J* = 15,9 Hz), 7,56 (d, 2H, H-4, *J* = 15,8 Hz), 7,10 (s, 2H, H-6), 7,13 (d, 2H, H-9, *J* = 8 Hz), 6,98 (d, 2H, H-10, *J* = 8,3 Hz), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,93;

<sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): CE (100 %): 6,12 (s, 1H, H-1), 6,66 (d, 2H, H-3, *J* = 15,9 Hz), 7,50 (d, 2H, H-4, *J* = 15,6 Hz), 7,14 (s, 2H, H-6), 7,14 (d, 2H, H-9, *J* = 6,4 Hz), 6,98 (d, 2H, H-10, *J* = 8,2 Hz), Ar-OH 9,23, Ar-OCH<sub>3</sub> 3,93;

$^1\text{H}$  RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz): KE (100 %): 6,02 (s, 1H, H-1), 6,66 (d, 2H, H-3,  $J = 16$  Hz), 7,55 (d, 2H, H-4,  $J = 16$  Hz), 7,21 (s, 2H, H-6), 7,14 (d, 2H, H-9,  $J = 8$  Hz), 7,00 (d, 2H, H-10,  $J = 8$  Hz), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,90;

$^{13}\text{C}$  NMR (acetona- $d_6$ , 400 MHz): d 183,6 (C-2), 128,47 (C-3), 140,3 (C-4), 121,6 (C-5), 122,0 (C-6), 146,95 (C-7), 149,9 (C-8), 111,45 (C-9), 113,52 (C-10), 55,4 (-OCH<sub>3</sub>);

IV:  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3406, 3205, 3002, 2932, 2840, 2363, 1639, 1624, 1590, 1518, 1461, 1436, 1308, 1274, 1239, 1206, 1171, 1128, 1022, 994, 974, 961, 928, 885, 870, 840, 806, 763, 741, 678, 611;

UV-VIS (acetona): (420 nm, 3 360 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (440, ombro);

Ponto de fusão: [187 °C-188 °C]

#### 4.3.3. Tentativa de síntese do composto 20 <sup>123</sup>

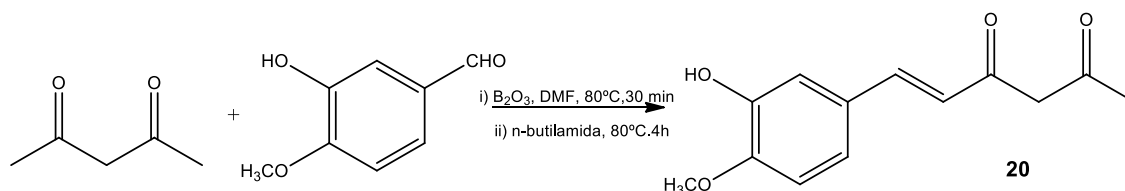


Figura 58 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 20

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1 mmol) em DMF (1,5 mL) durante 30 minutos a 80 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 0,25 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (0,19 g, 1,3 mmol, 1,3 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4 horas a 80 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observou-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo obtendo-se um resíduo castanho avermelhado que foi posteriormente extraído com etanol. Tratou-se com éter resultando um sólido castanho avermelhada que, pela análise por RMN, foi possível verificar que se obteve o composto disubstituído (12). (150 mg, 41 %)

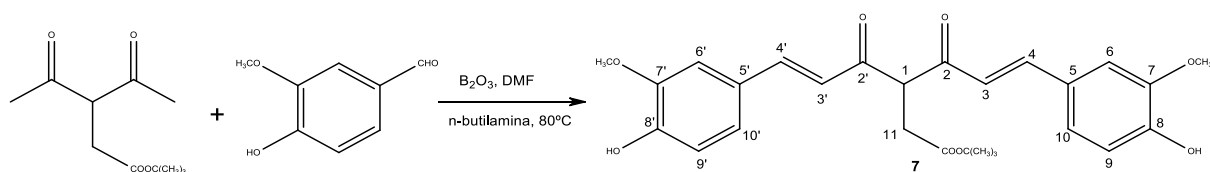
4.3.4. Síntese do composto 7 <sup>108</sup>

Figura 59 - Esquema Reacional da síntese do composto 7

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,35 g, 5 mmol, 1 equivalente) e composto 24 (1,07 g, 5 mmol) em DMF (10 mL) durante 30 minutos a 80 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (5,4 mL, 20 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (1,52 g, 10 mmol, 2 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,2 mL, 2 mmol em 4 mL de DMF) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4h sob agitação e a 80 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (15 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo e o precipitado foi seco na estufa obtendo-se um sólido vermelho e o filtrado foi extraído com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica da extração foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo vermelho que foi tratado com éter e hexano originando também um sólido vermelho escuro. Através da análise por RMN concluiu-se que o precipitado se encontrava puro enquanto que o sólido obtido da extração continha ainda impurezas. O composto foi recristalizado através de uma recristalização mista com etanol: hexano. (274 mg,  $\eta=58\%$ )

$^1H$  RMN (MeOD- $d_4$ , 400 MHz):

D.C. (65 %): 3,57 (t, 1H, H-1), 7,26 (d, 2H, H-3,  $J = 12$ Hz), 7,73 (d, 2H, H-4,  $J = 12$  Hz), 6,85 (s, 2H, H-6), 7,18 (d, 2H, H-9,  $J = 8$  Hz), 7,26 (d, 2H, H-10,  $J = 8$  Hz), 2,88 (d, 2H, H-11), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,86, -COO(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1,44;

C.E. (35 %): 6,85 (d, 2H, H-3,  $J=12$  Hz), 7,71 (d, 2H, H-4,  $J = 12$  Hz), 6,85 (s, 2H, H-6), 7,18 (d, 2H, H-9,  $J = 8$  Hz), 7,25 (d, 2H, H-10,  $J = 8$  Hz), 3,67 (s, 2H, H-11), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,93, -COO(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1,43

$^{13}C$  NMR (acetona- $d_6$ , 400 MHz): d 59,6 (C'-1), 184,66 (C-2, C'-2), 118,94 (C-3, C'-3), 143,51 (C-4, C'-4), 128,85 (C-5, C'-5), 112,0 (C-6, C'-6), 150,59 (C-7, C'-7), 149,42 (C-8, C'-

8), 116,0 (C-9, C'-9), 124,26 (C-10, C'-10), 34,06 (C-11, C'-11), 173,61 (C-12, C'-12), 82,49 (C-13, C'-13), 28,35 (C-14, C'-14), 56,49 (-OCH<sub>3</sub>);

IV:  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3219, 2261, 1724, 1587, 1513, 1473, 1283, 1197, 1152, 1031, 808;

UV-VIS (acetona): (337 nm, 245 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (464 nm, 1 860 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (503, ombro);

Ponto de fusão: 64,4 °C (decomposição)

#### 4.3.5. Tentativa de síntese do composto 21 <sup>124</sup>

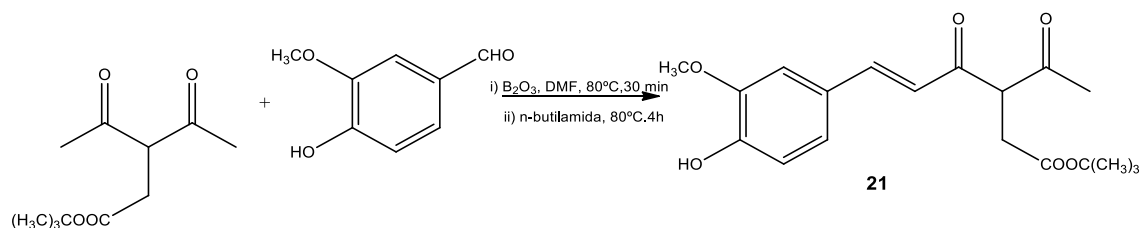


Figura 60 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 21

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07 g, 1 mmol, 1 equivalente) e composto 24 (0,214 g, 1 mmol) em DMF (1,5 mL) durante 30 minutos a 80 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,08 mL, 4 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 4-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (0,19 g, 1,3 mmol, 1,3 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de DMF) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4h sob agitação e a 80 °C.

Em seguida, a solução foi acidificada com HCl 0,5M (8 mL) e arrefecida até à temperatura ambiente. A solução foi suspensa em água e o precipitado foi filtrado e seco na estufa. Através da análise por RMN foi possível concluir que se obteve o composto disubstituído (7). (46 mg, 10 %)

#### 4.3.6. Síntese do composto 16 <sup>104, 108</sup>

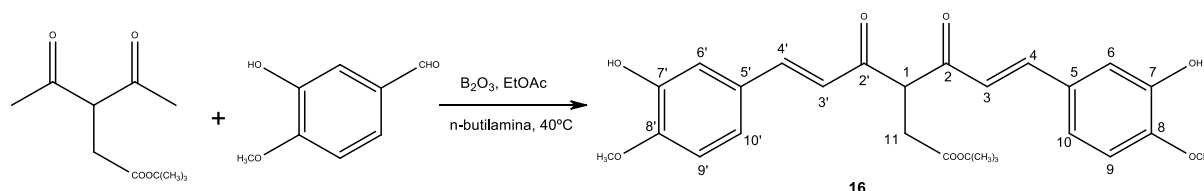


Figura 61 - Esquema reacional da síntese de 16

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,70 g, 10 mmol, 1 equivalente) e composto 24 (2,16 g, 10 mmol) em acetato de etilo (20 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (10 mL, 40 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se

com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (3,04 g, 20 mmol, 2 equivalentes) e uma solução de *n*-butilamina (0,4 mL, 4 mmol em 8 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (30 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo e o precipitado foi seco na estufa obtendo-se um sólido vermelho escuro e o filtrado foi extraído com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica da extração foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo vermelho que foi tratado com éter e hexano originando também um sólido vermelho vivo. Através da análise por RMN concluiu-se que o precipitado se encontrava puro enquanto que o sólido obtido da extração continha ainda impurezas. O composto foi recristalizado através de uma recristalização mista com etanol:hexano. (3,52 g,  $\eta$  = 75 %)

$^1\text{H}$  RMN (MeOD- $d_4$ , 400 MHz):

DC (46 %): 3,91 (t, 1H, H-1), 7,67 (d, 2H, H-3,  $J$  = 16 Hz), 7,68 (d, 2H, H-4,  $J$  = 16 Hz), 7,09 (s, 2H, H-6), 7,17 (d, 2H, H-9,  $J$  = 6 Hz), 6,98 (d, 2H, H-10,  $J$  = 8 Hz), 2,88 (d, 2H, H-11), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,91, -COO(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1,45;

CE (54 %): 7,68 (d, 2H, H-3,  $J$  = 16 Hz), 7,68 (d, 2H, H-4,  $J$  = 16 Hz), 7,12 (s, 2H, H-6), 7,17 (d, 2H, H-9,  $J$  = 6 Hz), 6,98 (d, 2H, H-10,  $J$  = 8 Hz), 3,60 (s, 2H, H-11), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,93, -COO(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1,44;

$^{13}\text{C}$  NMR (acetona- $d_6$ , 400 MHz): 62,39 (C'-1), 184,62 (C-2, C'-2), 123,03 (C-3, C'-3), 137,55 (C-4, C'-4), 128,78 (C-5, C'-5), 112,58 (C-6, C'-6), 146,56 (C-7, C'-7), 148,13 (C-8, C'-8), 115,12 (C-9, C'-9), 123,78 (C-10, C'-10), 38,63 (C-11, C'-11), 171,96 (C-12, C'-12), 82,36 (C-13, C'-13), 19,0 (C-14, C'-14), 56,4 (-OCH<sub>3</sub>);

IV:  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3528, 3408, 2976, 2930, 2356, 2031, 1855, 1715, 1608, 1582, 1510, 1455, 1436, 1366, 1353, 1283, 1225, 1138, 1022, 993, 975, 918, 850, 817, 799, 759;

UV-VIS (acetona): (430 nm, 6 910 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (455, ombro);

Ponto de fusão: [191 °C-193 °C]

#### 4.3.7. Tentativa de síntese do composto 22 <sup>124</sup>

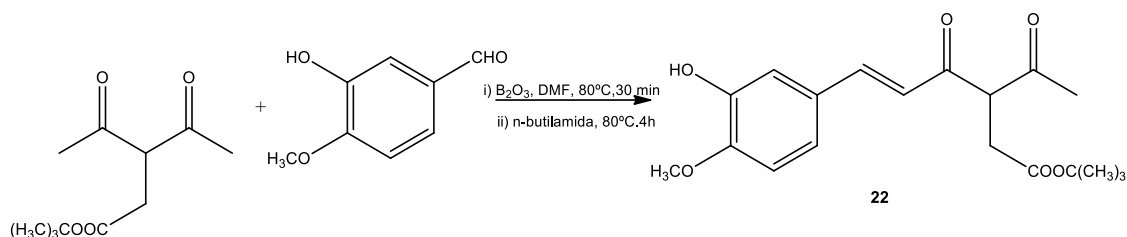


Figura 62 - Tentativa de síntese do composto 22

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,07 g, 1 mmol, 1 equivalente) e composto 24 (0,214 g, 1 mmol) em DMF (1,5 mL) durante 30 minutos a  $80^\circ C$ . De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,08 mL, 4 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (0,19 g, 1,3 mmol, 1,3 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de DMF) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante 4h sob agitação e a  $80^\circ C$ .

