

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

ELETROSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE
POLI(2-HIDROXIETILMETACRILATO) CONTENDO
CURCUMINÓIDES

ROSANA RIBEIRO RODRIGUES

ITAJUBÁ-MG

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ – UNIFEI
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS PARA
ENGENHARIA

ROSANA RIBEIRO RODRIGUES

ELETROSSÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE
POLI(2-HIDROXIETILMETACRILATO) CONTENDO
CURCUMINÓIDES

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Materiais para Engenharia da UNIFEI - Universidade Federal de Itajubá, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Materiais para Engenharia.

Área de Concentração: Não-Metals

Orientador: Profa. Dra. Maria Elena Leyva González

Co-orientador: Prof. Dr. Álvaro Antônio Alencar de Queiroz

ITAJUBÁ-MG

2016

RODRIGUES, Rosana Ribeiro

Eletrossíntese e Caracterização de Poli(2-hidroxietilmetacrilato) contendo curcuminóides / Rosana Ribeiro Rodrigues. Itajubá: UNIFEI, 2016.

90 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, 2016.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elena Leyva González.

Co-orientador: Prof. Dr. Álvaro Antônio Alencar de Queiroz

1. Eletrossíntese. 2. pHEMA. 3. Curcuminóides. 4. Estudo de liberação

I. González, Maria Elena Leyva, orient. II. Queiroz, Álvaro Antônio Alencar, coorient. III. Universidade Federal de Itajubá-UNIFEI.

IV. Título.

Dedico a Deus por tudo que proporcionou na minha vida.

Dedico este trabalho aos meus pais, os quais amo muito, pela paciência, e por tornarem mais esse sonho possível de ser realizado.

Dedico ao meu irmão e ao meu esposo por tudo que me ajudaram até hoje.

Dedico a todos que contribuíram para conclusão deste curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar forças a cada dia para concluir mais essa nova etapa.

Agradeço á minha família, que incentivou e acreditou, estando sempre presente.

Agradeço ao meu esposo, Pedro, sempre ao meu lado em todos os momentos.

Agradeço aos meus orientadores, Maria Elena Leyva González e Álvaro Antônio Alencar de Queiroz pela paciência, compreensão e sempre dispostos a ajudar, apoio e colaboração, e por me receber como aluna, a minha gratidão!!

Agradeço aos meus colegas de mestrado, pelo apoio durante o curso.

Agradeço á CAPES pelo auxílio financeiro.

“A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos pagam por ele, mas aquilo em que eles nos transformam.”

John Ruskin

RESUMO

A *curcuma longa* ou de nome popular açafrão da Índia contem entre outros compostos os pigmentos curcuminóides (CC) constituído em maior concentração por curcumina. A curcumina apresenta atividade anticancerígena, porém apresenta baixa solubilidade e rápida eliminação do corpo humano o que torna limitada sua aplicação terapêutica, tendo que ser administradas em doses elevadas o que ocasiona efeitos colaterais. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um sistema polimérico baseado em poli(2-hidroxiethylmetacrilato)/curcuminóides (pHEMA/CC) visando a liberação controlada dos curcuminóides afim de tratar o câncer, permitindo a administração de níveis terapêuticos adequados diminuindo assim os efeito colaterais. Verificou-se que o método mais eficiente para a extração dos CC foi a extração de Soxhlet. A oleoresina extraída, contendo os pigmentos curcuminóides foi cristalizada na qual os cristais foram observados por microscopia ótica (MO) e caracterizados por espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis), espectroscopia de infravermelho (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e difração de raios-X (DRX). O FTIR confirmou a presença dos curcuminóides na oleoresina. O FTIR da oleoresina cristalizada mostrou-se diferente da oleoresina não cristalizada. O UV-vis confirmou que a curcumina é o pigmento de maior concentração. O TGA sugere que o teor de pigmentos curcuminóides está em maior concentração na oleoresina. O hidrogel pHEMA foi obtido por polimerização eletroiniciada, a partir da eletrolise do monômero 2-hidroxiethylmetacrilato (HEMA) em meio de cloreto de potássio 1M, em que a polimerização foi comprovada por FTIR. A massa molar viscosimétrica média determinada foi de $1,2919 \times 10^6$ g/mol. A preparação do sistema polimérico pHEMA/CC foi realizada a partir da mistura física do pHEMA com solução de CC em HEMA. O sistema polimérico foi caracterizado por FTIR, TGA, DRX e microscopia eletrônica de varredura (MEV). O FTIR mostrou que existe forte interação de ligação de hidrogênio entre o pHEMA e os CC. O TGA confirma está forte interação mostrando a estabilização térmica do sistema pHEMA/CC. O MEV revela uma estrutura altamente porosa no pHEMA e a incorporação homogênea dos CC. As análises de MEV e DRX revelam a presença de cristais de CC na matriz pHEMA. O estudo de liberação controlada “*in vitro*” dos CC em solução simuladora de fluido biológico mostra que o sistema segue a Lei de Fick.

Palavras-chaves: Eletrossíntese, pHEMA, Curcuminóides, estudo de liberação.

ABSTRACT

The turmeric contains among other compounds the curcuminoid(CC) pigments constituted in a higher concentration by curcumin. Curcumin has anticancer activity, but has low solubility and rapid elimination and clearance from the body, which makes limited therapeutic application, having to be administered in high doses which causes side effects. Therefore, this study aimed to develop a polymer system based on poly (2-hydroxyethylmetacrylated)/curcuminoids (pHEMA/CC) aiming at controlled release of curcuminoids in order to treat cancer, allowing the administration of adequate therapeutic levels, thereby decreasing side effect. We found that the most efficient method for the extraction of CC was the Soxhlet extraction. The oleoresin extracted containing curcuminoid was crystallized, the crystals were observed by optical microscopy (OM) and characterized by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-vis) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA) and X-Ray diffraction (XRD). FTIR spectrum confirmed the presence of curcuminoids in the oleoresin. FTIR spectrum of crystallized oleoresin showed differences compared to uncrystallized oleoresin. The UV-vis confirmed that the curcumin is the pigment of highest concentration. The TGA suggests that curcuminoids pigments are the components of higher concentration in the oleoresin. The pHEMA hydrogel was obtained by electro-initiated polymerization, from the electrolysis of the monomer 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) in potassium chloride 1M, the polymerization was confirmed by FTIR. The viscosity-average molecular weight determined was $1,2919 \times 10^6$ g / mol. The preparation of the pHEMA / CC polymer system was performed from the physical mixture of pHEMA with solution of CC in HEMA. The polymeric system was characterized by FTIR, TGA, XRD and scanning electron microscopy (SEM). The FTIR showed that there a hydrogen bonding strong interaction between the pHEMA and CC. The TGA confirms this strong interaction through of the thermal stabilization of pHEMA / CC system. The SEM revealed a highly porous structure in pHEMA and homogeneous incorporation of CC. The SEM and XRD revealed the presence of CC crystals in the matrix pHEMA. The "in vitro" controlled release study of CC in simulated biological fluid solution shows that the system follows Fick's Law.

Keywords: Electrosynthesis, pHEMA, Curcuminoids, release study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Casos de câncer / número de incidentes por sexo estimados para 2014/2015 no Brasil.....	15
Figura 2 Açafrão: rizoma(a esquerda) e pó(a direita).....	19
Figura 3 Isômeros da Curcumina: Forma cetônica e enólica.	20
Figura 4 Estrutura química dos curcuminóides	21
Figura 5 Estudos publicados no período de 2010 a 2014.	22
Figura 6 Tabela com as nanopartículas conjugadas com curcumina para o tratamento de diferentes doença.	Erro! Indicador não definido.
Figura 7 Perfis plasmáticos em diferentes sistemas de liberação.	26
Figura 8 Etapas de liberação dos fármacos em sistemas matriciais inertes ou hidrofóbicos:.....	29
Figura 9 Alterações observadas nos sistemas matriciais hidrofílicos que intumescem e sofrem erosão.....	30
Figura 10 Extração da Curcumina pelo método maceração dinâmica.	34
Figura 11 Extração da Curcumina com utilização do Soxhlet.	36
Figura 12 Representação da célula eletroquímica para síntese do polímero pHEMA.	37
Figura 13 Representação gráfica da curva de distribuição de massas molares, Mn, Mw e Mv.....	44
Figura 14 Foto e diagrama esquemático do viscosímetro Ubbelohde.....	46
Figura 15 Representação do sistema de liberação.	49
Figura 16 (a) Oleoresina contendo curcuminóides extraídos pelo método 1. (b) Oleoresina contendo curcuminóides extraídos pelo método 2.	50
Figura 17 Imagens obtidas pelo microscópio óptico da oleoresina extraída do método 1.	51
Figura 18 Imagem obtida pelo microscópio óptico da oleoresina extraída do método 2: (a) presença da oleoresina e excesso de curcuminóides, aumento de 10X. (b) Cristais – curcuminóides, aumento de 10X e 40X respectivamente.....	52
Figura 19 Imagem e ilustração representando a eletrossíntese do pHEMA.....	54
Figura 20 Fluxograma dos possíveis mecanismos de polimerização durante a eletrossíntese do pHEMA no catodo (Fonte: DECKER, VATAJ et al. 2004) [60]	55

Figura 21 Esquema das possíveis reações eletrolíticas da água.	56
Figura 22 Imagens fotográficas do pHEMA puro e do sistema pHEMA/CC preparado pelo procedimento A e B.	58
Figura 23 Espectros FTIR-ATR de: (1) Oleoresina – obtida pelo método 1; (2.a) Oleoresina – obtida pelo método 2 e, (2.b) oleoresina cristalizada - obtida pelo método 2.	59
Figura 24 Espectros FTIR-ATR de: (1) Oleoresina – obtida pelo método 1; (2.a) Oleoresina – obtida pelo método 2 e, (2.b) oleoresina cristalizada - obtida pelo método 2.	60
Figura 25 (A) Estrutura química dos pigmentos curcuminóides. (B)Tautomerismo ceto-enol da curcumina.	61
Figura 26 FTIR comparativo do monômero HEMA e o polímero pHEMA obtido por eletrossíntese.	63
Figura 27 Representação da Estrutura química do pHEMA.	64
Figura 28 FTIR comparativo das amostras pHEMA, CC e pHEMA/ CC.	64
Figura 29 Representação Termogravimétrica das amostras CC, pHEMA e pHEMA/CC.	67
Figura 30 Perfis de DRX para as amostras pHEMA, CC e pHEMA/CC.	69
Figura 31 Viscosidade reduzida em função da concentração para o pHEMA em DMF.	71
Figura 32 Micrografias do pHEMA e pHEMA/CC (P1 e PC1:500X, P2 e PC2:1000X e P3 e PC3:3000X).	73
Figura 33 Micrografia do sistema pHEMA/CC (2000X).	74
Figura 34 UV-vis da oleoresina (CC) em etanol.	75
Figura 35 Curva de calibração dos CC dissolvidos em solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4).	75
Figura 36 Liberação in vitro de CC comparativa no sistema “livre” e no sistema PHEMA/CC em PBS a pH 7,4.	77
Figura 37 $\ln (M_t/M_\infty)$ em função de $\ln t$ no sistema CC “livre” e no sistema pHEMA/CC.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Dados e procedimentos da polimerização.....	37
Tabela 2 Relação entre o coeficiente difusional n e mecanismo de liberação para os diferentes sistemas de liberação controlada.....	47
Tabela 4 Métodos e resultados de rendimento.....	52
Tabela 5 Resultados de rendimento de hidrogel pHEMA e incorporação de oleoresina cristalizada na matriz do hidrogel.....	57
Tabela 6 Assinalamento de modos vibracionais e n° de onda característicos dos curcuminóides para os espectros da Figura 24(1 e 2.a).....	61
Tabela 7 Grupamentos e n° de onda característicos da curcumina para o espectro c..	62
Tabela 8 Dados experimentais obtidos na determinação da massa molar utilizando o método viscosimétrico.....	70
Tabela 9 Valores das constantes K e α e massa molar viscosimétrica média para o pHEMA em DMF a 30°C, segundo referencia bibliográfica.	71
Tabela 10 Valores das constantes n e K para o sistema pHEMA/CC imerso em solução PBS.....	79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVO	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos.....	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1 Curcuminóides.....	19
3.2 Transportadores macromoleculares de Curcumina	22
3.3 Sistemas de Liberação	25
3.3.1 Mecanismo de Liberação Controlada em Sistemas Matriciais Poliméricos.....	27
4 METODOLOGIA.....	31
4.1 Materiais	31
4.2 Metodologia: descrição e fundamentos	32
4.2.1 Extração de Curcuminóides do Açafrão da Índia.....	32
4.2.1.1 Método 1 – Extração dos Curcuminóides através da maceração a temperatura ambiente	33
4.2.1.2 Método 2 – Extração da Curcumina com utilização do Soxhlet	34
4.2.2 Polimerização eletroquímica do poli(2-hidroxietilmetacrilato) pHEMA e preparo do sistema pHEMA/Curcuminóides.....	36
4.2.3 Caracterização físico-química do pHEMA puro, CC e do sistema pHEMA/curcuminóides.....	38
4.2.3.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	38
4.2.3.2 Caracterização por Termogravimetria (TG).....	39
4.2.3.3 Caracterização por Difração de Raios-X.....	40
4.2.3.4 Caracterização da Morfologia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Ótica (MO)	40
4.2.3.5 Determinação do peso molecular viscosimétrico médio (M_v) do pHEMA.....	41
4.2.4.1 Curva padrão de calibração para estudo da liberação “in vitro” dos curcuminóides ...	48
4.2.4.2 Estudo da Liberação dos Curcuminóides incorporados no pHEMA.....	48
5 ANÁLISE DE RESULTADOS.....	50

5.1	Rendimento das Extrações Sólido-Líquido	50
5.2	Polimerização Eletroiniciada do pHEMA	53
5.3	Caracterização Físico-química	59
5.3.1	Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	59
5.3.2	Análises Térmicas - Caracterização por Termogravimetria (TGA)	65
5.3.3	Caracterização por Difração de Raios-X	69
5.3.4	Determinação de massa molar viscosimétrica média do pHEMA	70
5.3.5	Caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	72
5.4	Estudo de Liberação “in vitro”	74
6	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO

No Brasil o câncer vem ganhando grande relevância devido ao perfil epidemiológico que vem demonstrando; a doença que causa drásticas consequências como a mortalidade, além de um tratamento complexo e doloroso, o câncer é a segunda causa de óbitos no país, com tendência de crescimento nos próximos anos, causando preocupação na sociedade. O termo câncer tem sua origem do grego *karkínos*, que significa caranguejo e foi empregado pela primeira vez por Hipócrates (pai da medicina). Esta doença é conhecida há mais de 3 mil anos antes de Cristo. Atualmente sua definição baseia-se em termos mais científicos como a neoplasia (*neo*, novo e *plasia*, crescimento, multiplicação celular) e tumor maligno (inflamação), assim ambos nomeiam mais de 100 tipos diferentes de doenças que têm em comum a proliferação descontrolada de células anormais. Sua origem se dá por uma série de fatores causais que podem agir de forma associada ou consecutiva com grande potencial invasivo para promover a doença (carcinogênese) em tecidos e órgãos vizinhos. Cada tipo de câncer tem um processo característico de crescimento, bem como seu diagnóstico e tratamento [1,2].

O INCA- Instituto Nacional de Câncer, para o ano de 2014/2015, fez uma estimativa de 576 mil novos casos de câncer, dentre destes, o câncer de pele do tipo não-melanoma se apresenta com 182 mil novos casos, sendo o de maior incidência na população brasileira. Conforme os dados demonstrados pelo INCA (Figura 1) para o sexo feminino, os tipos de maior incidência serão os casos de mama, cólon e reto, colo do útero, pulmão e glândula tireoide; para o sexo masculino de próstata, pulmão, cólon e reto, estômago e cavidade oral. Deixando claro ainda que no Brasil a doença é um problema de saúde pública, em que é necessário priorizar o controle e prevenção em todas as regiões, independente do índice de desenvolvimento [2].

Outra estimativa declarada pelo INCA para 2030 prevê a quantia de 13,2 milhões de óbitos por câncer, em virtude do aumento e do envelhecimento da população, da diminuição da mortalidade infantil e de óbitos por doenças infecciosas em países em desenvolvimento [2]. Desde 2012, o Ministério da Saúde (MS) investe em média R\$130 milhões/ano para disponibilizar um dos primeiros medicamentos de alto custo incorporados no Sistema Único de Saúde-SUS, para o tratamento medicamentoso de câncer de mama, em 2011, o ministério gastou R\$ 4,9 milhões para atender a 61

pedidos judiciais de pacientes diagnosticados com a doença [3].

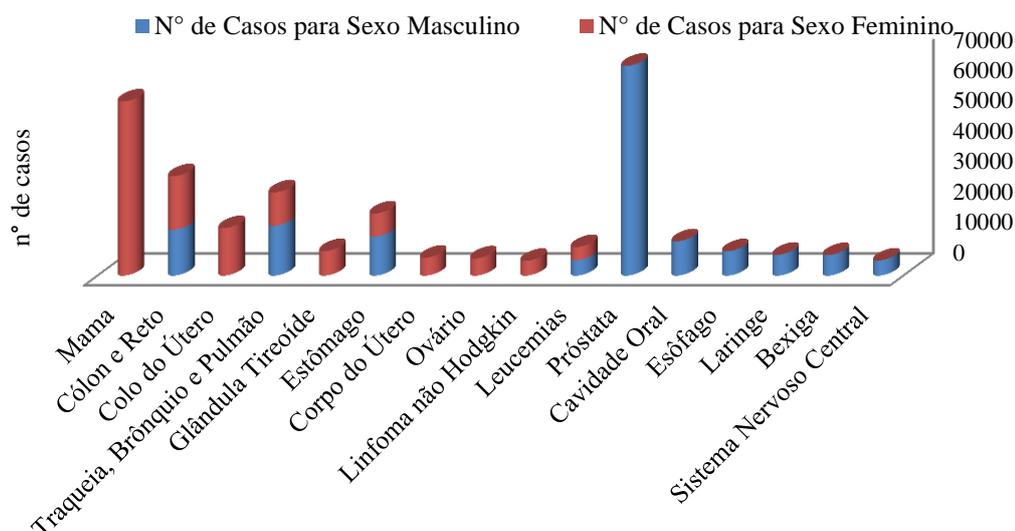


Figura 1 Casos de câncer / número de incidentes por sexo estimados para 2014/2015 no Brasil.

Fonte: INCA(2014) [2].

Apesar dos tratamentos existentes como: cirurgia, radioterapia, quimioterapia e a terapia biológica; conforme demonstrado pelos dados crescentes apresentados pelo INCA, ainda tem sido um grande desafio tratar a doença, devido a ambos os tratamentos afetarem tanto as células malignas quanto as células sadias o que resulta na maior parte das ocorrências de inúmeros efeitos colaterais que na maioria dos casos diminuem a qualidade de vida dos pacientes, levando até mesmo a morte [4].

Desde a antiguidade são utilizados produtos naturais para o tratamento de várias doenças, atualmente existe um interesse crescente em estudos científicos de plantas naturais para uso na prevenção e tratamento do câncer. Grande número de plantas tem sido estudado para o tratamento desta doença e entre elas, a curcumina, é a que tem demonstrado amplo potencial com propriedades medicinais capaz de eliminar a proliferação de uma grande variedade de células de tumor. As principais substâncias presentes na *curcuma longa* são os pigmentos curcuminóides constituídos por três pigmentos: a curcumina (77%), desmetoxicurcumina (17%) e bidesmetoxicurcumina (3%). Dentre eles, se destaca a curcumina, pela sua atividade anticancerígena; entre outras propriedades que exhibe como: antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiana [5,6]. A curcumina é um composto bioativo lipofílico, insolúvel na água, e estável no pH ácido do estômago. Entretanto, à baixa solubilidade e depuração plasmática rápida da curcumina torna a sua utilidade terapêutica um pouco limitada, levando os pesquisadores [7–9] a investigarem os benefícios da curcumina complexada com outras

substâncias para aumentar a biodisponibilidade sistêmica [10,11]. Diante deste contexto o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um sistema polimérico poli(2-hidroxietilmetacrilato)/curcuminóides (pHEMA/CC) de liberação controlada contendo curcuminóides a fim de tratar o câncer, o que proporcionará efeitos colaterais menores e níveis terapêuticos adequados para o tratamento do câncer.

Sistemas poliméricos de liberação de drogas são largamente utilizados, afim de permitir uma liberação lenta e gradual do princípio ativo, além de possibilitar o direcionamento a alvos específicos do organismo a ser tratado, como um sítio de inflamação e tumor. Sejam sintéticos ou naturais, estes polímeros podem ser hidrolisados, resultando em compostos biocompatíveis. Dessa forma os curcuminóides serão incorporados ao polímero pHEMA sintetizado neste projeto. O pHEMA é um grande candidato para sistemas de liberação controlada de fármaco. Diante disto, o sistema polimérico pHEMA contendo o princípio ativo tem por finalidade tratar as células tumorais, reduzindo ou até mesmo eliminando os efeitos indesejáveis da quimioterapia ou de outros tratamentos existentes. O hidrogel poli(2-hidroxietilmetacrilato) (pHEMA) é um dos polímeros sintéticos aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para uso como biomaterial na indústria biomédica e farmacêutica por ser um polímero atóxico, hidrofílico e biocompatível. Os hidrogéis de pHEMA têm se mostrado bastante versáteis dentro das diferentes áreas da medicina, sendo utilizados na confecção de lentes de contato, nas cirurgias de córnea, como prótese mamária, e vêm sendo estudados para diferentes aplicações tais como: dispositivos intrauterinos, cirurgias plásticas e buco maxilo facial, cirurgias periodontais, sistemas para liberação controlada de drogas, revestimento de material hemocompatível e outros [12,13].

Na pesquisa bibliográfica realizada durante o desenvolvimento deste trabalho encontrou-se até o presente momento, apenas dois estudos envolvendo o polímero pHEMA e curcumina que mostraram, por meio de diferentes técnicas, que a formação do sistema no estudo foi capaz de inibir eficazmente a proliferação de células cancerosas além de obter um mecanismo de liberação sustentada da curcumina [7,9]. Entretanto, não foi encontrado na literatura pesquisada a eletrossíntese do pHEMA seguindo rota desenvolvida durante nosso trabalho.

Portanto, o presente trabalho de Dissertação de Mestrado teve como objetivo o desenvolvimento de uma técnica simples de eletrossíntese, livre do uso de iniciadores, para a obtenção do hidrogel pHEMA, assim como a extração e incorporação de CC na

matriz do pHEMA. A caracterização físico-química de todos os compostos (pHEMA puro, extrato de CC, sistema polimérico pHEMA/CC) e, o estudo de liberação controlada *in vitro* da CC em solução simuladora de fluido biológico.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral a eletrossíntese e caracterização do pHEMA, preparação e caracterização do sistema polimérico contendo o princípio ativo, Curcuminóides, assim como o estudo de liberação controlada *in vitro* dos Curcuminóides visando o tratamento do câncer com níveis terapêuticos adequados.

2.2 Específicos

- Realizar a extração do princípio ativo, Curcuminóides, da planta medicinal *Curcuma longa* (nome popular Açafrão da Índia).
- Sintetizar via polimerização eletroiniciada o poli(2-hidróxietilmetacrilato) (pHEMA).
- Incorporar os curcuminóides ao polímero sintetizado formando o sistema de liberação controlada.
- Caracterizar o pHEMA, os curcuminóides e o sistema pHEMA/CC, por análise espectroscópica de ultravioleta visível (UV-vis), Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR); análise termogravimétrica - TGA.
- Confirmar a presença de cristais dos Curcuminóides na oleoresina por microscopia ótica (MO). Estudar a morfologia do pHEMA e do sistema pHEMA/Curcuminóides, pela e microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Estudar a cinética de liberação controlada *in vitro* do sistema pHEMA/Curcuminóides em solução simuladora do fluido biológico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Curcuminóides

O rizoma (Figura 2) conhecido como *Cúrcuma longa L.* (família das Zingiberaceae), de nome popular Açafrão da Índia, tem sido amplamente utilizada durante anos na medicina indígena para o tratamento de doenças, além de um agente de especiarias e corantes em alimentos indianos. O rizoma é composto por um grupo de três pigmentos curcuminóides, óleos voláteis, açúcares, proteínas, e resinas. As suas propriedades medicinais têm sido atribuídas principalmente para os pigmentos curcuminóides, dentre eles o componente curcumina [6,10,14]. Além da curcumina outros componentes que apresentam atividades biológicas do grupo dos curcuminóides são: a desmetoxicurcumina (17%) e a bis-desmetoxicurcumina(3%) [5,6,15,16].



Figura 2 Açafrão: rizoma(a esquerda) e pó(a direita).
FONTE: ZEBIB, B.; et al (2010) [17]

A curcumina possui coloração de amarelo claro a amarelo alaranjado em soluções oleosas e apresenta coloração amarela a castanho nas formas solúveis. É insolúvel em água e éter, mas é solúvel em etanol, dimetilsulfóxido(DMSO) e outros solventes orgânicos. É descrito em diversos estudos que a presença da desmetoxicurcumina e da bisdesmetoxicurcumina, juntamente com a curcumina, fornece na aplicação do corante um efeito sinérgico as propriedades da curcumina. Tem aprovação pela WHO - *World Health Organization* e FAO - *Food and Agriculture Organization* como aditivo alimentar a partir do século XIX [6,18,19].

Vogel e Pelletier em 1815 foram os primeiros pesquisadores a isolar a curcumina. Daube e colaboradores, obtiveram a sua forma cristalina em 1870. Tempos depois, Lampe e colaboradores estudaram e descreveram a estrutura química (Figura 3) como sendo as possíveis formas estruturais da curcumina. Ambas as estruturas apresentam um efeito tautomérico, resultado da instabilidade do grupo enol, interconvertendo-se em um grupo ceto [20].

