



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE
MESQUITA FILHO"

INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS E CIÊNCIAS EXATAS

Estudo da adsorção, liberação
controlada, e fotodegradação do
fármaco curcumina incorporado na
sílica mesoporosa SBA-15

Departamento de Física

Autora

Julia Coelho Tagliaferro

Orientador

Prof. Dr. Fábio Simões de Vicente

23 de fevereiro de 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Campus de Rio Claro
Julia Coelho Tagliaferro

Estudo da adsorção, liberação controlada e
fotodegradação do fármaco curcumina
incorporado na sílica mesoporosa SBA-15

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Campus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Bacharel em Física.

Rio Claro

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE
CITADO A FONTE.

T126e Tagliaferro, Julia Coelho
Estudo da adsorção, liberação controlada e
fotodegradação do fármaco curcumina incorporado na
sílica mesoporosa SBA-15 / Julia Coelho Tagliaferro. --
Rio Claro, 2021
37 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (-) - Universidade
Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Geociências e
Ciências Exatas, Rio Claro
Orientador: Fábio Simões de Vicente

1. Física. 2. Novos Materiais. 3. Biofísica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro. Dados fornecidos pelo
autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Campus de Rio Claro
Julia Coelho Tagliaferro

Estudo da adsorção, liberação controlada, e
fotodegradação do fármaco curcumina
incorporado na sílica mesoporosa SBA-15

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Campus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Bacharel em Física.

Rio Claro

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais e familiares pelas oportunidades dadas a mim, pelo apoio nos estudos e por serem exemplos de esforço e honestidade desde sempre.

Em segundo lugar, quero agradecer meus amigos e colegas que dividiram o peso da graduação e do amadurecimento, e estiveram ao meu lado nos momentos mais escuros e também nos mais felizes deste ciclo.

Aos meus orientadores, Prof. Fábio e Prof. José Dirceu, que mostraram paciência, compreensão e me ensinaram como fazer ciência de qualidade na universidade pública apesar de todas as adversidades enfrentadas.

A todos os meus professores, formadores de profissionais e de pessoas, que desde a infância até a universidade me incentivaram e motivaram a seguir sem medo. Na universidade aprendi que as falhas também são necessárias e construtivas, e a isto também sou grata.

Às agências financiadoras CNPQ e FAPESP (2019/05131-2) pelo auxílio financeiro à minha pesquisa, e por seguir resistindo aos frequentes ataques à ciência.

Agradeço ao grupo de Óptica da USP São Carlos, que por meio do prof. José Dirceu contribuiu de forma importante a este trabalho e à PDT Pharma, que forneceu as amostras.

Agradeço por fim, a oportunidade de ter vivido esta pequena jornada da vida universitária e adulta ao lado de pessoas importantes e queridas a mim.

0.1 Resumo

A sílica mesoporosa tipo SBA-15 possui alta área de superfície e uma rede de poros em escala nanométrica, com estrutura hexagonal que torna esses materiais excelentes adsorvedores de uma variedade de moléculas. A SBA-15 é um material inerte do ponto de vista ambiental, sendo bem tolerado por seres vivos podendo ser usada como carreadora e/ou para liberação de fármacos adsorvidos em sua porosidade (*drug delivery*). A curcumina é um componente ativo do açafrão-da-Índia, de baixa toxicidade que apresenta propriedades bactericidas e fungicidas, e cujo efeito fotodinâmico quando em reservatórios de água vem sendo estudado por seu potencial para controle de larvas de mosquito como o *Aedes Aegypti*, transmissor da Dengue. A molécula de curcumina é fotossensível, sofrendo fotodegradação e diminuição de sua eficácia quando exposta a luz do dia. Um dos objetivos deste trabalho é incorporar a molécula de curcumina nos poros da sílica SBA-15 para estudar o potencial de adsorção da curcumina em solução na sílica SBA-15. Outro ponto será o estudo do processo de liberação da curcumina adsorvida na sílica SBA-15 quando dispersa em solução aquosa. Devido à fotossensibilidade da curcumina, é de suma importância o estudo das propriedades ópticas (absorção e emissão UV- VIS) tanto da curcumina em solução como da curcumina adsorvida na sílica SBA-15. Do ponto de vista de caracterização da fotoestabilidade dos materiais será estudada a fotodegradação de amostras de curcumina em solução de etanol e de curcumina adsorvida na SBA-15, quando expostas à luz visível e ultravioleta. Os resultados indicam que a curcumina tem uma boa taxa de adsorção nos poros da sílica e apresenta fotodegradação acentuada sob luz azul, que pela caracterização óptica, sabemos que na faixa do azul a curcumina apresenta grande absorção óptica. Resultados também indicam que a sílica permite uma liberação estável da curcumina de seus poros, abrindo caminho para várias aplicações.

Palavras-chave: curcumina, SBA-15, fotodegradação, caracterização óptica, *drug delivery*

0.2 Abstract

The mesoporous silica SBA-15 has high surface area and a nanometrical grid of hexagonal structured pores, which makes these materials excellent in adsorbing a multitude of molecules. SBA-15 is inert from an ambiental point of view and is well tolerated by biological systems, may be used as a carrier to deliver medicine adsorbed in its pores (drug delivery). Curcumin is an active component in turmeric, with low toxicity that presents bactericide and fungicide properties, and whose photodynamic effects when applied to water tanks has been studied for its potencial to control mosquitoes larvae, such as the *Aedes Aegypti*, dengue's transmissor. The Curcumin molecule is photosensitive, suffering photodegradation and decreasing of its efficacy when exposed to daylight. One of the objectives of this study is to incorporate the curcumin molecule into the pores of SBA-15 silica to study the adsorption potencial of solubilized Curcumin into the pores of the SBA-15 silica. Another point of this study is to investigate the releasing process of the Curcumin adsorbed in the SBA-15 silica when dispersed in an aqueous solution. Due to Curcumin's photosensitivity, it is extremely important to study the optical properties (absorption and emission UV-VIS) of solubilized and adsorbed Curcumin. Concerning the photoestability and characterization of the materials, it will be presented the photodegradation of ethanol solubilized Curcumin and adsorbed Curcumin in SBA-15's pores when exposed to visible light. The results indicate that curcumin has a good adsorption ratio in the silica pores and presents accentuated photodegradation under blue light, which we know, from the optical characterization, that curcumin has intense absorption on the blue range of the visible spectra. Results also indicate that the silica allows a stable release of curcumin from its pores, opening doors to many applications.

Key words: Curcumin, SBA-15, photodegradation, optical characterization, drug delivery.

Sumário

0.1	Resumo	5
0.2	Abstract	6
1	Introdução	8
1.1	Curcumina: Propriedades e Aplicações em Saúde	9
2	Objetivos	11
3	Técnicas Experimentais	12
3.1	Espectroscopia de Absorção Óptica UV-VIS	12
3.1.1	Lei de Beer-Lambert	12
3.2	Espectroscopia de Emissão Óptica UV-VIS	14
3.3	Análise Termogravimétrica	14
4	Metodologia Experimental	15
4.1	Espectroscopia de Absorção Óptica UV/VIS	15
4.2	Espectroscopia de Excitação e Fluorescência UV-VIS	15
4.3	Preparação da sílica Mesoporosa SBA-15	16
4.4	Preparação das Amostras de curcumina em Etanol	16
4.5	Preparação das Amostras de SBA-15:curcumina	16
4.6	Fotodegradação da curcumina	17
4.7	Análise Termogravimétrica	18
4.8	Ensaio de Liberação em Água	18
5	Resultados	19
5.1	Caracterização Óptica da curcumina em Etanol	19
5.1.1	Espectroscopia de Absorção Óptica UV-VIS	19
5.1.2	Espectroscopia de Excitação e Fluorescência	21
5.1.3	Espectroscopia de Fluorescência	23
5.1.4	Fotodegradação de soluções curcumina-etanol sob luz azul	25
5.2	SBA-15:curcumina	28
5.2.1	Análise Termogravimétrica	28
5.2.2	Fotodegradação da sílica SBA-15:curcumina	30
5.2.3	Ensaio de Liberação em Meio Aquoso	33
6	Conclusões	34

Capítulo 1

Introdução

A sílica mesoporosa tipo Santa Barbara Amorphous (SBA-15) possui uma rede de poros tipo canais de diâmetros bem definidos em escala nanométrica, com estrutura hexagonal, elevada área superficial (400 a 800 m²/g) e diâmetro de poros usualmente em torno de 8 nanômetros, podendo chegar a 30 nm [1]. Essa estrutura de poros torna esses materiais apropriados para incorporar uma variedade de moléculas na porosidade da SBA-15 [2],[3].

Dentre os diversos tipos de sílica mesoporosa, a SBA-15 é considerada uma mesoestrutura interessante, sendo um material promissor para aplicações em varias áreas. Os materiais mesoporosos podem sofrer diversas modificações na sua superfície (funcionalização), sendo possível produzir um material com uma funcionalidade específica para adsorção de diferentes moléculas em seus poros [2],[3].

Resultados recentes mostraram que a matriz de sílica SBA-15 tem potencial para aplicações em áreas da saúde, como por exemplo, a fabricação de material para substrato em vacinas [4], e liberação controlada de fármacos importantes [2]. Além disso, resultados publicados recentemente por nosso grupo de pesquisa mostraram que o material apresenta interessantes propriedades estruturais que podem ser controladas durante a síntese [5].

Tratando-se do estudo de fármacos para aplicações na área da saúde, destacamos a curcumina e outros curcuminóides dela derivados por serem moléculas de baixa toxicidade, e por apresentarem propriedades bactericidas e fungicidas. A curcumina é um pigmento que faz parte de um componente ativo do açafrão-da-Índia ou cúrcuma, que possui vasta utilização na culinária e na medicina. Recentemente a extração dos curcuminóides vem sendo desenvolvida comercialmente no Brasil pela empresa PDT Pharma Ind. Com. Prod. Farmacêuticos LTDA, o que permite facilitar e viabilizar economicamente o acesso a estas substâncias para aplicações em saúde.

