



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Giuliana Valentini

**Desenvolvimento de membranas poliméricas de acetato succinato de
hidroxipropilmetilcelulose e kappa carragena contendo curcumina visando o tratamento
tópico**

Florianópolis
Setembro / 2022

Giuliana Valentini

Desenvolvimento de membranas poliméricas de acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose e kappa carragena contendo curcumina visando o tratamento tópico

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Química
Orientador: Prof. Alexandre Luis Parize, Dr.

Florianópolis
Setembro / 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Valentini, Giuliana

Desenvolvimento de membranas poliméricas de acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose e kappa carragena contendo curcumina visando o tratamento tópico / Giuliana Valentini ; orientador, Alexandre Luis Parize, 2022.
186 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Química. 2. Curcumina. 3. Membrana. 4. Polímero. 5. Tópico. I. Parize, Alexandre Luis . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Giuliana Valentini

Desenvolvimento de membranas poliméricas de acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose e kappa carragena contendo curcumina visando o tratamento tópico

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Marcia Margarete Meier, Dra.
UDESC/Joinville

Profa. Vera Lúcia Azzolin Frescura Bascuñan, Dra.
UFSC

Profa. Giovana Carolina Bazzo, Dra.
UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestrado em Química.

Prof. Giovanni Finoto Caramori, Dr.
Coordenador do Programa

Prof. Alexandre Luis Parize, Dr.
Orientador

Florianópolis, Setembro de 2022.

Aos meus pais, por me ensinarem o verdadeiro valor do conhecimento.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Um trabalho acadêmico nunca é desenvolvido solo. Aqui segue os meus agradecimentos, que não descrevem e não dimensionam a ajuda e apoio que tive durante este período.

Aos meus pais, Teresinha Q. Valentini e Sérgio Valentini, pelo incentivo, confiança e os valiosíssimos conselhos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre L. Parize, pelo apoio, confiança e paciência.

Aos meus amigos e colegas do POLIMAT, pela companhia diária e troca de ideias.

A Dra. Natália B. Caon, Dra. Mariele P. Sanches e Dra. Rubiane M. Mayer pelo apoio, motivação, ensinamentos e amizade que transcendem o laboratório.

A minha irmã, Geovana F. Valentini, por ser a minha melhor amiga, confidente e inspiração.

Ao Dr. Adalberto E. Junior, Dr. Idejan P. Gross e doutorando Rodrigo H. Saatkamp pelo exemplo, ensinamentos e disposição em ajudar sempre.

Ao LINDEN e POLISSOL pelo acesso às análises de potencial zeta, espalhamento de luz e fluorescência.

A Dra. Juliana P. Dreyer pela disponibilidade para adquirir as imagens de TEM e ajuda com as análises de fluorescência.

Ao LCME-UFSC pela aquisição das imagens de SEM, especialmente a Técnica Susane Lopes.

Ao Prof. Dr. Adailton Bortoluzzi pelas análises de XRPD e a disponibilidade em sanar quaisquer dúvidas que pudessem surgir.

A Profa. Dra. Giovana C. Bazzo e a Profa. Dra Hellen K. Stulzer, do laboratório de controle de qualidade CCS/UFSC pelas análises microbiológicas e atividade antioxidante.

A Dra. Debora e ao Prof. Dr. Thiago Caon, do Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia, CCS/UFSC pelo auxílio nos ensaios de permeação cutânea.

A Centrais de Análises do Departamento de Química e Engenharia Química, por seus professores, alunos e técnicos.

Aos órgãos de fomento, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

“What we know is a drop, what we don't know is an ocean.”

Isaac Newton

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de dispersões sólidas na forma de membranas utilizando a blenda de Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) e Kappa carragena (κ -CAR) contendo Curcumina (CUR) visando o tratamento tópico. No Capítulo I foi explanado a revisão bibliográfica e os objetivos. No Capítulo II, através da calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi identificado que a CUR tem solubilidade máxima de 14,2 e 5,1 % (m/m) para o HPMCAS e κ -CAR, respectivamente. O parâmetro de Flory-Huggins (χ_f) foi calculado e classificado como sendo uma mistura miscível e exotérmica para o HPMCAS-CUR e imiscível para κ -CAR-CUR. Utilizando a fluorescência foi estimado a solubilidade intrínseca (χ) da CUR no HPMCAS e verificado que ela é inversamente proporcional a temperatura. Também foi determinado os parâmetros termodinâmicos indicando ser um processo exotérmico e espontâneo. Por espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi caracterizado a formação de nano e micropartículas coloidais classificadas como instáveis ($< \pm 30$ mV) por potencial zeta (ζ). As partículas também foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) que exibiram uma tendência semelhante ao observado por DLS. Foi calculado o grau de cristalinidade (X_c) da CUR no estado sólido e no estado fundido (por DSC) constatando que, no estado sólido, o X_c foi significativamente maior. A determinação da solubilidade no equilíbrio (48 h) evidenciou que o HPMCAS promove um estado metaestável. O Capítulo III mostra o desenvolvimento das membranas a base de HPMCAS/ κ -CAR (50, 60 e 70 % (m/m) de HPMCAS) contendo CUR por *casting*. Os dados provenientes da microscopia de luz polarizada (PLOM) demonstraram a homogeneidade e a predominância amorfa da CUR nas membranas. A espectroscopia UV-vis caracterizou de que maneira as diferentes proporções entre os polímeros afetam o equilíbrio diceto/ceto-enólico da CUR. Por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi constatado bandas deslocadas nas blendas atribuídas a interações intermoleculares entre os polímeros. Por difração de raios X (XRD) foi verificado o perfil amorfo das membranas contendo CUR indicando a efetividade da dispersão sólida. Através da análise termogravimétrica (TGA) foi verificado para as membranas um perfil térmico menos estável, quando comparado ao HPMCAS. O DSC caracterizou o efeito plastificante da κ -CAR nas blendas. A CUR exibiu um comportamento de reticulante na membrana 50% e 70% e plastificante na 60%, perfil que corrobora com os dados da cinética de degradação. Pelo DMA foi possível caracterizar o aumento do módulo elástico com a adição da CUR. Foi constatado no ensaio de tensão *versus* deformação um perfil distinto do DSC, possivelmente devido a presença de água, que pode estar atuando como reticulante. O ângulo de contato (CA) permitiu determinar a energia superficial (γ_t) e mediante, foi verificado o potencial das formulações contendo CUR como um dispositivo tópico, principalmente a 50% de HPMCAS. Por microscopia eletrônica de varredura (SEM), foi caracterizado superfícies lisas e estruturas internas porosas. No Capítulo IV foi avaliado a cinética de liberação que constatou o modelo de Primeira ordem e Kosmeyer-Peppas como descritores. A permeação cutânea evidenciou uma maior deposição da CUR na epiderme do que na derme. Testes microbiológicos mostraram que as membranas contendo CUR foram eficientes contra as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A atividade antioxidante com DPPH demonstraram resultados de IC_{50} em torno de 6,125 mg L⁻¹.

Palavras-chave: Curcumina. Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose. Kappa carragena, Membrana.

ABSTRACT

The present work aimed at the development of solid dispersions in the form of membranes using a blend of Hydroxypropylmethylcellulose Acetate Succinate (HPMCAS) and Kappa carrageenan (κ -CAR) containing Curcumin (CUR) for topical treatment. In Chapter I the bibliographic review and objectives were explained. In Chapter II, through differential scanning calorimetry (DSC), it was identified that the CUR has a maximum solubility of 14.2 and 5.1 % (w/w) for HPMCAS and κ -CAR, respectively. The Flory-Huggins parameter (χ_f) was calculated and classified as being a mixture that is miscible and exothermic for HPMCAS-CUR and immiscible and endothermic for κ -CAR-CUR. Using fluorescence, the intrinsic solubility (χ) of CUR in the HPMCAS was estimated and verified that it is inversely proportional to temperature. Thermodynamic parameters were also determined, indicating that it is a predominantly exothermic and spontaneous process. Dynamic light scattering (DLS) characterized the formation of colloidal nano and microparticles classified as unstable ($< \pm 30$ mV) by zeta potential (ζ). The particles were also characterized by transmission electron microscopy (TEM) which exhibited a trend like that observed by DLS. The degree of crystallinity (X_c) of CUR in the solid state and in the molten state (by DSC) was calculated, noting that in the solid state the X_c was significantly higher. The determination of solubility at equilibrium (48 h) evidenced that HPMCAS promotes a metastable state. Chapter III shows the development of membranes based on HPMCAS/ κ -CAR (50, 60 and 70% (w/w) HPMCAS) containing CUR by casting. Data from polarized light microscopy (PLOM) showed the homogeneity and amorphous predominance of CUR in the membranes. UV-vis spectroscopy characterized how different proportions between polymers affect the diketo/keto-enol balance of CUR. By spectroscopy in the infrared region (FTIR) it was observed bands shifted in the blends attributed to intermolecular interactions between the polymers. By X-Ray Diffraction (XRD) the amorphous profile of the CUR-containing membranes was verified, indicating the effectiveness of the solid dispersion. Through the thermogravimetric analysis (TGA) a less stable thermal profile was verified for the membranes, when compared to HPMCAS. DSC characterized the plasticizing effect of κ -CAR in blends. The CUR exhibited a cross-linking behavior in the membrane 50% and 70% and plasticizing in the 60%, a profile that corroborates with the data of the degradation kinetics. It was found the lowest degradation activation energy (E_a) for the 50% sample, in line with the data obtained by TGA. Through DMA it was possible to characterize the increase in elastic modulus with the addition of CUR. In the stress *versus* strain test, a distinct profile from the DSC was observed, possibly due to the presence of water, which may be acting as a cross-linker. The contact angle (CA) allowed the determination of the surface energy (γ_t) and through this, the potential of formulations containing CUR as a topical device was verified, mainly at 50% of HPMCAS. By scanning electron microscopy (SEM) smooth surfaces and internal porous structures were characterized. In Chapter IV the release kinetics was evaluated, which found the First order model and Kosmeyer-Peppas as descriptors. The cutaneous permeation evidenced a greater deposition of CUR in the epidermis than in the dermis. Microbiological tests showed that CUR containing membranes were effective against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains. Antioxidant activity with DPPH showed IC_{50} results around 6.125 mg L^{-1} .

Keywords: Curcumin. Hydroxypropylmethylcellulose succinate acetate. Kappa carragena. Membrane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema organizacional do presente trabalho.	17
Figura 2. Representação esquemática da estrutura e camadas da pele humana.	22
Figura 3. Estrutura dos principais curcuminóides presentes no açafrão: (A) Curcumina (~77%), (B) Demetóxi (~18%) e (C) Bisdemetóxicurcumina (~5%).....	24
Figura 4. Equilíbrio tautomérico diceto/ceto-enólico da curcumina.	25
Figura 5. Esquema representativo de uma dispersão sólida utilizando um fármaco cristalino e uma matriz amorfa.	28
Figura 6. Representação da estrutura química do acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).....	31
Figura 7. Representação esquemática e estrutural do polímero HPMCAS abaixo e acima da concentração de agregação crítica (CAC) dependente do pH.	32
Figura 8. Representação estrutural do monômero do polissacarídeo Kappa Carragena.	34
Figura 9. Esquema representativo do processo de transição de fase de bobina para hélice sob aquecimento da kappa carragena (k-CAR) e agregação das hélices sob resfriamento (hidrogel).	34
Figura 10. Curva de aquecimento de DSC da CUR e dos polímeros κ -CAR e HPMCAS.....	49
Figura 11. Curvas de aquecimento (DSC) dos polímeros HPMCAS (a,b) e k-CAR (c,d) com o aumento da quantidade de CUR (% (m/m)) na dispersão sólida. O sufixo a cada código (HA/CA) é referente ao % de CUR na mistura.	50
Figura 12. Diagrama de Tamman mostrando a entalpia de fusão da CUR na mistura binária HPMCAS-CUR (a) e da CUR e k-CAR (b) do sistema binário k-CAR-CUR <i>versus</i> a porcentagem em massa da CUR incorporada.....	51
Figura 13. Ajuste do modelo de Flory-Huggins através do método de depressão do ponto de fusão no sistema binário HPMCAS-CUR (a) e k-CAR-CUR (b) <i>versus</i> a fração volumétrica molar do respectivo polímero ao quadrado.	53
Figura 14. Variação do espectro de emissão da CUR (8 μ g) em função da massa de (a) HPMCAS (0- 60 μ g) e (b) κ -CAR (0- 60 μ g) em água. λ_{exc} = 430 nm e T = 298 K. A massa de CUR indicada é obtida sabendo o volume da alíquota retirada da solução estoque de CUR em EtOH e transferida para a cubeta contendo 2 mL de água.	55

Figura 15. Variação na intensidade de emissão de fluorescência da CUR (8-20 µg) em meio aquoso avaliando com o aumento da massa de HPMCAS (0-60 µg). $\lambda_{exc} = 430$ nm e $T = 303$ K. A massa de CUR indicada é obtida sabendo o volume da alíquota retirada da solução estoque de CUR em EtOH e transferida para a cubeta contendo 2 mL de água.	56
Figura 16. Variação da intensidade de emissão da CUR (8-20 µg) em meio aquoso monitorada em 538 nm com o aumento da concentração de HPMCAS. São mostrados os resultados referentes às temperaturas de 293 K (a), 298 K (b), 303 K (c) e 313 K (d).	57
Figura 17. (a) Solubilidade de cada quantidade de CUR (8 µg, 12 µg, 16 µg e 20 µg) utilizada para calcular a solubilidade intrínseca (χ) em HPMCAS em diferentes temperaturas. (b) Ajuste dos pontos experimentais de ΔG em função de T relacionado a interação entre a CUR e o HPMCAS em meio aquoso utilizando um modelo linear.	59
Figura 18. Curva de autocorrelação $G(\tau)$ das amostras contendo 0 µg (HA100), 8 µg (HAC40), 12 µg (HAC60), 16 µg (HAC80) e 20 µg (HAC100) de CUR à 298 K.	62
Figura 19. Imagens de TEM após a titulação fluorimétrica das amostras das amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 µg), HAC60 (12 µg), HAC80 (16 µg) e HAC100 (20 µg) em água à 298 K.	66
Figura 20. Difratoograma das misturas físicas contendo 0 (HPMCAS), 30-90 (HA30-HA90), e 100% de curcumina (CUR) em escala (a) e sobrepostas (b).	68
Figura 21. Grau de cristalinidade das amostras obtidas por XRPD e DSC <i>versus</i> o percentual de CUR (% m/m).	69
Figura 22. Esquema de preparação de membranas a base de HPMCAS e κ -CAR por secagem de solvente (<i>casting</i>).	75
Figura 23. Características macroscópicas das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC.	82
Figura 24. Microscopia de luz polarizada (PLOM) das membranas controle: 70HAC (70% m/m HPMCAS), 60HAC (60% (m/m) HPMCAS), 50HAC (70% (m/m) HPMCAS) e contendo CUR (5% (m/m)): 70HACC, 60HACC e 50HACC. As barras indicam tamanho de 122 µm.	84
Figura 25. Espectros UV-Vis do conjunto de membranas (a) κ -CAR, 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC, 70HACC. Imagem da direita (b) mostra a ampliação (200–600 nm) da imagem da esquerda.	85
Figura 26. Espectros de FTIR obtidos utilizando pastilha de KBr dos polímeros puros e da CUR (a) e ATR das membranas (b,c).	88

Figura 27. Difração de raios X das amostras com componentes puros (HPMCAS, κ -CAR, CUR) das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC, 50HACC em escala (a) e sobrepostas (b).....	91
Figura 28. Esquema representativo do processo de formação das membranas entre HPMCAS e κ -CAR contendo CUR.	92
Figura 29. TGA (a) e DTGA (b) dos componentes puros HPMCAS, κ -CAR e CUR.	94
Figura 30. TGA e DTGA das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC (a,b) 70HACC, 60HACC e 50HACC (c,d).....	95
Figura 31. DSC do HPMCAS (a), das membranas (b) e ampliação na região da T_g das membranas (c).....	98
Figura 32. Curva de aquecimento das blendas poliméricas 50HAC, 60HAC, 70HAC (a,c,e) e 50HACC, 60HACC, 70HACC (b,d,f) CUR com taxa de aquecimento de 5 °C min ⁻¹ (preto), 10 °C min ⁻¹ (vermelho) e 20 °C min ⁻¹ (azul).....	101
Figura 33. Log da taxa de aquecimento (log β) em função do inverso da temperatura de pico (1000/T) das membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC (a) e 50HACC, 60HACC, 70HACC (b).	102
Figura 34. Módulo de armazenamento (a,b), módulo de perda (c,d) e tan δ (e,f) para as membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC e 70HACC.....	105
Figura 35. Curvas de deformação em função da tensão aplicada das membranas 70HAC, 60HAC e 50HAC (a) 70HACC, 60HACC e 50HACC (b).....	109
Figura 36. Fotografia dos corpos de prova contendo CUR retirados da atmosfera controlada após 5 e 30 min de exposição a umidade relativa do ambiente.	111
Figura 37. Esquema da presença e da ausência da água (azul) no módulo de armazenamento (E') e temperatura de transição vítrea (T_g).....	112
Figura 38. Formas e ângulo de contato de gotas de solvente em uma superfície sólida.....	114
Figura 39. Fotografias digitais das gotas adquiridas durante os ensaios de ângulo de contato das membranas de composição 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC utilizando água (pH ~7,0), formamida e diiodometano como solvente.	115
Figura 40. SEM da superfície e fratura das membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC congelados e liofilizados (abaixo). A escala da superfície indica 10 μ m e da fratura 100 μ m.	118

Figura 41. SEM da superfície e fratura das membranas 50HACC, 60HACC e 70HACC congelados e liofilizados (abaixo). A escala da superfície indica 10 μm e da fratura 100 μm	119
Figura 42. Representação esquemática da célula de difusão de Franz.....	126
Figura 43. Perfil de liberação da CUR a partir das diferentes formulações de membranas em tampão PBS (pH 7,4) à 37 °C.	130
Figura 44. Quantidade de CUR em área permeada ($\mu\text{g cm}^{-2}$) através da pele humana na epiderme (a) e derme (b) a partir da solução controle em PG:PBS 1:1 e das membranas a base de HPMCAS e κ -CAR após 8 h. Os valores são representados como média \pm DP (n = 4). <i>a</i> indica diferença significativa entre CUR e as membranas. <i>b</i> indica diferença entre 50HACC e 70HACC. <i>c</i> indicam diferença entre 60HACC e 70HACC.....	134
Figura 45. SEM da superfície das membranas 50HACC, 60HACC e 70HACC que ficaram em contato com a pele após o ensaio de permeação cutânea na escala de 10 e 50 μm	136
Figura 46. Curva de distribuição log normal do diâmetro dos poros na membrana 50HACC pós permeação cutânea <i>ex vivo</i>	137
Figura 47. Concentração inibitória mínima (MIC) dos géis a base de HPMCAS e κ -CAR determinados <i>in vitro</i> pelo método de microdiluição.....	139
Figura 48. Atividade de eliminação de radicais DPPH em diferentes concentrações da CUR livre e nas diferentes formulações (50HACC, 60HACC, 70HACC).	141
Figura 49. Mecanismo proposto da reação entre DPPH e curcumina na forma ceto-enol.	142

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de solubilidade calculados através do método de contribuição de grupos.	46
Tabela 2. Parâmetro de Flory-Huggins (χ_f) e coeficiente de correlação dos sistemas binários HPMCAS-CUR e κ -CAR-CUR através do método de depressão do ponto de fusão.	53
Tabela 3. Solubilidade intrínseca (χ) da CUR em HPMCAS, razão de χ pela solubilidade termodinâmica ($\chi_{Sw^{-1}}$), variação da energia livre de Gibbs (ΔG) em função da temperatura. Variação de entalpia (ΔH) e entropia (ΔS) de solubilização e o respectivo coeficiente de determinação (R^2).....	60
Tabela 4. Raio hidrodinâmico (R_h) das duas populações (subscrito 1 e 2) das amostras HAC40, HAC60, HAC80 e HAC100 em água obtidos através da curva de autocorrelação.....	62
Tabela 5. Potencial zeta (ζ) e seu respectivo desvio (DP) das amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 μg), HAC60(12 μg), HAC80 (16 μg) e HAC100 (20 μg) em água à 298 K.	64
Tabela 6. Diâmetro médio e o respectivo desvio para as amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 μg), HAC60 (12 μg), HAC80 (16 μg) e HAC100 (20 μg) em água à 298 K medidos por microscopia eletrônica de transmissão (TEM).	66
Tabela 7. Solubilidade da Curcumina pura (CUR) e nas diferentes formulações contendo HPMCAS.	71
Tabela 8. Proporção de cada constituinte utilizado no preparo das membranas.	77
Tabela 9. Concentração de CUR (mg g^{-1}) e espessura média (μm) nas diferentes membranas com seus respectivos desvios ($n=3$).	83
Tabela 10. Perda de massa em diferentes estágios (temperatura) e percentual de massa residual em cada material.	96
Tabela 11. Temperatura de transições vítrea do HPMCAS e das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC, 50HACC.	98
Tabela 12. Temperatura de pico nas respectivas taxas de aquecimento, energia de ativação de degradação da κ -CAR e coeficiente de determinação (R^2) nas membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC e 70HACC.	103
Tabela 13. Módulo secante seus respectivos desvios das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC.	109

Tabela 14. Ângulo de contato ($^{\circ}$) e seus respectivos desvios das membranas utilizando diferentes solventes (água, formamida e diiodometano).....	115
Tabela 15. Valores das componentes de energia livre de superfície polar (γ^p_s), dispersiva (γ^d_s), total (γ_s) das membranas sólidas e coeficiente de correlação.....	116
Tabela 16. Modelos cinéticos e sua respectiva (s) constante (s) de ajuste e coeficiente de determinação (R^2).	131

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ΔG – Variação de energia livre de Gibbs	DTIC – Dacarbazida
ΔG_{sol} – Variação de energia livre de Gibbs de solubilização	e – Deformação
ΔH – Variação de entalpia	E – Potencial aplicado
ΔH_{CUR} – Variação de entalpia de fusão da curcumina	E' – Módulo de elasticidade ou armazenamento
ΔH_{m} – Variação de entalpia de fusão	E'' – Módulo viscoso ou de perda
ΔH_{mix} – Variação de entalpia de mistura	E_a – Energia de ativação
ΔH_{sol} – Variação de entalpia de solubilização	E_{hi} – Energia da ligação de hidrogênio
ΔS – Variação de entropia	e_{mi} – Emissão
ΔS_{mix} – Variação de entropia de mistura	EtOH – Etanol
ΔS_{sol} – Variação de entropia de solubilização	exc – Excitação
A – Parâmetro pré-exponencial de Arrhenius	f – Fração mássica
Å – Angström	F – Força
A_b – Absorbância da amostra	$f(x)$ – Função dependente do fator de conversão
A_c – Absorbância do controle	F_{di} – Constante de atração molar dispersiva
A_{CUR} – Área sob a curva da curcumina pura	$F_{\text{máx}}$ –
A_{mix} – Área sob a curva da mistura	F_{pi} – Constante de atração molar polar
ANOVA –	F_t – Fração do composto liberado no tempo
A_s – Absorbância da amostra após as adições	FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
ASTM – <i>American Society for Testing and Materials</i>	$G(\tau)$ – Função de autocorrelação
ATR – Refletância total atenuada	h – horas
CA – Ângulo de contato	HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose
CAC – Concentração de agregação crítica	HPMCAS – Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose
CUR – Curcumina	IC ₅₀ – Concentração do fármaco necessária para 50% de inibição
D – Coeficiente de difusão translacional	J – Joule
D/CE – Equilíbrio 1,3 diceto/ceto-enólico	k – Constante de velocidade
DLS – Espalhamento de Luz Dinâmico (do inglês, <i>Dynamic Light Scattering</i>)	K – Kelvin
DLVO – Boris Derjaquin, Lev Landau, Evert Verwey e Teodoor Overbeek	k_B – Constante de Boltzmann (1,380645 $\times 10^{-23}$ J K ⁻¹)
DMA – Análise dinâmico mecânica	L – Litro
DNA – Ácido desoxirribonucleico	L_0 – Comprimento inicial
DP – Desvio padrão	Log P – Coeficiente de partição
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil	LOQ – Limite de quantificação
DPR – Desvio padrão relativo	m/m – Razão massa-massa
DSC – Calorimetria exploratória diferencial de varredura (do inglês, <i>Differential Scanning Calorimetry</i>)	M2 – Dímero
DTGA – Derivada da curva obtida da análise termogravimétrica	mg – Miligrama

MH – Müller- Hinton	TGA – Análise termogravimétrica (do inglês, <i>Thermogravimetric Analysis</i>)
MIC – Concentração inibitória mínima	T_m – temperatura de fusão
min – Minutos	T_m° – Temperatura de fusão da curcumina pura
mL – Mililitro	TSA – Teste de sensibilidade a antimicrobianos
mm – Milímetros	UFC – Unidade formadora de colônia
MM – Massa molar	UV – Ultravioleta
M_v – Massa molar viscosimétrica	UV-vis – Ultravioleta-visível
M_w – Massa molar ponderal média	V – Volt
n – número de mols	v/v – Razão volume-volume
N – Newton	V_m – volume molar
NF- κ B – <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>	vs – <i>Versus</i>
nm – nanometro	X_c – grau de cristalinidade
O-W-F – Flynn–Wall–Ozawa	XRD – Difração de raios X
<i>P. aeruginosa</i> – <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	XRPD – Difração de raios X de pó
Pa – Pascal	% – Percentual
PBS – Meio simulado tampão fosfato	α – Fator de conversão
PEG – Polietilenoglicol	β – Taxa de aquecimento
PET – Polietileno tereftalato	γ_1^d – Componente dispersiva da tensão superficial do líquido
PG – Propileno glicol	γ_s^d – Componente dispersiva da energia superficial do sólido
pH – Potencial hidrogeniônico	γ_l – Tensão superficial do líquido
pKa – log negativo da constante de dissociação ácida	γ_1^p – Componente polar da tensão superficial do líquido
PLOM – Microscopia óptica de luz polarizada (do inglês, <i>Polarized Light Microscopy</i>)	γ_s^p – Componente polar da energia superficial do sólido
PVP – polivinilpirrolidona	δ – Solubilidade
R – Constante dos gases (8,314 J K ⁻¹ mol ⁻¹)	δ_d – Componente de solubilidade dispersiva
R ² – Coeficiente de determinação	δ_h – Componente de solubilidade de hidrogênio
rpm – Rotações por minuto	δ_p – Componente de solubilidade polar
s – Segundos	δ_t – Solubilidade total
<i>S. aureus</i> – <i>Staphylococcus aureus</i>	ΔL – Incremento de alongamento
SEM – Microscopia eletrônica de varredura (do inglês, <i>Scanning Electron Microscopy</i>)	ε – Constante dielétrica do solvente
Sw – Solubilidade aquosa da curcumina	ζ – Potencial zeta
t – Tempo	η – viscosidade
T – Temperatura absoluta	θ – Ângulo
tan δ – Fator de perda ou amortecimento	κ -CAR – Kappa Carragena
TEM – Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês, <i>Transmission Electron Microscopy</i>)	λ – Comprimento de onda
T _g – Temperatura de transição vítrea	μ – Mobilidade eletroforética

ρ – Densidade

σ – Tensão

τ – Tempo de decaimento

φ – Fração volumétrica molar

χ – Solubilidade intrínseca

χ_f – Parâmetro de interação de Flory-Huggins

ω – Razão entre a massa molar do polímero/densidade do polímero e massa molar da curcumina/densidade da curcumina

SUMÁRIO

JUSTIFICATIVA	15
CAPÍTULO I	18
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1 MELANOMA.....	19
1.2 ADMINISTRAÇÃO TÓPICA DE FÁRMACOS	20
1.3 PELE E PERMEAÇÃO CUTÂNEA	22
1.4 AÇAFRÃO E CURCUMINA	23
1.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E DISPERSÕES SÓLIDAS ...	27
1.6 MATRIZES POLIMÉRICAS.....	29
1.7 DERIVADOS DE CELULOSE	30
1.8 CARRAGENAS	33
2 OBJETIVOS	36
2.1 OBJETIVO GERAL.....	36
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
CAPÍTULO II	37
1 INTRODUÇÃO TEÓRICA	38
2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	41
2.1 MATERIAIS.....	41
2.2 MÉTODOS	41
2.2.1 Avaliação de solubilidade via teoria de grupos	41
2.2.2 Avaliação de solubilidade via Flory-Huggins	42
2.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	42
2.2.4 Estudo de interação por fluorescência	43

2.2.5	Espalhamento de luz dinâmico (DLS).....	44
2.2.6	Potencial zeta (ζ)	44
2.2.7	Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)	45
2.2.8	Perfil cristalográfico	45
2.2.9	Solubilidade no equilíbrio	45
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
3.1	AVALIAÇÃO DE SOLUBILIDADE VIA TEORIA DE GRUPOS	46
3.2	DETERMINAÇÃO DO PARÂMETRO DE FLORY-HUGGINS	48
3.3	ESTUDO DE INTERAÇÃO VIA FLUORESCÊNCIA	54
3.3.1	 Efeito da concentração de CUR	54
3.4	ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)	61
3.5	POTENCIAL ZETA	64
3.6	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (TEM)	65
3.7	DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE PÓ (XRPD).....	67
3.8	SOLUBILIDADE NO EQUILÍBRIO	70
4	CONCLUSÕES PARCIAIS	72
CAPÍTULO III.....		73
1	 INTRODUÇÃO TEÓRICA.....	74
2	 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	76
2.1	MATERIAIS.....	76
2.2	MÉTODOS	76
2.2.1	 Produção das membranas poliméricas	76
2.2.2	 Teste de uniformidade de conteúdo das membranas contendo CUR	77
2.2.3	 Microscopia óptica e de luz polarizada (PLOM)	77
2.2.4	 Espectroscopia UV-visível (UV-Vis)	78

2.2.5	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das membranas (FTIR).....	78
2.2.6	Difração de raios X (XRD).....	78
2.2.7	Análise termogravimétrica (TGA)	78
2.2.8	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	79
2.2.9	Análise dinâmico mecânico (DMA).....	80
2.2.10	Ângulo de contato (CA).....	81
2.2.11	Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	81
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	82
3.1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS E PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS	82
3.2	MICROSCOPIA ÓPTICA E DE LUZ POLARIZADA (PLOM).....	84
3.3	ESPECTROSCOPIA UV-VISÍVEL (UV-VIS)	85
3.4	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	87
3.5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X (XRD)	90
3.6	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA).....	93
3.7	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)	97
3.8	ANÁLISE DINÂMICO MECÂNICO (DMA)	104
3.8.1	Rampa de temperatura	104
3.8.2	Tensão <i>versus</i> deformação	108
3.9	ÂNGULO DE CONTATO (CA).....	113
3.10	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM).....	118
4	CONCLUSÕES PARCIAIS	121
CAPÍTULO IV		123
1	INTRODUÇÃO TEÓRICA.....	124
2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	125

2.1	MATERIAIS.....	125
2.2	MÉTODOS.....	125
2.2.1	Liberção em meio biológico simulado.....	125
2.2.2	Permeação <i>ex vivo</i> da CUR a partir das diferentes membranas.....	126
2.2.3	Morfologia das membranas após ensaio de permeação cutânea por microscopia eletrônica de varredura (SEM).....	127
2.2.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) através do método de microdiluição.....	127
2.2.5	Atividade antioxidante	128
2.2.6	Análise estatística.....	129
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	130
3.1	LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA CUR A PARTIR DAS MEMBRANAS	130
3.2	PERMEAÇÃO <i>EX VIVO</i> DA CUR EM PELE HUMANA	133
3.3	MORFOLOGIA DAS MEMBRANAS APÓS ENSAIO DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM).....	136
3.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC) ATRAVÉS DO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO	138
3.5	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	140
4	CONCLUSÕES PARCIAIS	144
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	145
	REFERÊNCIAS	147
	ANEXO A.....	168
	APÊNDICE A	169
	APÊNDICE B.....	170
	APÊNDICE C	171

APÊNDICE D	172
APÊNDICE E.....	173
APÊNDICE F	174
APÊNDICE G	175
APÊNDICE H.....	176
APÊNCIDE I.....	177

JUSTIFICATIVA

Câncer ainda é uma das principais doenças que mais mata no mundo. Segundo o Instituto Nacional do Câncer, no triênio de 2020-2022 aproximadamente 600 mil novos casos de câncer foram diagnosticados no Brasil (INCA, 2020). Cerca de um terço destes diagnósticos é de câncer de pele. Entre os tipos de câncer de pele, o que apresenta os maiores índices de mortalidade é o melanoma. O melanoma é um câncer de pele agressivo que pode ser causado tanto por fatores genéticos quanto ambientais. No Brasil, apenas no ano de 2020, foram relatados 8450 novos casos (MARTÍ; SOROLLA; YERAMIAN, 2012; CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017; INCA, 2020). Assim, a busca por novas formas de tratamento e a melhoria na performance de fármacos para obter um tratamento mais eficiente são objetivos. Um dos fármacos em potencial para o melanoma é a Curcumina (CUR). A CUR é um derivado polifenólico do açafrão que possui atividade contra diversas doenças, sendo o melanoma, uma delas (LIAO et al., 2017; TANG; CAO, 2022). Embora bem abundante, a CUR possui algumas limitações tais como baixa solubilidade aquosa e instabilidade a luz UV. Uma das maneiras de aumentar a estabilidade é evitar a via oral para suprimir efeitos de primeira passagem. Como alternativa, a via tópica é uma opção, uma vez que, a pele é o maior órgão do corpo e permite o tratamento local do melanoma (MARTÍ; SOROLLA; YERAMIAN, 2012; ANVISA, 2019; JUNIOR, 2020). Apesar disso, problemas associados a baixa solubilidade e biodisponibilidade ainda são desafios (WANG et al., 2017a; ZHANG et al., 2019).

Estudos têm demonstrado que a solubilidade da CUR pode ser mantida acima do equilíbrio termodinâmico em um estado metaestável (LAO et al., 2006; KAKRAN et al., 2013; SATHUVAN et al., 2017). Este, pode ser obtido através da estabilização da estrutura amorfa onde a CUR permanece biodisponível por um período prolongado. O estado amorfo de fármacos tende a ser termodinamicamente instável onde é necessário o uso de carreadores para mantê-lo por mais tempo (SARODE et al., 2014a; MENG; GALA; CHAUHAN, 2015; MENDES et al., 2019). A dispersão de um fármaco, como a CUR, em um carreador no estado sólido, é chamada de dispersão sólida (FAN; LU; LI, 2020). A utilização de polímeros como agentes dispersantes de fármacos têm sido uma estratégia na produção e manutenção de dispersões contendo ativos cristalinos. Os fármacos, quando dispersos nessas matrizes poliméricas, apresentam diminuição na cristalinidade, aumento da solubilidade e

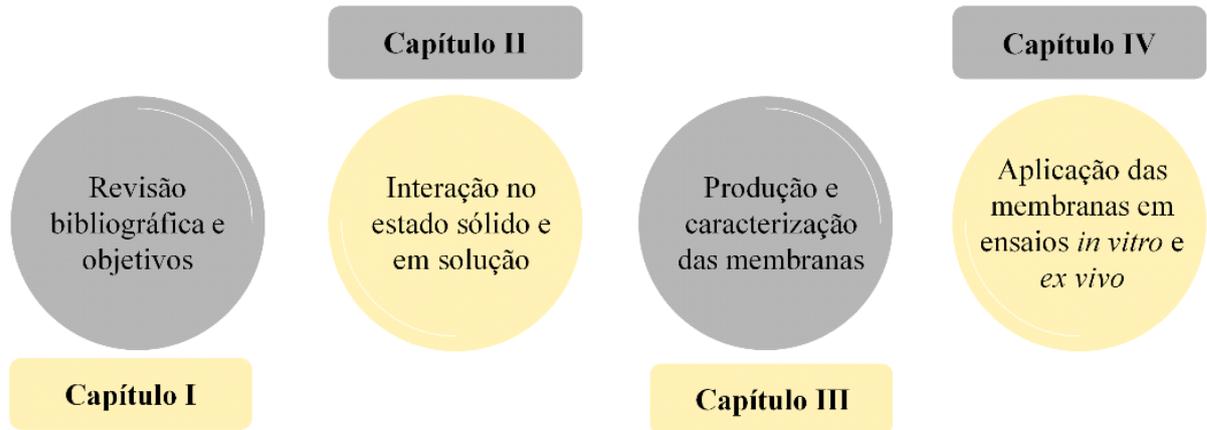
biodisponibilidade (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; ESHRA et al., 2017; CHAVAN et al., 2019).

Dentre os polímeros capazes de manter um ativo no estado amorfo estão os derivados de celulose (FRIESEN et al., 2008; CHAVAN et al., 2019; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Éteres de celulose como Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) já são agentes comumente aplicados em dispersões sólidas (FRIESEN et al., 2008; LI et al., 2013; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Dentre as principais vantagens destes polímeros estão a estabilidade (mecânica e térmica) e a solubilidade em água (STURM et al., 2016). O HPMCAS, devido a presença de grupos ionizáveis possui dependência direta com o pH sendo possível modular, como e onde, o ativo pode ser liberado no organismo. Entretanto, quando na forma de membrana, sistemas de HPMCAS encontram dificuldade em modular a liberação de fármacos devido a rigidez mecânica e propriedade de barreira (BARIK et al., 2017; ACIPRESTE et al., 2018; HU et al., 2018; WAISCZIK, 2020).

Visando ao aumento do grau de intumescimento da matriz, diversos biopolímeros são utilizados, principalmente as carragenas (YEGAPPAN et al., 2018; DE ALCÂNTARA et al., 2020). Carragenas são polissacarídeos extraídos de algas nomeadas de acordo com o número de grupos sulfatos que seu monômero apresenta. A κ -Carragena (κ -CAR) apresenta apenas um grupo sulfato na estrutura dimérica e é bastante investigada devido a sua termogelificação reversível (MA et al., 2012; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). No estado sólido, membranas formadas pela κ -CAR são resistentes e capazes de incorporar fármacos. Dependendo da aplicação farmacológica, a matriz de κ -CAR pode atuar de maneira sinérgica pois também apresenta atividade antifúngica e antitumoral (LI et al., 2012; MARTINS et al., 2012).

Neste trabalho busca-se entender de que maneira a combinação dos polímeros biodegradáveis e biocompatíveis HPMCAS e κ -CAR interferem na solubilidade e biodisponibilidade da CUR. Sendo assim, obter um material capaz de estabilizar a CUR acima da sua solubilidade termodinâmica e aumentar a biodisponibilidade visando a aplicação tópica do melanoma. O presente trabalho foi construído como apresentado no esquema contido na Figura 1.

Figura 1. Esquema organizacional do presente trabalho.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A estrutura desta dissertação foi organizada de modo a demonstrar como o trabalho foi construído. De início, a revisão bibliográfica e os objetivos traçados estão presentes no Capítulo I. Buscando investigar a interação entre os componentes, estudos iniciais tanto no estado sólido quanto em solução dos polímeros HPMCAS e κ -CAR e da CUR foram realizados (Capítulo II). A viabilidade, produção e a caracterização das membranas poliméricas contendo CUR foi descrita no Capítulo III. Por fim, ensaios *in vitro* e *ex vivo* visando a aplicação do material produzido no tratamento tópico (Capítulo IV).

CAPÍTULO I

Revisão bibliográfica e objetivos

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 MELANOMA

O melanoma é um tipo de câncer de pele de baixa incidência, porém, um dos mais agressivos. O mecanismo do melanoma provoca uma evolução rápida do quadro e 90% dos casos metastáticos vão a óbito. Estima-se que no ano de 2020, 8.450 novos casos de melanoma do Brasil foram confirmados com uma taxa de mortalidade de 21% (INCA, 2020).

O melanoma acontece devido à formação de células cancerígenas derivadas dos melanócitos. Os melanócitos são as células responsáveis pela produção de pigmento e a mutação se dá pela combinação de fatores genéticos e ambientais (CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017). Exposição ao arsênio, imunossupressão, infecções virais e fatores genéticos podem proporcionar o desenvolvimento do melanoma. Especificamente, os fatores ambientais estão principalmente associados a exposição prolongada a luz UV (CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017). A radiação UV atua na indução dessas mutações e na formação de espécies radicalares que causam alterações no sistema imune (RIBEIRO, 2016). A forma mais utilizada para a descrição de como ocorre a progressão do melanoma é através do modelo de Clark. (BLANNING, 2003).

No modelo de Clark é representado como ocorre a proliferação de melanócitos no processo de formação desde os nevos (estágio inicial) até a metástase (estágio avançado). Inicialmente há proliferação de melanócitos formando nevos benignos (PROW et al., 2011; CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017). Esses nevos, por um crescimento exacerbado se transformam em estruturas planas com diâmetro superior a 5 mm. Apresentam bordas irregulares e pigmentação variável e em seguida, começa ocorrer a proliferação na epiderme, chamada de crescimento horizontal. A partir daí, a invasão dessas estruturas na derme indica o crescimento vertical. Esse crescimento nas camadas mais internas da pele é um potencial metastático. O processo de crescimento horizontal e vertical destas células mutagênicas está diretamente associada ao ciclo celular (CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017; SOUZA, 2017; RAUCA et al., 2018).

Fármacos foram desenvolvidos de modo a minimizar os possíveis processos de mutação de maneira direta ou indireta. O medicamento mais utilizado atualmente para tratamento do melanoma é a dacarbazida (DTIC). A DTIC tem apenas uma taxa de resposta de 5% durante o primeiro ano de tratamento e, portanto, pesquisas buscam estratégias

terapêuticas com maior eficácia em um menor período. O mecanismo de ação dos fármacos contra o melanoma ocorre através da inibição seletiva de proteínas. A supressão de proteínas atua de maneira direta na capacidade de evolução do câncer (MARTÍ; SOROLLA; YERAMIAN, 2012; SEGAT, 2017). Pesquisas buscam por fármacos cada vez mais específicos que atuem somente nas células que apresentam mutação diminuindo efeitos adversos (MARTÍ; SOROLLA; YERAMIAN, 2012; HU et al., 2019).

Dentre os tratamentos alternativos, tem-se a linha que visa a utilização de produtos naturais para o tratamento do melanoma. Nesta classe, a utilização da Curcumina (CUR), o princípio ativo do açafrão, tem apresentado resultados promissores (MARTÍ; SOROLLA; YERAMIAN, 2012; MIRZAEI et al., 2016; ESHRA et al., 2017; LIAO et al., 2017). A CUR exibe atividade antiproliferativa de células mutagênicas atribuída a atividade antioxidante, anti-inflamatória e antibiótica. No trabalho desenvolvido por Wang *et al.* (2017) foi observado que além da inibição da proliferação, a CUR promove a apoptose celular (ESHRA et al., 2017; LIAO et al., 2017; WANG et al., 2017a). A inibição de metástases do câncer sugere que a CUR pode exibir maior eficiência no início da doença evitando quimioterapia e outros procedimentos mais agressivos (TANG; CAO, 2022). Além do melanoma, a CUR se mostrou promissora para diferentes tipos de câncer (SALEM; ROHANI; GILLIES, 2014; MIRZAEI et al., 2016; SATHUVAN et al., 2017). A capacidade da CUR em inibir o crescimento de vários tipos de câncer torna o fitofármaco de baixa/nula toxicidade uma opção ainda mais atrativa (LI et al., 2012; LIU et al., 2014; HU et al., 2019; TANG; CAO, 2022). Apesar disso, a instabilidade a luz UV, baixa solubilidade e biodisponibilidade são alguns dos fatores limitantes no seu uso.

Visando a otimização da aplicação de fármacos pouco solúveis contra o melanoma a via tópica se torna uma opção interessante. Através da pele pode se ter um tratamento direto no local da enfermidade nos estágios iniciais. Esse tratamento promove a ação local inibindo o crescimento vertical que causa metástases (ALUPEI et al., 2014; CRAYTHORNE; AL- NIAMI, 2017; LIAO et al., 2017; SUTERIO, 2021; FRANÇA et al., 2022a).

1.2 ADMINISTRAÇÃO TÓPICA DE FÁRMACOS

Instituições públicas e privadas em todo o mundo realizam pesquisas com o intuito de possibilitar condutas terapêuticas eficientes. A via de administração de medicamentos através da pele é uma opção interessante na busca por obter tratamentos mais hábeis e

seguros. A administração de fármacos através da pele pode ser obtida por duas vias, a transdérmica e a tópica (BARRY, 2002; PROW et al., 2011; PRAUSNITZ et al., 2012).

O tratamento utilizando a via transdérmica apresenta uma aplicação local com ação sistêmica. Neste caso, a pele não necessariamente é o alvo do medicamento e a absorção percutânea é de extrema importância. Diante disso, o fármaco é absorvido de forma adequada e proporciona a capacidade de manter os níveis terapêuticos sistêmicos uniformes, durante todo o tempo de utilização. Esta via é uma opção quando não é possível a utilização das vias de administração mais comuns, como é o caso da via oral. A via oral inibe o processo terapêutico de alguns medicamentos, uma vez que, há fármacos que são sensíveis às transformações metabólicas do trato gastrointestinal. Além da ação sistêmica promovida pela via de administração transdérmica, também pode haver a necessidade de tratamentos locais. No caso das doenças com origem na pele, é necessário um tratamento local. Portanto, neste caso, a via tópica é a mais adequada (BARRY, 2002; LI et al., 2015; TRAVASSOS, 2016; ANVISA, 2019).

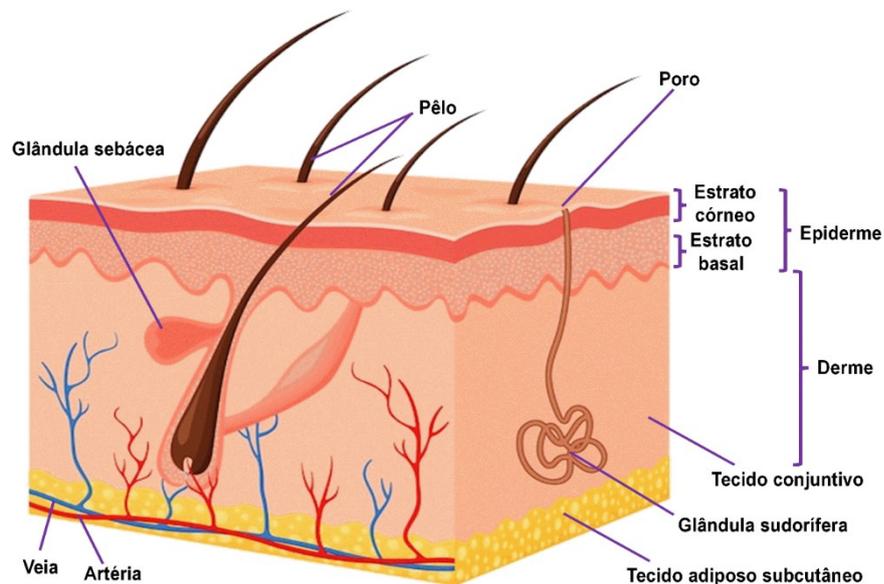
A via tópica tem como principal objetivo uma efetividade terapêutica local, ou seja, o medicamento tem uma ação diretamente na pele. Uma das grandes vantagens da administração tópica de fármacos é a ação no sítio alvo ou muito próximo, necessitando assim de uma menor quantidade de medicamento e diminuindo efeitos colaterais. A via tópica evita, assim como a transdérmica, efeitos de primeira passagem associadas a degradação de fármacos administrados pela via oral. Dentre as numerosas vantagens da via tópica, estão a facilidade de aplicação, de cessão do tratamento e maior eficácia. Assim, dispositivos de administração tópica são muito utilizados no tratamento de enfermidades cutâneas. O uso de medicamentos exclusivamente tópicos tem como objetivo maximizar a concentração do fármaco no tecido alvo. Dentre os principais problemas tratados através da administração de fármacos pela via tópica estão eczemas e infecções de pele adquiridas por contaminação viral, bacteriana ou fúngica (BARRY, 2002; PROW et al., 2011; BEGUM et al., 2019; KIM et al., 2019).

Para entender como ocorre a absorção de ativos através da pele é preciso compreender a sua constituição e funcionalidade. Em posse dessas informações é possível modelar dispositivos de liberação cutânea efetivos e eficientes.

1.3 PELE E PERMEAÇÃO CUTÂNEA

A pele é o maior órgão do corpo e atua como barreira de proteção contra agentes externos, ajuda na retenção de água e controle de temperatura. A pele como via de administração de fármacos possui algumas vantagens como, principalmente, aumento na biodisponibilidade devido a inibição do efeito de primeira passagem. A alta área superficial, baixa degradação enzimática e tempo de tratamento são propriedades atraentes. A pele é constituída majoritariamente de três principais camadas teciduais: epiderme, derme e hipoderme (tecido adiposo subcutâneo) (Figura 2) (TAGLIARI, 2012; WAISCZIK, 2020).

Figura 2. Representação esquemática da estrutura e camadas da pele humana.



Fonte: Adaptado de (JUNIOR, 2020)

A epiderme pode ser subdividida em duas partes: estrato córneo e epiderme viável. O estrato córneo é constituído de um sistema heterogêneo disperso em uma matriz lipídica. Além da função de barreira, o estrato córneo atua como um reservatório para fármacos aplicados topicamente. A epiderme viável é onde localiza-se a camada basal, espinhosa e o estrato granuloso caracterizadas pelas suas diferentes posições e morfologias. Devido à falta e vascularização da epiderme, os nutrientes precisam se difundir da derme para a epiderme para garantir a viabilidade do tecido (PRAUSNITZ et al., 2012; MOHAMED et al., 2020). Já a camada mais interna, chamada de derme, é constituída por uma matriz fibrosa e irrigada. Essa vascularização é responsável pelo transporte de nutrientes e regularização da pressão e temperatura corporal. A vascularização atua como um sistema *sink*, difundindo as moléculas

que alcançam os capilares (TAGLIARI, 2012; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020). Quando um fármaco é depositado na superfície da pele (epiderme) o processo se inicia no estrato córneo. Uma vez que, o fármaco atravessa o estrato córneo, a molécula pode permear para camadas mais profundas até atingir a derme. Ao atingir a derme, o fármaco se torna biodisponível para entrar na corrente sanguínea (BARRY, 2002; MEIRA, 2010).

A permeação cutânea pode ocorrer de três principais formas. A via intercelular ocorre devido a interação do fármaco com a matriz lipídica, não há penetração celular. A via intracelular ocorre quando o princípio ativo atravessa a membrana celular por efeito difusivo tendo a bicamada lipídica como limitante. Já a terceira via ocorre por difusão através dos folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas (MEIRA, 2010; SANTOS, 2016). O transporte do fármaco ainda pode ser descrito pela difusão ativa e/ou passiva. A difusão passiva é a forma mais comum de transporte de fármacos através da pele. Enquanto o transporte ativo, mediado por carreadores, é menos comum (PSIMADAS et al., 2012; TAGLIARI, 2012; BURGESS et al., 2015; ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020). A permeação de moléculas é governada por vários fatores, como tamanho de partícula, coeficiente de partição e grau de ionização onde moléculas pequenas, lipofílicas e não-ionizadas são favorecidas (NERURKAR et al., 2005; BARIK et al., 2017; SUTERIO, 2021).

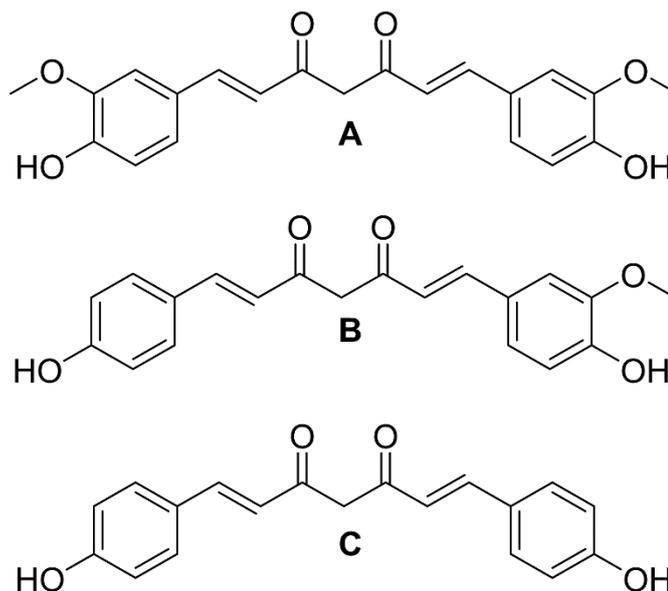
Quando há baixa ou nula permeação cutânea de fármacos aplicados na pele o tratamento através da via tópica é o mais simples de ser realizado. Dentre as possibilidades de tratamento pela via tópica contra o melanoma em estágios iniciais, ou seja, sem metástases está a CUR. A CUR, princípio ativo do açafrão, é um dos fitofármacos classificados com baixa permeação cutânea. Por isso, muitos tratamentos utilizando este fármaco, quando aplicados na pele, acabam acentuando a via tópica (DONG; CHOI, 2008; CRAYTHORNE; AL-NIAMI, 2017; RAUCA et al., 2018; ENUMO et al., 2020).

1.4 AÇAFRÃO E CURCUMINA

O açafrão é popularmente conhecido e empregado na culinária devido ao seu sabor e coloração característica (GUPTA, 2016). Relatos apontam o uso desta especiaria há 5 mil anos, para fins alimentício e medicinal. O extrato do açafrão denominado como cúrcuma foi muito explorado principalmente no oriente. O principal constituinte deste condimento é a Curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) (VAIGYA et al.,

2017). A *Curcuma longa*, o extrato vendido comercialmente, é constituída de uma mistura de Curcumina (CUR), Demetóxi e Bisdemetóxicurcumina (Figura 3).

Figura 3. Estrutura dos principais curcuminóides presentes no açafrão: (A) Curcumina (~77%), (B) Demetóxi (~18%) e (C) Bisdemetóxicurcumina (~5%).



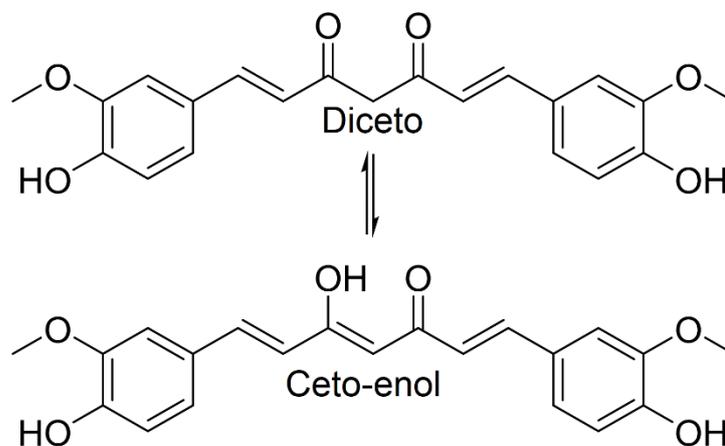
Fonte: Adaptado de Sueth-Santiago *et al.* (2015) (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015).

A CUR (log P 3,2) pertence a classe biofarmacêutica IV onde apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade (WAHLANG; PAWAR; BANSAL, 2011). A CUR apresenta valores de pKa na faixa básica de pH (8,38, 9,88 e 10,51) dando um caráter dinâmico da molécula em solução (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017). Além do equilíbrio iônico, a CUR apresenta outros dois equilíbrios em solução: a estrutura na forma 1,3 diceto, ceto-enol (D/CE) e a formação de dímeros. O equilíbrio D/CE e a formação de dímeros são fenômenos dependentes do pH, solvente e temperatura (BARIK *et al.*, 2007; GUPTA, 2016).

