



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**KAREN PÂMELA SALES LOPES**

**SOLUBILIZAÇÃO E ESTUDO CITOTÓXICO DO LAPACHOL EM SOLUÇÕES  
MICELARES DE MISTURAS BINÁRIAS (F127/E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>)**

**FORTALEZA**

**2020**

KAREN PÂMELA SALES LOPES

SOLUBILIZAÇÃO E ESTUDO CITOTÓXICO DO LAPACHOL EM SOLUÇÕES  
MICELARES DE MISTURAS BINÁRIAS (F127/E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Química.  
Área de concentração: Química  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- L853s    Lopes, Karen Pâmela Sales.  
          Solubilização e estudo citotóxico do lapachol em soluções micelares de misturas binárias  
(F127/E65S9E65) / Karen Pâmela Sales Lopes. – 2020.  
          68 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação  
em Química, Fortaleza, 2020.  
          Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.  
          Coorientação: Profa. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro.
1. Lapachol. 2. Copolímeros. 3. Solubilidade. 4. Citotoxicidade . I. Título.

CDD 540

---

KAREN PÂMELA SALES LOPES

SOLUBILIZAÇÃO E ESTUDO COTOTÓXICO DO LAPACHOL EM SOLUÇÕES  
MICELARES DE MISTURAS BINÁRIAS (F127/E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química

Aprovada em: 28 / 02/ 2020.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Jackson Rodrigues de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado me guiando para o melhor caminho e por tudo que me proporcionou.

À minha família pelo apoio, pela capacidade de acreditar e investir em mim. Aos meus pais, seu apoio foi o que me deu força para seguir em frente nos momentos mais difíceis, a presença de vocês significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

À minha segunda família, que encontrei no laboratório. Em especial a Sarah, Stefano, Neto, Rafael, Aierta, Matheus e Ellen que me apoiaram e auxiliaram durante a realização deste trabalho.

As professoras Nágila Ricardo e Elenir Ribeiro pela confiança em mim depositada durante a realização deste trabalho, pela atenção e orientação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro com a manutenção do projeto.

À Débora pelas análises de DSC e FT-IR.

Ao CENAUREM pela análise de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao Laboratório de Raios-X pelas análises de DRX.

Ao Laboratório de Produtos Naturais e Biotecnologia (LPNBio-UFC) pelo ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase.

Ao PADETEC-UFC pela doação do lapachol.

Ao Laboratório de Oncologia Experimental (LOE-UFC) pelo ensaio de citotoxicidade.

À Universidade Federal do Ceará - UFC.

## RESUMO

O lapachol é um bioativo com diversas atividades, conhecido principalmente pela sua ação anticâncer, porém possui baixa solubilidade em água o que dificulta sua utilização, pois para atingir sua eficiência terapêutica são necessárias altas doses que resultam em efeitos colaterais graves. A utilização de copolímeros para a solubilização de fármacos pouco solúveis em água vem sendo estudada devido sua eficiência no processo de diluição e biocompatibilidade. O objetivo deste trabalho é investigar os copolímeros F127, E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e suas misturas quanto a sua capacidade de solubilização do lapachol, perfil de liberação e citotoxicidade. A solubilidade foi estimada por UV-Vis. Os copolímeros puros e suas misturas com e sem bioativo foram caracterizados pelas técnicas de infravermelho (FT-IR), raios-X, DSC, tamanho de partícula e por espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer). O lapachol foi caracterizado por FT-IR, DSC, CLAE e RMN. Foram também investigadas as atividades antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase, bem como a realização do ensaio citotóxico utilizando células cancerígenas do sistema S<sub>9</sub>70 com e sem bioativo. A mistura S<sub>9</sub>70 foi utilizada, pois apresentou os melhores resultados: a maior capacidade de solubilização (S<sub>cp</sub>), capaz de aumentar em mais de 33 vezes a solubilidade do lapachol, baixo valor de concentração micelar crítica (cmc), pequeno tamanho de partícula e polidispersividade, além de apresentar um processo de solubilização energeticamente favorável com valores de energia de Gibbs da solubilização ( $\Delta G^{\circ}_s$ ) menor que zero. O sistema S<sub>9</sub>70LA apresentou atividade antioxidante, de inibição da enzima acetilcolinesterase e toxicidade para linhagens de células de câncer de próstata, colorretal e leucemia, além de capacidade de retardar a liberação do lapachol, apresentando mecanismo de liberação Transporte Super Caso-II. Dessa forma o sistema é promissor para o carregamento do lapachol e pode auxiliar no tratamento de várias enfermidades como câncer.

**Palavras-chave:** Lapachol. Copolímeros. Solubilidade. Citotoxicidade.

## ABSTRACT

Lapachol is a bioactive with several activities, known for its anticancer action, but has low solubility in water which makes it difficult to use, may be more effective therapeutically. The use of copolymers for drug solubilisation in water solution is being studied for its efficiency in the dilution and biocompatibility process. The objective of this work is to investigate the copolymers F127, E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> and their mixtures regarding their ability to solubilise the bioactive lapachol, release profile and cytotoxicity. Solubility was estimated by UV-Vis. The pure copolymers and their mixtures were characterized by infrared (FT-IR), X-ray, DSC, particle size and dynamic light scattering (Zetasizer). Lapachol was characterized by FT-IR, DSC, NMR. The antioxidant and inhibitory activities of the acetylcholinesterase enzyme were also investigated, as well as the cytotoxic assay using cancer cells from the S<sub>970</sub> system with and without bioactive. The S<sub>970</sub> mixture was used, as it presented the best results: greatest solubilisation capacity ( $S_{cp}$ ), capable of increasing the drug solubility by more than 33 times; low value of critical micelle concentration (cmc); small particle size and polydispersity; in addition to presenting an energetically favorable solubilisation process with Gibbs energy values of the solubilisation ( $\Delta G^{\circ}_s$ ) less than zero. The S<sub>970</sub>LA system showed antioxidant activity, inhibition of the enzyme acetylcholinesterase and toxicity to cell lines of prostate, colorectal and leukemia cancer, in addition to the ability to delay the release of lapachol, presenting Super Case-II transport release mechanism. Thus, the system is promising for carrying lapachol and to assist in the treatment of various diseases such as cancer.

**Keywords:** Lapachol. Copolymers. Solubility. Cytotoxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Pesquisa bibliográfica .....	14
Figura 2	– Estrutura química do lapachol .....	14
Figura 3	– Diferentes arranjos dos copolímeros em bloco: (a) dibloco, (b) tribloco, (c) multibloco e (d) estrela .....	16
Figura 4	– Diferentes estruturas micelares resultantes da automontagem de copolímeros: (a) micelas esféricas (b) estrutura de bicamada (c) micelas cilíndricas e (d) micelas cilíndricas ramificadas (e) vesículas .....	17
Figura 5	– Estrutura geral dos Pluronic .....	17
Figura 6	– Estrutura do bloco de polioxiestireno (S) .....	18
Figura 7	– Fluxograma do método de solubilização (dissolução direta) do lapachol nos sistemas poliméricos aquosos de F127, E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> e suas misturas .....	23
Figura 8	– Cromatograma de CLAE do lapachol .....	27
Figura 9	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H do lapachol .....	28
Figura 10	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C do lapachol .....	29
Figura 11	– Estrutura química do lapachol com destaque as suas partes componentes .....	30
Figura 12	– Espectro de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR) em pastilha de KBr do lapachol .....	30
Figura 13	– Espectros de absorção na região do Infravermelho (FT-IR) em pastilha de KBr dos sistemas poliméricos: S <sub>9</sub> B, F127B, S <sub>9</sub> 70B e S <sub>9</sub> 70LA .....	31
Figura 14	– Difrátogramas do lapachol, copolímeros e misturas com e sem bioativo .....	33
Figura 15	– Curvas de DSC dos sistemas sem ativo .....	34
Figura 16	– Curvas de DSC dos sistemas com ativo .....	35
Figura 17	– Gráfico da relação absorbância <i>versus</i> logaritmo da concentração .....	36
Figura 18	– Gráfico da varredura e curva de calibração do lapachol .....	38



Figura 19 – Sistemas com o ativo durante o processo de solubilização .....	40
Figura 20 – Gráficos de distribuição de tamanho dos sistemas a 25 °C do sistema S <sub>9</sub> 70B S <sub>9</sub> LA .....	46
Figura 21 – Gráficos de distribuição de tamanho dos sistemas a 25 °C do sistema S <sub>9</sub> 70B S <sub>9</sub> LA .....	46
Figura 22 – Redução do radical livre DPPH pelo antioxidante lapachol .....	47
Figura 23 – Perfil de liberação do lapachol e do sistema S <sub>9</sub> 70 encapsulado com lapachol .	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Atribuições das frequências das principais bandas do lapachol .....	29
Tabela 2	– Atribuições das frequências das principais bandas dos copolímeros F127, S <sub>9</sub> e suas misturas com e sem lapachol .....	31
Tabela 3	– Valores de cmc's dos copolímeros S <sub>9</sub> , F127 e suas misturas a 23 °C .....	36
Tabela 4	– Valores de concentração micelar crítica de copolímeros E <sub>m</sub> S <sub>n</sub> E <sub>m</sub> e EPE apresentados na literatura .....	37
Tabela 5	– Valores pH obtidos para os sistemas .....	39
Tabela 6	– Capacidade de solubilização dos copolímeros a 25 °C .....	41
Tabela 7	– Capacidade de solubilização dos copolímeros a 37 °C .....	42
Tabela 8	– Diâmetro hidrodinâmico médio de pico (D <sub>h</sub> ) dos sistemas poliméricos a 1% m/v preparados a 25 °C .....	44
Tabela 9	– Diâmetro hidrodinâmico médio de pico (D <sub>h</sub> ) dos sistemas poliméricos a 1% m/v preparados a 37 °C .....	45
Tabela 10	– Valores de CI <sub>50</sub> do bioativo livre e micelas com e sem lapachol encontrados a partir da medição da atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	47
Tabela 11	– Inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) .....	48
Tabela 12	– Parâmetros de modelo da cinética de liberação .....	50
Tabela 13	– Interpretação do expoente de liberação considerando a forma esférica .....	51
Tabela 14	– Atividade antiproliferativa do lapachol livre e encapsulado em quatro linhagens de células tumorais avaliado pelo ensaio do MTT em 72 h de tratamento .....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