Particularmente, o Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos da USP, através da equipe do Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato, vem desenvolvendo estudos quanto à aplicabilidade da curcumina em diversas áreas de controle microbiológico através do conjunto de técnicas denominado Inativação Fotodinâmica [6],[7], e particularmente ao longo do doutorado da aluna Larissa M. de Souza, estuda-se o controle da proliferação de larvas do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor de doenças como a dengue e a febre chikungunya, problemas de grande relevância no Brasil nas últimas décadas.

Apesar dos resultados encorajadores, um dos desafios a vencer é o de que a molécula da curcumina é sensível à luz, podendo degradar rapidamente e perdendo sua eficácia em ambientes abertos com muita exposição à luz solar. Entretanto, a interação da luz com a molécula de curcumina é essencial devido à necessidade de uma fotorreação para que haja inativação fotodinâmica, contudo, esta característica também faz com que as moléculas sofram fotodegradação, dificultando a manutenção de concentrações ativas quando a sua deposição ocorre em ambientes de grande insolação.

Portanto, aumentar a fotoestabilidade destas moléculas e ampliar a viabilização da técnica mencionada é a principal motivação deste estudo. Assim, este trabalho propõe estudos sobre as características ópticas da curcumina, encapsulamento da molécula de curcumina nos poros da sílica mesoporosa SBA-15, caracterização do material e avaliação da fotoestabilidade no tempo. Subsequentemente, depois da adsorção da molécula de curcumina nos poros da SBA-15 foi realizada uma avaliação da sua posterior liberação controlada em solução aquosa.

Dessa forma o estudo aprofundado da sílica mesoporosa SBA-15 associada ao fármaco curcumina tem importância fundamental tanto em nível de caracterização desses materiais, como a fim de obter um conhecimento mais amplo de suas propriedades e aplicações para adsorção e liberação de fármacos.

1.1 Curcumina: Propriedades e Aplicações em Saúde

A curcumina é um agente corante amarelo característico da raiz do açafrão-da-terra ou açafrão-da-Índia (rizomas de *Curcuma Longa*). O extrato seco de *C. longa* contém um conjunto de substâncias denominadas curcuminóides, incluindo a curcumina. Estudos demonstraram que os curcuminóides tem excelente ação anti-inflamatória e antioxidante [8]. Dessa forma, a partir da inibição desses alvos moleculares, o extrato seco especializado de *C. longa* é capaz de controlar processos inflamatórios. A curcumina é o principal curcuminóide presente no Açafrão-da-Índia. Além deste, possui outros dois curcuminóides denominados desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. Estes curcuminóides são os compostos responsáveis pela cor amarela do açafrão. A figura 1.1 ilustra a estrutura química de cada componente do Açafrão-da-Índia.

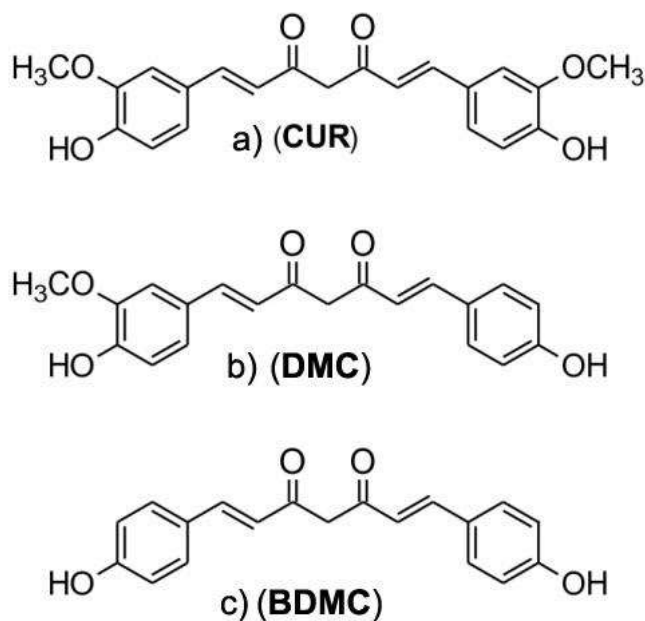


Figura 1.1: Componentes químicos do vegetal de *Curcuma Longa*. a) curcumina; b) desmetóxicurcumina; c) bis-desmetóxicurcumina.

Atualmente a curcumina pode ser obtida comercialmente como uma mistura de três componentes: curcumina (CUR, 77%); desmetoxicurcumina (DMC, 17%); e bisdesmetoxicurcumina (BDMC, 3%)

A aplicação da curcumina em diversas áreas de controle microbiológico é possível através do processo denominado inativação fotodinâmica. Neste processo um composto denominado fotossensibilizador é ativado pela exposição à luz de comprimento de onda específico. O fotossensibilizador absorve fótons e induz uma série de reações envolvendo a formação de espécies de oxigênio reativo [9].

Esta substância se liga à célula de interesse e induz a formação de espécies de oxigênio, causando dano às estruturas da célula e provocando sua morte [10]. Em nosso caso o fotossensibilizador é a curcumina que é sensível à luz azul (450 nm), e quando exposta a este comprimento de onda permite a produção de radicais moleculares responsáveis pela destruição de microorganismos específicos.

Capítulo 2

Objetivos

O projeto foi dividido em cinco objetivos principais:

- Realizar a caracterização óptica da curcumina dissolvida em etanol por espectroscopia de absorbância e fluorescência, para diversas concentrações.
- Analisar a fotodegradação das soluções curcumina-etanol quando expostas à luz azul de alta intensidade.
- Preparar amostras de SBA-15:curcumina a fim de estudar o poder de adsorção da sílica com a curcumina através da análise termogravimétrica.
- Estudar o processo de liberação do fármaco curcumina em meio aquoso, em função do tempo, através de medidas de absorbância óptica.
- Analisar a fotodegradação da amostra SBA-15:curcumina quando exposta a luz azul de alta intensidade.

Capítulo 3

Técnicas Experimentais

3.1 Espectroscopia de Absorção Óptica UV-VIS

A espectroscopia de absorbância é utilizada para determinar propriedades químicas e físicas das moléculas. A absorção de radiação visível e ultravioleta depende primariamente do número e da distribuição de cargas existente na molécula de estudo, o pico de absorção está relacionado ao tipo de ligação química e à distribuição eletrônica, sendo portanto característico de cada material.

O espectrofotômetro emite um feixe de luz monocromática que atinge a amostra. Uma parte desta radiação é absorvida, outra refletida e há ainda uma parte que sofre espalhamento, assim a medida realizada quantifica quanta luz chegou ao detector.

Quando a radiação é absorvida pelo material ela pode ser convertida em vários tipos de energia, como por exemplo, energia cinética de vibração, que causa um aumento na temperatura da amostra. Alternativamente, esta energia pode ser suficiente para excitar os elétrons da substância, o que resulta em transições eletrônicas e consequentes emissões de fótons, como no caso dos processos de fluorescência.

Neste estudo, a espectroscopia de absorbância foi utilizada para aferir concentrações do fármaco curcumina em solução de etanol, seguindo a Lei de Beer-Lambert.

3.1.1 Lei de Beer-Lambert

Quando um feixe de luz atravessa um meio, sua intensidade luminosa diminui. Isso ocorre por que uma parte dessa energia é absorvida pelas moléculas do meio, entre outros fatores.

Supondo que um feixe com energia radiante P atinge uma amostra em um recipiente transparente de comprimento l , a energia do feixe transmitido através da amostra terá

energia P_1 , de modo que $P_1 \leq P$

A transmitância é a fração de da radiação incidente que é transmitida pelo meio, e é definida por:

$$T = \frac{P_1}{P} \implies \%T = \frac{P_1}{P} \cdot 100 \quad (3.1)$$

Considerando que a luz de energia radiante P atravesse uma distância infinitesimal dx . A diminuição da energia é proporcional à energia incidente P , à concentração c e à espessura infinitesimal dx , como sugere a figura 3.1:

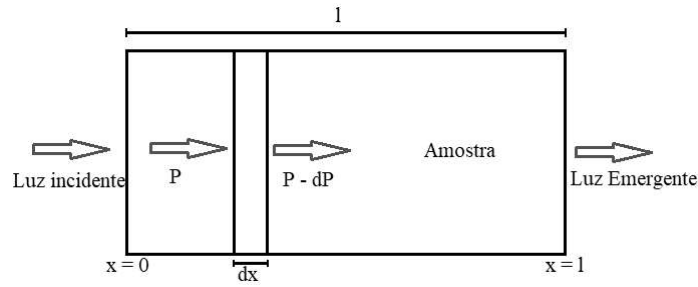


Figura 3.1: Diagrama ilustrativo da absorção óptica para uma amostra qualquer

Matematicamente:

$$\alpha dP - Pcdx \Leftrightarrow dP = -\beta Pcdx \quad (3.2)$$

Onde $\beta = 1/\alpha$ é uma constante de proporcionalidade, indicando que P diminui quando x aumenta. Integrando a equação acima:

$$-\frac{dP}{P} = \beta cdx \implies -\int_{P_1}^P \frac{dP}{P} = \beta c \int_0^l dx \implies -\ln(P) - (-\ln(P_1)) = \beta cl \quad (3.3)$$

$$\ln\left(\frac{P}{P_1}\right) = \beta cl \quad (3.4)$$

Como $\ln(x) = (\ln(10)) \cdot (\log(x))$:

$$\ln(10)\log\left(\frac{P}{P_1}\right) = \beta cl \implies \log\left(\frac{P}{P_1}\right) = \left(\frac{\beta}{\ln(10)}\right)cl \implies A = \epsilon cl \quad (3.5)$$

Onde A é a absorbância, ϵ a absortividade molar, c a concentração e l a espessura da amostra. Podemos assim estabelecer uma relação linear entre a absorção máxima

e a concentração do soluto, o que permite construir uma curva de calibração para a concentração de diversas substâncias.

3.2 Espectroscopia de Emissão Óptica UV-VIS

Este tipo de espectroscopia é utilizada para medir fenômenos de luminescência, como a fluorescência e a fosforescência. No trabalho abordado, nos concentraremos na fluorescência.

A fluorescência ocorre quando os elétrons de uma molécula são excitados por uma fonte de energia, sendo promovidos para níveis mais altos de energia. Entretanto, os elétrons excitados tendem a voltar ao seu estado fundamental, e ao retornar ao seu nível de energia original o elétron perde a energia extra na forma de fótons. Os materiais que apresentam o fenômeno de fluorescência podem ser caracterizados através da espectroscopia de excitação e de emissão.

