



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

**DE BIOMATERIAIS A SUPRAMOLÉCULAS TERANÓSTICAS: A
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA DESTINADA A PROTEGER,
TRANSPORTAR E ENTREGAR MOLÉCULAS BIOATIVAS DE
FORMA PLANEJADA**

LEANDRO ARAÚJO DE AZEVEDO

RECIFE

2015

LEANDRO ARAÚJO DE AZEVEDO

**DE BIOMATERIAIS A SUPRAMOLÉCULAS TERANÓSTICAS: A
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA DESTINADA A PROTEGER,
TRANSPORTAR E ENTREGAR MOLÉCULAS BIOATIVAS DE
FORMA PLANEJADA**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência de Materiais, da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Ciência de Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. Severino Alves Junior

**Co-orientadora: Dr(a). Iane Bezerra
Vasconcelos Alves**

RECIFE

2015

Catalogação na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador CRB4-532

A994d Azevedo, Leandro Araújo de.

De biomateriais a supramoléculas teranósticas: a inovação terapêutica destinada a proteger, transportar e entregar moléculas bioativas de forma planejada / Leandro Araújo de Azevedo. – Recife: O Autor, 2015.

104 f.: fig., tab.

Orientador: Severino Alves Júnior.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais, 2015.

Inclui referências e apêndices.

1. Nanotecnologia. 2. Alzheimer, Doença de. 3. Nicotina. 4. Cafeína. 5. Cúrcuma. I. Alves Júnior, Severino (Orientador). II. Título.

620.5

CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2015-26

FOLHA DE APROVAÇÃO

LEANDRO ARAÚJO DE AZEVEDO

**DE BIOMATERIAIS A SUPRAMOLECULAS DIAGNÓSTICAS: A INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA DESTINADA A PROTEGER, TRANSPORTAR E ENTREGAR
MOLÉCULAS BIOTIVAS DE FORMA PLANEJADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 04/08/2015.

BANCA EXAMINADORA

Severino Alves Júnior (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Maria do Carmo Alves de Lima (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Ricardo Oliveira da Silva (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força nessa caminhada, paciência, saúde e conhecimento para desenvolver as pesquisas do mestrado.

Ressalto que este mestrado foi um grande aprendizado como profissional.

A minha família, nas pessoas de minha mãe Neuza Rosa de Araújo Azevedo e do meu pai Antônio Bernardo de Azevedo (*in memoria*) e dos meus irmãos, pela paciência e pela força nesse período.

Aos meus amigos pela companhia nas horas boas e ruins.

A Marcela Albino pela sua amizade desde a graduação na qual compartilhamos as nossas dificuldades.

Ao professor e atualmente coordenador do programa da pós-graduação Eduardo Falcão por sua disponibilidade na hora que mais precisei.

A minha co-orientadora Dr(a). Iane Bezerra Vasconcelos Alves, pelo apoio intelectual, pelas ideias, conselhos experimentais e pelo suporte científico no desenvolvimento do projeto.

Ao meu orientador professor Dr. Severino Alves Júnior, pelas suas ideias e apoio intelectual e pelo fornecimento das estruturas, pela sua disponibilidade e a liberdade para que eu pudesse sugerir ideias que fossem relevantes para o trabalho e pelas oportunidades oferecidas no meu crescimento científico.

A Leonis Luz pela sua amizade e pelo seu apoio, ajuda e colaboração científica na parte de fotoluminescência deste trabalho, também o agradeço por ensinar os procedimentos técnicos e teóricos do espectro de fotoluminescência.

A Dr(a). Denise Azevedo pela sua amizade e seu apoio intelectual e companheirismo e sua disponibilidade em tirar minhas dúvidas nas vezes que a procurei.

A Jadson por sua amizade e sua disponibilidade em abrir o laboratório do Prof. Navarro e aos colegas do laboratório de eletrossíntese orgânica -LESO para que eu pudesse usar o UV-vis.

Aos professores colaboradores deste trabalho, profº. Ricardo Oliveira do DQF pelas análises de RMN, profª. Noemia Pereira da Silva Santos do departamento de Biologia da UFPE-vitória pelos testes de citotoxicidade e ao profº. Marcelo Lancellotti o

Instituto de Biologia da UNICAMP, pelos ensaio do mimetismo barreira hemato-encefálico humana.

A Cézar Amorim pela sua amizade e apoio e por compartilhar conhecimentos e experiências acerca dos nossos trabalhos.

Aos meus amigos dos laboratórios BSTR e do LAMBDA pela amizade ajuda e pela paciência assim como a Rodolfo (Makarrão), Marcos de Paula, Natália Talita , Nathália Rios, Felipe Lion, pela força.

A Fausthon Fred pela amizade , força e conselhos de incentivo.

A Eliete, Conceição e Jaqueline da Central Analítica do DQF pela ajuda nas caracterizações dos materiais. Sem os mesmos seria muito difícil obter os resultados.

Ao CETENE Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste pelas caracterizações de MEV, MET e DRX.

Aos órgãos financiadores do projeto: UFPE e CAPES.

RESUMO

Visando desenvolver um trabalho de vanguarda em teranóstica (terapia associada ao diagnóstico) é que este trabalho apresenta duas partes (I e II), visando uma estratégia no tratamento do Alzheimer (DA). Nesse sentido, o capítulo I objetiva tratar de propostas terapêuticas voltadas às disfunções colinérgicas provocadas pela DA. É sabido que a cafeína e a nicotina apresentam atividades farmacológicas promissoras para este tratamento, contudo, estes ativos foram adsorvidos em um sistema nanométrico de sílica mesoporosa (nanoMCM48) dopado com íon Európio (III)(nanoMCM48:Eu), os quais foram denominados de CAF@MCM48:Eu, NIC@MCM48:Eu e CAFNIC@MCM48:Eu. O nanoMCM48:Eu foi sintetizado usando uma rota descrita na literatura, e dopada com 5% de íon Európio (Eu^{3+}) obtendo propriedades importantes para nossos objetivos tais como: tamanho ideal, excelente adsorção dos ativos , propriedades luminescentes promissoras e boa taxa de liberação dos ativos em meio fisiológico. No capítulo II, é discutido acerca de uma rede suplamolecular CUR-CB [7] (CUR = curcumín e CB [7] = curcubit [7] uril), na qual, foi eficientemente preparada misturando CUR e CB [7] à razão molar de 1:1 em metanol à temperatura ambiente. A formação complexa foi evidenciada principalmente por experimentos FTIR, ^1H RMN e DOSY. A disposição supramolecular promove o aumento da solubilidade e estabilidade da CUR sem afetar as propriedades biológicas das células A549. As propriedades luminescentes permitem que este material seja utilizado como sonda luminescente e marcador para rastreamento *in vivo* e monitoramento de integridade estrutural do complexo supramolecular.

Palavras-Chave: Alzheimer. nanoMCM48:Eu. Cafeína. Nicotina. Curcumina e Curcubit[7]uril

ABSTRACT

Aiming for develop a cutting-edge work in theranostics (therapy associated with diagnosis). Is this paper presents two parts (I and II) targeting a strategy to treat Alzheimer (AD). The chapter III aims to treat the therapeutic proposals aimed at cholinergic dysfunction caused by AD. It is known however, it was investigated that caffeine and nicotine are promising pharmacological activities for this treatment, nevertheless, these assets were adsorbed on a nanometer system mesoporous silica (nanoMCM48) doped ion Europium (III) (nanoMCM48:Eu) The systems were named CAF@MCM48:Eu, NIC@MCM48:Eu and CAFNIC@MCM48:Eu. The nanoMCM48:Eu was synthesized using the route described in the literature, and doped with 5% Europium ion (Eu^{3+}). Obtaining important properties for our purposes such as: optimal size, excellent adsorption of assets, promising luminescent properties and good rate of release of assets in physiological environment. The chapter II It is discussed about the supramolecular network CUR-CB[7] (CUR= curcumin and CB[7]= curcubit[7]uril) was efficiently prepared by mixing CUR and CB[7] at molar ratio of 1:1 in methanol at room temperature. The complex formation was evidenced by mainly FTIR, ^1H RMN and DOSY experiments. The supramolecular arrangement promotes increase in the solubility and stability of CUR without affecting the biological properties of the A549 cells. The luminescent properties enable this material to be used as luminescent probe and marker for in vivo tracking and structural integrity monitoring of the supramolecular complex.

Keywords: Alzheimer. nanoMCM48:Eu. Caffeine. Nicotine. Curcumin and Curcubit[7]uril.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fármacos ministrados no tratamento de Alzheimer que visam melhorar 23 as funções cognitivas.
- Figura 2:** Estrutura da sílica mesoporosa nanoMCM48 e destaque para os grupos 24 silanóis em sua estrutura.
- Figura 3:** Esquema do efeito antagonista da cafeína frente a adenosina no 27 sistema nervoso central.
- Figura 4:** Esquema da ação da nicotina nos receptores nicotínicos no sistema 29 nervoso central.
- Figura 5:** Forma ceto e enol da curcumina em equilíbrio. 30
- Figura 6:** Ilustração da formação das placas senis decorrente da cumulação 31 dos beta amiloïdes β A (adaptado NEUROSCIENCE et al., 2007).
- Figura 7:** Ilustração do mecanismo de formação do beta amiloide β A(adaptado 31 QUÍMICA ALZHEIMER, 2013).
- Figura 8:** Estrutura e dimensão do curcubit[7]juril (OSAKA et al., 2006). 34
- Figura 9:** Metodologia de adsorção da cafeína, nicotina e da multidroga no 39 nanoMCM48:Eu.
- Figura 10:** Curva de calibração da cafeína nas concentrações em $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 40 monitorado no comprimento de onda de 273 nm.
- Figura 11:** Curva de calibração da nicotina nas concentrações em $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 41 monitorando no comprimento de onda de 260 nm.
- Figura 12:** Sugestão de interação entre o fármaco a) cafeína b) nicotina e o 45 silanol(Si-OH) presentes no nanoMCM48:Eu (LIÉDANA et al., 2013).
- Figura 13:** TGA em atmosfera de gás nitrogênio (N_2) em 10°C por minutos o 47 aumento de temperatura no intervalo de temperatura ambiente até 800°C dos seguintes componentes: cafeína; nanoMCM48:Eu; CAF@MCM48:Eu, NIC@ MCM48:Eu e CAFNIC@ MCM48:Eu.
- Figura 14:** FTIR em janela de KBr e temperatura ambiente da nicotina. 48
- Figura 15:** FTIR da cafeína em pastilha de KBr obtida em temperatura 49 ambiente.
- Figura 16:** FTIR do nanoMCM48:Eu em pastilha de KBr a temperatura 50 ambiente.

Figura 17: FTIR de todos os sistemas sobrepostos em pastilha de KBr exceto 51 da nicotina que foi obtida em janela de KBr: (a) nicotina; (b) cafeína (c) nanoMCM48:Eu; (d) NIC@MCCM48:Eu; (e) CAF@MCCM48:Eu e (f) CAFNIC@MCCM48:Eu.

Figura 18: DRX com o passo de 0,01°/s no intervalo de 1.5-7° para o 52 nanoMCM48:Eu e de 2-25° para a cafeína.

Figura 19: DRX com o passo de 0,01°/s no intervalo de 2-25° da cafeína e dos 53 sistemas CAF@MCM48Eu; NIC@MCM48Eu e CAFNIC@MCM48Eu

Figura 20: MEV e MET dos sistemas nanoMCM48:Eu; CAF@MCM48:Eu; 54 NIC@MCM48:Eu e CAFNIC@MCM48:Eu.

Figura 21: Espectros de excitação (linhas preta; $\lambda_{em} = 612$ nm) e emissão (linha 55 vermelha; $\lambda_{ex} = 394$ nm) do nanoMCM48:Eu.

Figura 22: Fotoluminescência da cafeína pura monitorando na emissão de 56 333nm e excitação em 315nm.

Figura 23: Fotoluminescência do CAF@MCM48:Eu monitorando a emissão em 57 612nm , comparado com a emissão do nanoMCM48:Eu em 612nm e o excitação da Cafeína em 350nm.

Figura 24: Espectros de excitação (linhas sólidas) e de emissão(linhas 58 tracejadas) da nicotina.

Figura 25: Fotoluminescência do sistema com NIC@MCM48:Eu monitorando 59 a emissão em 613nm e a excitação em 393nm.

Figura 26: Fotoluminescência do sistema com CAFNIC@MCM48:Eu 60 monitorando a emissão em 613nm e a excitação em 393nm.

Figura 27: Cinética de liberação: (a) cafeína; (b) nicotina e (c) da nicotina na 62 multidroga. Sistemas monitorados em 24 horas e 12hs sob agitação de 100 rpm em meio PBS.

Figura 28: Curva de calibração da Curcumina monitorando a absorbância no 67 comprimento de 425nm.

Figura 29: Termogravimetria da Curcumina, CB[7] e do complexo CUR-CB[7] 70 no intervalo de 10°C por minuto em atmosfera de nitrogênio.

Figura 30: DRX do CB[7], Curcumina e do complexo CUR-CB[7], radiação de 71 Cu-K α = 1,54056 Å, a 40 Kv.

Figura 31 Espectro de infravermelho a temperatura ambiente obtido em 72 pastilha de KBr do (a) Curcumina, (b) CB[7] e (c) CUR-CB[7].

Figura 32: Equilíbrio químico da curcumina. 73

Figura 33: : H¹RMN do composto nano-agregado a partir das interações entre 74 a curcumina complexado no CB [7] (CUR-CB[7]) e a curcumina (CUR).

Figura 34: Experimento de RMN ¹H RMN do complexo CUR-CB[7] em DMSO- 75 d6. O coeficiente de difusão (D) é 10-10 m².s⁻¹

Figura 35: Composto nano-agregado a partir das interações entre a curcumina 76 e o CB[7]

Figura 35: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia do 78 CB[7].

Figura 35: MEV das imagens de CB[7], CUR e CUR-CB[7]. 77

Figura 36: imagens de TEM de CUR-CB [7] (a) e fotografia da dispersão 77 coloidal em PBS (pH = 7.2) do CUR-CB [7] e CUR (b), respectivamente, sob incidência do ponto laser.

Figura 37: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia do 78 CB[7].

Figura 38: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia da 79 Curcumina.

Figura 39: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia do 80 CUR-CB[7].

Figura 40: Efeito de CUR, CB[7] E CUR-CB[7] sobre viabilidade em células 81 A549

Figura 41: Ilustração dos sistemas preparados no trabalho (a) ativos adsorvidos 84 no nanoMCM48:Eu (b) nano-agregado CUR-CB[7].

LISTA DE TABELAS

Parte I

Tabela 1 : Hipóteses para neurodegeneração presente na doença de Alzheimer.	22
Tabela 2: Reagentes usados nos materiais preparados.	39
Tabela 3: Quantificação dos ativos cafeína, nicotina e da multidroga adsorvidas no nanoMCM48:Eu.	46
Tabela 4: Tempo de decaimento dos ativos puros e dos mesmos adsorvidos no nanoMCM48:Eu.	63

Parte II

Tabela 5: Reagentes utilizados na síntese do complexo	68
--	----

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIAÇÕES

DA: Doença de Alzheimer

Ach: Acetilcolina

MCM48:Eu: Sistema nervoso central

ACE: Acetilcolesterase

BUChE: Butirilcolinesterase

NPs: Nanopartículas

A1: Receptor da adenosina

A2A: receptor da adenosina

β A Beta-amiloide

nAChR: Acetilcolina nicotínico

T.A: Temperatura ambiente

CAF: Cafeína

NIC: Nicotina

nanoMCM48:Eu: nano sílica mesoporosa Móbil Composition of Mater N° 48 dopado com 5% de íon európio Eu³⁺

CAFNIC: cafeína e nicotina

CAF@MCM48:Eu: cafeína adsorvida no nanoMCM48:Eu

NIC@MCM48: nicotina adsorvida no nanoMCM48:Eu

CAFNIC@MCM48: cafeína e nicotina adsorvida no nanoMCM48:Eu

TGA: Termogravimetria

DRX: Difração de raio X

IV-TF:Infravermelho por Transformada de Fourrier

UV-VIS: ultravioleta no visível

λ : Lambda

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

MET : Microscopia eletrônica de transmissão

CB[n]: Curcubit[n]uril

CB[7]: Curcubit[7]uril

TEOS: tretaetilortosilicato

θ : Ângulo entre o raio incidente e os planos de espalhamento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1	A doença de Alzheimer	20
2.2	Sílica mesoporosa como sistemas de entrega controlada de fármacos	22
2.2.1.	Sílica mesoporosa	22
2.3	Aplicações dos íons lantanídeos como marcadores luminescentes	24
2.4.	Características dos sistemas de entrega de drogas em cérebro	26
2.5	Cafeína e nicotina na terapia da doença de Alzheimer	26
2.5.1.	Cafeína no sistema nervoso central	26
2.5.2	Nicotina no sistema nervoso central	27
2.6	Curcumina	29
2.7.	Curcumina na terapia da doença de Alzheimer	29
2.8.	Curcubit[n]uril e Curcubit[7]uril	33
3.	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivo geral	35
3.1.2.	Objetivos específicos	35
4	PARTE 1: PROPRIEDADE TERANÓSTICA DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA (nanoMCM48:EU) VISANDO A LIBERAÇÃO DA CAFEÍNA E NICOTINA FRENTE AO ALZHEIMER	36
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1.2	Materiais e reagentes	37
4.1.3	Síntese do nitrato de európio (III)	38
4.1.4	Síntese do nanoMCM48:Eu	38
4.1.5	Adsorção dos ativos no nanoMCM48:Eu (CAF@MCM48:EU; NIC@MCM48:EU E CAFNIC@MCM48:EU)	39
4.1.6	Curva de calibração	40
4.1.7	Cinética de liberação	414

4.1.8	Caracterização	42
4.1.8.1.	Análise termogravimétrica-TGA	42
4.1.8.2.	Difração de raios-X	42
4.1.8.3.	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR	42
4.1.8.4.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET)	43
4.1.8.5.	Espectroscopia de fotoluminescência	43
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.2.1	Curva de calibração e quantificação de adsorção da cafeína e nicotina na nanosílica	44
4.2.2	Análise termogravimétrica (TGA)	45
4.2.3	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR	47
4.2.4	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR da nicotina	47
4.2.5	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR da cafeína	48
4.2.6	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR do nanoMCM48:Eu	49
4.2.7	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-ftir de todos os sistemas	50
4.2.8	Difração de raio X-DRX	51
4.2.9	Microscopia de varredura (MEV) e de transmissão (MET)	53
4.2.10	Espectroscopia de fotoluminescência	54
4.2.10.1	Fotoluminescência do nanoMCM48:E dos ativos e dos mesmos adsorvidos no nanoMCM48:Eu	55
4.2.10.2	Fotoluminescência do nanoMCM48:Eu	55
4.2.10.3	Fotoluminescência da cafeína	56
4.2.10.4	Fotoluminescência do CAF@MCM48:Eu	57
4.2.10.5	Fotoluminescência da nicotina	59
4.2.10.6	Fotoluminescência do NIC@MCM48:Eu	60
4.2.10.7	Fotoluminescência do CAFNIC@MCM48:Eu	60
4.2.11	Cinética de liberação controlada	61
4.3	CONCLUSÃO	63

5	PARTE II: NOVO NANO-AGREGADO SUPRAMOLECULAR DE CURCUMIN-CUCURBIT[7]URIL: SÍNTESE, PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS E AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE	64
5.1	MATERIAIS E MÉTODOS	65
5.1.2	Materiais e reagentes	65
5.1.3	Síntese do nano-agregado CUR-CB[7]	65
5.1.4	Preparação das amostras para a fotoluminescência	65
5.1.5	Caracterização	66
5.1.6	Análise termogravimétrica-TGA	66
5.1.7	Difração de raios-X	66
5.1.8	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR	66
5.1.9	Ressonância magnética nuclear-RMN	66
5.1.10	Espectroscopia de fotoluminescência	67
5.1.11	Ensaio de viabilidade celular	67
5.2	RESULTADO E DISCUSSÃO	68
5.2.1	Termogravimétrica (TGA)	68
5.2.2	Difração de raio x (DRX)	69
5.2.3	Espectroscopia de infravermelho transformada em fourier-FTIR	70
5.2.4	Ressonância magnética nuclear (RMN)	71
5.2.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET)	75
5.2.6	Espectro de fotoluminescência do CB[7], curcumina e do nano-agregado CUR-CB[7]	78
5.2.7	Efeito de CUR, CB[7] e CUR-CB[7] sobre viabilidade celular.	80
5.2.8	CONCLUSÃO	81
6.	CONCLUSÕES GERAIS	82
7.	PERSPECTIVAS	83
8.	REFERÊNCIAS	84
	APÊNDICES	96
	APÊNDICE 1:Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) da sílica mesoporosa nanoMCM48:Eu	96
	APÊNDICE 2: Curvas de decaimento radiativo do nanoMCM48:Eu da cafeína, nicotina e dos ativos adsorvidos na nanopartícula	97

APÊNDICE 3: Cinética de liberação da curcumina em meio fisiológico sem proteína bovina-BSA	102
APÊNDICE 4: Microscopia eletrônica de varredura e de transmissão da curcumina, CB[7] e do complexo	102
APÊNDICE 5: Absorbância no UV-vis da curcumina após a cinética de liberação em meio fisiológico com 2% de proteína bovina-BSA E a curcumina <i>in natura</i> .	103
APÊNDICE 6: Fotoluminescência do NIC@MCM48:Eu	103

1- INTRODUÇÃO

Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa do sistema nervoso central (SNC), sendo a mais comum causa de demência na população idosa, na qual há uma deterioração progressiva do intelecto e funções sociais, perda de memória, alterações de personalidade e incapacidade para o autocuidado.(KOSASA et al., 1999).

Existem diversos fatores de risco associados à demência, como por exemplo, a idade avançada, dietas com alta quantidade de gorduras saturadas e colesterol, fumo, baixo grau de escolaridade, ansiedade, depressão, doenças coronarianas, derrame, traumas cerebrais, hipertensão e doenças neuroinflamatórias (KORCZYN; HALPERIN, 2009). As formas mais frequentes de demência são a demência cerebrovascular, demência fronto-temporal e a doença de Alzheimer (CARAMELLI; BARBOSA, 2002).

As anormalidades nos sistemas cerebrais que utilizam acetilcolina são consideradas características da doença e incluem: redução desproporcional de acetilcolina , redução de atividade da colina-acetiltransferase ,degeneração do núcleo basal ,alteração no número e sensibilidade de receptores nicotínicos e muscarínicos cerebrais (INOUE; OLIVEIRA, 2004). Em nível celular, a DA está associada à redução das taxas de acetilcolina (ACh) no processo sináptico, diminuindo a neurotransmissão colinérgica cortical, além de outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P em menor extensão (ALBERTO; FRAGA, 2004). Estes défices colinérgicos correlacionam-se positivamente com prejuízos cognitivos na DA(KUMAR; SINGH, 2015).

As estratégias para a terapia da DA têm sido amplamente enfocadas em melhorar as funções colinérgicas. Contudo, as abordagens terapêuticas visam inibir a função da acetilcolinesterase, enzima responsável pela degradação da acetilcolina (INOUE; OLIVEIRA, 2004), visto que a inibição do mesmo potencializa a ação da acetilcolina. Com isto, ocorre uma reposição de acetilcolina no sistema colinérgico (ORHAN; ŞENER, 2006).

Outra estratégia visa a inibir os efeitos do peptídeo β -amiloide (β A), acredita-se que a β A são acumulação de placas insolúveis ou filamentos parcialmente solúveis,

que podem causar uma cascata patológica que conduz à formação de emaranhados (placas senis) (LEWIS et al., 2001). A deposição das placas produz neurotoxina e assim estresse inflamatório. Nesse sentido a DA é também referido como uma doença inflamatória crônica (SELKOE, 2001; POTTER et al., 2001; SKOKOWA et al., 2006; KANTOR et al., 2014).

Nesse sentido, este trabalho apresenta duas estratégias; no capítulo III insere a cafeína e a nicotina na proposta de terapia colinérgica e no capítulo IV usa a curcumina visando reduzir os efeitos causados pelo β A. No que tange os efeitos da cafeína e nicotina, estudos recentes já vêm sendo feitos *in vitro* e *in vivo* nos quais obtiveram resultados significativos em melhorias nas funções cognitivas (AOYAMA et al., 2011; NEHLIG, 2010; PRASANTHI et al., 2010 e RIVERA-OLIVER; DÍAZ-RÍOS, 2014; LOMBARDO; MASKOS, 2014; DURAZZO et al., 2014; ARUNRUNGVICHIAN et al., 2015 e RANGANI et al., 2012). Estudos em ratos realizados por Arendash, G. W e colaboradores, concluíram que a ingestão de café a longo prazo poderia ser uma estratégia viável para a redução do risco de AD (ARENDASH et al., 2006). Arendash, G. W. e colaboradores concluíram que o café exerce a sua proteção contra a demência relacionada ao DA o que pode ajudar no desenvolvimento de novas terapias para estas doenças. Estudos clínicos usando adesivos de nicotina na pele demonstraram que o tratamento de nicotina pode melhorar o desempenho cognitivo os adultos com DA a melhoria é visto principalmente em termos de melhor desempenho da atenção. (REZVANI; LEVIN, 2001). Dessa forma, na abordagem no capítulo III, a cafeína e a nicotina foram carreados na nanosílica mesoporosa nanoMCM48 dopado com íon Európio(III) (nanoMCM48:Eu) por via adsorção. O MCM48 é de uma família de sílica mesoporosa, que foram produzidos pela primeira vez em 1992 pela Móbil Composition of Mater (MCM). O MCM48 possui estrutura de arranjo cúbico de mesoporos apresentando poros interconectados, resultando em um sistema tridimensional cúbico 3D, grupo espacial Ia3d (TARSO FIGUEIREDO GRECCO, DE et al., 2013).

Almejando um material com também, funções diagnósticas, o interesse do uso do íon lantanídeo (Eu^{3+}) está atrelado na sua propriedade luminescente. Nesse sentido, nanomateriais à base de lantanídeos são altamente promissoras na área biomédica no uso de sonda e imagem, este interesse no uso dos lantanídeos se deve

as suas excelentes propriedades químicos e ópticos (SYAMCHAND; SONY, 2015).Portanto, os íons trivalentes de Tb, Eu, Nd e Yb são amplamente utilizados como marcadores fluorescentes(SYAMCHAND; SONY, 2015).

No capítulo II apresenta a abordagem da complexação da curcumina no curcubit[7]uril (CB[7]) objetivando melhorar sua oferta em meio fisiológico, haja vista, a administração desta molécula está atrelado a sua pouca biodisponibilidade.A cúrcuma (Cúrcuma longa) tem sido usada em tratamento médico pelas suas propriedades anti-inflamatórias e antissépticas, além do uso como uma especiaria na alimentação humana (MANGOLIM et al., 2014). O principal componente extraído da cúrcuma (planta típica da Índia e China) é a curcumina, responsável por suas ações bioativas (AMBEGAOKAR et al., 2003). A curcumina apresenta um efeito anti-inflamatório potente; ação antioxidante; inibe a enzima secretase; inflamação induzida por β A; apresenta propriedades anti-agregação de β A e liga-se com afinidade na mesma (TUPPO; ARIAS, 2005)(IRESON et al., 2002). A curcumina é prontamente conjugado no intestino e fígado formando glucuronides curcumina (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011), além disso, este fármaco apresenta baixa solubilidade em água e seu uso prolongado em altas doses podem trazer efeitos colaterais tais como: aperto no peito, erupções cutâneas e inchaço da pele e seu uso crônico pode causar toxicidade hepática crônica (YUAN et al., 2007), em vista destas limitações é que neste capítulo a curcumina é complexada no CB[7].

A escolha pelo CB[7] se deve pelo fato de se tratar de uma molécula cíclica consistindo de unidades de glicolurilo (uréia ciclica) ligadas por um par de grupos metileno. Ela possui cavidades rígidas hidrofóbicas de baixo polarizabilidade, apresentam portais forrados de carbonila. Suas aplicação farmacêutica se mostrou promissores no que se refere a sua interação com fármacos, apresentando capacidade de encapsular moléculas em suas cavidades. Diante disto, o CB[7] pode ser promissor em carrear, solubilizar, estabilizar e melhorar a biodisponibilidade de drogas (UZUNOVA et al., 2010;MA et al., 2013;MANNA; CHAKRAVORTI, 2015).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. A DOENÇA DE ALZHEIMER

A palavra demência é originada do latim (*dementia*) e significa, genericamente, qualquer deterioração mental. As demências são consideradas síndromes e são causadas geralmente por algum tipo de trauma vascular cerebral ou algum processo degenerativo e causam diversos transtornos mentais, físicos e psicológicos aos seus portadores (KORCZYN; HALPERIN, 2009). A demência refere-se a uma série de sintomas que se encontram geralmente em pessoas com doenças cerebrais decorrentes da destruição e perda de células cerebrais. Vale salientar que a perda de células cerebrais é um processo natural, mas em doenças que conduzem à demência isso ocorre a um ritmo mais rápido e faz com que o cérebro da pessoa não funcione de uma forma normal (OLIVEIRA. M., 2005 e CHEN et al., 2014).

Existem duas hipóteses responsáveis por causar a doença de Alzheimer, a hipótese amilodial que causa a morte celular e a hipótese colinérgica que seu efeito está no prejuízo cognitivo (tabela 1)(AULD et al., 2002; MELIBEU, 2012).

Tabela 1 : Hipóteses para neurodegeneração presente na doença de Alzheimer

Hipótese	Mecanismo molecular	Mecanismo secundário	Efeito final
	Clivagem proteolítica anormal do APP	Produção de radicais livres , ativação da glia e inflamações	
Hipótese da cascata amilodial	Produção, agregação e deposição de placas senis extracelulares		Morte celular
	Formação de novelos neurofibrilares intracelulares		
Hipótese colinérgica	Redução da atividade da colina acetiltransferase	Redução dos níveis da acetilcolina	Prejuízo cognitivo
	Redução de atividade da acetilcoliesterase	Redução da transmissão colinérgica	

Para o tratamento da doença de acordo com a portaria da secretaria de Atenção a Saúde n° 843 de 06 de novembro de 2002 que aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para a Doença de Alzheimer, os fármacos prescritos para o tratamento da doença no Brasil são a Galantamina, Donepezil e a Rivastigmina (figura 1), estes fármacos atuam no sistema colinérgico (M. JUNIOR, 2010)

O donepezil é um fármaco que possui elevada seletividade para inibição da acetilcolesterase (AChE) e é considerado inibidor reversível e não-competitivo da enzima. (SCARPINI et al., 2003). A galantamina é um fármaco que possui capacidade de modulação alostérica do receptor nicotínico em um local adicional ao sítio de ACh da enzima, melhorando desse modo a neurotransmissão colinérgica (SCARPINI et al., 2003). A Rivastigmina é um inibidor de ambos acetilcolesterase (ACE) e butirilcolinesterase (BuChE) reversivelmente (FINKEL, 2004).