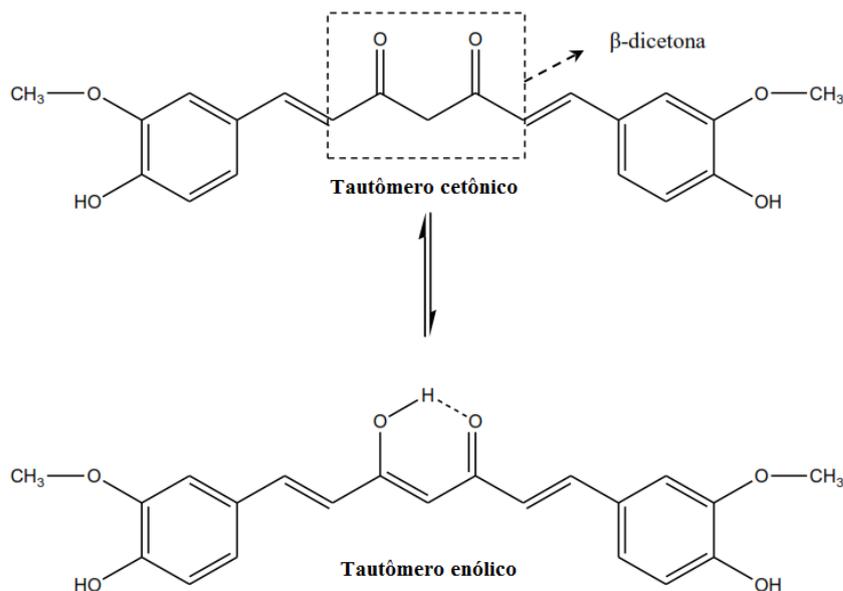


Figura 3 Isômeros da Curcumina: Forma cetônica e enólica.

Os pigmentos curcuminóides (Figura 4) possuem em sua estrutura química duas hidroxilas fenólicas, sendo um composto β-dicarbonílico, e um grupo β-dicetona, diferenciando entre si pela presença da metoxila, em que na curcumina contém duas metoxilas, na desmetoxicurcumina apenas uma metoxila e na bisdesmetoxicurcumina a metoxila é inexistente. Os grupos fenólicos e a β-dicetona são estruturas características de compostos antioxidantes, sendo fundamentais para a ação antioxidante da curcumina [21]. Os grupos fenólico, β-dicetona, e metoxilas de curcumina são os causadores da eliminação de radicais livres. Esta propriedade confere a natureza anti-câncer para este composto [22,23]. O potencial anti-inflamatório e anti-tumoral dos curcuminóides estão relacionados com baixo nível de hidrogenação, elevado nível de metoxilação, como também elevado nível de insaturação da porção de dicetona [19].

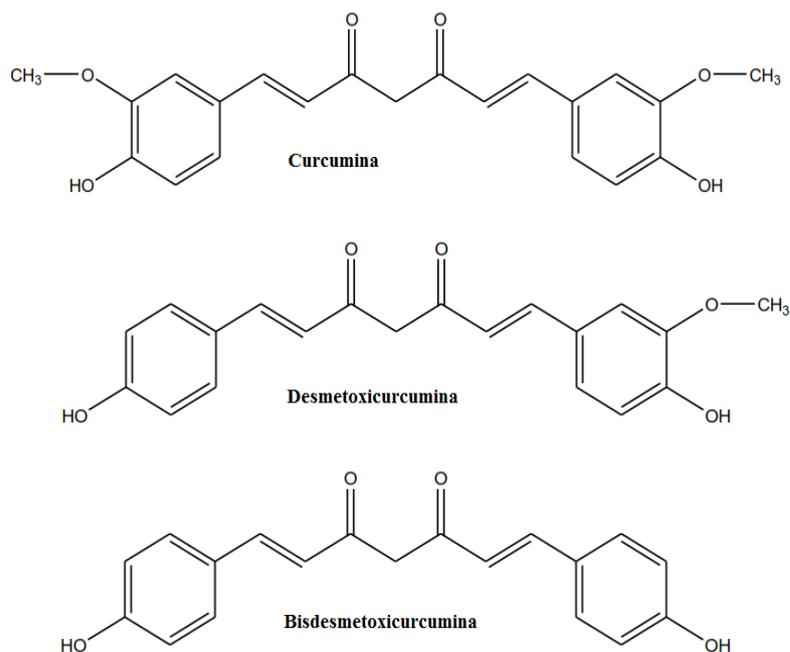


Figura 4 Estrutura química dos curcuminóides

A curcumina é um produto químico natural capaz de reverter, inibir ou prevenir o desenvolvimento de células cancerígenas através da inibição de vias específicas de sinalização moleculares envolvidos na formação do câncer. A literatura demonstra através de estudos clínicos a segurança da curcumina mesmo em doses altas (12g/dia), o prosseguimento clínico deste composto natural promissor é dificultado pela sua fraca solubilidade em água e semi-vida biológica curta, resultando em baixo biodisponibilidade no plasma e tecidos [19].

Estudos em animais demonstraram que a curcumina é rapidamente metabolizada, conjugada no fígado e excretada nas fezes, por conseguinte apresenta limitada biodisponibilidade sistêmica. São inconclusivos os dados sobre a farmacocinética, metabolitos e biodisponibilidade sistêmica realizados em pacientes com câncer. Mostrando que os níveis séricos atingiram o pico entre uma e duas horas após a dose, e diminuiriam rapidamente. Outro teste realizado com a curcumina mostrou que não foi detectada no plasma de pacientes que tomam doses mais baixas [10].

Além das atividades farmacológicas decorrentes das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, foram identificados efeitos da curcumina em diversos alvos moleculares. Pesquisas realizadas durante anos indicam que a curcumina pode prevenir e tratar o câncer. A potencialidade anti células cancerígenas deriva da sua capacidade para suprimir a proliferação de uma grande variedade de células de tumor, indução de apoptose e modulação da expressão gênica. Seus principais alvos moleculares incluem o

fator nuclear κ B (NF- κ B), a c-Jun N-terminal quinase (jnk), a ciclooxigenase-2 (COX-2), a proteína quinase C, a glutiona-S-transferase e o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Evidências científicas apresentas na literatura também sugerem que a curcumina pode suprimir iniciação do tumor, promoção e metástase [6,24].

3.2 Transportadores macromoleculares de Curcumina

A utilização de transportadores macromoleculares hidrossolúveis tem sido estudada por vários pesquisadores. Conforme verificado(Figura 5) pela Referência de Banco de Dados da PUBMED nos últimos 5 anos houve um crescente número de estudos envolvendo transportadores macromoleculares (polímeros) com curcumina [25].

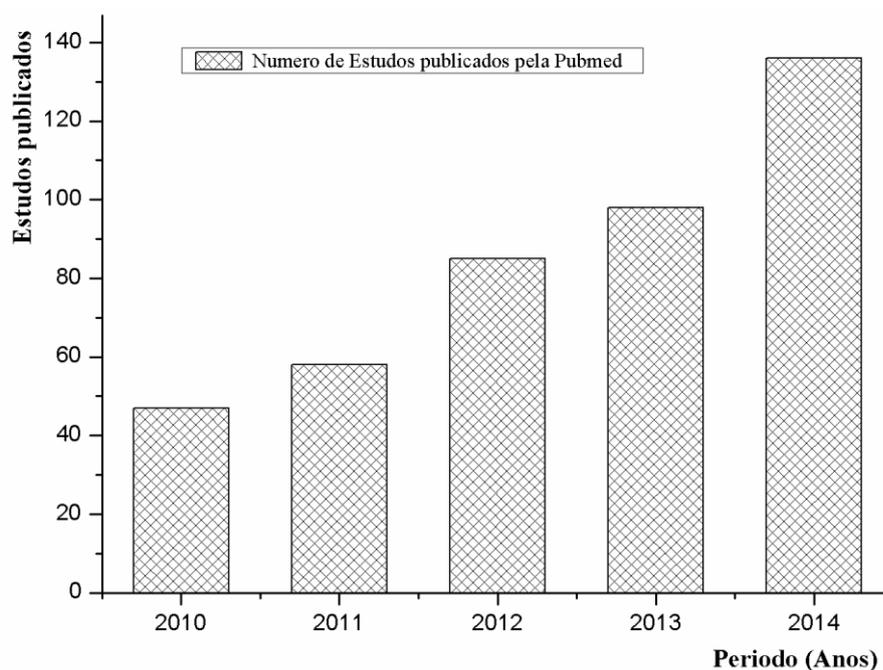


Figura 5 Estudos publicados no período de 2010 a 2014.
Fonte: PUBMED(2015) [25]

A busca científica por novos meios de transporte de princípios ativos permitiu o desenvolvimento de vários tipos de sistemas de transporte dos quais se destacam os transportadores poliméricos. Os diferentes sistemas têm evidenciado ser eficientes agentes terapêuticos para uma grande variedade de princípios ativos, correspondendo assim a várias necessidades como: o direcionamento específico ao local alvo, o mecanismos de defesa, a redução da sua toxicidade sistêmica, a prevenção da sua eliminação rápida do organismo, a estabilização e a otimização do seu metabolismo [26].

Em uma revisão de trabalhos científicos publicados envolvendo a curcumina

(**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), apresentaram as várias abordagens mostradas na literatura para melhorar a biodisponibilidade da curcumina, aumentar a concentração da curcumina no plasma, e os processos para aumentar a permeabilidade celular de curcumina. A revisão descreve diferentes tipos de nanopartículas que têm se mostrado adequados para a encapsulação e transporte da curcumina, melhorando os seus efeitos terapêuticos em diferentes doenças. As nanopartículas, tais como nanopartículas poliméricas (dendrimeros) e nanogéis emergiram como uma das alternativas úteis que têm se mostrado efetivas no encapsulamento e transporte, fornecendo concentrações terapêuticas da curcumina. Os resultados mostrados indicam que os efeitos terapêuticos da curcumina podem aumentar em certa medida através do uso da nanotecnologia [27].

Type of nanoparticles	Form	Size (nm)	Used models	Methods	Results	Reference	
	Dendrimer	Globular polymer	15-150	(i) Breast cancer (ii) Colon cancer	In vitro In vivo (mice)	(i) Improved stability (ii) Increased antitumor and antiproliferative effects	[57, 58] [59-63]
	Nanogel	Cross-linked polymer network	10-200	(i) Melanoma (ii) Breast and pancreatic cancer cells	In vitro	(i) Increased stability (ii) Enhanced fluorescence effects (iii) Developed bioavailability (iv) Improved anticancer effects (v) Get better controlled release (vi) Prolonged half-life (vii) Enhanced treatment of melanoma	[64] [65]

Figura 6 Tabela com as nanopartículas conjugadas com curcumina para o tratamento de diferentes doença.
Fonte: Adaptada de GHALANDARLAKI, N.; et al (2014) [27].

A descrição realizada [11] de um estudo pioneiro [16], foram sintetizados sistemas transportadores nanoparticulados baseados em copolímeros aleatórios de N-isopropilacrilamida (NIPAAm), com N-vinil-2-pirrolidona (VP) e polietilenoglicol-monoacrilato (PEG-A) reticulados, incorporando a curcumina. Os dados obtidos na caracterização físico-química destas nanopartículas poliméricas demonstram a eficácia terapêutica *in vitro* comparável com a curcumina livre contra um painel de linhas celulares de cancro pancreático humano, tal como avaliado pela viabilidade celular. E em um segundo estudo descrito [11] sintetizou um novo polímero anfifílico denominado como MPEG-PA, baseado no segmento hidrofílico de metoxipolietilenoglicol (mPEG) e como segmento hidrofóbico o ácido palmítico (PA). O conjugado da nanopartícula de MPEG-PA contendo a curcumina foi preparado em um único procedimento e, mostrou pequena toxicidade em linhas de células cancerígenas humanas da cervical (HeLa). O objetivo do estudo foi desenvolver um transportador polimérico que permitisse que um fármaco hidrofóbico, como a curcumina, fosse facilmente solúvel num sistema aquoso, porém o estudo falhou pois não foi capaz de demonstrar qual é a dose eficaz de

curcumina no sistema nanotransportador de MPEG-PA.

Dois estudos foram realizados envolvendo pHEMA e curcumina [9,28], o primeiro estudo teve como objetivo encapsular a curcumina hidrofóbica no núcleo polimérico hidrofílico do poli(2-hidroxietilmetacrilato) (pHEMA), o conjugado foi preparado pelo método de nano-precipitação. Os resultados reportados mostraram que as nanopartículas tinham forma esférica apresentando-se livre de agregação. Os ensaios de caracterização confirmaram que a curcumina, encapsulada na nanopartículas de pHEMA, apresentava natureza amorfa. Os autores analisaram a atividade anticancerígena do conjugado utilizando células de cancro do ovário (SKOV-3) *in vitro*, e os resultados mostraram que o conjugado teve melhor atividade de regressão das células tumorais se comparado à curcumina livre. Além de se mostrar biocompatível, o conjugado mostrou um nível terapêutico eficiente no tratamento do câncer [9]. O segundo estudo teve como objetivo preparar, caracterizar e avaliar a eficácia *in vitro* de curcumina (C) transportada em nanopartícula preparada a partir do pHEMA (polimerizado na presença de um líquido iônico derivado de colina) e ácido esteárico (AS). Portanto, a incorporação da curcumina é realizada “*in situ*” durante a preparação da nanopartícula, a partir da emulsão dos componentes pHEMA, AS e C e, posterior evaporação do solvente. O conjugado chamado de nanopartícula de C-PAS exibiu o tamanho médio em torno de 184 nm sem agregação, revelando a caracterização físico química a presença de curcumina. O ensaio de citotoxicidade *in vitro* indicaram propriedades anticancerígenas em células MCF-7 [28].

Em 2015 desenvolveu um dispositivo para o tratamento de feridas, utilizando o conjugado pHEMA e curcumina preparado através do método da eletrofiação e caracterizados a fim de avaliar a ação antibacteriana da curcumina. Os resultados reportados no estudo de liberação mostraram ser eficazes contra as doenças infecciosas causadas por organismos resistentes a múltiplos fármacos. A atividade antibacteriana da curcumina contra a meticilina *Staphylococcus aureus* resistente (MRSA) e contra o espectro estendido da β -lactamase (ESBL) provou ser um composto fitoterápico antibacteriano bom para substituir antibióticos. Assim, os resultados indicaram que o sistema polimérico pHEMA contendo curcumina têm potencial aplicação como adesivo na cicatrização de feridas de doença infecciosa causada por organismos resistentes a múltiplas drogas e excelente transportador para a liberação de drogas.

3.3 Sistemas de Liberação

Os sistemas de liberação de princípios ativos são formas farmacêuticas sólidas, onde o princípio ativo é misturado com outras substâncias (excipientes ou veículos) para se transformar em medicamento. Nos sistemas de liberação controlada (SLC) a liberação modula-se de acordo ao sistema utilizado, de forma tal que se alcance o nível plasmático e terapêutico no tempo desejado. A maioria dos sistemas de liberação controlada são baseados em matrizes poliméricas. Nas duas últimas décadas as matrizes hidrofílicas tornaram-se muito apreciadas na formulação de formas farmacêuticas de liberação controlada. Os SLCs são classificados de acordo a seu mecanismo de liberação. O sistema matricial polimérico é preparado pela mistura de um polímero hidrofílico ou hidrofóbico e de um fármaco insolúvel. A utilização do polímero hidrofílico como matriz na formulação destes SLC fornece a combinação apropriada para que aconteçam os processos a partir do qual opera o mecanismo, sendo estes: intumescimento, difusão ou erosão, portanto é a matriz quem determina a cinética de liberação controlada [29].

A liberação controlada de princípios ativos permite diminuir o número de doses diárias obtendo um tratamento contínuo e, conseqüentemente, o desaparecimento de picos plasmáticos e a manutenção da concentração eficaz. Resultando em menor acúmulo de droga no organismo e proteção do princípio ativo à degradação por fluidos biológicos. Portanto, as principais características apresentadas pelo SLC matricial polimérico são: operar através do efeito sinérgico de vários processos (intumescimento, dissolução do princípio ativo, difusão ou erosão), atingir rapidamente a concentração terapêutica, manutenção dentro desta concentração [30].

A literatura reporta diferentes estudos sobre sistemas para transportar o fármaco a um local determinado do organismo, onde o princípio ativo deve ser liberado e absorvido. A Figura 7 resume comparativamente os sistemas convencionais com os sistemas de liberação controlada mais discutidas na literatura elas são: liberação retardada, repetida, prolongada, sustentada [30,31].

No sistema de liberação convencional (curvas 1 e 1.a) o fármaco é imediatamente liberado e portanto absorvido com rapidez e por completo, caracterizando-se o sistema pela formação de um pico plasmático. Algumas drogas necessitam apenas de uma dose (curva 1) por dia para manter níveis terapêuticos adequados no sangue. Porém, fármacos que não sejam de longa duração necessitam de doses diárias múltiplas (curva 1.a) para

alcançar os resultados terapêuticos desejados. Os sistemas de liberação sustentada (curva 2) permitem a liberação imediata e mantem constante a concentração plasmática do princípio ativo por um período, produzindo prontamente o efeito terapêutico desejado ao longo de um tempo predeterminado. A liberação pode ser sustentada pelos processos de difusão ou erosão. Os níveis de fármaco no plasma fornecidos pelo SLC sustentada, muitas vezes elimina a necessidade de várias dosagens, o que beneficia não só o paciente, mas também ao acompanhante [31].

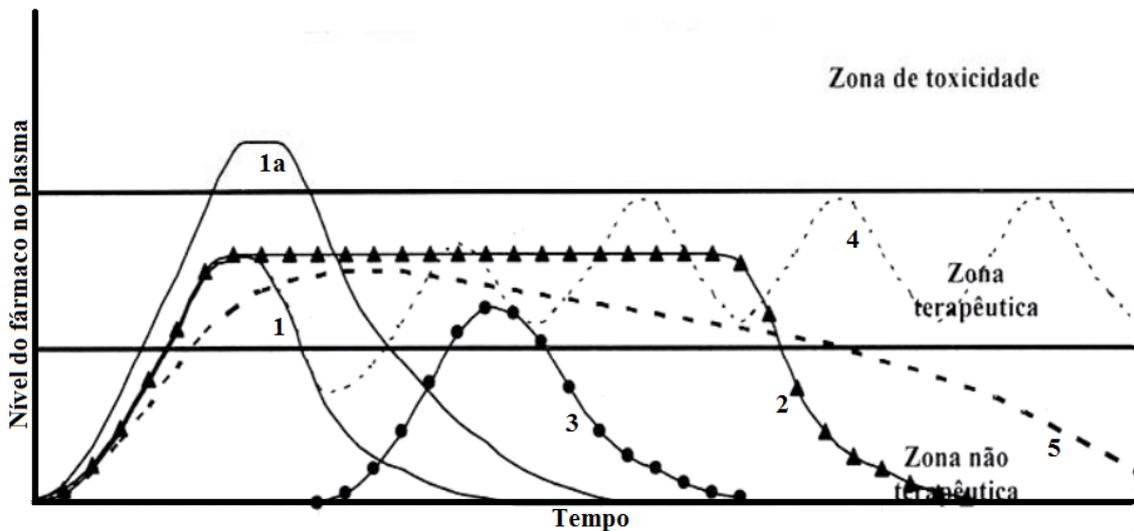


Figura 7 Perfis plasmáticos em diferentes sistemas de liberação.
Fonte: VEIGA (1988)

- 1- Liberação convencional dose única
- 1.a- Liberação convencional dose dupla
- 2- Liberação sustentada
- 3- Liberação retardada
- 4- Liberação repetida
- 5- Liberação prolongada

Em sistemas de liberação retardada (curva 3) a liberação do fármaco não se inicia imediatamente após a administração, o SLC libera a droga a uma hora diferente da administração. O atraso pode ser baseado no tempo ou baseado na influência de condições ambientais, como pH gastrointestinal, etc.. Para o sistema de liberação repetida (curva 4) ocorre a liberação de uma dose individual logo após a sua administração, entretanto este SLC é desenhado para fármacos que necessitem ser administrados mais de uma vez ao dia, causando picos (vales) sequenciais no nível terapêutico. Estes picos(vales) estão associadas com a liberação de cada dose através de um sistema específico de controle [31]. No sistema de liberação prolongada (curva 5), o princípio ativo é disponibilizado através de uma primeira liberação imediata, afim de produzir o efeito terapêutico desejado sem causar danos ao organismo e, posterior manutenção com liberação gradual, a fim de prolongar a extensão da resposta terapêutica [31].

3.3.1 Mecanismo de Liberação Controlada em Sistemas Matriciais Poliméricos.

Os SLCs de princípios ativos em formulações farmacêuticas baseadas em matrizes poliméricas têm crescido nas últimas décadas. A indústria farmacêutica tem buscado novos sistemas de liberação controlada visando oferecer maior conveniência ao paciente, sendo assim um grande número de SLC de fármacos bem sucedidos têm sido desenvolvidos. No entanto, o desenvolvimento de SLC de fármacos se baseia em uma avaliação minuciosa e criteriosa do sistema matricial. A modelação matemática de SLC tem facilitado o estudo destes sistemas de maneira a prever a difusão e as taxas de liberação de fármaco a partir de modelos matemáticos apropriados, reduzindo assim o número de experiências necessárias [32].

Um sistema matricial polimérico é caracterizado como um sistema que controla a liberação do fármaco, molecularmente disperso ou dissolvido numa matriz polimérica resistente à desintegração [29].

Para classificar um sistema matricial devem ser considerados diferentes fatores tais como: natureza química e estrutura da matriz, cinética de liberação (idealmente de ordem zero), o mecanismo através do qual a liberação é controlada, é dizer, os processos através dos quais o princípio ativo é liberado: intumescimento, difusão e erosão.

O SLC opera através das estruturas matriciais poliméricas, quando estas entram em contato com o meio de dissolução (ou fluido biológico) podem manter sua estrutura

aproximadamente estável ao longo de todo o processo de intumescimento, dissolução e difusão ou podem sofrer um fenômeno de intumescimento e, seguida de erosão [29].

Portanto, o mecanismo e a velocidade de liberação do fármaco em matrizes poliméricas pode ser descrita por um ou mais dos processos cinéticos citados abaixo [32]:

- a) Intumescimento
- b) Difusão
- c) Erosão

O mecanismo de liberação de fármacos através de matrizes poliméricas acontece por diferentes mecanismos através dos processos cinéticos, acima citados, em decorrência das propriedades da matriz polimérica. A Figura 8 e Figura 9 representam os mecanismos de liberação para matrizes poliméricas hidrofóbicas e hidrofílicas, respectivamente.

A Figura 8 representa o mecanismo de liberação regido pelo processo de difusão quando a matriz polimérica é hidrofóbica ou inerte. Nestes sistemas o mecanismo de liberação acontece essencialmente pelo processo de difusão através dos poros. Porém, o mecanismo de liberação pode acontecer por um processo de erosão, prevalecendo um processo ou outro de acordo com as propriedades da matriz e princípio ativo.

No mecanismo representado na Figura 8 o polímero, que constitui a matriz inerte é insolúvel, apresenta estrutura porosa. O fármaco está disperso no interior da matriz polimérica e a interfase sólido/líquido de dissolução é dizer a superfície da matriz não é modificada ao longo de todo o processo de liberação. Estes SLC não sofrem alteração no trato gastrointestinal, sendo eliminados do organismo praticamente intatos. O mecanismo de liberação nestes sistemas, de acordo com a Figura 8, acontece em 3 etapas: (a) o líquido de dissolução penetra pelos poros da matriz, (a.1) o fármaco é dissolvido e, finalmente, (b) acontece a difusão lenta do fármaco dissolvido através dos canais da estrutura porosa da matriz. A etapa mais lenta e, portanto a etapa limitante da cinética de liberação, é a penetração do líquido de dissolução na matriz [1, 4, 5].

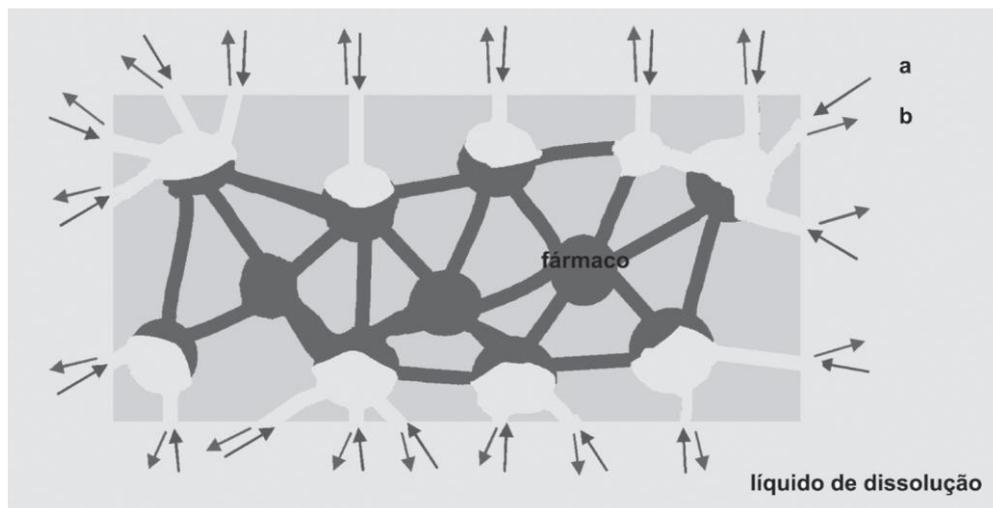


Figura 8 Etapas de liberação dos fármacos em sistemas matriciais inertes ou hidrofóbicos: (a) penetração do líquido de dissolução nos poros da matriz; (b) difusão lenta através dos canais do fármaco dissolvido até o exterior.

A Figura 9 representa o mecanismo de liberação regido pelo processo de intumescimento e erosão em uma matriz polimérica hidrofílica. As matrizes poliméricas hidrofílicas se caracterizam por liberar de maneira controlada o fármaco devido a sua capacidade de intumescer e relaxar.

Esta capacidade pode ser descrita através da transição dos polímeros do estado vítreo ao estado borrachoso (T_g), neste caso específico a transição pode ser descrita como uma transição do sistema de um estado vítreo “não intumescido” para um estado borrachoso “maleável”, como consequência do processo de intumescimento da matriz. Isto porque a água é um plastificante e, conseqüentemente, devido ao intumescimento da matriz T_g do polímero baixa. Esta transição permite que as cadeias anteriormente no estado vítreo (estado de configuração altamente emaranhado) passe ao um estado maleável, o que está associado com o processo de intumescimento/relaxamento.

