



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS, FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOPROSPECÇÃO**

**SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ANÁLOGOS DE CURCUMINAS  
MICROENCAPSULADOS COM GEL DE CARRAGENANA E  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

**Samantha Coelho de Freitas**

**Pelotas, 2023.**

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

F866s Freitas, Samantha Coelho de

Síntese e atividade antioxidante de análogos de curcuminas nanoencapsulados com gel de carragenana e nanopartículas de prata / Samantha Coelho de Freitas ; Cláudio Martin Pereira de Pereira, orientador. — Pelotas, 2023.

97 f.

Dissertação (Mestrado) — Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Curcuminas. 2. Nano de prata. 3. Nanoencapsulamento. 4. Atividades biológicas. I. Pereira, Cláudio Martin Pereira de, orient. II. Título.

CDD : 574.1929

**Samantha Coelho de Freitas**

**Síntese e atividade antioxidante de análogos de curcuminas  
microencapsulados com gel de carragenana e nanopartículas de prata**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciências (área do Conhecimento: Bioquímica e Bioprospecção).

**Orientador: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira**

**Co-orientador: Dr. Lucas Moraes Berneira**

**Pelotas, 2023.**

Samantha Coelho de Freitas

Síntese e atividade antioxidante de análogos de curcuminas  
microencapsulados com gel de carragenana e nanopartículas de prata

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestra em Ciências (área do conhecimento: Bioquímica e Bioprospecção) do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 28 de março de 2023.

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira (Orientador) Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria



Documento assinado digitalmente  
SIBELE BORSUK  
Data: 01/06/2023 14:46:37-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Profa. Dra. Sibele Borsuk Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

---

Profa. Dra. Jucimara Baldissarelli Doutora em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria

## Agradecimentos

Minha eterna gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho, em especial a minha família que sempre acreditaram na minha capacidade de seguir um caminho diferente do que me foi proposto, um agradecimento especial ao meu companheiro Rodrigo Rodrigues por todo apoio e auxilio no decorrer deste trabalho. Ao professor Claudio Pereira, meu “pai científico”, por me orientar desde a iniciação científica, por me guiar na minha jornada acadêmica.

Agradeço ao Lucas Moraes meu amigo e companheiro científico e da vida que sempre me coorientou e esteve ao meu lado desde o início da minha trajetória científica, por me puxar as orelhas diversas vezes e me guiar sempre para o caminho de êxito me acompanhando durante os meus experimentos de mestrado sempre confiando no meu trabalho.

À Tais Poletti agradeço por sempre estar ao meu lado me mostrando o lado positivo de tudo que é proposto, essa amiga que é comprometida, divertida e muita dedicada.

Estendo o meu agradecimento a todos os integrantes do Laboratório de LLipBio pelo acolhimento, carinho, conversas e aprendizados.

Aos professores por aceitarem compor a banca e dispor do seu tempo para avaliar esse trabalho. Realmente, agradeço pela atenção!

Agradeço a Universidade Federal de Pelotas (UFPel) por proporcionar toda a base para a minha formação e especialização na minha área.

Obrigada.

*“A imaginação é mais importante que o conhecimento, porque o conhecimento é limitado, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.” (Albert Einstein)*

## **Parte I**

## Resumo

DE FREITAS, Samantha Coelho. Síntese e atividade antioxidante de análogos de curcuminas microencapsulados com gel de carragenana e nanopartículas de prata. 2023. 97f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A curcumina é conhecida pelas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antitumorais. Devido a sua baixa biodisponibilidade, essas moléculas vêm sendo microencapsuladas a fim de potencializar os efeitos benéficos. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi realizar a síntese de curcuminas e microencapsular essas moléculas com polímero POX-450, carragenana e nanopartículas de prata (GelCurAg). Os resultados mostraram que houve uma incorporação das curcuminas avaliados através de presença de bandas na faixa de 300 a 500 nm na Espectroscopia no Ultravioleta-Visível e de estiramentos relacionados aos grupos funcionais presentes nas moléculas através da Espectroscopia no Infravermelho. Verificou-se que o tamanho de partícula foi em torno de 80  $\mu\text{m}$  e, com base na Microscopia Eletrônica de Varredura, foi possível observar que as GelCurAg tinham formato esférico irregular que se combinavam na forma de flocos planares. Testes para a atividade antibacteriana indicaram que as GelCurAg não possuíam ação biológica para *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. auerus* nas condições testadas. Para a avaliação antioxidante, se pode observar que dentre as GelCurAgs se destaca a que possui na sua composição a curcumina padrão 1e com atividade de  $93,95 \pm 0,05\%$  a  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Dessa maneira, demonstramos que é possível sintetizar GelCurAg de modo eficiente e que, essas microcapsulas possuem atividade antioxidante, indicando seu possível potencial farmacêutico e biotecnológico.

**Palavras-Chave:** Curcumina; nanopartículas de prata; carragenana; polímero POX 450; microencapsulamento; atividades biológicas.

## Abstract

DE FREITAS, Samantha Coelho. Synthesis and Antioxidant Evaluation of Curcumin Analogues microencapsulated with Carrageenan Gel and Silver Nanoparticles. 2023. 97f. Dissertation (Master's Degree) – Biochemistry and Bioprospection Post-Graduate Program, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Curcumin is one of the main molecules that can be isolated from the rhizomes of the plant *Curcuma longa* Linn whose properties include, for example, antioxidant, antiinflammatory, anticancer and healing actions. Due to their low bioavailability, these molecules have been microencapsulated and combined with other components, such as nanoparticles, in order to enhance their beneficial effects. In this sense, the aims of this study were to carry out the synthesis of curcumins and microencapsulate them with polymer POX-40, carrageenan and silver nanoparticles. Results showed that there was an efficient incorporation of curcumins in the evaluated materials through the presence of bands in the range of 300 to 500 nm in the UV-Visible Spectroscopy and stretches related to the functional groups present in the molecules through Infrared Spectroscopy. It was possible to verify that the particle size was around 80 µm and, based on Scanning Electron Microscopy, it was possible to observe that the microstructures had an irregular spherical shape that combined in the form of planar flakes. Tests for antibacterial activity indicated that the microstructures had no biological action against *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *S. auerus* under the tested conditions. For the antioxidant evaluation, it can be observed that the microstructures had a wide activity reaching about  $93.95 \pm 0.05\%$  at  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  for 1e. Therefore, microstructures containing curcumins and silver nanoparticles were synthesized efficiently having noticeable antioxidant activity, indicating a pharmaceutical and biotechnological potential for these biomaterials.

**Keywords:** Curcumin; silver nanoparticles; carrageenan; polymer POX 450; microencapsulation; biological activities.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Estruturas químicas dos pigmentos curcuminoides bisdemetoxicurcumina, demetoxicurcumina e curcumina.....	18
<b>Figura 2</b> - Subunidades passíveis de modificações estruturais da curcumina	20
<b>Figura 3</b> - Comparativo das dimensões .....	21
<b>Figura 4</b> - Esquema de moléculas com elevada citotoxicidade.....	28
<b>Figura 5</b> - Aspecto físico das curcuminas sintetizadas. ....	32
<b>Figura 6</b> - Cromatograma e espectro de massas obtido através da análise da curcumina 1a por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.....	33
<b>Figura 7</b> - Aspecto físico da curcumina 1a (à esquerda) e de sua respectiva GelCurAg (à direita). .....	35
<b>Figura 8</b> - Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1a. ....	36
<b>Figura 9</b> - Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1a. ....	37
<b>Figura 10</b> - Distribuição do tamanho de partículas 1a.....	40
<b>Figura 11</b> - Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1a por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.....	41
<b>Figura 12</b> - Ensaio Cristalográfico por difração de raios X no GelCurAg.....	42
<b>Figura 13</b> - Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura referente às GelCurAgs sintetizadas.....	43

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Dados físico-químicos das curcuminas sintetizadas.....	34
<b>Tabela 2</b> - Elementos encontrados na análise por Espectroscopia de Dispersão de Raios-X nas GelCurAgs sintetizadas.....	39
<b>Tabela 3</b> - Avaliação antioxidante das GelCuAg a partir do ensaio do DPPH. ....	45
<b>Tabela 4</b> - Avaliação antioxidante das curcuminas isoladas a partir do ensaio do DPPH.....	47

### **Lista de Abreviaturas**

AgNPs	Nanopartículas de prata
GelCurAg	Gel de curcumina e prata
NF-kB	Fator nuclear kB
NPs	Nanopartículas
P-407	Poloxamer 407

## Sumário

1 Introdução .....	14
2 Objetivos .....	16
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos .....	16
3 Revisão da Literatura.....	17
3.1 Curcuminas .....	17
3.2 Nanopartículas .....	20
3.3 Aplicações Biológicas.....	24
3.4 Carragenana .....	28
4 Resultados.....	30
4.1 Síntese de análogos monocarbonílicos da curcumina.....	30
4.2 Fabricação dos géis de curcumina e prata carregado com gelatina (GelCurAg) .....	31
4.3 Aspectos físico-químicos das curcuminas .....	31
4.4 Aspectos físico-químicos das nanoestruturas .....	35
4.4.1 Espectroscopia no Ultravioleta-Visível .....	35
4.4.2 Espectroscopia no Infravermelho.....	36
4.4.3 Espectroscopia de Dispersão de Raios-X.....	37
4.4.4 Tamanho de Partícula.....	40
4.4.5 Cromatografia Líquida de Alta Pressão .....	40
4.4.6 Difração de Raios-X.....	42
4.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	42
4.5 Atividade antibacteriana .....	44
4.6 Atividade antioxidante .....	44
5 Discussão .....	48
Manuscrito .....	54
6 Considerações Finais .....	76
7 Referências .....	77
Anexos .....	85

**Parte II**

## 1 Introdução

A curcumina é uma das principais moléculas que podem ser isoladas a partir dos rizomas da planta *Curcuma longa Linn.* Nas últimas décadas a curcumina e seus análogos vêm sendo, extensivamente, utilizados devidos as suas propriedades biológicas as quais destacam-se, por exemplo, ações antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais e cicatrizantes (DA SILVA et al., 2019; WANG et al., 2017). Embora sua utilização como corante ocorra há séculos, os processos de isolamento e síntese das curcuminas e de seus análogos são recentes de maneira que metodologias sintéticas e eficazes apenas foram desenvolvidas, bem como elucidadas, a partir década de 60 (NOUREDDIN et al, 2019; PACHECO et al., 2021).

Os curcuminoïdes podem ser sintetizados a partir de modificações nas subunidades fundamentais de uma molécula de curcumina as quais podem resultar em uma vasta gama de moléculas bioativas (JORDAN et al., 2018; NAGARGOJE et al., 2020). Assim, é possível obter derivados e análogos de curcumina através de vários tipos de reações envolvendo condensação aldólica com base no uso de diferentes tipos de materiais de partida como, por exemplo, diferentes tipos de aldeídos e de cetonas. Nesse sentido, foi possível obter um grande número de curcuminoïdes sintéticos que possuem importantes propriedades biológicas e com maior biodisponibilidade comparados a molécula de curcumina natural (KIM et al., 2018).

Dentre as formas de potencialização das propriedades biológicas das curcuminas e seus derivados e análogos sintéticos está o seu nanoencapsulamento com nanopartículas (NPs) (RAGHAVENDRA et al., 2014). Esses materiais são conhecidos por apresentarem um tamanho diminuto e, assim, possuem propriedades eletrônicas e biológicas bastante peculiares. Dentre os diferentes tipos de nanopartículas podem ser encontradas aquelas formadas por prata, ouro, alumínio, cobre e zinco, por exemplo (DA ROCHA et al. 2019)

Várias formulações de curcumina foram desenvolvidas, incluindo micelas emulsionadas, NPs, nanofibras ou hidrogel como uma abordagem corretiva, pois a eficácia terapêutica da curcumina é limitada devido à sua baixa solubilidade, meia-vida curta e baixa biodisponibilidade.O estudo de KHANH et al.,2019 relatou que o uso de curcumina em nanopartículas de gel de prata (GelCurAg) demonstrou atividade

antibacteriana e antioxidante, além disso, demonstraram que as concentrações de gelatinas agem no controle da liberação das curcuminas, essa liberação é maior quando há as concentrações de gelatina são menores (KHANH et al., 2019).

Conforme pode ser observado, os curcumoides compreendem uma vasta classe de moléculas com promissoras atividades biológicas. Através do seu encapsulamento com NPs pode ocorrer um aumento de sua biodisponibilidade e, consequentemente, uma potencialização das suas atividades biológicas. Assim, a síntese das curcuminas encapsuladas com GelCuAg pode apresentar um agente promissor com potenciais atividades antioxidantes, antimicrobiana e antiparasitárias.

A presente pesquisa tem o intuito de evidenciar a ação antioxidante de análogos de curcuminas e das GelCuAg encapsuladas com gel de carragenana. A curcumina, sem o encapsulamento de nanopartículas, tem resultados evidentes, entretanto os resultados podem ser mais significativos. Por esse motivo, com o objetivo de contribuir com futuros estudos sobre o tema, este trabalho traz a opção de usar o microencapsulamento, com possíveis polissacarídeos, que auxiliam a liberação da curcumina, bem como potencializam a atividade da molécula.

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi de realizar a síntese de análogos de curcumina, formando o GelCuAg microencapsuladas com carregenan e realizar a avaliação antioxidante e antibacteriana desses produtos.

### 2.2 Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos estão:

- I. Sintetizar NPs de curcuminas utilizando gel de carregenan e AgNPs;
- II. Caracterizar os produtos através de Espectroscopia no Ultravioleta-Visível, Espectroscopia no Infravermelho, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Espectroscopia de Raio-X e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- III. Avaliar a atividade antioxidante dos produtos através do ensaio com o radical DPPH;
- IV. Avaliar a atividade antibacteriana dos produtos através do ensaio de microdiluição em poços.

### 3 Revisão da Literatura

#### 3.1 Curcuminas

A utilização de partes de vegetais, com fins medicamentosos, remonta desde a Pré-História. Contudo, o modo como utilizavam essas plantas, era de maneira totalmente experimental, sem saberem, de fato, o resultado que obteriam, ou seja, acontecia de maneira circunstancial. Entretanto, os estudos da medicina moderna buscam aliar os efeitos desses compostos naturais no uso farmacológico, haja vista, que os produtos naturais ficam em uma posição de evidência na criação de novos fármacos (SANTIAGO et al., 2015).

A cúrcuma é um material obtido a partir da planta *Curcuma longa* Linn, sendo originária da Índia, sudeste asiático e Indonésia. A parte mais utilizada desse vegetal é o rizoma, o qual é desidratado e moído, criando um pó de coloração dourada, denominado turmérico (SANTIAGO et al., 2015). Essa especiaria vem sendo utilizada há muitas décadas na forma de pó principalmente como um corante alimentar, visto que apresenta uma coloração alaranjada (PACHECO et al., 2021).

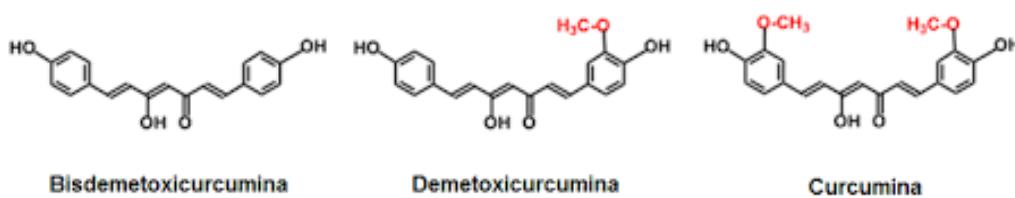
Ainda, além de seu uso culinário, essa planta também é utilizada devido a suas propriedades biológicas que incluem ações antioxidantes, anti-inflamatórias, antifúngicas e cicatrizantes, por exemplo, e é até hoje representante importante do sistema oriental medicinal conhecido como Ayurveda (“Ciência da Vida”) (WANG et al., 2017). Por isso, os produtos naturais se apresentam como um importante recurso na busca de novas substâncias com atividades biológicas relevantes (SANTIAGO et al., 2015).

Classificada botanicamente como um vegetal perene, de pedúnculo curto, folhas grandes e alongadas, e rizomas piriformes ou alongados, os curcumínicos são compostos fenólicos presentes nos rizomas da cúrcuma, planta medicinal pertencente à família Zingiberaceae. Os rizomas de cúrcuma possuem em sua composição proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e umidade, cujos teores variam de acordo com a região de origem da planta (SANTOS, 2018).

De uma forma geral, na planta são encontrados três curcumínicos em maiores concentrações, sendo a curcumina a mais abundante correspondendo a 77%, seguida pela demetoxicurcumina 17% e pela bisdemetoxicurcumina 3%. Na figura 1 pode-se observar, com base em sua estrutura química, que a principal diferença entre a curcumina e os outros curcumínicos em menor concentração é a presença ou

ausência de grupos metóxi ( $\text{OCH}_3$ ) nos anéis aromáticos (LI et al., 2015; PACHECO et al., 2021). Por outro lado, todos os curcuminoides apresentam em comum a presença de grupos carbonila e cadeias de carbono-hidrogênio centrais que ligam os dois anéis aromáticos (DA SILVA et al., 2019).

**Figura 1 - Estruturas químicas dos pigmentos curcuminoídes bisdemetoxicurcumina, demetoxicurcumina e curcumina.**



Fonte: OSÓRIO-TOBÓN et al., 2016, p. 18

Os pigmentos curcuminoídes, especialmente a curcumina, têm instigado o interesse de pesquisadores nas últimas décadas e, mais recentemente, das indústrias farmacêutica e alimentícia, devido à ampla possibilidade de aplicações do seu uso. As diversas propriedades benéficas vêm sendo exploradas ao longo dos séculos, principalmente em países asiáticos, de onde a cúrcuma é oriunda, sendo o pó obtido dos seus rizomas secos utilizado como tintura em tecidos, repelente de insetos, condimento em alimentos como corante e aromatizante. Na medicina tradicional oriental é aplicado no tratamento de anorexia, sinusite, doenças gástricas, hepáticas, respiratórias e inflamatórias (MOGHADAMTOUSI et al., 2014; MAHMOOD et al., 2015; FADUS et al., 2017)

Dentre os tipos de curcuminoides, a curcumina vem sendo estudada há quase dois séculos a partir do seu isolamento do açafrão da terra em 1815. Pesquisas subsequentes indicaram que a curcumina apresentava uma vasta gama de importantes atividades biológicas de forma que o número de estudos na área ampliou consideravelmente nos últimos anos (JORDAN et al., 2018; KIM et al., 2018). No entanto, a molécula apresenta uma baixa solubilidade em solventes polares como a água, em contrapartida, apresenta uma solubilidade maior em solventes orgânicos como a acetona e o etanol, o que dificulta seu uso biológico devido a sua baixa biodisponibilidade (PACHECO et al., 2021; DA SILVA, 2018).

O estudo de Roughley e Whiting (1973), e de Kita e colaboradores (2008) utilizando biomarcação com deutério e carbono-14 que auxiliaram na elucidação das possíveis rotas de biossíntese da curcumina, na qual a biossíntese teve início a partir da desaminação da fenilalanina para formar os derivados ácido cinâmico, ácido p-cumárico, e ácido ferúlico. Esses ácidos podem ser condensados ao malonil-CoA e serem convertidos em bisdemetoxicurcumina e demetoxicurcumina pela ação da enzima curcumina sintase e, então, pela ação de hidroxilases e o-metiltransferases os curcuminoïdes são convertidos em curcumina.

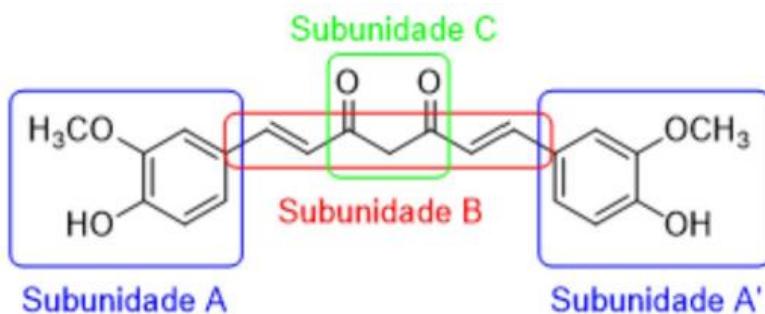
A união de dois fragmentos de ácido ferúlico a um carbono central gera o 1e estrutural denominado diferuloilmetano, o qual também pode ser utilizado para fazer referência à curcumina. Um outro intermediário-chave que pode ser formado é o dicinamoilmetano, que tem os grupos metoxi e hidroxila inseridos a posteriori. Desta forma, pode-se inferir que os curcuminoïdes são, em verdade, intermediários biossintéticos da própria curcumina, e não produtos finais de uma via biossintética alternativa (ESATBEYOGLU et al., 2012; SUETH-SANTIAGO et al., 2015). Os compostos fenólicos podem ser acumulados na planta de forma a oferecer proteção antioxidante (KITA et al., 2008; SOARES, 2002).

Com base nisso, muitos estudos estão sendo realizados na área de nanotecnologia para que seja viabilizada o seu uso com algum tipo de aplicação bioquímica e biotecnológica. Ademais, na maioria dessas pesquisas a curcumina utilizada é a isolada, ou seja, aquela que não possui outro curcuminoíde junto, o que aumenta o custo da sua aplicação (MASSIMINO, 2016). Além disso, a síntese de análogos monocarbonílicos da curcumina tem sido relatada há muitos anos como uma alternativa ao uso da curcumina natural, de modo que as estruturas químicas e a caracterização completa dos produtos estão bem estabelecidas e confirmadas (DA SILVA et al., 2019)

Por fim, vêm sendo desenvolvidos análogos e derivados de curcuminas através de processos sintéticos a fim de obter as propriedades biológicas dessas moléculas com um aumento de biodisponibilidade. Assim, Lampe e colaboradores realizaram a primeira síntese de cúrcuma em 1913 e, posteriormente, Pabon e colaboradores em 1964 estabeleceram um processo de síntese eficaz e em duas etapas para a produção de curcumina abrindo caminho para o desenvolvimento de novos curcuminoïdes sintéticos (DA SILVA et al., 2018).

De maneira geral, a síntese de derivados de curcumina pode ocorrer em reações que alteram a estrutura nas três subunidades de uma molécula de curcumina. Essas sub-unidades correspondem aos anéis aromáticos (subunidade 1), pela cadeia carbônica linear onde normalmente estão presentes insaturações (subunidade 2) e pela carbonila (subunidade 3) (Figura 2). Assim, processos de síntese de derivados de curcumina podem introduzir outros grupos funcionais na subunidade 1, alongar ou diminuir a subunidade 2 bem como alterar a sub-unidade 3 (NOUREDDIN et al., 2019; WANG et al., 2017).

**Figura 2** - Subunidades passíveis de modificações estruturais da curcumina



Fonte: SUETH-SANTIAGO, 2015, p. 544.

Geralmente, as reações para a obtenção de derivados de curcumina envolvem mecanismos do tipo de condensação aldólica os quais ocorrem através de reações entre uma cetona e um aldeído na proporção de 2:1 em mols. Para que a reação seja acelerada, usualmente se utiliza um catalisador que pode ser básico ou ácido (NAGARGOJE et al., 2019; PACHECO et al., 2021). A partir desse esquema geral para a síntese de curcuminoides, se pode utilizar diferentes tipos de aldeído (benzaldeído, cinamaldeído, metoxibenzaldeído, por exemplo) e diferentes tipos de cetonas (propanona, ciclopentanona, ciclohexanona, por exemplo) a fim de obter diversos derivados e análogos de curcumina (DA SILVA et al., 2019; KIM et al., 2018; NAGARGOJE et al., 2020).

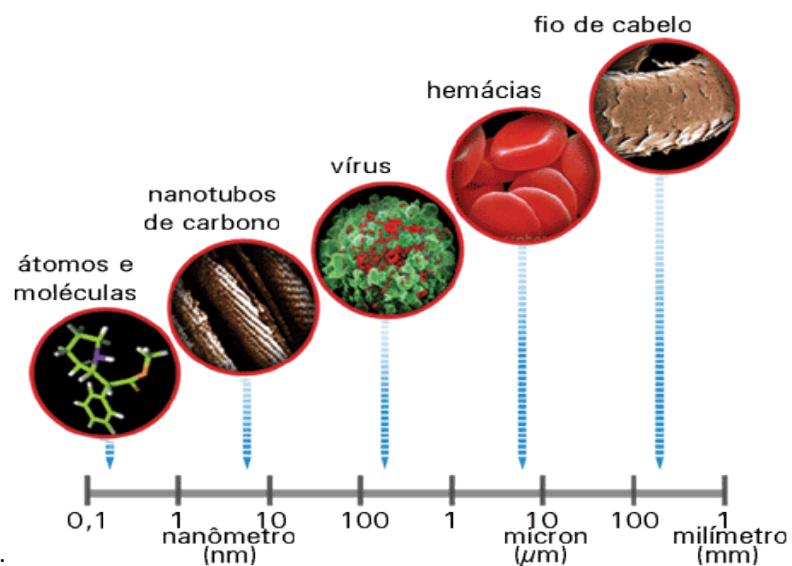
### 3.2 Nanopartículas

O estudo dos nanomateriais se destaca no final do século XX. Esse material é como um corpo em que sua dimensão nanométrica é responsável por modificar suas

propriedades usuais, isso quer dizer que seu diminuto tamanho manifesta novas características, processabilidades e capacidades (DURAN, 2010). Recentes avanços em nanotecnologia permitiram a produção de prata metálica como nanopartículas (DURAN, 2010). As nanopartículas de prata (AgNPs) são materiais de destaque, sendo mais usuais e conhecidas por apresentar ação antibacteriana. Estudos sobre a toxicidade das NPs de prata mostram que as partículas afetam organismos de diferentes maneiras, geralmente dependendo da sua taxa de concentração e do tempo de exposição. Tais informações são essenciais já que muitas nanopartículas estão sendo sintetizadas, processadas e descartadas, em quantidades cada vez maiores, com poucos conhecimentos sobre seus possíveis efeitos tóxicos no meio ambiente e nos seres vivos (DURAN, 2010).

As NPs são materiais de tamanho muito diminuto (10-9 nm) que podem ser de vários tipos de metais incluindo, por exemplo, prata, ouro, zinco, cobre e alumínio (GONZÁLEZ-BALLESTEROS et al., 2019; MOKHTARI et al., 2009). Devido a sua morfologia, as nanopartículas apresentam propriedades físico-químicas bastante peculiares o que as conferem aplicações nas indústrias eletrônicas, biotecnológicas, farmacêuticas dentre outras áreas (SARAVANAN et al., 2021). Como podemos perceber na FIGURA 3, um nanotubo é mais fino que um fio de cabelo, entretanto, abriga diversas moléculas em seu interior.

**Figura 3 - Comparativo das dimensões**



Fonte: TOMA, 2023, p. 13.

Para a produção das NPs inicialmente deve-se realizar um procedimento de síntese que pode acontecer através de métodos físicos, químicos e biológicos. O método físico é conhecido como *bottom-up*, ou seja, “de baixo para cima” pois é realizado a partir de átomos ou moléculas individuais a partir da aplicação de técnicas de precipitação eletroquímica, técnica de sol-gel, deposição de vapor química, método de pirólise por spray e pirólise a laser, por exemplo. Por outro lado, os métodos químicos e biológicos são chamados de *top-down*, ou seja, “de cima para baixo” sendo executado com a quebra de uma fração maior do material em nanopartículas através de ablação a laser, pulverização catódica, eletro-explosão e moagem mecânica, por exemplo (BHYUAR et al., 2020).

Os métodos físicos e químicos são os métodos mais utilizados para a produção de nanopartículas, porém são metodologias de alto custo, ampla toxicidade e com uso de reagentes e equipamentos complexos. Assim, a utilização desses métodos pode causar danos na saúde do manipulador bem como para o meio ambiente (GONZÁLEZ-BALLESTEROS et al., 2019). Em vista disso, se mostra essencial o surgimento de métodos alternativos para substituição de reagentes tóxicos para metabólitos presentes em organismos que incluem, por exemplo, plantas, fungos, bactérias e macroalgas (SARAVANAN et al., 2021). Dentre os metabólitos de organismos que podem ser utilizados para a síntese de NPs destaca-se, por exemplo, a carragenana.