Na espectroscopia de excitação escolhemos um comprimento de onda fixo, geralmente próximo ao comprimento de onda em que a amostra emite com maior intensidade. Em seguida, é medida a intensidade da emissão deste comprimento de onda fixo para todos os comprimentos de onda em um intervalo, obtendo assim um espectro de excitação.

Na espectroscopia de emissão, excitamos a amostra com um comprimento de onda específico e medimos a intensidade da emissão da amostra em cada comprimento de onda de um intervalo, obtendo assim um espectro de emissão.

3.3 Análise Termogravimétrica

Esta análise consiste em utilizar uma pequena massa do material a ser estudado e introduzi-la em um forno com atmosfera controlada de ar sintético. O resultado desta análise indica a perda de massa de material em função da temperatura, no caso, indica a quantidade de curcumina e água que foi adsorvida pela sílica, já que a queima destes materiais ocorre em temperatura muito menor em comparação à sílica. A perda de massa é medida por uma balança extremamente sensível, que analisa a massa em função da temperatura da amostra.

Capítulo 4

Metodologia Experimental

4.1 Espectroscopia de Absorção Óptica UV/VIS

Para determinar os espectros de absorção óptica UV-VIS das soluções de curcumina-etanol, foi utilizado um espectrofotômetro de absorção UV-VIS Cary-50 (Varian, EUA), que opera na região de 190 a 1100 nm. Para as análises foram preparadas soluções de curcumina (PDT Pharma) com pureza 99,5% em etanol nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{g/ml}$. Neste caso as análises foram realizadas utilizando uma microcubeta de quartzo de 1 mm de caminho óptico, permitindo medir absorbância de amostras com maiores concentrações. Com as medidas de absorção óptica e a concentração das amostras determinamos curvas de calibração mostrando o comportamento linear da absorbância com a concentração, com base na Lei de Beer para absorção óptica.

4.2 Espectroscopia de Excitação e Fluorescência UV-VIS

O laboratório está equipado com um espectrofotômetro de emissão UV-VIS Cary Eclipse (Varian, EUA). Através deste equipamento medimos os espectros de fluorescência na região de 400 a 800 nm, excitando a amostra com comprimento de onda de interesse (250 a 500 nm). Os espectros de excitação de soluções de curcumina-etanol foram obtidos com comprimento de onda de excitação de 200 a 500 nm monitorando a banda de fluorescência da amostra no comprimento de onda de máxima emissão, 540 nm. Para as análises foram preparadas soluções de curcumina em etanol nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g/ml}$. O pó de curcumina utilizado é comercialmente produzido pela PDT Pharma, e tem massa molar de 368,39 g/mol. Quantidades de curcumina foram dissolvidas em etanol P.A. e estas soluções foram levadas ao ultrassom por cinco minutos para a total dissolução da curcumina. As análises foram realizadas utilizando uma cubeta

padrão de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

4.3 Preparação da sílica Mesoporosa SBA-15

Para a preparação do pó de sílica mesoporosa (SBA-15) usa-se 4,0 gramas do copolímero Pluronic P123 em uma solução com 30 ml de H₂O e 120 ml de HCl a concentração 2M.

O Pluronic P123 é um copolímero tribloco simétrico compreendendo poli (óxido de etileno) (PEO) e poli (óxido de propileno) (PPO) de uma forma linear alternada, PEO-PPO-PEO. A característica única do bloco PPO, que é hidrofóbico em temperaturas acima de 288 K, leva à formação de micelas cilíndricas em solução aquosa ácida.

Essa solução reage durante 20 horas a 35 °C até que todo o material se dissolva, resultando numa solução micelar homogênea e estável.

A essa solução micelar de P123 é adicionado 9,1 ml de tetraetil ortosilicato (TEOS) e a mistura resultante reage por um período de 24 horas em temperatura de 35 °C para hidrólise. Após a hidrólise, o béquer com a solução é mantido em uma mufla por um período de aproximadamente de 16 horas em temperatura de 80 °C para envelhecimento até a completa formação da sílica e separação das fases. Após isso o pó de SBA-15 decantado é seco e removido.

4.4 Preparação das Amostras de curcumina em Etanol

Para a caracterização óptica da curcumina foram preparadas amostras de curcumina sintética (PDT Pharma) em etanol P.A., com concentrações de 5, 10, 15, 20, 30 e 40 µg/ml. As soluções foram levadas ao ultrassom por 5 minutos para dissolução completa da curcumina, que não é muito solúvel em etanol. Após este processo, as soluções são armazenadas em geladeira e longe da luz.

4.5 Preparação das Amostras de SBA-15:curcumina

Para a adsorção foi utilizado 0.5 g da sílica mesoporosa SBA-15 e 100 mg de curcumina sintética (PDT Pharma).

A curcumina apresenta muito baixa solubilidade em água e baixa solubilidade em etanol, portanto foi inicialmente dissolvida em 10 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) e pos-

teriormente adicionados 100 ml de etanol PA. A esta solução foi adicionada a sílica SBA-15.

A solução foi agitada em temperatura ambiente e sem luz solar por cerca de 24 h e a secagem em estufa a 40 °C se deu em um período de três semanas.

Ao final desse período, foi obtido um composto na forma de um pó amarelo intenso, cuja estrutura microscópica é ilustrada na figura 4.1, onde os poros hexagonais da sílica mesoporosa SBA-15 foram preenchidos pela curcumina



Figura 4.1: Diagrama ilustrativo da incorporação da curcumina na sílica mesoporosa SBA-15.

4.6 Fotodegradação da curcumina

A curcumina apresenta alta absorção óptica na faixa de 450 nm no espectro (luz azul). Este comprimento de onda é utilizado nos tratamentos da terapia fotodinâmica para a curcumina, por ser uma fonte luminosa não nociva ao tecido biológico humano. Portanto é importante que seja analisada esta parte do espectro.

Para realizar o teste, foi utilizado um LED azul com comprimento de onda 455 nm de alta intensidade. A intensidade máxima do LED é de até 1000 W/cm², medida a partir de um medidor de potência luminosa óptica (Thorlabs).

As amostras foram expostas à luz azul com intensidade constante e períodos de irradiação bem estabelecidos de acordo com a amostra (fluência luminosa constante). Monitoramos os espectros de fluorescência das amostras para quantificação da fotodegradação.

A intensidade da fonte de luz LED em 455 nm usada para irradiação das amostras foi de 80 mW/cm², e os testes foram feitos tanto para a curcumina em solução de etanol quanto para o composto SBA-15:curcumina.

4.7 Análise Termogravimétrica

O forno foi programado para aquecer de 24 até 900 °C com taxa de 10 °C/min. A massa é medida durante todo o processo de calcinação com uma balança de grande precisão, permitindo um acompanhamento da variação da massa com a temperatura.

4.8 Ensaio de Liberação em Água

Foi separada a quantidade de 0,2 g do pó SBA-15:curcumina para este teste. Esta quantidade foi dispersa em um béquer com 1 de água deionizada, com pH neutro.

Por meio da curva de calibração baseada na Lei de Beer, vista anteriormente, é possível determinar a concentração da curcumina em um solvente, que neste caso será a água. Portanto podemos monitorar a concentração da curcumina em função do tempo decorrido do teste.

A solução foi acompanhada durante 6 h, sendo as medidas realizadas inicialmente em intervalos de 10 minutos, passando a 30 minutos após decorrido 1 h de teste.

Capítulo 5

Resultados

5.1 Caracterização Óptica da curcumina em Etanol

5.1.1 Espectroscopia de Absorção Óptica UV-VIS

As medidas de absorbância foram realizadas para curcumina dissolvida em etanol em concentrações variando de 5 $\mu\text{g/ml}$ a 100 $\mu\text{g/ml}$, conforme apresentado na figura 5.1. Para determinar os espectros de absorção óptica UV-VIS das soluções de curcumina-etanol, foi utilizado um espectrofotômetro de absorção UV-VIS Cary-50 (Varian, EUA), que opera na região de 190 a 1100 nm. Foi utilizada uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 mm.

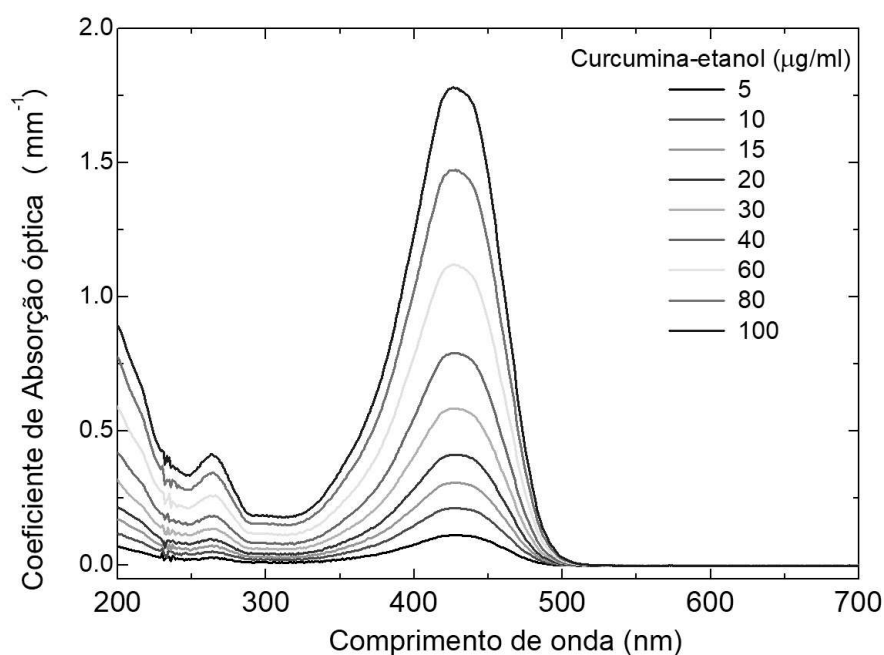


Figura 5.1: Espectros de absorção óptica para a curcumina com diferentes concentrações.