A Figura 9 representa as diferentes etapas que envolve o mecanismo de liberação em matrizes poliméricas hidrofílicas. Podemos ressaltar que neste mecanismo a liberação controlada está acontecendo em cada etapa (a partir da etapa 2), através dos processos que operam sinergicamente: intumescimento/difusão e intumescimento/erosão.

Primeiramente, (1) temos o SLC no estado seco. Na segunda etapa, (2) a matriz hidrofílica entra em contato com a dissolução ou fluido biológico (gastrointestinal), iniciando-se o processo de absorção de água, principalmente pelos poros do sistema matricial. Então, após a hidratação o fármaco que está presente na superfície do polímero é imediatamente liberado. Nesta etapa, na superfície do polímero que já está se intumescendo acontece a transição vítrea/maleável que chamamos de transição intumescimento / relaxamento.

Formando-se portanto, uma camada gelatinosa de polímero (estado maleável ou relaxado) em torno do núcleo seco do SLC [29,32,33].

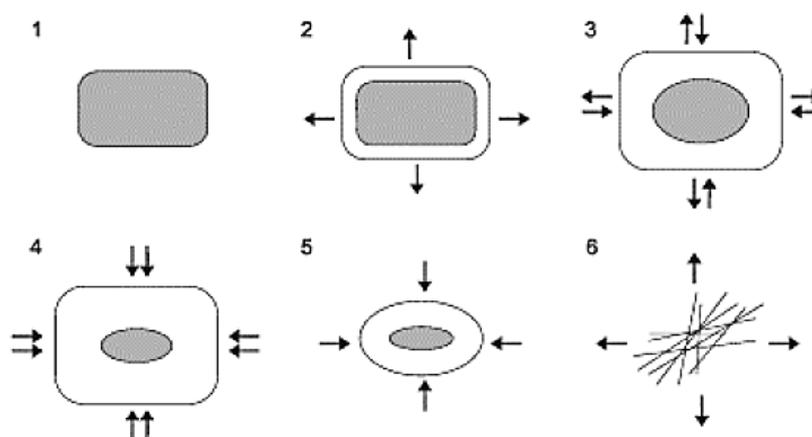


Figura 9 Alterações observadas nos sistemas matriciais hidrofílicos que intumescem e sofrem erosão.

1- matriz seca; 2- início do intumescimento da matriz; 3 e 4 –ocorre crescente hidratação e intumescimento da matriz com diminuição do núcleo seco e começo da erosão das cadeias poliméricas; 5- aumento da erosão das cadeias; 6- separação das cadeias poliméricas liberando rapidamente o restante do fármaco.

As setas duplas apresentadas nas etapas 3 e 4 (Figura 9) representam a água que continua a penetrar na matriz (\rightarrow), mas agora não apenas pelos poros e sim sobretudo através da camada gelificada (cadeias poliméricas relaxadas), que, lentamente, se formam. Simultaneamente nesta etapa acontece a difusão do fármaco para o alvo (\leftarrow). Nesta etapa o núcleo seco começa o processo de hidratação e, a camada exterior gelificada começa a sofrer erosão. Estes dois fenômenos ocorrem simultaneamente e o sistema matricial mantém uma estabilidade dimensional mais ou menos constante (3 e 4). Esta etapa é a que mantém o fármaco sendo liberado de maneira controlada (liberação sustentada) no tempo.

Na etapa 5, temos que na superfície da matriz polimérica altamente intumescida a força das interações polímero-água começam a aumentar frente a força da interação polímero-polímero. Portanto, quando a concentração de água excede certo valor crítico as cadeias poliméricas começam a se separar, alargando os espaços onde a difusão do fármaco ocorre. É dizer a taxa do processo de erosão aumenta, conseqüentemente a taxa de hidratação do núcleo diminui. Na etapa 6, as cadeias poliméricas do núcleo já intumescida se estendem e dispersam-se na camada mais externa, resultando em maior aumento da taxa de erosão. Conseqüentemente, uma maior erosão aumenta ainda mais a distância entre as cadeias, ao não permanecer interligadas as cadeias o SLC subseqüentemente é totalmente desintegrado, e o fármaco restante é liberado [29,32,33].

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

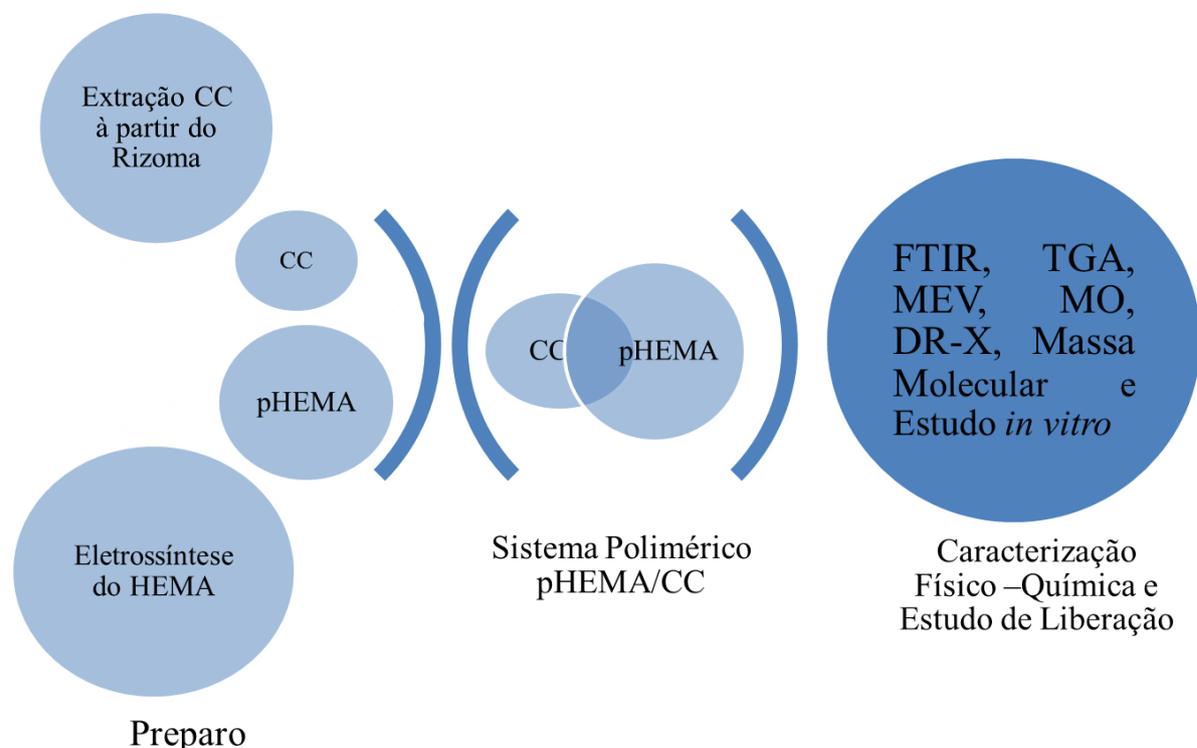
Durante o desenvolvimento experimental foram usados os reagentes descritos a seguir, destacamos o grau de pureza e procedência. Todos os reagentes foram utilizados sem previa purificação.

- Pó de rizomas do Açafrão da Índia (*Curcuma Longa L.*) (Comercial kodilar)
- Acetona P.A (Isofar)
- Álcool Etílico 95% (Vetec)
- 2-Hidroxietilmetacrilato 98% - HEMA (Peso Molecular: 130,14g/mol; Sigma-Aldrich)
- Cloreto de Potássio P.A (Impex)
- Tween 80 (Monooleato de Sorbitan Etoxilado 20 EO, Merck)
- Solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4 (NaCl, KCl, Na₂HPO₄ e KH₂PO₄)
- Dimetilformamida (DMF) (Vetec)

A seguir descrevemos os equipamentos utilizados, especificando marca e modelo.

- Manta aquecedora (Mod. 3320 – Nalgon)
- Agitador Magnético com aquecimento (NI 1108–Nova Instrumentos)
- Balança Analítica (Mod. AY 220 – Marte)
- Evaporador Rotativo (SL 120 – Solab)
- Liofilizador LJJ04
- Potenciostato/Galvanostato modelo PGSTAT128N da marca AUTOLAB (AUT85118), acoplado a um computador com software NOVA 1.10
- TGA – Analisador Termogravimétrico (Mettler TG50)
- FTIR ATR - Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (Spectrum 100 com acessório ATR - PerkinElmer)
- UV - Espectrofotômetro UV-vis (Cary ® 50 Scan)
- MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura (EVO MA 15, Marca Zeiss)
- MO - Microscópio Óptico (Eclipse E200 - Nikon)
- Difratorômetro de Raio-X – (Pert Pro MPD – Marca Panalytical)

4.2 Metodologia: descrição e fundamentos



4.2.1 Extração de Curcuminóides do Açafrão da Índia

A extração é um dos métodos mais utilizados para a obtenção de princípios ativos de plantas. Utilizando solventes apropriados e não tóxicos, o material final da extração sólido-líquido denomina-se solução extrativa. Entre os métodos de extração sólido-líquido mais utilizados destacam-se os métodos tradicionais tais como a maceração, percolação, extração de soxhlet, extração a quente, arrastre de vapor etc.. A literatura reporta o estudo de diferentes métodos tradicionais para a extração de Curcuminóides da *Cúrcuma longa* [34,35]. Estes trabalhos avaliam o método e o solvente mais eficiente para a extração de Curcuminóides. A literatura estudada mostrou que os métodos de maceração e extração de soxhlet foram os mais adequados para a extração dos princípios ativos presentes na *Cúrcuma*, utilizando como solvente em ambos os métodos citados a acetona. Estas técnicas mostraram maior rendimento comparado aos demais métodos testados: percolação - homogeneização, extração simples - centrifugação, extração sequencial, e extração infusão-água quente [34]. Portanto, em nosso trabalho decidimos estudar os métodos de extração de soxhlet e maceração. Os procedimentos e fundamentos destas técnicas de extração são descritas a

seguir.

4.2.1.1 Método 1 – Extração dos Curcuminóides através da maceração a temperatura ambiente

O procedimento da extração por maceração pode ser estático ou dinâmico, a diferença entre os dois está dada em que no método estático a agitação é ocasional e no dinâmico a extração se realiza sob agitação mecânica constante. Ambos os métodos são realizados em recipiente fechado, com solvente apropriado em temperatura ambiente, com duração prolongada (horas ou dias), sem renovação do solvente extrator (quando se faz renovação do solvente o processo é chamado de remaceração). Por natureza, não ocorre esgotamento da matéria prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da matriz celular (planta vegetal) [35]. Neste trabalho foi utilizado o método de maceração dinâmica sob agitação magnética à temperatura ambiente (20°C).

Em uma balança analítica com auxílio de um béquer de 150 mL, pesou-se 30,9011g do pó de rizomas do Açafrão da Índia, em seguida adicionou 100 mL de acetona medido em uma proveta e despejado no béquer contendo o pó de rizoma do Açafrão. Após tampado o béquer com um vidro de relógio foi levado para o agitador magnético sob agitação constante de 600 ± 5 rpm, por um tempo de 48 horas, à temperatura de 20°C, verificando de tempo em tempo o nível do solvente. Concluído o tempo de agitação, a mistura (conforme ilustrado na Figura 10) permaneceu em repouso para coletar o sobrenadante. Em uma placa de Petri, previamente pesada e identificada, depositou-se o sobrenadante do extrato, com o auxílio de uma pipeta. A cristalização do extrato foi realizada adicionando-se 2 ml de etanol. A placa foi submetida por 24 horas em estufa á vácuo com temperatura de 50°C, em seguida foi pesada novamente, para posterior calculo do rendimento utilizando a **Eq. (1)**.

$$R_e(\%) = \frac{m_{extrato}}{m_{alimentada}} 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

R_e (%): Percentual do rendimento do extrato

$m_{extrato}$: é o valor da massa (curcuminóides) obtida após a eliminação do solvente (g)

$m_{alimentada}$: é a massa de matéria prima (açafrão) utilizada na extração (g)



Figura 10 Extração da curcumina pelo método maceração dinâmica.

4.2.1.2 Método 2 – Extração da Curcumina com utilização do Soxhlet

O método de extração de Soxhlet, inventado em 1879 por Franz Von Soxhlet, é a técnica mais antiga e difundida utilizada para extrações contínuas de sólido por um solvente quente, sendo uma das principais metodologias adotadas como referência de eficiência da extração. O equipamento é constituído pelo aparelho soxhlet na qual a amostra é acondicionada em forma de um cartucho interno (utilizando papel de filtro), posteriormente acoplado a um balão de fundo redondo contendo solvente, a seleção do solvente dependerá da solubilidade da substância a ser extraída e da facilidade com que o solvente possa ser separado da amostra sólida. Em seguida o sistema é conectado a um condensador de refluxo Allihn (o tubo de condensação é feito com uma série de bolas). Quando o solvente do balão é aquecido, seu vapor que sobe pela conexão é então condensado, caindo no cartucho no qual a amostra se encontra e cobrindo totalmente a amostra, extraindo lentamente o princípio ativo. O aparelho possui um sifão, ao preenchê-lo totalmente o solvente é sifonado para o balão transportando assim a quantidade de substancia que extraiu da amostra. O processo se repete, ate que esteja completada a extração de acordo com a quantidade de princípio ativo presente na matriz vegetal [36,37].

Com o auxílio de uma balança analítica, pesou-se 33,2971g de pó de Açafrão da Índia, utilizando papel de filtro. Após a pesagem a amostra foi fechada com barbante em forma de um cartucho e colocada no tubo de extração Soxhlet (conforme ilustrado na Figura 11). Foram adicionados 200 ml de acetona ao balão de fundo redondo. O tubo de extração Soxhlet foi

encaixado, a extremidade inferior no balão e a extremidade superior no condensador. O balão foi acomodado dentro de uma manta aquecedora. A manta aquecedora foi ligada após a abertura da água no condensador, iniciando assim o processo de extração, por um período de 24 horas. A temperatura foi mantida constante, dentro da faixa de ebulição da acetona (56 °C). Após a extração, a manta aquecedora foi desligada para aguardar o resfriamento. O tubo de extração Soxhlet foi desconectado do condensador e do balão de fundo redondo. Com o auxílio de uma pinça, o material foi retirado de dentro do tubo de extração e escoado todo acetona contida. Após todo o processo de extração a solução de acetona contendo o extrato foi colocada em um evaporador rotativo, para evaporar a acetona e concentrar a solução contendo o extrato. Após o extrato foi transferido para uma placa de petri previamente pesada e identificada. A cristalização do extrato foi realizada adicionando-se 2 mL de etanol, posteriormente este foi levado para uma estufa á vácuo com temperatura de 50°C por 24 h, seguida da pesagem para calculo do rendimento na qual utilizamos também a Eq. (1).



Figura 11 Extração da curcumina com utilização do Soxhlet.

4.2.2 Polimerização eletroquímica do poli(2-hidroxietilmetacrilato) pHEMA e preparo do sistema pHEMA/Curcuminóides

Para realizar a polimerização do poli(2-hidroxietilmetacrilato) pHEMA, através da eletrolises do monômero 2-hidroetilmetacrilato HEMA, foi utilizado o equipamento Potenciostato/Galvanostato modelo PGSTAT 128N da marca AUTOLAB (AUT85118), acoplado a um computador com software NOVA 1.10, utilizando uma célula eletrolítica de dois eletrodos conforme ilustrado na Figura 12.

O polímero pHEMA foi sintetizado eletroquimicamente utilizando a técnica galvanostática a corrente constante 200mA, através da eletrolise do HEMA 1molL^{-1} , utilizando como eletrólito suporte cloreto de sódio KCl 1molL^{-1} , em meio aquoso, atmosfera ar e temperatura ambiente (23°C).

Um fio de platina (Pt) foi utilizado como eletrodo de trabalho (WE – ânodo conectado ao eletrodo suporte (SE)) e o segundo fio de platina (Pt) como contra-eletrodo (CE - catodo na qual foi conectado ao eletrodo de referência (RE)), toda a reação ocorreu no interior de uma seringa de 5 mL, com a finalidade de obter o formato cilíndrico (Figura 12).

O pHEMA obtido foi lavado repetidamente com água destilada, em seguida congelado e liofilizado para posterior caracterização.

Para as demais polimerizações realizadas após a conclusão da síntese, se efetuou a incorporação dos curcuminóides ao pHEMA, na concentração de 3% da massa de curcuminóides por massa de pHEMA, obtendo assim o sistema pHEMA/curcuminóides. A incorporação dos curcuminóides foi realizada por dois procedimentos diferentes: (A) mistura física manual entre a solução de pHEMA em KCl e os curcuminóides, (B) mistura física manual entre o pHEMA e uma solução dos curcuminóides em HEMA. Em seguida as amostras foram lavadas repetidamente com água destilada, congeladas e liofilizadas para demais caracterizações. A Tabela 1 mostra as quantidades dos reagentes utilizados na eletrossíntese do pHEMA puro e na preparação do sistema pHEMA/curcuminóides, obtido pelos procedimentos A e B.

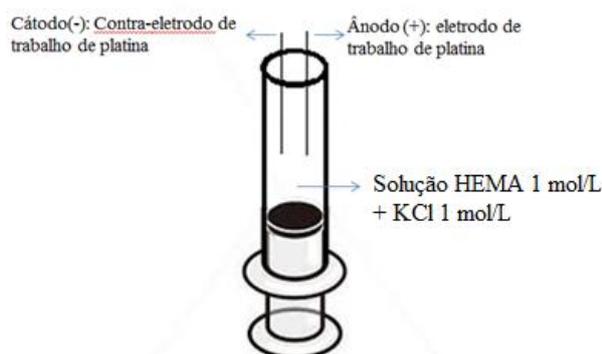


Figura 12 Representação da célula eletroquímica para síntese do polímero pHEMA.

Tabela 1 Dados e procedimentos da polimerização.

	pHEMA puro	pHEMA/curcuminóides Procedimento A	pHEMA/curcuminóides Procedimento B
HEMA (ml)	0,54 mL	0,54 mL	0,4 mL
HEMA (g)	0,58 g	0,58 g	0,43 g
Volume da Solução KCl (ml)	4,5 mL	4,5 mL	4,5 mL
HEMA (molL ⁻¹)	0,99 mol/L	0,99 mol/L	0,7 mol/L
Incorporação do curcuminóide	Não houve incorporação, apenas pHEMA puro.	Após a síntese, se adicionou 0,017g de curcuminóide à solução de pHEMA em KCl e realiza-se a mistura física.	Após eliminar a solução de KCl. Se adicionou ao pHEMA 0,017g de curcuminóide solubilizados em 0,14mL de HEMA e, realiza-se a mistura física.
Lavagem	Foram realizadas sucessivas lavagens com água destilada e congelados a -12 ^o C		
Secagem	As amostras foram liofilizadas a -40 ^o C		
Massa Molar (MM) _{HEMA} =130,14 g/mol, densidade (d) _{HEMA} = 1,073 g/mL			

4.2.3 Caracterização físico-química do pHEMA puro, CC e do sistema pHEMA/curcuminóides

4.2.3.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma das técnicas espectroscópicas mais aplicadas para caracterização de materiais. Esta técnica além de identificar os diferentes grupos químicos funcionais, constituintes de uma amostra, pode dar informações sobre a estrutura da amostra analisada. A radiação de infravermelho quando absorvida pela amostra, converte-se em energia de rotação e vibração molecular. Cada ligação química possui uma frequência de rotação e de vibração específica, às quais equivalem a níveis energéticos específicos (quantizados). Desta forma, quando a radiação de infravermelho incide sobre a amostra e a atravessa, a molécula absorve-a. O processo de absorção é quantizado e, em consequência o espectro aparece como uma série de bandas. A frequência vibracional ou comprimento de onda de uma absorção depende da massa relativa dos átomos e da constante de força da ligação através da Eq. (2). É dizer, cada grupo funcional apresenta valores característicos de frequência de vibração, portanto absorve a diferente frequência vibracional. As posições das bandas no espectro infravermelho são apresentadas em comprimento de onda (λ) e não em termos de frequência de vibração, mas especificamente elas são apresentadas em número de onda (cm^{-1}), centímetro inverso que é diretamente proporcional à energia. Desta forma a presença de bandas características de grupos funcionais no espectro infravermelho permite a obtenção, através de simples exame e consulta da literatura, de informações estruturais úteis e, portanto da identificação de estruturas na amostra analisada [38].

$$v = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\frac{M_x M_y}{M_x + M_y}}} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde:

v: frequência vibracional (cm^{-1})

c: velocidade da luz (cm/s)

k: constante de força da ligação (dinas/cm)

M_x e M_y : massa do átomo x e massa do átomo y, respectivamente (g).

O FTIR foi utilizado para caracterizar estruturalmente os curcuminóides presentes nos extratos do Açafrão da Índia, confirmar a polimerização do pHEMA, confirmar a incorporação dos curcuminóides no pHEMA, assim como para avaliar a interação entre o pHEMA e os curcuminóides. Para obter os espectros de infravermelho das amostras de curcuminóides coletados por: maceração dinâmica à temperatura ambiente (oleoresina); extração de soxhlet (oleoresina), das oleoresinas cristalizadas, assim como das amostras: HEMA, pHEMA, sistema pHEMA/Curcuminóides (procedimento B) (pHEMA/CC), utilizamos o Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (Spectrum 100 com acessório ATR - PerkinElmer) na região 4000 a 650 cm^{-1} , com acessório para Reflectância Total Atenuada (ATR). As amostras foram colocadas diretamente sobre a superfície do cristal (Diamante/seleneto de zinco ZnSe) do acessório de ATR e com auxílio de uma ponteira aplicou-se uma ligeira pressão para promover um íntimo contato entre a amostra e a superfície do cristal. O espectro foi obtido a partir de 16 varreduras e uma resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.3.2 Caracterização por Termogravimetria (TG)

A análise Termogravimetria (TGA) é uma técnica de análise térmica onde a variação de massa da amostra analisada é analisada em função da temperatura ou tempo de aquecimento, utilizando um programa controlado de temperatura. O TGA é de grande importância para caracterizar termicamente um material, fornecendo informação detalhada sobre as alterações que o aquecimento ocasiona na amostra analisada, permitindo assim: (a) estabelecer a faixa de temperatura em que se inicia a decomposição térmica, (b) avaliar processos de desidratação, oxidação e, outras reações que podem acontecer durante o aquecimento (ciclização, reticulação etc.), (c) teor de resíduo (ou presença de substâncias inorgânicas). Na análise Termogravimetria derivada (DTGA) são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva TGA, onde as inflexões apresentadas na curva TGA são substituídas por picos, na curva DTGA, que delimitam áreas proporcionais às modificações de massa ocorridas durante a decomposição do material [39].

A caracterização por TGA foi realizada no Analisador Termogravimétrico (Mettler TG50). As amostras curcuminóides, pHEMA e o sistema pHEMA/CC foram pesadas em cadinho de alumina, colocadas na termobalança sob atmosfera de nitrogênio (fluxo de 20mL/min) e aquecidas entre 25°C e 800°C com taxa de aquecimento de 10°C/min.

4.2.3.3 Caracterização por Difração de Raios-X

Os raios x são ondas eletromagnéticas, descobertos em 1895 só foram utilizados na elucidação da estrutura cristalina dos materiais, através do fenômeno de difração, em 1911. A difração é um fenômeno tipicamente ondulatório, onde uma onda sofre um desvio na sua trajetória ao atravessar um obstáculo cuja dimensão seja da mesma ordem de grandeza (comprimento de onda) da onda que o atravessa. O processo de difração tornou possível determinar o comprimento de onda dos raios X, e concluiu-se que este é da mesma ordem de grandeza que o tamanho de um átomo. Raios X de comprimento de onda bem definidos podem ser usados na análise da estrutura cristalina de uma amostra, através do fenômeno da difração. Ao incidir um feixe de raios X em uma amostra desconhecida, este difrata, e a medida dos ângulos de difração dos raios emergentes permite determinar a distância entre os planos atômicos da amostra, assim como a sua estrutura cristalina [7,8]

A técnica de difração de raios X tem sido amplamente utilizada para elucidar os arranjos atômicos e moleculares nos sólidos. A aplicação desta técnica em materiais poliméricos é eficiente para a determinação do grau de cristalinidade dos mesmos, principalmente para polímeros semicristalinos. Entretanto, no presente trabalho, utilizou-se a difração de raios X para confirmar a presença dos cristais curcuminóides no polímero, assim as amostras de pHEMA e do sistema pHEMA/CC foram analisadas em um difratômetro de raios-X modelo X Pert Pro MPD – Marca Panalytical, usando irradiação de $\text{CuK}\alpha$ com comprimento de onda $\lambda = 0,154$ nm. A faixa de varredura (passo - 2θ) foi de 5 a 45°, com intervalos 0,02°.

4.2.3.4 Caracterização da Morfologia por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Ótica (MO)

Características estruturais importantes dos materiais apresentam dimensões microscópicas (microestruturas) que só podem ser elucidadas com um equipamento específico chamado microscópio. A microscopia ótica (MO) permite que enxerguemos apenas a superfície do material, tendo limite para ampliação de aproximadamente 2000X. Para MO o limite máximo de resolução é estabelecido pelos efeitos de difração devido ao comprimento de onda da radiação incidente o que justifica sua ampliação máxima já citada anteriormente. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, e assim o mesmo transmite o sinal do

detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente, por intermédio de um detector de elétrons secundários ou elétrons retroespalhados. Portanto o sinal de imagem resulta da interação do feixe incidente com a superfície da amostra, no qual o sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação da amostra com aumentos de 300.000 vezes ou mais, para a maior parte de materiais sólidos, conservando a profundidade de campo com a observação da estrutura superficial [40,41].

Para confirmar a presença dos cristais no sistema polimérico, foi utilizado um microscópio ótico modelo Eclipse E200 - Nikon, no modo de reflexão. As fotografias foram obtidas pela digitalização instantânea utilizando uma câmera digital acoplada ao microscópio.