Neste mesmo sentido, é proposto por Raghavendra et al. (2014) um método mais sustentável, também conhecido como *eco-friendly*, para obtenção de nanopartículas de curcumina com gelatina e fibras de celulose para aplicação antimicrobiana. Os autores compararam o potencial antimicrobiano da formulação contendo nanopartículas de curcumina com uma formulação contendo a curcumina em sua forma original e, de acordo com os resultados, a amostra desenvolvida com nanopartículas apresentou uma maior eficiência.

De acordo com estudos anteriores, se sabe que carboidratos estão relacionados com a síntese de nanopartículas. Nesse sentido, podem ser utilizados carboidratos extraídos de organismos bem como materiais purificados como, por exemplo, a carregenan. Embora o mecanismo de redução de metais para a formação de nanopartículas ainda não esteja completamente elucidado, se entende que os

carboidratos atuam como agentes redutores gerando, assim, as nanopartículas metálicas (FIGURA 4) (SARAVANAN et al., 2021; VASANTHARAJ et al., 2019).

Deve-se levar em conta que existem vários aspectos que influenciam a síntese de nanopartículas. Dentre esses fatores podem ser citados: pH do sistema, temperatura da reação, tipo de reagente, concentração dos materiais e o tempo de incubação de nanopartículas (SARAVANAN et al., 2021). Tais parâmetros afetam diretamente no rendimento da reação bem como no tamanho, morfologia, forma e cristalinidade das nanopartículas formadas (MOKHTARI et al., 2009).

Com a finalidade de confirmação de síntese bem como da análise da forma, tamanho, morfologia e superfície, as nanopartículas podem ser submetidas a diversos métodos de caracterização. Inicialmente, o primeiro indício da formação de nanopartículas é a mudança de coloração do meio reacional que pode ser verificado através de Espectroscopia no Ultravioleta-Visível (GONZÁLEZ-BALLESTEROS et al., 2019). Subsequentemente, podem ser empregadas várias técnicas analíticas para confirmar a presença de nanopartículas os quais incluem Espectroscopia no Infravermelho, Microscopia Eletrônica de Varredura, Microscopia Eletrônica de Transmissão e Difração de Raios-X (BHUYAR et al., 2020).

A pureza das nanopartículas pode ser analisada através de Difração de Raios-X de modo que esta técnica indica o tamanho e a cristalinidade das nanopartículas. Dessa forma, é possível confirmar se a síntese foi eficaz e se o produto obtido é realmente uma nanopartícula (BHUYAR et al., 2020; SARAVANAN et al., 2021). Por sua vez, a identificação de grupos funcionais presentes no produto pode ser realizada por meio de Espectroscopia no Infravermelho. Por fim, a Microscopia Eletrônica de Varredura e a Microscopia Eletrônica de Transmissão permitem verificar a morfologia e o tamanho das nanopartículas (MOKHTARI et al., 2009; VASANTHARAJ et al., 2019).

A respeito da curcumina, como já citado anteriormente, ela é pouco solúvel em água e possui um rápido metabolismo, o que ocasiona uma baixa biodisponibilidade, limitando assim seu uso na clínica médica. Desse modo, muitas pesquisas estão sendo feitas na área de nanotecnologia para que seja viabilizada a utilização clínica da curcumina. Assim sendo, o objetivo central é obter um produto final com uma melhor biodisponibilidade, permitindo que a curcumina seja aplicada como medicamento, como já ressaltado anteriormente. Então, uma estratégia muito

estudada para melhorar a solubilidade da curcumina é a obtenção desse ativo na forma de nanopartículas (MASSIMINO, 2016).

Outro método de aplicabilidade da curcumina que vem sendo estudado é a obtenção de nanogel. Em alguns estudos, nanogéis obtidos com dextrina se mostraram efetivos no carreamento de curcumina, no aumento da solubilidade em água, na melhora da estabilidade e no controle da liberação da curcumina. Outras diversas estratégias estão sendo estudadas visando a aplicação da curcumina na clínica médica (MASSIMINO, 2016).

A utilização de novos sistemas que diferem da antibioticoterapia convencional, para tratamento de infecções profundas em tecidos pouco vascularizados fez com que os géis tivessem um emprego ainda mais importante como matriz carreadora de fármaco, pois possuem condições ideais como, por exemplo, boa tolerabilidade, biodegradabilidade, liberação controlada e não traumática, solúveis em água e não tóxicos (VEYRIES et al., 1999). Assim, o poloxamer 407 (P-407), também chamado de Pluronic® F-127 e Synperonic® PE/F127, é composto por óxido de polietileno (PEO, 70%) e óxido de polipropileno (PPO, 30%) que quando entra em contato com água forma um hidrogel com aplicabilidade biomédica, visto que é um excipiente anfifílico que é reconhecido como seguro para utilização farmacológica.

Estudos demonstraram que hidrogéis à base de P-407 como sistema para liberação de fármacos obtiveram sucesso. Dessa forma, Dos Santos e colaboradores (2015), investigaram a inserção do hidrogel P-407 para liberação prolongada de tramadol, empregado para dor moderada e intensa. Essa incorporação resultou no aumento do tempo para uma liberação controlada e prolongada do fármaco por até 48-72h, diminuindo a citotoxicidade e os efeitos genotóxicos (DOS SANTOS et al., 2015; GIULIANO et al., 2018). Outra utilização empregada na utilização de P-407 é na encapsulação de nanopartículas para uma estabilização ideal, visto que, muitas delas possuem ação promissora como agentes antifúngico e antimicrobiana. Assim, os polímeros como P-407 têm como principal função estabilizar as nanopartículas tornando-as mais resistentes as mudanças do meio biológico, além de permitir uma fácil penetração nas barreiras biológicas (HUY et al., 2014; PATEL et al., 2022).

### **3.3 Aplicações Biológicas**

Para muitos pacientes que sofrem com doenças anti-inflamatórias, as plantas constituem uma fonte natural de compostos bioativos eficazes que podem ser

utilizados em diversas aplicações, principalmente como aditivos alimentares e na promoção da saúde como ingredientes na formulação de fitoterápicos e nutracêuticos. A espécie *Curcuma longa* tem demonstrado possuir uma diversidade de compostos fenólicos, sendo o principal a curcumina, que pode proteger o corpo do processo oxidativo e preventivo contra várias doenças. Os produtos naturais com propriedades anti-inflamatórias, como a curcumina, possibilitam a mesma ação proposta pelos medicamentos alopatéricos, porém com menores efeitos adversos (ARAÚJO, 2021).

Na atual conjuntura um dos maiores problemas na medicina é a resistência de bactérias e fungos patogênicos a antimicrobianos e antifúngicos. Em virtude disso, na busca por solucionar esses problemas, estudo atrela que a associação de nanopartículas com antibióticos e antifúngicos aumentam a atividade desses contra cepas resistentes. Embora ainda seja limitado na literatura os mecanismos de ação das nanopartículas como medicamento medicinal, é evidenciado que sua atividade está diretamente relacionada com a sua área superficial e concentração. Logo, quanto maior a dose e a extensão das nanopartículas, maior e mais eficientemente será a atividade do medicamento, entretanto poderá aumentar os efeitos colaterais (MENESESI et al., 2022).

Cabe ressaltar que a descoberta da atividade biológica contra bactérias, fungos e parasitas ainda não foi totalmente esclarecida por estudos anteriores. Alguns pesquisadores sugerem que a atividade antimicrobiana está relacionada com a formação de espécies reativas de oxigênio com a presença das NPs. Assim, são causados danos na parede celular afetando a permeabilidade da membrana celular, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos inibindo o crescimento e levando a apoptose da célula, bem como a redução de replicação do DNA das bactérias. Outros autores indicam que a atividade antifúngica das NPs é devido a influenciarem na conformação das estruturas das hifas e conídios dos fungos deformando-as e danificando-as, bem como diminuição de carboidratos, proteínas e lipídeos inibindo o crescimento dos fungos. A atividade antiparasitária pode estar correlacionada com a atividade que as curcuminas têm em diminuir a disponibilidade de tióis para o metabolismo parasitário (SHANKAR, 2017).

Muito rica em inúmeros alvos e com diversos mecanismos de ação, a curcumina é uma molécula pleiotrópica que altera a atividade de enzimas, da modulação de fatores de crescimento, de cofatores e de outras moléculas (FADUS et al., 2017). A ação antioxidante é uma das várias atividades biológicas que essa

molécula possui e que pode ser atrelado aos grupos hidroxila e β-dicetona na sua composição, onde a presença destes grupos permitem que ocorra a captura de radical, apresentando assim atividade antioxidante (ITOKAWA et al., 2008).

A curcumina é um potente antioxidante cujo mecanismo de ação não é completamente conhecido. Recentemente foi demonstrado que a dimerização é um processo de terminação principal da reação radical da própria curcumina. A curcumina mostrou efeitos antioxidantes e pró-oxidantes nas reações de radicais de oxigênio já que dependendo das condições ela pode atuar como um eliminador ou catalisador de radicais hidroxilo. O efeito antioxidante da curcumina pode eventualmente resultar na remoção de radicais livres biológicos (ITOKAWA et al., 2008).

Um dos métodos de avaliação da atividade antioxidante mais usual é através do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). Através da redução do DPPH pode-se estimar a atividade antioxidante em termos de habilidade como doador de elétrons ou trapeador de radicais livres (HOSTETTMANN et al., 2003). Esse método é bastante utilizado devido ser simples, rápido, econômico, bem como, pode ser utilizado com solventes de baixa toxicidade como, por exemplo, metanol ou etanol. Assim, o radical da molécula apresenta coloração violeta e, posterior a reação com substância antioxidante, torna-se violeta claro a amarelo, diminuindo a absorbância através do espectrofotômetro de UV/visível determinando a capacidade antioxidante da amostra (KEDARE et al., 2011; OLIVEIRA, 2015).

É sabido que a curcumina influencia no metabolismo de algumas enzimas como a ciclooxigenase, lipoxigenase, citocinas (interleucinas e fator de necrose tumoral), fator nuclear κB (NF-κB) e libertação de esteróides. Ademais, a curcumina tem uma significativa ação de supressão de radicais de oxigênio, proporcionando, assim, propriedades antiinflamatórias (SUSANA, 2017). Por sua vez, os efeitos da curcumina na expressão, fosforilação e translocação nuclear de componentes proteicos do sistema NF-κB foram estudados indicaram que a curcumina reprime a indução de NF-κB induzida pela interleucina IL-1β por inibição da fosforilação da proteína inibitória κBa (IκBa), degradação de IκB, pFD de fosforilação e translocação nuclear de p65. De acordo com Itokawa e colaboradores (2008) a presença dos grupos β-dicetona entre os dois grupos fenilo na sua estrutura química da molécula é de suma importância para exercer a sua atividade antioxidante, como também para a sua atividade anti-inflamatória.

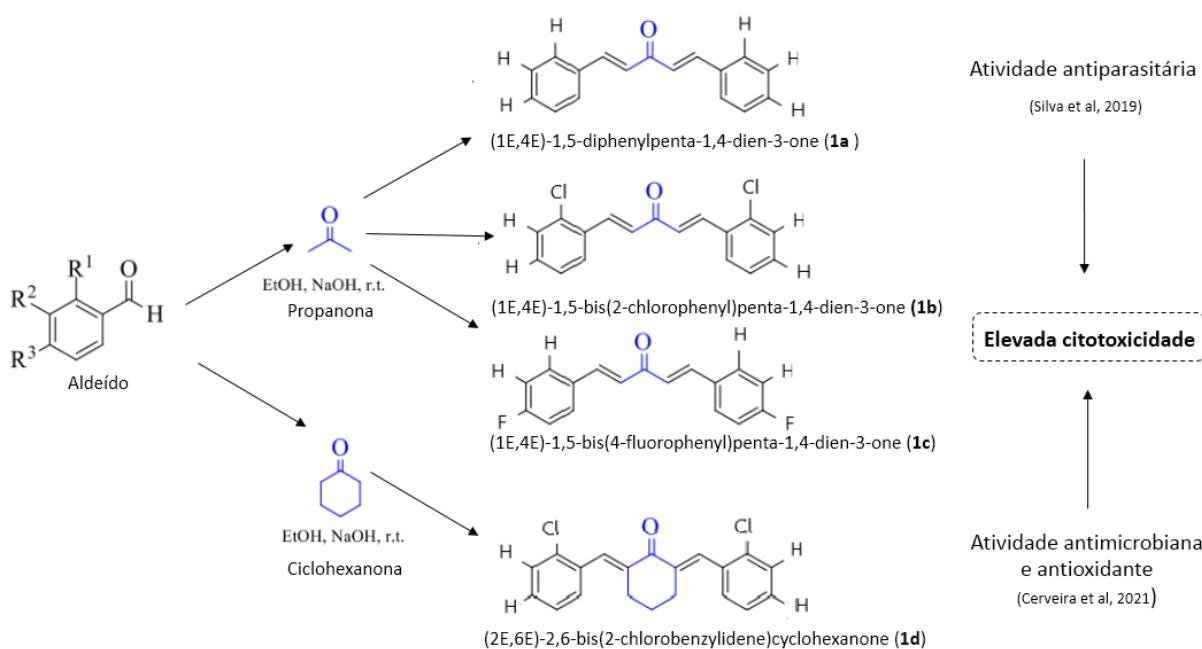
Além disso, diversos estudos já demonstraram o efeito antiparasitário da curcumina. Essa molécula natural tem sido testada como opção para infecções parasitárias (VIEIRA et al., 2015; WINK, 2012). No estudo de Wachter e coautores (2014) foi verificado a ação anti-*T. vaginalis* da curcumina natural comercial, combatendo três cepas de diferentes susceptibilidades ao metronidazol (ATCC 30001, ATCC 30236 e ATCC 50138). Passado mais de 24 horas, as concentrações cabíveis para a redução de 90% dos trofozoítos se diversificaram entre 216.3 e 164.9 µg/mL, eliminando todas as células de Trichomonas na concentração de 400 µg/mL. Apesar das concentrações efetivas serem relativamente altas (400 µg/mL de curcumina ≈ 1,08 mmol/L), muitos ensaios clínicos indicam que a curcumina possui um bom perfil de segurança, sem apresentar efeitos adversos relatados em doses de até 6 g/dia (GUPTA; KISMALI; PAGANO et al., 2018; WACHTER et al., 2014).

No estudo de Cerveira e colaboradores (2021) houve o desenvolvimento de uma pesquisa caracterizando as propriedades antioxidante, antimicrobiana e atividades citotóxicas dos monocurcuminoides sintéticos. Nessa investigação verificou-se que a curcumina em altas doses exibiu uma diminuição da atividade de eliminação de sais de diamônio, pois a curcumina pode funcionar como um pró-oxidante nessas concentrações. Por fim, os resultados do ensaio de citotoxicidade sugerem que os monocurcuminoides sintéticos usados neste estudo são seguros em baixas concentrações. Os monocurcuminoides sintéticos são potenciais candidatos a antimicrobianos, especialmente para bactérias gram-negativas, com baixos valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e atividade efetiva em aPDT (efeito da terapia fotodinâmica em culturas bacterianas (CERVEIRA et al., 2021).

Na pesquisa de Da Silva e colaboradores (2019), foram utilizadas 20 análogos de curcumina nas quais três moléculas sintéticas, [1,5-difenilpenta-1,4-dien-3-ona], [1,5-bis(2-clorofenil) penta-1,4-dien-3-ona] e [2,6-bis (2- clorobenzilideno) ciclohexanona], mostraram valores inibitórios contra *T. vaginalis* comparáveis ao do metronidazol e mais efetivos do que o da curcumina natural. A autora concluiu que os três análogos monocarbonílicos da curcumina apresentam potencial atividade antiparasitária. Tendo em vista que essas moléculas apresentaram uma atividade na pesquisa relatada, porém não tão efetiva quanto ao do metronidazol, já que apresentaram elevada toxicidade as células de mamíferos o que inviabiliza o seu uso como substituição a esse fármaco. Logo, o seguinte trabalho sugere que deveria ter outras formas para diminuir a citotoxicidade celular das três moléculas (Figura 4)

testadas por Da Silva, sendo assim, uma opção é utilizar a técnica de nanoencapsulamento, com possíveis polissacarídeos que auxiliam a liberação constante da curcumina de forma que a sua metabolização não seja imediata e diminua assim esse limitador encontrado.

**Figura 4 - Esquema de moléculas com elevada citotoxicidade**



Fonte: Adaptado de DA SILVA et al., 2019.

### 3.4 Carragenana

A carragenana é um polissacarídeo hidrofílico integrante da matriz extracelular de muitas algas vermelhas (Rhodophyceae), em especial, dos gêneros *Euchemia* e *Kappaphycus* (TRONO, 1992), e simboliza uma interessante alternativa como arcabouço. Além disso, quimicamente, a carragenana é formada por uma cadeia de dissacarídeos sulfatados composta pela repetição de D-galactose e resíduos de 3,6-anidro-D-galactose ligados em  $\alpha$ -1(3) e  $\beta$ (14) (MANO et al., 2007). Os modelos mais usuais de carragenana são a  $\kappa$  (kappa),  $\iota$  (iota) e  $\lambda$  (lambda), (RODE, 2015).

Em seu estado puro e seco, a carragenana apresenta-se sob a forma de um pó inodoro e sem sabor. No entanto, o polissacarídeo é solúvel em água quando

aquecido e a polimerização do gel ocorre mediante a presença de eletrólitos ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{K}^+$ ) (HAYASHI, 2007, 2001). As distinções na formação do sulfato entre as carragenanas definem os aspectos reológicos (viscosidade, plasticidade e elasticidade) da amostra. As carragenanas do tipo  $\kappa$  e  $\iota$  mostram a capacidade de construir géis devido ao formato tridimensional das duplas hélices após a ligação dos grupos sulfato com os íons, enquanto a do tipo  $\lambda$  é somente um agente espessante, pois não é capaz de formar ligações cruzadas (*crosslinking*) entre as hélices (RODE, 2015).

Esses aspectos são amplamente aproveitados pela indústria alimentícia e farmacêutica que utilizam a carragenana como agente espessante, gelificante e estabilizante em diversas formulações (RODE, 2015). A carragenana pode apresentar distintas atividades biológicas dependendo das características químicas, como massa molar, composição de sulfato e até mesmo do procedimento de extração. Por exemplo, as carragenanas do tipo  $\lambda$  são classicamente utilizadas em experimentos como agentes de indução inflamatória e dor (SILVA et al., 2010). Em contrapartida, as carragenanas do tipo  $\kappa$  e  $\iota$  apresentam diversas propriedades terapêuticas incluindo atividade antitumoral, imuno-modulatória e anticoagulante (RODE, 2015). Levando em consideração as diversas propriedades reológicas, o uso amplamente difundido na indústria cosmética e alimentícia, bem como sua semelhança ao ambiente tecidual extracelular, a carragenana é uma alternativa de biomaterial a ser empregado na medicina regenerativa (RODE, 2015). A literatura já descreve o uso do hidrogel de carragenana como um arcabouço para encapsulamento de células ou liberação controlada de moléculas (MEHRBAN, 1999).

As nanopartículas de prata (AgNPs) tem o seu uso biológico limitado por apresentarem efeitos tóxicos às células (BURDUSEL et al, 2018). Portanto, o revestimento das AgNPs com polímeros biocompatível é considerado um caminho alternativo e promissor para aumentar a suas aplicações biomédicas (SATHIYASEELAN et al, 2020). Diante disso, a carragenana já é um polissacarídeo utilizado na preparação de nanopartículas de forma aumentar a sua estabilização e minimizar a sua limitação de toxicidade celular (ELSUPIKHE et al, 2015). Cabe

ressaltar que esta estabilização é dada ao fato da carregenan apresentar carga negativa na sua superfície o que auxilia na estabilização das AgNPs.

A carragenana por apresentar uma estrutura linear e ser um polissacarídeo sulfatado possui propriedades físico-químicas ideais, haja vista, que é amplamente utilizada na liberação de drogas, nanocarreadores, regeneração de tecidos e indústria de alimentos (ZIA et al., 2017). Ademais, esse polissacarídeo também é utilizado como imunomoduladores, anticoagulantes, antitumorais e antivirais (CHRISTOPHER, 2003).

Em relação às suas atividades biológicas, a atividade anticoagulante das carragenanas foi demonstrada há mais de setenta anos. Assim como suas estruturas químicas variadas, sua atividade anticoagulante também é bem diversificada. Foi determinada, no trabalho de Silva et al. (2010), a atividade anticoagulante por tromboplastina parcial ativada das carragenanas iota-, kappa- e lambda-. Neste estudo, a lambda-carragenana exibiu a maior atividade anticoagulante (240s a 20 µg), porém muito abaixo do que a da heparina (250s a 2,5 µg).

Estudos de atividades antitumorais com carragenanas também têm apresentado resultados promissores in vitro e in vivo (ZHOU et al., 2004). Em relação a atividade antioxidante, Souza e colaboradores (2012) observaram que existe uma correlação dependente entre a atividade antioxidante e a quantidade de sulfato. Em um estudo realizado com a iota-carragenana, observou-se que esta teve um efeito mais elevado na inibição da formação de íons hidroxila em relação à kappa-carragenana (SOUZA et al., 2012).

## 4 Resultados

### 4.1 Síntese de análogos monocarbonílicos da curcumina

Todos os reagentes e solventes empregados na síntese eram de grau analítico e foram comprados da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EUA). Os análogos da curcumina foram sintetizados por acoplamento do apropriado aldeído aromático com acetona, sendo utilizada a propanona e a ciclopropanona sob condensação aldólica catalisada por uma base, usando a razão 1:2 acetona e aldeído respectivamente.

Resumidamente, para uma mistura do respectivo aldeído (20 mmol) e cetona (10 mmol; proporção de 2:1), acrescidos de etanol (15 mL), uma solução básica aquosa de hidróxido de sódio (40%; 10 mL) foi adicionada e mantida sob agitação magnética até que a reação estivesse completa. Para que ocorresse a neutralização do catalizador foi utilizada uma solução diluída de ácido clorídrico, filtrados a vácuo e secos à temperatura ambiente. O sólido obtido foi purificado por recristalização com hexano/acetato de etila. (LEE et al., 2009., DA SILVA et al., 2019).

#### **4.2 Fabricação dos géis de curcumina e prata carregado com gelatina (GelCurAg)**

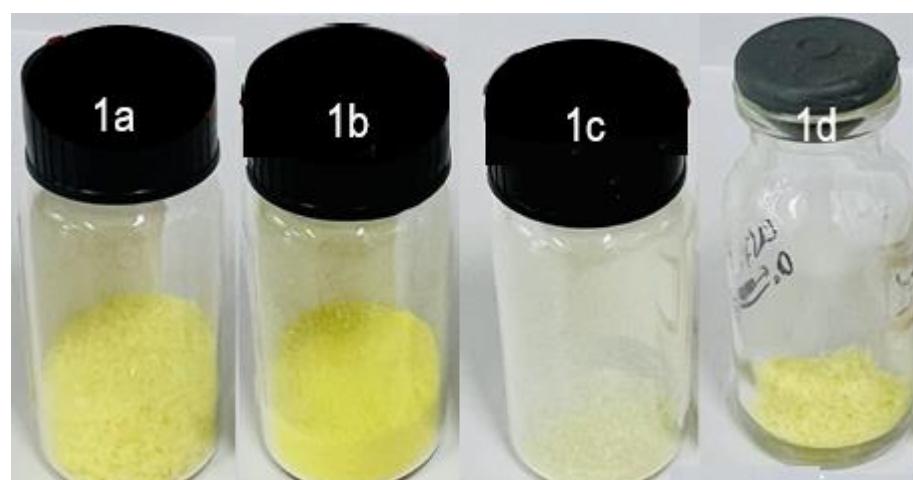
Anteriormente a síntese de AgNPs usando como estabilizador foi descrita por Khanh e colaboradores (2019). O processo de fabricação do GelCurAg consiste em duas etapas. Primeiramente, a solução de GelAg foi sintetizada sob radiação UV, esta solução foi então utilizada para encapsular a curcumina sob o efeito de ultrassom. Resumidamente, 0,2 g de carragenana foram dissolvidos em 20 mL de água destilada e agitado na velocidade de 400 rpm a 40 °C por 1 h. Depois disso, 240 µl de solução de AgNO<sub>3</sub> a 1% (equivalente a 120 ppmAgNO<sub>3</sub>) foi adicionado à solução de gelatina preparada e agitada à temperatura ambiente por 10 min. Essa mistura foi exposta à luz ultravioleta por 6 h para formar uma solução de GelAg. Para a formação da suspensão da fase solvente foram dissolvidos 0,02g mg de curcumina e 0,25g de POX 407 em 5 ml de metanol. A suspensão foi rapidamente adicionada gota a gota em 20 ml de solução GelAg (fase anti-solvente) sob agitação a 750 rpm. A mistura foi então sonicada por 20 min usando sondas de sonicação (QSONICA, EUA) com amplitude de 30 em um banho de água gelada para manter a temperatura abaixo de 30 °C. Após sonicacão, a mistura foi deixada em agitação por 2 h para metanol evaporar a 30 °C. Na etapa subsequente, a mistura foi centrifugada a 1000 rpm por 30 min para remover as partículas grandes (pellets), então o sobrenadante foi coletado e liofilizado a -50 °C por 48 h.

#### **4.3 Aspectos físico-químicos das curcuminas**

A síntese das curcuminas 1a, 1b, 1d e 1c foram satisfatórias apresentando um rendimento na faixa de 60% a 83% (Tabela 1). De uma forma geral, as curcuminas sintetizadas estavam na forma de um sólido alaranjado ou amarelado (Figura 5) de

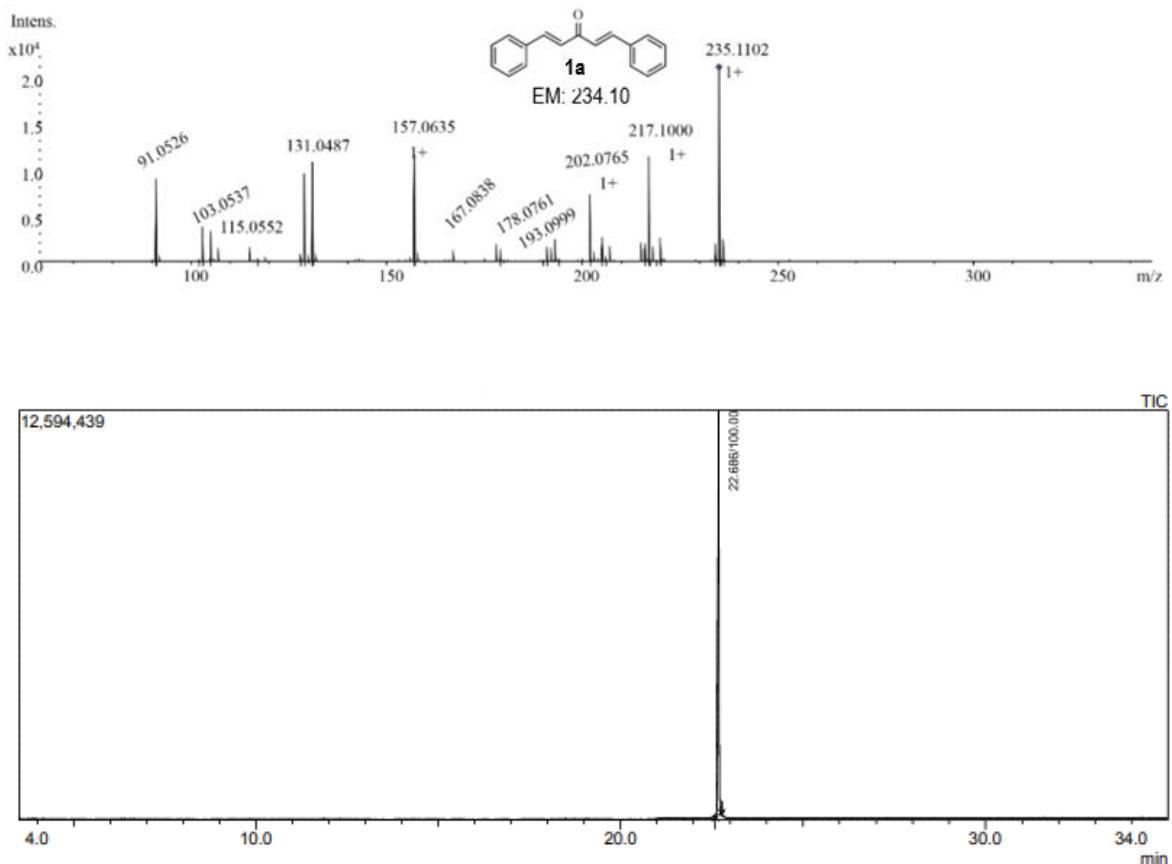
acordo com o respectivo produto e pontos de fusão que variavam entre 111°C a 154°C que estavam de acordo com dados reportados anteriormente na literatura. Por fim, a pureza dos produtos pode ser constatada visto que havia apenas um pico no cromatograma (Figura 6) obtido através da análise por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas de maneira que as curcuminas tinham tempos de retenção entre 22 a 28 min.