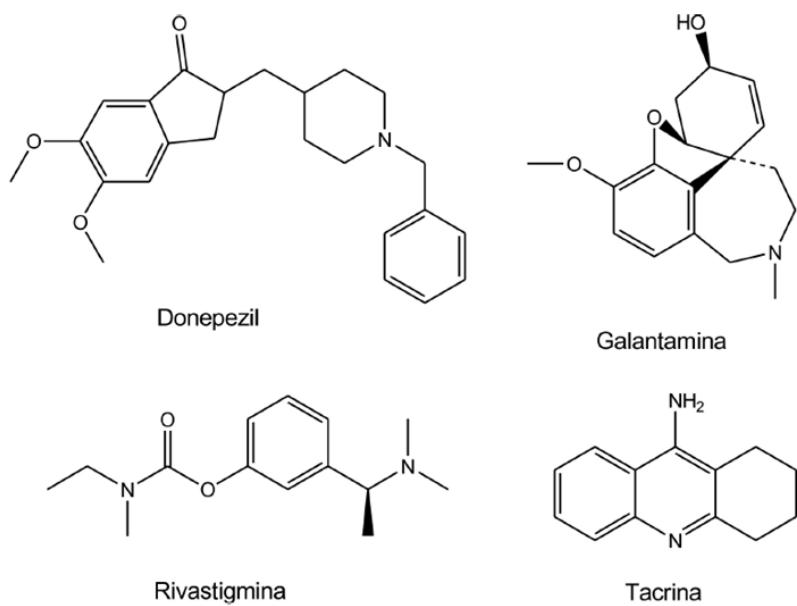


Figura 1: Fármacos ministrados no tratamento de Alzheimer que visam melhorar as funções cognitivas.

A hipótese amilodial é causada pela formação de β -amiloide (β A), este é um peptídeos derivado da proteína precursora da beta amiloide (APP)(SELKOE, 2001).

Acredita-se que o peptídeo β -amiloide são monômeros solúveis que se acumulam formando placas ou filamentos praticamente insolúveis, inicias de uma cascata patológica que conduz à formação de emaranhados (LEWIS et al., 2001). O β A se agraga formando placas insolúveis que se depositam no sistema nervoso central. A deposição de placas e emaranhados produz neurotoxina e assim stress inflamatório, nesse sentido a DA é também referido como uma doença inflamatória crônica (SELKOE, 2001; POTTER et al., 2001; SKOKOWA et al., 2006; KANTOR et al., 2014).

Devido às inflamações causadas pelo β A, o uso de anti-inflamatório podem ser grandes aliados no tratamento da DA. Pacientes com o uso prolongado de certas drogas não esteróides anti-inflamatórias, podem reduzir os sintomas da doença (TUPPO; ARIAS, 2005).

2.2 SILICA MESOPOROSA COMO SISTEMAS DE ENTREGA CONTROLADA DE FÁRMACOS

2.2.1 SÍLICA MESOPOROSA

Nanopartículas de sílica podem apresentar vantagem adicional sobre maior volume de materiais, porque eles apresentam uma grande área de superfície e volume de poros maior , além de ser facilmente alterada sua engenharia, no sentido de facilitar a adsorção de maior quantidade de fármaco em sua estrutura (WILSON et al., 2010). Os materiais mesoporosos por exemplo apresentam estruturas estáveis da superfícieis com propriedades bem definidas, materiais mesoporosos podem ser interessantes para o encapsulamento de drogas farmacêuticas, proteínas e outras moléculas bioativas. (HARTMANN, 2005 e WANG, 2009). Desta forma a dose e frequência de administração são reduzidas consequentemente, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao paciente(WILSON et al., 2010). Contudo, foi demonstrado que as drogas podem ser aprisionadas dentro dos mesoporos por um processo de impregnação e sua liberação pode ser através de um mecanismo de difusão e/ou liberação controlada (WANG, 2009).

De forma mais esclarecedora, as nanopartículas de sílica mesoporosa ganharam a atenção para o seu potencial como sistemas de liberação controlada e

veículos para a entrega de agentes quimioterapêuticos, devido à suas áreas de alta superfície, volume da cavidade grandes, e capacidade de ser funcionalizado com biomoléculas para o direcionamento específico no alvo de interesse (LEE et al., 2009). Estes materiais foram sintetizados no inicio do ano de 1990 e chamados de M41S (LEE et al., 2009). Materiais mesoporosos de sílica são ordenados poroso estruturas de óxido de silicio (SiO_2), caracterizadas por um grande volume de poros, distribuição de tamanho de poros estreitas e grande área de superfície (figura 1).

Em comparação com outros óxidos metálicos, tais como óxido de titânio e óxido de ferro, o óxido de sílica é considerado como tendo melhor biocompatibilidade. A presença abundante de grupos silanol (Si-OH) em sílica pode ter uma afinidade com fosfolipídios, que pode ser tomado ativamente pelas células (SLOWING et al., 2008 e ANDERSSON; ROSENHOLM, 2008) (figura 2), assim podendo ser interessante sua inserção como carreador de fármaco no cérebro. A IUPAC classifica os materiais porosos e tamanhos dos poros em três categorias: microporosa (<2 nm) ; mesoporosos (2-50 nm) e macroporous (> 50 nm)(SUH et al., 2009).

De acordo com Vallet-Regi e colaboradores, as característica de materiais mesoporosos fazem deles excelentes sistemas para satisfazer os requisitos de um sucesso dentre eles : biocompatibilidade; alta carga e capacidade de proteção das moléculas de fármaco desejados; evitam a "liberação prematura" das moléculas de fármaco antes atingir o seu alvo e capta a celula de forma eficiente (VALLET-REGÍ et al., 2012).

Devido à sua estrutura mesoporo, preservando um nível de estabilidade química, funcionalidade da superfície e biocompatibilidade, assegura a libertação controlada de uma variedade de moléculas de fármaco (KWON et al., 2013). A liberação controlada de biomoléculas está disponível através de canais estreitos e mesoporosos de materiais nanometricos, que permite que a cinética de libertação do fármaco com quantidade interessante de fármaco ofertado em meio fisiológico(KWON et al., 2013 e ANDERSSON; ROSENHOLM, 2008).

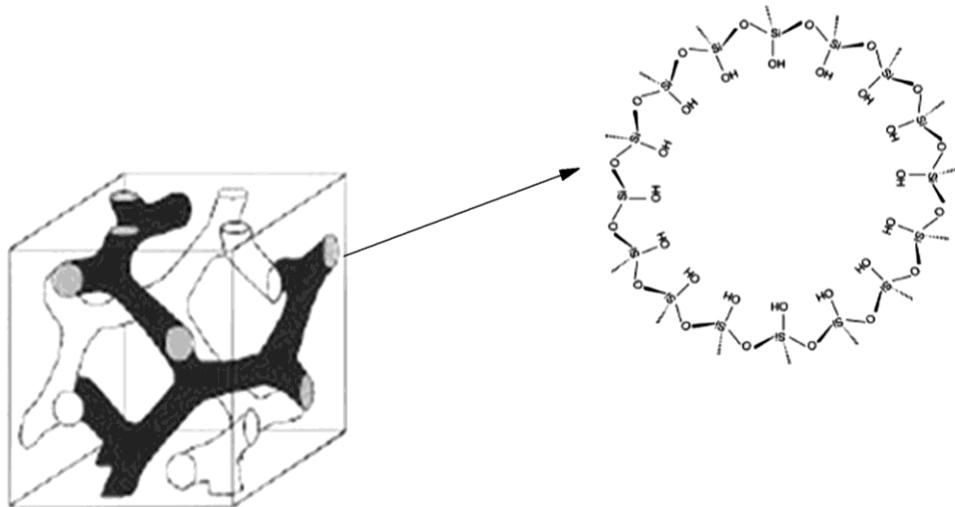


Figura 2: Estrutura da sílica mesoporosa MCM48 e destaque para os grupos silanós em sua estrutura.

2.3 APLICAÇÕES DOS ÍONS LANTANÍDEOS COMO MARCADORES LUMINESCENTES

Materiais contendo íons de lantanídeos trivalentes (Ln (III)), tais como Eu^{3+} , Er^{3+} e Nd^{3+} apresentam luminescência eficiente tanto na região do visível quanto na região do infravermelho. Os íons de Ln(III) apresentam como características fotofísicas espectros com picos de emissão estreitos e tempo de vida de emissão longos. (YANG et al., 2008). O interesse no estudo das propriedades fotofísica dos complexos com íons lantanídeos teve com ponto inicial, o trabalho de Weissman, em 1942, quando o mesmo estudou complexos de dicetonatos, que apresentavam emissão na região investigada após sua excitação com luz UV (YANG et al., 2008).

O íon európio trivalente (Eu^{3+}) exibe uma intensa fotoluminescência na região do vermelho quando excitado com radiação UV. Esta fotoluminescência é observada não só para matrizes contendo íons lantanídeos, mas também para diversos materiais tais como compostos de coordenação onde os ligantes orgânicos atuam como antena absorvendo energia na região do UV e transferindo para o íon que por sua vez emite em uma região característica. (SYAMCHAND; SONY, 2015)

Os complexos de Európio (III), desde a década de 1980, vem sendo desenvolvidos com o intuito de atuarem como sondas luminescentes tanto para aplicações bioquímicas ou biomédicas. Estes compostos de coordenação já são utilizados em imunologia para diagnóstico clínico. Desta forma o uso de lantanídeos na área biomédica é promissor e pode ser usado como agente de contraste em ressonância magnética nuclear, sondas espectroscópicas no estudo de biomoléculas e suas funções e traçadores biológicos no sentido de vetorializar o caminho das substâncias inserido *in vivo*. As vantagens em utilizar os íons lantanídeos como marcadores luminescentes são várias, pois, é um método seguro, de elevada sensibilidade e apresenta maior especificidade. A luminescência pode ser medida rapidamente, com alto grau de sensibilidade e exatidão.(MARTINS; ISOLANI, 2005)

2.4 CARACTERISTICAS DOS SISTEMAS DE ENTREGA DE DROGAS EM CÉREBRO

Entrega de droga para o cérebro é um desafio, embora haja relativamente fluxo arterial elevada. Existem dois tipos de barreiras que separam a fisiologia do cérebro de seu suprimento de sangue e que controlam o transporte de compostos. Um deles é a barreira sangue cérebro (BSC) e a outra é a barreira líquor sangue. Internamente o cérebro está protegido contra organismos estranhos e produtos químicos nocivos por sistema de membrana altamente reforçada chamada como barreira sangue cérebro. O BSC é um sistema especializado de capilar de células endoteliais que protege o cérebro de substâncias nocivas no fluxo de sangue, enquanto permite o fornecimento do cérebro com os necessários nutrientes para o bom funcionamento(HAWKINS; DAVIS, 2005).

Células endoteliais cerebrais formam junções apertadas de complexos que efetivamente vedam as vias de entrada do cérebro; estas células interagem com elementos perivasculares como lâmina basal e astrócito intimamente associados com processos de endocitose, neurônios perivasculares e pericitos para formar um BBB funcional (BEGLEY, 2004). As nanopartículas, especialmente as de tamanhos iguais ou inferiores a 100 nm, exibem propriedades únicas e apresentam potencial na área

da liberação controlada de fármacos. Ainda devido ao seu tamanho, algumas nanopartículas possuem a capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica e atingir o sistema nervoso central (cérebro) (COIMBRA, 2010).

2.5 CAFEÍNA E NICOTINA NA TERAPIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

2.5.1 CAFEÍNA NO SISTEMA NERVOZO CENTRAL

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) está presente em muitas fontes alimentares consumidas em todo o mundo, ou seja, no café, chá, bebidas de cacau, barras de chocolate e refrigerantes(ESKELINEN; KIVIPELTO, 2010). Em níveis de ingestão associados com o consumo de café, cafeína parece exercer mais dos seus efeitos biológicos através do antagonismo da A1 e Subtipos A2A receptores da adenosina (figura 3). A adenosina é um neuromodulador endógeno com principal efeito inibidora e a cafeína causa um efeito antagonismo (efeito contrário) na adenosina gerando resultados inverso a Adenosina, ou seja, efeitos estimuladores do sistema nervoso central (HIGDON; FREI, 2006).

Estudos longitudinais sugeriram um benefício de consumo de cafeína em direção relacionada à idade declínio cognitivo. Outros estudos concluíram que a ingestão da cafeína reduz o risco de DA (LAURENT et al., 2014). Uma variedade de estudos mostram-que a cafeína tem em curto prazo efeitos estimulantes sobre o sistema nervoso central (SNC). A cafeína também impede o declínio da memória durante o envelhecimento e o desenvolvimento de DA (ESKELINEN; KIVIPELTO, 2010 e MOHAN et al.,2015).

Arendash e colaboradores concluíram que a cafeína inverte comprometimento cognitivo e diminui os níveis cerebrais de β -amilóide (β A) (ARENDASH et al.,2006). A cafeína diminui a toxicidade do β A e impede déficits de memória induzidos por β A em ratos. Além disso, o tratamento com cafeína inverteu o comprometimento de memória pré-existente e reduziu a deposição de β A em camundongos transgênicos (ARENDASH et al.,2006). No entanto, a acumulação do peptídeo β -amilóide (β A), hiperfosforilação de proteína tau, e aumento do estresse oxidativo desempenham

papéis importantes na patogênese da doença de Alzheimer (DA). (PRASANTHI et al., 2010).

Além da cafeína e os antagonistas seletivos do receptor A2A proporcionam uma também uma proteção robusta contra toxicidade do β A em neurônio cerebelar (ARENDAH et al., 2006). Isso torna seu uso importante, visto que, o β A é considerado o principal patogênese no desenvolvimento de DA (PRASANTHI et al., 2010).

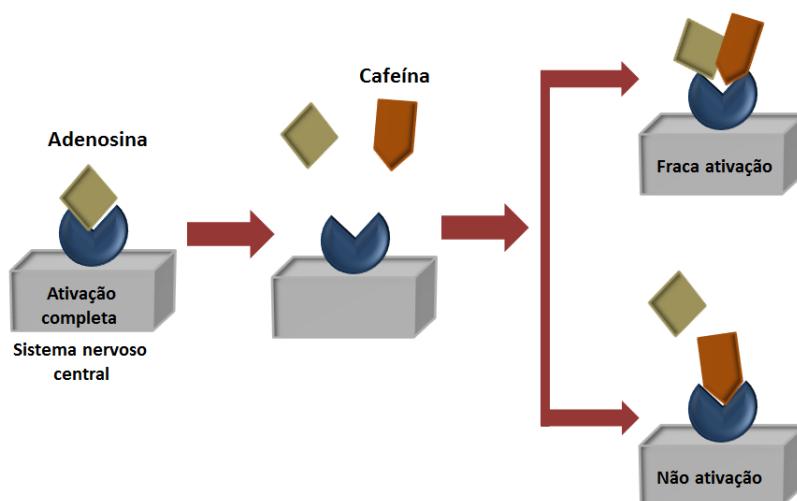


Figura 3: Esquema do efeito antagonista da cafeína frente a adenosina no sistema nervoso central.

2.5.2. NICOTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A nicotina é um alcalóide derivado da planta do tabaco (SUKSAEREE et al., 2012). Sua fórmula molecular segundo a IUPAC é (S)-3-(1-Metil-2-pirroli- dil)piridina. Ações diretas de nicotina nos receptores acetilcolina nicotínicos (nAChR) ,atua em antecipar o momento e a intensidade dos sinais tróficos natural normalmente controladas por acetilcolina (ACh), levando a anormalidades de replicação celular neuronal, diferenciação e conectividade sináptica (figura 3) (SLOTKIN; SEIDLER, 2015). Sendo assim, a nicotina é um protótipo nicotínico agonista receptor de nAChR, que pode melhorar a cognição por efeitos diretos sobre a atenção e por interagir com o nAChR pré-sináptico para facilitar a liberação da ACh, glutamato, dopamina, norepinefrina, serotonina, e ácido g-aminobutírico, os neurotransmissores que têm

sido implicados na aprendizagem e na memória (REZVANI; LEVIN, 2001 e WONNACOTT, 1997).

Os receptores colinérgicos nicotínicos pertencem à família de receptores ionotrópicos que, quando ativados, adquirem a conformação de canal aberto permeável aos íons Na^+ e K^+ (figura 4) (MACKEY et al., 2012). Os sistemas colinérgicos nicotínicos no cérebro ter sido implicadas em vários aspectos de alguns importantes aspectos de algumas importantes doenças mentais, tais como a doença de Alzheimer (DA), atenção, défice, hiperatividade e esquizofrenia. Ambas as experiências clínicas e os estudos em animais reforçam o papel dos sistemas de nicotínicos centrais na aprendizagem na memória e cognição (REZVANI; LEVIN, 2001).

Salomon e colaboradores relataram que a cotinina é um grande metabólito da nicotina, responsável por reduzir a toxicidade induzida por βA e sua agregação em humanos (SALOMON et al., 1996). Em pacientes com DA a administração crônica de nicotina melhorou a atenção e aprendizagem (SAHAKIAN et al., 1989; WHITE; LEVIN, 1999; JONES et al., 1992). A administração de nicotina para pacientes com DA aumenta a sua atenção e processamento de informação (TERRY JR; BUCCAFUSCO, 2003 e SALOMON et al., 1996). Além disso, verificou-se que o tratamento com nicotina melhora a função cognitiva de ratos ambos jovens e idosos (REZVANI; LEVIN, 2001).

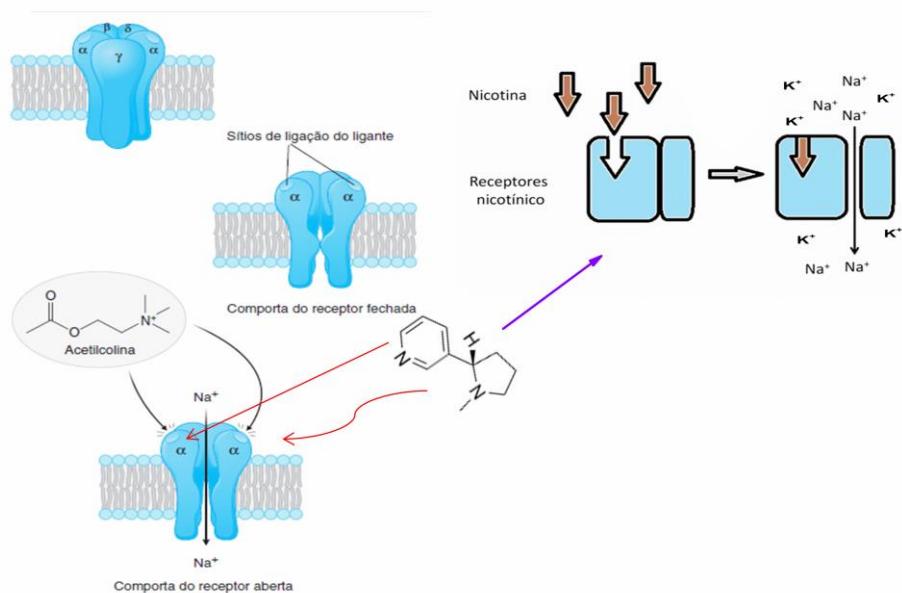


Figura 4: Esquema da ação da nicotina nos receptores nicotínicos no sistema nervoso central adaptado (FARMACOLOGIA).

2.6 CURCUMINA

Curcumina (1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil) -1,6- heptadieno-3,5-diona) [1-7], mostrado na Figura 25a, é o principal constituinte do açafrão tempero indiano, e dá aos molhos de curry sua cor amarela característica (BAGOLE et al., 2005). Possui massa molecular $368,38\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, um ponto de fusão de $179\text{-}183\text{ }^{\circ}\text{C}$, e a fórmula química de $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$. Sob condições fisiológicas, a curcumina pode existir tanto na forma enol como na forma de bis-ceto, que coexistem em equilíbrio (figura 5). É bastante solúvel em dimetilsulfóxido (DMSO), etanol ou acetona, mas é fracamente solúvel em água. Em soluções ácidas e neutras, assim como no estado sólido, a forma ceto predomina, e curcumina age como um doador potente de próton (H^+) (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011 e JOVANOVIC et al., 1999).

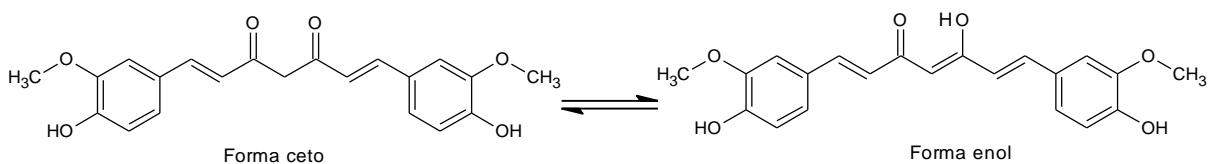


Figura 5: Forma ceto e enol da curcumina em equilíbrio.

A curcumina é um componente extraído da cúrcuma (*Cúrcuma longa*) planta típica de Índia e China, esse produto tem sido usado em tratamento médico pelas suas propriedades anti-inflamatórias e antissépticas, além do uso como uma especiaria na alimentação humana (MANGOLIM et al., 2014). O principal componente extraído da cúrcuma é a curcumina, responsável por suas ações bioativas (AMBEGAOKAR et al., 2003). A curcumina tem um efeito anti-inflamatório potente. Através dos seus vários

efeitos anti-inflamatórios, podem ter um papel importante na cura da doença de Alzheimer (TUPPO; ARIAS, 2005).

2.7 CURCUMINA NA TERAPIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Neuroinflamação está implicada na patogênese de muitas doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer (DA). Em DA, a cascata amilodial contribuem tanto para a neurodegeneração como para a produção e acumulação do β -amiloide (β A) (BEGUM et al., 2008).

Neste sentido, o acúmulo intra e extracelular do peptídeo β A no cérebro é responsável pela formação de placas amilóides extracelulares e emaranhados neurofibrilares intracelulares, estes, são dois marcadores neuropatológicos patognomônicos da doença (figura 6) (BALLARD et al., 2011).

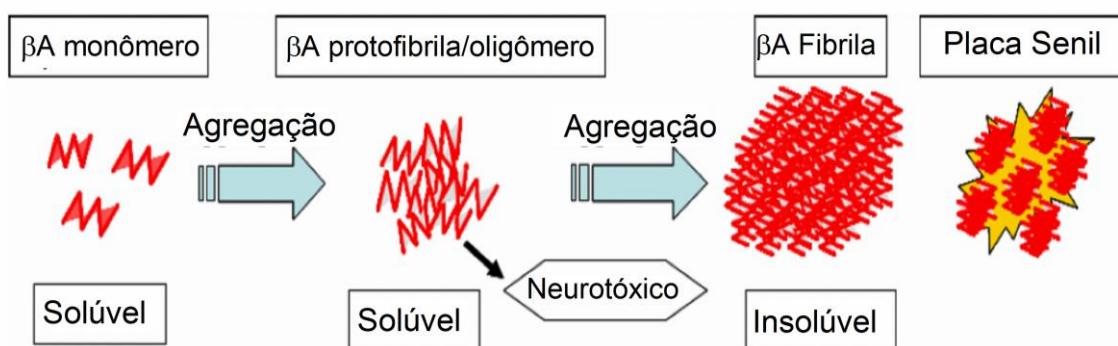


Figura 6: Ilustração da formação das placas senis decorrente da cumulação dos beta amiloides β A (adaptado NEUROSCIENCE et al., 2007).

O acúmulo do β A ocorre devido as falhas nos mecanismos de produção (hiperprodução) e degradação (redução do clearance amilóide). Resumidamente, O β A é derivado de uma molécula precursora denominada proteína precursora amilóide (APP), esta proteína pode sofrer proteólise por 2 rotas, uma não-amiloidogênica e outra amiloidogênica (figura 7)(LAFERLA et al., 2007).

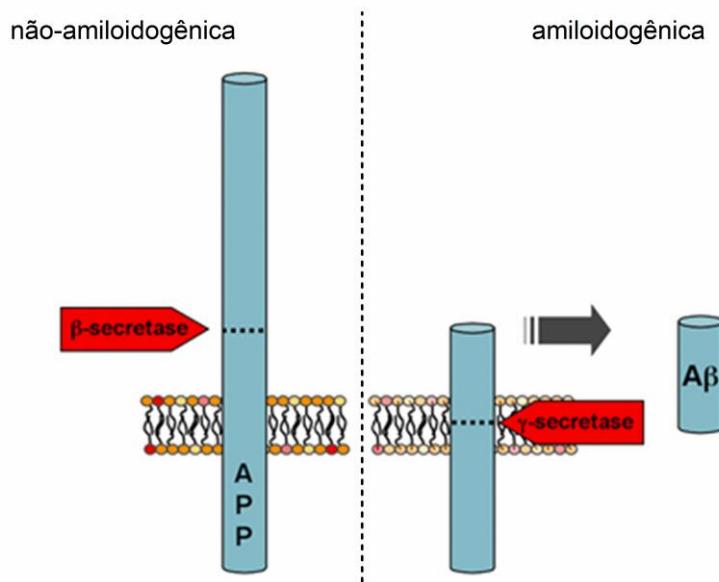


Figura 7: Ilustração do mecanismo de formação do beta amiloide β A(adaptado QUÍMICA ALZHEIMER, 2013)

Esse mecanismo mostra que em neurônios funcionais, a rota não-amiloidogênica é a predominante. Nesta rota, a clivagem enzimática da APP é mediada pela enzima α -secretase que atuam aos níveis de bicamadas lipídicas. A clivagem realizada pela α -secretase ocorre dentro do domínio β A, provocando à formação e liberação do peptídeo β A (figura 7).

Nesse sentido, uma importante patogênese da doença de Alzheimer é a inflamação crônica das células nervosas causadas pelo β A. Vários estudos têm demonstrado as alterações inflamatórias associadas à microgliose, astrocitose e a presença de substâncias pró-inflamatórias que acompanham a deposição do β -amiloide (β A) (MISHRA;PALANIVELU,2008). No entanto, o β A pode desempenhar um papel importante no diagnóstico da DA (LAFERLA et al., 2007). Cada vez mais estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram a toxicidade do β A, elucidando que a acumulação de β A que dependente da idade na patogênese (CLEARY et al., 2005 e GOURAS et al., 2005). Um estudo recente revelou que a vulnerabilidade de área específica de deposição de $A\beta$ está associado com os níveis locais do metabolismo

cerebral e atividade neuronal, indicando que o metabolismo da glucose e β A são ligados a DA (BERO et al., 2011).

Contudo, a curcumina pode ser uma excelente aliada para o tratamento da DA, haja vista, apresenta poderosas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, estas propriedades podem ajudar a aliviar os sintomas da doença de Alzheimer causadas pelas oxidações e inflamações (RINGMAN et al., 2005)

Estudos *in vitro* realizados por HAMAGUCHI et al., 2010 concluíram que a curcumina apresenta as seguintes propriedades: anti-agregação de β A, antioxidante, e inibição de β -secretase. Além disso, doses de 160-500 ppm (0,43-1,36 mmol/g) de curcumina administrado por via oral inibiram a deposição de β A em cérebros de ratos em modelo DA. Estes resultados sugeriram que a curcumina pode ser um dos compostos mais promissores para o desenvolvimento de terapias de DA.

Além das propriedades mencionadas, Reinke e gestwicki concluíram em suas pesquisas que a curcumina, liga-se com elevada afinidade na β A, eles sugeriram a hipótese de que a estrutura química da curcumina, contendo dois grupos terminais aromáticos, é ideal para a inibição do β A (REINKE; GESTWICKI, 2007). Porém, Infelizmente curcumina apresenta uma baixa solubilidade em água, limitando o seu uso farmacêutico. Uma forma possível de aumentar a sua solubilidade aquosa é formando complexos, isto é, complexando com um hospedeiro que venha melhorar sua solubilidade(BAGOLE et al., 2005).

2.8 CURCUBIT[n]URIL e CURCUBIT[7]URIL

Cucurbit[n]urils (CB [n], n = 5, 6, 7, 8, ou 10) são uma família de macrociclos que consistem em unidades de glicolurilo ligados por um par de grupos metileno. Eles possuem cavidades hidrofóbicas relativamente rígidas de baixa polarizabilidade com portais de carbonila alinhado (figura 8) (HWANG et al., 2007 e CHEN et al., 2013).

Cucurbit[n]urils apresentam formas microciclos que lembram uma abóbora , altamente simétricas e rígidas e com uma cavidade extremamente não-polarizável (perto de fase gasosa). Eles são capazes de formar complexos fortes com carga positiva (ou neutras) com moléculas por coordenação de sítios catiônicos com os seus

portais e/ou imersão de resíduos orgânicos em sua cavidade (APURBA L. KONER, 2012).

O CB[n] forma um uma estrutura cilíndrico tridimensional como mostrado na Figura 8. A molécula apresenta uma cavidade interior hidrófoba com capacidade de pode incluir uma molécula hóspede (OSAKA et al., 2006).

O uso do CB[7] na formação de complexo pode ser promissor, segundo os achados o mesmo já foi usado para modificar as propriedades químicas e espectroscópicas dos moléculas hóspedes, incluindo reação fotodimerização, estabilizações de corantes e interação com outras moléculas hóspedes e fluorescentes (YUAN et al., 2007).

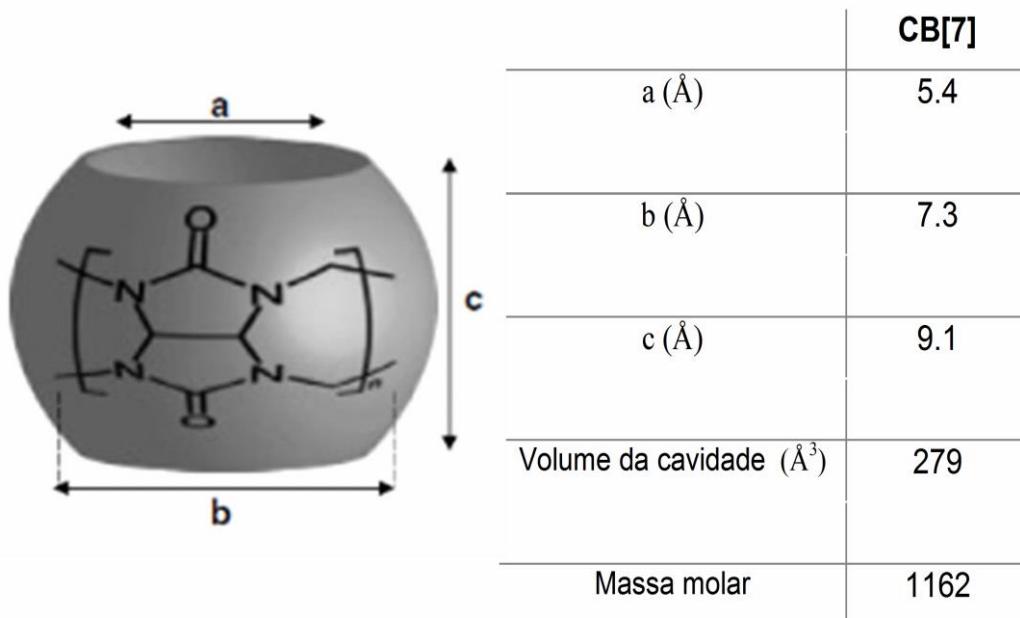


Figura 8: Estrutura e dimensão do curcubit[7]juril (OSAKA et al., 2006).