A morfologia superficial e porosidade das amostras de pHEMA e do sistema (pHEMA/CC), foram analisadas empregando-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Para isto utilizou-se um MEV de bancada, modelo EVO MA 15, marca Zeiss, profundidade de foco 9-11mm, tensão 15 kV, para a análise as amostras foram previamente recobertas com ouro (durante 30s). Para a análise de Energia Dispersiva de Raios X (EDS), utilizou-se o equipamento acoplado ao MEV. A análise de EDS permitiu, através do espectro de raios X, identificar os elementos químicos presentes na superfície das amostras.

4.2.3.5 Determinação do peso molecular viscosimétrico médio (M_v) do pHEMA

Uma das características mais importante dos polímeros é o seu tamanho molecular. Os polímeros se diferenciam das substâncias simples por possuir em sua estrutura química uma cadeia longa, isto é, de alta massa molar. A alta massa molar e a estrutura química são as principais características dos polímeros, responsáveis pela suas propriedades e consequentemente pela sua aplicação [42,43].

A massa molar de qualquer substância química é definida como a massa de um mol de moléculas (conjunto de $6,02 \times 10^{23}$ moléculas, Número de Avogadro). Porém, nos polímeros, todas as moléculas não apresentam o mesmo tamanho molecular, ou seja, em um mol de moléculas há uma distribuição de valores de massa. Então, a massa molar de um polímero corresponde a um valor médio de massa molar. Há diversas formas de expressar massa molar média, em função de qual aspecto da amostra se quer enfatizar, como enfatizaremos mais na frente. Existe porém uma expressão geral para a massa molar média, se consideramos que a cadeia polimérica é composta por um valor médio igual a “n” unidades monoméricas A de

massa molar “ m_A ”, temos que a massa molar média “ M ” é:

$$M = m_A \times n$$

($n = DP$ grau de polimerização)

Devido ao comprimento das cadeias (grau de polimerização) representar um valor médio, não constante, haverá polímero sintético de massas molares diferentes.

A massa molar de um polímero pode ser determinada experimentalmente utilizando métodos absolutos e relativos. Os métodos absolutos são aqueles que se baseiam em parâmetros físicos fundamentais para determinar experimentalmente a massa molar média. Já os valores de massa molar média, determinados por métodos relativos são aqueles obtidos por comparação com uma amostra padrão de massa molar conhecida.

A seguir mostramos os tipos de massa molar média absolutos, os métodos experimentais que permitem sua obtenção e como podem definir-se matematicamente [44]:

➤ **Massa molar numérica média (M_n)**

A M_n é definida como sendo a massa molar de todas as cadeias, dividida pelo número total de cadeias, isto é, uma massa molar que leva em conta mais fortemente o número de meros (unidade repetitiva) na cadeia, mais claramente corresponde a uma média ponderada numericamente [42,44]. A massa molar numérica média pode ser determinada experimentalmente por técnicas de osmometria de membrana, ou análise de grupos terminais (por titulação ou ressonância magnética nuclear, NMR). Matematicamente, tem-se na Eq. (3):

$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad \text{Eq. (3)}$$

➤ **Massa molar ponderal média (M_w)**

A M_w é outra maneira de se calcular a massa molar média, onde a massa (ou tamanho) das cadeias poliméricas é o mais importante. Assim, a massa molar de cada fração contribui de maneira ponderada para o cálculo da média, de uma forma mais clara é uma média ponderada massicamente [42,44]. A massa molar ponderal média pode ser determinada experimentalmente por espalhamento de luz. Matematicamente, tem-se a Eq. (4):

$$M_w = \frac{\sum W_i M_i}{\sum W_i} \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde:

M_i – massa molar do polímero de comprimento de cadeia i ;

N_i – número de polímeros (moléculas) de cadeia i .

W_i – peso total das moléculas de comprimento de cadeia i .

O valor M_w/M_n chama-se de polidispersão ou índice de heterogeneidade e dá uma medida da dispersão das massas molares. Quanto mais próximo for de **1** o seu valor, mais homogênea será a massa molar do polímero[44]. Para determinar experimentalmente a massa molar média em polímeros, existem métodos.

Dentre os métodos relativos de determinação de massas molares médias temos o viscosimétrico e a cromatografia de exclusão de tamanho. Nesta trabalho, utilizamos o método viscosimétrico por ser o que temos disponível no laboratório, devido a ser uma técnica simples e portanto economicamente viável. A massa molar ponderal média viscosimétrica (M_v) pode ser determinada experimentalmente através de medidas de viscosidade η de soluções diluídas (η é função do volume hidrodinâmico do soluto na solução (i.e., massa molar); quanto maior o volume hidrodinâmico do soluto mais viscosa é a solução. Matematicamente, tem-se a Eq. (5)

$$M_v = \left[\frac{\sum N_i (M_i)^{1+a}}{\sum N_i W_i} \right]^{1/a} \quad \text{Eq. (5)}$$

Onde:

a : é uma constante experimental que depende do polímero, solvente e temperatura

Segundo as definições matemáticas Eq. (3), Eq. (4), e Eq. (5) dos diferentes métodos utilizados para determinar a massa molar média, tem-se como mostra a Figura 13, que a massa molar viscosimétrica média (M_v) tem um valor intermediário entre a massa molar média numérica (M_n) e ponderal (M_w). Porém, como mostra a Figura 13, o valor experimental de M_v é um valor mais próximo ao valor de M_w .

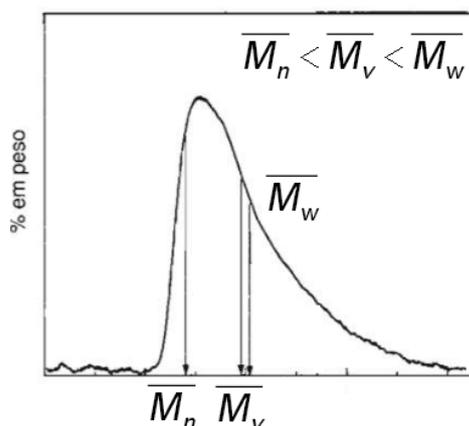


Figura 13 Representação gráfica da curva de distribuição de massas molares, M_n , M_w e M_v .

O método viscosimétrico consiste em realizar medições da viscosidade em solução, ou seja, determinar a viscosidade de soluções de polímero diluídas, a fim de determinar a viscosidade intrínseca (η_i) que corresponde ao limite da viscosidade inerente (η_{in}), quando a concentração tende para zero [44].

A viscosidade intrínseca (η_i) de uma solução polimérica está relacionada com a massa molar viscosimétrica média, através da equação de Mark–Houwink–Sakurada.

A viscosidade de uma solução polimérica é maior do que a do solvente puro. Portanto, primeiramente se determina a viscosidade relativa [Eq. (6)] que é a razão entre o tempo de escoamento da solução (t) sobre o tempo de escoamento do solvente puro (t_0).

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{dissolução}}{\eta_{solvente}} = \frac{t_{dissolução}}{t_{solvente}} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Eq. (6)}$$

Em seguida, se determina a viscosidade específica [Eq. (7)] onde seu valor é a viscosidade relativa menos um.

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 \quad \text{Eq. (7)}$$

Para finalizar temos a viscosidade inerente ou reduzida [Eq. (8)] que é a razão da viscosidade específica sobre a concentração da solução (C).

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{esp}}{C} \quad \text{Eq. (8)}$$

Por conseguinte, é possível determinar a viscosidade intrínseca [Eq. (9)] através da viscosidade reduzida a várias concentrações e em seguida extrapolar a concentração a zero [42,43].

$$\eta_i = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{esp}}{C} \right) \quad \text{Eq. (9)}$$

Conforme supracitado, a viscosidade intrínseca de uma solução polimérica está relacionada com a massa molar através da equação de Mark–Houwink–Sakurada [Eq. (10)] na qual M_v é a massa molar viscosimétrica média, para cada par solvente/polímero a uma dada temperatura temos as constantes K e α [42,45].

$$\eta_i = KM_v^\alpha \quad \text{Eq. (10)}$$

No presente estudo a determinação da massa molar viscosimétrica média do polímero pHEMA foi determinada utilizando um viscosímetro de Ubbelohde (Figura 14). Primeiramente foi realizada a calibração do viscosímetro com o solvente puro dimetilformamida (DMF), à temperatura de 30⁰C. Então preparou-se uma solução-estoque do polímero utilizando como solvente DMF, na concentração de 0,0304g/dL em seguida alíquotas foram usadas para obtenção de soluções com concentrações de 0,0276; 0,0243; 0,0210 e 0,0184 g/dL; e assim, foi determinado o tempo de escoamento t_0 do solvente puro e o tempo de escoamento das soluções, nas diferentes concentrações. Com os dados do tempo de escoamento das soluções a diferentes concentrações e do escoamento do solvente puro, determinou-se a viscosidade relativa (η_{rel}), a específica (η_{esp}), a reduzida (η_{red}) e a inerente (η_i). Com o valor de η_i e das constantes K e α , obtidas na literatura para este polímero, solvente e temperatura e, utilizando a Eq. (10) foi determinada a massa molecular viscosimétrica do pHEMA. A medição do tempo, para cada concentração, foi realizada 5 vezes, portanto o tempo utilizado nos cálculos representa a média aritmética de 5 medições.

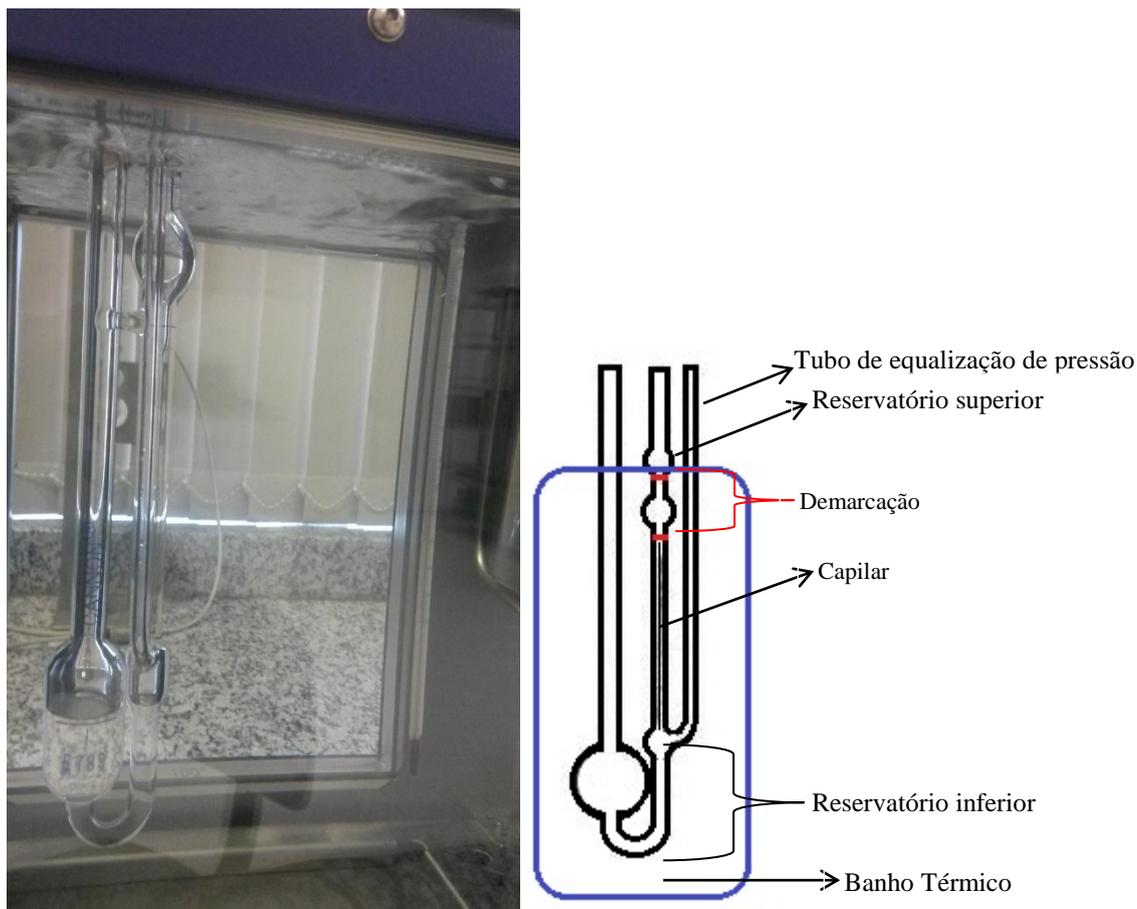


Figura 14 Foto e diagrama esquemático do viscosímetro Ubbelohde.

4.2.4 Estudo de Liberação “in vitro”

No que se refere à liberação do princípio ativo e à sua penetração nas camadas epidérmicas após a aplicação tópica, se faz relevante realizar estudos que caracterizem o processo de difusão e permeação do princípio ativo após a aplicação [46]. Uma das vantagens da liberação controlada é realizar uma administração terapêutica em que o princípio ativo é liberado durante períodos de tempo prolongado e controlado [47]. Os testes *in vitro* permitem compreender e avaliar alguns fenômenos que ocorrem entre a aplicação do princípio ativo e o comportamento farmacocinético, de modo breve e sem intervenção de fatores biológicos, apesar de não simular a membrana biológica [46]. A liberação do princípio ativo, a partir de matrizes poliméricas hidrofílicas, tem demonstrado que esta acontece a partir de uma interação complexa entre o intumescimento, difusão, erosão e relaxação. Os sistemas

matriciais hidrofílicos também são chamados de matrizes solúveis e intumescíveis. Baseado nessa capacidade de intumescimento ou solubilidade em água é que são desenvolvidos sistemas matriciais bioadesivos. Desta maneira, durante o funcionamento das matrizes poliméricas geralmente, estas liberam o soluto via combinação de vários mecanismos. A penetração gradual de água produz intumescimento (inchamento) para formar um gel hidratado, por intermédio do soluto que deve passar pela dissolução e difusão para o meio aquoso [48].

A Eq. (11) é usualmente empregada para analisar o processo de liberação de solutos, a fim de caracterizar o mecanismo predominante durante a liberação[49]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Eq. (11)}$$

Onde $\frac{M_t}{M_\infty}$ representa a fração do soluto liberado no tempo t , k é uma constante cinética que incorpora características da matriz polimérica e do soluto e, n é o coeficiente difusional, cujo valor depende da geometria da partícula e fornece informações sobre o mecanismo de liberação de agentes ativos a partir da matriz polimérica, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 Relação entre o coeficiente difusional n e mecanismo de liberação para os diferentes sistemas de liberação controlada

Filmes ou blocos	Coeficiente Difusional (n)		Mecanismo de Liberação
	Cilindros	Esferas	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
0,5<n<1,0	0,5<n<0,89	0,43<n<0,85	Transporte Anômalo (não-Fickiano)
1,0	0,89	0,85	Caso II de transporte

FONTE:[50,51]

Realizando a linearização da Eq. (12), obtemos:

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln k + n \ln t \quad \text{Eq. (12)}$$

Assim, a representação de $\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right)$ em função de $\ln t$ nos dá uma reta, de onde podemos encontrar os valores de k e n .

4.2.4.1 Curva padrão de calibração para estudo da liberação *in vitro* dos curcuminóides

A curva de calibração para estudar a liberação “*in vitro*”, em solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4), dos curcuminóides incorporados na matriz do pHEMA, foi realizada em um Espectrofotômetro UV-vis (Cary ® 50 Scan) a partir de uma solução estoque. Como o estudo da liberação “*in vitro*” é realizada em solução de PBS, a solução de estoque foi preparada nesta solução. Porém, como os curcuminóides são constituídos de uma óleosina, a solução estoque precisa ser preparada em forma de uma emulsão de óleo em água usando como tensoativo Tween 80. A solução de estoque preparou-se solubilizando, sob aquecimento (50°C), 11,4 mg de curcuminóides na solução de PBS, contendo 1% de Tween 80, após estabilizada a emulsão esta é deixada resfriar até temperatura ambiente, adicionada ao balão volumétrico de 25mL e completada com solução de PBS. Por tanto a solução de estoque foi preparada com uma concentração de curcuminóides de 0,456 g/L. Utilizando a solução estoque foi realizado o espectro UV-vis, na faixa de varredura de 200-400 nm, de forma a verificar o valor de máxima absorvância da amostra. O valor de máxima absorvância foi no comprimento de onda $\lambda = 426$ nm, sendo este o comprimento de onda usado para preparar a curva de calibração. Sendo assim, a partir de diluições adequadas da solução estoque, foram realizadas as medidas de absorvância no comprimento de onda de 426 nm para cada solução, de modo a correlacionar os valores de absorvância com os de concentração dos curcuminóides em solução.

4.2.4.2 Estudo da Liberação dos Curcuminóides incorporados no pHEMA

Para o estudo de liberação “*in vitro*” foi escolhida a amostra constituída pelo sistema pHEMA/CC preparada pelo procedimento B (Tabela 1). O estudo da liberação “*in vitro*” foi realizado em triplicata à temperatura de 37°C, as amostras foram condicionadas em tubos na estufa (com temperatura controlada) e mantidas sem agitação durante todo o experimento, como mostra a Figura 15 .



Figura 15 Representação do sistema de liberação.

O meio de liberação constituído por 5 mL de solução Tampão de Fosfato e Salina-PBS (pH- 7,4), contendo 1% de Twenn 80, foi previamente condicionado à temperatura de 37°C antes da adição do sistema pHEMA/CC. Após a adição do sistema pHEMA/CC seguiu-se a liberação controlada, alíquotas (300 µL) foram retiradas em um tempo pré-determinado (antes da retirada de cada alíquota o sistema é manualmente homogeneizado por agitação). As retiradas das alíquotas foram realizadas em intervalos de hora em hora, durante as primeiras 7 horas, seguido por intervalos de 24 horas durante 3 dias. A cada alíquota retirada foi realizada a reposição do mesmo volume, com a solução PBS + 1% Tween 80. As alíquotas retiradas foram levadas ao Espectrofotômetro, para obter o espectro UV-vis e assim determinar a concentração de curcuminóides liberada no tempo. O uso do tween 80 utilizado nesta metodologia é relatada para aumentar a capacidade de liberação e solubilidade total de curcuminóides liberados [9,52].

A concentração de curcuminóides liberada no tempo foi determinada utilizando a curva de calibração previamente preparada, como explicado no item 4.2.4.1.

5 ANÁLISE DE RESULTADOS

5.1 Rendimento das Extrações Sólido-Líquido

As oleoresinas cristalizadas obtidas pelos métodos de extração por maceração dinâmica a temperatura ambiente (Método 1) e por extração de soxhlet (Método 2) apresentaram um mesmo odor forte e característico, mas diferenciaram-se pela coloração conforme ilustrado na Figura 16(a, b). O extrato de oleoresina cristalizado obtido pelo método 1 (Figura 16.a), apresentou uma coloração amarela alaranjada clara com ligeira presença de cristais, como mostra a imagem de microscopia ótica (Figura 17).

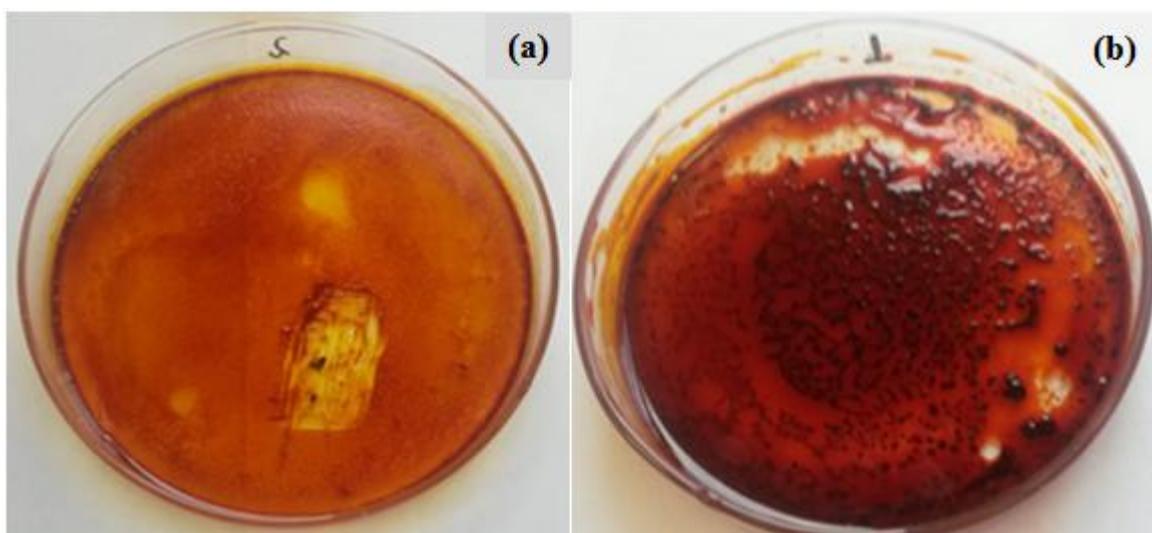


Figura 16 (a) Oleoresina contendo curcuminóides extraídos pelo método 1. (b) Oleoresina contendo curcuminóides extraídos pelo método 2.

A oleoresina cristalizada obtida pelo método 2 (Figura 16.b) apresentou uma coloração alaranjado avermelhado mais intensa, com maior presença de cristais, como mostra a microscopia ótica Figura 18.

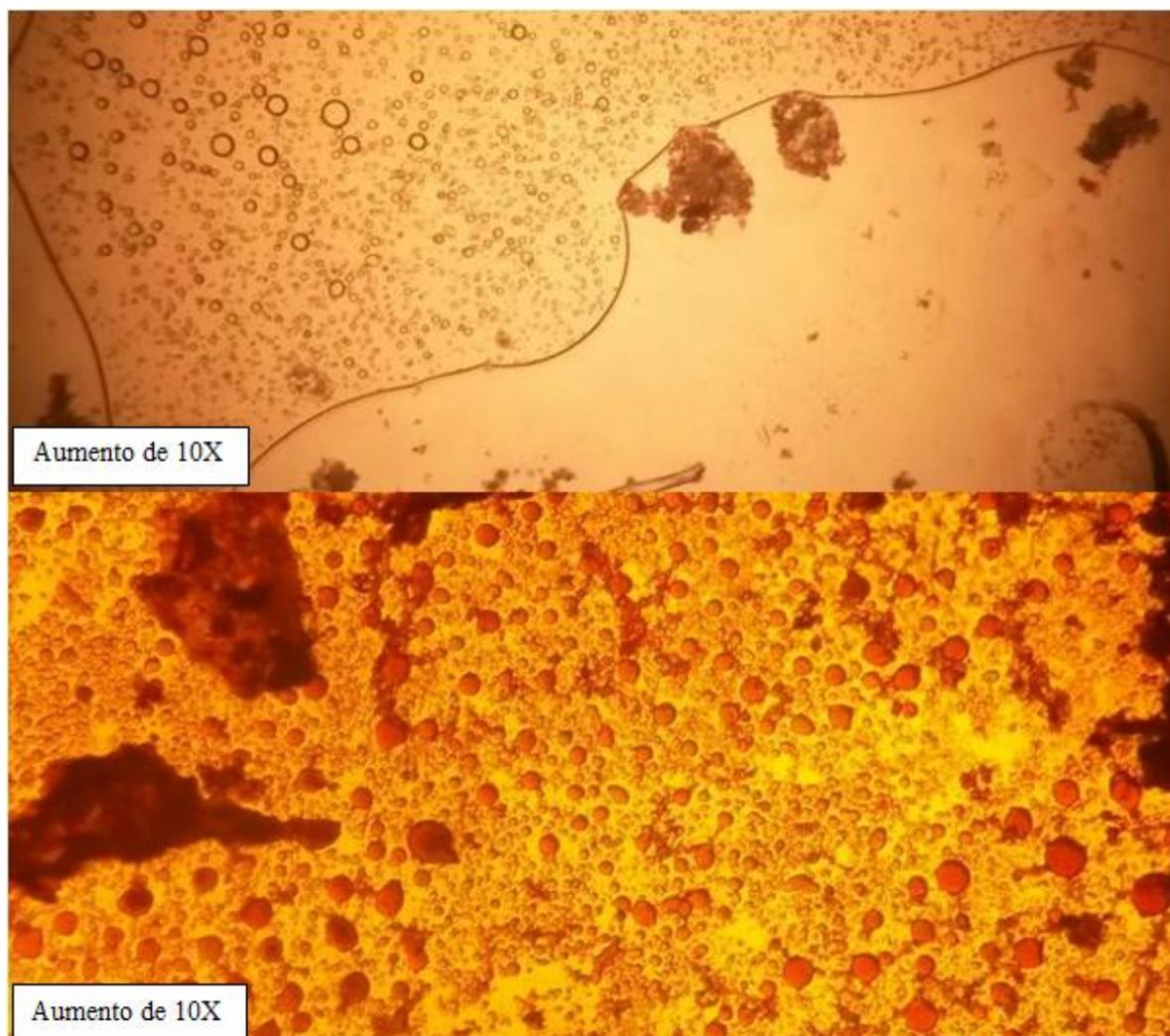


Figura 17 Imagens obtidas pelo microscópio óptico da oleoresina extraída do método 1.

Porem, ambos os métodos apresentaram coloração conforme descrito na literatura [6] visto que os curcuminóides são pigmentos de coloração amarelada. Srinivasan (1953) realizou a identificação dos curcuminóides na oleoresina demonstrando a presença de mais dois derivados desmetoxilados da *Curcuma longa*, além da curcumina, identificou a presença da desmetoxicurcumina (DMC) e da bisdesmetoxicurcumina (BDMC) presentes na oleoresina extraída, reconhecendo estas como as responsáveis pela coloração amarela característico do rizoma [53]. Diante disto fica claro o aspecto amarelado apresentado pelas oleoresinas, característico da presença dos curcuminóides em ambos os métodos de extração.