O pico de absorbância máxima da curcumina se desloca levemente para o violeta com a mudança de concentração, por efeitos de aglomeração das moléculas, tornando necessário o ajuste de duas curvas de calibração, uma para regimes de baixas concentrações e uma para regimes de altas concentrações, como visto na figura 5.2.

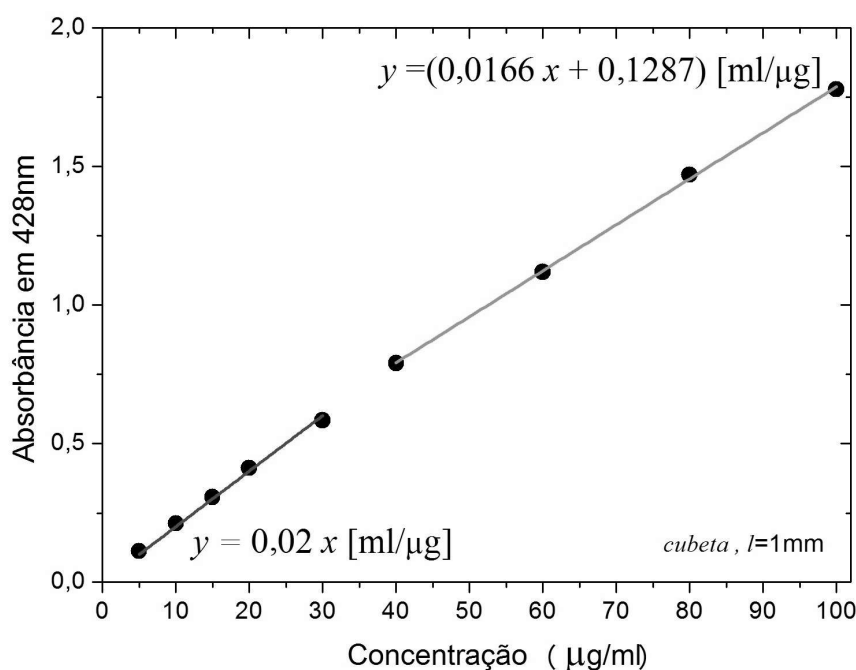


Figura 5.2: Curvas de calibração para a curcumina dissolvida em etanol, apresentando os dois regimes de concentração.

Podemos perceber que no regime de concentração até 30 µg/ml a curcumina apresenta absorbância proporcional a concentração da amostra, de acordo com a lei de Beer, $A = \epsilon.l.c$, onde ϵ é a absortividade molar ($M^{-1}cm^{-1}$), l é a espessura (cm) e c é a concentração (M, ou mol/L).

No regime de concentração de 40 a 100 µg/ml, também se observa um comportamento linear da absorbância com a concentração porém a reta não passa pela origem e não pode ser expressa pela lei de Beer. As equações obtidas por ajuste linear estão inseridas na figura 5.2.

Considerando a massa molar da curcumina igual a 368,4 g/mol, para o regime de baixas concentrações (até 30 µg/ml) obtivemos a absortividade molar $\epsilon = 73600 M^{-1}cm^{-1}$. Para altas concentrações (40 a 100 µg/ml) obtivemos a absortividade molar $\epsilon = 65500 M^{-1}cm^{-1}$.

5.1.2 Espectroscopia de Excitação e Fluorescência

O laboratório está equipado com um espectrofotômetro de emissão UV-VIS Cary Eclipse (Varian, EUA). Através deste equipamento medimos os espectros de fluorescência na região de 400 a 800 nm, excitando a amostra com comprimento de onda de interesse (250 a 500 nm). Os espectros de excitação de soluções de curcumina-etanol foram obtidos com comprimento de onda de excitação de 200 a 500 nm, monitorando a banda de fluorescência da amostra no comprimento de onda de máxima emissão, 540 nm, conforme a figura 5.3. Para as análises foram preparadas soluções de curcumina em etanol nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g/ml}$. O pó de curcumina utilizado é comercialmente produzido pela PDT Pharma, e tem massa molar de 368,39 g/mol. As soluções de curcumina em etanol foram levadas ao ultrassom por cinco minutos para a total dissolução da curcumina. As análises foram realizadas utilizando uma cubeta padrão de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

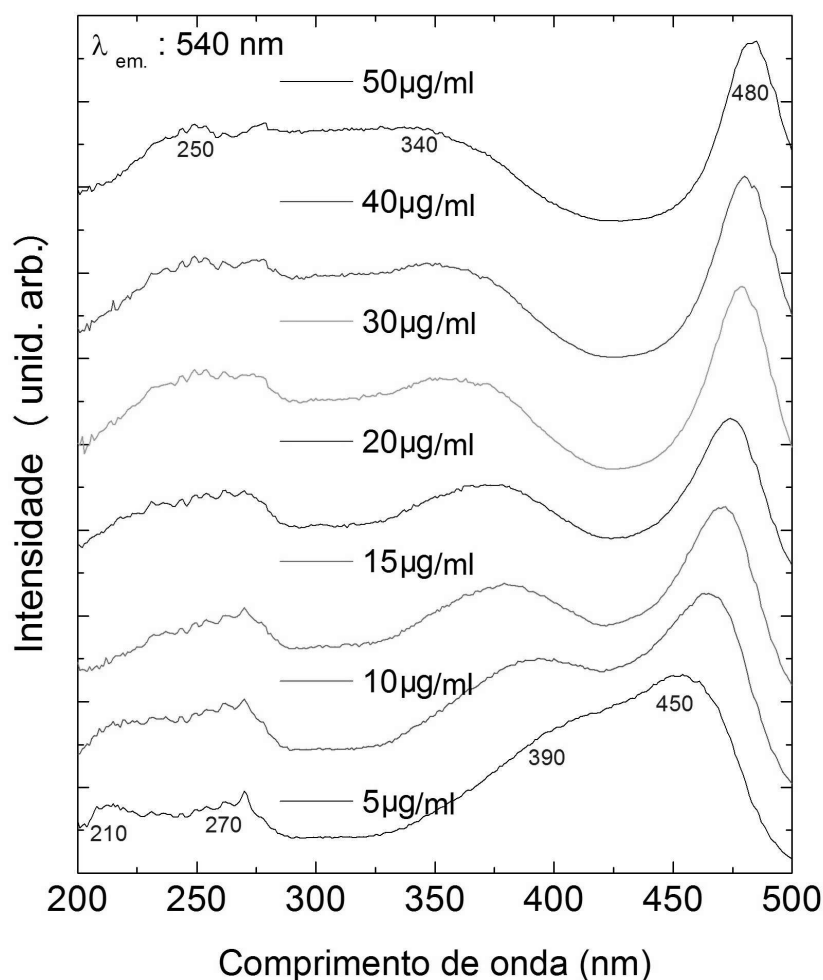


Figura 5.3: Espectros de excitação da curcumina para diferentes concentrações.

Pode-se perceber que há três bandas de excitação às quais se deslocam com o aumento da concentração. Estas bandas representam os níveis energéticos da molécula de curcumina e são características de cada material. Na tabela a seguir estão listados os comprimentos de onda de excitação máximos para cada banda de energia.

Nas concentrações mais baixas (5 µg/ml e 10 µg/ml) há uma pequena banda centrada em 210 e 270 nm. A banda em 210 nm diminui de intensidade até ser imperceptível e a banda em torno de 270 nm desloca para 250 nm com aumento da concentração. A banda inicialmente centrada em 390 nm se desloca para região de 340 nm, enquanto a banda centrada em 450 nm se desloca para região de 480 nm. Este resultado do deslocamento das bandas de excitação é típico de efeitos de agregação de moléculas de curcumina em solução, o que provoca um desbalanço de cargas, causando o *shift* nos picos de excitação

Tabela 5.1: Relação das concentrações de curcumina-etanol com a posição das bandas identificadas nos espectros de excitação da figura 5.3

Concentração ($\mu\text{g/ml}$)	Banda 1 (nm)	Banda 2 (nm)	Banda 3 (nm)
5	270	390	450
10	270	380	460
15	270	380	470
20	260	370	470
30	250	350	475
40	250	350	480
50	250	340	480

e formando dímeros e complexos moleculares maiores.

5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência

Os espectros de fluorescência foram medidos para cada uma das concentrações descritas anteriormente. Nestas análises a fluorescência foi monitorada, excitando as amostras com comprimento de onda em cada uma das três bandas observadas no espectro de excitação da figura 5.3, dependendo da concentração. Os resultados obtidos se encontram na figura 5.4.

O comportamento observado é compatível com o encontrado na literatura [10],[11] para a curcumina no solvente etanol, e o espectro de fluorescência é centrado em torno de 540 nm. A emissão máxima de fluorescência ocorre quando a amostra é excitada em torno de 450 nm, como era esperado e mostrado anteriormente nas medidas de absorção óptica.