O processo de auto agregação de compostos hidrofóbicos na forma de dímeros é descrita através de equilíbrios complexos. As principais interações responsáveis são devido a forças de Van der Waals e efeito hidrofóbico. O microambiente dependente das características do meio afeta o equilíbrio da CUR. Normalmente, as espécies de monômeros e dímeros são caracterizadas por diferenças nas propriedades ópticas. Os agregados em solução exibem características distintas nas bandas de absorção e emissão quando comparadas com as espécies livres. Dentre as principais características na distinção espectral, estão o deslocamento, divisão, diminuição ou formação de bandas em outros níveis energéticos.

Assim, é possível propor o tipo de agregado formado em cada condição do sistema. A ocorrência de agregados da CUR ocorre principalmente na forma de dímeros (M2) (BARIK et al., 2007; JAGANNATHAN; ABRAHAM; PODDAR, 2012; HAZRA et al., 2014; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Se tratando de sistemas aquosos, o equilíbrio predominante da CUR é o diceto/ceto-enólico (D/CE) (BHATIA et al., 2016a; HEYNE, 2016; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). O equilíbrio D/CE da CUR está apresentada na Figura 4.

Figura 4. Equilíbrio tautomérico diceto/ceto-enólico da curcumina.



Fonte: Adaptada de Enumo *et al.* (2019) (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Pertencente a classe das β -dicetonas fenólicas, a CUR possui equilíbrio tautomérico D/CE. O equilíbrio D/CE é caracterizado por uma ligação hidrogênio intramolecular. Devido a essa forte interação de hidrogênio, a CUR é capaz de interagir com diversos compostos próticos. A forma ceto-enol é a mais estável na faixa de pH 3-7 e possui um comprimento de absorção máximo em ~ 430 nm (KUMAR et al., 2016; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Por outro lado, a forma diceto é favorecida em temperaturas mais elevadas e apresenta um aumento na energia associada a transição, diminuindo o comprimento de onda de absorção para ~ 358 nm (AGGARWAL; SURH; SHISHODIA, 2006; PUCCI; RUGGERI, 2011; BHATIA et al., 2016a; HEYNE, 2016; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Os processos de equilíbrio são avaliados de modo a entender e otimizar as propriedades medicinais da CUR. Através destes, é possível estudar e inferir quais serão as características dessas estruturas principalmente em solução (LI et al., 2013; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ILANGO VAN et al., 2018; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). De maneira geral, a encapsulação da CUR por macromoléculas causa mudanças na emissão

de fluorescência do polifenol. A fluorescência é um decaimento não radioativo de um elétron no estado excitado sem mudança na multiplicidade do spin (MUKERJEE et al., 2010; BHATIA et al., 2016a). Este fenômeno, por ser permitido por spin, ocorre rapidamente via emissão de fótons ($\sim 10^9 \text{ s}^{-1}$). Devido à alta sensibilidade, espectros de emissão de fluorescência são ferramentas importantes para verificar mudanças no ambiente químico do fluoróforo (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). O espectro de emissão de fluorescência é dependente do pH, solvente, concentração e temperatura. No caso da CUR, o espectro de emissão pode inferir sobre a distribuição de espécies, complexação, encapsulação e solubilização da estrutura (BARIK et al., 2007; BISWAS et al., 2010; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; MENDES et al., 2019; BRISTOL; LAMM; LI, 2021).

As propriedades medicinais da CUR foram muito estudadas e relatadas na literatura científica, sendo ela usada desde infecções bacterianas e fúngicas, mal de Alzheimer, Parkinson e câncer (GUPTA, 2016; LIAO et al., 2017; ILANGO VAN et al., 2018; JUNIOR, 2020; AHMADI et al., 2021; YUDI UTOMO et al., 2021). A atividade anticâncer da CUR é evidenciada, apresentando resultados promissores tanto na prevenção quanto no tratamento da doença (GUPTA, 2016). A CUR previne a formação de células cancerígenas principalmente por inibir a síntese da proteína NF- κ B. O complexo proteico NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) é o responsável pela transcrição do DNA e citocinas. Ao bloquear a NF- κ B, as citocinas responsáveis pela inflamação diminuem o ciclo celular das células que apresentam mutação (BISWAS et al., 2010). Além disso, a CUR pode atuar no tratamento do câncer já que desencadeia a apoptose pela via mitocondrial (CHENG; LIN; SU, 2010; LIN et al., 2018).

Se tratando de atividade antibacteriana e antifúngica, a CUR foi empregada em muitos tipos de cepas mostrando ser um medicamento versátil (KIM; CHOI; LEE, 2003; SASIDHARAN et al., 2014; GUNES et al., 2016; YUN; LEE, 2016; YAMAWAKI et al., 2019). No trabalho desenvolvido por Gunes *et al.* (2016) foi avaliado a atividade antibacteriana da CUR em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. No estudo, foi possível confirmar a eficácia da administração dos curcuminóides para todas as cepas. Foi verificado que apesar da dose ser superior à de fármacos comerciais não há problemas de intoxicação. Devido à baixa solubilidade, sistemas de liberação controlada são modulados para que a CUR não precipite e apresente atividade terapêutica por longos períodos após a administração (KAKRAN et al., 2013; ZHAO et al., 2015; JUNIOR, 2020).

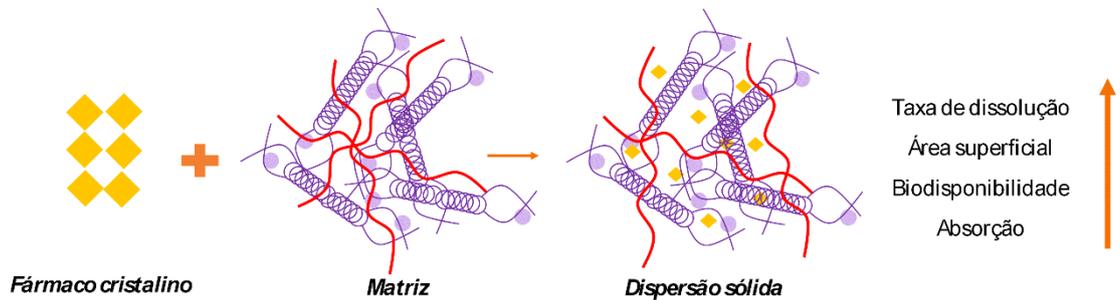
A busca por métodos que melhorem a entrega da CUR através do aumento de solubilidade e biodisponibilidade é algo contínuo e alvo de diversas pesquisas científicas. Dentre as metodologias empregadas para melhorar essas características da CUR e demais fármacos da classe biofarmacêutica IV estão os sistemas de liberação controlada através de dispersões sólidas (DONG; CHOI, 2008; KAKRAN et al., 2013; LI et al., 2015; FAN; LU; LI, 2020).

1.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA E DISPERSÕES SÓLIDAS

Sistemas de liberação controlada de fármacos são alternativas que possibilitam a modulação e a administração de ativos. Esses processos são atrativos pois maximizam a atividade terapêutica e diminuem efeitos colaterais. Um sistema de liberação controlada é como um dispositivo que possibilita o fármaco ser incorporado no organismo de maneira eficaz através do controle da taxa, tempo e local de liberação (DONG; CHOI, 2008; KAKRAN et al., 2013; FURTADO, 2014). Sistemas de liberação controlada também são eficazes em formulações contendo ativos de baixa solubilidade através da utilização de dispersões sólidas. O uso de dispersões sólidas é uma abordagem que favorece o aumento da biodisponibilidade de um fármaco hidrofóbico (FRIESEN et al., 2008; SHAH et al., 2014; LIN et al., 2018; MENDES et al., 2019; BRISTOL; LAMM; LI, 2021).

O termo dispersão sólida é atribuído a uma variedade de formulações onde o fármaco é intimamente disperso em um excipiente, este, denominado de carreador (MENDES et al., 2019; REHMAN et al., 2019; SARABU et al., 2020). As dispersões sólidas cristalinas são sistemas nos quais o fármaco cristalino é disperso dentro de um transportador cristalino ou semicristalino formando um sistema monofásico. Em contraste com as dispersões sólidas cristalinas, as dispersões sólidas amorfas contêm um carreador amorfo (Figura 5) (SARODE et al., 2014b; FAN; LU; LI, 2020; SARABU et al., 2020).

Figura 5. Esquema representativo de uma dispersão sólida utilizando um fármaco cristalino e uma matriz amorfa.



Fonte: Adaptado de Balashubramanian *et al.* (2018) (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018).

Em misturas amorfas de uma fase, denominadas de soluções sólidas, as interações fármaco-carreador são superiores resultando na miscibilidade completa dos dois componentes. As interações intermoleculares entre o fármaco e o carreador formam um sistema monofásico homogêneo em nível molecular (BAIRD; TAYLOR, 2012; KAKRAN *et al.*, 2013; MENDES *et al.*, 2019). Kakran *et al.* (2013) estudaram uma dispersão sólida ternária contendo dois ativos: CUR e hesperitina e avaliou a dispersão em dois polímeros, polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG) visando otimizar as propriedades antioxidantes (KAKRAN *et al.*, 2013). Neste estudo, foi analisado a capacidade dos polímeros em aumentar a taxa de dissolução dos fármacos em meio biológico simulado (tampão PBS) (KAKRAN *et al.*, 2013; SARODE *et al.*, 2014b; SHAH *et al.*, 2014; MENDES *et al.*, 2019; REHMAN *et al.*, 2019). O conceito de dispersões sólidas pode ser classificado em gerações.

A primeira geração engloba misturas cristalinas eutéticas. A segunda geração é caracterizada pela utilização de carreadores amorfos. Entretanto, ainda existiam alguns fatores que precisavam ser aprimorados, como a estabilidade físico-química da dispersão. Diante dos problemas apresentados pelas dispersões sólidas de segunda geração, foram propostas novas alternativas como o uso de matrizes contendo misturas de tensoativos, auto-emulsionantes ou agentes de inclusão/complexação (HUANG; DAI, 2014; SHAH *et al.*, 2014). Denominados de terceira geração, estas previnem desvantagens da segunda geração, tais como cristalização da dispersão durante o armazenamento ou precipitação de fármaco *in vivo* por supersaturação em meio de dissolução. Apesar disso, a dispersão sólida não consegue controlar a forma com que o fármaco é liberado no meio (SKIBA *et al.*, 2014; XIE; YAO, 2020).

A quarta geração de dispersões sólidas consiste em sistemas de liberação prolongada a partir de dispersões sólidas. Essas dispersões são preparadas tendo como objetivo deixar o fármaco mais solúvel e que tenha uma liberação controlada. Nesta geração, ocorrem dois processos: primeiro é a promoção da melhora na dissolução das dispersões sólidas e segundo é a obtenção de liberação gradativa do fármaco. Os principais mecanismos de liberação de fármacos nessa geração são, portanto, a difusão e a erosão. Portanto, a dispersão sólida é capaz de fornecer uma quantidade adequada de fármaco por um período prolongado, melhorando a adesão do paciente através da administração menos frequente e a minimização dos efeitos colaterais (DONG; CHOI, 2008; ALAM et al., 2012; HUANG; DAI, 2014; SKIBA et al., 2014; UEDA et al., 2014).

Dispersões sólidas podem apresentar mais de um carreador, quando se possui uma mistura entre as matrizes é possível combinar propriedades, maximizando o tratamento tornando-o mais eficiente (HARSH; CHONG; ATEF, 2012; PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014). Em muitos casos, a adição de um promotor de solubilidade, como surfactantes e copolímeros, são uma opção promissora para compostos hidrofóbicos (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). A investigação de sistemas ternários se faz necessária quando dispersões sólidas contendo apenas um dispersante não supre todos os objetivos (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014). Dentre os principais carreadores, as matrizes poliméricas são as mais utilizadas. Os principais polímeros empregados em dispersões sólidas são a linha de polímeros sintéticos (PVP e Eudragit) e polímeros modificados, como os derivados de celulose (PARADKAR et al., 2004; FRIESEN et al., 2008; PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; KUMAR et al., 2016; STURM et al., 2016; FAN et al., 2018; CHAVAN et al., 2019; NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; FAN; LU; LI, 2020; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

1.6 MATRIZES POLIMÉRICAS

Polímeros são macromoléculas formados pela repetição de determinados blocos denominados monômeros (EBEWELE, 2000; MENG; GALA; CHAUHAN, 2015; LIN et al., 2018). Diversos polímeros são utilizados na obtenção de dispersões sólidas devido ao seu alto peso molecular, capacidade de promover uma boa dispersão e compatibilidade no organismo. Muito se investiga sobre a utilização de matrizes poliméricas com o interesse e a possibilidade de uma liberação e dissolução controlada (PUCCI; RUGGERI, 2011; ALEANDRI; JANKOVIC; KUENTZ, 2018; MENDES et al., 2019; REHMAN et al., 2019). Polímeros são muito utilizados na indústria farmacêutica para modular a liberação do fármaco no organismo,

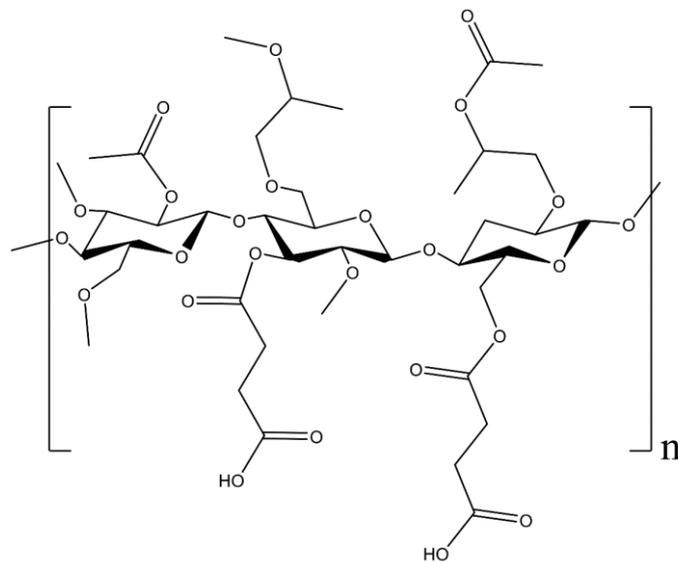
além disso, é possível controlar além da liberação, o local onde o fármaco é depositado. Dentre os locais de aplicação das dispersões sólidas utilizando polímeros podemos citar a via oral, transdérmica e tópica (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; WAISCZIK, 2020).

Sistemas tópicos de liberação são utilizados quando o fármaco precisa ser liberado na pele (TAGLIARI, 2012; MENG; GALA; CHAUHAN, 2015; BEGUM et al., 2019). De modo geral, o ativo é disperso em uma matriz onde a ela atua tanto na parte externa quanto interna. Na externa, o polímero previne a exposição imediata do fármaco ao ambiente. Já na parte interna, a matriz estabiliza e controla a taxa com a qual o fármaco é liberado no organismo (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; WAISCZIK, 2020). Dentre os polímeros utilizados para formar dispersões sólidas para aplicações tópicas podemos citar o PVP, PEG, carragenas e os derivados de celulose (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; REHMAN et al., 2019).

1.7 DERIVADOS DE CELULOSE

Derivados de celulose são uma classe de polímeros modificados que são obtidos a partir da celulose (EBEWELE, 2000). A celulose é o biopolímero mais abundante no mundo o que torna o processo de derivatização algo amplamente estudado e de baixo custo (SOUZA, 2009; CHAVAN et al., 2019; REHMAN et al., 2019). Os derivados de celulose ganharam popularidade quando se trata de dispersões sólidas devido suas propriedades físico-químicas. Além da solubilização de fármacos, os polímeros auxiliam na inibição da cristalização e melhoram a liberação (EBEWELE, 2000; CHAVAN et al., 2019; REHMAN et al., 2019). Dentre os polímeros modificados, aplicados principalmente na indústria farmacêutica, o acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) (Figura 6) se destaca (FRIESEN et al., 2008; BRISTOL; LAMM; LI, 2021; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

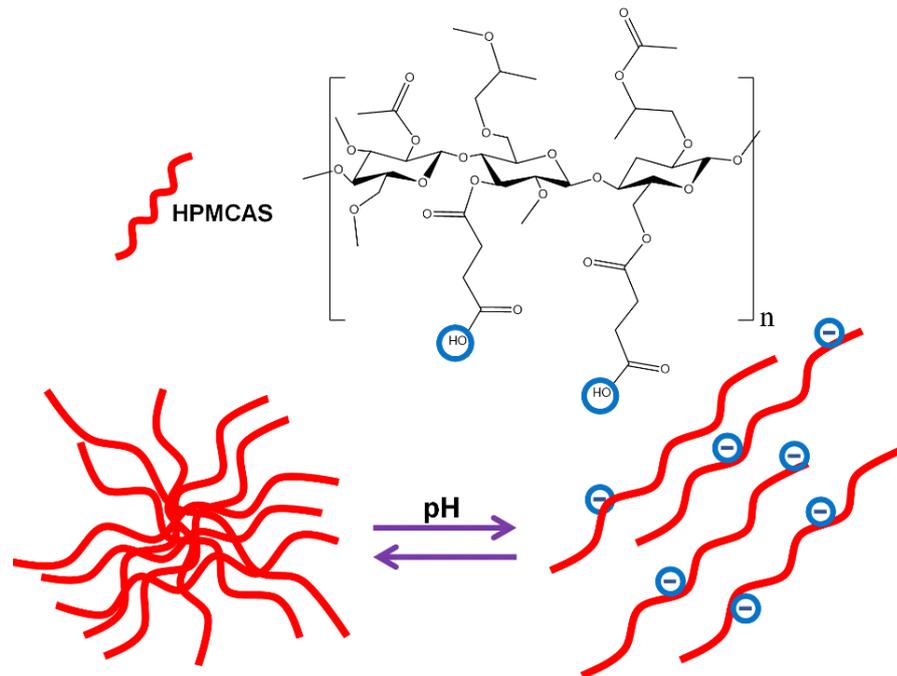
Figura 6. Representação da estrutura química do acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).



Fonte: Adaptado de Schwing *et al.* (2016) (SCHWING *et al.*, 2016).

O HPMCAS é considerado um polímero de alta performance quando se trata de encapsulação de fármacos (SIEPMANN *et al.*, 2006; UEDA *et al.*, 2014; PINTO *et al.*, 2018; REHMAN *et al.*, 2019). A adição de grupos acetato e succinato ($pK_a \sim 4,8$) agregam hidrofobicidade e lipofobicidade, respectivamente e atribui a capacidade de estabilizar diversas classes de fármacos no estado amorfo. O caráter anfílico dá ao HPMCAS solubilidade em uma ampla faixa de solventes orgânicos e em água ($pH > pK_a$) (KONNO *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2013; SARODE *et al.*, 2014a; WAISCZIK, 2020). Pela variedade de substituintes do HPMCAS, há propriedades desejáveis tanto no estado sólido quanto em solução. No estado sólido, o HPMCAS possui estrutura rígida, devido ao *backbone* (cadeia principal) celulósico, com alta T_g quando comparado aos demais polímeros celulósicos. Dessa forma, a rigidez promove uma maior estabilidade de ativos em dispersões sólidas (BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Em solução, as propriedades do HPMCAS são dependentes do pH devido a ionização dos grupos succinato que inibem a agregação do polímero. Esses agregados do HPMCAS possuem condições específicas de pH, temperatura e concentração. A concentração em que os agregados são formados podem ser denominados como concentração de agregação crítica (CAC) (Figura 7).

Figura 7. Representação esquemática e estrutural do polímero HPMCAS abaixo e acima da concentração de agregação crítica (CAC) dependente do pH.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A CAC do HPMCAS foi caracterizada por Bristol *et al.* (2021) que determinou a CAC por fluorescência ($\sim 0,14 \text{ mg mL}^{-1}$) (BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Através da Figura 7, é possível observar uma ampla gama de interações de caráter não covalente que ocorre por meio de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e de ligação de hidrogênio. Os grupos ionizados aumentam a solubilidade em meio aquoso, enquanto a presença dos grupos hidrofóbicos resulta na formação de agregados coloidais (UEDA *et al.*, 2014; ALEANDRI; JANKOVIC; KUENTZ, 2018; BRISTOL; LAMM; LI, 2021).

No trabalho desenvolvido por Bristol *et al.* (2021), os autores avaliaram a conformação do HPMCAS e como essas estruturas afetam sistemas contendo fármacos pouco solúveis (BRISTOL; LAMM; LI, 2021). O trabalho demonstra, que além do efeito de carga envolvido na mudança do pH, há um efeito conformacional que promove a solubilização de fármacos lipofílicos. Em meio ácido, conformações enoveladas são favorecidas devido ao efeito hidrofóbico e a ausência de repulsão eletrostática. Acima do pKa, os grupos carregados aumentam a solubilidade e a repulsão de cargas. Essa repulsão diminui o efeito hidrofóbico tornando as cadeias menos enoveladas (KONNO *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2013; STURM *et al.*, 2016; BRISTOL; LAMM; LI, 2021).

Devido a solubilidade parcial, o efeito conformacional também está associado a quantidade de HPMCAS em um determinado volume de solvente. No regime diluído ($< CAC$), as cadeias permanecem majoritariamente desenoveladas onde o polímero se comporta como em um bom solvente (REHMAN et al., 2019; BRISTOL; LAMM; LI, 2021). A medida em que a concentração de HPMCAS aumenta, há tendência da passagem deste sistema para um regime de mau solvente. No regime de mau solvente, não há precipitação, mas um estado conformacional de agregação das cadeias poliméricas. Neste, o comportamento do HPMCAS tende a ser semelhante ao observado quando o pH está abaixo do pKa (Figura 7). Entretanto, esses agregados tendem a não apresentar forma definida e possuem um equilíbrio de formação complexo (FRIESEN et al., 2008; STURM et al., 2016; BRISTOL; LAMM; LI, 2021; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Apesar das características promissoras o HPMCAS apresenta algumas limitações (UEDA et al., 2014; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Dentre elas podemos citar o caráter rígido da membrana e o baixo intumescimento. Entre as formas de minimizar essas limitações podemos citar a utilização de um polímero auxiliar. A mistura física de dois ou mais polímeros, denominadas blendas, representam um sistema complexo capaz de apresentar efeitos sinérgicos entre os constituintes (ABDERRAHIM et al., 2015; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; FRANÇA et al., 2022a).

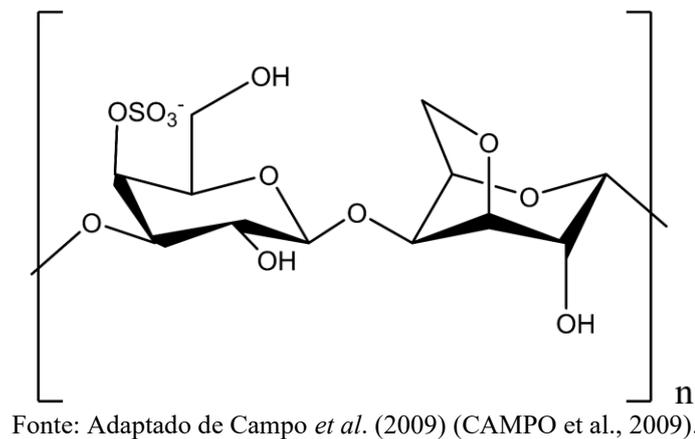
Blendas poliméricas se mostram uma maneira interessante de suprir a cristalização e melhorar a solubilidade e a permeabilidade de fármacos (FAN; LU; LI, 2020). A incorporação de um segundo polímero pode contribuir no aumento de solubilidade do fármaco, auxiliar no processo de liberação, aumentar a maleabilidade e o intumescimento (MENG; GALA; CHAUHAN, 2015; FAN et al., 2018; FAN; LU; LI, 2020). Dentre os polímeros biodegradáveis capazes de incorporar a CUR podemos citar a Kappa carragena (YEGAPPAN et al., 2018; FAUZI et al., 2021).

1.8 CARRAGENAS

Carragena é um nome genérico de uma família de polissacarídeos, obtido por extração de certas espécies de algas vermelhas (*Rhodophyta*). Consistem em alternância de β -D-galactopiranosose 3-ligada (unidades G) e α -D-galactopiranosose 4-ligada (unidades D) ou 3,6-anidro- α -D-galactopiranosose 4-ligada (DA- unidades) (CAMPO et al., 2009; SHOJAEI-ALIABADI et al., 2014; REHMAN et al., 2019). As carragenas são classificadas de acordo com o número de grupos sulfatados contidos na estrutura dimérica (CAMPO et al., 2009; PHILLIPS; WILLIAMS, 2009; WAISCZIK, 2020). A Kappa Carragena (κ -CAR) (Figura 8)

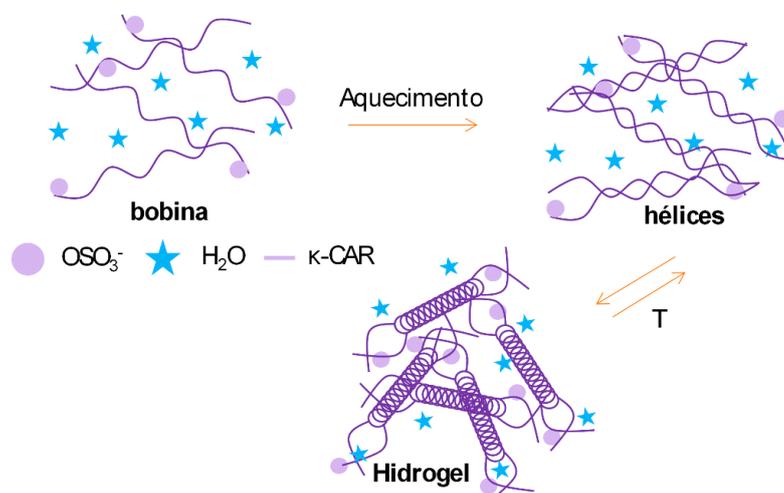
contém um grupo sulfato na estrutura dimérica e se destaca devido as propriedades de gelificação termorreversível (CAMPO *et al.*, 2009; SHOJAEE-ALIABADI *et al.*, 2014; SATHUVAN *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2018).

Figura 8. Representação estrutural do monômero do polissacarídeo Kappa Carragena.



A κ -CAR (Figura 8) é muito utilizada devido as suas propriedades físico-químicas como solubilidade, intumescimento e gelificação (EBEWELE, 2000; SUN *et al.*, 2018; REHMAN *et al.*, 2019). Através das proporções de grupo sulfato, e as estruturas terciárias da κ -CAR, o processo de gelificação é muito comum. A gelificação da κ -CAR ocorre em duas etapas (Figura 9).

Figura 9. Esquema representativo do processo de transição de fase de bobina para hélice sob aquecimento da kappa carragena (k-CAR) e agregação das hélices sob resfriamento (hidrogel).



Primeiro, sob aquecimento ocorre a transição da estrutura em bobina para hélice. Em seguida, com resfriamento, há agregação das novas estruturas. A etapa de agregação é diretamente dependente dos cátions que atuam como contra-íons no meio (CAMPO et al., 2009; SATHUVAN et al., 2017; LIU et al., 2018; YEGAPPAN et al., 2018; DE ALCÂNTARA et al., 2020; WAISCZIK, 2020). O processo de termogelificação reversível é uma das características que atribuí a κ -CAR objeto de pesquisa em liberação de fármacos. Entretanto, devido a fraca propriedade de barreira, são incorporados outros agentes (MICHEL; MESTDAGH; AXELOS, 1997; SHOJAEE-ALIABADI et al., 2014; SATHUVAN et al., 2017; REHMAN et al., 2019; WAISCZIK, 2020).

Membranas de κ -CAR e CUR foram estudadas por Liu *et al.* (2018) para monitoramento do pH em alimentos (LIU et al., 2018). Nele, não foi possível incorporar mais que 3% (m/m) de CUR na membrana devido à baixa solubilidade. Se sobressai que os autores utilizaram emulsificantes para que a CUR se mantivesse dispersa no sistema (LIU et al., 2018; KADOTA et al., 2020).

Neste trabalho, busca-se a obtenção de uma matriz constituída de HPMCAS e κ -CAR e a incorporação de CUR na membrana. Através deste estudo se pretende combinar as propriedades de barreira e estabilidade do HPMCAS com as propriedades intumescentes da κ -CAR para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade da CUR. O sistema foi construído de modo a ser um candidato a dispositivo de administração tópica no tratamento de fases iniciais (nevus) do melanoma evitando o aparecimento de metástases.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver membranas poliméricas contendo HPMCAS e κ -CAR e a incorporação de CUR na membrana visando o tratamento tópico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Calcular a solubilidade entre os componentes da mistura HPMCAS, κ -CAR e CUR através dos parâmetros de Hansen e Flory-Huggins. Estudar a influência dos polímeros HPMCAS e κ -CAR no espectro de emissão de fluorescência da CUR.

Avaliar a dispersão coloidal HPMCAS-CUR por espalhamento de luz (DLS) e por potencial zeta (ζ); verificar as partículas secas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM); comparar a fração cristalina no estado sólido por difração de raios X de pó (XRPD) e no estado fundido por calorimetria exploratória diferencial (DSC); verificar a influência do HPMCAS na solubilidade no equilíbrio da CUR.

Desenvolver blendas poliméricas de HPMCAS e κ -CAR e avaliar a dispersão da CUR na matriz filmogênica. Caracterizar as membranas quanto as propriedades ópticas, térmicas, mecânicas e morfológicas, através das técnicas de microscopia óptica com luz polarizada (PLOM), espectroscopia na região do UV-visível (UV-Vis), infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (XRD) análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise dinâmico mecânica por rampa de temperatura e tensão vs deformação (DMA), ângulo de contato (CA) e microscopia eletrônica de varredura (SEM).

Avaliar a cinética de liberação *in vitro* das formulações contendo CUR em meio de pH simulado e a permeação *ex vivo* em pele humana empregando a célula de Franz, sendo quantificada por fluorescência utilizando curva analítica adequada.

Realizar testes microbiológicos *in vitro* das membranas obtidas contra cepas de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), respectivamente, no intuito de determinar a concentração inibitória mínima através do método de microdiluição.

Estimar a capacidade antioxidante da CUR e das membranas utilizando o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) como radical livre.

CAPÍTULO II

Estudos da curcumina no estado sólido e em solução

1 INTRODUÇÃO TEÓRICA

Apesar do foco ser uma formulação sólida, é importante o estudo do comportamento da CUR e dos polímeros em solução (EBEWELE, 2000; ZHANG et al., 2019). A solubilidade termodinâmica é definida como a capacidade máxima de um soluto se dissolver em uma determinada quantidade de solvente (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; MENDES et al., 2019). Trata-se de uma propriedade intrínseca de cada material e depende de diversos fatores. Temperatura, força iônica, pH e cristalinidade são alguns parâmetros que afetam a solubilidade (VIPPAGUNTA et al., 2007; LI et al., 2015; KUMAR et al., 2016). A solubilização de uma molécula de baixa massa molecular através de um solvente depende da quebra das interações soluto-soluto e solvente-solvente. O favorecimento das interações soluto-solvente leva em consideração a efetividade do afastamento das moléculas do soluto (desagregação) e o transporte de massa do solvente. (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; LAVRA, 2017).

Para avaliar a interação entre soluto-solvente, devemos levar em consideração a natureza e a magnitude das interações inter e intramoleculares. Alguns parâmetros teóricos, dentre os desenvolvidos por Hansen, permitem prever a miscibilidade através do balanço de forças adesivas e coesivas sem a necessidade de experimentos (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; LAVRA, 2017). Por se tratar de um balanço energético, o processo de solubilização pode ser descrito através da equação fundamental da termodinâmica (Equação (1)).

$$\Delta G_{sol} = \Delta H_{sol} - T\Delta S_{sol} \quad (1)$$

A variação de energia livre de solubilização (ΔG_{sol}) depende da variação do estado energético do sistema (ΔH_{sol}) e do grau de liberdade associado (ΔS_{sol}) (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Dentre as teorias envolvendo a solubilidade de polímeros, a desenvolvida por Flory e Huggins se destaca (EBEWELE, 2000; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016). O modelo de Flory-Huggins é uma forma de representar o equilíbrio de soluções poliméricas. Apesar de apresentar discrepâncias das soluções reais a teoria consegue descrever o comportamento de polímeros em um regime diluído (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Para

um sistema constituído de um polímero e um solvente (molécula de baixa massa molar), o modelo assume a soma de duas contribuições.

A primeira contribuição não considera sítios específicos de interação, mas sim apenas tamanho e forma. Esta, não é afetada em altas temperaturas onde a energia cinética das moléculas é muito superior à energia de interação. A segunda contribuição é descrita como a energia adesiva associada. A energia adesiva é considerada como o excesso de energia potencial e é denominada como contribuição entálpica do sistema (LACOUILONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016). Através do modelo de Flory-Huggins é possível inferir os parâmetros sobre a solubilidade de um polímero sob o efeito de um fármaco, considerado o solvente, como por exemplo, a CUR.

A mudança no ambiente químico da CUR e dos polímeros pode promover aumento da solubilidade. A formação de dispersões sólidas contendo a CUR em uma matriz polimérica pode também influenciar na morfologia do material final como, por exemplo, no perfil cristalino. Utilizando medidas de difração de raios X de pó (XRPD) é possível verificar se houve alterações na cristalografia do material (PARADKAR et al., 2004; KAKRAN et al., 2013; LI et al., 2013; STURM et al., 2016; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021). A solubilização envolve a quebra dos retículos cristalinos da estrutura sólida (EBEWELE, 2000). Assim, a mudança na estrutura cristalina é um parâmetro importante para avaliar a solubilidade. Neste sentido, o percentual cristalino é um parâmetro comparativo onde um sólido perfeito tem uma cristalinidade máxima (~100%) enquanto que um líquido tem todos os seus retículos cristalinos desfeitos (LIMA, 2014; MEDEIROS, 2019).

Devido aos equilíbrios físico-químicos e estruturais da CUR é possível investigar o ambiente em que ela está inserida através do fenômeno de fluorescência. A alta conjugação de ligações π da CUR provoca a emissão de fótons não radioativos se tornando uma espécie de sonda molecular. A emissão de fluorescência permite inferir sobre a disposição da CUR no microambiente a nível molecular e a influência dos polímeros (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; BRISTOL; LAMM; LI, 2021). A avaliação da solubilização e interação da CUR podem ser estudados através da fluorescência. Como descrito por Enumo *et al.* (2019), a CUR apresenta um equilíbrio 1,3 diceto/ceto-enólico que influencia o processo de autoagregação da molécula (MUKERJEE et al., 2010; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Assim, avaliando os perfis

espectrais, é possível constatar quais são as distribuições de espécies presentes em cada temperatura e se há influência dos polímeros no meio (BHATIA et al., 2016a; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; JUNIOR, 2020).

Como descrito no Capítulo I, as características de autoagregação do polímero HPMCAS podem ser evidenciadas de maneira indireta por fluorescência (BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Com a CUR atuando como uma espécie de sonda molecular, a autoassociação do HPMCAS pode ser visualizada. A formação de agregados depende da natureza e da magnitude das interações entre a CUR e o HPMCAS. Estes sistemas auto-organizados podem ser caracterizados por espalhamento dinâmico de luz (DLS) que permitem visualizar a formação de partículas coloidais e a estabilidade pode ser prevista pelo potencial zeta (ζ). Por outro lado, o tamanho dito “real” desses agregados é caracterizado e comparado quando seco por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (BARIK et al., 2007; MUKERJEE et al., 2010; LI et al., 2013; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; BRISTOL; LAMM; LI, 2021; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

O Capítulo II foi empenhado em estudar a interação e determinar a solubilidade da CUR na matriz de HPMCAS e κ -CAR através dos parâmetros de Hansen e Flory-Huggins (LÜBTOW et al., 2019). Verificar a influência do HPMCAS no perfil cristalográfico da CUR através da análise de XRPD e DSC (MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021; BABADI et al., 2022). Estudos por fluorescência permitem avaliar a influência dos polímeros e determinar a solubilidade intrínseca da CUR na matriz de HPMCAS. A formação de estruturas supramoleculares foi caracterizada por DLS, ζ e TEM. A solubilidade no equilíbrio da CUR na presença do HPMCAS foi verificada.

2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS

O Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS, $M_w \sim 47694 \text{ g mol}^{-1}$) da empresa Aquasolve® foi adquirida por doação do Laboratório de Controle de Qualidade (CCSUFSC). A Kappa-carragena (κ -CAR, $M_v \sim 269700 \pm 5,52 \text{ g mol}^{-1}$) e a Curcumina (CUR) (contendo $> 65\%$ de curcumina e $< 35\%$ de demetóxi e bisdemetóxicurcumina) foram obtidas da Sigma Aldrich, etanol foi comprado da NEON. Todos os outros reagentes e solventes utilizados são de grau analítico e usados sem purificação prévia. Água deionizada foi utilizada em todo o estudo.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Avaliação de solubilidade via teoria de grupos

Como um indicador da compatibilidade entre a CUR e os polímeros, os valores de solubilidade de Hansen para as misturas binárias foram calculados pelo método de contribuição de grupos (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; LAVRA, 2017). Dentre as abordagens publicadas, Hoftyzer e Van Krevelen (1976) calcularam as contribuições de solubilidade de alguns grupos de moléculas estimando as contribuições dispersivas (apolares), dipolo (polares) e ligações de hidrogênio. De acordo com Van Krevelen *et al.* (2009) a solubilidade total (δ_t) é a soma da contribuição de três componentes de interação (Equação (2)) (EBEWELE, 2000; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009).

$$\delta_t^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2 \quad (2)$$

Onde δ_d , δ_p e δ_h são as contribuições dispersivas, polares e de hidrogênio, respectivamente. Para a determinação da solubilidade, a Equação (3) descreve a relação matemática de cada componente. F_{di} é a constante de atração molar devido ao componente dispersiva, F_{pi} é a constante de atração molar devido ao componente polar, E_{hi} é a energia da ligação de hidrogênio e V_m é o volume molar (EBEWELE, 2000).

$$\delta_d = \sum \frac{F_{di}}{V_m}, \delta_p = \sqrt{\sum \frac{F_{pi}^2}{V_m}}, \delta_h = \sqrt{\sum \frac{E_{hi}}{V_m}} \quad (3)$$

2.2.2 Avaliação de solubilidade via Flory-Huggins

Misturas binárias foram preparadas variando a proporção de polímero e curcumina denominados HPMCAS/CUR (HA) e κ -CAR/CUR (CA)), em estudos individuais. As proporções sistema HPMCAS:CUR (HA) foram: 100:0 (HA00); 70:30 (HA30); 60:40 (HA40); 50:50 (HA50); 40:60 (HA60); 10:90 (HA90) % (m/m). A mistura binária κ -CAR/CUR (CA) foi variada nas proporções 100:0 (CA00); 90:10 (CA10); 80:20 (CA20); 70:30 (CA40); 70:40 (CA40) e 50:50 (CA50) % (m/m). As misturas físicas de HPMCAS/CUR e κ -CAR/CUR foram preparadas por maceração em almofariz de Ágata com pistilo por 10 min. As misturas foram analisadas por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) como descrito a seguir (TANNO et al., 2004). Os valores da temperatura de fusão e os respectivos valores de entalpia obtidos através das curvas de aquecimento, e posteriormente foram relacionados através do modelo de Flory-Huggins (Equação (4)) (VIEIRA, 2017).

$$\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T_m^0} = \frac{R}{\Delta H_m} \left\{ \left(\ln(\varphi_{CUR}) + \left[\left(1 - \frac{1}{\omega} \right) (\varphi_{HPMCAS}) \right] + [\chi_f (\varphi_{HPMCAS})^2] \right) \right\} \quad (4)$$

Onde T_m e T_m^0 são as temperaturas de fusão do fármaco nas misturas físicas fármaco-polímero e fármaco puro, respectivamente; R é a constante dos gases; ΔH_m é a variação de entalpia de fusão do fármaco puro, χ_f é o parâmetro de interação fármaco-polímero; φ é a fração volumétrica do polímero. A Equação (5) descreve o parâmetro ω , onde MM e ρ são a massa molar e a densidade teórica da CUR e polímero, respectivamente.

$$\omega = \frac{MM(\text{polímero})/\rho(\text{polímero})}{MM(CUR)/\rho(CUR)} \quad (5)$$

2.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi empregada para avaliar a influência dos polímeros na temperatura e no ΔH_m da CUR. A interação entre cada polímero e a CUR foi avaliada pela diminuição do ponto de fusão e/ou desaparecimento do pico de fusão da CUR adquirido usando um calorímetro TA modelo DSC-50. Entre 5 e 10 mg de cada amostra foi depositada em cadinho de alumínio e submetida a aquecimento de 0 a 190 °C com uma taxa de 10 °C min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹). Um cadinho de alumínio vazio foi utilizado como referência. (MENDES et al., 2019; ENUMO et al., 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.4 Estudo de interação por fluorescência

2.2.4.1 Efeito da concentração de CUR

Isotermas de interação da CUR com os polímeros foram realizadas por titulação no fluorímetro Hitachi F-4500 (MENDES et al., 2019). Isotermas de interação da CUR com os polímeros foram realizadas por titulação utilizando uma solução estoque de HPMCAS ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) e κ -CAR ($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$). Conforme proposto por Enumo *et al.* (2019), foram estudadas quatro diferentes temperaturas (293, 298, 303 e 313 K) conduzido em quatro concentrações distintas de CUR ($4,0$; $6,0$; $8,0$ e $10,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), em uma cubeta contendo $2,0 \text{ mL}$ de água destilada (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Assim, é possível saber qual a massa de CUR que está dispersa na cubeta contendo água. Alíquotas dos polímeros foram adicionadas à cubeta contendo a CUR. A interação/solubilidade da CUR com cada polímero foi avaliada adquirindo o espectro de fluorescência no intervalo de 450 a 700 nm usando um $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$ e monitorando a intensidade de emissão em 538 nm. A solubilidade nos polímeros foi obtida pela intersecção de duas linhas derivadas da região de interação e da região de saturação da curva de emissão máxima em função da massa de HPMCAS. Em cada temperatura, foram obtidas quatro curvas tendo a massa inicial de CUR como variável independente. A intersecção individual dessas curvas fornece a quantidade de matéria de HPMCAS para solubilizar a CUR em diferentes quantidades de CUR e temperatura. Através do coeficiente angular do gráfico $n_{\text{CUR}} \text{ vs } n_{\text{HPMCAS}}$ é possível calcular a solubilidade intrínseca (χ) em mol de CUR por mol de polímero.

Mesmo em sistemas complexos, a equação de van't Hoff (Equação (6)) pode se adequar de forma satisfatória. Através da equação fundamental da termodinâmica (Equação (1)) é possível relacionar o parâmetro χ com a solubilidade de equilíbrio da CUR em água ($S_w = 3,64 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) com o parâmetro entrópico (ΔS) e entálpico (ΔH) de solubilização (Equação (6) e (7)).

$$\Delta G = -RT \ln \left(\frac{\chi}{S_w} \right) \quad (6)$$

$$-RT \ln \left(\frac{\chi}{S_w} \right) = \Delta H - T\Delta S \quad (7)$$

2.2.5 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

A determinação do raio hidrodinâmico (R_h) foi realizada utilizando o equipamento multiusuário modelo Zetasizer Nano Series marca Malvern Instruments, com laser de 633 nm, disponível no Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio). A intensidade do espalhamento de luz foi verificada a 173°, em triplicata, com o acúmulo de 15 correlogramas das amostras com diferentes massas de CUR após a finalização da titulação fluorimétrica (BHATIA et al., 2016a; KUMAR et al., 2019). Foi utilizada célula capilar plástica de 3 mL e a concentração de cada dispersão diluída foi de 0,1 mg mL⁻¹. Através desta técnica é possível obter a curva de correlação ($G(\tau)$). Através do tempo de decaimento obtido pela curva de correlação foi possível estimar o raio hidrodinâmico do coloide utilizando a equação de Stokes-Einstein (Equação (8)).

$$D = \frac{T k_B}{6\pi\eta R_h} \quad (8)$$

Em que o coeficiente de difusão (D), constante de Boltzmann (k_B), viscosidade (η) e temperatura (T) do meio tornam possível calcular o raio hidrodinâmico (R_h) da partícula. Essa relação vale para uma esfera cujo raio seja tão grande que o meio viscoso seja considerado contínuo.

2.2.6 Potencial zeta (ζ)

O potencial zeta (ζ) foi determinado utilizando o equipamento multiusuário modelo Zetasizer Nano Series marca Malvern Instruments, com laser de 633 nm, disponível no Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio). A análise foi realizada em célula capilar plástica de 1 mL em pH 6,0. O potencial zeta pode ser calculado através da Equação (9).

$$\zeta = \frac{4\pi\mu\eta}{\epsilon E} \quad (9)$$

A Equação (9) relaciona o potencial aplicado (E), a viscosidade do solvente (η), a constante dielétrica do solvente (ϵ) e a mobilidade eletroforética (μ), esta última, determinada experimentalmente para calcular o potencial zeta (ζ) da dispersão (HARADA et al., 2014; SANCHES et al., 2020).

2.2.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

O tamanho e morfologia das partículas foram avaliados por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) utilizando um microscópio JEM 1011 operando a uma voltagem de aceleração de 80 kV. O preparo do grid ocorreu 24 h antes da análise, onde 2 mL das soluções contendo CUR após o ensaio de fluorescência (HAC40, HAC0, HAC80 HAC100) foram filtradas utilizando membranas Sartorius® 0,45 µm. 10 µL desta solução foi depositado em grid de cobre recoberto com carbono. O excesso removido com papel filtro e por último corado com acetato de uranila 1% (SANCHES et al., 2020).

2.2.8 Perfil cristalográfico

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, em porta amostras com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50° , com step angular de $0,091^\circ\text{s}^{-1}$ (FRANÇA, 2016). O grau de cristalinidade do pó (X_C) foi determinado utilizando-se a Equação (10), onde A_{mix} é a área da fração cristalina da mistura; A_{CUR}^o é a área do difratograma da curcumina livre e f_{CUR} é a fração mássica de CUR na amostra.

$$X_C = \frac{A_{mix}}{A_{CUR}^o * f_{CUR}} \quad (10)$$

2.2.9 Solubilidade no equilíbrio

A quantidade em excesso pesada de CUR e as formulações foram colocadas em um tubo de ensaio de 5 mL para cada sistema estudado, e 3 mL do solvente (água destilada) foram adicionados no tempo zero. As formulações foram preparadas de modo a manter a massa de CUR constante, mas variando as proporções de HPMCAS para obter as condições avaliadas no estudo de fluorescência. O tubo de ensaio foi selado e mantido sob agitação vigorosa imerso em banho-maria a temperatura constante ($25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$) durante 48 h. Amostras (em duplicata) foram retiradas e filtradas usando uma membrana de filtro Sartorius® de 0,45 µm, diluída em EtOH e analisadas com a curva de calibração obtida por fluorescência apresentada no Apêndice B (TØNNESEN; MÁSSON; LOFTSSON, 2002; STURM et al., 2016; ZHANG et al., 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 AVALIAÇÃO DE SOLUBILIDADE VIA TEORIA DE GRUPOS

O processo de solubilização de uma substância resulta da interação entre a espécie que se deseja solubilizar (soluto) e a substância que a dissolve (solvente) (ATKINS; JONES, 2009; ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2019). A solubilidade pode ser definida como a quantidade de soluto que dissolve em uma determinada quantidade de solvente em condições de equilíbrio (DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018; LÜBTOW et al., 2019; MENDES et al., 2019). Apesar de ser um critério quantitativo alguns parâmetros teóricos podem inferir sobre a solubilidade de forma semiquantitativa.

Segundo Van Krevelen *et al.* (2009), quanto menor for a diferença de solubilidade total (δ_t) entre substâncias, maior a chance destes componentes serem miscíveis. A solubilidade total é estimada através da soma das contribuições dispersivas (δ_d), polares (δ_p) e de hidrogênio (δ_h) que uma molécula apresenta. Essas componentes levam em consideração os grupos químicos presentes e a simetria da estrutura analisada. Alguns autores relatam experimentalmente que os componentes miscíveis apresentam a diferença de $\Delta\delta_t \leq 7,0 \text{ MPa}^{1/2}$ (HANSEN, 2007; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; LAVRA, 2017). As contribuições de solubilidade associada as contribuições dispersivas (δ_d), polares (δ_p) e hidrogênio (δ_h) foram estimadas utilizando o Anexo A. Os parâmetros de solubilidade dos polímeros (HPMCAS e κ -CAR) e da CUR (na forma diceto) estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de solubilidade calculados através do método de contribuição de grupos.

	$\delta_d (\text{MPa}^{1/2})$	$\delta_p (\text{MPa}^{1/2})$	$\delta_h (\text{MPa}^{1/2})$	$\delta_t (\text{MPa}^{1/2})$	$\Delta\delta_{t\text{CUR}} (\text{MPa}^{1/2})$
HPMCAS	17,7	1,3	9,8	20,3	1,0
κ-CAR	11,1	24,1	6,4	27,3	6,0
CUR	16,4	3,5	13,2	21,3	0

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Observa-se através dos dados apresentados na Tabela 1 que as componentes dispersivas (δ_d) são maiores na CUR e no HPMCAS (LI et al., 2013; STURM et al., 2016). A magnitude dispersiva (δ_d) da CUR pode ser atribuída majoritariamente aos anéis aromáticos. A presença dos grupos acetatos contidos e a estrutura da cadeia principal do HPMCAS contribuem para um valor relativamente alto da δ_d . As componentes dispersivas tendem a

diminuir a polaridade da molécula que, por sua vez, apresenta solubilidade limitada em solventes polares (TANNO et al., 2004; LI et al., 2013). A δ_d da κ -CAR apresenta valores inferiores aos demais apresentados na Tabela 1 devido ao caráter polar do polissacarídeo (HANSEN, 2007; SHOJAEE-ALIABADI et al., 2014; FARHAN; HANI, 2017).

As componentes polares (δ_p) apresentadas Tabela 1 indicam que, entre as substâncias mostradas, as componentes do HPMCAS e CUR apresentam valores mais próximos. A componente polar da κ -CAR apresentou valores elevados por se tratar de um polissacarídeo sulfatado. Os grupos sulfatos e hidroxila na estrutura da κ -CAR promovem interações iônicas e dipolo-dipolo (MICHEL; MESTDAGH; AXELOS, 1997; WAISCZIK, 2020). As componentes de hidrogênio (δ_h) são tratadas separadamente devido a magnitude da interação (Tabela 1) (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009).

As δ_h indicam um tipo forte de interação molecular proveniente do dipolo elétrico formado entre o hidrogênio e um átomo eletronegativo (ATKINS; JONES, 2009). De maneira comparativa, o HPMCAS e CUR apresentam valores mais próximos na componente δ_h do que a κ -CAR e a CUR. Sistemas com componentes de δ_h próximos tendem a apresentar uma solubilidade denominada “mútua” (HANSEN, 2007; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009).

Doktorovova *et al.* (2018) avaliou a miscibilidade da CUR em sistemas lipídicos e surfactantes (DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018). Os valores das componentes de solubilidade calculadas para a CUR na forma diceto foram 17,8, 4,01, 11,9 e 21,8 MPa^{1/2} para δ_d , δ_p , δ_h e δ_t , respectivamente. Excelente correlação entre os parâmetros previstos e a solubilidade aparente entre os carreadores e a CUR foi observada (PARADKAR et al., 2004; LIAO et al., 2017; DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018; ILANGO VAN et al., 2018). Os valores calculados por Doktorovova *et al.* (2018) apresentam semelhança aos expostos para a CUR na Tabela 1. A proximidade entre os dados obtidos confere legitimidade aos cálculos realizados e concordância dos parâmetros exibidos no presente trabalho.

No trabalho desenvolvido por Lübtow *et al.* (2019) foi estudado a solubilidade da CUR com diversos copolímeros variando o bloco hidrofóbico (LÜBTOW et al., 2019). A solubilidade total calculada para o tautômero ceto-enol foi de 25,5 MPa^{1/2}. A diferença associada aos valores apresentados neste trabalho (de 21,3 MPa^{1/2}) pode estar associada a

forma tautomérica escolhida (diceto) para os cálculos (KUMAR; GUPTA, 1998; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013).

No presente estudo, observa-se que ambos os polímeros (HPMCAS e κ -CAR) apresentam um $\Delta\delta_t$ com relação a CUR inferior a $7,0 \text{ MPa}^{1/2}$ indicando compatibilidade entre os polímeros e a CUR (HANSEN, 2007; JUST et al., 2013; DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018). Os parâmetros de solubilidade obtidos pela contribuição de grupos presumem a miscibilidade teórica entre os polímeros e a CUR. Ressalta-se que o método de Hansen não leva em consideração a transição sol-gel da κ -CAR, diferentes conformações do HPMCAS e a presença de dímeros da CUR. Essas propriedades afetam a solubilidade mas não são levadas em consideração no cálculo de Hansen que podem causar divergências (HANSEN, 2007; JUST et al., 2013; LÜBTOW et al., 2019).

As contribuições de miscibilidade dos componentes denotam menores desvios quando utilizadas de modo comparativo dentro de um mesmo experimento. A presença de diversas fontes envolvendo a energia associada a cada grupo químico resulta em oscilações nos valores calculados. Por isso, a conferência com os dados encontrados na literatura está sujeita a desvios que podem ou não ser significativos. Assim, os parâmetros de Hansen funcionam melhor de maneira comparativa dentro de um experimento onde utiliza-se a mesma origem bibliográfica dos valores de energia (HANSEN, 2007; KAKRAN et al., 2013; DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018; LÜBTOW et al., 2019).

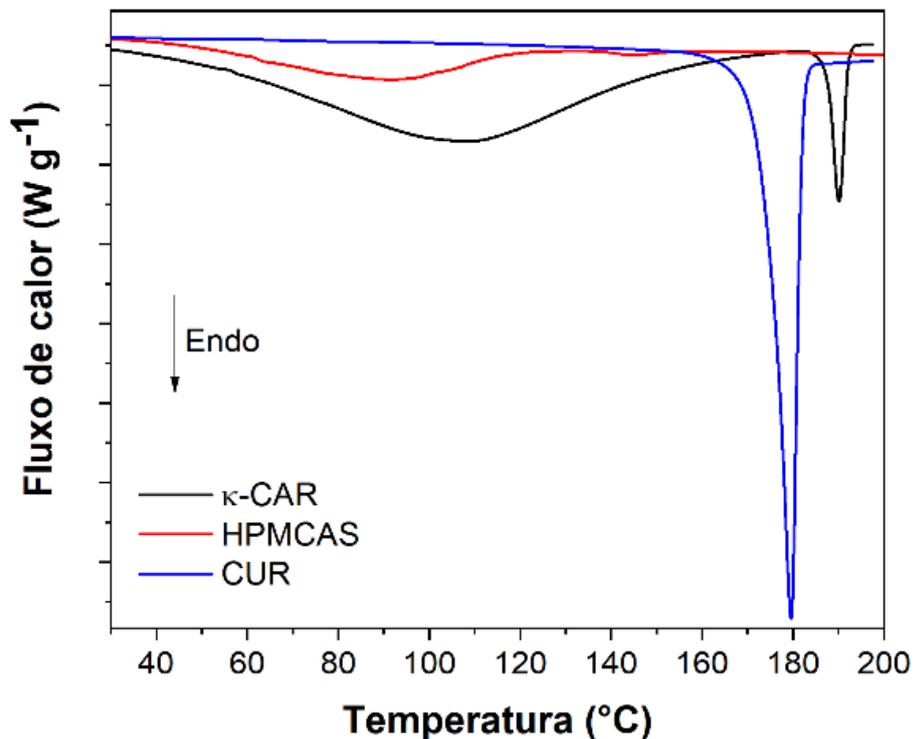
Para investigar a miscibilidade e interação entre os componentes, o parâmetro de Flory-Huggins dos polímeros com a CUR foi determinado utilizando medidas de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

3.2 DETERMINAÇÃO DO PARÂMETRO DE FLORY-HUGGINS

O modelo de Flory-Huggins foi desenvolvido essencialmente para descrever o comportamento de polímeros em um solvente no regime diluído (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JHA; SHAH; AMIN, 2021). A teoria é baseada na termodinâmica de misturas considerando que o ΔS_{sol} é minimizado devido aos vários segmentos que a cadeia polimérica apresenta (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009). Assim, pode-se correlacionar a ΔH_{sol} de uma mistura binária com a fração volumétrica molar do polímero e do solvente (LACOUILONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; STURM et al., 2016). Dentre as formas de medir a variação de entalpia no estado fundido de uma mistura está a técnica de

calorimetria exploratória diferencial (DSC). As análises de DSC permitem medir o calor que uma substância absorve (endotérmico) ou libera (exotérmico) à uma taxa de aquecimento constante. As curvas de aquecimento de DSC para os componentes puros κ -CAR, HPMCAS e CUR estão apresentadas na Figura 10.