**Figura 5** - Aspecto físico das curcuminas sintetizadas.



A estrutura das curcuminas também pode ser confirmada através da análise por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas. Conforme pode ser observado na fragmentação, a molécula 1a apresentou um fragmento de  $m/z$  217.1 que corresponde a saída do grupo carbonila da estrutura. Por sua vez, o fragmento de  $m/z$  91.05 pode estar relacionado com à formação do íon tropílio na molécula. O pico base foi o próprio íon molecular indicando a estabilidade química da curcumina. Os outros produtos apresentavam fragmentações similares que podem ser vistas no Anexo. Cabe salientar que todas as moléculas analisadas apresentavam o íon molecular correspondente ao produto sintetizado.

**Figura 6** - Cromatograma e espectro de massas obtido através da análise da curcumina 1a por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.



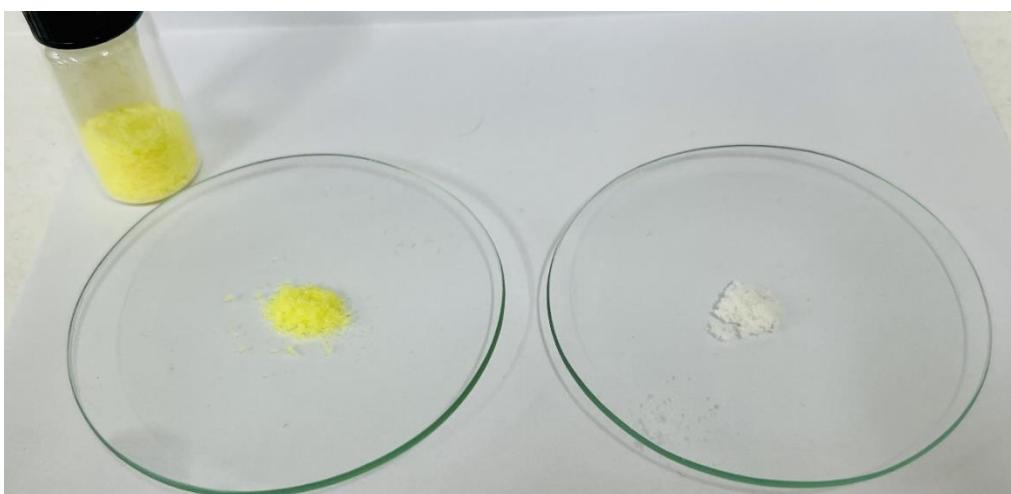
**Tabela 1** - Dados físico-químicos das curcuminas sintetizadas.

Estrutura	Composto	Rendimento (%)	Ponto de Fusão (°C)	Fragmentação (m/z)	Referência
	1a	60	113-115	235.11	Leow et al, 2019
	1b	73	118-120	303.03	Weber et al, 2005
	1d	83	111-114	343.06	Bigdeli et al, 2007
	1c	74	150-154	271.09	Weber et al, 2006

#### 4.4 Aspectos físico-químicos das nanoestruturas

A formação das GelCurAgs a partir das curcuminas sintetizadas a partir da reação de formação juntamente com as nanopartículas de prata, polímero POX 450 e com a carragenana pode ser inicialmente visualizado a partir da mudança de coloração do sólido obtido ao fim do processo. Como pode ser visto na Figura 7, as GelCurAgs se apresentam em uma coloração variada que muda de branca, a amarelo-claro e amarelo-escuro dependendo da curcumina precursora as quais diferem substancialmente das curcuminas puras. Por fim, as GelCurAgs provenientes do 1e apresentavam uma coloração laranja-escuro ao passo que o 1f – GelCurAg sem curcumina – apresentava uma coloração laranja-clara. As imagens das GelCurAgs podem ser visualizadas no Anexo.

**Figura 7** - Aspecto físico da curcumina 1a (à esquerda) e de sua respectiva GelCurAg (à direita).



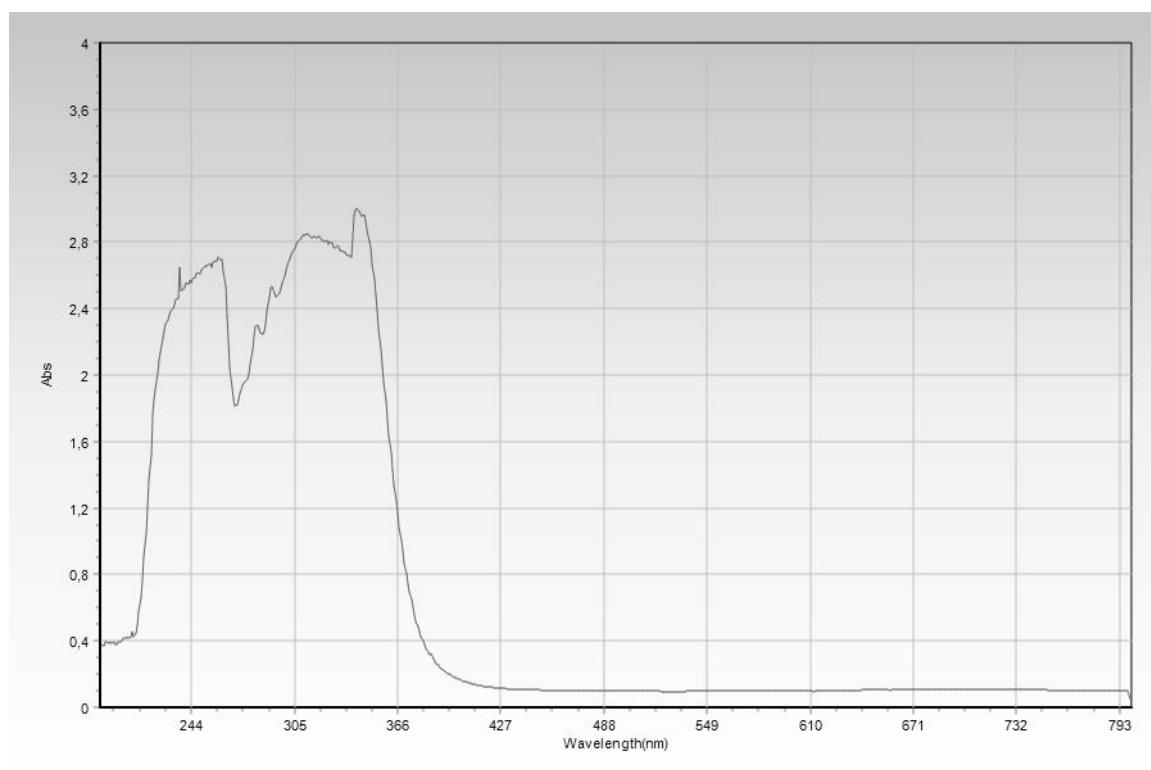
##### 4.4.1 Espectroscopia no Ultravioleta-Visível

A análise por Espectroscopia no Ultravioleta-Visível indicou a presença de bandas na região de 220 a 280 nm em todos os espectros das amostras, incluindo o 1f. Tal dado indica que essas bandas podem estar relacionadas aos componentes que correspondem às nanopartículas de prata, carragenana ou do polímero. Geralmente a banda máxima de absorção ocorria em 244 nm.

Por sua vez, a presença de curcuminas nas amostras pode ser vista através de bandas largas que podem ser observadas entre 280 nm a 500 nm dependendo do produto incorporado à GelCurAg. A correlação dessas bandas

com a presença de curcuminas nas GelCurAgs pode ser feita porque essas bandas entre 280 nm a 500 nm não foram encontradas no 1f. A Figura 8 é um resultado representativo dessa análise espectrofotométrica de maneira que os outros espectros podem ser vistos no Anexo.

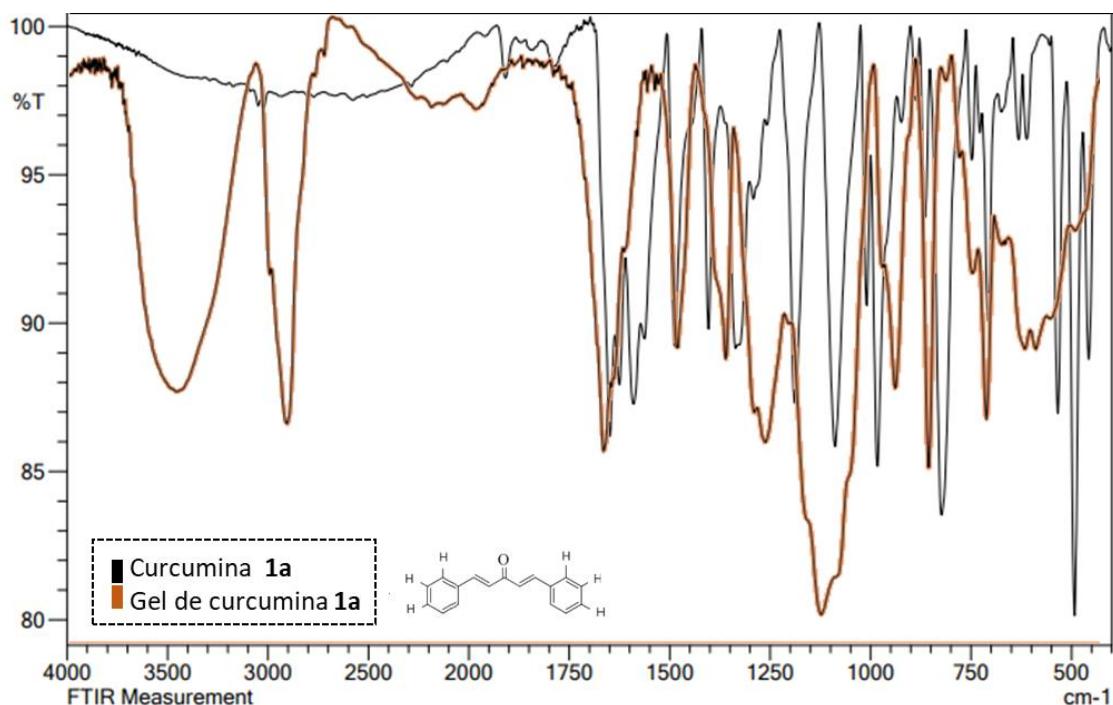
**Figura 8** - Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1a.



#### 4.4.2 Espectroscopia no Infravermelho

A análise por Espectroscopia no Infravermelho indicou a presença de bandas distintas entre as curcuminas e suas respectivas GelCurAgs. Isso provavelmente se deve à incorporação de outros constituintes na amostra que incluem o polímero, a carragenana e a nanopartícula de prata. Nesse sentido, para a curcumina 1a e sua respectiva GelCurAg se pode ver a presença de bandas de carbonila ( $C=O$ ) em  $1650\text{ cm}^{-1}$ , de ligação dupla ( $C=C$ ) próximo a  $3000\text{ cm}^{-1}$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$  assim como de estiramento carbono-oxigênio ( $C-O$ ) próximo a  $1100\text{ cm}^{-1}$  em ambas as amostras (Figura 9). No caso da GelCurAg, foi possível observar a presença da banda de hidroxila ( $O-H$ ) em  $3500\text{ cm}^{-1}$  provavelmente relacionado com a incorporação de carragenana na estrutura.

**Figura 9** - Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1a.



A interpretações dos outros espectros de curcuminas e de suas respetivas se mostrou similar ao da curcumina 1a e de sua respectiva GelCurAg. As principais diferenças encontradas se devem a inserção de grupamentos químicos distintos nas diferentes curcuminas avaliadas. Nesse sentido, a banda próxima a 550 cm<sup>-1</sup> pode indicar a presença do estiramento carbono-cloro nas amostras contendo as curcuminas 1b e 1d. Por sua vez, se pode observar o estiramento carbono-flúor na amostra 1c próximo a 1050 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.4.3 Espectroscopia de Dispersão de Raios-X

A análise por Espectroscopia de Dispersão de Raios-X indicou uma prevalência de elementos que incluem o potássio (49,78 – 52%), cloro (19,36 – 24,35%), cálcio (16,97 – 18,46%) e enxofre (8,90 – 10%) provenientes provavelmente do polímero e da carragenana que revestem o exterior da GelCurAg (Tabela 2). Cabe também salientar que houve a presença minoritária de diversos elementos que foram provavelmente encontrados devido à leves impurezas dos produtos iniciais ou de reagentes utilizados durante a síntese. Por

fim, não foi possível observar a presença da prata proveniente das nanopartículas o que provavelmente pode ser explicado porque as nanopartículas se encontram no interior da GelCurAg juntamente da curcumina.

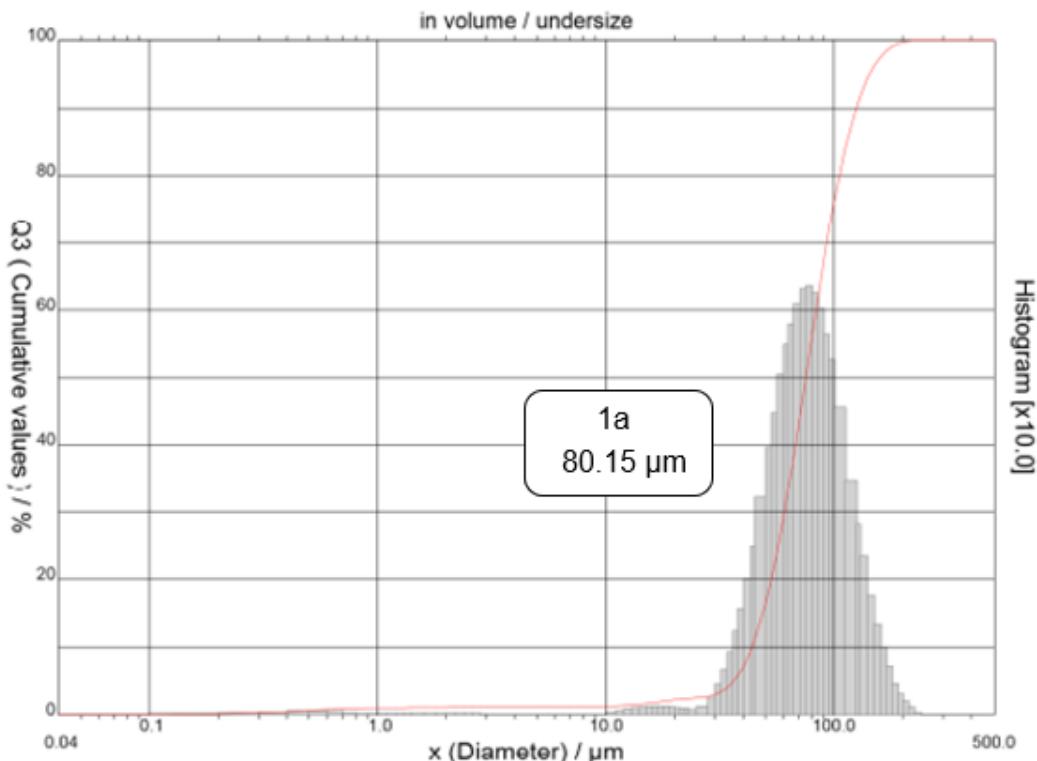
**Tabela 2** - Elementos encontrados na análise por Espectroscopia de Dispersão de Raios-X nas GelCurAgs sintetizadas.

<b>Elemento</b>	<b>Amostras</b>					
	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>1<sup>b</sup></b>	<b>1<sup>c</sup></b>	<b>1<sup>d</sup></b>	<b>1<sup>e</sup></b>	<b>1<sup>f</sup></b>
<b>K</b>	52%	49,78%	51,70%	49,54%	51,79%	51,33%
<b>Cl</b>	20%	23,50%	20,27%	24,35%	19,36%	20,34%
<b>Ca</b>	18%	16,97%	17,58%	16,49%	18,46%	18,04%
<b>S</b>	10%	9,31%	9,94%	8,90%	9,47%	9,92%
<b>Ag</b>	0,28%	0,25%	0,22%	0,36%	0,67%	0,19%
<b>Fe</b>	0,12%	0,12%	0,13%	0,20%	0,13%	0,10%
<b>Cu</b>	0,05%	0,05%	0,04%	0,05%	0,07%	0,04%
<b>Br</b>	0,02%	0,02%	0,02%	0,03%	0,05%	0,02%

#### 4.4.4 Tamanho de Partícula

A análise do tamanho de partículas das GelCurAgs sintetizadas indicou que as amostras apresentavam um tamanho médio que variou de 80,15  $\mu\text{m}$  a 80,47  $\mu\text{m}$  (**Figuras 10**). Nesse sentido, as amostras tiveram um tamanho bastante similar. A avaliação dos histogramas também permitiu se constatar que houve uma distribuição adequada dos diferentes tamanhos de partícula encontrados na mesma amostra visto que grande parte deles tinha um tamanho próximo ao valor médio encontrado. Os histogramas das outras GelCurAg avaliadas podem ser vistos no Anexo.

**Figura 10** - Distribuição do tamanho de partículas 1a.

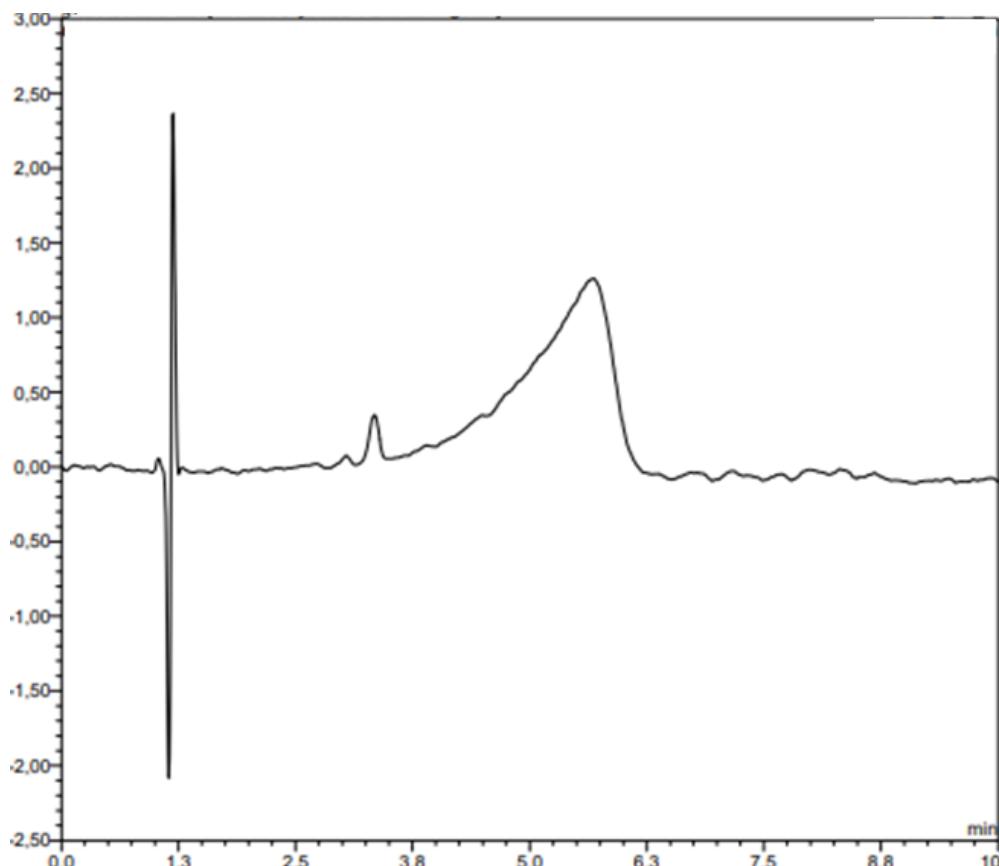


#### 4.4.5 Cromatografia Líquida de Alta Pressão

As GelCurAg foram avaliadas por Cromatografia Líquida de Alta Pressão a fim de avaliar a presença de seus constituintes na amostra. Nesse sentido, durante a análise do 1f não foi possível detectar algum pico cromatográfico de acordo com os parâmetros empregados. Assim, a presença das nanopartículas

de prata, de carragenana e do polímero não puderam ser observados nessa análise. Por outro lado, foi possível verificar a incorporação de curcumina nas amostras a partir da presença de picos cromatográficos (Figura 13).

**Figura 11** - Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1a por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.

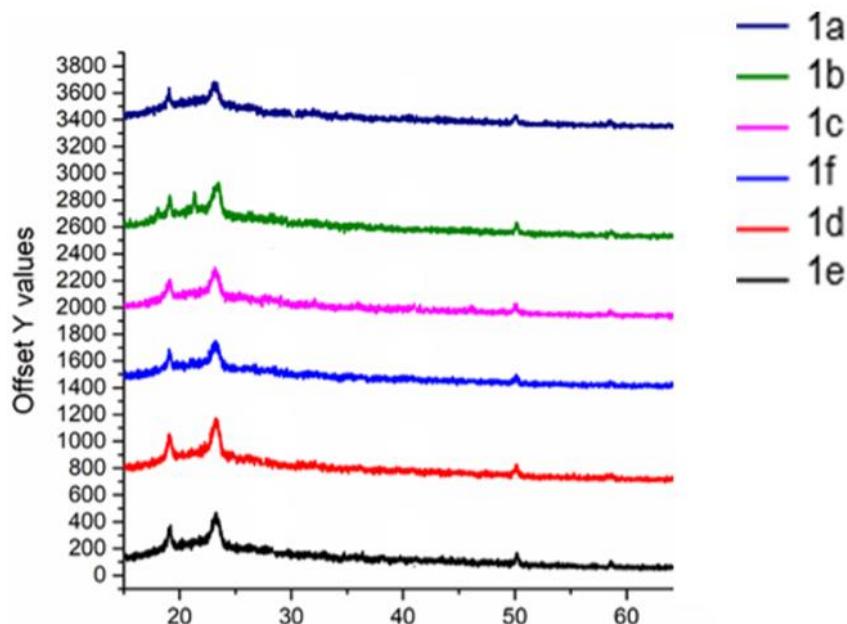


De uma forma geral, puderam ser observados a presença de picos entre 1.5 min a 6.4 min os quais variaram de acordo com a curcumina presente na estrutura. Também cabe ressaltar que todas as análises com a exceção da GelCurAg contendo a curcumina 1a apresentavam apenas um pico em seu cromatograma. A presença de dois picos no cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1a pode potencialmente ser explicado pela presença de GelCurAgs contendo isômeros diferentes da curcumina.

#### 4.4.6 Difração de Raios-X

A análise por Difração de Raios-X permitiu identificar que todas as amostras possuíam em comum picos em torno de 20°, 25°, 50° e 60°. Cabe ressaltar que as microestruturas possuem vários componentes em sua estrutura como nanopartículas de prata, o polímero, a carragenana e a curcumina de maneira que os picos podem estar relacionados com quaisquer um desses componentes. Todavia, é possível verificar através da análise que a curcumina pode ser encapsulada na sua forma amorfa (KHANH et al., 2019).

**Figura 12** - Ensaio Cristalográfico por difração de raios X no GelCurAg.

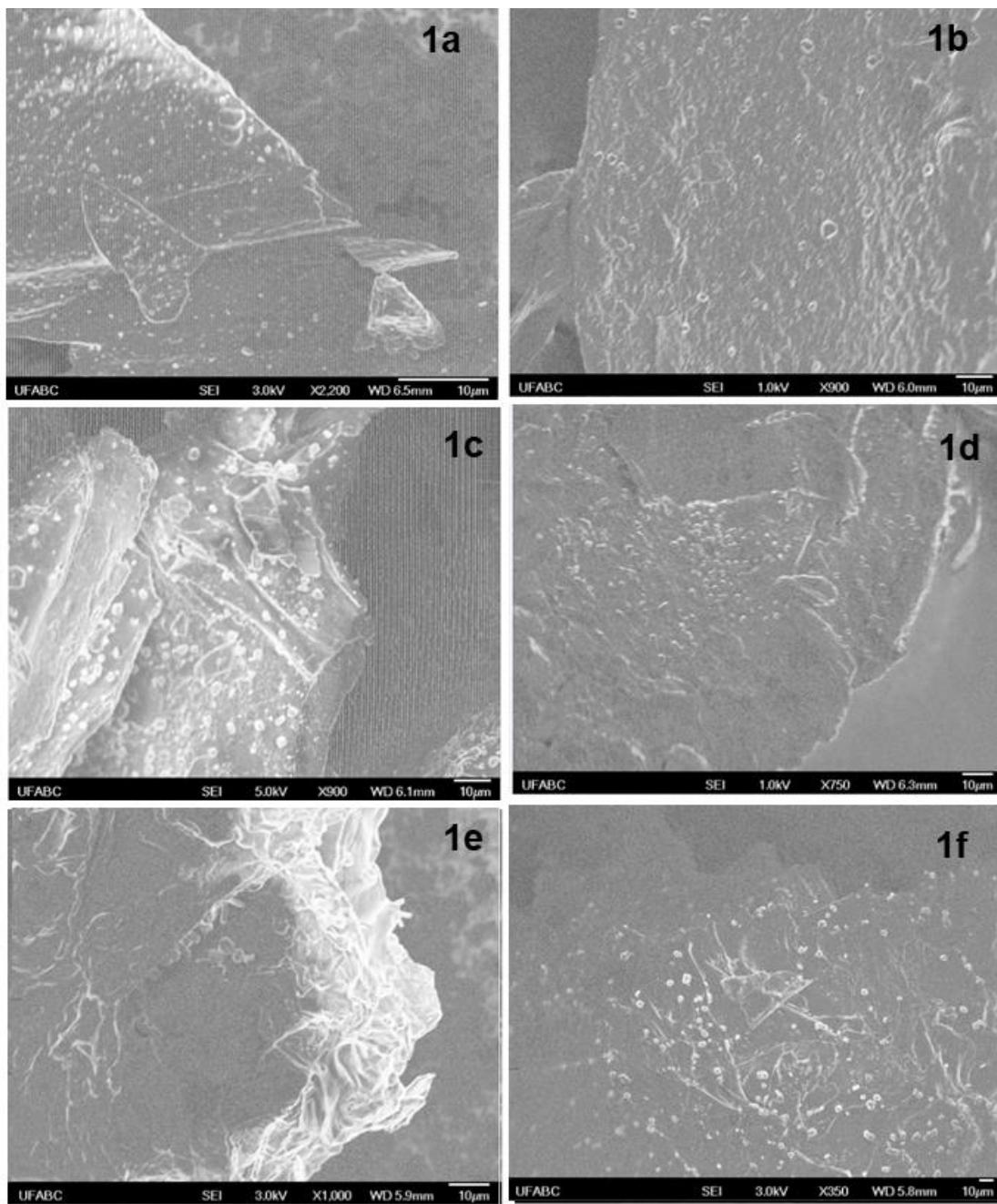


#### 4.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a verificação da morfologia e do tamanho das partículas foi realizada a análise por Microscopia Eletrônica de Varredura a qual demonstrou que as amostras apresentavam um formato esférico irregular. Também foi possível observar que as amostras se agregavam em estruturas na forma de flocos planares. Cabe ressaltar que todas as amostras apresentavam uma morfologia bastante similar o que indica que houve a formação da camada externa contendo o polímero e a carragenana os quais envolveram o conteúdo de AgNPs e de curcuminas (Figura 16).