Em seguida, a solução foi acidificada com HCl 0,5M (8 mL) e arrefecida até à temperatura ambiente. A solução foi suspensa em água e o precipitado foi filtrado e seco na estufa. Através da análise por RMN foi possível concluir que se obteve o composto disubstituído (16). (154 mg, 33 %)

#### 4.3.8. Síntese do composto 13 <sup>104</sup>

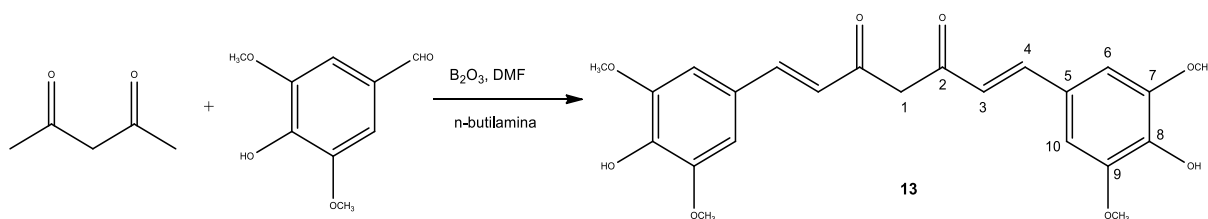


Figura 63 - Esquema reacional de síntese de 13

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,70 g, 10 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (1 mL, 10 mmol) em acetato de etilo (20 mL) durante 30 minutos a  $40^\circ C$ . De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (10 mL, 40 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se siringaldeído (3,04 g, 20 mmol, 2 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,4 mL, 4 mmol em 8 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a  $40^\circ C$ .

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (30 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se sob vácuo obtendo-se um precipitado vermelho vinho que foi seco na estufa. O filtrado foi extraído com acetato de etilo (4x15 mL) e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo vermelho que foi tratado com éter obtendo-se também um sólido vermelho vinho. Foi recristalizado de acetato de etilo: etanol. (3,42 g,  $\eta=80\%$ )

$^1\text{H}$  RMN (MeOD- $d_4$ , 400 MHz): CE (100 %): 6,00 (s, 1H, H-1), 6,70 (d, 2H, H-3,  $J = 16$  Hz), 7,60 (d, 2H, H-4,  $J = 15,7$  Hz), 6,97 (s, 2H, H-6), 6,97 (s, 2H, H-10), Ar-OCH<sub>3</sub> 3,91;

$^{13}\text{C}$  NMR (MeOD- $d_4$ ): 184,6 (C-2), 127,5 (C-3), 142,4 (C-4), 122,0 (C-5), 106,9 (C-6, C-10), 149,5 (C-7), 139,6 (C-8), 149,5 (C-9), 56,8 (-OCH<sub>3</sub>);

IV:  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3436, 2922, 2847, 1625, 1605, 1555, 1511, 1458, 1422, 1337, 1296, 1218, 1115, 1016, 601;

UV-VIS (acetona): (429 nm, 78 180 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>), (448, ombro), (517, 16 442);

Ponto de fusão: 130 °C (decomposição)

#### 4.3.9. Tentativa de síntese do composto 23 <sup>104</sup>

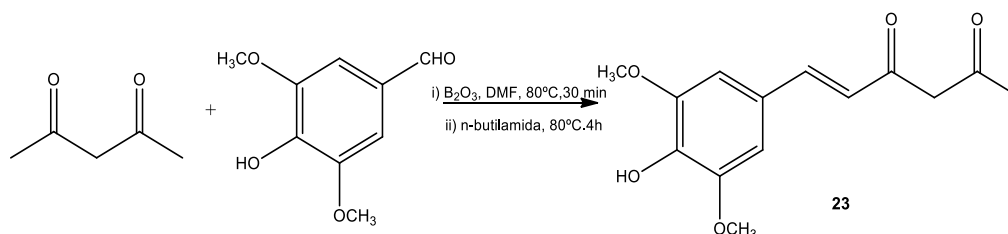


Figura 64 - Esquema reacional da tentativa de síntese de 23

Manteve-se sob agitação uma suspensão de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07 g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1 mmol) em acetato de etilo (1,5 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se siringaldeído (0,19 g, 1 mmol, 1 equivalentes) e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de um precipitado. Em seguida, filtrou-se e as águas foram extraídas com acetato de etilo (3x15 mL), sendo que a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura. Obteve-se um precipitado vermelho

escuro da primeira filtração e um óleo das extrações, sendo que este último foi tratado com éter/hexano. Pela análise por RMN concluiu-se que se obteve o composto dissubstituído (13). (85 mg, 20 %)

#### 4.3.10. Síntese do composto 14 <sup>110</sup>

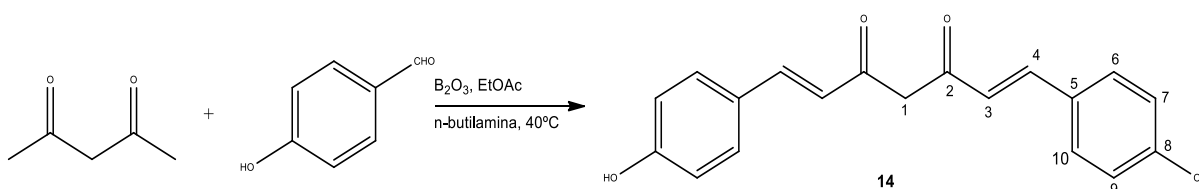


Figura 65 - Esquema Reacional da síntese de 14

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1mmol) em acetato de etilo (1,5 mL) durante 30 minutos a  $40^\circ C$ . De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos. Ao final de 30 minutos, adicionou-se 4-hidróxibenzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarelo para vermelha. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a  $40^\circ C$ .

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observou-se a formação de duas fases. Em seguida, extraiu-se com acetato de etilo (5x15 mL). Secou-se a fase orgânica da extração com sulfato de sódio anidro, filtrou-se por gravidade e levou-se ao rota-vapor, obtendo-se um óleo vermelho que foi tratado com éter obtendo-se um sólido vermelho. (215 mg,  $\eta=70\%$ )

$^1H$  RMN (MeOD- $d_4$ , 400 MHz): CE (100 %): 5,97 (s, 1H, H-1), 6,62 (d, 2H, H-3,  $J = 16$  Hz), 7,60 (d, 2H, H-4,  $J = 15,8$  Hz), 7,51 (d, 2H, H-6,  $J = 8$  Hz), 6,84 (d, 2H, H-7,  $J = 8$  Hz), 6,84 (d, 2H, H-9,  $J = 8$  Hz), 6,51 (d, 2H, H-10,  $J = 8$  Hz);

$^{13}C$  NMR (acetona- $d_6$ ): d 183,6 (C-2), 130,1 (C-3), 140,1 (C-4), 126,8 (C-5), 121,2 (C-6, C-10), 115,9 (C-7, C-9), 159,63 (C-8);

IV:  $\nu_{max}$  ( $cm^{-1}$ ): 3482, 3241, 3021, 2926, 2852, 1893, 1735, 1629, 1601, 1581, 1512, 1433, 1384, 1337, 1322, 1298, 1278, 1248, 1197, 1168, 1143, 1105, 978, 964, 939, 866, 835, 813, 687;

UV-VIS (acetona): (414 nm,  $17\ 285\ M^{-1}.cm^{-1}$ ), (437, ombro);

Ponto de fusão: 202 °C (decomposição)

#### 4.3.11. Síntese do composto 8 <sup>124</sup>

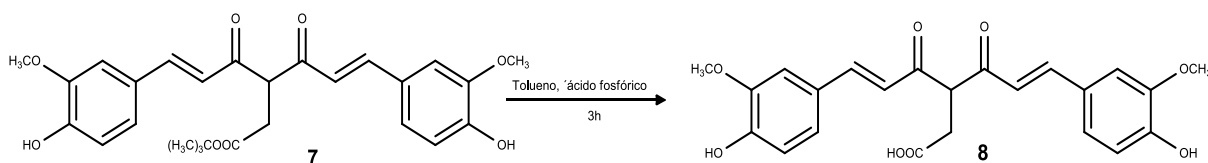


Figura 66 - Esquema reacional da síntese do composto 8

A uma solução de composto 7 (0,435 mmol, 0,21 g) em tolueno (2 mL) adicionou-se ácido fosfórico (2,26 mmol, 0,15 mL, 5 equivalentes) gota-a-gota e deixou-se durante 3 horas com agitação. Em seguida, adicionou-se água (10 mL) e extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura. Obteve-se um sólido vermelho escuro.

Através da análise por RMN concluiu-se que se tinha obtido o composto, no entanto estava bastante impuro com material de partida.

#### 4.3.12. Síntese do composto 17

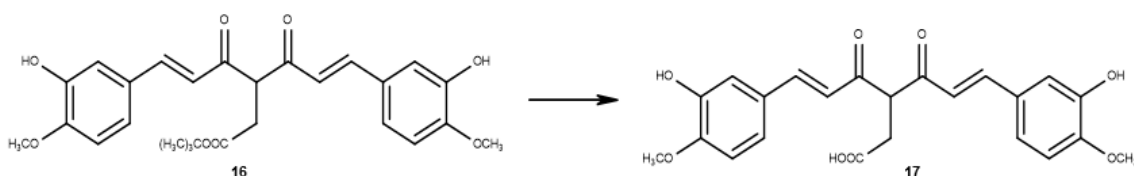


Figura 67 - Esquema reacional da síntese do composto 17

#### Método 1: <sup>124</sup>

A uma solução de composto 16 (0,2 mmol, 0,1 g) em tolueno (2 mL) adicionou-se ácido fosfórico (17,3 mmol, 1 mL, 86,5 equivalentes) gota-a-gota e deixou-se durante 3 horas com agitação. Em seguida, adicionou-se água (10 mL) e extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura. Obteve-se um sólido vermelho escuro. Através da análise por RMN continha o produto, no entanto também tinha material de partida.

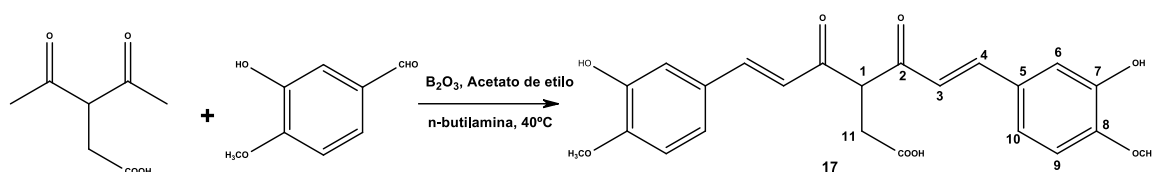
**Método 2:** <sup>125</sup>

Figura 68 - Esquema de reacional da síntese do composto 17

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,05 g, 0,75 mmol, 0,75 equivalente) e composto 25 (0,1 mL, 1mmol) em DMF (1,33 mL) durante 30 minutos a 70 °C. De seguida, adicionou-se 3-hidróxi-4-metóxi-benzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), AcOH (0,36 mL) e morfolina (17  $\mu$ L) em DMF (1,33 mL) deixou-se durante 5 horas sob agitação e a 70 °C. A mistura foi então hidrolisada à temperatura ambiente pela adição de uma solução aquosa AcOH 20 % (12 mL) e deixou-se por 1 hora com agitação sendo posteriormente extraída com acetato de etilo (2x15 mL).

A fase orgânica da extração foi lavada com água e salmoura até pH neutro e seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo laranja que foi tratado com éter e hexano. No entanto, como não resultou, adicionou-se água de forma a precipitar o composto, filtrou-se o mesmo obtendo-se um sólido vermelho escuro que era o produto. (70 mg, 17 %)

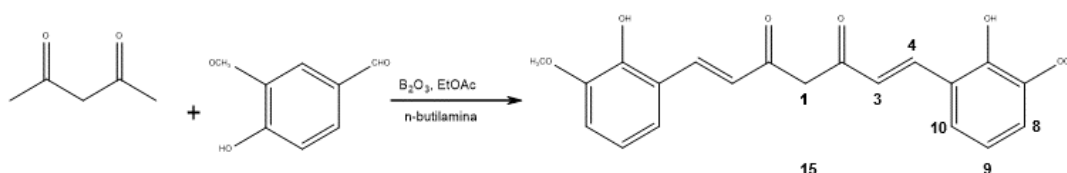
**4.3.13. Síntese do composto 15** <sup>110</sup>

Figura 69 - Esquema reacional da síntese do composto 15

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e acetilacetona (0,1 mL, 1mmol) em acetato de etilo (1,5 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 0,25 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos.

Ao final de 30 minutos, adicionou-se 2-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (0,19 g, 1,3 mmol, 1,3 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarela para laranja amarelada. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

Ao fim das 4h, concluiu-se que a mistura não estava a reagir então colocou-se sob refluxo a 90 °C e adicionou-se acetato de etilo (2 mL).

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observando-se a formação de duas fases. Em seguida, extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL). Secou-se a fase orgânica da extração com sulfato de sódio anidro, filtrou-se por gravidade e levou-se ao rota-vapor, obtendo-se um óleo laranja que foi tratado com éter obtendo-se um sólido amarelo.

Após análise por RMN concluiu-se que a reação não ocorreu, obtendo-se apenas material de partida.

### Método 2: <sup>109</sup>

Num reator de 10 mL adicionou-se acetilacetona (0,1 mL, 1mmol), B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente), 2-hidróxi-3-metóxi-benzaldeído (0,304 g, 2 mmol, 2 equivalentes), 5 gotas de ácido acético e 5 gotas de morfolina. Levou-se a mistura reacional, durante 2 minutos, ao micro-ondas a uma temperatura de 120 °C e 150 W.