O uso dos cucurbit[n]jurils como carreadores de fármacos os tornam interessantes por apresentarem características estruturais altamente simétrico, boa estabilidade e baixa toxicidade , o que as tornam funcionais e promissores com grandes aplicações em vários campos, tais como a biomedicina, ciência de materiais e farmacologia (CHAEKYU KIM ET.AL., 2010); HETTIARACHCHI et al., 2010 e UZUNOVA et al., 2010)..

Portanto, o CB[n] por apresentar estrutura tridimensional pode interagir com uma outra espécie química, formando complexos. No entanto, a capacidade desta em formação de complexo depende de fatores como estrutura da cavidade; tamanho da molécula hóspede, sua forma, etc. As orientações estereoquímicas do complexos são formados por forças não covalentes, que interagem fracamente tais como ligação de hidrogênio e íon-dipolo,(LEE et al., 2003 ;ONG et al., 2002 e KIM et al., 2002) . .

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um material de sílica mesoporosa dopado com 5% íon európio Eu(III) que funcione como veículo de entrega dos ativos, cafeína, nicotina e ambas associadas (multidroga) visando futuramente o tratamento de Alzheimer e um nano-agregado supramolecular (CUR-CB[7]) com base em Cucurbit[7]uril (CB[7]) e curcumina (CUR) para o mesmo objetivo.

➤

3.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar a nano sílica mesoporosa dopado com 5% íon Eu(III) usando metodologia descrita na literatura;
- Adsorver a cafeína e a nicotina e ambas associadas na forma de multidroga na sílica mesoporosa;
- Caracterizar os materiais isolados e os materiais adsorvidos por TGA, DRX, FTIR, MEV, MET e fotoluminescência afim de determinar a existência dos ativos presentes na sílica mesoporosa;
- Estudar as propriedades luminescentes dos materiais híbridos;
- Investigar a cinética de liberação da cafeína e nicotina em meio fisiológico.
- Complexar a curcumina no curcubit[7]uril;
- Caracterizar por DRX, FTIR, TGA o materiais isolados e o complexo;
- Elucidar a interação química no complexo por RMN;
- Investigar o comportamento fotoluminescente do complexo para aplicações terapêuticas;
- Investigar a viabilidade celular do nano-agregado e os componentes isolados

**4. PARTE I: PROPRIEDADE TERANÓSTICA DE
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA
(nanoMCM48:Eu) VISANDO A LIBERAÇÃO DA CAFEÍNA E
NICOTINA FRENTE AO ALZHEIMER**

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo tratamos da síntese da nanopartícula de sílica mesoporosa denominado de nanoMCM48:Eu, neste, foram adsorvidos cafeína e nicotina e ambos associados (multidroga) visando a entrega controlada destes ativos no sistema nervoso central. Para a preparação dos materiais foram utilizados os reagentes descritos na tabela 2.

4.1.2 MATERIAIS E REAGENTES

Na tabela abaixo estão os reagentes utilizados no desenvolvimento dos sistemas.

Tabela 2: Reagentes usados nos materiais preparados

Composto	Fórmula molecular	Procedência	Pureza
TEOS	Si(OC ₂ H ₅) ₄	Sigma-Aldrich	98%
CTAB	((C ₁₆ H ₃₃)N(CH ₃) ₃)Br	Sigma-Aldrich	99%
Pluronic® F-127	EO ₁₀₆ PO ₇₀ EO ₁₀₆	Sigma-Aldrich	—
Óxido de európio	Eu ₂ O ₃	Sigma-Aldrich	99,9%
Ácido nítrico	HNO ₃	NEON	P.A
Hidróxido de amônio	NH ₄ OH	CIRQ	P.A.
Etanol	CH ₃ CH ₂ OH	Dinâmica	P.A.
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	Sigma-Aldrich	----
Nicotina	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	Sigma-Aldrich	----

4.1.3 SÍNTESE DO NITRATO DE EU(III)

O nitrato de európio ($\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$) foi sintetizado com base na metodologia já fundamentada no laboratório BSTR, a partir da reação dos respectivos óxidos de európio com ácido nítrico (PA) e água destilada, segundo equação química abaixo (equação 1).



O sal foi preparado em um béquer, no qual pesamos 10 mmol do óxido de lantanídeo (1g) e adicionamos 20 ml água destilada. O sistema foi submetido à agitação magnética e em seguida adicionamos lentamente, gota a gota, 5 ml de ácido nítrico (PA) até que a solução se tornasse límpida. Em seguida a solução foi evaporada, submetendo o sistema ao aquecimento (~90 °C), ate a secura onde logo após adicionamos mais 20 ml de água destilada repetimos todo o procedimento até o pH ficar em torno de 5.

4.1.4 SÍNTESE DO nanoMCM48:Eu

A síntese foi adaptada da metodologia de Tae-Wan Kim e colaboradores (KIM et al., 2010). Para a síntese usou-0,5g de Brometo de cetiltrimetil amônio (CTAB), 2,05g de F127 (Pluronic® F-127) diluído em 96 mL de água destilada, 43 mL de etanol (EtOH) e 10.05 g de solução de hidróxido de amônio à 29%, a mistura foi agitado até que formou uma mistura homogênea, em seguida adicionou 1,8g de Tetra etil ortosilicato (TEOS) e 0,146g nitrato de Európio (III) (5% mol do Eu(III) em relação ao mol de silício na estrutura molecular do TEOS) a mistura foi agitado por 10 min até que a solução ficou turva e manteve em repouso por 12 horas em temperatura ambiente (T.A) para condensação da sílica. A mistura foi centrifugada à 10000 rotações por minuto (rpm) e o sólido branco foi recuperado e lavado com água destilada e centrifugado novamente e foi seco à 70°C por 12 horas. Em seguida adicionou o sólido no reator de teflon com 8,5mL de água destilada, e fez o tratamento hidrotermal à 140°C por dois dias, objetivando retirar as fases orgânicas encapsulada

na nanopartícula, posteriormente calcinou a 550°C por 4 horas para retirada de toda fase orgânica.

4.1.5 ADSORÇÃO DOS ATIVOS NO nanoMCM48:Eu (CAF@MCM48:EU; NIC@MCM48:EU E CAFNIC@MCM48:EU)

A metodologia de adsorção seguiu a proposta adaptado por Vasconcelos e colaboradores, no qual, os componentes são preparados na proporção 1:3 em relação massa (mg), solubilizados e agitados por 1,3 e 7 dias em T.A e centrifugado, o sólido lavado e novamente centrifugado, os sobrenadantes foram analisados por UV-vis na perspectiva de elucidar um melhor tempo de adsorção para estes sistemas. Nesse sentido, neste trabalho, foi realizado como segue: foram solubilizados 225 mg de cafeína (CAF) em 10.6g de água ultrapura a solução foi agitado em T.A até que toda cafeína fosse solubilizada, posteriormente adicionado 75mg do nanoMCM48:Eu e agitado por 24 horas.

A mesma metodologia se repetiu para a nicotina (NIC) e para multidroga (cafeína com nicotina (CAFNIC) em volume de 3 e 5 mL de água ultrapura, respectivamente. As amostras foram centrifugadas à 6000 rpm por 25 minutos, a fase sólida foi separada do sobrenadante, e lavado com 2-mL de água ultrapura e agitado novamente nas mesmas condições. Os sobrenadantes das centrifugações foram analisados por UV-vis para quantificar a cafeína e a nicotina adsorvidas no nanoMCM48:Eu. A figura 9 ilustra a metodologia deste trabalho.

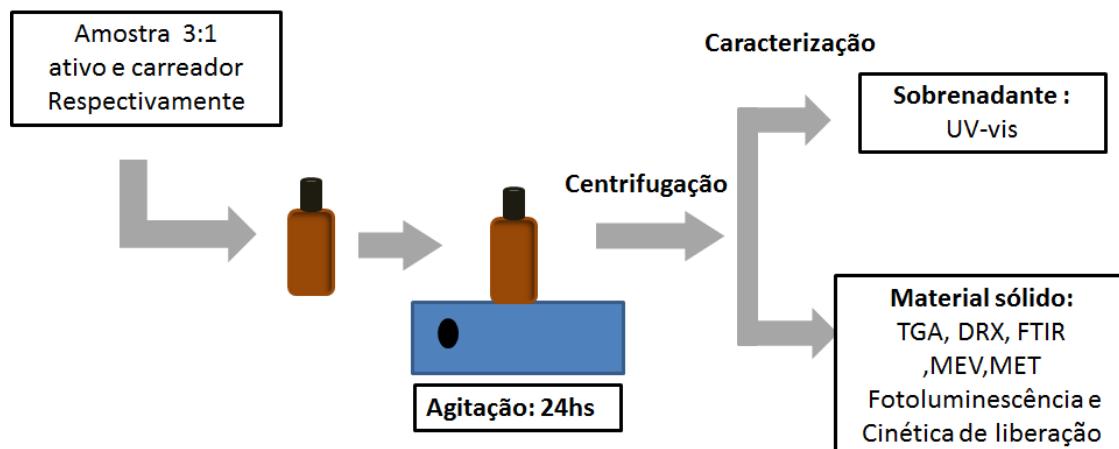


Figura 9: Metodologia de adsorção da cafeína, nicotina e da multidroga no nanoMCM48:Eu.

4.1.6 CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva é uma relação da concentração do analito com o absorvido no UV-vis obtendo uma equação da reta, que a partir dela é possível quantificar o analítico. Desta forma, com a curva de calibração objetivamos determinar a massa em grama dos ativos nos sobrenadantes. Portanto, foram realizadas duas curvas de calibração, para os ativos cafeína e nicotina. Nesse sentido, a curva da cafeína foi construída a partir das concentrações: $9,46 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $8,6 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $7,74 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $6,88 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $3,44 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $2,58 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $1,72 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $8,6 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹, $8,6 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ (figura 10) .

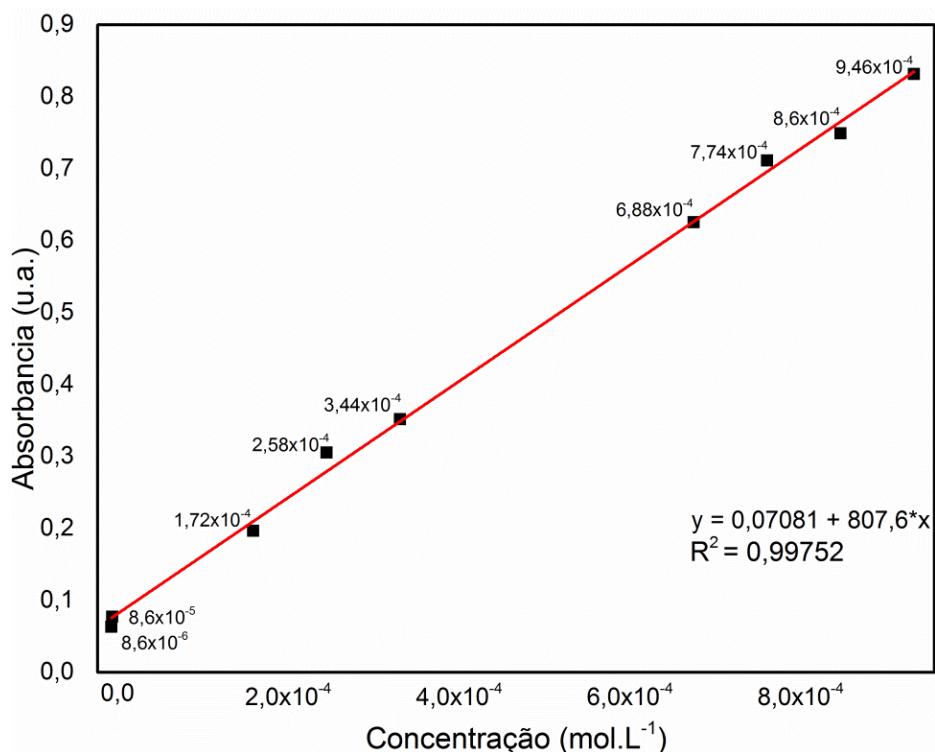


Figura 10: Curva de calibração da cafeína—com concentrações em mol.L⁻¹ monitorado no comprimento de onda de 273 nm.

Para a curva da nicotina, foram utilizadas as concentrações: $4,31 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $2,6 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $1,72 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹, $6,88 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹, $5,2 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹, $4,3 \times 10^{-5}$

mol.L^{-1} , $2,6 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, $8,6 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (figura 11). Em ambas as soluções, foi retirada uma alíquota de 2 mL e realizado a espectroscopia de ultravioleta/Visível (UV-vis) (Agilente 8453), nos comprimentos de onda (λ) de absorbância da cafeína e nicotina é 273 e 260 nm, respectivamente. Com as condições estabelecidas foi possível determinar a curva de calibração com os pontos satisfatórios.

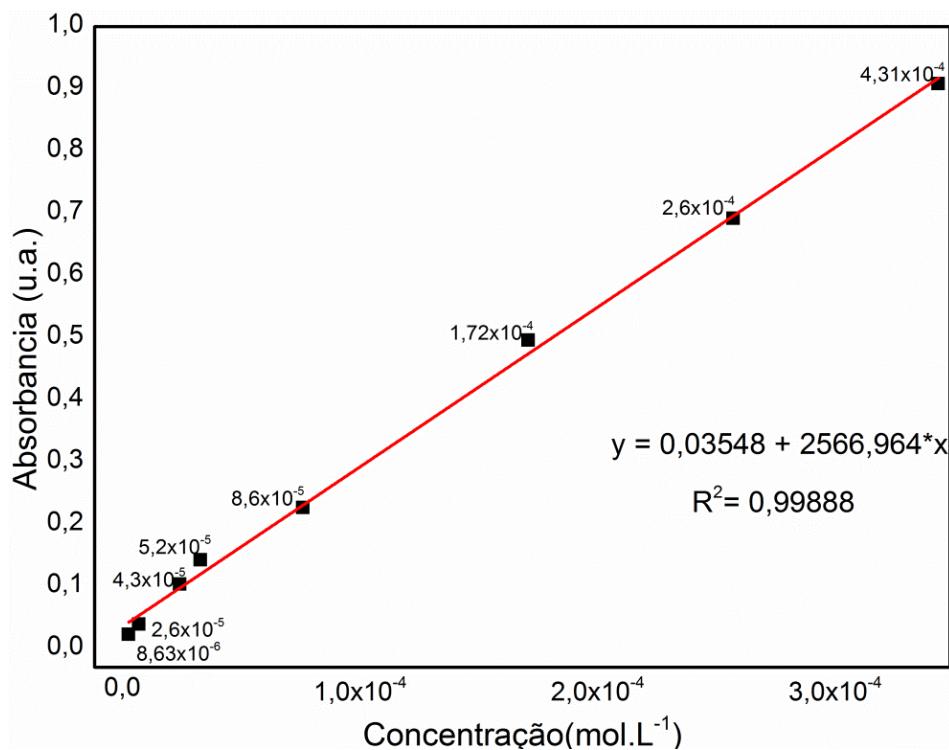


Figura 11: Curva de calibração da nicotina nas concentrações em mol.L^{-1} monitorando no comprimento de onda de 260 nm.

4.1.7 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO

A cinética de liberação foi realizado seguindo os padrões da farmacopeia ... no qual foi utilizadas as seguintes condições: 17,8 mg de CAF@MCM48:Eu em 130 mL de solução tampão fosfato (PBS, 0,1 M, pH 7,2); 11,8mg de NIC@MCM48:Eu em 100 mL de PBS e por fim 17 mg de CAFNIC@MCM48:Eu em 170 mL de PBS nas mesmas condições anteriores. A liberação foi monitorado em 10-60 minutos com intervalos de 10 minutos, 2,4,6,12 e 24 horas em 36°C sob rotação de 100 rpm. A cada intervalo, foi retirado 3 alíquotas de 2mL e monitorado no UV-vis.

4.1.8 CARACTERIZAÇÃO

4.1.8.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA-TGA

Na análise termogravimétrica, a massa de uma amostra é monitorada sob atmosfera de gás inerte, normalmente gás nitrogênio (N_2) ou oxidante (O_2), sendo monitorada continuamente em função da temperatura em uma rampa de aquecimento. As curvas obtidas são duas, uma delas relacionada ao percentual de perda de massa (Massa%), com relação a temperatura ($^{\circ}C$). Contudo as análises foram realizadas no equipamento fabricado pela Shimadzu modelo DTG-60H com os parâmetros da análise no intervalo de $10^{\circ}C$ por minuto em atmosfera de nitrogênio.

4.1.8.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Uma das técnicas de análise que objetiva identificar estrutura e microestrutura de material sólido. O equipamento utilizado foi o Shimadzu modelo XRD – 6000, radiação de $Cu-K\alpha = 1,54056 \text{ \AA}$, a 40 kV e com um, filamento de 30 mA com filtro de Ni), nos parâmetros com passo de $0,01^{\circ}$, tempo de aquisição de 1 segundo e janela angular (2θ) de 1° - 25° .

4.1.8.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR

Espectroscopia no infravermelho investiga as vibrações moleculares. Os grupos funcionais podem ser associados à banda característica de absorção infravermelhos, que correspondem à vibração fundamental dos grupos funcionais (BERTHOMIEU; HIENERWADEL, 2009). Os espectros de absorção na região do infravermelho, foram obtidos a temperatura ambiente em um espectrômetro FT-IR fabricado pela PerkinElmer modelo Spectrum 400, no intervalo de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} , usando pastilha e janela de KBr à temperatura ambiente.

4.1.8.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E TRANSMISSÃO (MET)

Estas análises foram realizadas no CETENE -Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste. De acordo com as especificações fornecidas no site do CETENE, o MEV é uma técnica que possibilita investigar a superfície de amostras com magnificações da ordem de centenas de milhares de vezes. As amostras foram analisadas no Microscópio eletrônico de varredura ambiental, modelo Quanta 200 FEG que opera em 3 modos de vácuo: alto vácuo; baixo vácuo; e modo ambiental.

O MET é uma técnica que possibilita a aquisição de imagens com resolução muito superior às obtidas com microscópios ópticos. Comuns, em consequência da utilização de elétrons para a formação das imagens. As amostras foram analisadas no Microscópio eletrônico de transmissão FEI de 200kV, modelo Tecnai20, emissor LAB6 ou W, módulo EDAX, tomografia Xplore3D, suporte de aquecimento controlado.

4.1.8.5 ESPECTROSCOPIA DE FOTOLUMINESCÊNCIA

As propriedades fotoluminescentes (espectros de excitação e emissão, e tempo de vida) dos compostos estudados neste trabalho foram realizadas em um espectrofluorímetro Horiba Jobin Yvon, modelo Fluorolog-3 ISA. O aparelho é equipado com monocromador duplo de excitação e de emissão, modelo FL-1039/40. Lâmpadas contínua de xenônio com potência de 450 W e pulsada de xênon de 150 W, fotomultiplicadora R928P. Os dados foram coletados em um ângulo de 90°, em relação ao feixe de emissão.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ADSORÇÃO D CAFEÍNA E NICOTINA NA NANOSÍLICA

Para ambos foi possível obter uma curva linear de acordo com a lei de Lambert-Beer. Para a cafeína obteve uma curva linear originando da equação da reta $y = a + b \cdot x$ e o coeficiente de correlação linear foi determinado $R^2 = 0,99752$ (figura 10). Para a nicotina o coeficiente de correlação linear, foi calculado, obtendo o $R^2 = 0,99888$ (figura 11).

De acordo com a tabela 3 notamos um resultado excelente de adsorção, tanto da cafeína quanto da nicotina, assim como do sistema multidroga, obtendo uma adsorção maior que 99% para todos os sistemas. Estes resultados foram obtidos através da análise no UV-vis dos sobrenadantes monitorando nos comprimento de onda referente a cafeína e a nicotina, a partir da equação da reta foi quantificado a massa dos ativos e realizado a diferença baseado no total usado na adsorção. As análises foram feitas em triplicatas obtendo um desvio padrão baixo.

Tabela 3: Quantificação dos ativos cafeína, nicotina e da multidroga adsorvidas no nanoMCM48:Eu.

Fármaco	Comprimento de onda (nm)	Média em triplicata das quantificações em %	Desvio padrão
Cafeína	273	99.6	0.01323
Nicotina	260	99.8	0.00643
Multidroga–Cafeína	273	99,580	0.053
Multidroga- Nicotina	260	99.87	0.007071

A figura 12 é uma ilustração na qual sugere as interações químicas entre os ativos e os silanois presente na sílica mesoporosa. Essas interações se deve pelo fato das nanopartículas de sílica mesoporosas apresentarem altas concentrações de silanois na superfície, o que facilita uma ampla variedades de reações em sua

superfície, ligações biomoleculares (KNOPP et al., 2009). A estrutura das paredes dos poros são constituídas por uma rede desordenada de pontes de siloxanos (Si-O) e dos grupos silanóis (Si-OH) livres, que podem atuar como agentes para reagir com espécies químicas convidados, comportando como uma matriz de adsorção e libertação controlada de compostos orgânicos moléculas. (WANG, 2009).

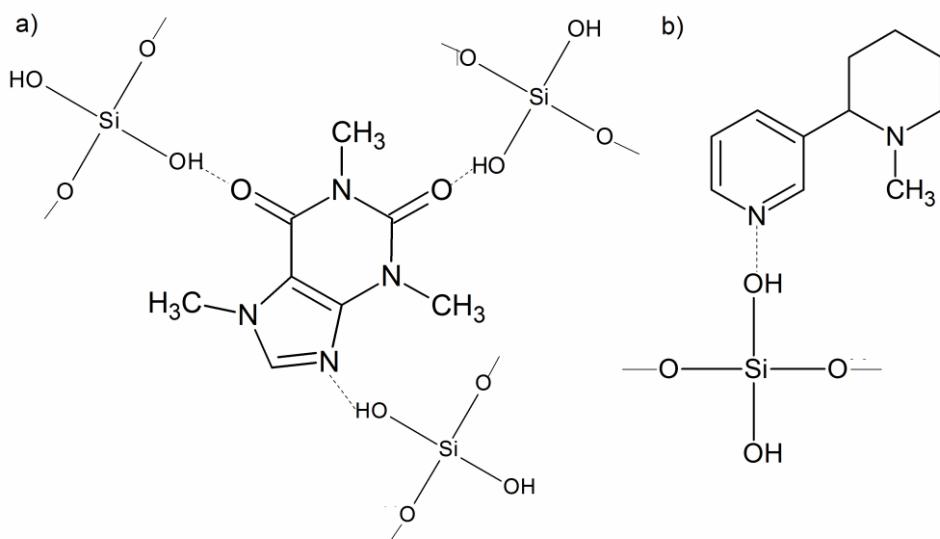


Figura 12: Sugestão de interação entre o fármaco a) cafeína b) nicotina e o silanol (Si-OH) presente no nanoMCM48:Eu (LIÉDANA et al., 2013).

4.2.2 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Na figura 13, evidencia os eventos termogravimétricos do nanoMCM48:Eu, cafeína e da cafeína e nicotina adsorvidas na nanopartícula, devido a limitação do equipamento, não foi possível realizar a análise na nicotina.

Entretanto, no nanoMCM48:Eu surgiu eventos entre 28-91°C atribuído a perda de solvente como água, no entanto seu perfil mostra estabilidade atribuída ao óxido de silício (SiO_2).

A cafeína pura apresenta apenas um evento, que começa na temperatura de 193-291°C com perda de 98,6%, essa característica da perda de massa da cafeína é decorrente a sublimação da mesma, nesse intervalo de temperatura.

Nos sistemas adsorvidos evidencia eventos que podem ser atribuídos a cafeína e a nicotina. Assim, os comportamentos termogravimétricos dos sistemas têm-se: para o CAF@MCM48:Eu a existência de três eventos, na faixa de 27-177°C com decomposição de 7% em massa decorrente do solventes, e outro na região de 180-389°C com perda de 28% apresentando um evento semelhante da cafeína pura, no qual podemos atribuir que a cafeína sofre sublimação neste intervalo, outro evento ocorre em 824°C, no qual pode ser evidencia de existência de cafeína encapsulado no nanoMCM48:Eu.

No sistema NIC@MCM48:Eu também apresenta três eventos: o primeiro observa-se perda de massa de 12% entre a temperatura de 27°-127°C, que pode ser conferido tanto aos solventes quanto da própria nicotina, haja vista a mesma ser volátil, outro evento surgiu em 127-333°C sendo perdida 16% em massa , na região de 734°C, é possível observar o terceiro evento no qual podemos atribuir a existência de nicotina encapsulado na nanopartícula.

No CAFNIC@MCM48:Eu observamos quatro eventos: o primeiro na região de 27-152°C havendo perda de 13% em massa, este evento é semelhante ao do sistema contendo nicotina, nesse sentido podemos atribuir que neste intervalo há a liberação da nicotina juntamente com os solventes na nanoparticula, assim como ocorre no sistema NIC@MCM48:Eu, na temperatura de 157 à 382°C com perda de 15% em massa conferido a cafeína e a nicotina , outro evento na região de 390-761°C e por fim, na temperatura de 847°C atribuído aos fármacos encapsulados.

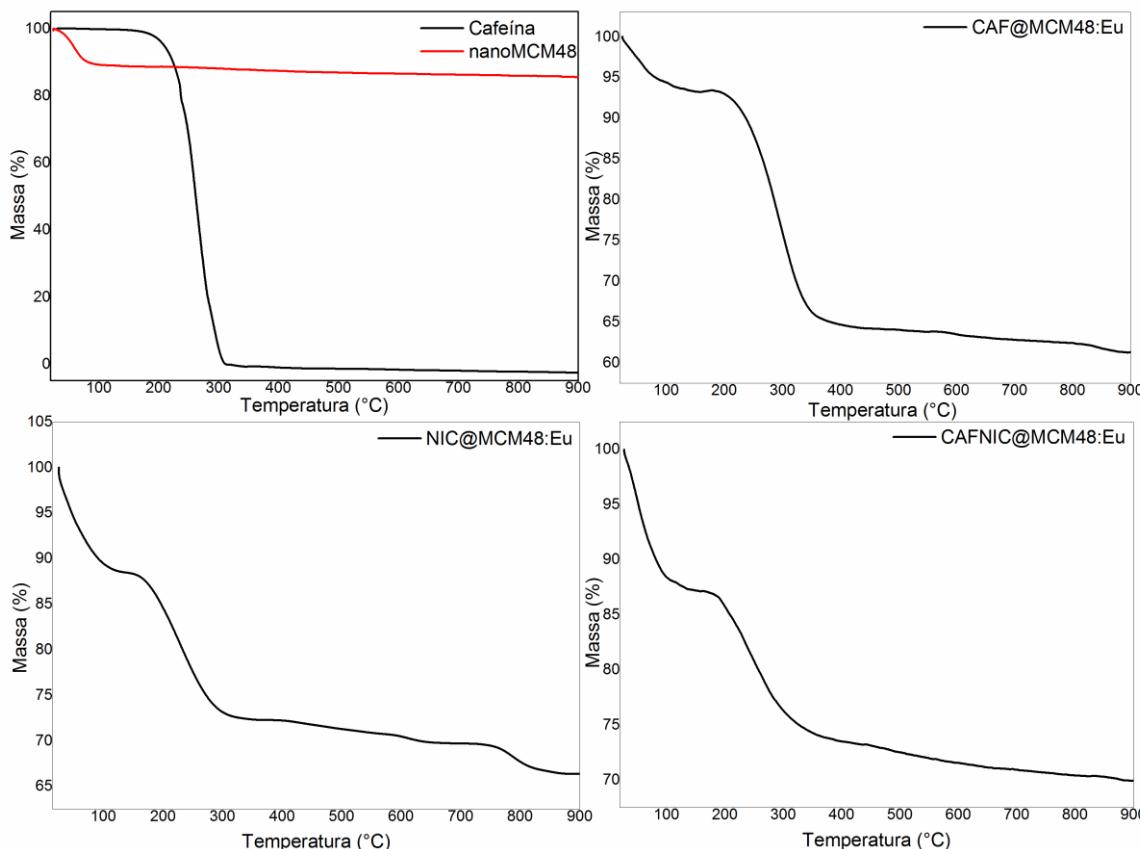


Figura 13: TGA em atmosfera de gás nitrogênio (N_2) em $10^\circ C$ por minutos o aumento de temperatura no intervalo de temperatura ambiente até $800^\circ C$ dos seguintes componentes: cafeína; nanoMCM48:Eu; CAF@MCM48:Eu, NIC@ MCM48:Eu e CAFNIC@ MCM48:Eu

4.1.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR

4.1.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR DA NICOTINA

Nos espectros de infravermelho da nicotina (figura 14) observam-se o carbono sp^2 ($C = C$) em 1600 cm^{-1} e nas bandas a 700 e 800 cm^{-1} . A parte alifática da molécula que está presente nas vibrações muito fortes, devido as ligações carbono hidrogênio ($C-H$), presente nas bandas $3000-2800\text{ cm}^{-1}$ (BERGER; SICKER, 2009). Na região de 717 , é correspondente a flexão fora do plano de ligação $C-H$ do ciclo

monosubstituído piridínico. Em 3400 cm^{-1} , registra-se banda referente ao (-OH), devido a moléculas de água existentes na solução de nicotina.