E	Poli(óxido de etileno)
S	Poli(óxido de estireno)
B	Poli(óxido de butileno)
P	Poli(óxido de propileno)
DMS	Poli(dimetilsulfóxido)
PB	Poli(butadieno)
P123	E <sub>21</sub> P <sub>67</sub> E <sub>21</sub>
F127 ou F127B	E <sub>98</sub> P <sub>67</sub> E <sub>98</sub>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
FT-IR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
cmc	Concentração Micelar Crítica
cmt	Temperatura Micelar Crítica
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
AChE	Acetilcolinesterase
ACh	Acetilcolina
LA	Lapachol
S <sub>9</sub> ou S <sub>9</sub> B	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub>
S <sub>9</sub> 50 ou S <sub>9</sub> 50B	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> (50%) e F127 (50%)
S <sub>9</sub> 70 ou S <sub>9</sub> 70B	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> (70%) e F127 (30%)
S <sub>9</sub> LA	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> + Lapachol
S <sub>9</sub> 50LA	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> (50%) e F127 (50%) + Lapachol
S <sub>9</sub> 70LA	E <sub>65</sub> S <sub>9</sub> E <sub>65</sub> (70%) e F127 (30%) + Lapachol
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium
DMSO	Dimetilsulfóxido
S <sub>cp</sub>	Capacidade de solubilização
S <sub>tot</sub>	Solubilidade total do lapachol na solução do copolímero
S <sub>0</sub>	Solubilidade do lapachol em água
m <sub>cop</sub>	Massa do copolímero
D <sub>h</sub>	Diâmetro hidrodinâmico médio

PdI	Índice de polidispersividade do tamanho
CP	Coefficiente de Partição
R	Constante universal dos gases
T	Tempo
R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlação
n	Expoente de liberação
ERO	Espécies reativas de oxigênio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1</b>	<b>Lapachol</b> .....	14
<b>1.2</b>	<b>Sistemas poliméricos</b> .....	15
<b>1.3</b>	<b>Mistura binária de copolímeros</b> .....	18
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	20
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	20
<b>3</b>	<b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Materiais</b> .....	21
<b>3.2</b>	<b>Misturas binárias dos copolímeros</b> .....	21
<b>3.3</b>	<b>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> .....	21
<b>3.4</b>	<b>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)</b> .....	21
<b>3.5</b>	<b>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b> .....	21
<b>3.6</b>	<b>Concentração micelar crítica (cmc)</b> .....	22
<b>3.7</b>	<b>Solubilização do lapachol</b> .....	22
<b>3.8</b>	<b>Tamanho de partícula</b> .....	24
<b>3.9</b>	<b>Difração de raios-X</b> .....	24
<b>3.10</b>	<b>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	24
<b>3.11</b>	<b>Atividade antioxidante</b> .....	24
<b>3.12</b>	<b>Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase</b> .....	25
<b>3.13</b>	<b>Ensaio de difusão</b> .....	25
<b>3.14</b>	<b>Cinética de liberação</b> .....	25
<b>3.15</b>	<b>Ensaio de citotoxicidade</b> .....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>4.1</b>	<b>Avaliação do perfil cromatográfico CLAE</b> .....	27
<b>4.2</b>	<b>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b> .....	27
<b>4.3</b>	<b>Caracterização por FTIR</b> .....	29
<b>4.4</b>	<b>Caracterização das nanopartículas por difração de raios-X</b> .....	32
<b>4.5</b>	<b>Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	34
<b>4.6</b>	<b>Concentração Micelar Crítica</b> .....	35
<b>4.7</b>	<b>Solubilização do Lapachol</b> .....	37

4.8	Tamanho de Partícula .....	44
4.9	Atividade antioxidant dos sistemas .....	46
4.10	Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) .....	48
4.11	Liberação <i>in vitro</i> .....	49
4.12	Estudo cinético de liberação .....	50
4.13	Ensaio de citotoxicidade .....	51
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	53
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	54
	<b>ANEXO A – PRODUTO OBTIDO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO: ARTIGO ACEITO</b> .....	67
	<b>ANEXO B – PRODUTO OBTIDO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO: PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSO</b> .....	68

## 1 INTRODUÇÃO

A baixa solubilidade de bioativos é um dos problemas enfrentados pela indústria farmacêutica, pois a diminuta solubilidade de um ativo pode estar relacionada com a sua baixa biodisponibilidade, sendo necessária uma maior dosagem o que leva a algumas adversidades como o aumento da toxicidade, dificuldade em conceber formulações e maior custo de produção (SHAH, 2006).

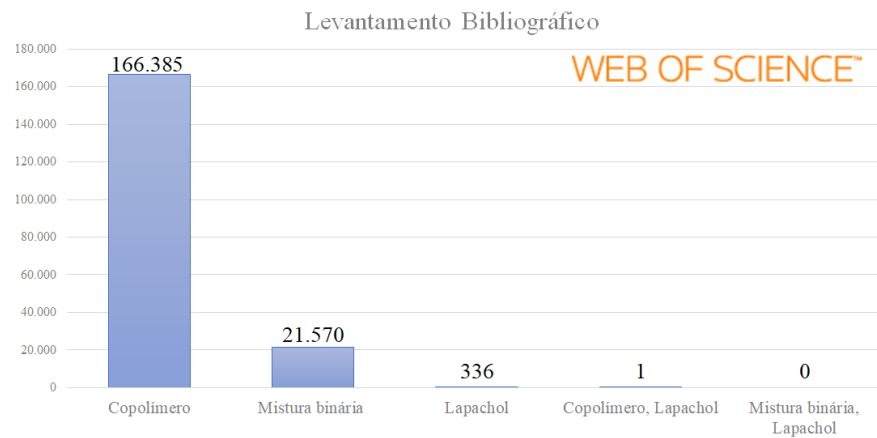
Existem diversas abordagens envolvendo nanotecnologia que podem ser utilizadas para auxiliar na administração de bioativos pouco solúveis, dentre estas as micelas poliméricas vem sendo bastante utilizada como um meio de otimizar a liberação de bioativos como doxorubicina (CAGEL et al., 2017), efavirenz (CHIAPPETTA et al., 2011), ácido gambógico (HUSSAIN; SAXENA, 2012), nimodipina (SOTOUDEGAN et al., 2016) e griseofulvina (OLIVEIRA et al., 2015).

Um exemplo de bioativo pouco solúvel é o lapachol, que apresenta diversas atividades, sendo conhecido principalmente pela sua atividade anticâncer, no entanto devido sua baixa biodisponibilidade são necessárias altas doses para atingir seu potencial terapêutico levando a efeitos colaterais graves (EPIFANO et al., 2014).

Misturas binárias de copolímeros com diferentes hidrofobicidades vêm sendo estudadas quanto ao seu potencial de solubilização de bioativos pouco solúveis em meio aquoso. Segundo Lee et al. (2018), a mistura de copolímeros com diferentes hidrofobicidades possui maior capacidade de aumentar a solubilidade de bioativos quando comparadas aos sistemas micelares formados por copolímeros isolados.

Nesse contexto, misturas binárias de copolímeros em bloco mostram-se promissoras como nanocarreadoras de bioativos pouco solúveis em água. Assim, este trabalho propõe o estudo de micelas formadas pelos copolímeros triblocos E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, F127 e suas misturas buscando desenvolver sistemas para o carreamento do lapachol. Até o momento, não foi encontrado na literatura trabalhos reportando o estudo de misturas binárias para auxiliar na administração deste bioativo, apesar do elevado número de artigos sobre sistemas micelares (Figura 1). Também foi investigado possíveis aplicações farmacológicas para o nanossistema desenvolvido.

Figura 1 – Pesquisa bibliográfica

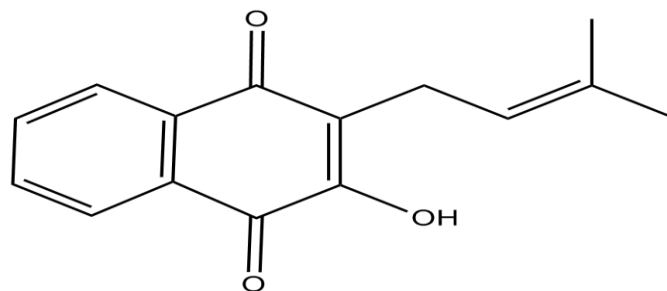


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

## 1.1 Lapachol

As quinonas que representam um grande grupo de substâncias presentes em várias famílias de plantas, fungos, líquens e bactérias, são classificadas de acordo com o sistema aromático básico, como benzoquinona, antraquinonas e naftoquinonas (LEMOS et al., 2007). Um exemplo de naftoquinona é o lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) encontrado em plantas da família Bignoniaceae como o Ipê roxo (AUCÉLIO et al., 2013). A Figura 2 apresenta a estrutura química do lapachol.

Figura 2 – Estrutura química do lapachol.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O lapachol foi isolado pela primeira vez em 1882 pelo químico italiano Emanuele Paternò da casca da árvore *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb da família Bignoniaceae, seu nome é derivado do termo “lapacho”, nome pelo qual essa planta é comumente conhecida no Brasil, onde também é chamada de “pau d'arco” (EPIFANO et al., 2014).



Este ativo é um pó amarelo fracamente ácido com pKa de aproximadamente 6,2 (CAMPANHOLI et al., 2018) e apresenta baixa solubilidade em água (2 mg/L a 25 °C). Sua solubilidade é influenciada pelo pH, variando de 1,5 µg/ml em pH 4 a 5 mg/ml a pH 10 (LUI et al., 1985; TABOSA et al., 2018).

Em solução aquosa, o lapachol apresenta uma mudança de cor típica de um vermelho intenso em condições alcalinas para amarelo quando o pH diminui abaixo de 5–6, nessas condições de pH começa a precipitar como um pó amarelo (SEGOLONI; DI MARIA, 2018).

A literatura apresenta várias atividades associadas a este ativo incluindo antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2010; SOUZA et al., 2013), antifúngica (SILVA et al., 2016), moluscicida (RIBEIRO et al., 2009), leishmanicida (TEIXEIRA et al., 2001), antimalárico (DE ANDRADE-NETO et al., 2004), anti-inflamatório (ALMEIDA et al., 1990), analgésico (GRAZZIOTIN V et al., 1992), anticâncer (SILVA et al., 2014), larvicida (RODRIGUES et al., 2005), imunossupressor (PERES et al., 2017), efeito gastroprotetor (THEODULOZ et al., 2012), inseticida (BORGES et al., 2019) e antiviral (OGUNTADE; RAMHARACK; SOLIMAN, 2017).

Devido sua baixa solubilidade em meio aquoso, apresenta baixa biodisponibilidade e desta forma são necessárias doses elevadas do lapachol para atingir sua eficácia terapêutica resultando em efeitos colaterais graves, tais como náuseas e doenças intestinais, além de funcionar como um agente hemorrágico (FONSECA; BRAGA; SANTANA, 2003; SEGOLONI; DI MARIA, 2018).