<sup>1</sup>H RMN (Acetona-d<sub>6</sub>, 400 MHz): 6,07 (s, 1H, H-1), 6,80-7,07 (m, 10H, H3, H4, H8, H9, H10), 3,61 (Ar-OCH<sub>3</sub>)

UV-VIS (acetona): (350 nm, 5 840 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>);

Ponto de fusão: 145 °C (decomposição)

### 4.3.14. Tentativa de síntese do composto 18

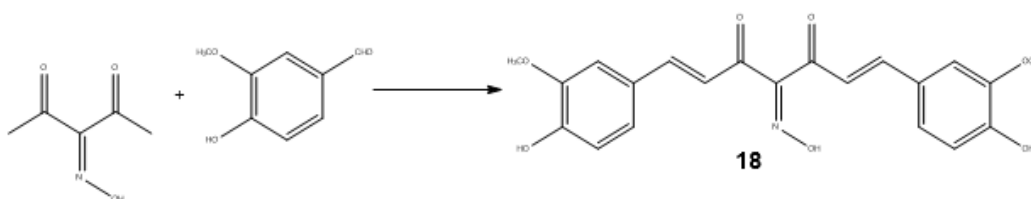


Figura 70 - Esquema reacional da síntese do composto 18

### Método 1: <sup>125</sup>

A uma solução de composto 19 (0,129 g, 1 mmol) em etanol (5 mL) adicionou-se vanilina (0,212 g, 1,4 mmol, 1,4 equivalentes). Em seguida, adicionou-se uma solução de 10 % NaOH em etanol (12,5 mL) gota-a-gota e deixou-se durante toda a noite em agitação e à temperatura ambiente. No final, a mistura reacional foi colocada em gelo, adicionando-se posteriormente HCl concentrado gota-a-gota. Filtrou-se o precipitado e secou-se sob vácuo.

Através da análise por RMN foi possível concluir que se tinha obtido o material de partida e um produto desconhecido.

#### **Método 2:** <sup>110</sup>

Manteve-se sob agitação uma suspensão de  $B_2O_3$  (0,07g, 1 mmol, 1 equivalente) e composto 19 (0,129 g, 1 mmol) em acetato de etilo (1,5 mL) durante 30 minutos a 40 °C. De seguida, adicionou-se o borato de tributilo (1,03 mL, 4 mmol, 4 equivalentes) e manteve-se com as mesmas condições reacionais por mais 30 minutos.

Ao final de 30 minutos, adicionou-se composto 16 (0,19 g, 1,3 mmol, 1,3 equivalentes), e uma solução de n-butilamina (0,04 mL, 0,4 mmol em 0,5 mL de acetato de etilo) gota-a-gota observando-se a mudança de cor da solução de amarela para laranja amarelada. A mistura reacional foi deixada durante toda a noite sob agitação e a 40 °C.

A mistura reacional foi acidificada com HCl 0,5 M (8 mL), suspensa em água e colocada em gelo observou-se a formação de duas fases. Em seguida, extraiu-se com acetato de etilo (3x15 mL). A fase orgânica da extração foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada por gravidade e levada ao rota-vapor, obtendo-se um óleo castanho que foi tratado com éter e hexano obtendo-se um sólido amarelo. Após análise por RMN concluiu-se que a reação não ocorreu, obtendo-se apenas material de partida.

### **4.4. Co-cristalização por mecanoquímica**

#### **4.4.1. Moinho de Bolas**

Colocou-se uma massa do produto farmacologicamente ativo (PFA) e uma massa de co-fórmero (estequiometria de 1:1) no moinho de bolas com as condições abaixo referidas (Tabela 13). Efetuou-se o difratograma de raios-X de pós e colocou-se a recrystalizar em vários sistemas de solventes, no entanto, não se obteve cristais com tamanho considerável para se efetuar o difratograma de raios-X de cristal único.

Tabela 13 - Reações efetuadas pelo método 1

PFA	Co-fórmoro	Tempo (min)	Frequência (Hz)	Solvente ( $\mu\text{L}$ )
Curcumina (0,4 mmol, 0,148 g)	<b>Piperazina (0,4 mmol, 0,035 g)</b>	30	25	20 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,4 mmol, 0,172 g)	<b>Resorcinol (0,4 mmol, 0,048 g)</b>	30	25	20 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico (0,4 mmol, 0,077 mg)</b>	10 com etanol + 10 com acetato de etilo	15	400 $\mu\text{L}$ acetato de etilo + 400 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,4 mmol, 0,172 g)	<b>Resorcinol (0,4 mmol, 0,049 g)</b>	10	13.5	100 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,148 g)	<b>Piperazina (0,4 mmol, 0,035 g)</b>	10	13.5	100 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,3 mmol, 0,128 g)	<b>Ácido cítrico (0,3 mmol, 0,058 mg)</b>	10	13.5	10 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,2 mmol, 0,086 g)	<b>Naringina (0,2 mmol, 0,116 g)</b>	10	13.5	10 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,2 mmol, 0,074 g)	<b>Naringina (0,2 mmol, 0,116 g)</b>	10	13.5	10 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	10	15	10 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	10	15	10 $\mu\text{L}$ acetona
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	10	15	10 $\mu\text{L}$ DMSO
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	10	15	10 $\mu\text{L}$ acetonitrilo

Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	15	10 µL acetona
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	15	10 µL DMSO
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	15	10 µL Clorofórmio
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	15	10 µL acetonitrilo
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,111 g)	<b>Ácido maleico</b> <b>(0,3 mmol,</b> <b>0,040 g)</b>	10	15	10 µL clorofórmio
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	15	10 µL etanol
Composto 12 (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,077 g)</b>	10	13,5	10 µL etanol
Composto 12 (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>L-asperigina</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,053 g)</b>	10+10	13,5	10 µL etanol
Composto 12 (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Resorcinol (0,4</b> <b>mmol, 0,048 g)</b>	10	13,5	10 µL etanol
Composto 12 (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Prolina (0,4</b> <b>mmol, 0,046 g)</b>	10	13,5	10 µL etanol
Composto 13 (0,4 mmol, 0,172 g)	<b>Prolina (0,4</b> <b>mmol, 0,046 g)</b>	10	13,5	10 µL etanol
Composto 13 (0,4 mmol, 0,172 g)	<b>L-asperigina</b> <b>(0,4 mmol,</b> <b>0,053 g)</b>	10	13,5	10 µL etanol

#### 4.4.2. Moagem manual em almofariz

Colocou-se uma massa do produto farmacologicamente ativo (PFA) e uma massa de co-fórmero (estequiometria de 1:1) no almofariz, procedendo-se à moagem manual nas condições abaixo referidas (tabela 14). Efetuou-se o difratograma de raios-X de pós e colocou-se a recristalizar em vários sistemas de solventes. Mais uma vez não se conseguiu obter cristais com tamanho adequado para a determinação da estrutura dos compostos por raios-X de cristal único.

Tabela 14 - Reações efetuadas pelo método 2

PFA	Co-fórmero	Tempo (min)	Solvente ( $\mu\text{L}$ )
Composto 13 (0,4 mmol, 0,172 g)	<b>Resorcinol (0,4 mmol, 0,048 g)</b>	15	100 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,4 mmol, 0,128 g)	<b>Paracetamol (0,4 mmol, 0,060 g)</b>	30	600 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,3 mmol, 0,128 g)	<b>Piperazina (0,3 mmol, 0,048 g)</b>	30	450 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,111 g)	<b>Alopurinol (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	40	600 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,3 mmol, 0,128 g)	<b>Ácido gálico (0,3 mmol, 0,036 g)</b>	20	450 $\mu\text{L}$ etanol
Composto 13 (0,3 mmol, 0,128 g)	<b>Ácido cítrico (0,3 mmol, 0,058 g)</b>	20	300 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico (0,4 mmol, 0,077 g)</b>	15	400 $\mu\text{L}$ acetato de etilo
Curcumina (1) (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido maleico (0,4 mmol, 0,054 g)</b>	20	20 $\mu\text{L}$ etanol
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	20	20 $\mu\text{L}$ acetona
Composto 13 (0,2 mmol, 0,074 g)	<b>Naringina (0,2 mmol, 0,116 g)</b>	20	20 $\mu\text{L}$ etanol

Composto 13 (0,4 mmol, 0,147 g)	<b>Ácido cítrico (0,4 mmol, 0,077 g)</b>	20	20 µL etanol
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	20	20 µL DMSO
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	20	20 µL clorofórmio
Curcumina (1) (0,3 mmol, 0,110 g)	<b>Ácido maleico (0,3 mmol, 0,040 g)</b>	20	20 µL acetonitrilo

#### 4.5. Testes de solubilidades

##### 4.5.1. Em água e meio fisiológico para posterior aplicação em testes biológicos

Analisou-se a solubilidade dos compostos em água e meio fisiológico e obteve-se os resultados referidos na Tabela 15.

Tabela 15 - Testes em água, meio fisiológico e DMSO

Compostos	Água destilada (200 mL)	Soro Fisiológico (30 mL)	DMSO	25 % DMSO
1	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (40 µL)	Insolúvel
7	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (20 µL)	Insolúvel
12	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (20 µL)	Insolúvel
13	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (20 µL)	Parcialmente Solúvel
14	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (20 µL)	Insolúvel
15	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (40 µL)	Insolúvel
16	Insolúvel	Insolúvel	Solúvel (20 µL)	Insolúvel

#### 4.5.2. Em solventes orgânicos

A solubilidade dos compostos em solventes orgânicos foi também determinada e os resultados encontram-se inseridos na

Tabela 16.

Tabela 16 - Tabela de solubilidades dos vários derivados curcuminóides

	Acetonitrilo	Acetona	DCM	Acetato de etilo	Clorofórmio	Etanol
Composto 1	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Parcialmente Solúvel	Solúvel	Solúvel
Composto 7	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Composto 12	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Parcialmente Solúvel	Solúvel	Solúvel
Composto 13	Solúvel	Solúvel	Parcialmente Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Composto 14	Solúvel	Solúvel	Parcialmente Solúvel	Solúvel	Insolúvel	Solúvel
Composto 15	Solúvel	Solúvel	Insolúvel	Solúvel	Solúvel	Parcialmente Solúvel
Composto 16	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel

#### 4.6. Teste da capacidade antioxidantes dos curcuminóides

Num tubo de ensaio juntou-se em solução tampão de fosfato pH=7 (3 mL) ABTS (1 mg/1 mL, 3 mL) e o oxidante MnO<sub>2</sub> (100 mg) por 10 minutos com agitação. De seguida, centrifugou-se e retirou-se o oxidante. No espectrofotómetro a um comprimento de onda de 734 nm, mediu-se a absorvância da solução de ABTS<sup>•+</sup>. Adicionou-se, posteriormente, à solução anterior cada um dos compostos em estudo numa solução de etanol (20 µL). Mediu-se a absorvância ao fim de 5 minutos tendo-se efetuado ensaios em triplicado, a percentagem de inibição é dada por:

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_{(\text{ABTS}^+)} - A_{(\text{amostra})}}{A_{(\text{ABTS}^+)}} \times 100$$

Onde,  $A_{(\text{amostra})}$  - valor medido 5 minutos após a adição do antioxidante

Tabela 17 – Resultados dos testes antioxidantes efetuados

Curcumina (1) Comercial

Amostra	$A_{(\text{ABTS}^+)}$	$A_{\text{amostra}}$	%inibição
1	0,607	0,046	92,4
2	0,667	0,039	94,1
3	0,662	0,034	94,9

Composto 1

Amostra	$A_{(\text{ABTS}^+)}$	$A_{\text{amostra}}$	%inibição
1	0,701	0,032	95,4
2	0,697	0,03	95,7
3	0,604	0,045	92,6

Composto 12

Amostra	$A_{(\text{ABTS}^+)}$	$A_{\text{amostra}}$	%inibição
1	0,56	0,222	60,4
2	0,514	0,221	57,0
3	0,617	0,212	65,6

Composto 7

Amostra	$A_{(\text{ABTS}^+)}$	$A_{\text{amostra}}$	%inibição
1	0,643	0,09	86,0
2	0,68	0,075	88,9
3	0,633	0,084	86,7

Composto 16

Amostra	$A_{(\text{ABTS}^+)}$	$A_{\text{amostra}}$	%inibição
1	0,718	0,184	74,4
2	0,724	0,187	74,2
3	0,64	0,176	72,5

## Composto 13

Amostra	$A_{(ABTS)}$	$A_{amostra}$	%inibição
1	0,61	0,03	95,1
2	0,621	0,028	95,5
3	0,625	0,029	95,4

## Composto 14

Amostra	$A_{(ABTS)}$	$A_{amostra}$	%inibição
1	0,757	0,206	72,8
2	0,697	0,208	70,2
3	0,738	0,200	72,9

## Composto 15

Amostra	$A_{(ABTS)}$	$A_{amostra}$	%inibição
1	0,447	0,385	13,9
2	0,657	0,601	8,5
3	0,586	0,560	4,4

## Ácido ascórbico

Amostra	$A_{(ABTS)}$	$A_{amostra}$	%inibição
1	0,582	0,067	88,5
2	0,771	0,109	85,9
3	0,771	0,091	88,2

## Trolox

Amostra	$A_{(ABTS)}$	$A_{amostra}$	%inibição
1	0,814	0,078	90,42 %
2	0,843	0,08	90,51 %
3	0,576	0,064	88,89 %