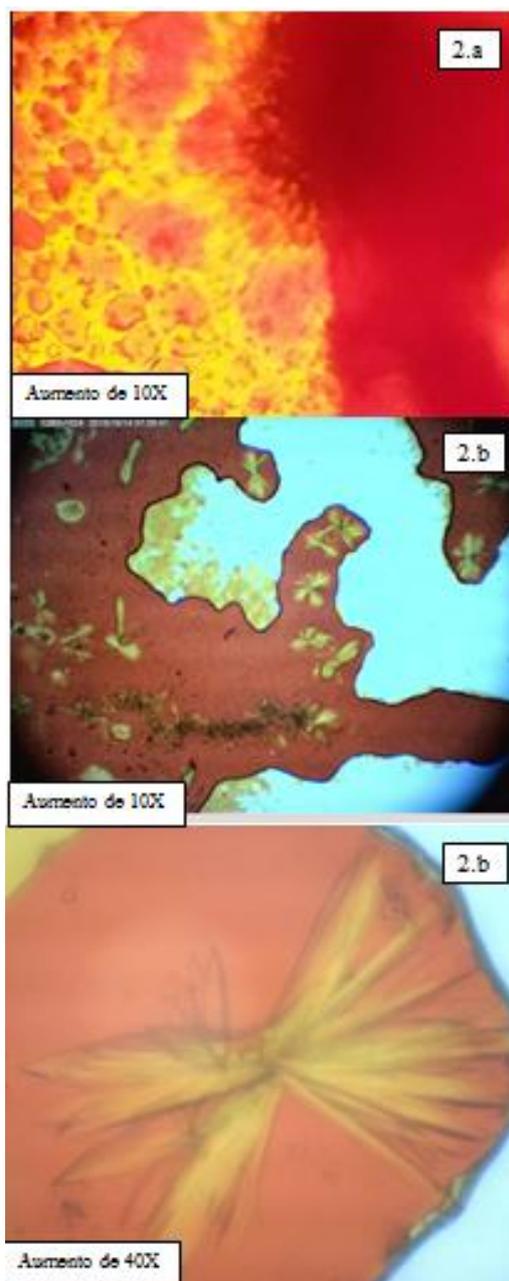


Figura 18 Imagem obtida pelo microscópio óptico da oleoresina extraída do método 2: (a) presença da oleoresina e excesso de curcuminóides, aumento de 10X. (b) Cristais – curcuminóides, aumento de 10X e 40X respectivamente.

Os resultados obtidos pelos métodos de extração estudados foram analisados através do rendimento, definido como: a razão entre a massa de extrato e a massa inicialmente alimentada. A

Tabela 3 apresenta os resultados dos rendimento determinados segundo a metodologia supracitada no item 4.2.1.1.

Tabela 3 Métodos e resultados de rendimento

Método de Extração	$M_{\text{alimentada}}$ (g)	M_{extrato} (g)	R_e (%)
Maceração – Método 1	30,90	0,69	2,23
Soxhlet – Método 2	33,29	1,13	3,40

O método 2, realizado com soxhlet, apresentou rendimento de 3,4%, resultando em uma quantidade maior de massa de oleoresina extraída comparado ao método 1, que apresentou 2,23%. Apenas o método 2 demonstrou rendimento em conformidade com a literatura em que o rendimento de oleoresina obtida atinge a faixa de 3 a 6% [54]. Pode-se concluir que o método 2 além de permitir um maior rendimento é mais eficiente, considerando o tempo de extração de 24h versus 48h de extração empregadas no método 1. Também, como mostram as imagens de microscopia ótica, o método 2 mostrou ser mais eficaz na extração de cristais de curcuminóides misturados à oleoresina extraída. A eficiência do método 2 é justificada pela técnica de extração de soxhlet, onde o material vegetal entra em contato durante um grande número de vezes (ciclos) com o solvente renovado constantemente, sendo que cada ciclo corresponde a uma extração descontínua. Também o fator temperatura parece influenciar facilitando a solubilidade para extrair melhor [36]. A partir destes resultados decidiu-se utilizar o extrato de oleoresina cristalizado obtido pelo método 2 para caracterização físico química, incorporação na matriz do hidrogel pHEMA e estudo de liberação em solução de PBS.

5.2 Polimerização Eletroiniciada do pHEMA

O hidrogel pHEMA foi escolhido como sistema polimérico para a liberação prolongada de curcuminóides, considerando-se a aplicação para tratamento do câncer, por diversas razões: primeiro seu elevado potencial demonstrado em aplicações farmacêuticas (libertação controlada de fármacos) entre outras aplicações biomédicas [55]; segundo a presença de grupos -OH na sua estrutura que podem estabelecer interações com os curcuminóides, facilitando a incorporação destes e o posterior controle na liberação[56]. Além da sua estrutura permitir um teor de água semelhante à do tecido vivo, sendo inerte para os processos biológicos normais, mostrando resistência à degradação [57].

A polimerização eletroiniciada do pHEMA foi realizada com êxito. Uma fração em massa menor do hidrogel polimeriza em torno do cátodo, mas uma fração em massa bem maior polimeriza na solução do eletrólito KCl. Desde o início e no decorrer da eletrossíntese, verificamos a formação de bolhas (Figura 19) no contra eletrodo de platina (cátodo), onde ocorre liberação de $H_2(g)$, já no eletrodo de trabalho (ânodo) ocorreu formação de bolhas em menor frequência, havendo liberação de $O_2(g)$.

O monômero 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) é polimerizado por poliadição [58,59], o mecanismo de polimerização ocorre em cadeia, nos conduzindo a propor que no sistema ocorre simultaneamente por dois tipos de polimerização em cadeia:

- i. Poliadição radicalar tanto na superfície do cátodo como dentro a solução aquosa;
- ii. Poliadição aniônica sob a superfície do cátodo.

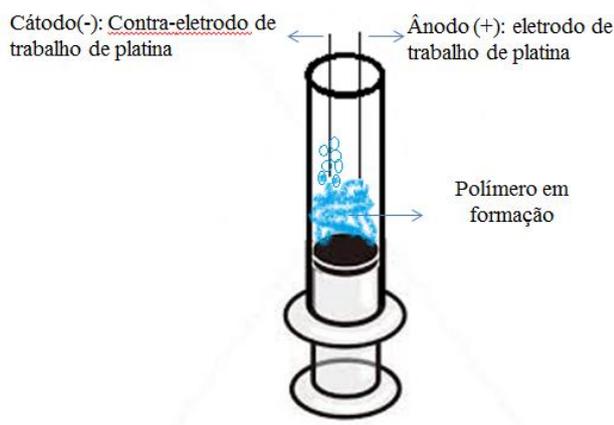


Figura 19 Imagem e ilustração representando a eletrossíntese do pHEMA.

Estudar o mecanismo de polimerização do pHEMA não é objetivo desta dissertação, ainda que o procedimento seguido seja novo e portanto, não está reportado na literatura. Apenas realizaremos algumas sugestões baseando nos mecanismos propostos na literatura para outros procedimentos de eletrossíntese de monômeros acrílicos. Os resultados obtidos na polimerização eletroquímica sugerem que o pHEMA depositado sobre o eletrodo de platina pode ser polimerizado via poliadição aniônica ou radicalar conforme demonstrado pelo fluxograma da Figura 20. Porém, o pHEMA produzido no interior da solução de KCl é iniciado apenas via radicalar devido aos radicais livres formados durante as reações secundárias de eletrolise da água, como mostra a Figura 21.

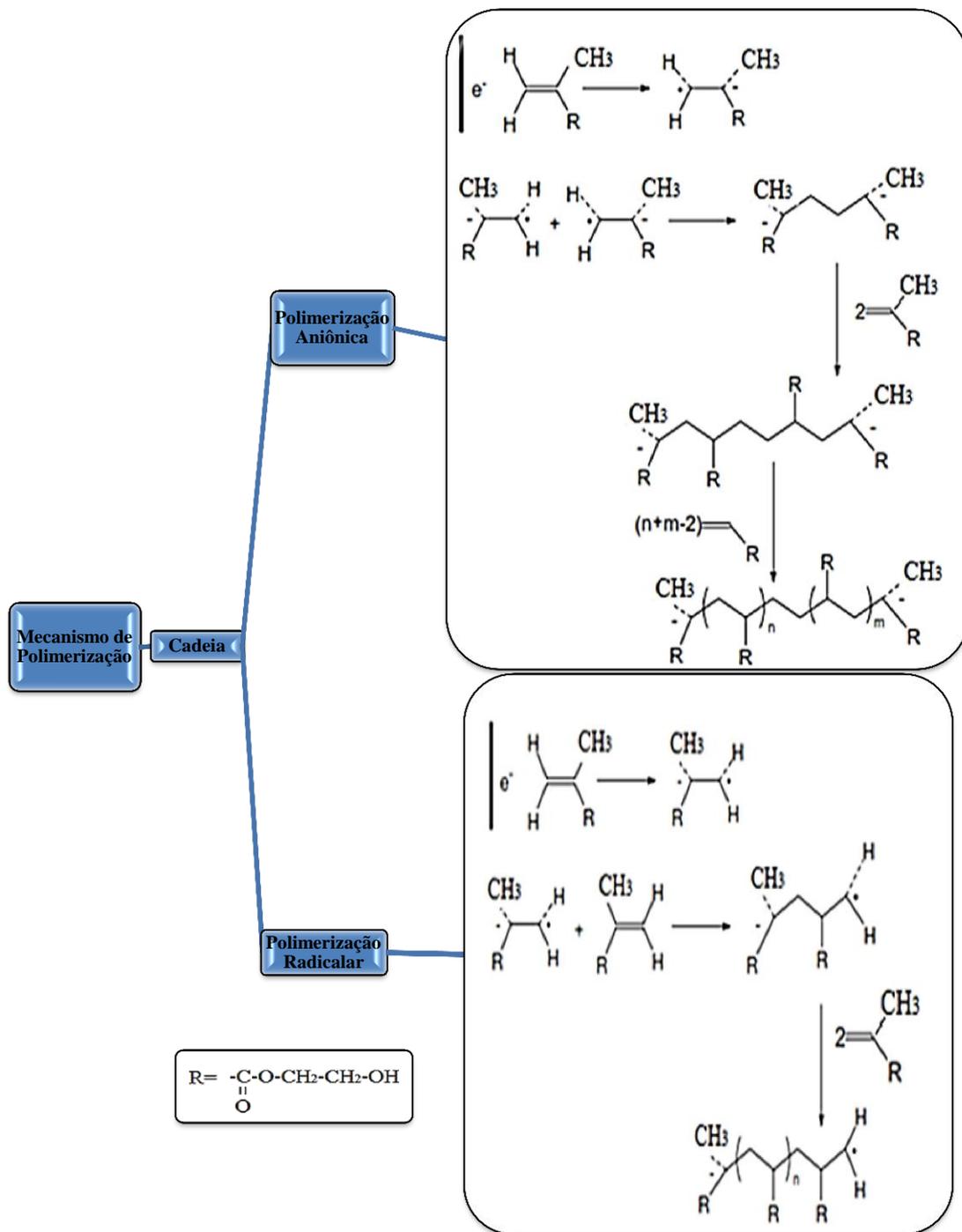


Figura 20 Fluxograma dos possíveis mecanismos de polimerização durante a eletrossíntese do pHEMA no catodo

(Fonte: DECKER, VATAJ et al. 2004) [60]

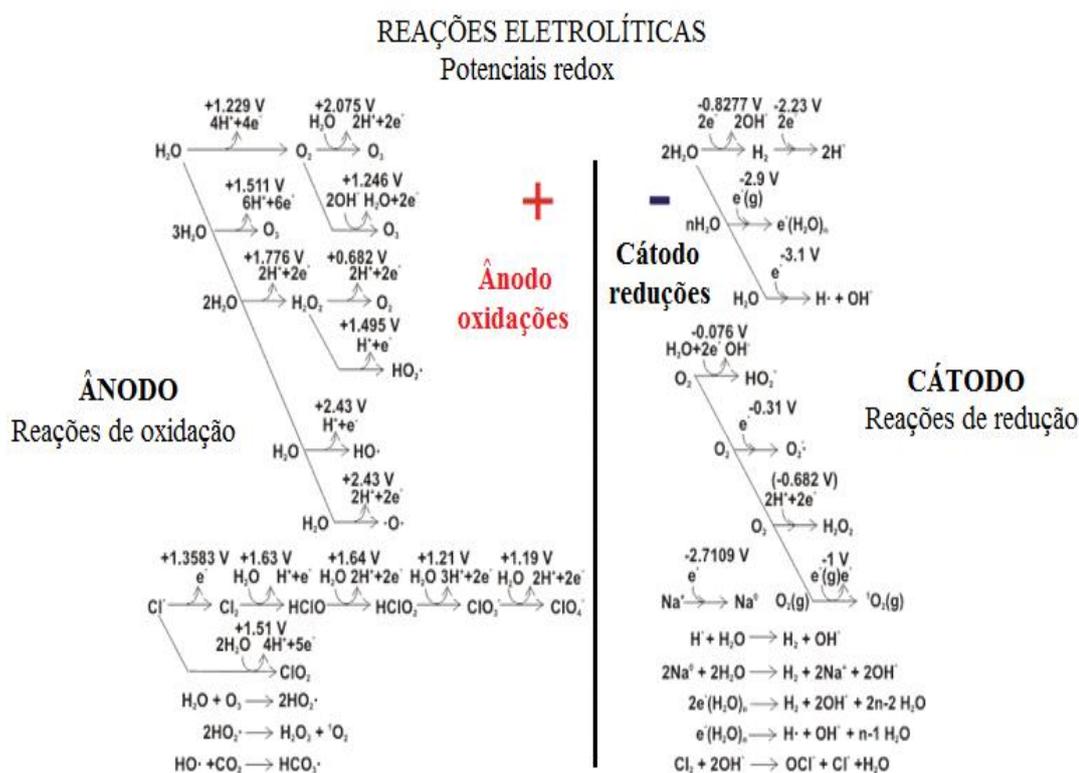


Figura 21 Esquema das possíveis reações eletrolíticas da água.

Alguns autores têm estudado o mecanismo de eletropolimerização de monômeros acrílicos em vários substratos metálicos [60] (Figura 20). Segundo estes autores, a iniciação acontece devido à transferência de elétrons do cátodo a um monômero neutro para gerar um ânion-radical através de uma reação de redução. E seguidamente estes ânions -radicais se acomplam entre si formando-se uma espécie diânion. Neste mecanismo os autores propõem que as reações propagação são reações nas quais os diânions transferem suas cargas para duas moléculas de monômeros neutras, de maneira tal que a propagação irá acontecer de ambos lados do diânion. A reação de término da cadeia se dará pela presença de espécies positivas presentes no meio eletrolítico. O mecanismo de polimerização via radicais livres não pode deixar de ser considerado, no eletrodo catódico, ele pode ser iniciado no cátodo como mostra o esquema da Figura 20.

No esquema da Figura 20 podemos descrever a iniciação via radicalar como a reação do centro ativo, e o ânion-radical como o monômero presente no meio. A reação de propagação ou reação em cadeia seria a sucessiva adição do centro ativo propagante à dupla ligação do monômero presente no meio. O término da polimerização é dado por qualquer

interação bimolecular entre radicais, que finaliza a propagação destes, ou por simples reações de transferência (captura destes radicais em crescimento pela própria cadeia, ou por outra cadeia ou outra espécie do meio).

Finalizado o tempo de polimerização foi adicionada a oleoresina cristalizada, obtida pelo método 2, ao hidrogel pHEMA. A adição foi realizada seguindo dois procedimentos como comentando no Capítulo anterior. A Tabela 4 mostra como foi realizado o cálculo do rendimento, mostrando também a porcentagem de oleoresina cristalizada incorporada ao pHEMA.

Tabela 4 Resultados de rendimento de hidrogel pHEMA e incorporação de oleoresina cristalizada na matriz do hidrogel.

	pHEMA puro	pHEMA/curcuminóides Procedimento (A)	pHEMA/curcuminóides Procedimento (B)
Massa após liofilização (g)	0,2283	0,2823	0,1660 (B1) / 0,2197 (B2)
	$\frac{m(pHEMA)}{m(HEMA)}$	$\frac{m(pHEMA/curc) - m(curc)}{m(HEMA)}$	$\frac{m(pHEMA/curc) - m(curc)}{m(HEMA)}$
Rendimento (%)	* 100	* 100	* 100
	39,36 %	45,74 %	34,65 % (B1) / 47,14% (B2)
Eficiência de incorporação de oleoresina cristalizada (%)	Não houve incorporação nesta amostra	Uma pequena fração de oleoresina solubilizou-se na solução de KCl (que contém resíduo de monômero) e portanto foi descartada, sem quantificar, portanto consideramos que a eficiência da incorporação foi <100%	Toda a curcumina foi incorporada, portanto consideramos que a eficiência da incorporação ~ 100 %
	$\frac{m(curc)carr}{m(curc)adic}$ * 100		
Concentração (g/g)			
	$\frac{m(curc)carr}{m(pHEMA)}$	Não foi quantificado	0,10 (B1) / 0,08 (B2)

m(pHEMA) é massa de pHEMA (g), m(HEMA) é massa de HEMA (g), m(curc) é a massa da oleoresina cristalizada (g) adicionada, esta massa sempre foi de m(curc)= 0,0170g.

Observamos na Tabela 4 que o rendimento médio da síntese eletroiniciada foi $41,72 \pm 5,8\%$, este valor é mais baixo que o obtido na síntese radicalar via tradicional (entre 80-90%), usando iniciadores térmicos ou até por via eletrossíntese utilizando eletrólitos, que também formem radicais livres durante a eletrolise. Isto é explicado porque não usamos iniciadores, apenas os radicais livres formados pela eletrolise da água iniciam a polimerização. Evidentemente uma menor eficiência na etapa de iniciação acarreta menor

número de centros de propagação, e assim menor número de cadeias em crescimento o que conduz a uma diminuição no rendimento. O procedimento seguido nesta dissertação é menos eficiente, porem apresenta a vantagem de ter um produto final livre de iniciadores que podem prejudicar posteriormente a aplicação biomédica. Ainda assim um rigoroso controle deve ter seguido na lavagem pelo resíduo de monômero.

O procedimento (A) foi descartado para caracterização físico-química e estudo de liberação. A imagen fotográfica das amostras de pHEMA puro e do sistema pHEMA/CC preparado pelo procedimento B são mostradas na Figura 22.

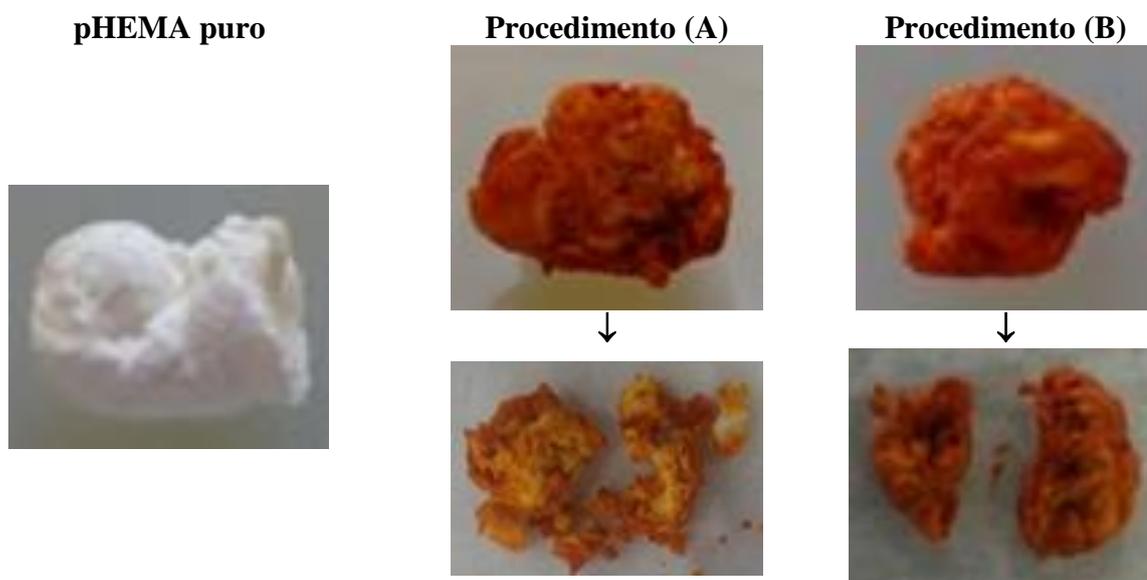


Figura 22 Imagens fotográficas do pHEMA puro e do sistema pHEMA/CC preparado pelo procedimento A e B.

Podemos observar na Figura 22 Imagens fotográficas do pHEMA puro e do sistema pHEMA/CC preparado pelo procedimento A e B.

O procedimento B, escolhido para a incorporação da oleoresina, permite incorporar aproximadamente 100% da curcumina na matriz do hidrogel mostrando uma distribuição uniforme e homogênea tanto na superfície externa como no interior do pHEMA.

5.3 Caracterização Físico-química

5.3.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As Figuras 23 e 24 apresentam comparativamente os espectros FTIR-ATR da oleoresina (mistura de curcuminóides e óleos essenciais) extraídos do rizoma: (Figura 24.1) amostra de oleoresina obtida pelo método 1 – maceração sob agitação a 20⁰C; (Figura 24/2.a) amostra de oleoresina obtida pelo método 2 - extração de soxhlet; e a (Figura 24/2.b) amostra de oleoresina cristalizada obtida pelo método 2 após cristalização. Na Tabela 5 são apresentadas as frequências de vibração (número de ondas) das principais bandas de absorção observadas nos espectros FTIR-ATR das Figuras 23 e Figura 24.

As atribuições das bandas de absorção foram realizadas em base à literatura, referenciada na Tabela 5.

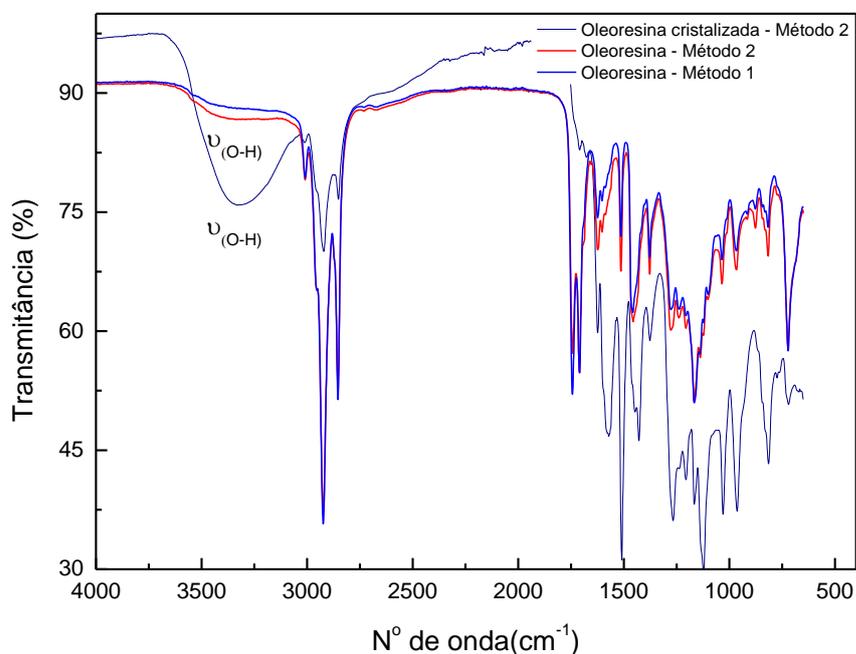


Figura 23 Espectros FTIR-ATR de: (1) Oleoresina – obtida pelo método 1; (2.a) Oleoresina – obtida pelo método 2 e, (2.b) oleoresina cristalizada - obtida pelo método 2.

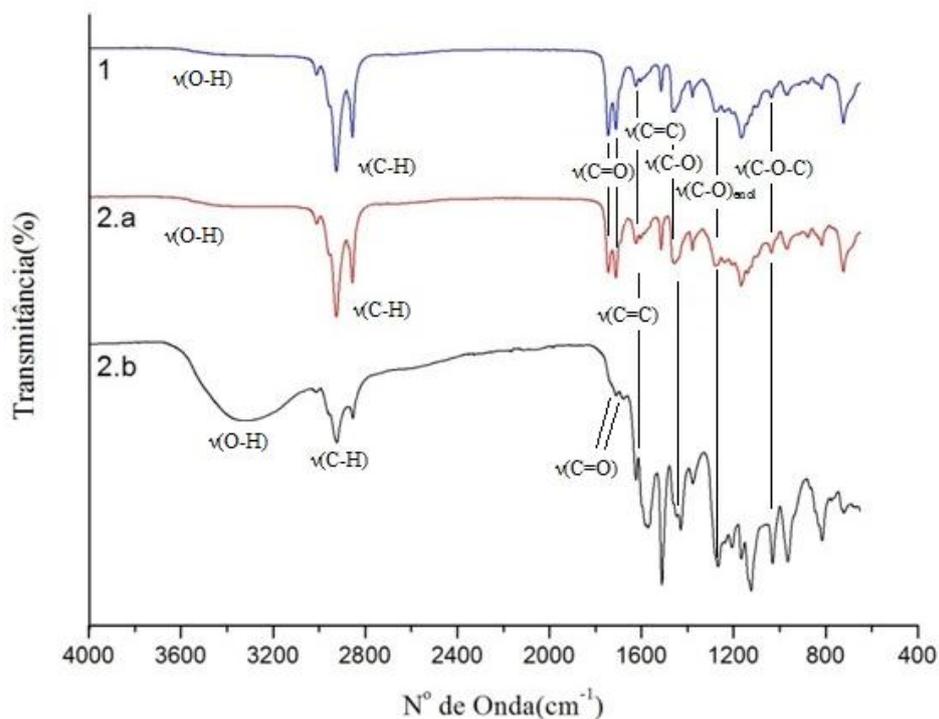
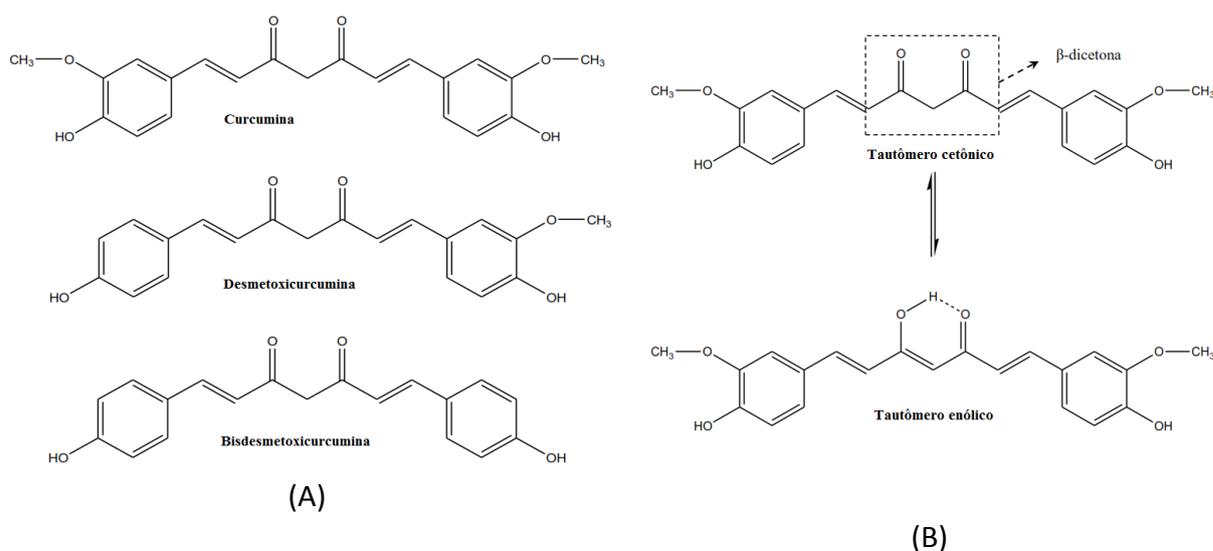


Figura 24 Espectros FTIR-ATR de: (1) Oleoresina – obtida pelo método 1; (2.a) Oleoresina – obtida pelo método 2 e, (2.b) oleoresina cristalizada - obtida pelo método 2.