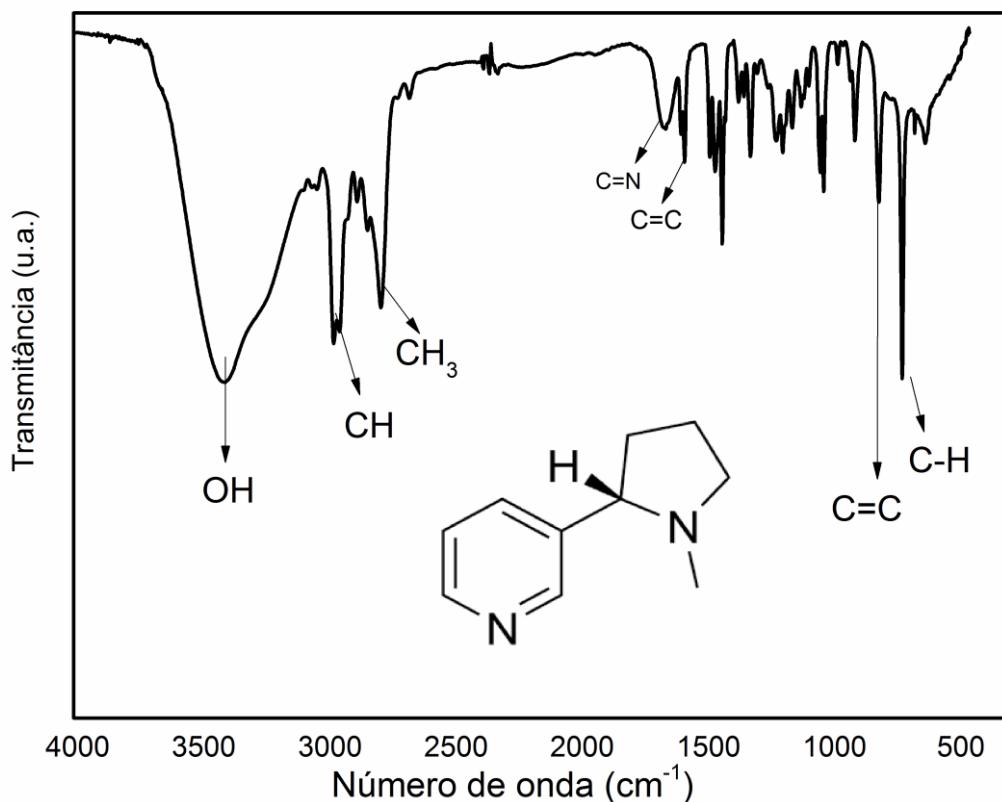


Figura 14: FTIR em janela de KBr e temperatura ambiente da nicotina.

4.1.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR DA CAFEÍNA

Na figura 15 no espectro da cafeína, os picos na região de 2977cm^{-1} pode ser atribuído a vibração da ligação ($\nu\text{C-H}$) e em 2924 cm^{-1} atribuído as vibrações assimétrico do carbono sp^3 da metila ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$) (KESIMLI et al., 2003). As bandas na região de 1655 e 1599 cm^{-1} no qual se refere às ligações (C-C) e (C=N) respectivamente, na região de 1700 cm^{-1} encontra-se a carbonila (C=O). (GUNASEKARAN et al., 2005). Os picos entre 1449 a 1346 cm^{-1} são atribuídos pelo estiramento da metila (δCH_3) (KESIMLI et al., 2003). As bandas de intensidade variável são observadas na região $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, devido à vibração no plano de deformação em os compostos heterocíclicos. A vibração forte média é atribuída às

bandas em 862 e 800 cm^{-1} , devido as ligações de N=C-H e N-C-H atribuídas as vibrações que ocorrem no anel imidazol (GUNASEKARAN et al., 2005).

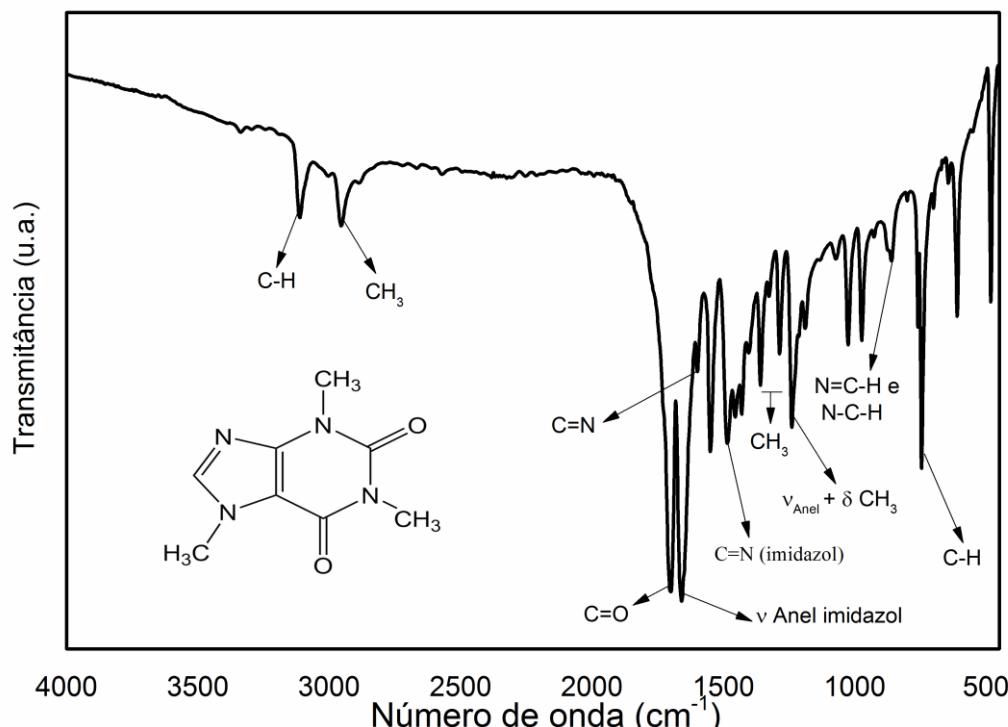


Figura 15: FTIR da cafeína em pastilha de KBr obtida em temperatura ambiente.

4.1.6 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR DO nanoMCM48:Eu

O FTIR do nanoMCM48:Eu (figura 16) é observável a banda em 464 cm^{-1} correspondente a estiramento da ligação do silício e oxigênio $\delta(\text{Si-O-Si})$, em 965 cm^{-1} banda de vibração do grupo silanol $\nu(\text{Si-OH})$ e 1094 cm^{-1} atribuído a vibração assimétrico $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$. Nas regiões 3500 cm^{-1} e 1653 cm^{-1} se refere as vibrações originárias da absorção de moléculas de água indicando a presença de grupos hidroxila (-OH) na superfície (AGHAEI et al., 2014).

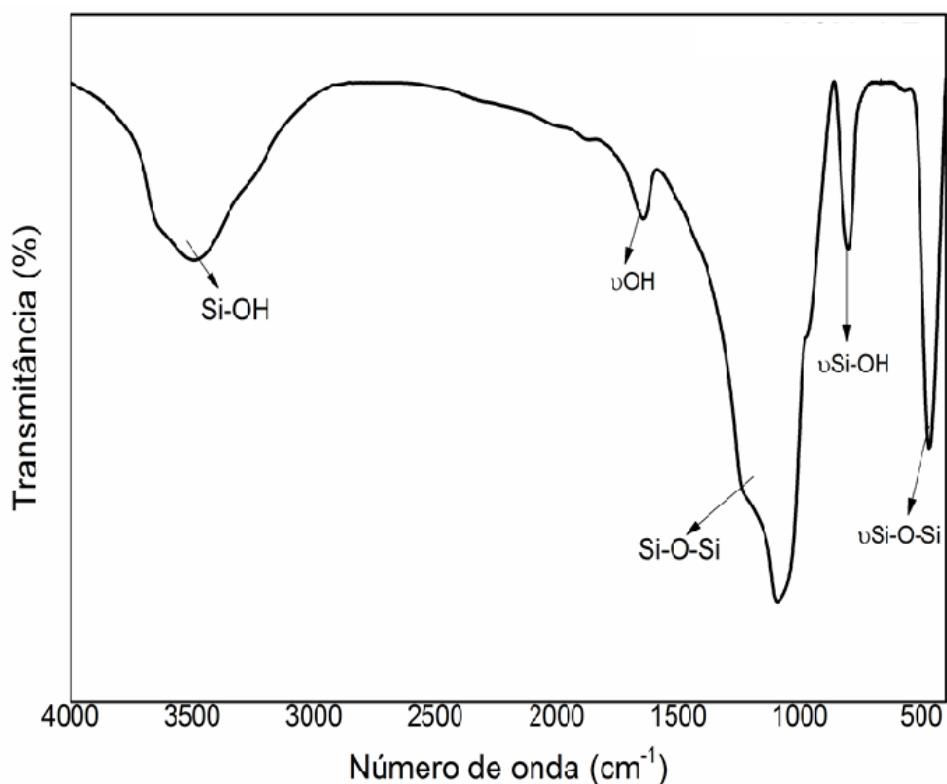


Figura 16: FTIR do nanoMCM48:Eu em pastilha de KBr a temperatura ambiente.

4.1.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR DE TODOS OS SISTEMAS

No sistema com a nicotina NIC@MCM48:Eu (espectro (d)) é possível observar na região 1600 cm^{-1} vibração do carbono sp^2 ($\text{C}=\text{C}$), na região de 790cm^{-1} observa-se as vibrações muito fortes, devido as ligações carbono hidrogênio ($\text{C}-\text{H}$).

Para o sistema referente a CAF@MCM48:Eu (espectro (e)) observamos bandas de carbonila ($\text{C}=\text{O}$) na região de 1700 cm^{-1} e as vibrações atribuídas as metilas (CH_3) na região de (1580 cm^{-1}), na região de 800 cm^{-1} responsável pelo flexão da ligação $\text{C}-\text{H}$.

No sistema multidroga CAFNIC@MCM48:Eu (espectro (f)) identificamos bandas referente aos picos da nicotina (espectro (a)) e da cafeína (espectro (b)) semelhantes aos espectros (d) e (e).

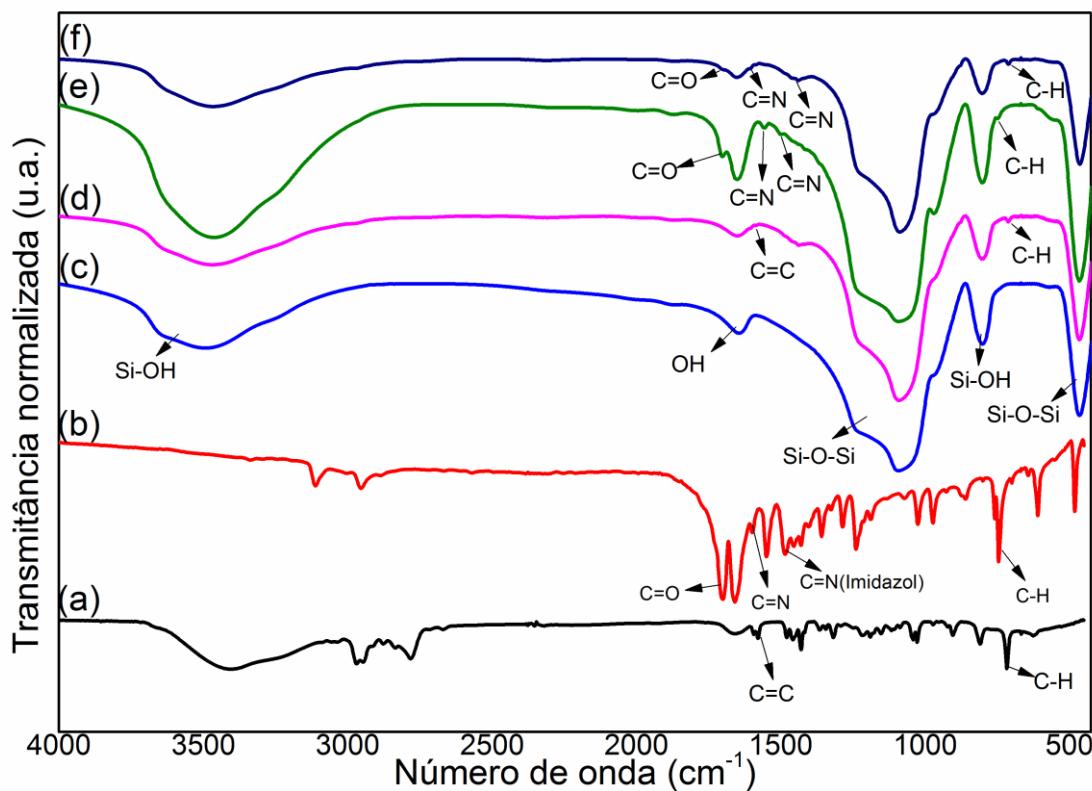


Figura 17: FTIR de todos os sistemas sobrepostos em pastilha de KBr exceto da nicotina que foi obtida em janela de KBr: (a) nicotina; (b) cafeína (c) nanoMCM48:Eu; (d) NIC@MCCM48:Eu; (e) CAF@MCCM48:Eu e (f) CAFNIC@MCCM48:Eu.

4.2.8 DIFRAÇÃO DE RAIO X-DRX

O nanoMCM48:Eu apresenta picos de difração (2 1 1), que pode ser indexado ao grupo espacial Ia3d de estrutura cúbica (LIU et al., 2010). A cafeína apresenta cristalinidade com um pico intenso na região de 11.7°(figura18).

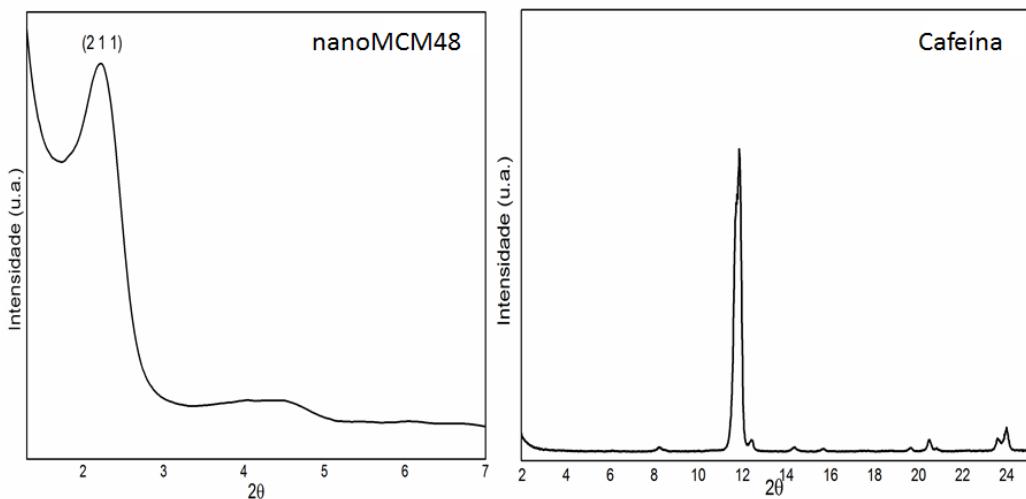


Figura 18: DRX com o passo de 0,01°/s no intervalo de 1.5-7° para o nanoMCM48:Eu e de 2-25° para a cafeína.

Para o CAF@MCM48Eu (figura 19) percebe-se que o pico (2 1 1) não foi alterado. O pico em 11.7° padrão da cafeína, não aparece, entretanto, o difratograma revela que não existe cafeína na forma cristalina no sistema o que nos leva a sugerir que a mesma se encontra completamente dissolvida interagindo com os grupos silanóis, como anteriormente sugerido na figura 9.

Ao sistema, foi realizada uma medida com os parâmetros 0.01°/8s na perspectiva de obter evidência da fase cristalina da cafeína, na região de maior intensidade na região de 10-15°, uma vez que, na região de 11.7° o mesmo possui uma intensidade bastante intensa. No entanto, o DRX nestas condições, não revelou nenhum pico nessa região, o que reforça a sugestão que a cafeína encontra-se completamente solubilizada na nanopartícula. O comportamento no difratograma para os demais sistemas (NIC@MCM48:Eu e CAFNIC@MCM48:Eu)(figura 19) apresentaram, ligeiramente, semelhanças. Para este último foram feitas medidas na região de 10-15°, pelos mesmos motivos atribuídos ao sistema CAF@MCM48:Eu, apresentando as mesmas evidências.

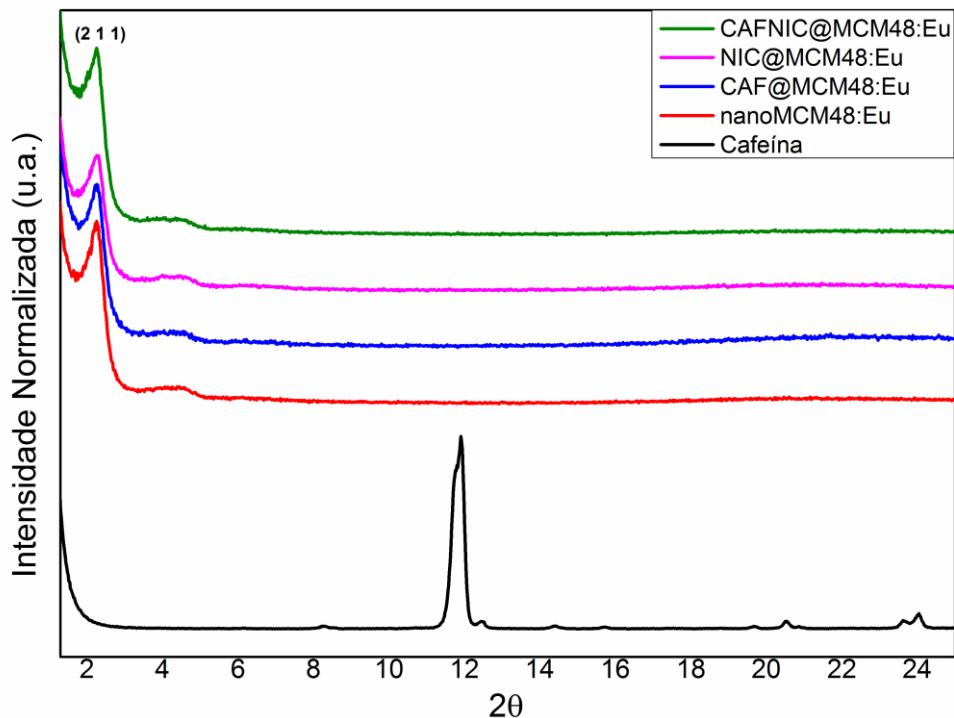


Figura 19: DRX com o passo de 0,01°/s no intervalo de 2-25° da cafeína e dos sistemas nanoMCM48:Eu, CAF@MCM48Eu; NIC@MCM48Eu e CAFNIC@MCM48Eu.

4.2.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VAREDURA (MEV) E DE TRANSMISSÃO (MET)

O MEV e o MET (figura 20) dos sistemas apresentam uma morfologia esférica com partículas de tamanhos relativamente homogêneos. Em relação aos sistemas com os ativos adsorvidos, suas morfologias não apresentaram modificações, e não surgiu evidências da cafeína na forma cristalina na nanopartícula, corroborando com o resultado encontrado no DRX. As imagens também demonstram que o tamanho do nanoMCM48:Eu assim nos adsorvidos, apresentam tamanhos aproximadamente 100 nm, o que torna esta nanopartícula promissor no que tange entrega controlada de fármaco no cérebro.

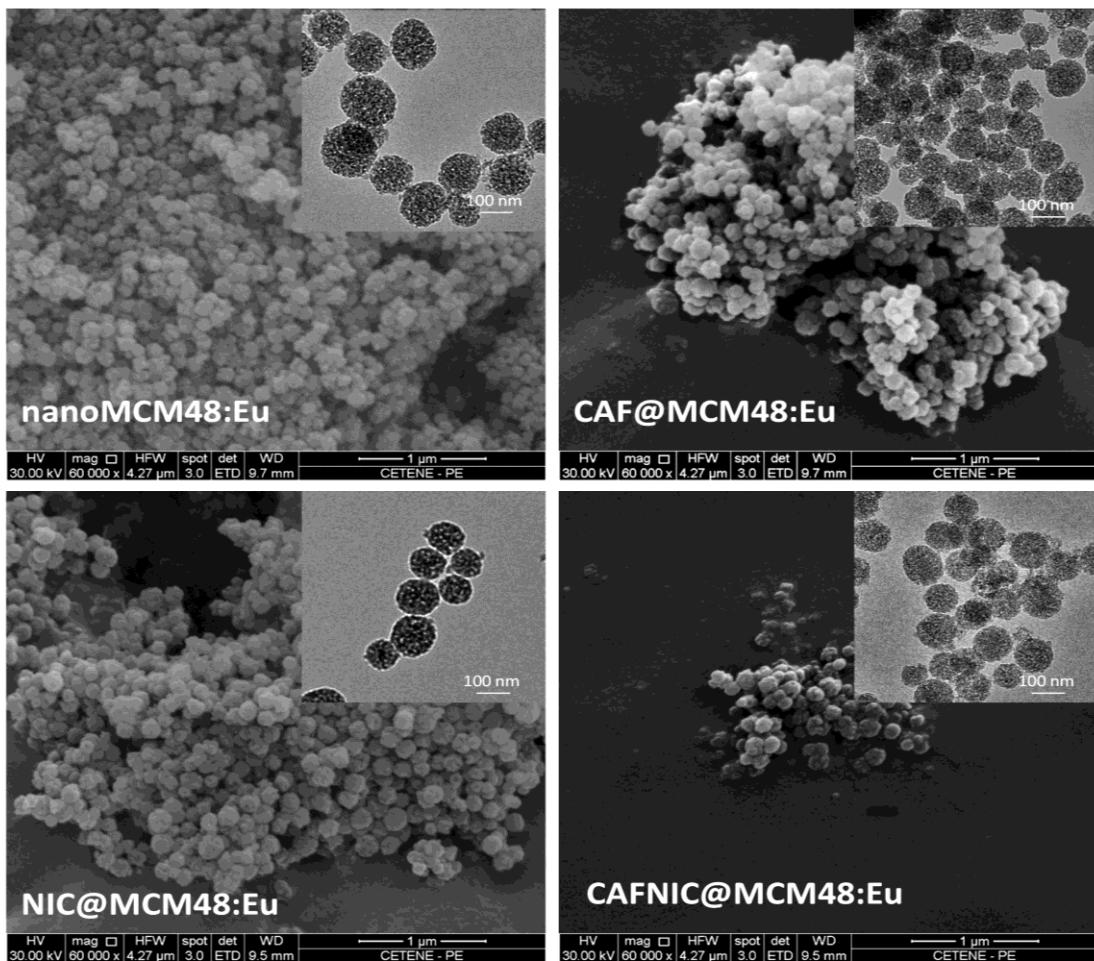


Figura 20: MEV e MET dos sistemas nanoMCM48:Eu; CAF@MCM48:Eu; NIC@MCM48:Eu e CAFNIC@MCM48:Eu.

4.2.10 ESPECTROSCOPIA DE FOTOLUMINESCÊNCIA

4.2.10.1 FOTOLUMINESCÊNCIA DO nanoMCM48:E DOS ATIVOS E DOS MESMOS ADSORVIDOS NO nanoMCM48:Eu

4.2.10.2 FOTOLUMINESCÊNCIA DO nanoMCM48:Eu

As propriedades fotoluminescentes do nanoMCM48:Eu foi investigada em estado sólido e temperatura ambiente. O espectro de excitação (linha sólida preta na figura 21), obtido a partir do monitoramento da emissão em 612 nm ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$), apresenta bandas centradas em 525, 464, 415, 394, 382, 376, 362, 320 e 300 nm

associadas às transições $^7F_0 \rightarrow ^5D_1$, 5D_2 , 5D_3 , 5L_6 , 5G_2 , 5G_4 , 5D_4 , 5H_J e 5F_J , do íon Eu³⁺, respectivamente. O espectro de emissão (linha sólida vermelha na figura 21) apresenta perfil espectral, relacionado às transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$, em que $J = 0, 1, 2, 3$ e 4 , típico de compostos contendo íons Eu³⁺ em ambiente de baixa simetria (BINNEMANS, 2015). A transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ ocorre através da mistura do estado 7F_0 com os estados 7F_2 , 7F_4 e 7F_6 , e indica que os íons Eu³⁺ encontram-se em um ambiente com simetria C₁, C_n ou C_{nv} (BINNEMANS, 2015). O perfil diexponencial apresentado para a curva de decaimento radiativo do estado excitado (figura A2.1), com tempos de vida de $\tau_1 = 0,069 \pm 0,003$ e $\tau_2 = 0,319 \pm 0,004$ ms associado ao perfil assimétrico da banda da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ sugere a existência de íons Eu³⁺ ocupando sítios com mais de um tipo de simetria.

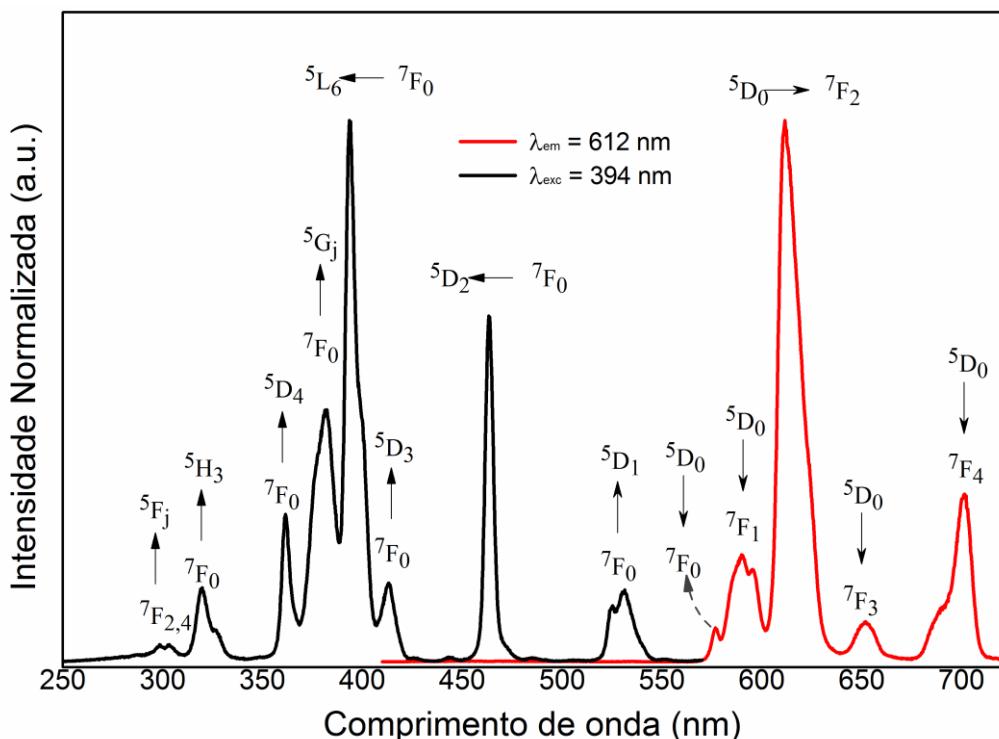


Figura 21: Espectros de excitação (linhas pretas; $\lambda_{\text{em}} = 612$ nm) e emissão (linha vermelha; $\lambda_{\text{ex}} = 394$ nm) do nanoMCM48:Eu.

4.2.10.3 FOTOLUMINESCÊNCIA DA CAFEÍNA

As propriedades fotoluminescentes da cafeína foram investigadas em estado sólido e à temperatura ambiente. Os espectros de excitação (linha preta da figura 22) e emissão (linha azul da figura 22) exibem bandas com máximos em 304 e 335 nm, respectivamente. Estas bandas foram atribuídas às transições $S_0 \rightarrow S_1$ (excitação) e $S_1 \rightarrow S_0$ (emissão).

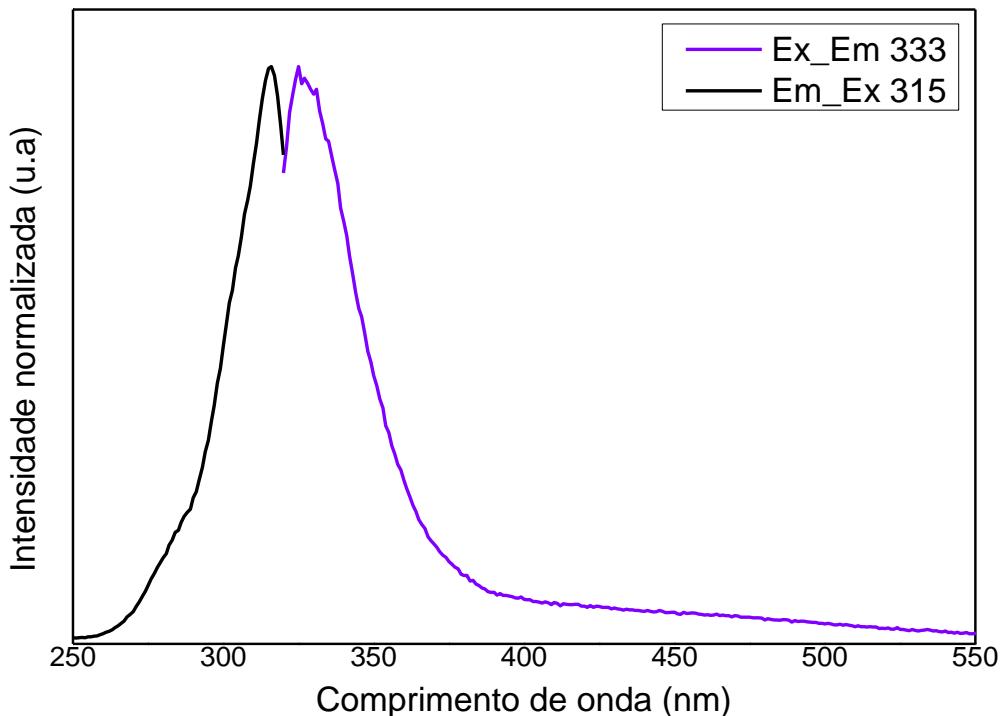


Figura 22: Fotoluminescência da cafeína pura monitorando na emissão de 333nm e excitação em 315nm.

4.2.10.4 FOTOLUMINESCÊNCIA DO CAF@MCM48:Eu

A figura 23, apresenta os espectros de emissão do compósito CAF@MCM48:Eu, adquiridos com excitação em 350 (linha sólida azul) e 394 nm (linha sólida vermelha) à temperatura ambiente e em estado sólido. O espectro emissão, quando é excitado em 394 nm, é composto por amplitudes de emissão da cafeína e dos íons Eu^{3+} no nanoMCM48:Eu. O deslocamento no máximo de emissão associado à cafeína é atribuído à interações com o nanoMCM48:Eu. Adicionalmente,

verifica-se a sintonização do espectro de emissão a partir da excitação em 350 nm, fazendo com que o perfil espectral apresente apenas amplitude relacionada à cafeína. As mudanças nas intensidades relativas das bandas de emissão do íon Eu^{3+} , associados às transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$, em relação ao nanoMCM48:Eu, sugerem pequenas alterações no seu ambiente de simetria.