# **Referências Bibliográficas**



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Hewlings, S., Kalman, D. Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods* **2017**, 6 (10), 92.
- <sup>2</sup> Kocaadam, B., Şanlıer, N. Curcumin, an Active Component of Turmeric (*Curcuma Longa*), and Its Effects on Health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, 57 (13), 2889–2895.
- <sup>3</sup> Soleimani, V., Sahebkar, A., Hosseinzadeh, H. Turmeric (*Curcuma longa*) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. *Phyther. Res.* **2018**, 32(6):985-995
- <sup>4</sup> Hope-Roberts, M., Horobin, R. W. A Review of Curcumin as a Biological Stain and as a Self-Visualizing Pharmaceutical Agent. *Biotech. Histochem.* **2017**, 92 (5), 315–323.
- <sup>5</sup> Stanić, Z. Curcumin, a Compound from Natural Sources, a True Scientific Challenge – A Review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2017**, 72 (1), 1–12.
- <sup>6</sup> Prasad, S., Gupta, S. C., Tyagi, A. K., Aggarwal, B. B. Curcumin, a Component of Golden Spice: From Bedside to Bench and Back. *Biotechnol. Adv.* **2014**, 32 (6), 1053–1064.
- <sup>7</sup> Salem, M., Gillies, E., R., Curcumin, a promising anti-cancer therapeutic: a review of its chemical properties, bioactivity and approaches to cancer cell delivery. *RSC Adv.*, **2014**, 4,10815.
- <sup>8</sup> Shehzad, A., Lee, J., Lee, Y. S. Curcumin in Various Cancers. *BioFactors* **2013**, 39 (1), 56–68.
- <sup>9</sup> Epstein, J., Sanderson, I. R., MacDonald, T. T. Curcumin as a Therapeutic Agent: The Evidence from in Vitro, Animal and Human Studies. *Br. J. Nutr.* **2010**, 103 (11), 1545–1557.
- <sup>10</sup> Kunnumakkara, A. B., Anand, P., Aggarwal, B. B. Curcumin Inhibits Proliferation, Invasion, Angiogenesis and Metastasis of Different Cancers through Interaction with Multiple Cell Signaling Proteins. *Cancer Lett.* **2008**, 269 (2), 199–225.
- <sup>11</sup> Mehanny, M., Hathout, R. M., Geneidi, A. S., Mansour, S. Exploring the Use of Nanocarrier Systems to Deliver the Magical Molecule, Curcumin and Its Derivatives. *J. Control. Release* **2016**, 225, 1–30.
- <sup>12</sup> Mohanty, C., Sahoo, S. K. Curcumin and Its Topical Formulations for Wound Healing Applications. *Drug Discov. Today* **2017**, 22 (10), 1582–1592.
- <sup>13</sup> Arshad, L., Haque, M. A., Abbas Bukhari, S. N., Jantan, I. An Overview of Structure–activity Relationship Studies of Curcumin Analogs as Antioxidant and Anti-Inflammatory Agents. *Future Med. Chem.* **2017**, 9 (6), 605–626.

- 
- <sup>14</sup> Zheng, Q., Yang, Z., Yu, L., Ren, Y., Huang, Q., Ma, X., Chen, Z., Wang, Z., Zheng, X. Synthesis and Antioxidant Activity of Curcumin Analogs. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2016**, 6020 (October), 1–15.
- <sup>15</sup> Caramori, G., Adcock, I. M., Casolari, P., Ito, K., Jazrawi, E., Tsaprouni, L., Villetti, G., Civelli, M., Carnini, C., Chung, K. F. Unbalanced Oxidant-Induced DNA Damage and Repair in COPD : A Link towards Lung Cancer. *Thorax*, **2011**, 66, 521–527.
- <sup>16</sup> Sahu, P. K. Design, Structure Activity Relationship, Cytotoxicity and Evaluation of Antioxidant Activity of Curcumin Derivatives/Analogues. *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 121, 510-516.
- <sup>17</sup> Al-amiery, A. A., Kadhum, A. A. H., Obayes, H. R., Mohamad, A. B. Synthesis and Antioxidant Activities of Novel 5-Chlorocurcumin , Complemented by Semiempirical Calculations. *Bioinorg. Chem. Appl.*, **2013**, 1-7.
- <sup>18</sup> Jayaraj, R. L., Tamilselvam, K. Neuroprotective Effect of CNB-001 , a Novel Pyrazole Derivative of Curcumin on Biochemical and Apoptotic Markers Against Rotenone-Induced SK-N-SH Cellular Model of Parkinson ' s Disease. *J. Mol. Neurosci.*, **2013**, 51(3), 863-870.
- <sup>19</sup> Dutta, S., Padhye, S., Priyadarsini, K. I. Newton, C. Antioxidant and Antiproliferative Activity of Curcumin Semicarbazone. *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 2738–2744.
- <sup>20</sup> Nantasenamat, C., Simeon, S., Hafeez, A., Prachayasittikul, V., Worachartcheewan, A., Songtawee, N., Srungboonmee, K., Isarankura-na-ayudhya, C., Prachayasittikul, S., Prachayasittikul, V., Curcumin: Synthesis, Emerging Role in Pain Management and Health Implications. *Korean J. Pain.*, **2012**, 25(3), 202–203.
- <sup>21</sup> Yang, H., Du, Z., Wang, W., Song, M., Sanidad, K. Z. Structure-Activity Relationship of Curcumin: Role of the Methoxy Group in Anti-inflammatory and Anticolitis Effects of Curcumin. *J. Agric. Food Chem.*, **2017**, 65(22), 4509-4515.
- <sup>22</sup> Nurfinal, A. N., Reksohadiprodjo, M. S., Timmerman, H., Jenie, U. A., Sugiyant, D., Goot, H. Synthesis of Some Symmetrical Curcumin Derivatives and Their Antiinflammatory Activity Antiinflammatory Activity HO. *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, 32, 321–328.
- <sup>23</sup> Selvam, C., Jachak, S. M., Thilagavathi, R., Chakraborti, A. K. Design , Synthesis , Biological Evaluation and Molecular Docking of Curcumin Analogues as Antioxidant , Cyclooxygenase Inhibitory and Anti-Inflammatory Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15(7), 1793-7.
- <sup>24</sup> Andler, N. H., Aeger, W. J., Uschacher, H. P., Eisser, K. L., Rker, T. E. Synthesis of Novel Curcumin Analogues and Their Evaluation as Selective Cyclooxygenase-1 ( COX-1 ) Inhibitors. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **2007**, 55 (1), 64–71.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 
- <sup>25</sup> Ahmad, W., Kumolosasi, E., Bukhari, S. N. A., Jasamai, M. Effects of Novel Diarylpentanoid Analogues of Curcumin on Secretory Phospholipase A 2 , Cyclooxygenases , Lipo-Oxygenase , and Microsomal Prostaglandin E Synthase-1. *Chem. Biol. Drug. Des.*, **2014**, 83(6), 670-681.
- <sup>26</sup> Weber, W. M., Hunsaker, L. A., Abcouwer, S. F., Deck, L. M., Vander, D. L. Anti-Oxidant Activities of Curcumin and Related Enones. *Bioorg Med Chem.*, **2005**, 13, 3811–3820.
- <sup>27</sup> Pae, H., Jeong, S., Kim, H. S., Kim, S. H., Song, Y. S. Dimethoxycurcumin , a Synthetic Curcumin Analogue with Higher Metabolic Stability , Inhibits NO Production , Inducible NO Synthase Expression and NF- j B Activation in RAW264 . 7 Macrophages Activated with LPS. *Mol. Nutr. Food. Res.* **2008**, 52(9), 1082-1091.
- <sup>28</sup> Aggarwal, B. B., Harikumar, K. B. Potential Therapeutic Effects of Curcumin , the Anti-Inflammatory Agent , against Neurodegenerative , Cardiovascular , Pulmonary , Metabolic , Autoimmune and Neoplastic Diseases. *Int. J. Biochem. Cell Biol. J.* **2009**, 41, 40–59.
- <sup>29</sup> Ansell, B. J. Targeting the Anti-Inflammatory Effects of High-Density Lipoprotein. *Am. J. Cardiol.*, **2007**, 100(11), S3-S9.
- <sup>30</sup> Reperfusion, C. I., Yeh, C., Ph, D., Chen, T., Wu, Y., Lin, Y., Lin, P. J. Inhibition of NFkB Activation with Curcumin Attenuates Plasma Inflammatory Cytokines Surge and Cardiomyocytic Apoptosis Following. *J Surg Res.* **2005**, 116, 109–116.
- <sup>31</sup> Kawanami, D., Maemura, K., Takeda, N., Harada, T., Nojiri, T., Manabe, I., Imai, Y., Nagai, R. C-Reactive Protein Induces VCAM-1 Gene Expression through NF- kB Activation in Vascular Endothelial Cells. *Atherosclerosis.*, **2006**, 185, 39–46.
- <sup>32</sup> Brosková, Z., Drábiková, K., Sotníková, R., Fialová, S., Knezl, V. Effect of Plant Polyphenols on Ischemia-Reperfusion Injury of the Isolated Rat Heart and Vessels. *Phytother. Res.*, **2013**, 27(7), 1018-1022.
- <sup>33</sup> Keller, D. I., Kucera, J. P., Benammar, N. Brugada Syndrome and Fever : Genetic and 519.
- <sup>33</sup> Ranjan, A. P., Mukerjee, A., Helson, L., Vishwanatha, J. K. Mitigating Prolonged QT Interval in Cancer Nanodrug Development Molecular Characterization of Patients Carrying SCN5A Mutations. *Cardiovasc. Res.*, **2005**, 67, 510–519.
- <sup>34</sup> Ranjan, A. P., Mukerjee, A., Helson, L., Vishwanatha, J. K. Mitigating Prolonged QT Interval in Cancer Nanodrug Development for Accelerated Clinical Translation. *J. Nanobiotechnology.*, **2013**, 11-40.
- <sup>35</sup> Talaat, M., Aziz, A., Naguib, I., Ibrashy, E., Mikhailidis, D. P., Rezq, A. M., Abdel, M., Wassef, A., Fouad, H. H., Ahmed, H. H. Signaling Mechanisms of a Water Soluble Curcumin Derivative in Experimental Type 1 Diabetes with Cardiomyopathy. *Diabetol. Metab. Syndr.*, **2013**, 5-13.

- 
- <sup>36</sup> Gu, H., Li, H., Tang, Y., Tang, X., Zheng, X. Nicotinate-Curcumin Impedes Foam Cell Formation from THP-1 Cells through Restoring Autophagy Flux. *PLoS. One.*, **2016**, 11(4).c
- <sup>37</sup> Jiang, S., Han, J., Li, T., Xin, Z., Ma, Z., Di, W., Hu, W., Gong, B., Di, S., Wang, D., Curcumin as a Potential Protective Compound against Cardiac Diseases. *Pharmacol. Res.* **2017**, 119, 373–383.
- <sup>38</sup> Shehzad, A., Qureshi, M., Anwar, M. N., Lee, Y. S. Multifunctional Curcumin Mediate Multitherapeutic Effects. *J. Food Sci.* **2017**, 82 (9), 2006–2015.
- <sup>39</sup> B. Mythri, R., M. Srinivas Bharath, M. Curcumin: A Potential Neuroprotective Agent in Parkinson's Disease. *Curr. Pharm. Des.* **2012**, 18 (1), 91–99.
- <sup>40</sup> Dolai, S., Shi, W., Corbo, C., Sun, C., Averick, S., Obeysekera, D. “ Clicked ” Sugar – Curcumin Conjugate: Modulator of Amyloid-  $\beta$  and Tau Peptide Aggregation at Ultralow Concentrations. *ACS. Chem. Neurosci.*, **2011**, 2(12), 694-699.
- <sup>41</sup> Lagouge, M., Larsson, N. G. The Role of Mitochondrial DNA Mutations and Free Radicals in Disease and Ageing. *J. Intern. Med.* **2013**, 273 (6), 529–543.
- <sup>42</sup> Darvesh, A. S., Carroll, R. T., Bishayee, A., Novotny, N. A., Geldenhuys, W. J., Schyf, C. J. Curcumin and Neurodegenerative Diseases: A Perspective. *Expert. Opin. Investig. Drugs.*, **2012**, 21(8), 1123-1140.
- <sup>43</sup> Lopresti, A. L., Maes, M., Maker, G. L., Hood, S. D., Drummond, P. D. Curcumin for the Treatment of Major Depression: A Randomised, Double-Blind, Placebo Controlled Study. *J. Affect. Disord.* **2014**, 167, 368–375.
- <sup>44</sup> Lopresti, A. L., Maes, M., Meddens, M. J. M., Maker, G. L., Arnoldussen, E., Drummond, P. D. Curcumin and Major Depression: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial Investigating the Potential of Peripheral Biomarkers to Predict Treatment Response and Antidepressant Mechanisms of Change. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2015**, 25 (1), 38–50.
- <sup>45</sup> Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed, M., Rajendran, R., Srinivas, P. Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers. *Planta. Med.*, **1998**, 64 (5), 353–356.
- <sup>46</sup> Begum, A. N., Jones, M. R., Lim, G. P., Morihara, T., Kim, P., Heath, D. D., Rock, C. L., Pruitt, M. A., Yang, F., Hudspeth, B., et al. Curcumin Structure-Function, Bioavailability, and Efficacy in Models of Neuroinflammation and Alzheimer's Disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2008**, 326 (1), 196–208.
- <sup>47</sup> Cole, G. M., Teter, B., Frautschy, S. A. Neuroprotective Effects of Curcumin. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **2007**, 595, 197–212.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 
- <sup>48</sup> Kurup, V. P., Barrios, C. S. Immunomodulatory Effects of Curcumin in Allergy. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2008**, *52* (9), 1031–1039.
- <sup>49</sup> Chauhan, P. S., Subhashini, Dash, D., Singh, R. Intranasal Curcumin Attenuates Airway Remodeling in Murine Model of Chronic Asthma. *Int. Immunopharmacol.* **2014**, *21* (1), 63–75.
- <sup>50</sup> Abidi, A., Gupta, S., Agarwal, M., Bhalla, H., L., Saluja, M., Evaluation of Efficacy of Curcumin as an Add-on Therapy in Patients of Bronchial Asthma. *J. Clin. Diagnostic Res.*, **2014**, 19–25.
- <sup>51</sup> Alappat, L., Awad, A. B. Curcumin and Obesity: Evidence and Mechanisms. *Nutr. Rev.*, **2010**, *68* (12), 729–738.
- <sup>52</sup> Jang, E. M., Choi, M. S., Jung, U. J., Kim, M. J., Kim, H. J., Jeon, S. M., Shin, S. K., Seong, C. N., Lee, M. K. Beneficial Effects of Curcumin on Hyperlipidemia and Insulin Resistance in High-Fat-Fed Hamsters. *Metabolism.*, **2008**, *57* (11), 1576–1583.
- <sup>53</sup> Manjunatha, H., Srinivasan, K. Protective Effect of Dietary Curcumin and Capsaicin on Induced Oxidation of Low-Density Lipoprotein, Iron-Induced Hepatotoxicity and Carrageenan-Induced Inflammation in Experimental Rats. *FEBS J.*, **2006**, *273* (19), 4528–4537.
- <sup>54</sup> Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., Meydani, M., Meydani, and M. Curcumin Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes and Angiogenesis and Obesity in C57/BL Mice 1–3. *J. Nutr.*, **2009**, *139*(5), 919–925.
- <sup>55</sup> Abdollahi, E., Momtazi, A. A., Johnston, T. P., Sahebkar, A. Therapeutic Effects of Curcumin in Inflammatory and Immune-Mediated Diseases: A Nature-Made Jack-of-All-Trades? *J. Cell. Physiol.*, **2018**, *233* (2), 830–848.
- <sup>56</sup> Momtazi, A., & Sahebkar, A. Difluorinated curcumin: A promising curcumin analogue with improved anti-tumor activity and pharmacokinetic profile. *Cur. Pharm. Des.*, **2016**, *22*(28), 4386–4397.
- <sup>57</sup> Luo, F., Song, X., Zhang, Y., Chu, Y. Low-Dose Curcumin Leads to the Inhibition of Tumor Growth via Enhancing CTL-Mediated Antitumor Immunity. *Int. Immunopharmacol.*, **2011**, *11* (9), 1234–1240.
- <sup>58</sup> Ravindran, J., Prasad, S., Aggarwal, B. B. Curcumin and Cancer Cells: How Many Ways Can Curry Kill Tumor Cells Selectively? *AAPS J.*, **2009**, *11*(3), 495–510.
- <sup>59</sup> Forouhi, N. G., Wareham, N. J. Epidemiology of Diabetes. *Med.*, **2014**, *42* (12), 698–702.
- <sup>60</sup> Maffi, P., Secchi, A. The Burden of Diabetes: Emerging Data. *Dev. Ophthalmol.*, **2017**, *60*, 1–5.
- <sup>61</sup> Chellappan, D. K., Yenese, Y., Wei, C. C., Gupta, G. Nanotechnology and Diabetic Wound Healing: A Review. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*, **2017**, *17* (2), 87–95.