Com base nas escalas obtidas durante a análise, também se pode perceber que as estruturas no formato de esferas irregulares provavelmente se encontram numa escala nanométrica. Por outro lado, a associação dos materiais na forma de flocos planares aumentou seu tamanho de maneira que essas estruturas já apresentavam tamanhos na ordem micrométrica. Esses resultados corroboram com análises anteriores realizadas no difratômetro a laser que permitiu identificar um tamanho médio das partículas na ordem de 80  $\mu\text{m}$ .

**Figura 13** - Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura referente às GelCurAgs sintetizadas.



#### **4.5 Atividade antibacteriana**

A avaliação da potencial atividade antibacteriana das GelCurAgs contendo a curcumina 1a, 1b, 1d, 1c e 1e bem como do 1f foi realizado utilizando os micro-organismos *Acinetobacter baumannii* ATCC 019606, *Klebsella pneumoniae* ATCC 700606, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus auerus* ATCC 25923 utilizando as diversas GelCurAgs em concentrações que variavam de  $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$  a  $0,488 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Após a realização do teste, não foi observada uma inibição no crescimento dos micro-organismos avaliados e nas condições testadas.

#### **4.6 Atividade antioxidante**

O ensaio de DPPH indicou que as GelCurAgs testadas apresentaram um valor considerável de atividade antioxidante (Tabela 3). De acordo com a GelCurAg, houve variações brandas de atividade antioxidante a partir da mudança na concentração da amostra. Nesse sentido, 1a apresentou uma variação de  $61,35 \pm 0,05\%$  numa concentração de  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  a  $67,95 \pm 0,15\%$  partindo de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Uma variação branda de acordo com mudanças na concentração também foi observada para 1c. Por outro lado, 1b apresentou uma mudança considerável na atividade antioxidante tendo uma inibição do radical DPPH a  $46,35 \pm 0,85\%$  a  $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$  chegando a  $62,9 \pm 0,5\%$  a  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Cabe salientar que se utilizou ácido ascórbico como controle positivo dos testes o qual apresentou uma atividade antioxidante total em todas as concentrações avaliadas.

Para a amostra 1d, também houve variações brandas na atividade antioxidante com a variação das concentrações testadas ( $60,85 \pm 0,45\%$  -  $56,45 \pm 0,05\%$ ). Por outro lado, a amostra 1e a qual continha o padrão de curcumina apresentou os resultados mais expressivos para atividade antioxidante. Na concentração de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ , a amostra apresentou atividade de  $93,95 \pm 0,05\%$  chegando a  $67,3 \pm 0,1\%$  a partir de  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Por fim, 1f que não continha curcumina apresentou pouca variação na atividade antioxidante ( $61,8 \pm 0,2\%$  -  $54,95 \pm 0,15\%$ )

**Tabela 3** - Avaliação antioxidante das GelCuAg a partir do ensaio do DPPH.

Concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )	Amostra					
	1a (%)	1b (%)	1c (%)	1d (%)	1e (%)	1f (%)
10	67,95 ± 0,15 <sup>a</sup>	68 ± 0,2 <sup>a</sup>	62,9 ± 0,5 <sup>b</sup>	60,85 ± 0,45 <sup>c</sup>	93,95 ± 0,05 <sup>d</sup>	61,8 ± 0,2 <sup>c</sup>
5	62,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	67,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	62,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	60,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	86,2 ± 0,7 <sup>e</sup>	60,15 ± 0,25 <sup>c</sup>
2,5	62,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	56,15 ± 0,65 <sup>f</sup>	62,05 ± 0,05 <sup>b</sup>	56,45 ± 0,05 <sup>f</sup>	75,2 ± 0,4 <sup>g</sup>	58,8 ± 0,6 <sup>cf</sup>
1	61,35 ± 0,05 <sup>bc</sup>	50,45 ± 0,25 <sup>h</sup>	61,65 ± 0,25 <sup>bc</sup>	57,15 ± 0,15 <sup>f</sup>	67,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	58,85 ± 0,25 <sup>cf</sup>
0,5	61,45 ± 0,35 <sup>bc</sup>	46,35 ± 0,85 <sup>i</sup>	61,85 ± 0,45 <sup>bc</sup>	59,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	62,05 ± 0,05 <sup>bc</sup>	54,95 ± 0,15 <sup>j</sup>

Nota: Índices em sobreescrito diferentes indicam diferença estatística significativa ( $\alpha \geq 0,005$ ).

A avaliação das curcuminas isoladas demonstrou que as moléculas possuíam uma atividade antioxidante que variou entre  $55,8 \pm 0,30\%$  e  $75,80 \pm 0,10\%$  para as amostras 1a, 1b, 1c e 1d. Cabe ressaltar que houve diferenças significativas entre as diferentes concentrações testadas, porém a variação não foi muito expressiva quando comparada com a 1e. No caso dessa amostra, a atividade antioxidante foi alta chegando a  $96,95 \pm 0,15\%$  numa concentração de  $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Também é possível identificar que para 1e houve provavelmente um efeito pró-oxidante a partir do aumento da concentração visto que a inibição ao radical DPPH chegou a níveis de  $85,85 \pm 0,35\%$  a  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

Comparando os resultados de atividade antioxidante entre as curcuminas isoladas e as GelCuAg se pode observar que houve comportamentos distintos entre as amostras. Nesse sentido, para 1a não se observaram diferenças consideráveis ao passo que para 1b houve uma variação negativa na estabilização do radical DPPH principalmente em concentrações entre  $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$  a  $2,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Para as amostras 1c e 1d, houve uma similaridade na atividade antioxidante nas mais baixas concentrações testadas, porém houve uma diminuição na atividade em concentrações maiores de GelCurAgs. Para 1e, também houve diminuição da atividade antioxidante nas menores concentrações testadas para as GelCurAgs, todavia houve uma melhora na atividade antioxidante em maiores concentrações de GelCurAgs quando comparadas com a curcumina isolada (Tabela 4).

**Tabela 4** - Avaliação antioxidante das curcuminas isoladas a partir do ensaio do DPPH.

Concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )	Amostra				
	1a (%)	1b (%)	1c (%)	1d (%)	1e (%)
10	68,65 ± 0,15 <sup>a</sup>	74,15 ± 0,45 <sup>b</sup>	74,85 ± 0,15 <sup>b</sup>	73,10 ± 0,30 <sup>b</sup>	85,85 ± 0,35 <sup>c</sup>
5	60,20 ± 0,90 <sup>d</sup>	54,90 ± 0,50 <sup>e</sup>	75,80 ± 0,10 <sup>b</sup>	69,40 ± 0,10 <sup>a</sup>	91,45 ± 0,25 <sup>d</sup>
2,5	58,00 ± 0,50 <sup>f</sup>	55,8 ± 0,30 <sup>e</sup>	75,10 ± 0,10 <sup>b</sup>	69,30 ± 0,10 <sup>a</sup>	93,35 ± 0,35 <sup>d</sup>
1	57,95 ± 0,05 <sup>f</sup>	59,15 ± 0,05 <sup>d</sup>	58,35 ± 0,25 <sup>df</sup>	59,65 ± 0,25 <sup>df</sup>	96,15 ± 0,15 <sup>g</sup>
0,5	59,70 ± 0,10 <sup>df</sup>	59,90 ± 0,20 <sup>df</sup>	59,40 ± 0,40 <sup>df</sup>	59,15 ± 0,15 <sup>df</sup>	96,95 ± 0,15 <sup>g</sup>

Nota: Índices em sobreescrito diferentes indicam diferença estatística significativa ( $\alpha \geq 0,05$ ).

## 5 Discussão

A reação da GelCurAg iniciou-se com cores claras que vai do transparente ao amarelo claro e no decorrer do tempo ocorreu a modificação para cores amarronzadas o que indicou a formação GelCurAg conforme Wan et al., 2021. A explicação desta mudança colorimétrica é decorrente da mudança da redução do íon prata o qual ocorre através de grupamentos hidroxila e ácido carboxílico que estão presentes na carragenana que desempenham um papel de redução e estabilização íons de prata e consequentemente a estabilidade da AgNPs (GÜN GÖK et al., 2021).

Comparando os resultados obtidos no decorrer deste estudo com o trabalho de Jaffar et al., 2023 na análise por Espectroscopia no Ultravioleta Visível não foi verificar a presença da banda correspondente a carregenanana, que de acordo com o trabalho foi em torno de 420 nm. Dentre os motivos que pode explicar essa diferença dos resultados estão a composição da GelCurAg testada, em como, das diferentes concentrações que foram empregadas em ambos os trabalhos.

Por outro lado, o estudo de Khanh et al. (2019) apresentou resultados similares aos que foram identificados no presente trabalho. Neste sentido, não foi observado picos de absorbância para o polímero e carragenana em 450 nm, mas sim foram encontrados pontos de absorbância quando a mostra continha curcumina onde os resultados se aproximaram na faixa de 400-450 nm. Essa variação pode estar relacionada com os diferentes tipos de curcumina que foram utilizadas no trabalho.

Em relação aos resultados obtidos pelo infravermelho (FTIR) se pode observar a presença de várias bandas relacionadas a grupamentos polares que indicam a formação da GelCurAg contendo POX-407, carragenana, AgNPs e curcumina. Tais observações também foram identificadas de maneira similar na literatura (ELSUPIKHE et al., 2014). Os estiramentos encontrados para prata-oxigênio na faixa 500 cm<sup>-1</sup> indicados na literatura não foram encontrados no estudo provavelmente essas bandas estão localizadas na região de *fingerprint* o que dificulta a sua visualização devido a outros tipos de estiramentos que ocorrem também nesta região. No entanto é possível observar a presença do estiramento do grupo O-H presentes da composição da carregenanana e também identificada na literatura.

Com base na análise cromatográfica se pode verificar que houve a introdução de curcumina nas GelCurAgs. Essa verificação se deve ao fato de identificar apenas um pico no cromatograma que provavelmente está relacionado com a estrutura das diferentes curcuminas, bem como, a sua concentração. Além disso, o tamanho das

microestruturas também está de acordo com a literatura. De acordo com Lyu et al. (2019) a síntese de estruturas contendo amilose, AgNPs e curcuminas resultou em partículas de tamanho inferiores a 1 mm.

Conforme estudo relatado por Jaffar e colaboradores (2023) as imagens resultadas do MEV demonstraram que GelCuAg apresentaram uma morfologia esférica com tamanho médio 670 nm. Além disso, o mesmo trabalho revelou através das imagens de alta resolução que as nanopartículas obtidas apresentaram uma forma semelhante a flores com pétalas lamelares cruzadas e aleatórias com tamanho de 50 nm de espessura. Cabe ressaltar que o autor relata que o processo de secagem, bem como a utilização de solventes orgânicos dos álcoois podem fazer com que GelCuAg formem um agregado e formem uma morfologia semelhante a uma flor. Ademais, o recente trabalho de Nguyen et al. (2022) também relataram que AgNPs apresentaram morfologia de flores semelhantes a rolos de lã e que dependendo do solvente empregado para síntese pode ocorrer agregação e alteração de tamanho que no caso do seu trabalho variou de 280 a 700 nm.

A atividade antioxidante obtida neste trabalho está de acordo com os resultados obtidos por Alves et al. (2018) que realizou associação de nanopartículas de prata e curcumina e conjunto com polímero 407 onde verificou que uma atividade a nível máximo de 60% o que coincidem com os resultados obtidos neste trabalho. De acordo com os autores houve uma variação entre a atividade antioxidante de acordo com o tempo de exposição da amostra ao radical DPPH. Isso provavelmente pode ser explicado pelo fato de apresentar diferentes níveis de liberação de GelCurAg a partir da formulação onde atua como um liberador desta molécula.

A utilização do poloxâmero (P407) foi de suma importância para formação da GelCurAg, haja vista que as formulações termossensíveis formadoras de gel são consideradas um sistema de administração controlada de medicamentos e esse polímero apresenta propriedades biocompatíveis e sua transição solução-gel em temperatura fisiológica. Assim, por ser copolímero anfifílico onde é um tribloco não iônico composto por uma cadeia hidrofóbica central de oxido de polipropileno flanquada por duas cadeias hidrofílicas de oxido de polietileno apresenta viscosidade que é importante para formação do gel a temperatura de 30 e 50°C e quando utilizadas em baixa temperatura permite que as moléculas ou nanopartículas do fármaco se dispersem e permaneçam suficientemente estabilizadas já que permite solubilizar drogas hidrofóbicas com natureza anfifílica como curcumina. Em um estudo anterior,

SEZGIN et al. (2007) relataram o comportamento de solubilização de três agentes anticancerígenos pouco solúveis em água em alguns poloxâmeros e sugeriram que esses sistemas são portadores eficazes de novas drogas (ALVES et al., 2018).

A atividade antioxidant é devido a presença da curcumina, bem como ocorre o sinergismo com AgNPs o que pode explicar o resultado aumentado de antioxidant através da junção destas. Cabe salientar que os valores obtidos para atividade antioxidant para as formulações contendo curcumina e AgNPs ou somente AgNPs variou entre 50 -70% de atividade antioxidant utilizando radical ABTS em concentrações de 0,125 mg/ml os quais convergem na mesma faixa que foram encontradas no presente estudo (LYU et al., 2019).

Devido às suas notáveis propriedades antibacterianas, as nanopartículas de prata (AgNPs) e a curcumina (CCM) têm sido amplamente utilizados no campo antimicrobiano. Em nosso estudo, sintetix, prata/curcumina uniforme e estável nanopartículas compostas por um processo de tratamento de ultrassom fácil e a atividade antibacteriana sinérgica foram avaliados. A curcumina não só desempenhou um papel de agente redutor, mas também atuou como um agente de capeamento. Os efeitos antibacterianos da prata/curcumina (cAgNPs) foram estudados medindo a curva de crescimento e superfície da placa ensaio baseado em *E. coli* e *B. subtilis*, que mostrou concentração bacteriostática dependente e bactericida efeitos de cAgNPs. A presença de CCM aumenta a ligação de Ag à membrana bacteriana e a liberação de Ag+ em comparação com aquele sem CCM, de modo que a criação de uma alta concentração de Ag+ temporária e local perto da superfície da bactéria, entretanto, a geração de espécies de oxigênio mais reativas, leva a danos na membrana, lipases e induzem vazamento de conteúdo intracelular seguido de morte bacteriana que leva à inibição do crescimento das bactérias.

Estudos anteriores mostram que a atividade antioxidant de curcuminas, bem como, GelCurAg é dose-dependente de maneira que ocorre um aumento na atividade biológica com o aumento da concentração do biomaterial (KHANH et al., 2019; CERVEIRA et al., 2021). Nesse sentido, a associação de curcuminas com nanoestruturas possibilitou uma estabilização do radical DPPH geralmente em níveis em torno de 60% o que está de acordo com dados reportados previamente na literatura (CERVEIRA et al., 2021).

Pesquisas anteriores demonstraram que as formulações contendo curcumina e AgNPs potencialmente possui atividade antibacteriana para bactérias gram negativas

e gram positivas. De acordo com Cerveira et al. (2021) os quais demonstraram atividade antibacterianas de diversos análogos de curcumina isolados utilizando concentrações abaixo de 200 µM para as bactérias *A. hydrophila*, *C.albicans*, *E.faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Esses dados divergem dos resultados obtidos no presente trabalho, já que as GelCurAgs não apresentaram atividade antimicrobiana para *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* e *Acinetobacter baumannii*. Dentre as prováveis explicações para essa diferença entre os trabalhos está o fato de que o presente estudo utilizou curcuminas em uma GelCurAg, ou seja, um complexo de compostos diferentes como carragenana, Pox-407,AgNPs e a curcumina e, assim, não de forma isolada como foi estudada no elucidada no estudo de Cerveira et al. (2021). Desta forma a concentração de curcuminas na GelCurAg acaba se tornando bastante inferior quando comparada aos estudos na qual são realizados testes antibacterianos isoladamente.

Ademais, Gün Gök et al. (2021) relatou que a carragenana isolada não apresentou atividade antimicrobiana para *S.aureus* e *E.coli* , no entanto apresentou uma acentuada atividade quando incorporada em AgNPs, em contra partida relata que essa atividade depende dos agentes tópicos contendo prata e de materiais de cobertura que varia dependendo da quantidade e taxa de liberação de prata e sua toxicidade as células bacterianas, tendo em vista que a prata elementar ( $Ag^0$ ) não tem antibacteriano, no entanto, o cátion prata ( $Ag^+$ ) é altamente reativo e mantém sua atividade em microorganismos mesmo em baixas concentrações o que pode ser uma justificativa já que a prata esta entrelaçada na carregenan que cobre esta GelCurAg.

Os resultados cristalográficos realizado em GelCurAg em comparação com a curcumina mostrou a ausência de picos agudos na qual indica a obtenção da GelCurAg e sugerindo o seu encapsulamento da molécula de forma amorfa, na qual esses dados coincidiram com os encontrados por Khanh et al. (2019).

Por fim, cabe ressaltar que a pesquisa apresentou algumas limitações cujo estudo pode ser aprofundado e elucidado através de teste antibacterianos que envolvam analise utilizando concentrações maiores das GelCurAgs, bem como avaliando as amostras para outros tipos de micro-organismos. Ademais, também poderiam ser realizados estudos de liberação das curcuminas e de AgNPs a partir das formulações. Outrossim, outras analyses de caracterização como, por exemplo, potencial zeta e utilização na Microscopia Eletrônica de Transmissão e assim analisar o comportamento químico das formulações.



### **Parte III**

**Manuscrito**

Os resultados dessa dissertação serão apresentados na forma de manuscrito submetido ao periódico internacional para Science and Technology of Advanced Materials.

## Synthesis and Antioxidant Evaluation of Curcumin Analogues microencapsulated with Carrageenan Gel and Silver Nanoparticles

Samantha C. de Freitas<sup>a</sup>; Lucas M. Berneira<sup>a\*</sup>; Taís Poletti<sup>a</sup>; Marcelle

O.Garcia<sup>b</sup> ; Daiane Hartwig<sup>b</sup>; Claudio M. P. de Pereira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Center of Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Lipidomic and Bio-Organic Laboratory, Bioforensic Research Group, Federal University of Pelotas, Eliseu Maciel St., s/n, 96900-010, Pelotas, RS, Brazil.

<sup>b</sup>Laboratory of Bacteriology and Bioassays

\*Corresponding author: [lahbbio.ufpel@gmail.com](mailto:lahbbio.ufpel@gmail.com)

**Declaration of interest:** The authors declare no conflict of interest.

### Abstract

Curcumin is one of the main molecules that can be isolated from the rhizomes of the plant *Curcuma longa* Linn whose properties include, for example, antioxidant, antiinflammatory, anticancer and healing actions. Due to their low bioavailability, these molecules have been microencapsulated and combined with other components, such as nanoparticles, in order to enhance their beneficial effects. In this sense, the aims of this study were to carry out the synthesis of curcumins and microencapsulate them with polymer POX-450, carrageenan and silver nanoparticles. Results showed that there was an efficient incorporation of curcumins in the evaluated materials through the presence of bands in the range of 300 to 500 nm in the UV-Visible Spectroscopy and stretches related to the functional groups present in the molecules through Infrared Spectroscopy. It was possible to verify that the particle size was around 80 µm and, based on Scanning Electron Microscopy, it was possible to observe that the microstructures had an irregular spherical shape that combined in the form of planar flakes. For the antioxidant evaluation, it can be observed that the microstructures had a wide activity reaching about  $93.95 \pm 0.05\%$  at  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  for 1e. Therefore, microstructures containing curcumins and silver nanoparticles were synthesized efficiently having noticeable antioxidant activity, indicating a pharmaceutical and biotechnological potential for these biomaterials.

**Keywords:** Biomaterials; Curcumin analogues; Biological activity; Microstructures; Synthesis.

## **Synthesis and Antioxidant Evaluation of Curcumin Analogues microencapsulated with Carrageenan Gel and Silver Nanoparticles**

### **1. Introduction**

In recent decades, curcumin and its analogues have been extensively used due to their biological properties that include, for example, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor and healing actions, (DA SILVA et al., 2019; WANG et al., 2017). Although its use as a dye has been going on for centuries, the processes of isolating and synthesizing curcumin and its analogues are recent, so that synthetic and effective methodologies were only developed and elucidated from the 1960s onwards (NOUREDDIN et al., 2019; PACHECO et al., 2021).

Curcuminoids can be synthesized from modifications in the fundamental subunits of a curcumin molecule, which can result in a wide range of bioactive molecules (JORDAN et al., 2018; NAGARGOJE et al., 2020). Thus, it is possible to obtain derivatives and analogues of curcumin through various types of reactions involving aldol condensation based on the use of different types of aldehydes and ketones. In this sense, it was possible to obtain a large number of synthetic curcuminoids that have important biological properties and with greater bioavailability compared to the natural curcumin molecule (KIM et al., 2018).

Among the ways to enhance the biological properties of curcumins and their derivatives and synthetic analogues is their nanoencapsulation with nanoparticles (NPs). These materials are known to have a small size and, therefore, have very peculiar electronic and biological properties. Among the different types of nanoparticles can be found those formed by silver, gold, aluminum, copper and zinc, for example. Differences in their metal composition influence considerably their physico-chemical and biological properties (DA ROCHA et al., 2019; RAGHAVENDRA et al., 2014)

Previous reports indicate that several curcumin formulations have been developed including emulsified micelles, NPs, nanofibers or hydrogel as an approach to enhance the therapeutic efficacy of curcumin. It is worth noting that its use is limited due to its low solubility, short half-life and poor bioavailability. In previous studies, use of curcumin in gel formulation associated to silver nanoparticles (GelCurAg) has already demonstrated antibacterial and antioxidant activity. In addition, it is reported

that gelatin concentrations act controlling the release of curcumins which can assist in drug release (KHANH et al., 2019).

As can be seen, curcuminoids comprise a vast class of molecules with promising biological activities. Through its encapsulation with NPs, an increase in its bioavailability can occur and, consequently, a potentiation of its biological activities. Thus, the production of curcumins encapsulated with GelCuAg may present a promising agent with potential biological activities. In this sense, the aims of this study was to synthesize curcumins and produce microstructures associated to silver nanoparticles, carrageenan and polymer P470 as well as to chemically characterize the biomaterials and evaluate their antioxidant activity.

## **2. Materials and Methods**

### **2.1. Chemicals**

All chemicals were analytical grade and were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA).

### **2.2. Synthesis of curcumins**

The four curcumin analogues were synthesized by reaction with the appropriate aromatic aldehyde to acetone in the forms of propanone or cyclopropanone using a 1:2 ratio, respectively, and under base-catalyzed aldol condensation. Briefly, the synthesis occurred to a mixture of the respective aldehyde (20 mmol), ketone (10 mmol; 2:1 ratio), ethanol (15 mL) and an alkaline aqueous sodium hydroxide solution (40%; 10 mL) was added to the system and kept under magnetic stirring until the reaction was complete. In order to neutralize the catalyst, a dilute solution of hydrochloric acid was used and the product was filtered under vacuum and dried at room temperature. The obtained solid was purified by recrystallization with hexane/ethyl acetate (DA SILVA et al., 2019).

### **2.3. Synthesis of microstructures**

The GelCurAg synthesis process consisted of two steps and followed the methodology of KHANH et al. (2019). Initially, 0.2 g of carrageenan were dissolved in 20 mL of distilled water and stirred at 400 rpm at 40 °C for 1 h. After, 240 µL of 1% silver nitrate solution was added to the prepared gelatin solution and stirred at room temperature for 10 min. The mixture was exposed to ultraviolet light for 6 h to form a

GelAg solution. In order to form the solvent phase suspension, 0.02 g mg of curcumin and 0.25 g of polymer POX 407 were dissolved in 5 ml of methanol. The suspension was quickly added dropwise into 20 mL of GelAg solution (anti-solvent phase) under stirring at 750 rpm. The mixture was then sonicated for 20 min using sonication probes (QSONICA, USA) in ice water bath. After sonication, the solution was stirred for 2 h in order to evaporate methanol. In the subsequent step, the mixture was centrifuged at 1000 rpm for 30 min to remove large particles (pellets), then the supernatant was collected and lyophilized at -50 °C for 48 h.

#### **2.4. Instrumental analysis**

Ultraviolet-Visible Spectroscopy was conducted using an aliquot of the microstructure dissolved in distilled water scanning from 200 nm to 700 nm using a spectrophotometer model LGS53 (Bel, Piracicaba, Brazil). For Infrared Spectroscopy, curcumins and their microstrutures were analyzed from 4000 cm<sup>-1</sup> to 500 cm<sup>-1</sup> using potassium bromide pellets. Moreover, X-Ray Spectroscopy was made using an equipment model EDX720 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

In addition, X-Ray Diffraction was made using a diffractometer model XRD6000 (Shimadzu) while Scanning Electron Microscopy was conducted through an equipment model JSM-6010LA (Jeol, Peabody, USA). Particle size analysis was performed by a laser diffractometer model CILAS 1064 (Cilas, Milan, Italy).

Curcumin analogues were analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometry model QP 2010 (Shimadzu). Helium was used as the carrier gas while the cappillary column was RTX-5MS. Finally, the microstrures were analyzed using High Presure Liquid Chromatography model Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Waltham, USA). The mobile phase was a 0.5% solution of acetic acid in methanol–water (40:60, v/v) and the column was C18.

Statistical analysis were performed using Two-Way Analysis of Variance (ANOVA) using software Graphpad version 9.5 (San Diego, USA) with statistical significance at  $\alpha \leq 0.005$ . Results were generally expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

## 2.5. Antioxidant activity

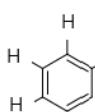
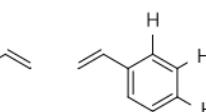
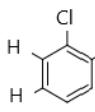
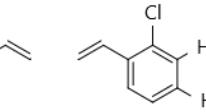
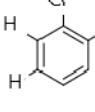
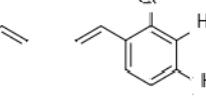
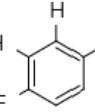
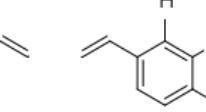
Concentrations of 10, 5, 2.5, 1 and 0.5 mg.mL<sup>-1</sup> of the microstructures were evaluated for antioxidant activity by mixing them with 300 µL of methanolic solution of DPPH radical (0.394 mg.mL<sup>-1</sup>) and 3 mL of methanol. Samples were incubated at room temperature for 15 min in the dark and analyzed by Ultraviolet-Visible Spectroscopy (Bel) at 517 nm. Positive controls were performed with ascorbic acid at the same concentrations as the tested samples. An analytical blank using 300 µL of radical DPPH mixed with 2.7 mL of methanol was also tested. All experiments were performed in triplicate (n=3).

## 3. Results

### 3.1. Physico-chemical evalution of curcumin and their microstructures

Synthesis of curcumins 1a, 1b, 1d and 1c were satisfactory having a yield in the range of 60% to 83% (Table 1). In general, the synthesized curcumins were in the form of an orange or yellowish solid according to the respective product while melting points varied between 111°C and 154°C, which were in agreement with data previously reported in the literature. Finally, the purity of the products could be verified since there was only one peak in the chromatogram obtained through the analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry with retention times of curcumins between 22 to 28 min. Chromatograms and mass spectra data can be seen in the *Supplementary Information* section.