A partir de estudos de caracterização a literatura [61,62] mostra que os pigmentos curcuminóides estão presentes na oleoresina após extração, e que os mesmos são três pigmentos análogos estruturalmente, conhecidos como: curcumina, desmetoxicurcumina e bidesmetoxicurcumina. Segundo a caracterização química os pigmentos curcuminóides se diferenciam apenas pela quantidade de grupos metoxila ($\text{CH}_3\text{O}(\text{C})$) na estrutura química, assim a curcumina possui dois grupos metoxila, a desmetoxicurcumina somente um e na bidesmetoxicurcumina este grupo está ausente. Desta forma é difícil diferenciar os três pigmentos curcuminóides por FTIR, pois as estruturas químicas destes apresentam modos vibracionais semelhantes [63], assim sendo, podemos observar nos espectros da Figura 23 e 24 e na Tabela 5 que as bandas apresentadas pelos espectros (1) e (2.a) representam os grupos funcionais característicos da estrutura dos curcuminóides, indicando assim a presença dos curcuminóides na oleoresina.

Tabela 5 Assinalamento de modos vibracionais e nº de onda característicos dos curcuminóides para os espectros da Figura 24(1 e 2.a).

	Espectro 1	Espectro 2.a	
Modo Vibracional Grupamentos Funcionais	Nº de Onda (cm ⁻¹)	Nº de Onda (cm ⁻¹)	Fonte
v(O-H) hidroxila	3364	3364	[63,64]
v(C-H) alcanos metoxila	2923 / 2853	2923 / 2853	
Tautômero cetônico, v(C=O)	1743	1743	[9,65]
Tautômero Enólico, v(C=O)	1709	1709	[65]
v(C=C)	1624	1623	[64,66]
v(C=C) anel aromático	1603	1603	[5,9,64]
v[C-O(H) (fenol)]	1457	1455	[63]
v[C-O(H) (alifático)]	1277	1277	[64]
v(C-O-C)	1035	1035	[5,9,64,66]

**Figura 25** (A) Estrutura química dos pigmentos curcuminóides. (B) Tautomerismo cetó-enol da curcumina.

Como mostra a Figura 25 as estruturas químicas da curcumina e dos curcuminóides apresentam: dois anéis benzeno, duas metoxilas [CH₃O-] (apenas para curcumina) e dois grupos hidroxila [-OH]; e na parte central da molécula existem pelo menos duas formas tautoméricas: a cetônica (dois grupos carbonila [C=O]) e outra enólica (um grupo C=O e um grupo -OH) [67,68]. Observando os espectros podemos sugerir que os curcuminóides extraídos apresentam tanto a forma enólica como a cetônica, conforme demonstrado pela Tabela 5. A carbonila da forma enólica aparece em menor número de onda (1709 cm⁻¹) devido à ligação de hidrogênio com o grupo -OH [65].

O Figura 24 mostra, comparativamente, o espectro da oleoresina obtida pelo método 2

após a cristalização (espectro 2b). O espectro 2b apresentou as bandas características da estrutura química dos curcuminóides presente na oleoresina sem cristalizar. Porém, algumas mudanças no número de onda e na largura das bandas é observado, como mostra a Figura 24 e a Tabela 6.

Tabela 6 Grupamentos e n° de onda característicos dos curcuminóides para o espectro c.

Modo Vibracional Grupamentos Funcionais	Espectro 2.b N° de Onda (cm⁻¹)	Fonte
$\nu(\text{O-H})$ associado ligação intermolecular	3331	[9,63]
$\nu(\text{C-H})_{\text{metoxila sp}^3}$	2921 / 2851	[9]
Tautomerismo Ceto – enol $\nu(\text{C=O})$	1709 – 1675	[65]
$\nu(\text{C=C})$	1623	[64,66]
$\nu(\text{C=C})_{\text{anel aromático}}$	1573	
$\nu[\text{C-O(H)fenol}]$	1429	[66]
$\nu(\text{C-O(H) alifático})$	1266	[63]
$\nu(\text{C-O-C})$	1028	[64]

É conhecido da literatura [69] que o espectro FTIR de uma substância muda quando as moléculas são organizadas formando uma estrutura cristalina. Portanto, as mudanças do espectro 2b (Figura 24) confirmam o processo de cristalização dos pigmentos curcuminoides. As mudanças mais significativas foram nas seguintes bandas:

- $\nu(\text{-OH})$, muda de 3364 cm^{-1} a 3331 cm^{-1} , mostrando um deslocamento a menor número de onda e um aumento na largura da banda, o que sugere uma forte interação de ligação de hidrogênio na estrutura cristalina, esta associação intermolecular origina a largura da banda e a diminuição da constante de força da ligação -O-H , que conseqüentemente aparece a menor número de onda.
- $\nu(\text{C=O})$, tautomerismo ceto-enol muda de $1743\text{-}1709 \text{ cm}^{-1}$ a $1709 \text{ - } 1675 \text{ cm}^{-1}$, aqui também observamos um deslocamento a menor número de onda, conseqüentemente a ordem cristalina, representa um aumento da interação intermolecular, diminuindo assim a constante de força da ligação C=O , e conseqüentemente o número de onda de vibração da ligação.

A Figura 26 exibe comparativamente os espectros FTIR obtidos para a amostra do monômero HEMA e o polímero pHEMA [poli(2-hidroxietilmetacrilato)] obtido via eletrossíntese.

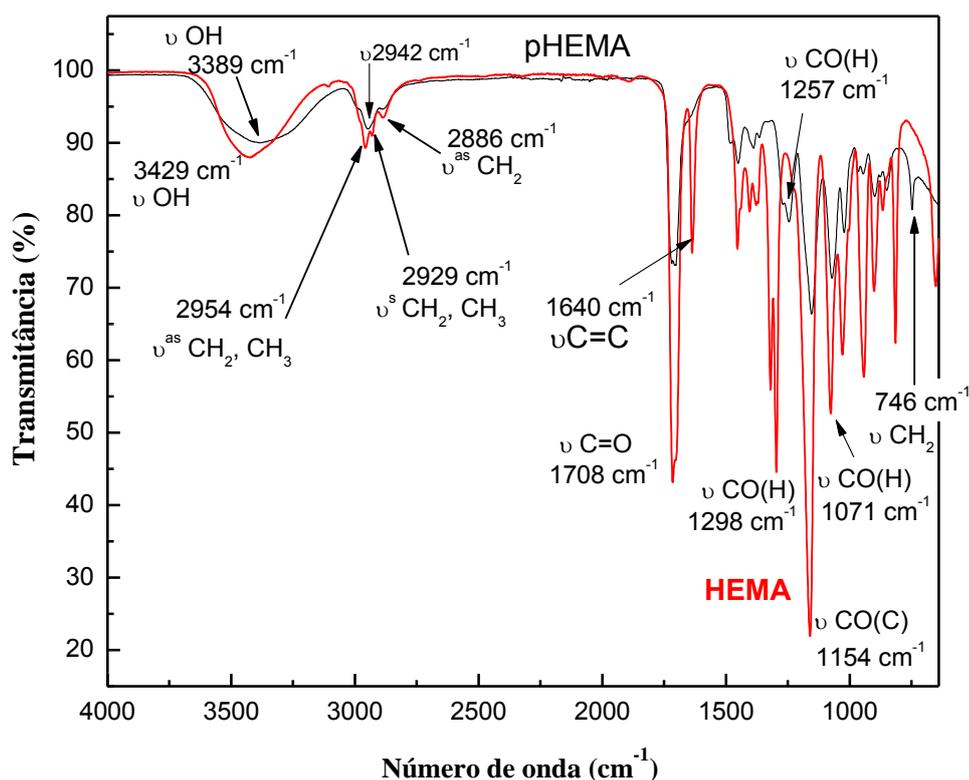


Figura 26 FTIR comparativo do monômero HEMA e o polímero pHEMA obtido por eletrossíntese

Conforme podemos verificar através do espectro da Figura 26 e da estrutura do pHEMA mostrada na Figura 27, que no monômero a banda 3429 cm^{-1} (relativa ao estiramento dos grupos O-H) se deslocam para menor número de onda no pHEMA em 3389 cm^{-1} , devido ao aumento da interação intermolecular da ligação de hidrogênio entre as cadeias do polímero, a interação de intermolecular diminui a constante de força da ligação (O-H) deslocando a banda para menor número de onda. Outra confirmação esta na banda de 2954 cm^{-1} , referente à deformação angular (C-H) dos agrupamentos $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ presentes na estrutura do monômero. Este agrupamentos também presentes na estrutura do polímero pHEMA, aparecem deslocados mostrando uma banda de vibração em 2942 cm^{-1} . Este deslocamento pode ser explicado porque no monômero HEMA, ambos agrupamentos estão ligados a um carbono com hibridação sp^2 (vinílico (C=C)), este fato reforça a ligação C-H e,

portanto a constante de força é maior, aparecendo esta banda a maior número de onda no monômero (HEMA).

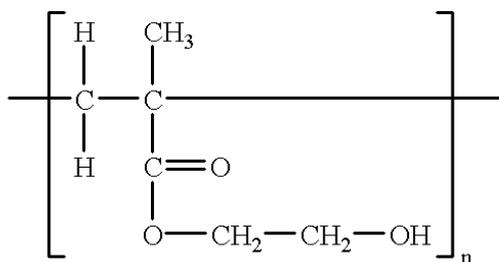


Figura 27 Representação da Estrutura química do pHEMA.

A evidencia estrutural que confirma a obtenção do polímero pHEMA está dada no desaparecimento da banda de vibração de estiramento da ligação vinílica (C=C) que no espectro do monômero aparece em 1640 cm^{-1} , confirmando que o monômero foi polimerizado pela metodologia utilizada (polimerização radicalar eletroiniciada). Confirmando também a ausência de resíduo de monômero após o processo de lavagem.

O espectro FTIR do pHEMA puro, curcuminóides (CC) e dos curcuminóides incorporados no pHEMA (pHEMA/CC) foram realizados com o intuito de investigar a incorporação dos curcuminóides no polímero pHEMA e a interação entre estes. A Figura 28, mostra comparativamente os espectros FTIR de pHEMA, CC, e sistema pHEMA/CC, sendo possível verificar a presença dos curcuminóides incorporados no polímero através das bandas $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{alifática}} = 1633 \text{ cm}^{-1}$ e $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{aromática}} = 1582 \text{ cm}^{-1}$ não presentes no polímero pHEMA.

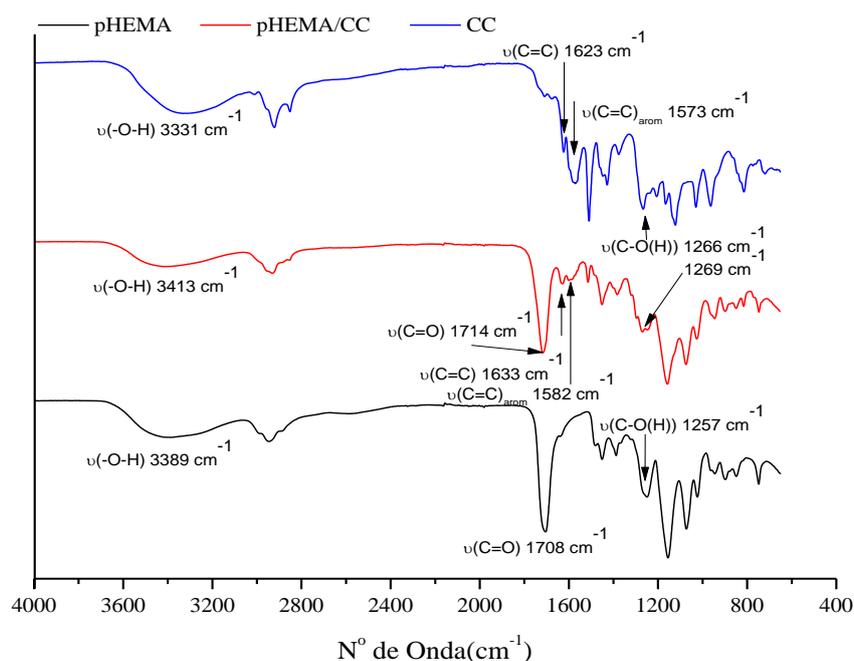


Figura 28 FTIR comparativo das amostras pHEMA, CC e pHEMA/ CC.

Os espectros apresentados na Figura 28, mostram fortes interações de ligação de hidrogênio entre as hidroxilas e carbonila (grupo ester) presentes no pHEMA e as hidroxilas dos CC. Esta interação é evidenciada pelo deslocamento das seguintes bandas:

- A banda de vibração $\nu(-O-H)$, nos CC aparece em 3331cm^{-1} , no pHEMA puro parece em 3389cm^{-1} , no sistema pHEMA/CC esta banda é deslocada a 3413cm^{-1} , evidenciando interação de ligação de hidrogênio entre as hidroxilas de ambos compostos puros quando se misturam para formar o sistema.
- A banda de vibração $\nu(C=O)$ do grupo ester do pHEMA aparece em 1708cm^{-1} , no sistema pHEMA/CC esta banda aparece deslocada a 1714cm^{-1} , evidenciando interação de ligação de hidrogênio entre o oxigênio da carbonila e os grupos hidroxilas dos CC.
- A banda de vibração $\nu(C-O(H))$ no CC aparece em 1266cm^{-1} , no pHEMA puro parece em 1257cm^{-1} , no sistema pHEMA/CC esta banda é ligeiramente deslocada a 1269cm^{-1} , evidenciando também interação de ligação de hidrogênio entre as hidroxilas de ambos compostos puros quando se misturam para formar o sistema.

Os resultados mostrados evidenciam forte interação intermolecular entre o pHEMA e os CC no sistema pHEMA/CC. Esta interação pode favorecer o controle da liberação da CC.

5.3.2 Análises Térmicas - Caracterização por Termogravimetria (TGA)

A Figura 29 representa as curvas termogravimétricas para as amostras, oleoresina cristalizada, que chamamos de curcuminóides (CC), pHEMA e pHEMA/CC. Todas as análises foram realizadas em atmosfera inerte, de $N_2(g)$ a fim de remover substâncias gasosas liberadas durante a decomposição térmica assim como evitar ocorrências de reação de oxidação com o oxigênio do ar. A partir das curvas de TGA, foram determinados os seguintes parâmetros: faixas de degradação, teor de massa degradada e, resíduo não degradado até a temperatura final da análise 800°C . A partir das curvas de DTGA, também foi observada a temperatura de máxima velocidade de perda de massa [39].

Como pode ser visto na curva termogravimétrica da oleoresina cristalizada (curcuminóides CC) existe uma perda de massa que se inicia em torno de 31°C . A amostra se mostra termicamente instável até 122°C , apresentando nesta faixa de temperatura ($31-122^\circ\text{C}$)

com uma perda de massa em torno de 2,44%, devido a úmidade e impureza volátil presente na oleoresina [70]. A curva de TGA dos CC mostra que a degradação é completa, não foi observado resíduo de degradação. Na curva TGA se observa abaixo de 800°C três estágios diferentes de degradação:

- primeiro evento, a partir de 122 °C até 302⁰C , apresenta 34,49% de perda de massa;
- segundo evento, entre 302°C e 443°C, apresenta 37,77% de perda de massa;
- terceiro evento, entre 554°C e 650⁰C, apresenta 25,30 % de perda de massa.

Estes resultados são semelhantes aos reportados por CHEN, et al[71], que atribuem o primeiro evento à decomposição dos grupos substituintes dos curcuminóides; e o segundo evento à decomposição de dois anéis de benzeno dos curcuminóides. Estes autores, encontram degradação total a 600°C. Porém, eles estudam uma curcumina de grau analítico produzida pela Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd.. Em nosso trabalho analisamos uma oleoresina contendo curcuminóides e outras espécies não caracterizadas, se comparamos nossos dados com o TGA da curcumina pura, atribuindo apenas as transições (122°C -302°C) e (302°C-443 °C) à curcumina e curcuminóides (que apresentam estrutura química semelhante e portanto também devem degradar nestas faixas de temperaturas), podemos sugerir de maneira aproximada que o conteúdo de curcuminóides em nosso extrato é 72,26 % em massa, sendo um 25,3 % da massa de outras substâncias orgânicas presentes na oleoresina.

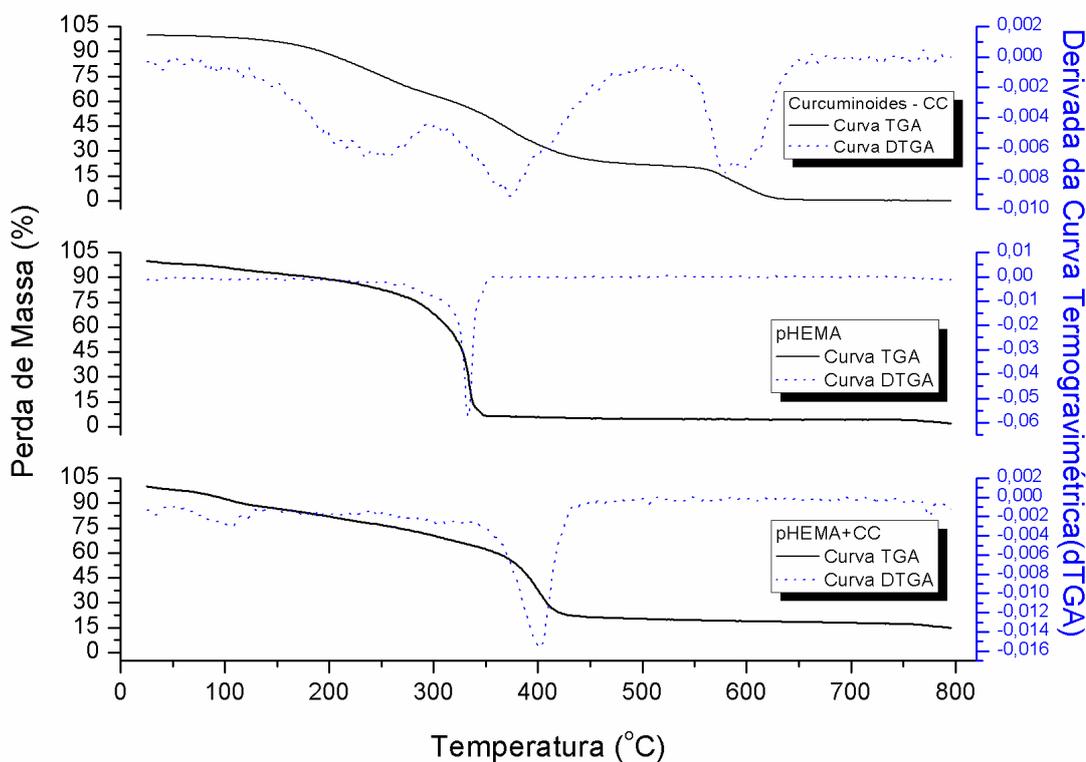


Figura 29 Representação Termogravimétrica das amostras CC, pHEMA e pHEMA/CC.

A curva TGA da amostra de pHEMA mostrou uma perda de massa constante, em torno de 11,5% da massa total, desde o início do aquecimento. Atribuímos esta perda de massa à umidade (perda de água) presente no polímero [7], o que pode ser explicado pela hidrofiliabilidade deste polímero e pelo processo de secagem utilizado, liofilização, que não se mostrou efetivo. O polímero se apresenta instável até a temperatura de 203°C e, evidentemente entre 160°C e 203°C, a massa perdida corresponde a espécies de natureza orgânica (que pode ser resíduo de monômero). A partir de 203°C começa a degradar a cadeia macromolecular do pHEMA, é dizer acontece a despolimerização do polímero. A curva de DTGA (curva azul) mostra um pico na temperatura onde acontece a velocidade máxima de perda de massa[39], neste caso, 333°C. Entre 334°C e 350°C pode ser observado uma terceira perda de massa de menor velocidade e menor teor de massa. A perda de massa pode ser calculada pela área do pico da DTGA, que corresponde à 82,32% de perda para o polímero. A curva TGA mostra que uma massa de 6,18% se mantém como resíduo, não degrada até a temperatura final da análise (800°C).

A curva de TGA do pHEMA obtido por eletrossíntese apresenta características semelhantes se comparado com as curvas de TGA do pHEMA preparado por outras rotas de

síntese e reportado na literatura. Porém, mostra um perfil de estabilidade térmica diferente. Alguns autores descrevem a degradação térmica do pHEMA completa (sem resíduo) em dois estágios (temperatura ambiente até 340°C e de 340°C a 400°C)[72]. Em outros trabalhos a degradação térmica completa é descrita em 3 estágios: 70°C-160°C, (perda de água); 160°C - 270°C (monômero residual); 300°C - 325°C (despolimerização) e 400°C - 420°C (decomposição de ester e cisão de ligação formando radicais livres)[73].

A curva de TGA do sistema pHEMA/CC mostrou que existe uma forte interação entre o pHEMA e os CC, o perfil da curva sugere a formação de um complexo pHEMA/CC estável e não uma simples incorporação ou mistura. Quais são as características térmicas que podemos destacar nesta curva de TGA:

1)- Entre a temperatura ambiente e 160°C, se observa perda de água e compostos voláteis da oleoresina.

2)- Entre 160°C a 300°C perda de massa que pode ser atribuída à oleoresina (substituintes dos curcuminóides) e a presença de monômero residual.

3) A partir de 300°C e até 450°C degradação da cadeia macromolecular do complexo pHEMA/CC, que se mostra estabilizado termicamente respeito ao pHEMA puro que degrado entre 203°C – 350°C.

4)- A presença de um 20 % de resíduo estável até a temperatura da análise 800°C, que pode ser atribuído a: resíduo de oleoresina, resíduo de pHEMA, e resíduo do complexo formado entre o pHEMA e os curcuminóides ou outras espécies presentes na oleoresina.

A curva de TGA do sistema pHEMA/CC mostra também que as etapas de degradação 2 e 3 apresentam uma menor velocidade de degradação se comparadas às curvas do pHEMA puro e da oleoresina pura. O que confirma o aumento da estabilidade de ambos no complexo pHEMA/CC. Segundo testes [9] a introdução de curcumina no sistema pHEMA levou a um aumento da estabilidade térmica da amostra. Outros estudos realizados por RAMALINGAM (2014) [7] mostram que os sistemas pHEMA contendo diferentes concentrações de curcumina apresentaram comportamento semelhantes, revelando que não houve alterações quanto ao aumento da concentração de curcumina. Considerando a aplicação do produto em formulações farmacêuticas onde é avaliada a estabilidade do sistema entre 25-30 °C e em testes de longa duração até 40 °C, podemos concluir que o sistema pode ser assimilado, absorvido, e eliminado do organismo sem risco de acontecer nenhum processo térmico que altere sua aplicação. Porém, o fato da análise de TGA mostrar presença de monômero e outras espécies da oleoresina, reforçam o rigor que deve ser seguido durante o processo de purificação.

5.3.3 Caracterização por Difração de Raios-X

Conforme mencionado no capítulo anterior, no presente trabalho, utilizou-se a difração de raios X (DRX), com a finalidade de confirmar a presença dos cristais de curcuminóides CC (presentes na oleoresina) incorporados no polímero pHEMA. Assim, a partir da análise de difração de raio-X, observa-se que a oleoresina (Figura 30) apresentou duas regiões: uma amorfa abaixo do ângulo de difração e a outra com uma região cristalina correspondente aos cristais curcuminóides caracterizados por dois picos (28° e 40°) discretos os quais se assemelham aos reportados na literatura [7,74]. Acredita-se os picos apresentaram-se discretos devido ao preparo da oleoresina para análise ser realizada sem o cuidado de conferir (por microscopia ótica) a presença de uma concentração suficiente de cristais na oleoresina. Outros trabalhos, na literatura, mostram esta dificuldade, comentando que a falta de tempo suficiente para que o pigmento defina características cristalinas, é manifestado no espectro DRX com uma elevação intensa da curva entre 10° - 25° (estudo de DAKHEL, A.A. et al [75]). Segundo os autores esta elevação da curva sugere que o CC estaria na fase inicial de cristalização.