- 
- <sup>62</sup> Dib, S. A., Gomes, M. B. Etiopathogenesis of Type 1 Diabetes Mellitus: Prognostic Factors for the Evolution of Residual  $\beta$  Cell Function. *Diabetol. Metab. Syndr.*, **2009**, 1, 1-25.
- <sup>63</sup> Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J. C., Jorns, A., Lenzen, S., Eizirik, D. L. Mechanisms of Pancreatic Beta-Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes: Many Differences, Few Similarities. *Diabetes*, **2005**, 54 Suppl 2 (6), S97-107.
- <sup>64</sup> Ali Hussain, H. E. M. Hypoglycemic, Hypolipidemic and Antioxidant Properties of Combination of Curcumin from *Curcuma Longa*, Linn, and Partially Purified Product from *Abroma Augusta*, Linn. in Streptozotocin Induced Diabetes. *Indian J. Clin. Biochem.*, **2002**, 17 (2), 33–43.
- <sup>65</sup> El-Moselhy, M. A., Taye, A., Sharkawi, S. S., El-Sisi, S. F. I., Ahmed, A. F. The Antihyperglycemic Effect of Curcumin in High Fat Diet Fed Rats. Role of TNF- $\alpha$  and Free Fatty Acids. *Food Chem. Toxicol.*, **2011**, 49 (5), 1129–1140.
- <sup>66</sup> Na, L.-X., Li, Y., Pan, H.-Z., Zhou, X.-L., Sun, D.-J., Meng, M., Li, X., Sun, C.-H. Curcuminoids Exert Glucose-Lowering Effect in Type 2 Diabetes by Decreasing Serum Free Fatty Acids: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2013**, 57 (9), 1569–1577.
- <sup>67</sup> Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H., Tsukagawa, M., Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y., Takahashi, K., Kawada, T., Nakagawa, K. Curcuminoids and Sesquiterpenoids in Turmeric (*Curcuma Longa* L.) Suppress an Increase in Blood Glucose Level in Type 2 Diabetic KK-A<sup>y</sup> Mice. *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53 (4), 959–963.
- <sup>68</sup> Noorafshan, A., Ashkani-Esfahani, S. A Review of Therapeutic Effects of Curcumin. *Curr. Pharm. Des.*, **2013**, 19 (11), 2032–2046.
- <sup>69</sup> Rivera-mancía, S., Lozada-García, M. C., Pedraza-chaverri, J. Experimental Evidence for Curcumin and Its Analogs for Management of Diabetes Mellitus and Its Associated Complications. *Eur. J. Pharmacol.*, **2015**, 756, 30–37.
- <sup>70</sup> Bugyei-Twum, A., Advani, A., Advani, S. L., Zhang, Y., Thai, K., Kelly, D. J., Connelly, K. A. High Glucose Induces Smad Activation via the Transcriptional Coregulator P300 and Contributes to Cardiac Fibrosis and Hypertrophy. *Cardiovasc. Diabetol.*, **2014**, 13 (1), 1–12.
- <sup>71</sup> Farhangkhoe, H., Khan, Z. A., Chen, S., Chakrabarti, S. Differential Effects of Curcumin on Vasoactive Factors in the Diabetic Rat Heart. *Nutr. Metab.*, **2006**, 3, 1–8.
- <sup>72</sup> Soetikno, V., Watanabe, K., Sari, F. R., Harima, M., Thandavarayan, R. A., Veeraveedu, P. T., Arozal, W., Sukumaran, V., Lakshmanan, A. P., Arumugam, S., Curcumin Attenuates Diabetic Nephropathy by Inhibiting PKC- $\alpha$  and PKC-B1 activity in Streptozotocin-Induced Type I Diabetic Rats. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2011**, 55 (11), 1655–1665.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 
- <sup>73</sup> Soetikno, V., Sari, F. R., Sukumaran, V., Lakshmanan, A. P., Mito, S., Harima, M., Thandavarayan, R. A., Suzuki, K., Nagata, M., Takagi, R., et al. Curcumin Prevents Diabetic Cardiomyopathy in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: Possible Involvement of PKC-MAPK Signaling Pathway. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2012**, 47 (3), 604–614.
- <sup>74</sup> Yu, W., Wu, J., Cai, F., Xiang, J., Zha, W., Fan, D., Guo, S., Ming, Z., Liu, C. Curcumin Alleviates Diabetic Cardiomyopathy in Experimental Diabetic Rats. *PLoS One*, **2012**, 7 (12), 1–11.
- <sup>75</sup> Shimoda, K., Kubota, N., Hirano, H., Matsumoto, M., Hamada, H., Hamada, H. Formation of tetrahydrocurcumin by reduction of curcumin with cultured plant cells of *Marchantia polymorpha*. *Nat. Prod. Commun.*, **2012**, 7, 529–530.
- <sup>76</sup> Zhang, W., Huang, J., Wo, X., Wang, P. Microbial Transformation of Curcumin to Its Derivatives with a Novel *Pichia kudriavzevii* ZJPH0802 Strain. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2013**, 170 (5), 1026–1037.
- <sup>77</sup> Kim, T., Davis, J., Zhang, A. J., He, X., Mathews, S. T. Curcumin Activates AMPK and Suppresses Gluconeogenic Gene Expression in Hepatoma Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2009**, 388 (2), 377–382.
- <sup>78</sup> Murugan, P., Pari, L. Antioxidant Effect of Tetrahydrocurcumin in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Rats. *Life Sci.*, **2006**, 79 (18), 1720–1728.
- <sup>79</sup> Murugan. P., Pari. L, Rao. CA.. Effect of Tetrahydrocurcumin on Insulin Receptor Status in Type 2 Diabetic Rats : Studies on Insulin Binding to Erythrocytes. *J. Biosci.*, **2008**, 33, 63–72.
- <sup>80</sup> Pae, H.O., Kim, E.C., Chung, H.T. Integrative survival response evoked by heme oxygenase-1 and heme metabolites. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **2008**, 42, 197–203.
- <sup>81</sup> Pae, H. O., Son, Y., Kim, N. H., Jeong, H. J., Chang, K. C., Chung, H. T. Role of Heme Oxygenase in Preserving Vascular Bioactive NO. *Nitric Oxide - Biol. Chem.*, **2010**, 23 (4), 251–257.
- <sup>82</sup> Ndisang, J. F., Jadhav, A. Heme Oxygenase System Enhances Insulin Sensitivity and Glucose Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetes. *AJP Endocrinol. Metab.*, **2009**, 296 (4), E829–E841.
- <sup>83</sup> Son, Y., Lee, J. H., Cheong, Y. K., Chung, H. T., Pae, H. O. Antidiabetic Potential of the Heme Oxygenase-1 Inducer Curcumin Analogues. *Biomed Res Int*, **2013**, 1-7.
- <sup>84</sup> Jeong, G. S., Oh, G. S., Pae, H. O., Jeong, S. O., Kim, Y. C., Shin, M. K., Byeong, Y. S., Sang, Y. H., Ho, S. L., Jeong, J. G., et al. Comparative Effects of Curcuminoids on Endothelial Heme Oxygenase-1 Expression: Ortho-Methoxy Groups Are Essential to Enhance Heme Oxygenase Activity and Protection. *Exp. Mol. Med.*, **2006**, 38 (4), 393–400.

- 
- <sup>85</sup> Seo, K.-I., Choi, M.-S., Jung, U. J., Kim, H.-J., Yeo, J., Jeon, S.-M., Lee, M.-K. Effect of Curcumin Supplementation on Blood Glucose, Plasma Insulin, and Glucose Homeostasis Related Enzyme Activities in Diabetic *Db/Db* Mice. *Mol. Nutr. Food Res.*, **2008**, 52 (9), 995–1004.
- <sup>86</sup> Zhang, D., Fu, M., Gao, S., Liu, J. Curcumin and Diabetes : A Systematic Review. *Evid Based Complement Alternat Med.*, **2013**, 1-16.
- <sup>87</sup> Aggarwal, B. B., Bhatt, I. D., Ichikawa, H., Ahn, K. S., Sethi, G., Sandur, S. K., Natarajan, C., Seeram, N., Shishodia, S. Curcumin - Biological and Medicinal Properties. *Tumeric: The Genus Curcuma* **2007**, 297–368.
- <sup>88</sup> Sharma, O. P. Antioxidant Activity of Curcumin and Related Compounds. *Biochem. Pharmacol.*, **1976**, 25 (15), 1811–1812.
- <sup>89</sup> Paulucci, V. P., Couto, R. O., Teixeira, C. C. C., Freitas, L. A. P. Optimization of the Extraction of Curcumin from *Curcuma Longa* Rhizomes. *Brazilian J. Pharmacogn.*, **2013**, 23 (1), 94–100.
- <sup>90</sup> Lee, K.J., Yang, H.J., Jeong, S.W., Ma, J.Y. Solid-phase extraction of curcuminoid from turmeric using physical process method. *Korean J. Pharmacogn.*, **2012**, 43, 250–256.
- <sup>91</sup> Lee, K. J., Ma, J. Y., Kim, Y. S., Kim, D. S., Jin, Y. High Purity Extraction and Simultaneous High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Curcuminoids in Turmeric. *J. Appl. Biol. Chem.*, **2012**, 55 (1), 61–65.
- <sup>92</sup> Patel, K., Krishna, G., Sokoloski, E., Ito, Y., Heart, N. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies Preparative separation of curcuminoids from crude curcumin and turmeric powder by pH zone refining countercurrent. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, **2000**, 23 (14), 2209–2218.
- <sup>93</sup> Li, M., Ngadi, M. O., Ma, Y. Optimisation of Pulsed Ultrasonic and Microwave-Assisted Extraction for Curcuminoids by Response Surface Methodology and Kinetic Study. *Food Chem.*, **2014**, 165, 29–34.
- <sup>94</sup> Kim, Y., Lee, H. J., Shin, Y. Optimization and Validation of High-Performance Liquid Chromatography Method for Individual Curcuminoids in Turmeric by Heat-Refluxed Extraction. *J Agric Food Chem.*, **2013**, 61(46), 10911-10918.
- <sup>95</sup> Baumann, W., Rodrigues, S.V., Viana, L.M. Pigments and their solubility in and extractability by supercritical CO<sub>2</sub>- The case of curcumin. *Braz. J. Chem. Eng.*, **2000**, 17, 323–328.
- <sup>96</sup> Chassagnez-Méndez, A. L., Corrêa, N. C. F., França, L. F.; Machado, N. T.; Araújo, M. E. A Mass Transfer Model Applied to the Supercritical Extraction with CO<sub>2</sub> of Curcumins from Turmeric Rhizomes (*Curcuma Longa* L). *Brazilian J. Chem. Eng.*, **2000**, 17 (3), 315–322.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>97</sup> Gryniewicz, G., Ślifirski, P. Curcumin and Curcuminoids in Quest for Medicinal Status. *Acta Biochim. Pol.*, **2012**, *59* (2), 201–212.
- <sup>98</sup> Esatbeyoglu, T., Huebbe, P., Ernst, I. M. A., Chin, D., Wagner, A. E., Rimbach, G. Curcumin—from Molecule to Biological Function. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2012**, *51* (22), 5308–5332.
- <sup>99</sup> Paramasivam, M., Poi, R., Banerjee, H., Bandyopadhyay, A. High-Performance Thin Layer Chromatographic Method for Quantitative Determination of Curcuminoids in Curcuma Longa Germplasm. *Food Chem.*, **2009**, *113* (2), 640–644.
- <sup>100</sup> Ali, I., Haque, A., Saleem, K. Separation and Identification of Curcuminoids in Turmeric Powder by HPLC Using Phenyl Column. *Anal. Methods*, **2014**, *6* (8), 2526–2536.
- <sup>101</sup> Lee, K. J., Kim, Y. S., Jung, P. M., Ma, J. Y. Optimization of the Conditions for the Analysis of Curcumin and a Related Compound in Curcuma Longa with Mobile-Phase Composition and Column Temperature via RP-HPLC. *Asian J. Chem.*, **2013**, *25* (11), 6306–6310.
- <sup>102</sup> Lee, K. J., Kim, Y. S., Ma, J. Y. Separation and Identification of Curcuminoids from Asian Turmeric (Curcuma Longa L.) Using RP-HPLC and LC-MS. *Asian J. Chem.*, **2013**, *25* (2), 909–912.
- <sup>103</sup> Lampe, V., Milobedzka, J. Studien über Curcumin. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, **1913**, *46* (2), 2235–2240.
- <sup>104</sup> Pabon, H. A synthesis of curcumin and related compounds. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas.*, **1964**, *83* (4), 379–386.
- <sup>105</sup> Zachariah, J. T. *Chemistry of Spices*, Parthasarathy, V. A., Ed., Calicut, Kerala, India, **2008**.
- <sup>106</sup> Robinson, T. P., Hubbard IV, R. B., Ehlers, T. J., Arbiser, J. L., Goldsmith, D. J., Bowen, J. P. Synthesis and Biological Evaluation of Aromatic Enones Related to Curcumin. *Bioorganic Med. Chem.*, **2005**, *13* (12), 4007–4013.
- <sup>107</sup> Zhang, Y., Gu, Y., Lee, H.-M., Hambardjewa, E., Vrankova, K., M. Golub, L., Johnson, F. Design, Synthesis and Biological Activity of New Polyenolic Inhibitors of Matrix Metalloproteinases: A Focus on Chemically-Modified Curcumins. *Curr. Med. Chem.*, **2012**, *19* (25), 4348–4358.
- <sup>108</sup> Ferrari, E., Pignedoli, F., Imbriano, C., Marverti, G., Basile, V., Venturi, E., Saladini, M. Newly Synthesized Curcumin Derivatives: Crosstalk between Chemico-Physical Properties and Biological Activity. *J. Med. Chem.*, **2011**, *54* (23), 8066–8077.
- <sup>109</sup> Selvkumar, B., Venkataraman, R. Microwave Assisted Synthesis of Novel Aryl and Heteroaryl Hydrazinocurcumins. *Der Pharma Chem.*, **2011**, *3* (6), 84–88.
- <sup>110</sup> Youssef, K. M., El-Sherbeny, M. A., El-Shafie, F. S., Farag, H. A., Al-Deeb, O. A., Awadalla, S. A. A. Synthesis of Curcumin Analogues as Potential Antioxidant, Cancer Chemopreventive Agents. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2004**, *337* (1), 42–54.