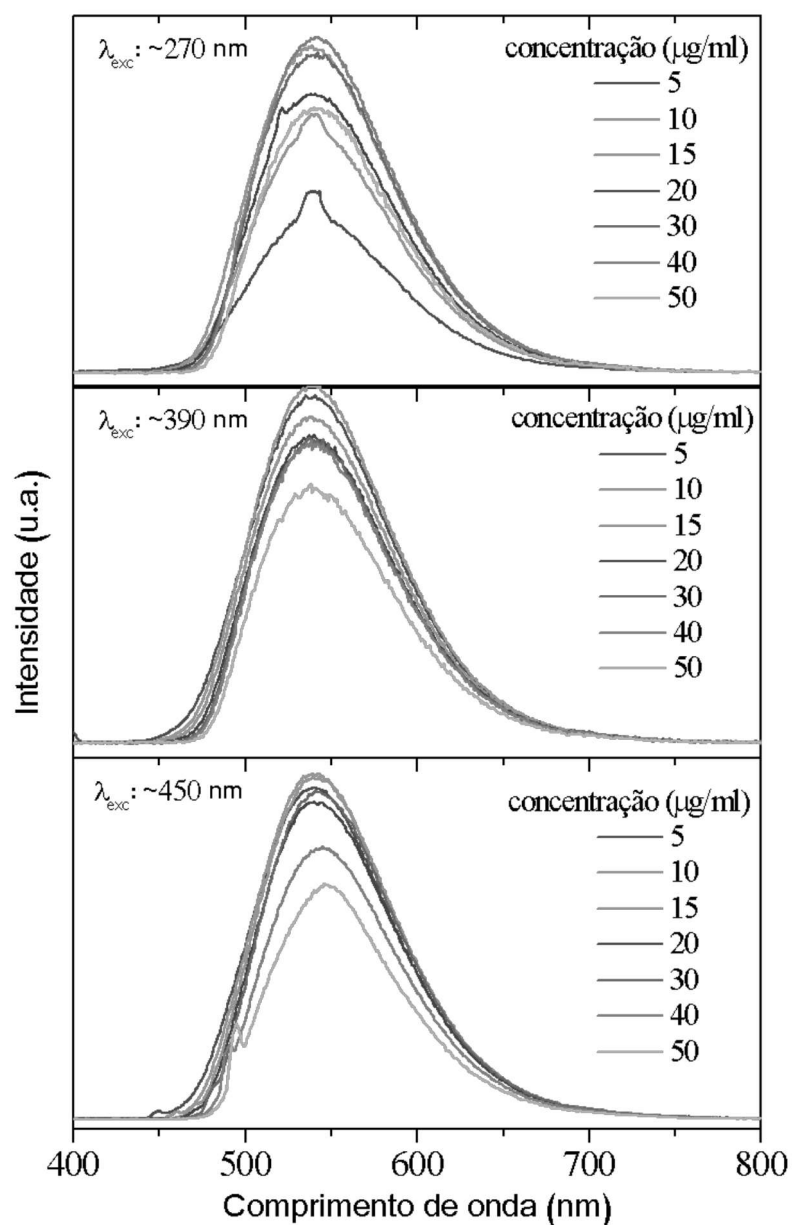


Figura 5.4: Variação da emissão de fluorescência para diferentes concentrações com λ_{ex} contemplando as três bandas de energia encontradas.

A intensidade da fluorescência depende da concentração, porém a posição da banda de emissão não se desloca com a concentração. As deformidades em forma de ‘bico’ observadas nas curvas da primeira banda de são geradas por conta de o comprimento de onda usado na excitação é o segundo harmônico do comprimento de onda de excitação do equipamento (artefato experimental).

Outro modo de analisar os resultados é realizando um cálculo de intensidade integrada para os espectros na figura 5.4. Dessa forma podemos visualizar o efeito da concentração na emissão, conforme a figura 5.5

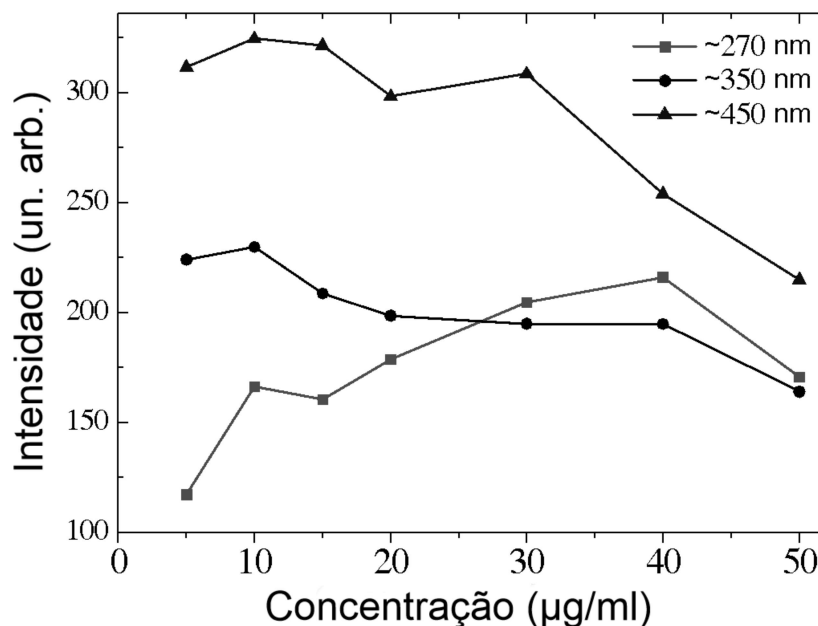


Figura 5.5: Intensidade integrada dos espectros de emissão para diferentes concentrações de curcumina dissolvida em Etanol.

Podemos observar que para concentrações acima de 30 µg/ml há uma redução na emissão de fluorescência para excitação em torno de 350 e 450 nm, o que indica efeitos de agregação das moléculas, com possível formação de dímeros e complexos moleculares maiores, já discutido na seção dos espectros de excitação das amostras. Processos de auto absorção e perda de energia por processos não radiativos devem ser considerados neste caso de maiores concentrações.

5.1.4 Fotodegradação de soluções curcumina–etanol sob luz azul

Como dito anteriormente, foi utilizado um LED azul com comprimento de onda de 455 nm para as medidas de fotodegradação de concentrações de curcumina em etanol (5, 10, 15, 20, 30, 40, e 50 µg/ml) e uma cubeta de quartzo de 1 mm de espessura, monitorando a intensidade dos espectros de fluorescência em 540 nm em função do tempo de irradiação com o LED. A intensidade do LED foi de 80 mW/cm² para 30 minutos de irradiação das amostras. Os resultados se encontram nas figuras 5.6 e 5.7 a seguir.

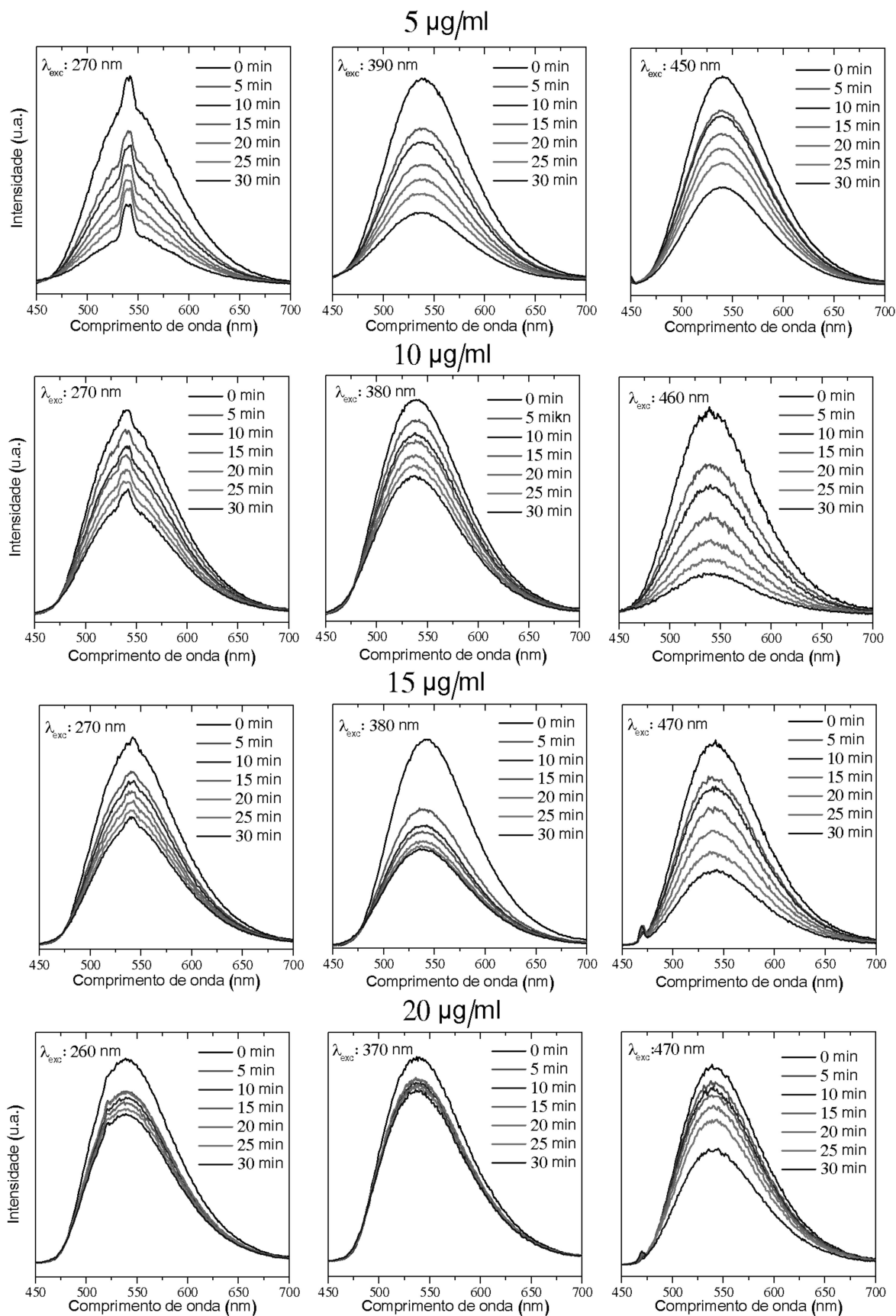


Figura 5.6: Fotodegradação das amostras de curcumina em etanol com concentração 5, 10, 15, e 20 µg/ml com irradiação com luz LED 455 nm com intensidade de 80 mW/cm².

