UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

BRENDA GOMES FANCHIOTTI

ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CURCUMINA EM QUITOSANAS COMERCIAL E ANFIFÍLICA

São Carlos

BRENDA GOMES FANCHIOTTI

ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CURCUMINA EM QUITOSANAS COMERCIAL E ANFIFÍLICA

Versão Revisada

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Físico-Química.

Orientadora: Prof. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro

À minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre.

À minha mãe, Rosa. Pessoa inestimável, amorosa, doadora e paciente. Meu amor por você é infinito. Muito obrigada, pois mesmo com a distância entre nós, você sempre me apoiou e aconselhou até quando eu pensava que não iria conseguir.

Ao meu pai e meu irmão, Job e Juliano, pelo amor e apoio ao longo desta jornada. Amo vocês.

Aos meus tios, em especial à minha tia Ziza e ao Tio Edi, por me acolherem e me apoiarem quando eu mais precisei.

Ao meu esposo, Jorge, por todo amor, carinho, paciência e cumplicidade, e a toda sua família, que me receberam de braços abertos e cuidaram de mim em momentos cruciais.

À Prof. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro, pelo suporte, confiança e amizade ao longo desse período. Obrigada pela oportunidade.

À amiga e técnica do laboratório, Dra. Alessandra Lima Poli Leves pelos momentos de discussão, trabalho, ensinamentos, bem como aqueles de descontração. O meu sincero agradecimento.

Aos meus amigos do Grupo de Fotoquímica: Virgínia, Juliana, Mariana, Bruno, Marco, Anderson, Henrique, Fran, Silvano e Willian que foram fundamentais em tornar a jornada mais leve e descontraída, com muitas memórias para se recordar. Em especial, meu agradecimento à Ju que me deu suporte para iniciar a pesquisa e como amiga tornava meus dias muito melhores. Aos amigos inesquecíveis, Vi e Anderson. Incontáveis momentos de risadas e de auxílio de vocês em todas as áreas. Muito obrigada!

A Camila Lacerda e Aldinéia por serem quem elas são. Seres humanos incríveis!

Ao CNPq pela bolsa concedida, tornando possível a execução deste projeto.

Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo por disponibilizar a infraestrutura necessária, e a todos os funcionários da USP, que direta ou indiretamente, contribuíram com essa pesquisa.

Meu mais sincero obrigada.

"Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menos se lhe faltasse uma gota."

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

O presente trabalho apresenta a síntese e a caracterização de um derivado anfifílico de quitosana, bem como a influência desse derivado e da quitosana comercial sobre as propriedades espectroscópicas da curcumina (CUR). Na etapa inicial, a quitosana comercial foi caracterizada e parcialmente despolimerizada. Em seguida, foram submetidas a reações de substituição para a inserção de grupos hidrofílicos (cloreto de 2-cloro-N,N-dietiletilamina -DEAE) e grupos hidrofóbicos (dodecila - DD) no polímero. Os graus médios de substituição por grupos DEAE e DD foram determinados por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (¹H RMN). A Concentração de Agregação Crítica (CAC) da quitosana anfifílica foi determinada $(0,011 \text{ g L}^{-1})$ utilizando pireno como sonda fluorescente. As propriedades fotofísicas da CUR na presença das quitosanas comercial e anfifílica foram estudadas por meio de técnicas de Espectroscopia de UV-Visível e de Fluorescência. Os espectros de absorção desse corante na presença da quitosana modificada, em concentrações acima da CAC, apresentaram deslocamento para o azul, formação da banda em 360 nm e redução da absorbância em 420-425 nm, indicando que a quitosana modificada estabilizou as moléculas da CUR na forma ceto. Nos espectros de fluorescência também foi observado deslocamento para o azul e aumento na intensidade de emissão à medida em que se aumentava a concentração do polímero modificado. Resultados similares foram obtidos para CUR em etanol, metanol e acetona, onde foi observada maior intensidade de emissão e deslocamento da banda para menores comprimentos de onda com a diminuição da polaridade do solvente. O valor de rendimento quântico obtido foi maior para o cromóforo em quitosana modificada (QM= 0,05 g/L, acima da CAC) do que nos outros ambientes estudados que continham quitosana. A porcentagem de degradação da CUR em QM 0,05 g L⁻¹ foi menor em comparação à degradação nos outros meios. A agregação das cadeias da QM nessa concentração, com a formação de ambientes apolares que envolvem as moléculas do corante, proporcionaram sua maior estabilidade.

ABSTRACT

This work presents the synthesis and characterization of an amphiphilic chitosan derivative and the influence of this polymer and commercial chitosan regarding the spectroscopic properties of curcumin. Firstly, the commercial chitosan was characterized and partially depolymerized. Then, the substitution reactions were carried out to insert hydrophilic groups (DEAE) and hydrophobic groups (dodecyl). The average degree of substitution by DEAE and dodecyl groups was determined by Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹H NMR). The Critical Aggregation Concentration (CAC) of amphiphilic chitosan was evaluated (0.011 g L^{-1}) using pyrene as a fluorescent probe. The curcumin photophysical properties in the presence of commercial and amphiphilic chitosans were studied by UV-visible Spectroscopy and Fluorescence techniques. The curcumin absorption spectra in the amphiphilic chitosan presence, at concentrations above CAC, presented a blue shift, band formation at 360 nm and absorbance reduction at 420-425 nm, indicating that modified chitosan stabilized curcumin molecules in the keto form. The fluorescence spectra also presented a blue shifted, however, the emission intensity increased with an increasing of modified polymer concentration. Similar results were obtained with curcumin in ethanol, methanol and acetone, it was observed the emission intensity increased and a band shift to smaller wavelengths due to a decreased of solvent polarity. The fluorescence quantum yield obtained for curcumin in modified chitosan presence (QM= 0.05 g/L, above CAC) was higher than other studied chitosan environments. The curcumin degradation percentage in QM 0,05 g L⁻¹ decreased in comparison to other environments. The QM chain aggregation in this concentration, with the formation of nonpolar environments that involve dye molecules, promotes more stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de Jablonski ilustrando os processos fotofísicos do estado excitado 14
Figura 2: Equilíbrio tautomérico ceto-enólico da CUR17
Figura 3: Possíveis formas cis-trans e ceto-enol para a CUR
Figura 4: Produtos formados a partir da degradação da CUR20
Figura 5: Equilíbrios da dissociação ácida da CUR21
Figura 6: Fórmula estrutural idealizada de quitina (x < y) e quitosana (x \ge y)23
Figura 7: Esquema ilustrativo de auto-organização e encapsulamento de corante apolar em
solução aquosa contendo quitosana anfifílica25
Figura 8: Representação da estrutura química dos reagentes utilizados na síntese da quitosana
anfifílica
Figura 9: Espectro de ¹ H RMN da quitosana comercial em D ₂ O/HCl35
Figura 10: Espectro de ¹ H RMN do derivado hidrofílico de quitosana em D_2O/HCl sem
supressão de H2O e fórmula estrutural idealizada dos monômeros contendo DEAE e os
hidrogênios H ¹ que produzem os sinais utilizados
Figura 11: Espectro de ¹ H RMN do derivado anfifílico, em D ₂ O/HCl sem supressão de H ₂ O e
fórmula estrutural idealizada dos monômeros contendo DEAE, dodecil e os hidrogênios H ¹ que
produzem os sinais utilizados
Figura 12: Fórmula estrutural idealizada da QM40
Figura 13: Espectros de FTIR-ATR dos polímeros QC e QM41
Figura 14: Interações de ligação de hidrogênio da CUR e moléculas de quitosana42
Figura 15: Simulação da interação de autoassociação da QM com o pireno42
Figura 16: Estrutura molecular do pireno43
Figura 17: Espectro de emissão do pireno 7,5 \times 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ em solução tampão de ácido acético
$(0,3 \text{ mol } L^{-1})$ / acetato de sódio (0,2 mol L^{-1}), pH 4,5 em que os picos I e III são indicados43
Figura 18: Gráficos da Concentração de Agregação Crítica da QM em a) escala logarítmica e
b) escala normal44
Figura 19: a) Espectros de UV-Vis e b) Fluorescência da CUR em diferentes solventes46
Figura 20: a) Espectro de UV-Vis e de b) fluorescência da CUR em solução aquosa e em
quitosanas
Figura 21: Espectros de absorção e fluorescência da riboflavina em etanol (λ_{exc} = 420 nm)49

Figura 22: Espectros de UV-Vis e fluorescência da CUR $2,5 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ em a e b) solução
tampão pH 4,5; c e d) QC 0,05 g L ⁻¹ ; e f) QM 0,005 g L ⁻¹ ; g e h) QM 0,01 g L ⁻¹ ; i e j) QM 0,05
g L ⁻¹ , respectivamente
Figura 23: Decaimento dependente do tempo da CUR 2,5 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ nos tempos iniciais em
tampão pH 4,5, QC 0,05 g L ⁻¹ , QM 0,01 g L ⁻¹ e QM 0,05 g L ⁻¹ (λ = 420 nm)

SUMÁRIO

1	INTRO	DUÇÃO	12
	1.1 PR	INCÍPIOS DE FOTOFÍSICA	14
	1.1.1	Processos não-radiativos	15
	1.1.2	Processos radiativos	16
	1.2 CU	JRCUMINA	17
	1.2.1	Estrutura química e equilíbrio ceto-enólico	17
	1.2.2	Efeito do meio e constantes de acidez	19
	1.2.3	Propriedades físico-químicas e aplicações	21
	1.3 QU	JITOSANA	22
	1.3.1	Obtenção e grau médio de desacetilação	22
	1.3.2	Modificações químicas	24
2	OBJET	IVOS	28
	2.1 OE	BJETIVO GERAL	28
	2.2 OF	BJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3	MATE	RIAIS E MÉTODOS	29
	3.1 RE	EAGENTES	29
	3.2 SÍ	NTESE DOS DERIVADOS DE QUITOSANA	29
	3.2.1	Despolimerização parcial da quitosana	29
	3.2.2	Síntese do derivado hidrofílico de quitosana	30
	3.2.3	Síntese do derivado anfifílico de quitosana ou quitosana modificada (QM)	30
	3.3 CA	ARACTERIZAÇÃO DAS QUITOSANAS COMERCIAL E MODIFICADA	31
	3.3.1	Viscosimetria	31
	3.3.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (¹ H RMN)).31
	3.3.3	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletân	ncia
	Total A	tenuada (FTIR-ATR)	32

3.3.4 Determinação da Concentração de Agregação Crítica (CAC) da quitosana modificada
3.4 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCOPICA DA CURCUMINA NA PRESENÇA
DO DERIVADO DE QUITOSANA ANTITIERA E QUITOSANA COMERCIAL
3.4.1 Espectroscopia de UV-visível e de fluorescência estacionária
3.4.2Rendimento quântico de fluorescência (ΦF)33
RESULTADOS E DISCUSSÃO
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA QUITOSANA E DE SEUS DERIVADOS
4.1.1 Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média
4.1.2 Determinação do grau médio de desacetilação da quitosana comercial35
4.1.3 Determinação do grau médio de substituição por grupos DEAE no derivado de
quitosana hidrofílico
4.1.4 Determinação do grau médio de substituição por grupos DD no derivado
anfifílico
4.1.5 Caracterização da QC e QM por Espectroscopia no Infravermelho com
Transformada de Fourier por Refletância Total Atenuada (FTIR - ATR)40
4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AGREGAÇÃO CRÍTICA (CAC)
DA QUITOSANA MODIFICADA
4.3 PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DA CURCUMINA EM SOLVENTES
ORGÂNICOS
4.4 INTERAÇÃO DA CURCUMINA COM QC E QM47
4.5 RENDIMENTO QUÂNTICO DE FLUORESCÊNCIA DA CURCUMINA EM
SOLVENTES ORGÂNICOS, QC E QM
4.6 ESTABILIDADE DA CURCUMINA EM QC E QM51
5 CONCLUSÃO
5 REFERÊNCIAS

1 INTRODUÇÃO

A cúrcuma (açafrão-da-Índia) tem sido uma substância muito utilizada como condimento pelo continente Asiático. Por muitos anos, foi usada como agente fitoterápico para tratar doenças comuns como: resfriados, febre, doenças do fígado e de pele, dores de estômago, feridas abertas, inflamações crônicas, entre outras (AGGARWAL et al., 2007). Além disso, doenças mais complexas como cânceres pareciam ser amenizadas devido à baixa incidência (10-50% menos) no sistema digestivo das pessoas que consumiam regularmente a cúrcuma, e isso despertou o interesse dos pesquisadores (CARTER, 2008).