- 
- <sup>111</sup> Pore, D., Alli, R., Prabhakar, A. S. C., Alavala, R. R., Boyapati, S. Solid-Phase Microwave Assisted Synthesis of Curcumin Analogs. *Lett. Org. Chem.*, **2012**, 9, 447–450.
- <sup>112</sup> Lozada-García, M., Enríquez, R. G., Ramírez-Apán, T. O., Nieto-Camacho, A., Palacios-Espinosa, J. F., Custodio-Galván, Z., Soria-Arteche, O., Pérez-Villanueva, J. Synthesis of Curcuminoids and Evaluation of Their Cytotoxic and Antioxidant Properties. *Molecules* **2017**, 1–12.
- <sup>113</sup> Nichols, C. E., Youssef, D., Harris, R. G., Jha, A. Microwave-Assisted Synthesis of Curcumin Analogs. *ARKIVOC 2006* (xiii), **2006**, 64–72.
- <sup>114</sup> Thakuria, R., Delori, A., Jones, W., Lipert, M. P., Roy, L., Rodríguez-Hornedo, N. Pharmaceutical Cocrystals and Poorly Soluble Drugs. *Int. J. Pharm.*, **2013**, 453 (1), 101–125.
- <sup>115</sup> Shan N., Zaworotko M. J. The Role of Co-Crystals in Pharmaceutical Design. *Drug Disc. Today*, **2008**, 13, 440-446.
- <sup>116</sup> Steed, J. W. The Role of Co-Crystals in Pharmaceutical Design. *Trends Pharmacol. Sci.*, **2013**, 34 (3), 185–193.
- <sup>117</sup> Do, J. L., Friščić, T. Mechanochemistry: A Force of Synthesis. *ACS Cent. Sci.*, **2017**, 3 (1), 13–19.
- <sup>118</sup> James, S. L., Adams, C. J., Bolm, C., Braga, D., Collier, P., Friščić, T., Grepioni, F., Harris, K. D. M., Hyett, G., Jones, W., et al. Mechanochemistry: Opportunities for New and Cleaner Synthesis. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41 (1), 413–447.
- <sup>119</sup> Jones, W., Eddleston, M. D. Introductory Lecture: Mechanochemistry, a Versatile Synthesis Strategy for New Materials. *Faraday Discuss.*, **2014**, 170, 9–34.
- <sup>120</sup> Sanphui, P., Nagula, R. G., Nangia, A. Novel Polymorphs of Curcumin. *Chem Commun (Camb)*, **2011**, 47(17), 10–12.
- <sup>121</sup> Suresh, K., Nangia, A. Curcumin: Pharmaceutical Solids as a Platform to Improve Solubility and Bioavailability. *CrystEngComm* **2018**, 3277–3296.
- <sup>122</sup> Goud, N. R., Suresh, K., Sanphui, P., Nangia, A. Fast Dissolving Eutectic Compositions of Curcumin. *Int. J. Pharm.*, **2012**, 439 (1–2), 63–72.
- <sup>123</sup> Basile, V., Ferrari, E., Lazzari, S., Belluti, S., Pignedoli, F., Imbriano, C. Curcumin Derivatives: Molecular Basis of Their Anti-Cancer Activity. *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 78 (10), 1305–1315.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>124</sup> Ferrari, E., Saladini, M., Pignedoli, F., Spagnolo, F., Benassi, R. Solvent Effect on Keto–enol Tautomerism in a New  $\beta$ -Diketone: A Comparison between Experimental Data and Different Theoretical Approaches. *New J. Chem.* **2011**, 35 (12), 2840–2847.
- <sup>125</sup> Bayomi, S. M., El-Kashef, H. A., El-Ashmawy, M. B., Nasr, M. N. A., El-Sherbeny, M. A., Badria, F. A., Abou-Zeid, L. A., Ghaly, M. A., Abdel-Aziz, N. I. Synthesis and Biological Evaluation of New Curcumin Derivatives as Antioxidant and Antitumor Agents. *Med. Chem. Res.* **2013**, 22 (3), 1147–1162.
- <sup>126</sup> Nikitina, P. A., Kuz'Mina, L. G., Perevalov, V. P., Tkach, I. I. Synthesis and Study of Prototropic Tautomerism of 2-(3-Chromenyl)-1-Hydroxyimidazoles. *Tetrahedron* **2013**, 69 (15), 3249–3256.
- <sup>127</sup> Filali, E., Lloyd-Jones, G. C., Sale, D. A. Cleavage of Tert-Butyl Benzoates with NaH in DMF: Comments on the Mechanism and a Simple and Safe Alternative Procedure. *Synlett* **2009**, 2, 205–208.
- <sup>128</sup> Faust, J., Fischer, M., Gentz, F., Gewald, K., Gluch, R., Mayer, R., Müller, K., Pavel, D., Schmidt, H., Schollberg, K., et al. Practical Handbook of Organic Chemistry, 1973.
- <sup>129</sup> Bellamy, F. D., Ou, K. Selective Reduction of Aromatic Nitro Compounds with Stannous Chloride in Non Acidic and Non Aqueous Medium. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25 (8), 839–842.
- <sup>130</sup> Channe Gowda, D., Mahesh, B., Gowda, S. Zinc-Catalyzed Ammonium Formate Reductions: Rapid and Selective Reduction of Aliphatic and Aromatic Nitro Compounds. *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **2001**, 40 (1), 75–77.
- <sup>131</sup> Tishler M., Stein G.A., Lindberg G., Ryder M., 2,3-Diaminopyridine. *Org. Synth.* **1964**, 44, 34–38.
- <sup>132</sup> Chandrappa, S., Vinaya, K., Ramakrishnappa, T., Rangappa, K. S. An Efficient Method for Aryl Nitro Reduction and Cleavage of Azo Compounds Using Iron Powder/Calcium Chloride. *Synlett* **2010**, 14 (20), 3019–3022.
- <sup>133</sup> Xiao, Z. P., Wang, Y. C., Du, G. Y., Wu, J., Luo, T., Yi, S. F. Efficient Reducing System Based on Iron for Conversion of Nitroarenes to Anilines. *Synth. Commun.* **2010**, 40 (5), 661–665.
- <sup>134</sup> Shi, Q., Lu, R., Lu, L., Fu, X., Zhao, D. Efficient Reduction of Nitroarenes over Nickel-Iron Mixed Oxide Catalyst Prepared from a Nickel-Iron Hydrotalcite Precursor. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349 (11–12), 1877–1881.

- 
- <sup>136</sup> SADABS, Area-Detector Absorption Correction, Bruker AXS Inc.: 804 Madison, 2004.
- <sup>136</sup> SAINT: Area-Detector Integration Software (version 7.23), Bruker 806 AXS Inc.: Madison, 2004.
- <sup>137</sup> Sheldrick, G.M. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, **2008**, A64, 112–122
- <sup>138</sup> Sheldrick, G. M. SHELXL-97: Program for the Refinement of Crystal Structure, University of Göttingen: Germany, **1997**.
- <sup>139</sup> Farrugia, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. *J. Appl. Crystallogr.*, **1999**, 32, 837–838.
- <sup>140</sup> Macrae, C. F., Bruno, I. J., Chisholm, J. A., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., Rodriguez-Monge, L., Taylor, R., Van de Streek, J., Wood, P. A. Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.*, **2008**, 41, 466–470.
- <sup>141</sup> Tanaka, M., Imai, M., Fujio, M., Sakamoto, E., Takahashi, M., Eto-Kato, Y., Wu, X. M., Funakoshi, K., Sakai, K., Suemune, H. Concurrent Induction of Two Chiral Centers from Symmetrical 3,4-Disubstituted and 3,3,4-Trisubstituted 4-Pentenals Using Rh-Catalyzed Asymmetric Cyclizations. *J. Org. Chem.*, **2000**, 65 (18), 5806–5816.