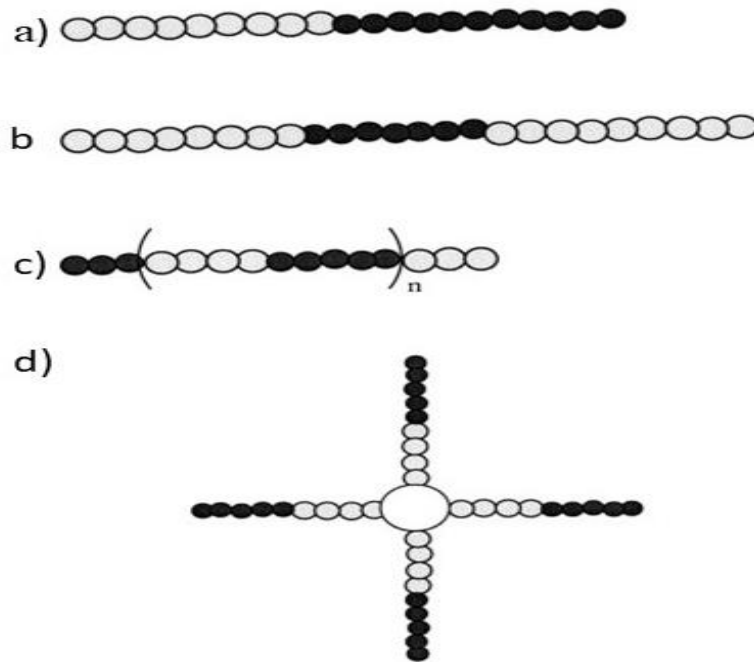
## 1.2 Sistemas poliméricos

Os sistemas micelares são formados pela automontagem de copolímeros anfifílicos em meio aquoso ocorrendo quando a concentração de polímero em meio aquoso está acima da concentração micelar crítica (cmc). São constituídos por um núcleo hidrofóbico rodeado por uma coroa hidrofílica. Estas estruturas solubilizam fármacos pouco solúveis ao incorporá-los dentro do núcleo hidrofóbico, enquanto a parte hidrofílica fornece a proteção, assim, melhorando a sua solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade e contribuindo para uma ação duradoura (SEZGIN-BAYINDIR et al., 2016; SÜTEKIN et al., 2018).

Os copolímeros em bloco podem ser classificados segundo seu arranjo em: dibloco, no qual um homopolímero A (○) está ligado a outro homopolímero B (●); tribloco formado por homopolímero B que apresenta suas terminações ligadas a um homopolímero A;

multibloco, no qual homopolímeros A e B estão ligados diversas vezes e estrela em que os homopolímeros A e B estão ligados de forma que A apresenta muitos braços funcionalizados, resultando em um formato semelhante a uma estrela (KUMAR; RAVIKUMAR; DOMB, 2001). A Figura 3 apresenta os diferentes arranjos dos copolímeros.

Figura 3 – Diferentes arranjos dos copolímeros em bloco: (a) dibloco, (b) tribloco, (c) multibloco e (d) estrela

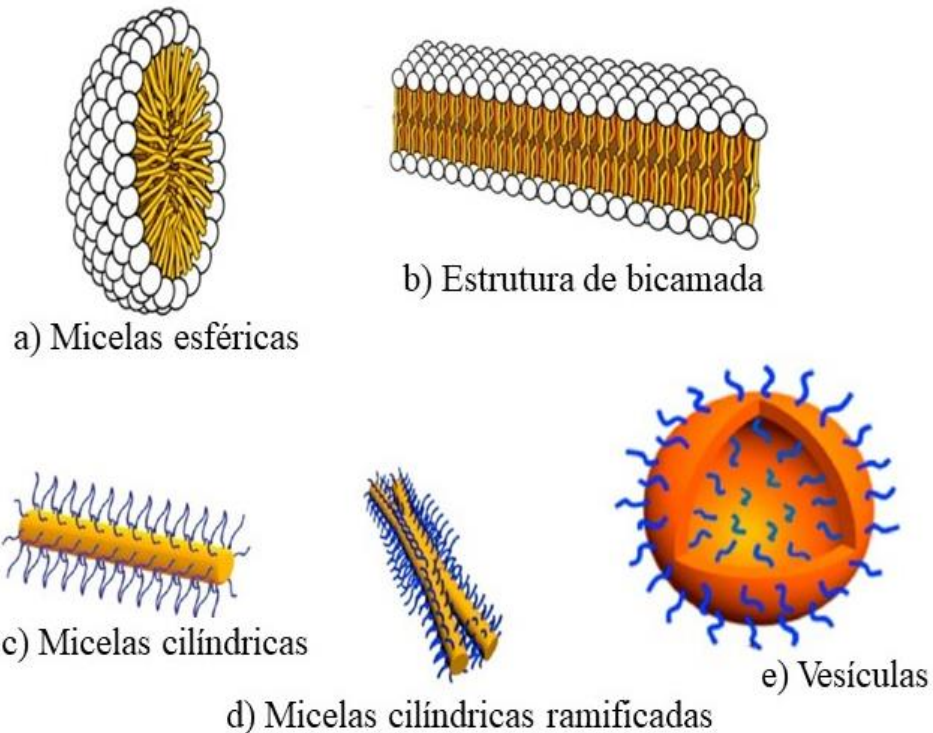


Fonte: Kumar, Ravikumar e Domb (2001, com adaptações)

A camada hidrofílica dos copolímeros comumente é formada pelo poli(óxido de etileno) (E) enquanto a camada hidrofóbica pode ser formada por poli(óxido de estireno) (S), poli(óxido de butileno) (B), poli(dimetilsulfóxido) (DMS), poli(butadieno) (PB), e poli(óxido de propileno) (P). A forma das micelas resultantes destas combinações é geralmente esférica quando o tamanho do segmento hidrofílico é maior do que o núcleo hidrofóbico (SAMADDAR; DEEP; KIM, 2018). A Figura 4 mostra diferentes estruturas micelares.

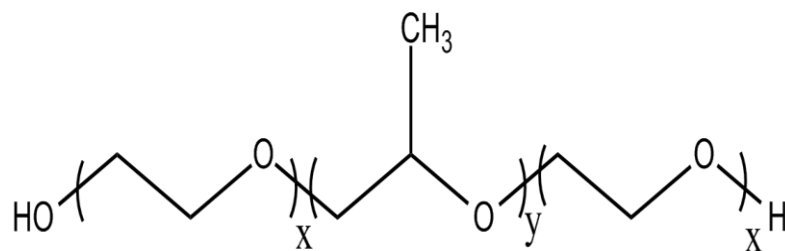
Exemplo de copolímero comumente utilizado na solubilização de fármacos é o Pluronic<sup>®</sup> F127 (E<sub>98</sub>P<sub>67</sub>E<sub>98</sub>) que apresenta biocompatibilidade e tamanho de micela relativamente pequeno ajudando a impedir que as suas micelas sejam reconhecidas por proteínas e macrófagos permitindo, assim, um maior tempo de circulação (MANAGA et al., 2018). No entanto quando se trata de micelização em solução aquosa à temperatura ambiente (25 °C) não é a melhor escolha quando comparado a copolímeros com blocos B ou S (ATTWOOD et al., 2007). A Figura 5 mostra a estrutura geral dos Pluronic<sup>®</sup>.

Figura 4- Diferentes estruturas micelares resultantes da automontagem de copolímeros: (a) micelas esféricas (b) estrutura de bicamada (c) micelas cilíndricas e (d) micelas cilíndricas ramificadas (e) vesículas.



Fonte: Samaddar, Deep e Kim (2018, com adaptações)

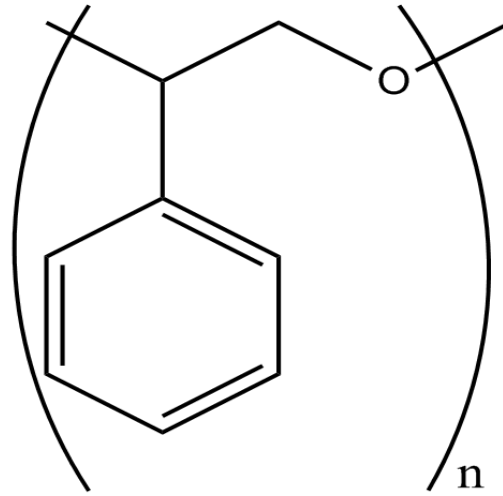
Figura 5 – Estrutura geral dos Pluronic<sup>®</sup>.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Copolímeros formados por bloco S são interessantes, pois possuem a capacidade formar micelas em baixas concentrações com melhor capacidade de solubilização e estabilidade, uma vez que apresentam baixos valores de cmc que podem ser relacionados a hidrofobicidade deste bloco (ATTWOOD et al., 2007; JUÁREZ et al., 2010). A Figura 6 demonstra a estrutura do bloco S.

Figura 6 – Estrutura do bloco de poli(óxido de estireno) (S).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Copolímeros triblocos com bloco S apresentam maior capacidade de solubilização em comparação com os copolímeros comercialmente disponíveis Pluronic<sup>®</sup> ou Tetronic<sup>®</sup> devido ao seu núcleo mais hidrofóbico. A hidrofobicidade relativa entre as unidades P e S num copolímero dibloco é de 1: 12, assim pode-se esperar que as micelas de copolímero em bloco com núcleos S possam ser solubilizadores mais eficientes de fármacos aromáticos, sendo a natureza aromática destes núcleos mais propícia à sua solubilização do que os núcleos P dos Pluronic<sup>®</sup> (ATTWOOD; ZHOU; BOOTH, 2007).

Porém esta capacidade depende da estrutura do copolímero, da razão do comprimento dos blocos que formam a micela, quanto mais curto o bloco E e mais longo o bloco S ocorre uma redução da solubilidade da cadeia polimérica, enquanto que os copolímeros com blocos E mais longos e/ou blocos S muito curto formam micelas com baixa capacidade de inclusão de fármacos (CAMBÓN et al., 2012).

### 1.3 Mistura binária de copolímeros

A mistura binária de copolímeros para a obtenção de micelas mistas vem despertando interesse, pois trata-se de uma excelente abordagem para melhorar as propriedades já conhecidas das micelas individuais (SENTHILKUMAR; DASH, 2019).