Figura 10. Curva de aquecimento de DSC da CUR e dos polímeros κ -CAR e HPMCAS.

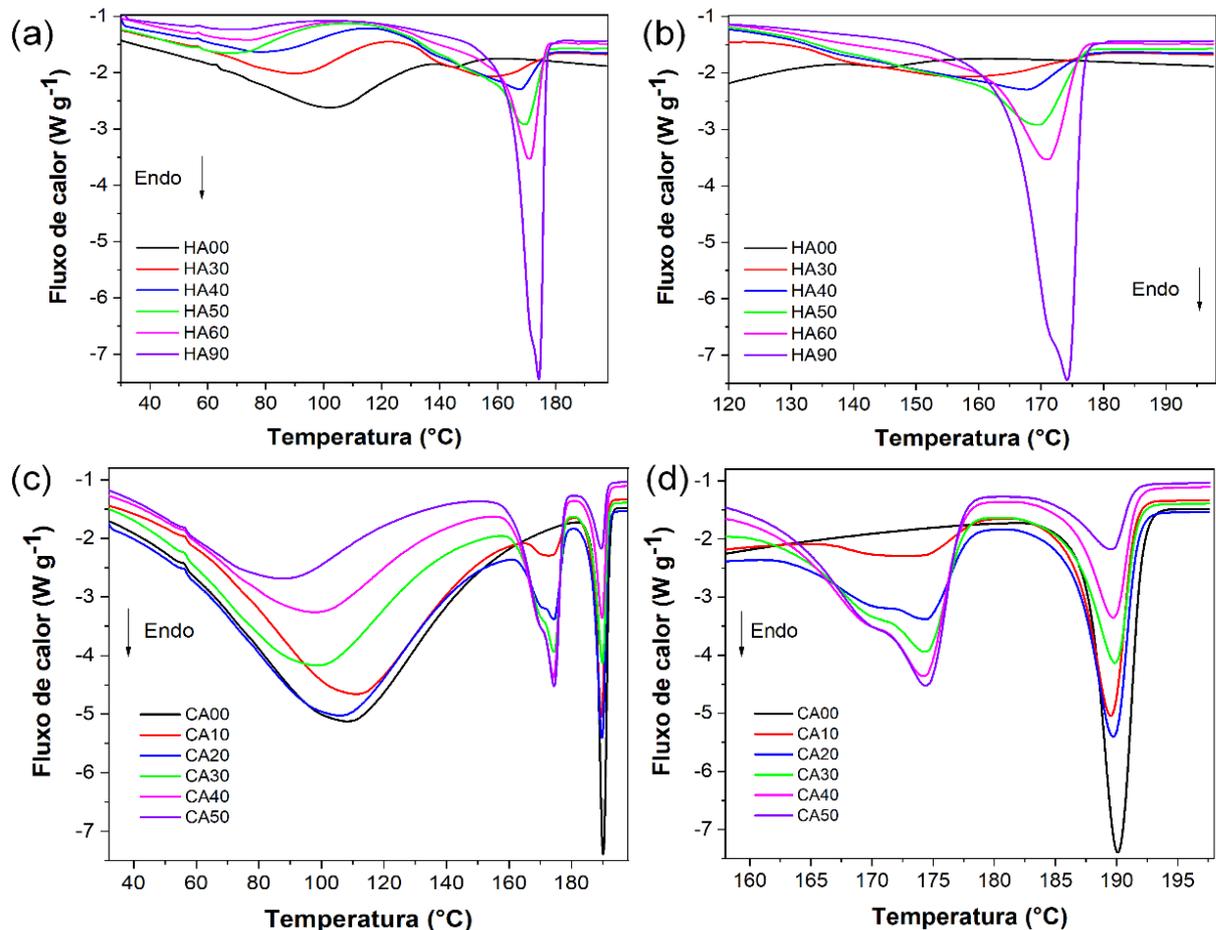


Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Na Figura 10 é possível observar que tanto para a κ -CAR quanto HPMCAS há uma região larga e endotérmica em torno de 100 $^{\circ}\text{C}$. Esse evento está associado a evaporação da água livre adsorvida na estrutura dos polímeros (KONNO et al., 2008; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Além da saída da água, a κ -CAR apresenta um evento endotérmico em torno de 190 $^{\circ}\text{C}$ referente a fusão da parcela cristalina do polissacarídeo sulfatado. Estudos anteriores indicam que este evento antecede a degradação da κ -CAR que ocorre em torno de 250 $^{\circ}\text{C}$ (SHAHBAZI et al., 2016; VOLOD'KO et al., 2016). A curva de aquecimento da CUR na faixa de temperatura avaliada apresenta apenas um evento endotérmico em 174,3 $^{\circ}\text{C}$ referente a fusão do composto cristalino (DEWANGAN et al., 2017; WAISCZIK, 2020). As curvas de aquecimento das

misturas binárias HPMCAS-CUR (HA00-HA90) e k-CAR-CUR (CA00-CA50) são apresentadas abaixo (Figura 11).

Figura 11. Curvas de aquecimento (DSC) dos polímeros HPMCAS (a,b) e k-CAR (c,d) com o aumento da quantidade de CUR (% (m/m)) na dispersão sólida. O sufixo a cada código (HA/CA) é referente ao % de CUR na mistura.



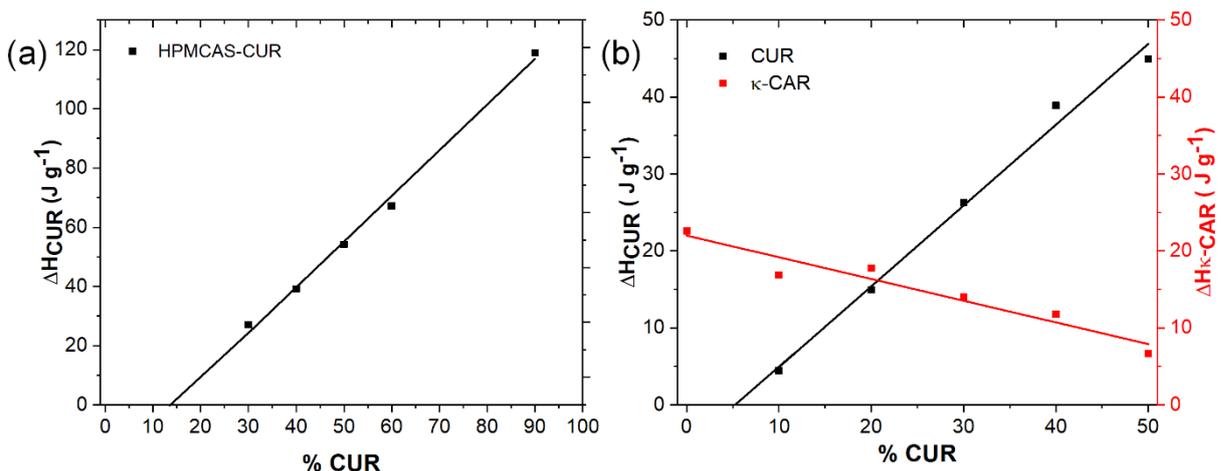
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Através do perfil da curva de aquecimento na Figura 11 é possível avaliar o comportamento térmico das misturas. A presença de água nas curvas (~ 100 °C) evidencia que a análise foi realizada em uma única corrida. A decisão de não utilizar duas corridas, ou seja, apagar a história térmica, foi realizada para não influenciar na estrutura da CUR (EBEWELE, 2000; STURM et al., 2016). Através das diferentes proporções de polímero e CUR foi possível avaliar como a temperatura de pico e a variação de entalpia mudam em cada composição. Observa-se na Figura 11 a elevação no evento endotérmico em $\sim 174,3$ °C conforme o percentual de CUR aumenta. Devido à característica amorfa do HPMCAS, não foi possível caracterizar a temperatura de fusão do derivado de celulose (Figura 11 (a,b)). Os

eventos de fusão presentes, como o da fração cristalina da k-CAR (~190 °C) e da CUR (~174,3 °C), são observados na curva de aquecimento (Figura 11 (c,d)).

Nas misturas binárias identifica-se o decréscimo na temperatura de evaporação da água adsorvida no HPMCAS (Figura 11 (a)) e da k-CAR (Figura 11 (c)) conforme o % de CUR aumenta. A diminuição na temperatura de saída da H₂O nos polímeros conforme a CUR é adicionada pode indicar mudanças no ambiente químico da matriz polimérica. A menor temperatura de evaporação pode estar associada a uma espécie de expulsão das moléculas de água no ambiente rico em CUR. A diminuição da energia (térmica) necessária para que a água evapore pode estar relacionada a presença da CUR na matriz polimérica. A CUR atuando como um bom solvente pode propiciar a diminuição do potencial químico dos polímeros na mistura e facilitar a saída da água adsorvida (PARADKAR et al., 2004; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; LI et al., 2013; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021). Através das curvas de aquecimento em diferentes proporções entre a mistura binária HPMCAS-CUR e k-CAR-CUR foi possível construir o diagrama de Tamman (Figura 12 (a,b)).

Figura 12. Diagrama de Tamman mostrando a entalpia de fusão da CUR na mistura binária HPMCAS-CUR (a) e da CUR e k-CAR (b) do sistema binário k-CAR-CUR *versus* a porcentagem em massa da CUR incorporada.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O diagrama de Tamman na Figura 12 (a,b) nos dá informações sobre a compatibilidade e solubilidade da CUR com cada polímero. A solubilidade da CUR em cada matriz pode ser assumida quando não há energia necessária para quebrar o retículo cristalino ($\Delta H_m = 0$) (BAIRD; TAYLOR, 2012; KAKRAN et al., 2013). Em uma substância pura, com

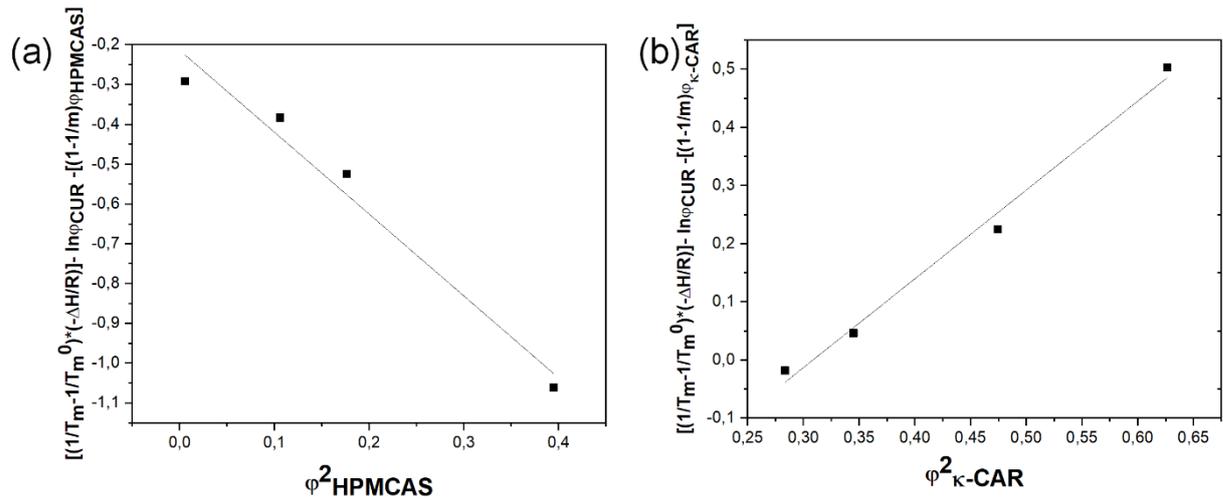
um perfil cristalino, o valor de ΔH_m é constante e característico do material. Os valores de solubilidade da CUR em % (m/m) obtidos através da extrapolação do eixo ($\Delta H_{CUR} = 0$) do diagrama foi de 14,2 e 5,1 % (m/m) para o HPMCAS e κ -CAR, respectivamente (WICAKSONO; SETYAWAN, 2018; ENUMO et al., 2020). Através do diagrama de Tamman constata-se a capacidade, quase que três vezes maior, do HPMCAS com relação a κ -CAR em solubilizar a CUR. Esse comportamento pode estar relacionado a presença de grupos hidrofóbicos do HPMCAS que estabilizam a estrutura da CUR no estado fundido diminuindo o potencial químico da mistura (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009). Devido a presença de água, não foi possível estimar a variação na T_g do HPMCAS (~ 57 °C). Presume-se que a mobilidade acima da transição vítrea do HPMCAS seja um dos fatores que contribua para a menor temperatura fusão da CUR.

Um diagrama de Tamman associado a miscibilidade da CUR foi construído por Enumo *et al.* (2019) (WICAKSONO; SETYAWAN, 2018; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). No diagrama, foram avaliados o percentual em massa de CUR capaz de ser solubilizada em dois copolímeros. A fração solúvel da CUR nos copolímeros foram entre 14,4 e 15,2 % (m/m) (KAROLEWICZ et al., 2017; ENUMO et al., 2020). No trabalho, foi utilizado copolímeros capazes de formar micelas e estabilizar a CUR em um núcleo hidrofóbico bem definido. Micelas poliméricas são sistemas altamente estáveis atribuindo maior solubilidade da CUR no meio (PARADKAR et al., 2004; LI et al., 2013; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Por intermédio do modelo de Flory-Huggins é possível avaliar o grau de miscibilidade entre a CUR e os polímeros. A teoria de Flory-Huggins estima parâmetros termodinâmicos associados a uma solução polimérica (HANSEN, 2007; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009). O método de depressão do ponto de fusão determina a miscibilidade fármaco-polímero quando uma significativa diminuição da T_m é observada para o fármaco devido a mistura exotérmica. Em outras palavras, trata-se de um processo espontâneo e o potencial químico do fármaco na mistura é reduzido em relação ao fármaco puro (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; VIEIRA, 2017). Assim, valores de χ_f positivos indicam que o sistema é imiscível enquanto valores negativos de χ_f geralmente sugerem miscibilidade (STURM et al., 2016; VIEIRA, 2017). A avaliação da miscibilidade é observada pela diminuição da temperatura de fusão da CUR com o incremento de polímero (Figura 11). O *plot* linearizado de Flory-Huggins para as misturas binária HPMCAS-CUR e κ -CAR-CUR é apresentado na

Figura 13. O coeficiente de correlação e o parâmetro de Flory-Huggins de cada sistema binário é apresentado na Tabela 2.

Figura 13. Ajuste do modelo de Flory-Huggins através do método de depressão do ponto de fusão no sistema binário HPMCAS-CUR (a) e κ -CAR-CUR (b) *versus* a fração volumétrica molar do respectivo polímero ao quadrado.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela 2. Parâmetro de Flory-Huggins (χ_f) e coeficiente de correlação dos sistemas binários HPMCAS-CUR e κ -CAR-CUR através do método de depressão do ponto de fusão.

Sistema	Parâmetro de Flory-Huggins (χ_f)	Coefficiente de correlação
HPMCAS-CUR	$-2,057 \pm 0,25$	0,97
κ -CAR-CUR	$1,528 \pm 0,109$	0,99

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Um sistema considerado miscível é descrito como uma única fase homogênea onde os componentes estão intimamente misturados e possuem propriedades físicas distintas dos componentes puros (LACOULONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; MENDES et al., 2019). Observa-se um valor de χ_f para o HPMCAS-CUR negativo, caracterizando a miscibilidade do polifenol no derivado de celulose. Uma observação importante sobre o parâmetro χ_f é que o HPMCAS possui baixa T_g (~ 57 °C), relativa a T_m da CUR ($\sim 174,3$ °C). Essas características favorecem cineticamente a mistura, pois o HPMCAS já está em um estado borrachoso por um período relativamente longo antes do início da fusão da CUR. Assim, o HPMCAS possui tempo e mobilidade suficiente para interagir com a CUR de maneira homogênea (LACOULONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; VIEIRA, 2017; MENDES et al., 2019; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

Em contraste, o valor de χ_f (Tabela 2) para a mistura k-CAR-CUR indica uma mistura imiscível e endotérmica. Polímeros com alta T_m , como a k-CAR ($T_m \sim 190$ °C), podem não se comportar como um líquido durante o processo de fusão do fármaco levando a uma mobilidade molecular reduzida e insuficiente. Desta maneira, a k-CAR não possui tempo suficiente para fundir e dispersar a CUR em um meio fluido, resultando em uma mistura não favorável (LACOULONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; BAIRD; TAYLOR, 2012; TRASI et al., 2014; VIEIRA, 2017).

No estudo desenvolvido por Vieira (2017) foi avaliado o parâmetro de Flory-Huggins entre o fármaco epiisopiloturina e HPMCAS pelo método de depressão do ponto de fusão (VIEIRA, 2017). A autora obteve um χ_f de -2,54 para a mistura entre o fármaco e o derivado de celulose indicando um sistema miscível (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; VIEIRA, 2017; LÜBTOW et al., 2019).

Através do parâmetro de Flory-Huggins constata-se que o HPMCAS é capaz de solubilizar a CUR e indica ser imiscível no polissacarídeo sulfatado. A solubilização ocorre, provavelmente, por interações intermoleculares entre os componentes e são responsáveis pelo aumento da solubilidade da CUR no meio. A estabilização se dá por interações fracas, hidrofóbicas e, principalmente, de hidrogênio entre os componentes (LACOULONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; GOUD et al., 2012; WICAKSONO; SETYAWAN, 2018; FRANÇA et al., 2022b).

Mediante os dados até aqui apresentados é possível identificar através do diagrama de Tamman e o parâmetro de Flory-Huggins a compatibilidade entre os componentes (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016; LÜBTOW et al., 2019). O parâmetro χ_f avaliado sob altas temperaturas pode oferecer certa direção sobre a miscibilidade, mas não determina como o sistema se comporta à temperatura ambiente (VIEIRA, 2017). De modo a avaliar o comportamento desses sistemas em solução, estudos de fluorescência foram designados e apresentados a seguir.

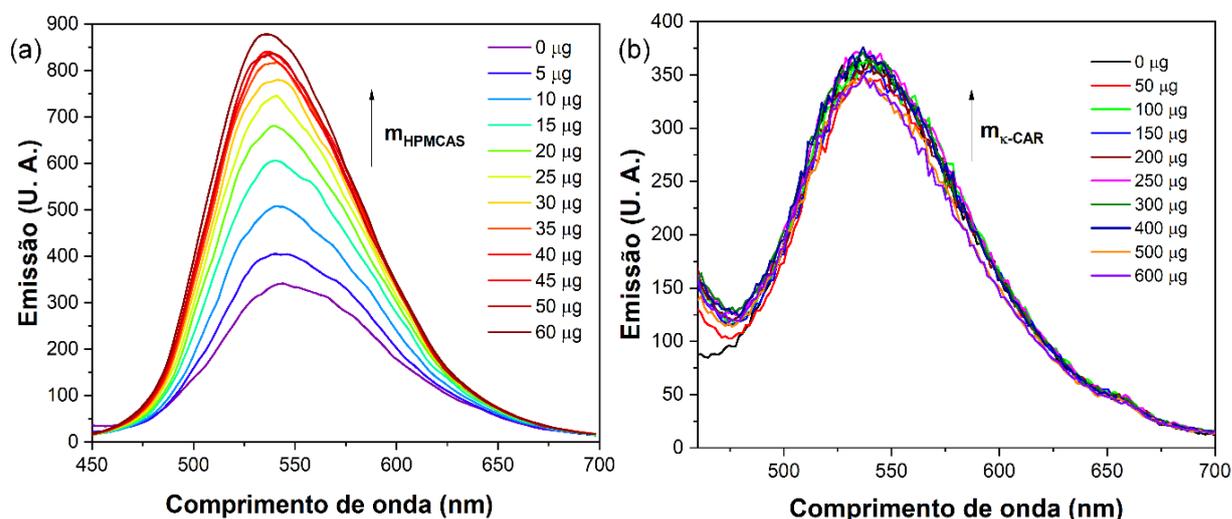
3.3 ESTUDO DE INTERAÇÃO VIA FLUORESCÊNCIA

3.3.1 Efeito da concentração de CUR

O estudo da interação da CUR com os polímeros em solução aquosa é de grande interesse para o desenvolvimento de formulações. Para avaliar o equilíbrio D/CE da CUR, o

comprimento de onda de excitação utilizado foi de 430 nm, sendo referente a forma ceto-enol (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017). O perfil de interação da CUR com o HPMCAS e κ -CAR foi acompanhado por emissão de fluorescência (Figura 14) adicionando-se a solução aquosa de CUR (8 μg), alíquotas de uma solução concentrada de cada polímero de acordo com a descrição do item 2.2.4.1.

Figura 14. Variação do espectro de emissão da CUR (8 μg) em função da massa de (a) HPMCAS (0- 60 μg) e (b) κ -CAR (0- 60 μg) em água. $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$ e $T = 298 \text{ K}$. A massa de CUR indicada é obtida sabendo o volume da alíquota retirada da solução estoque de CUR em EtOH e transferida para a cubeta contendo 2 mL de água.

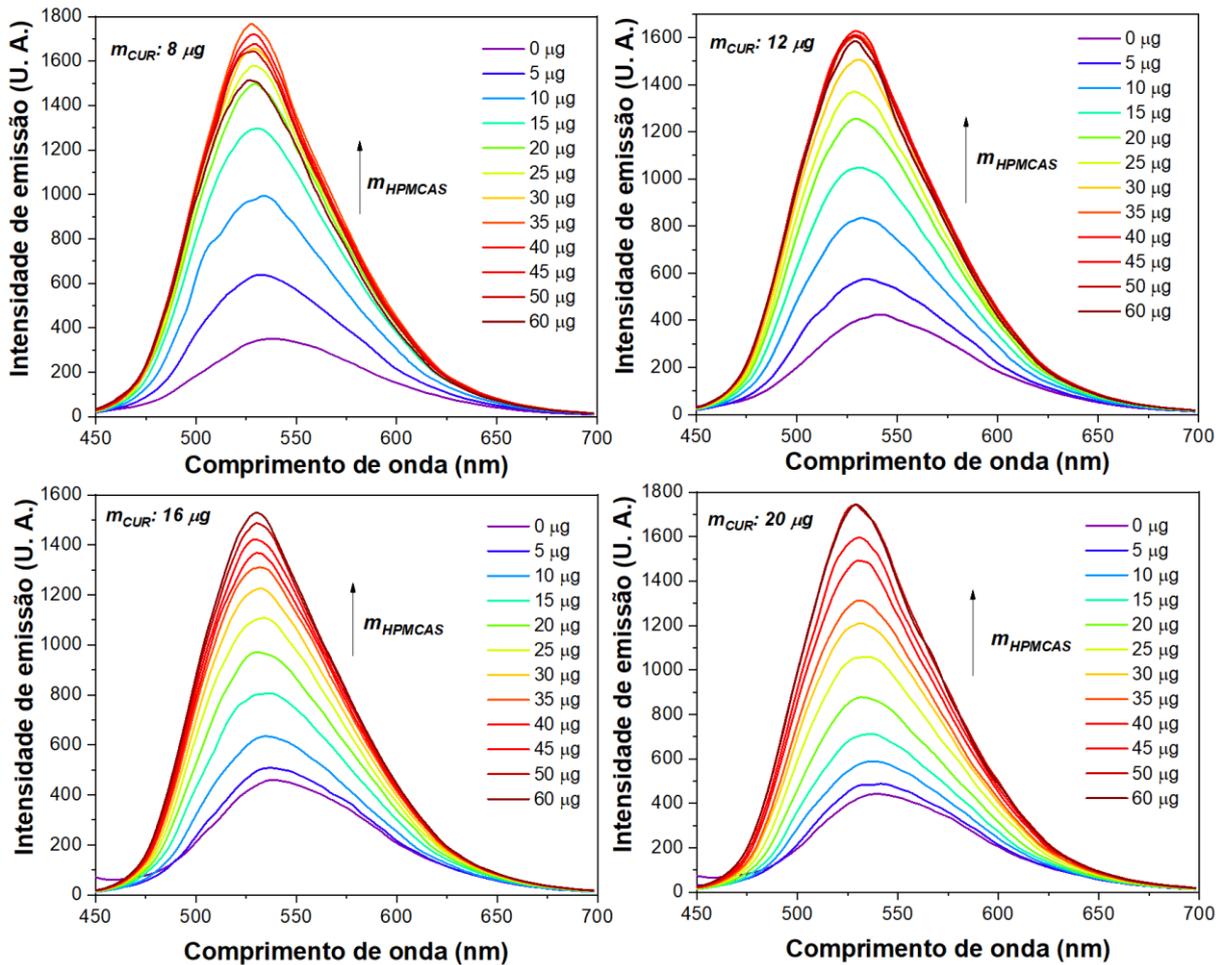


Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Observa-se que no sistema HPMCAS-CUR (Figura 14 (a)), conforme adiciona-se polímero, ocorre um aumento na emissão de fluorescência da CUR. Já a titulação com o polímero κ -CAR (Figura 14 (b)) não apresentou uma variação na intensidade de emissão mesmo com grandes quantidades de κ -CAR. Esse comportamento pode estar associado ao parâmetro de Flory-Huggins que evidenciou um sistema que pode ser solúvel entre o HPMCAS-CUR e insolúvel para κ -CAR-CUR. Desta maneira, observando a variação de emissão, o estudo por fluorescência e os demais experimentos neste capítulo se deu apenas para o sistema HPMCAS-CUR. Curvas isotérmicas titulando HPMCAS em soluções aquosas de CUR foram construídas. As isotermais de HPMCAS-CUR usando diferentes quantidades de CUR (8–20 μg) foram monitoradas no λ_{emi} (538 nm). Os experimentos envolvendo o sistema HPMCAS-CUR foram realizados em 4 temperaturas diferentes (293 K, 298 K, 303 K e 313 K). O perfil de emissão, como exemplo, é apresentado na Figura 15 e as quatro curvas

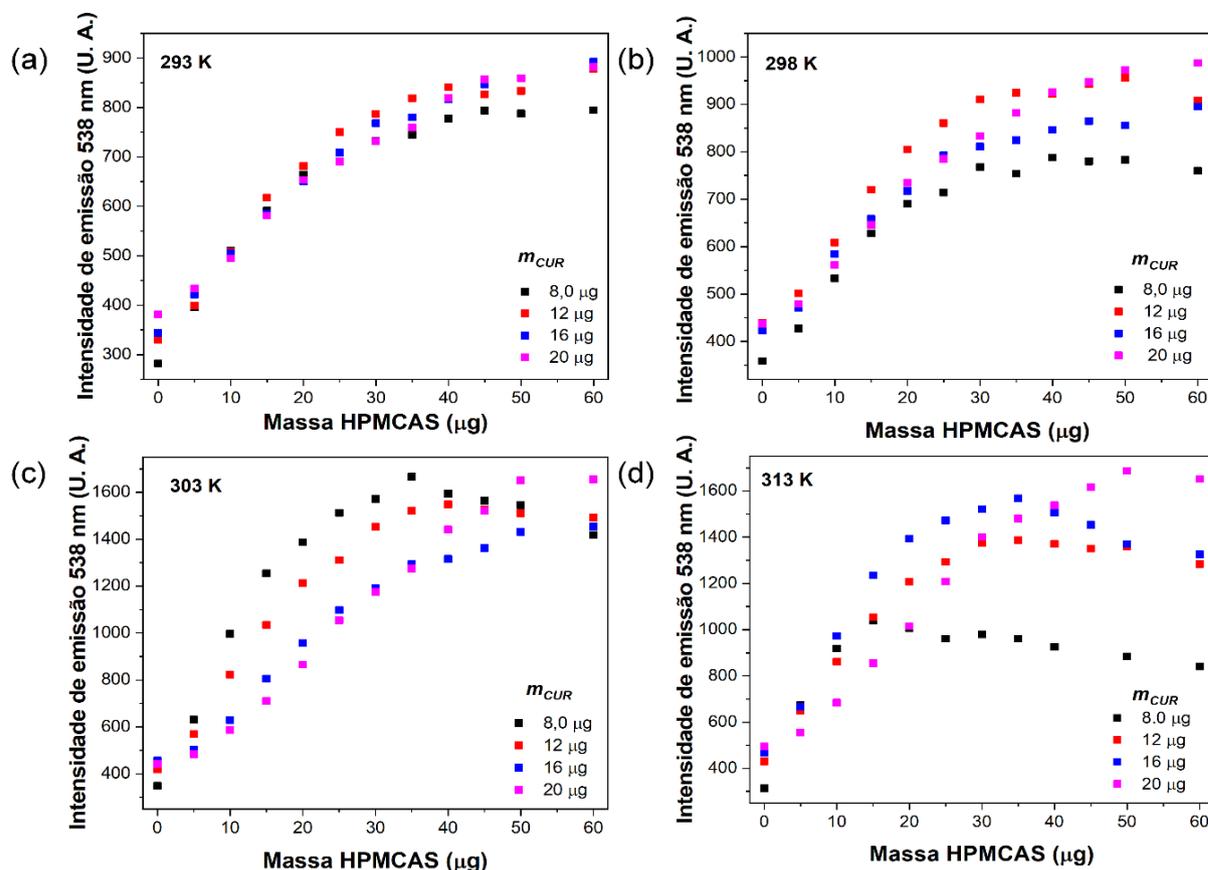
construídas em cada temperatura são mostradas na Figura 16. As massas de CUR indicadas são obtidas sabendo o volume da alíquota retirada da solução estoque de CUR em EtOH e adicionadas à cubeta contendo água.

Figura 15. Variação na intensidade de emissão de fluorescência da CUR (8-20 μg) em meio aquoso avaliando o aumento da massa de HPMCAS (0-60 μg). $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$ e $T = 303 \text{ K}$. A massa de CUR indicada é obtida sabendo o volume da alíquota retirada da solução estoque de CUR em EtOH e transferida para a cubeta contendo 2 mL de água.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Figura 16. Variação da intensidade de emissão da CUR (8-20 μg) em meio aquoso monitorada em 538 nm com o aumento da concentração de HPMCAS. São mostrados os resultados referentes às temperaturas de 293 K (a), 298 K (b), 303 K (c) e 313 K (d).



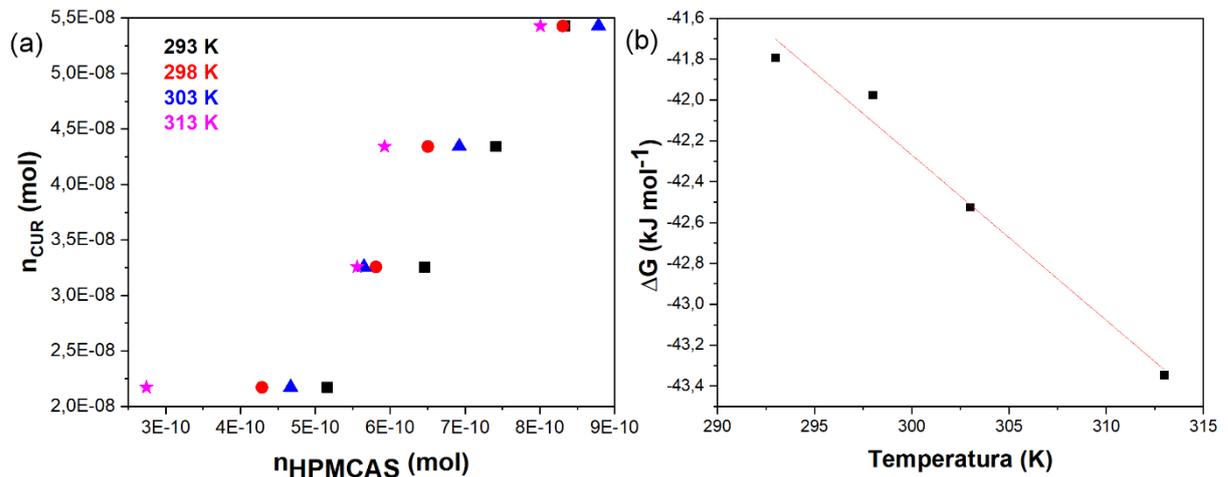
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Inicialmente, observa-se na Figura 16 que a intensidade de emissão da CUR é muito pequena, causado pelo processo de supressão e auto-agregação deste composto em meio aquoso (MUKERJEE et al., 2010; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Após as adições de alíquotas crescentes de HPMCAS é possível verificar um aumento gradativo na intensidade de emissão de fluorescência da CUR (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Em água, o mecanismo majoritário de solvatação da CUR é por ligações de hidrogênio entre CUR e água ou entre CUR-CUR (M2) (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Após a adição do HPMCAS, a CUR se difunde para o meio interno das cadeias poliméricas, formando uma espécie de agregado supramolecular. Suspeita-se que este agregado seja mantido por meio de interações intermoleculares entre a CUR e o HPMCAS (FRIESEN et al., 2008; WANG et al., 2018).

Na região ascendente da curva, presume-se que o HPMCAS está na conformação aleatória indicando igual acessibilidade das moléculas de CUR para a estrutura do HPMCAS em solução. A segunda etapa da curva é considerada um estágio de saturação onde não há mais efeito do HPMCAS na emissão da CUR (BARIK et al., 2007; BHATIA et al., 2016a; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). O comportamento nesta região pode ser interpretado de duas formas: pela perspectiva da CUR ou do HPMCAS. Nesta concentração de saturação, as moléculas de CUR disponíveis interagem com a estrutura do HPMCAS, onde o excesso não produz mais efeito significativo na emissão. Do ponto de vista do HPMCAS, a CUR pode estar atuando como uma sonda e identifica a transição de fase do HPMCAS característica de sistemas aquosos diluídos (BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Com o aumento da concentração de HPMCAS no sistema, o polímero atinge a CAC e colapsa, não tendo mais sítios disponíveis para interagir com a sonda (FRIESEN et al., 2008; WANG et al., 2018; BRISTOL; LAMM; LI, 2021). Como observado na Figura 16, conforme a temperatura aumenta, principalmente em 313 K, o perfil da curva sofre alterações. Este comportamento relaciona-se ao equilíbrio D/CE da CUR com a temperatura. Em temperaturas elevadas, o equilíbrio tautomérico é deslocado no sentido da forma diceto (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017). Assim, evidencia-se que, possivelmente, no regime mais diluído (8 μg de CUR) há este deslocamento no equilíbrio que afeta a avaliação do efeito polimérico na emissão da forma ceto-enol.

Através da intersecção das curvas entre a região ascendente e de saturação de emissão foi relacionado o número de mols necessário de HPMCAS para solubilizar uma certa quantidade de CUR (BARIK et al., 2007; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). A curva referente ao número de mols de HPMCAS e CUR é apresentada na Figura 17 (a) onde o coeficiente angular é denominado como solubilidade intrínseca (χ).

Figura 17. (a) Solubilidade de cada quantidade de CUR (8 μg , 12 μg , 16 μg e 20 μg) utilizada para calcular a solubilidade intrínseca (χ) em HPMCAS em diferentes temperaturas. (b) Ajuste dos pontos experimentais de ΔG em função de T relacionado a interação entre a CUR e o HPMCAS em meio aquoso utilizando um modelo linear.



Em posse das curvas apresentadas na Figura 17 (a) verifica-se que, com o aumento de quantidade de CUR presente no sistema, maior é a quantidade necessária de HPMCAS para solubilizá-la (ESHRA et al., 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). A determinação do coeficiente angular (χ) permitiu-se relacionar a variação de energia livre (ΔG) com a temperatura através da Equação (6) e (7) (Figura 17 (b)). Assim, determinou-se os demais parâmetros termodinâmicos de solubilização. Na Tabela 3 estão apresentados os valores de solubilidade intrínseca (χ), razão de χ pela solubilidade termodinâmica (χS_w^{-1}) e variação de energia livre (ΔG). Através da relação fundamental da termodinâmica foi estimado a variação de entalpia (ΔH , coeficiente linear) e variação de entropia (ΔS , coeficiente angular) de solubilização em cada temperatura (SIMONELLI; MEHTA; HIGUCHI, 1976; STURM et al., 2016; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Tabela 3. Solubilidade intrínseca (χ) da CUR em HPMCAS, razão de χ pela solubilidade termodinâmica (χSw^{-1}), variação da energia livre de Gibbs (ΔG) em função da temperatura. Variação de entalpia (ΔH) e entropia (ΔS) de solubilização e o respectivo coeficiente de determinação (R^2).

Temperatura (K)	χ ($\text{mol}_{\text{CUR}} \text{mol}_{\text{HPMCAS}}^{-1}$)	χSw^{-1} ($\text{L mol}_{\text{HPMCAS}}^{-1}$)	ΔG (kJ mol^{-1})	ΔH (kJ mol^{-1})	ΔS ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$)	R^2
293	102,8	2,825E7	-41,79			
298	82,99	2,279E7	-41,98	-17,99 ±	80,9 ±	0,98
303	78,05	2,144E7	-42,52	2,34	7,77	
313	62,40	1,714E7	-43,35			

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Observa-se na Tabela 3 um decréscimo na solubilidade intrínseca (χ) com o aumento da temperatura. Este comportamento pode estar relacionado a aumento da solubilidade aquosa de ambos os componentes (CUR e HPMCAS) (BAIRD; TAYLOR, 2012; FRANÇA et al., 2022b). Observa-se através do ΔG , que a incorporação da CUR no HPMCAS é um processo espontâneo em toda a faixa de temperatura avaliada (293 à 313 K) (MUKERJEE et al., 2010; KUMAR et al., 2016; MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Estes resultados indicam a espontaneidade do sistema e como fatores associados a concentração e temperatura afetam a dinâmica (MOUSSA; CHEBL; PATRA, 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

O efeito de solubilização com a temperatura foi investigado por Enumo *et al.* (2019). Os autores observaram que, com o aumento da temperatura, o equilíbrio D/CE da CUR é favorecido e a dimerização das moléculas de CUR não é mais estável. A dissociação secundária entre as moléculas de CUR favorece a solubilização da estrutura em água (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). O aumento da solubilidade com a temperatura acaba prejudicando processos de auto associação. Assim, tem-se uma diminuição na solubilidade intrínseca da CUR com o HPMCAS devido a diminuição do efeito hidrofóbico (BARIK et al., 2007; KUMAR et al., 2016; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Os dados apresentados na Tabela 3 apresentam um valor negativo na variação de entalpia. A alta magnitude da variação de entalpia determinado pela equação de van't Hoff pode estar associada a mais de um evento (KUMAR; GUPTA, 1998; HAZRA et al., 2014; KUMAR et al., 2016). A solubilização da CUR em si, apresenta-se na ordem de 300-500 J

mol^{-1} , neste sentido, fica evidente que não é apenas a solubilização da CUR que contribui no processo exotérmico. Sugere-se que a contribuição provenha um efeito de solubilização da CUR- H_2O e CUR-HPMCAS (KUMAR et al., 2016; WANG et al., 2018).

A solubilização do HPMCAS na CUR pode contribuir na magnitude da variação de entalpia (LI et al., 2013; KUMAR et al., 2016; STURM et al., 2016; JUNIOR, 2020). Por se tratar de uma macromolécula, o efeito na variação de entalpia de solubilização é alto indicando que o HPMCAS e a CUR atuam como um sistema miscível entre si. A miscibilidade entre o HPMCAS e a CUR foi prevista pela similaridade entre os parâmetros de solubilidade das componentes de hidrogênio (δ_d) no método de Hansen e do parâmetro de Flory-Huggins (DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2018; LÜBTOW et al., 2019). Trata-se de um processo exotérmico evidenciado pela diminuição na T_m da CUR verificada por DSC (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013; STURM et al., 2016). Valores de variação de entropia semelhantes foram obtidos por Enumo *et al.* (2019) (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

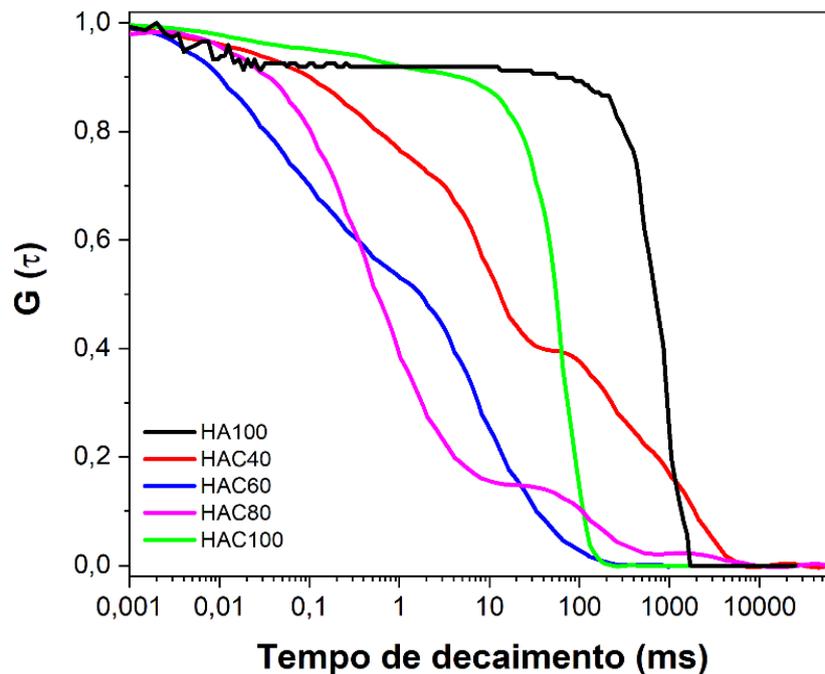
Para elucidar e caracterizar esses sistemas em meio aquoso na região de saturação (platô), análises de espalhamento de luz foram empregadas para verificar a presença de coloides.

3.4 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ (DLS)

A técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS), é amplamente utilizada para a avaliação das dimensões de partículas coloidais. Quando uma partícula é iluminada por uma fonte de luz, ela irá espalhar luz em todas as direções (BHATIA et al., 2016a). O DLS consiste no registro e interpretação das flutuações de intensidade da luz espalhada em um determinado ângulo. Essa avaliação permite estimar o raio hidrodinâmico de partículas através da equação de Stokes-Einstein (KUMAR et al., 2019; SANCHES et al., 2020).

Análises de DLS das soluções contendo HPMCAS (60 μg) com diferentes quantidades de CUR (8, 12, 16 e 20 μg) foram realizadas sob 298 K. Nessas medidas, a intensidade normalizada da função de autocorrelação $G(\tau)$ foi obtida sob o ângulo de espalhamento de 173° . As curvas de autocorrelação são apresentadas na Figura 18.

Figura 18. Curva de autocorrelação $G(\tau)$ das amostras contendo 0 μg (HA100), 8 μg (HAC40), 12 μg (HAC60), 16 μg (HAC80) e 20 μg (HAC100) de CUR à 298 K.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O espalhamento dinâmico de luz permite avaliar a formação de agregados poliméricos através da curva de autocorrelação. Utilizando a Equação (8) foi possível estimar o raio hidrodinâmico (R_h) da partícula e/ou agregado de partículas que apresentam o mesmo coeficiente de difusão (D). O modelo de ajuste utilizado levou em consideração duas populações, ou seja, com dois tempos de decaimento distintos. Os valores calculados para as amostras estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Raio hidrodinâmico (R_h) das duas populações (subscrito 1 e 2) das amostras HAC40, HAC60, HAC80 e HAC100 em água obtidos através da curva de autocorrelação.

Amostra	R_{h1} (nm)	R_{h2} (nm)	R^2
HAC40	$34,9 \pm 2,5^a$	1746 ± 38	0,999
HAC60	$24,7 \pm 0,8$	$797,4 \pm 57$	0,998
HAC80	$31,1 \pm 1,6^a$	$236,3 \pm 8,3$	0,999
HAC100	$86,4 \pm 2,2$	6618 ± 534	0,997

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Devido ao tamanho de partícula elevado, não foi possível calcular o R_h para o HA100 (solução de HPMCAS). A presença de mais de um tamanho de partícula das amostras

contendo CUR pode ser observado na Tabela 4. A população de agregados pode ter sua formação favorecida durante o processo de associação onde agregados primários promovem uma estabilidade inicial (ZHAO et al., 2015; BHATIA et al., 2016a). Através Tabela 4, visualiza-se o raio hidrodinâmico das duas populações majoritárias do sistema.

Como discutido na sessão 3.3.1, a diferença de solubilidade intrínseca encontrada entre os sistemas envolve a saturação da solução. A presença de aglomerados sub e micrométricos indica a fração de aglomerados devido ao colapso das cadeias do HPMCAS em um regime de mau solvente. Através das amostras HAC40, HAC60 e HAC80, é evidenciado uma diminuição no raio da população considerada aglomerada indicando que a CUR pode estar auxiliando no processo de nucleação em partículas menores. Entretanto, a amostra HAC100, apesar de apresentar um certo grau de inchaço (~86,4 nm) contém aglomerados maiores (~6,6 μm) que as demais amostras. Os aglomerados observados na amostra HAC100 podem inferir um limite de agregação associado à alta concentração de HPMCAS e CUR no meio. Assim, acima das condições de 16 μg de CUR e 60 μg de HPMCAS (HAC80) ocorre um crescimento desses agregados coloidais que tendem a sofrer segregação de fase (LI et al., 2013; BHATIA et al., 2016a; DEWANGAN et al., 2017; ZHANG et al., 2019).

Agregados polidispersos de CUR foram caracterizados por Kop *et al.* (2022). Neste estudo, foi obtido nano e micropartículas coloidais de CUR e fulereno visando otimizar as propriedades antioxidantes (KOP et al., 2022). Para a amostra composta de fulereno e CUR dispersa em água foi observado um diâmetro hidrodinâmico de 25,41 a 5285 nm (WANG et al., 2017b; KOP et al., 2022). Apesar da alta variação no tamanho de partícula, foi observada melhora na atividade antioxidante em ensaio de DPPH (AK; GÜLÇIN, 2008; KOP et al., 2022). O aumento na polidispersidade devido a adição de CUR em sistemas auto-associados também foi observado por Enumo *et al.* (2019). O aumento na polidispersão destes agregados está associado, principalmente, pelas características físico-químicas do fármaco e do sistema (BASAK; BANDYOPADHYAY, 2013; BHATIA et al., 2016a; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

Para avaliar a estabilidade desses agregados coloidais, o potencial zeta (ζ) foi calculado através da determinação da mobilidade eletroforética das amostras em água (pH ~ 6).

3.5 POTENCIAL ZETA

O potencial zeta (*Zeta potential*, ζ) pode ser diretamente associado a estabilidade de partículas coloidais (MYERS, 1999). O ζ é descrito como o potencial elétrico no plano hidrodinâmico de cisalhamento entre a partícula em fluxo e o solvente (MYERS, 1999; HARADA et al., 2014; SANCHES et al., 2020). Portanto, o valor do ζ está diretamente relacionado à estabilidade do coloide (HARADA et al., 2014). O alto valor em módulo do potencial zeta indica que as partículas sofrem uma repulsão de carga suficiente para que não ocorra agregação (MYERS, 1999).

Para verificar a estabilidade dos agregados coloidais, neste trabalho o potencial zeta foi estimado. Os dados de potencial zeta, calculado através da Equação (9), das amostras contendo CUR com seus respectivos desvios estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Potencial zeta (ζ) e seu respectivo desvio (DP) das amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 μg), HAC60(12 μg), HAC80 (16 μg) e HAC100 (20 μg) em água à 298 K.

n=3	ζ (mV)
HAC40	-14,5 \pm 1,2 ^a
HAC60	-14,5 \pm 1,0 ^a
HAC80	-19,7 \pm 1,5
HAC100	-6,12 \pm 1,9

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Observa-se na Tabela 5 que a amostra HAC100 apresentou valores de ζ inferiores as demais amostras. Entre as amostras HAC40 e HAC60 não foi observado variação significativa no ζ . A amostra HAC80 apresentou o maior potencial zeta em módulo dentre as formulações contendo CUR, indicando ser mais estável. A amostra HAC100, apresentou o menor valor de ζ , indicando, assim como o DLS, a presença de aglomerados e que é um sistema coloidal instável (MYERS, 1999; JAGANNATHAN; ABRAHAM; PODDAR, 2012; LI et al., 2013; BHATIA et al., 2016b; YI et al., 2016). O maior ζ (em módulo) apresentado pela amostra HAC80 contribui para a hipótese de ter uma proporção e concentração com maior estabilidade entre a CUR e o HPMCAS em solução.

A estabilidade coloidal do HPMCAS foi estudada por Deshpande *et al.* (2018) em diferentes aditivos (DESHPANDE *et al.*, 2018). Os autores observaram que o ζ absoluto é diretamente proporcional ao pH. Esta dependência se dá pela ionização dos grupos succinato que contribuem para o potencial zeta negativo. A teoria DLVO (nomeada em homenagem a Boris Derjaquin, Lev Landau, Evert Verwey e Teodoor Overbeek) infere que dispersões são consideradas estáveis se apresentarem um $\zeta \geq \pm 30$ mV (MYERS, 1999). A teoria se baseia no fato de que a força total entre duas partículas coloidais é obtida somando as forças atrativas de van der Waals e a força repulsiva entre as duplas camadas elétricas (MYERS, 1999; DESHPANDE *et al.*, 2018). Assim, baseando-se na teoria DLVO, o sistema coloidal caracterizado neste trabalho pode ser considerado instável. (HARADA *et al.*, 2014; DESHPANDE *et al.*, 2018).

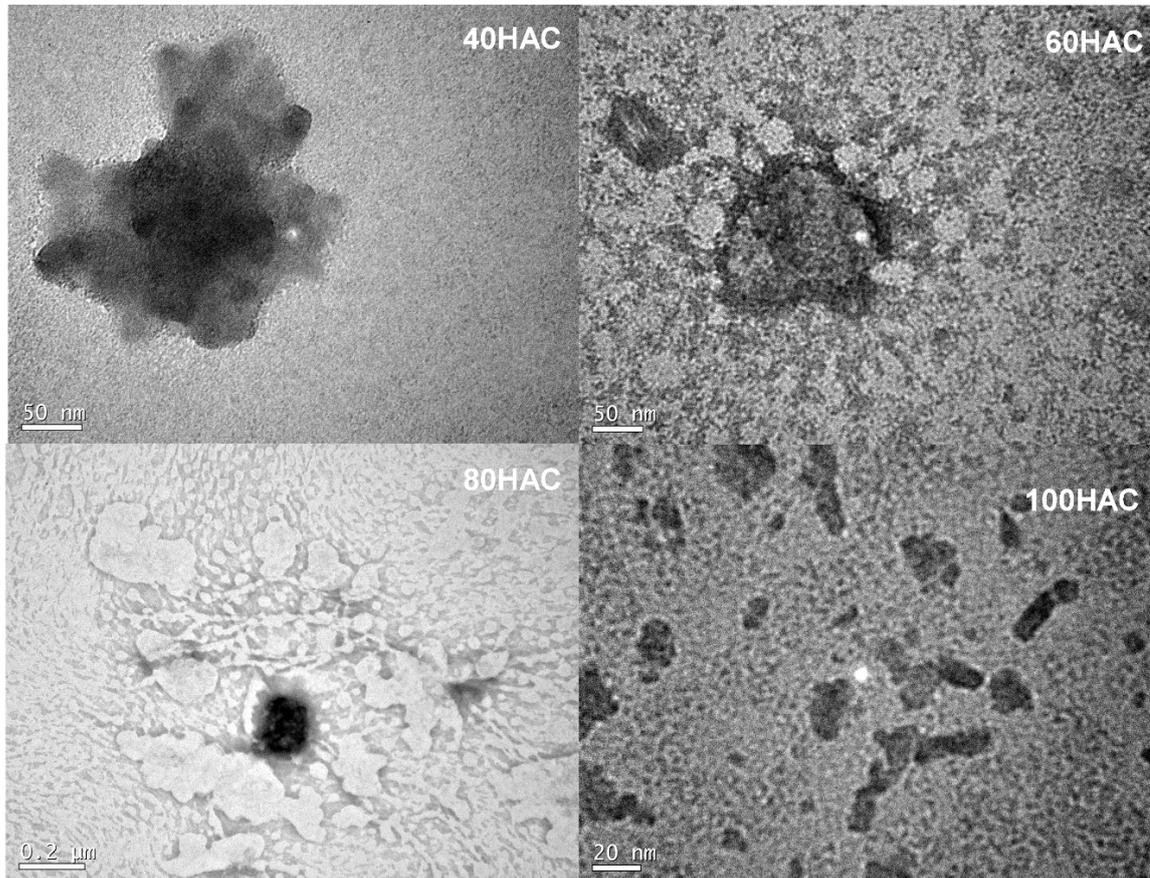
No estudo desenvolvido por Li *et al.* (2016) foi avaliado a estabilidade de nanocomplexos de CUR preparados com conjugados de α -lactalbumina (ALA) e ALA-dextrano. Os valores de potencial zeta obtidos pelos nanocomplexos foram na faixa de -14 e -10 mV. Apesar dos valores de ζ indicarem instabilidade segundo a teoria DLVO, os nanocomplexos apresentaram estabilidade sob estresse ambiental (MYERS, 1999; WANG *et al.*, 2017b). A CUR revestida apresentou maior atividade de eliminação de DPPH, em comparação com a CUR livre. O nanocarreador apresentou ser um potencial sistema de entrega de medicamentos (YI *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2017b).

Para observar se os agregados coloidais são mantidos quando secos, necessita-se de uma técnica complementar. Assim, a técnica de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) se mostrou a mais indicada para avaliar a morfologia nas nano e micropartículas formadas em solução.

3.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (TEM)

As curvas de correlação obtidas por DLS sugerem a formação de nanopartículas de HPMCAS formadas na presença da CUR. Assim, foram realizadas fotografias das amostras secas através da microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (DEWANGAN *et al.*, 2017; SANCHES, 2020). As imagens de TEM estão apresentadas na Figura 19 bem como os respectivos diâmetros estão na Tabela 6.

Figura 19. Imagens de TEM após a titulação fluorimétrica das amostras das amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 μg), HAC60 (12 μg), HAC80 (16 μg) e HAC100 (20 μg) em água à 298 K.