Um grupo de compostos fenólicos foi identificado como sendo responsável pelo princípio ativo da cúrcuma, chamados de curcumina (74-78%), demetoxicurcumina (15-18%) e bisdemetoxicurcumina (4-6%) (NADI et al., 2015). Embora a estrutura da curcumina tenha sido descoberta em 1910 por Milobedzka e Lampe na Alemanha, o seu potencial biológico só começou a ser identificado na década de 40 (AGGARWAL e SUNG, 2009). A partir disso, o interesse pela molécula aumentou e estudos relatam muitas propriedades benéficas da curcumina na química (POURREZA e GOLMOHAMMADI, 2015) e na biologia (AHMED et al., 2018). Atualmente, a maioria das pesquisas é direcionada a superar a principal desvantagem da curcumina, a hidrofobicidade.

A curcumina apresenta menor agregação e melhores resultados de processos fotofísicos em ambientes apolares. Em solventes orgânicos apolares, por exemplo, foram obtidos melhores resultados de rendimento quântico de fluorescência quando comparado com solventes polares (PRIYADARSINI, 2009) e, em sistema micelar a curcumina apresentou mais estabilidade (WANG et al., 2006). Alternativas para tentar solucionar o desafio de solubilizar a curcumina em água vêm sendo investigadas, tais como, encapsulação da curcumina em nanopartículas (YALLAPU et al., 2010), lipossomas (TAKAHASHI et al., 2009), dentre outras.

Biopolímeros, como a quitosana, têm sido utilizados nesses tipos de estratégias por possuir alta biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (KUMAR et al., 2016). Desta maneira, esse biopolímero apresenta muitas aplicações como: formulações farmacológicas (WANG et al., 2010), curativos de pele (BANO et al., 2017), tratamento de água (THUC et al., 2016), entre outras. Outra característica importante da quitosana é a sua capacidade de se ligar à íons (WEBSTER et al., 2007) devido ao fato de se tornar um eletrólito em soluções aquosas ácidas (PEDRO, 2017); além disso, nesse meio é capaz de se autoassociar originando micro domínios apolares. A formação de agregados de quitosana em água ocorre devido às interações intra- e intermoleculares de sua cadeia com o meio no qual está inserida. Modificações químicas na estrutura da quitosana têm sido estudadas com a finalidade de melhorar essa característica. Assim, neste trabalho foi realizada a síntese de uma quitosana anfifílica por meio da inserção de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos com esse intuito.

Dentro desse contexto, esse estudo teve como objetivo avaliar o comportamento da quitosana comercial e do derivado de quitosana sintetizado em solução aquosa ácida a fim de analisar suas interações e influências sobre as propriedades espectroscópicas e estabilidade da curcumina.

1.1 PRINCÍPIOS DE FOTOFÍSICA

Os cromóforos são grupos presentes em algumas moléculas e possuem a capacidade de absorver luz. Quando expostos à radiação eletromagnética com frequência de oscilação semelhante às suas frequências de vibrações, a ressonância gerada permite a absorção de luz e então um elétron do cromóforo pode ser promovido para o estado excitado de maior energia.

Nessa transição eletrônica um dipolo elétrico é produzido e a energia do fóton se torna parte da energia total da molécula no estado excitado. O retorno da molécula para o estado fundamental ocorre por diferentes caminhos ilustrados no Diagrama de Jablonski (Figura 1) (TURRO, 1991; WARDLE, 2009).





Fonte: Adaptado de Wardle (2009).

Na Figura 1, os estados eletrônicos singletes S_0 , S_1 e S_2 representam o estado fundamental da molécula, o primeiro estado excitado e o segundo estado excitado, respectivamente. O estado triplete excitado está representado por T₁. As linhas onduladas indicam que a perda de energia foi através de calor (energia cinética), enquanto que as lineares mostram as transições verticais ou transições de Franck-Condon em que ocorre a liberação de energia na forma de luz. O Princípio de Franck-Condon diz que, em transições de natureza rápida o núcleo se move muito mais lentamente do que os elétrons, e por isso pode-se assumir que o núcleo permaneceu imóvel durante o fenômeno (TURRO, 1991).

1.1.1 Processos não-radiativos

Nos processos de transição não-radiativa a desativação da molécula não apresenta emissão de radiação eletromagnética. A liberação de energia acontece na forma de energia cinética, e este tipo de relaxação eletrônica está associado a movimentos vibracionais nucleares. Existem dois tipos de processos não-radiativos: um deles acontece entre o menor nível vibracional do estado excitado para o estado fundamental de mesma multiplicidade de spin (conversão interna) e o outro, ocorre entre estados eletrônicos excitados de multiplicidade de spins diferentes (cruzamento intersistemas) (TURRO, 1991).

No processo de conversão interna a diferença energética entre algum nível vibracional do estado excitado S_1 e o mais baixo nível vibracional do S_2 é relativamente pequena, por isso a transferência de energia é rápida, ocorrendo na ordem de 10^{-14} - 10^{-11} s para estados excitados como T_2 (v= 0) $\rightarrow T_1$ (v= n) e S_2 (v= 0) $\rightarrow S_1$ (v= n) e, 10^{-9} - 10^{-7} s entre o estado excitado e fundamental S_1 (v= 0) $\rightarrow S_0$ (v= n), por exemplo. Devido a isto, por não conseguirem competir com a conversão interna, outras transições não-radiativas e radiativas provenientes de estados excitados excitados eletronicamente superiores geralmente não acontecem (TURRO, 1991).

As espécies eletronicamente excitadas também podem passar por uma transição nãoradiativa proibida por spin onde o estado singlete se converte a triplete. Como a inversão do spin demanda energia, o estado triplete é menos energético que o estado singlete (LAKOWICZ, 2006).

Em suma, pode-se equacionar os processos não-radiativos de uma espécie química R da seguinte maneira:

$R + h\nu \rightarrow *R$	(1)

*R (S _n) \rightarrow *R (S ₁) + Δ (Conversão interna)	(2)

*R (T_n)
$$\rightarrow$$
 *R (T₁) + Δ (Conversão interna) (3)

*R (S_n) \rightarrow R (S₀) + Δ (Conversão interna) (4)

*R (S₁) \rightarrow R (T₁) + Δ (Conversão intersistemas) (5)

*R (T₁)
$$\rightarrow$$
 R (S₀) + Δ (Conversão intersistemas) (6)

Nas equações acima, R e *R representam uma espécie química e seu respectivo estado excitado, hv representa absorção de luz e Δ a emissão de calor, S_n, S₁ e S₀ e T_n, T₁ e T₀ representam os estados singlete e triplete, respectivamente (TURRO, 1991).

1.1.2 Processos radiativos

A luminescência acontece devido ao decaimento dos estados eletrônicos excitados e pode ser dividida em duas categorias: a fluorescência e a fosforescência. A presença de grupos cromóforos rígidos (com anéis aromáticos, por exemplo) nas moléculas irradiadas favorece estes processos devido à pouca perda de energia por movimentos vibracionais ou rotacionais.

A transição radiativa de um estado eletrônico excitado para um estado eletrônico inferior com mesma multiplicidade de spin é chamada de fluorescência e dessa forma é classificada como permitida por spin. A transição mais usual é a que acontece do menor nível vibracional do menor estado singlete excitado para o estado singlete fundamental (S_1 (v= 0) $\rightarrow S_0$). A fluorescência é extremamente permitida e por isso o tempo de decaimento ao estado fundamental é geralmente da ordem de pico- a microssegundos.

A fosforescência, por outro lado, é um processo proibido por spin e em razão disto, é mais lento e com menor intensidade de emissão. Então, para que esse decaimento seja possível o elétron do estado triplete T_1 deve inverter o spin de maneira que os elétrons dos estados triplete e singlete S_0 se emparelhem. Dessa forma, o fenômeno acontece na ordem de milissegundos a segundos (TURRO, 1991; LAKOWICZ, 2006).

Os processos radiativos são representados pelas seguintes equações:

$$R + h\nu \to *R \tag{7}$$

*R (S₁) \rightarrow R (S₀) + hv' (Fluorescência) (8)

*R (T₁)
$$\rightarrow$$
 R (S₀) + hv'' (Fosforescência) (9)

Nas equações acima, R e *R representam uma espécie química e seu respectivo estado excitado, S_1 , S_0 e T_1 , T_0 representam estados singlete e triplete, respectivamente, enquanto hv corresponde a absorção de luz, e hv' e hv'' a emissão de luz (TURRO, 1991).

1.2 CURCUMINA

1.2.1 Estrutura química e equilíbrio ceto-enólico

A cúrcuma, conhecida na comunidade científica como *Curcuma longa* e *Curcuma domestica*, é uma planta perene da família do gengibre (Zingerberaceae) amplamente cultivada na Índia, China e Indonésia. Possui rizomas tubérculos alaranjados e polposos, e tem sido muito usada como condimento (açafrão-da-Índia e curry), em cosméticos e na medicina chinesa e indiana tradicional (WANG et al., 2012).

A principal substância constituinte da cúrcuma, a curcumina (1,7-bis (4-hidroxi-3metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) (CUR), faz parte de uma classe de substâncias chamadas de curcuminoides que constituem essa planta em torno de 2-9 %, dependendo da origem e das condições de cultivo (PRIYADARSINI, 2014). A CUR é um pigmento amarelo, e como apresentado na Figura 2, consiste em uma estrutura de dois anéis fenólicos delimitados por uma dicetona insaturada que pode se interconverter por tautomerismo ceto-enólico dependendo do meio (GONÇALVES et al., 2017).

Figura 2: Equilíbrio tautomérico ceto-enólico da CUR.



Fonte: Adaptado de STANIĆ (2017).

A porção dicetona é responsável pela transferência do hidrôgenio intramolecular entre os dois confôrmeros que podem existir de diferentes formas cis- e trans- em solução, sendo: duas formas cis-enol fechadas, uma forma cis-enol aberta, três formas trans-enol, uma forma cis-diceto e duas formas trans-diceto (Figura 3). Fatores como temperatura, polaridade do solvente e substituição nos anéis aromáticos influenciam na contribuição relativa das diferentes formas tautoméricas (PRIYADARSINI, 2009).

Figura 3: Possíveis formas cis-trans e ceto-enol para a CUR.





Embora existam nove formas possíveis para o equilíbrio ceto-enólico da CUR, não há completa clareza a respeito de qual delas representa o estado fundamental. Contudo, estudos indicam que a forma cis-enólica é a energeticamente mais estável em solução e na fase sólida (KOLEV et al., 2005; BALASUBRAMANIAN, 2006; KUNDU e NITHIYANANTHAM, 2013). Esse comportamento é resultado da estabilização adicional promovida pela deslocalização do elétron π nos dois cromóforos ferúlicos conjugados e pela ligação de hidrogênio intramolecular presente na forma enólica (BALASUBRAMANIAN, 2006). Além disso, a geometria da forma enólica é planar com um ângulo diédrico de 180°, enquanto a forma ceto é torcida (SHEN e JI, 2007).

1.2.2 Efeito do meio e constantes de acidez

Como mencionado anteriormente, o equilíbrio tautomérico da CUR proveniente da porção da dicetona é altamente influenciado pelo meio no qual o corante está inserido e, tanto este equilíbrio quanto o isomerismo cis-trans da cadeia de carbono conjugado podem contribuir para o complexo comportamento da molécula.

Em solventes apolares e apróticos a CUR existe na forma enólica devido à transferência de hidrogênio intramolecular, enquanto que em solventes próticos, como o metanol, a ligação de hidrogênio intramolecular é rompida e então a forma enólica é convertida para a forma ceto. De maneira geral, há uma predominância da forma enólica em solventes orgânicos apolares, polares e próticos.

Em meio aquoso, a CUR também pode existir em equilíbrio entre ambas as formas ceto e enólica (PRIYADARSINI, 2014), sendo a forma ceto predominante em solução ácida/neutra e a forma enol em meio alcalino (GONÇALVES et al., 2017).

Contudo, a CUR é quimicamente instável em água e por esse motivo a molécula sofre degradação por hidrólise seguida de fragmentação molecular no período de 30 min (NADI et al., 2015). Testes realizados na faixa de pH de 3 a 10 mostraram que a decomposição da CUR é dependente do pH e, em condições neutras e básicas este processo é mais rápido, levando à formação de produtos como: metano ferúlico, ácido ferúlico, vanilina, e principalmente o trans-6-(4-hidróxi-3-metóxifenil)-2,4-dioxo-5-hexenal (Figura 4) (WANG et al., 1997). Acima do pH 7 a CUR vai perdendo a coloração amarela, tornando-se vermelha.

Figura 4: Produtos formados a partir da degradação da CUR.



Fonte: Adaptado de (WANG et al., 1997).