A combinação de copolímeros contribui para superar desvantagens dos constituintes individuais através da incorporação de várias funcionalidades sem a necessidade

da síntese de novos copolímeros, estes sistemas apresentam numerosas vantagens tais como uma melhor estabilidade termodinâmica e cinética, aumento da biodisponibilidade e eficiência de encapsulação (THANITWATTHANASAK; SAGIS; CHITPRASERT, 2019).

Um dos biomateriais anfífilos mais utilizados em misturas binárias são os copolímeros em bloco de poli(óxido de etileno) – poli(óxido de propileno), que podem ser classificados como Pluronic<sup>®</sup>, poloxâmeros lineares triblocos e bifuncionais, e Tetronic<sup>®</sup>, poloxâmero ramificado com quatro braços (CAGEL et al., 2017; SHARMA et al., 2018a).

Em geral as micelas formadas por Pluronic são termoreversíveis, esta propriedade faz este material ser interessante para muitas aplicações especialmente como carreador de fármacos, pois o núcleo hidrofóbico (bloco poli(óxido de propileno)) pode carrear ativos lipofílicos rodeado pela corona hidrofílica (poli(óxido de etileno)) proporcionando estabilidade micelar (PRAGATHEESWARAN et al., 2014).

Trabalhos anteriores estudaram misturas de copolímeros com blocos P e S. PINHO et al (2007) relatam que a solução micelar formada pela mistura dos copolímeros E<sub>137</sub>S<sub>18</sub>E<sub>137</sub> e E<sub>62</sub>P<sub>39</sub>E<sub>62</sub> utilizadas para a solubilização de griseofulvina manteve a geleificação semelhante a de micelas formadas pelo copolímero E<sub>62</sub>P<sub>39</sub>E<sub>62</sub> isolado e a capacidade de solubilização de micelas formadas por E<sub>137</sub>S<sub>18</sub>E<sub>137</sub>.

Oliveira et al (2015) estudaram as misturas de copolímeros dibloco E<sub>45</sub>S<sub>8</sub> e E<sub>45</sub>S<sub>17</sub> com o Pluronic<sup>®</sup> P123 (E<sub>21</sub>P<sub>67</sub>E<sub>21</sub>) para a solubilização da griseofulvina, obtendo melhores resultados de capacidade de solubilização para as misturas com 50% de P123 e baixos valores de cmc que contribuem para um caráter promissor dos sistemas em aplicações farmacológicas, uma vez que proporciona potencial estabilidade às micelas após diluição no sangue tornando o sistema favorável para aplicação em liberação intravenosa.

Dessa forma as misturas funcionam como uma alternativa para potencializar o sistema carreador compensando as desvantagens dos sistemas puros, podendo aumentar a capacidade de solubilização de copolímeros hidrofílicos com a presença de copolímeros mais hidrofóbicos, permitindo que o rearranjo dos copolímeros forme nanoambientes estáveis (LEE et al., 2018).

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Estudar sistemas formados por F127, E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e suas misturas visando aplicação no carregamento do bioativo lapachol, perfil de liberação e citotoxicidade.

### Objetivos Específicos

- Desenvolver sistemas poliméricos micelares a partir dos copolímeros triblocos E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, F127 e suas misturas para o carregamento do lapachol;
- Testar soluções dos copolímeros triblocos e suas misturas como meio carreador do lapachol;
- Determinar o tamanho de partícula dos sistemas que contém os copolímeros triblocos e suas misturas com e sem lapachol;
- Caracterizar os copolímeros triblocos e suas misturas;
- Avaliar a capacidade antioxidante do lapachol encapsulado nos sistemas micelares;
- Verificar a capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase do lapachol encapsulado no sistema micelar;
- Verificar a capacidade tóxica do lapachol livre e no sistema micelar frente a linhagens de células de câncer de próstata, glioblastoma, colorretal e leucemia.

### **3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.1 Materiais**

O copolímero E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> (ESE) (E = óxido de etileno e S = óxido de estireno) foi sintetizado por polimerização aniônica de óxido de estireno seguida por óxido de etileno e gentilmente cedido pelo Laboratório de Polímeros da Escola de Química da Universidade de Manchester, Reino Unido. O copolímero E<sub>98</sub>P<sub>67</sub>E<sub>98</sub>, comercialmente conhecido como Pluronic<sup>®</sup> ou Lutrol<sup>®</sup> F127, foi obtido da Sigma-Aldrich. O lapachol foi cedido pela empresa PADETEC-UFC. Os demais reagentes utilizados são de grau analítico.

#### **3.2 Misturas binárias dos copolímeros**

As misturas foram preparadas a partir da pesagem dos copolímeros e posterior dissolução com água para as concentrações desejadas em cada experimento. Foram utilizados os copolímeros E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e F127 nas proporções 70/30 e 50/50, que foram denominados respectivamente S<sub>9</sub>70 e S<sub>9</sub>50 os números 70 e 50 indicam o percentual de E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> na mistura.

#### **3.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

A pureza do lapachol foi determinada por CLAE, utilizando um equipamento SHIMADZU com detector UV-vís SPD-20A, coluna Phenomenex Luna C18 150 x 4,6 mm, com fluxo de 1 mL/min e um volume de 20 µL foi injetado. A fase móvel utilizada foi a mistura binária de solventes constituídos por metanol e solução aquosa de ácido acético a 5% (80:20) (FONSECA et al., 2004).

#### **3.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR)**

Sistema com o copolímero E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, lapachol encapsulado e o lapachol livre foram preparados em pastilha de KBr e analisadas em equipamento Perkin Elmer, modelo 16 PC.

#### **3.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos num equipamento Bruker Avance-DRX 500, equipado com uma sonda de detecção inversa, operando em 500,6 MHz ( $^1\text{H}$ ), numa janela espectral de 20 ppm. A amostra foi solubilizada em  $\text{CDCl}_3$ . Os resultados obtidos das análises foram expressos em função do deslocamento químico das amostras ( $\delta$ ) em ppm.

### 3.6 Concentração micelar crítica (cmc)

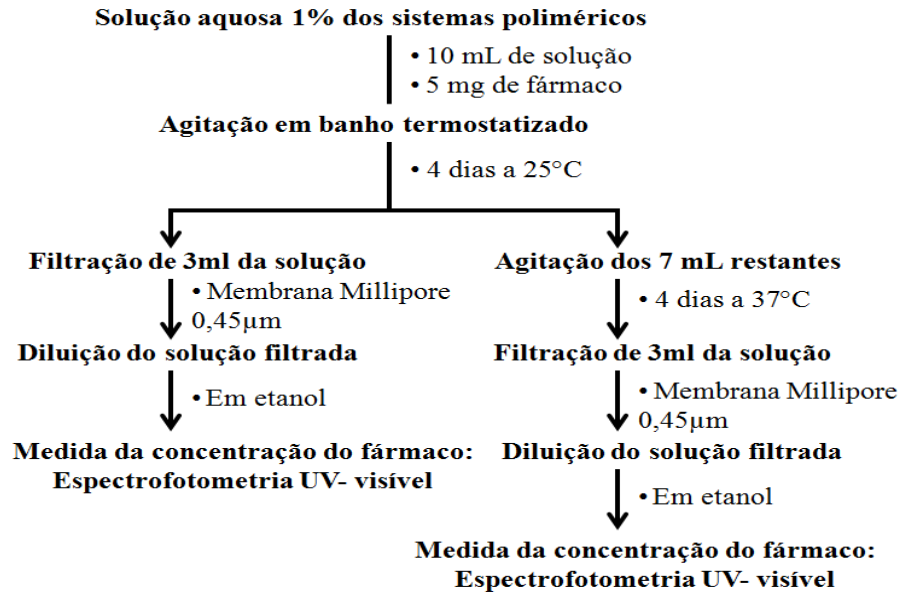
A determinação do cmc dos copolímeros e suas misturas foi realizada utilizando a técnica de espectroscopia ultravioleta-visível. Foram preparadas soluções dos copolímeros F127,  $\text{E}_{65}\text{S}_9\text{E}_{65}$  e suas misturas (70/30 e 50/50) em água deionizada e o iodo foi utilizado como amostra hidrofóbica a ser encapsulada no sistema micelar. Uma solução padrão de  $\text{KI/I}_2$  foi preparada dissolvendo 0,5 g de iodo e 1 g de iodeto de potássio em 50 mL de água deionizada. O iodo, molécula apolar pouco solúvel em água, quando em solução aquosa em que estejam presentes íons iodeto interage com estes íons para formar íons triiodeto, tornando o iodo solúvel em água, resultando em uma solução marrom escura. Assim o  $\text{I}_2$  presente na solução foi encapsulado no núcleo hidrofóbico da micela causando uma conversão de  $\text{I}_3^-$  para  $\text{I}_2$  devido ao excesso de iodeto de potássio na solução, mantendo a concentração de  $\text{I}_2$  na solução aquosa. Uma série de soluções dos copolímeros e suas misturas em diferentes concentrações que variam de 0,00002% a 0,1% contendo a mesma quantidade de  $\text{KI/I}_2$  (25  $\mu\text{L}$  da solução padrão), foram preparadas. As misturas permaneceram em local escuro à temperatura ambiente por 12 horas antes da medição. O valor de absorvância de UV das soluções foi medido em comprimento de onda de 366 nm utilizando um espectrômetro UV-Vis Genesys 6 da Thermo Scientific. Os experimentos foram realizados em triplicata. A intensidade de absorção foi plotada contra o logaritmo da concentração, os valores de cmc correspondem à concentração em que um aumento acentuado na absorvância é observado (ZHAO et al., 2017).

### 3.7 Solubilização do lapachol

As moléculas do bioativo normalmente têm forte absorvância na região de UV, a absorção máxima no Ultravioleta ocorre em 265 e 274 nm (SEGOLONI; DI MARIA, 2018). A curva de calibração do lapachol foi preparada a partir dos dados de concentração (mg/L) *versus* absorvância (A). Espectrofotômetro Genesys 6 da Thermo Scientific foi utilizado no experimento. O método de incorporação do bioativo nas micelas foi o da dissolução direta (também chamado de “shake flask”) e está esquematizado no fluxograma da Figura 7.