Fonte: A autora deste trabalho (2022)

Tabela 6. Diâmetro médio e o respectivo desvio para as amostras com diferentes quantidades de CUR: HAC40 (8 μg), HAC60 (12 μg), HAC80 (16 μg) e HAC100 (20 μg) em água à 298 K medidos por microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

Amostra	Diâmetro médio (nm)
HAC40	$353,7 \pm 4,1$
HAC60	$216,7 \pm 4,8$
HAC80	$92,8 \pm 1,6$
HAC100	$131,4 \pm 0,8$

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Nas imagens de TEM apresentadas na Figura 19 observa-se a presença de estruturas polidispersas. Com um tamanho variando entre 92 nm e 353 nm, como apresentado na Tabela 6, identifica-se a mesma tendência apresentada no DLS (ver item 3.4). As imagens de TEM

mostraram diâmetros superiores ao DLS, provavelmente ligado a aglomeração durante a secagem e deposição no *grid*. Apesar da presença de aglomerados, foi possível caracterizar a diminuição no diâmetro das partículas com o aumento de CUR até 16 µg (HAC80).

Nas imagens de TEM, o diâmetro diminui conforme a CUR aumentava nas formulações HAC40, HAC60 e HAC80. A tendência foi atribuída ao dismantelo dos aglomerados primários e a formação de núcleos agregados com menores diâmetros. Assim como no DLS, a amostra HAC100 apresentou um acréscimo no tamanho de partícula. A presença de aglomerados por TEM confirma os dados obtidos no tópico anterior (item 3.4 e 3.5) evidenciando uma agregação e instabilidade na amostra HAC100 (LI et al., 2013; BHATIA et al., 2016a; DEWANGAN et al., 2017; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020; SANCHES, 2020).

A nanoencapsulação de fármacos utilizando HPMCAS foi investigado no trabalho desenvolvido por Wang *et al.* (2018) (WANG et al., 2018). Neste, os autores observaram a presença de nanopartículas entre 100 e 200 nm. Além de evidenciar a associação de fármacos com o polímero, foi observado a necessidade dessas moléculas de baixa massa molar para formar partículas coloidais (SIEPMANN et al., 2006; DESHPANDE et al., 2018; WANG et al., 2018). No trabalho de Del Gaudio *et al.* (2017) partículas submicrométricas de HPMCAS foram produzidas para encapsulação de isoflavonas (DEL GAUDIO et al., 2017). Neste, foi caracterizado partículas em torno de 550 nm capazes de diminuir a cristalinidade do fármaco mesmo em condições adversas. A formação dessas nanopartículas aumentara as propriedades difusivas na superfície da pele melhorando a permeação cutânea (FRIESEN et al., 2008; SALEM; ROHANI; GILLIES, 2014; DEL GAUDIO et al., 2017; FAN et al., 2018; ZHANG et al., 2019).

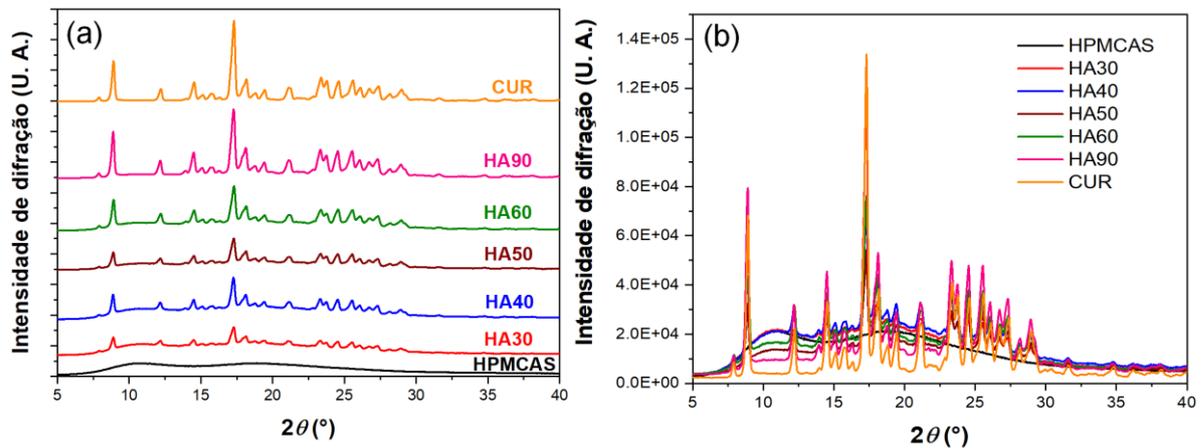
Assim, visando elucidar os efeitos na morfologia da CUR na presença do HPMCAS, principalmente sua estrutura cristalina, a análise de difração de raios X de pó (XRPD) foi utilizada.

3.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE PÓ (XRPD)

A difração de raios X de pó (*X-Ray Powder Diffraction*, XRPD) é um método para medir os raios X espalhados por uma amostra policristalina em função do ângulo de espalhamento. A análise desses feixes espalhados fornece informações sobre a microestrutura e as propriedades da amostra (LACOUILONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; BUNACIU;

UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015). A Figura 20 mostra os difratogramas da CUR e do HPMCAS isolados e da mistura física na proporção 0, 30, 40, 50, 60 e 90% de CUR.

Figura 20. Difratograma das misturas físicas contendo 0 (HPMCAS), 30-90 (HA30-HA90), e 100% de curcumina (CUR) em escala (a) e sobrepostas (b).



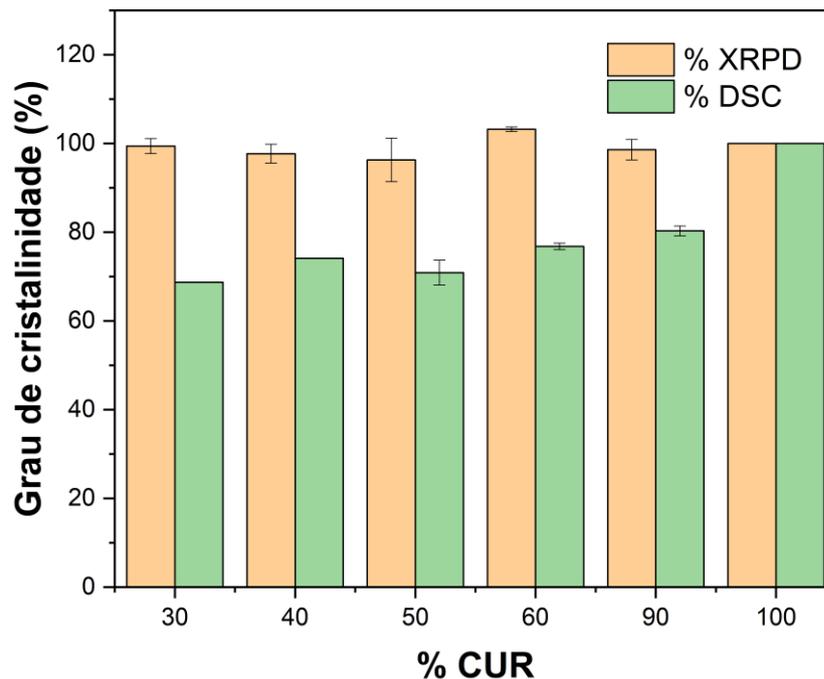
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O padrão de XRPD da CUR detectou picos na faixa de 7,8 até 29°, tendo os mais intensos em 17,3°, 8,9° e 23,4° característicos da estrutura cristalina sem a presença de polimorfos (ZHAO et al., 2015; XIE; YAO, 2020; REN et al., 2022). O perfil da CUR é caracterizado através dos planos cristalinos difratados e vai ao encontro do evento endotérmico (fusão) caracterizado por DSC (PARADKAR et al., 2004; BARIK et al., 2007; FAN; LU; LI, 2020). O HPMCAS não apresentou picos de difração devido a sua orientação aleatória (amorfa) corroborando com o perfil obtido pelo DSC (FRIESEN et al., 2008; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021).

No XRPD das misturas físicas ficou evidente que o padrão de difração da CUR se mantém reduzindo apenas a intensidade dos picos conforme o % de HPMCAS aumenta. Isto demonstra que a maceração não influenciou na forma cristalina da CUR na mistura. A inibição do perfil cristalino em baixos % de CUR pode representar uma boa dispersão do fármaco entre as cadeias poliméricas ou somente a diluição da CUR (KAKRAN et al., 2013; FAN et al., 2018). Estudos indicam que após a dispersão de um ativo cristalino através de uma dispersão sólida há inibição dos picos característicos indicando a presença do estado físico amorfo (TANNO et al., 2004; LIN et al., 2022).

Para comparar os percentuais cristalinos das amostras, o grau de cristalinidade foi calculado através das curvas de difração contidas na Figura 20. Mediante ao cálculo da área referente a região cristalina e amorfa, o % de cristalinidade e os respectivos desvios são comparados com o % calculado por DSC (BATISTA et al., 2016). O grau de cristalinidade em função do % de CUR obtidas por XRPD e DSC são apresentados na Figura 21.

Figura 21. Grau de cristalinidade das amostras obtidas por XRPD e DSC *versus* o percentual de CUR (% m/m).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Devido a característica amorfa do HPMCAS, o percentual cristalino é diretamente proporcional a fração de CUR na mistura. O percentual de cristalinidade foi semelhante ao teórico (% de CUR), não apresentando variação significativa ($t < t_{crit}$). A proporcionalidade entre as formulações indica que o método de maceração não afeta o XRPD. Por outro lado, o percentual cristalino calculado através dos dados de DSC (realizadas no tópico 3.2) pode inferir sobre a influência do HPMCAS no estado fundido da CUR.

Observa-se que o grau de cristalinidade obtido por XRPD não apresentou variação (~100%). Por outro lado, a análise de DSC apresentou um grau de cristalinidade significativamente inferior ($t > t_{crit}$). Comportamento este, que pode ser relacionado ao parâmetro de Flory-Huggins estimado anteriormente. Como discutido no item 3.2, o HPMCAS acima da T_g está no estado borrachoso e pode diminuir a energia necessária para

quebrar o retículo cristalino da CUR. Essa diminuição na T_m da CUR resulta de mudanças no ambiente químico e promove a formação de sistemas estruturalmente mais desorganizados (KAKRAN et al., 2013; LIMA, 2014; MEDEIROS, 2019). Assim, supõe-se que um sistema fundido seguido da evaporação do solvente promova a estabilização do estado amorfo. Esse processo de solubilização e secagem pode ser preparado através de membranas poliméricas.

No trabalho de Babadi *et al.* (2022) foi avaliado o perfil cristalográfico da CUR em membranas e nanofibras poliméricas (BABADI et al., 2022). O perfil cristalino da CUR foi qualificado como predominantemente amorfo no compósito (LI et al., 2013; BABADI et al., 2022; REN et al., 2022). Essas formulações apresentaram um perfil de liberação estável da CUR em modelos *in vitro* e *in vivo* (SEO et al., 2012; WANG et al., 2017a; XIONG et al., 2020; BABADI et al., 2022).

De maneira geral, a estabilidade cinética do sistema coloidal não afeta as propriedades termodinâmicas. Para avaliar a solubilidade no equilíbrio foi determinada a solubilidade termodinâmica da CUR à 298 K na presença e na ausência do HPMCAS.

3.8 SOLUBILIDADE NO EQUILÍBRIO

A solubilidade termodinâmica está definida como a quantidade máxima de soluto dissolvida em um determinado volume de solvente (ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2019). Até então, neste presente trabalho muito se apresentou, argumentou e discutiu sobre uma solubilização metaestável, ou seja, termodinamicamente instável (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; MENDES et al., 2019; FRANÇA et al., 2022a). Para verificar a solubilidade no equilíbrio, foi investigado a solubilidade em água das formulações HAC40, HAC60, HAC80 e HAC100. O sistema foi configurado e mantido sob agitação (50 rpm), temperatura (298 K) e tempo (48 h) para que o sistema atingisse o equilíbrio. Respeitou-se o excesso de CUR variando apenas a massa de HPMCAS para atingir as mesmas proporções das formulações em solução analisadas no decorrer do capítulo. Após o período, utilizando uma curva de calibração adequada (ver Apêndice B) os valores de solubilidade foram calculados. A solubilidade termodinâmica da CUR nas diferentes formulações está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7. Solubilidade da Curcumina pura (CUR) e nas diferentes formulações contendo HPMCAS.

Amostra (n=3)	Solubilidade CUR (mg L ⁻¹)
CUR	4,08 ± 0,02 ^a
HAC40	4,91 ± 1,8 ^a
HAC60	5,07 ± 1,1 ^a
HAC80	4,94 ± 2,5 ^a
HAC100	6,27 ± 0,33 ^a

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Apesar das diferenças encontradas nos tópicos anteriores não foi notado uma variação significativa ($t < t_{crit}$) entre as formulações devido a presença do HPMCAS na solubilidade no equilíbrio. Quando comparado ao valor da literatura da CUR 65%, a mesma utilizada neste trabalho, também não houve variação (CARVALHO et al., 2015; ZHANG et al., 2019; FAN; LU; LI, 2020). Esses resultados apontam que os agregados promovem um estado metaestável entre HPMCAS-CUR que aumenta a biodisponibilidade através de um evento cinético (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; SUN; LEE, 2015).

As estruturas evidenciadas por fluorescência, DLS e TEM, aparentemente, possuem uma estabilidade cinética que não infere mudanças nas propriedades termodinâmicas da CUR (BARIK et al., 2007; PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014). As propriedades de polímeros em manter um estado metaestável é evidenciado em estudos de supersaturação (TANNO et al., 2004; PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; CHAVAN et al., 2019; MENDES et al., 2019; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021). No trabalho desenvolvido por Huang *et al.* (2022) é avaliado o tempo em que polímeros são capazes de manter um estado solúvel do fármaco acima do equilíbrio (HUANG; STAUFENBIEL; BODMEIER, 2022). Este princípio, é muito utilizado na formulações de dispersões sólidas (DONG; CHOI, 2008; FRANÇA, 2016; SARABU et al., 2020). Apesar disso, após o equilíbrio, o ativo tende a diminuir a concentração na solução e atingir o equilíbrio termodinâmico.

Assim, evidencia-se que, à temperatura ambiente, o HPMCAS é capaz de promover uma estabilização cinética da CUR. Essa estabilização ocorre na forma de nano e microagregados e não afeta os parâmetros termodinâmicos envolvidos na solubilidade (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; CHAVAN et al., 2019; MENDES et al., 2019; FRANÇA et al., 2022a).

4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Neste capítulo foi possível estimar através do cálculo de Hansen a compatibilidade entre os polímeros e a CUR. A proximidade entre as componentes de hidrogênio (δ_h) aponta uma miscibilidade mútua entre o HPMCAS e a CUR. Através do diagrama de Tamman foi estimado uma solubilidade de ~14,2% e 5,1% (m/m) da CUR em HPMCAS e κ -CAR, respectivamente. O parâmetro de Flory-Huggins (χ_f) evidenciou para HPMCAS-CUR e κ -CAR-CUR um caráter exotérmico e endotérmico, respectivamente.

O estudo de interação por fluorescência foi realizado apenas com o HPMCAS pois a κ -CAR não apresentou influência na emissão da CUR nas condições experimentais avaliadas. Através de adições crescentes de HPMCAS, a CUR exibiu um aumento da emissão de fluorescência. A curva apresentou dois comportamentos: uma crescente e uma de saturação. Pela intersecção de ambas, foi estimado a solubilidade intrínseca (χ) entre a CUR e a matriz de HPMCAS. Através do cálculo da χ em diferentes temperaturas foi constatado, através de parâmetros termodinâmicos, um processo exotérmico e espontâneo.

A análise de DLS das soluções após a titulação evidenciou a presença de micro e nanoaglomerados coloidais. Os aglomerados foram avaliados quanto a sua estabilidade por potencial zeta (ζ). Através da Microscopia eletrônica de transmissão (TEM) observou-se a presença dessas nanoestruturas formadas e a presença de aglomerados. O % cristalino da CUR foi verificado estado sólido por XRPD e no estado fundido por DSC. A cristalinidade obtida por XRPD foi significativamente superior ao obtido por DSC. Isso pode evidenciar que, acima da T_g do HPMCAS, ocorre a precoce solubilização de cristais defeituosos da CUR diminuindo a cristalinidade aparente. A ausência de mudanças significativas na solubilidade no equilíbrio da CUR foi verificada nas amostras produzidas. Constatou-se que a formação dessas estruturas submicrométricas afetam e aumentam a biodisponibilidade num estado metaestável sem mudar a solubilidade termodinâmica da CUR.

Através deste Capítulo II observou-se a capacidade de solubilização e compatibilidade da CUR nas matrizes poliméricas. Estudos voltados a formação de membranas utilizando esses dois polímeros, a caracterização e a aplicação *in vitro* e *ex vivo* serão descritas nos capítulos a seguir.

CAPÍTULO III

**Desenvolvimento e caracterização das membranas
de HPMCAS/ κ -CAR contendo curcumina**

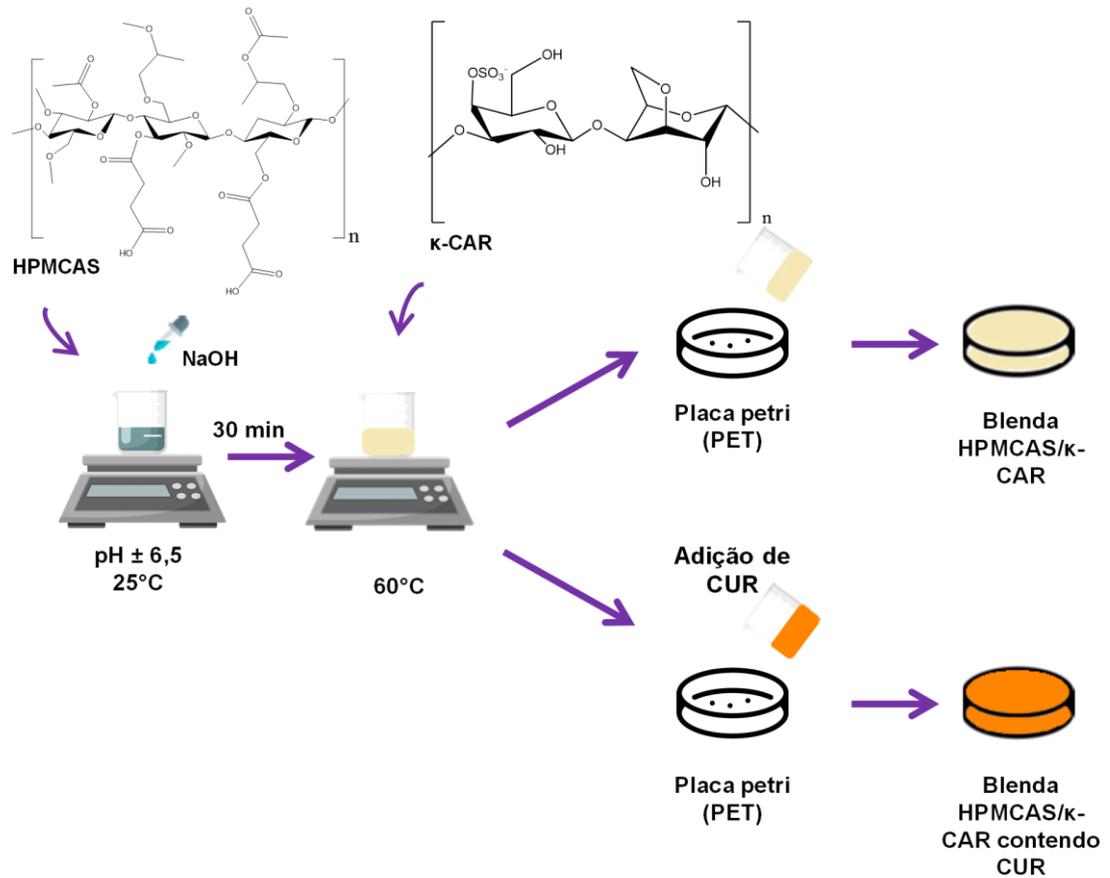
1 INTRODUÇÃO TEÓRICA

O desenvolvimento de dispersões sólidas na forma de membranas contendo HPMCAS e κ -CAR são reportadas na literatura (NERURKAR et al., 2005; SIEPMANN et al., 2006; FRIESEN et al., 2008; FAUZI et al., 2021). Estes polímeros apresentam a capacidade de formar blendas homogêneas e translúcidas (WAISCZIK, 2020; KHALIQ et al., 2022). A influência na variação de proporções mássicas em uma blenda de HPMCAS e κ -CAR foi estudado por Waisczik (2020). No trabalho, foi avaliado o efeito das diferentes proporções desses polímeros na temperatura de transição sol-gel da κ -CAR (WAISCZIK, 2020). Foi notado que conforme o percentual de κ -CAR aumenta, maior é a temperatura de transição sol-gel. Essa variação de temperatura de transição sol-gel permitiu avaliar um dispositivo capaz de promover a transição à temperatura corporal (50% de κ -CAR). Sistemas com maior temperatura de transição sol-gel apresentam, normalmente, maior adesividade e estabilidade da rede tridimensional (KARA et al., 2003; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; WAISCZIK, 2020).

O sistema HPMCAS/ κ -CAR exibe baixa/nula toxicidade podendo atuar como dispositivo para administração de medicamentos aplicados na mucosa oral e tópica. A dispersão sólida de fármacos em uma matriz polimérica fornece proteção externa melhorando a estabilidade do ativo em ambientes complexos (TANNO et al., 2004; DONG; CHOI, 2008; YEGAPPAN et al., 2018).

Diferentes técnicas de processamento podem ser utilizadas para produzir membranas poliméricas. Dentre as principais maneiras estão a secagem de solvente (*casting*), moldagem com o polímero fundido e inversão de fase (LAROCCA; PESSAN, 2003; BELLINCANTA et al., 2011; FAN et al., 2018). A técnica de secagem de solvente (*casting*) (Figura 22) é a mais fácil experimentalmente, uma vez que, não há a necessidade de temperaturas muito elevadas nem condições extremas de preparo (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007; ENUMO et al., 2020; WAISCZIK, 2020).

Figura 22. Esquema de preparação de membranas a base de HPMCAS e κ -CAR por secagem de solvente (*casting*).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O presente Capítulo III reside no objetivo de desenvolver membranas a partir da técnica de secagem por solvente (*casting*) utilizando HPMCAS e κ -CAR para incorporação da CUR. As amostras produzidas foram caracterizadas por diferentes técnicas espectroscópicas, térmicas, mecânicas e morfológicas. As características físico-químicas foram obtidas por microscopia óptica e de luz polarizada, espectroscopia UV-Vis e infravermelho, análise termogravimétrica, calorimetria diferencial de varredura, ensaio mecânico, ângulo de contato e microscopia eletrônica de varredura.

2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS

O Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS, $M_w \sim 47694 \text{ g mol}^{-1}$) da empresa - Aquasolve® foi adquirida por doação do Laboratório de Controle de Qualidade (CCSUFSC). A Kappa-carragena (κ -CAR, $M_v \sim 269700 \text{ g mol}^{-1}$) e a Curcumina (CUR) (contendo $> 65\%$ de curcumina e $< 35\%$ de demetóxi e bisdemetóxicurcumina) foram obtidas da Sigma Aldrich. Cloreto de potássio, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico foram comprados da NEON. Os demais reagentes e solventes empregados são de grau analítico e utilizados sem purificação prévia. Água deionizada foi utilizada durante todo trabalho.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Produção das membranas poliméricas

As proporções mássicas entre os polímeros foram baseadas no estudo reológico das suspensões poliméricas desenvolvido por Waisczik (2020) (WAISCZIK, 2020). A quantidade de CUR carregada nas soluções filmogênicas foi baseada na solubilidade da CUR no sistema ($\sim 5\%$), como descrito no Capítulo II. As membranas foram preparadas pelo método *casting* como representado na Figura 22.

As blendas foram preparadas pelo método já mencionado, a partir de dispersões aquosas de HPMCAS em 40 mL de água deionizada, mantida sob agitação magnética por 30 min e seguida do ajuste do pH ($\sim 6,5$) com uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A solução foi aquecida até $60 \text{ }^\circ\text{C}$ para a adição da κ -CAR. Ao final da dissolução da κ -CAR, a CUR (5% (m/m)) foi solubilizada em álcool etílico 99,8% P.A. ($0,5 \%$ m/v) e adicionada na dispersão polimérica. O sistema foi mantido sob agitação e aquecimento durante 30 min sob baixa luminosidade. A dispersão foi vertida sobre uma superfície não adesiva (placa de PET) e mantida na capela sem exaustão à temperatura ambiente e protegida da luz até a secagem completa ($\sim 24 \text{ h}$). Assim que o solvente evaporou, a membrana seca foi retirada do suporte e armazenada em um local de baixa umidade e luminosidade para posterior caracterização. A Tabela 8 apresenta as formulações preparadas em 50 mL de solvente (4:1 $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$) para as membranas e suas respectivas nomenclaturas utilizadas no decorrer do trabalho.

Tabela 8. Proporção de cada constituinte utilizado no preparo das membranas.

Formulações	HPMCAS (mg)	κ -CAR (mg)	CUR (mg)
70HAC	700	300	–
60HAC	600	400	–
50HAC	500	500	–
70HACC	700	300	50
60HACC	600	400	50
50HACC	500	500	50

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

As membranas obtidas a partir da Tabela 8 foram caracterizadas como descrito a seguir.

2.2.2 Teste de uniformidade de conteúdo das membranas contendo CUR

Neste estudo, uma membrana inteira (~1 g) de cada formulação foi cortada em 4 partes e cada parte pesada e adicionada em 50,0 mL de solução de EtOH:H₂O 1:1 (v/v) para total dissolução da membrana. Em seguida, 200 μ L da solução foi transferida para um balão volumétrico de 25,0 mL e completado com a solução estoque de EtOH: H₂O 1:1 (v/v). Utilizando a curva de calibração obtida por fluorescência (ver Apêndice B) foi avaliado a concentração da CUR nas membranas de HPMCAS e κ -CAR para verificar a homogeneidade (VRANIĆ; UZUNOVIĆ, 2008). A espessura das membranas também foi utilizada para avaliar a homogeneidade dos polímeros após a secagem por *casting*. A espessura das membranas foi medida utilizando um micrômetro digital (Roebuck) em diferentes locais e realizado o tratamento estatístico adequado (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018).

2.2.3 Microscopia óptica e de luz polarizada (PLOM)

A microscopia óptica de luz polarizada (*Polarized Light Optical Microscopy*, PLOM) foi utilizada para verificar a presença de domínios cristalinos nos materiais produzidos. Este ensaio foi realizado depositando um pedaço de cada amostra no suporte de um microscópio óptico da marca Motic Microscopes, modelo SMZ-168-BL contendo uma lente polarizadora acoplada a um sistema de aquisição TCS pro500 e software VMS 3.6. A ampliação foi escolhida e a imagem capturada por fotografia digital (JUNIOR, 2020; FRANÇA et al., 2022a).

2.2.4 Espectroscopia UV-visível (UV-Vis)

As análises de UV-Vis foram utilizadas para investigar o comportamento espectral das membranas com e sem a presença da CUR. As leituras foram realizadas diretamente nas membranas, com auxílio de um equipamento UV- Vis da marca Kasuabi B-500 com fibra ótica, na faixa de comprimento de onda de 200–650 nm com 1 nm de intervalo de leitura (ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020).

2.2.5 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das membranas (FTIR)

Os espectros de infravermelho (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FTIR) foram realizados em um equipamento da marca Shimadzu modelo IR-PRESTIGE 21 na faixa de número de onda de 4000–400 cm^{-1} em modo absorvância com resolução de 2 cm^{-1} e 64 acumulações. Os componentes puros foram misturados em KBr, macerados em gral de ágata e, com uso de uma prensa hidráulica, preparados na forma de discos para análise. As membranas foram analisadas através da técnica de refletância total atenuada (ATR–FTIR) usando ZnSe como material óptico (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.6 Difração de raios X (XRD)

Os difratogramas foram obtidos utilizando o equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). O equipamento operou em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente, em porta amostras com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 50° , com step angular de $0,091^\circ\text{s}^{-1}$ (FRANÇA, 2016).

2.2.7 Análise termogravimétrica (TGA)

A perda de massa dos componentes puros e das membranas produzidas foram analisadas por termogravimetria (*Thermogravimetric Analysis*, TGA) usando um equipamento da marca Shimadzu modelo TA-50. Aproximadamente 10–15 mg de cada amostra foi colocada em um cadinho de platina e aquecida até 600°C a uma taxa de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ sob fluxo de nitrogênio de 50 mL min^{-1} (TENÓRIO-NETO et al., 2015; ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.8 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As medidas de calorimetria diferencial de varredura (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC) foram conduzidas usando um calorímetro TA modelo DSC-50 sob atmosfera de nitrogênio com uma taxa de 50 mL min⁻¹. Entre 5–10 mg dos componentes puros foram colocados em cadinhos de alumínio, aquecidos até 150 °C (primeira corrida) e refrigerados até -20 °C e então submetidos a aquecimento a uma taxa de 10 °C min⁻¹ até 300 °C (segunda corrida) (MENDES et al., 2019; WAISCZIK, 2020).

2.2.8.1 Cinética de degradação por Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A cinética de degradação do sistema polimérico foi acompanhada pela calorimetria exploratória diferencial (DSC) em uma única corrida (NUNES, 2013; FERRARI et al., 2014; SANTANA, 2017; MENG et al., 2018). A cinética de degradação de um determinado sistema permite avaliar o efeito de aditivos na estabilidade térmica dos componentes. O método de Flynn–Wall–Ozawa (O-W-F) é relativamente simples e deriva do modelo de Arrhenius (VYAZOVKIN; SBIRRAZZUOLI, 2006; NGUYEN et al., 2020). Neste modelo (Equação (11)) relaciona-se a taxa de aquecimento (β) com o parâmetro pré-exponencial de Arrhenius (A), a energia de ativação (E_a), constante dos gases ideais (R) e uma função f dependente do fator de conversão (x).

$$\ln \beta = \ln\left(\frac{AE_a}{f(x)R}\right) + \ln f(x) \quad (11)$$

No modelo Flynn–Wall–Ozawa (O-W-F), é possível estimar, para um fator de conversão entre 20% e 60%. Utilizando a aproximação de Doyle, em que $f(x)$ é expressa como $\log f(\alpha) \approx -2,315.0,456\alpha$ (HU; CHEN; WANG, 2004; NUNES, 2013; NGUYEN et al., 2020; ALBUQUERQUE, 2021). Em que α é o fator de conversão, neste caso, de degradação. Utilizando a temperatura de pico ($\alpha \approx$ constante) é possível obter a Equação (12).

$$\ln \beta = \ln\left(\frac{AE_a}{f(x)R}\right) - 2,315 - \frac{0,4567E_a}{RT} \quad (12)$$

A partir da inclinação da curva obtida através da Equação (12), ou seja, $0,4567 E_a/R$, a energia de ativação pode ser determinada (SOUZA, D; CASTILLO, T, E; RODRIGUEZ, R, J, S., 2009; COSER, 2009; RIBEIRO, 2011). A cinética de degradação foi avaliada através das curvas de aquecimento obtidas por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Usando um

calorímetro TA modelo DSC-50 sob atmosfera inerte de nitrogênio com uma taxa de 50 mL min⁻¹. Entre 5–10 mg dos componentes puros foram colocados em cadinhos de alumínio e submetidos ao aquecimento em diferentes taxas (5, 10 e 20 °C min⁻¹) até 300 °C (NUNES, 2013; MENDES et al., 2019; NGUYEN et al., 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.9 Análise dinâmico mecânico (DMA)

2.2.9.1 Rampa de temperatura

As membranas foram submetidas a ensaios de rampa de temperatura com uma tensão constante utilizando um equipamento DMA Q800 (TA Instruments). Antes da análise, os corpos de prova foram condicionados à umidade relativa de 58 ± 5% (solução saturada de brometo de sódio) a 23 ± 1 °C por 48 h. A análise de rampa se deu pela submissão dos corpos de prova à uma rampa de aquecimento de 1 °C min⁻¹ até 200 °C com uma frequência de 1,0 Hz. As dimensões dos corpos de prova foram 5,30 mm de largura, comprimento de 10-20 mm, e espessura da ordem de 0,40 mm (GROSS, 2019; ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020).

2.2.9.2 Tensão versus deformação

Os ensaios de tensão *versus* deformação foram realizados utilizando um equipamento DMA Q800 (TA Instruments) segundo a norma segundo norma ASTM D882 (2002) (ASTM, 2002). Os corpos de prova também foram condicionados previamente à umidade relativa de 58 ± 5 % (solução saturada de brometo de sódio) à 23 ± 1 °C por 48 h. Empregando uma rampa de força de 0 a 18 N em uma taxa de 5,0 N min⁻¹ a temperatura constante de 37 °C (GROSS, 2019; JUNIOR, 2020).

No ensaio de tensão *vs* deformação mede-se os incrementos do alongamento (ΔL) sofrido pelo corpo de prova e a força necessária para provocar esse ΔL no comprimento inicial (L_0) (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007; GROSS, 2019). A partir desses valores é possível definir a tensão (σ) referente a uma força (F) por área (A_r) e a deformação (e) na Equação (13) e (14), respectivamente.

$$\sigma = \frac{F}{A_r} \quad (13)$$

$$e = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (14)$$

Uma das maneiras de se analisar a curva tensão-deformação é verificar a região elástica e a região plástica. Porém, em alguns sistemas a região elástica é tão pequena que dificulta a caracterização. Desta maneira, uma forma de avaliar o comportamento elástico é através do módulo secante (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007; GROSS, 2019; RABELLO, 2021).

2.2.10 Ângulo de contato (CA)

A determinação do ângulo de contato (*Contact Angle*, CA) das membranas foi realizada aplicando uma gota (aproximadamente 3 μL) de água com auxílio de uma seringa sobre a superfície do material. A câmera do goniômetro (Ramé-Hart Inst. Co-250-F1) captou a imagem e o software (DropImage versão 3.54) analisou o ângulo de contato formado entre o líquido e a membrana. Foram realizados 10 medidas a cada 1 s (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; JUNIOR, 2020). A determinação do ângulo das membranas utilizou três diferentes solventes com polaridades distintas e conhecidas. Utilizou-se água (polar), formamida (média polaridade) e diiodometano (apolar). Através do método de Fowkes, foi estimado a componente polar (γ_s^p), dispersiva (γ_s^d) e total (γ_s) das membranas (Equação (15)).

$$\left[\frac{(1+\cos\theta)}{2} \right] * \left[\frac{\gamma_l}{(\sqrt{\gamma_l^d})} \right] = \left[\left(\sqrt{\gamma_s^p} \right) * \sqrt{\left(\frac{\gamma_l^p}{\gamma_l^d} \right)} \right] + \sqrt{\gamma_s^d} \quad (15)$$

Onde γ_l^p e γ_l^d são as componentes polares e dispersivas do líquido, respectivamente e θ é o ângulo formado entre a gota do líquido e a superfície sólida em que está depositada. (FOWKES, 1964; KWOK; LI; NEUMANN, 1994; KRAWCZYK, 2015).

2.2.11 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

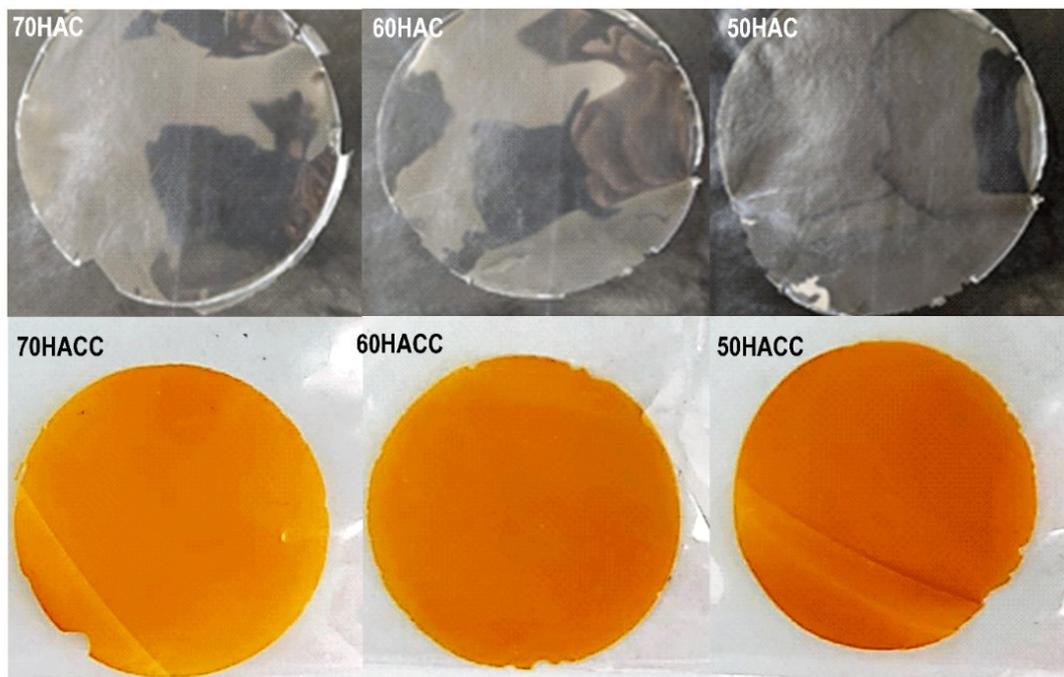
A avaliação da morfologia das membranas foi realizada por meio de um microscópio eletrônico de varredura (*Scanning Electron Microscopy*, SEM) da marca JEOL, modelo JSM-6390LV aplicando uma voltagem de aceleração de 10 kV. Devido à baixa condutividade elétrica dos materiais, as amostras foram recobertas com uma camada delgada de ouro utilizando um aparelho metalizador. Após o recobrimento as amostras foram submetidas ao SEM. Para avaliar a fratura, as amostras foram submetidas ao intumescimento por 2 min em solução PBS pH 7,4, congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas para manter as características do material inchado (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS E PRODUÇÃO DAS MEMBRANAS

A produção de membranas poliméricas contendo CUR foram obtidas de forma a respeitar o limite de solubilidade da CUR nas matrizes poliméricas, indicadas pelo diagrama de Tamman (Capítulo II). Desta maneira, em torno de 5% de CUR foi incorporada na matriz de HPMCAS e κ -CAR. O aspecto visual das membranas foi avaliado na Figura 23.

Figura 23. Características macroscópicas das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Nas amostras sem CUR observa-se um perfil translúcido sem a presença de domínios opacos e com deposição igualitária entre componentes (ENUMO et al., 2020). As membranas contendo CUR possuíram coloração alaranjada manifestando brilho quando expostos à luz, não exibindo domínios visíveis de material insolúvel. As membranas contendo CUR exibiram diferenças no tom da coloração como observadas na Figura 23 (ESHRA et al., 2017; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019). Assim, através da visualização das membranas, presume-se que as diferentes proporções entre os polímeros afetam a distribuição das espécies da CUR (LI et al., 2013, 2015; ZHANG et al., 2019). Este efeito da matriz pode estar associado aos resultados descritos no Capítulo II, onde foi caracterizado a influência do HPMCAS na forma ceto-enol da CUR. As membranas contendo CUR apresentaram brilho

quando expostas a luz e não foi evidenciado diferenças visíveis entre a parte superior e inferior do filme. Apesar de conter 5% em massa de CUR, as membranas continuaram exibindo um aspecto translucido indicando a boa dispersão da CUR na matriz, o que vai ao encontro com trabalhos anteriores (WICAKSONO; SETYAWAN, 2018; ENUMO et al., 2020). Avaliando a dispersão da CUR e a homogeneidade do filme foi determinada a concentração e a espessura das formulações (Tabela 9).

Tabela 9. Concentração de CUR (mg g^{-1}) e espessura média (μm) nas diferentes membranas com seus respectivos desvios ($n=3$).

n = 3	Concentração CUR (mg g^{-1})	Espessura média (μm)
70HAC	-	31,67±1,15
60HAC	-	33±2,16
50HAC	-	38,75±3,2
70HACC	48,92±3,84	37,75±3,5
60HACC	43,89±2,04	37,5±3,32
50HACC	50,23±1,75	35,75±4,65

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Através da análise estatística adequada, observou-se que, aproximadamente, mais de 90% da CUR foi incorporada de maneira efetiva na matriz. Não houve variação significativa ($t < t_{\text{crit}}$) na concentração de CUR comprovando a efetiva incorporação entre as formulações (ver Apêndice C). As amostras contendo CUR (70HACC, 60HACC e 50HACC) apresentaram uma boa dispersão do curcuminóide e se encontra no limite solúvel previsto pelo diagrama de Tamman (~5%) apresentado no Capítulo II (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019).

A homogeneidade do filme pode ser avaliada através das medidas de espessura (Tabela 9). A espessura da membrana é influenciada pelo método adotado para preparação, quantidade de conteúdo de polímero, quantidade de solução e a suavidade da superfície de secagem (NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; KHALIQ et al., 2022). Estatisticamente ($t < t_{\text{crit}}$) não há diferença significativa entre as diferentes regiões da membrana (ver Apêndice D). A deposição igualitária do filme polimérico representa a homogeneidade da formulação preparada por *casting* (FARHAN; HANI, 2017; NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019).

No trabalho desenvolvido por Khaliq *et al.* (2022) a espessura das membranas produzidas foi mensurada para avaliar a homogeneidade (KHALIQ et al., 2022). Os resultados mostraram que a espessura média permaneceu na faixa de $0,142 \pm 0,021 \pm \text{mm}$

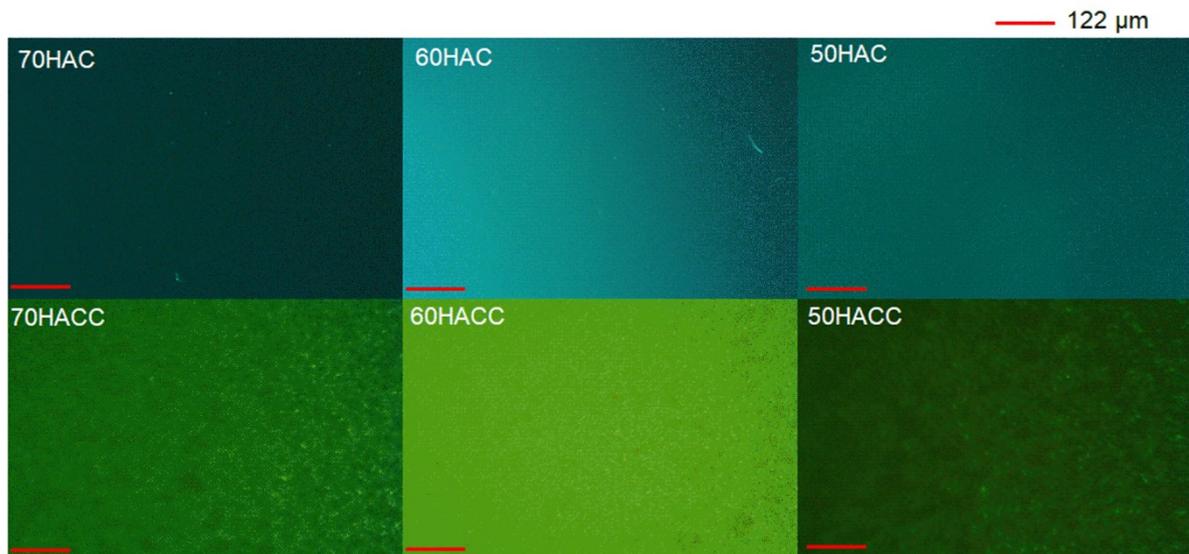
apresentando variações significativas entre as formulações (ALAVI et al., 2019; KHALIQ et al., 2022). Assim, neste trabalho, as proporções mássicas entre os polímeros e a inserção de CUR não foram capazes de afetar a espessura das membranas.

Visando verificar a distribuição da CUR na membrana e comprovar se há domínios cristalinos na matriz utilizou-se a microscopia de luz polarizada.

3.2 MICROSCOPIA ÓPTICA E DE LUZ POLARIZADA (PLOM)

A microscopia óptica e de luz polarizada (PLOM) nos fornece informações sobre o perfil da superfície e dos domínios cristalinos. Em relação a dispersão da CUR, é possível observar se cristais da CUR estão presentes na membrana. A Figura 24 mostra as fotografias tiradas com PLOM das membranas produzidas.

Figura 24. Microscopia de luz polarizada (PLOM) das membranas controle: 70HAC (70% m/m HPMCAS), 60HAC (60% (m/m) HPMCAS), 50HAC (70% (m/m) HPMCAS) e contendo CUR (5% (m/m)): 70HACC, 60HACC e 50HACC. As barras indicam tamanho de 122 μm .



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

As imagens de PLOM (Figura 24) exibem regiões escuras e claras, ou seja, que apresentam birrefringência (MYERS, 1999; JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020). A birrefringência ocorre devido orientação da luz que passa pelos planos cristalinos com uma orientação específica (BELLINCANTA et al., 2011; ENUMO et al., 2020; WAISCZIK, 2020).

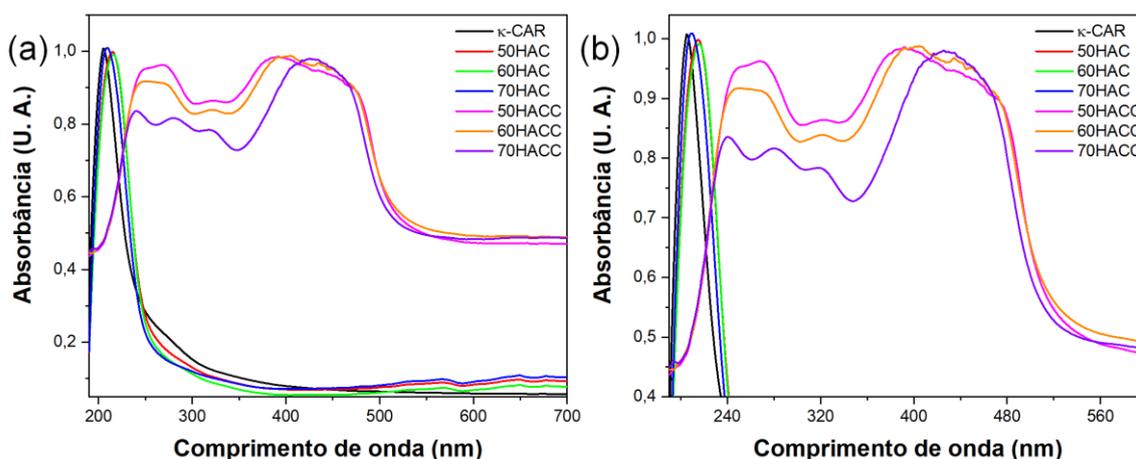
Nas amostras contendo CUR, os pontos claros contidos na Figura 24 evidenciam cristais de CUR. Consta-se que na presença dos polímeros a CUR ainda exibe certo grau de cristalinidade verificado pelos pontos luminosos contidos na Figura 24. No entanto, não é possível afirmar que a birrefringência é ocasionada apenas pela CUR, uma vez que, a κ -CAR também exibe certo grau de cristalinidade. A presença de cristais nas fotografias das amostras controle (sem CUR) é verificada e atribuída a κ -CAR (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; JUNIOR, 2020).

No trabalho desenvolvido por França *et al.* (2022) foi avaliado a cristalinidade do fitofármaco resveratrol em uma blenda polimérica (FRANÇA *et al.*, 2022a). Os autores, através do PLOM, observaram a presença de cristais residuais do fármaco. Apesar destes pequenos cristais, foi possível aumentar a biodisponibilidade e constatar através de caracterizações complementares que o fármaco estava predominantemente amorfo no sistema (PARADKAR *et al.*, 2004; FRANÇA *et al.*, 2022a).

3.3 ESPECTROSCOPIA UV-VISÍVEL (UV-VIS)

A polaridade, interação entre os constituintes e a distribuições de espécies da CUR afetam as propriedades de absorção e emissão de luz. Para verificar essas propriedades da CUR foi utilizado a técnica de espectroscopia de UV-Vis. A Figura 25 mostra os espectros das membranas de HPMCAS/ κ -CAR com e sem CUR.

Figura 25. Espectros UV-Vis do conjunto de membranas (a) κ -CAR, 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC, 70HACC. Imagem da direita (b) mostra a ampliação (200–600 nm) da imagem da esquerda.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A Figura 25 exibe uma banda em 210 nm referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da κ -CAR (SRIVASTAVA; KUMAR, 2013; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). Nas membranas contendo CUR a banda da κ -CAR sofre um deslocamento batocrômico de ~210 nm para ~245 nm. Esse deslocamento verificado apenas nas formulações contendo CUR pode ser atribuído as interações provenientes do curcuminóide e a κ -CAR. As membranas contendo CUR apresentam absorção na região do visível, onde o comprimento de onda máximo depende do equilíbrio diceto/ceto-enol da CUR (ENUMO et al., 2020). A curva em violeta, de ambas as figuras, mostra o espectro da membrana contendo maior proporção de HPMCAS. Observa-se uma banda próxima a 430 nm referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da CUR na forma ceto-enol (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; ZHANG et al., 2019). A alta intensidade de absorção indica que a CUR está majoritariamente dissolvida na matriz com o equilíbrio deslocado para a forma enólica.

As transições na região UV-visível das membranas são devido, principalmente, à presença dos principais constituintes da *Curcuma longa* (SUETH-SANTIAGO et al., 2015; RAFI et al., 2018). Entre as membranas contendo CUR, é observado um deslocamento hipsocrômico de ~430 nm para ~400 nm com a diminuição da proporção de HPMCAS (MOUSSA et al., 2016; ZHANG et al., 2019). Este resultado pode estar associado ao microambiente proporcionado pelo derivado de celulose que estabiliza a forma ceto-enólica no estado sólido (MANOLOVA et al., 2014; ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; ZHANG et al., 2019).

A CUR pode atuar como um ácido de Brønsted fraco com três prótons e sofre influência direta do pH. Com o aumento do pH, a CUR perde prótons sequencialmente e passa a ter três cargas negativas (LI et al., 2013; HARADA et al., 2014). No estudo do Capítulo II verificou-se a interação do HPMCAS com a forma ceto-enol da CUR. O deslocamento no UV-Vis e a diminuição da banda diceto (~350 nm) com o aumento de HPMCAS pode indicar uma maior estabilização da forma ceto-enólica com este polímero. O resultado vai ao encontro dos resultados contidos no Capítulo II onde observou-se, diretamente, o efeito na emissão da forma ceto-enólica da CUR na presença do HPMCAS (BERNABÉ-PINEDA et al., 2004; BHATIA et al., 2016a; LIU et al., 2018).

Espectros UV-vis podem fornecer informações sobre o microambiente da CUR na matriz polimérica. Entretanto não fornece qualquer indicação de como, ou quais grupos funcionais dos constituintes podem estar interagindo para estabilizar o ativo na membrana

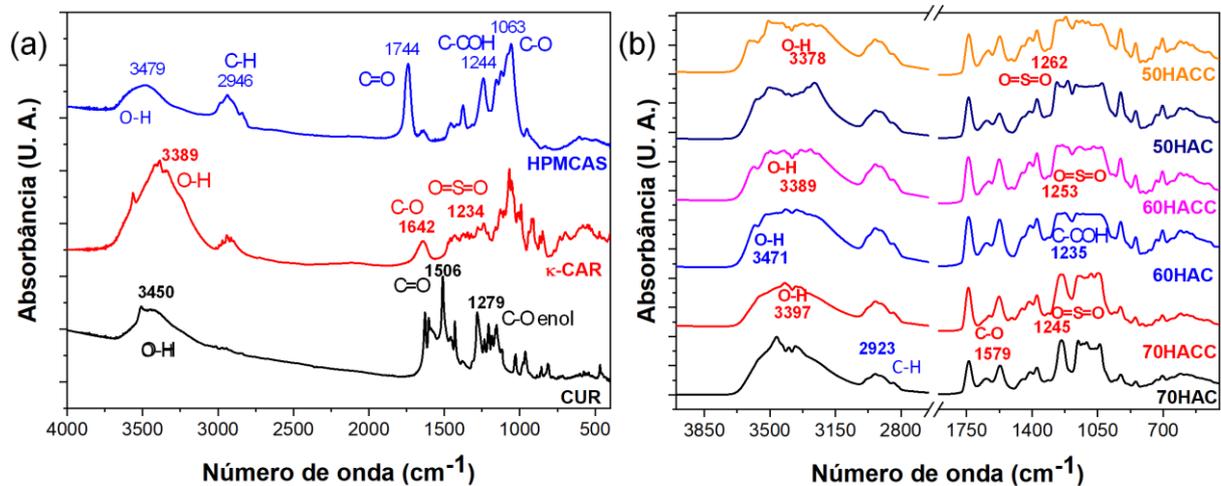
polimérica (ENUMO; PEREIRA; PARIZE, 2019; ZHANG et al., 2019). Para fins de obtenção de dados complementares, faz-se necessário o uso do infravermelho. Espectros de infravermelho podem fornecer informações sobre quais grupos funcionais podem estar interagindo (NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; XIE; YAO, 2020).

3.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A radiação na região do infravermelho está situada entre as regiões do visível e das micro-ondas, do espectro eletromagnético. A espectroscopia na região do infravermelho permite identificar vários grupos funcionais na estrutura dos compostos orgânicos pois os espectros obtidos resultam da interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética. Através da vibração molecular as ligações covalentes estão em constantes movimentos axiais e angulares visíveis no espectro de FTIR (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015; ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2019).

No presente trabalho, medidas de infravermelho (FTIR) foram empregadas no intuito de obter informações relacionadas a interações intermoleculares entre os constituintes (MARTINS et al., 2012; ENUMO et al., 2020; REN et al., 2022). Através da FTIR é possível avaliar grupos funcionais que apresentam momento de dipolo não nulo (ATKINS; DE PAULA; KEELER, 2019). Na ausência de reações químicas, o ambiente químico em que as espécies estão inseridas pode causar alterações no momento de dipolo. Essas mudanças podem ser causadas principalmente por interações intermoleculares. Buscando avaliar a presença e/ou ausência dessas interações os espectros de FTIR estão apresentados na Figura 26.

Figura 26. Espectros de FTIR obtidos utilizando pastilha de KBr dos polímeros puros e da CUR (a) e ATR das membranas (b,c).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Os espectros dos componentes puros: CUR, κ -CAR e HPMCAS estão apresentados na Figura 26 (a). A CUR apresenta na região de 3500 cm⁻¹ os estiramentos dos grupos O-H. A banda em ~1620 cm⁻¹ e atribuída predominantemente a sobreposio das vibraoes de estiramento de alcenos (C=C). A banda em 1506 cm⁻¹ e relacionada ao C=O da cetona, enquanto a banda do enol (C-O) e encontrada em 1279 cm⁻¹. Normalmente, a banda do C=O ocorre acima de 1600 cm⁻¹, entretanto, o equilíbrio D/CE da CUR promove um deslocamento devido a coexistência de espécies tautoméricas, e assim, o estiramento C=O ocorre em menor energia. (ZHAO et al., 2015; ENUMO et al., 2020). A banda em 1027 cm⁻¹ e devido aos grupos metoxi (C-O-C), enquanto as vibraoes trans-CH aparecem em 964 cm⁻¹ (ZHAO et al., 2015; NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020; XIE; YAO, 2020).