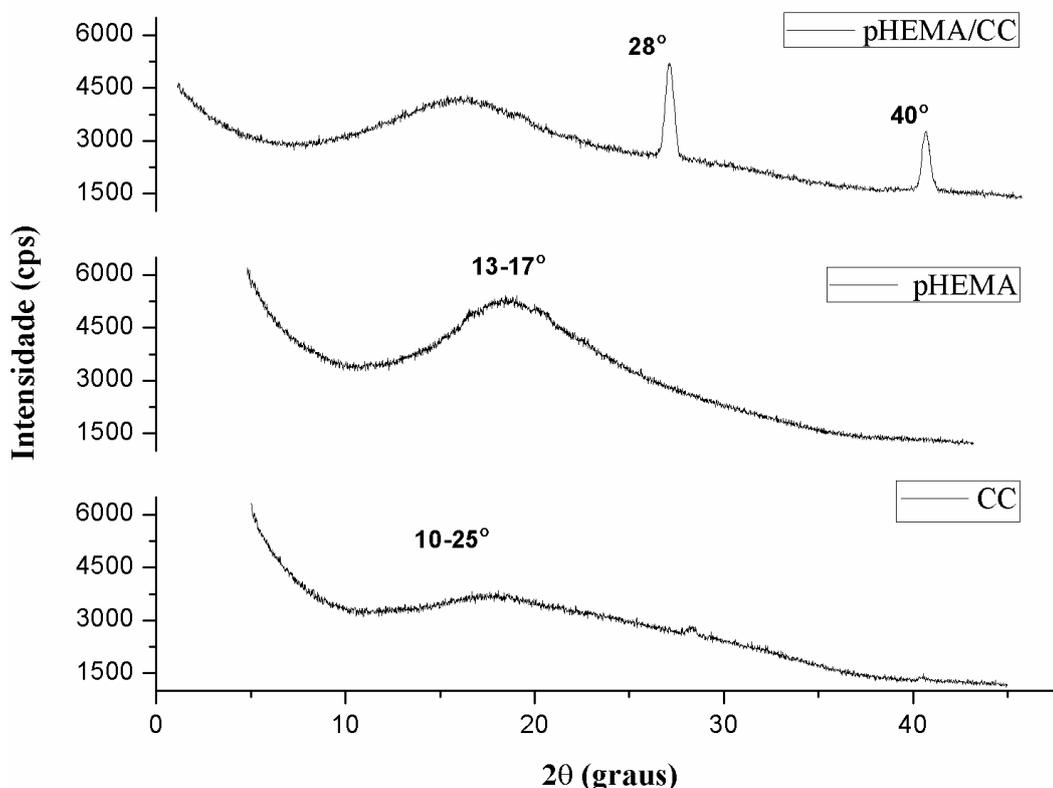


Figura 30 Perfis de DRX para as amostras pHEMA/ CC, pHEMA e CC.

Os perfis de difração de raio-X, reportados por diversos autores [76,77] para o

pHEMA, demonstram concordância com os perfis encontrados neste estudo, sendo observado uma região amorfa em torno de $13^\circ - 17^\circ$ (2θ). No sistema pHEMA/CC (Figura 30) é possível denotar dois picos (28° e 40°) característicos dos CC conforme resultados obtidos por outros estudos[7,74], desta forma o corante CC apresenta-se cristalino na amostra pHEMA/CC, confirmando a presença de CC no polímero.

5.3.4 Determinação de massa molar viscosimétrica média do pHEMA

A determinação da massa molar viscosimétrica média (M_v) do pHEMA foi realizada pelo método viscosimétrico. Embora existam métodos absolutos para determinar a massa molar de polímeros, a viscosimetria (método relativo) permite através de uma técnica simples e econômica determinar um valor de massa molar viscosimétrica média que é intermediária entre o valor da massa molar numérica média (M_n) e a massa molar ponderal média (M_w) obtidas por métodos absolutos[44]. As medidas de viscosidade foram realizadas utilizando um viscosímetro capilar Ubbelohde, como explicado no Capítulo 4.1.3.5. Para cada concentração de pHEMA diluído em DMF foram realizadas 5 medidas de tempo de escoamento, a média destes tempos e do tempo de escoamento do solvente puro, assim como a viscosidade relativa, específica e, reduzida são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 Dados experimentais obtidos na determinação da massa molar utilizando o método viscosimétrico. Temperatura controlada em banho termostático – 30°C

Dados	Concentração (C) das soluções de pHEMA em DMF (g/dL)						Equações
	DMF	0,0304	0,0276	0,0243	0,0210	0,0184	
t_{solvente} (seg)	89,59	-	-	-	-	-	-
$t_{\text{solução}}$ (seg)	-	99,27	97,77	96,68	95,45	94,41	-
η_{relativa}	-	1,11	1,09	1,08	1,06	1,05	$\eta_{\text{relativa}} = \frac{t_{\text{dissolução}}}{t_{\text{solvente}}}$
$\eta_{\text{especifica}}$	-	0,11	0,09	0,08	0,06	0,05	$\eta_{\text{especifica}} = \eta_{\text{relativa}} - 1$
η_{reduzida}	-	3,55	3,30	3,25	3,12	2,92	$\eta_{\text{reduzida}} = \frac{\eta_{\text{especifica}}}{C}$

Plotando-se em um gráfico (Figura 31) η_{reduzida} versus C, obtemos a viscosidade intrínseca η_{int} , extrapolando-se para uma concentração igual a zero.

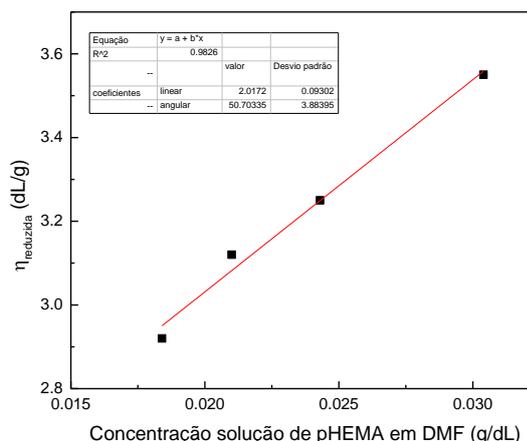


Figura 31 Viscosidade reduzida em função da concentração para o pHEMA em DMF.

A viscosidade intrínseca de uma solução polimérica está relacionada com a massa molar viscosimétrica média, através da equação de Mark–Houwink–Sakurada aplicada ao polímero. Os valores das (**K**) e (**α**) da equação Mark–Houwink–Sakurada para o pHEMA em solução de DMF, a 30°C, encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8 Valores das constantes **K** e **α** e massa molar viscosimétrica média para o pHEMA em DMF a 30°C, segundo referencia bibliográfica.

K (dl . g⁻¹)	α	M_v (g/mol)	Fonte
10,6 x 10 ⁻⁵	0,7	1,2919 x 10 ⁶	[78]

A massa molar viscosimétrica média **M_v** obtida em nosso trabalho, para o pHEMA preparado por eletrossíntese foi de **1,2919x10⁶ g/mol**. Este valor é maior ou parcialmente maior do reportado na literatura consultada de 2,9x10⁴[79]; 8,9x10⁵[80] e 4,68x10⁵ g/mol [78]. Entretanto, uma massa molar elevada beneficia as propriedades físico-químicas dos polímeros (por exemplo, a adesão) e, portanto suas aplicações. Segundo VILLANOVA J.C.O (2010) et al.[81] uma massa molar elevada favorece a bioadesividade. A bioadesividade é um mecanismo que descreve a bioadesão de polímeros à mucosa do corpo humano, na qual acredita-se que os seguintes eventos estejam envolvidos: adsorção, dispersão do material bioadesivo sobre a mucosa e interpenetração entre as cadeias do polímero e da mucosa. Portanto, o fato do pHEMA, preparado por eletrossíntese ter elevada massa molar potencializa sua aplicação biomédica, pois sua adesão na mucosa do corpo humano favorecerá a penetração do principio ativo através da membrana celular .

5.3.5 Caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para estudar a morfologia dos materiais pHEMA e pHEMA/CC foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O estudo da morfologia teve a finalidade de investigar as estruturas dos poros do hidrogel e comparar as modificações que os mesmos sofrem com a inserção dos CC. Assim como determinar a distribuição e morfologia dos CC na matriz do hidrogel. A Figura 32 mostra a micrografia das amostras, obtida pelo MEV, em diferentes graus de magnificação.

As micrografias do polímero pHEMA mostram que a técnica de eletrossíntese e o procedimento de secagem permitiram obter um polímero com superfície altamente rugosa e pequenas regiões lisas. A superfície rugosa mostra nitidamente uma estrutura porosa, característico do hidrogel conforme relatado na literatura[82,83]. A micrografia revela a presença de poros assimétricos com diferente grau de profundidade, tais que alguns se assemelham a canais. O tamanho médio dos poros foi calculado utilizando o software ImageJ (editor de imagens), o cálculo foi realizado selecionando diversas áreas totalizando média de 7 poros. O tamanho médio de poros calculado para o hidrogel foi de 5-15 μm .

Segundo RAMALINGAM N.; et al(2015)[7], matrizes poliméricas com estrutura de poros e porosidade dos suportes fibrosos desempenha um papel fundamental na determinação da proliferação celular, este parâmetro foi investigado por nanofibras através de microscopia eletrônica de varredura.

Portanto, na Figura 32 (P2 e P3) pode-se verificar a distribuição dos poros do hidrogel, constituído somente por cadeias interligadas através de interação de ligação de hidrogênio. Atribuímos a elevada porosidade do hidrogel pHEMA ao procedimento de secagem, onde a amostra após a síntese, foi lavada e ainda intumescida foi congelada abaixo de -50°C e posteriormente seca por liofilização. Este procedimento garante que o tamanho dos poros da amostra seca sejam semelhantes aos poros da amostra quando esta estava intumescida contendo as moléculas de água. A elevada porosidade do pHEMA favorece a incorporação do princípio ativo no interior da matriz.

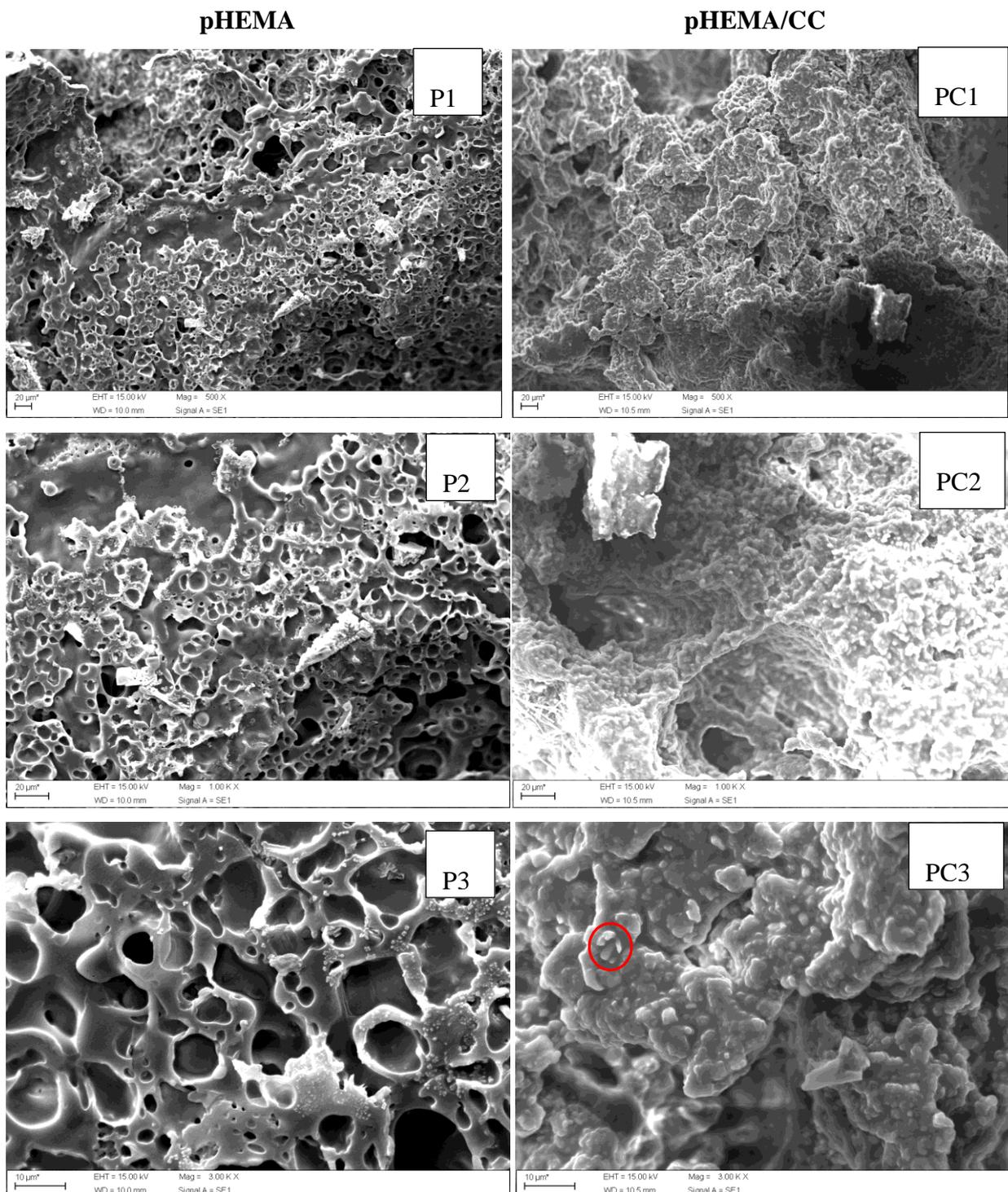


Figura 32 Micrografias do pHEMA e pHEMA/CC (P1 e PC1:500X, P2 e PC2:1000X e P3 e PC3:3000X).

Como pode ser observado nas micrografias do sistema pHEMA/CC a superfície da amostra se mostra altamente rugosa e homogênea o que demonstra que a CC se adsorve com elevada afinidade na superfície do pHEMA, ocupando completamente toda a superfície, é dizer não há evidência de regiões de pHEMA puro. Na micrografia PC3 se distinguem alguns aglomerados de cristais CC na superfície da amostra (destacados no círculo vermelho). Para

comprovar a morfologia destes cristais foi realizada uma micrografia na lateral da amostra fraturada (Figura 33).

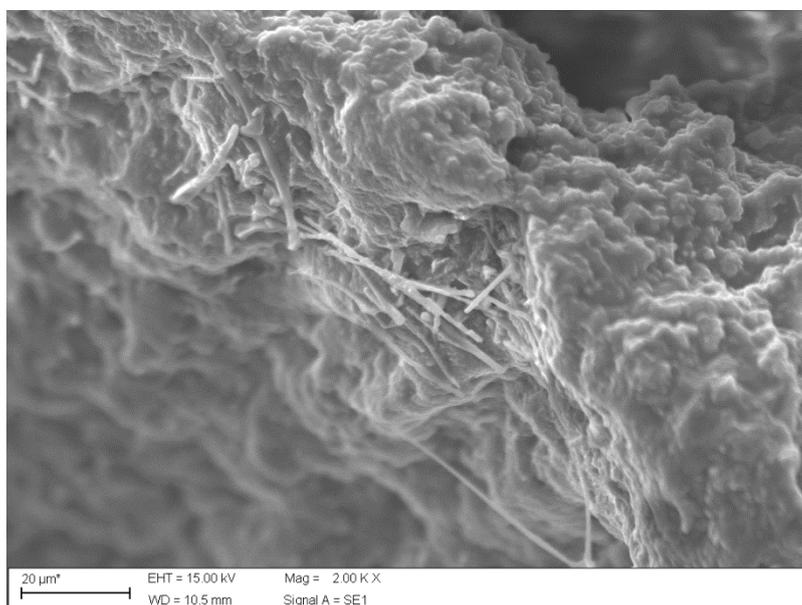


Figura 33 Micrografia do sistema pHEMA/CC (2000X).

A Figura 33 mostra a micrografia da superfície lateral após a fratura da amostra pHEMA/CC, nesta imagem são claramente definidos os cristais de CC mostrando sua morfologia tubular, com comprimento $\geq 20 \mu\text{m}$ e diâmetro de $2 \mu\text{m}$.

5.4 Estudo de Liberação “in vitro”

Para realizar o estudo de liberação “in vitro” preparou-se, primeiramente, a curva de calibração da oleoresina (contendo os curcuminóides CC), dissolvida em solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4). A solução de CC na forma de emulsão estabilizada com Tween 80 foi preparada na faixa de concentrações entre 0,0228 mg/mL a 0,0319 mg/mL. Para preparar a curva de calibração foi previamente escolhido o comprimento de onda adequado. O comprimento de onda escolhido foi de 426 nm, como mostra a Figura 34. Está máxima absorção está associada à transição eletrônica entre os orbitais moleculares π - π^* . Quando muda a estrutura e, portanto a estabilização dos estados eletrônicos, o comprimento de onda muda nos três pigmentos (chamados curcuminóides CC) encontrados na curcuma, é dizer, a curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina apresentam diferentes

absorções máximas no espectro UV-vis nos comprimentos de onda de 429, 424 e 419 nm respectivamente (em etanol). Porém, devido a estreita faixa de absorção entre as três formas é comum nos trabalhos reportar a máxima absorção da cúrcuma, como referindo-se apenas à curcumina. Também, segundo a literatura destes três pigmentos a curcumina está em maior concentração na cúrcuma[84].

Como já comentamos o valor de máxima absorção na região UV-vis, encontrado em nosso trabalho foi de 426 nm, este valor é semelhante ao encontrado na literatura para o estudo de curcumina pura procedente da Sigma Aldrich, em sistema semelhante (PBS em emulsão utilizando Tween 80 como emulsificante)[9]. Isto confirma o que a literatura já reporta, que a curcumina é a espécie de maior teor presente na cúrcuma. Na Figura 35 apresentamos a curva de calibração obtida para os CC em solução de PBS.

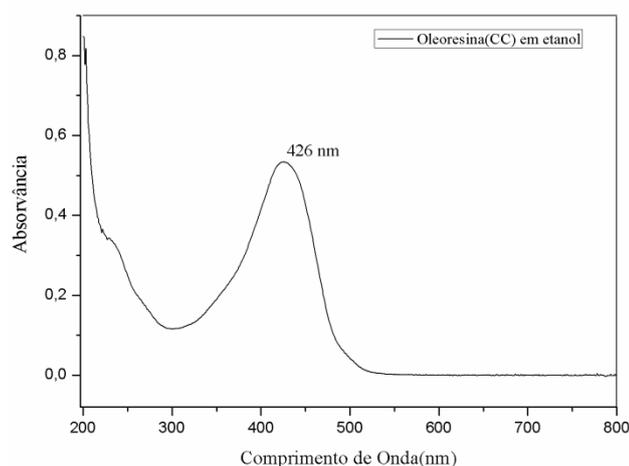


Figura 34 UV-vis da oleoresina (CC) em etanol.

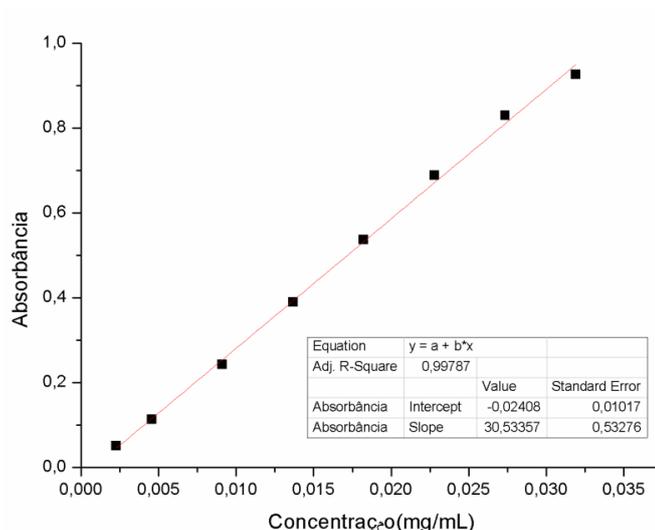


Figura 35 Curva de calibração dos CC dissolvidos em solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4).

Deste modo obtemos a equação [Eq. (13)] de calibração dos CC em solução de PBS como:

$$A = 30,53357 C - 0,02408 \quad \text{Eq. (13)}$$

Onde:

A = absorvância

C = concentração

O teste de liberação dos sistemas pHEMA/CC foram realizados em triplicata por 72 horas. Para determinação das concentrações de CC liberados nos tempos pré-determinados, utilizou-se a Eq. (13), as amostras ficaram submersas em solução de PBS (Tampão de Fosfato e Salina, pH= 7,4) à temperatura controlada de 37°C.

Antes de estudar a liberação de CC do sistema pHEMA/CC foi realizado um estudo modelo, introduzindo a oleoresina contendo os CC em saquinho de chá, este estudo foi chamado de sistema CC “livre”, pois não existe interação entre os componentes do sistema, e a liberação deve acontecer governada apenas pela difusão. Este sistema de liberação “livre” foi estudado por um período de 7hs e será apresentado apenas como comparação. O estudo de liberação in vitro de curcuminóides no sistema CC “livre” e no sistema pHEMA/CC é mostrado comparativamente na Figura 36.

Na Figura 36, podemos observar que o estudo de liberação do CC no sistema CC “livre” é mais lento em comparação com a liberação dos curcuminóides no sistema pHEMA/CC. Durante as 2 primeiras horas no sistema CC “livre” é liberado apenas 7% da massa total de CC, enquanto no sistema pHEMA/CC se libera 11% de CC, este comportamento se repete durante o tempo estudado. Durante as 7 primeiras horas demonstrou-se de grande utilidade para formulações de liberação controlada, uma vez que foi possível a observação desta liberação em forma crescente de percentual de concentração do fármaco em função do tempo. A maior velocidade de liberação inicial (15 minutos) no sistema pHEMA/CC pode ser atribuída à fração do CC adsorvido na superfície do polímero. [9] Após este tempo inicial a velocidade diminui, pois o processo começa a depender da difusão, atingindo depois uma velocidade de liberação controlada pela interação entre o pHEMA e os curcuminóides e pela difusão.

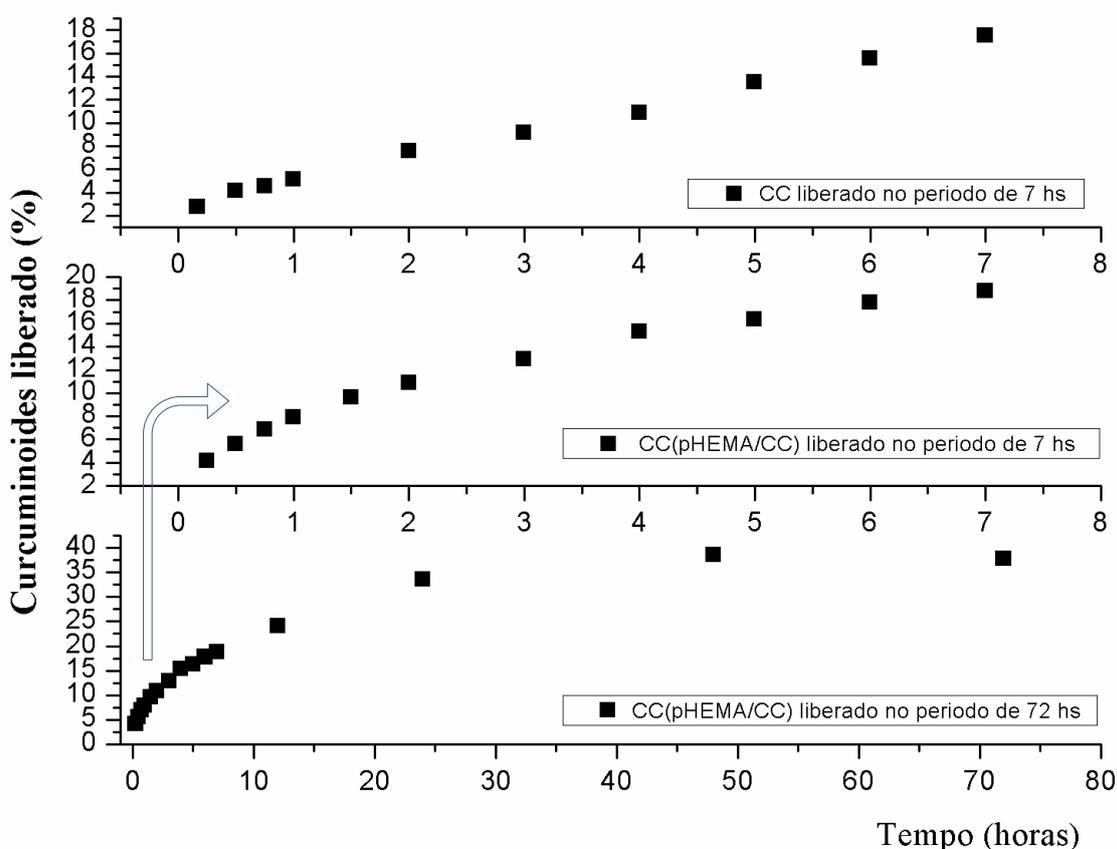


Figura 36 Liberação in vitro de CC comparativa no sistema “livre” e no sistema PHEMA/CC em PBS a pH 7,4.

A amostra pHEMA/CC, por sua vez, libera de forma crescente o princípio ativo até cerca de 48 horas de imersão em solução PBS, chegando a liberar cerca de 38,4% do princípio ativo. Após esse tempo, a liberação chega a um platô, onde a porcentagem de CC liberado não mais se altera. Considerando a massa do CC incorporados no sistema pHEMA/CC o patamar de liberação de 38,4% corresponde a uma massa de 6,5mg de CC liberados, esta concentração esta abaixo do nível tóxico reportado na literatura na qual declara 10mg/dia com base em um adulto de peso médio de 50kg[85].

A metodologia *in vitro* para o estudo de permeação cutânea usualmente ocorre pela difusão do fármaco, através da membrana[31]. Os sistemas de difusão consistem no transporte de solutos dentro de um meio. No corpo humano, uma parte destes sistemas podem ser exemplificados pela difusão de oxigênio, açúcares e proteínas no sangue e, de íons de sódio e potássio através de membranas de células. Em todos estes sistemas fisiológicos envolve-se difusão (simultânea) de solutos. A base teórica da difusão é usada como princípio para a liberação controlada de droga[86].

Assim como já foi mencionado no capítulo anterior, a cinética de liberação do princípio ativo envolve processos simultâneos de absorção de água pelo hidrogel, intumescimento e relaxamento das cadeias poliméricas e a liberação do fármaco incorporado, onde a liberação do princípio ativo é controlada pela interação entre a água, o polímero e o princípio ativo[29].

Deste maneira, a partir dos dados experimentais, os parâmetros de liberação foram calculados e obtidos através do procedimento matemático apresentado pelas Eq. (11) e Eq. (12) no capítulo 4.2.2.2, onde podemos determinar a constante cinética k e o coeficiente difusional n . Os resultados obtidos são apresentados na Figura 37 e os parâmetros k e n resumidos na Tabela 9.