A CUR apresenta três prótons ionizáveis, dois referentes aos grupos OH fenólicos e um terceiro da porção enólica. Foi definida a existência de três constantes de acidez a partir dos seguintes equilíbrios (Figura 5) (PRIYADARSINI, 2009).

$H_3Cur \rightarrow H_2Cur + H^+, pK_{a_1} = 7,7 \text{ a } 8,5$ (g	grupo acetilacetona) (1	(0)
---	-------------------------	-----

$$H_2Cur^- \rightarrow HCur^{2-} + H^+, pK_{a_2} = 8,5 \text{ a } 10,4 \text{ (hidrogênio do grupo fenol)}$$
(11)

$$HCur^{2-} \rightarrow Cur^{3-} + H^+, pK_{a_3} = 9,5 \text{ a } 10,7 \qquad \text{(hidrogênio do grupo fenol)}$$
(12)

Figura 5: Equilíbrios da dissociação ácida da CUR.



Fonte: Adaptado de PRIYADARSINI (2009).

1.2.3 Propriedades físico-químicas e aplicações

A peculiaridade estrutural da CUR lhe confere diferentes propriedades medicinais, tais como: antioxidantes (NABAVI et al., 2014), anti-inflamatórias (BOYANAPALLI et al., 2018), antibacterianas (SATHISHKUMAR et al., 2010), antifúngicas (TEMBA et al., 2016) e anticarcinogênicas (LI et al., 2018), e tem potencial para tratar doenças como, diabetes, alergias, artrites, doença de Alzheimer, e outras enfermidades crônicas (STANIĆ, 2017).

A supressão de diferentes espécies de oxigênio reativas, como oxigênio singlete, ânion superóxido, nitrito de peróxido, entre outros, é o que caracteriza a ação antioxidante da CUR no seu estado fundamental. Os efeitos antioxidantes estão associados diretamente à presença dos grupos fenólicos na molécula, bem como à dos hidrogênios que os constituem. Este efeito é perdido quando ocorre a substituição dos hidrogênios por outro grupo funcional (STANIĆ, 2017).

Nos últimos anos, este corante (CUR) vem sendo usado como fotossensibilizador em terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*) (HE et al., 2018) e fotossensibilizador antimicrobiano (HEGGE et al., 2012) devido ao fato de atuar como sensibilizador de oxigênio singlete no seu estado excitado. Outro exemplo de uso da CUR como fotossensibilizador foi sua utilização na inativação de esporos fúngicos de *Aspergillus Flavus* (um contaminante alimentar que produz micotoxinas causadoras de câncer) (TEMBA et al., 2016).

A CUR também exibe propriedades quelantes em solução formando complexos com muitos metais e metaloides (LIU e LEE, 2009; SERPI et al., 2010; OJANI et al., 2012; MOHAJERI et

al., 2017). Pode ser utilizada na detecção de substâncias como ácido pícrico (PONNUVEL et al., 2016), amoxilina (OJANI et al., 2012), ácido úrico e ascórbico (PATRA e MALAEB, 2012) e de íons (CHAICHAM et al., 2010; POURREZA e GOLMOHAMMADI, 2014; SAITHONGDEE et al., 2014; YUE et al., 2014; RAJ e SHANKARAN, 2016; XU et al., 2016). Ademais, nanopartículas de CUR estão sendo aplicadas na fabricação de papel de laboratório como sensor de pH (POURREZA e GOLMOHAMMADI, 2015).

Pesquisas mostraram ainda que a CUR apresenta outras atividades biológicas como modulação da atividade de vários fatores chaves de transcrição (SANKPAL et al., 2016; AKDEMIR et al., 2017), fatores de crescimento (LIN et al., 2007), proteína quinase (SÁENZ et al., 2018) e outras enzimas que permitem identificar alvos envolvidos na progressão de câncer (LARASATI et al., 2018).

Apesar das suas características promissoras, a baixa solubilidade e estabilidade da CUR em meio aquoso tem limitado sua aplicação. A solubilidade é aumentada sob pH e temperatura mais elevados, porém nestas condições o corante pode rapidamente se degradar e fragmentar (BORUAH et al., 2012).

Assim, na intenção de promover a estabilidade, a solubilidade e, consequentemente a biodisponibilidade desta substância, algumas pesquisas estão sendo feitas com o intuito de sintetizar derivados de curcumina com novos substituintes (LIANG et al., 2009), enquanto outras buscam formulações solúveis em água como um novo veículo de liberação efetiva tais como: fosfolipídios (SEMALTY et al., 2010), ciclodextrinas (BAGLOLE et al., 2005), hidrogel (SHAH et al., 2008), lipossomas (KUNWAR et al., 2006), micelas (GHATAK et al., 2012), nanopartículas (BANERJEE et al., 2014), entre outros.

Resultados positivos de estabilização da CUR foram alcançados no uso de micelas catiônicas em pH elevado (LEUNG et al., 2008), bem como a solubilidade aumentada em sistemas baseados em ciclodextrinas ou nanonopartículas (CAÑAMARES et al., 2006; MOHANTY e SAHOO, 2010). Além disso, a CUR ainda pode se ligar a biopolímeros mantendo suas propriedades originais (MITRA, 2008; GOU et al., 2011).

1.3 QUITOSANA

1.3.1 Obtenção e grau médio de desacetilação

A quitosana é um biopolímero proveniente da reação de desacetilação da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza, depois da celulose, que faz parte do exoesqueleto

de insetos e de crustáceos como camarão, caranguejo e lagostas e de paredes celulares de alguns fungos como *Aspergillus* e *Mucor* (WANG et al., 2012; PEDRO, 2017). Possui alta bioatividade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (WANG et al., 2012; KUMAR et al., 2016)

Quitina e quitosana são copolímeros constituídos por diferentes proporções de monômeros de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranose unidos por ligações O-glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4) conforme apresentado na Figura 6. As ligações de hidrogênio inter- e intramoleculares presentes neste tipo arranjo conferem aos polímeros uma estrutura cristalina rígida (SHUKLA et al., 2013).

Figura 6: Fórmula estrutural idealizada de quitina (x < y) e quitosana ($x \ge y$).



Fonte: Adaptado de GABRIEL (2017).

A quitosana é majoritariamente composta por grupos amino, enquanto a estrutura polimérica da quitina apresenta maior quantidade de grupos acetamido. Essa diferença de proporção pode ser expressa por medidas complementares, denominadas como grau médio de desacetilação (\overline{GD}) ou grau médio de acetilação (\overline{GA}). O \overline{GD} é a taxa entre unidades desacetiladas (amino) e as unidades acetiladas (acetamido) presentes na posição C2 da cadeia principal do polímero. Ao atingir um grau médio de desacetilação igual ou superior a 50%, o polímero é denominado quitosana (RINAUDO, 2006; SHUKLA et al., 2013)

A quitosana possui algumas peculiaridades em relação à quitina devido à diferença de conteúdo do grupo amino (-NH₂), como a solubilidade em soluções aquosas ácidas e maior susceptibilidade a modificações químicas. A solubilidade, que está diretamente relacionada com a quantidade de grupos amino protonáveis na cadeia desse polímero, é aumentada em meio aquoso devido principalmente ao aumento da solvatação de suas cadeias e à repulsão eletrostática (MATHUR e NARANG, 1990; SHUKLA et al., 2013).

Embora o conteúdo de grupos amino seja maior na quitosana, a sua solubilidade ainda apresenta algumas limitações em soluções aquosas neutras devido ao pKa do grupo D-glucosamina ser próximo desta condição (6,3-6,5), mas é solúvel em ácidos inorgânicos e orgânicos diluídos como ácido acético, cítrico, fórmico e lático (DE SILVA et al., 2013; XIE et al., 2013) e neste meio assume a forma catiônica (-NH₃⁺), convertendo este biopolímero em um polieletrólito (PEDRO, 2017). Por isso, os grupos amino protonados e grupos hidroxila ao longo da cadeia polimérica podem atrair ânions metálicos como molibdato, cromato, entre outros (SAIFUDDIN e KUMARAN, 2005; WEBSTER et al., 2010; MAHMOODI et al., 2011).

A solubilidade da quitosana também depende de outros fatores como, distribuição dos grupos acetamido ao longo da cadeia polimérica, concentração iônica, massa molar, condições de obtenção e secagem da amostra (RINAUDO, 2006; PEDRO, 2017), além das ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila da estrutura polimérica que podem desempenhar um papel importante nesta propriedade.

1.3.2 Modificações químicas

Embora a quitosana seja um polímero que apresente espontaneamente propriedade anfifílica, estudos envolvendo a inserção de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos ao longo da cadeia principal do polímero estão sendo feitos a fim de melhorar esta característica, e consequentemente, permitir a adaptação/determinação da Concentração de Agregação Crítica (CAC) em soluções cada vez menos concentradas (PEDRO, 2017).

A formação de agregados em polímeros anfifílicos depende da estrutura e flexibilidade de suas cadeias, bem como das interações intra- e intermoleculares e, estrutura e tamanho do substituinte apolar. Dessa maneira, algumas propriedades da solução como solubilidade, tensão superficial e viscosidade podem ser modificadas. Além disso, os agregados podem apresentar uma CAC que depende do grau de substituição dos grupos inseridos e ter um comportamento semelhante ao de surfactantes (VIEIRA et al., 2003).

Desta maneira, quando estes compostos são introduzidos em soluções aquosas, tendem a se auto-organizar e formar regiões de diferentes polaridades (Figura 7). Associações intra- e intermoleculares entre as porções hidrofóbicas são estabelecidas originando a formação de micelas ou agregados, minimizando a energia livre interfacial. O resultado é a formação de partículas com núcleos hidrofóbicos que permitem a incorporação de moléculas de baixa polaridade. Muitos sistemas similares a estes são atualmente estudados e têm sido divididos como: lipossomas (SAHU e JAIN, 2016), dendrímeros (QI et al., 2016), nanotubos (SHRESTHA et al., 2016), nanoesferas (YIN et al., 2016), nanocápsulas (GOYCOOLEA et al., 2012), nanoagregados e nanoemulsões (PEDRO, 2017).

Figura 7: Esquema ilustrativo de auto-organização e encapsulamento de corante apolar em solução aquosa contendo quitosana anfifílica.



Fonte: Adaptado de PEDRO (2017).

As modificações químicas são possíveis devido à presença dos grupos funcionais (amino e hidroxila) presentes na estrutura do polímero, e como mencionado anteriormente, ligações a grupos específicos podem alterar sua aplicabilidade e suas propriedades físico-químicas.

Trabalhos têm sido reportados na literatura utilizando quitosanas modificadas, ZHU et al. (2018) utilizaram carboximetoxipolietilenoglicol e ácido aminoiminometanossulfônico para obter uma quitosana bifuncional para combater atividades microbianas, FANG et al. (2018) sintetizou um polímero superabsorvente a partir de uma polimerização via radical livre entre quitosana e ácido acrílico e DU et al. (2014) estudou as propriedades anfifílicas de *O*-carboximetil-quitosana substituída com ácido glicirretínico.

Derivatizações da quitosana com grupos hidrofílicos têm sido propostos com o intuito de se obter polímeros cada vez mais solúveis e menos dependentes do pH. A síntese de quitosana com o sal quaternário de amônio (PEDRO, 2017), a fosforilcolina (TIERA et al., 2006) e o glicerol (CHENITE et al., 2001) são alguns exemplos.

Neste trabalho, a modificação da quitosana foi realizada com dois substituintes: o cloreto de 2-cloro-*N*,*N*-dietilamina (DEAE) e dodecil aldeído (DD) (hidrofóbico). O DEAE (substituinte hidrofílico) (Figura 8) é um dos compostos mais usados na modificação da quitosana para fins biológicos, como por exemplo, liberação de vitamina B_{12} (ZHANG et al., 2014). Enquanto que o DD (substituinte hidrofóbico) (Figura 8), tem sido aplicado em estudos de síntese de quitosana para a formação de géis (LEE et al., 2005), inibição do crescimento de bactérias (GABRIEL, 2017), entre outros.

Figura 8: Representação da estrutura química dos reagentes utilizados na síntese da quitosana anfifílica.



Fonte: Autoria própria.

GABRIEL et al. (2015) sintetizaram derivados anfifílicos de quitosana que inibiram o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Recentemente estes derivados foram utilizados para a preparação e estabilização de nanopartículas metálicas em filmes sendo comprovada a existência de atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *B. subtilis* (GABRIEL, 2017).