**Table 1.** Physico-chemical information of the synthesized curcumin analogues.

Structure	Sample	Yield (%)	Melting Point (°C)	Fragment (m/z)	Reference
 	1a	60	113-115	235.11	Leow et al, 2019
 	1b	73	118-120	303.03	Weber et al, 2005
 	1d	83	111-114	343.06	Bigdeli et al, 2007
 	1c	74	150-154	271.09	Weber et al, 2006

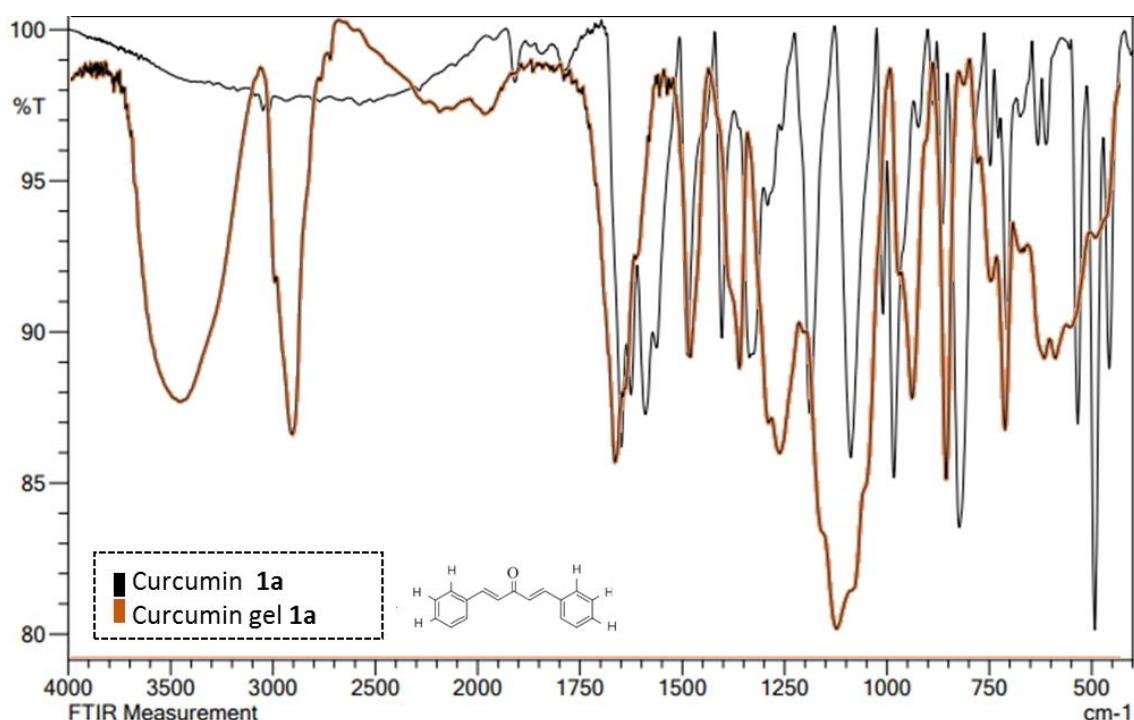
Formation of GelCurAgs from the synthesized curcumins, silver nanoparticles, POX 450 polymer and carrageenan could be initially visualized from the color change of the solid obtained at the end of the synthesis process. GelCurAgs had varied colors from white, to light yellow and dark yellow depending on the precursor curcumin which differed substantially from pure curcumins. Finally, the GelCurAgs from the 1e had a dark orange color while the 1f – sample without curcumin – had a light orange color.

Ultraviolet-Visible Spectroscopy analysis indicated the presence of bands in the region from 220 to 280 nm in all spectra. These bands may be related to the components that correspond to the silver nanoparticles, carrageenan and polymer nanoparticles of the microstructures. Generally, the maximum absorption band occurred at 244 nm. In turn, the presence of curcumins in the samples could be seen through broad bands that can be observed between 280 nm to 500 nm depending on the product incorporated into GelCurAg. The correlation of these bands with the presence of curcumins in GelCurAgs can potentially be done since bands between 280 nm and 500 nm were not found in 1f which was the sample without curcumins.

Infrared Spectroscopy analysis indicated the presence of distinct bands between curcumins and their respective GelCurAgs. This is probably due to the incorporation of other constituents in the sample that include the polymer, carrageenan

and silver nanoparticles. In this sense, for curcumin 1a and its respective GelCurAg, the presence of carbonyl bands ( $\text{C}=\text{O}$ ) at  $1650 \text{ cm}^{-1}$ , double bond bands ( $\text{C}=\text{C}$ ) close to  $3000 \text{ cm}^{-1}$  and  $1600 \text{ cm}^{-1}$  can be seen, as well as carbon-oxygen ( $\text{C}-\text{O}$ ) stretching close to  $1100 \text{ cm}^{-1}$  in both samples. In the case of GelCurAg, it was possible to observe the presence of a hydroxyl band ( $\text{O}-\text{H}$ ) at  $3500 \text{ cm}^{-1}$ , probably related to the incorporation of carrageenan in the structure (Figure 1).

**Figure 1.** Infrared spectra of microstructure 1a.



The interpretation of the other curcumin spectra and their respective GelCurAg was similar to that of curcumin 1a and its respective GelCurAg. The main differences found are due to the insertion of different chemical groups in the different curcumins evaluated. In this sense, the band close to  $550 \text{ cm}^{-1}$  could indicate the presence of carbon-chlorine stretching in the samples containing curcumins 1b and 1d. In turn, it can observe the carbon-fluorine stretching in sample 1c close to  $1050 \text{ cm}^{-1}$ .

X-Ray Scattering Spectroscopy analysis indicated a prevalence of elements including potassium (49.78 – 52%), chlorine (19.36 – 24.35%), calcium (16.97 – 18.46%) and sulfur (8.90 – 10%) probably coming from the polymer and carrageenan that coat the outside of GelCurAg (Table 2). It should also be noted that there was a

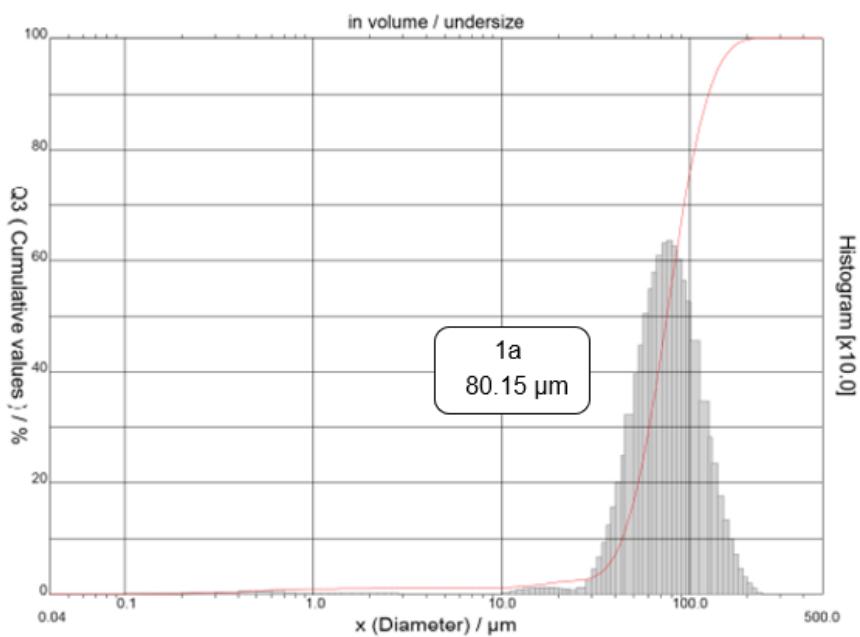
minority presence of several elements that were probably found due to slight impurities in the initial products or reagents used during the synthesis. Finally, it was not possible to observe the presence of silver from the nanoparticles, which can probably be explained because the nanoparticles are found inside the GelCurAg together with the curcumin.

**Table 2.** Element profile by X-Ray Spectroscopy of the synthesized GelCurAgs.

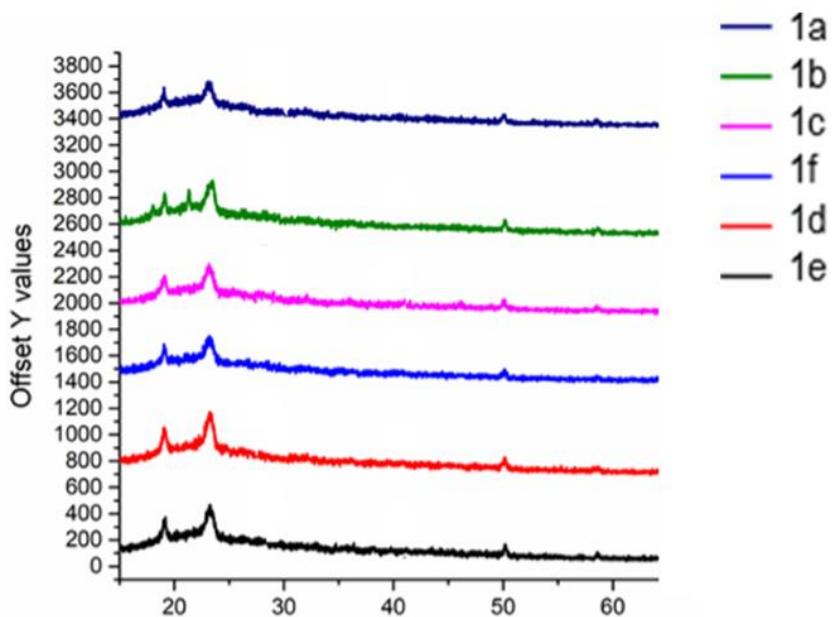
<b>Element</b>	<b>Sample</b>					
	<b>1a</b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>	<b>1d</b>	<b>1e</b>	<b>1f</b>
<b>K</b>	52%	49,78%	51,70%	49,54%	51,79%	51,33%
<b>Cl</b>	20%	23,50%	20,27%	24,35%	19,36%	20,34%
<b>Ca</b>	18%	16,97%	17,58%	16,49%	18,46%	18,04%
<b>S</b>	10%	9,31%	9,94%	8,90%	9,47%	9,92%
<b>Ag</b>	0,28%	0,25%	0,22%	0,36%	0,67%	0,19%
<b>Fe</b>	0,12%	0,12%	0,13%	0,20%	0,13%	0,10%
<b>Cu</b>	0,05%	0,05%	0,04%	0,05%	0,07%	0,04%
<b>Br</b>	0,02%	0,02%	0,02%	0,03%	0,05%	0,02%

Particle size analysis of the synthesized GelCurAgs indicated that the samples had an average size ranging from 80.15 µm to 80.47 µm having similar sizes among the microstructures. Evaluation of histograms also showed that there was an adequate distribution of the different particle sizes found in the samples, since most of them had a size close to the average value found (Figure 2). X-Ray Diffraction results indicated the presence of peaks around 20° and 25° as well as at 50° which indicated the presence of silver in the microstructures.

**Figure 2.** Particle size distribution of microstructure 1a by Laser Diffractometry analysis.



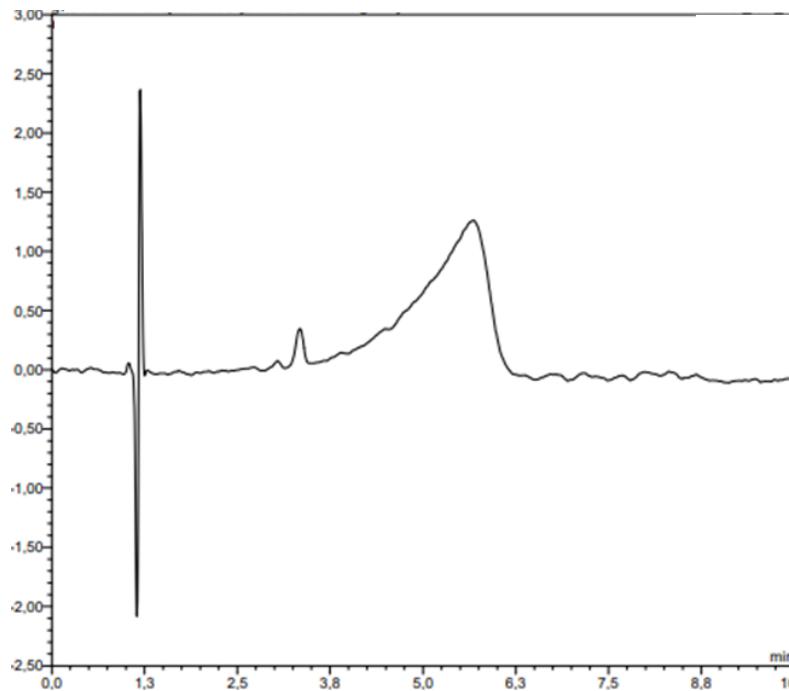
**Figure 3.** Results of X-Ray Diffraction of the studied microstructures.



GelCurAgs were evaluated by High Pressure Liquid Chromatography in order to assess the presence of their constituents in the sample. In this sense, during the 1f analysis, it was not possible to detect any chromatographic peak according to the parameters used. Thus, the presence of silver nanoparticles, carrageenan and polymer could not be observed in this analysis. On the other hand, it was possible to verify the incorporation of curcumin in the samples from the presence of chromatographic peaks.

In general, chromatographic analysis showed the presence of peaks between 1.5 min and 6.4 min which varied according to the curcumin present in the structure. It is also worth noting that all analyzes with the exception of GelCurAg containing curcumin 1a showed only one peak in its chromatogram. The presence of two peaks in the chromatogram of GelCurAg containing curcumin 1a can potentially be explained by the presence of GelCurAgs containing different isomers of curcumin (Figure 4).

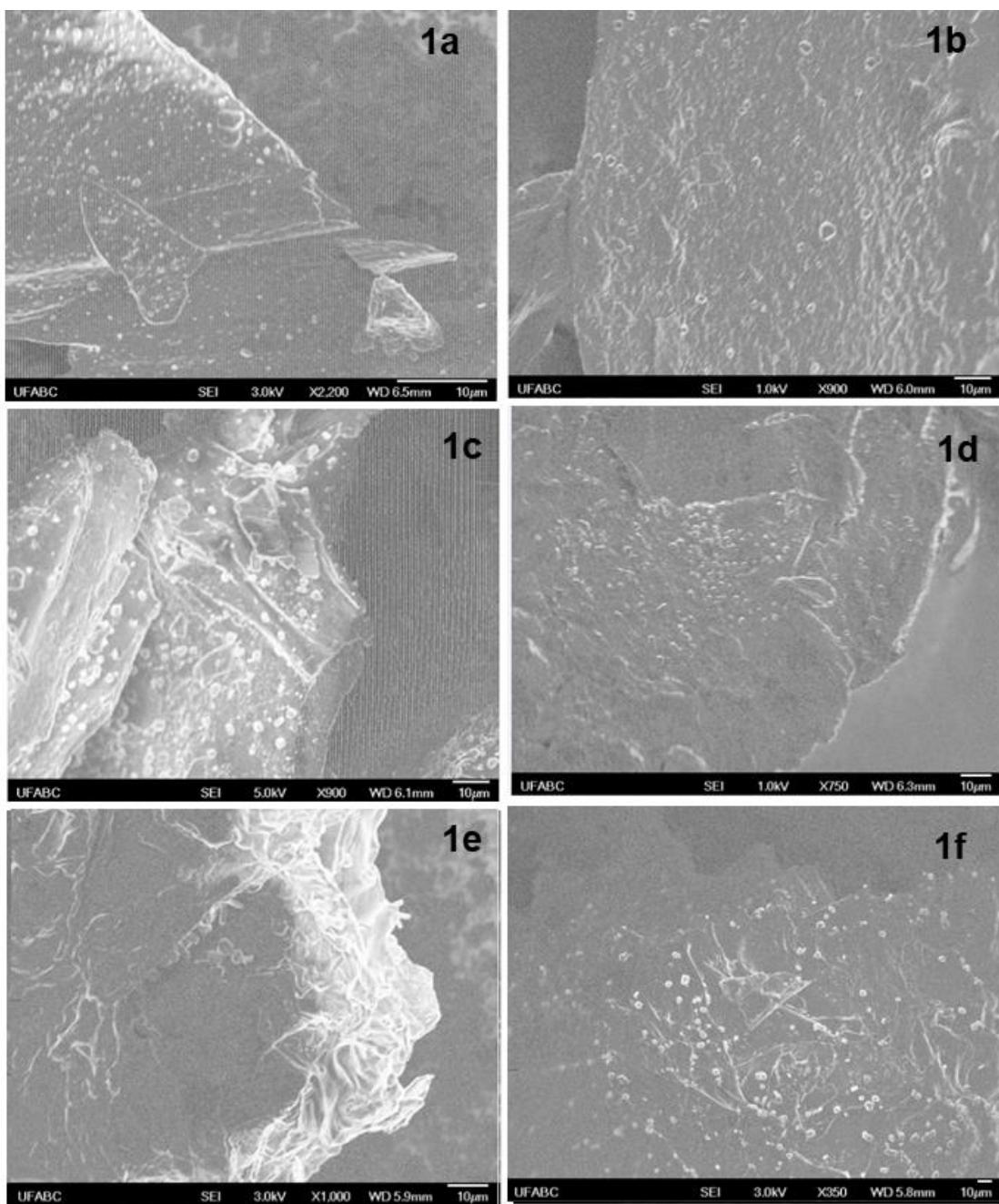
**Figure 4.** Chromatogram of microstructure 1a.



In order to verify the morphology and size of the particles, an analysis by Scanning Electron Microscopy was carried out, which demonstrated that the samples had an irregular spherical shape. It was also possible to observe that the samples aggregated in structures in the form of planar flakes. It should be noted that all samples

had a similar morphology, which indicates that there was formation of the outer layer containing the polymer and carrageenan, which involved the content of AgNPs and curcumins (Figure 5).

**Figure 5.** Results of Microscope Electron Microscopy of the studied microstructures.



Based on the scales obtained during the analysis, it can also be seen that structures in the shape of irregular spheres are probably on a nanometric scale. On the other hand, the association of materials in the form of planar flakes increased their

size in a way that these structures already presented sizes in the micrometric order. These results corroborate previous analyzes carried out using a laser diffractometer, which allowed the identification of an average particle size of around 80 µm.

### 3.2. Antioxidant activity

The DPPH assay indicated that the GelCurAgs tested showed a considerable amount of antioxidant activity (Table 3). According to GelCurAg, there were mild variations of antioxidant activity from the change in sample concentration. In this sense, 1a showed a variation of  $61.35 \pm 0.05\%$  at  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  to  $67.95 \pm 0.15\%$  at  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ . A mild variation according to changes in concentration was also observed for 1c. On the other hand, 1b showed a considerable change in antioxidant activity, having a DPPH radical inhibition of  $46.35 \pm 0.85\%$  at  $0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$  reaching  $62.9 \pm 0.5\%$  at  $10 \text{ mg. mL}^{-1}$ . It should be noted that ascorbic acid was used as a positive control for the tests, which showed total antioxidant activity at all concentrations evaluated.

For sample 1d, there were also mild variations in antioxidant activity with varying concentrations tested ( $60.85 \pm 0.45\%$  -  $.56.45 \pm 0.05\%$ ). On the other hand, sample 1e which contained the curcumin standard showed the most expressive results for antioxidant activity. At the concentration of  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ , the sample showed activity of  $93.95 \pm 0.05\%$  reaching  $67.3 \pm 0.1\%$  from  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  onwards. Finally, 1f that did not contain curcumin showed little variation in antioxidant activity ( $61.8 \pm 0.2\%$  -  $54.95 \pm 0.15\%$ ).

**Table 3.** Antioxidant evaluation of the synthesized microstructures.

Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> ) ¹)	Sample					
	1a (%)	1b (%)	1c (%)	1d (%)	1e (%)	1f (%)
10	67,95 ± 0,15 <sup>a</sup>	68 ± 0,2 <sup>a</sup>	62,9 ± 0,5 <sup>b</sup>	60,85 ± 0,45 <sup>c</sup>	93,95 ± 0,05 <sup>d</sup>	61,8 ± 0,2 <sup>c</sup>
5	62,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	67,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	62,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	60,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	86,2 ± 0,7 <sup>e</sup>	60,15 ± 0,25 <sup>c</sup>
2,5	62,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	56,15 ± 0,65 <sup>f</sup>	62,05 ± 0,05 <sup>b</sup>	56,45 ± 0,05 <sup>f</sup>	75,2 ± 0,4 <sup>g</sup>	58,8 ± 0,6 <sup>cf</sup>
1	61,35 ± 0,05 <sup>bc</sup>	50,45 ± 0,25 <sup>h</sup>	61,65 ± 0,25 <sup>bc</sup>	57,15 ± 0,15 <sup>f</sup>	67,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	58,85 ± 0,25 <sup>cf</sup>
0,5	61,45 ± 0,35 <sup>bc</sup>	46,35 ± 0,85 <sup>i</sup>	61,85 ± 0,45 <sup>bc</sup>	59,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	62,05 ± 0,05 <sup>bc</sup>	54,95 ± 0,15 <sup>j</sup>

Note: Distinct superscripts indicate significant differences in the results ( $\alpha \geq 0.005$ ).

The evaluation of the isolated curcumins showed that the molecules had an antioxidant activity that varied between  $55.8 \pm 0.30\%$  and  $75.80 \pm 0.10\%$  for samples 1a, 1b, 1c and 1d. It should be noted that there were significant differences between the different concentrations tested, but the variation was not very expressive when compared to 1e. In the case of this sample, the antioxidant activity was high, reaching  $96.95 \pm 0.15\%$  at a concentration of  $0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$ . It is also possible to identify that for 1e there was probably a pro-oxidant effect from the increase in concentration since the DPPH radical inhibition reached levels of  $85.85 \pm 0.35\%$  at  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

Comparing the results of antioxidant activity between isolated curcumins and GelCuAg, it can be seen that there were different behaviors between the samples. In this sense, for 1a no considerable differences were observed while for 1b there was a negative variation in the stabilization of the DPPH radical mainly in concentrations between  $0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$  to  $2.5 \text{ mg.mL}^{-1}$ . For samples 1c and 1d, there was similarity in antioxidant activity at the lowest concentrations tested, however there was a decrease in activity at higher concentrations of GelCurAgs. For 1e, there was also a decrease in antioxidant activity at the lowest concentrations tested for GelCurAgs, however there was an improvement in antioxidant activity at higher concentrations of GelCurAgs when compared with isolated curcumin (Table 4).

**Table 4.** Antioxidant evaluation of isolated curcumin analogues.

Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )	Sample					
	1)	1a (%)	1b (%)	1c (%)	1d (%)	1e (%)
10		68,65 ± 0,15 <sup>a</sup>	74,15 ± 0,45 <sup>b</sup>	74,85 ± 0,15 <sup>b</sup>	73,10 ± 0,30 <sup>b</sup>	85,85 ± 0,35 <sup>c</sup>
5		60,20 ± 0,90 <sup>d</sup>	54,90 ± 0,50 <sup>e</sup>	75,80 ± 0,10 <sup>b</sup>	69,40 ± 0,10 <sup>a</sup>	91,45 ± 0,25 <sup>d</sup>
2,5		58,00 ± 0,50 <sup>f</sup>	55,8 ± 0,30 <sup>e</sup>	75,10 ± 0,10 <sup>b</sup>	69,30 ± 0,10 <sup>a</sup>	93,35 ± 0,35 <sup>d</sup>
1		57,95 ± 0,05 <sup>f</sup>	59,15 ± 0,05 <sup>d</sup>	58,35 ± 0,25 <sup>df</sup>	59,65 ± 0,25 <sup>df</sup>	96,15 ± 0,15 <sup>g</sup>
0,5		59,70 ± 0,10 <sup>df</sup>	59,90 ± 0,20 <sup>df</sup>	59,40 ± 0,40 <sup>df</sup>	59,15 ± 0,15 <sup>df</sup>	96,95 ± 0,15 <sup>g</sup>

Note: Distinct superscripts indicate significant differences in the results ( $\alpha \geq 0.005$ ).

#### **4. Discussion**

Formation of GelCurAg could be observed since the starting materials had light colors ranging from transparent to light yellow and over time the reaction mixture turned to brownish colors, which indicated the formation of GelCurAg according to Wan et al., 2021. This color change could be due to the reduction of the silver ion which occurs through hydroxyl and carboxylic acid groups that are present in carrageenan. These polar groups probably played a role in reducing and stabilizing silver ions forming AgNPs (GÜN GÖK et al., 2021).

Comparing the results obtained in this study with the work of Jaffar et al., 2023 it was not possible to observe the presence of the band corresponding to carrageenan, which according to Jaffar et al. (2013) was around 420 nm. Among the reasons that can explain this difference in results are the different composition of the GelCurAg tested and the distinct concentrations evaluated both works. On the other hand, the study of Khanh et al. (2019) had similar results to those identified in the current work. In this sense, there were no bands observed for the polymer and carrageenan at 450 nm, but there were bands related to curcumin in the range of 400-450 nm which was similar to the observed the current study. Small variations may be related to the different types of curcumin that were used in the work.

Regarding the results obtained by Infrared Spectroscopy, it can be observed the presence of several bands related to polar groups which could indicate the formation of GelCurAg containing POX-407, carrageenan, AgNPs and curcumin. Such observations were also similarly identified in the literature (ELSUPIKHE et al., 2014). It is worth noting that chemical stretches found for silver-oxygen in the  $500\text{ cm}^{-1}$  were not found in the study, probably because of the interference from other bands of the constituents of the sample. However, it was possible to observe the presence of the stretching of the O-H group present in the composition of carrageenan and also identified in the literature.

According to a study reported by Jaffar and collaborators (2023), the resulting SEM images showed that GelCuAg had a spherical morphology with an average size of 670 nm. In addition, the research showed that the obtained nanoparticles presented a shape similar to flowers with crossed and random lamellar petals with a size of 50 nm thick. These results partially agree with the morphology of the microstructures found in the current study. Changes in sample morphology can be associated to several physico-chemical parameters that includ the drying process, type of organic

solvents of alcohols and level of aggregation. According to Lyu et al. (2019) the synthesis of structures containing amylose, AgNPs and curcumin resulted in particles smaller than 1 mm which also agree with the study as samples were found in the micrometer to nanometer scale.

In addition, the recent work by Nguyen et al. (2022) also reported that AgNPs presented a morphology of flowers similar to rolls of wool and that depending on the solvent used for synthesis, aggregation and size alteration may occur, which in the case of their work ranged from 280 to 700 nm. The crystallographic results performed on GelCurAg in comparison with curcumin showed the absence of sharp peaks, which indicates obtaining GelCurAg and suggesting its encapsulation of the molecule in an amorphous way, in which these data coincided with those found by Khanh et al. (2019).

Regarding antioxidant activity, results obtained in this work agreed with the report of Alves et al. (2018) who carried out an association of silver nanoparticles, curcumin and polymer P407 having an activity at a maximum level of 60% which coincided with the results obtained in this work. According to the authors, there was a variation between the antioxidant activity according to the time of exposure of the sample to the DPPH radical. This can probably be explained by the fact that it presents different levels of GelCurAg release from the formulation where it acts as a releaser of this molecule.

Previous studies showed that the antioxidant activity of curcumin as well as GelCurAgs is dose-dependent, so that there was an increase in biological activity with increasing concentrations of the biomaterial (KHANH et al., 2019; CERVEIRA et al., 2021). In this sense, the association of curcumin in the microstructures enabled a stabilization of the DPPH radical generally at levels around 60%, which is in line with data previously reported in the literature (CERVEIRA et al., 2021).

The use of poloxamer (P407) was of paramount importance for the formation of GelCurAg, given that thermosensitive gel-forming formulations are considered a controlled drug administration system and this polymer has biocompatible properties and its solution-gel transition at physiological temperature. Thus, as it is an amphiphilic copolymer where it is a non-ionic triblock composed of a central hydrophobic chain of polypropylene oxide flanked by two hydrophilic chains of polyethylene oxide, it has a viscosity that is important for gel formation at temperatures of 30 and 50°C and when used at low temperature allows the molecules or nanoparticles of the drug to disperse and remain sufficiently stabilized as it allows to solubilize hydrophobic drugs with an

amphiphilic nature such as curcumin. In a recent study, SEZGIN et al. (2007) reported the solubilization behavior of three poorly water-soluble anticancer agents in some poloxamers and suggested that these systems are effective carriers of new drugs (ALVES et al., 2018).

The antioxidant activity is due to the presence of curcumin, as well as the synergism with AgNPs, which may explain the increased antioxidant result through their junction. It should be noted that the values obtained for antioxidant activity for formulations containing curcumin and AgNPs or only AgNPs varied between 50 -70% of antioxidant activity using ABTS radical in concentrations of 0.125 mg/ml which converge in the same range that were found in the present study (LYU et al., 2019).