O espectro da κ -CAR (Figura 26 (a)) apresenta bandas características do polissacarídeo (MARTINS et al., 2012; VOLOD'KO et al., 2016). Em 1234 cm⁻¹, 1073 cm⁻¹, 913 cm⁻¹ e 855 cm⁻¹ são atribuídas a deformao axial do éster de sulfato (O=S=O), ligaoes glicosídicas, 3,6-anidro D-galactose (C-O-C) e D-galactose-4-sulfato (CO-S), respectivamente. Em 1643 cm⁻¹ observa-se a presença de um estiramento C-O referente a D-galactose. A banda ampla observada em 2926 cm⁻¹ foi atribuída a deformao da ligao C-H. Em 3389 cm⁻¹ observa-se o estiramento dos grupos O-H presentes na cadeia (FARHAN; HANI, 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; LIU et al., 2018; KHALIQ et al., 2022).

Na Figura 26 (a) também está contido o espectro de infravermelho do HPMCAS. Em 1063 cm^{-1} é caracterizado o estiramento C-O referente aos éteres cíclicos, 1244 cm^{-1} (álcool secundário) e 1744 cm^{-1} (C=O). Em 2946 cm^{-1} é apresentada a banda referente ao estiramento C-H. Em 3479 cm^{-1} observa-se o estiramento O-H (KONNO et al., 2008; UEDA et al., 2014; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021).

Avaliando o perfil do espectro nas formulações, as membranas controle (sem CUR) compostas pela mistura de κ -CAR/HPMCAS estão apresentadas na Figura 26 (b). Verifica-se um deslocamento da banda de 3372 cm^{-1} da κ -CAR e 3336 cm^{-1} do HPMCAS para bandas por volta de 3397 cm^{-1} (70HAC), 3389 cm^{-1} (60HAC) e 3378 cm^{-1} (50HAC). Este deslocamento pode indicar interações entre esses polímeros através de ligações de hidrogênio (WAISCZIK, 2020; LIN et al., 2022). Nas membranas, as bandas do HPMCAS em 1061 cm^{-1} (C-O de álcool primário), 1242 cm^{-1} (álcool secundário) e a banda em 3488 cm^{-1} do OH aparecem deslocadas para $\sim 1036\text{ cm}^{-1}$, $\sim 1235\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 3471\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. O espectro na região de 1400 a 1100 cm^{-1} mostra o deslocamento das bandas da κ -CAR em 1234 cm^{-1} , atribuído ao grupamento O=S=O, para $\sim 1245\text{ cm}^{-1}$ (70HAC), $\sim 1253\text{ cm}^{-1}$ (60HAC) e $\sim 1262\text{ cm}^{-1}$ (50HAC). Estes deslocamentos de banda podem indicar interações entre o grupo sulfato da κ -CAR e o hidrogênio do álcool primário do HPMCAS (DONG; CHOI, 2008; STURM et al., 2016; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021).

Nos espectros das membranas também foi verificado um deslocamento na banda C=O da κ -CAR. O deslocamento da banda de 1642 cm^{-1} para $\sim 1579\text{ cm}^{-1}$ pode estar associado a interações intermoleculares (AL-OBAIDI; BUCKTON, 2009; MARTINS et al., 2012; VOLOD'KO et al., 2016; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). Esses deslocamentos são atribuídos a ligações de hidrogênio entre o oxigênio da C=O da κ -CAR com os grupos O-H do HPMCAS (MADDAH; SHAMSI, 2012; BABADI et al., 2022). As mudanças espectrais indicam a existência de interações intermoleculares entre a κ -CAR e o HPMCAS. Essas interações podem ter origem eletrostática, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (LIN et al., 2022).

Balasubramanian *et al.* (2018) verificou que interações entre membranas de κ -CAR e outros polímeros são evidenciadas principalmente por ligações de hidrogênio (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). O HPMCAS também promove interações capazes de manter um fármaco amorfo (AL-OBAIDI; BUCKTON, 2009; ZHANG et al., 2018; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Este tipo de comportamento como, por exemplo, alteração

das frequências de alongamento de grupos participando de interações como O-H e C-O é um padrão de bandas miscíveis, sendo a mudança (deslocamento) do pico, dependente da força da interação (MARTINS et al., 2012; SHAHBAZI et al., 2016; SATHUVAN et al., 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018).

Além da avaliação de interações intermoleculares é possível constatar, qualitativamente, a cristalinidade por FTIR (PUNČOCHOVÁ et al., 2015; ZHANG; LEE; CHOW, 2019; JHA; SHAH; AMIN, 2021). Alargamentos de picos característicos são um traço que evidencia um estado desordenado. A presença de bandas maiores, ou seja, convoluídas podem inferir sobre o arranjo amorfo da matriz (PUNČOCHOVÁ et al., 2015; ZHANG; LEE; CHOW, 2019; XIE; YAO, 2020; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

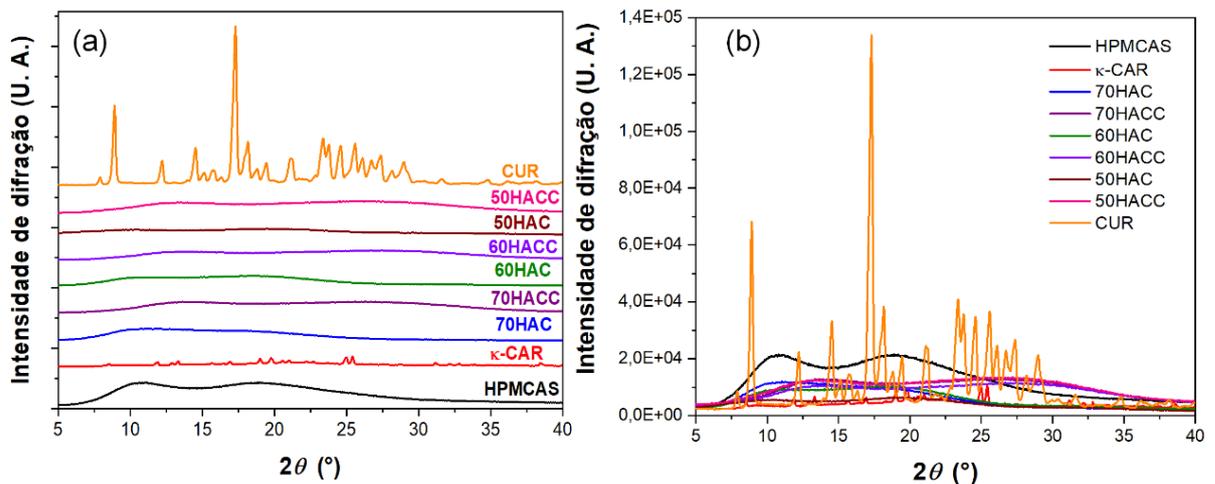
No trabalho desenvolvido por Punčochová *et al.* (2015) investigou-se como o perfil cristalino de uma amostra afeta o espectro de infravermelho (PUNČOCHOVÁ et al., 2015). Neste estudo, os autores conseguiram inferir diferentes formas cristalinas e a ausência de ordenamento molecular por FTIR (PUNČOCHOVÁ et al., 2015; ZHANG et al., 2018; JHA; SHAH; AMIN, 2021). As principais mudanças observadas no estado amorfo estão associadas a bandas com menores definições e o aumento de convoluções (AL-OBAIDI; BUCKTON, 2009; PUNČOCHOVÁ et al., 2015; PINTO et al., 2018; ZHANG et al., 2018; XIE; YAO, 2020; JHA; SHAH; AMIN, 2021).

O espectro das formulações κ -CAR/HPMCAS contendo CUR (70HACC, 60HACC e 50HACC) exibem muitas sobreposições de bandas. Essa sobreposição dificultou a atribuição dos estiramentos da CUR nas membranas (ILANGO VAN et al., 2018; LIU et al., 2018; JUNIOR, 2020). Para investigar as características das formulações e o arranjo cristalino da CUR, a análise de XRD foi utilizada.

3.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (XRD)

A difração de raios X (*X-ray diffraction*, XRD) é uma técnica cristalográfica capaz de identificar fases cristalinas em misturas. A análise é baseada no desvio da direção dos raios X incidentes entre os planos cristalinos (KAKRAN et al., 2013; XIE; YAO, 2020). A Figura 27 mostra o perfil cristalográfico da CUR, dos polímeros HPMCAS e κ -CAR e das membranas produzidas com e sem curcumina.

Figura 27. Difração de raios X das amostras com componentes puros (HPMCAS, κ -CAR, CUR) das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC, 50HACC em escala (a) e sobrepostas (b).



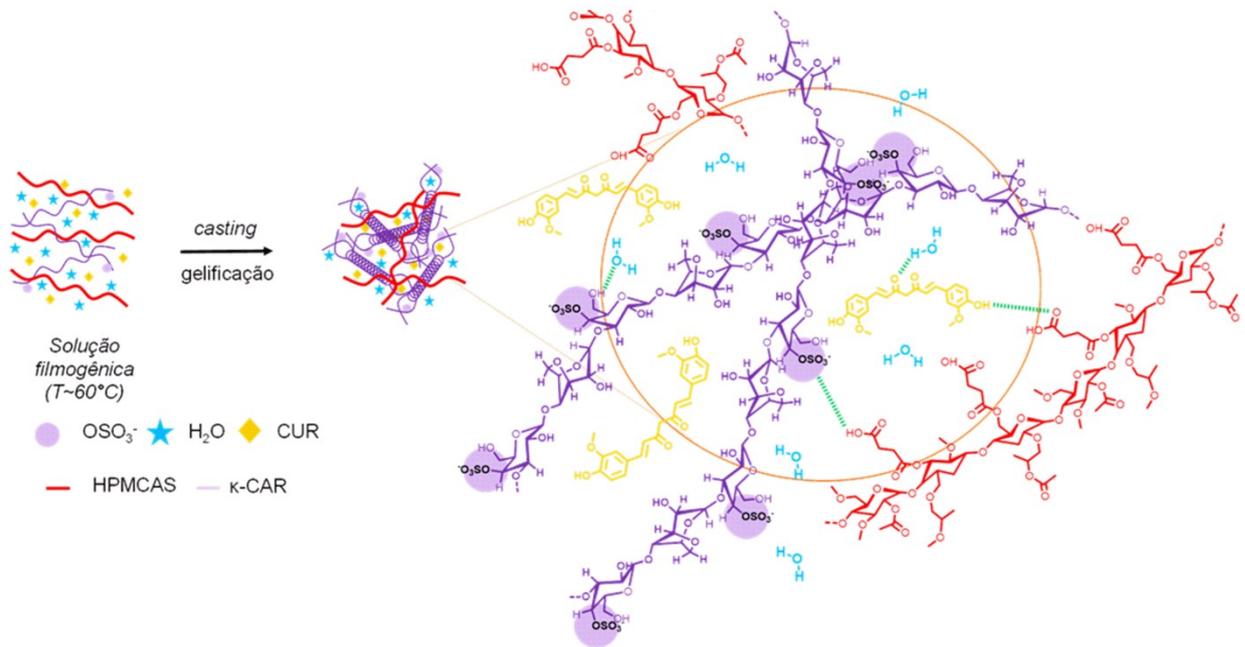
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O perfil cristalográfico da CUR apresenta picos característicos (2θ) em $7,86^\circ$, $8,91^\circ$, $12,16^\circ$, $14,54^\circ$, $17,27^\circ$, $18,15^\circ$, $19,38^\circ$, $21,14^\circ$, $23,35^\circ$, $24,57^\circ$, $27,39^\circ$ e $28,98^\circ$ (DAL MAGRO et al., 2021; POSTOLOVIĆ et al., 2022). Através dos picos difratados observa-se que a CUR apresenta estrutura cristalina com picos bem definidos e sem polimorfismo (NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019). Destaca-se na κ -CAR alguns picos de baixa intensidade em $11,83^\circ$, $13,32^\circ$, $19,04^\circ$, $19,79^\circ$, $24,94^\circ$, $25,41^\circ$. Estes picos da κ -CAR são atribuídos a fração cristalina do polissacarídeo que apresenta um ponto de fusão definido como descrito no Capítulo II. Já o HPMCAS apresenta um perfil amorfo, ou seja, sem ordenamento molecular (LI et al., 2013; SARABU et al., 2020; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021).

Nas blendas controle 70HAC, 60HAC e 50HAC não se observa picos cristalinos evidenciando a característica das membranas. A ausência dos picos nas membranas controle indicam que o processo de *casting* não permite a reestruturação cristalina da κ -CAR inibindo o evento de fusão (MARTINS et al., 2012; SATHUVAN et al., 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; SARABU et al., 2020). As membranas 70HACC, 60HACC e 50HACC assim como as membranas controle não apresentaram planos de difração na faixa angular avaliada. Devido à ausência dos picos característicos é possível assumir que a CUR está majoritariamente amorfa na matriz polimérica (PARADKAR et al., 2004; LI et al., 2013; BATISTA et al., 2016; FAN; LU; LI, 2020; POSTOLOVIĆ et al.,

2022). Assim, observa-se que as blendas apresentam características predominantemente amorfas com a presença de cristais residuais como observado no PLOM (item 3.2). Na Figura 28 é apresentado um esquema ilustrando a formação das membranas produzidas.

Figura 28. Esquema representativo do processo de formação das membranas entre HPMCAS e κ -CAR contendo CUR.



Fonte: Adaptado de Balashubramanian *et al.* (2018) (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018).

No esquema apresentado na Figura 28 representa a formação da membrana compilando os dados apresentados até então no Capítulo III. Representando as interações intermoleculares presentes entre os polímeros e a boa dispersão da CUR na matriz polimérica (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; FRANÇA *et al.*, 2022a)

No trabalho desenvolvido por Liu *et al.* (2018) foi avaliado a cristalinidade da CUR dispersa em uma matriz de κ -CAR (LIU *et al.*, 2018). Observou-se que as dispersões sólidas com maiores proporções de polissacarídeo eram capazes de suprimir a cristalinidade do curcuminóide (SEO *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2018; XIE; YAO, 2020; POSTOLOVIĆ *et al.*, 2022).

A capacidade de amorfização de fármacos por polímeros foi evidenciada em diversos trabalhos (FRIESEN *et al.*, 2008; UEDA *et al.*, 2014; BRISTOL; LAMM; LI, 2021; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021). No trabalho de Li *et al.* (2013) foi avaliado o

perfil cristalino de misturas físicas (MP) e por *Spray Drying* de formulações contendo CUR e HPMCAS (LI et al., 2013). Foi verificado que nas MP's o perfil cristalino da CUR é mantido enquanto que na dispersão sólida há amorfização do fitofármaco (PARADKAR et al., 2004; LI et al., 2013; XIE; YAO, 2020). Resultados semelhantes foram obtidos no presente trabalho, pois nas misturas físicas apresentadas no Capítulo II, foi caracterizado a cristalinidade da CUR enquanto na membrana os picos foram totalmente suprimidos. Normalmente, as dispersões sólidas exibem um perfil de dissolução significativamente maior (PARADKAR et al., 2004; LI et al., 2013; FAN; LU; LI, 2020; SARABU et al., 2020; POSTOLOVIĆ et al., 2022).

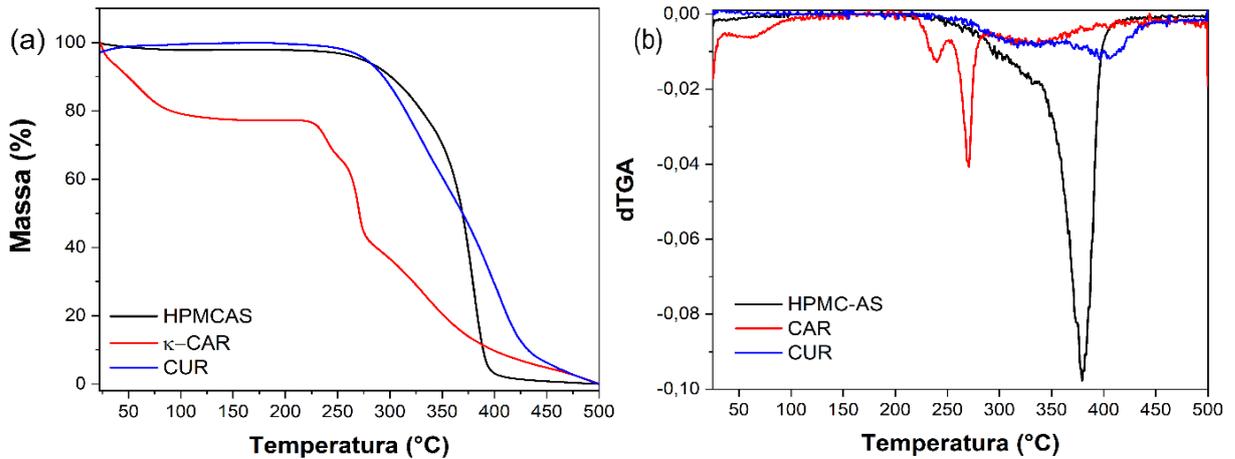
Esses resultados de XRD demonstram que a dispersão sólida na forma de membrana diminuiu a cristalinidade da CUR exibindo um estado predominantemente amorfo (SEO et al., 2012; WANG et al., 2017b; BABADI et al., 2022; POSTOLOVIĆ et al., 2022; REN et al., 2022). A transição cristalino-amorfo resulta de um excesso de energia livre tornando o sistema termodinamicamente instável. A diminuição da cristalinidade da CUR pelos polímeros pode favorecer um aumento da taxa de dissolução, solubilidade e biodisponibilidade no organismo (ZHAO et al., 2015; ZHANG et al., 2019; YUDI UTOMO et al., 2021).

Para investigar de que maneira as mudanças no perfil térmico tanto da CUR quanto dos polímeros influência na matriz, a análise de TGA foi empregada.

3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A estabilidade térmica dos componentes puros e das diferentes membranas preparadas foram determinadas por TGA. O TGA é uma análise quantitativa que monitora a variação de massa de uma amostra em relação ao tempo ou temperatura. As medidas são realizadas utilizando um programada de temperatura pré-determinado (isotérmica ou rampa) sob uma atmosfera controlada (inerte ou oxidante). As curvas de TGA dos componentes puros estão apresentadas na Figura 29.

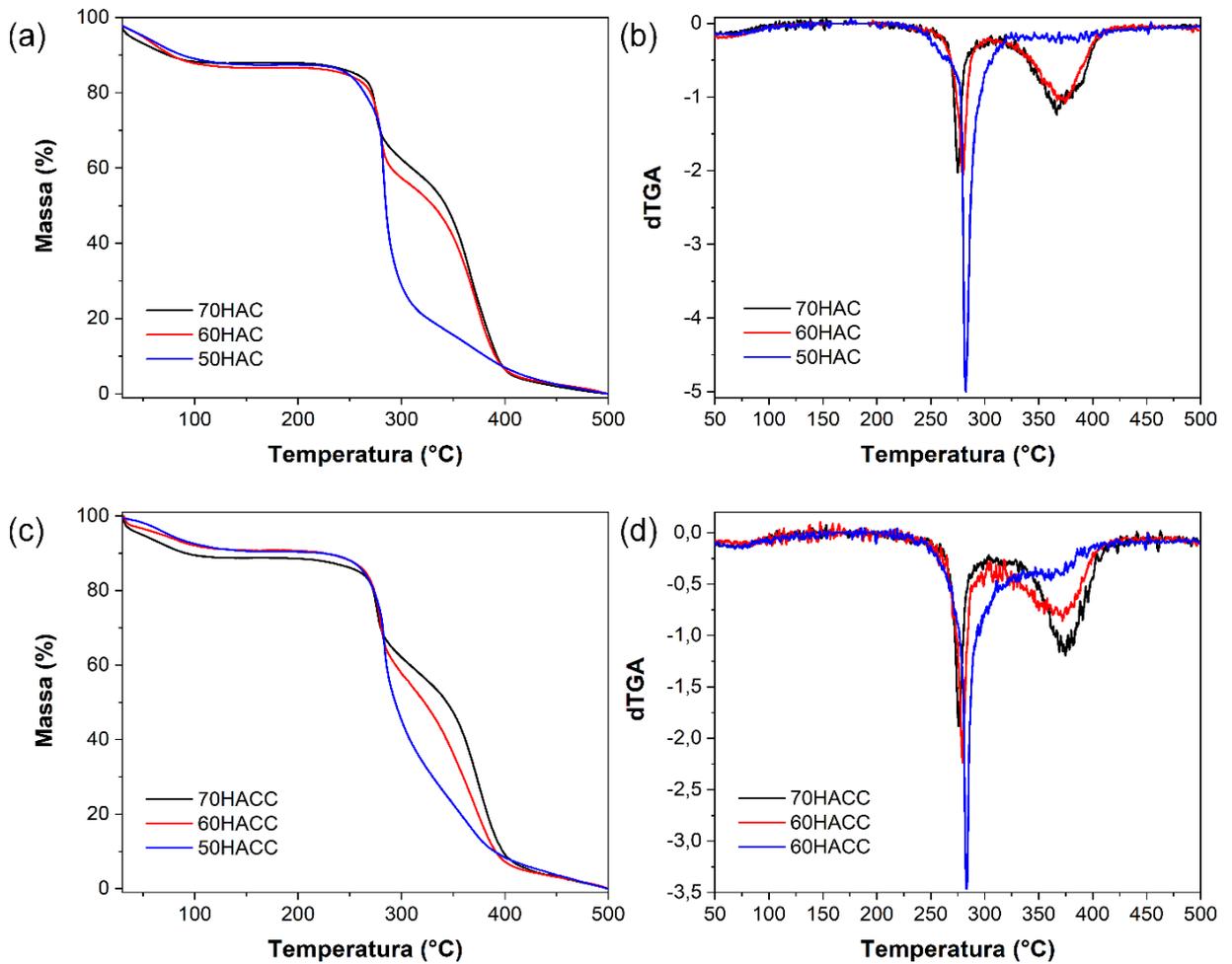
Figura 29. TGA (a) e DTGA (b) dos componentes puros HPMCAS, κ -CAR e CUR.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Observa-se na Figura 29 que a curva do HPMCAS e da CUR apresenta uma ampla e única faixa de temperatura de perda de massa. No caso da CUR, ao fato de que os diferentes curcuminóides degradam em temperaturas muito próximas criando uma região de perda de massa de 280 °C até 430 °C. Já o HPMCAS, tem uma perda de massa íngreme com um máximo de degradação em torno de 375 °C. A κ -CAR apresentou três estágios de degradação, possivelmente devido aos diferentes grupos que o polissacarídeo contém. A primeira perda de massa da κ -CAR ocorre abaixo de 100 °C referente a saída de água adsorvida na estrutura. A perda de massa em torno de 250 °C da curva da κ -CAR representa a decomposição do carboidrato. Esta etapa é referente a fragmentação da degradação em mais de uma etapa e é relatada por Fauzi *et al.* (2021). (FAUZI et al., 2021) Nela ocorre a quebra da ligação acetal e a degradação da cadeia lateral com a saída do éster sulfato (CAMPO et al., 2009; LIU et al., 2018; FAUZI et al., 2021) A medida que a temperatura aumenta, um novo estágio de degradação é atingido e ocorre a degradação completa da κ -CAR (CAMPO et al., 2009; LIU et al., 2018; FAUZI et al., 2021). O efeito da temperatura na perda de massa das membranas é apresentado na Figura 30.

Figura 30. TGA e DTGA das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC (a,b) 70HACC, 60HACC e 50HACC (c,d).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Os principais eventos (taxa máxima, °C) e seus respectivos percentuais de perda de massa (%) estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Perda de massa em diferentes estágios (temperatura) e percentual de massa residual em cada material.

Amostra	T ₁ ^a	P ₁ ^b	T ₂ ^c	P ₂ ^d	T ₃ ^e	P ₃ ^f	T ₄ ^g	P ₄ ^h	Residual ⁱ
HPMCAS	378,8	98,1	-	-	-	-	-	-	1,9
κ-CAR	59,8	14,7	239,8	11,6	269,7	26,5	336,1	34,5	13,4
CUR	324,2	45,8	400,4	47,4	-	-	-	-	6,8
70HAC	64,6	5,8	275,3	26,4	366,3	55,1	-	-	12,7
60HAC	63,8	7,9	279,3	29,6	372,4	53,3	-	-	9,2
50HAC	65,2	5,5	282,7	67,5	369,4	15,7	-	-	11,3
70HACC	76,6	5,2	277,7	27,8	372,7	53,9	-	-	13,1
60HACC	76	4,5	279	32,5	370	52,79	-	-	10,2
50HACC	74,8	7	283,3	56,3	360,8	25,7	-	-	11

^{a,c,e,g} Taxa máxima de degradação em cada estágio de perda de massa (°C)

^{b,d,f,h} Percentual de perda de massa em cada estágio de degradação (%)

ⁱ Percentual de massa residual à 800°C

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

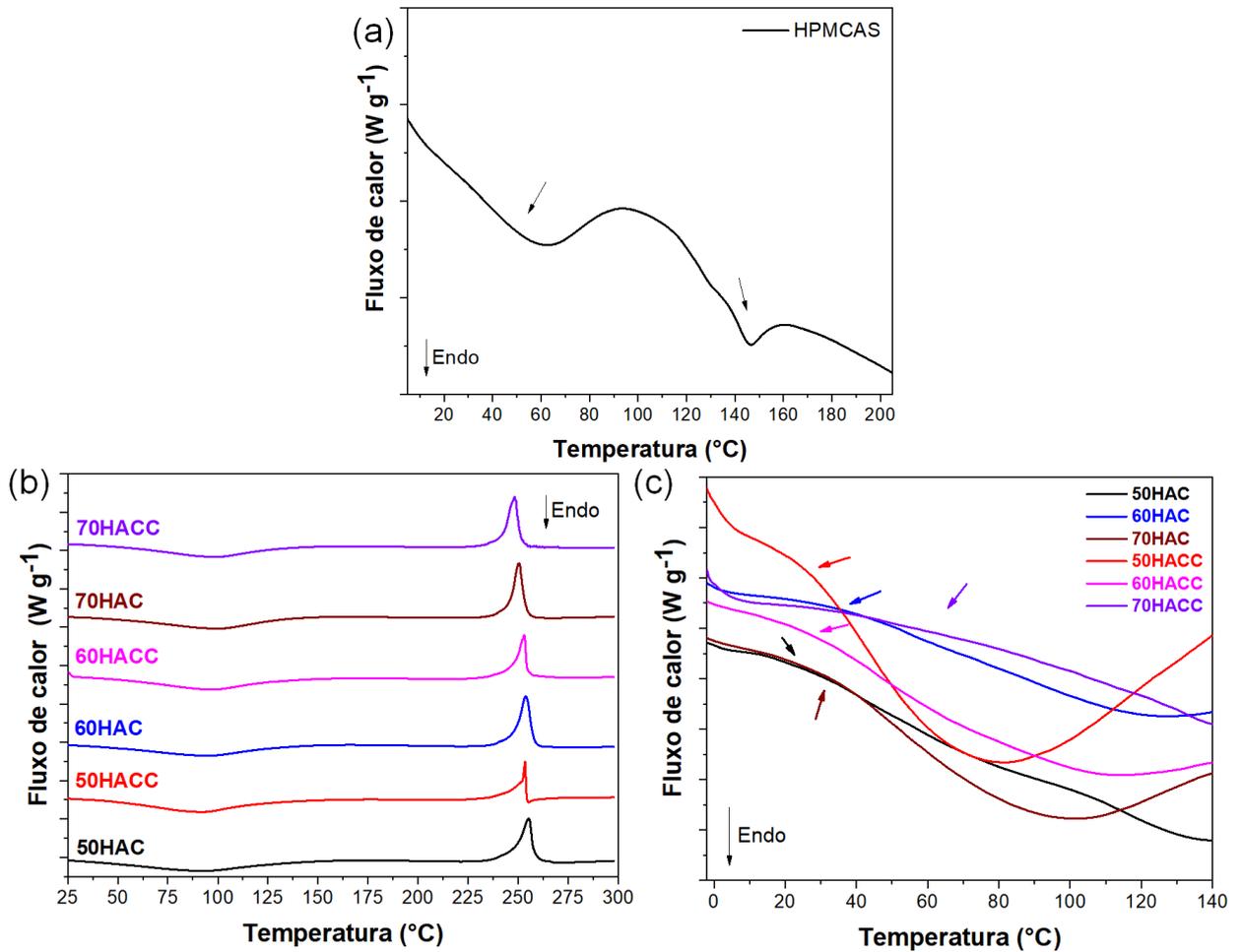
Na Tabela 10 caracteriza-se em todas as membranas um estágio de perda de massa referente a saída de solvente residual (água e EtOH). Nas membranas sem CUR, observou-se que, com a diminuição de κ-CAR, a temperatura tanto do primeiro estágio de degradação (κ-CAR) quanto do segundo (HPMCAS) aumentou. Ressalta-se que nas membranas há apenas um evento de degradação da κ-CAR, indicando que o processo por *casting* favorece a formação de uma única população estrutural da κ-CAR com características amorfas como verificado por XRD (MICHEL; MESTDAGH; AXELOS, 1997; STURM et al., 2016; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; SUN et al., 2018). A diminuição na estabilidade térmica de membranas contendo κ-CAR foi reportado por Balasubramanian *et al.* (2018) e Kahliq *et al.* (2022) (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; KHALIQ et al., 2022). Nos estudos desenvolvidos por esses autores, a diminuição na estabilidade térmica indica a formação de complexos emaranhados entre os polímeros carregados. Os emaranhados são chamados de complexos polieletrólíticos que são favorecidos em determinados pH's e composições (RIBEIRO et al., 2009; ZHANG et al., 2019; SANCHES, 2020).

As membranas contendo CUR apresentaram comportamento semelhante as membranas que não possuíam o ativo. Por se tratar de uma região de perda de massa da CUR, observa-se um aumento e um alargamento no pico de perda em torno de 375 °C indicando a presença dos curcuminóides na matriz.

3.7 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

A análise de DSC permite avaliar de que forma os eventos térmicos ocorrem nas membranas através do monitoramento do fluxo de calor (ZHANG et al., 2018; MONSCHKE; KAYSER; WAGNER, 2021). A maior parte das blendas poliméricas são imiscíveis podendo ainda apresentar incompatibilidade resultante da baixa dispersão de uma das fases na matriz e baixa adesão entre os componentes (PUCCI; RUGGERI, 2011). Nas blendas miscíveis, os polímeros formam uma única fase e estão intimamente misturados em nível molecular, apresentando somente um valor de T_g . Se os componentes individuais da blenda imiscível apresentar transições vítreas, espera-se que as blendas apresentem valores de T_g praticamente iguais às dos polímeros individuais. As blendas parcialmente miscíveis devem apresentar, então, valores de T_g relativos aos seus componentes, mas situados entre os valores dos polímeros individuais. As curvas de aquecimento das membranas estão apresentadas na Figura 31. Os valores de T_g atribuídos estão apresentados na Tabela 11.

Figura 31. DSC do HPMCAS (a), das membranas (b) e ampliação na região da T_g das membranas (c).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela 11. Temperatura de transições vítrea do HPMCAS e das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC, 50HACC.

Amostra	T_g (°C)
HPMCAS	56,3±0,05
50HAC	24,3±0,05
50HACC	27,5±2
60HAC	33,8±2,1
60HACC	27,8±0,2
70HAC	29,3±1,1
70HACC	63,8±2,1

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O HPMCAS puro (Figura 31 (a)) apresenta dois eventos principais: a T_g referente a fração amorfa em ~56,3 °C e um pequeno evento de fusão em ~145°C. Nas blendas contendo

CUR (Figura 31 (b)) verifica-se a ausência de eventos endotérmicos próximos a fusão da CUR (~174 °C) indicando a predominância amorfa do curcuminóide (PARADKAR et al., 2004; KAKRAN et al., 2013). Através da curva apresentada na Figura 31 (c) foi estimado a T_g das membranas, dentre outros eventos. Através da Figura 31 (c) observa-se a presença de um único evento de T_g nas membranas indicando, pelo menos, a miscibilidade parcial entre os polímeros.

As blendas de HPMCAS/ κ -CAR exibiram uma diminuição na temperatura de transição vítrea quando comparada ao HPMCAS puro (SIEPMANN et al., 2006; SUN et al., 2018; WAISCZIK, 2020). A diminuição da T_g se refere ao aumento do volume livre e, como consequência, sua mobilidade molecular (MASCIA, 1978; SUN et al., 2018; ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020). A diminuição da T_g proveniente da presença de aditivos em uma matriz polimérica pode ser denominada de plastificação (SIEPMANN et al., 2006; VIEIRA et al., 2011). Em geral, o plastificante adicionado reduz a T_g e a tensão de deformação, aumentando a flexibilidade e a resistência à fratura do filme (MARTINS et al., 2012; ALAVI et al., 2019).

O comportamento térmico das amostras contendo CUR exibiram perfis diferentes. Um pequeno incremento na T_g da formulação 50HACC e 70HACC foi evidenciado quando a CUR é adicionada. A necessidade de maior energia (T) para aumentar a mobilidade molecular da estrutura pode estar associada a reticulação da membrana (MASCIA, 1978; SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007; RODRIGUES; COSTA; GRENHA, 2012; ZHU et al., 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; MASCIA et al., 2020). A reticulação (*cross-linking*) ocorre devido à redução na mobilidade molecular das cadeias poliméricas. Esta diminuição de mobilidade pode ocorrer por interações covalentes e não-covalentes entre as cadeias (PENG et al., 2018; WANG; OU; HUANG, 2019). De maneira contrária, a membrana 60HACC (contendo CUR) apresentou uma diminuição da T_g (~27,8 °C) característica de plastificantes (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; FRANÇA et al., 2022a).

A amostra 70HACC apresentou um valor de T_g superior até mesmo do polímero puro (~63,8 °C). Este comportamento na T_g dos materiais, caracterizado como reticulação, geralmente ocorre quando são empregadas pequenas concentrações de aditivo (VIEIRA et al., 2011; RODRIGUES; COSTA; GRENHA, 2012). Como neste trabalho não foi empregado condições de reação química entre os constituintes, supõe-se, que se trata de uma reticulação física. A reticulação física ocorre através de ligações de origem não covalente. Ligações de

hidrogênio, interações iônicas e van der Waals são interações que podem promover a reticulação não-covalente (KHALIQ et al., 2022). Essas interações restringem o movimento das cadeias poliméricas aumentando a T_g (ANDERSON et al., 1995; DLUBEK; REDMANN; KRAUSE-REHBERG, 2002).

Através dos dados obtidos, se sobressai o efeito de reticulação, determinante para a blenda contendo CUR e 30% (m/m) de κ -CAR. Nas diferentes proporções mássicas, observa-se na membrana o efeito plastificante da κ -CAR. Na membrana 50HACC observou-se uma pequena elevação da T_g devido a presença da CUR indicando um efeito de reticulação do curcuminóide. Na membrana 60HACC há um efeito plastificante da CUR pois ela contribui para a diminuição da T_g . Por outro lado, a amostra 70HACC exibiu um aumento abrupto na T_g devido a CUR indicando um perfil de *cross-linking* (HISHAM et al., 2015; ZHU et al., 2017; YAN et al., 2018; MASCIA et al., 2020).

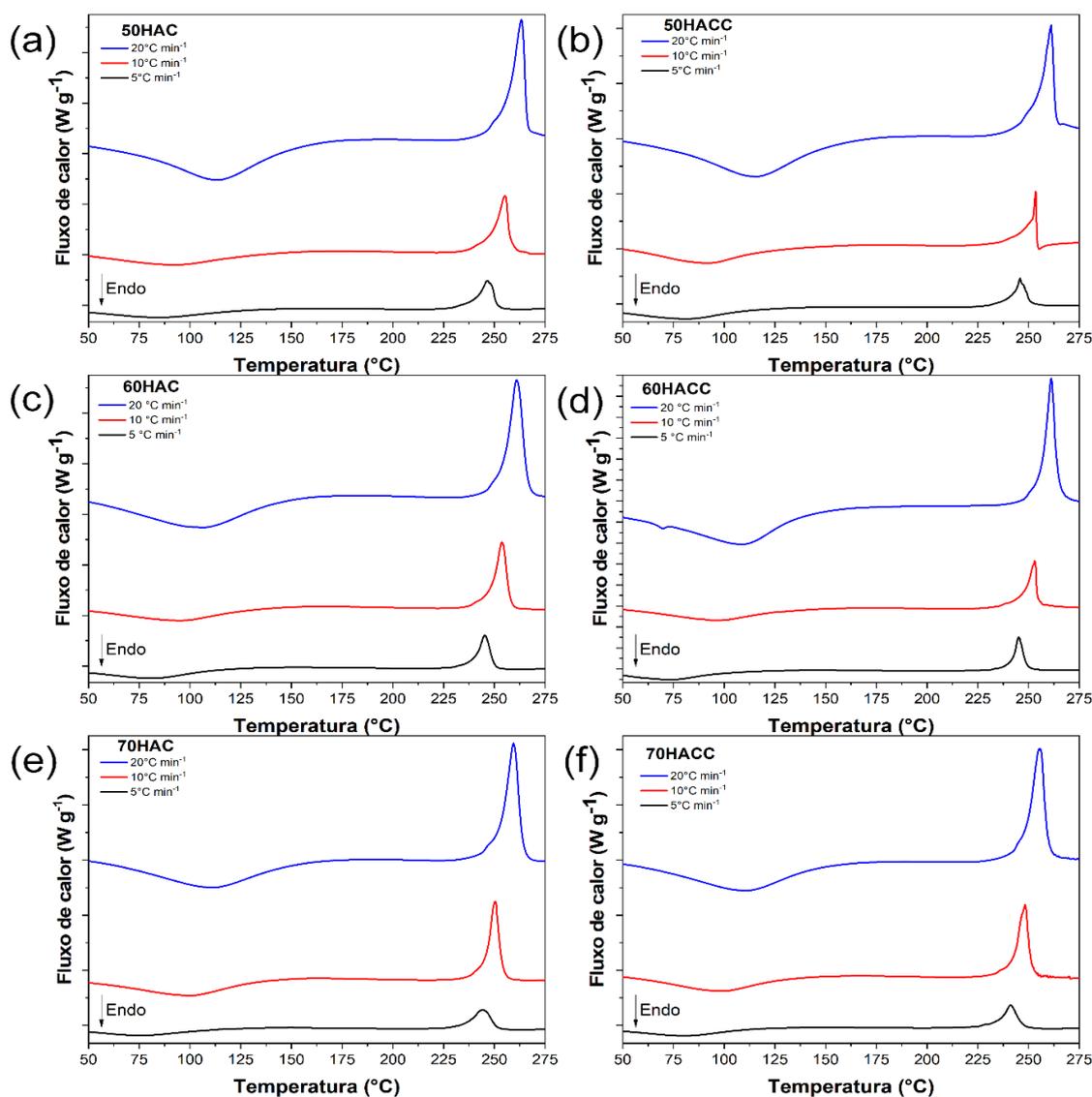
Através das curvas de DSC também é possível observar uma redução na temperatura de degradação da κ -CAR (~ 250 °C) conforme o seu % na blenda decresce. Essa redução na temperatura de degradação corrobora com os dados de TGA descritos no tópico 3.6. A diminuição da estabilidade térmica é descrita pela formação de complexos emaranhados de alta entropia que promovem a maior dispersão da κ -CAR na matriz (SHOJAEE-ALIABADI et al., 2014; LIU et al., 2018; KHALIQ et al., 2022). Para investigar esses efeitos associados a estabilidade térmica da κ -CAR, uma cinética de degradação foi realizada para estudar o efeito das formulações na energia de ativação (E_a) do evento (HJERDEZ; SMIDSRØD; CHRISTENSEN, 1996; MEDEIROS, 2019).

A cinética de degradação foi realizada de acordo com o item 2.2.8.1. Com os estudos apresentados por Shahbazi *et al.* (2016), é possível caracterizar a cinética de degradação da κ -CAR (SHAHBAZI et al., 2016). Os autores relacionaram a variação da viscosidade intrínseca com a temperatura para obtenção dos parâmetros cinéticos. Essa variação da viscosidade intrínseca com a temperatura está diretamente associada a degradação da macromolécula (HJERDEZ; SMIDSRØD; CHRISTENSEN, 1996; SHAHBAZI et al., 2016; MENG et al., 2018).

Para a obtenção dos parâmetros cinéticos de degradação da κ -CAR neste trabalho optou-se pela técnica de DSC através do método de conversão isotérmico. (MENG et al., 2018). Trata-se de uma análise cinética onde suspeita-se que a degradação é independente da

temperatura, mas dependente do fluxo de calor associado ao evento (MA et al., 2012; ABDERRAHIM et al., 2015; SHAHBAZI et al., 2016; BARIK et al., 2017; MENG et al., 2018). As curvas de aquecimento realizadas com diferentes taxas de aquecimento estão apresentadas na Figura 32.

Figura 32. Curva de aquecimento das blendas poliméricas 50HAC, 60HAC, 70HAC (a,c,e) e 50HACC, 60HACC, 70HACC (b,d,f) CUR com taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (preto), $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (vermelho) e $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (azul).



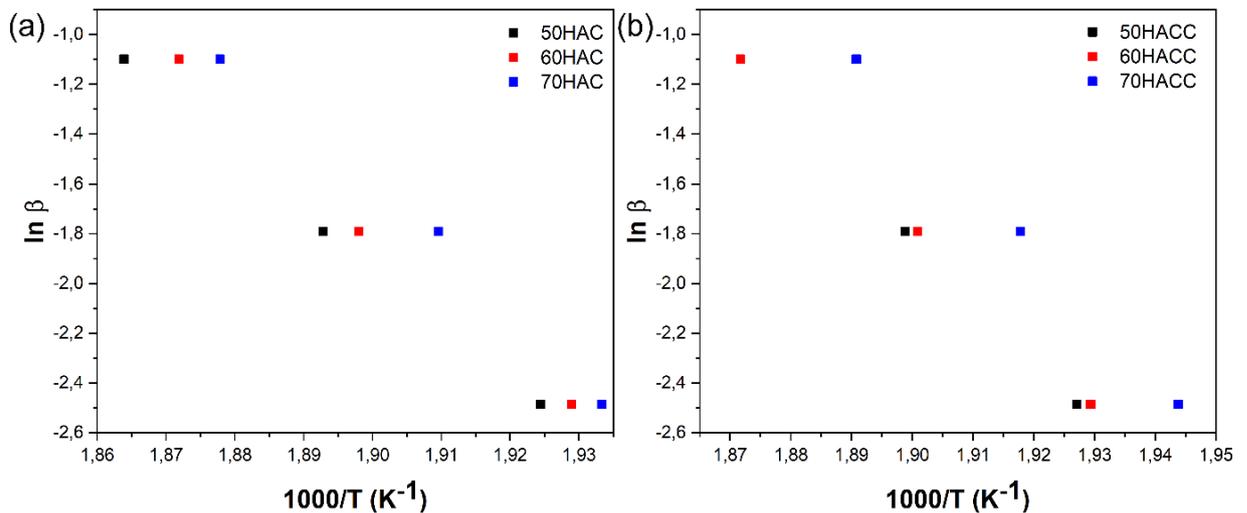
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Na Figura 32 evidencia-se que, conforme a taxa de aquecimento aumenta, maior é a temperatura de pico do evento de degradação ($\sim 230\text{ }^{\circ}\text{C}$) (SHAHBAZI et al., 2016; MENG et al., 2018). Aquecimentos lentos ($5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$) possibilitam tempo suficiente para modificações

morfológicas motivadas pela reorganização do material durante o aquecimento (AL-SALEM, 2018; MENG et al., 2018). O evento de degradação ocorre de maneira gradativa onde o calor necessário para que o evento ocorra é fornecido em um tempo maior. Em taxas de aquecimento elevadas não se permite tempo suficiente para o material sofrer alterações morfológicas. Assim, o evento de degradação ocorre quase que instantaneamente pois o calor necessário é fornecido em uma faixa de tempo muito pequena. De maneira geral, taxas de aquecimento elevadas promovem picos mais intensos e com uma estreita faixa de temperatura (NUNES, 2013; SHAHBAZI et al., 2016; MENG et al., 2018).

Para obtenção dos parâmetros cinéticos da degradação da κ -CAR as curvas da função log da taxa de aquecimento ($\log \beta$) em função do inverso da temperatura foram plotados. De acordo com o modelo de Arrhenius foi possível estimar a energia de ativação (E_a) através do coeficiente angular da curva (Figura 33) (AL-SALEM, 2018; MENG et al., 2018).

Figura 33. Log da taxa de aquecimento ($\log \beta$) em função do inverso da temperatura de pico ($1000/T$) das membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC (a) e 50HACC, 60HACC, 70HACC (b).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Através dos dados obtidos, na Tabela 12 estão apresentados a temperatura de pico em cada taxa de aquecimento e a energia de ativação calculada.

Tabela 12. Temperatura de pico nas respectivas taxas de aquecimento, energia de ativação de degradação da κ -CAR e coeficiente de determinação (R^2) nas membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC e 70HACC.

	5 ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	10 ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	20 ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	E_a (kJ mol^{-1})	R^2
50HAC	246,48	255,16	263,36	190,23 \pm 4,88	0,9987
60HAC	245,26	253,72	261,08	201,29 \pm 9,82	0,9952
70HAC	244,1	250,52	259,38	206,32 \pm 7,3	0,987
50HACC	245,77	253,49	261,13	208,01 \pm 2,38	0,9997
60HACC	245,16	252,92	261,13	199,84 \pm 1,51	0,9999
70HACC	241,31	248,29	255,73	217,45 \pm 2,27	0,9998

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Os valores da energia de ativação (E_a) apresentados na Tabela 12 indicam de que maneira as proporções entre as blendas afetam a energia necessária para degradar a κ -CAR no sistema. O bom ajuste matemático dos pontos nas equações de retas indica que o método de Flynn–Wall–Ozawa (O-W-F) se ajusta ao estudo da cinética de degradação da κ -CAR (HU; CHEN; WANG, 2004; AL-SALEM, 2018; MENG et al., 2018). Observa-se que a membrana 50HAC exibiu a menor E_a , corroborando com os dados obtidos na termogravimetria pois a membrana 50HAC exibiu a menor temperatura de degradação no TGA. Com a adição da CUR, é verificada mudanças no comportamento da E_a entre as formulações.

Na amostra 50HACC, há um acréscimo na E_a da κ -CAR quando comparada à 50HAC. Este efeito pode estar associado a diminuição do volume livre descrita por meio do incremento da T_g pela CUR (FARHAN; HANI, 2017; MENG et al., 2018). Na blenda contendo 50% de HPMCAS, a CUR pode estar dificultando a degradação da κ -CAR na matriz quando comparada a 50HAC (SHAHBAZI et al., 2016; MENG et al., 2018). Já na amostra 60HACC observa-se um perfil diferente, ou seja, não é evidenciado variação na E_a devido a presença da CUR quando comparada à 60HAC. Assim, conclui-se que a CUR na formulação, aparentemente, não interfere na degradação da κ -CAR. (VYAZOVKIN; SBIRRAZZUOLI, 2006; SHAHBAZI et al., 2016; MENG et al., 2018).

Na amostra 70HACC, há um acréscimo na E_a da κ -CAR quando comparada ao respectivo controle. O resultado pode estar relacionado a diminuição do volume livre descritas pelo aumento da T_g na presença da CUR. Assim como na amostra 50HACC, na membrana 70HACC, a CUR pode estar dificultando a degradação da κ -CAR (SHAHBAZI et al., 2016). Este resultado é semelhante ao observado na amostra 50HACC e 50HAC indicando que κ -CAR e a CUR estão intimamente misturadas. Na análise de DSC verificou-se um efeito

reticulante da CUR nas formulações 50HACC e 70HACC e plastificante na 60HACC. Assim, é possível supor que a reticulação ocorra não somente na matriz de HPMCAS, mas na κ -CAR, o que contribui para a necessidade de uma maior energia para degradá-la (MACIEL et al., 2005; HISHAM et al., 2015; SHAHBAZI et al., 2016; MASCIA et al., 2020).

O efeito plastificante e reticulante descritos anteriormente podem ajudar a identificar o local majoritário da κ -CAR e da CUR na membrana. Neste caso, dependendo da intensidade da interação entre a κ -CAR e a CUR é possível distinguir se há ou não favorecimento de sítios de interação entre estes dois componentes. Neste sentido, sugere-se que, tanto na proporção de 50%, quanto na de 30% de κ -CAR, ela apresenta interações evidentes com a CUR. Essa interação entre a κ -CAR e CUR é verificada indiretamente pelo efeito na T_g (ANDERSON et al., 1995; UBBINK, 2016; MASCIA et al., 2020).

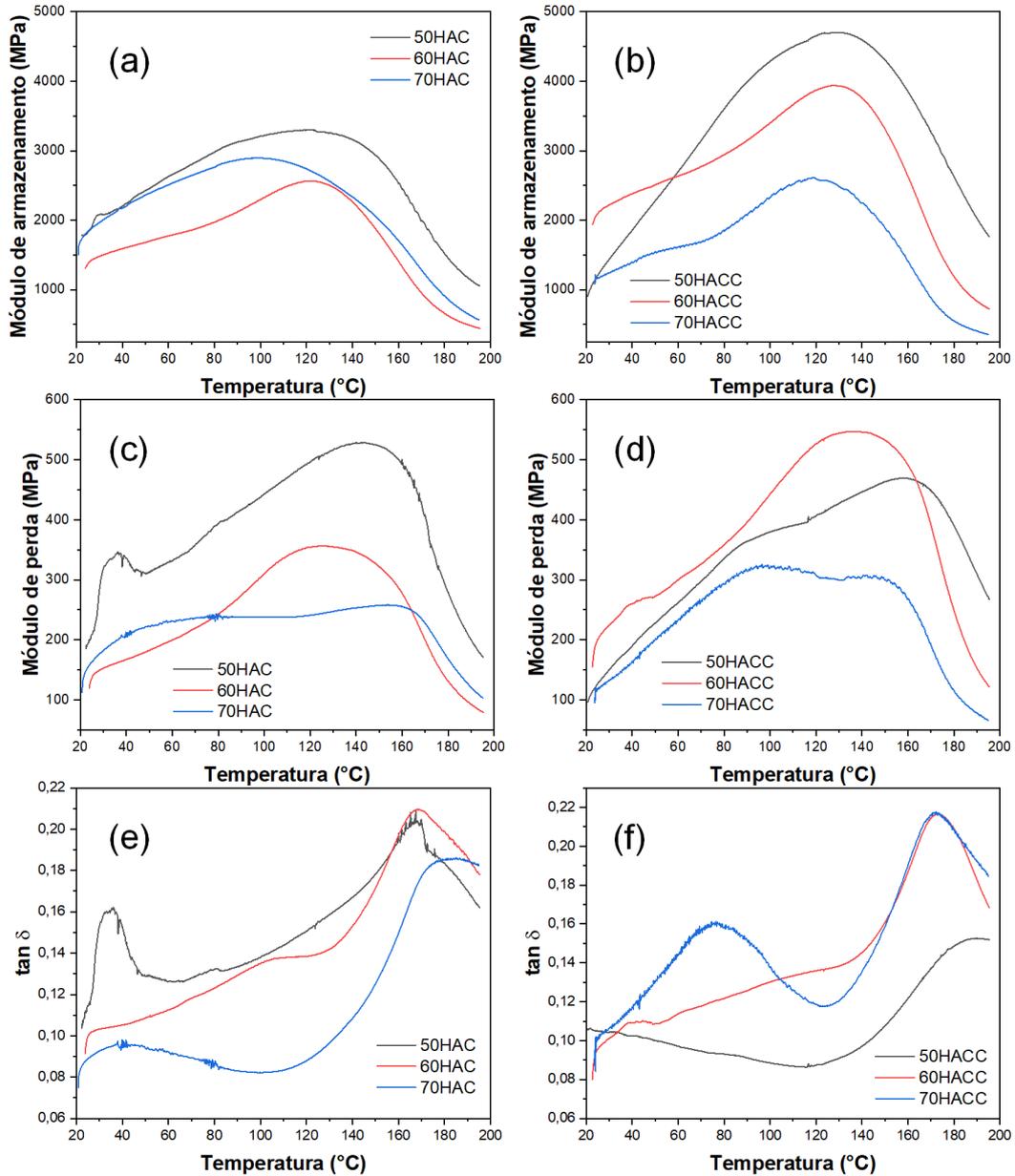
A mudança dessas transições avaliadas por DSC influenciam diretamente as propriedades mecânicas das membranas. Para investigar a influência dos componentes e avaliar o efeito da temperatura nestas propriedades mecânicas, a análise dinâmico mecânica (DMA) foi utilizada.

3.8 ANÁLISE DINÂMICO MECÂNICO (DMA)

3.8.1 Rampa de temperatura

A determinação das propriedades mecânicas das membranas desempenha um papel importante neste estudo. Quando aplicadas em sistemas tópicos espera-se que as membranas possuam maleabilidade e resistência para que consigam envolver a superfície da pele evitando rachaduras e pouca adesividade (ESCOPCIO et al., 2011; POSTOLOVIC et al., 2022). As propriedades mecânicas dos polímeros dependem de muitos parâmetros, incluindo o grau de cristalinidade, a presença de moléculas plastificantes e reticulantes (NARDUCCI et al., 2016; DEWANGAN et al., 2017; LIN et al., 2022). A rampa de temperatura no DMA pode ser utilizada para determinar os parâmetros mecânicos como módulo de armazenamento (E'), módulo de perda (E'') e $\tan \delta$ (CASSU; FELISBERTI, 2005; ESCOPCIO et al., 2011; ANNABI et al., 2017; SANTOS, 2021). As curvas referentes ao módulo de armazenamento, de perda e $\tan \delta$ em função da temperatura estão apresentados na Figura 34.

Figura 34. Módulo de armazenamento (a,b), módulo de perda (c,d) e $\tan \delta$ (e,f) para as membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC, 50HACC, 60HACC e 70HACC.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A análise de rampa de temperatura permite obter informações sobre o comportamento mecânico de um determinado material com a temperatura (CASSU; FELISBERTI, 2005; CUCOS et al., 2011). A temperatura influencia a mobilidade das cadeias poliméricas e, conseqüentemente, no seu armazenamento (elástico) e dissipação (viscoso) de energia na forma de escoamento (CASSU; FELISBERTI, 2005; ESCOPIÇIO et al., 2011; LORANDI et al., 2016). Esta representação permite a determinação de processos de relaxação, que são

caracterizados por uma diminuição do módulo de armazenamento e um pico de módulo de perda (CUCOS et al., 2011). Os principais eventos de relaxação estão relacionados à temperatura de transição vítrea, fusão de aditivos e transições secundárias (EBEWELE, 2000; NARDUCCI et al., 2016; YAN et al., 2018; FAUZI et al., 2021).

Como analisado na Figura 34 (a,b), pode ser verificado o aumento inicial no E' com a temperatura até $\sim 100-120$ °C. Esse aumento pode ser atribuído a uma perda de moléculas residuais do solvente (H_2O) (KUNDU et al., 2005; NARDUCCI et al., 2016). Através da curva de E' , mesmo após a T_g (determinada por DSC) o módulo de armazenamento continua aumentando. Este perfil é característico de matrizes termorrígidas e altamente reticuladas (EBEWELE, 2000; VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009). O comportamento nas curvas de E' pode indicar que moléculas de água estão atuando como reticulantes na matriz (HISHAM et al., 2015; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018).