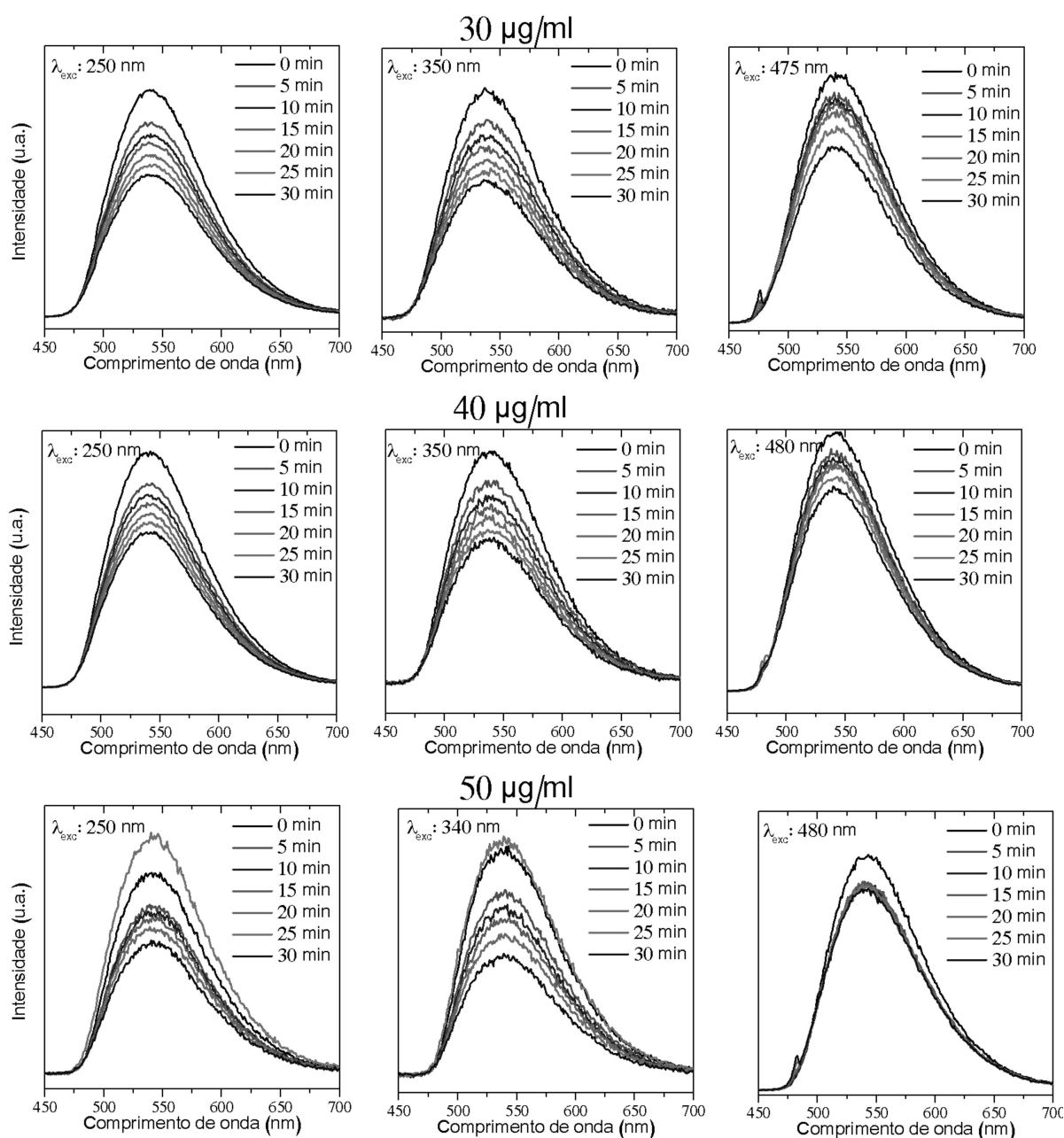


Figura 5.7: Fotodegradação das amostras de curcumina em etanol com concentração 30, 40, e 50 $\mu\text{g/ml}$ com irradiação com luz LED 455 nm com intensidade de 80 mW/cm^2 .

A fotodegradação que pode ser quantificada pela diminuição da intensidade de fluorescência devido a irradiação com LED azul pode ser analisada pela intensidade integrada de cada espectro obtido. Ao integrar a área sob cada uma destas curvas, obtivemos dados sobre como a intensidade integrada da fluorescência varia de acordo com o tempo de irradiação com LED azul indicando a fotodegradação da curcumina. Estes resultados estão expressos na figura 5.8.

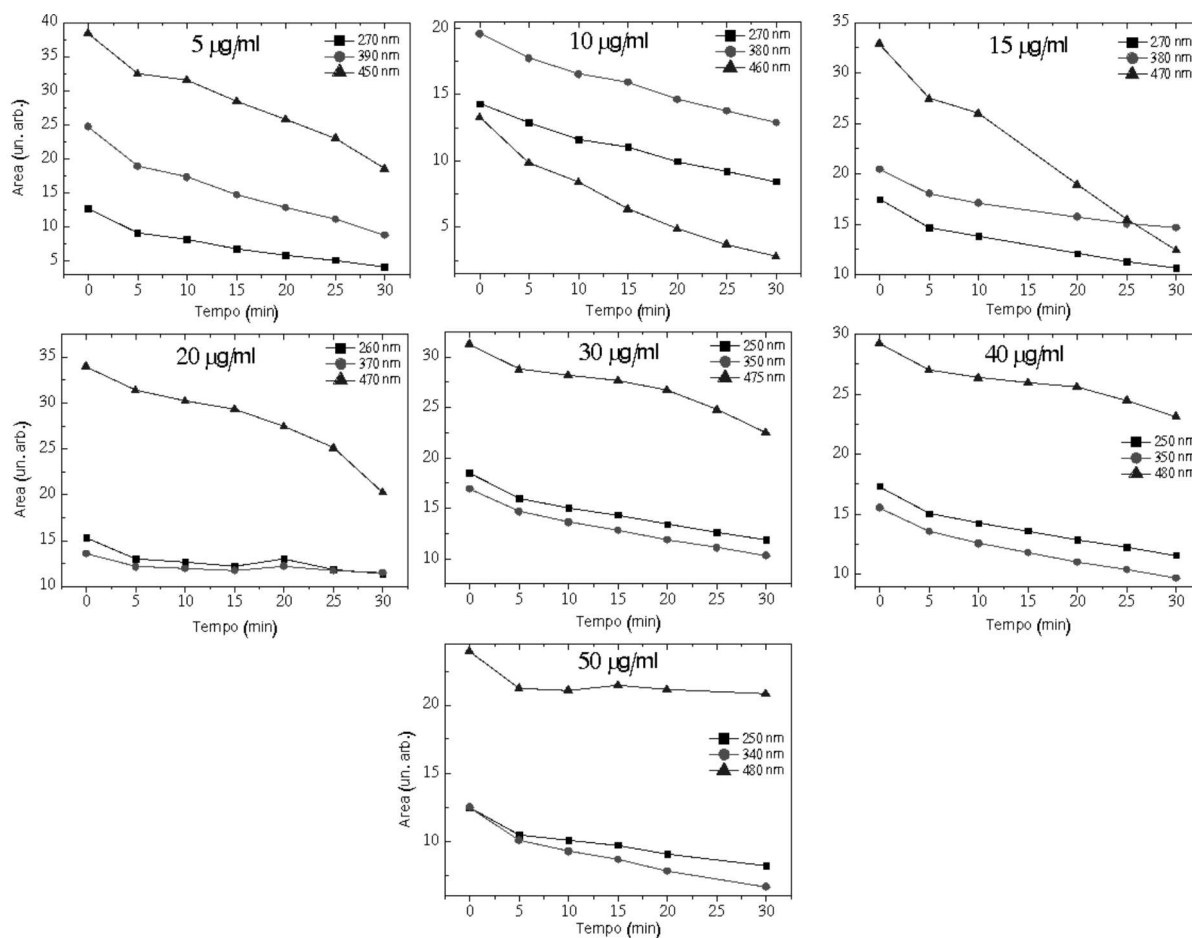


Figura 5.8: Intensidade integrada das curvas de fluorescência em relação ao tempo de irradiação com LED de 455 nm ($80 \text{ mW}/\text{cm}^2$), para diferentes concentrações de curcumina em etanol.

A fotodegradação indicada pela queda na intensidade integrada da emissão obtida com excitação em 450 nm apresenta uma queda mais abrupta, comparado aos espectros com excitação em torno de 250 e 350 nm (exceto para maior concentração). Isto se deve a maior intensidade de fluorescência para excitação em torno de 450 nm.

A fotodegradação é da ordem de 50% para concentrações até 20 µg/ml após 30 minutos de irradiação com LED azul com intensidade de $80 \text{ mW}/\text{cm}^2$. Para concentrações maiores que 20 µg/ml a fotodegradação é muito mais lenta devido a alta absorção de luz da curcumina nestas concentrações, impedindo a penetração da luz na solução.

5.2 SBA-15:curcumina

5.2.1 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG) foi realizada aquecendo uma pequena amostra do pó de SBA-15:curcumina até atingir 900°C , com uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$,

em uma atmosfera controlada. Outra medida foi realizada com a sílica SBA-15 pura, para efeito de comparação.

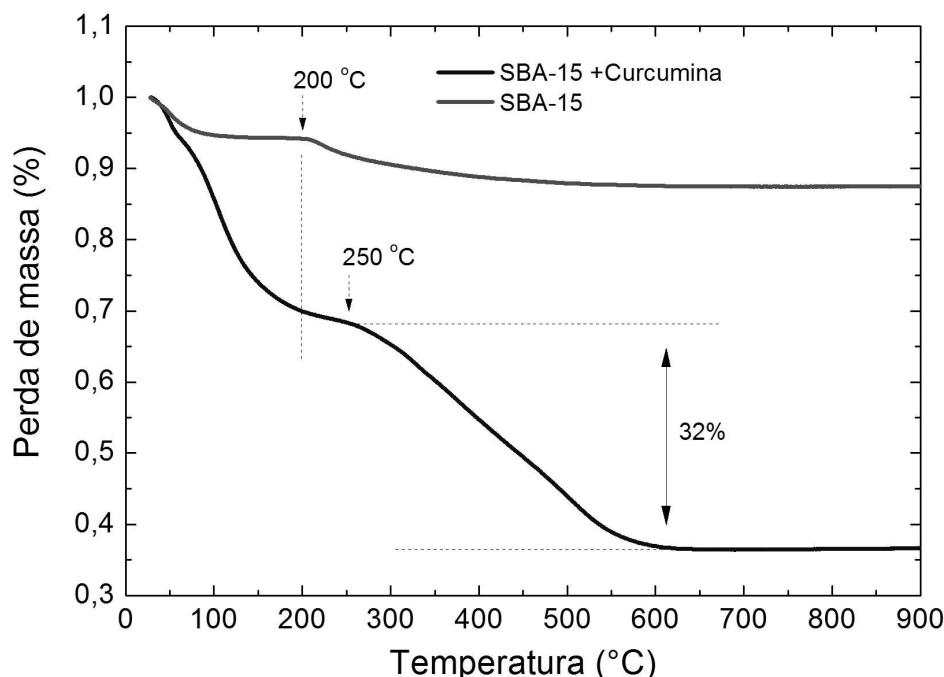


Figura 5.9: Análise termogravimétrica do pó SBA-15:curcumina

A sílica SBA-15 tem uma forte afinidade por água. A molécula de água fica fortemente ligada às paredes da sílica (por conta de grupos OH), fazendo com que sua evaporação ocorra em temperaturas mais elevadas que seu ponto de evaporação normal (em torno de 200 °C). Ultrapassada essa temperatura, ocorre a queima do material dentro dos poros da sílica.