Neste sentido, no presente trabalho foi estudada a estabilidade da curcumina em sistemas poliméricos. Como matrizes poliméricas dos sistemas quitosana/corante, foi utilizada a quitosana comercial (QC) e um derivado anfifílico denominado quitosana modificada (QM) sintetizado a partir da quitosana despolimerizada (Qdes). A síntese do derivado anfifílico envolveu várias etapas, tais como, preparação da quitosana parcialmente despolimerizada,

seguida da obtenção da quitosana hidrofílica e finalmente síntese da anfifílica. A estabilidade da curcumina foi avaliada através de suas propriedades espectroscópicas nos diferentes meios, para possível aplicação biológica.

2 **OBJETIVOS**

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo estudar a estabilidade e as propriedades fotofísicas da curcumina em solução aquosa na presença de quitosana comercial e quitosana anfifílica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- *i*) Determinar as massas molares viscosimétricas médias da quitosana comercial e da quitosana parcialmente despolimerizada;
- *ii)* Sintetizar a quitosana contendo grupos hidrofílicos e hidrofóbicos;
- iii) Caracterizar as quitosanas comercial e anfifílica em relação ao grau médio de desacetilação e grau médio de substituição por grupos DEAE e DD por ¹H RMN respectivamente;
- *iv)* Determinar a CAC utilizando o pireno como sonda;
- v) Estudar as propriedades da curcumina em ambientes formados pela quitosana comercial e pelo derivado de quitosana anfifílica, utilizando as técnicas de UV-Vis e de fluorescência;
- *vi)* Determinar o rendimento quântico de fluorescência da CUR e avaliar sua estabilidade nestes ambientes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados na elaboração deste trabalho estão listados na Tabela 1. A água utilizada nos experimentos foi purificada em sistema de purificação Easypure® RoDi.

 Tabela 1: Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.

Reagente	Fabricante
ácido acético glacial	Synth
ácido clorídrico	Quemis
cianoboroidreto de sódio	Aldrich Chemical Co
cloreto de 2-cloro- <i>N</i> , <i>N</i> -dietiletilamina	Aldrich Chemical Co
dodecil aldeído	Aldrich Chemical Co
Etanol	Aldrich Chemical Co
Metanol	Aldrich Chemical Co
Acetona	Aldrich Chemical Co
hidróxido de sódio	Quemis
nitrito de sódio	Aldrich Chemical Co
óxido de deutério	Aldrich Chemical Co
quitosana comercial de baixa massa molar	Aldrich Chemical Co
Curcumina	Aldrich Chemical Co
Riboflavina	Aldrich Chemical Co
Pireno	Aldrich Chemical Co

3.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS DE QUITOSANA

3.2.1 Despolimerização parcial da quitosana

Para a despolimerização parcial da quitosana foram dispersadas 6 g de quitosana comercial em 338 mL de solução de ácido acético 2% (v/v) sob agitação até completa solubilização. Em

seguida, a solução foi purgada com gás nitrogênio por 1 hora e resfriada a 4 °C. Posteriormente, 15 mL de solução aquosa contendo 0,042 g de nitrito de sódio foi adicionada à solução do polímero sob agitação. A agitação foi interrompida e a reação mantida por 15 horas a 4 °C na ausência de luz. O derivado parcialmente despolimerizado foi precipitado com hidróxido de sódio 2,0 mol L⁻¹, lavado com água destilada até aproximadamente pH 8,0 e separado por centrifugação a 15000 rpm por 15 minutos. O produto foi seco em estufa a 40 °C e triturado utilizando-se almofariz e pistilo até obtenção de um pó (TØMMERAAS et al., 2001).

3.2.2 Síntese do derivado hidrofílico de quitosana

A quitosana parcialmente despolimerizada foi colocada para reagir com cloreto de 2-cloro-*N*,*N*-dietilaminoetila (DEAE) para a obtenção do derivado hidrofílico de quitosana de acordo com o método descrito por GABRIEL et al. (2015). Assim, 5 g de quitosana despolimerizada foram dispersadas em 208 mL ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, foram adicionados 3,14 g de DEAE e o pH ajustado para aproximadamente 8,0 com adição de solução de hidróxido de sódio 2,0 mol L⁻¹. A reação ocorreu sob agitação constante, a 65 °C, por 2 horas, sendo o pH da solução ajustado para aproximadamente 8,0 a cada 30 minutos. O produto obtido foi purificado por diálise contra hidróxido de sódio 0,05 mol L⁻¹, por 24 horas, e contra água purificada por 3 dias utilizando-se membrana para diálise de celulose Aldrich Chemical Co com poros de 12 kDa. O produto foi então liofilizado.

3.2.3 Síntese do derivado anfifílico de quitosana ou quitosana modificada (QM)

A reação de alquilação foi realizada de acordo com o procedimento descrito por GABRIEL et al. (2015). Para a obtenção do polímero anfifílico contendo grupos dodecila, 4,63 g de quitosana hidrofílica foram solubilizadas em 532 mL de ácido acético 2% (v/v). Após a completa solubilização do polímero, foi adicionado 365 mL de etanol e o pH da solução foi ajustado para aproximadamente 5,0. Em seguida, 1,41 mL de dodecil aldeído foram adicionados sob agitação vigorosa. Após 1 hora, sob agitação constante, foi adicionado cianoborohidreto de sódio na razão 3:1 (NaCNBH₃:NH₂ em mols) e a mistura foi mantida sob agitação por 24 horas à temperatura ambiente. A purificação do derivado foi feita por meio de diálise contra água purificada por 4 dias. Então, o produto foi liofilizado.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS QUITOSANAS COMERCIAL E MODIFICADA

3.3.1 Viscosimetria

As massas molares viscosimétricas médias das quitosanas comercial (QC) e despolimerizada (Qdes) foram determinadas por viscosimetria utilizando um Viscosímetro Automático Anton Paar modelo Lovis 2000 MCom (capilar de vidro de 1,59 mm de diâmetro e esfera de ouro) do Laboratório de Fotoquímica, Instituto de Química de São Carlos - USP. Os polímeros foram solubilizados nas concentrações de 3,0 a 7,0x10⁻⁴ g mL⁻¹ em solução tamponante de ácido acético/acetato de sódio (0,3 mol L⁻¹/0,2 mol L⁻¹ e pH 4,5). Assim, a viscosidade intrínseca [η] foi determinada a partir da extrapolação da curva de viscosidade reduzida versus a concentração a diluição infinita e os valores das massas molares viscosimétricas médias foram calculados de acordo com a equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 13), utilizando os parâmetros $K = 0,074 mL g^{-1}$ e $\alpha = 0,76$ para amostras com grau médio de desacetilação de 85% (KASAAI, 2007).

$$[\eta] = K_m \bar{M}_v^{\alpha} \tag{13}$$

Em que, K_m e α são constantes tabeladas dependentes da temperatura, do tipo de polímero e do solvente utilizado e $\overline{M_v}$ é a massa molar viscosimétrica média.

3.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (¹H RMN)

Amostras de aproximadamente 10,0 mg dos polímeros foram solubilizadas em 1,0 mL de óxido de deutério com adição de 10,0 µL de ácido clorídrico, e foram mantidas sob agitação constante até a completa solubilização da amostra. Os espectros de ¹H RMN foram obtidos no Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio, da marca Agilent Technologies modelo 500/54 Premium Shielded à temperatura de 70 °C, da Central de Análises Químicas (CAQI), Instituto de Química de São Carlos - USP.

3.3.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletância Total Atenuada foi utilizada na caracterização dos polímeros estudados. Dessa forma, amostras sólidas de quitosana comercial e de quitosana anfifílica foram caracterizadas em FTIR-ATR com diamante como elemento interno de reflexão, em que foram obtidos espectros de absorção no infravermelho na região compreendida entre 4000-500 cm⁻¹. O equipamento utilizado foi o Espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer modelo Frontier, do Laboratório de Fotoquímica, Instituto de Química de São Carlos - USP.

3.3.4 Determinação da Concentração de Agregação Crítica (CAC) da quitosana modificada

A auto associação da quitosana modificada em meio aquoso foi determinada em solução tamponante de ácido acético/acetato de sódio (0,3 mol L⁻¹/0,2 mol L⁻¹ e pH 4,5) a 25 °C utilizando-se como sonda de fluorescência o pireno. Para se realizar as medidas de variação de intensidade de emissão utilizou-se o espectrofluorímetro F-4500 Hitachi do Laboratório de Fotoquímica do Departamento de Química desta instituição.

Em um cubeta de quartzo contendo uma solução de pireno $7,5x10^{-7}$ mol L⁻¹ em solução tamponante foi adicionada a solução estoque da quitosana anfifílica, com o auxílio de uma micropipeta de 10 µL, sob agitação.

As análises de fluorescência foram realizadas em duplicata, o pireno foi excitado em 310 nm e o espectro de fluorescência registrado no intervalo de 350 a 450 nm.

O valor da CAC foi determinado a partir de um gráfico da razão entre as bandas I/III do pireno em função da concentração da quitosana modificada como descrito na literatura (PHILIPPOVA et al., 2001).

3.4 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA CURCUMINA NA PRESENÇA DO DERIVADO DE QUITOSANA ANFIFÍLICA E QUITOSANA COMERCIAL

3.4.1 Espectroscopia de UV-visível e de fluorescência estacionária

Uma determinada quantidade de CUR foi solubilizada em etanol para se obter uma solução estoque. Em seguida, alíquotas da solução estoque foram inseridas em soluções contendo solução tamponante de ácido acético/acetato de sódio (0,3 mol L⁻¹/0,2 mol L⁻¹ e pH 4,5), em soluções contendo quitosanas anfifílica e comercial, e em solventes orgânicos com concentração final de 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹ de CUR. As soluções foram homogeneizadas e medidas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

As soluções homogeneizadas foram utilizadas para se determinar os espectros de absorção e de emissão de fluorescência da CUR em soluções contendo quitosanas anfifílica e comercial.

3.4.2 Rendimento quântico de fluorescência (Φ_F)

O rendimento quântico de fluorescência de um composto é a razão entre o número de fótons emitidos pelo número de fótons absorvidos. Pode ser determinado a partir da relação entre a área sob o espectro de fluorescência desta substância com a área sob o espectro de fluorescência de outro composto, chamado de padrão, que tenha o rendimento quântico de fluorescência conhecido (Equação 14) (LAKOWICZ, 2006).

$$\Phi_F = \frac{F_a \, x \, A_p \, x \, \eta_a^2}{F_p \, x \, A_a \, x \, \eta_p^2} \, \Phi_{F_p} \tag{14}$$

Sendo *F* a integral da área sob a curva de emissão de fluorescência, *A* absorbância no comprimento de onda excitado e η o índice de refração dos solventes utilizados; e os índices *a* e *p* indicam a amostra e o padrão, respectivamente. Os testes foram feitos em triplicata.

4 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA QUITOSANA E DE SEUS DERIVADOS

4.1.1 Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média

Em solução e em certa temperatura, o polímero possui a habilidade de fornecer informações a respeito da sua forma, tamanho (que interfere diretamente nas reações de substituição) e interações polímero-solvente.

Desse modo, os valores das massas molares médias das quitosanas comercial (QC) e parcialmente despolimerizada (Qdes) foram determinados por viscosimetria e calculados usando a equação de Mark-Houwink-Sakurada apresentada na seção 3.3.1 (Equação 13).

Na Tabela 2 são apresentados os valores das massas molares viscosimétricas médias e as viscosidades intrínsecas das quitosanas.

Tabela 2: Valores das massas molares viscosimétricas médias (\overline{M}_v) e viscosidades intrínsecas [η] para as quitosanas QC e Qdes.

Amostras	\overline{M}_{v} (g mol ⁻¹)	$[\eta]$ (mL g ⁻¹)
QC	93x10 ³	445
Qdes	$29 \text{ x} 10^3$	185

A partir dos valores obtidos pode-se afirmar que o processo de despolimerização da quitosana reduziu a massa molar viscosimétrica média do polímero, indicando que a utilização de nitrito de sódio em meio ácido nas reações foi satisfatória.

4.1.2 Determinação do grau médio de desacetilação da quitosana comercial

O grau médio de desacetilação (\overline{GD}) da quitosana comercial foi determinado por ¹H RMN (Figura 9).

Figura 9: Espectro de ¹H RMN da quitosana comercial em D₂O/HCl.



O sinal na região de 2,3 ppm corresponde aos hidrogênios metílicos do grupo acetamido, em 3,6 ppm é referente ao hidrogênio ligado ao carbono 2 da unidade amino, e os sinais sobrepostos entre 3,9 e 4,4 correspondem aos hidrogênios H3-H6 das unidades glicopiranosídicas e H2 da unidade acetamido. Os sinais que aparecem em 4,9 e 5,2 ppm são atribuídos aos hidrogênios H1 e H1' ligados ao carbono anomérico C1 das unidades amino e acetamido, respectivamente.