Figura 7 - Fluxograma do método de solubilização (dissolução direta) do lapachol nos sistemas poliméricos aquosos de F127, E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e suas misturas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Foram preparadas 10 mL de soluções 1% m/v dos copolímeros e de suas misturas com e sem lapachol ( $m \approx 5$  mg) que permaneceram sob agitação a temperatura de 25 °C pelo período de 4 dias num banho termostatizado QUIMIS. As soluções tiveram seus pHs medidos no início e fim do período de 4 dias em que esteve a 25 °C. Alíquotas de 3 mL do sobrenadante foram retiradas dos sistemas e em seguida foram filtradas em membranas Millipore de porosidade 0,45 µm para a remoção do bioativo não solubilizado. Após os volumes filtrados foram diluídos em etanol e a absorbância foi determinada por espectroscopia UV-Visível em comprimento de onda específico do lapachol obtido através de sua varredura utilizando etanol para estabelecer a linha de base. Os frascos contendo as misturas restantes (7 mL) permaneceram por mais 4 dias sob agitação no banho a 37 °C e o procedimento descrito foi repetido para os sistemas. A solubilidade do lapachol em água também foi determinada através do mesmo procedimento dos sistemas com copolímero a 25 e 37 °C. As medidas foram realizadas em triplicata. As absorbâncias das soluções aquosas dos copolímeros e suas misturas sem o bioativo também foram medidas no comprimento de onda do lapachol para correção dos valores de absorbância obtidos para o bioativo (OLIVEIRA et al., 2015), como apresentado na equação 1.

$$Abs_{total} - Abs_{copolímero} = Abs_{lapachol} \quad (1)$$

### 3.8 Tamanho de Partícula

O diâmetro médio dos copolímeros triblocos E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, F127 e suas misturas com e sem lapachol foram determinados a 25 °C utilizando o equipamento Nano Zetasizer ZS90 da Malvern. As medidas foram feitas sem diluição e em triplicata.

### 3.9 Difração de raios-X

As análises por difração de raios-X dos copolímeros, misturas, encapsulados e bioativo foram realizadas em um difratômetro Rigaku, modelo DMAXB, com ângulo 2θ de 3-80° e uma velocidade de 0,013° por etapa (MACIEL TABOSA et al., 2015; PATIL; MAHAJAN, 2018).

### 3.10 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise térmica foi realizada com um Q20-V 24.9 Puilid 121 em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min). Foram pesadas aproximadamente 1-2 mg das amostras. Os copolímeros E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, F127, suas misturas com e sem bioativo liofilizadas e o Lapachol na forma de pó foram submetidos a uma taxa de aquecimento de 5 °C por minuto em uma faixa de temperatura de 25 °C a 300 °C (MACIEL TABOSA et al., 2015; SEZGIN-BAYINDIR et al., 2016).

### 3.11 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante, realizada no Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM), do lapachol livre e encapsulado foi medida por meio da atividade de redução do radical livre DPPH (2,2 - Diphenil - 1 - picrilhydrazila). Uma solução de 0,1 mM de DPPH em metanol foi misturada com formulação do lapachol (0,5 - 5 µg/mL) na proporção de 1:1, 1mL de solução de DPPH e 1ml das amostras (SHETH; BAHADUR, 2018). A reação foi efetuada em triplicata e foi medida a absorbância a 517 nm após 30 minutos na ausência de luz usando espectrofotômetro UV-Vis, Genesys 6 da Thermo Scientific.

### 3.12 Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase

O ensaio é baseado no procedimento descrito por Ellman et al. (1961), adaptado para CCD por Rhee et al. (2001). É considerado um método colorimétrico e que pode ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa, mas nesse trabalho foi utilizada somente a forma qualitativa. É um método rápido e sensível para a seleção de amostras com ação anticolinesterásica. A metodologia consiste em retirar uma alíquota de 5 µl dos compostos puros (1 mg/mL) e aplicar em uma cromatoplaça (DC-Alufolien, Silicagel 60 F254, 0,2 mm Merck). Após a completa evaporação do solvente, foi borrifado uma mistura (1:1) de iodeto de acetilcolina (ATCI) 1 mmol·L<sup>-1</sup> com o reagente de Ellman (ácido 5,5' – Ditiobis- (2 – nitrobenzóico, DTNB, 1 mmol·L<sup>-1</sup>), deixando em repouso por 3 minutos para a secagem da placa. Em seguida foi borrifado a enzima acetilcolinesterase (4,5 U/ml). Após 10 minutos, ocorre o surgimento de uma coloração amarela, porém, onde há inibição da enzima, observa-se a formação de um halo branco em torno dos “spots” onde foram aplicadas as amostras. Em 20-30 minutos a coloração desaparece. Como controle positivo, foi utilizada a solução do padrão de sal Eserina 1 mg/mL.

### 3.13 Ensaio de difusão

Para esse teste, com base em metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira (2010), foi preparado tampão fosfato pH 7,3 através da dissolução de 20,8 g de fosfato de sódio dibásico hepta-hidratado e 3,08 g de fosfato de sódio monobásico monoidratado em 850 mL de água, e pH ajustado em  $7,3 \pm 0,1$  com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio, depois acrescentou-se 150 mL de etanol. Em seguida, 2 mL da amostra foram adicionados ao compartimento doador e 50 mL da solução tampão foram adicionados ao compartimento receptor. A uma temperatura de 37 °C, o ensaio de difusão ocorreu utilizando uma membrana de celulose com porosidade de 0,5 µm, que foi utilizada como divisória entre os dois compartimentos, a mesma foi previamente ativada durante período de 30 min com mesmas condições de solução receptora e temperatura. Os intervalos a serem utilizados na análise foram: 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h.

### 3.14 Cinética de liberação

Para avaliar a cinética de liberação do lapachol no sistema micelar os dados de liberação foram ajustados para diferentes modelos cinéticos: ordem zero, primeira ordem, Korsmeyer-Peppas e Higuchi (COSTA; SOUSA LOBO, 2001). Dentre estes, o que apresentou o maior coeficiente de correlação ( $R^2$ ) foi escolhido como o modelo que representa a cinética de liberação. Esta análise foi realizada usando o programa OriginPro8.

### 3.15 Ensaio de citotoxicidade

A análise de citotoxicidade pelo método do MTT permite analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983). O produto formado pode ser dissolvido em solvente e sua quantificação é realizada a partir de absorbância, utilizando um espectrofotômetro.

As linhagens celulares foram cultivadas em placas de 96 poços, com número de células variando de acordo com o tempo de duplicação (*doubling time*) de cada linhagem. As células foram plaqueadas na concentração de  $0,1 \times 10^6$  cél/mL para as linhagens PC-3 e SNB-19;  $0,7 \times 10^5$  cél/mL para a linhagem HCT-116 e  $0,3 \times 10^6$  cél/mL para a linhagem HL-60. O meio contendo as substâncias-teste, em diferentes concentrações (concentração seriada), foi adicionado 24 h após o plaqueamento. As placas foram então incubadas por 72 h em estufa a 5% de  $\text{CO}_2$  a 37 °C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas (1500 rpm por 15 min) e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3 h. Após a incubação as placas foram novamente centrifugadas (3000 rpm por 10 min) para retirada da solução de MTT. A absorbância foi lida, após dissolução do precipitado de formazan em 100  $\mu\text{L}$  de DMSO puro, em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Os compostos foram avaliados em pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata. Os valores de  $\text{CI}_{50}$  e respectivos  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) foram calculados por regressão não-linear usando o programa GraphPad Prism 6.

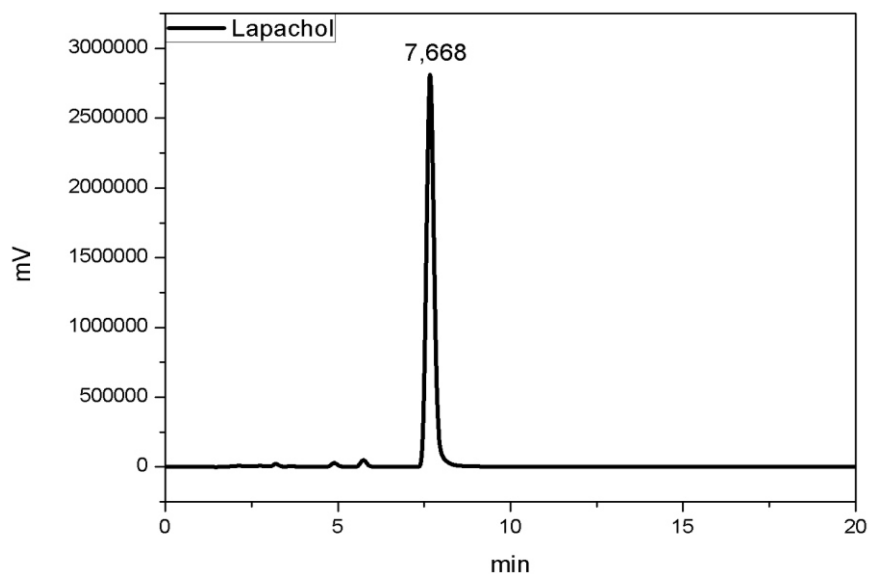
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação do perfil cromatográfico CLAE

Cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica utilizada para separar, identificar e quantificar compostos (BOUKHOBZA; CRANS, 2017; MACIEL TABOSA et al., 2015). Neste trabalho a técnica foi utilizada para verificar a pureza do lapachol utilizado nos sistemas poliméricos.

O pico referente ao lapachol na amostra foi identificado de acordo com o tempo de retenção obtido de 7,668 (Figura 8), valor similar ao encontrado por (FONSECA et al., 2004). Também é possível correlacionar a relação área do composto e do cromatograma a presença do ativo na amostra, foi obtida uma área total de 95,592% referente ao pico do lapachol indicando sua pureza.

Figura 8 - Cromatograma de CLAE do lapachol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

### 4.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

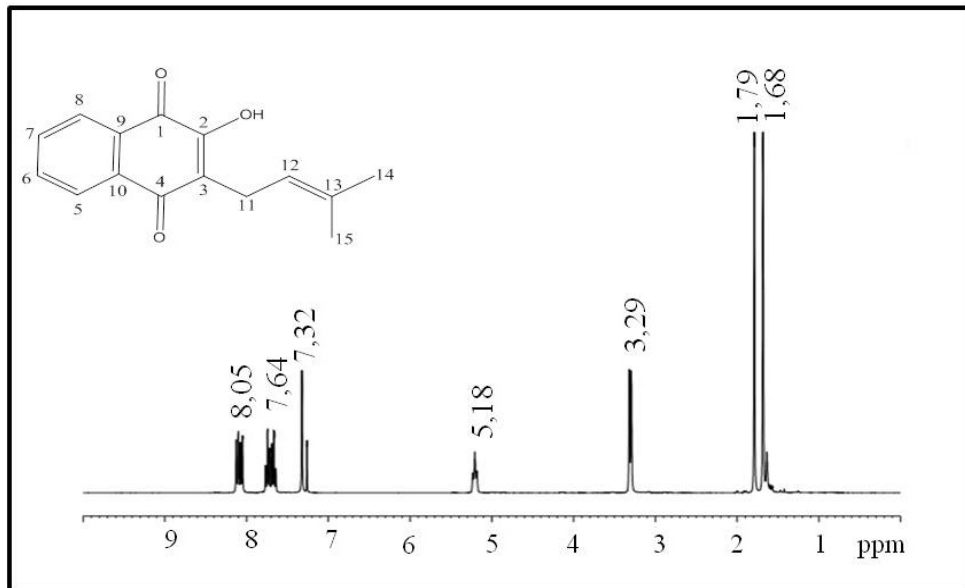
A estrutura química do lapachol foi confirmada pela técnica de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , através da qual foi possível identificar sinais característicos associados a estrutura química da molécula.