## **Conclusion**

As it could be seen, synthesis and characterization of curcumin analogue and their related microstructures containing silver nanoparticles, carrageenan and polymer P450 was successful. Furthermore, it was possible to observe that the samples had noticeable antioxidant activity. Therefore, microstructures composed of curcumins could be promising biomaterials with important biological actions that could be used in further pharmaceutical, biotechnological and medical applications.

## **References**

ALVES, T. F.; CHAUD, M. V.; GROTTO, D.; JOZALA, A. F.; PANDIT, R.; RAI, M.; DOS SANTOS, C. A. **Association of Silver Nanoparticles and Curcumin Solid Dispersion:** Antimicrobial and Antioxidant Properties. Pharm SciTech, V. 19, P. 225-231, 2018.

BIGDELI, M.A.; MAHDAVINIA, G.H.; JAFARI, S. H.; HAZARKHANI, H. **Wet 2,4,6-trichloro[1,3,5] triazine (TCT) an efficient catalyst for synthesis of α, α'-bis(substituted-benzylidene) cycloalkanones under solvent-free conditions,** Catal. Commun, v. 8, p. 2229-2231, 2007.

CERVEIRA, M. M.; VIANNA, H. S.; FERRER, K. E. M.; ROSA, B. N.; DE PEREIRA, C. M. P.; BALDISSERA M. D.; LOPES, L. Q. S.; RECH, V. C.; GIONGO, J. L.;

VAUCHER, R. A. **Bioprospection of novel synthetic monocurcuminoids: Antioxidant, antimicrobial, and in vitro cytotoxic activities.** Biom. & Pharm., v. 133, 2021.

DA ROCHA, S. R.; HEYDER, R. S.; BIELSKI, E. R.; GUO, A.; STEINMAURER, M.; REINEKE, J. J. **Inhalation drug products containing nanomaterials.** Pharm. Inhal. Aerosol. Technol, v. 2, p. 403–412, 2019.

DA SILVA, C. C.; PACHECO, B. S.; DAS NEVES, R. N.; ALVES, M. S. D.; LOPES, A. S.; MOURA, S.; BORSUK, S.; DE PEREIRA, C. M. P. **Antiparasitic activity of synthetic curcumin monocarbonyl analogues against Trichomonas vaginalis.** Biomed. Pharmacother, v. 111, p. 367-377, 2019.

ELSUPIKHE, R. F.; SHAMELI, K.; AHMAD, M.B.; MISSON, M.; LENGGORO, W. **Sonochemical method for the synthesis of silver nanoparticles in  $\beta$ -carrageenan from silver salt at different concentrations.** Research on Chemical Intermediates, 2014.

GÜN GÖK, Z.; YİĞİTOĞLU, M.; KARAYEL, M. **Synthesis of carrageenan coated silver nanoparticles by an easy green method and their characterization and antimicrobial activities.** Research on Chemical Intermediates, v. 47, p 1843-1864, 2021.

JAFFAR, S. S.; SASLLAH, S.; MISSON, M.; SIDDIQUEE, S.; ROSLAN, J.; LENGGORO, W. **Green Synthesis of Flower-Like Carrageenan-Silver Nanoparticles and Elucidation of Its Physicochemical and Antibacterial Properties.** Molecules, v. 28, p 907, 2023.

JORDAN, B. C.; KUMAR, B.; THILAGAVATHI, R.; YADHAV, A.; KUMAR, P.; SELVAM, C. **Synthesis, evaluation of cytotoxic properties of promising curcumin analogues and investigation of possible molecular mechanisms.** Chemical Biology & Drug Design, v. 91, n. 1, p. 332-337, 2018.

KHANH, L. L.; TRUC, N. T.; DAT, N. T.; NGIH, N. T. P.; TOI, V. V.; THU HOAI, N. T. **Gelatin-stabilized composites of silver nanoparticles and curcumin: characterization, antibacterial and antioxidant study.** Science and Technology of Advanced Materials, v. 20, n 1, p. 276-290, 2019.

KIM, B. R.; PARK, J-Y.; JEONG, H. J.; KWON, H-J.; PARK, S-J.; LEE, W. S. **Design, synthesis, and evaluation of curcumin analogues as potential inhibitors of bacterial sialidase.** Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, v. 33, n. 1, p. 1256-1265, 2018.

LEOW, P.C.; BAHETY, P.; BOON, C.P.; LEE, C.Y.; TAN, K.L.; YANG, T. **Functionalized curcumin analogs as potent modulators of the Wnt/beta-catenin signaling pathway.** Eur. J. Med. Chem, v. 71, p. 67–80, 2014.

LYU, Y.; YU, M.; LIU, Q.; ZHANG, Q.; LIU, Z.; TIAN, Y.; LI, D. Synthesis of silver nanoparticles using oxidized amylose and combination with curcumin for enhanced antibacterial activity, Carbohydrate Polymers, 2019.

NAGARGOJE, A. A.; AKOLKAR, S. V.; SUBHEDAR, S. S.; SHAIKH, M. H.; SANGSHETTI, J. N.; KHEDKAR, V. M.; SHINGATE, B. B. **Propargylated monocarbonyl curcumin analogues: synthesis, bioevaluation and molecular docking study.** Medicinal Chemistry Research, v. 29, n. 10, p. 1902-1913, 2020.

NGUYEN, M.C.; NGAN LUONG, T.Q.; VU, T.T.; ANH, C.T.; DAO, T.C. **Synthesis of wool roll-like silver nanoflowers in an ethanol/water mixture and their application to detect traces of the fungicide carbendazim by SERS technique.** RSC Adv, v. 12, p. 11583-11590, 2022.

NOUREDDIN, S. A.; EL-SHISHTAWY, R. M.; AL-FOOTY, K. O. **Curcumin analogues and their hybrid molecules as multifunctional drugs.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 182, p. 111631, 2019.

PACHECO, B. S.; DA SILVA, C. C., DA ROSA, B. N.; MARIOTTI, K. C.; NICOLODI, C.; POLETTI, T.; SEGATTO, N. V.; COLLARES, T.; SEIXAS, F. K.; PANIZ, O.;

CAREÑO, N. L. V.; PEREIRA, C. M. P. **Monofunctional curcumin analogues: evaluation of green and safe developers of latent fingerprints.** Chemical Papers, v. 75, n. 7, p. 3119-3129, 2021.

RAGHAVENDRA, G. M.; JAYARAMUDU, T.; VARAPRASAD, K.; RAMESH, S.; RAJU, K. M. **Microbial resistant nanocurcumin-gelatin-cellulose fibers for advanced medical applications.** RSC Advances, v.4, p. 3494-501, 2014.

SEZGIN Z, YUKSEL N, BAYKARA T. **Investigation of pluronic and PEG-PE micelles as carriers of meso-tetraphenyl porphine for oral administration.** Int J Pharm, v. 332, p. 161–167, 2007.

WANG, Z. S.; CHEN, L. Z.; ZHOU, H. P.; CHEN, F. H. **Diarylpentadienone derivatives (curcumin analogues):** Synthesis and anti-inflammatory activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 27, n. 8, p. 1803-1807, 2017.

WEBER, W.M.; HUNSAKER, L.A.; ABCOUWER, S.F.; DECK, L.M.; VANDER JAGT, D.L. **Antioxidant activities of curcumin and related enones,** Bioorg. Med. Chem. Lett, v. 13, p. 3811–3820, 2005.

WEBER, W.M.; HUNSAKER, L.A.; ROYBAL, C.N.; BOBROVNIKOVA-MARJON, E.V.; ABCOUWER, S.F.; ROYER, R.E.; DECK, L.M.; VANDER, D.L. **Activation of NFkB is inhibited by curcumin and related enones,** Bioorg. Med. Chem. Lett, v. 14, p. 2450-2461, 2006.

SEZGIN Z, YUKSEL N, BAYKARA T. **Investigation of pluronic and PEG-PE micelles as carriers of meso-tetraphenyl porphine for oral administration.** Int J Pharm, v. 332, p. 161–167, 2007.

DA ROCHA S. R.; HEYDER R. S.; BIELSKI E. R.; GUO A. STEINMAURER M.; REINEKE J. J. **Inhalation drug products containing nanomaterials.** Pharm. Inhal. Aerosol. Technol, v. 2, p. 403–412, 2019.

## 6 Considerações Finais

Neste trabalho, foi possível observar que a síntese dos análogos da curcumina foi eficiente, bem como a preparação dos GelCurAgs na qual foi evidenciado por diversos métodos de caracterização que realmente houve a formação desta microestrutura e finalmente que os géis se apresentaram como um antioxidante promissor diante a teste de DPPH.

Dessa forma, o nanoencapsulamento é uma das maneiras encontradas para elevar os resultados dessa molécula. Assim, a pesquisa realizada explana um pouco acerca do uso das nanopartículas de prata. As suas propriedades, bem como a sua utilização extensa é ampliado pelo seu tamanho diminuto. Além disso, evidencia-se que o caminho das nanopartículas de prata é longo e, por esse motivo, mais estudos precisam surgir

## 7 Referências

- ALVES, T. F.; CHAUD, M. V.; GROTTO, D.; JOZALA, A. F.; PANDIT, R.; RAI, M.; DOS SANTOS, C. A. **Association of Silver Nanoparticles and Curcumin Solid Dispersion:** Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Pharm SciTech*, V. 19, P. 225-231, 2018.
- ARAÚJO, F. O. **Atividade antioxidante e anti-inflamatória do gel transdérmico de curcumina em modelos para doença inflamatória intestinal.** Tese (Doutorado em Bioquímica Aplicada) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2021.
- BHUYAR, P.; SUNDARARAJU, S.; RAMARAJ, R.; MANIAM, G.P.; GOVINDAN, N. **Synthesis of silver nanoparticles using marine macroalgae Padina sp. and its antibacterial activity towards pathogenic bacteria.** *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 9, n. 1, p. 3, 2020.
- BIGDELI, M.A.; MAHDavinia, G.H.; JAFARI, S. H.; HAZARKHANI, H. **Wet 2,4,6-trichloro[1,3,5] triazine (TCT) an efficient catalyst for synthesis of α, α'-bis(substituted-benzylidene) cycloalkanones under solvent-free conditions,** *Catal. Commun*, v. 8, p. 2229-2231, 2007.
- BURDUSEL, A.C.; GHERASIM, O.; GRUMEZESCU, A.M.; MOGOANTĂ, L.; FICAI, A.; ANDRONESCU, E. **Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview.** *Nanomaterials*, v. 8, p. 681, 2018.
- CERVEIRA, M. M.; VIANNA, H. S.; FERRER, K. E. M.; ROSA, B. N.; DE PEREIRA, C. M. P.; BALDISSERA M. D.; LOPES, L. Q. S.; RECH, V. C.; GIONGO, J. L.; VAUCHER, R. A. **Bioprospection of novel synthetic monocurcuminoids: Antioxidant, antimicrobial, and in vitro cytotoxic activities.** *Biom. & Pharm.*, v. 133, 2021.
- CHRISTOPHER, J. M. **Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse.** *Methods Mol. Biol.* v. 225, p. 115, 2003.
- DA ROCHA, S. R.; HEYDER, R. S.; BIELSKI, E. R.; GUO, A.; STEINMAURER, M.; REINEKE, J. J. **Inhalation drug products containing nanomaterials.** *Pharm. Inhal. Aerosol. Technol*, v. 2, p. 403–412, 2019.
- DA SILVA, C. C. **Análogos monocarbonílicos sintéticos da curcumina:** obtenção e avaliação antiparasitária contra Trichomonas vaginalis. Tese (Doutorado em Bioquímica e Bioprospecção) – Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

DA SILVA, C. C.; PACHECO, B. S.; DAS NEVES, R. N.; ALVES, M. S. D.; LOPES, A. S.; MOURA, S.; BORSUK, S.; DE PEREIRA, C. M. P. **Antiparasitic activity of synthetic curcumin monocarbonyl analogues against Trichomonas vaginalis.** Biomed. Pharmacother, v. 111, p. 367-377, 2019.

DOS SANTOS, A. C. M.; AKKARI, A. C. S.; FERREIRA, I. R. S.; MARUYAMA, C. R.; PASCOLI, M.; GUILHERME, V. A.; DE PAULA, E.; FRACETO, L. F.; DE LIMA, R.; MELO, P. S. **Poloxamer-based binary hydrogels for delivering tramadol hydrochloride: sol-gel transition studies, dissolution-release kinetics, in vitro toxicity, and pharmacological evaluation.** Int. J. Nanomedicine, v. 10, p. 391-401, 2015.

DURAN, N.; MARCATO, P. D.; CONTI, R.; ALVES, O. L.; COSTA, F. T.M; BROCCHI, M. **Potential Use of Silver Nanoparticles on Pathogenic Bacteria, their Toxicity and Possible Mechanisms of Action.** Universidade Estadual de Campinas. v. 21, n 6, p. 949-959, 2010.

ELSUPIKHE, R. F.; SHAMELI, K.; AHMAD, M.B.; MISSON, M.; LENGGORO, W. **Sonochemical method for the synthesis of silver nanoparticles in  $\beta$ -carrageenan from silver salt at different concentrations.** Research on Chemical Intermediates, 2014.

ELSUPIKHE, R.F.; SHAMELI, K.; AHMAD, M.B.; IBRAHIM, N.A.; ZAINUDIN , N. **Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of  $\kappa$ -carrageenan.** Nanoscale Res. Lett. v. 10, p. 302, 2015.

ESATBEYOGLU, T.; HUEBBE, P.; ERNST, I. M. A.; CHIN, D.; WAGNER, A. E.; RIMBACH, G. **Curcumin-from molecule to biological function.** Angewandte Chemie - International Edition, v. 51, n. 22, p. 5308-5332, 2012.

FADUS, M.C.; LAU, C.; BIKHCHANDANI, J.; LYNCH, H.T. **Curcumin: An age-old antiinflammatory and anti-neoplastic agent.** Journal of Traditional and complementary Medicine. v. 7, p. 339-346, 2017.

GIULIANO, E.; PAOLINO, D.; FRESTA, M.; COSCO, D. **Drug-Loaded Biocompatible Nanocarriers Embedded in Poloxamer 407 Hydrogels as Therapeutic Formulations.** Medicines (Basel), v. 6, p. 7, 2018.

GONZÁLEZ-BALLESTEROS, N.; RODRIGUES-ARGÜELES, M. C.; PRADO-LÓPEZ, M. L.; GRIMALDI, M.; CAVAZZA, A.; NASI, L.; SALVIATI, G.; BIGI, F. **Macroalgae to nanoparticles: Study of *Ulva lactuca* L. role in biosynthesis of gold and silver nanoparticles and of their cytotoxicity on colon cancer cell lines.** Materials Science and Engineering: C, v. 97, p. 498-509, 2019.

GUPTA, S. C.; KISMALI, G.; AGGARWAL, B. B. **Curcumin, a component of turmeric: From farm to pharmacy.** BioFactors, v. 39, n. 1, p. 2-13, 2013.

GÜN GÖK, Z.; YİĞİTOĞLU, M.; KARAYEL, M. **Synthesis of carrageenan coated silver nanoparticles by an easy green method and their characterization**

**and antimicrobial activities.** Research on Chemical Intermediates, v. 47, p 1843-1864, 2021.

HAYASHI, L. **Extração, teor e propriedades de carragenana de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva, em cultivo experimental em Ubatuba, SP.** Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Botânica) – Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

HAYASHI, L. **Contribuição à Maricultura da Alga Vermelha *Kappaphycus alvarezii* ( Rhodophyta , Solieriaceae ) para Produção de Carragenana.** Tese (Doutorado em Ciências na Área de Botânica) – Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios Ativos de Plantas Superiores.** Série de textos da Escola de Verão em Química, IV, Ed. Universidade de São Carlos, São Carlos, 2003.

HYU, T. Q.; CHUNG, P. Van; NGUYEN, T. T.; BLANCO-ANDUJAR, C.; THANH, N. T. K. **Protein A-conjugated iron oxide nanoparticles for separation of *Vibrio cholerae* from water samples.** Faraday discussions, v. 175, p. 73-82, 2014.

ITOKAWA H.; SHI, Q.; AKIYAMA, T.; MORRIS-NATSCHKE S.L.; LEE K.H. **Recent advances in the investigation of curcuminoids.** Chinese Medicine, v. 3, n. 11, 2008.

JAFFAR, S. S.; SASLLAH, S.; MISSON, M.; SIDDIQUEE, S.; ROSLAN, J.; LENGGORO, W. **Green Synthesis of Flower-Like Carrageenan-Silver Nanoparticles and Elucidation of Its Physicochemical and Antibacterial Properties.** Molecules, v. 28, p 907, 2023.

JORDAN, B. C.; KUMAR, B.; THILAGAVATHI, R.; YADHAV, A.; KUMAR, P.; SELVAM, C. **Synthesis, evaluation of cytotoxic properties of promising curcumin analogues and investigation of possible molecular mechanisms.** Chemical Biology & Drug Design, v. 91, n. 1, p. 332-337, 2018.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. **Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay.** Journal of Food Science and Technology, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KHANH, L. L.; TRUC, N. T.; DAT, N. T.; NGIH, N. T. P.; TOI, V. V.; THU HOAI, N. T. **Gelatin-stabilized composites of silver nanoparticles and curcumin: characterization, antibacterial and antioxidant study.** Science and Technology of Advanced Materials, v. 20, n 1, p. 276-290, 2019.

KIM, B. R.; PARK, J-Y.; JEONG, H. J.; KWON, H-J.; PARK, S-J.; LEE, W. S. **Design, synthesis, and evaluation of curcumin analogues as potential inhibitors of bacterial sialidase.** Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, v. 33, n. 1, p. 1256-1265, 2018.

KITA, T.; IMAI, S.; SAWADA, H.; KUMAGAI, H.; SETO, H. **The Biosynthetic Pathway of Curcuminoid in Turmeric (*Curcuma longa*) as Revealed by 13 C-Labeled Precursors.** Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, v. 72, n. 7, p. 1789–1798, 2008.

LAMPE, V.; MILOBEDZKA, J. **Studien über Curcumin.** Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, v. 46, n. 2, p. 2235-2240, 1913.

LEOW, P.C.; BAHETY, P.; BOON, C.P.; LEE, C.Y.; TAN, K.L.; YANG, T. **Functionalized curcumin analogs as potent modulators of the Wnt/beta-catenin signaling pathway.** Eur. J. Med. Chem, v. 71, p. 67–80, 2014.

LI, Q.; CHEN, J.; LUO, S.; HU, J.; HUANG, Q.; LIU, T. **Synthesis and assessment of the antioxidant and antitumor properties of asymmetric curcumin analogues.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 93, p. 461-469, 2015.

LYU, Y.; YU, M.; LIU, Q.; ZHANG, Q.; LIU, Z.; TIAN, Y.; LI, D. **Synthesis of silver nanoparticles using oxidized amylose and combination with curcumin for enhanced antibacterial activity,** Carbohydrate Polymers, 2019.

MAHMOOD, K.; ZIA, K. M.; ZUMBER, M; SALMAN, M.; ANJUM, M. N. **Recent developments in curcumin and curcumin based polymeric materials for biomedical applications:** A review. International Journal of Biological Macromolecules, v. 81, p. 877-890, 2015.

MANO, J. F.; AZEVEDO, H. S.; MALAFAYA P. B.; SOUSA R. A.; SILVA, S. S.; BOESEL L. F.; OLIVEIRA, J. M.; SANTOS, T. C.; MARQUES, A. P.; NEVES, N. M.; REIS, R. **Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine:** present status and some moving trends natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine present status and some moving trends. Journal of the Royal Society, Interface the Royal Society, v. 4, p. 999–1030, 2007.

MASSIMINO, L. C. **Nanopartículas de curcumina:** obtenção e caracterização. Dissertação (Mestrado em ciências) – Escola de engenharia de São Carlos, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, Instituto de química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

MEHRBAN, N.; SMITH, A. M.; GROVER, L. M. **evaluation of iota-carrageenan as a potential tissue engineering scaffold.** Grover School of Chemical engineering, University of Birmingham, UK. p. 1–6, 1999.

MENESESI, M. L.; Recalde, M.; MARTIN, P. L.; Pardo, A. G. **Antifungal activity of silver nanoparticles and clotrimazole against Candida spp.** B. J. Pharmaceutical Sciences, v. 58, e. 18719, 2022.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; KADIR, H. A.; HASSANDARVISH, P.; TAJIK, H.; ABUBAKAR, S.; ZANDI, K. **A Review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of Curcumin.** BioMed Research International, v. ID 186864, p. 1–12, 2014.

MOKHTARI, N.; DANESHPAJOUH, S.; SEYEDBAGHERI, S.; ATSHDHEGHAN, R.; ABDI, K.; SARKAR, S.; MINAIAN, S.; SHAHVERDI, H. R.; SHAHVERDI A. R. **Biological synthesis of very small silver nanoparticles by culture supernatant of Klebsiella pneumonia:** The effects of visible-light irradiation and the liquid mixing process. Materials Research Bulletin, v. 44, n. 6, p. 1415-1421, 2009

NAGARGOJE, A. A.; AKOLKAR, S. V.; SIDDIQUI, M. M.; BAGADE, A. V.; KODAM, K. M.; SANGSHETTI, J. N.; DAMALE, M. G.; SHINGATE, B. B. **Synthesis and evaluation of pyrazole-incorporated monocarbonyl curcumin analogues as antiproliferative and antioxidant agents.** Journal of the Chinese Chemical Society, v. 66, n. 12, p. 1658-1665, 2019.

NAGARGOJE, A. A.; AKOLKAR, S. V.; SUBHEDAR, S. S.; SHAIKH, M. H.; SANGSHETTI, J. N.; KHEDKAR, V. M.; SHINGATE, B. B. **Propargylated monocarbonyl curcumin analogues: synthesis, bioevaluation and molecular docking study.** Medicinal Chemistry Research, v. 29, n. 10, p. 1902-1913, 2020.

NGUYEN, M.C.; NGAN LUONG, T.Q.; VU, T.T.; ANH, C.T.; DAO, T.C. **Synthesis of wool roll-like silver nanoflowers in an ethanol/water mixture and their application to detect traces of the fungicide carbendazim by SERS technique.** RSC Adv, v. 12, p. 11583-11590, 2022.

NOUREDDIN, S. A.; EL-SHISHTAWY, R. M.; AL-FOOTY, K. O. **Curcumin analogues and their hybrid molecules as multifunctional drugs.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 182, p. 111631, 2019.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH:** estudo de revisão. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OSORIO-TOBÓN, J. F.; CARVALHO, P. I. N.; ROSTAGNO, M. A.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M A. A. **Extraction of curcuminoids from deflavored turmeric (*Curcuma longa L.*) using pressurized liquids:** Process integration and economic evaluation. The Journal of Supercritical Fluids, v. 95, p. 167-174, 2014.

PABON, H. J. J. **A synthesis of curcumin and related compounds.** Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, v. 83, n. 4, p. 379-386, 1964.

PACHECO, B. S.; DA SILVA, C. C., DA ROSA, B. N.; MARIOTTI, K. C.; NICOLODI, C.; POLETTI, T.; SEGATTO, N. V.; COLLARES, T.; SEIXAS, F. K.; PANIZ, O.; CAREÑO, N. L. V.; PEREIRA, C. M. P. **Monofunctional curcumin analogues: evaluation of green and safe developers of latent fingerprints.** Chemical Papers, v. 75, n. 7, p. 3119-3129, 2021.

PAGANO, E.; ROMANO, B.; IZZO, A. A.; BORRELLI, F. **The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals:** An overview of systematic reviews. *Pharmacological Research*, v. 134, p. 79-91, 2018.

PATEL, S.; PATEL, H. S.; KUNJADIYA, A.; RAO, V.; SHARMA, R. **Synthesis, characterization and Antimicrobial Activity of Poloxamer-Assisted Copper Nanoparticles:** Investigating the Effects of Different Concentrations of Poloxamer 407. *ChemistrySelect*, v. 7, n. 31, p. 507, 2022.

RAGHAVENDRA, G. M.; JAYARAMUDU, T.; VARAPRASAD, K.; RAMESH, S.; RAJU, K. M. **Microbial resistant nanocurcumin-gelatin-cellulose fibers for advanced medical applications.** *RSC Advances*, v.4, p. 3494-501, 2014.

RODE, M. P. **Avaliação da associação de células estromais multipotentes humanas a hidrogéis de carragenana para regeneração cutânea em modelo murino de excisão total.** Repositório Institucional - UFSC, 2015.

SANTOS, P. D. F. **Extração de curcumídeos e obtenção *in situ* de nanopartículas.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2018.

SILVA, F. R. F.; DORE, C. M. P. G.; MARQUES, C. T.; NASCIMENTO, M. S.; BENEVIDES, N. M. D.; ROCHA, H. A. O.; CHAVANTE, S. F.; LEITE, E. L. **Anticoagulant activity, paw edema and pleurisy induced carrageenan: Action of major types of commercial carrageenans.** *Carbohydrate Polymers*, v. 79, n. 1, p. 26-33, 2010.

SANTIAGO, V. S.; SILVA, G. P. M. RICARDO, D. D.; LIMA, M. E. F. **Curcumina, o pó do açafrão-da-terra:** introspecções sobre química e atividades biológicas. *Quim. Nova*, v. 38, n. 4, p. 538-552, 2015.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; KARISHMA, S.; VO, D-V.; JEEVANATHAM, S.; YAASHIKAA, P. R.; GEORGE, C. S. **A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications.** *Chemosphere*, v. 264, p. 128580, 2021.

SATHIYASEELAN, A.; SARAVANAKUMAR, K.; ANAND MARIADOSS, A.V.; WANG, M.H. **Biocompatible fungal chitosan encapsulated phytogenic silver nanoparticles enhanced antidiabetic, antioxidant and antibacterial activity.** *Int. J. Biol. Macromol*, v. 153, p. 63-71, 2020.

SHANKAR, S.; RHIM, J. **Preparation and characterization of agar/lignin/silver nanoparticles composite films with ultraviolet light barrier and antibacterial properties.** *Food Hydrocolloids*, v. 71, p. 76-84, 2017.

SOARES, S. E. **Phenolic acids as antioxidants.** *Revista de Nutrição*, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002.

SUETH-SANTIAGO, V.; PERON MENDES-SILVA, G.; DECOTÉ-RICARDO, D.; EDILSON FREIRE DE LIMA, M. **Curcumina, O Pó Dourado Do Açafrão-Da-Terra: Introspecções Sobre Química E Atividades Biológicas.** Química Nova, v. 38, n. 4, p. 538–552, 2015.

SUSANA, M. C. **Curcumina:** propriedades biológicas e aplicações terapêuticas. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

SOUZA, B. W. S.; CERQUEIRA, M. A.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C; MARTINS, J. T; TEIXEIRA, J. A.; COIMBRA, M. A.; VICENTE, A. A. **Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed Gracilaria birdiae.** Food Hydrocolloids, v. 27, n. 2, p. 287–292, 2012.

TOMA, H. E. **O Mundo Nanométrico:** A Dimensão do Novo Século. Degustação. 2<sup>a</sup> ed, Oficina de Textos, p.13, São Paulo, 2009.

TRONO, G. **Eucheuma and Kappaphycus:** Taxonomy and Cultivation. Bulletin of Marine Science, n. 12, p. 51–65, 1992.

VASANTHARAJ, S.; SATHIYAVIMAL, S.; SARAVANAN, M.; SENTHILKUMAR, P.; GNANASEKARAM, P.; PUGAZHENDHI, A. **Synthesis of ecofriendly copper oxide nanoparticles for fabrication over textile fabrics: Characterization of antibacterial activity and dye degradation potential.** Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 191, p. 143-149, 2019.

VEYRIES, M. L.; COUARRAZE, G; GEIGER S; AGNELY F; MASSIAS L; KUNZLI, B; FAURISSON, F; ROUVEIX, B. **Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels.** Int. J. Pharm, v. 192, p. 183-193, 1999.

VIEIRA, P. DE B.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J.; TASCA, T. **Natural and synthetic compound anti-Trichomonas vaginalis: an update review.** Parasitology Research, v. 114, n. 4, p. 1249-1261, 2015.