O \overline{GD} foi calculado por meio da Equação 15:

$$\overline{GD} = \left(1 - \frac{A_{\text{CH}3}/3}{A_{\text{H}2-\text{H}6}/6}\right) \times 100$$
(15)

Sendo A_{CH_3} a área dos sinais dos hidrogênios metílicos do grupo acetamido e A_{H2-H6} a área dos sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos C2 a C6 do anel glicopiranosídico.

O \overline{GD} obtido foi de 85%.

4.1.3 Determinação do grau médio de substituição por grupos DEAE no derivado de quitosana hidrofílico

O derivado hidrofílico da quitosana foi sintetizado segundo método descrito na seção 3.2.2. Usando a técnica de ¹H RMN o grau médio de substituição por grupos DEAE (\overline{GS}_{DEAE}) foi determinado. A Figura 10 mostra o espectro de ¹H RMN do derivado da quitosana sintetizado.

O cálculo de \overline{GS}_{DEAE} foi feito a partir dos hidrogênios anoméricos H₁ e dos hidrogênios do grupo –CH₃, indicados na Figura 10 (OLIVEIRA et al., 2013). O sinal intenso observado na região de 4,7 ppm no espectro é resultado dos sinais produzidos pelos hidrogênios presentes nas moléculas de água, que não foram suprimidos durante a medida.

Figura 10: Espectro de ¹H RMN do derivado hidrofílico de quitosana em D₂O/HCl sem supressão de H_2O e fórmula estrutural idealizada dos monômeros contendo DEAE e os hidrogênios H¹ que produzem os sinais utilizados.



O \overline{GS}_{DEAE} foi calculado por meio da Equação 16 (KIM e CHUN, 1999):

$$\overline{GS}_{DEAE} = \left(\frac{\left(\frac{A_{CH_3}}{6}\right)}{A_{H_1}}\right) x \ 100 \tag{16}$$

Sendo, A_{CH_3} a área dos picos referentes aos hidrogênios metílicos que formam a cadeia do DEAE e, A_{H_1} a área dos picos correspondente aos hidrogênios anoméricos de monômeros substituídos e não substituídos da cadeia polimérica da quitosana.

O $\overline{\text{GS}}_{\text{DEAE}}$ obtido foi de 49%.

4.1.4 Determinação do grau médio de substituição por grupos DD no derivado anfifílico

O derivado anfifílico da quitosana foi sintetizado segundo método descrito na seção 3.2.3.

O grau médio de substituição por grupos dodecila ($\overline{GS}_{dodecila}$) no derivado anfifílico, foi determinado utilizando-se a Equação 4 (DESBRIÈRES et al., 1996).

A Equação 17 relaciona a área dos sinais dos hidrogênios anoméricos acetilados, desacetilados e substituídos presentes entre 4,8 e 5,5 ppm com a área dos sinais referentes aos hidrogênios dos grupamentos –CH₃ do substituinte em questão, que fica em 1,3 ppm no espectro ¹H RMN. A Figura 11 mostra o espectro de ¹H RMN da quitosana sintetizada.

$$\overline{GS}_{dodecila} = \left(\frac{A_{CH_{3DD}}}{3 X A_{H_1}}\right) x \ 100 \tag{17}$$

Sendo, $A_{CH_{3}_{DD}}a$ área dos picos referentes aos hidrogênios do grupo $-CH_3$ do substituinte dodecila e A_{H_1} os núcleos dos hidrogênios anoméricos dos monômeros não substituídos e substituídos, respectivamente.

Figura 11: Espectro de ¹H RMN do derivado anfifílico, em D_2O/HCl sem supressão de H_2O e fórmula estrutural idealizada dos monômeros contendo DEAE, dodecil e os hidrogênios H^1 que produzem os sinais utilizados.



Observa-se que na Figura 11 existem dois novos sinais em aproximadamente 2 e 1,6 ppm, que são produzidos pela presença dos hidrogênios do grupamento dodecila (PEDRO, 2017), então é possível afirmar que a reação de alquilação ocorreu de forma eficiente, tendo em vista que tais sinais não são observados em espectros de quitosana sem modificações (GABRIEL, 2017). O sinal intenso observado na região em 4,7 ppm é resultado dos sinais produzidos pelos hidrogênios presentes nas moléculas de água, que não foram suprimidos durante a medida.

O $\overline{\text{GS}}_{\text{dodecila}}$ obtido foi de 17%.

O produto final obtido foi chamado de quitosana modificada (QM) (Figura 12).

Figura 12: Fórmula estrutural idealizada da QM.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 3: Proporção da distribuição heterogênea dos grupos acetamido, amino, DEAE e DD ao longo da cadeia da QM.

Grupos	%
DEAE	49
DD	17
Acetamido	15
Amino	19

4.1.5 Caracterização da QC e QM por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletância Total Atenuada (FTIR - ATR)

Os espectros de FTIR-ATR obtidos da QC e da QM são apresentados na Figura 13. Podese notar que as duas quitosanas possuem uma banda característica na região de 3400 cm⁻¹, devido à vibração de alongamento axial dos grupos hidroxila (O-H) presente nos polímeros e da água livre remanescente (LIU et al., 2011). A banda de estiramento assimétrico do C-O-C pode ser observada na região de 1155 cm⁻¹. As bandas em 2926 cm⁻¹ e 2859 cm⁻¹ no espectro da QM correspondem às deformações axiais da ligação C-H dos grupos -CH₂ e dos grupos - CH_3 existentes nos substituintes DEAE e dodecila, respectivamente (GABRIEL et al., 2015). Nota-se também, a presença de bandas em torno de 2970 cm⁻¹ e no intervalo de 1500-1346 cm⁻¹, sendo estas resultantes das deformações axiais das ligações C-N e aquelas às deformações axiais da ligação C-H, presentes na estrutura molecular do DEAE (YOO et al., 2005). O sinal entre 2500-2000 cm⁻¹ é decorrente do cianeto residual utilizado na síntese do derivado anfifílico.

Figura 13: Espectros de FTIR-ATR dos polímeros QC e QM.



4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AGREGAÇÃO CRÍTICA (CAC) DA QUITOSANA MODIFICADA

A CAC do polímero modificado foi determinada em solução aquosa tamponante de ácido acético/acetato de sódio (0,3 mol L⁻¹/0,2 mol L⁻¹ e pH 4,5). Neste pH, os grupos amino da quitosana comercial estão protonados permitindo que amostras desse biopolímero sem modificações e com massa molar média agreguem em concentrações >3,0 g L⁻¹. Em concentrações de QC inferiores, as cadeias da quitosana se encontram dispersas na solução, interagindo com a curcumina por meio de ligações de hidrogênio como mostra a Figura 14 (PHILIPPOVA et al., 2001).



Figura 14: Interações de ligação de hidrogênio da CUR e moléculas de quitosana.

Fonte: Adaptado de LIU et al. (2016).

Em soluções aquosas com baixas concentrações de quitosanas hidrofobicamente modificadas é esperado que ocorra autoassociação para formar agregados intra- e intermoleculares modificando a conformação da cadeia do polímero (Figura 15).

Figura 15: Simulação da interação de autoassociação da QM com o pireno.



Fonte: Autoria própria.

Para determinação da CAC da QM, sondas fluorescentes podem ser utilizadas por serem capazes de fornecer informações da polaridade do meio na qual estão inseridas. A citar o pireno,

um hidrocarboneto policíclico aromático (Figura 16), que é uma sonda amplamente estudada e tem seu espectro de fluorescência influenciado pelo solvente.

Figura 16: Estrutura molecular do pireno.



Fonte: Autoria própria.

O espectro de emissão do pireno é apresentado na Figura 17, onde estão destacadas as bandas I e III.

Figura 17: Espectro de emissão do pireno $7,5x10^{-7}$ mol L⁻¹ em solução tampão de ácido acético (0,3 mol L⁻¹) / acetato de sódio (0,2 mol L⁻¹), pH 4,5 em que os picos I e III são indicados.



A polaridade do solvente pode ser medida quantitativamente pela razão das intensidades de emissão entre os picos I e III (I/III), sendo que estes picos I e III correspondem aos comprimentos de onda 372 e 384 nm, respectivamente (SILVA, 2002). A intensidade de emissão de fluorescência do pico I aumenta conforme a polaridade do meio aumenta. Dessa forma, quanto maior for a polaridade, maior será o resultado da razão entre os picos. Em solventes apolares como o hexano o valor é de 0,6, enquanto que em solventes polares como a água é 2,0 (PHILIPPOVA et al., 2001).

Na Figura 18 é apresentado um gráfico baseado no espectro de emissão do pireno *versus* concentrações crescentes de QM. De acordo com as variações na razão I/III percebe-se o surgimento de microambientes sondados pelo pireno, bem como a variação de concentração que marcam o início da autoassociação do polímero.

Figura 18: Gráficos da Concentração de Agregação Crítica da QM em a) escala logarítmica e b) escala aritmética.





Estudos de CAC realizados por GABRIEL et al. (2015) mostraram que polímeros com menores graus de substituição por grupos hidrofóbicos não exibiram quebras bem definidas nas curvas (I/III x Concentração), indicando que as quitosanas apresentaram caráter mais hidrofílico se comparado à quitosana sintetizada nesse trabalho. Este resultado deve-se à repulsão eletrostática entre cadeias carregadas positivamente que superaram os efeitos hidrofóbicos dos grupos DD, impedindo a agregação intermolecular nesta faixa de concentração.

Neste estudo, a quitosana sintetizada exibiu uma evidente mudança na inclinação da reta em 0,011 g/L (Figura 18a), indicando que agregados foram formados devido às interações intrae intermoleculares favorecidas pela presença dos grupos DD.

Para estudo da estabilização da curcumina pela quitosana modificada, foram escolhidas concentrações de QM acima e abaixo da CAC (0,005, 0,01, 0,025 e 0,05 g/L). Desta forma, a curcumina foi estudada em diferentes ambientes formados por este polímero. A estabilidade da curcumina também foi estudada na presença de quitosana comercial, a qual não apresentou agregação em nenhuma das concentrações trabalhadas.

4.3 PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DA CURCUMINA EM SOLVENTES ORGÂNICOS

A Figura 19a apresenta espectros de UV-Vis da CUR $(2,5\times10^{-5} \text{ mol } \text{L}^{-1})$ em diferentes solventes orgânicos. As bandas de absorção estão em 420 nm e 440 nm para CUR em acetona, e em 430 nm para o etanol e metanol. Em solventes polares como metanol, a banda do espectro é mais larga. Em acetona, a banda espectral é mais estruturada e deslocada para o azul.

Figura 19: a) Espectros de UV-Vis e b) Fluorescência da CUR em diferentes solventes.



Em solventes apolares, a curcumina exibe equilíbrio ceto-enólico. Como a forma ceto é menos polar que a forma enol, em solventes apolares a forma ceto pode ser estabilizada. Assim, sua contribuição pode resultar em um deslocamento para o azul da banda espectral. Com o aumento da polaridade do solvente, o equilíbrio ceto-enólico é deslocado para o enol e a estrutura espectral é sobreposta (PRIYADARSINI, 2009).

Na Figura 19b, são apresentados os espectros de fluorescência que foram obtidos com excitação em 420 nm. Os valores máximos de fluorescência foram 535, 545 e 505 nm para o etanol, metanol e acetona, respectivamente.

Nos espectros de emissão, observou-se aumento nas intensidades de fluorescência e deslocamentos para o azul a medida que a polaridade dos solventes diminuiu, confirmando a influência da natureza dos solventes sobre a curcumina. A acetona, por ser mais apolar, consegue estabilizar mais eficientemente as moléculas na forma ceto e com isso o perfil

espectral e o máximo de fluorescência obtidos para este solvente são os mais deslocados para o azul dentre os utilizados.

Estudos fotofísicos da CUR em diversos tipos de solventes são reportados na literatura (PRIYADARSINI, 2009). Vibrações para fora do plano da molécula excitada na forma cis-enol resultam em deslocamentos vistos nos espectros de absorção e fluorescência. Em solventes apolares, a estrutura da CUR tem certa rigidez devido à ligação de hidrogênio do isômero enol, assim esse solvente promove mínimo deslocamento de Stokes.

Nos solventes doadores e receptores de ligação de hidrogênio, como álcoois, mudanças conformacionais podem ser induzidas pela ligação de hidrogênio da curcumina e aumentar ainda mais as vibrações para fora do plano. O grupo ceto pode interagir com solventes doadores de ligação de hidrogênio, enquanto que os prótons enólicos interagem com solventes receptores. Como os álcoois fazem ambos os papéis, recebem e doam ligações de hidrogênio, são capazes de causarem maiores deslocamentos de Stokes levando ao alargamento do espectro (PRIYADARSINI, 2009).