Os sinais dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  obtidos foram:  $\delta$  1,68 (s, 3H, CH<sub>3</sub> - 15),  $\delta$  1,79 (s, 3H, CH<sub>3</sub> - 14),  $\delta$  3,29 (d, 2H, CH<sub>2</sub> - 11),  $\delta$  5,18 (t, 1H, CH - 12),  $\delta$  7,26 (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  7,32 (s, 1H, OH),  $\delta$  7,64 (td, 2H, arom - 6 e 7),  $\delta$  8,05 (td, 2H, arom - 5 e 8).

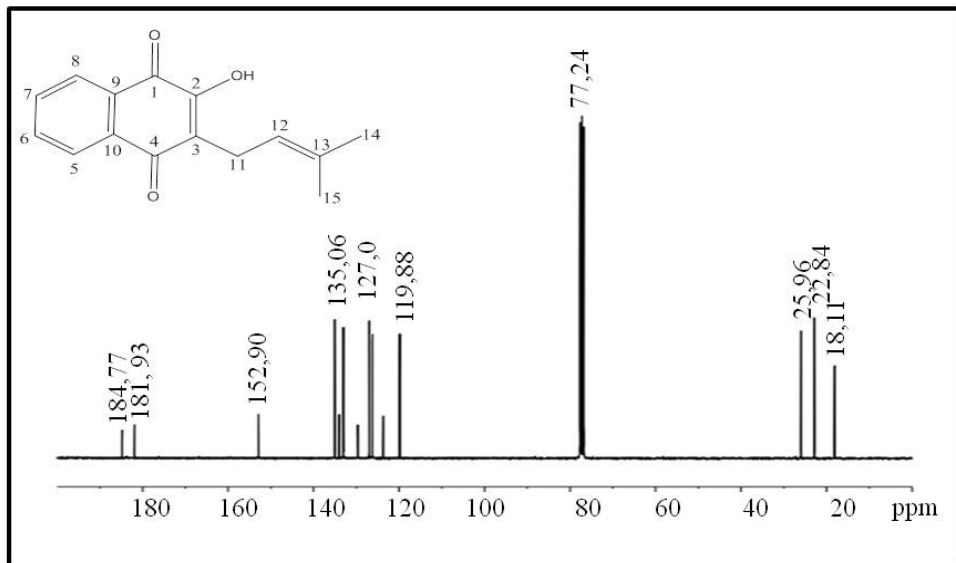
Os sinais dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  obtidos foram: RMN  $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  18,11 (CH<sub>3</sub>, C-15),  $\delta$  22,84 (CH<sub>3</sub>, C-11),  $\delta$  25,96 (CH<sub>2</sub>, C-14),  $\delta$  77,24 (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  119,88 (HC=C, C - 12),  $\delta$  123,71 (C=C-OH, C - 3),  $\delta$  126,27 (CH arom, C - 5),  $\delta$  127 (CH arom, C - 8),  $\delta$  129,67 (C arom, C - 10),  $\delta$  133,07 (C arom, C - 7),  $\delta$  133,16 (C arom, C - 9),  $\delta$  134,05 (C=CH, C - 13),  $\delta$  135,06 (CH arom, C - 6),  $\delta$  152,90 (OH-C=C, C - 2),  $\delta$  181,93 (C=O, C - 1),  $\delta$  184,77 (C=O, C - 4).

Os dados obtidos pelos espectros foram comparados com os trabalhos de Dawson et al. (1989), Delarmelina et al. (2016) e Maciel Tabosa et al. (2015) o que indicou tratar-se do lapachol. As Figuras 9 e 10 mostram os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do lapachol.

Figura 9 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do lapachol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 10 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do lapachol

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

### 4.3. Caracterização por FTIR

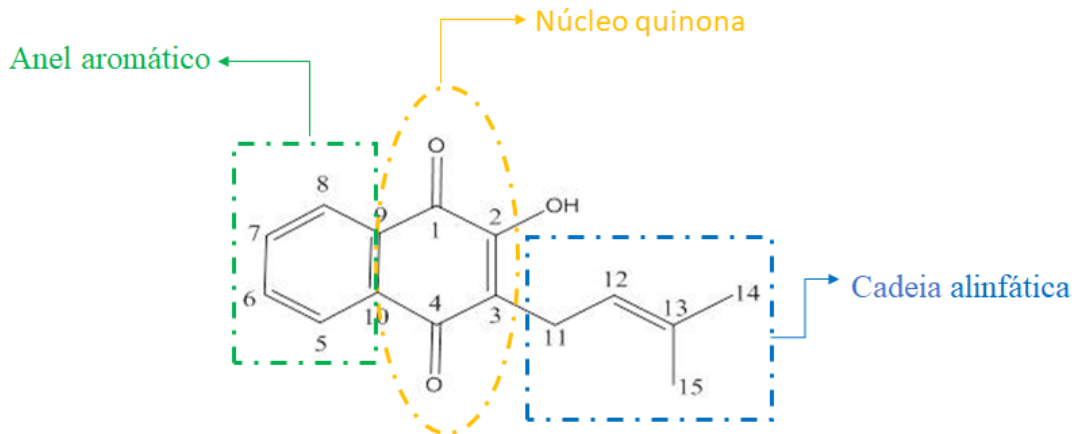
Os espectros de infravermelho do bioativo (Figura 12) e dos copolímeros puros e de suas misturas nas proporções 50/50 e 70/30 com lapachol encapsulado, foram obtidos para confirmar os principais grupos funcionais dos copolímeros e para verificar se houve interação química entre eles. A Tabela 1 mostra as principais bandas do lapachol (Figura 11) com suas atribuições.

Tabela 1- Atribuições das frequências das principais bandas do lapachol (DELARMELINA et al., 2016).

Nº de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições
3423 e 3349	VOH
3100	$\nu_s\text{CHCH}_{arom}$
3076	$\nu_{ass}\text{CHCH}_{arom}$
2973	$\nu_{ass}\text{CHCH}_2$ ; $\nu\text{CHCH}_{alinf}$ .
2928	$\nu_{ass}\text{CHCH}_3$
2909	$\nu_s\text{CHCH}_2$
2875	$\nu_s\text{CHCH}_3$
1640	$\nu\text{C}=\text{O}_{quinona}$

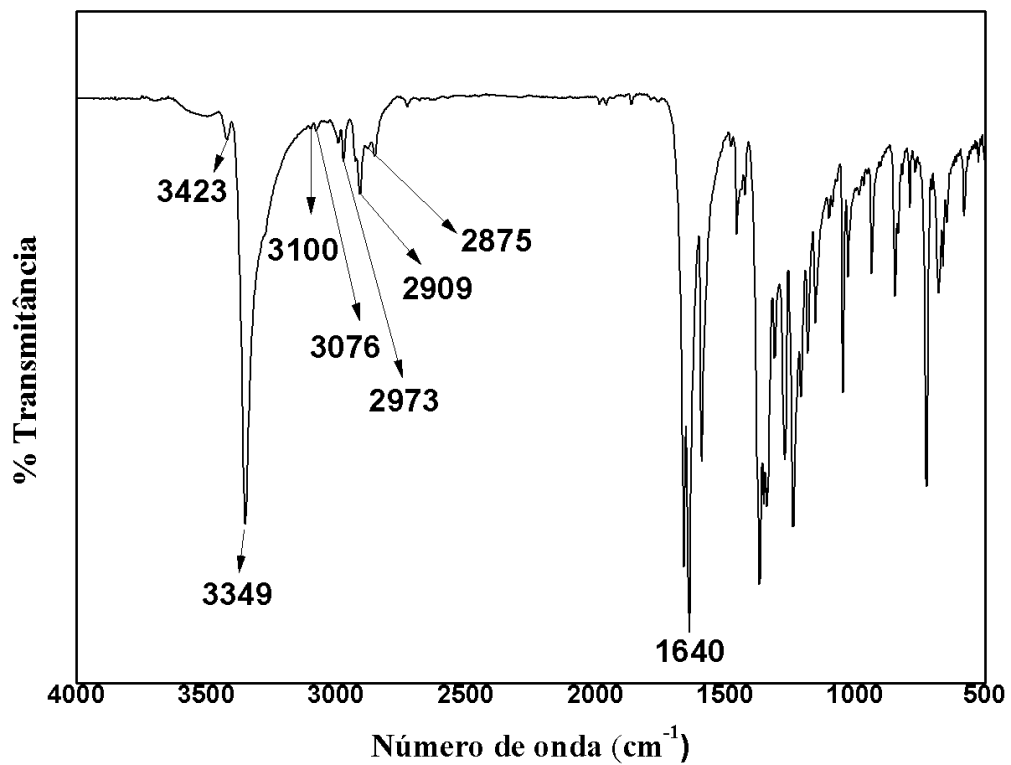
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 11 – Estrutura química do lapachol com destaque as suas partes componentes



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 12 - Espectro de absorção na região do infravermelho (FT-IR) em pastilha de KBR do lapachol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Todos os espectros das amostras dos polímeros apresentaram praticamente as mesmas bandas de absorção e não houve o surgimento de nova banda nos espectros das misturas. Por isso, apenas alguns espectros estão presentes (Figura 13). A Tabela 2 mostra as principais bandas dos polímeros com suas atribuições.