Através da análise do gráfico, podemos perceber que houve uma perda de massa de aproximadamente 32% após a evaporação da água residual, o que indica que houve uma incorporação da curcumina nos poros da sílica SBA-15 desta ordem. Devemos observar que além da curcumina adsorvida na SBA-15, há moléculas residuais dos solventes e organosilanos utilizados, que podem permanecer fortemente ligados na mesoporosidade na SBA-15 mesmo em temperaturas acima de 200 °C, este fato é confirmado pela perda de massa de aproximadamente 8,0% em temperaturas acima de 250 °C mesmo para a amostra pura de SBA-15.

Para cálculo mais exato da quantidade de curcumina adsorvida na SBA-15, fizemos a subtração da curva de TG obtida para a amostra SBA-15 pura da curva obtida para a amostra SBA-15:curcumina, obtendo a incorporação efetiva de curcumina, como mostra a figura 5.10.

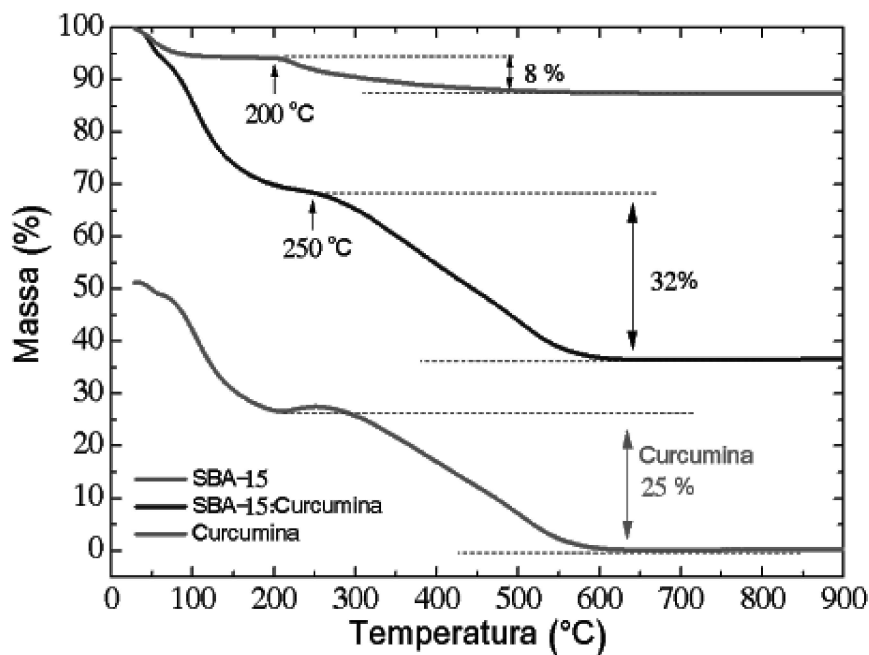


Figura 5.10: Análise termogravimétrica do pó de SBA-15:curcumina, em comparação com a amostra SBA-15 pura. A linha verde indica a perda de massa de curcumina obtida pela subtração do sinal da amostra SBA-15:curcumina da linha de base (SBA-15 pura).

Este resultado mostra que a sílica mesoporosa SBA-15 incorporada com curcumina tem um poder de incorporação de curcumina de aproximadamente 25% em massa em relação à massa de sílica mesoporosa.

5.2.2 Fotodegradação da sílica SBA-15:curcumina

Para a análise da fotodegradação das amostras de SBA-15:curcumina, foi utilizada a técnica de espectroscopia de fluorescência UV-VIS. A amostra foi irradiada por um LED azul (455 nm) com intensidade de 80 mW/cm² por períodos de um minuto entre medidas.

Inicialmente foi feita uma comparação entre os espectros de fluorescência da curcumina pura e da curcumina adsorvida na sílica, os resultados se encontram na figura 5.11.

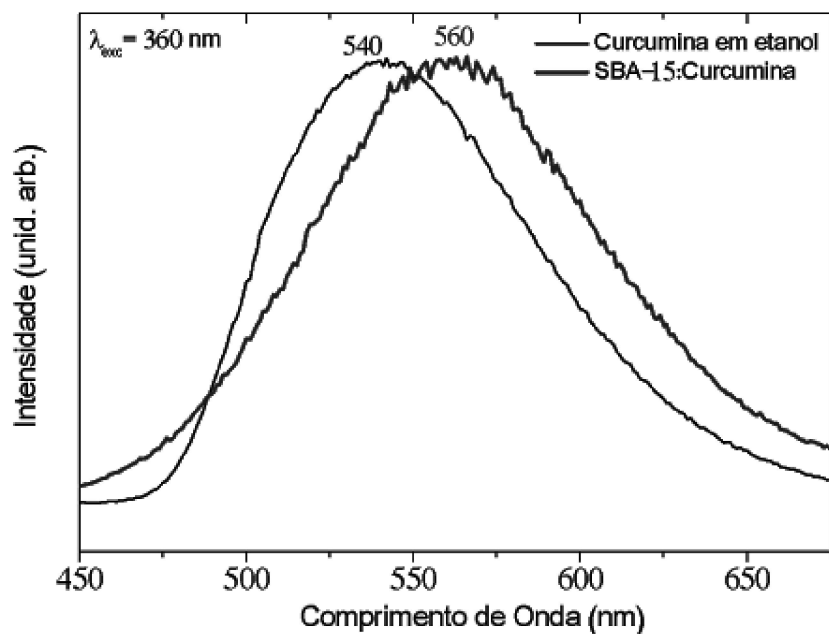


Figura 5.11: Espectro de fluorescência do composto SBA-15:curcumina medido com comprimento de onda de excitação 360 nm, em comparação com o espectro da curcumina em etanol.

Posteriormente obtivemos as curvas de intensidade *versus* comprimento de onda, como mostra a figura 5.12.

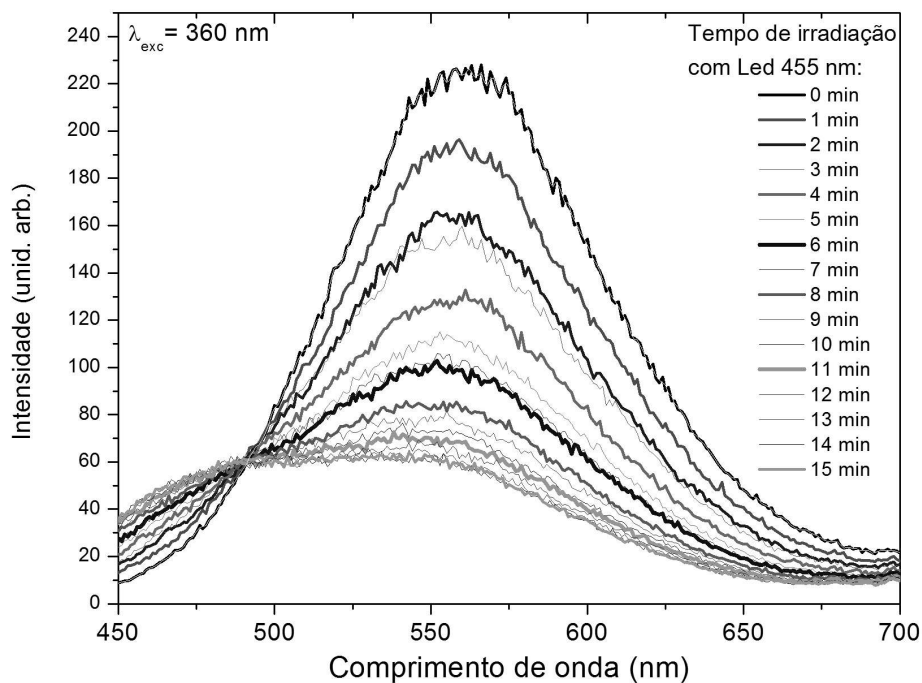


Figura 5.12: Espectros de fluorescência do pó de SBA-15:curcumina, irradiado por 15 minutos com luz de intensidade 80 mW/cm^2 .

A análise do gráfico nos leva a concluir uma queda acentuada na intensidade da fluorescência após 15 minutos de irradiação com o LED azul, o que dá evidências da fotodegradação de forma quantitativa. Percebemos também que existe um deslocamento dos picos do espectro, isso se deve ao fato de que a cor do pó é alterada de amarelo intenso (cor da curcumina in natura) para branco (cor da SBA-15 in natura) conforme a curcumina é degradada nos poros da sílica SBA-15, o que provoca uma mudança na faixa de emissão do pó.

Outra análise que facilita a compreensão dos dados envolve comparar as intensidades integradas (obtidas da figura 5.13) em relação ao tempo de irradiação, que nos dá dados sobre como a intensidade varia com o tempo, indicando a fotodegradação.