Devido as características intumescentes da κ -CAR é constatado que a formulação 50HAC e 50HACC contém o maior pico no E' . Observa-se ainda, que a adição da CUR na matriz contribui com o aumento do E' máximo (VYAZOVKIN; SBIRRAZZUOLI, 2006; PHILLIPS; WILLIAMS, 2009; RUDHZIAH et al., 2015; HU et al., 2018; SUN et al., 2018). A tendência é caracterizada nas demais formulações 60HAC, 60HACC, 70HAC e 70HACC (Figura 34 (a,b)). Este comportamento pode ser justificado devido ao método de preparo (*casting*) e a umidade relativa utilizada para ambientar as membranas ($\sim 58\%$) (DLUBEK; REDMANN; KRAUSE-REHBERG, 2002; JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020). Além do módulo de armazenamento, é possível constatar a temperatura em que o E' máximo é atingido. Observa-se que conforme o teor de κ -CAR aumenta, maior é a temperatura de pico do E' . Isto sugere que em maiores proporções de κ -CAR, maior é a energia requerida para a retirada da H_2O (MORARU et al., 2002; MARTINS et al., 2012; FARHAN; HANI, 2017; NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; ENUMO et al., 2020).

Após a saída da água, é observado uma diminuição no E' e um aumento no E'' (Figura 34 (c,d)) ($\sim 130-150$ °C). Esse incremento na componente viscosa é promovido pelo aumento da energia térmica que favorece o escoamento (KUNDU et al., 2005; YAN et al., 2018). A partir de $150-160$ °C tanto E' quanto E'' decrescem de maneira abrupta (NGAI et al., 1991; LAFFERTY; NEWTON; PODCZECK, 2002; CUCOS et al., 2011; ESCOPIÇIO et al., 2011). Para comparar o comportamento das membranas foi dado enfoque no perfil de $\tan \delta$. O valor de $\tan \delta$ é definido como a razão entre o módulo de perda e o módulo de

armazenamento (NUNES, 2013; BATISTA et al., 2016). Trata-se de um indicativo da capacidade de amortecimento mecânico (BATISTA et al., 2016; GROSS, 2019).

Na amostra 50HAC (Figura 34 (e)), é possível observar três picos de $\tan \delta$ referentes a conversão de energia mecânica do material. A primeira, em torno de $35,9^\circ\text{C}$, é atribuída a T_g da membrana (NGAI et al., 1991; LAFFERTY; NEWTON; PODCZECK, 2002; CUCOS et al., 2011; ESCOPIÇIO et al., 2011). Esse aumento na T_g da formulação 50HAC pode ser atribuída à presença da água, ausente nas medidas de DSC. O pico de $\tan \delta$ em $167,7^\circ\text{C}$ pode ser atribuído a fusão parcial da fração da κ -CAR seguida da degradação do polissacarídeo (PIYAKULAWAT et al., 2007; ELNASHAR; YASSIN, 2009). Este evento é observado no DSC (ver Apêndice E) como um evento que antecede a degradação (HAGEN et al., 1994; LORANDI et al., 2016). Quando a CUR é adicionada (50HACC), o comportamento mecânico da blenda sofre alterações. O perfil mecânico na amostra 50HACC (Figura 34 (f)) inibiu e/ou diminuiu algumas transições verificadas pelo $\tan \delta$ não sendo possível caracterizar a T_g (NGAI et al., 1991). Verificou-se um pico de $\tan \delta$ em $189,2^\circ\text{C}$ atribuído a fusão pré-degradação da κ -CAR na matriz (ELNASHAR; YASSIN, 2009; MARTINS et al., 2012; DE ALCÂNTARA et al., 2020).

Nas formulações 60HAC e 60HACC (Figura 34 (e,f)) também não foi possível caracterizar a temperatura de transição vítrea na curva de $\tan \delta$. Verificou-se que o perfil da curva se manteve, e caracterizou-se os picos pré-degradação em $168,6^\circ\text{C}$ e $172,7^\circ\text{C}$ para a amostra sem e com CUR, respectivamente (PIYAKULAWAT et al., 2007; ELNASHAR; YASSIN, 2009).

As amostras 70HAC e 70HACC (Figura 34 (e,f)) também exibiram perfis diferentes das demais formulações. A formulação 70HAC (Figura 34 (e)) apresentou um evento que pode ser atribuído a T_g ou transição sol-gel da κ -CAR em torno de $\sim 37,7^\circ\text{C}$. A fusão pré-degradação da κ -CAR é caracterizada pelo pico de $\tan \delta$ em $177,4^\circ\text{C}$ (PIYAKULAWAT et al., 2007; ELNASHAR; YASSIN, 2009). Por outro lado, a membrana 70HACC (Figura 34 (f)) exibiu a T_g do HPMCAS pelo pico de $\tan \delta$ ($\sim 74,9^\circ\text{C}$). Apesar de ser superior a encontrada por DSC, a T_g está de acordo aos dados obtidos no tópico anterior. A discrepância entre os valores pode estar associada, principalmente, a presença de água na estrutura. Assim como as demais formulações, na membrana 70HACC foi caracterizado a pré-degradação da κ -CAR ($\sim 172,7^\circ\text{C}$) (HAGEN et al., 1994; CUCOS et al., 2011).

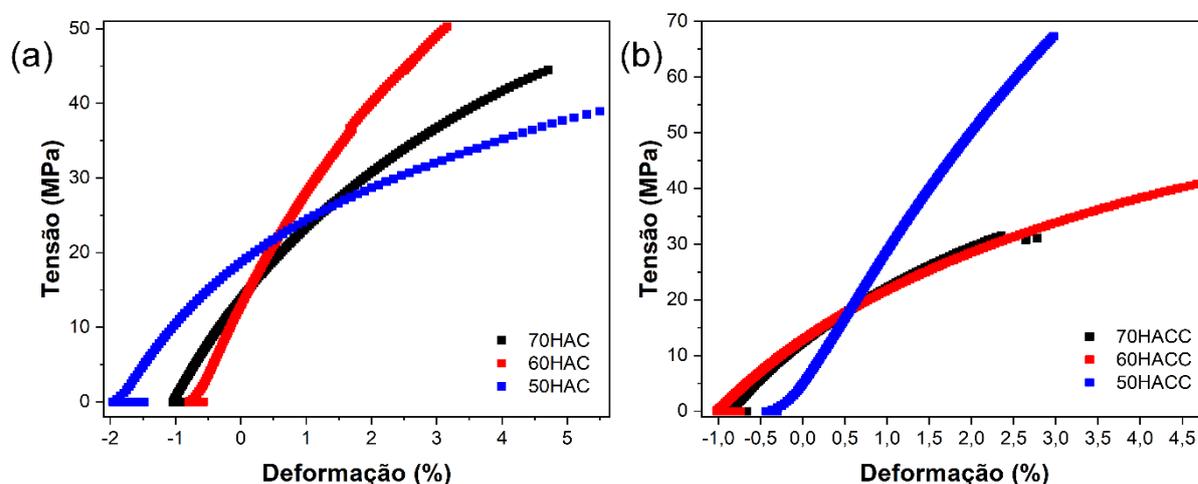
No trabalho desenvolvido por Wolff *et al.* (2014) foi investigado a solubilidade de fármacos nas propriedades viscoelásticas de matrizes poliméricas (WOLFF; IRSAN; DODOU, 2014). Verificou-se que conforme a proporção de fármaco aumentava nas membranas havia um acréscimo no módulo elástico (LACOUILONCHE; CHAUVET; MASSE, 1997; JUST *et al.*, 2013; WOLFF; IRSAN; DODOU, 2014). O aumento do E' foi atribuído a presença de cristais suspensos não dissolvidos (WOLFF; IRSAN; DODOU, 2014; ZHU *et al.*, 2017; YAN *et al.*, 2018). Perfil semelhante é observado neste trabalho onde as formulações contendo CUR exibiram um aumento significativo na magnitude do E' (HAGEN *et al.*, 1994; SIEPMANN; LE BRUN; SIEPMANN, 2006; WOLFF; IRSAN; DODOU, 2014; BATISTA *et al.*, 2016; MOHAMED *et al.*, 2020; SANTOS, 2021).

Os dados de rampa de temperatura no DMA nos fornecem informações acerca de eventos que alteram as propriedades mecânicas conforme energia térmica e uma tensão mecânica constante é fornecida (CASSU; FELISBERTI, 2005; PUCCI; RUGGERI, 2011; NUNES, 2013). Quando os parâmetros da análise são definidos leva-se em consideração o quanto é possível deformar o material de forma elástica (reversível). No presente trabalho, os parâmetros foram definidos sem a avaliação prévia do material, mas sim, de trabalhos com outros polissacarídeos. Assim, a ausência de correlação entre o módulo de perda com os demais parâmetros pode estar associada a essa deformação plástica que o material sofre. A medida em que ocorre os ciclos de estiramento (1 Hz) o material vai deformando e perdendo a capacidade de escoar. Essa perda é visualizada pela inibição de crescimento no E'' que, apesar do aumento da temperatura, tem valores com magnitude semelhante (CURTIS *et al.*, 2006; DRUSCH *et al.*, 2009; CHIENG; MIZUNO; PIKAL, 2013; UBBINK, 2016).

3.8.2 Tensão *versus* deformação

A aplicação tópica das membranas envolve propriedades mecânicas desejáveis. Quando aplicadas, espera-se que as membranas apresentem resistência mecânica e maleabilidade (ESCOPIO *et al.*, 2011; KHALIQ *et al.*, 2022). Essas características facilitam o manuseio e a aplicação dessas membranas. Assim, a resposta mecânica das membranas foi avaliada à 37 °C nas curvas de tensão *versus* deformação. As curvas de tensão *vs* deformação está apresentada na Figura 35. Devido a característica plástica dos materiais obtidos não foi possível estimar de forma precisa o módulo de Young, e por isso, na Tabela 13 está contido o módulo secante das membranas.

Figura 35. Curvas de deformação em função da tensão aplicada das membranas 70HAC, 60HAC e 50HAC (a) 70HACC, 60HACC e 50HACC (b).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela 13. Módulo secante seus respectivos desvios das membranas 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC.

Amostra	Módulo secante (MPa)
70HAC	11,4±0,17 ^a
60HAC	15,5±0,05
50HAC	9,72±0,44
70HACC	11,4±0,08 ^a
60HACC	10,5±0,15
50HACC	23,1±0,75

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O módulo secante é utilizado em sistemas que possuem uma região elástica muito pequena e de difícil caracterização. Segundo a norma ASTM D5323-92 (1999) o módulo secante é definido como a inclinação da reta secante que intercepta a curva de tensão na origem e no ponto que corresponde à deformação de 2% (MATERIALS, 1999; FERRARI et al., 2014; GROSS, 2019). De maneira geral, o módulo secante é inferior ao módulo de Young e os plastificantes contribuem para sua diminuição (ESCOFÍCIO et al., 2011; GROSS, 2019).

De acordo com a Tabela 13, o teste Tukey identificou valores estatisticamente semelhantes para amostra 70HAC e 70HACC. Por outro lado, a amostra 50HAC/50HACC e 60HAC/60HACC exibiram comportamentos opostos com a adição de CUR (SIEPMANN; LE

BRUN; SIEPMANN, 2006; CHEN et al., 2016; DEWANGAN et al., 2017; TARASHI; NAZOCKDAST; SODEIFIAN, 2019).

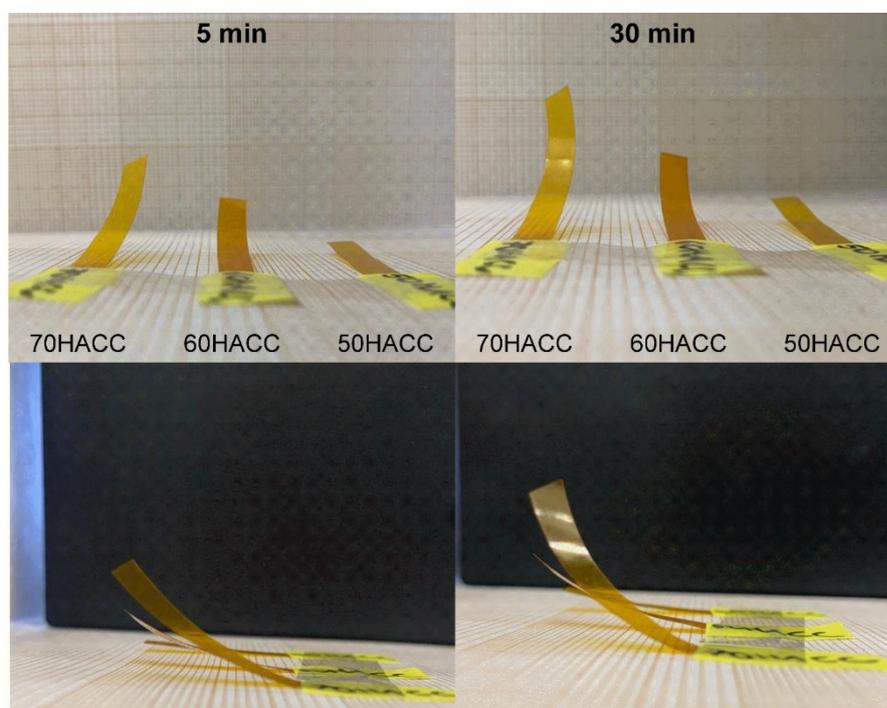
A presença de CUR na membrana 50HACC provoca um aumento na componente elástica em comparação ao controle (50HAC) (MARTINS et al., 2012; CHEN et al., 2016; KHALIQ et al., 2022). Esse comportamento é característico de *cross-linking* caracterizado também pelo aumento da T_g no DSC. Além da CUR, supõe-se que a água esteja também contribuindo na componente elástica (CASSU; FELISBERTI, 2005; TARASHI; NAZOCKDAST; SODEIFIAN, 2019; ENUMO et al., 2020; WAISCZIK, 2020). Possivelmente, a presença da água nas estruturas 3D da κ -CAR na formulação 50HACC promove um aumento no estiramento reversível (elástico) inibindo o escoamento como verificado pelo E' na Figura 35 (TRASI et al., 2014; DESHPANDE et al., 2018).

Assim como no DSC discutido no item 3.7, as amostras 60HAC e 60HACC apresentaram um comportamento diferente das demais. Essa mudança também é observada na curva de tensão vs deformação das amostras 60HAC e 60HACC. O módulo secante da formulação contendo 60% (m/m) de HPMCAS exibiu um perfil distinto após a adição de CUR (TRINCA et al., 2017; ZHU et al., 2017). A diminuição no módulo secante da formulação 60HACC vai ao encontro dos dados de T_g caracterizados por DSC (MASCIA; MARGETTS, 1987; FARHAN; HANI, 2017).

Ao aumentar o percentual de HPMCAS observa-se um aumento na fragilidade das amostras (HISHAM et al., 2015; ZHU et al., 2017). Esta fragilidade provavelmente está associada a reticulação tanto pela CUR quanto pela água nas amostras ricas em HPMCAS (principalmente 70%) (MAEDA; PAUL, 1987; ANDERSON et al., 1995; RODRIGUES; COSTA; GRENHA, 2012; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). Apesar do módulo secante não apresentar valores distintos entre 70HAC e 70HACC ($t < t_{crit}$), o aumento da rigidez é verificado pelo incremento do E' nas curvas apresentadas no item 3.8.1 na amostra 70HACC. Esse aumento na rigidez da membrana pode estar associado ao aumento de T_g causado pela CUR observado no DSC (DEWANGAN et al., 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; ENUMO et al., 2020). A presença de moléculas de água também pode ser um contribuinte para o aumento brusco no E' (ABIAD; CAMPANELLA; TERESA CARVAJAL, 2010; CUCOS et al., 2011; ARAVAMUDHAN et al., 2014).

Visualiza-se na Figura 35 que todas as amostras apresentam um início da curva partindo de uma deformação negativa. Após a ambientação das membranas por 48 h em atmosfera controlada de 58%, a medida em que se removia o corpo de prova para as análises ele começava a contrair. Este efeito é devido a saída de água da membrana imediatamente quando retirada da incubação para realização das medidas (RUDHZIAH et al., 2015; LORANDI et al., 2016; NARDUCCI et al., 2016). Na Figura 36 estão apresentadas fotografias das diferentes formulações contendo CUR em 5 e 30 min em exposição a umidade relativa do ambiente.

Figura 36. Fotografia dos corpos de prova contendo CUR retirados da atmosfera controlada após 5 e 30 min de exposição a umidade relativa do ambiente.

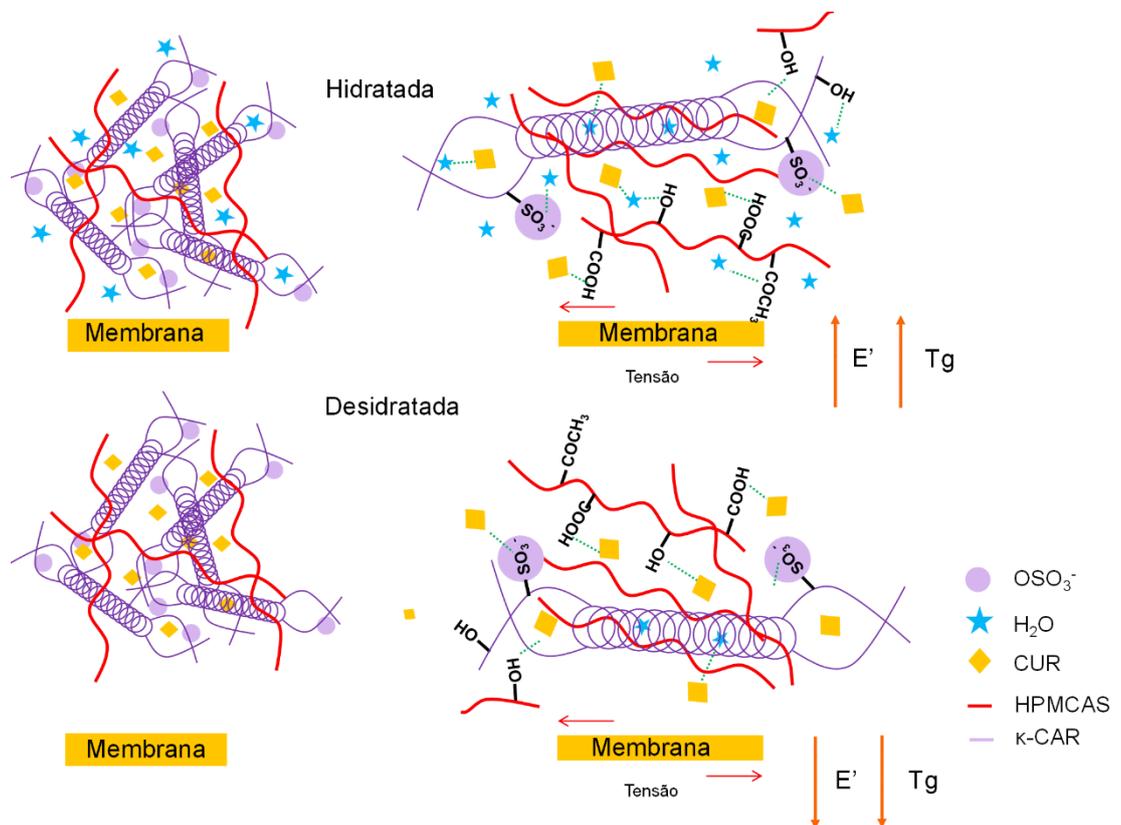


Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A imagem presente na Figura 36 indica o comportamento das membranas após sair da umidade relativa de 58%. Após serem expostas ao ambiente as amostras exibiram um perfil de evaporação da água. A facilidade/dificuldade com que a membrana “expulsa” essas moléculas de água está diretamente relacionada a composição da blenda (KUMAR; GUPTA, 1998; BARIK et al., 2017; SAMPRASIT et al., 2020). A afinidade com que essas moléculas de água saem da membrana é evidenciada entre as proporções, onde, a amostra 70HACC é a que mais “liberou” água quando retirado da umidade relativa. Essa liberação de água devido a mudança da umidade relativa (de 58% para o ambiente aberto) está associada ao quanto a

matriz consegue reter essas moléculas de hidratação. É possível observar que, conforme a quantidade de κ -CAR aumenta, aparentemente, menor é a saída de água. A alta retenção de água pela κ -CAR é uma característica inerente do polissacarídeo sulfatado que, principalmente na forma de gel, absorve grandes quantidades de água. Como discutido no tópico anterior, supõe-se que a água esteja atuando como um reticulante na matriz polimérica e, sendo assim, contribuindo no E' (ZHU et al., 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). Este comportamento foi evidenciado na Figura 34 onde tem-se valores diretamente proporcionais no E' máximo conforme o teor de κ -CAR aumenta. Um esquema representado o efeito da água na membrana 50HACC é apresentado na Figura 37.

Figura 37. Esquema da presença e da ausência da água (azul) no módulo de armazenamento (E') e temperatura de transição vítrea (T_g).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Na Figura 37 é apresentado um esquema representando a formulação 50HACC, especificamente. Nela, apresenta-se a reticulação causada pela água e como, provavelmente, seria o comportamento mecânico sem H_2O baseando-se nos dados de DSC. A reticulação promovida pela água não foi observada por DSC (3.7) (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020). Essa inibição do escoamento não é visualizada pelo DSC pois, por se tratar de uma segunda

corrida, elimina a água contida na estrutura. A ausência dessas interações promove um maior escoamento das cadeias umas sobre as outras. Apesar de convergirem para conclusões semelhantes, é evidente algumas diferenças observadas entre os parâmetros obtidos por DMA e DSC. A distinção da análise mecânica e térmica pode ser devido aos parâmetros e condições utilizadas. A análise mecânica atua como uma resposta a uma força externa exercida sobre o corpo de prova (CASSU; FELISBERTI, 2005). Por outro lado, o DSC responde ao incremento de energia térmica no sistema. Assim, mudanças associadas a temperatura e ao comportamento são esperados quando se compara sistemas complexos (HAGEN et al., 1994; CASSU; FELISBERTI, 2005; ABIAD; CAMPANELLA; TERESA CARVAJAL, 2010; CUCOS et al., 2011; ESCOPIÓCIO et al., 2011; NUNES, 2013).

No trabalho desenvolvido por Annabi *et al.* (2017) foram estudados potenciais adesivos cirúrgicos utilizando hidrogéis (ANNABI et al., 2017). As formulações, variando o percentual de reticulante exibiram um aumento proporcional na componente elástica com o percentual de reticulante. Através deste trabalho foi analisado a capacidade adesiva e verificou-se que, conforme o % de reticulante aumentava, maior foi a adesividade da amostra. A alta adesividade refletiu positivamente nos ensaios *ex vivo* (ANNABI et al., 2017; ZHU et al., 2017).

A amostra 50HACC foi a formulação, dentre as contendo CUR, que exibiu a maior componente elástica. Assim, espera-se que tenha uma performance mais efetiva como adesivo. A adesão, neste caso, está associada a facilidade com que a membrana quebra as interações coesivas e adere na superfície da pele. Assim, para verificar a compatibilidade das membranas em água e avaliar as propriedades superficiais foram realizadas medidas de ângulo de contato.

3.9 ÂNGULO DE CONTATO (CA)

O ângulo de contato (CA) é utilizado como uma medida da molhabilidade entre um líquido e uma superfície sólida. Através da deposição de uma gota de um determinado solvente podemos inferir sobre a afinidade de uma superfície sólida por este solvente (EXTRAND, 2002; REDÓN et al., 2005; DA SILVA; OCHSNER; ADAMS, 2018). Para aplicações biológicas, a água é o solvente mais utilizado nas medidas de ângulo de contato (CA). Superfícies que apresentam um ângulo de contato com a água menor que 90° (Figura 38) apresentam uma superfície dita molhável. Ângulos superiores a 90° indicam que a

superfície possui caráter hidrofóbico e baixa molhabilidade (KWOK; LI; NEUMANN, 1994; FAN et al., 2017).

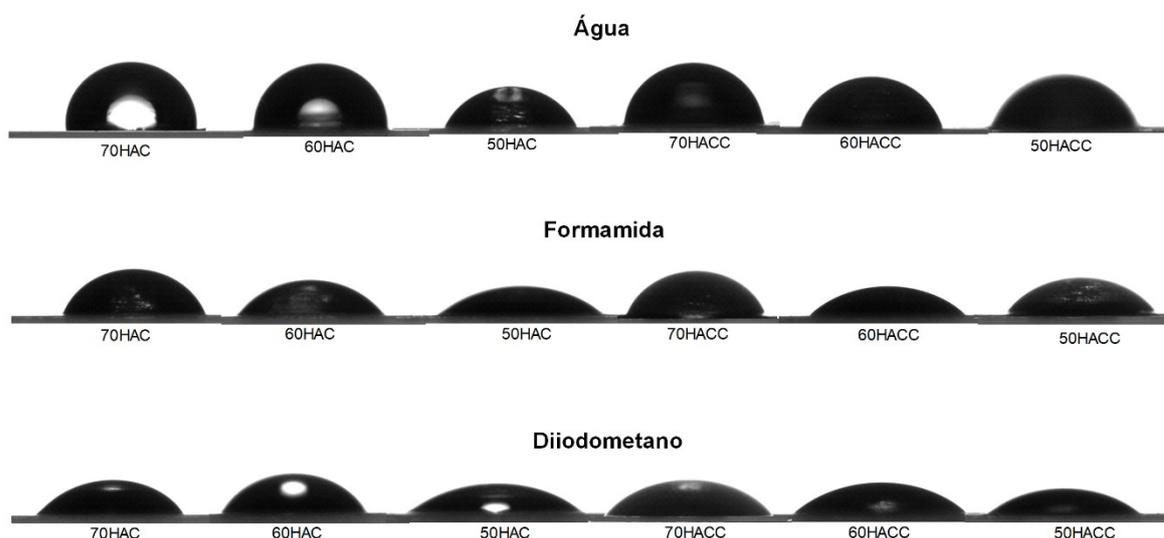
Figura 38. Formas e ângulo de contato de gotas de solvente em uma superfície sólida.



Fonte: Adaptado de Krawczyk (2015) (KRAWCZYK, 2015).

Diversos curativos e demais dispositivos tópicos dependem das suas características superficiais (VENKATRAMAN; GALE, 1998; BARRY, 2002). Além da molhabilidade, através da determinação do CA das amostras em solventes com polaridades distintas, é possível estimar a energia superficial do material. O conceito de energia de superfície foi desenvolvido por Gibbs e pode ser definida como o trabalho necessário para aumentar a superfície em uma unidade de área por um processo isotérmico e reversível (SHAW, 1981; SÁNCHEZ et al., 2014). De modo a determinar o ângulo de contato em diferentes solventes (água, formamida e diiodometano), as fotografias da gota sob a superfície das membranas foram apresentadas na Figura 39. Os valores e os respectivos desvios do ângulo de contato das membranas estão contidos na Tabela 14.

Figura 39. Fotografias digitais das gotas adquiridas durante os ensaios de ângulo de contato das membranas de composição 70HAC, 60HAC, 50HAC, 70HACC, 60HACC e 50HACC utilizando água (pH ~7,0), formamida e diiodometano como solvente.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela 14. Ângulo de contato ($^{\circ}$) e seus respectivos desvios das membranas utilizando diferentes solventes (água, formamida e diiodometano).

Amostra (n=3)	Ângulo de contato ($^{\circ}$)		
	Água	Formamida	Diiodometano
70HAC	87,0 \pm 0,8 ^a	70,3 \pm 0,9	53,0 \pm 4,7 ^e
60HAC	92,7 \pm 0,7	53,8 \pm 0,2 ^c	60,9 \pm 0,9 ^e
50HAC	66,8 \pm 0,3	40,6 \pm 0,2 ^c	41,0 \pm 2,8 ^e
70HACC	84,6 \pm 1,2 ^a	53,2 \pm 0,1	51,7 \pm 0,3 ^e
60HACC	74,4 \pm 0,3 ^b	44,0 \pm 0,2 ^d	44,3 \pm 1
50HACC	72,3 \pm 0,9 ^b	41,4 \pm 2 ^d	40,2 \pm 1,2

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O ângulo de contato determinado através da Figura 39 e apresentado na

Tabela 14 apresentou valores significativamente diferentes (ver apêndice F). Observa-se que a molhabilidade (em água) da amostra 70HACC não apresentou diferença significativa ($t < t_{crit}$) com a adição da CUR. A amostra 60HAC exibiu uma diminuição do ângulo de contato após a incorporação de CUR (60HACC). Por outro lado, a 50HACC apresentou molhabilidade em água estatisticamente superior ($t > t_{crit}$) as das amostras sem CUR (50HAC) (BARBOSA et al., 2022). O ângulo de contato das formulações em diiodometano também

ilustram a mudança na hidrofobicidade das amostras 60HACC e 50HACC. As formulações 60HACC e 50HACC apresentaram redução significativa no CA com o componente de baixa polaridade (diiodometano). Estes resultados indicam que, apesar de intuitivamente contraditórios, as amostras 60HACC e 50HACC apresentam redução na molhabilidade em água (polar) e no diiodometano (apolar). Apesar de incomum, essa redução concomitante pode estar associada a uma mudança na energia de superfície das membranas (OWENS; WENDT, 1969; EXTRAND, 2002). Para investigar como as proporções entre os polímeros e a CUR afetam as componentes polar, apolar e total, estes parâmetros foram determinados pelo método de Fowkes. Os valores das componentes superficiais (polar, apolar) e a total são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Valores das componentes de energia livre de superfície polar (γ^p_s), dispersiva (γ^d_s), total (γ_s) das membranas sólidas e coeficiente de correlação.

Amostra (n=3)	γ^p_s (mJ m ⁻²)	γ^d_s (mJ m ⁻²)	γ_s (mJ m ⁻²)	Coefficiente de correlação
70HAC	57,1±0,41	0,808±0,5 ^a	57,9±0,9 ^d	0,998
60HAC	19,2±3,5	0,0376±3,4 ^{a,b}	19,3±6,9 ^c	0,783
50HAC	6,88±0,2	3,00±0,2 ^b	9,88±0,4 ^c	0,996
70HACC	33,7±2,2	17,4±1,5	51,1±3,7 ^d	0,936
60HACC	14,4±1,3	40,1±1,2	54,4±2,5 ^d	0,948
50HACC	0,227±0,15	0,618±0,2 ^a	0,845±0,3	0,952

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Através dos valores apresentados na Tabela 15 foi possível verificar a influência da proporção entre os polímeros e da adição da CUR nas componentes da energia de superfície. A componente polar (γ^p_s) apresentou valores significativamente distintos entre si (ver Apêndice G). As proporções entre o HPMCAS e a κ -CAR causaram uma diminuição na γ^p_s conforme a proporção de κ -CAR aumentava no sistema. Por outro lado, a adição da CUR também promoveu a diminuição da componente polar (KWOK; LI; NEUMANN, 1994; SÁNCHEZ et al., 2014).

A componente dispersiva (γ^d_s) das formulações 70HAC e 60HAC não apresentam diferença significativa. Apesar disso, percebeu-se que a similaridade estatística não é mantida quando a CUR é adicionada na blenda. Na amostra 50HACC observa-se um decréscimo na componente dispersiva, provavelmente associada a solubilização da CUR por ambos os polímeros contidos na matriz. Apesar das amostras 70HAC e 60HAC terem componentes

dispersivas estatisticamente semelhantes, a adição da CUR afetou a blenda. Em ambas as blendas contendo CUR, 70HACC e 60HACC verificou-se um incremento na componente dispersiva, característica da molécula hidrofóbica que foi adicionada (KWOK; LI; NEUMANN, 1994; ENUMO et al., 2020). A energia de superfície total (γ_s) não apresentou variação com a adição de CUR na amostra 70HAC e 70HACC. Já a amostra 60HAC apresentou-se inferior a amostra 60HACC, indicando que a CUR, nesta formulação, aumentou consideravelmente a energia superficial da membrana. Em magnitude, as formulações 70HACC e 60HACC não apresentaram γ_s diferentes. Por outro lado, a membrana 50HAC e 50HACC apresentou uma significativa redução na energia superficial total.

De maneira geral, é possível avaliar a adesividade de uma membrana em um substrato através da energia superficial associada (γ_s). Alguns autores estimam que a energia superficial da pele varia de 38 a 56 mJ m⁻² (VENKATRAMAN; GALE, 1998; KRAWCZYK, 2015; TRAVASSOS, 2016). Normalmente, bons adesivos apresentam energia superficial igual ou inferior ao do substrato (FERREIRA et al., 2007; TRAVASSOS, 2016). Por meio dos dados apresentados na Tabela 15 constata-se que praticamente todas as membranas produzidas contendo CUR apresentam energia superficial adequada para a aplicação tópica. Devido aos valores significativamente menores de γ_s , espera-se que a membrana 50HACC apresente maior adesividade à superfície da pele promovendo uma maior atividade em aplicações tópicas (FERREIRA et al., 2007; KRAWCZYK, 2015).

No trabalho de Ferreira *et al.* (2007) foram desenvolvidos bioadesivos cirúrgicos (FERREIRA et al., 2007). Para avaliar a compatibilidade com a pele foi estimado a energia superficial pelo método de Fowkes (FOWKES, 1964; SÁNCHEZ et al., 2014). A energia superficial calculada para a o bioadesivo apresentou valores inferiores a energia superficial da pele e do sangue. Os autores concluíram que as forças adesivas superaram as coesivas promovendo interações intermoleculares entre o adesivo e a superfície da pele (VENKATRAMAN; GALE, 1998; FERREIRA et al., 2007; TRAVASSOS, 2016). Essas forças foram representadas através da energia livre de superfície.

A energia livre de superfície é um retrato quantitativo que representa quanto de energia o sistema precisa para romper as ligações inter/intramoleculares para que uma superfície seja criada (POSSART; KAMUSEWITZ, 1993). Assim, é possível investigar a facilidade ou a dificuldade de uma superfície sólida em aderir em outra. No caso de tratamentos cutâneos, é importante que um dispositivo apresente uma baixa energia livre de

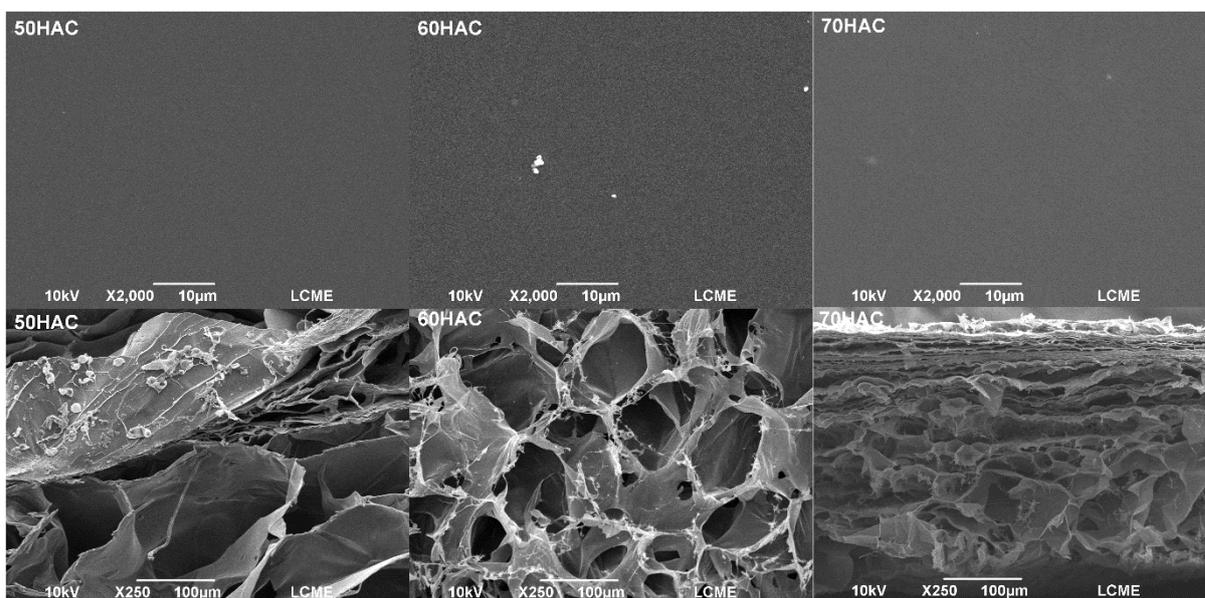
superfície e alta adesão. Essas características favorecem a aderência do dispositivo na pele e a migração do fármaco para a superfície (FOWKES, 1964; OWENS; WENDT, 1969; SPELT; SMITH; NEUMANN, 1987; EXTRAND, 2002).

A adesão possui pelo menos quatro teorias principais. Cada uma delas leva em consideração um aspecto da superfície em específico como rugosidade, adsorção, efeitos elétricos e difusão (VENKATRAMAN; GALE, 1998; DA SILVA; OCHSNER; ADAMS, 2018; BABADI et al., 2022). Para investigar a morfologia das membranas, tanto secas quanto intumescidas, foram realizadas fotografias através da microscopia eletrônica de varredura (SEM).

3.10 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)

A morfologia da superfície e da seção transversal das membranas foi avaliada por SEM. Na Figura 40 estão contidas as imagens da superfície e fratura das amostras controle (sem CUR).

Figura 40. SEM da superfície e fratura das membranas 50HAC, 60HAC, 70HAC congelados e liofilizados (abaixo). A escala da superfície indica 10 μm e da fratura 100 μm .

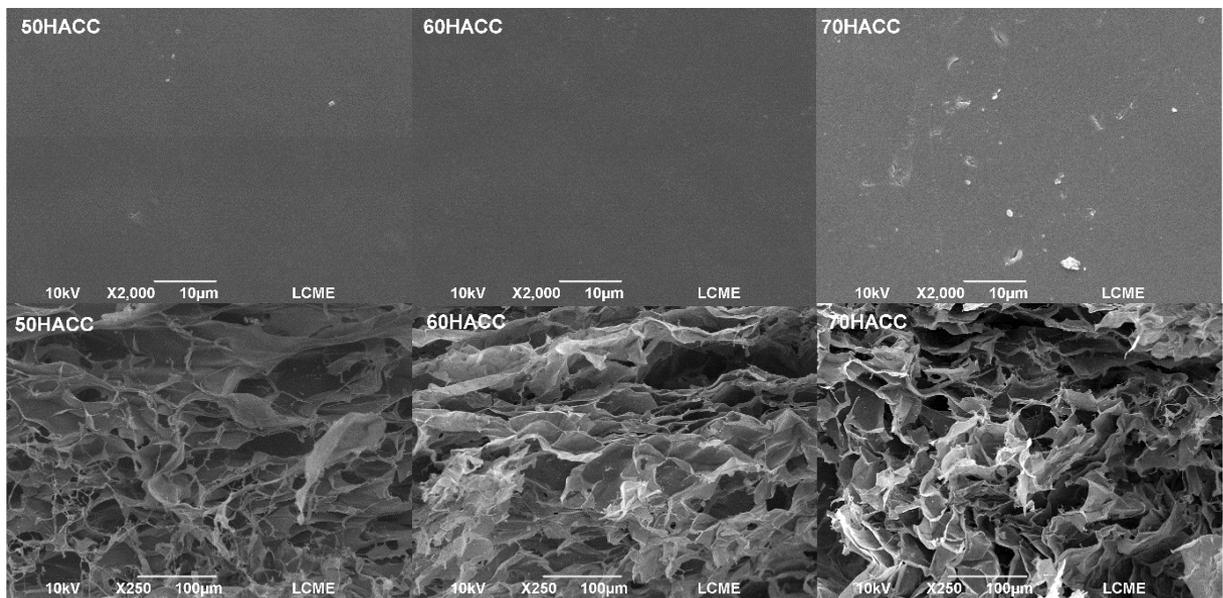


Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O pH de intumescimento foi escolhido por se aproximar de uma pele doente ($\sim 7,4$) e ser o pH utilizado em ensaios de liberação e permeação cutânea (ROY et al., 2017; ENUMO et al., 2020).

A superfície das membranas controle apresentam aspecto liso sem a presença de defeitos. Por outro lado, a seção transversal apresentou estrutura porosa e irregular. As imagens da superfície demonstram a homogeneidade da membrana. Tal homogeneidade demonstrada mediante a ausência de domínios heterogêneos na superfície. As fraturas exibem perfil irregular e porosa onde é possível observar a presença de micro canais típicos de matrizes poliméricas de κ -CAR (KARA et al., 2003; FARHAN; HANI, 2017; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018). A estrutura interna porosa das membranas se forma pelas às interações entre os polímeros que exibem canais que intumescem na presença de água. Conforme se aumenta a quantidade de κ -CAR, maior são as rugosidades, característico de sistemas contendo polissacarídeos sulfatados (VOLOD'KO et al., 2016; DE ALCÂNTARA et al., 2020). As imagens de SEM da superfície e fratura das membranas contendo CUR estão apresentadas na Figura 41.

Figura 41. SEM da superfície e fratura das membranas 50HACC, 60HACC e 70HACC congelados e liofilizados (abaixo). A escala da superfície indica 10 μm e da fratura 100 μm .



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Como verificado na Figura 41, constata-se a homogeneidade das membranas mesmo na presença de CUR. É possível visualizar a presença de cristais nanométricos na superfície sendo referente a pequena parcela da CUR não solubilizada na matriz. O perfil esponjoso das fraturas se manteve mesmo na presença da CUR. A estrutura porosa pode favorecer a solubilização da matriz pelo intumescimento seguido da erosão (WAISCZIK, 2020).

No estudo realizado por Khaliq *et al.* (2022) foi desenvolvido um hidrogel de quitosana e κ -carragena visando o tratamento de infecções oriundas do diabetes (KHALIQ *et al.*, 2022). A estrutura do hidrogel seco avaliado por SEM exibiu uma estrutura porosa e tridimensional. A estrutura rugosa foi atribuída a incorporação da κ -CAR e exibiu poros micrométricos devido a formação do complexo polieletrólítico (MACIEL *et al.*, 2005; HU *et al.*, 2018; KHALIQ *et al.*, 2022). Além da interação iônica, ligações de hidrogênio também são formadas em sistemas contendo a κ -CAR o que confere a estrutura uma matriz fibrosa. Em virtude dessas interações iônicas e de hidrogênio, uma forte rede entrelaçada é formada entre as cadeias, resultando na formação de membranas resistentes (HISHAM *et al.*, 2015; ALI; AHMED, 2018; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; KHALIQ *et al.*, 2022; POSTOLOVIĆ *et al.*, 2022).

No trabalho desenvolvido por Nerurkar *et al.* (2005) foi avaliada formulações utilizando derivados celulósicos e carragenas (NERURKAR *et al.*, 2005). Verificou-se por SEM que a fratura das membranas formou uma estrutura denominada de “favo de mel”. Essa matriz altamente porosa proporciona que o fármaco se difunda do núcleo para a superfície (PIYAKULAWAT *et al.*, 2007; YEGAPPAN *et al.*, 2018; KHALIQ *et al.*, 2022). O aspecto majoritariamente liso da superfície e a estrutura interna porosa pode auxiliar a prever o mecanismo de liberação do fármaco. Uma vez que, a camada de gel sofre erosão superficial, é possível que a rede porosa interna seja exposta após a dissolução da película externa (NERURKAR *et al.*, 2005; PIYAKULAWAT *et al.*, 2007; DE ALCÂNTARA *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Através dos dados obtidos no Capítulo III foi verificado que a blenda formada entre o HPMCAS e a κ -CAR exibe boas propriedades para a incorporação da CUR. As amostras apresentaram que nas condições produzidas a CUR está dispersa de forma homogênea. Por meio da PLOM e XRD foi observado que a membrana apresenta características majoritariamente amorfas. Espectros de FTIR apontam que as interações entre os polímeros ocorrem principalmente mediante ligações de hidrogênio. Pelo TGA foi caracterizado o perfil de degradação térmica das membranas. As análises de DSC permitiram verificar o efeito da blenda e da CUR na T_g do HPMCAS. Os diferentes comportamentos foram avaliados através da T_g e de maneira indireta pela determinação da energia de ativação de degradação da κ -CAR. As alterações na E_a de degradação da κ -CAR estão possivelmente associados a interação do polissacarídeo com a CUR. As diferentes proporções e a interação binária afetaram as propriedades associadas a mobilidade molecular e o volume livre do HPMCAS.

A análise mecânica de rampa de temperatura no DMA nos forneceram informações acerca de eventos que alteram as propriedades mecânicas com a temperatura. Foi observado um aumento no módulo de armazenamento com a adição de CUR em todas as amostras. Esse aumento foi atribuído tanto a CUR quanto a presença de água na matriz. Através das curvas de $\tan \delta$ foi caracterizado os eventos que causam mudança no módulo elástico e viscoso.

Os dados de tensão vs deformação foram estudados à 37 °C e o módulo secante foi calculado. Foi constatado que na formulação 70HAC e 70HACC não houve variação no módulo secante com a adição de CUR. Por outro lado, na formulação 50HAC e 50HACC teve um aumento no módulo secante com a adição da CUR corroborando com os valores de T_g determinados por DSC. Já a membrana 60HAC e 60HACC exibiram uma diminuição no módulo secante com a adição de CUR constatando a plastificação caracterizada pela diminuição da T_g no DSC. O início da curva em regiões de deformação negativa foi justificado pela saída da água das membranas. A evaporação da água foi observada, mediante da inspeção visual das membranas, após serem retiradas da atmosfera de 58%. Conforme o % (m/m) de κ -CAR aumenta, maior foi a retenção dessas moléculas de água na matriz. A alta absorção de água da κ -CAR é uma característica inerente do polissacarídeo sulfatado que, principalmente na forma de gel, tende a absorver grandes quantidades de água.

O ângulo de contato foi realizado de modo a avaliar a molhabilidade das membranas. A utilização de três diferentes solventes permitiu o cálculo das componentes polares, dispersivas e total da energia superficial. A energia de superfície total (γ_t) não apresentou variação com a adição de CUR na amostra 70HAC e 70HACC. Já a amostra 60HAC se apresentou superior a amostra 60HACC, indicando que a CUR, nesta formulação, aumentou consideravelmente a energia superficial da membrana. Em magnitude, as formulações 70HACC e 60HACC não apresentaram γ_t diferentes. Por outro lado, a membrana 50HAC e 50HACC apresentou uma significativa redução na magnitude da energia superficial. Os resultados indicaram que as três formulações contendo CUR apresentam energia superficial inferior a da pele e podem ser aderidos na superfície, especialmente a 50HACC.

A morfologia da superfície e da fratura das membranas foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura (SEM). As membranas sem CUR apresentaram superfície lisa, já a fratura apresentou estrutura porosa e irregular com a presença de canais micrométricos. As membranas contendo CUR apresentaram cristais nanométricos na superfície exibindo uma estrutura porosa de caráter esponjoso.

Através deste Capítulo III foi avaliado a capacidade de solubilização da CUR nas membranas produzidas e as suas características ópticas, térmicas, mecânicas e morfológicas. As membranas exibiram um perfil majoritariamente amorfo com propriedades térmicas e mecânicas dependentes da composição. A morfologia exibiu uma superfície lisa e uma estrutura interna porosa que pode contribuir para a adesão e liberação da CUR topicamente. Estudos voltados a aplicação destas membranas em ensaios biológicos *in vitro* e *ex vivo* visando a aplicação tópica serão descritas no capítulo a seguir.

CAPÍTULO IV

Aplicação das membranas em ensaios *in vitro* e *ex vivo*

1 INTRODUÇÃO TEÓRICA

A aplicação biológica de matrizes poliméricas é amplamente estudada. Trata-se de terapias alternativas que visam melhorar e inserir produtos no mercado. Buscando aperfeiçoar a eficácia de fitofármacos no tratamento tópico do melanoma, matrizes poliméricas se tornaram atraentes (MIRZAEI et al., 2016; FRANÇA et al., 2022a). As vias de administração de medicamentos devem ser escolhidas de acordo com a maior efetividade. A via de administração está diretamente relacionada a biodisponibilidade do fármaco no organismo e é um dos parâmetros a serem levados em consideração quando um novo medicamento é produzido (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; ROY et al., 2017; BEGUM et al., 2019; FRANÇA et al., 2022a).

A administração tópica de fármacos ocorre por meio da aplicação do medicamento através da mucosa ou da pele (PROW et al., 2011). A via tópica é um dos principais meios de tratamento onde as formulações são colocadas diretamente na superfície da pele. Refere-se a um meio que apresenta como principais vantagens a facilidade de aplicação, não invasivo e evita efeitos de primeira passagem (fluxo gástrico) (DA SILVA et al., 2010; BEGUM et al., 2019). Fármacos de baixa permeabilidade e solubilidade, como a CUR, apresentam problemas na via de tópica (ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020). Neste sentido, a utilização de matrizes biocompatíveis e biodegradáveis se torna uma opção interessante para a administração da CUR. (WANG et al., 2017b; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020). Dentre as características principais para uma matriz carrear um fármaco pela via tópica estão o aumento da biodisponibilidade, inibição de micro-organismos e atividade antioxidante (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; YI et al., 2016; YUN; LEE, 2016; ZHANG et al., 2019; JUNIOR, 2020).

Visando as propriedades descritas, o presente Capítulo IV estuda a aplicação das membranas em ensaios *in vitro* e *ex vivo* visando a viabilidade da aplicação no tratamento tópico do melanoma (GUNES et al., 2016; JUNIOR, 2020). As membranas foram submetidas aos ensaios de liberação em tampão biológico simulado (PBS, pH 7,4) para obter o perfil cinético. O ensaio de permeabilidade em pele permitiu avaliar mudanças na penetração cutânea da CUR. A atividade microbiológica foi realizada contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), cepas Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente. A atividade antioxidante das amostras contendo CUR foi estudada utilizando o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•) como radical livre.

2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS

O Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose ((HPMCAS, $M_w \sim 47694 \text{ g mol}^{-1}$) da empresa - Aquasolve® foi adquirida por doação do Laboratório de Controle de Qualidade (CCSUFSC). A Kappa-carragena (κ -CAR, $M_v \sim 269700 \text{ g mol}^{-1}$) e a Curcumina (CUR) (contendo $> 65\%$ de curcumina e $< 35\%$ de demetóxi e bisdemetóxicurcumina) foram obtidas da Sigma Aldrich. Cloreto de potássio, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, etanol e propileno glicol (PG) foram comprados da NEON. Meio de congelamento de tecidos (TissueTec) foi obtido da Leica. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), obtidas da Microbiologics®. Os demais reagentes e solventes empregados no desenvolvimento deste trabalho são de grau analítico e utilizados sem purificação prévia. Água deionizada foi utilizada durante todo trabalho.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Liberação em meio biológico simulado

A liberação *in vitro* da CUR contida nas membranas foi realizada em tampão fosfato com pH simulado 7,4. A amostra com um diâmetro previamente medido (2,5 cm) foi colocada em um Erlenmeyer contendo 25,0 mL da solução tampão termostatizada a $37,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho Dubnoff e mantida sob agitação constante. Alíquotas de 500 μL foram retiradas da solução em tempos pré-determinados, transferidos para tubos e adicionado 500 μL de EtOH para garantir a estabilidade da CUR em solução. As amostras foram quantificadas por fluorescência utilizando a curva de calibração adequada (Apêndice B). Este experimento foi conduzido em duplicata (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020). Os pontos experimentais foram ajustados aos seguintes modelos cinéticos: ordem zero (Equação (16)), primeira ordem (Equação (17)), Higuchi (Equação (18)), Korsmeyer-Peppas (Equação (19)) e Peppas-Sahlin (Equação (20)), usando o programa Excel contendo o suplemento DDSolver.

$$F_t = k_0 \cdot t \quad (16)$$

$$F_t = F_{max}(1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (17)$$

$$F_t = k_H \cdot t^{0,5} \quad (18)$$

$$F_t = k_{KP} \cdot t^n \quad (19)$$

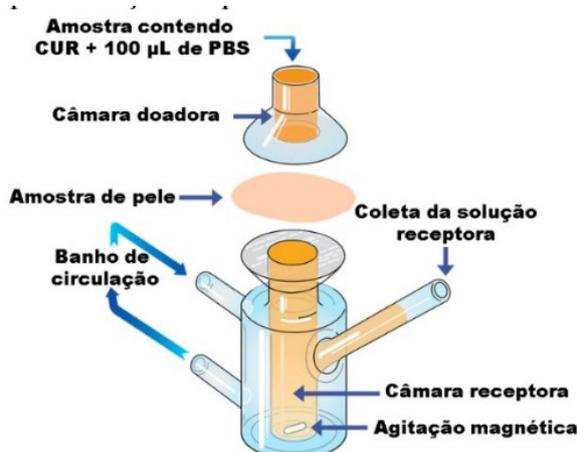
$$F_t = k_1 \cdot t^m + k_2 \cdot t^{2m} \quad (20)$$

onde F_t é a fração do composto liberado no tempo t ; k_0 , k_1 , k_2 , k_H e k_{KP} são as constantes de liberação de cada modelo cinético; F_{\max} está relacionado à fração máxima liberada e os expoentes n e m são parâmetros relacionados com o mecanismo de liberação proposto por Korsmeyer-Peppas e Peppas-Sahlin, respectivamente (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; ESHRA et al., 2017; ENUMO et al., 2020).

2.2.2 Permeação *ex vivo* da CUR a partir das diferentes membranas

A permeação *ex vivo* foi realizada no Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia do Departamento de Farmácia da UFSC. A pele abdominal humana foi obtida através de doação espontânea e anônima de pacientes de Florianópolis. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade (número CAE: 87349418.7.0000.0121). As amostras de pele foram colocadas entre as duas câmaras de vidro da célula de difusão de Franz (Figura 42).

Figura 42. Representação esquemática da célula de difusão de Franz.



Fonte: Adaptada de Patel *et al.* (2016) (PATEL; AUNDHIA; SHAH, 2016)

Solução tampão PBS de pH igual a 7,4 contendo 30% (v/v) de EtOH foi utilizada como fluido receptor a fim de manter a condição *sink* durante o experimento. A condição *sink* é definida como sendo no mínimo três vezes o volume de meio necessário para se obter uma solução saturada do fármaco. 1,0 mL de solução de CUR (1,2 mg mL⁻¹) em propileno glicol (PG) recém preparada foi usada como controle positivo. A solução controle e as membranas

contendo CUR foram acomodadas em cima do estrato córneo da pele em cada câmara doadora. 100 µL de uma solução tampão de PBS foi depositada na superfície de cada amostra a fim de pré-intumescer as membranas. Em intervalos fixos de 1 h durante 7 h, alíquotas de 100 µL foram retiradas da câmara receptora, sendo repostas com solução do meio acceptor e quantificada por fluorescência utilizando uma curva de calibração adequada (ver Apêndice I e J) (ENUMO et al., 2020; JUNIOR, 2020).

2.2.3 Morfologia das membranas após ensaio de permeação cutânea por microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As análises foram realizadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (SEM) da marca JEOL, modelo JSM- 6390LV aplicando uma voltagem de aceleração de 10 kV. Devido à baixa condutividade elétrica dos materiais as amostras foram recobertas com uma camada delgada de ouro utilizando um aparelho metalizador. Após o experimento de permeação as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas para manter as características do material o mais íntegro possível (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) através do método de microdiluição

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade do Departamento de Farmácia da UFSC.