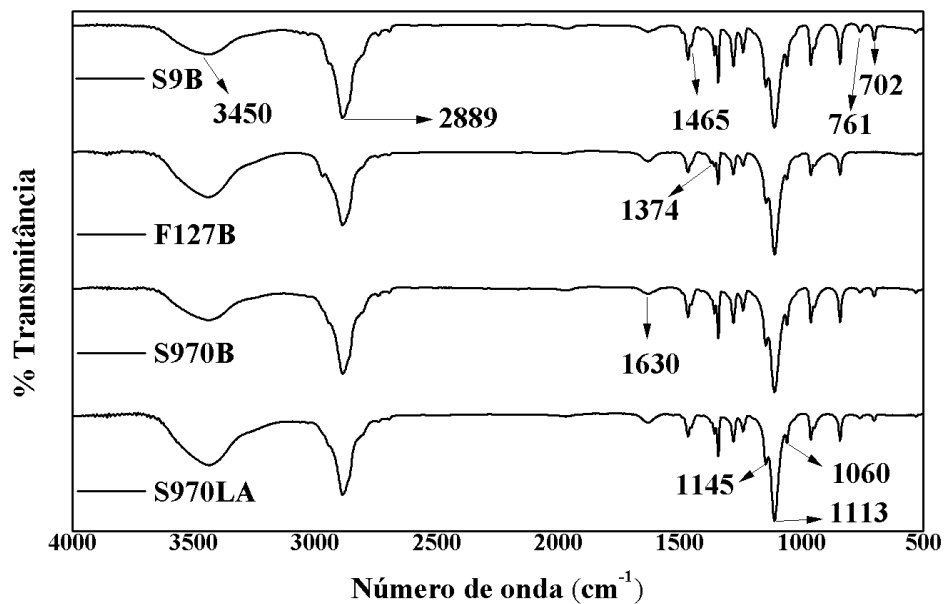


Tabela 2. Atribuições das frequências das principais bandas dos copolímeros F127 e ESE e suas misturas com e sem lapachol (PAVIA et al., 2010; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005)

Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3450	$\nu_{OH}$ água
2889	$\nu_s(\text{CH}_3)$
1465	$\delta_s(\text{CH}_2)$ e $\nu(\text{C-C})_{arom.}$
1374	$\delta_s(\text{CH}_3)$
1344, 1360	$\delta(\text{CH}_2)$
1241, 1281	$\delta(\text{CH}_2)$
1145, 1113 e 1060	$\nu(\text{C-O-C})$
761 e 702	$\delta(\text{C-H})_{arom. monosubst.}$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 13 - Espectros de absorção na região do Infravermelho (FT-IR) em pastilha de KBr dos sistemas poliméricos: S9B, F127B, S970B e S970LA



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

São observadas nos espectros a presença de bandas amplas em 3450 cm<sup>-1</sup> que podem ser atribuídas ao estiramento O-H proveniente da água presente nas dispersões, podemos relacionar a água também a banda em 1630 cm<sup>-1</sup> que representa a deformação da água ligada ao hidrogênio (FROST; KLOPROGGE, 2000; LUONG et al., 2011). Os espectros ainda apresentam três bandas em 1145, 1113 e 1060 cm<sup>-1</sup> referentes as vibrações C-O-C, sendo a mais

intensa em  $1113\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial assimétrica de C-O-C. Foram observadas diferenças apenas na intensidade relativa de algumas bandas e a presença de bandas de absorção em  $1374\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação angular simétrica das ligações C-H do grupamento metila presente no F127 e bandas de absorção típicas de poliestireno em  $1465\text{ cm}^{-1}$ , vibrações de esqueleto que envolvem a deformação axial das ligações carbono-carbono do anel, além de bandas de absorção media em  $761$  e  $702\text{ cm}^{-1}$  (atribuídas à deformação fora do plano de CH aromático em anel monossustituído) nos espectros de amostras em que estava presente o copolímero E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> (BRANCA et al., 2018; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005; ZHANG et al., 2008). Porém nenhuma banda de absorção específica de lapachol pôde ser identificada nos espectros das misturas indicando que ocorreu o seu encapsulamento.

#### 4.4 Caracterização das nanopartículas por difração de raios-X

A difração de raios-X foi utilizada para verificar a eficiência da encapsulação do lapachol nos copolímeros. A literatura apresenta esta técnica como um meio de verificar se houve o encapsulamento do bioativo cristalino nas micelas. O trabalho de Patil e Mahajan (2018) relaciona o desaparecimento dos picos referentes ao ativo, bem como a redução da intensidade dos picos nos espectros de raios-X do sistema contendo o ativo e a mistura de copolímeros ao encapsulamento bem sucedido do bioativo no núcleo micelar.

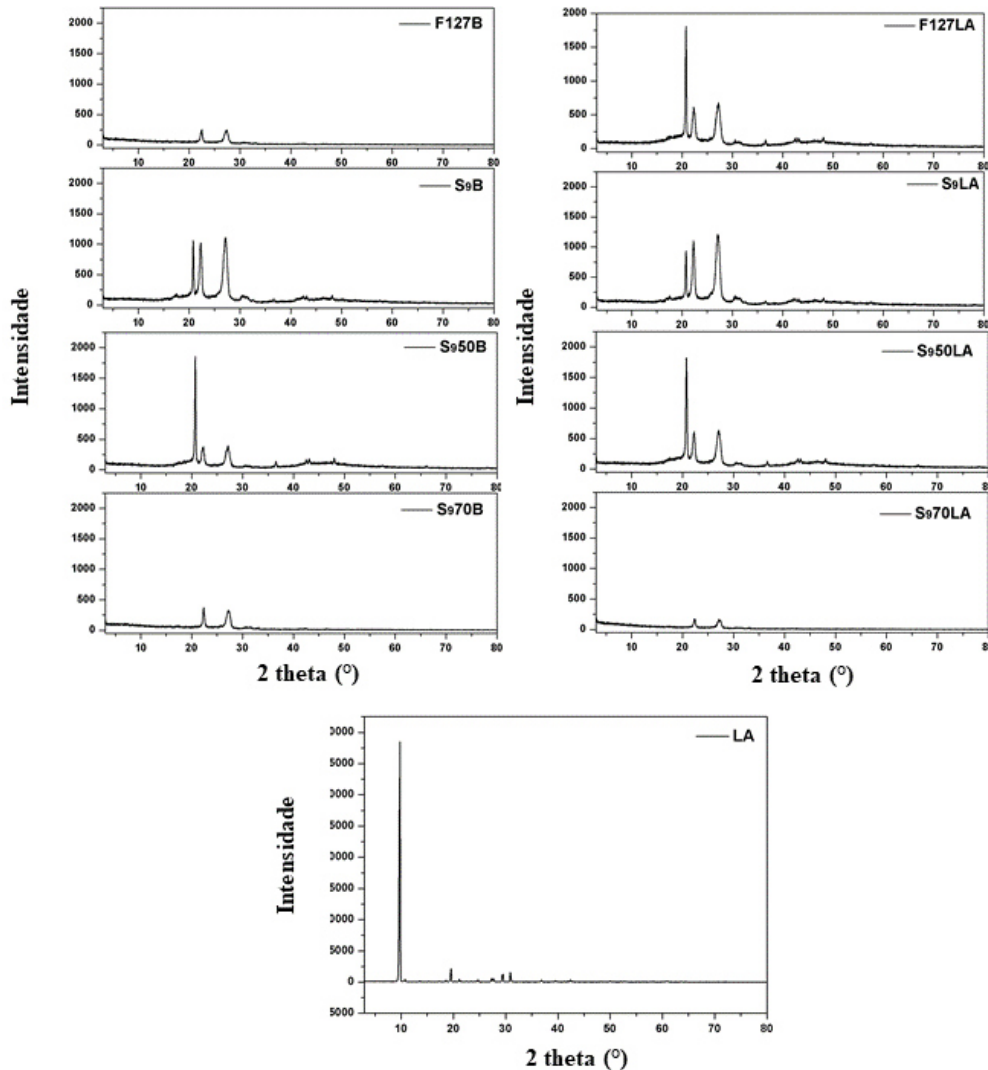
Através desta técnica também é possível confirmar a compatibilidade entre o bioativo e o excipiente, qualquer diferença entre o padrão de raios-X das amostras do bioativo, sistema branco e sistema com bioativo pode indicar interação ou incompatibilidade entre o bioativo e o excipiente (JINDAL; MEHTA, 2015).

As amostras (Figura 14) apresentaram cristalinidade associada a presença de picos bem definidos (SEZGIN-BAYINDIR et al., 2016). O resultado do perfil de difração do lapachol mostraram uma série de picos de difração intensos e bem definidos, exibindo um padrão típico de um composto com característica cristalina. O pico principal foi encontrado em  $9,73^\circ$  com picos secundários em  $19,50^\circ$ ,  $20,32^\circ$ ,  $27,48^\circ$ ,  $29,48^\circ$  e  $31,08^\circ$ , valores próximos aos encontrados na literatura (MACIEL TABOSA et al., 2015).

O difratograma do F127 apresentou dois picos a  $22,41^\circ$  e  $27,35^\circ$  enquanto o do S<sub>9</sub>B mostrou três picos a  $20,83^\circ$ ,  $22,22^\circ$  e  $27,16^\circ$ . A mistura S<sub>9</sub>50B apresentou um difratograma semelhante ao S<sub>9</sub>B com três picos a  $20,70^\circ$ ,  $22,20^\circ$  e  $27,13^\circ$ , diferindo na intensidade, enquanto o S<sub>9</sub>70B é similar ao F127 mostrando dois picos a  $22,22^\circ$  e  $27,35^\circ$ , este sistema apresentou a menor intensidade de sinal em relação a todas as amostras analisadas. Os espectros não

mostraram apenas sinais agudos associados a cristalinidade, assim podem ser classificados como semicristalinos (CAO et al., 1993).