WACHTER, B.; SYROWATKA, M.; OBWALLER, A.; WALOCHNIK, J. **In vitro efficacy of curcumin on Trichomonas vaginalis.** Wiener Klinische Wochenschrift, v. 126, n. SUPPL.1, p. 32–36, 2014.

WAN, H.; LI, C.; MAHMUD, S.; LIU, H. **Kappa carrageenan reduced-stabilized colloidal silver nanoparticles for the degradation of toxic azo compounds.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 616, article 126225, 2021

WANG, Z. S.; CHEN, L. Z.; ZHOU, H. P.; CHEN, F. H. **Diarylpentadienone derivatives (curcumin analogues):** Synthesis and anti-inflammatory activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 27, n. 8, p. 1803-1807, 2017.

WEBER, W.M.; HUNSAKER, L.A.; ABCOUWER, S.F.; DECK, L.M.; VANDER JAGT, D.L. **Antioxidant activities of curcumin and related enones,** Bioorg. Med. Chem. Lett, v. 13, p. 3811–3820, 2005.

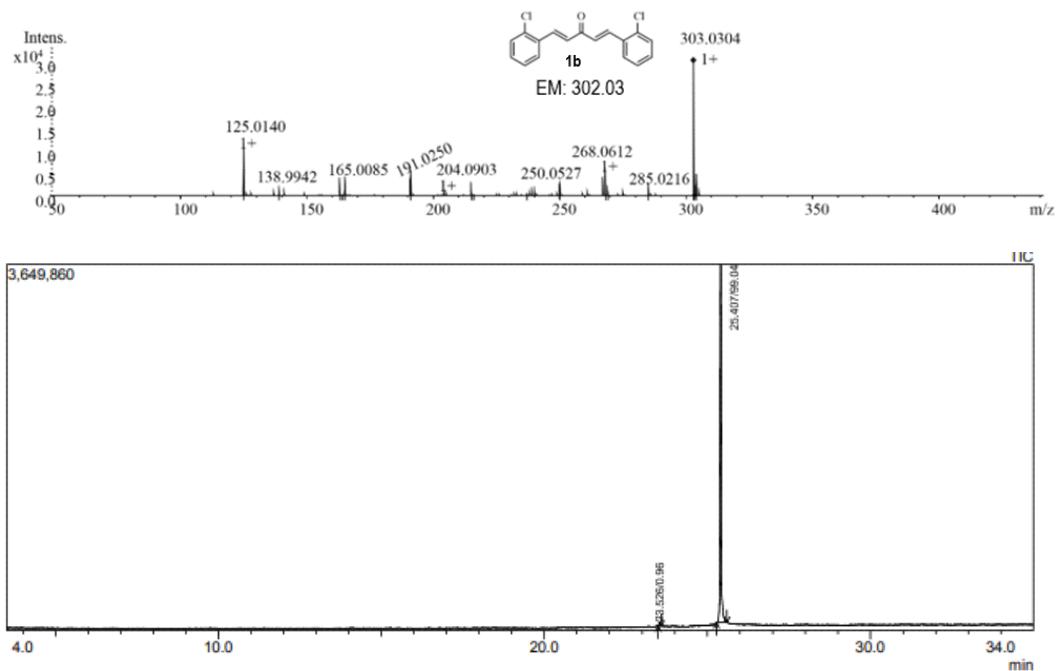
WEBER, W.M.; HUNSAKER, L.A.; ROYBAL, C.N.; BOBROVNIKOVA-MARJON, E.V.; ABCOUWER, S.F.; ROYER, R.E.; DECK, L.M.; VANDER, D.L. **Activation of NFkB is inhibited by curcumin and related enones**, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 14, p. 2450-2461, 2006.

WINK, M. **Medicinal plants**: A source of anti-parasitic secondary metabolites. *Molecules*, v. 17, n. 11, p. 12771–12791, 2012.

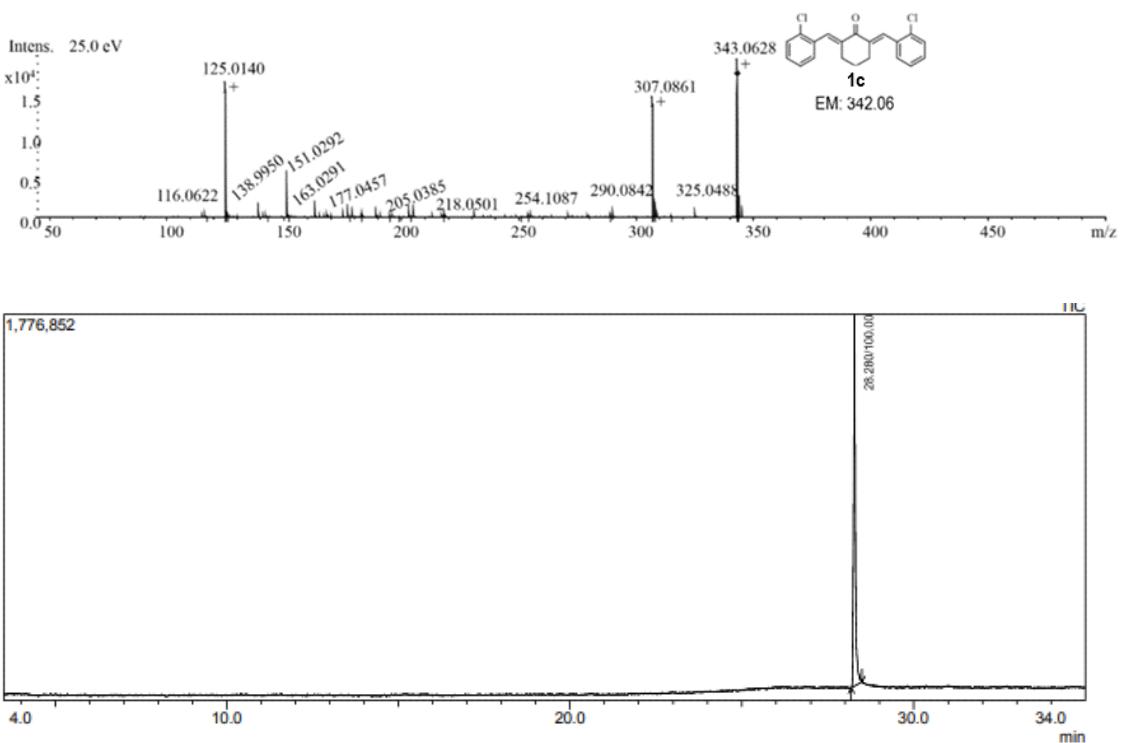
ZIA, K.M.; TABASUM, S.; NASIF, M.; SULTAN, N.; ASLAM, N.; NOREEN, A.; ZUBER, M. **A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites**. *J. Biol. Macromol.*, v. 96, p. 282-301, 2017.

ZHOU, G.; SUN, Y.; XIN, H.; ZHANG, Y.; LI, Z.; XU, Z. **In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambda-carrageenans from Chondrus ocellatus**. *Pharmacological Research*, v. 50, n. April 2002, p. 47-53, 2004.

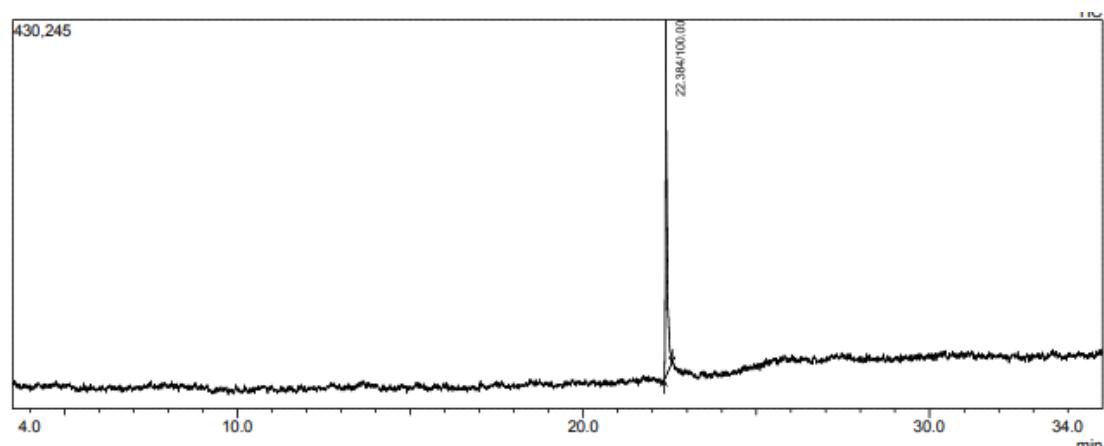
## Anexos



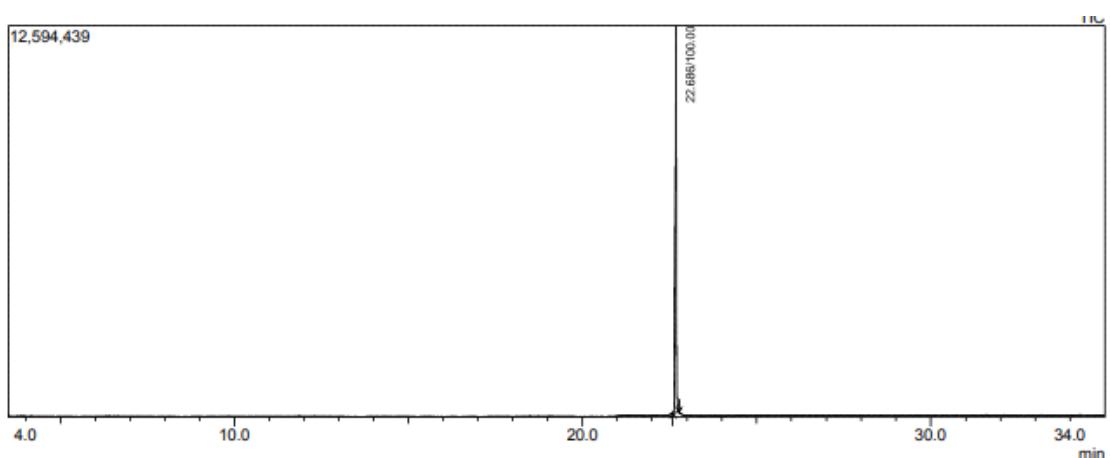
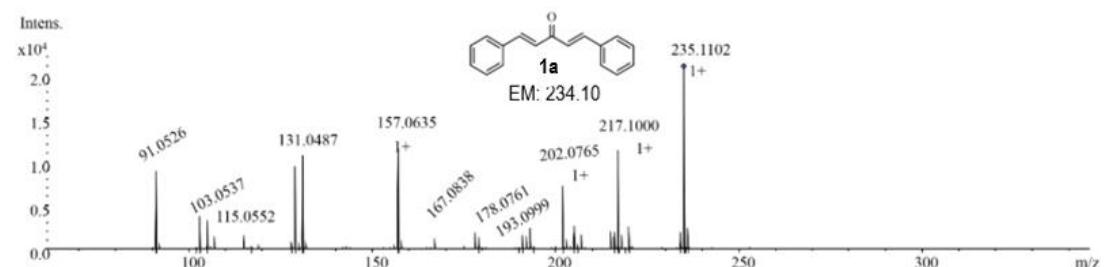
**Figura 1S.** Cromatograma obtido através da análise da curcumina 1b por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.



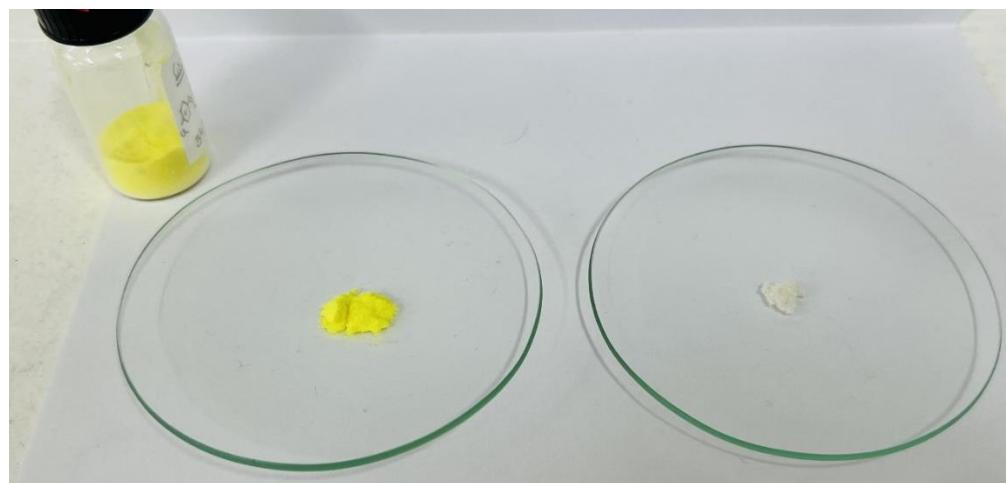
**Figura 2S.** Cromatograma e espectro de massas obtido através da análise da curcumina 1c por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.



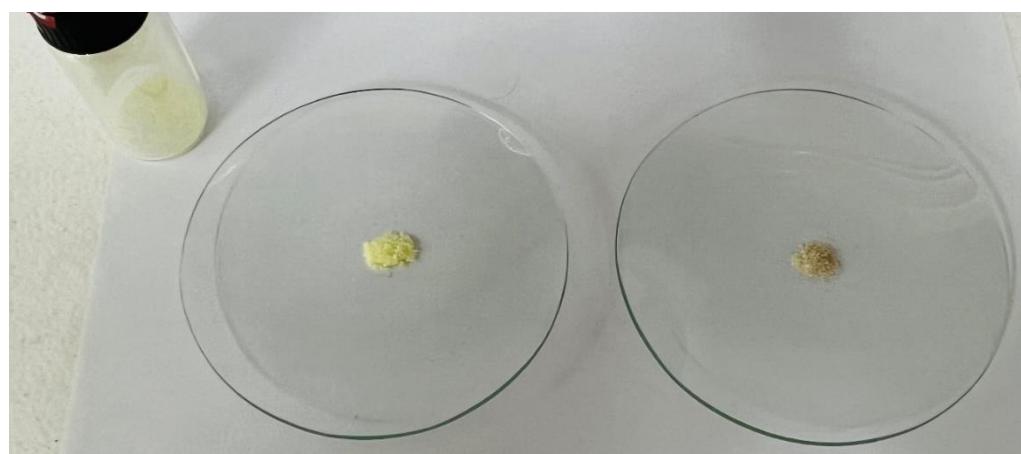
**Figura 3S.** Cromatograma e espectro de massas obtido através da análise da curcumina 1d por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.



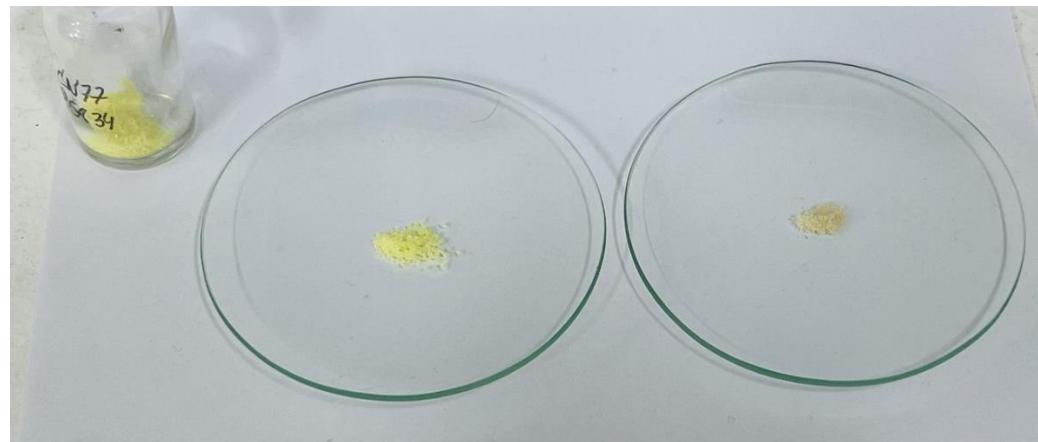
**Figura 4S.** Espectro de Massas e espectro de massas obtido através da análise da curcumina 1a por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas.



**Figura 5S.** Aspecto físico da curcumina 1b (à esquerda) e de sua respectiva GelCurAg (à direita).



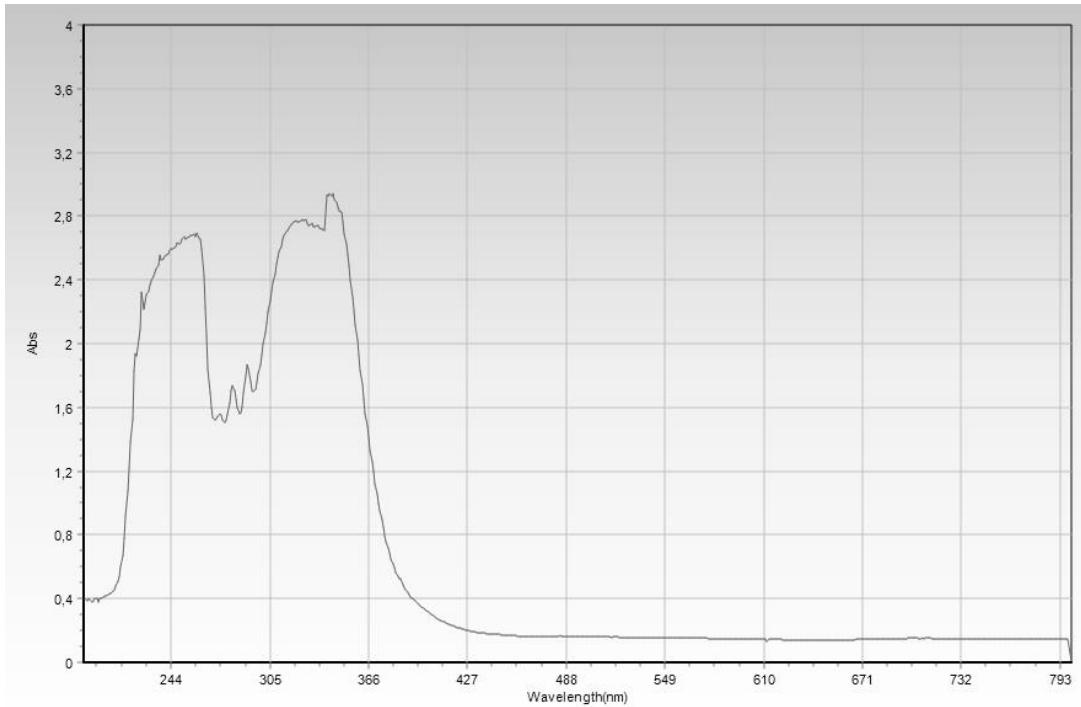
**Figura 6S.** Aspecto físico da curcumina 1d (à esquerda) e de sua respectiva GelCurAg (à direita).



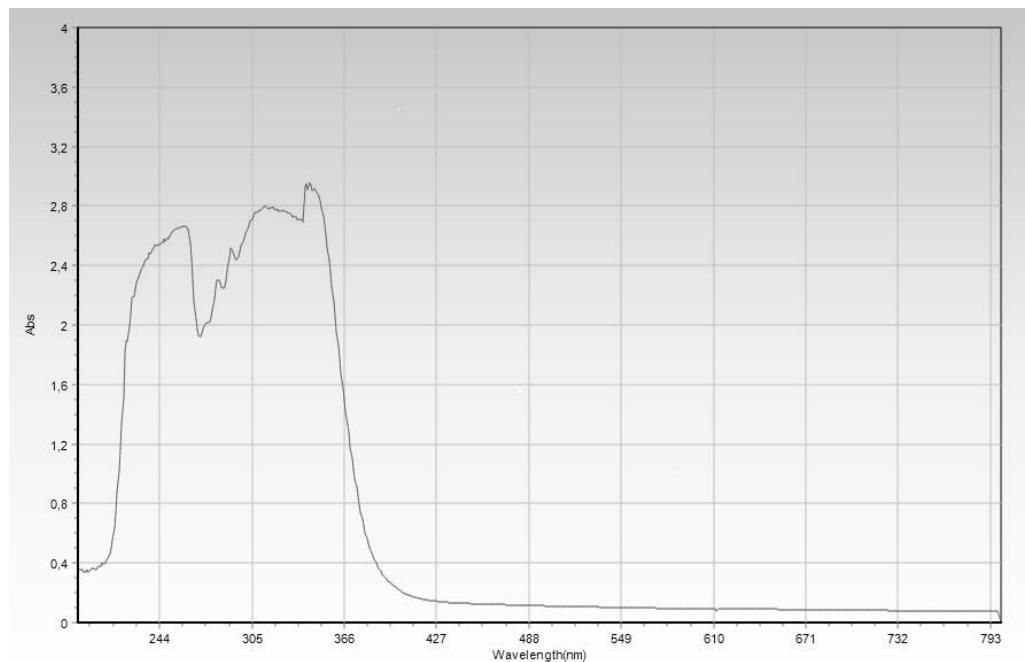
**Figura 7S.** Aspecto físico da curcumina 1c (à esquerda) e de sua respectiva GelCurAg (à direita).



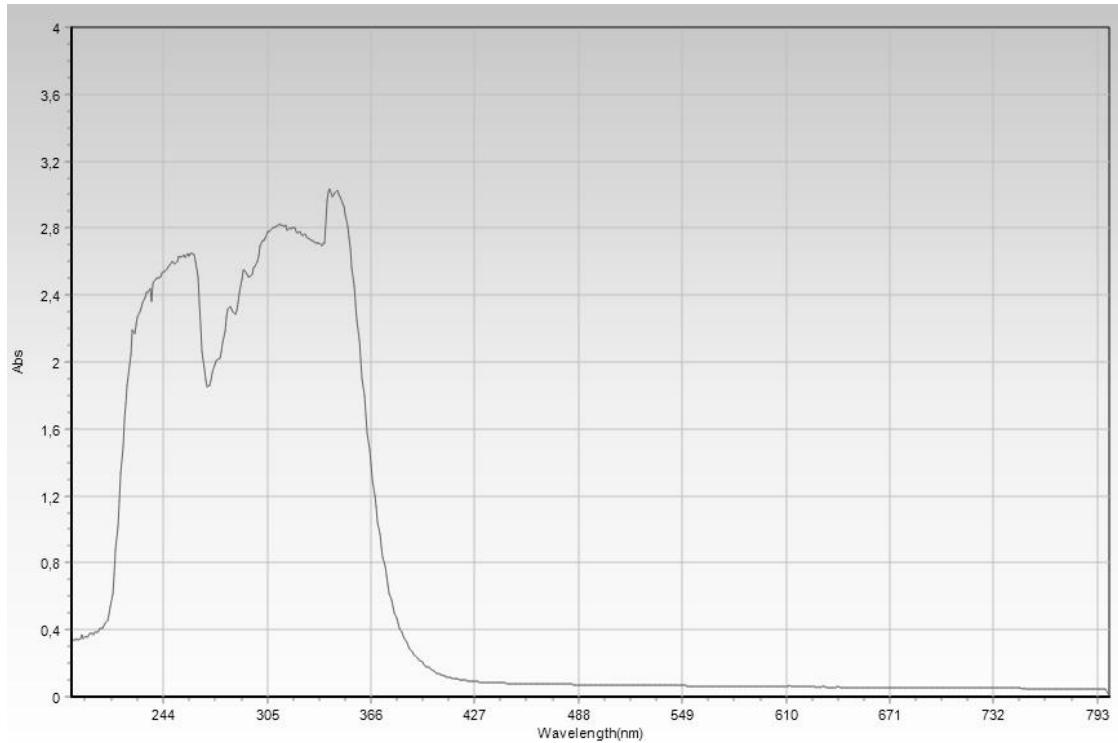
**Figura 8S.** Aspecto físico geral de todas as GelCurAgs sintetizadas.



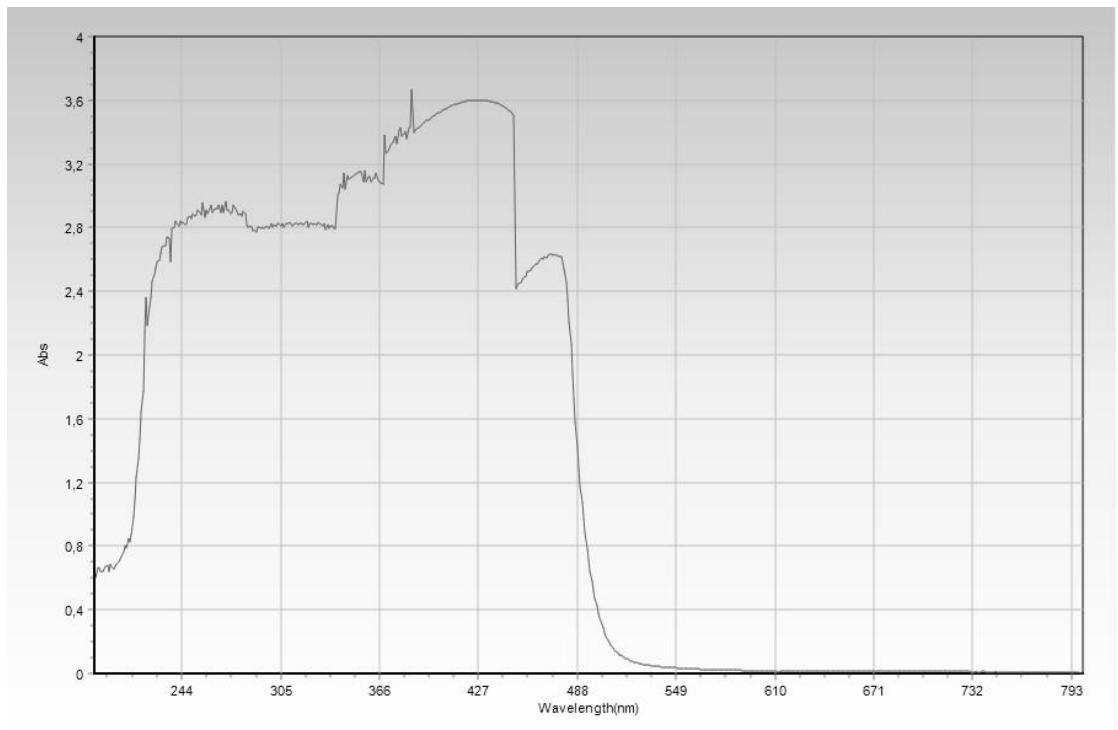
**Figura 9S.** Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1b.



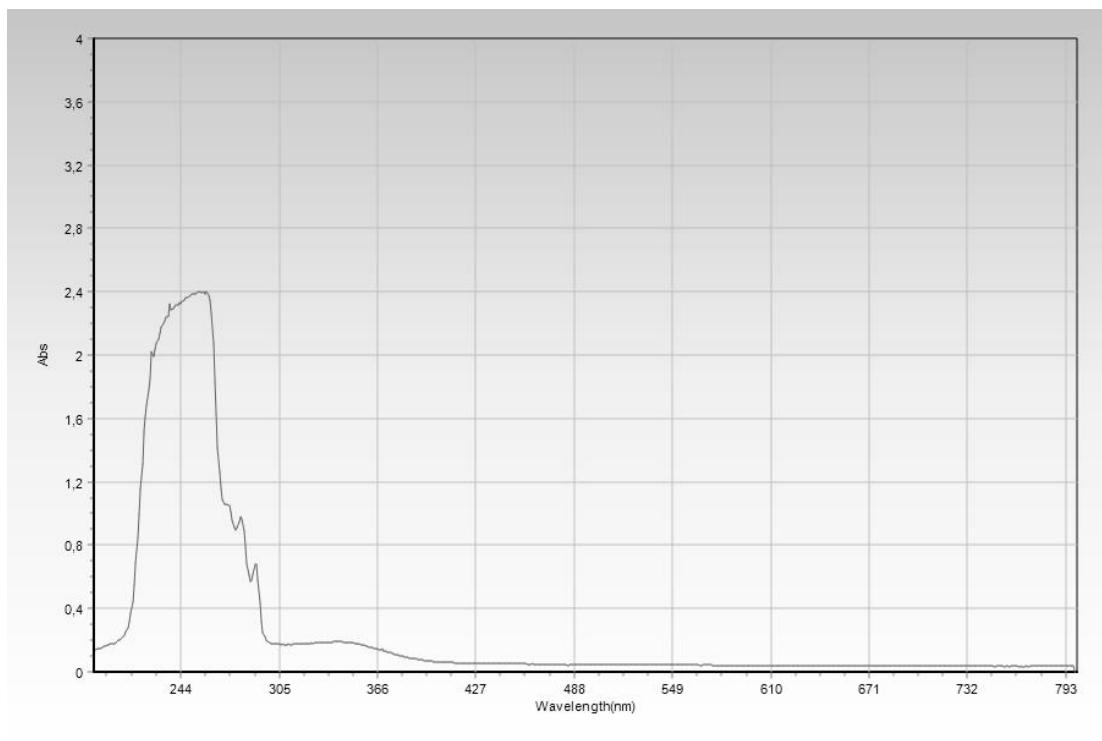
**Figura 10S.** Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1d.