4.4 INTERAÇÃO DA CURCUMINA COM QC E QM

Os espectros de absorção e emissão de fluorescência da CUR $(2,5x10^{-5} \text{ mol } \text{L}^{-1})$ em solução aquosa tamponante de ácido acético/acetato de sódio $(0,3 \text{ mol } \text{L}^{-1}/0,2 \text{ mol } \text{L}^{-1} \text{ e pH } 4,5)$, QC 0,05 g/L e QM 0,005, 0,01, 0,025 e 0,05 g/L são apresentados nas Figuras 20 a e b, respectivamente. Nestas condições, na Figura 20a, foram obtidas bandas características com comprimento de onda máximo de absorção em aproximadamente 420-425 nm.



Figura 20: a) Espectro de UV-Vis e de b) fluorescência da CUR em solução aquosa e em quitosanas.

O espectro de absorção eletrônica da curcumina apresentou uma banda intensa e alargada na região do visível devido ao seu sistema aromático estendido. As transições eletrônicas na faixa 420-425 nm são do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ provenientes da forma enólica em solução (ZSILA et al., 2003; BORUAH et al., 2012). Foi possível ainda observar um ombro em 360 nm relacionado à forma ceto (BORUAH et al., 2012).

Nos espectros de absorção da CUR/QM percebe-se a diminuição da intensidade das bandas a medida que a concentração de QM aumenta, acompanhado de deslocamento hipsocrômico e formação de um ombro em 360 nm indicando que a QM está estabilizando as moléculas da CUR na forma ceto. Ademais, em concentrações de QM acima de 0,011 g L⁻¹, a mesma se encontra agregada, podendo incorporar a molécula de CUR na porção hidrofóbica.

Esses resultados estão de acordo com espectros de absorbância da CUR obtidos em diferentes solventes, onde foi observado diminuição da banda na região de 420 nm e deslocamento para o azul com diminuição da polaridade do solvente. O equilíbrio tautomérico da CUR é deslocado para a forma ceto em solventes apolares.

Os espectros de emissão de fluorescência (Figura 20b) apresentaram uma banda em 555 nm na CUR em solução tamponante, QC e em baixas concentrações de QM. Com o aumento da concentração de QM (QM= 0,05 g/L, acima da CAC), ocorre o deslocamento da banda do espectro de fluorescência para 545 nm.

Esses resultados corroboram os resultados de fluorescência obtidos para CUR em função da polaridade do solvente. Em solventes de caráter mais apolar, o espectro de fluorescência da CUR exibiu menor deslocamento de Stokes. A presença dos grupamentos DD na QM promove a formação de ambientes hidrofóbicos que podem envolver as moléculas do cromóforo, fornecendo maior estabilidade.

WANG et al. (2006) obtiveram resultados semelhantes estudando a interação da CUR e micelas iônicas. Nesse sistema também houve deslocamento espectral para o azul em relação às micelas neutras também analisadas, indicando que as diferenças na energia interfacial hidrocarboneto/água e no volume interfacial nas estruturas dos agregados possibilitaram que o corante se alocasse em sítios apolares.

É possível notar que, no caso da CUR em QC, as características espectrais são semelhantes às da CUR em solução tamponante, indicando que a formação dos ambientes hidrofóbicos é peculiar à QM. A QC não sofre agregação nesta concentração.

4.5 RENDIMENTO QUÂNTICO DE FLUORESCÊNCIA DA CURCUMINA EM SOLVENTES ORGÂNICOS, QC E QM

O rendimento quântico de fluorescência da CUR foi determinado por meio da Equação 2, em solução aquosa tamponante de ácido acético/acetato de sódio (0,3 mol L⁻¹/0,2 mol L⁻¹ e pH 4,5), QC 0,05 g L⁻¹, QM 0,01 g L⁻¹, QM 0,05 g L⁻¹ e em solventes orgânicos. A riboflavina foi utilizada como padrão de fluorescência para determinação de todos os rendimentos quânticos de fluorescência (Figura 21) ($\Phi_{F rib}=0,3$) (KOZIOL, 1966).





Os valores de $\Phi_{\rm F}$ obtidos são apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Valores de rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) para a CUR em diferentes meios (λ_{exc} = 420 nm).

Solventes	Φ_{F}
Tampão pH 4,5	$6,0x10^{-4} \pm 0,2x10^{-4}$
QC 0,05 g/L	$6,0x10^{-4} \pm 0,3x10^{-4}$
QM 0,01 g/L	$1,3x10^{-3} \pm 0,1x10^{-3}$
QM 0,05 g/L	$2,3x10^{-3} \pm 0,2x10^{-3}$
Etanol	$1,0x10^{-1} \pm 0,03x10^{-1}$
Metanol	$3,3x10^{-2} \pm 0,1x10^{-2}$
Acetona	$3,0x10^{-1} \pm 0,1x10^{-1}$

O valor de rendimento quântico obtido para CUR, em 0,05 g L⁻¹ de QM, foi maior que para CUR nas outras soluções de quitosanas. Essa concentração de QM corresponde à sua forma agregada, acima da CAC, onde estão presentes ambientes mais hidrofóbicos para CUR. Dentre os solventes usados, o maior valor de rendimento quântico foi para CUR em acetona, o que está de acordo com os resultados da literatura (PRIYADARSINI, 2009).

Ambientes macromoleculares hidrofóbicos têm sido relatados como intensificadores da emissão da CUR. Testes realizados com quitosana de média massa molecular em solução tamponante fisiológica por BORUAH et al. (2012), mostraram que a fluorescência aumentava sob maiores quantidades de polímero, e atribuiu isto à ligação entre o corante e a quitosana. As regiões hidrofóbicas são responsáveis por proteger a curcumina da supressão de fluorescência causada pela água. BONG (2000) atribuiu a baixíssima fluorescência da CUR em soluções aquosas orgânicas à formação de um complexo de transferência de carga não fluorescente e estável entre a curcumina e a água (curcumina⁻⁻H₂O⁺).

Outro fator que pode ser responsável pelo aumento na intensidade de emissão da CUR em ambientes macromoleculares é o aumento da rigidez da solução, que pode limitar os movimentos do corante e diminuir a perda de energia na forma de calor (vibrações).

O rendimento quântico de fluorescência em solventes orgânicos é maior em relação aos outros meios, devido, em parte, à maior solubilidade da CUR. Entretanto, em solventes próticos como etanol e metanol, os valores não são tão significativos devido às propriedades doadoras e receptoras da ligação de hidrogênio. Estas características promovem perturbações às moléculas excitadas da CUR, interferindo diretamente na sua fluorescência (PRIYADARSINI, 2009).

Quando a curcumina em seu estado fundamental (forma cis-enol) é submetida a excitação, ela é promovida para o estado de transferência de carga intramolecular (TCI), em que a densidade do elétron é transferida do grupo fenil o-metóxi para a porção diceto, se tornando mais polar.

A partir daí ela pode passar por uma transferência de próton e assumir outro estado energético (solvatação, isomerização cis-trans e a transferência intramolecular de prótons no estado excitado), ser influenciada pelo solvente e sofrer conversões para outras formas tautoméricas. O decaimento do estado excitado acontece predominantemente por processos não radiativos, principalmente por processo de transferência de prótons no estado excitado intra- e intermolecular, enquanto o cruzamento intersistema e transformações radiativas são responsáveis por caminhos menos eficientes; os baixos valores de rendimento quântico de fluorescência confirmam isso. De maneira geral, a fotofísica do estado excitado da CUR é influenciada de forma complexa pela polaridade, propriedades doadoras e receptoras de ligação de hidrogênio e natureza da ligação π dos solventes (PRIYADARSINI, 2009).

4.6 ESTABILIDADE DA CURCUMINA EM QC E QM

A estabilidade da CUR foi analisada a partir dos espectros de absorção e fluorescência em diferentes meios em função do tempo (Figura 22).

Figura 22: Espectros de UV-Vis e fluorescência da CUR $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em a e b) solução tampão pH 4,5; c e d) QC 0,05 g L⁻¹; e f) QM 0,005 g L⁻¹; g e h) QM 0,01 g L⁻¹; i e j) QM 0,05 g L⁻¹, respectivamente.





A partir dos espectros de UV-Vis percebe-se que a intensidade de absorbância diminuiu com o tempo para todas as amostras. Esta diminuição pode ser atribuída à degradação da CUR, que em água sofre hidrólise produzindo substâncias como: o trans-6-(4-hidróxi-3-metóxifenil)-2,4-dioxo-5-hexenal, metano ferúlico, aldeído ferúlico, ácido ferúlico e vanilina (MIRZAEE et al., 2014).

Em 500 min, a porcentagem de degradação da CUR foi de 96% em tampão, 71% em QC 0,05 g L⁻¹, 93% em QM 0,005 g L⁻¹, 60% em QM 0,01 g L⁻¹ e 30 % em QM 0,05 g L⁻¹. É possível notar que a porcentagem de degradação da CUR em QM 0,05 g L⁻¹ (concentração acima da CAC) foi menor em comparação a degradação da CUR nos outros meios. Portanto, estes resultados indicam que a QM acima da CAC, em sua forma agregada, é capaz de proteger a molécula do corante dos efeitos da água.

Nos espectros de fluorescência também é possível verificar maior estabilidade da CUR na presença de QM 0,05 g L⁻¹ (concentração acima da CAC). Esta amostra apresentou menor variação de intensidade de fluorescência com o passar do tempo, além de maior intensidade.

Figura 23: Decaimento dependente do tempo da CUR $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ nos tempos iniciais em tampão pH 4,5, QC 0,05 g L⁻¹, QM 0,01 g L⁻¹ e QM 0,05 g L⁻¹ (λ = 420 nm).



Na Figura 23 é apresentado o processo de degradação da CUR no comprimento de onda máximo de absorção (420 nm) em função do tempo até 500 min, no qual é visto que a CUR em tampão pH 4,5 degrada mais rapidamente, seguida da CUR em QC. A CUR na presença de QM degrada até aproximadamente 100 min, e após esse tempo se manteve constante. Na concentração de QM 0,05 g L⁻¹ (concentração acima da CAC) apresentou a maior estabilidade com menor variação da absorbância com o tempo.

Desta forma, é possível destacar que a quitosana anfifílica, em concentrações acima da CAC, favorece a estabilização das propriedades do corante curcumina por meio de um ambiente mais hidrofóbico proporcionado pelas interações inter- e intramoleculares.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudos envolvendo CUR e argilas realizados neste grupo de Fotoquímica. A estabilidade da curcumina foi aumentada em presença de argilas (sistemas CUR/laponita e CUR/SWy-2) quando comparado com soluções aquosas (GONÇALVES et al., 2017). A argila laponita apresentou os melhores resultados de estabilidade devido à sua maior capacidade de esfoliação.

5 CONCLUSÃO

O derivado anfifílico de quitosana (QM) foi obtido com êxito por meio da rota sintética utilizada. Os grupos hidrofílicos DEAE e hidrofóbicos dodecila foram substituídos em 49% e 17%, respectivamente, conforme resultado obtido por meio da técnica de ¹H RMN. Medidas de FTIR-ATR confirmaram estas substituições.

A determinação da Concentração de Agregação Crítica mostrou que o polímero sintetizado possui a capacidade de se autoassociar em solução aquosa devido às interações intermoleculares adicionais proporcionadas pelos grupos dodecila.

A avaliação espectroscópica no UV-Vis revelou que concentrações crescentes de QM estabilizaram o isômero ceto da curcumina, provocando deslocamento para o azul no espectro. Além disso, a absorção em 420 nm foi reduzida com o aparecimento simultâneo de um ombro em 360 nm.

As maiores concentrações de QM também causaram maiores intensidades de fluorescência da curcumina com simultâneos deslocamentos para o azul, confirmando a estabilização do isômero ceto.

Da mesma maneira, os valores de rendimento quântico de fluorescência também demonstraram relação direta com o aumento da concentração do polímero sintetizado.

O comportamento da curcumina nos solventes orgânicos estudados corroboram os sistemas poliméricos de quitosana modificada. Quanto menor a polaridade do solvente, mais deslocado para comprimentos de ondas menores foi o espectro de fluorescência, concomitante de maiores intensidades de emissão, revelando a estabilização do isômero ceto.

Nas análises de degradação observou-se que a degradação foi reduzida em QC, se comparado com a curcumina em tampão. Isto pode estar relacionado às ligações de hidrogênio entre a quitosana e o corante. A estabilização foi mais significativa na QM em concentração acima da CAC, onde ocorre o aprisionamento da molécula de curcumina protegendo-a do meio aquoso.