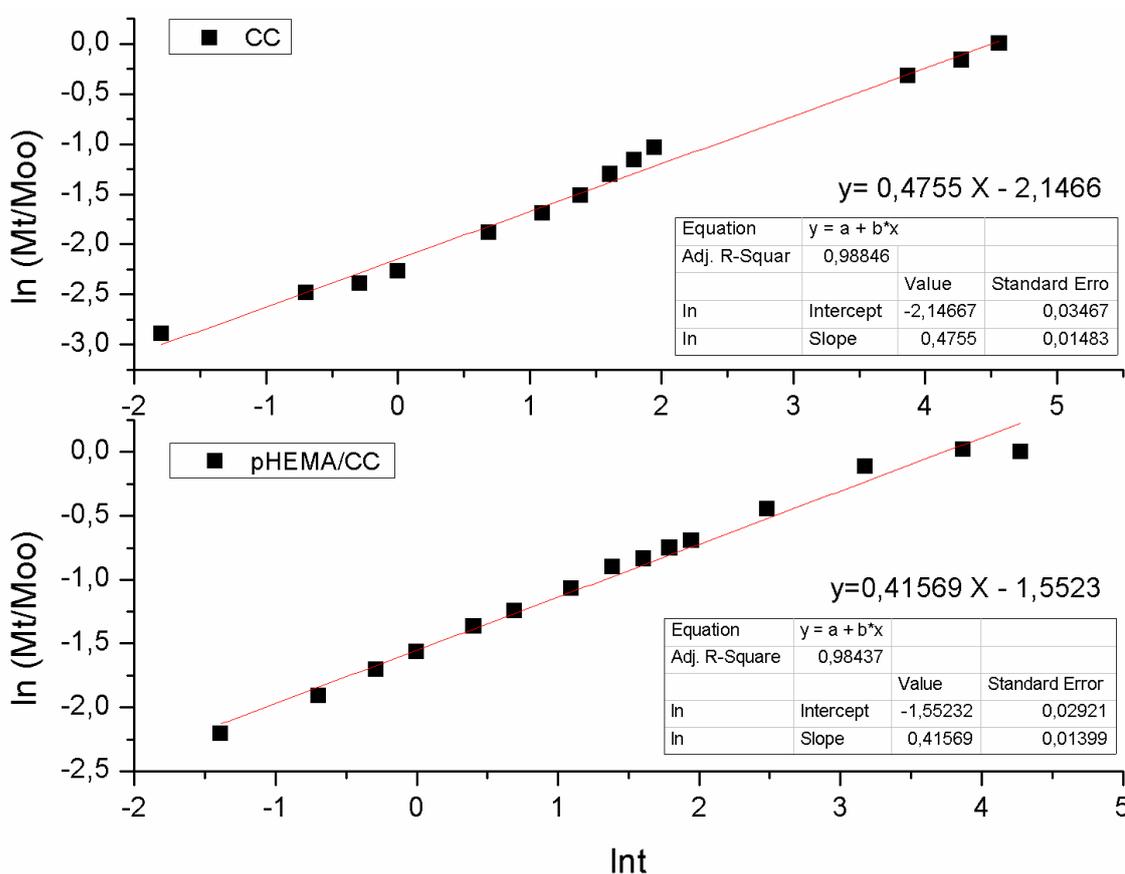


Figura 37 $\ln(Mt/M_\infty)$ em função de $\ln t$ no sistema CC “livre” e no sistema pHEMA/CC.

A análise dos estudos da cinética de liberação têm se tornado alvo para compreender o processo de liberação de solutos a partir de matrizes poliméricas. A Eq. (12) apresentada na metodologia (capítulo 4), é geralmente usada para analisar o processo de liberação de solutos encapsulados, a fim de caracterizar o mecanismo predominante durante a liberação[49]. A

partir da linearização da Eq. (12) obtida através do gráfico de $\ln M_t / M_\infty$ em função de $\ln t$, foi obtido o expoente difusional n e a constante k .

Tabela 9 Valores das constantes n e K para o sistema pHEMA/CC imerso em solução PBS.

	n	K
Sistema CC “livre”	0,47	0,11
Sistema pHEMA/CC	0,41	0,21

Os dados de liberação do sistema pHEMA/CC apresentados $n=0,41$ na Tabela 9 indica que, o mecanismo de liberação observado é o de difusão do soluto através de camadas da matriz, também conhecido como mecanismo de liberação Fickiana (Tabela 2– Capítulo 4). Segundo FU, Y. et al. (2010)[87] para os dispositivos do tipo matriz, a liberação do fármaco é mais provável que seja a difusão Fickiana, que está associada com um gradiente de concentração, distância de difusão, e o grau de intumescimento. A difusão Fickiana é descrita por CARDOT (1997)[88], como método na qual a molécula dissolve-se na membrana, antes de atravessar, sendo que este fenômeno não necessita de energia, isto é, atinge o equilíbrio quando as concentrações se tornam iguais de um lado e de outro da membrana e quando a velocidade de passagem é proporcional à quantidade que permanece por absorver.

O valor da constante cinética k representa a velocidade com a qual o sistema se desenvolve no início da liberação, o valor maior para o sistema pHEMA/CC confirma o que já foi discutido, a presença de CC na superfície do pHEMA aumenta a velocidade inicial de liberação do princípio ativo neste sistema. Para um maior controle da velocidade inicial o sistema deve ser desenhado na forma de micro ou nanopartículas contendo o princípio ativo no interior.

6 CONCLUSÃO

A partir da discussão de resultados descrita no capítulo anterior, podemos concluir que o sistema polimérico desenvolvido no presente dissertação de Mestrado, baseado em poli(2-hidroxietilmetacrilato)/curcuminóides (pHEMA/CC) se mostra um sistema potencialmente efetivo para a incorporação, transporte e liberação controlada dos curcuminóides com a finalidade de tratar o câncer, através da administração de níveis terapêuticos adequados e permitindo assim a diminuição dos efeitos colaterais desta substância no organismo. De maneira resumida detalharemos as principais conclusões.

A partir do estudo da extração, dos pigmentos curcuminóides do açafrão da Índia por dois métodos diferentes, encontramos que o método 2 “extração de Soxhlet” foi o mais eficiente com rendimento de 3,4% e maior teor de cristais formados após cristalização, como mostrou a análise de MO. O extrato de oleoresina obtido pelo método 2 foi caracterizado por diferentes técnicas físico-químicas. A espectroscopia de infravermelho (FTIR) confirmou as bandas características dos curcuminóides no extrato, obtido por ambos os métodos de extração. O FTIR da oleoresina cristalizada mostrou diferenças no número de onda das bandas características dos curcuminóides, o que atribuímos a maior constante de força das ligações quando a substância está cristalizada. O espectro de UV-vis confirmou que a curcumina é a fração mais abundante entre os curcuminóides. A análise termogravimétrica (TGA) mostra o perfil de degradação da oleoresina em 3 estágios, mantendo-se até 800°C um resíduo. Os resultados da análise de TGA sugerem que o teor de curcuminóides na oleoresina é de 72,26 %. A análise por difração de Raios-X (DRX) demonstrou que para observar o padrão cristalino dos cristais de curcuminóides a amostra deve ser previamente preparada.

A técnica de polimerização eletroiniciada do pHEMA mostrou ser efetiva, obtendo-se um rendimento médio de 41,72 %. A massa molar viscosimétrica média foi determinada para o hidrogel pHEMA sintetizado encontrando um valor de $1,2919 \times 10^6$ g/mol. A espectroscopia de FTIR confirmou a polimerização do pHEMA a partir da ausência da banda de vibração de estiramento da ligação (C=C). O perfil da curva de TGA do pHEMA evidenciou alto teor de umidade e presença de monômero, a depolimerização do pHEMA acontece a uma temperatura ligeiramente menor à relatada na literatura para este polímero, obtido por outras rotas sintéticas.

A preparação do sistema polimérico pHEMA/CC foi realizada através de dois procedimentos de mistura física em solução dos componentes pHEMA e curcuminóides: (A)

solução aquosa, (B) solução de monômero HEMA. O segundo procedimento mostrou ser mais efetivo. O sistema polimérico foi caracterizado por FTIR, TGA, DRX e microscopia eletrônica de varredura (MEV). O FTIR mostrou a incorporação dos curcuminóides na matriz do pHEMA. O deslocamento das bandas características do pHEMA sugeriram uma forte interação de ligação de hidrogênio entre o pHEMA e os CC. A análise de TGA confirma está forte interação mostrando a estabilização térmica do sistema pHEMA/CC. O MEV revela uma estrutura altamente porosa no pHEMA e a incorporação homogênea dos CC na superfície do pHEMA. O MEV e DRX revelam a presença de cristais de CC na matriz pHEMA.

O estudo de liberação controlada “*in vitro*” da CC em solução simuladora de fluido biológico a 37°C mostrou que o sistema segue a Lei de Fick, liberando concentrações dentro da faixa terapêutica.

REFERÊNCIAS

- [1] HELENA, M. e OLIVEIRA, R. *Instituto Nacional de Câncer (INCA)*. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2015.
- [2] SILVA, J. A. G. Da. *Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil*. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/estimativa-24042014.pdf>>. Acesso em: 19 ago. 2015.
- [3] SILVA, J. A. G. Da. *Medicamento de alto custo para câncer de mama será incorporado no SUS*. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2012/medicamento_alto_custo_cancer_mama_sera_incorporado_sus>. Acesso em: 7 jan. 2016.
- [4] ALMEIDA, V. L. De et al. CÂNCER E AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CICLO-CELULAR ESPECÍFICOS E CICLO-CELULAR NÃO ESPECÍFICOS QUE INTERAGEM COM O DNA: UMA INTRODUÇÃO. *Quim. Nova*, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.
- [5] YADAV, D. e KUMAR, N. Nanonization of curcumin by antisolvent precipitation: Process development , characterization , freeze drying and stability performance. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 477, p. 564–577, 2014.
- [6] AGGARWAL, B.;; KUMAR, A. e BHARTI, A. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer res*, v. 398, p. 363–398, 2003.
- [7] RAMALINGAM, N.;; NATARAJAN, T. S. e RAJIV, S. Preparation and characterization of electrospun curcumin loaded poly(2-hydroxyethyl methacrylate) nanofiber--a biomaterial for multidrug resistant organisms. *Journal of biomedical materials research. Part A*, v. 103, n. 1, p. 16–24, doi:10.1002/jbm.a.35138, 2015.
- [8] PRASAD, S. e AGGARWAL, B. B. Recent Developments in Delivery , Bioavailability , Absorption and Metabolism of Curcumin : the Golden Pigment from Golden Spice. *Cancer Res Treat.*, v. 46, n. 1, p. 2–18, 2014.
- [9] KUMAR, S. S. D. et al. Curcumin loaded poly (2-hydroxyethyl methacrylate) nanoparticles from gelled ionic liquid – In vitro cytotoxicity and anti-cancer activity in. *Eur J Pharm Sci*, v. 51, p. 34–44, 2014.
- [10] JURENKA, J. S. e ASCP, M. T. Anti-inflammatory Properties of Curcumin , a Major Constituent of Curcuma longa : A Review of Preclinical and Clinical Research.

Alternative Medicine Review, v. 14, n. 2, p. 141–153, 2009.

[11] BHARALI, D. J. et al. Nanoparticle Delivery of Natural Products in the Prevention and Treatment of Cancers: Current Status and Future Prospects. *Cancers*, v. 3, n. 4, p. 4024–4045, doi:10.3390/cancers3044024, 2011.

[12] GEYIK, C. et al. Controlled release of anticancer drug Paclitaxel using nanostructured amphiphilic star-hyperbranched block copolymers. *Polymer Chemistry*, v. 6, n. 30, p. 5470–5477, doi:10.1039/c5py00780a, 2015.

[13] MALMONGE, S. M. e ZAVAGLIA, C. A. C. Hidrogéis de PoliHEMA para Reparo de Defeitos da Cartilagem Articular . 1 - Síntese e Caracterização Mecânica. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 7, n. 2, p. 22–29, 1997.

[14] MAHESHWARI, R. K. et al. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life sciences*, v. 78, n. 18, p. 2081–7, doi:10.1016/j.lfs.2005.12.007, 2006.

[15] ARAÚJO, C. A. C. e LEON, L. L. Biological Activities of Curcuma longa L . *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 96, n. July, p. 723–728, 2001.

[16] BISHT, S. et al. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin (“nanocurcumin”): a novel strategy for human cancer therapy. *Journal of nanobiotechnology*, v. 5, n. 3, p. 1–18, doi:10.1186/1477-3155-5-3, 2007.

[17] ZEBIB, B.; MOULOUGUI, Z. e NOIROT, V. Stabilization of curcumin by complexation with divalent cations in glycerol/water system. *Bioinorganic chemistry and applications*, p. 1–8, doi:10.1155/2010/292760, 2010.

[18] PARIZE, A. L. *Desenvolvimento de sistemas microparticulados e de filmes a base de quitosana e corante natural cúrcuma*. Universidade Federal de Santa Catarina - [S.l.]. 2009.

[19] TEITEN, M.-H. et al. Curcumin — The Paradigm of a Multi-Target Natural Compound with Applications in Cancer Prevention and Treatment. *Toxins*, v. 2, n. 1, p. 128–162, doi:10.3390/toxins2010128, 2010.

[20] NUNES, A. R. *Liberção Controlada de Curcumina Ancorada em Sílica Hexagonal Mesoporosa Liberção Controlada de Curcumina Ancorada em Sílica Hexagonal*. Universidade de Brasília - [S.l.]. 2013.

[21] XIAO, Z. et al. Potential therapeutic effects of curcumin: relationship to microtubule-associated proteins 2 in A β 1-42 insult. *Brain research*, v. 1361, p. 115–23, doi:10.1016/j.brainres.2010.09.019, 2010.

[22] SINGH, P. K. et al. From micron to nano-curcumin by sophorolipid co-processing: highly enhanced bioavailability, fluorescence, and anti-cancer efficacy. *RSC*

Advances, v. 4, p. 60334–60341, doi:10.1039/C4RA07300B, 2014.

[23] GUHR, G. e LACHANCE, P. A. Role of Phytochemicals in Chronic Disease Prevention. In: PRESS, F. & N. (Ed.). *Nutraceuticals: Designer Foods III: Garlic, Soy and Licorice*. New Brunswick, New Jersey: [s.n.], 2008. p. 311.

[24] H1, Z.;; CS, B. e S., H. Targets of curcumin. *Curr Drug Targets*, v. 12, n. 3, p. 332–347, 2012.

[25] PUBMED. *Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia*. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=polymer+curcumin>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

[26] SEVERINO, P. et al. Polímeros Usados como Sistemas de Transporte de Princípios Ativos. *Polímeros*, v. 21, n. 5, p. 361–368, 2011.

[27] GHALANDARLAKI, N.;; ALIZADEH, A. M. e ASHKANI-ESFAHANI, S. Nanotechnology-Applied Curcumin for Different Diseases Therapy. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 23, 2014.

[28] SUNDAR, S. et al. Synthesis and characterization of curcumin loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF-7 cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1840, n. 6, p. 1913–1922, 2014.

[29] LOPES, C. M. et al. Formas farmacêuticas de liberação modificada : polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.

[30] NICOLETTI, C. D.;; PAULA, A. e FRASSON, Z. Formas de liberação controlada: *Revista Contexto & Saúde*, v. 5, n. 10, p. 65–74, 2006.

[31] ALLEN, L. V.;; POPOVICH, N. G. e ANSEL, H. C. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 2011.

[32] KANJICKAL, D. G. e LOPINA, S. T. Modeling of Drug Release from Polymeric Delivery Systems — A Review. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*, v. 21, n. 5, p. 345–386, 2004.

[33] LAO, L. L. et al. Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. *International journal of pharmaceuticals*, v. 418, n. 1, p. 28–41, doi:10.1016/j.ijpharm.2010.12.020, 2011.

[34] JANSIRANI, D. et al. Comparative evaluation of various extraction methods of curcuminoids from *Curcuma longa*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* ISSN:, n. 4, p. 286–288, 2014.

[35] SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Editora, 2007. p. 1102

- [36] BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F. e REGITANO-D´ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 849–854, 2009.
- [37] VOGEL, A. I. *Química Orgânica: Análise Orgânica Qualitativa*. 3. ed. Rio de Janeiro: Técnico SA, 1978. p. 164–169
- [38] MORRISON, R., BOYD, R. *Química Orgânica*. 15. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2009. p. 559.
- [39] IONASHIRO, M. . G. *Fundamentos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial*. São Paulo: Giz Editorial, 2005. p. 98
- [40] CALLISTER JUNIOR., W. D. *Ciência e engenharia de materiais: uma introdução*. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. p. 705
- [41] DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I. e MACHADO, G. *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Disponível em: <<http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2015.
- [42] CANEVAROLO JR., S. V. *Ciência dos polímeros: um teste básico para tecnólogos e engenheiros*. 2. ed. São Paulo: Artliber Editora, 2006. p. 282
- [43] LUCAS, E. F.; SOARES, B. G. e MONTEIRO, E. *Caracterização de Polímeros Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica*. 1. ed. Rio de Janeiro: E-papers, 2001. p. 357
- [44] PAIS, M. Polímeros, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química*, v. 24, n. Série II, p. 19–22, 1986.
- [45] RIMMER, S. et al. Highly branched poly- (N-isopropylacrylamide)s with arginine–glycine–aspartic acid (RGD)- or COOHchain ends that form sub-micron stimulus-responsive particles above the critical solution temperature. *Soft Matter*, v. 3, n. 8, p. 971, doi:10.1039/b705188c, 2007.
- [46] SATO, M. E. O. et al. Permeação cutânea in vitro do ácido kójico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 2, p. 195–203, 2007.
- [47] TERENCE, M. C. *Obtenção de um sistema de liberação controlada de drogas a partir do pval irradiado com radiação gama. mauro César terence*. Universidade de São Paulo - [S.l.]. 2002.
- [48] LYRA, M. A. M. De; SOARES-SOBRINHO, J. L. e BRASILEIRO, M. T. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 5, p. 784–93, 2007.

[49] KORSMEYER, R. W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 15, n. 1, p. 25–35, 1983.

[50] RITGER, P. L. e PEPPAS, N. A. A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE. *Journal of Controlled Release*, v. 5, p. 23–36, 1987.

[51] SIEPMANN, J. e PEPPAS, N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) ☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, p. 163–174, 2012.

[52] RATANAJAJAROEN, P. et al. Release characteristic and stability of curcumin incorporated in b-chitin.pdf. *European Polymer Journal*, v. 48, n. 3, p. 512– 523, 2012.

[53] SRINIVASAN, K. A chromatographic study of the curcuminoids in *Curcuma longa*, L. *Journal of Pharmacy and pharmacology*, v. 5, n. 7, p. 448–57, 1953.

[54] MATHAI, C. K. The pattern of rhizome yield and their accumulation of commercially important chemical constituents in turmeric (*Curcuma* species), during growth and development. *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, v. 28, n. 3, p. 219–225, 1979.

[55] PEPPAS, N. A. et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 50, p. 27–46, 2000.

[56] BEERS, K. L. et al. Atom Transfer Radical Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate. *Macromolecules*, v. 32, n. 18, p. 5772–5776, 1999.

[57] ÇAYKARA, T.;; ÖZYÜREK, C. e KANTOĞLU, Ö. Investigation of Thermal Behavior of Poly (2-hydroxyethyl methacrylate- co -itaconic acid) Networks. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 103, n. 3, p. 1602–1607, doi:10.1002/app, 2007.

[58] FLORY, P. J. *Principles of polymer chemistry*. 5. ed. New York: Cornell University Press, 1953. p. 687

[59] ODIAN, G. *Principles of polymerization*. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 2004. p. 6

[60] DECKER, C.;; VATAJ, R. e LOUATI, a. Synthesis of acrylic polymer networks by electroinitiated polymerization. *Progress in Organic Coatings*, v. 50, n. 4, p. 263–268, doi:10.1016/j.porgcoat.2004.03.005, 2004.

[61] GREEN, C. H. E. G. et al. Extraction , Processing , and Storage Effects on Curcuminoids and Oleoresin Yields from *Curcuma longa* L . Grown in Jamaica. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 10, p. 3664–3670, 2008.

[62] NAGARAJAN, S.;; KUBRA, I. R. e RAO, L. J. M. Separation of curcuminoids enriched fraction from spent turmeric oleoresin and its antioxidant potential. *Journal of food*

science, v. 75, n. 6, p. H158–62, doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01696.x, 2010.

[63] VU, T. B. et al. Structural and Spectral Properties of Curcumin and Metal-Curcumin Complex Derived from Turmeric (*Curcuma longa*). *Physics and Engineering of New Materials*, v. 127, p. 271–278, 2009.

[64] BETTINI, S. et al. Drastic nickel ion removal from aqueous solution by curcumin-capped Ag nanoparticles. *Nanoscale*, v. 6, n. 17, p. 10113–10117, doi:10.1039/c4nr02583k, 2014.

[65] KIM, H. et al. Curcumin Dye Extracted from *Curcuma longa* L. Used as Sensitizers for Efficient Dye-Sensitized Solar Cells. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 8, n. 6, p. 8320–8328, 2013.

[66] ALI, M. S. et al. Mucoadhesive microparticulate drug delivery system of curcumin against *Helicobacter pylori* infection: Design, development and optimization. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, v. 5, n. 1, p. 48–56, doi:10.4103/2231-4040.126996, 2014.

[67] SOCORRO, M. M. L. DEL;; TEVES, F. G. e MADAMBA, M. R. S. B. DNA-binding Activity and Partial Characterization by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) of *Curcuma longa* L. SC-CO₂ Extracts. *International Research Journal of Biological Sciences*, v. 2, n. 5, p. 40–44, 2013.

[68] DUTTA, A. et al. Stabilization of diketo tautomer of curcumin by premicellar cationic surfactants : A spectroscopic , tensiometric and TD-DFT study. *Journal of Molecular Liquids*, v. 187, p. 350–358, 2013.

[69] COATES, J. e ED, R. A. M. *Interpretation of Infrared Spectra , A Practical Approach. Encyclopedia of Analytical Chemistry*. [S.l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2000.

[70] SOUGUIR, H.;; SALAÜN, F. e DOUILLET, P. Nanoencapsulation of curcumin in polyurethane and polyurea shells by an emulsion diffusion method. *Chemical Engineering ...*, v. 221, p. 133–145, 2013.

[71] CHEN, Z. et al. Thermal degradation kinetics study of curcumin with nonlinear methods. *Food chemistry*, v. 155, p. 81–6, doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.034, 2014.

[72] PIELICHOWSKI, K. e NJUGUN, J. *Thermal Degradation of Polymeric Materials*. 1. ed. [S.l.]: Smithers Rapra Technology, 2005. p. 316

[73] FECCHIO, B. D. et al. Thermal Decomposition of Polymer/Montmorillonite Nanocomposites Synthesized. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 00, n. 00, p. 1–7, 2015.

[74] KHAN, W. H. e RATHOD, V. K. Process Intensification Process intensification approach for preparation of curcumin nanoparticles via solvent – nonsolvent

nanoprecipitation using spinning disc reactor. *Chemical Engineering and Processing*, v. 80, p. 1–10, 2014.

[75] DAKHEL, A. A. et al. Extraction and dielectric properties of curcuminoid films grown on Si substrate for high-k dielectric applications Different enol forms. *Materials Science and Engineering B*, v. 178, n. 16, p. 1062–1067, 2013.

[76] ZAHEDI, P. e LEE, P. I. Solid molecular dispersions of poorly water-soluble drugs in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, v. 65, n. 3, p. 320–8, doi:10.1016/j.ejpb.2006.10.025, 2007.

[77] NGUYEN, V. H. et al. Supercritical fluid mediated synthesis of poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/Fe₃O₄ hybrid nanocomposite. *Materials Science and Engineering: B*, v. 176, n. 10, p. 773–778, doi:10.1016/j.mseb.2011.02.020, 2011.

[78] FORT, R. J. e POLYZOIDS, T. M. INTRINSIC VISCOSITY-MOLECULAR WEIGHT ~ 2 A B. *European Polymer Journal*, v. 12, p. 685–689, 1976.

[79] PRASHANTHA, K. et al. Electrochemical synthesis of poly[2-hydroxyethylmethacrylate] hydrogel: Kinetics and mechanism. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 84, n. 5, p. 983–992, doi:10.1002/app.10299, 2002.

[80] PRASHANTHA, K.; VASANTH, K. e PAI, K. Kinetics of Polymerization of 2-Hydroxyethylmethacrylate Initiated by a Titanium (III) -Dimethylglyoxime Redox System. *Turk J Chem*, v. 27, p. 99–110, 2003.

[81] VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L. e CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010.

[82] GUZMAN, M. De et al. Effect of compatibilizer on compatibility and pervaporation performance of PC / PHEMA blend membranes. *Journal of Membrane Science*, v. 378, p. 503–511, doi:10.1016/j.memsci.2011.05.035, 2011.

[83] DAVID, G.; SIMIONESCU, B. C. e ALBERTSSON, A. Rapid Deswelling Response of Poly (N -isopropylacrylamide)/ Poly (2-alkyl-2-oxazoline)/ Poly (2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels. *Biomacromolecules*, v. 9, n. 6, p. 1678–1683, 2008.

[84] PERET-ALMEIDA, L. et al. Separation and determination of the physico-chemical characteristics of curcumin , demethoxycurcumin and bisdemthoxycurcumin. *Food Research International*, v. 38, p. 1039–1044, doi:10.1016/j.foodres.2005.02.021, 2005.

[85] BURGOS-MORON, E. et al. The dark side of curcumin. *International Journal of Cancer*, v. 126, p. 1771–1775, 2010.

[86] CUSSLER, E. L. *DIFFUSION MASS TRANSFER IN FLUID SYSTEMS*. 3. ed.

Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 647

[87] FU, Y. e KAO, W. J. Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Nondegradable and Degradable Polymeric Delivery Systems. *Expert Opin Drug Deliv*, v. 7, n. 4, p. 429–444, doi:10.1517/17425241003602259.Drug, 2011.

[88] CARDOT, J. M. *Tratado de biofarmácia e farmacocinética*. Quebec: Ciência e técnica, 1997.