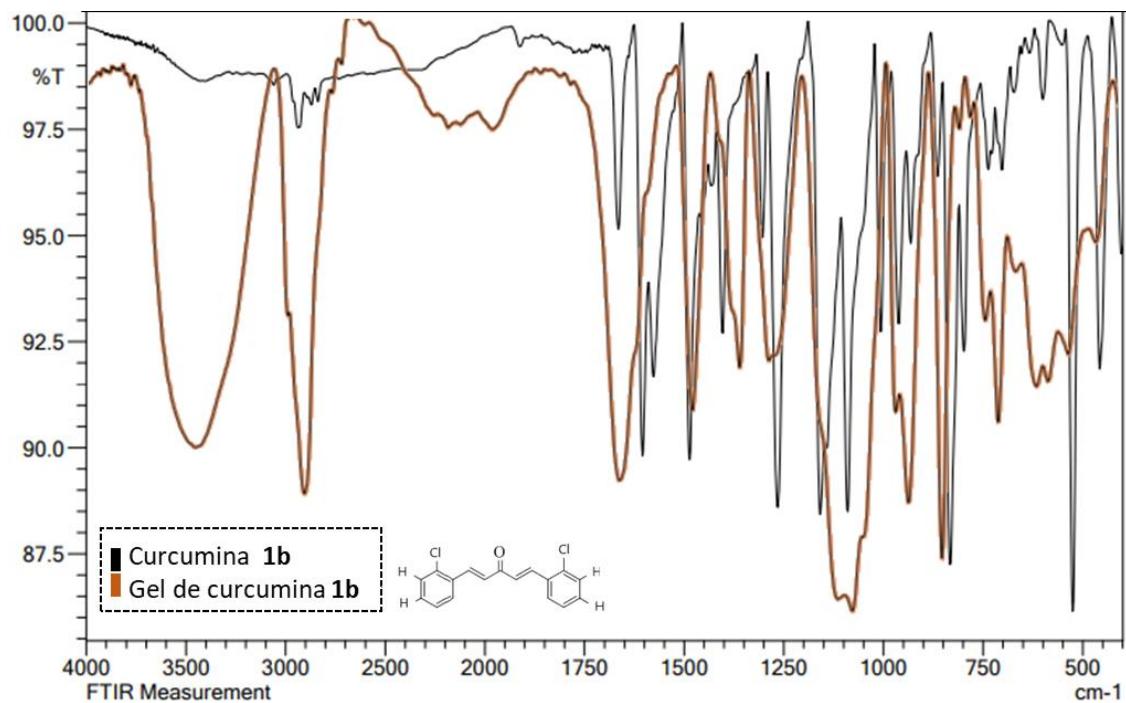
**Figura 11S.** Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1c.



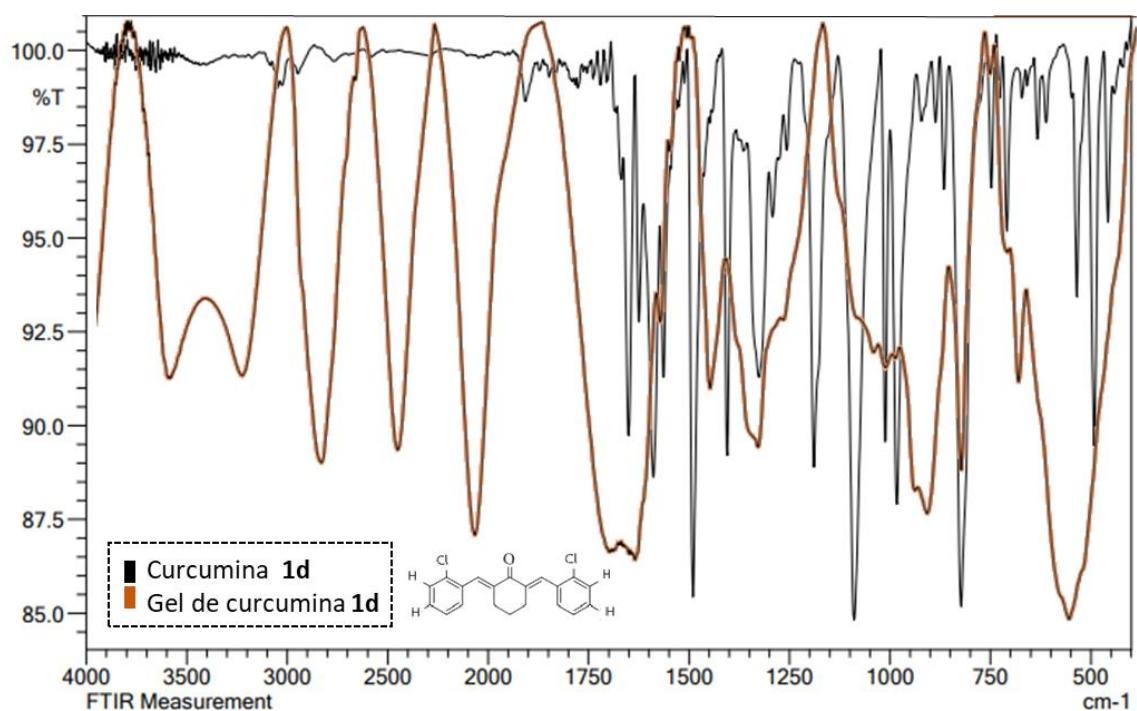
**Figura 12S.** Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg contendo a curcumina 1e.



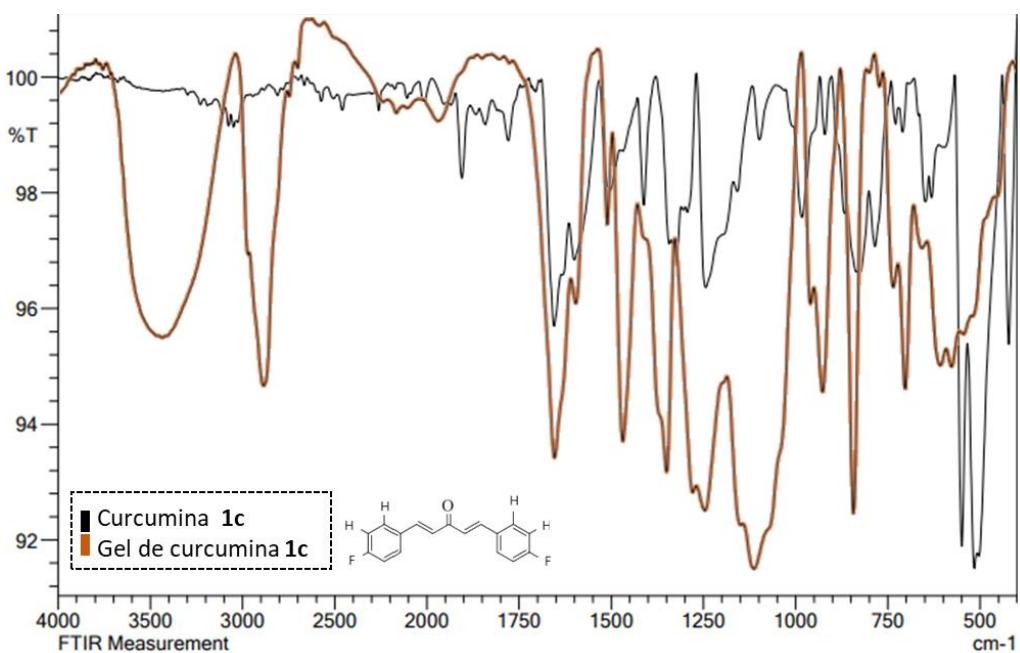
**Figura 13S.** Espectro na região do Ultravioleta-Visível da GelCurAg que não contem curcuminas em sua constituição.



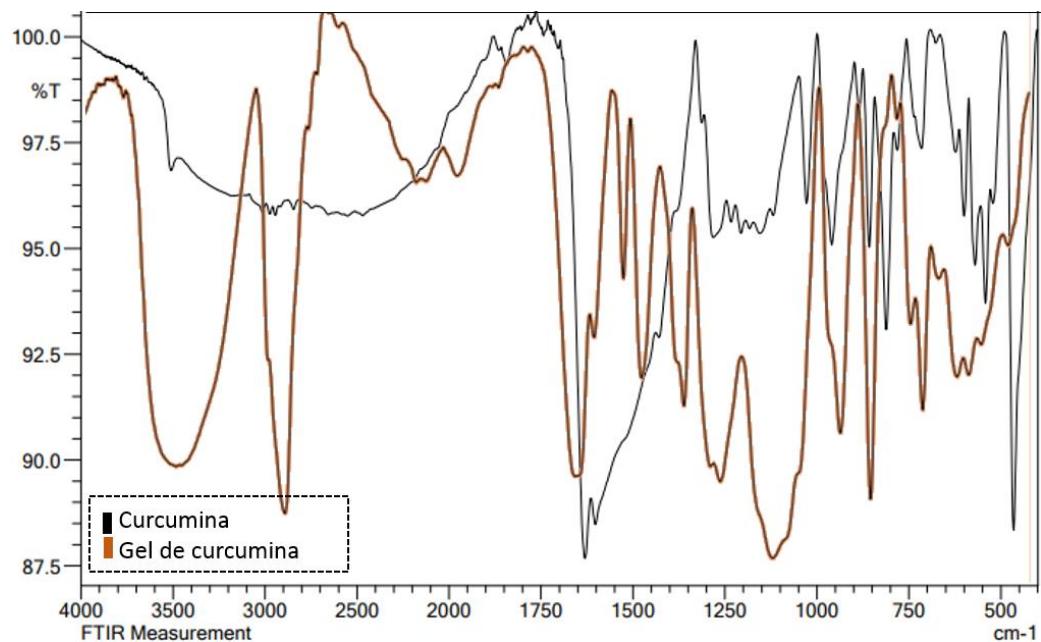
**Figura 14S.** Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1b.



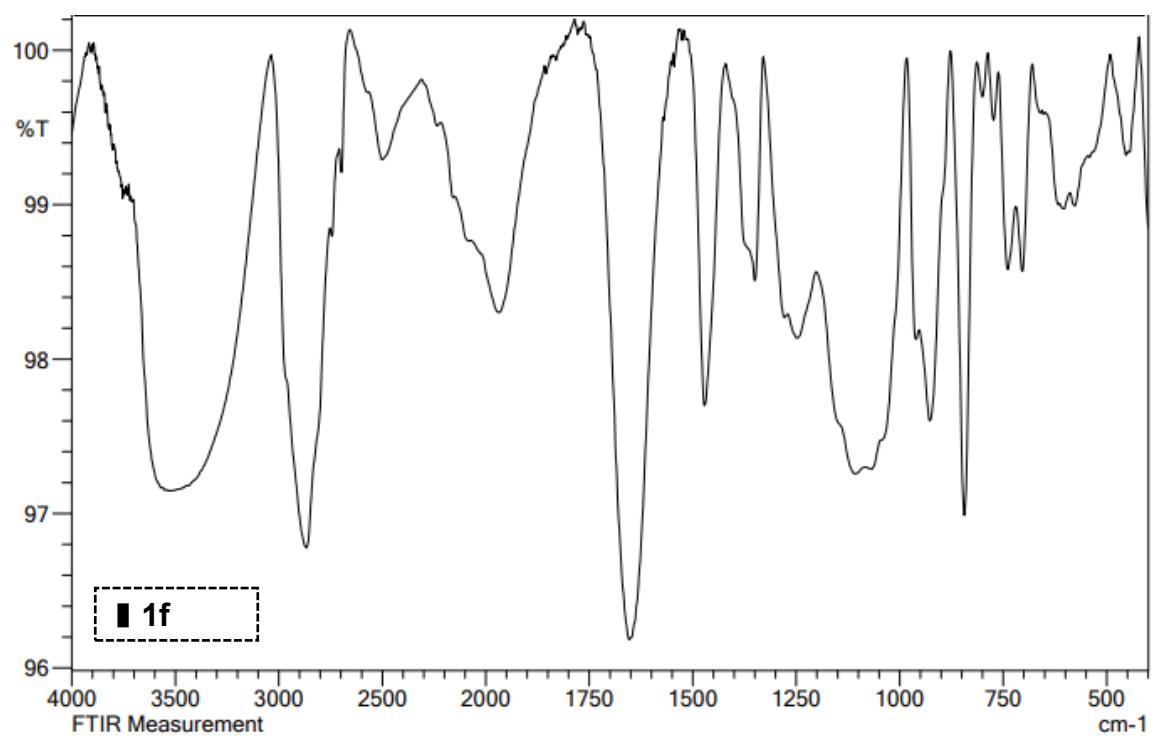
**Figura 15S.** Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1d.



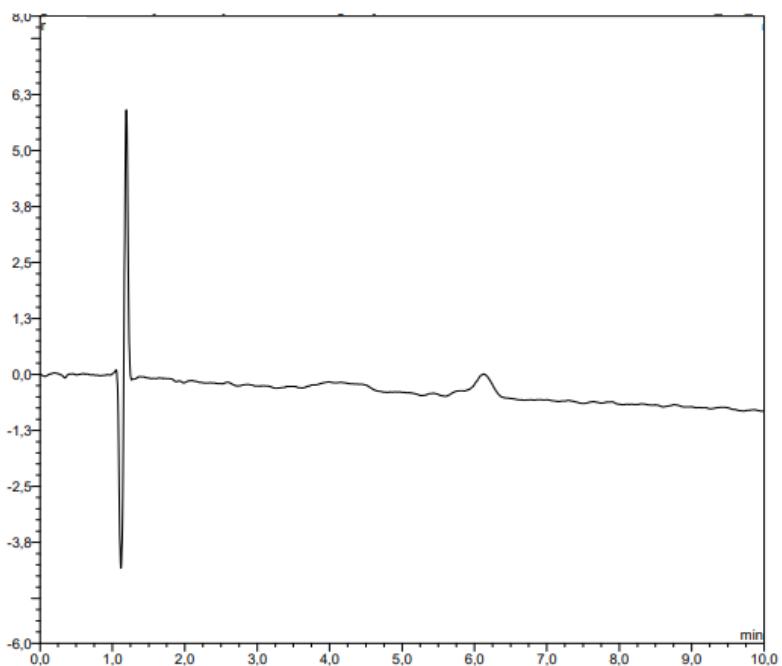
**Figura 16S.** Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1c.



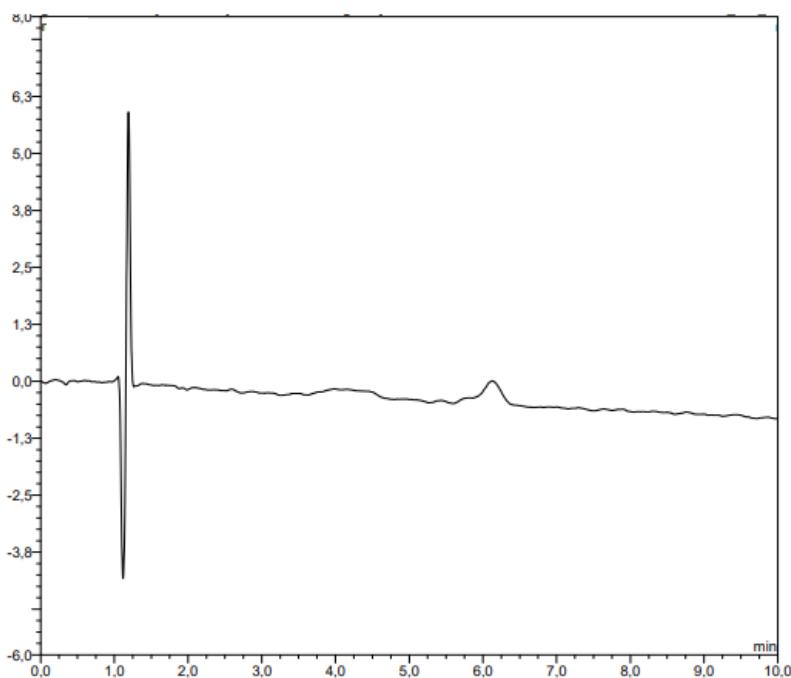
**Figura 17S.** Espectro na região do infravermelho da GelCurAg contendo a curcumina 1e.



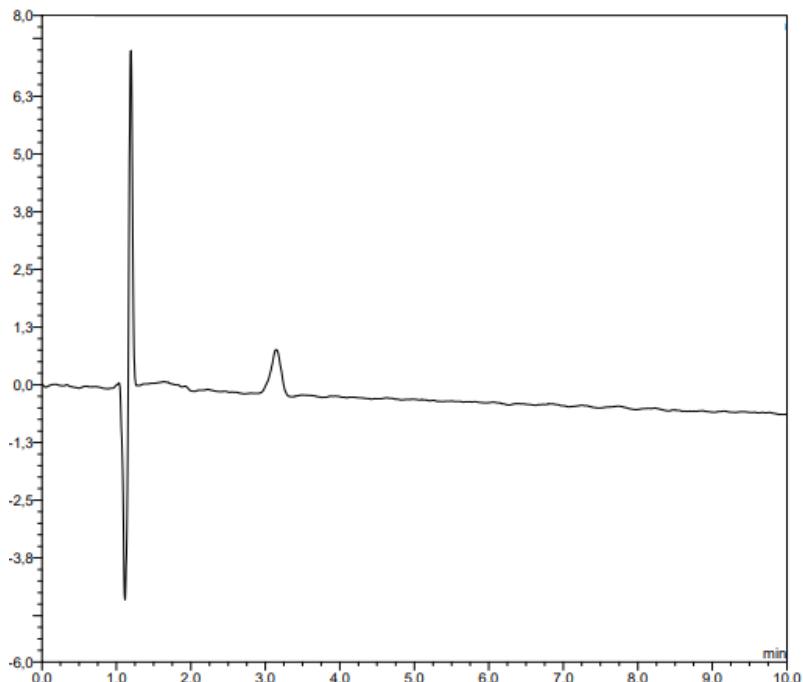
**Figura 18S.** Espectro na região do infravermelho da GelCurAg que não contem curcumina.



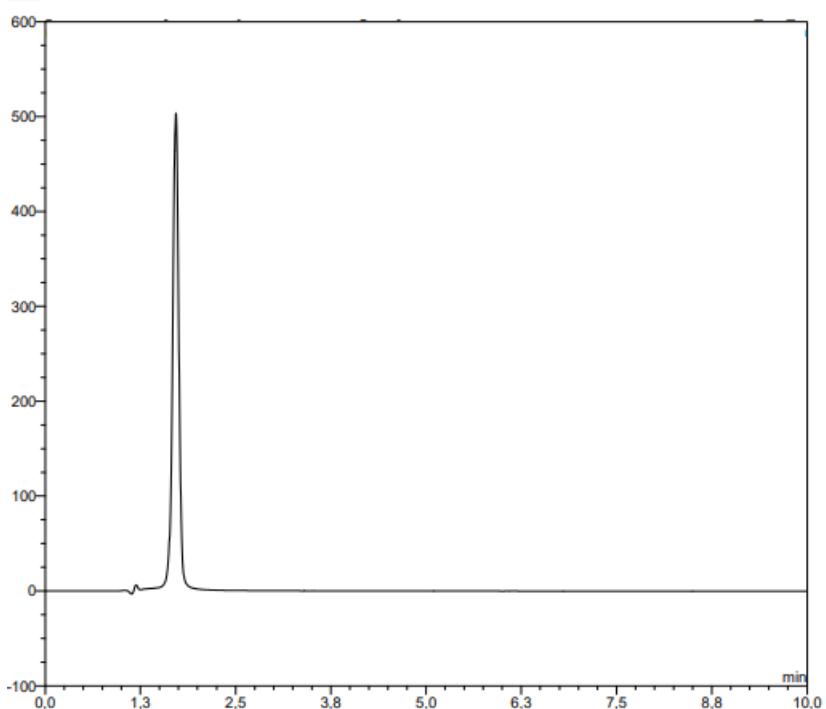
**Figura 19S.** Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1b por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.



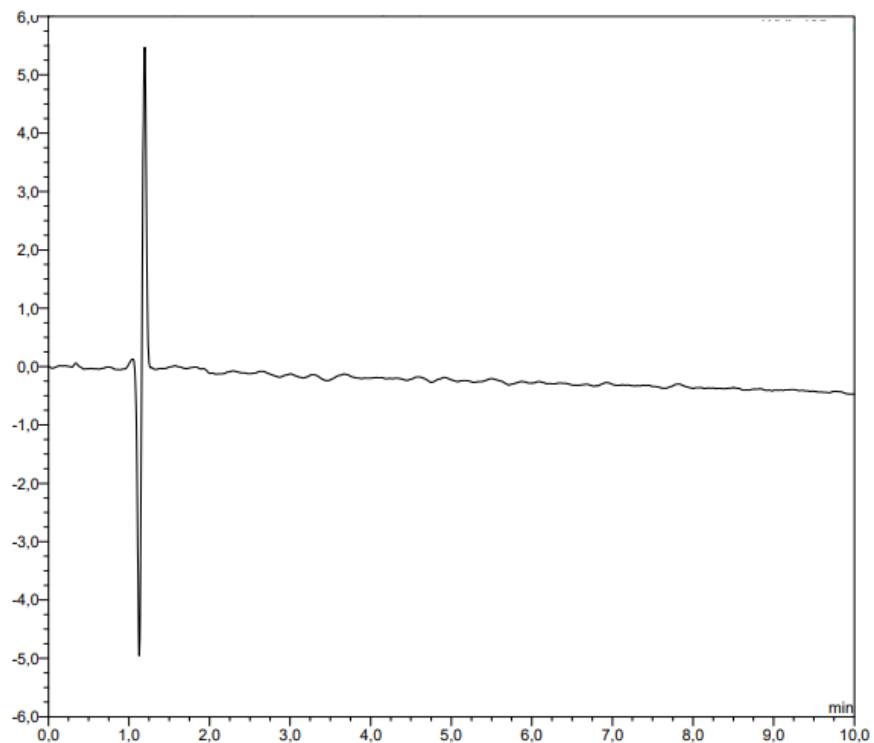
**Figura 20S.** Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1d por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.



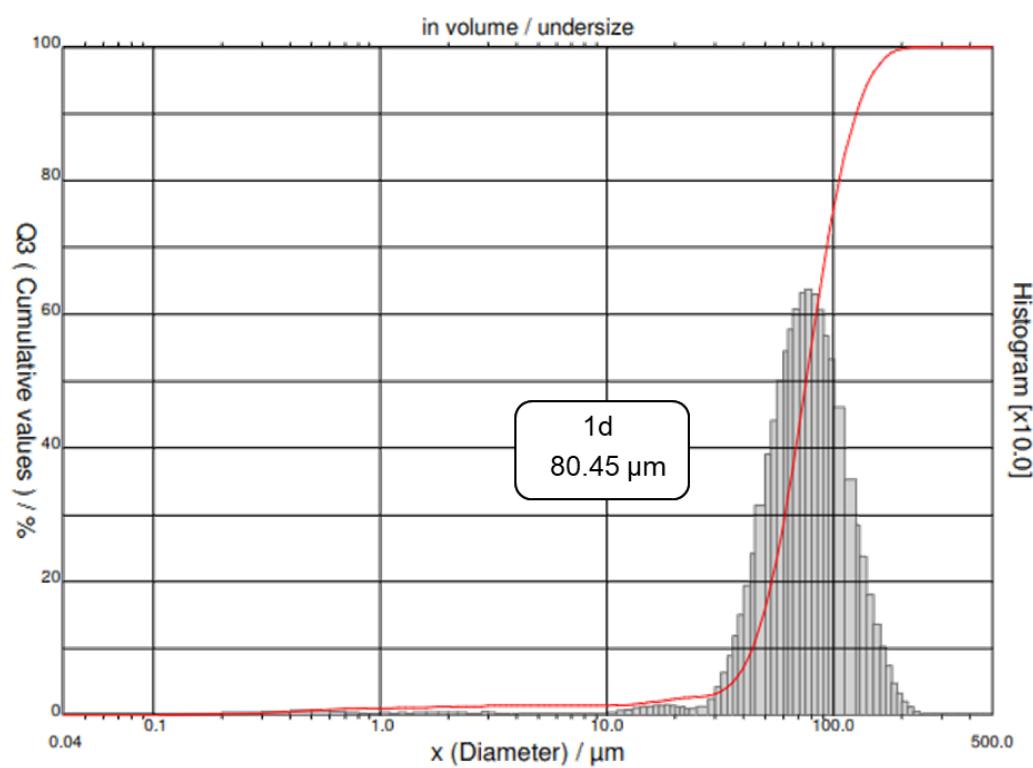
**Figura 21S.** Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1c por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.



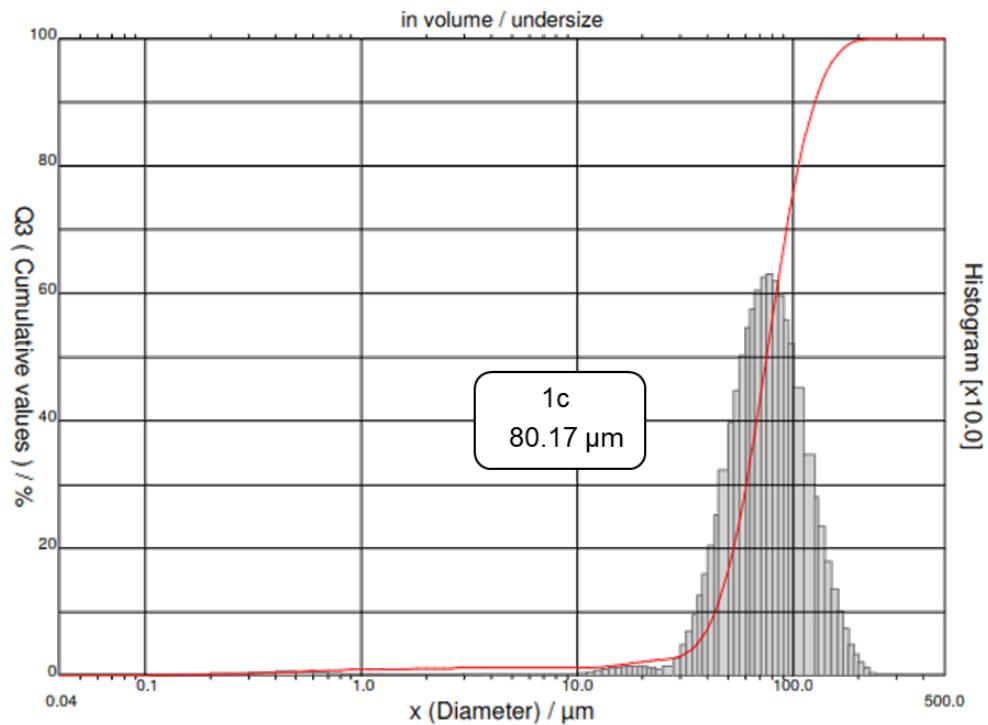
**Figura 22S.** Cromatograma da GelCurAg contendo a curcumina 1e por Cromatografia Líquida de Alta Pressão.



**Figura 23S.** Cromatograma da GelCurAg que não contem curcumina por Cromatografia Líquida de Alta Pressão



**Figura 24S** - Distribuição do tamanho de partículas 1d.



**Figura 25S** - Distribuição do tamanho de partículas 1c