2.2.4.1 Reativação das cepas

Foram empregadas cepas-padrão dos micro-organismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), obtidas da Microbiologics® (Minnessota, USA). As culturas bacterianas mantidas em estoque foram repicadas para placas de Petri contendo ágar tripton de soja (TSA) (para *S. aureus*) ou ágar cetrimida (para *P. aeruginosa*) e incubadas durante 24 h a 37 °C, para verificar a pureza e a viabilidade dos micro-organismos. Posteriormente, uma colônia de cada meio foi transferida para o caldo Müller- Hinton (MH) e incubado durante 24 h a 37 °C. A concentração de cada inóculo foi ajustada com salina estéril, utilizando como base o tubo 0,5 da escala de Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. 1,0 mL da suspensão bacteriana foi transferida para tubo de ensaio e adicionado 9,0 mL de salina estéril, resultando em uma suspensão com

aproximadamente $1,5 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, a qual foi empregada nos ensaios (JUNIOR, 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.4.2 Ensaio de microdiluição

Para determinação da MIC, pesou-se 1,0 g de cada amostra de gel à base de HPMCAS/ κ -CAR/CUR e adicionou-se 10,0 mL de salina estéril, obtendo-se uma solução na concentração de 100 mg mL⁻¹. A partir desta, foram preparadas diluições seriadas, nos próprios poços da placa de microdiluição, nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 e 1,56 mg mL⁻¹, em duplicata. Em cada poço da microplaca, foi adicionado 100 μ L de cada diluição, 80 μ L de caldo MH e 20 μ L da suspensão do micro-organismo. O controle estéril do meio de cultivo e do diluente foi conduzido em cada ensaio, assim como o controle de crescimento bacteriano e de ausência de contaminação nas amostras (diluições). As microplacas foram incubadas por 24 h à 37 °C e o crescimento bacteriano foi evidenciado através da turbidez e pela mudança de coloração devido a adição de 20 μ L de solução aquosa de cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio a 0,5% (m/v) com incubação adicional de 2 h, à mesma temperatura. Poços com crescimento celular adquirem a coloração rosa, enquanto os poços sem crescimento permanecem incolores. A MIC foi determinada como a menor concentração da diluição da amostra que inibiu o crescimento microbiano (ENUMO et al., 2020; WAISCZIK, 2020).

2.2.5 Atividade antioxidante

A atividade de eliminação de radicais DPPH foi determinada de acordo com Yi *et al.* (2016) com pequenas modificações. Uma alíquota (1,5 mL) de solução de DPPH 0,2 mM em EtOH foi adicionada a 1,5 mL de soluções de amostras em diferentes concentrações (50,0; 25,0; 12,5; 6,2 e 3,1 mg L⁻¹ de CUR). As misturas foram agitadas vigorosamente e mantidas em temperatura ambiente por 30 min, no escuro para proteção da luz. Em seguiu Yda, a absorção foi medida em 517 nm (espectrofotômetro UV-Vis Cary 50, Varian). O ácido ascórbico foi usado como controle positivo e o experimento foi realizado em triplicata (CARVALHO et al., 2015; YI et al., 2016). A porcentagem de atividade de eliminação de radicais DPPH foi calculada a partir da Equação (21).

$$\text{Atividade de eliminação (\%)} = 100 * \frac{[A_C - (A_S - A_B)]}{A_C} \quad (21)$$

Onde A_c representa a absorvância do controle, A_s a absorvância da amostra após a adição da solução de amostra, e A_b a absorvância da solução de amostra sozinha.

2.2.6 Análise estatística

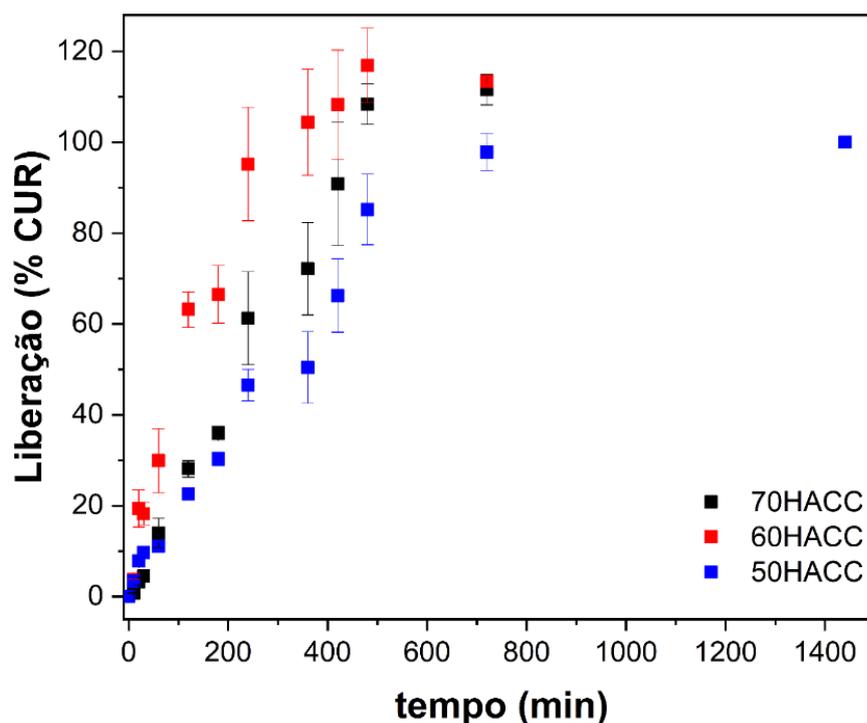
Os experimentos neste Capítulo IV foram realizados em triplicata (permeação em quadruplicata e liberação em duplicata) e os valores dos resultados obtidos expressos como média \pm desvio padrão (DP) ou desvio padrão relativo (DPR). A avaliação estatística por meio de testes de Análise de Variância one-way (ANOVA), Teste de Tukey e t de Student foi aplicada, sempre que possível, considerando um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$) (LAVRA, 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 LIBERAÇÃO *IN VITRO* DA CUR A PARTIR DAS MEMBRANAS

Sistemas poliméricos podem modificar o processo de liberação de um medicamento no organismo. Devido ao rápido intumescimento e desintegração da membrana não foi possível realizar a cinética de intumescimento no presente trabalho. Por outro lado, a liberação da CUR foi realizada podendo inferir sobre o processo de intumescimento da matriz mediante aos parâmetros cinéticos calculados. A cinética de liberação *in vitro* da CUR em tampão PBS 7,4 é apresentada na Figura 43.

Figura 43. Perfil de liberação da CUR a partir das diferentes formulações de membranas em tampão PBS (pH 7,4) à 37 °C.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

O pH foi escolhido por ser próximo a uma pele doente característica de feridas. A cinética de liberação apresentada na Figura 43 indica uma total liberação da CUR contida nas membranas após 10 h (600 min).

A total dissolução das membranas no meio *sink* proporcionou que toda CUR presente pudesse estar completamente dissolvida no meio. Na Tabela 16 estão apresentados os ajustes dos pontos experimentais de liberação da CUR para cinco diferentes equações cinéticas,

mostrando as constantes cinéticas (k), R^2 e os parâmetros extras que dependem de cada modelo.

Tabela 16. Modelos cinéticos e sua respectiva (s) constante (s) de ajuste e coeficiente de determinação (R^2).

Modelo cinético (n=2)		k_1	k_2	R^2	Parâmetro extra*
70HACC	Ordem zero	0,11±0,004		0,54	
	Primeira+F _{max} ¹	0,003±0,0004 ^a		0,96	113 ± 1,43
	Higuchi	3,27± 0,17		0,86	
	Korsmeyer-Peppas ²	0,51±0,02 ^b		0,94	0,82±0,03 ^d
	Peppas-Sahlin ³	3,74±0,62	-0,02 ±0,017	0,87	
60HACC	Ordem zero	0,13±0,01		-0,031	
	Primeira+F _{max} ¹	0,006±0,002 ^a		0,97	113,8 ± 9,41
	Higuchi	4,2±0,5		0,72	
	Korsmeyer-Peppas ²	1,9±0,07 ^c		0,93	0,7±0,03 ^d
	Peppas-Sahlin ³	7,2±1,8	-0,11±0,05	0,92	
50HACC	Ordem zero	0,09±0,0001		0,72	
	Primeira+F _{max} ¹	0,002±0,00005 ^a		0,96	112,2 ± 1,391
	Higuchi	2,8±0,001		0,92	
	Korsmeyer-Peppas ²	0,89 ±0,4 ^{b,c}		0,94	0,7±0,09 ^d
	Peppas-Sahlin ³	2,5±0,02	0,01±0,001	0,92	

*Parâmetro extra = ¹ F_{max}; ² n; ³ m.

* Valores médios com mesmas letras sobrescritas em uma determinada coluna não exibem diferença superior a 5% de significância, de acordo com o teste Tukey (ANOVA).

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Conforme mostra a Tabela 16, o mecanismo que melhor descreve ($> R^2$) a liberação da CUR em todos os sistemas é o modelo de Primeira ordem e de Korsmeyer-Peppas. No modelo de liberação de Primeira ordem, F_{máx} corresponde a fração máxima liberada em um tempo infinitamente grande. Percebe-se que os parâmetros do ajuste de primeira ordem não apresentaram mudança significativa com as diferentes proporções entre os polímeros. Trata-se de um mecanismo dependente da concentração, podendo descrever a dissolução de fármacos solúveis em uma matriz porosa.

Para o modelo de Korsmeyer-Peppas o expoente n está relacionado ao tipo de mecanismo de liberação (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; BREU; GUGGENBICHLER; WOLLMANN, 2008). Se $n = 0,5$ a liberação é governada pela difusão (modelo Fickiano), neste caso a taxa de transporte do solvente é muito maior que o processo de relaxação da cadeia polimérica. Quando $n = 1$ o modelo seguido é o não Fickiano, onde a taxa de liberação

corresponde a equação de ordem zero e o mecanismo de liberação é dirigido pelos processos de intumescimento e relaxação das cadeias poliméricas (SIEPMANN; LE BRUN; SIEPMANN, 2006; BARIK et al., 2017; SANCHES et al., 2020).

No presente trabalho, as formulações contendo CUR apresentaram um valor de n maior que 0,5 e inferior a 1. Quando $0,5 < n < 1$ e o mecanismo de liberação acontece com a sobreposição dos dois modelos anteriores, possuindo simultaneamente as etapas de difusão e intumescimento. O rearranjo das cadeias poliméricas, que ocorre lentamente, e o processo de difusão causam, simultaneamente, efeitos anômalos que dependem do tempo (SANCHES et al., 2020; POSTOLOVIĆ et al., 2022; REN et al., 2022). O comportamento vai ao encontro das estruturas observadas por SEM no Capítulo III (3.10). A estrutura porosa das membranas dificulta a difusão do fármaco para a solução criando uma dependência direta com o processo de intumescimento e relaxação das cadeias.

A constante de velocidade de liberação da CUR no modelo de Korsmeyer-Peppas para as membranas 50HACC, 60HACC e 70HACC foi de $0,89 \pm 0,4$, $1,9 \pm 0,07$, $0,51 \pm 0,02$, respectivamente. Identifica-se que a formulação 60HACC exibiu uma constante cinética superior a formulação 50HACC. Esse perfil pode estar associado a presença da CUR nessas vacâncias que, como discutidas por DSC, diminuem a T_g (ver Capítulo III). Essas vacâncias promovem um contato direto da CUR com o meio e favorece a migração do fármaco para a solução mais rapidamente. Esse comportamento é verificado pela alta constante de velocidade ($k_1 \sim 1,9$).

Através do perfil de liberação controlado constata-se que o sistema pode ser classificado como uma dispersão sólida de quarta geração. A quarta geração de dispersões sólidas, além de uma liberação controlada, exibe um processo de liberação em duas etapas: a difusão e a erosão. Portanto, a dispersão sólida de HPMCAS e κ -CAR é capaz de promover uma liberação adequada de CUR por um período prolongado, melhorando a adesão do paciente devido à administração menos frequente, diminuindo efeitos colaterais (DONG; CHOI, 2008; ALAM et al., 2012; HUANG; DAI, 2014; SKIBA et al., 2014; UEDA et al., 2014).

O perfil de liberação em pH 7,4 está de acordo com o observado por Siepmann *et al.* (2006). Acima do pKa do HPMCAS, a dissolução do polímero aumenta a velocidade com que o ativo migra para a solução (SIEPMANN et al., 2006). No estudo desenvolvido por Liu *et al.*

(2018), o autor observou que com o aumento da concentração de CUR no sistema, há um acréscimo também no percentual de liberação em membranas de κ -CAR (LIU et al., 2018). Esse comportamento pode ser atribuído a facilidade com que o gel de κ -CAR intumescer favorecendo a migração da CUR para a solução. Dessa forma, podemos separar o processo de liberação da membrana em três etapas: i) Intumescimento; ii) Difusão e iii) Erosão.

Em uma primeira etapa, a matriz absorve água e intumescer, após a hidratação do sistema, há liberação imediata do ativo que está na superfície. Em seguida, há o intumescimento/relaxamento das cadeias poliméricas com a contínua penetração de água. As camadas mais superficiais vão sofrer erosão e o fármaco é continuamente liberado até a completa dissolução da matriz. A erosão é resultado da redução das interações polímero-polímero onde as cadeias começam a se separar facilitando o transporte do fármaco para o meio. (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; SATHUVAN et al., 2017; POSTOLOVIĆ et al., 2022).

Para estudar como ocorre o transporte de massa da CUR na pele o ensaio de permeação cutânea *ex vivo* foi realizado.

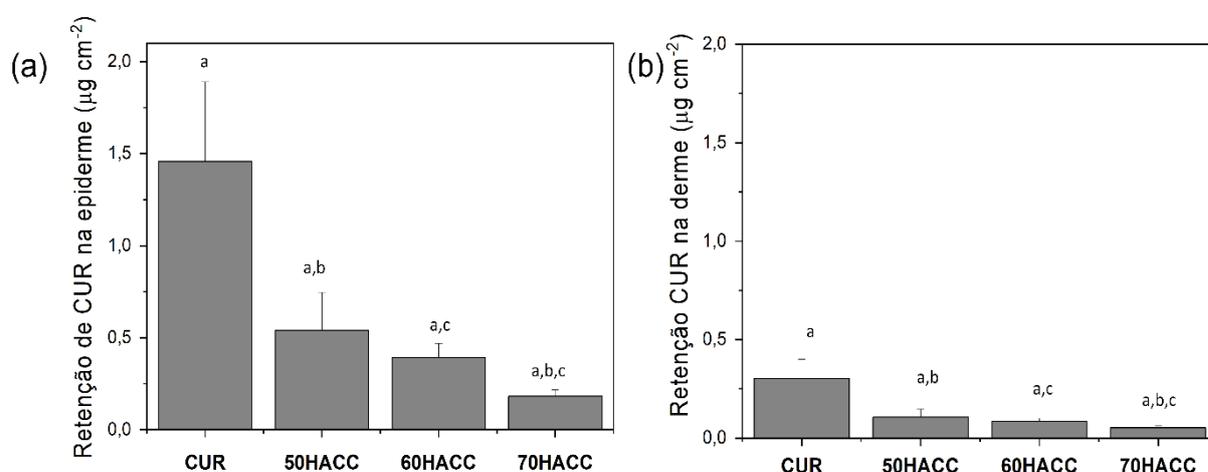
3.2 PERMEAÇÃO *EX VIVO* DA CUR EM PELE HUMANA

Fármacos aplicados pela via tópica precisam primeiro ser liberados e permear a pele para que ocorra a absorção. A liberação da CUR a partir de uma formulação farmacêutica é um pré-requisito para que ocorra a ação local. O tratamento tópico depende de um transporte da CUR através da pele, onde deve ser depositada majoritariamente na superfície. Com a CUR dissolvida na formulação, as moléculas em contato com a via penetram o tecido e tem um fluxo da superfície para as camadas mais profundas da pele (NASCIMENTO DA SILVA et al., 2019; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020).

Os experimentos de permeação *ex vivo* tiveram como objetivo verificar e quantificar a permeação da CUR em pele abdominal humana a partir das membranas a base de HPMCAS e κ -CAR formuladas. A baixa absorção da CUR pela pele e a baixa solubilidade deste composto em meio aquoso acabam limitando os ensaios de permeação com a CUR livre em solução fisiológica. Por esse motivo, solubilizadores farmacêuticos (PG e EtOH) foram empregados para manter a condição *sink* do sistema. A solução controle positivo utilizada foi em PG e o meio utilizado na câmara coletora foi uma mistura de tampão PBS/EtOH 70:30 com pH 7,4 (SUN; LEE, 2015; FRANÇA et al., 2022a). De modo a proporcionar um excesso

de CUR no sistema para a posterior quantificação as membranas foram carregadas com 10% (m/m) de CUR. Os gráficos de permeação da epiderme e derme estão apresentados na Figura 44.

Figura 44. Quantidade de CUR em área permeada ($\mu\text{g cm}^{-2}$) através da pele humana na epiderme (a) e derme (b) a partir da solução controle em PG:PBS 1:1 e das membranas a base de HPMCAS e κ -CAR após 8 h. Os valores são representados como média \pm DP ($n = 4$). *a* indica diferença significativa entre CUR e as membranas. *b* indica diferença entre 50HACC e 70HACC. *c* indicam diferença entre 60HACC e 70HACC.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A partir da Figura 44 constata-se que em todas as formulações a CUR é retida em uma quantidade significativamente maior na epiderme do que na derme. Apesar da derme ser uma camada da pele mais densa, a epiderme apresentou maiores quantidades de CUR depositada. Valores semelhantes de permeação cutânea foram obtidos por Enumo *et al.* (2020) (ENUMO *et al.*, 2020). Os valores de massa por área serem significativamente superior na epiderme ocorrem principalmente devido à baixa capacidade de difusão do fármaco entre as camadas epiteliais já reportada em estudos anteriores (NASCIMENTO DA SILVA *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019; ENUMO *et al.*, 2020). Ao avaliar o total permeado, a maior parte da CUR permaneceu retida na epiderme, como mostrado na Figura 44 (a). A afinidade da CUR pela epiderme em relação a derme (Figura 44 (b)) pode ser atribuído ao caráter lipofílico da molécula ($\log P \sim 3,2$). A alta interação com os constituintes lipídicos da pele reduz a taxa de difusão da CUR para a derme (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; ILANGO VAN *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019).

A retenção da CUR na epiderme para CUR livre, 50HACC, 60HACC e 70HACC foi de $1,46 \pm 0,43$, $0,542 \pm 0,2$, $0,391 \pm 0,08$ e $0,182 \pm 0,04$ $\mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente. Como observado na Figura 44 (b), a retenção da CUR na derme foi significativamente inferior a quantidade presente na epiderme. A retenção da CUR na derme para CUR livre, 50HACC, 60HACC e 70HACC foi de $0,302 \pm 0,01$, $0,105 \pm 0,04$, $0,0853 \pm 0,016$ e $0,0519 \pm 0,009$ $\mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente. Conforme os requisitos do guia n° 20 de qualidade necessários para o registro de produtos tópicos e transdérmico, o emprego de tecido humano propicia certa variabilidade aos resultados (LI et al., 2015; ANVISA, 2019; SUTERIO, 2021).

Por meio da Figura 44, constata-se que as quantidades permeadas das membranas apresentaram diferença significativa para a CUR livre. Este resultado está de acordo ao reportado por Enumo *et al.* (2020). A permeação da CUR livre ocorre devido à sua rápida difusão no tecido. Quando este composto é incorporado nas membranas, o inchaço e o relaxamento das cadeias poliméricas precisam ocorrer para que o fármaco seja difundido para a pele (BALASUBRAMANIAN; KIM; LEE, 2018; ZHANG et al., 2019; ENUMO et al., 2020; SUTERIO, 2021).

Devido à baixa quantidade de CUR que permeou a pele até a solução receptora, não foi possível a quantificação mesmo após 7 h de experimento. Deste modo, não foi possível apresentar os valores em porcentagem da CUR na solução receptora (ENUMO et al., 2020). No trabalho de Enumo *et al.* (2020), também não foi possível detectar a presença de CUR na solução receptora mesmo após 7 h de experimento e utilizando um LOQ de $5,9 \text{ ng mL}^{-1}$ (ENUMO et al., 2020).

Entre as membranas, a ANOVA e análise entre grupos Tukey-HSD demonstraram que estatisticamente a presença dos polímeros afetou a permeação cutânea ($p > 0,05$). Tanto na epiderme quanto na derme não se observou variação significativa entre as membranas 50HACC e 60HACC. Já a formulação 70HACC apresentou valores de permeação cutânea significativamente inferiores a 50HACC e 60HACC. Através destes dados de permeação é possível visualizar o efeito da proporção entre os polímeros. Assim, para a permeação cutânea, sistemas ricos em κ -CAR apresentaram-se mais promissores. Alguns estudos têm apresentado um mecanismo pelo qual os polímeros dentre outras estruturas podem reduzir a permeabilidade de compostos hidrofóbicos quando eles são aprisionados na forma de nanoagregados. Possivelmente, devido as características do HPMCAS descritas no Capítulo II, como a formação de estruturas agregadas, pode ter dificultado o transporte de massa da

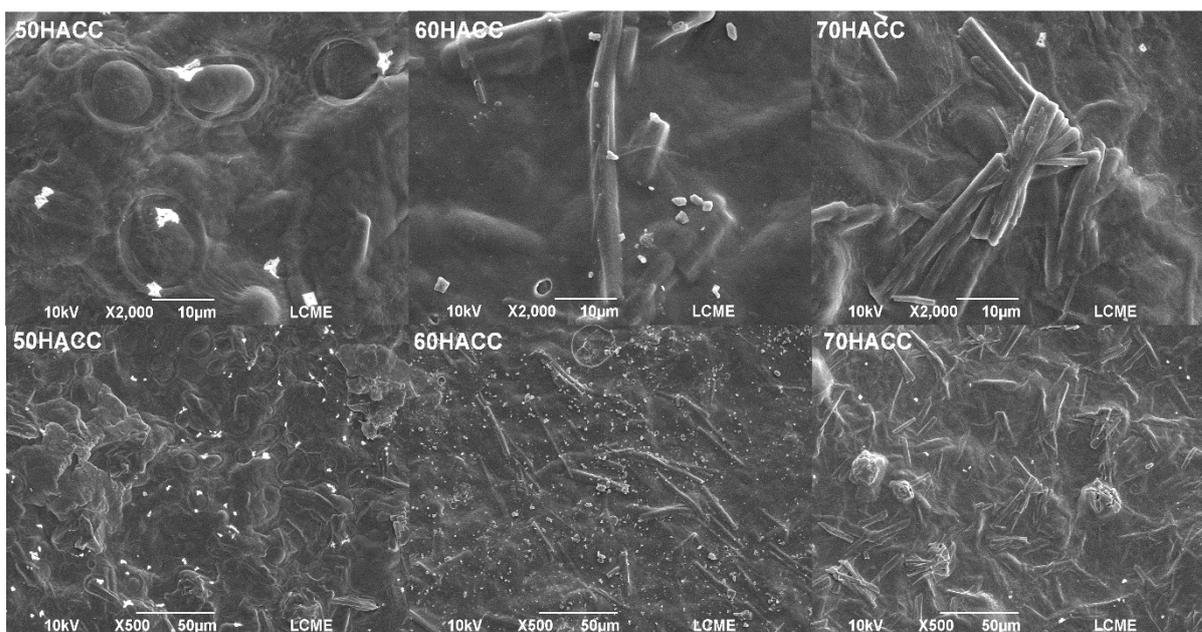
CUR na pele. Outra informação relevante é que o volume de PBS adicionado às membranas para uma etapa de pré-inchaço foi baixo (100 μL), o que representaria a quantidade de água disponível na pele, explicando uma taxa reduzida de liberação de CUR das membranas e posterior permeação (PRASAD; CHAUHAN; ATEF, 2014; SARODE et al., 2014a; ENUMO et al., 2020; BRISTOL; LAMM; LI, 2021).

Após o ensaio de permeação, percebeu-se uma boa aderência das membranas na pele. De modo avaliar a superfície das membranas que ficou em contato com a pele foi avaliado a morfologia por SEM.

3.3 MORFOLOGIA DAS MEMBRANAS APÓS ENSAIO DE PERMEÇÃO CUTÂNEA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)

Após os experimentos de permeação cutânea *ex vivo*, as membranas foram congeladas e liofilizadas e a superfície que ficou em contato com a pele foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SEM). A morfologia superficial das membranas a base de HPMCAS, κ -CAR e CUR após o contato com a pele foram avaliadas por SEM. As imagens da superfície após o contato com a pele estão apresentadas na Figura 45.

Figura 45. SEM da superfície das membranas 50HACC, 60HACC e 70HACC que ficaram em contato com a pele após o ensaio de permeação cutânea na escala de 10 e 50 μm .

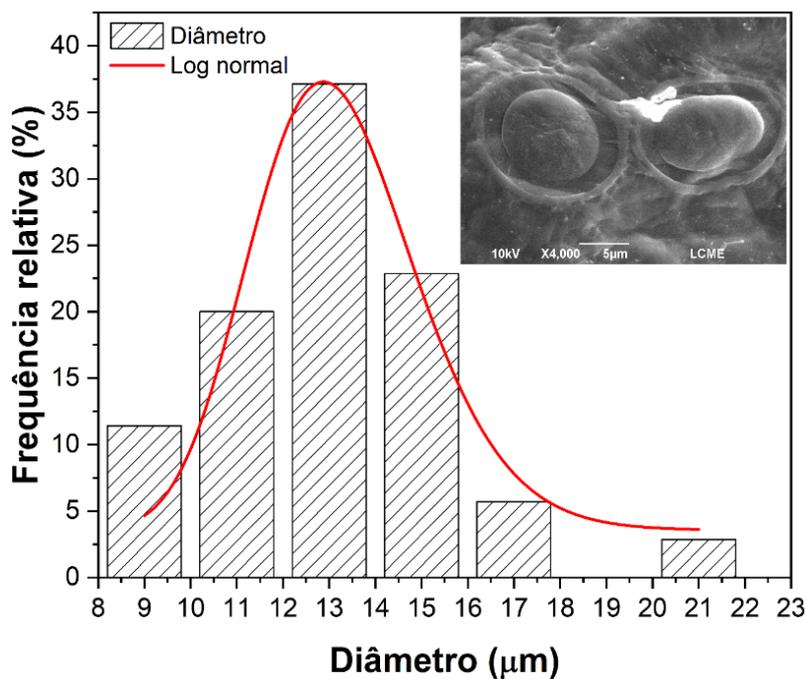


Fonte: A autora deste trabalho (2022).

As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostram que as morfologias das membranas sofrem alterações consideráveis quando em contato com a pele. Devido a quantidade de CUR em excesso para a realização do estudo, observa-se uma superfície heterogênea com cristais de CUR dispersos na matriz. Esta diferença na morfologia da superfície se dá devido a concentração de CUR que está acima do limite solúvel. Apesar das membranas acabarem se dissolvendo na liberação *in vitro*, destaca-se que as membranas contendo 10% de CUR não apresentaram deterioração visível. Este resultado é um dos indicativos que acima de 5%, a CUR ultrapassa a solubilidade máxima da matriz e permanece cristalina e insolúvel (WICAKSONO; SETYAWAN, 2018).

Através das imagens de SEM identificou-se sulcos na superfície da membrana 50HACC. Sugere-se que essas marcas de circulares ou sulcos sejam advindas dos poros abdominais, ou do folículo piloso da pele, principalmente, devido à alta aderência da 50HACC. Os diâmetros dos sulcos observados em toda a superfície da membrana 50HACC foram calculados pelo software ImageJ. A distribuição dos diâmetros (μm) estão apresentados na Figura 46.

Figura 46. Curva de distribuição log normal do diâmetro dos poros na membrana 50HACC pós permeação cutânea *ex vivo*.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Mediante o ajuste da equação, obtém-se o diâmetro mais provável de modo a calcular o diâmetro efetivo destes sulcos. Os valores de diâmetro mais provável e efetivo foram de 13,1 e 13,7 μm , respectivamente. Como discutido no CA (3.9), quanto menor a energia superficial de um material, maior será a adesividade. A alta adesão do material 50HACC foi observada no ensaio de permeação onde o material levemente intumescido deformou de acordo com a superfície em que esteve exposto (VENKATRAMAN; GALE, 1998; RIBEIRO et al., 2009). A alta adesividade e deformação mecânica corrobora com os dados de superfície (3.9) e mecânicos obtidos (ver item 3.8).

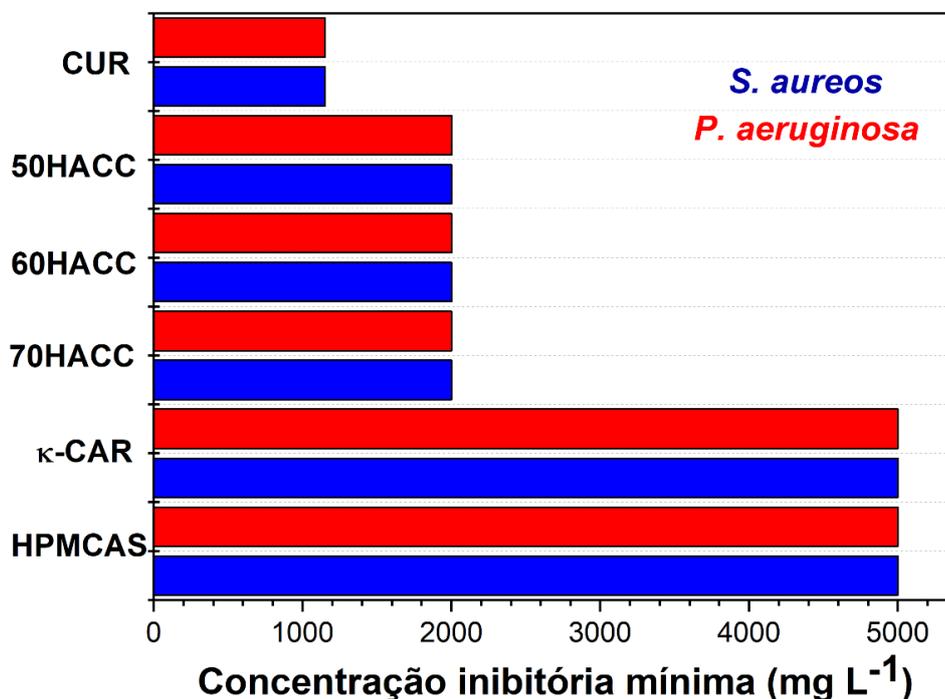
Assim, buscando avaliar a efetividade de um dispositivo cutâneo foi realizado ensaios microbiológicos. As propriedades antibactericidas contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas são interessantes pois auxiliam no processo de cicatrização atuando como um tratamento auxiliar.

3.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC) ATRAVÉS DO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO

A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) analisa a menor concentração de substância necessária para inibir o crescimento bacteriano. A MIC pode ser avaliada por diferentes métodos como difusão em ágar por poço, disco-difusão e métodos de macrodiluição e microdiluição. Para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de uma substância, tanto os métodos de difusão ou em diluições são utilizados (TANNO et al., 2004; GUNES et al., 2016; YUN; LEE, 2016; SUTERIO, 2021).

O método por microdiluição é um método base e mais utilizado para a determinação da MIC. A microdiluição utiliza uma pequena quantidade de amostra e possibilita a realização de análises simultâneas em uma mesma placa. As propriedades antibactericidas são desejadas pois podem auxiliar no processo de cicatrização de feridas de melanoma atuando como um tratamento auxiliar (ROWAN et al., 2015; KORRAPATI et al., 2016). No presente trabalho, os resultados envolvendo a determinação da MIC estão apresentados na Figura 47.

Figura 47. Concentração inibitória mínima (MIC) dos géis a base de HPMCAS e κ -CAR determinados *in vitro* pelo método de microdiluição.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Na Figura 47 ambos os polímeros: HPMCAS e κ -CAR utilizados como controle não exibiram atividade na faixa de concentração utilizada (>5000 mg L⁻¹). A presença da CUR foi significativa ($t > t_{crit}$) no aumento da atividade dos géis contra ambas as bactérias, apresentando uma MIC de 2000 mg L⁻¹ tanto para a Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* e a Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. A mudança na proporção entre os polímeros HPMCAS e κ -CAR não afetou a MIC da CUR nas condições por microdiluição. Os valores de MIC encontrados foram inferiores aos reportados por Enumo *et al.* (2020) e superiores aos descritos por Gunes *et al.* (2016) (GUNES *et al.*, 2016; ENUMO *et al.*, 2020).

Relata-se que a MIC das membranas foi superior ao obtida para a CUR livre. Esse comportamento pode estar relacionado a formação do gel que pode ter contribuído para o aprisionamento das moléculas de CUR na rede dificultando o acesso ao microrganismo (SUTERIO *et al.*, 2022). Não houve diferença entre as MIC das bactérias Gram-negativa *P. aeruginosa* e Gram-positiva *S. aureus*. Este pode ser um indicativo que a matriz polimérica pode estar facilitando a penetração da CUR na bactéria. Normalmente, estudos sobre a atividade bacteriana da CUR apresenta maior atividade em cepas Gram-positiva (+) (FUJISAWA *et al.*, 2004; BISWAS *et al.*, 2010; YUN; LEE, 2016). Isso porque nesta classe

de bactérias, a bicamada é contornada por peptídeos onde os ácidos teóico e lipoteicóico formam ligações covalentes. Já a Gram-negativa possui uma parede celular de mais difícil acesso pois há uma membrana extra lipídica (porinas, canais proteicos) que dificultam a difusão de moléculas lipofílicas pela membrana celular (BROWN et al., 2015; ENUMO et al., 2020).

Estudos realizados por Gunes *et al.* (2016) reportaram a atividade microbiológica da CUR para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (GUNES et al., 2016). Os autores relataram atividade antibactericida para todas as cepas utilizadas. Onde, para *P. aeruginosa* e *E. coli* foi determinado uma MIC de $175 \mu\text{g mL}^{-1}$ (175 mg L^{-1}) e $163 \mu\text{g mL}^{-1}$ (163 mg L^{-1}). Através dos resultados obtidos pelo trabalho de 2016, foi possível observar a atividade antibactericida da CUR para bactérias gram-positivas e gram-negativas (GUNES et al., 2016; YUN; LEE, 2016; ILANGO VAN et al., 2018).

A indiferença quanto ao tipo de bactéria na MIC pode inferir o tipo de mecanismo que ocorre neste sistema. Como não houve influência do tipo de parede celular, alguns mecanismos prováveis são a indução de espécies reativas de oxigênio (ROS). Na ROS, a CUR inativa bactérias induzindo a produção de oxigênio singlete e radicais hidroxila. No trabalho desenvolvido por Yun *et al.* (2016), os autores determinaram uma MIC de 12 mg L^{-1} da CUR para a bactéria *E. coli*. (YUN; LEE, 2016). Utilizando marcadores, os autores concluíram que o efeito bactericida ocorre por meio da indução de espécies reativas de oxigênio (NEGI et al., 2014; YUN; LEE, 2016; ESHRA; SHALABY, 2017). Dessa maneira, avaliar as propriedades antioxidantes da CUR nas formulações pode confirmar o mecanismo e indicar se há mudança quando ela está contida na blenda.

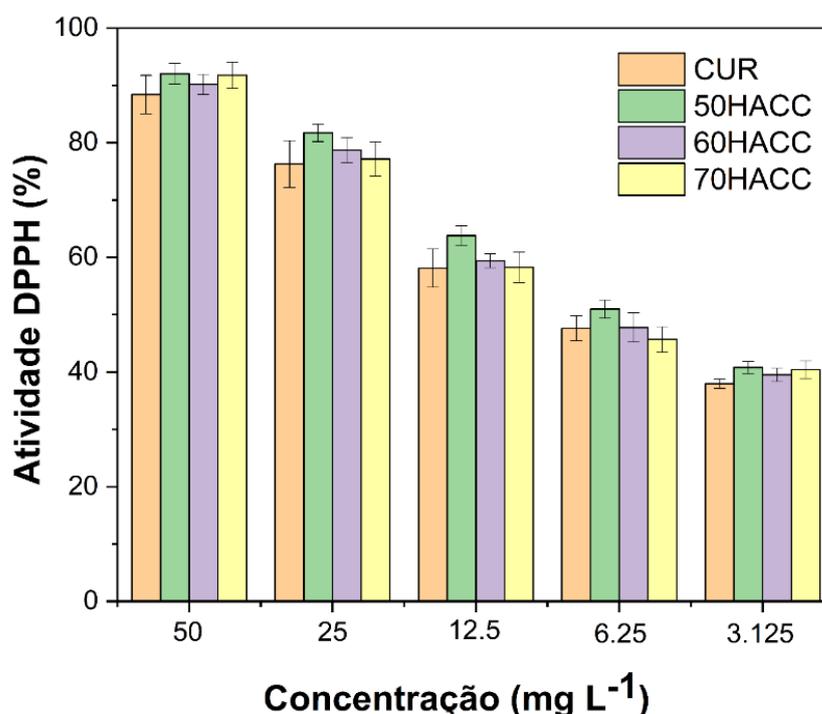
3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade preventiva contra o câncer da CUR está ligada à sua capacidade antioxidante (LIAO et al., 2017; SATHUVAN et al., 2017). Os antioxidantes inibem e protegem o sistema de danos celulares principalmente através de sua propriedade de eliminação de radicais livres. Essas moléculas de baixo peso molecular são estáveis o suficiente para doar elétrons e, assim, capazes de encerrar a reação em cadeia antes que biomoléculas vitais sejam danificadas (SHANG et al., 2010; SALEM; ROHANI; GILLIES, 2014; NABAVI; SILVA, 2022).

As propriedades antioxidantes da CUR são reportadas na literatura (BISWAS et al., 2010; SUETH-SANTIAGO et al., 2015; KADOTA et al., 2020; DAL MAGRO et al., 2021). A CUR é um excelente eliminador de radicais livres onde a natureza de eliminação é devido ao grupo OH fenólico e ao grupo CH_2 da β -dicetona. Para quantificar a atividade antioxidante pode-se utilizar o método DPPH (FUJISAWA et al., 2004; AK; GÜLÇIN, 2008; YI et al., 2016).

O método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é baseado na captura do radical livre DPPH por antioxidantes, produzindo um decréscimo na banda de absorção do radical em 515 nm. Ele é reduzido na presença da espécie ativa, diminuindo sua coloração. O uso de DPPH fornece uma maneira fácil e rápida para avaliar as propriedades antioxidantes da CUR (AK; GÜLÇIN, 2008; KAKRAN et al., 2013; CARVALHO et al., 2015; YI et al., 2016). (KAKRAN et al., 2013). A capacidade de eliminação do radical DPPH das formulações contendo CUR foi representada na Figura 48.

Figura 48. Atividade de eliminação de radicais DPPH em diferentes concentrações da CUR livre e nas diferentes formulações (50HACC, 60HACC, 70HACC).



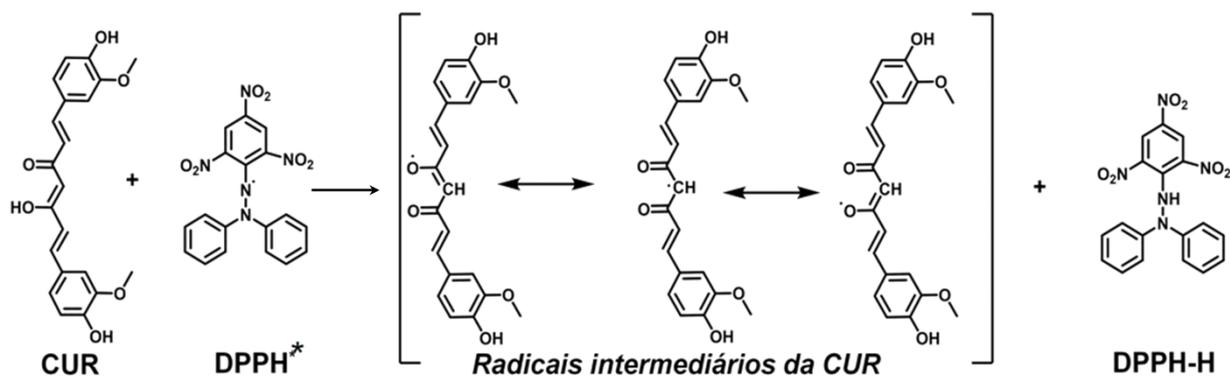
Fonte: A autora deste trabalho (2022).

A capacidade de eliminação do radical DPPH aumentou com a concentração para todas as amostras. Não foi possível determinar a atividade antioxidante dos polímeros

HPMCAS e κ -CAR mesmo em altas concentrações (5000 mg L^{-1}). A atividade antioxidante da CUR livre não apresentou diferença significativa ($t < t_{\text{crit}}$) nas formulações mostrando que matriz polimérica não interferiu negativamente nas propriedades do polifenol. Mesmo no sistema mais diluído ($3,125 \text{ mg L}^{-1}$) de CUR, caracterizou-se uma eliminação do radical DPPH em torno de 40%, chegando a 90% nas concentrações de 50 mg L^{-1} . A atividade relatada da CUR livre neste trabalho foi superior ao reportado por Yi *et al.* (2016). Neste, os autores observaram o efeito na atividade da CUR livre de 25% na concentração de 10 mg L^{-1} (YI *et al.*, 2016).

O mecanismo da atividade do DPPH com a CUR foi proposto por Ak, *et al.* (2008) (AK; GÜLÇİN, 2008) e é apresentado na Figura 49.

Figura 49. Mecanismo proposto da reação entre DPPH e curcumina na forma cetoenol.



Fonte: Adaptado de Ak, *et al.* (2008) (AK; GÜLÇİN, 2008).

No mecanismo proposto por Ak *et al.* (2008), a CUR abstrai o hidrogênio ácido do carbono formando um intermediário estável, ativando o nitrogênio do DPPH e formando a espécie DPPH*. A espécie DPPH* por ser bastante instável subtrai o próton da CUR formando um radical que, em ressonância, é estabilizado no oxigênio (AK; GÜLÇİN, 2008; KAKRAN *et al.*, 2013; ESHRA *et al.*, 2017). Uma maneira de avaliar a atividade antioxidante é através da capacidade de inibir 50% (IC_{50}) do DPPH. No presente trabalho, esta inibição é atingida na concentração de $\sim 6,25 \text{ mg L}^{-1}$.

A atividade antioxidante de um nanocomplexo contendo CUR foi avaliado por Yi *et al.* (2016). Os autores verificaram uma melhora significativa do nanocomplexo quando comparada a CUR livre. O nanocomplexo contendo CUR apresentou atividade DPPH próxima a 50% na faixa de 6 mg L^{-1} (YI *et al.*, 2016). No trabalho desenvolvido por Magro *et*

al. (2021) foi avaliado a influência de um cocrystal de resveratrol e CUR na atividade antioxidante (DAL MAGRO et al., 2021). A concentração de inibição de 50% do cocrystal foi de 14,3 mg L⁻¹. Tanto a CUR (30,3 mg L⁻¹) quanto o resveratrol (32 mg L⁻¹) apresentaram concentrações superiores ao cocrystal, indicando a efetividade da formulação (AK; GÜLÇIN, 2008; CARVALHO et al., 2015; DAL MAGRO et al., 2021).

A atividade da CUR *in vitro* ocorre através do grupo hidroxila fenólica da CUR. A hidroxila fenólica é o grupo ativo da CUR e é responsável pela atividade antioxidante ao doar um átomo de hidrogênio (JOVANOVIC et al., 1999; BARCLAY et al., 2000; SHANG et al., 2010; NABAVI; SILVA, 2022). Isto foi confirmado por Barclay *et al.* (2000) que sintetizaram derivados de CUR sem grupos hidroxila fenólicos e que não apresentaram atividade antioxidante. Verificou-se também que a CUR e seus derivados também exercem potentes atividades quelantes que aumentam a atividade antioxidante (BARCLAY et al., 2000; SHANG et al., 2010; KUMAR et al., 2016; NABAVI; SILVA, 2022). Através dos dados aqui expostos evidencia-se as propriedades *in vitro* e *ex vivo* da CUR nas membranas. Assim, como perspectiva futura, avaliar a atividade anticâncer das membranas produzidas em ensaios *in vitro*.

De maneira geral, as membranas a base de HPMCAS e κ -CAR exibem características favoráveis para a aplicação sugerida neste trabalho. As membranas contendo CUR apresentaram liberação rápida e permeação cutânea principalmente na epiderme e derme. A atividade microbiológica para bactérias e a atividade antioxidante tornam estes dispositivos viáveis para a aplicação tópica.

4 CONCLUSÕES PARCIAIS

O Capítulo IV permitiu avaliar as propriedades das membranas em ensaios biológicos *in vitro* e *ex vivo*. O ensaio de cinética de liberação *in vitro* identificou os mecanismos que melhor descrevem a liberação da CUR. Os melhores ajustes aos dados foram obtidos através do modelo de Primeira ordem e de Korsmeyer-Peppas.

Os estudos de permeabilidade em pele abdominal humana mostraram que as membranas a base de HPMCAS e κ -CAR contendo CUR têm potencial para se tornar um dispositivo tópico. A CUR exibiu um acúmulo majoritário na epiderme e minoritário na derme. Mediante das imagens de SEM foi observado a superfície das membranas após o contato com a pele. Na formulação 50HACC foi caracterizado estruturas circulares ($\sim 13 \mu\text{m}$) evidenciando a boa adesão cutânea.

As formulações contendo CUR apresentaram atividade bactericida contra cepas de bactérias Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa*). A concentração inibitória mínima foi determinada (2000 mg L^{-1}) e não exibiu diferença entre as bactérias. A atividade antioxidante das formulações foi avaliada utilizando DPPH. As amostras exibiram uma atividade de 50% com a concentração de $6,25 \text{ mg L}^{-1}$.

O presente capítulo proporcionou o entendimento das propriedades das matrizes de HPMCAS e κ -CAR contendo curcumina em aplicações *in vitro* e *ex vivo*. Através dos resultados obtidos é possível atribuir a blenda de HPMCAS e κ -CAR contendo CUR como um potencial dispositivo tópico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi desenvolvido membranas de acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) e kappa carragena (κ -CAR) contendo curcumina visando o tratamento tópico do melanoma em estágios iniciais.

Na primeira parte do trabalho foi investigado o comportamento da curcumina na presença dos polímeros no estado sólido e em solução. Através dos parâmetros de solubilidade de Hansen e de Flory-Huggins foi avaliado a miscibilidade entre as macromoléculas e a CUR. Devido a influência do HPMCAS no perfil de emissão de fluorescência da CUR, foi realizado um estudo titulométrico. Avaliando o perfil de emissão em diferentes temperaturas foi possível estimar a solubilidade intrínseca da CUR no HPMCAS e os parâmetros termodinâmicos. A avaliação comparativa do grau de cristalinidade do pó (XRPD) e no estado fundido (DSC) foi verificado. A formação de micro e nanopartículas de HPMCAS contendo CUR foi investigado por DLS e TEM. Apesar da formação dessas estruturas a solubilidade no equilíbrio da CUR não foi afetada indicando ser uma estabilização cinética.

Em seguida, foi desenvolvido o preparo de membranas a base de HPMCAS e κ -CAR contendo curcumina. A partir dos dados de PLOM e XRD, foi evidenciado que a CUR estava predominantemente amorfa. As análises térmicas e mecânicas caracterizaram as blendas. Os sistemas apresentaram boa compatibilidade entre os polímeros e elucidaram a influência da CUR nas propriedades. Através da determinação do ângulo de contato e do cálculo da energia superficial foi verificado que as membranas contendo CUR possuem boas propriedades adesivas, especialmente a contendo 50% (m/m) de κ -CAR. A análise de SEM apresentaram uma superfície lisa e uma estrutura interna porosa característica de sistemas contendo polissacarídeos.

O Capítulo IV focou em ensaios *in vitro* e *ex vivo* das membranas produzidas. A cinética de liberação da CUR exibiu um bom ajuste ao modelo de Primeira ordem e Kosmeyer-Peppas. O ensaio de permeação cutânea mostrou uma deposição da CUR rica na epiderme e na derme. Foi observado uma boa adesão das formulações na superfície da pele, principalmente a que continha 50% (m/m) de κ -CAR. A avaliação da superfície das membranas após o ensaio de permeação evidenciou a presença de sulcos na superfície da membrana 50HACC proveniente, provavelmente, do poro da pele. A atividade microbiológica

apontou uma MIC igualitária tanto para a bactéria Gram-positiva e Gram-negativa testada. Já a atividade antioxidante determinada pelo método de DPPH expôs uma atividade de 50% com 6,25 mg L⁻¹. Estudos futuros destas formulações visando a aplicação tópica contra o melanoma e testes *in vitro* com linhagens celulares através da viabilidade celular são perspectivas da continuidade do estudo. Desta forma, o sistema formado pela blenda de acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose e kappa carragena contendo curcumina já se mostrou um potencial dispositivo tópico.

REFERÊNCIAS

- ABDERRAHIM, B. et al. Kinetic Thermal Degradation of Cellulose, Polybutylene Succinate and a Green Composite: Comparative Study. *World Journal of Environmental Engineering*, v. 3, n. 4, p. 95–110, 2015.
- ABIAD, M. G.; CAMPANELLA, O. H.; TERESA CARVAJAL, M. Assessment of thermal transitions by dynamic mechanical analysis (DMA) using a novel disposable powder holder. *Pharmaceutics*, v. 2, n. 2, p. 78–90, 2010.
- ACIPRESTE, E. et al. Thermodynamic and kinetic analyses of curcumin and bovine serum albumin binding. *Food Chemistry*, v. 242, n. September 2017, p. 505–512, 2018.
- AGGARWAL, B. B.; SURH, Y.-J.; SHISHODIA, S. *The Molecular Targets And Therapeutic Uses Of Curcumin In Health And Disease*. [s.l: s.n.]
- AHMADI, N. et al. Investigation of therapeutic effect of curcumin α and β glucoside anomers against Alzheimer's disease by the nose to brain drug delivery. *Brain Research*, v. 1766, n. February, p. 147517, 2021.
- AK, T.; GÜLÇİN, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, v. 174, n. 1, p. 27–37, 2008.
- AL-OBAIDI, H.; BUCKTON, G. Evaluation of griseofulvin binary and ternary solid dispersions with HPMCAS. *AAPS PharmSciTech*, v. 10, n. 4, p. 1172–1177, 2009.
- AL-SALEM, S. M. *Kinetic studies related to polymer degradation and stability*. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.
- ALAM, M. A. et al. Solid dispersions: A strategy for poorly aqueous soluble drugs and technology updates. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 9, n. 11, p. 1419–1440, 2012.
- ALAVI, T. et al. Pluronic-F127 composite film loaded with erythromycin for wound application: formulation, physicochemical and in vitro evaluations. *Drug Delivery and Translational Research*, v. 9, n. 2, p. 508–519, 2019.
- ALBUQUERQUE, A. K. C. Investigação da cinética de cura e degradação do sistema óleo de soja epoxidado/anidro. 2021. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2021.
- ALEANDRI, S.; JANKOVIC, S.; KUENTZ, M. Towards a better understanding of solid dispersions in aqueous environment by a fluorescence quenching approach. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 550, n. 1–2, p. 130–139, 2018.
- ALI, A.; AHMED, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 109, p. 273–286, 2018.
- ALUPEI, M. C. et al. Cytotoxicity of lipophilic statins depends on their combined actions on HIF-1 α expression and redox status in B16.F10 melanoma cells. *Anti-Cancer Drugs*, v. 25, n. 4, p. 393–405, 2014.

ANDERSON, L. et al. A Model for Antiplasticization in Polystyrene. *Macromolecules*, v. 28, p. 2944–2954, 1995.

ANNABI, N. et al. Engineering a highly elastic human protein-based sealant for surgical applications. *Science Translational Medicine*, v. 9, n. 410, 2017.

ARAVAMUDHAN, A. et al. Natural Polymers: Polysaccharides and Their Derivatives for Biomedical Applications. *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*, p. 67–89, 2014.

ASTM, S. ASTM INTERNATIONAL. ASTM E96/E96M–16: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. *Standards ASTM*, v. 14, p. 1–10, 2002.

ATKINS, P.; DE PAULA, J.; KEELER, J. *PHYSICAL CHEMISTRY*. 11th. ed. [s.l.] United States of America by Oxford University Pres, 2019.

ATKINS, P.; JONES, L. *CHEMICAL PRINCIPLES*. 15. ed. [s.l.: s.n.]

BABADI, D. et al. Curcumin polymeric membranes for postoperative peritoneal adhesion: Comparison of nanofiber vs. film and phospholipid-enriched vs. non-enriched formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 614, n. January, p. 121434, 2022.

BAIRD, J. A.; TAYLOR, L. S. Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, n. 5, p. 396–421, 2012.

BALASUBRAMANIAN, R.; KIM, S. S.; LEE, J. Novel synergistic transparent k-Carrageenan/Xanthan gum/Gellan gum hydrogel film: Mechanical, thermal and water barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 118, p. 561–568, 2018.

BARBOSA, K. A. et al. Rotary jet-spun curcumin-loaded poly L-lactic acid membranes for wound-healing applications. *Journal of Materials Research and Technology*, p. 1–10, 2022.

BARCLAY, L. R. C. et al. On the antioxidant mechanism of curcumin: Classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Organic Letters*, v. 2, n. 18, p. 2841–2843, 2000.

BARIK, A. et al. Interaction of curcumin with human serum albumin: Thermodynamic properties, fluorescence energy transfer and denaturation effects. *Chemical Physics Letters*, v. 436, n. 1–3, p. 239–243, 2007.

BARIK, A. et al. Synthesis and characterization of new shellac–hydroxypropylmethylcellulose composite for pharmaceutical applications. *Polymer Bulletin*, v. 74, n. 9, p. 3467–3485, 2017.

BARRY, B. W. Drug delivery routes in skin: A novel approach. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 54, n. SUPPL., p. 31–40, 2002.

BASAK, R.; BANDYOPADHYAY, R. Encapsulation of hydrophobic drugs in pluronic F127 micelles: Effects of drug hydrophobicity, solution temperature, and pH. *Langmuir*, v. 29, n. 13, p. 4350–4356, 2013.

BATISTA, N. L. et al. Correlation between degree of crystallinity, morphology and mechanical properties of PPS/carbon fiber laminates. *Materials Research*, v. 19, n. 1, p. 195–201, 2016.

BEGUM, S. G. et al. a Review on Emulgels-a Novel Approach for Topical Drug Delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, v. 7, n. 2, p. 70–77, 2019.

BELLINCANTA, T. et al. Preparação e caracterização de membranas poliméricas a partir da blenda polisulfona/poliuretano. *Polimeros*, v. 21, n. 3, p. 229–232, 2011.

BERNABÉ-PINEDA, M. et al. Determination of acidity constants of curcumin in aqueous solution and apparent rate constant of its decomposition. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 60, n. 5, p. 1091–1097, 2004.

BHATIA, N. K. et al. Effect of pH and temperature on conformational equilibria and aggregation behaviour of curcumin in aqueous binary mixtures of ethanol. *RSC Advances*, v. 6, n. 105, p. 103275–103288, 2016a.

BISWAS, J. et al. Curcumin protects DNA damage in a chronically arsenic-exposed population of West Bengal. *Human and Experimental Toxicology*, v. 29, n. 6, p. 513–524, 2010.

BLANNING, T. C. W. Review Article. *German History*, v. 18, n. 4, p. 487–494, 2003.

BREU, F.; GUGGENBICHLER, S.; WOLLMANN, J. Incorporação e liberação do resveratrol em geis polimericos. *Vasa*, p. 1–128, 2008.

BRISTOL, A. N.; LAMM, M. S.; LI, Y. Impact of Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate Critical Aggregation Concentration on Celecoxib Supersaturation. *Molecular Pharmaceutics*, v. 18, n. 12, p. 4299–4309, 2021.

BROWN, L. et al. Through the wall: Extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, n. 10, p. 620–630, 2015.

BUNACIU, A. A.; UDRIȘTIOIU, E. G.; ABOUL-ENEIN, H. Y. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 45, n. 4, p. 289–299, out. 2015.