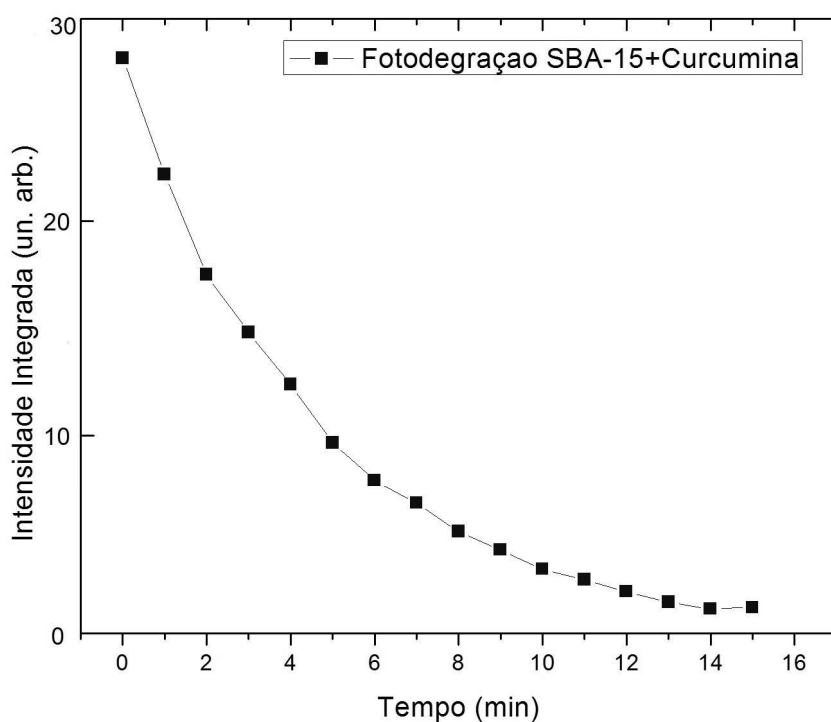


Figura 5.13: Intensidade integrada das áreas das curvas obtidas pela fotodegradação do pó de SBA-15:curcumina.

Por meio deste gráfico podemos ver um claro decaimento exponencial da fluorescência em função do tempo, o que indica uma fotodegradação muito acentuada. A intensidade da fluorescência medida teve uma queda de aproximadamente 92% com a irradiação com luz azul (455 nm) a 80 mW/cm^2 .

5.2.3 Ensaio de Liberação em Meio Aquoso

Este teste visa estudar a viabilidade da liberação da curcumina dos poros da SBA-15 em meio aquoso. Para o ensaio foram utilizados 0,2 g do pó de SBA-15:curcumina, posteriormente adicionado a 1 L de água deionizada.

Foram realizadas medidas de absorbância durante seis horas, em períodos inicialmente de 10 minutos, passando para a cada 30 minutos após a primeira hora, de forma a monitorar o comportamento da liberação ao longo de um extenso período de tempo. Assim, obtivemos uma curva que relaciona a absorbância máxima e o tempo.

Com a curva de calibração obtida anteriormente, podemos aplicar a lei de Beer-Lambert e obter a concentração do soluto na solução com base em sua absorbância máxima, desse modo foi possível construir um gráfico do tipo concentração $\times$ tempo, conforme a figura 5.14

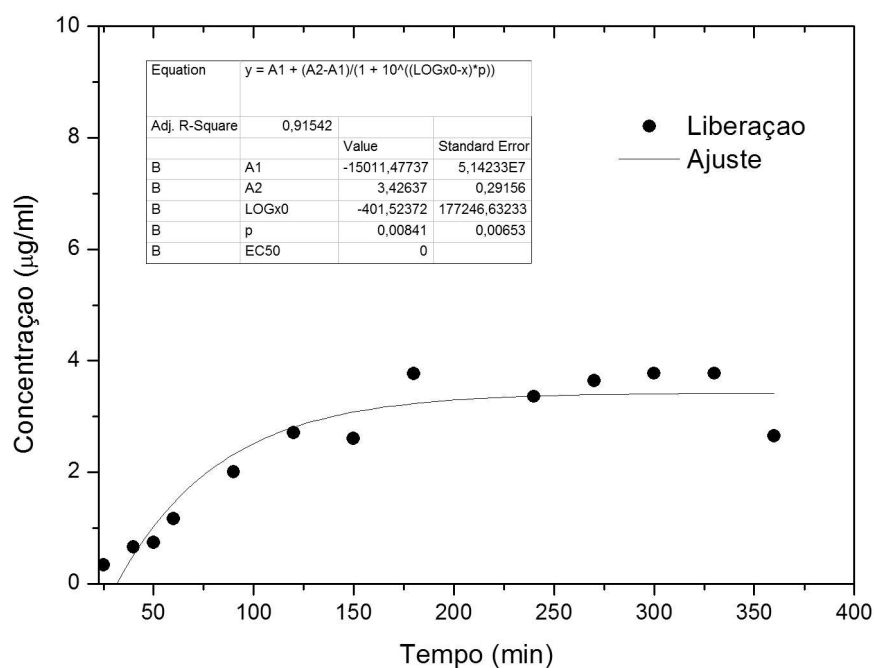


Figura 5.14: Curva de liberação do fármaco em meio aquoso em relação ao tempo.

A concentração máxima observada foi por volta de 4 $\mu\text{g/ml}$, onde a concentração atinge um nível de saturação pelas horas decorrentes do teste.

Capítulo 6

Conclusões

Os espectros de absorvância óptica indicam que a curcumina obedece à Lei de Beer para baixas concentrações, de até 30 $\mu\text{g/ml}$. Acima desta concentração, efeitos de agregação das moléculas passam a causar alterações no comportamento da absorvância, fazendo com que a curcumina deixe de seguir a Lei de Beer.

Os espectros de excitação nos proporciona a observação de três bandas de energia distintas. As bandas se deslocam com a concentração, sendo este um efeito muito observado para efeitos de aglomeração de moléculas, principalmente em solventes polares. A observação destas bandas de energia tornaram possível um estudo mais aprofundado da fluorescência, e por conseguinte da fotodegradação.

O pico de fluorescência das amostras de curcumina dissolvida em etanol se encontra em 540 nm, coerente com sua cor amarela. O pico não se desloca de acordo com a concentração, entretanto sua intensidade varia.

A fotodegradação se mostrou expressiva para baixas concentrações (5, 10, 15 e 20 $\mu\text{g/ml}$), sendo que atingiu 75% na banda 1, 45% na banda 2 e 58% na banda 3. Para altas concentrações (30, 40 e 50 $\mu\text{g/ml}$), os valores foram 57% para a banda 1 e 31% para as bandas 2 e 3.

Percebemos que para altas concentrações o decaimento da intensidade da fluorescência é menor, por conta de efeitos de aglomeração e espalhamento provocado pela proximidade das moléculas.

A análise termogravimétrica mostrou uma adsorção da ordem de 25% em massa de curcumina, representando um valor significativo de incorporação.

O teste de fotodegradação para o composto de SBA-15:curcumina foi exponencial, com diminuição da intensidade por volta de 90%.

Foi possível verificar que nas primeiras 3 h a concentração de curcumina liberada em

água, a partir da dissolução do pó de SBA-15:curcumina aumenta de forma expressiva, e então atinge um patamar de saturação, que se mantém até o fim do ensaio. A concentração máxima observada nestas condições foi de 4 µg/ml após aproximadamente 3 h. De acordo com as observações, é possível dizer que a liberação controlada da curcumina em meio aquoso é possível, entretanto, mais testes acerca da capacidade de adsorção da curcumina na SBA-15 precisam ser realizados.

Referências

- [1] Dongyuan Zhao, Jianglin Feng, Qisheng Huo, Nicholas Melosh, Glenn H Fredrickson, Bradley F Chmelka e Galen D Stucky. “Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores”. Em: *science* 279.5350 (1998), pp. 548–552.
- [2] Vaezeh Fathi Vavsari, Ghodsi Mohammadi Ziarani e Alireza Badiei. “The role of SBA-15 in drug delivery”. Em: *RSC advances* 5 (2015), pp. 91686–91707.
- [3] Valentina Nairi, Luca Medda, Maura Monduzzi e Andrea Salis. “Adsorption and release of ampicillin antibiotic from ordered mesoporous silica”. Em: *Journal of colloid and interface science* 497 (2017), pp. 217–225.
- [4] Karina Scaramuzzi, Denise Cristina André Oliveira, Luciana Vieira Carvalho, Denise Vilarinho Tambourgi, Elisabeth Christina Nunes Tenório, Marisa Rizzi, Juliana Mussalem, Márcia Carvalho de Abreu Fantini, Viviane Fongaro Botosso et al. “Utilização da sílica nanoestruturada SBA-15 como adjuvante em imunizações com a vacina para hepatite B”. Em: *einstein (São Paulo)* 9.4 (2011), pp. 436–441.
- [5] T da Silveira, CM Awano, DA Donatti, FS de Vicente e DR Vollet. “About the thermal stability and pore elimination in the ordered hexagonal mesoporous silica SBA-15”. Em: *Microporous and mesoporous materials* 190 (2014), pp. 227–233.
- [6] Ana Paula da Silva, Fernanda M Carbinatto, Vanderlei S Bagnato e Natalia M Inada. “A promising strategy for the treatment of onychomycosis with curcumin and photodynamic therapy”. Em: *J. Pharm. Pharmacol.* 3 (2015), pp. 434–437.
- [7] Larissa Marila de Souza, Sebastião Pratavieira, Natalia M Inada, Kleber T Oliveira, Cristina Kurachi e Vanderlei S Bagnato. “Evaluation of photodynamic effects of curcumin against the dengue vector–*Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)”. Em: *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 12.3 (2015), pp. 346–347.
- [8] Vitor Sueth-Santiago, Gustavo Peron Mendes-Silva, Débora Decoté-Ricardo e Marco Edilson Freire de Lima. “Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas”. Em: *Química Nova* 38.4 (2015), pp. 538–552.
- [9] Livia Nordi Dovigo, Juliana Cabrini Carmello, Carlos Alberto de Souza Costa, Carlos Eduardo Vergani, Iguatemy Lourenço Brunetti, Vanderlei Salvador Bagnato e Ana Cláudia Pavarina. “Curcumin-mediated photodynamic inactivation of Can-

- didia albicans in a murine model of oral candidiasis”. Em: *Sabouraudia* 51.3 (2013), pp. 243–251.
- [10] Digambara Patra e Christelle Barakat. “Synchronous fluorescence spectroscopic study of solvatochromic curcumin dye”. Em: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 79.5 (2011), pp. 1034–1041.
- [11] Fatima Mohammed, Fiza Rashid-Doubell, Seamas Cassidy e Fryad Henari. “A comparative study of the spectral, fluorometric properties and photostability of natural curcumin, iron-and boron-complexed curcumin”. Em: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 183 (2017), pp. 439–450.
- [12] Larissa Marila de Souza. “Viabilidade da implementação em campo da ação fotodinâmica da curcumina para o controle de larvas do *Aedes Aedypti*”. Em: *Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos* (2019).