## Anexo I – Espetros de FT-IR

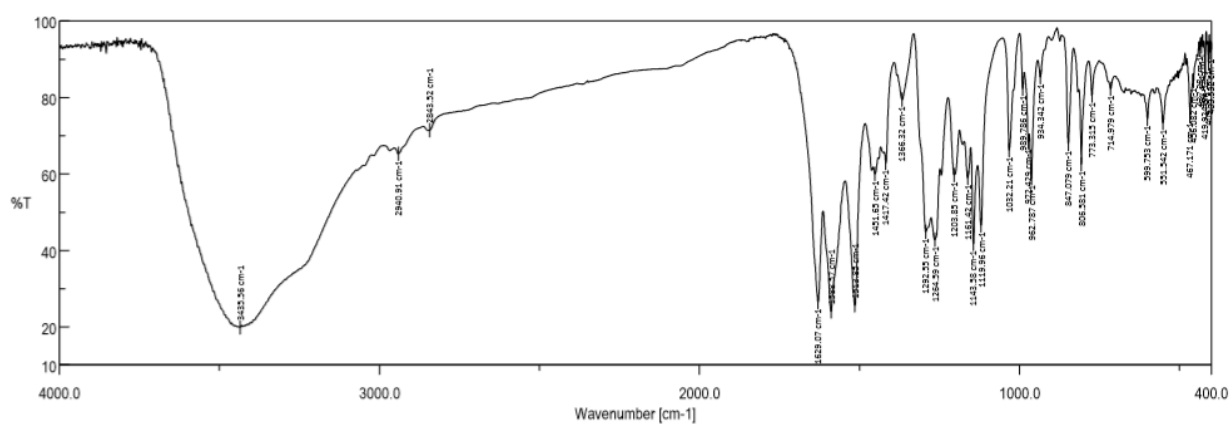


Figura 71 - Espetro de FT-IR do composto 1

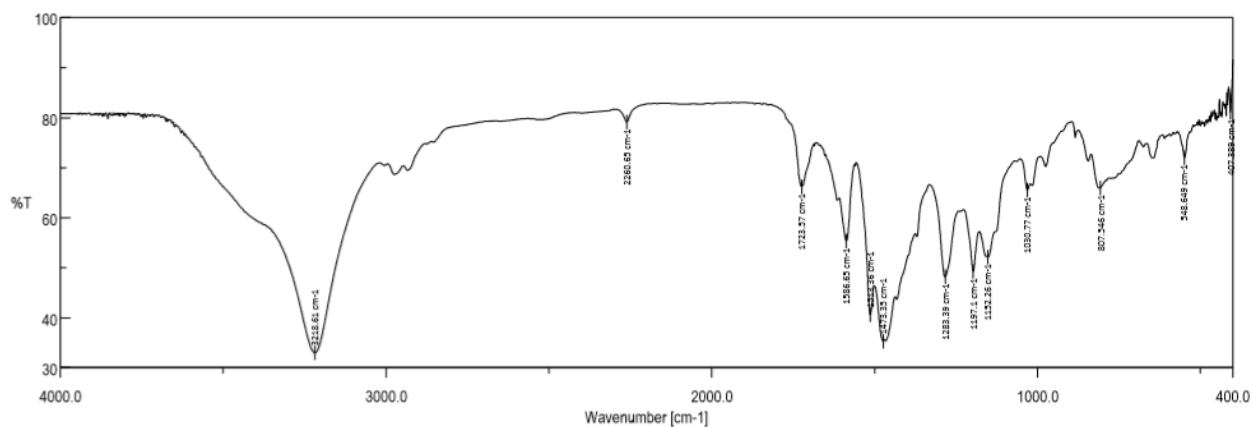


Figura 72 - Espetro de FT-IR do composto 7

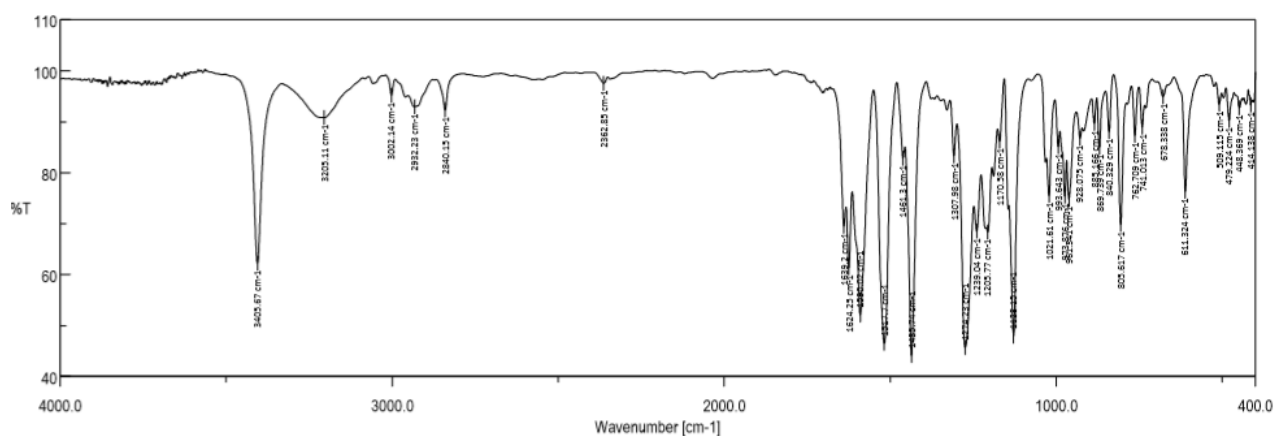


Figura 73 - Espetro de FT-IR do composto 12

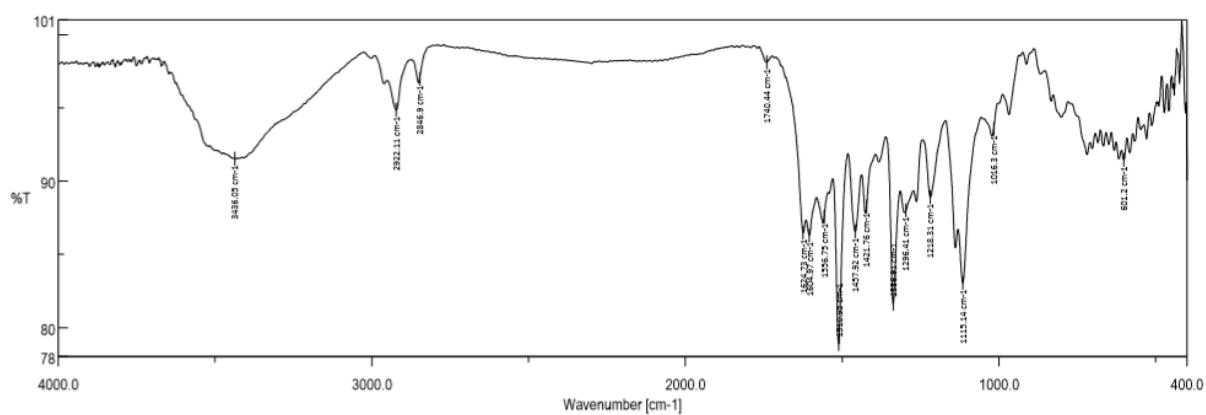


Figura 74 - Espectro de FT-IR do composto 13

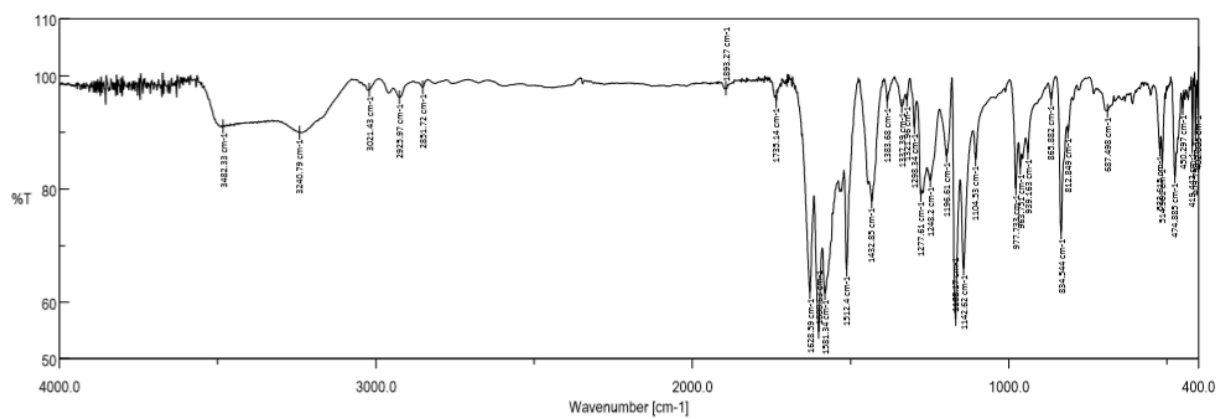


Figura 75 - Espectro de FT-IR do composto 14

## Anexo II – Espetros de $^1\text{H}$ -RMN

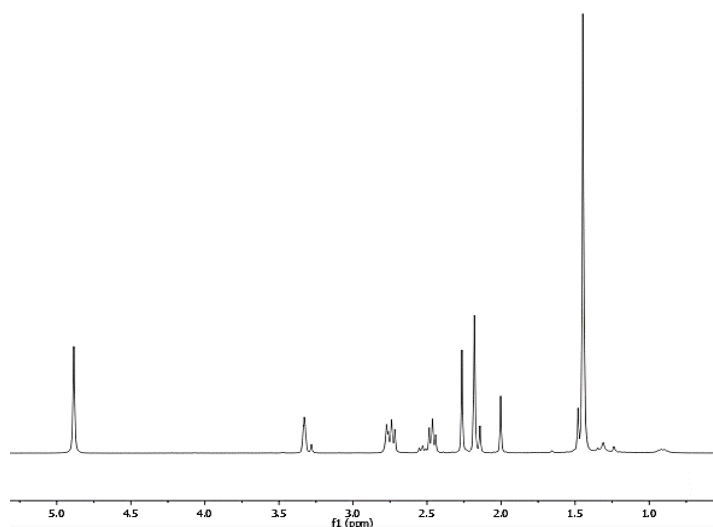


Figura 76 - Espetro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 24

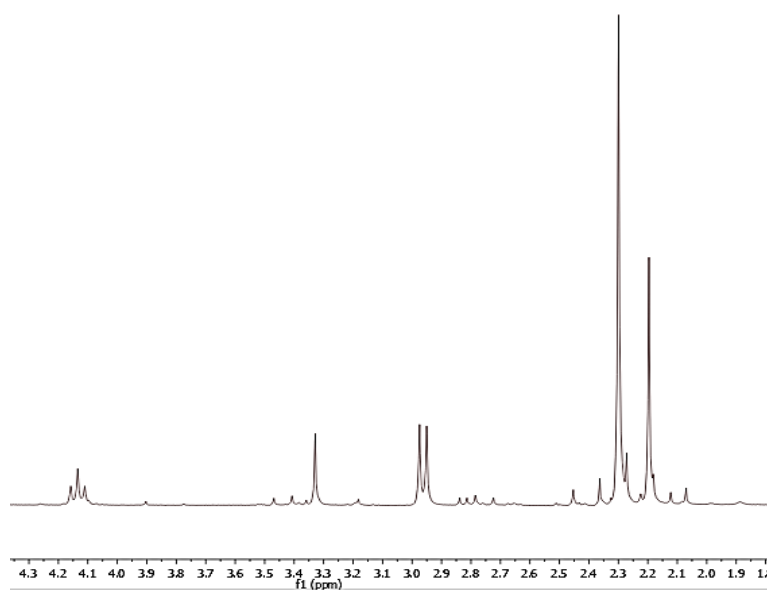


Figura 77 - Espetro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 25

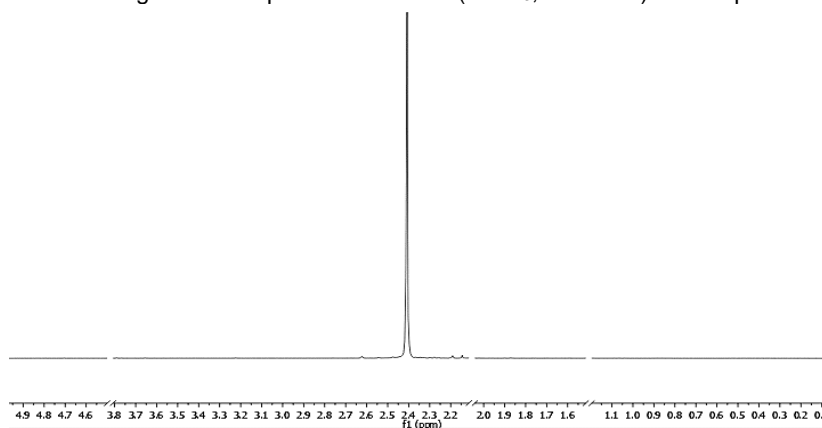
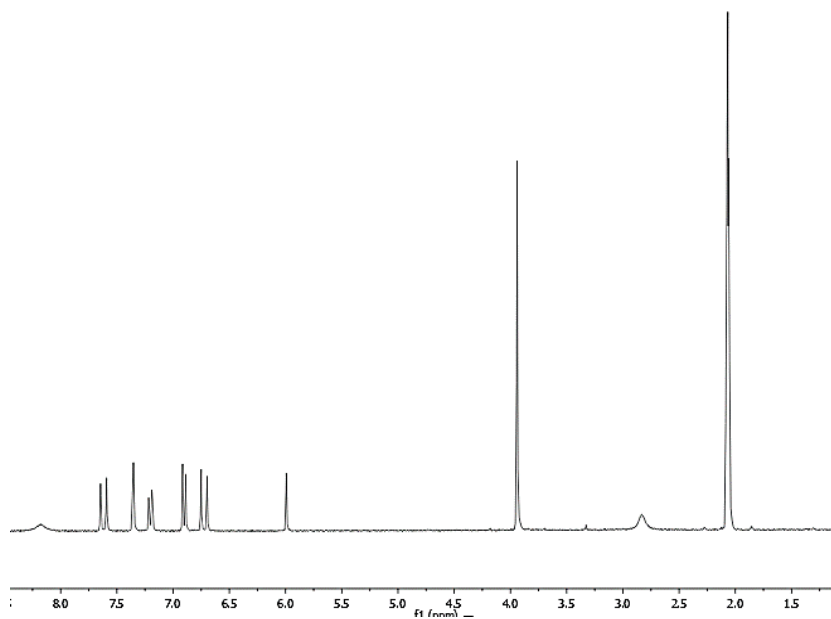
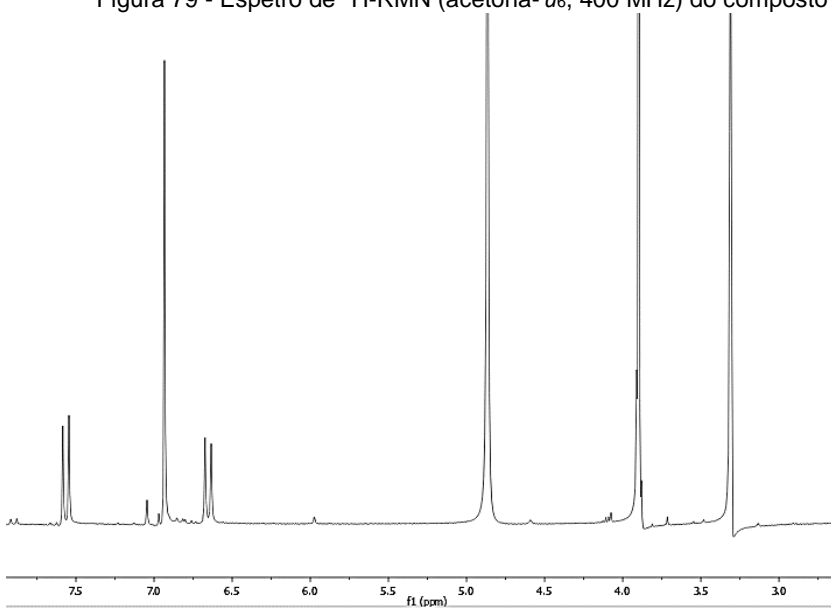
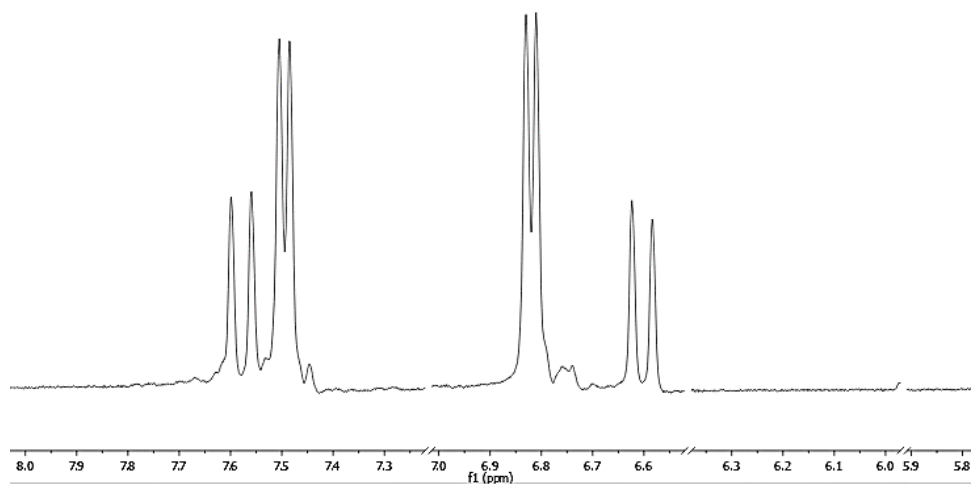
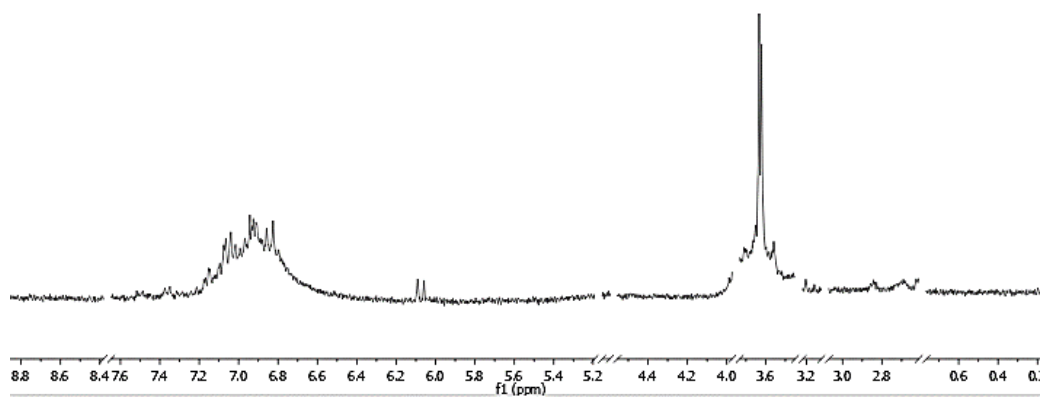
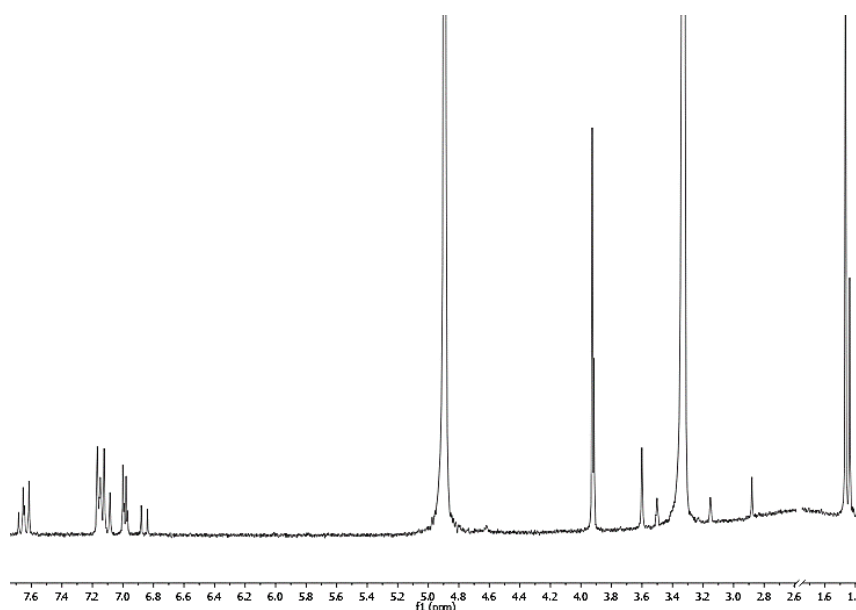