BURGESS, S. K. et al. Caffeine antiplasticization of amorphous poly(ethylene terephthalate): Effects on gas transport, thermal, and mechanical properties. *Polymer*, v. 65, p. 34–44, 2015.

CAMPO, V. L. et al. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis - A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, n. 2, p. 167–180, 2009.

CARVALHO, D. de M. et al. Production, solubility and antioxidant activity of curcumin nanosuspension. *Food Science and Technology (Brazil)*, v. 35, n. 1, p. 115–119, 2015.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e

relaxações em polímeros e blendas poliméricas. *Quimica Nova*, v. 28, n. 2, p. 255–263, 2005.

CHAVAN, R. B. et al. Cellulose based polymers in development of amorphous solid dispersions. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 14, n. 3, p. 248–264, 2019.

CHEN, Q. et al. Improvement of Mechanical Strength and Fatigue Resistance of Double Network Hydrogels by Ionic Coordination Interactions. *Chemistry of Materials*, v. 28, n. 16, p. 5710–5720, 2016.

CHENG, C.-Y.; LIN, Y.-H.; SU, C.-C. Curcumin inhibits the proliferation of human hepatocellular carcinoma J5 cells by inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *International Journal of Molecular Medicine*, v. 26, n. 4, p. 673–678, 2010.

CHIENG, N.; MIZUNO, M.; PIKAL, M. Characterization of dynamics in complex lyophilized formulations: I. Comparison of relaxation times measured by isothermal calorimetry with data estimated from the width of the glass transition temperature region. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 85, n. 2, p. 189–196, 2013.

CRAYTHORNE, E.; AL-NIAMI, F. Skin cancer. *Medicine (United Kingdom)*, v. 45, n. 7, p. 431–434, 2017.

CUCOS, A. et al. Dynamic mechanical analysis (DMA) of new and historical parchments and leathers: Correlations with DSC and XRD. *Thermochimica Acta*, v. 516, n. 1–2, p. 19–28, 2011.

CURTIS, J. E. et al. Inertial suppression of protein dynamics in a binary glycerol-trehalose glass. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 46, p. 22953–22956, 2006.

DA SILVA, J. A. et al. Administração cutânea de fármacos: Desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada*, v. 31, n. 3, p. 125–131, 2010.

DA SILVA, L. F. M.; OCHSNER, A.; ADAMS, R. D. *Handbook of Adhesion Technology*. Second Edi ed. [s.l: s.n.]v. 1–2

DAL MAGRO, C. et al. Production of curcumin-resveratrol cocrystal using cocrystallization with supercritical solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 171, n. February, p. 105190, 2021.

DE ALCÂNTARA, M. G. et al. Electrostatic hydrogels formed by gelatin and carrageenan induced by acidification: Rheological and structural characterization. *Food Structure*, v. 24, n. February, p. 100137, 2020.

DEL GAUDIO, P. et al. Submicrometric hypromellose acetate succinate particles as carrier for soy isoflavones extract with improved skin penetration performance. *Carbohydrate Polymers*, v. 165, p. 22–29, 2017.

DESHPANDE, T. M. et al. Impact of formulation excipients on the thermal, mechanical, and electrokinetic properties of hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate (HPMCAS). *International Journal of Pharmaceutics*, v. 542, n. 1–2, p. 132–141, 2018.

DEWANGAN, A. K. et al. Preparation, characterization and anti-inflammatory

effects of curcumin loaded carboxymethyl cellulose acetate butyrate nanoparticles on adjuvant induced arthritis in rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 41, p. 269–279, 2017.

DLUBEK, G.; REDMANN, F.; KRAUSE-REHBERG, R. Humidity-induced plasticization and antiplasticization of polyamide 6: A positron lifetime study of the local free volume. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 84, n. 2, p. 244–255, 2002.

DOKTOROVOVA, S.; SOUTO, E. B.; SILVA, A. M. Hansen solubility parameters (HSP) for prescreening formulation of solid lipid nanoparticles (SLN): in vitro testing of curcumin-loaded SLN in MCF-7 and BT-474 cell lines. *Pharmaceutical Development and Technology*, v. 23, n. 1, p. 96–105, 2018.

DONG, Z.; CHOI, D. S. Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate: Potential Drug - Excipient Incompatibility. *AAPS PharmSciTech*, v. 9, n. 3, p. 991–997, 2008.

DRUSCH, S. et al. Differences in free volume elements of the carrier matrix affect the stability of microencapsulated lipophilic food ingredients. *Food Biophysics*, v. 4, n. 1, p. 42–48, 2009.

EBEWELE, R. O. *Polymer science and technology*. [s.l.: s.n.]

ELNASHAR, M. M. M.; YASSIN, M. A. Lactose hydrolysis by β -galactosidase covalently immobilized to thermally stable biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 159, n. 2, p. 426–437, 2009.

ENUMO, A. et al. Development of curcumin-loaded chitosan/pluronic membranes for wound healing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 163, p. 167–179, 2020.

ENUMO, A.; PEREIRA, C. I. D.; PARIZE, A. L. Temperature Evaluation of Curcumin Keto-Enolic Kinetics and Its Interaction with Two Pluronic Copolymers. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 123, n. 26, p. 5641–5650, 2019.

ESCOPCIO, V. A. et al. Caracterização térmica e dinâmico-mecânica de compósitos TPU/mica preparados em reômetro de torque. *Polímeros*, v. 21, n. 3, p. 240–245, 2011.

ESHRA, K. A. et al. Interaction of curcumin with human serum albumin: Thermodynamic properties, fluorescence energy transfer and denaturation effects. *Chemical Physics Letters*, v. 436, n. 1–3, p. 239–243, 2017.

ESHRA, K. A.; SHALABY, M. M. Efflux Pump Inhibition Effect of Curcumin and Phenylalanine Arginyl β -Naphthylamide (PA β N) against Multidrug Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Infections in Tanta University Hospitals. *The Egyptian Journal of Medical Microbiology*, v. 26, n. 1, p. 113–119, 2017.

EXTRAND, C. W. Water contact angles and hysteresis of polyamide surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 248, n. 1, p. 136–142, 2002.

FAN, N. et al. Impact of HPMC on inhibiting crystallization and improving permeability of curcumin amorphous solid dispersions. *Carbohydrate Polymers*, v. 181, n. December 2017, p. 543–550, 2018.

FAN, N.; LU, T.; LI, J. Surface Tracking of Curcumin Amorphous Solid Dispersions Formulated by Binary Polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 109, n. 2, p. 1068–1078, 2020.

FAN, Y.-H. et al. Facile preparation of hexadecyl-functionalized magnetic core-shell microsphere for the extraction of polychlorinated biphenyls in environmental waters. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 409, n. 13, p. 3337–3346, maio 2017.

FARHAN, A.; HANI, N. M. Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. *Food Hydrocolloids*, v. 64, p. 48–58, 2017.

FAUZI, M. A. R. D. et al. Preparation, properties and potential of carrageenan-based hard capsules for replacing gelatine: A review. *Polymers*, v. 13, n. 16, p. 1–20, 2021.

FERRARI, V. C. G. M. et al. Estudo da cinética de cura de um pré-impregnado de resina epoxídica/fibra de carbono pelo método isoconversional TT - Study of cure kinetics of a pre-impregnated epoxy resin/carbon fiber using the isoconversional. *Polímeros*, v. 24, n. 1, p. 123–128, 2014.

FERREIRA, P. et al. Modification of the biopolymer castor oil with free isocyanate groups to be applied as bioadhesive. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 40, n. 2, p. 144–152, 2007.

FOWKES, F. M. Attractive Forces At Interfaces. *Industrial & Engineering Chemistry*, v. 56, n. 12, p. 40–52, 1964.

FRANÇA, M. T. Planejamento e desenvolvimento de dispersões sólidas pela técnica de Spray Drying utilizando o fármaco modelo clortalidona. 2016. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

FRANÇA, M. T. et al. Blended polymeric films containing the drugs simvastatin and resveratrol: The supersaturation approach for melanoma treatment. *Colloids and Interface Science Communications*, v. 46, n. September 2021, p. 0–9, 2022a.

FRANÇA, M. T. et al. Eutectic mixture and amorphous solid dispersion: Two different supersaturating drug delivery system strategies to improve griseofulvin release using saccharin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 615, n. January, p. 121498, 2022b.

FRIESEN, D. T. et al. Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate-Based Spray-Dried Dispersions: An Overview Dwayne. *Molecular Pharmaceutics*, v. 5, n. 6, p. 1003–1019, 2008.

FUJISAWA, S. et al. Cytotoxicity, ROS-generation Activity and Radical-scavenging Activity of Curcumin and Related Compounds. *Anticancer Research*, v. 24, n. 2 B, p. 563–569, 2004.

FURTADO, G. T. F. da S. Quitosana/curcumina: membranas de liberação controlada para tratamento de melanoma. 2014. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2014.

GOUD, N. R. et al. Fast dissolving eutectic compositions of curcumin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 439, n. 1–2, p. 63–72, 2012.

GROSS, I. P. Blendas poli(ácido láctico)/poli(vinil álcool): avaliação do efeito da modificação química do poli(ácido láctico) e da presença de monobutilmaleato. 2019. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

GUNES, H. et al. Antibacterial effects of curcumin: An in vitro minimum inhibitory concentration study. *Toxicology and Industrial Health*, v. 32, n. 2, p. 246–250, 2016.

GUPTA, R. *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*. [s.l: s.n.]

HAGEN, R. et al. Comparison of dynamic mechanical measurements and Tg determinations with two different instruments. *Polymer Testing*, v. 13, n. 2, p. 113–128, 1994.

HANSEN, C. M. *Hansen solubility parameters: A User's Handbook*. Second ed. [s.l: s.n.]v. 118

HARADA, T. et al. The capture and stabilization of curcumin using hydrophobically modified polyacrylate aggregates and hydrogels. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 118, n. 31, p. 9515–9523, 2014.

HARSH, C.; CHONG, H.; ATEF, E. Correlating the Behavior of Polymers in Solution as Precipitation Inhibitor to its Amorphous Stabilization Ability in Solid Dispersions. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 101, n. 7, p. 2271–2280, 2012.

HAZRA, M. K. et al. Hydrophobic hydration driven self-assembly of curcumin in water: Similarities to nucleation and growth under large metastability, and an analysis of water dynamics at heterogeneous surfaces Hydrophobic hydration driven self-assembly of curcumin in water. *The Journal of Chemical Physics*, v. 501, 2014.

HEYNE, B. Self-assembly of organic dyes in supramolecular aggregates. *Photochemical and Photobiological Sciences*, v. 15, n. 9, p. 1103–1114, 2016.

HISHAM, S. F. et al. Study of Covalent/Ionic Cross-Linked Modification on Physical and Mechanical Properties of Chitosan Film as Potential Material in Medical Application. *Applied Mechanics and Materials*, v. 815, p. 89–93, 2015.

HJERDEZ, T.; SMIDSRØD, O.; CHRISTENSEN, B. E. The influence of the conformational state of κ - and ι -carrageenan on the rate of acid hydrolysis. *Carbohydrate Research*, v. 288, p. 175–187, 1996.

HU, C. et al. Anti-metastasis activity of curcumin against breast cancer via the inhibition of stem cell-like properties and EMT. *Phytomedicine*, v. 58, n. November 2018, 2019.

HU, Y. et al. Construction and evaluation of the hydroxypropyl methyl cellulose-sodium alginate composite hydrogel system for sustained drug release. *Journal of Polymer Research*, v. 25, n. 7, 2018.

HU, Y. H.; CHEN, C. Y.; WANG, C. C. Thermal degradation kinetics of poly(n-

butyl acrylate) initiated by lactams and thiols. *Polymer Degradation and Stability*, v. 84, n. 3, p. 505–514, 2004.

HUANG, Y.; DAI, W.-G. Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 4, n. 1, p. 18–25, 2014.

HUANG, Z.; STAUFENBIEL, S.; BODMEIER, R. Kinetic solubility improvement and influence of polymers on controlled supersaturation of itraconazole-succinic acid nano-co-crystals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 616, n. December 2021, p. 121536, 2022.

ILANGO VAN, M. et al. Curcuma longa L. plant residue as a source for natural cellulose fibers with antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, v. 112, n. September 2017, p. 556–560, 2018.

INCA. *Instituto Nacional do Câncer*. Disponível em: <[https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao#:~:text=A mais recente estimativa mundial,cânceres de pele não melanoma](https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao#:~:text=A%20mais%20recente%20estimativa%20mundial,c%C3%A2nceres%20de%20pele%20n%C3%A3o%20melanoma)>.>

JAGANNATHAN, R.; ABRAHAM, P. M.; PODDAR, P. Temperature-Dependent Spectroscopic Evidences of Curcumin in Aqueous Medium: A Mechanistic Study of Its Solubility and Stability. 2012.

JHA, D. K.; SHAH, D. S.; AMIN, P. D. Effect of Hypromellose Acetate Succinate Substituents on Miscibility Behavior of Spray-dried Amorphous Solid Dispersions: Flory–Huggins Parameter Prediction and Validation. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, v. 2, p. 100137, 2021.

JOVANOVIC, S. V. et al. H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. *Journal of the American Chemical Society*, v. 121, n. 41, p. 9677–9681, 1999.

JUNIOR, A. E. Desenvolvimento de fibras eletrofiadas de acetato de celulose recobertas com quitosana contendo curcumina aplicadas em tratamentos cutâneos. 2020. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

JUST, S. et al. Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 85, n. 3 PART B, p. 1191–1199, 2013.

KADOTA, K. et al. Controlled release behavior of curcumin from kappa-carrageenan gels with flexible texture by the addition of metal chlorides. *Food Hydrocolloids*, v. 101, n. August 2019, p. 105564, 2020.

KAKRAN, M. et al. Ternary dispersions to enhance solubility of poorly water soluble antioxidants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 433, p. 111–121, 2013.

KARA, S. et al. Cation effects on sol-gel and gel-sol phase transitions of κ -carrageenan-water system. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 31, n. 4–5, p. 177–185, 2003.

KAROLEWICZ, B. et al. Pluronic F127 as a suitable carrier for preparing the imatinib base solid dispersions and its potential in development of a modified release dosage forms: Thermal, spectroscopic, microscopic, and dissolution studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 130, n. 1, p. 383–390, 2017.

KHALIQ, T. et al. Self-crosslinked chitosan / κ -carrageenan-based biomimetic membranes to combat diabetic burn wound infections. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 197, n. December 2021, p. 157–168, 2022.

KIM, H. S. et al. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 146, p. 209–239, 2019.

KIM, M. key; CHOI, G. ja; LEE, H. S. Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 6, p. 1578–1581, 2003.

KONNO, H. et al. Effect of polymer type on the dissolution profile of amorphous solid dispersions containing felodipine. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 70, n. 2, p. 493–499, 2008.

KOP, T. J. et al. Stable colloidal dispersions of fullerene C60, curcumin and C60-curcumin in water as potential antioxidants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 648, n. June, p. 129379, 2022.

KORRAPATI, P. S. et al. Recent advancements in nanotechnological strategies in selection, design and delivery of biomolecules for skin regeneration. *Materials Science and Engineering C*, v. 67, p. 747–765, 2016.

KRAWCZYK, J. Surface free energy of the human skin and its critical surface tension of wetting in the skin/surfactant aqueous solution/air system. *Skin Research and Technology*, v. 21, n. 2, p. 214–223, 2015.

KUMAR, A.; GUPTA, R. *Fundamentals of polymers*. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.

KUMAR, L. et al. Amphiphilic block copolymer micelles in selective solvents: The effect of solvent selectivity on micelle formation. *Polymers*, v. 11, n. 11, 2019.

KUMAR, S. et al. Molecular complexation of curcumin with pH sensitive cationic copolymer enhances the aqueous solubility, stability and bioavailability of curcumin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 82, p. 86–96, 2016.

KUNDU, S. et al. Mechanical properties of NafionTM electrolyte membranes under hydrated conditions. *Polymer*, v. 46, n. 25, p. 11707–11715, 2005.

KWOK, D. Y.; LI, D.; NEUMANN, A. W. Fowkes' surface tension component approach revisited. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 89, n. 2–3, p. 181–191, 1994.

LACOUILONCHE, F.; CHAUVET, A.; MASSE, J. An investigation of flurbiprofen polymorphism by thermoanalytical and spectroscopic methods and a study of its interactions with poly-(ethylene glycol) 6000 by differential scanning calorimetry and modelling.

International Journal of Pharmaceutics, v. 153, n. 2, p. 167–179, 1997.

LAFFERTY, S. V.; NEWTON, J. M.; PODCZECK, F. Dynamic mechanical thermal analysis studies of polymer films prepared from aqueous dispersion. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 235, n. 1–2, p. 107–111, 2002.

LAO, C. D. et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 6, p. 4–7, 2006.

LAROCCA, N. M.; PESSAN, L. A. Effect of antiplasticisation on the volumetric, gas sorption and transport properties of polyetherimide. *Journal of Membrane Science*, v. 218, n. 1–2, p. 69–92, 2003.

LAVRA, M. M. Incremento da solubilidade e da cinética de dissolução do fármaco Efavirenz através da obtenção de misturas binárias amorfas com matrizes poliméricas. 2017. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

LI, B. et al. Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices. *Carbohydrate Polymers*, v. 98, n. 1, p. 1108–1116, 2013.

LI, J. et al. Curcumin-Eudragit® e PO solid dispersion: A simple and potent method to solve the problems of curcumin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 94, p. 322–332, 2015.

LI, Y. et al. Curcumin inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells through inactivation of Notch-1 signaling. *FEBS Journal*, v. 279, n. 12, p. 2247–2259, 2012.

LIAO, W. et al. Curcumin inhibited growth of human melanoma A375 cells via inciting oxidative stress. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 95, n. September, p. 1177–1186, 2017.

LIMA, A. P. Estudo da fase cristalina beta em compósitos de polipropileno. 2014. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

LIN, D. et al. Preparation, characterization and antioxidant properties of curcumin encapsulated chitosan/lignosulfonate micelles. *Carbohydrate Polymers*, 2022.

LIN, X. et al. Physical Stability of Amorphous Solid Dispersions: a Physicochemical Perspective with Thermodynamic, Kinetic and Environmental Aspects. *Pharmaceutical Research*, v. 35, n. 6, 2018.

LIU, J. et al. Films based on κ -carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, v. 83, p. 134–142, 2018.

LIU, Z. C. et al. Curcumin regulates hepatoma cell proliferation and apoptosis through the Notch signaling pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, v. 7, n. 3, p. 714–718, 2014.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação

modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.

LORANDI, N. P. et al. Análise Dinâmico-Mecânica de Materiais Compósitos Poliméricos Dynamic Mechanical Analysis (DMA) of Polymeric Composite Materials. *Scientia Cum Industria (Sci. Cum Ind.)*, v. 4, n. 13, p. 48–60, 2016.

LÜBTOW, M. M. et al. Like Dissolves Like? A Comprehensive Evaluation of Partial Solubility Parameters to Predict Polymer-Drug Compatibility in Ultrahigh Drug-Loaded Polymer Micelles. *Biomacromolecules*, v. 20, n. 8, p. 3041–3056, 2019.

MA, S. et al. Thermal behavior of carrageenan: Kinetic and characteristic studies. *International Journal of Green Energy*, v. 9, n. 1, p. 13–21, 2012.

MACIEL, J. S. et al. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: Synthesis and thermal stability. *European Polymer Journal*, v. 41, n. 11, p. 2726–2733, 2005.

MADDAH, B.; SHAMSI, J. Extraction and preconcentration of trace amounts of diazinon and fenitrothion from environmental water by magnetite octadecylsilane nanoparticles. *Journal of Chromatography A*, v. 1256, p. 40–45, set. 2012.

MAEDA, Y.; PAUL, D. R. Effect of antiplasticization on gas sorption and transport. III. Free volume interpretation. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, v. 25, n. 5, p. 1005–1016, 1987.

MANOLOVA, Y. et al. The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 132, p. 815–820, 2014.

MARTÍ, R. M.; SOROLLA, A.; YERAMIAN, A. Nuevas dianas terapéuticas en el melanoma. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, v. 103, n. 7, p. 579–590, 2012.

MARTINS, J. T. et al. Synergistic effects between κ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. *Food Hydrocolloids*, v. 29, n. 2, p. 280–289, 2012.

MASCIA, L. Antiplasticization of poly (vinyl chloride) in relation to thermal ageing and non-linear viscoelastic behaviour. *Polymer*, v. 19, n. 3, p. 325–328, 1978.

MASCIA, L. et al. Antiplasticization of polymer materials: Structural aspects and effects on mechanical and diffusion-controlled properties. *Polymers*, v. 12, n. 4, 2020.

MASCIA, L.; MARGETTS, G. Viscoelasticity and Plasticity Aspects of Antiplasticization Phenomena: Strain Rate and Temperature Effects. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, v. 26, n. 2, p. 237–256, 1987.

MEDEIROS, S. L. S. Estudo da cinética de cristalização de pós fluxantes vítreos à base de CaO/Al₂O₃ (livres de flúor e SiO₂) para uso em lingotamento contínuo de placas de aços trip/twip. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós- Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

MEIRA, A. S. Estudos de permeação/retenção cutânea in vitro empregando pele

suína para comparação de desempenho de formulações semi-sólidas dermatológicas. 2010. Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia (Graduação) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MENDES, C. et al. Supersaturating drug delivery system of fixed drug combination: sulfamethoxazole and trimethoprim. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 17, n. 10, p. 841–850, 2019.

MENG, F. et al. Thermal decomposition behaviors and kinetics of carrageenan-poly vinyl alcohol bio-composite film. *Carbohydrate Polymers*, v. 201, n. July, p. 96–104, 2018.

MENG, F.; GALA, U.; CHAUHAN, H. Classification of solid dispersions: Correlation to (i) stability and solubility (II) preparation and characterization techniques. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 41, n. 9, p. 1401–1415, 2015.

MICHEL, A. S.; MESTDAGH, M. M.; AXELOS, M. A. V. Physico-chemical properties of carrageenan gels in presence of various cations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1997.

MIRZAEI, H. et al. Curcumin: A new candidate for melanoma therapy? *International Journal of Cancer*, v. 139, n. 8, p. 1683–1695, 2016.

MOHAMED, L. A. et al. Drug recrystallization in drug-in-adhesive transdermal delivery system: A case study of deteriorating the mechanical and rheological characteristics of testosterone TDS. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 578, n. December 2019, p. 119132, 2020.

MONSCHKE, M.; KAYSER, K.; WAGNER, K. G. Influence of Particle Size and Drug Load on Amorphous Solid Dispersions Containing pH-Dependent Soluble Polymers and the Weak Base Ketoconazole. *AAPS PharmSciTech*, v. 22, n. 1, p. 1–11, 2021.

MORARU, C. I. et al. Plasticizing and antiplasticizing effects of water and polyols on a meat-starch extruded matrix. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 9, p. 3396–3401, 2002.

MOUSSA, Z. et al. Encapsulation of curcumin in cyclodextrin-metal organic frameworks: Dissociation of loaded CD-MOFs enhances stability of curcumin. *Food Chemistry*, v. 212, n. 2016, p. 485–494, 2016.

MOUSSA, Z.; CHEBL, M.; PATRA, D. Fluorescence of tautomeric forms of curcumin in different pH and biosurfactant rhamnolipids systems: Application towards on-off ratiometric fluorescence temperature sensing. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 173, n. January, p. 307–317, 2017.

MUKERJEE, A. et al. Spectroscopic properties of curcumin: Orientation of transition moments. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 114, n. 39, p. 12679–12684, 2010.

MYERS, D. *Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications*. Second ed. [s.l.] Copyright © by John Wiley & Sons, 1999.

NABAVI, S. M.; SILVA, A. S. *Antioxidants Effects in Health The Bright and the Dark Side*. [s.l.: s.n.]

NARDUCCI, R. et al. Mechanical properties of anion exchange membranes by combination of tensile stress-strain tests and dynamic mechanical analysis. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, v. 54, n. 12, p. 1180–1187, 2016.

NASCIMENTO DA SILVA, M. et al. Physical and morphological properties of hydroxypropyl methylcellulose films with curcumin polymorphs. *Food Hydrocolloids*, v. 97, n. July, p. 105217, 2019.

NEGI, N. et al. Possible role of curcumin as an efflux pump inhibitor in multi drug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 8, n. 10, p. DC04–DC07, 2014.

NERURKAR, J. et al. Controlled-release matrix tablets of ibuprofen using cellulose ethers and carrageenans: Effect of formulation factors on dissolution rates. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 61, n. 1–2, p. 56–68, 2005.

NGAI, K. L. et al. Antiplasticization Effects on a Secondary Relaxation in Plasticized Glassy Polycarbonates. *Macromolecules*, v. 24, n. 1, p. 61–67, 1991.

NGUYEN, T. T. et al. Kinetic Analysis of the Thermal Decomposition of Polymer-Bonded Explosive Based on PETN: Model-Fitting Method and Isoconversional Method. *Advances in Materials Science and Engineering*, v. 2020, 2020.

NUNES, L. M. Cinética de degradação do sistema resina epóxi/fibra de carbono. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Graduação em Engenharia de Materiais, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2013.

OWENS, D. K.; WENDT, R. C. Estimation of the surface free energy of polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 13, n. 8, p. 1741–1747, 1969.

PARADKAR, A. et al. Characterization of curcumin-PVP solid dispersion obtained by spray drying. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 271, n. 1–2, p. 281–286, 2004.

PATEL, S. .; AUNDHIA, C. .; SHAH, N. Emulgel: a Novel Approach for Topical Drug Delivery System Shailendra. *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*, v. 4, n. 4, p. 219–223, 2016.

PENG, R. M. et al. Oral delivery system enhanced the bioavailability of stilbenes: Resveratrol and pterostilbene. *BioFactors*, v. 44, n. 1, p. 5–15, 2018.

PHILLIPS; WILLIAMS. *Handbook of hydrocolloids (incl. Alginates)*. [s.l: s.n.]

PINTO, J. M. O. et al. HPMCAS as an effective precipitation inhibitor in amorphous solid dispersions of the poorly soluble drug candesartan cilexetil. *Carbohydrate Polymers*, v. 184, n. September 2017, p. 199–206, 2018.

PIYAKULAWAT, P. et al. Preparation and evaluation of chitosan/carrageenan beads for controlled release of sodium Diclofenac. *AAPS PharmSciTech*, v. 8, n. 4, 2007.

POSSART, W.; KAMUSEWITZ, H. The thermodynamics and wetting of real surfaces and their relationship to adhesion. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 13, n. 2, p. 77–84, 1993.

POSTOLOVIĆ, K. et al. Optimization, characterization, and evaluation of carrageenan/alginate/poloxamer/curcumin hydrogel film as a functional wound dressing material. *Materials Today Communications*, v. 31, n. April, 2022.

PRASAD, D.; CHAUHAN, H.; ATEF, E. Amorphous stabilization and dissolution enhancement of amorphous ternary solid dispersions: Combination of polymers showing drug-polymer interaction for synergistic effects. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 103, n. 11, p. 3511–3523, 2014.

PRAUSNITZ, M. R. et al. Skin Barrier and Transdermal Drug Delivery STRUCTURE AND ORIGIN OF THE SKIN BARRIER Stratum Corneum Structure and Organization. *Medical Therapy*, p. 2065–2073, 2012.

PROW, T. W. et al. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 63, n. 6, p. 470–491, 2011.

PSIMADAS, D. et al. Molecular Nanomedicine Towards Cancer: *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 101, n. 7, p. 2271–2280, 2012.

PUCCI, A.; RUGGERI, G. Mechanochromic polymer blends. *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, n. 23, p. 8282–8291, 2011.

PUNČOCHOVÁ, K. et al. Identifying the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions using MRI and ATR-FTIR spectroscopic imaging. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, n. 1–2, p. 256–267, 2015.

RABELLO, M. S. *Estrutura E Propriedades de Polímeros*. [s.l: s.n.]

RAFI, M. et al. UV-Vis spectroscopy and chemometrics as a tool for identification and discrimination of four Curcuma species. *International Food Research Journal*, v. 25, n. 2, p. 643–648, 2018.

RAUCA, V. F. et al. Combination therapy of simvastatin and 5, 6-dimethylxanthenone-4-acetic acid synergistically suppresses the aggressiveness of B16.F10 melanoma cells. *PLoS ONE*, v. 13, n. 8, p. 1–21, 2018.

REDÓN, R. et al. Contact angle studies on anodic porous alumina. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 287, n. 2, p. 664–670, 2005.

REHMAN, S. et al. *Polysaccharide-based amorphous solid dispersions (ASDs) for improving solubility and bioavailability of drugs*. [s.l.] Elsevier Ltd., 2019.

REN, G. et al. Encapsulation of curcumin in ZEIN-HTCC complexes: Physicochemical characterization, in vitro sustained release behavior and encapsulation mechanism. *Lwt*, v. 155, p. 112909, 2022.

RIBEIRO, C. S. P. Sinvastatina induz o processo autofágico em células de melanoma humano metastático: potencial ação na resistência tumoral. 2016. Dissertação (Mestrado) - Pós- Graduação em Ciências, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

RIBEIRO, M. P. et al. Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing. *Wound Repair and Regeneration*, v. 17, n. 6, p. 817–824, 2009.

RODRIGUES, S.; COSTA, A. M. R. Da; GRENHA, A. Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 1, p. 282–289, 2012.

ROWAN, M. P. et al. Burn wound healing and treatment: Review and advancements. *Critical Care*, v. 19, n. 1, p. 1–12, 2015.

ROY, N. et al. Review Article on Permeation Enhancers: a Major Breakthrough in Drug Delivery Technology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 8, n. 3, p. 1001–1011, 2017.

RUDHZIAH, S. et al. Potential of blend of kappa-carrageenan and cellulose derivatives for green polymer electrolyte application. *Industrial Crops and Products*, v. 72, p. 133–141, 2015.

SALEM, M.; ROHANI, S.; GILLIES, E. R. Curcumin, a promising anti-cancer therapeutic: A review of its chemical properties, bioactivity and approaches to cancer cell delivery. *RSC Advances*, v. 4, n. 21, p. 10815–10829, 2014.

SAMPRASIT, W. et al. Synergistic antibacterial activity of alpha mangostin and resveratrol loaded polymer-based films against bacteria infected wound. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 57, n. February, p. 101629, 2020.

SANCHES, M. P. et al. Chitosan-sodium alginate polyelectrolyte complex coating pluronic® F127 nanoparticles loaded with citronella essential oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 31, n. 4, p. 803–812, 2020.

SANCHES, M. P. Nanopartículas De Pluronic®F127 Recobertas Com O Complexo Polieletrólítico Quitosana/Alginato De Sódio Contendo Óleo Essencial De Citronela: Deposição Em Tecido De Algodão Para Aplicação Antimicrobiana.2020. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

SÁNCHEZ, M. A. et al. Lewis basicity, adhesion thermodynamic work and coordinating ability on aminated silicon surfaces. *Applied Surface Science*, v. 317, p. 1060–1067, 2014.

SANTOS, L. P. Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados contendo extrato padronizado de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. visando à obtenção de produto fitoterápico tópico com atividade antioxidante. 2016. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

SANTOS, M. G. Desenvolvimento e caracterização termo-mecânica de adesivos de tecido a base de cianoacrilato. 2021. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

SARABU, S. et al. Hypromellose acetate succinate based amorphous solid dispersions via hot melt extrusion: Effect of drug physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 233, n. January, p. 115828, 2020.

SARODE, A. L. et al. Stability assessment of hypromellose acetate succinate (HPMCAS) NF for application in hot melt extrusion (HME). *Carbohydrate Polymers*, v. 101,

n. 1, p. 146–153, 2014a.

SARODE, A. L. et al. Hydroxypropyl cellulose stabilizes amorphous solid dispersions of the poorly water soluble drug felodipine. *Carbohydrate Polymers*, v. 112, p. 512–519, 2014b.

SASIDHARAN, N. K. et al. In vitro synergistic effect of curcumin in combination with third generation cephalosporins against bacteria associated with infectious diarrhea. *BioMed Research International*, v. 2014, 2014.

SATHUVAN, M. et al. κ -Carrageenan: An effective drug carrier to deliver curcumin in cancer cells and to induce apoptosis. *Carbohydrate Polymers*, v. 160, p. 184–193, 2017.

SCHWING, Q. et al. Eye on excipients. *Ashland always solving*, p. 43–48, 2016.

SEGAT, G. C. Avaliação da atividade citotóxica e antitumoral de acetohidroxamatos sintéticos em modelos *in vitro* e *ex vivo*. 2017. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SEO, S. W. et al. Preparation and pharmacokinetic evaluation of curcumin solid dispersion using Solutol® HS15 as a carrier. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 424, n. 1–2, p. 18–25, 2012.

SHAH, N. et al. *Amorphous Solid Dispersions: Theory and Practice*. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2014.

SHAHBAZI, M. et al. Kinetic study of κ -carrageenan degradation and its impact on mechanical and structural properties of chitosan/ κ -carrageenan film. *Carbohydrate Polymers*, v. 142, p. 167–176, 2016.

SHANG, Y. et al. Antioxidant capacity of curcumin-directed analogues : Structure – activity relationship and influence of microenvironment. *Food Chemistry*, v. 119, n. 4, p. 1435–1442, 2010.

SHAW, D. J. *Introdução à química dos colóides e superfícies*. [s.l.: s.n.]v. 53

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 28, n. 1, p. 79, 2007.

SHOJAEE-ALIABADI, S. et al. Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, v. 101, n. 1, p. 582–591, 2014.

SIEPMANN, F. et al. Aqueous HPMCAS coatings: Effects of formulation and processing parameters on drug release and mass transport mechanisms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 63, n. 3, p. 262–269, 2006.

SIEPMANN, F.; LE BRUN, V.; SIEPMANN, J. Drugs acting as plasticizers in polymeric systems: A quantitative treatment. *Journal of Controlled Release*, v. 115, n. 3, p. 298–306, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7. ed. [s.l: s.n.]

SIMONELLI, A. P.; MEHTA, S. C.; HIGUCHI, W. I. Dissolution rates of high energy sulfathiazole-povidone coprecipitates II: Characterization of form of drug controlling its dissolution rate via solubility studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 65, n. 3, p. 355–361, 1976.

SKIBA, M. et al. Preparation and characterization of amorphous solid dispersions of nimesulide in cyclodextrin copolymers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 14, n. 4, p. 2772–2779, 2014.

SOUZA, D. Estudo do efeito das modificações estruturais de derivados celulósicos na formulação de misturas poliméricas com poli(3-hidroxibutirato). 2009. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2009.

SOUZA, N. de. Efeitos citotóxicos do DM-1 em células de melanoma resistentes a um inibidor de BRAF e na expressão de metaloproteinases. 2017. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade de São Paulo, 2017.

SPELT, J. K.; SMITH, R. P.; NEUMANN, A. W. Attraction and repulsion of solid particles by solidification fronts: Evaluation of predictions of the Fowkes equation. *Colloids and Surfaces*, v. 28, n. C, p. 85–92, 1987.

SRIVASTAVA, A.; KUMAR, R. Synthesis and Characterization of Acrylic Acid-g-(-Carrageenan) Copolymer and Study of Its Application. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, v. 2013, p. 1–8, 2013.

STURM, D. R. et al. Solubility of water and acetone in hypromellose acetate succinate, HPMCAS-L. *Fluid Phase Equilibria*, v. 429, p. 227–232, 2016.

SUETH-SANTIAGO, V. et al. Curcumin, the golden powder from turmeric: Insights into chemical and biological activities. *Quimica Nova*, v. 38, n. 4, p. 538–552, 2015.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Haste Makes Waste: The Interplay Between Dissolution and Precipitation of Supersaturating Formulations. *AAPS Journal*, v. 17, n. 6, p. 1317–1326, 2015.

SUN, G. et al. Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, v. 85, n. May, p. 61–68, 2018.

SUTERIO, N. G. Desenvolvimento e caracterização de um gel tópico a base de argila sintética e simvastatina para atuar como alternativa. 2021. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

SUTERIO, N.G. et al. Laponite® gel formulation containing simvastatin for melanoma treatment. *Applied Clay Science*, v. 228, n. April, 2022.

TAGLIARI, M. P. Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana e alginato de sódio para incorporação de ácido glicirrízico, ácido salicílico ou cafeína visando liberação

tópica. 2012. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

TANG, Y.; CAO, Y. Curcumin Inhibits the Growth and Metastasis of Melanoma via miR-222-3p/SOX10/Notch Axis. *Disease Markers*, v. 2022, p. 1–8, 2022.

TANNO, F. et al. Evaluation of Hypromellose Acetate Succinate (HPMCAS) as a Carrier in Solid Dispersions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 30, n. 1, p. 9–17, 2004.

TARASHI, S.; NAZOCKDAST, H.; SODEIFIAN, G. Reinforcing effect of graphene oxide on mechanical properties, self-healing performance and recoverability of double network hydrogel based on κ -carrageenan and polyacrylamide. *Polymer*, v. 183, n. July, p. 121837, 2019.

TENÓRIO-NETO, E. T. et al. TGA and magnetization measurements for determination of composition and polymer conversion of magnetic hybrid particles. *Polymers for Advanced Technologies*, v. 26, n. 10, p. 1199–1208, out. 2015.

TØNNESEN, H. H.; MÁSSON, M.; LOFTSSON, T. Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: Solubility, chemical and photochemical stability. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 244, n. 1–2, p. 127–135, 2002.

TRASI, N. S. et al. Factors influencing crystal growth rates from undercooled liquids of pharmaceutical compounds. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 118, n. 33, p. 9974–9982, 2014.

TRAVASSOS, D. R. S. Produção de sistemas transdérmicos de base ácido láctico. 2016. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

TRINCA, R. B. et al. Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. *European Polymer Journal*, v. 88, p. 161–170, 2017.

UBBINK, J. Structural and thermodynamic aspects of plasticization and antiplasticization in glassy encapsulation and biostabilization matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 100, p. 10–26, 2016.

UEDA, K. et al. The effect of HPMCAS functional groups on drug crystallization from the supersaturated state and dissolution improvement. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 464, n. 1–2, p. 205–213, 2014.

VAIGYA, A. et al. *Innovative Approaches in Drug Discovery*. [s.l: s.n.]

VAN KREVELEN, D. W.; TE NIJENHUIS, K. *Properties of polymers*. [s.l: s.n.]

VENKATRAMAN, S.; GALE, R. Skin adhesives and skin adhesion. *Biomaterials*, v. 19, n. 13, p. 1119–1136, 1998.

VIEIRA, A. C. Q. de M. Caracterização e incremento da cinética de dissolução do protótipo epiisopiloturina: uma abordagem físico-química. 2017. Tese (Doutorado) - Programa de Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

VIEIRA, M. G. A. et al. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polimeros*, v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010.

VIPPAGUNTA, S. R. et al. Factors Affecting the Formation of Eutectic Solid Dispersions and Their Dissolution Behavior. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 96, n. 2, p. 294–304, 2007.

VOLOD'KO, A. V. et al. Influence of structural features of carrageenan on the formation of polyelectrolyte complexes with chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 84, p. 434–441, 2016.

VRANIĆ, E.; UZUNOVIĆ, A. Study of the Applicability of Content Uniformity and Dissolution Variation Test on Ropinirole Hydrochloride Tablets. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 8, n. 2, p. 193–200, maio 2008.

VYAZOVKIN, S.; SBIRRAZZUOLI, N. Isoconversional kinetic analysis of thermally stimulated processes in polymers. *Macromolecular Rapid Communications*, v. 27, n. 18, p. 1515–1532, 2006.

WAHLANG, B.; PAWAR, Y. B.; BANSAL, A. K. Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 77, n. 2, p. 275–282, 2011.

WAISCZIK, C. H. da R. Desenvolvimento de membranas bioadesivas de κ -carragenana e hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato visando a administração tópica de cloridrato de terbinafina. 2020. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

WANG, B. et al. Improving anti-melanoma effect of curcumin by biodegradable nanoparticles. *Oncotarget*, v. 8, n. 65, p. 108624–108642, 2017a.

WANG, S. et al. Aggregation of Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate under Its Dissolving pH and the Impact on Drug Supersaturation. *Molecular Pharmaceutics*, v. 15, n. 10, p. 4643–4653, 2018.

WANG, X.; OU, H.; HUANG, J. One-pot synthesis of hyper-cross-linked polymers chemically modified with pyrrole, furan, and thiophene for phenol adsorption from aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 538, p. 499–506, 2019.

WANG, Y. et al. A cost-effective method to prepare curcumin nanosuspensions with enhanced oral bioavailability. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 485, p. 91–98, 2017b.

WICAKSONO, Y.; SETYAWAN, D. Phase Diagram and Thermodynamic Properties of Ketoprofen-Succinic Acid Binary Mixtures Diagram Fase dan Sifat Termodinamik Campuran Biner Ketoprofen-Asam Suksinat. *Jurnal ILMU DASAR*, v. 19, n. 2, p. 99, 2018.

WOLFF, H. M.; IRSAN; DODOU, K. Investigations on the viscoelastic performance

of pressure sensitive adhesives in drug-in-adhesive type transdermal films. *Pharmaceutical Research*, v. 31, n. 8, p. 2186–2202, 2014.

XIE, Y.; YAO, Y. Preparation and characterization of a solid dispersion containing curcumin and octenylsuccinate hydroxypropyl phytoglycogen for improved curcumin solubility. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 153, n. July, p. 105462, 2020.

XIONG, S. et al. Enhancement of oral bioavailability and anti-Parkinsonian efficacy of resveratrol through a nanocrystal formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 15, n. 4, p. 518–528, 2020.

YAMAWAKI, C. et al. Curcumin potentiates the fungicidal effect of dodecanol by inhibiting drug efflux in wild-type budding yeast. *Letters in Applied Microbiology*, v. 68, n. 1, p. 17–23, 2019.

YAN, X. et al. Mechanical properties of gelatin/polyacrylamide/graphene oxide nanocomposite double-network hydrogels. *Composites Science and Technology*, v. 163, n. April, p. 81–88, 2018.

YEGAPPAN, R. et al. Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v. 198, p. 385–400, 2018.

YI, J. et al. Glycosylated α -lactalbumin-based nanocomplex for curcumin: Physicochemical stability and DPPH-scavenging activity. *Food Hydrocolloids*, v. 61, p. 369–377, 2016.

YUDI UTOMO, R. et al. Development of curcumin-based amyloid β aggregation inhibitors for Alzheimer's disease using the SAR matrix approach. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 46, n. August, p. 116357, 2021.

YUN, D. G.; LEE, D. G. Antibacterial activity of curcumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 100, n. 12, p. 5505–5514, 2016.

ZHANG, Q. et al. Effect of HPMCAS on recrystallization inhibition of nimodipine solid dispersions prepared by hot-melt extrusion and dissolution enhancement of nimodipine tablets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 172, n. August, p. 118–126, 2018.

ZHANG, Q. et al. Preparation, physicochemical and pharmacological study of curcumin solid dispersion with an arabinogalactan complexation agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 128, p. 158–166, 2019.

ZHANG, S.; LEE, T. W. Y.; CHOW, A. H. L. Thermodynamic and kinetic evaluation of the impact of polymer excipients on storage stability of amorphous itraconazole. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 555, n. November 2018, p. 394–403, 2019.

ZHAO, Z. et al. Formation of curcumin nanoparticles via solution-enhanced dispersion by supercritical CO₂. *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, p. 3171–3181, 2015.

ZHU, L. et al. Rapid Recovery Double Cross-Linking Hydrogel with Stable Mechanical Properties and High Resilience Triggered by Visible Light. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 9, n. 15, p. 13593–13601, 2017.

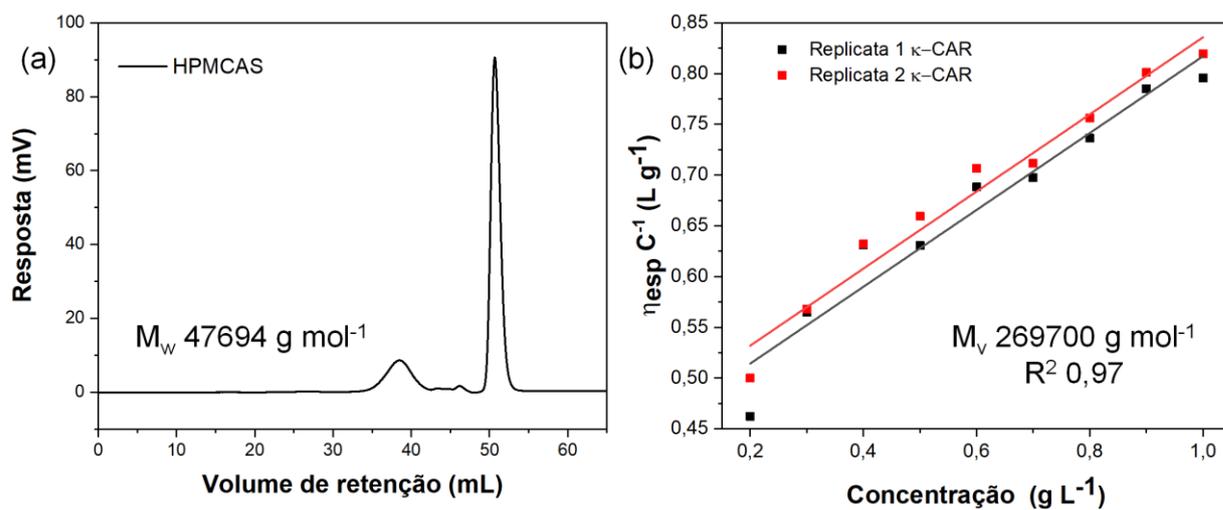
ANEXO A

Grupo estrutural	$F_{di} ((MJ.m^{-3})^{1/2} mol^{-1})$	$F_{pi} ((MJ.m^{-3})^{1/2} mol^{-1})$	$E_{hi} (J.mol^{-1})$
-CH3	420,0	0,0	0,0
-CH2-	270,0	0,0	0,0
=CH2	400,0	0,0	0,0
>CH-	80,0	0,0	0,0
=CH-	200,0	0,0	0,0
>C<	-70,0	0,0	0,0
=C<	70,0	0,0	0,0
C6H11	1620,0	0,0	0,0
C6H5	1430,0	110,0	0,0
C6H4	1270,0	110,0	0,0
-F	220,0	0,0	0,0
-Cl	450,0	550,0	400,0
-Br	550,0	0,0	0,0
-CN	430,0	1100,0	2500,0
-OH	210,0	500,0	20000,0
-O-	100,0	400,0	3000,0
-COH	470,0	800,0	4500,0
-CO-	290,0	770,0	2000,0
-COOH	530,0	420,0	10000,0
-COO-	390,0	490,0	7000,0
HCOO-	530,0	0,0	0,0
-NH2	280,0	0,0	8400,0
-NH-	160,0	210,0	3100,0
>N-	20,0	800,0	5000,0
-NO2	500,0	1070,0	1500,0
-S-	440,0	0,0	0,0
=PO4	740,0	1890,0	13000,0
Anel	190,0	0,0	0,0
Um plano de simetria	NA	x 0,5	0
Dois planos de simetria	NA	x 0,25	0
Mais planos de simetria	NA	x 0	x 0

Fonte: Retirado de Van Krevelen e Te Nijenhuis, 2009 (VAN KREVELEN; TE NIJENHUIS, 2009).

APÊNDICE A

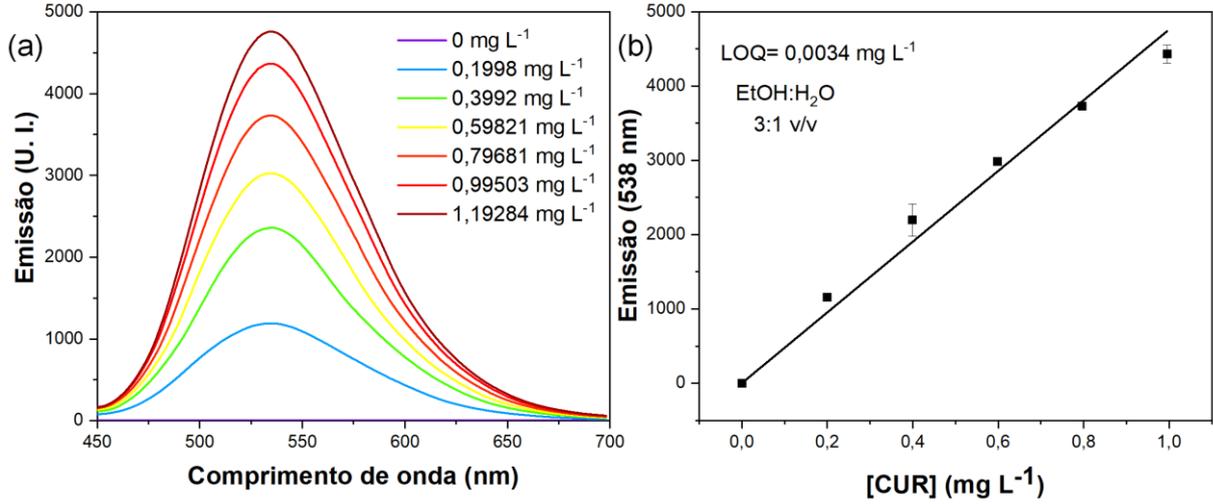
Figura A. Viscosidade reduzida em função da concentração de κ -CAR (a) e cromatograma do HPMCAS (b).



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE B

Figura B. Calibração de fluorescência de CUR em EtOH:H₂O 3:1.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela B. ANOVA curva de calibração EtOH:H₂O 3:1 v/v .

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	36364,0277	1	36364,0277	2207,6336	1,227E-6
Dentro dos grupos	65,88779	4	16,47195		
Total	36429,9155	5			

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE C

Tabela C. ANOVA homogeneidade da concentração da CUR distribuída na membrana.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	13,112	2	6,556	0,318522	0,749134	9,55209
Dentro dos grupos	61,749	3	20,583			
Total	74,861	5				

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE D

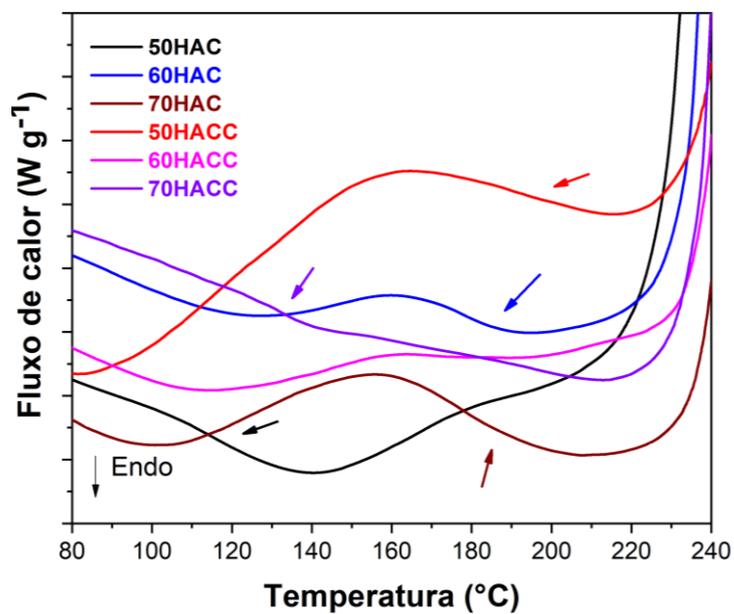
Tabela D. ANOVA homogeneidade da espessura das membranas.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	76,55	3	25,51667	2,214027	0,1260692	3,238872
Dentro dos grupos	184,4	16	11,525			
Total	260,95	19				

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE E

Figura E. Zoom na região pré-degradação das membranas.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

Tabela E. Temperatura de transição pré-degradação das membranas.

Amostra	Temperatura (°C)
50HAC	104,6±0,7
60HAC	167,6±2,8
70HAC	162,3±0,9
50HACC	170,6±1,1
60HACC	-
70HACC	122,4±3,4

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE F

Tabela F. ANOVA referente ao ângulo de contato das membranas produzidas.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Linhas	1054,799	5	210,9598	7,282114	0,004051	3,325835
Colunas	358,3488	2	179,1744	6,184915	0,017852	4,102821
Erro	289,6958	10	28,96958			
Total	1702,843	17				

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE G

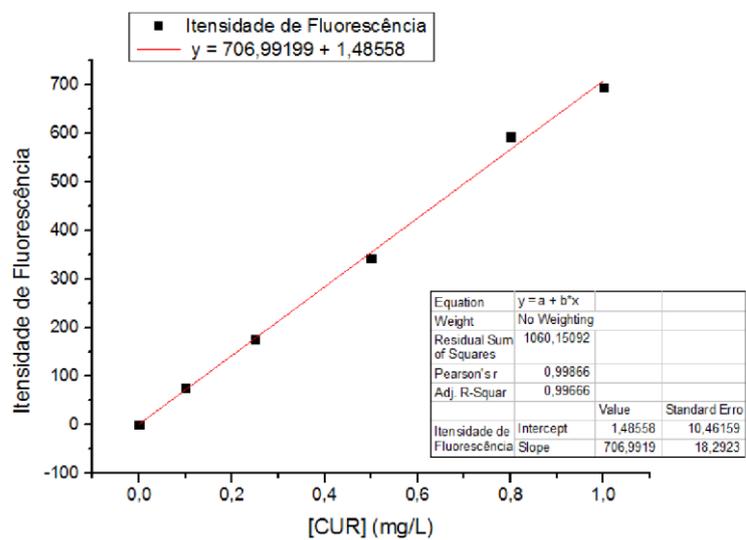
Tabela G. ANOVA referente às componentes de energia superficial das membranas produzidas.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Linhas	4215,323	5	843,0646	3,570846	0,041125	3,325835
Colunas	1441,79	2	720,8951	3,05339	0,092248	4,102821
Erro	2360,966	10	236,0966			
Total	8018,079	17				

Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNDICE H

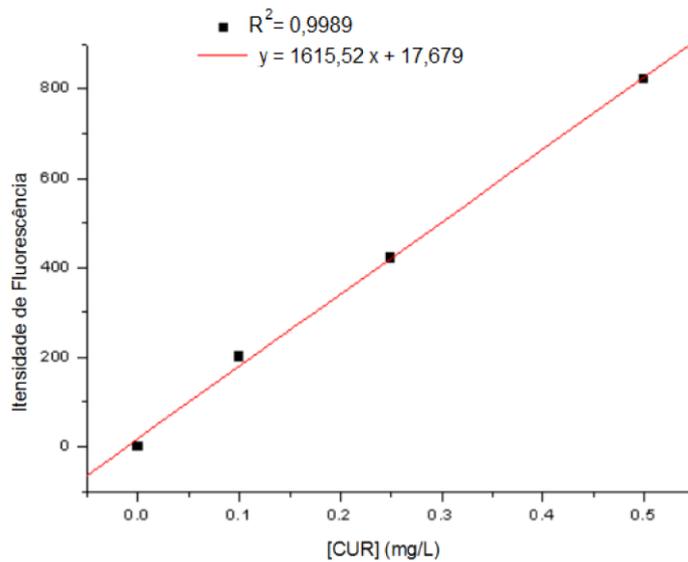
Figura H. Curva de calibração de curcumina em acetonatrila. Equação: $y = 706,991x + 1,4856$ e $R^2 = 0,9966$.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).

APÊNCIDE I

Figura I. Curva de calibração de curcumina em Acetonitrila/PBS/EtOH, Equação: $y = 1615,52x + 17,679$ e $R^2 = 0,9989$.



Fonte: A autora deste trabalho (2022).