Os grupamentos dodecila inseridos na cadeia da quitosana evidenciaram a importância da modificação desse polímero, de modo que, propriedades inerentes ou não à molécula, possam ser melhoradas.

Dessa forma, os dados obtidos fornecem bases para a compreensão das propriedades físicoquímicas da curcumina na presença de quitosana modificada. Estudos futuros mais aprofundados podem contribuir para viabilizar o uso da curcumina mais eficientemente, ou seja, mais estabilidade química e melhores resultados fotofísicos, utilizando as propriedades biológicas de ambos os compostos sinergicamente.

6 REFERÊNCIAS

AGGARWAL, B. B.; SUNG, B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 85-94, 2009.

AGGARWAL, B. B.; SURH, Y.-J.; SHISHODIA, S. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. Springer Science & Business Media, 2007.

AHMED, T.; GOEL, V.; BANERJEE, B. Propoxur-induced oxidative DNA damage in human peripheral blood mononuclear cells: protective effects of curcumin and α -tocopherol. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 2, p. 128-134, 2018.

AKDEMIR, F.; ORHAN, C.; TUZCU, M.; SAHIN, N.; JUTURU, V.; SAHIN, K. The efficacy of dietary curcumin on growth performance, lipid peroxidation and hepatic transcription factors in rainbow trout Oncorhynchus Mykiss (Walbaum) reared under different stocking densities. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 8, p. 4012-4021, 2017.

BAGLOLE, K. N.; BOLAND, P. G.; WAGNER, B. D. Fluorescence enhancement of curcumin upon inclusion into parent and modified cyclodextrins. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, v. 173, n. 3, p. 230-237, 2005.

BALASUBRAMANIAN, K. Molecular orbital basis for yellow curry spice curcumin's prevention of Alzheimer's disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3512-3520, 2006.

BANERJEE, C.; MAITI, S.; MUSTAFI, M.; KUCHLYAN, J.; BANIK, D.; KUNDU, N.; DHARA, D.; SARKAR, N. Effect of encapsulation of curcumin in polymeric nanoparticles: how efficient to control ESIPT process? **Langmuir**, v. 30, n. 36, p. 10834-10844, 2014.

BANO, I.; ARSHAD, M.; YASIN, T.; GHAURI, M. A.; YOUNUS, M. Chitosan: A potential biopolymer for wound management. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 380-383, 2017.

BONG, P. H. Spectral and photophysical behaviors of curcumin and curcuminoids. **Bulletin of the Korean Chemical Society,** v. 21, n. 1, p. 81-86, 2000.

BORUAH, B.; SAIKIA, P. M.; DUTTA, R. K. Binding and stabilization of curcumin by mixed chitosan–surfactant systems: a spectroscopic study. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, v. 245, p. 18-27, 2012.

BOYANAPALLI, S. S.; HUANG, Y.; SU, Z.; CHENG, D.; ZHANG, C.; GUO, Y.; RAO, R.; ANDROULAKIS, I. P.; KONG, A. N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin

in regulating anti-inflammatory and epigenetic gene expression. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, 2018.

CAÑAMARES, M. V.; GARCIA-RAMOS, J. V.; SANCHEZ-CORTES, S. Degradation of curcumin dye in aqueous solution and on Ag nanoparticles studied by ultraviolet–visible absorption and surface-enhanced Raman spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v. 60, n. 12, p. 1386-1391, 2006.

CARTER, A. Curry compound fights cancer in the clinic. Journal of the National Cancer Institute, p. 616-617, 2008.

CHAICHAM, A.; KULCHAT, S.; TUMCHARERN, G.; TUNTULANI, T.; TOMAPATANAGET, B. Synthesis, photophysical properties, and cyanide detection in aqueous solution of BF2-curcumin dyes. **Tetrahedron**, v. 66, n. 32, p. 6217-6223, 2010.

CHENITE, A.; BUSCHMANN, M.; WANG, D.; CHAPUT, C.; KANDANI, N. Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 1, p. 39-47, 2001.

DE SILVA, R. T.; PASBAKHSH, P.; GOH, K. L.; CHAI, S. P.; ISMAIL, H. Physico-chemical characterisation of chitosan/halloysite composite membranes. **Polymer Testing,** v. 32, n. 2, p. 265-271, 2013.

DESBRIÈRES, J.; MARTINEZ, C.; RINAUDO, M. Hydrophobic derivatives of chitosan: Characterization and rheological behaviour. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 19, n. 1, p. 21-28, 1996/07/01/1996.

DU, H.; YANG, X.; PANG, X.; ZHAI, G. The synthesis, self-assembling, and biocompatibility of a novel O-carboxymethyl chitosan cholate decorated with glycyrrhetinic acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 753-761, 2014.

FANG, S.; WANG, G.; LI, P.; XING, R.; LIU, S.; QIN, Y.; YU, H.; CHEN, X.; LI, K. Synthesis of chitosan derivative graft acrylic acid superabsorbent polymers and its application as water retaining agent. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 754-761, 2018.

GABRIEL, J. D. S. **Bionanocompósitos de derivados de quitosana/montmorilonita/nanopartículas de prata preparadas via fotoquímica** 2017. 121 (Doutorado). Departamento de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos (SP).

GABRIEL, J. D. S.; TIERA, M. J.; TIERA, V. A. D. O. Synthesis, characterization, and antifungal activities of amphiphilic derivatives of diethylaminoethyl chitosan against Aspergillus flavus. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 24, p. 5725-5731, 2015.

GHATAK, C.; RAO, V. G.; MANDAL, S.; GHOSH, S.; SARKAR, N. An understanding of the modulation of photophysical properties of curcumin inside a micelle formed by an ionic liquid: a new possibility of tunable drug delivery system. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 10, p. 3369-3379, 2012.

GONÇALVES, J. L.; VALANDRO, S. R.; POLI, A. L.; SCHMITT, C. C. Influence of clay minerals on curcumin properties: stability and singlet oxygen generation. Journal of Molecular Structure, v. 1143, p. 1-7, 2017.

GOU, M.; MEN, K.; SHI, H.; XIANG, M.; ZHANG, J.; SONG, J.; LONG, J.; WAN, Y.; LUO, F.; ZHAO, X. Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy in vitro and in vivo. **Nanoscale**, v. 3, n. 4, p. 1558-1567, 2011.

GOYCOOLEA, F. M.; VALLE-GALLEGO, A.; STEFANI, R.; MENCHICCHI, B.; DAVID, L.; ROCHAS, C.; SANTANDER-ORTEGA, M. J.; ALONSO, M. J. Chitosan-based nanocapsules: physical characterization, stability in biological media and capsaicin encapsulation. **Colloid and Polymer Science,** v. 290, n. 14, p. 1423-1434, 2012.

HE, G.; MU, T.; PAN, Y.; CHEN, Z.; XIANG, Q.; YANG, W.; ZHANG, Y.; YUAN, Y.; SUN, A. Inhibitory effect of DAPT on Notch signaling pathway in curcumin mediated photodynamic therapy for cervical cancer xenografts in nude mice. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 98, n. 19, p. 1511-1516, 2018.

HEGGE, A. B.; NIELSEN, T. T.; LARSEN, K. L.; BRUZELL, E.; TØNNESEN, H. H. Impact of curcumin supersaturation in antibacterial photodynamic therapy—effect of cyclodextrin type and amount: studies on curcumin and curcuminoides XLV. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 101, n. 4, p. 1524-1537, 2012.

KASAAI, M. R. Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 3, p. 477-488, 2007.

KIM, C. H.; CHUN, H. J. A synthesis of O-diethylaminoethyl chitosan and its binding ability of cholate and deoxycholate anion in vitro. **Polymer Bulletin**, v. 42, n. 1, p. 25-32, February 01 1999.

KOLEV, T. M.; VELCHEVA, E. A.; STAMBOLIYSKA, B. A.; SPITELLER, M. DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, n. 6, p. 1069-1079, 2005.

KOZIOL, J. Studies on flavins in organic solvents-I*. Spectral characteristics of riboflavin, riboflavin tetrabutyrate and lumichrome. **Photochemistry and Photobiology,** v. 5, n. 1, p. 41-54, 1966.

KUMAR, A.; VIMAL, A.; KUMAR, A. Why chitosan? From properties to perspective of mucosal drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 91, p. 615-622, 2016.

KUNDU, S.; NITHIYANANTHAM, U. In situ formation of curcumin stabilized shapeselective Ag nanostructures in aqueous solution and their pronounced SERS activity. **RSC Advances**, v. 3, n. 47, p. 25278-25290, 2013.

KUNWAR, A.; BARIK, A.; PANDEY, R.; PRIYADARSINI, K. I. Transport of liposomal and albumin loaded curcumin to living cells: an absorption and fluorescence spectroscopic study. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects,** v. 1760, n. 10, p. 1513-1520, 2006.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. 2a. edição. New York: Springer, 2006.

LARASATI, Y. A.; YONEDA-KATO, N.; NAKAMAE, I.; YOKOYAMA, T.; MEIYANTO, E.; KATO, J.-Y. Curcumin targets multiple enzymes involved in the ROS metabolic pathway to suppress tumor cell growth. **Scientific Reports,** v. 8, n. 1, p. 2039, 2018.

LEE, J.-H.; GUSTIN, J. P.; CHEN, T.; PAYNE, G. F.; RAGHAVAN, S. R. Vesicle–biopolymer gels: networks of surfactant vesicles connected by associating biopolymers. Langmuir, v. 21, n. 1, p. 26-33, 2005.

LEUNG, M. H.; COLANGELO, H.; KEE, T. W. Encapsulation of curcumin in cationic micelles suppresses alkaline hydrolysis. **Langmuir**, v. 24, n. 11, p. 5672-5675, 2008.

LI, X.; MA, S.; YANG, P.; SUN, B.; ZHANG, Y.; SUN, Y.; HAO, M.; MOU, R.; JIA, Y. Anticancer effects of curcumin on nude mice bearing lung cancer A549 cell subsets SP and NSP cells. **Oncology Letters**, v. 16, n. 5, p. 6756-6762, 2018.

LIANG, G.; SHAO, L.; WANG, Y.; ZHAO, C.; CHU, Y.; XIAO, J.; ZHAO, Y.; LI, X.; YANG, S. Exploration and synthesis of curcumin analogues with improved structural stability both in vitro and in vivo as cytotoxic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 6, p. 2623-2631, 2009.

LIN, Y. G.; KUNNUMAKKARA, A. B.; NAIR, A.; MERRITT, W. M.; HAN, L. Y.; ARMAIZ-PENA, G. N.; KAMAT, A. A.; SPANNUTH, W. A.; GERSHENSON, D. M.; LUTGENDORF, S. K. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor- κ B pathway. **Clinical Cancer Research**, v. 13, n. 11, p. 3423-3430, 2007.

LIU, K.; ZHANG, J.-J.; CHENG, F.-F.; ZHENG, T.-T.; WANG, C.; ZHU, J.-J. Green and facile synthesis of highly biocompatible graphene nanosheets and its application for cellular

imaging and drug delivery. Journal of Materials Chemistry, v. 21, n. 32, p. 12034-12040, 2011.

LIU, Y.-M.; LEE, K. Modifications of the curcumin method enabling precise and accurate measurement of seawater boron concentration. **Marine Chemistry**, v. 115, n. 1-2, p. 110-117, 2009.

LIU, Y.; CAI, Y.; JIANG, X.; WU, J.; LE, X. Molecular interactions, characterization and antimicrobial activity of curcumin–chitosan blend films. **Food Hydrocolloids,** v. 52, p. 564-572, 2016.

MAHMOODI, N. M.; SALEHI, R.; ARAMI, M.; BAHRAMI, H. Dye removal from colored textile wastewater using chitosan in binary systems. **Desalination**, v. 267, n. 1, p. 64-72, 2011.

MATHUR, N. K.; NARANG, C. K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animals. **Journal Of Chemical Education**, v. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.

MIRZAEE, F.; KOOSHK, M. R. A.; REZAEI-TAVIRANI, M.; KHODARAHMI, R. Protective effects of accompanying proteins on light-and water-mediated degradation of curcumin. Journal of Paramedical Sciences, v. 5, n. 1, 2014.

MITRA, S. P. Stabilizing effect of chitosan on curcumin from the damaging action of alkaline pH and ultraviolet light. **Journal of Surface Science and Technology**, v. 24, p. 39-55, 2008.

MOHAJERI, M.; REZAEE, M.; SAHEBKAR, A. Cadmium-induced toxicity is rescued by curcumin: a review. **Biofactors**, v. 43, n. 5, p. 645-661, 2017.

MOHANTY, C.; SAHOO, S. K. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. **Biomaterials,** v. 31, n. 25, p. 6597-6611, 2010.