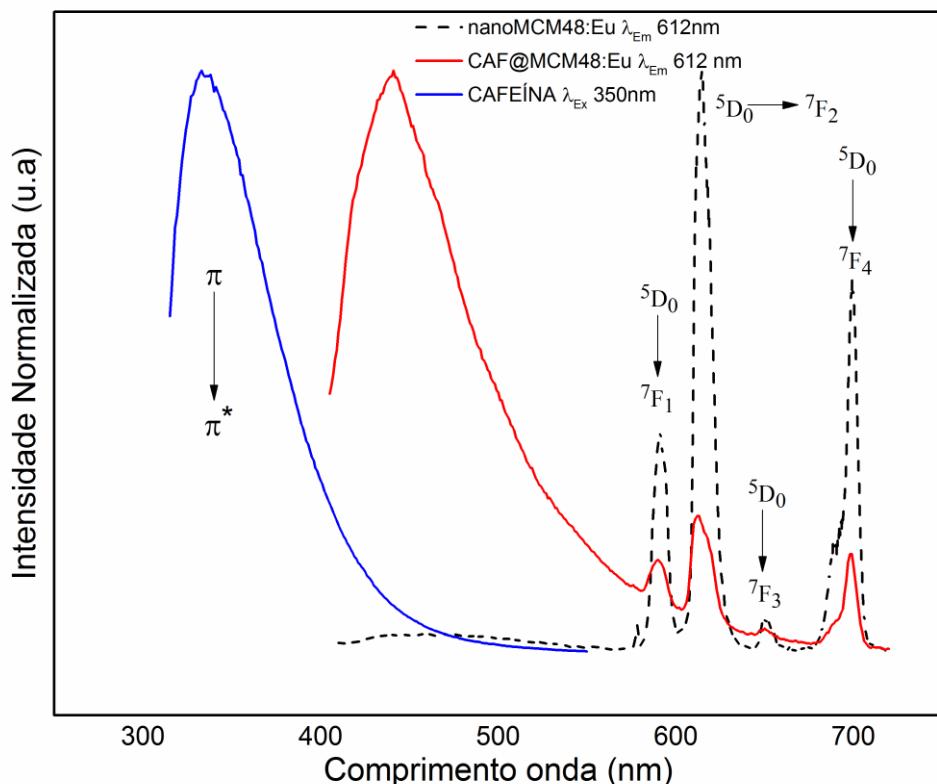


Figura23: Fotoluminescência do CAF@MCM48:Eu monitorando a emissão em 612nm , comparado com a emissão do nanoMCM48:Eu em 612nm e o excitação da Cafeína em 350nm.

4.2.10.5 FOTOLUMINESCÊNCIA DA NICOTINA

A figura 24 apresenta os espectros de excitação (linhas contínuas) e emissão (linhas tracejadas), e um diagrama de energia representando os principais processos energéticos envolvidos na fotoluminescência da nicotina. Os espectros de excitação, adquiridos mediante monitoramento da emissão em 390 e 550 nm, evidenciam a existência de dois níveis moleculares de energia excitados, que contribuem para a

emissão da molécula no visível. Adicionalmente verifica-se que a intensidade da emissão é cerca de 100 vezes maior, provavelmente pelo maior incidência de processo de desativação não radioativa do estado S_2 , quando a amostra é excitada diretamente em 467 nm, que quando é excitada em 317 nm. Isto pode indicar uma baixa absorvidade molar pelo segundo estado excitado, ou uma grande incidência de processos de desativação do estado excitado por processos não-radiativos. Os espectros de emissão, adquiridos a partir da excitação em 317 e 467 nm, apresentam duas bandas com máximos de emissão em 390 e 550 nm, e uma banda com máximo em 550 nm, respectivamente. Este comportamento indica a existência de uma conversão interna de energia (IC) entre os estados eletrônicos excitados S_2 e S_1 . Dessa forma, pode-se inferir que a emissão da nicotina ocorre em forma de cascata, a partir do estado excitado S_2 , mediada por uma sucessão de processos não-radiativos, como ilustrado no diagrama de energia da figura 24.

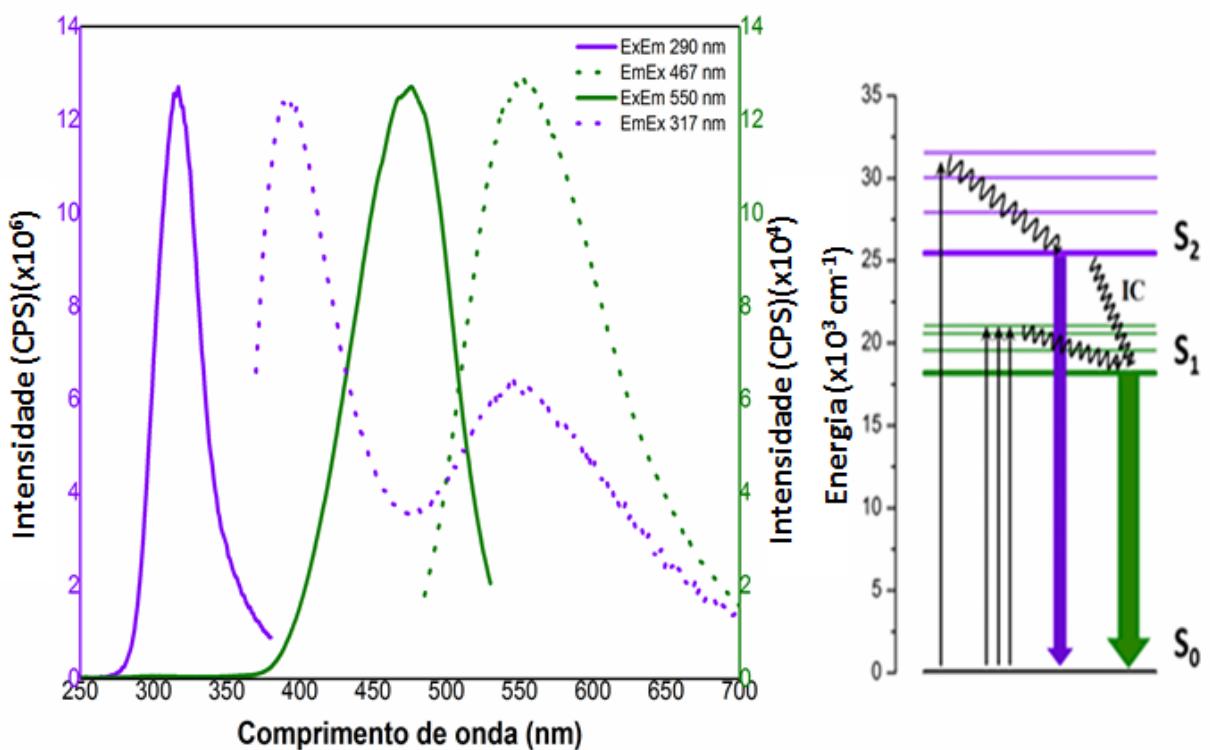


Figura 24: Espectros de excitação (linhas sólidas) e de emissão (linhas tracejadas) da nicotina.

4.2.10.6 FOTOLUMINESCÊNCIA DO NIC@MCM48:Eu

A fotoluminescência do NIC@MCM48:Eu evidencia, através dos perfis espetrais de excitação e emissão, a presença da nicotina e dos íons Eu³⁺. Os espetros de excitação nas figuras 25 e A6.1 apresentam as transições intraconfiguracionais 4f-4f dos íons Eu³⁺ e $\pi \rightarrow \pi^*$ das moléculas de nicotina, respectivamente. Os espetros de emissão nas figuras 25 e A6.1, mostram perfil espectral formado por amplitudes de emissão da nicotina e íons Eu³⁺. Tal como verificado para o CAF@MCM48:Eu, as intensidades relativas das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$, $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$ do íons Eu³⁺, em relação ao nanoMCM48:Eu, sugerem pequenas alterações no seu ambiente de simetria, por conta da interação com a cafeína. A partir dos espetros de excitação e emissão (figura A6.1), verifica-se que por conta da interação com a nanopartícula nanoMCM48:Eu, os níveis de energia da nicotina apresentaram um aumento de energia em relação à nicotina pura.

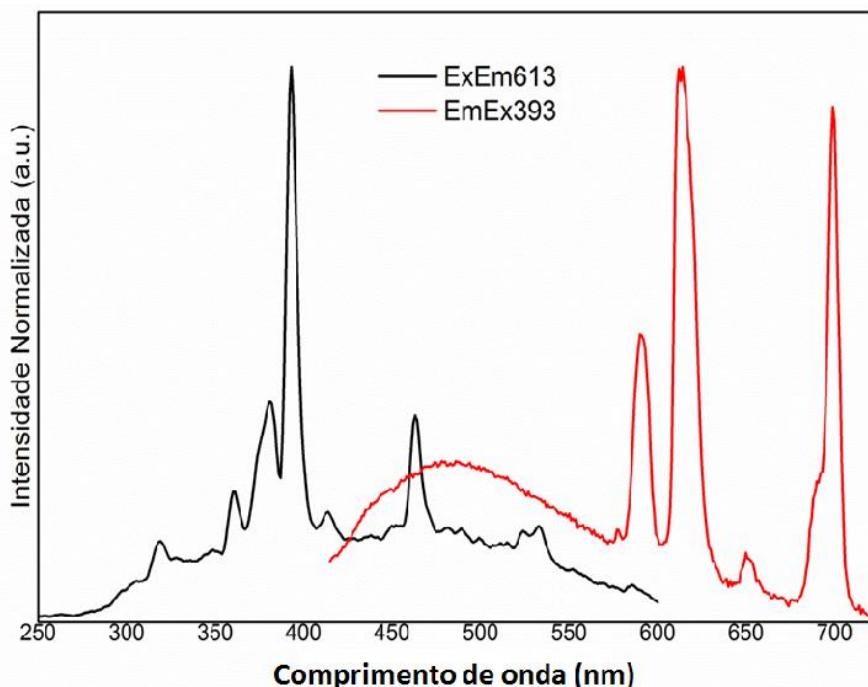


Figura 25: Fotoluminescência do sistema com NIC@MCM48:Eu monitorando a emissão em 613nm e a excitação em 393nm.

4.2.10.7 FOTOLUMINESCÊNCIA DO CAFNIC@MCM48:EU

A figura 26 apresenta os espectros de emissão do compósito CAFNIC@MCM:Eu, sob excitação em 300 (linha vermelha), 394 (linha preta) e 430 nm (linha azul). Verifica-se que o perfil espectral de emissão é sintonizável através do comprimento de onda de excitação, e que o perfil apresentado corresponde à emissão de espécies emissoras diferentes. Quando excitado com 300 e 430 nm, verifica-se a predominância das amplitudes de emissão da nicotina. As mudanças nestes perfis, em relação ao compósito NIC@MCM:Eu, sugere mudanças nas interações intermoleculares. A emissão com excitação em 394 nm apresenta o mesmo perfil espectral do compósito CAF@MCM:Eu, em que são observadas amplitudes de emissão da cafeína e dos íons Eu³⁺. As intensidades relativas das linhas de emissão associadas aos íons Eu³⁺, sofreram menores variações neste compósito que nos materiais híbridos anteriores.

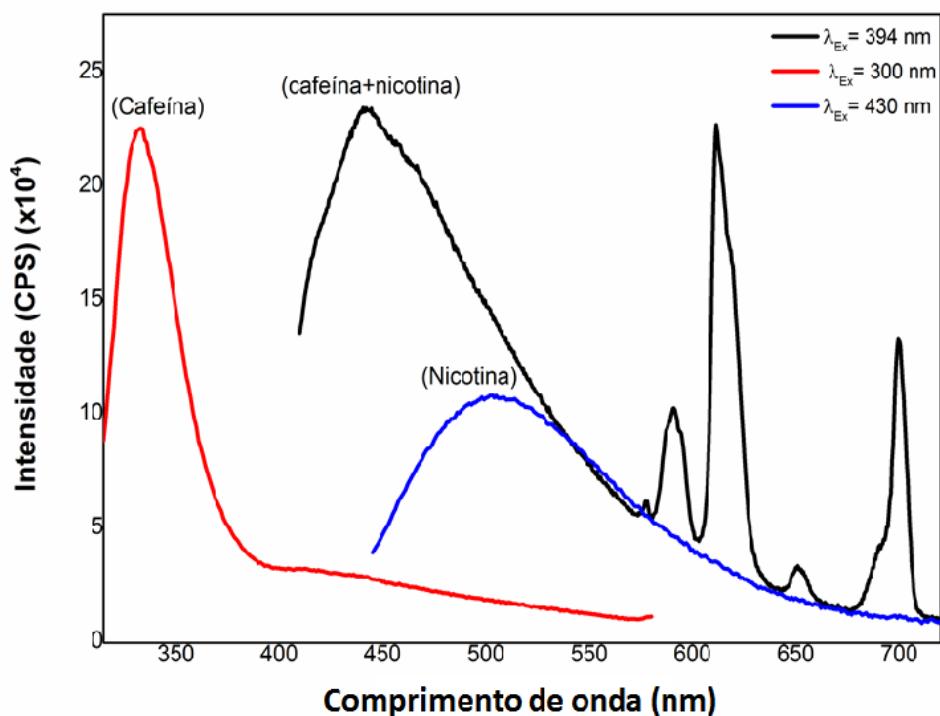


Figura 26: Fotoluminescência do sistema CAFNIC@MCM48:Eu excitados em 394,300 e 430nm.

Na tabela 5 encontra-se os valores do decaimento radioativos no qual os valores de tempo de vida foram determinados pela curva do decaimento exponencial presentes nas figuras do apêndice A2. Devido os materiais apresentarem dois valores de tempo de decaimento não foi possível calcular as eficiências quânticas das espécies. No entanto, o decaimento radioativo com os ativos adsorvidos, observa-se os tempos de vida da cafeína e da nicotina são bem superiores quando os materiais são excitados íon európio (III), e um tempo de vida curto quando se faz o monitoramento nos ativos, evidenciando a existência dos ativos adsorvidos na nanopartícula.

Tabela 5: Tempo de decaimento dos ativos puros e dos mesmos adsorvidos no nanoMCM48:Eu

AMOSTRAS	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	τ_1 (μ s)	τ_2 (μ s)
CAFEÍNA	315	333	7,4	1,08
NICOTINA	394	555	1,54	12,94
nanoMCM48:Eu	394	612	124,2	516,34
			2,0	
CAF@MCM48:Eu	394	612	85,84	85,85
	350	405	7,8	1,98
NIC@MCM48:Eu	393	613	25,0	357,55
	380	440	12,0	2,1
CAFNIC@MCM48:Eu	395	612	470,0	55,28
	380	430	12,1	2,1

4.2.11 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

4.2.12 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DA CAFEÍNA, NICOTINA E DA MULTIDROGA

Na figura 27 (a) na liberação da cafeína no sistema CAF@MCM48:Eu, apresentou um pico máximo em 4hs no qual registrou 85,8% de massa liberado de

cafeína, saturando o sistema em 24 hs com aproximadamente 79% da cafeína liberada no sistema. No gráfico (b) da figura 21 referente a NIC@MCM48:Eu foi observado no período de 12 hs um uma liberação de 57% da nicotina saturando o sistema em 24hs, no qual houve 60% do ativo liberado. No que tange a multidroga CAFNIC@MCM48:Eu monitorando a absorbância na nicotina apresentado no gráfico (c) da figura 27, houve uma liberação de 57% do ativo no período de 12 hs, comportamento bastante semelhante ao sistema NIC@MCM48:Eu. Sobre a cafeína na multidroga a mesma foi sobreposta pela banda da nicotina não sendo possível monitora-la por UV-vis.

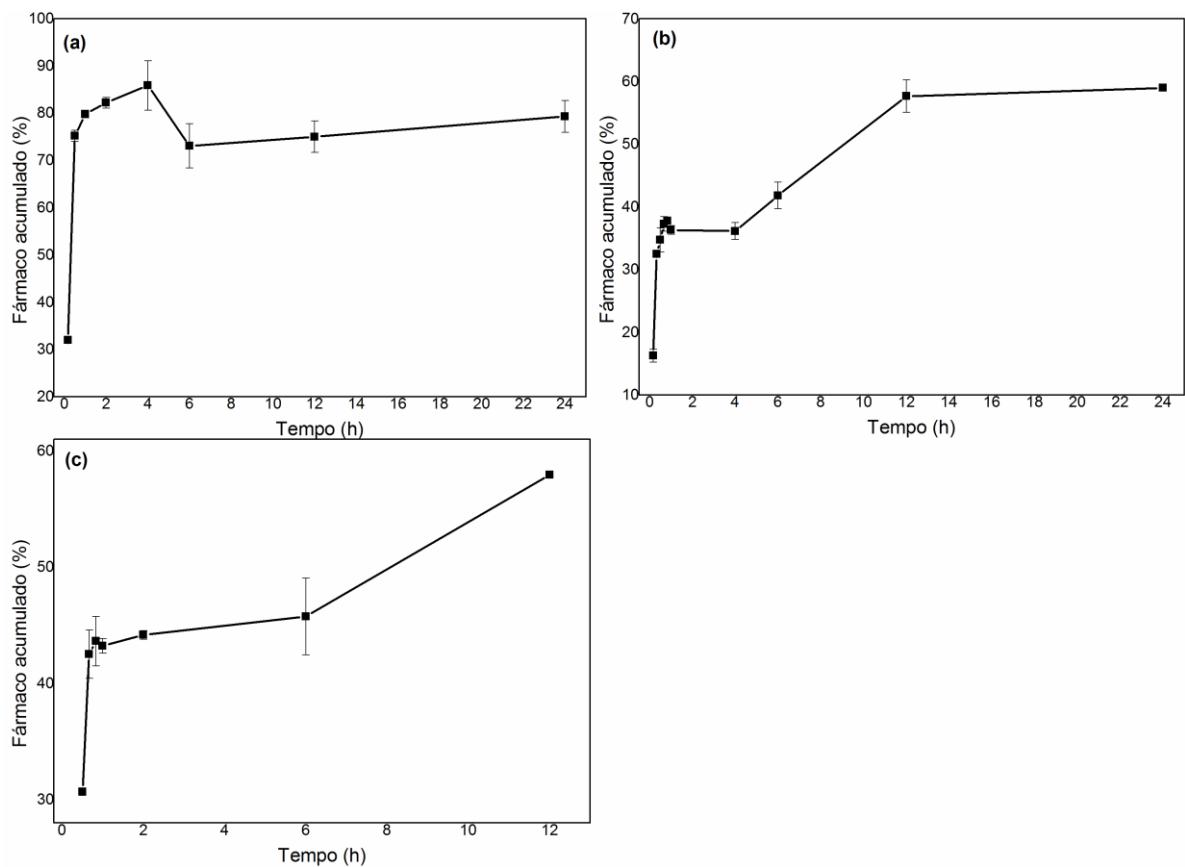


Figura 27: Cinética de liberação: (a) cafeína ; (b) nicotina e (c) da nicotina na multidroga. Sistemas monitorados em 24 horas e 12hs sob agitação de 100 rpm em meio PBS.

4.3 CONCLUSÕES

Baseado nas caracterizações, a síntese da nanopartícula foi satisfatória, obtendo um tamanho aproximadamente 100 nm, o que torna promissor no que tange a entrega controlada de fármaco no cérebro.

As adsorções dos ativos no nanoMCM48:Eu mostraram extremamente eficazes, obtendo um material com mais de 97% dos ativos na nanopartícula.

As caracterizações por TGA. DRX. FTIR mostraram os eventos dos ativos, evidenciando sua existência na sílica mesoporosa, o MEV e MET foram importantes ao elucidarem a morfologia dos materiais isolados e adsorvidos.

A fotoluminescência do nanoMCM48:Eu confirmou as transições do íon európio Eu(III), afirmado o sucesso na dopagem. Baseado nos estudos fotoluminescências é sugerível que a nanopartícula seja promissora frente a entrega de fármaco, uma vez que, através de suas propriedades luminescentes podem proporcionar a nanopartícula propriedades que podem inserir como traçador biológico, possibilitando investigar o metabolismo final da sílica mesoporosa no organismo *in vivo*. Além disto, o perfil de emissão dos materiais adsorvidos (CAF@MCM48:Eu, NIC@MCM48:Eu e CAFNIC@MCM48:Eu) foram promissores, podendo ser explorados no sentido de investigar os comportamentos dos ativos na região de interesse, haja vista, de acordo com os resultados obtidos a natureza de emissão da cafeína, nicotina e do nanoMCM48:Eu apresentaram perfis diferente, sendo possível a monitoração destes de forma isolada na região de interesse.

A cinética de liberação do material revelou-se interessante, haja vista, garante por até 24hs uma oferta acumulativa de 80% de cafeína e 60% de nicotina no meio fisiológico.

5. CAPÍTULO II: NOVO NANO-AGREGADO SUPRAMOLECULAR DE CURCUMIN-CUCURBIT[7]URIL: SÍNTESE, PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS E AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE

5.1 MATERIAS E MÉTODO

Neste capítulo será apresentada a complexação da curcumina no curcubit[7]uril objetivando melhorar a biodisponibilidade do fármaco. Entretanto, para a síntese foi utilizado os reagentes apresentados na tabela 6.

5.1.2 MATERIAIS E REAGENTES

Tabela 6: Reagentes utilizados na síntese do complexo.

Composto	Fórmula molecular	Procedência	Pureza
Curcubit[7]uril hydrate	C ₄₂ H ₄₂ N ₂₈ O ₁₄	Sigma-Aldrich	Contém ácido de cristalização
Fron Curcuma long (tumeric)	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	Sigma-Aldrich	-----
Metanol	CH ₃ OH	Dinâmica	P.A.

5.1.3 SÍNTESE DO NANO-AGREGADO CURCUMINA-CB[7]

Foi utilizado uma proporção molar de 1:1 de curcumina e Curcubit[7]uril (CB[7]). Para a preparação do material, o fármaco foi diluído em 6 mL de álcool etílico, em seguida o CB[7] foi adicionado a solução. A amostra ficou em agitação constante, a temperatura ambiente, por 24 horas. A mistura foi centrifugada a 12000 rotações por minuto (rpm) por 20 minutos e o sólido foi seco a temperatura ambiente, para posterior análise.

5.1.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA A FOTOLUMINESCÊNCIA

As análises das amostras foram realizadas em meio fisiológico e em temperatura ambiente. Foi adicionado 1 mg de curcumina, curcubit[7]uril e do complexo curcumina@CB[7] em 2 mL de solução tampão fosfato (PBS, 0,1 M, pH

7,2). As amostras foram agitadas no ultra-sônico por 5 minutos e em seguida realizadas as medidas.

5.1.5 CARACTERIZAÇÃO

5.1.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA-TGA

Fabricado pela Shimadzu modelo DTG-60H com os parâmetros da analise no intervalo de 10°C por minuto em atmosfera de nitrogênio.

5.1.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Fabricado pela Shimadzu modelo XRD – 6000, radiação de $\text{Cu-K}\alpha = 1,54056 \text{ \AA}$, a 40 kV e com um, filamento de 30 mA com filtro de Ni), nos parâmetros com passo de 0,01°, tempo de aquisição de 1 segundo e janela angular (2θ) de 1°-25°. Esta análise foi realizado no CETENE Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste

5.1.8 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho, foram obtidos a temperatura ambiente em um espectrômetro Os espectros de absorção na região do infravermelho, foram obtidos a temperatura ambiente em um espectrômetro FT-IR fabricado pela PerkinElmer modelo Spectrum 400, no intervalo de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} , usando pastilha de KBr.

5.1.9 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR -RMN

Essa medida foi realizada no aparelho Agilent300-vnmrs300.

5.1.10 ESPECTROSCOPIA DE FOTOLUMINESCÊNCIA

As propriedades fotoluminescentes (espectros de excitação e emissão, e tempo de vida do estado excitado) dos materiais produzidos neste trabalho foram realizadas em

um espectrofluorímetro Horiba Jobin Yvon, modelo Fluorolog-3 ISA. O aparelho é equipado com monocromador duplo de excitação e de emissão, modelo FL-1039/40. Lâmpadas contínua de xenônio com potência de 450 W e pulsada de xênon de 150 W, fotomultiplicadora R928P. Os dados foram coletados em um ângulo de 90°, em relação ao feixe de emissão.

5.1.11 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

Para determinar O CUR, CB [7] ou CUR-CB [7] se afetam a viabilidade celular, as células A549 foram tratadas com diferentes concentrações (5, 25 e 50 µg / mL) de cada amostra durante 24 h e a viabilidade foi avaliado utilizando um ensaio MTT.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Na análise termogravimétrica do CB[7] (figura 29) observamos três eventos, o primeiro acontece entre a região de 28-120°C, que é atribuído a água, na região entre 349-374°C observa-se o segundo evento em que o CB [7] decompõe-se ligeiramente, antes da destruição macrociclo (MOHAN et al., 2012) na região entre 374-454°C temos eventos atribuídos ao produto de degradação da estrutura cíclica do CB[7], em 800°C a sobra de massa de 15%, no qual, podemos atribuir o restante do produto de degradação, pode ser referente ao carbono (C_(s)) resultado da degradação.

Na curcumina (CUR), observamos uma estabilidade térmica que vai de 25 à 215°C, a partir desta última temperatura até 420°C apresentou o primeiro evento de degradação de 44% do fármaco, isso mostra a que o fármaco, *in natura*, apresenta uma boa estabilidade térmica.

Ao nano-agregado CUR-CB[7] observa-se nos primeiros eventos, comportamento semelhante ao do CB[7] na região em que sua degradação começa, em torno de 350-484°C com perca de massa de aproximadamente 48,6%, esse evento pode ser atribuído a degradação do CB[7], no intervalo de 448-800°C houve uma perda de massa de 25,3% que pode ser atribuído a perda de massa tanto do CB[7] quanto da curcumina.

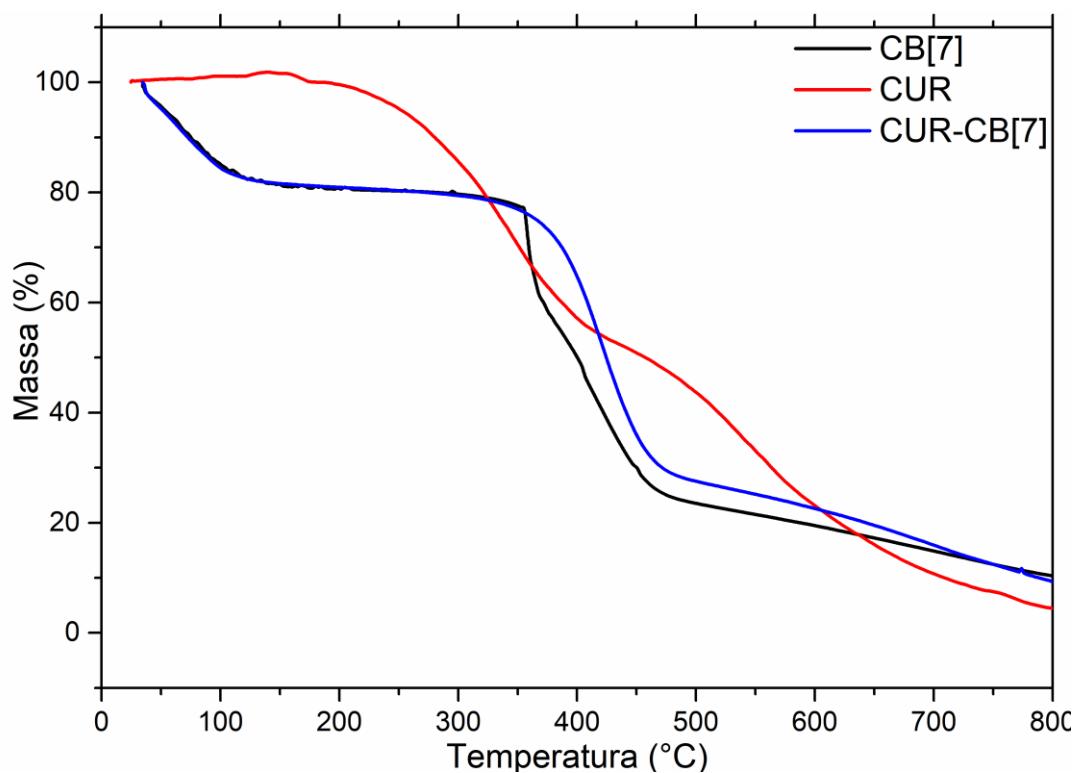


Figura 29: Termogravimetria do CUR, CB[7] e nano-agregado CUR-CB[7] no intervalo de 10°C por minuto em atmosfera de nitrogênio.

5.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIO X (DRX)

O difratograma da curcumina (figura 29) revela estruturas cristalinas definidas, já o CB[7] revela uma estrutura amorfa (figura 31). Em relação ao complexo, temos uma estrutura amorfa, este comportamento sugere que o curcumín foi complexado ao CB[7], este fenômeno que corrobora com outros trabalhos de complexo de inclusão(MOHAN et al., 2012 e MA et al., 2013). Nesse caso, o fenômeno de complexação está associado ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas na formação do complexo no estado sólido.

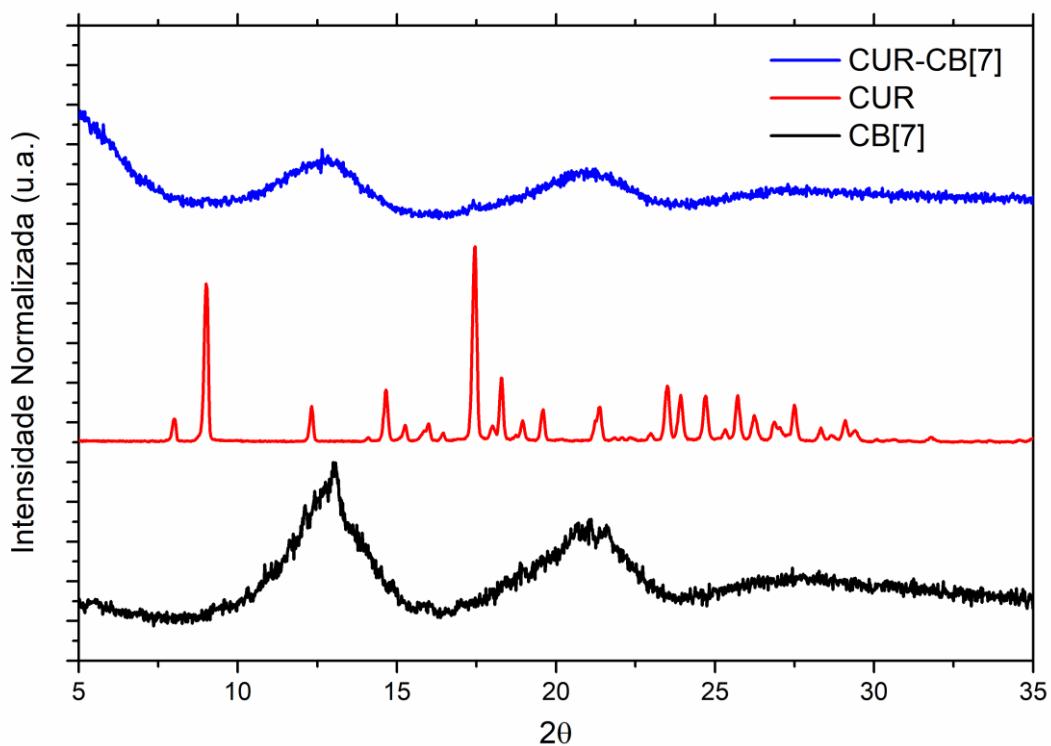


Figura 30: DRX do CB[7], CUR e do nano-agregado CUR-CB[7], radiação de Cu-K α = 1,54056 Å, a 40 kV.