Figura 78 - Espetro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) do composto 19

Figura 79 - Espetro de  $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 1Figura 80 - Espetro de  $^1\text{H}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 13

Figura 81 - Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (MeOD-  $d_4$ , 400 MHz) do composto 14Figura 82 - Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (MeOD-  $d_4$ , 400 MHz) do composto 15Figura 83 - Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (MeOD-  $d_4$ , 400 MHz) do composto 16

## Anexo III - Espectros de $^{13}\text{C}$ -RMN

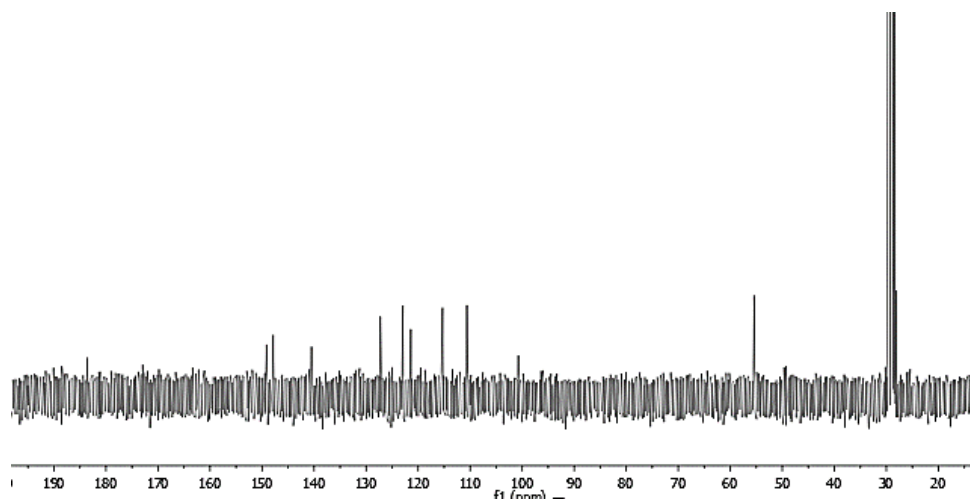


Figura 84 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona-  $d_6$ , 400 MHz) do composto 1

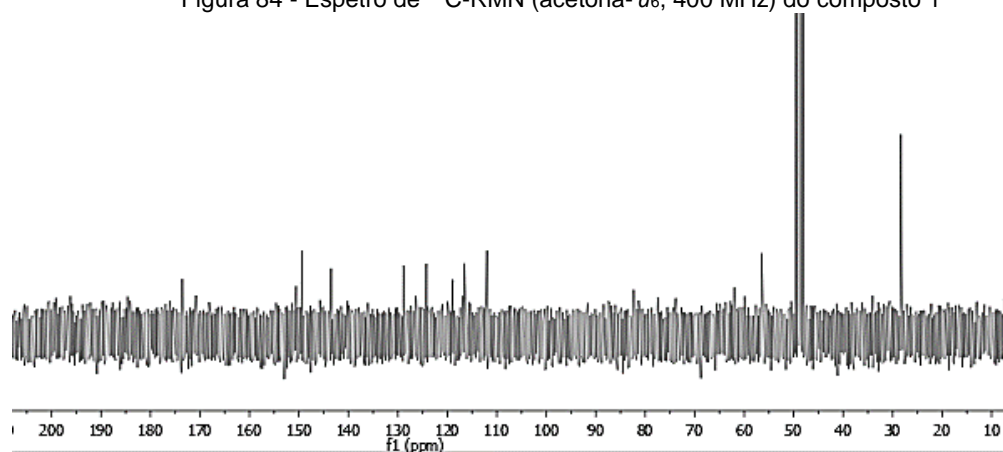


Figura 85 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona-  $d_6$ , 400 MHz) do composto 7

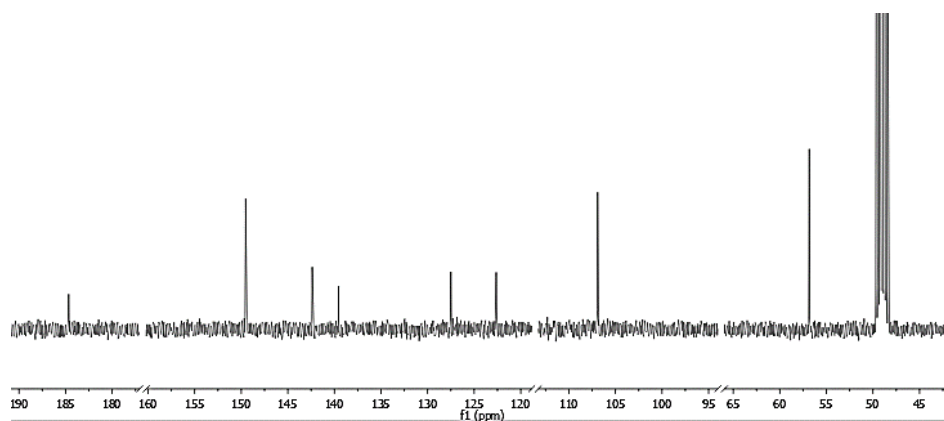


Figura 86 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona-  $d_6$ , 400 MHz) do composto 13

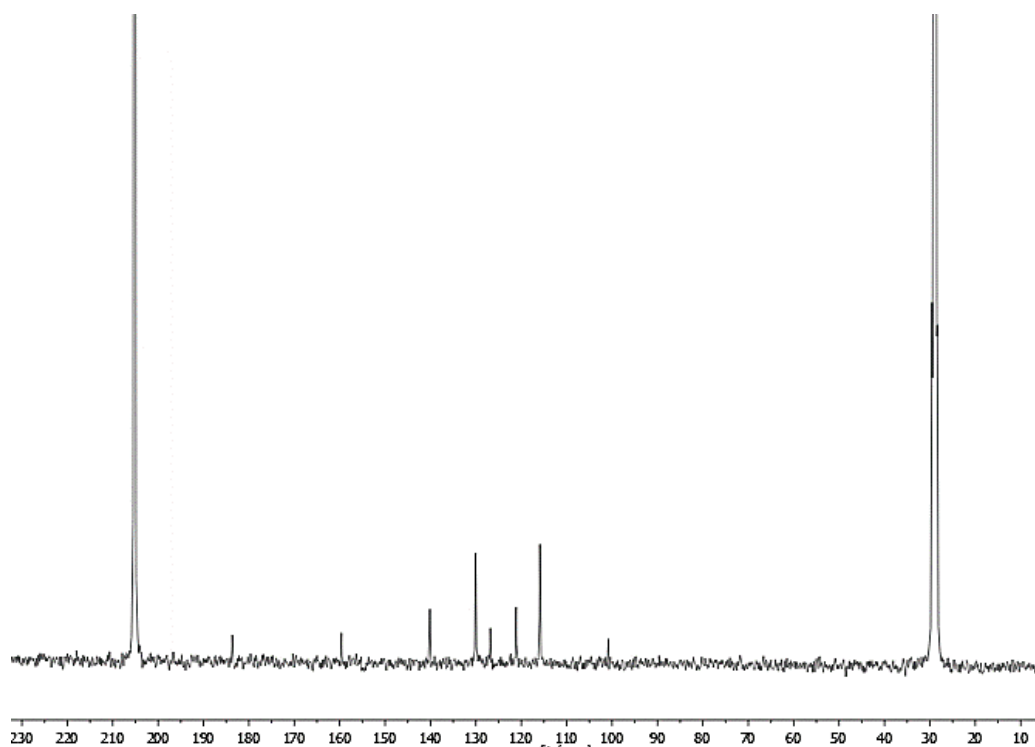


Figura 87 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 14

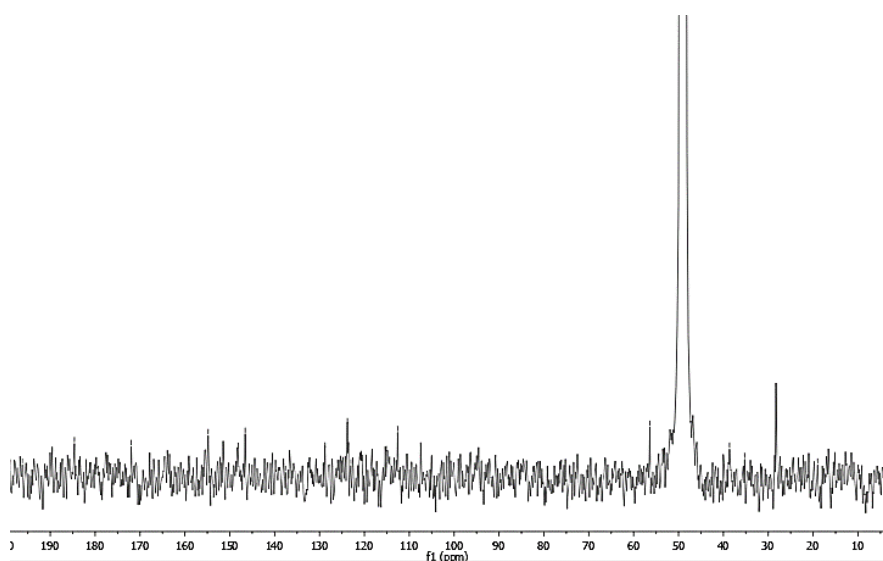


Figura 88 - Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN (acetona- $d_6$ , 400 MHz) do composto 16