NABAVI, S. F.; DAGLIA, M.; MOGHADDAM, A. H.; HABTEMARIAM, S.; NABAVI, S. M. Curcumin and liver disease: from chemistry to medicine. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 1, p. 62-77, 2014.

NADI, M. M.; ASHRAFI KOOSHK, M. R.; MANSOURI, K.; GHADAMI, S. A.; AMANI, M.; GHOBADI, S.; KHODARAHMI, R. Comparative spectroscopic studies on curcumin stabilization by association to bovine serum albumin and casein: A perspective on drug-delivery application. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 3, p. 638-659, 2015.

OJANI, R.; RAOOF, J.-B.; ZAMANI, S. A novel voltammetric sensor for amoxicillin based on nickel–curcumin complex modified carbon paste electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 85, p. 44-49, 2012.

OLIVEIRA, F. D. P. P.; DALLA PICOLA, I. P.; SHI, Q.; BARBOSA, H. F. G.; DE OLIVEIRA TIERA, V. A.; FERNANDES, J. C.; TIERA, M. J. Synthesis and evaluation of diethylethylamine–chitosan for gene delivery: composition effects on the in vitro transfection efficiency. **Nanotechnology**, v. 24, n. 5, p. 055101, 2013.

PATRA, D.; MALAEB, N. N. Fluorescence modulation of 1, 7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1, 6-heptadiene-3, 5-dione by silver nanoparticles and its possible analytical application. **Luminescence**, v. 27, n. 1, p. 11-15, 2012.

PEDRO, R. D. O. **Desenvolvimento de sistemas anfifilicos baseados em derivados de quitosana para transporte e liberação sustentada de fármacos**. 2017. 161 Universidade de São Paulo

PHILIPPOVA, O. E.; VOLKOV, E. V.; SITNIKOVA, N. L.; KHOKHLOV, A. R.; DESBRIERES, J.; RINAUDO, M. Two types of hydrophobic aggregates in aqueous solutions of chitosan and its hydrophobic derivative. **Biomacromolecules**, v. 2, n. 2, p. 483-490, 2001.

PONNUVEL, K.; BANUPPRIYA, G.; PADMINI, V. Highly efficient and selective detection of picric acid among other nitroaromatics by NIR fluorescent organic fluorophores. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 234, p. 34-45, 2016.

POURREZA, N.; GOLMOHAMMADI, H. Green colorimetric recognition of trace sulfide ions in water samples using curcumin nanoparticle in micelle mediated system. **Talanta**, v. 119, p. 181-186, 2014.

POURREZA, N.; GOLMOHAMMADI, H. Application of curcumin nanoparticles in a lab-on-paper device as a simple and green pH probe. **Talanta**, v. 131, p. 136-141, 2015.

PRIYADARSINI, K. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. **Molecules,** v. 19, n. 12, p. 20091-20112, 2014.

PRIYADARSINI, K. I. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, v. 10, n. 2, p. 81-95, 2009.

QI, X.; QIN, J.; FAN, Y.; QIN, X.; JIANG, Y.; WU, Z. Carboxymethyl chitosan-modified polyamidoamine dendrimer enables progressive drug targeting of tumors via pH-sensitive charge inversion. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 12, n. 4, p. 667-678, 2016.

RAJ, S.; SHANKARAN, D. R. Curcumin based biocompatible nanofibers for lead ion detection. **Sensors and Actuators B: Chemical,** v. 226, p. 318-325, 2016.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

SÁENZ, J.; ALBA, G.; REYES-QUIROZ, M. E.; GENIZ, I.; JIMÉNEZ, J.; SOBRINO, F.; SANTA-MARÍA, C. Curcumin enhances LXRα in an AMP-activated protein kinase-dependent manner in human macrophages. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 54, p. 48-56, 2018.

SAHU, A. K.; JAIN, V. The applied validated ultraviolet-visible spectrophotometric method and the kinetic model of the release of gedunin from a chitosan-coated liposome. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 83, n. 5, p. 878-887, 2016.

SAIFUDDIN, M.; KUMARAN, P. Removal of heavy metal from industrial wastewater using chitosan coated oil palm shell charcoal. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 43-53, 2005.

SAITHONGDEE, A.; PRAPHAIRAKSIT, N.; IMYIM, A. Electrospun curcumin-loaded zein membrane for iron (III) ions sensing. **Sensors and Actuators B: Chemical,** v. 202, p. 935-940, 2014.

SANKPAL, U. T.; NAGARAJU, G. P.; GOTTIPOLU, S. R.; HURTADO, M.; JORDAN, C. G.; SIMECKA, J. W.; SHOJI, M.; EL-RAYES, B.; BASHA, R. Combination of tolfenamic acid and curcumin induces colon cancer cell growth inhibition through modulating specific transcription factors and reactive oxygen species. **Oncotarget**, v. 7, n. 3, p. 3186, 2016.

SATHISHKUMAR, M.; SNEHA, K.; YUN, Y.-S. Immobilization of silver nanoparticles synthesized using curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 20, p. 7958-7965, 2010.

SEMALTY, A.; SEMALTY, M.; RAWAT, M. S. M.; FRANCESCHI, F. Supramolecular phospholipids–polyphenolics interactions: The PHYTOSOME® strategy to improve the bioavailability of phytochemicals. **Fitoterapia**, v. 81, n. 5, p. 306-314, 2010.

SERPI, C.; STANIĆ, Z.; GIROUSI, S. Electroanalytical study of the interaction between dsDNA and curcumin in the presence of copper (II). **Talanta**, v. 81, n. 4-5, p. 1731-1734, 2010.

SHAH, C.; MISHRA, B.; KUMAR, M.; PRIYADARSINI, K.; BAJAJ, P. Binding studies of curcumin to polyvinyl alcohol/polyvinyl alcohol hydrogel and its delivery to liposomes. **Current Science**, p. 1426-1432, 2008.

SHEN, L.; JI, H.-F. Theoretical study on physicochemical properties of curcumin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,** v. 67, n. 3-4, p. 619-623, 2007.

SHRESTHA, B. K.; AHMAD, R.; MOUSA, H. M.; KIM, I.-G.; KIM, J. I.; NEUPANE, M. P.; PARK, C. H.; KIM, C. S. High-performance glucose biosensor based on chitosan-glucose oxidase immobilized polypyrrole/Nafion/functionalized multi-walled carbon nanotubes bionanohybrid film. Journal of Colloid and Interface Science, v. 482, p. 39-47, 2016.

SHUKLA, S. K.; MISHRA, A. K.; AROTIBA, O. A.; MAMBA, B. B. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 59, p. 46-58, 2013.

SILVA, M. A. D. R. Utilização do pireno como uma sonda fluorescente na investigação de ligações intermoleculares em misturas binárias de solventes. 2002. 95 (Mestrado). Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC).

SREELATHA, G.; AGEETHA, V.; PARMAR, J.; PADMAJA, P. Equilibrium and kinetic studies on reactive dye adsorption using palm shell powder (an agrowaste) and chitosan. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 56, n. 1, p. 35-42, 2010.

STANIĆ, Z. Curcumin, a compound from natural sources, a true scientific challenge–a review. **Plant Foods for Human Nutrition,** v. 72, n. 1, p. 1-12, 2017.

TAKAHASHI, M.; UECHI, S.; TAKARA, K.; ASIKIN, Y.; WADA, K. Evaluation of an oral carrier system in rats: bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 9141-9146, 2009.

TEMBA, B. A.; FLETCHER, M. T.; FOX, G. P.; HARVEY, J. J.; SULTANBAWA, Y. Inactivation of *Aspergillus flavus* spores by curcumin-mediated photosensitization. **Food Control**, v. 59, p. 708-713, 2016.

THUC, D. T.; HUY, T. Q.; HOANG, L. H.; TIEN, B. C.; VAN CHUNG, P.; THUY, N. T.; LE, A.-T. Green synthesis of colloidal silver nanoparticles through electrochemical method and their antibacterial activity. **Materials Letters**, v. 181, p. 173-177, 2016.

TIERA, M. J.; QIU, X.-P.; BECHAOUCH, S.; SHI, Q.; FERNANDES, J. C.; WINNIK, F. M. Synthesis and characterization of phosphorylcholine-substituted chitosans soluble in physiological pH conditions. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 11, p. 3151-3156, 2006.

TØMMERAAS, K.; VÅRUM, K. M.; CHRISTENSEN, B. E.; SMIDSRØD, O. Preparation and characterisation of oligosaccharides produced by nitrous acid depolymerisation of chitosans. **Carbohydrate Research**, v. 333, n. 2, p. 137-144, 2001.

TURRO, N. J. Modern molecular photochemistry. 1991.

VIEIRA, N. A. B.; MOSCARDINI, M. S.; DE OLIVEIRA TIERA, V. A.; TIERA, M. J. Aggregation behavior of hydrophobically modified dextran in aqueous solution: a fluorescence probe study. **Carbohydrate Polymers,** v. 53, n. 2, p. 137-143, 2003.

WANG, F.; HUANG, W.; JIANG, L.; TANG, B. Quantitative determination of proteins based on strong fluorescence enhancement in curcumin-chitosan-proteins system. **Journal of Fluorescence**, v. 22, n. 2, p. 615-622, 2012.

WANG, F.; WU, X.; WANG, F.; LIU, S.; JIA, Z.; YANG, J. The sensitive fluorimetric method for the determination of curcumin using the enhancement of mixed micelle. **Journal of Fluorescence**, v. 16, n. 1, p. 53-59, 2006.

WANG, H.; ZHAO, P.; LIANG, X.; GONG, X.; SONG, T.; NIU, R.; CHANG, J. Folate-PEG coated cationic modified chitosan–cholesterol liposomes for tumor-targeted drug delivery. **Biomaterials**, v. 31, n. 14, p. 4129-4138, 2010.

WANG, Y.-J.; PAN, M.-H.; CHENG, A.-L.; LIN, L.-I.; HO, Y.-S.; HSIEH, C.-Y.; LIN, J.-K. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 12, p. 1867-1876, 1997.

WARDLE, B. **Principles and applications of photochemistry**. Manchester: John Wiley & Sons, 2009.

WEBSTER, A.; HALLING, M. D.; GRANT, D. M. Metal complexation of chitosan and its glutaraldehyde cross-linked derivative. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 9, p. 1189-1201, 2007.

XIE, D. F.; MARTINO, V. P.; SANGWAN, P.; WAY, C.; CASH, G. A.; POLLET, E.; DEAN, K. M.; HALLEY, P. J.; AVÉROUS, L. Elaboration and properties of plasticised chitosan-based exfoliated nano-biocomposites. **Polymer (United Kingdom)**, v. 54, n. 14, p. 3654-3662, 2013.

XU, G.; WANG, J.; SI, G.; WANG, M.; XUE, X.; WU, B.; ZHOU, S. A novel highly selective chemosensor based on curcumin for detection of Cu^{2+} and its application for bioimaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 230, p. 684-689, 2016.

YALLAPU, M. M.; GUPTA, B. K.; JAGGI, M.; CHAUHAN, S. C. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. **Journal of Colloid and Interface Science,** v. 351, n. 1, p. 19-29, 2010.

YIN, M.; CHEN, X.; LI, R.; HUANG, D.; FAN, X.; REN, X.; HUANG, T. S. Preparation and characterization of antimicrobial PVA hybrid films with N-halamine modified chitosan nanospheres. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 46, 2016.

YOO, S.-H.; LEE, K. H.; LEE, J.-S.; CHA, J.; PARK, C. S.; LEE, H. G. Physicochemical Properties and Biological Activities of DEAE-Derivatized Sphingomonas Gellan. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 16, p. 6235-6239, 2005/08/01 2005.

YUE, Y.; YIN, C.; HUO, F.; CHAO, J.; ZHANG, Y. The application of natural drug-curcumin in the detection hypochlorous acid of real sample and its bioimaging. **Sensors and Actuators B: Chemical,** v. 202, p. 551-556, 2014.

ZHANG, A.; DING, D.; REN, J.; ZHU, X.; YAO, Y. Synthesis, characterization, and drugrelease behavior of amphiphilic quaternary ammonium chitosan derivatives. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 4, 2014.

ZHU, M.; LIU, P.; SHI, H.; TIAN, Y.; JU, X.; JIANG, S.; LI, Z.; WU, M.; NIU, Z. Balancing antimicrobial activity with biological safety: bifunctional chitosan derivative for the repair of wounds with Gram-positive bacterial infections. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 23, p. 3884-3893, 2018.

ZSILA, F.; BIKÁDI, Z.; SIMONYI, M. Unique, pH-dependent biphasic band shape of the visible circular dichroism of curcumin–serum albumin complex. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 301, n. 3, p. 776-782, 2003.