5.2.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO TRANSFORMADA EM FOURIER-FTIR

A curcumina (CUR) exibiu uma banda de absorção em 3516 centímetros⁻¹(cm⁻¹) atribuído a vibração da hidroxila (OH) do grupo fenólico. A banda de 2841 cm⁻¹, é atribuído ao estiramento do C-H referente ao carbono sp³. No espectro aparece uma banda de absorção agudas na região de 1600 cm⁻¹, este é referente ao alongamento de vibrações do anel benzeno (alongamento vibrações do anel benzeno), em 1507 cm⁻¹ atribuído as vibrações (C-C), 1435 centímetros-1 (C-H vibração de flexão) e 1276 cm⁻¹ (C-O vibração alongada da ligação C-O do anel aromático), as banda na faixa e 854cm⁻¹ é atribuído ao dobramento do =C-H(YALLAPU et al., 2010). Em relação ao CB[7] temos picos característicos em 1751 cm⁻¹ e 1474 cm⁻¹ correspondentes a C = O e NC.

No espectro do complexo de inclusão não é possível observar os picos característico do CUR, o que é provavelmente devido à sobreposição dos picos existentes em ambas as moléculas.

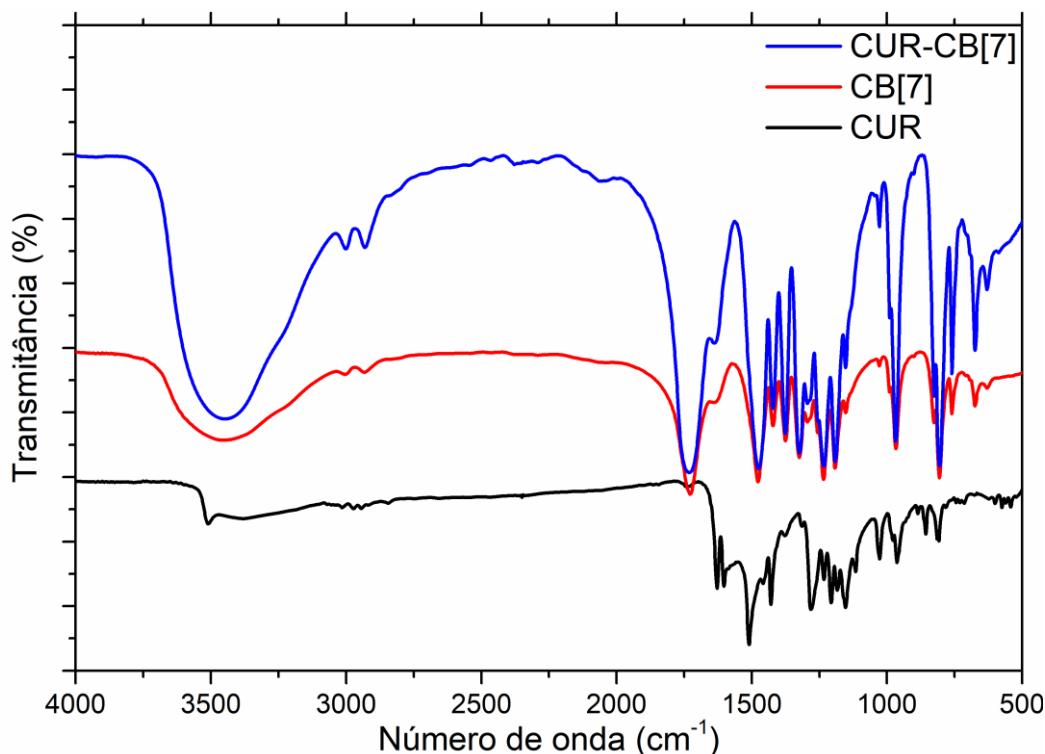


Figura 31: Espectro de infravermelho a temperatura ambiente obtido em pastilha de KBr do (a) Curcumina, (b) CB[7] e (c) curcumina@CB[7].

5.2.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

A espectroscopia de ^1H RMN foi utilizada para a investigação estrutural do nano-agregado supramolecular denominado CUR-CB[7]. Em primeiro lugar, os espectros de RMN de ^1H de CUR e CUR-CB [7] em DMSO-d6 foram obtidos após uma hora (Figura 32).

A molécula de curcumina existe na forma de tautômero de β -ceto-enol (ver Figura 32).

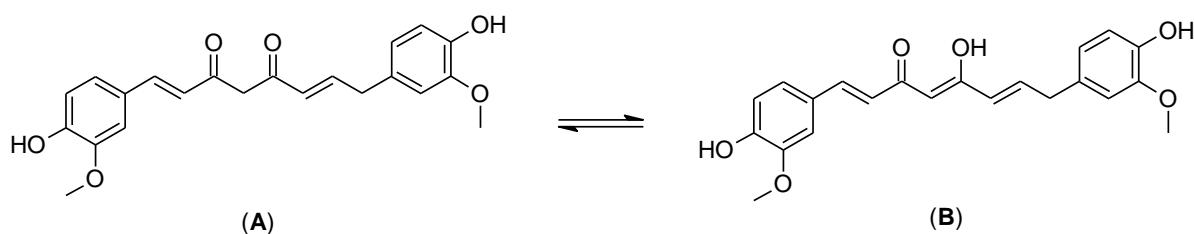


Figura 32: Equilíbrio químico da molécula da curcumina.

Foram observados onze sinais no espectro de RMN de ^1H de CUR-CB[7], com oito sinais atribuídos a curcumina- δ 9,65 ppm (s,2H), 7,53 ppm (d,15,9 Hz, 2H), 7,30 ppm (d, 1,8 Hz, 2H), 7,14 ppm (dd, 8,1 e 1,8 Hz, 2H), 6,81 ppm (d, 8,1 Hz, 2H), 6,74 ppm (d,15,9 Hz,2H), 6,05 ppm (s,1H) e 3,82 ppm (S,6H); E outros três sinais atribuídos a CB[7] - 5 5,64 ppm (d,14,4 Hz,14H), 5,37 ppm (s,14H) e 4,15 ppm (d,14,4 Hz,14 H). Também há um sinal em δ 10,1 ppm, o que é atribuído ao grupo enol. Este deslocamento químico é devido à formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular. No entanto, sua área de integração é inferior a uma, sugerindo que há uma troca química com a água. De acordo com os espectros de RMN de ^1H de CUR e CUR-CB[7], a forma ceto-enol é predominante. O sinal a δ 6,05 ppm (presente em ambos) pode ser atribuído ao grupo $=\text{CH}$ vizinho ao grupo carbonilo, que não está presente na forma beta-dicetona. Finalmente, as áreas de integração sugerem que curcumina e CB[7] estão presentes no arranjo supramolecular, com quantidades equimolares.

Considerando apenas os sinais atribuídos a curcumina, a principal diferença observada nos espectros está na região entre δ 10,5 ppm e δ 9,0 ppm. No espectro de curcumina livre, há um sinal largo centrado em δ 9,60 ppm. Este sinal pode ser atribuído a três grupos hidroxilo (um enol e dois grupos de fenóis) presentes na estrutura do fármaco. Por outro lado, o espectro do CUR-CB [7] mostra um singlelet bem definido a δ 9,65 ppm e um sinal forte centrado em δ 3,3 ppm, atribuído à água. Isso indica que esses núcleos de hidrogênio, em curcumina livre, são intercambiáveis, ampliando assim o sinal. Esta troca química também ocorre com os núcleos de hidrogênio da água. A mudança de perfil observada no espectro do complexo, em relação ao espectro de RMN de curcumina livre, indica que esses núcleos de hidrogênio (fenóis e enol) estão fazendo a troca química com mais dificuldade,

levando à conclusão de que os três grupos hidroxilo são estéricamente impedido na estrutura do complexo. Além disso, não foi observada a interação NOE a partir de núcleos de hidrogénio aromáticos e/ou olefínicos com sinais atribuídos a CB[7], descartando a possibilidade de formação de um complexo de inclusão. Mas a intervenção na dinâmica da troca química observada indica que há uma interação química entre CUR e CB[7].

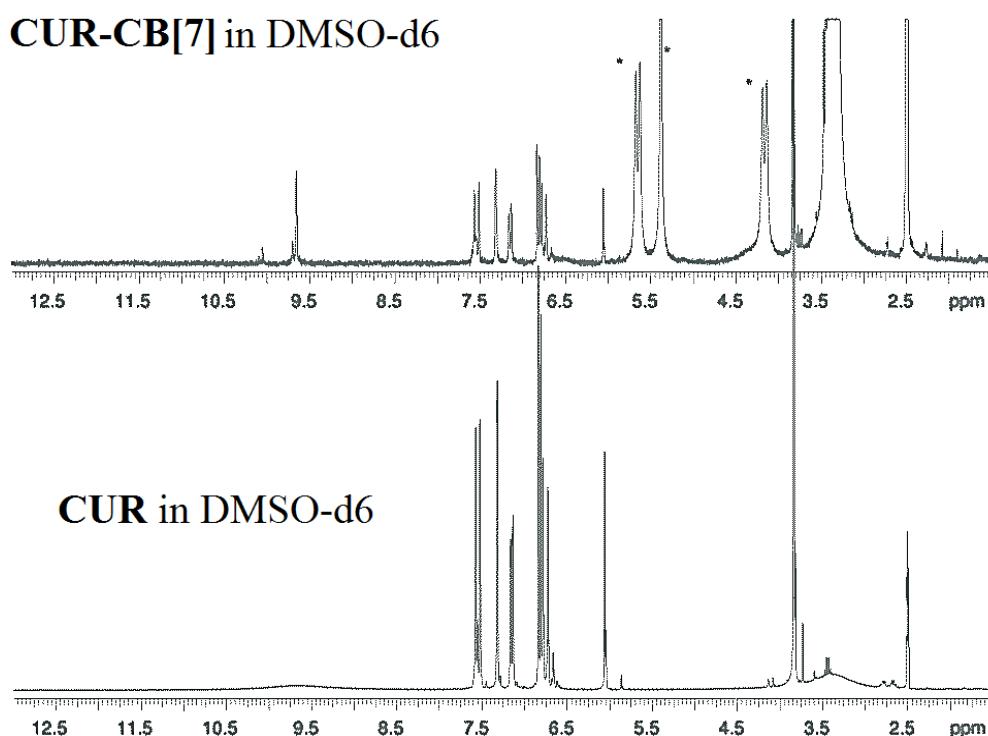


Figura 33: ^1H RMN do composto nano-agregado a partir das interações entre a curcumina complexado no CB [7] (CUR-CB[7]) e a curcumina (CUR).

Para investigar a formação potencial de um agregado auto-montado, o experimento denominado Spectroscopy Ordered Diffusion (DOSY) (Figura 33) foi conduzido. Curcumina e CB[7] têm cada um um raio hidrodinâmico diferente, o que implica que eles têm diferentes coeficientes de difusão. Mas, se ambos, CUR e CB[7], estão em um arranjo supramolecular, eles terão coeficientes de difusão iguais.

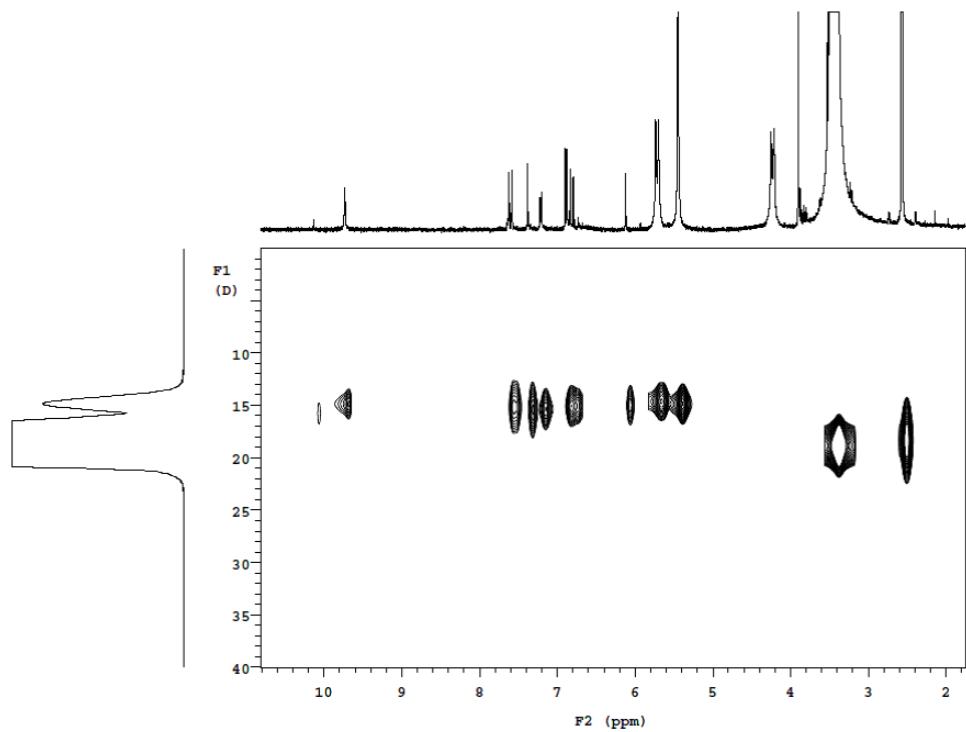


Figure 34. Experimento de RMN ^1H RMN do complexo CUR-CB[7] em DMSO-d6. O coeficiente de difusão (D) é $10\text{-}10\text{ m}^2\text{.s}^{-1}$

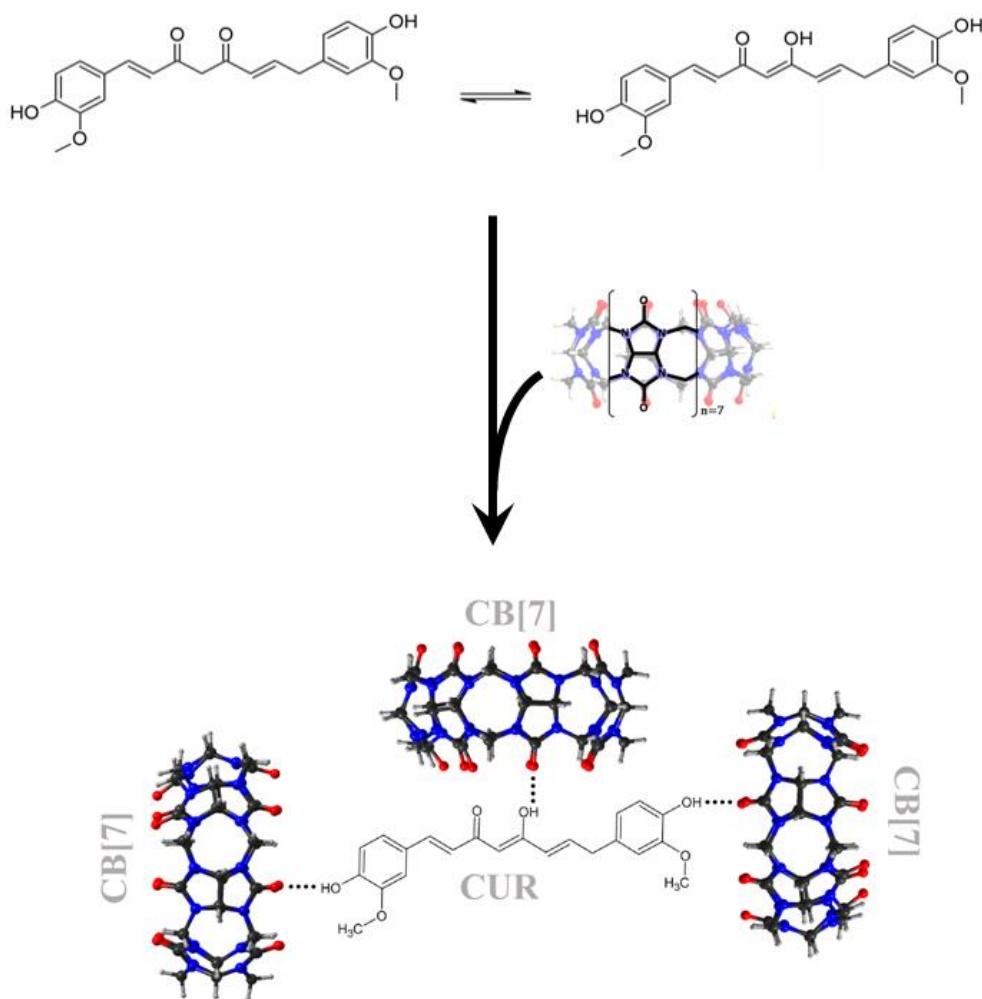


Figura 35: Composto nano-agregado a partir das interações entre a curcumina e o CB[7]

5.2.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E DE TRANSMISSÃO (MET)

As morfologias do complexo CUR, CB [7] e CUR-CB [7] foram avaliadas por SEM e TEM, como mostrado nas Figuras 35 e 36 respectivamente. A micrografia MEV para CB[7] mostra aglomerados sem forma, tipicamente observados para materiais amorfos corroborando com o resultado de DRX. A CUR aparece como a morfologia da haste, enquanto que a aparência morfológica do complexo CUR-CB [7] mostra um agregado de partículas de tipo amorfo de forma irregular, semelhante ao apresentado por CB [7].

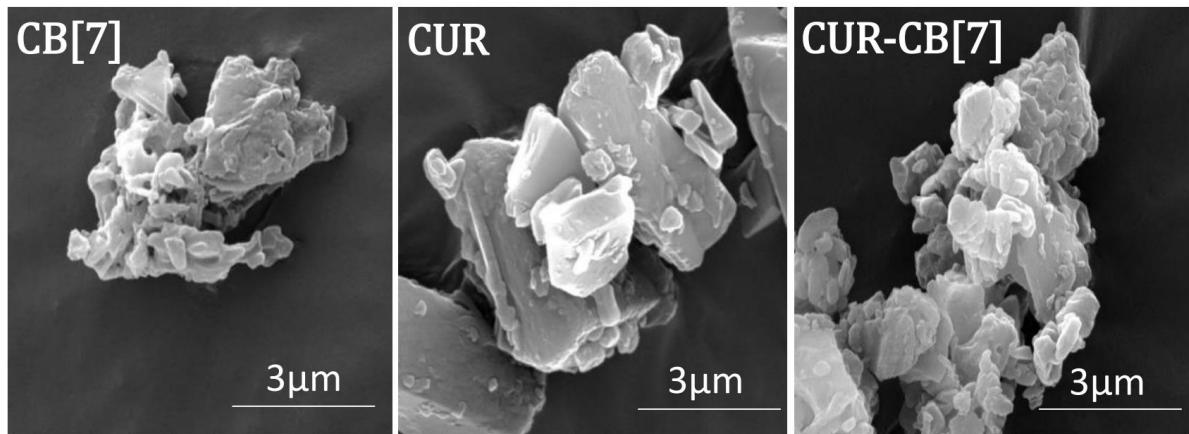


Figura 35: MEV das imagens de CB[7], CUR e CUR-CB[7].

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) do representante CUR-CB [7] (figura 36) elucidaram que os coloides obtidos exibem uma morfologia de nanopartículas indefinida e aleatorizada. Os tamanhos de nano-agregados obtidos são pequenos o suficiente para facilitar a circulação na corrente sanguínea e, portanto, podendo ser apropriados para aplicações in vivo.

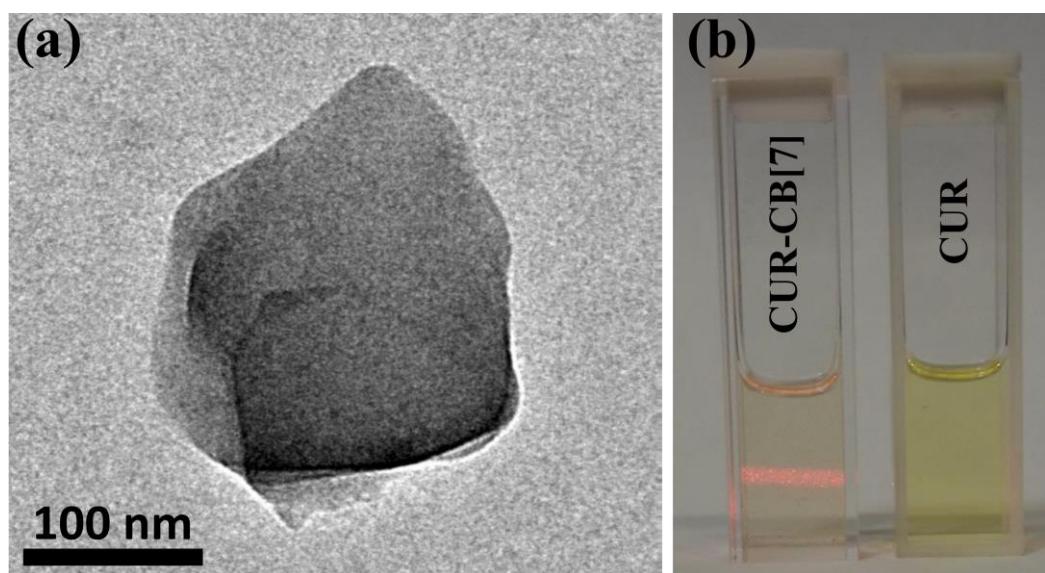


Figura 36: imagens de TEM de CUR-CB [7] (a) e fotografia da dispersão coloidal em PBS (pH = 7.2) do CUR-CB [7] e CUR (b), respectivamente, sob incidência do ponto laser .

5.2.6 ESPECTRO DE FOTOLUMINESCÊNCIA DO CB[7], CURCUMINA E DO NANO-AGREGADO CUR-CB[7]

As propriedades fotoluminescentes do CB[7], curcumina e CUR-CB[7] foram investigadas a temperatura ambiente e em meio fisiológico (PBS, 0,1 Mol.L⁻¹, pH 7,2) . Nas figuras 37, 38 e 39 apresentam os espectros de excitação e emissão, e um diagrama de energia ilustrando os principais processos eletrônicos envolvidos na luminescência destes materiais. A suspensão do CB[7] apresenta máximos de excitação e emissão em 320 e 380 nm, respectivamente. Estas bandas estão associados às transições eletrônicas $S_0 \rightarrow S_1$ ($\sigma \rightarrow \sigma^*$), para a absorção, e $S_1 \rightarrow S_0$ ($\sigma^* \rightarrow \sigma$), para a emissão, como ilustrado do diagrama de níveis de energia (figura 35(a)). Nestes espectros, além das bandas de excitação e emissão associadas ao CB[7], também se verificam bandas relacionadas ao espalhamento Raman da água (A et al., 2014).

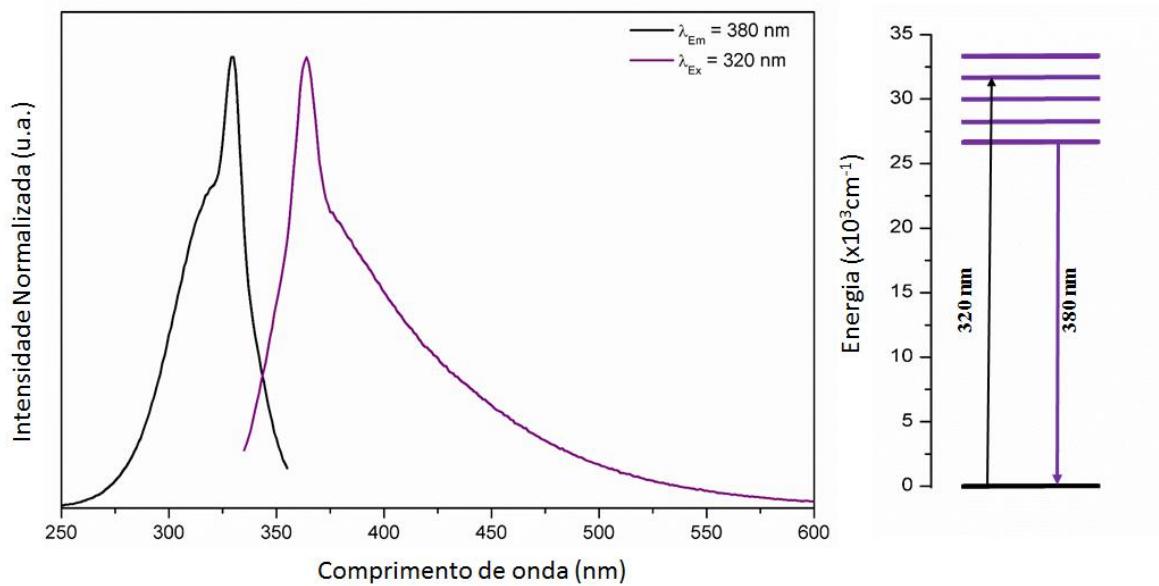


Figura 37: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia do CB[7].

A partir do diagrama de níveis de energia (figure 38), proposto para este composto, tem-se que a emissão ocorre em cascata, a partir do nível de energia excitado S_2 para o de nível fundamental (S_0), além da emissão decorrente da relaxação radiativa entre estes dois níveis excitados. Além das desativações radiativas, a ocorrência de relaxações não-radiativas do estado excitado e conversão

interna (IC) são inerentes a este sistema. O espectro de emissão (figura 38), com excitação em 310 nm, apresenta emissões em 440 e 555 nm associados às transições $S_2 \rightarrow S_0$ e $S_1 \rightarrow S_0$, respectivamente. A emissão em 975 nm está relacionada ao decaimento radiativo associado à transição $S_2 \rightarrow S_1$. O grande deslocamento Stokes para comprimentos de onda maiores (red shift) indica um grande deslocamento entre os mínimos das superfícies de potencial dos estados eletrônicos fundamental e excitado, devido a estabilização deste estado excitado por interações com o solvente.

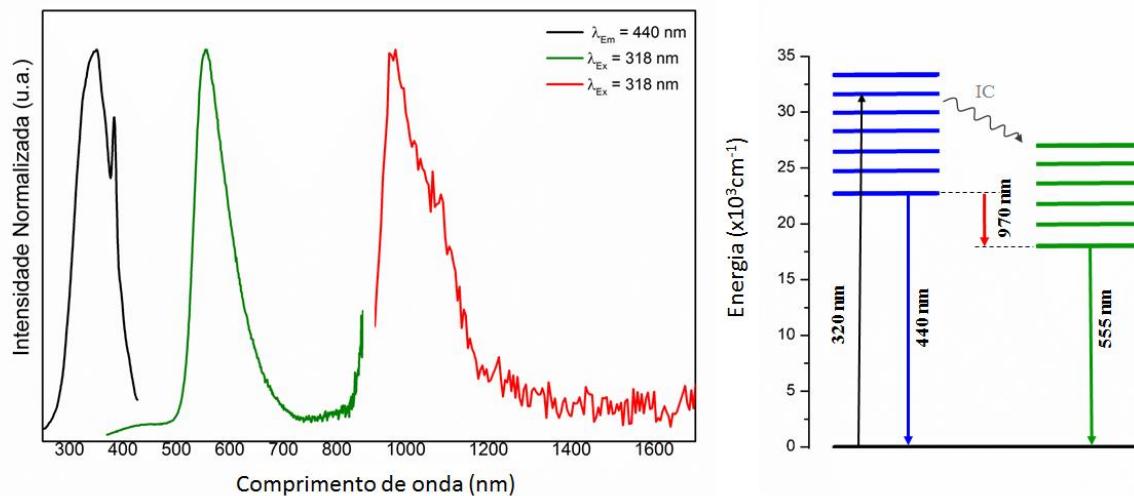


Figura 38: Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia da Curcumina.

A absorção do nano-agregado CUR-CB[7], apresenta bandas relacionadas apenas a curcumina, nas mesmas posições relatadas acima. Com transições centradas em 261, 352 e 423 nm. A fotoluminescência do CUR-CB[7] sugere a formação do complexo, haja vista, pelas transferências de energias apresentados na espectroscopia, dessa maneira os resultados corroboram com os resultados obtidos no RMN. O espectro de emissão da CUR-CB[7] (Figura 38), adquirido com excitação em 318 nm, apresenta três bandas com máximos em 370, 542 e 770 nm. Este perfil espectral evidencia uma relação sinérgica entre os compostos CB[7] e curcumina, através de mudanças nas intensidades relativas das bandas de emissão e deslocamentos em seus máximos, com relação aos compostos CB[7] e CUR isolados. A primeira banda de emissão é composta pela co-fluorescência da CB[7] e do curcumina, a partir dos estados excitados S_1 e S_2 , respectivamente. Estes estados eletrônicos excitados, são ressonantes e permitem transferência de energia não-

radiativa entre os dois sistemas moleculares, no complexo CUR-CB[7]. A partir da população do primeiro estado excitado da curcumina, além dos mecanismos já descritos, podem ainda ocorrer a relaxação não radiativa para o estado excitado S_1 (IC) ou ainda a relaxação radiativa para este mesmo estado excitado, resultando na emissão em 770 nm.

Estes processos populam o estado excitado S_1 , que por sua vez decai de forma radiativa para o estado fundamental S_0 , resultando na emissão em 545 nm. A partir da estrutura proposta para o complexo CUR-CB[7] (Figura 39) e mudanças no perfil espectral da emissão, podemos inferir que o isolamento da curcumina, promovido pela CB[7], faz com que as moléculas do solvente não interajam diretamente com a curcumina, e desta forma o estado eletrônico molecular excitado da curcumina, no complexo, seja menos estabilizado que o a curcumina isolado. Adicionalmente, podemos inferir que a distribuição da densidade eletrônica do estado molecular excitado da curcumina encontra-se bem deslocalizada/ distribuída em toda a molécula. Adicionalmente, temos que esta grande diferença entre as regiões espectrais de excitação e emissão (near infrared) mostra as propriedades multimodais deste sistema.

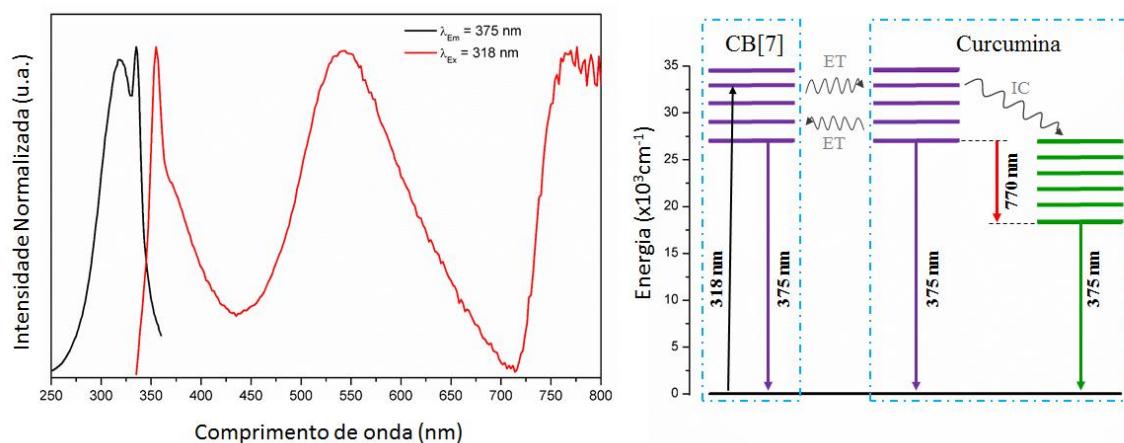


Figure 39. Espectro de excitação e emissão e diagrama de nível de energia do CUR-CB[7].

5.2.7 EFEITO DE CUR, CB[7] E CUR-CB[7] SOBRE VIABILIDADE EM CÉLULAS

Para determinar se CUR, CB [7] ou CUR-CB [7] afetam a viabilidade celular, as células A549 foram tratadas com diferentes concentrações (5, 25 e 50 μ g / mL) de cada amostra durante 24 h e a viabilidade Foi avaliado utilizando um ensaio MTT. Conforme mostrado na Figura 10, não foram observadas alterações significativas na viabilidade das células A549 em todas as concentrações testadas para CUR, CB [7] ou CUR-CB [7]. Portanto, o efeito insignificante de CB[7] na viabilidade celular sustenta seu uso para melhorar a solubilidade da molécula hospedeira sem afetar suas propriedades biológicas.

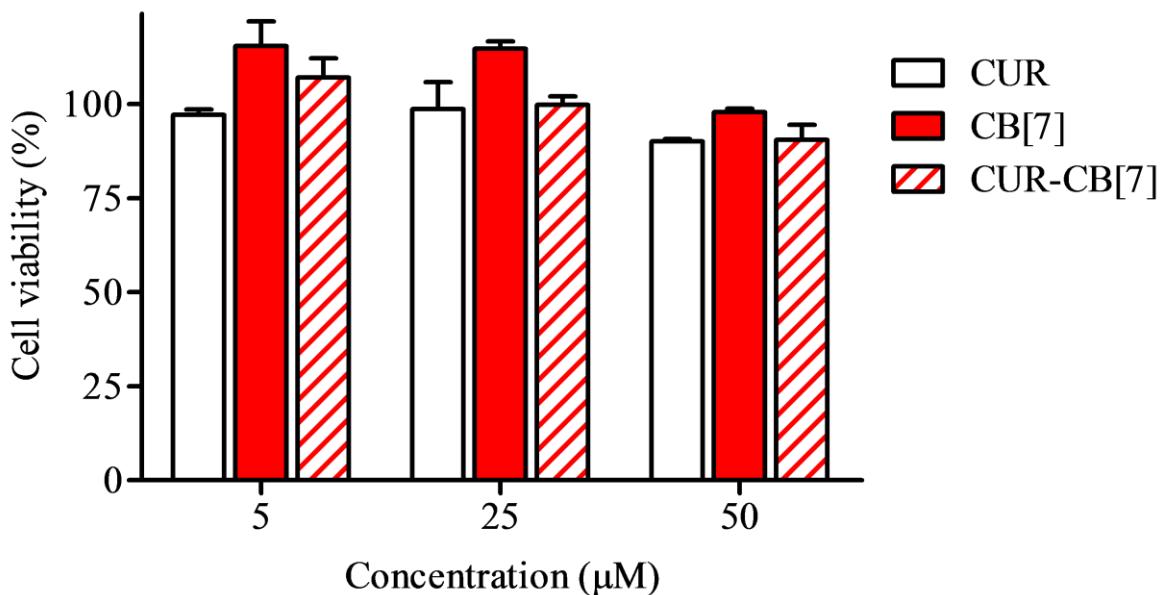


Figura 40. Efeito de CUR, CB [7] e CUR-CB [7] sobre a viabilidade das células A549. Cada barra representa a porcentagem média \pm média de erro padrão (S.E.M) de três experimentos independentes em comparação com células não tratadas (viabilidade 100%).

5.2.8 CONCLUSÕES

Neste trabalho, descrevemos uma abordagem experimental simples para a obtenção do Nano-agregado supramolecular CUR-CB[7], com relação estequiométrica 1:1 CUR/CB[7], claramente evidenciada por ^1H -RMN, FTIR e espectroscopia de luminescência. A mudança de sinal amplo entre δ 10,5 e δ 9,0 ppm na RMN de ^1H de CUR, atribuída a três grupos hidroxilo (um enol e dois grupos fenóis), para um singlete bem definido a δ 9,65 ppm na RMN de 1H de CUR- CB [7] juntamente com o experimento DOSY, foram utilizados como evidência da formação do agregado supramolecular entre curcumina e urina de cucurbit[7]uril.

Esta disposição supramolecular promove um aumento na solubilidade e estabilidade da CUR sem afetar as propriedades biológicas das células A549. O padrão XRD de CUR-CB[7] é semelhante à fase amorfã apresentada por CB[7] e não apresenta fase cristalina polimórfica de CUR. A imagem SEM exibiu aglomerados tipicamente amorfos com morfologia indefinida, bem como aqueles exibidos por CB[7] e distintos da morfologia da haste apresentados pela CUR. Notavelmente, CUR e CUR * mostram bandas de fluorescência que derivam das transições $\text{S}_2 \rightarrow \text{S}_0$ e que não seguem a regra de Kasha. O NIR, devido a transições eletrônicas entre estados excitados, de CUR e CUR *, permite que este material seja usado como uma sonda luminescente para monitorar seu rastreamento e imagem in vivo e a integridade estrutural através de uma mudança no comprimento de onda máximo de emissão.

6 CONCLUSÕES GERAIS

No capítulo I obtivemos com sucesso a nano sílica mesoporosa dopado com íon Európio (nanoMCM48:Eu) com tamanho aproximadamente 100nm, possibilitando incrustação de ativos (figura 40a).

A dopagem pode proporcionar a nanopartícula propriedades teranósticas, no sentido do mesmo funcionar como veículo de ativo na região de interesse, assim como funcionar como traçador biológico, visto que, suas propriedades luminescentes sugerem ao nanoMCM48:Eu a possibilidade de investigar sua metabolização no organismo *in vivo* (figura 40a). Além disso, a fotoluminescência pode ser útil na investigação do comportamento dos ativos e da nanopartícula separadamente *in situ*, haja vista, como já foi discutido, a natureza de emissão destes apresentam comportamentos diferentes.

No nanoMCM48:Eu as caracterizações elucidaram excelente interação dos ativos havendo adsorções de mais de 97%. A oferta destes ativos em meio fisiológico, apresentaram comportamento interessante, na qual, houve liberação de 85,8% de cafeína no CAF@MCM48:Eu , 57% da nicotina no NIC@MCM48:Eu e 57% de nicotina no CAFNIC@MCM48:Eu .

No capítulo II a síntese de obtenção do nano-agregado ocorreu com sucesso, obtendo um material apresentando característica fotoluminescentes promissor. O perfil de emissão do complexo relevou o comportamento de emissão da curcumina complexada ao curcubit[7]uril, este mostrou-se diferente da mesma não complexada, esse comportamento é semelhando a uma chave óptica

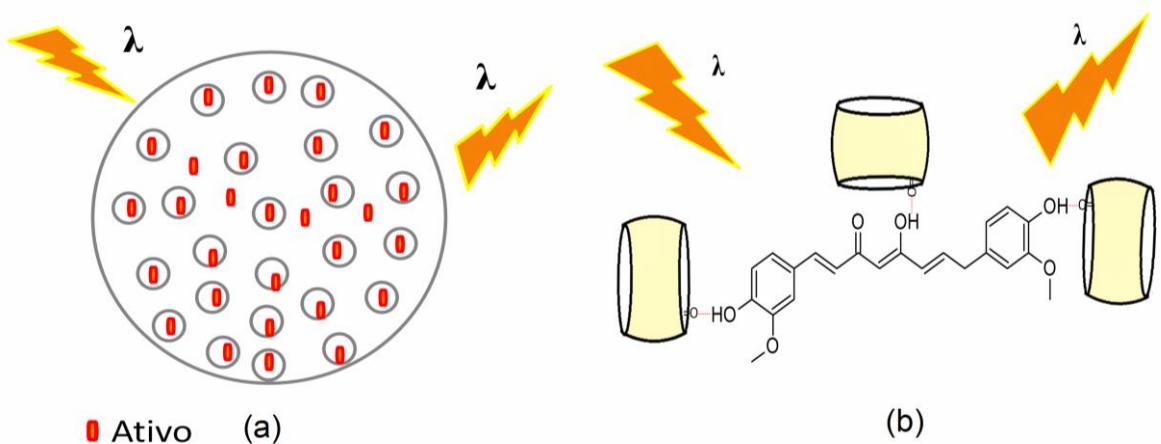


Figura 41: Ilustração dos sistemas preparados no trabalho (a) ativos adsorvidos no nanoMCM48:Eu (b) nano-agregado formado com curcumin e curcubit[7]uril.

7 PERSPECTIVAS

- ✓ Investigar a citotoxicidade *in vitro* dos materiais;
- ✓ Investigar *in vitro* a eficiência dos materiais na passagem da barreira hematoencefálico;
- ✓ Investigar a funcionalidade luminescente do nanoMCM48:Eu no sentido da sua metabolização *in vivo*;
- ✓ Validar um método de quantificação dos ativos por HPLC;
- ✓ Investigar em modelos de Alzheimer em ratos a eficiência dos ativos adsorvidos na naopartícula e no composto supramolecular;
- ✓ Estudar a fotoluminescência *in vivo* no sentido de estudar os comportamentos propostos neste trabalho;

8 REFERÊNCIAS

- A, D. N.; E, D. G.; GAMBERALE, L.; A, C. C. The Structure of Liquid Water Emerging from the Vibrational Spectroscopy : Interpretation with QED Theory. , , n. Md, p. 13–25, 2014.
- AGHAEI, H.; NOURBAKHS, A. A.; KARBASI, S.; et al. Investigation on bioactivity and cytotoxicity of mesoporous nano-composite MCM-48/hydroxyapatite for ibuprofen drug delivery. **Ceramics International**, v. 40, n. 5, p. 7355–7362, 2014.
- ALBERTO, C.; FRAGA, M. ALZHEIMER Divulgação. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 655–660, 2004.
- AMBEGAOKAR, S. S.; WU, L.; ALAMSHAH, K.; et al. time-dependently neuroglial cell proliferation and growth. , v. 24, n. 6, p. 469–473, 2003.
- ANDERSSON, J.; ROSENHOLM, J. Mesoporous Silica : An Alternative Diffusion Controlled Drug Delivery System. **Topics in Tissue Engineering**, p. 1–19, 2008.
- AOYAMA, K.; MATSUMURA, N.; WATABE, M.; et al. Caffeine and uric acid mediate glutathione synthesis for neuroprotection. **Neuroscience**, v. 181, p. 206–215, 2011. Elsevier Inc.
- APURBA L. KONER, W. N. r P Fo r R w On ly. **Supramolecular Chemistry**, , n. GSCH-2006-0033.R1, p. <http://mc.manuscriptcentral.com/tandf/gsch>, 2012.
- ARENDAH, G. W.; SCHLEIF, W.; REZAI-ZADEH, K.; et al. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain ??-amyloid production. **Neuroscience**, v. 142, n. 4, p. 941–952, 2006.
- ARUNRUNGVICHIAN, K.; FOKIN, V. V; VAJRAGUPTA, O.; TAYLOR, P. Selectivity Optimization of Substituted 1,2,3-Triazoles as α 7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists. **ACS Chemical Neuroscience**, p. 150501174723003, 2015.
- AULD, D. S.; KORNECOOK, T. J.; BASTIANETTO, S.; QUIRION, R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. **Progress in neurobiology**, v. 68, n. 3, p. 209–245, 2002.
- 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 SPEC. ISS., p. 230–237, 2005.

- BALLARD, C.; GAUTHIER, S.; CORBETT, A.; et al. Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 377, n. 9770, p. 1019–1031, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61349-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61349-9)>..
- BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: An anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4567–4598, 2011.
- BEGLEY, D. J. Delivery of therapeutic agents to the central nervous system: the problems and the possibilities. **Pharmacology & therapeutics**, v. 104, n. 1, p. 29–45, 2004.
- BEGUM, A. N.; JONES, M. R.; LIM, G. P.; et al. Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 326, n. 1, p. 196–208, 2008.
- BERGER, S.; SICKER, D. **Classics in Spectroscopy: Isolation and Structure Elucidation of Natural Products**. 2009.
- BERO, A. W.; YAN, P.; ROH, J. H.; et al. Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 6, p. 750–756, 2011.
- BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, n. 2-3, p. 157–170, 2009.
- BINNEMANS, K. Interpretation of europium(III) spectra. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 295, p. 1–45, 2015.
- CARAMELLI, P.; BARBOSA, M. T. Como diagnosticar as quatro causas mais freqüentes de demência? **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, n. Supl I, p. 7–10, 2002.
- CHAEKYU KIM ET.AL. NIH Public Access. **Nat Chem**, v. 2, n. 11, p. 962–966, 2010.
- CHEN, X.; WEHLE, S.; KUZMANOVIC, N.; et al. Acetylcholinesterase inhibitors with photoswitchable inhibition of β -amyloid aggregation. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 5, n. 5, p. 377–389, 2014.
- CHEN, Y.; KLIMCZAK, A.; GALOPPINI, E.; LOCKARD, J. V. Structural interrogation of a cucurbit[7]uril-ferrocene host–guest complex in the solid state: a Raman spectroscopy study. **RSC Advances**, v. 3, n. 5, p. 1354, 2013.

- CLEARY, J. P.; WALSH, D. M.; HOFMEISTER, J. J.; et al. Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 1, p. 79–84, 2005.
- COIMBRA, P. M. A. **Preparação e caracterização de sistemas de libertação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural**, 2010. UNIVERSIDADE DE COIMBRA.
- DURAZZO, T. C.; MATTSSON, N.; WEINER, M. W. Smoking and increased Alzheimer's disease risk: A review of potential mechanisms. **Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association**, v. 10, n. 3 Suppl, p. S122–45, 2014. Elsevier Ltd.
- ESKELINEN, M. H.; KIVIPELTO, M. Caffeine as a protective factor in dementia and Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. SUPPL.1, 2010.
- FARMACOLOGIA, P. F. DA. **Interação fármaco-receptor**. .
- FINKEL, S. I. Effects of rivastigmine on behavioral and psychological symptoms of dementia in Alzheimer's disease. **Clinical Therapeutics**, v. 26, n. 7, p. 980–990, 2004.
- GOURAS, G. K.; ALMEIDA, C. G.; TAKAHASHI, R. H. Intraneuronal A β accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 26, n. 9, p. 1235–1244, 2005.
- GUNASEKARAN, S.; SANKARI, G.; PONNUSAMY, S. Vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives - Theophylline, caffeine and theobromine. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 61, n. 1-2, p. 117–127, 2005.
- HAMAGUCHI, T.; ONO, K.; YAMADA, M. Curcumin and Alzheimer's disease. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 16, n. 5, p. 285–297, 2010.
- HARTMANN, M. Re V iews Ordered Mesoporous Materials for Bioadsorption and Biocatalysis. **Chem. Mater.**, v. 17, p. 4577–4593, 2005.
- HAWKINS, B. T.; DAVIS, T. P. The Blood-Brain Barrier / Neurovascular Unit in Health and Disease. **Pharmacological reviews**, v. 57, n. 2, p. 173–185, 2005.
- HETTIARACHCHI, G.; NGUYEN, D.; WU, J.; et al. Toxicology and drug delivery by cucurbit[n]uril type molecular containers. **PLoS ONE**, v. 5, n. 5, p. 2–11, 2010.
- HIGDON, J. V; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 46, n. 2, p. 101–123, 2006.

- HWANG, I.; JEON, W. S.; KIM, H. J.; et al. Cucurbit[7]uril: A simple macrocyclic, pH-triggered hydrogelator exhibiting guest-induced stimuli-responsive behavior. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 46, n. 1-2, p. 210–213, 2007.
- INOUE, K.; OLIVEIRA, G. H. D. E. AVALIAÇÃO CRÍTICA DO TRATAMENTO FARMACOLÓGICO. , p. 80–84, 2004.
- IRESON, C. R.; JONES, D. J. L.; ORR, S.; et al. Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, v. 11, n. 1, p. 105–111, 2002.
- JONES, G. M.; SAHAKIAN, B. J.; LEVY, R.; WARBURTON, D. M.; GRAY, J. A. Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. **Psychopharmacology**, v. 108, n. 4, p. 485–494, 1992.
- JOVANOVIC, S. V.; STEENKEN, S.; BOONE, C. W.; SIMIC, M. G. H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, n. 41, p. 9677–9681, 1999.
- KANTOR, S.; PRAKASH, S.; CHANDWANI, J.; et al. Wernicke ' s encephalopathy following hyperemesis gravidarum. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 18, n. 3, p. 164–166, 2014.
- KESIMLI, B.; TOPACLI, A.; TOPACLI, C. An interaction of caffeine and sulfamethoxazole: Studied by IR spectroscopy and PM3 method. **Journal of Molecular Structure**, v. 645, n. 2-3, p. 199–204, 2003.
- KIM, H.-J.; JEON, W. S.; KO, Y. H.; KIM, K. Inclusion of methylviologen in cucurbit[7]uril. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 8, p. 5007–5011, 2002.
- KIM, T.; CHUNG, P.; LIN, V. S. Facile Synthesis of Monodispersed MCM-48 Mesoporous Silica Nanoparticles with Controlled Particle Size. , 2010.
- KNOPP, D.; TANG, D.; NIESSNER, R. Review: Bioanalytical applications of biomolecule-functionalized nanometer-sized doped silica particles. **Analytica Chimica Acta**, v. 647, n. 1, p. 14–30, 2009.

- KORCZYN, A. D.; HALPERIN, I. Depression and dementia. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 283, n. 1-2, p. 139–142, 2009. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2009.02.346>>..
- KOSASA, T.; KURIYA, Y.; MATSUI, K.; YAMANISHI, Y. Inhibitory effects of donepezil hydrochloride (E2020) on cholinesterase activity in brain and peripheral tissues of young and aged rats. **European journal of pharmacology**, v. 386, n. 1, p. 7–13, 1999.
- KUMAR, A.; SINGH, A. Pharmacological Reports Review article A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. **Pharmacological Reports**, v. 67, n. 2, p. 195–203, 2015. Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences.
- KWON, S.; SINGH, R. K.; PEREZ, R. A; et al. Silica-based mesoporous nanoparticles for controlled drug delivery. **Journal of tissue engineering**, v. 4, n. 0, p. 2041731413503357, 2013.
- LAFERLA, F. M.; GREEN, K. N.; ODDO, S. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 8, n. 7, p. 499–509, 2007.
- LAURENT, C.; EDDARKAOUI, S.; DERISBOURG, M.; et al. Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology. **Neurobiology of Aging**, v. 35, n. 9, p. 2079–2090, 2014.
- LEE, C. H.; LIN, T. S.; MOU, C. Y. Mesoporous materials for encapsulating enzymes. **Nano Today**, v. 4, p. 165–179, 2009.
- LEE, J. W.; SAMAL, S.; SELVAPALAM, N.; KIM, H.-J.; KIM, K. Cucurbituril Homologues and\nDerivatives: New Opportunities\nin Supramolecular Chemistry. **Acc. Chem. Res.**, v. 36, n. 8, p. 621–630, 2003.
- LEWIS, J.; DICKSON, D. W.; LIN, W. L.; et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. **Science (New York, N.Y.)**, v. 293, n. 5534, p. 1487–1491, 2001.
- LIÉDANA, N.; MARÍN, E.; TÉLLEZ, C.; CORONAS, J. One-step encapsulation of caffeine in SBA-15 type and non-ordered silicas. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p. 714–721, 2013.
- LIU, C.; WANG, S.; RONG, Z.; et al. Synthesis of structurally stable MCM-48 using mixed surfactants as co-template and adsorption of vitamin B12 on the mesoporous MCM-48. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 356, n. 25-27, p. 1246–1251, 2010.

- LOMBARDO, S.; MASKOS, U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. **Neuropharmacology**, p. 1–8, 2014. M. JUNIOR, A. **Desenvolvimento e Caracterização de Formulações Orais de Liberação Prolongada contendo Nanocompósitos de Silicatos Lamelares de Rivastigmina para o Tratamento da Doença de Alzheimer Arídio Mattos Junior Desenvolvimento e Caracterização de Formulações Orai**, 2010.
- MA, W. J.; CHEN, J. M.; JIANG, L.; YAO, J.; LU, T. B. The delivery of triamterene by cucurbit[7]uril: Synthesis, structures and pharmacokinetics study. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 12, p. 4698–4705, 2013.
- MACKEY, E. D. W.; ENGLE, S. E.; KIM, M. R.; et al. 6* Nicotinic Acetylcholine Receptor Expression and Function in a Visual Salience Circuit. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 30, p. 10226–10237, 2012.
- MANGOLIM, C. S.; MORIWAKI, C.; NOGUEIRA, A. C.; et al. Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. **Food Chemistry**, v. 153, p. 361–370, 2014.
- MANNA, A.; CHAKRAVORTI, S. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy Switching of emission of a styryl dye in cucurbit [7] uril : A comprehensive experimental and theoretical study. , v. 140, p. 241–247, 2015.
- MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Rare earths: Industrial and biological applications. **Quimica Nova**, v. 28, n. 1, p. 111–117, 2005.
- MELIBEU, A. Nicotina, Alzheimer e Plasticidade: o que eles têm em comum? **Encontro Ciências e Cognição**, v. 30, n. 1, p. 0–0, 2012. Disponível em: <<http://www.cienciascognicao.org/revista/index.php/ecc/article/viewFile/833/539>>..
- MISHRA, S.; PALANIVELU, K. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview. **Annals of Indian Academy of Neurology**, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt= Citation&list_uids=19966973>..
- MOHAN, A.; ROBERTO, A. J.; MOHAN, A.; et al. Caffeine as Treatment for Alzheimer's Disease: A Review. **Journal of Caffeine Research**, v. 5, n. 2, p. 61–64, 2015.

- MOHAN, P. R. K.; SREELAKSHMI, G.; MURALEEDHARAN, C. V.; JOSEPH, R. Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 62, p. 77–84, 2012.
- NEHLIG, A. Is caffeine a cognitive enhancer? **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. SUPPL.1, 2010.
- NEUROSCIENCE, B.; EXCLUSIVE, E.; AGREEMENT, L. Eisai Co ., Ltd . , p. 3–5, 2007.
- OLIVEIRA. M., E. AL. Doença de alzheimer Perfil Neuropsicológico e Tratamento. **Psicologia.pt - O Portal dos Psicólogos**, , n. Abril, p. 1–21, 2005.
- ONG, W.; GÓMEZ-KAIFER, M.; KAIFER, A. E. Cucurbit[7]uril: A very effective host for viologens and their cation radicals. **Organic Letters**, v. 4, n. 10, p. 1791–1794, 2002.
- ORHAN, I.; ŞENER, B. Lead compounds and drug candidates from some Turkish plants for human health. **Advances in Phytomedicine**, v. 2, n. C, p. 331–352, 2006.
- OSAKA, I.; KONDOU, M.; SELVAPALAM, N.; et al. Characterization of host-guest complexes of cucurbit[n]uril (n = 6, 7) by electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, n. 2, p. 202–207, 2006.
- POTTER, H.; WEFES, I. M.; NILSSON, L. N. G. The inflammation-induced pathological chaperones ACT and apo-E are necessary catalysts of Alzheimer amyloid formation. **Neurobiology of Aging**, v. 22, n. 6, p. 923–930, 2001.
- PRASANTHI, J. R. P.; DASARI, B.; MARWARHA, G.; et al. Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 7, p. 1212–1220, 2010.
- QUÍMICAALZHEIMER. Placas senis , Peptídeo beta amilóide e a Doença de Alzheimer. <https://quimicalzheimer.wordpress.com/2013/01/15/placas-senis-peptideo-beta-amiloide-e-a-doenca-de-alzheimer/>, p. 2013–2016, 2013. Disponível em: <<https://quimicalzheimer.wordpress.com/2013/01/15/placas-senis-peptideo-beta-amiloide-e-a-doenca-de-alzheimer/>>..
- RANGANI, R. J.; UPADHYA, M. A.; NAKHATE, K. T.; KOKARE, D. M.; SUBHEDAR, N. K. Nicotine evoked improvement in learning and memory is mediated through NPY Y1 receptors in rat model of Alzheimer's disease. **Peptides**, v. 33, n. 2, p. 317–328, 2012.

- REINKE, A. A.; GESTWICKI, J. E. Structure-activity relationships of amyloid beta-aggregation inhibitors based on curcumin: Influence of linker length and flexibility. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 70, n. 3, p. 206–215, 2007.
- REZVANI, A H.; LEVIN, E. D. Cognitive effects of nicotine. **Biological psychiatry**, v. 49, n. 3, p. 258–267, 2001.
- RINGMAN, J. M.; FRAUTSCHY, S. A; COLE, G. M.; MASTERMAN, D. L.; CUMMINGS, J. L. A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease. **Current Alzheimer research**, v. 2, n. 2, p. 131–136, 2005.
- RIVERA-OLIVER, M.; DÍAZ-RÍOS, M. Using caffeine and other adenosine receptor antagonists and agonists as therapeutic tools against neurodegenerative diseases: A review. **Life Sciences**, v. 101, n. 1-2, p. 1–9, 2014.
- SAHAKIAN, B.; JONES, G.; LEVY, R.; GRAY, J.; WARBURTON, D. The effects of nicotine on attention, information processing, and short-term memory in patients with dementia of the Alzheimer type. **The British journal of psychiatry : the journal of mental science**, v. 154, p. 797–800, 1989.
- SALOMON, A. R.; MARCINOWSKI, K. J.; FRIEDLAND, R. P.; ZAGORSKI, M. G. Nicotine inhibits amyloid formation by the ??-peptide. **Biochemistry**, v. 35, n. 42, p. 13568–13578, 1996.
- SCARPINI, E.; SCHELTERNS, P.; FELDMAN, H. Treatment of Alzheimer's disease; current status and new perspectives. **The Lancet Neurology**, v. 2, n. 9, p. 539–547, 2003.
- SELKOE, D. J. Alzheimer ' s Disease : Genes , Proteins , and Therapy. **Perspective**, v. 81, n. 2, p. 741–767, 2001.
- SKOKOWA, J.; CARIO, G.; UENALAN, M.; et al. LEF-1 is crucial for neutrophil granulocytopoiesis and its expression is severely reduced in congenital neutropenia. **Nature medicine**, v. 12, n. 10, p. 1191–1197, 2006.
- SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J. Prenatal nicotine alters the developmental neurotoxicity of postnatal chlorpyrifos directed toward cholinergic systems: Better, worse, or just “different?” **Brain Research Bulletin**, v. 110, p. 54–67, 2015.
- SLOWING, I. I.; VIVERO-ESCOTO, J. L.; WU, C.-W.; LIN, V. S.-Y. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. **Advanced drug delivery reviews**, v. 60, n. 11, p. 1278–1288, 2008.

- SUH, W. H.; SUSLICK, K. S.; STUCKY, G. D.; SUH, Y. H. Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. **Progress in Neurobiology**, v. 87, n. 3, p. 133–170, 2009.
- SUKSAEREE, J.; BOONME, P.; TAWEEPREDA, W.; RITTHIDEJ, G. C.; PICHAYAKORN, W. Characterization, in vitro release and permeation studies of nicotine transdermal patches prepared from deproteinized natural rubber latex blends. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 7, p. 906–914, 2012. Institution of Chemical Engineers.
- SYAMCHAND, S. S.; SONY, G. Europium enabled luminescent nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Luminescence**, v. 165, p. 190–215, 2015.
- TABASSUM, S.; AL-ASBAHY, W. M.; AFZAL, M.; ARJMAND, F.; HASAN KHAN, R. Interaction and photo-induced cleavage studies of a copper based chemotherapeutic drug with human serum albumin: spectroscopic and molecular docking study. **Molecular BioSystems**, v. 8, n. 9, p. 2424, 2012.
- TARSO FIGUEIREDO GRECCO, S. DE; CARMO RANGEL, M. DO; URQUIETA-GONZÁLEZ, E. A. Zeólitas hierarquicamente estruturadas. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 131–142, 2013.
- TERRY JR, A. V.; BUCCAFUSCO, J. J. The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer ' s Disease- Related Cognitive Deficits: Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development. **the Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 3, p. 821–827, 2003.
- TUPPO, E. E.; ARIAS, H. R. The role of inflammation in Alzheimer's disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 37, n. 2, p. 289–305, 2005.
- UZUNOVA, V. D.; CULLINANE, C.; BRIX, K.; NAU, W. M.; DAY, A. I. Toxicity of cucurbit[7]uril and cucurbit[8]uril: an exploratory in vitro and in vivo study. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 8, n. 9, p. 2037–2042, 2010.
- VALLET-REGÍ, M.; GARCÍA, M.; COLILLA, M. **Biomedical Applications of Mesoporous Ceramics - Drug delivery, Smart Materials and Bone Tissue Engineering**. 2012.
- VERDERIO, P.; BONETTI, P.; COLOMBO, M.; PANDOLFI, L.; PROSPERI, D. Intracellular drug release from curcumin-loaded PLGA nanoparticles induces G2/M block in breast cancer cells. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 3, p. 672–682, 2013.

- WANG, G.-Q.; DU, L.-M.; GUO, Y.-H.; et al. Study on the supramolecular interaction of astemizole with cucurbit[7]uril and its analytical application. **Analytical Methods**, v. 5, n. 1, p. 173, 2013.
- WANG, S. Ordered mesoporous materials for drug delivery. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 117, n. 1-2, p. 1–9, 2009. Elsevier Inc.
- WHITE, H. K.; LEVIN, E. D. Four-week nicotine skin patch treatment effects on cognitive performance in Alzheimer's disease. **Psychopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 158–165, 1999.
- WILSON, B.; SAMANTA, M. K.; SANTHI, K.; et al. Chitosan nanoparticles as a new delivery system for the anti-Alzheimer drug tacrine. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 144–152, 2010. WONNACOTT, S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 2, p. 92–98, 1997.
- YALLAPU, M. M.; JAGGI, M.; CHAUHAN, S. C. ??-Cyclodextrin-curcumin self-assembly enhances curcumin delivery in prostate cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, n. 1, p. 113–125, 2010. Elsevier B.V.
- YANG, P.; QUAN, Z.; LI, C.; et al. Bioactive, luminescent and mesoporous europium-doped hydroxyapatite as a drug carrier. **Biomaterials**, v. 29, n. 32, p. 4341–4347, 2008.
- YUAN, L.; WANG, R.; MACARTNEY, D. H. Chiroptic behaviour of a chiral guest in an achiral cucurbit[7]uril host. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 18, n. 4, p. 483–487, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) DA SÍLICA MESOPOROSA nanoMCM48:Eu.

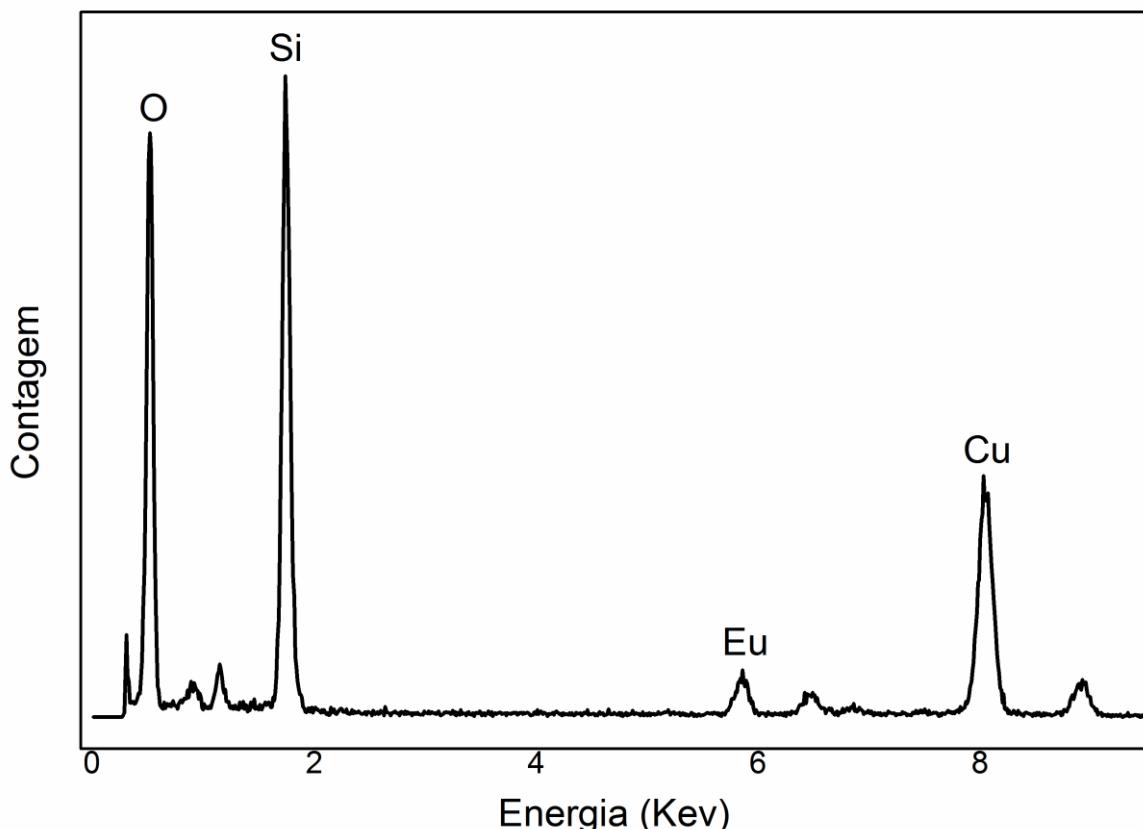


Figura A1.1: EDS do MCM48:Eu realizado no equipamento Microscópio eletrônico de transmissão FEI de 200kV, modelo Tecnai20, emissor LAB6 ou W, módulo EDAX, tomografia Xplore3D, suporte de aquecimento controlado. EDS revela os picos referente ao oxigênio e o silício predominante, atribuídos ao óxido de silício responsáveis pela estrutura da nanopartícula. Na região de 5,83 temos o pico atribuído ao íon európio Eu(III).

APÊNDICE 2: Curvas de decaimento radiativo do nanoMCM48:Eu da cafeína, nicotina e destes ativos adsorvidos na nanopartícula.

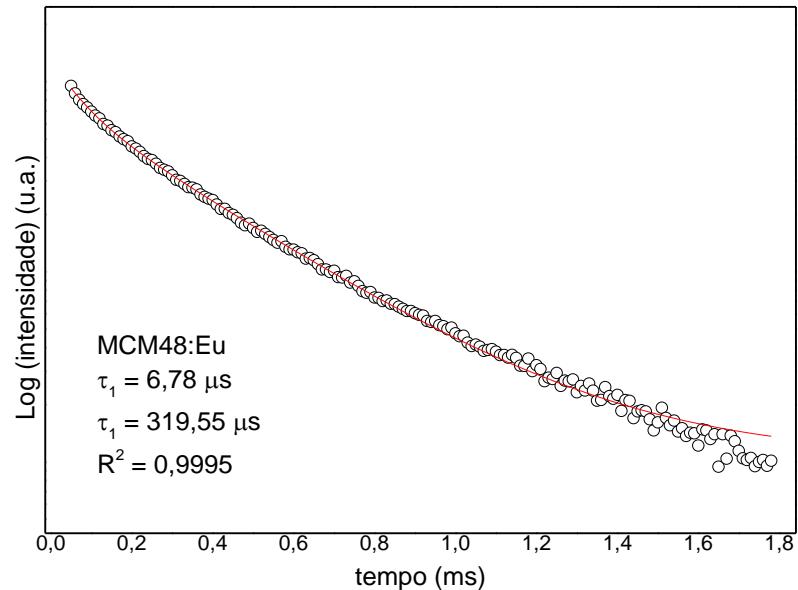


Figura A2.1: Curva de decaimento radiativo para o MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 394\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 612 \text{ nm}$.

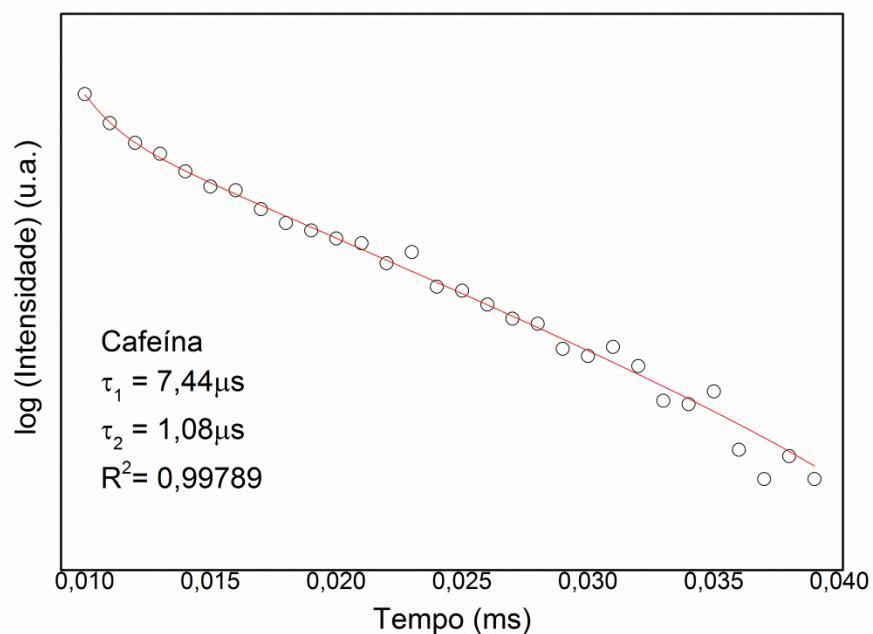


Figura A2.2: Curva de decaimento radiativo para a cafeína, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 315\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 333 \text{ nm}$.

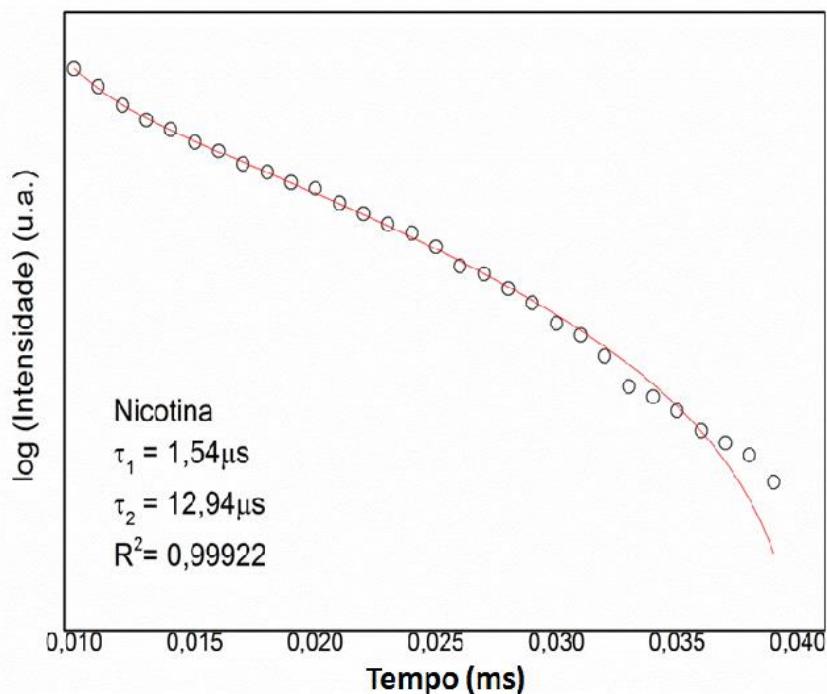


Figura A2.3: Curva de decaimento radiativo para a nicotina, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 394\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 555\text{ nm}$.

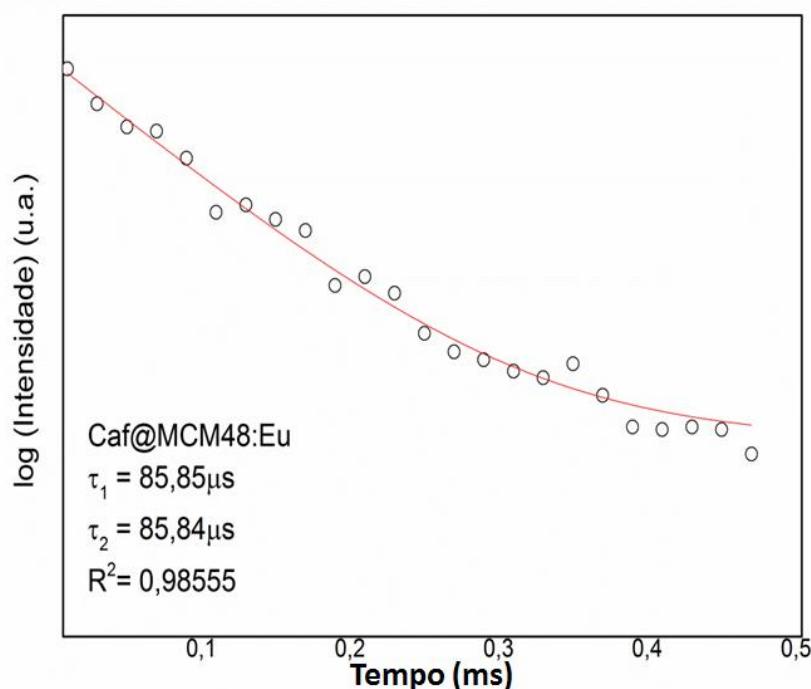


Figura A2.4: Curva de decaimento radiativo para o CAF@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 394\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 612\text{ nm}$.

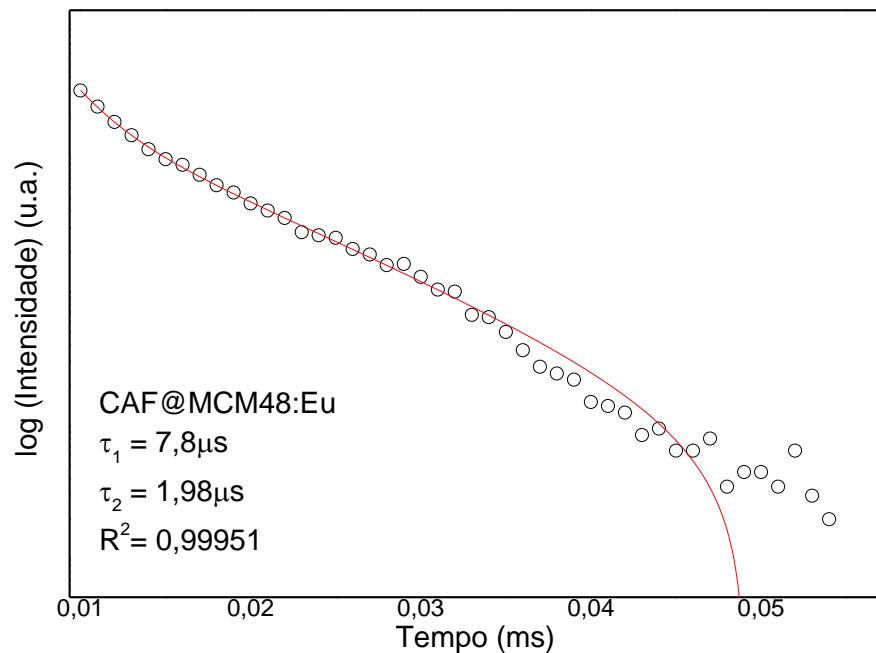


Figura A2.5: Curva de decaimento radiativo para o CAF@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 350\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 405\text{ nm}$.

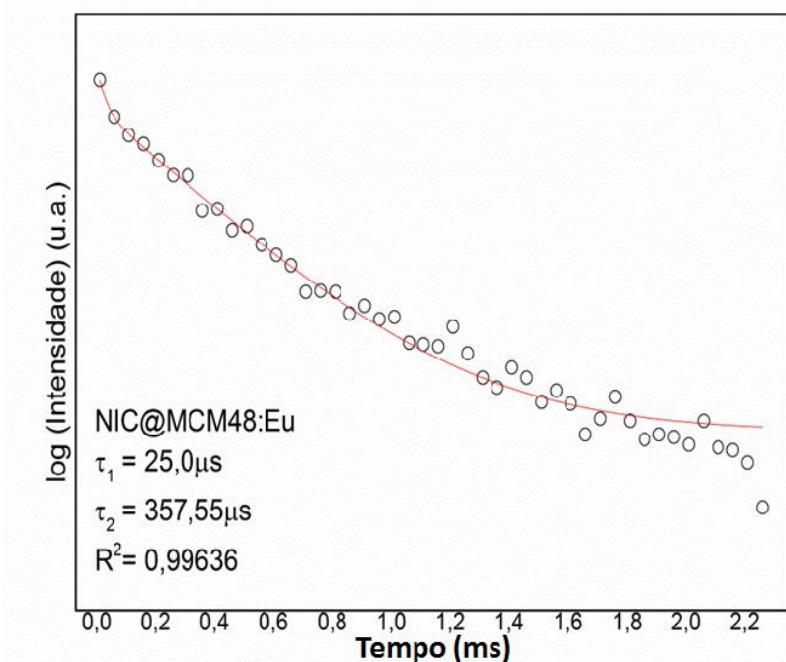


Figura A2.6: Curva de decaimento radiativo para o NIC@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 393\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 613\text{ nm}$.

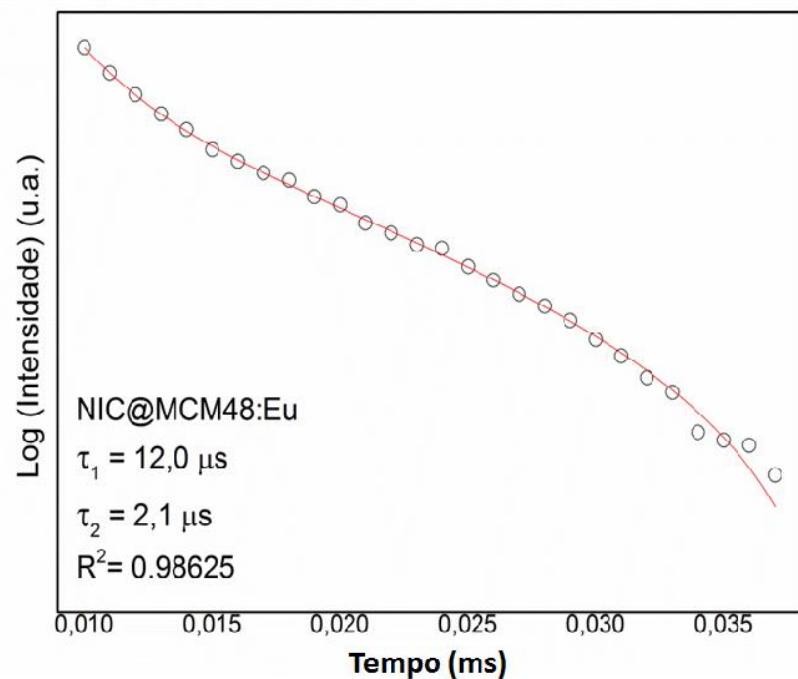


Figura A2.7: Curva de decaimento radiativo para o NIC@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 380\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 440\text{ nm}$.

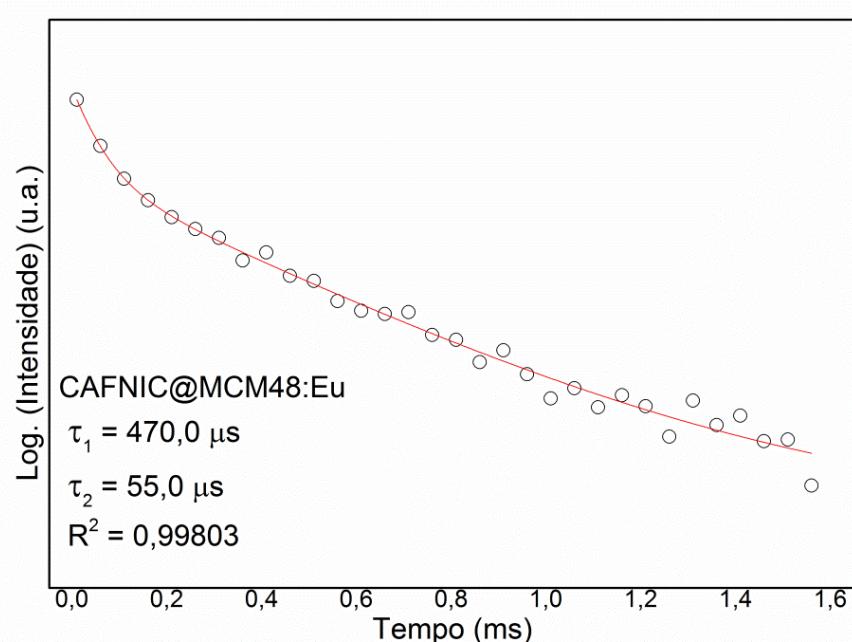


Figura A2.8: Curva de decaimento radiativo para o CAFNIC@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 395\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 612\text{ nm}$.

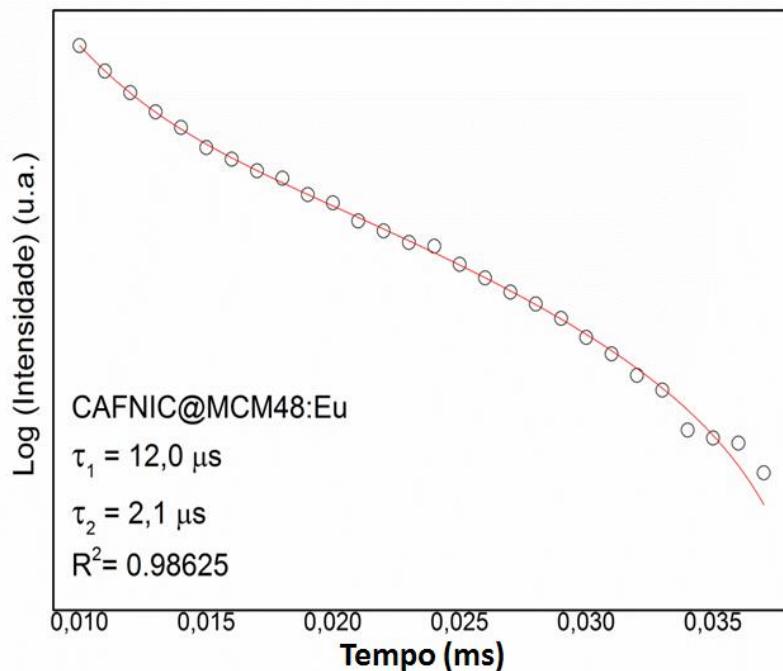


Figura A2.8: Curva de decaimento radiativo para o CAFNIC@MCM48:Eu, utilizando $\lambda_{\text{ex}} = 380\text{nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 430\text{ nm}$.

APÊNDICE 3: CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DA CURCUMINA EM MEIO FISIOLÓGICO SEM PROTEÍNA BOVINA-BSA.

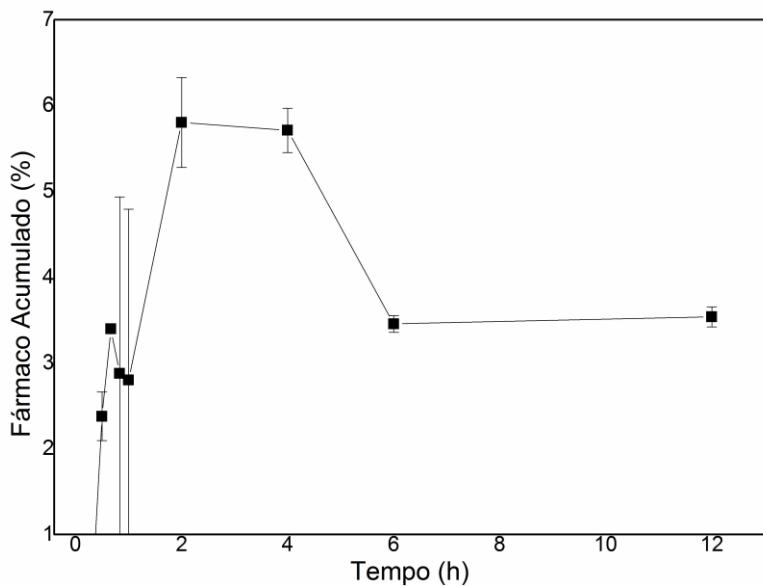


Figura A3.1 : Cinética de liberação controlada do curcumin em PBS à 36°C complexado ao CB[7], pontos oscilando decorrente da degradação do curcumin no

meio PBS. O curcumin liberado apresenta uma instabilidade nas primeiras horas, porém, o complexo mantém liberando o fármaco pelo tempo monitorado (12h).

APÊNDICE 4: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E DE TRANSMISSÃO DA CURCUMINA, CB[7] E DO COMPLEXO

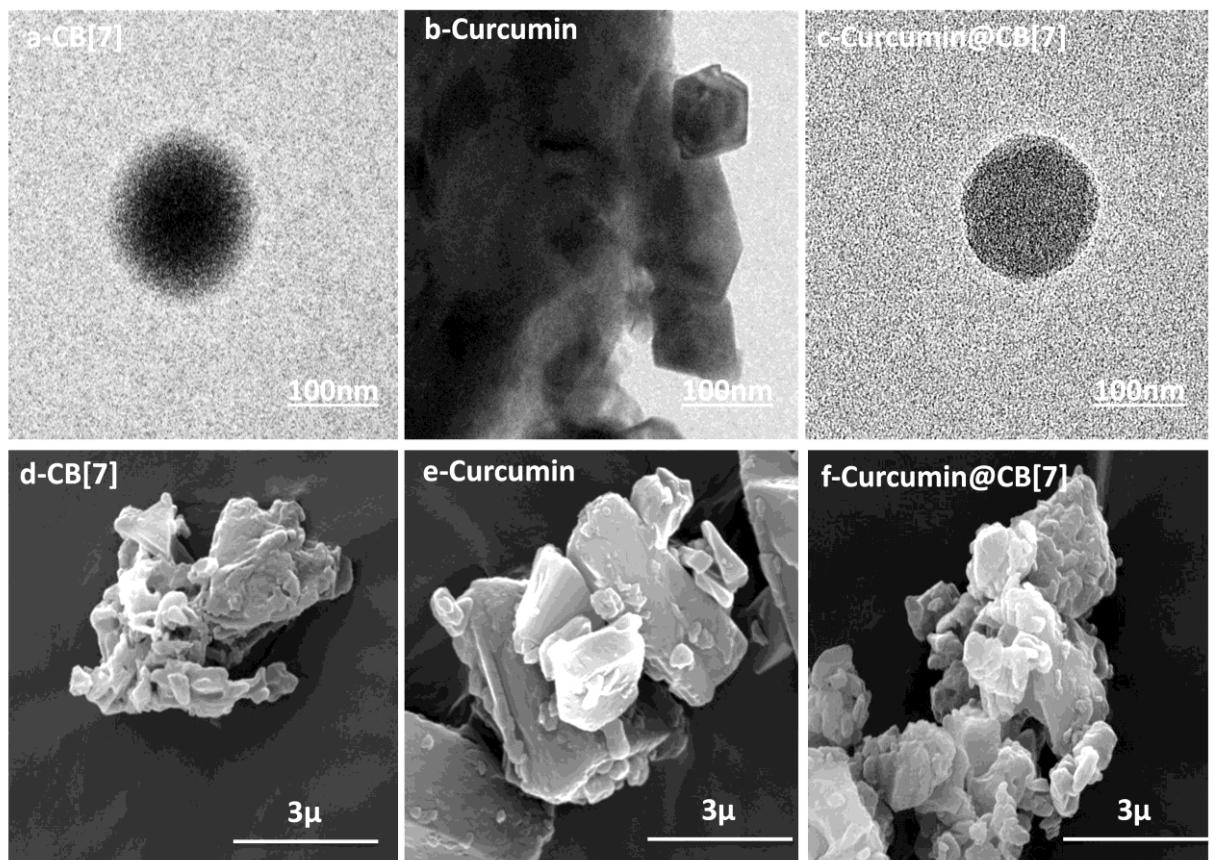


Figura A4.1 : Imagens de microscopia eletrônica de transmissão TEM (a),(b) e (c) e microscopia eletrônica de varredura MEV (d), (e) e (f) dos sistemas. A morfologia apresentado no aglomerado do complexo é semelhante ao do CB[7], o que corrobora com o XRD no que tange o aspecto amorfo do complexo.

APÊNDICE 5: ABSORBÂNCIA NO UV-VIS DA CURCUMINA APÓS A CINÉTICA DE LIBERAÇÃO EM MEIO FIOLOGICO COM 2% DE PROTEÍNA BOVINA-BSA E A CURCUMINA *IN NATURA*.

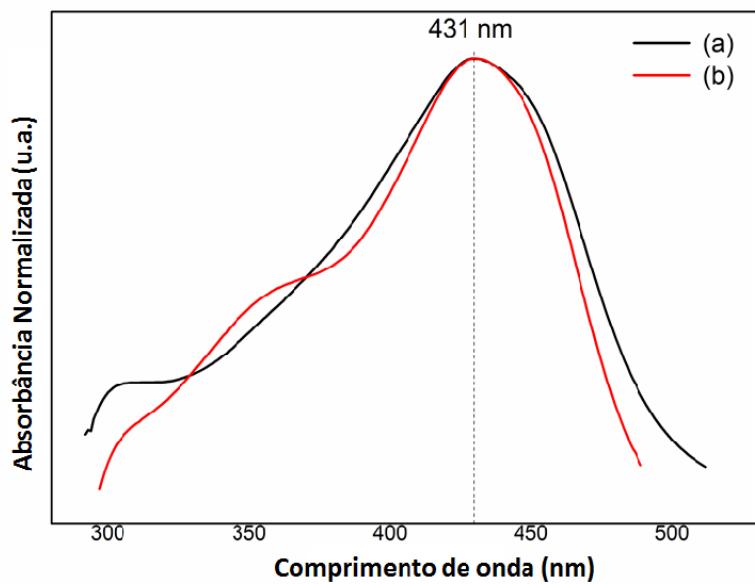


Figura A5.1: Monitoração da curcumina no UV-vis. (a) curcumina monitorado no meio PBS com proteína bovina à 36°C na cinética de liberação complexado ao CB[7]. (b) Curcumina *in natura* diluído no meio PBS com proteína bovina à 36°C monitorado e monitorado no UV-VIS.

APÊNDICE 6: FOTOLUMINIESCÊNCIA DO NIC@MCM48:EU

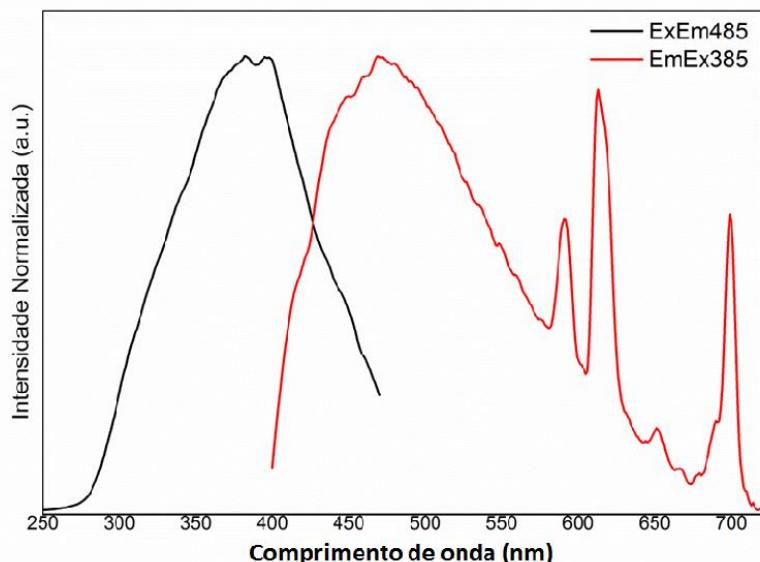


Figura A6.1: Fotoluminescência do sistema NIC@MCM48:Eu monitorando a emissão em 385nm e a excitação em 385nm