Figura 14 - Difratomogramas do lapachol, copolímeros e misturas com e sem bioativo



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Foi observada a ausência dos picos cristalinos do lapachol nos difratogramas dos sistemas. No entanto no sistema F127LA é possível verificar o surgimento de um novo pico que pode indicar possíveis interações ou incompatibilidades entre o bioativo e o excipiente (JINDAL; MEHTA, 2015). A falta de picos do ativo pode indicar que o lapachol foi encapsulado na estrutura nuclear da micela em sua forma amorfa, além da redução dos sinais do copolímero nos sistemas com o bioativo ocorrer devido a redução do estado cristalino do copolímero (FENG et al., 2017; HUSSAIN; SAXENA, 2012; WEI et al., 2018). Assim

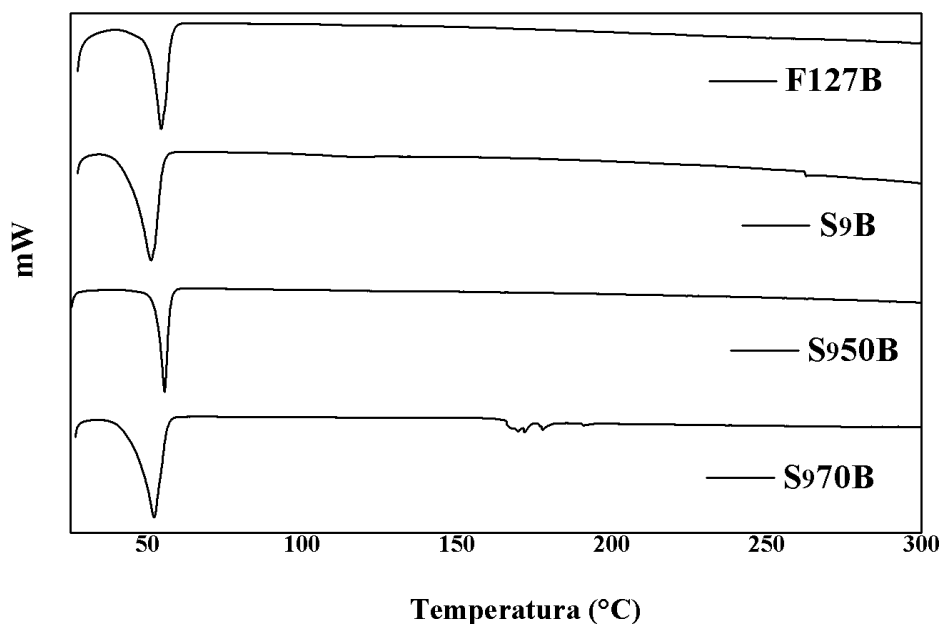
podemos sugerir que o lapachol foi encapsulado em sua forma amorfa e que ocorreu uma redução do estado cristalino dos copolímeros no sistema S970.

#### 4.5 Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é um meio importante para determinar o estado de fase de compostos encapsulados (SONG et al., 2018). Análises de DSC dos copolímeros E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, F127 e de suas misturas com e sem lapachol foram realizadas e os resultados estão na Figura 15 e 16.

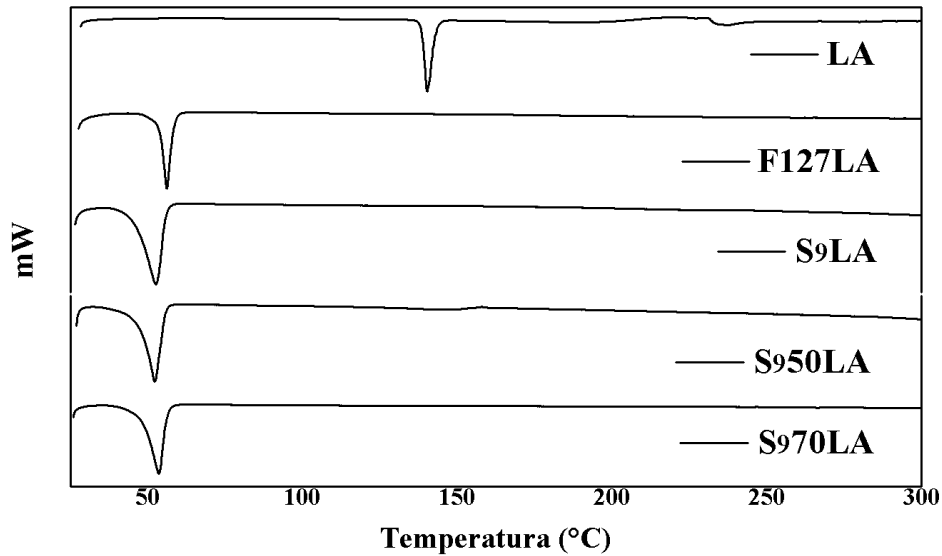
A curva de DSC do Pluronic F127 puro apresentou um evento endotérmico associado a sua fusão a 54,35 °C (GÓRNIAK et al., 2016; SONG et al., 2018). A curva do lapachol puro apresentou um evento endotérmico a 140,29°C que corresponde a sua fusão (MACIEL TABOSA et al., 2015). O copolímero E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e suas misturas S970 e S950 apresentaram eventos endotérmicos em respectivamente 51,11°C, 52,14 °C e 55,43 °C. A observação de eventos endotérmicos pode ser relacionada a existência de cristalinidade no material (CHONG et al., 2019), indicado também pela caracterização do material pela técnica de difração de raio-X (DRX).

Figura 15–Termograma Calorimétrico dos sistemas sem o ativo



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 16 - Termograma Calorimétrico dos sistemas com o ativo



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Nas curvas de DSC dos sistemas com o ativo não foi possível a visualização do evento endotérmico relacionado a fusão do fármaco. De acordo com os estudos de Amaral et al. (2017); Feng et al. (2017); Swain e Subudhi (2019) podemos associar o desaparecimento do pico de fusão do lapachol à conversão deste para o estado amorfo e seu encapsulamento dentro das nanopartículas que deve favorecer a prolongada liberação e absorção do ativo. Uma forma amorfa será dissolvida rapidamente devido sua maior energia interna e maior movimento molecular, o que aumenta as propriedades termodinâmicas em relação aos materiais cristalinos (KUMAR et al., 2011). Assim este resultado sugere que ocorreu o encapsulamento do lapachol no núcleo micelar em seu estado amorfo concordando com os resultados obtidos pela análise de DRX.

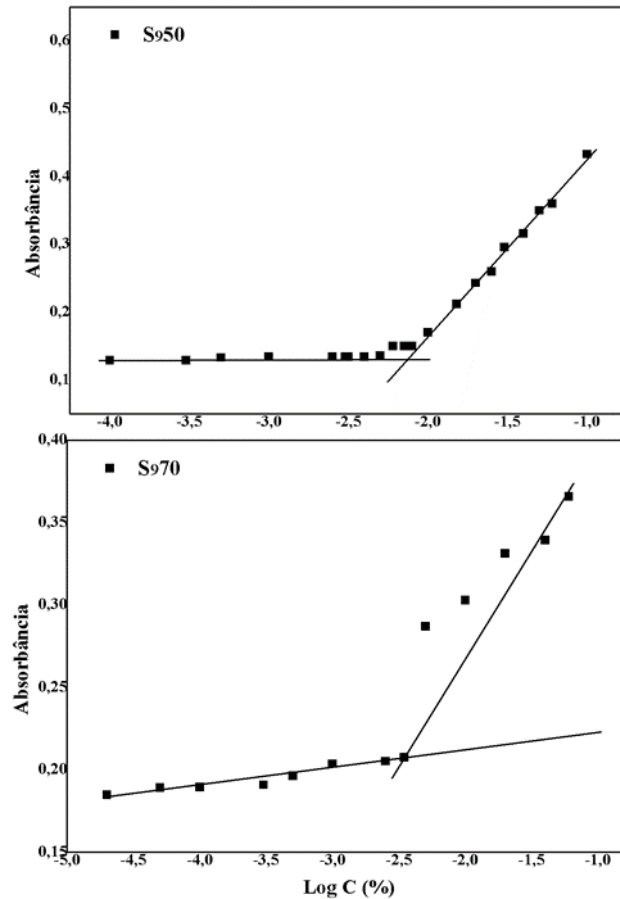
#### 4.6 Concentração Micelar Crítica (cmc)

A cmc é um parâmetro importante para a estabilidade de micelas em que fármacos são encapsulados, pois é a concentração acima da qual estruturas micelares se formam. Um menor valor de cmc possibilita que as micelas mantenham sua integridade no meio intravenoso apesar de sujeitas a extrema diluição proporcionando uma oportunidade para que atinjam o local alvo (SOTOUDEGAN et al., 2016).

A partir dos dados das absorções obtidas foram elaborados gráficos que apresentam a relação entre as absorbâncias de  $I_2$  no comprimento de onda 366 nm *versus* o logaritmo da

concentração dos sistemas poliméricos (Figura 17). Os valores de cmc, apresentados na Tabela 3, corresponderam à concentração em que um aumento acentuado na absorbância é observado.

Figura 17 - Gráfico da relação absorbância *versus* logaritmo da concentração



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Tabela 3. Valores de cmc's dos copolímeros S<sub>9</sub>, F127 e suas misturas a 23 °C.

Sistemas	cmc	cmc (g.dm <sup>-3</sup> )
F127B	0,01%	0,1
S <sub>9</sub> B	0,0026%	0,026
S <sub>9</sub> 50B	0,0074%	0,074
S <sub>9</sub> 70B	0,0035%	0,035

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os valores de cmc dos sistemas individuais foram inferiores a concentração utilizada durante os experimentos de solubilização (1% m/v), logo este resultado é consistente

com a efetiva formação de micelas em solução (OLIVEIRA et al., 2015; RICARDO et al., 2005).

O copolímero F127 apresentou um valor de cmc semelhante ao encontrado por Patil e Mahajan (2018) utilizando a mesma metodologia, este valor foi superior ao obtido para E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>, comportamento que pode ser relacionado ao caráter hidrofóbico dos copolímeros, quanto mais hidrofóbico o copolímero menor será seu cmc (DUTRA et al., 2016).

De acordo com Yang et al. (2003) as unidades de cadeia P e S, em copolímeros triblocos, possuem hidrofobias diferentes estando em uma relação aproximada P:S = 1:10, dessa forma é esperado que F127 apresente menor caráter hidrofóbico quando comparado a E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub> e conseqüentemente uma maior cmc. A Tabela 4 mostra valores de cmc para triblocos E<sub>m</sub>S<sub>n</sub>E<sub>m</sub> para uma análise geral desse parâmetro.

Tabela 4. Valores de concentração micelar crítica de copolímeros E<sub>m</sub>S<sub>n</sub>E<sub>m</sub> e EPE apresentados na literatura

Copolímero	cmc (g.dm <sup>-3</sup> )	T (°C)	Referência
E <sub>33</sub> S <sub>14</sub> E <sub>33</sub>	0,0025	37	Cambón et al (2012)
E <sub>38</sub> S <sub>10</sub> E <sub>38</sub>	0,0037	37	Cambón et al (2012)
E <sub>10</sub> S <sub>10</sub> E <sub>10</sub>	0,012	15	Juárez et al (2010)
E <sub>137</sub> S <sub>18</sub> E <sub>137</sub>	0,017	15	Juárez et al (2010)
E <sub>69</sub> S <sub>8</sub> E <sub>69</sub>	0,11	30	Yang et al (2003)
E <sub>112</sub> S <sub>9</sub> E <sub>112</sub>	0,14	30	Yang et al (2003)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os sistemas binários apresentaram valores de cmc intermediários aos dos sistemas individuais, além de um menor valor de cmc com a diminuição da proporção de F127 na mistura, constituinte menos hidrofóbico, este comportamento dos sistemas também foi observado por Sharma et al. (2018a) e Younes, Abdel-Halim e Ellassasy (2018) em seus trabalhos envolvendo misturas binárias de copolímeros.

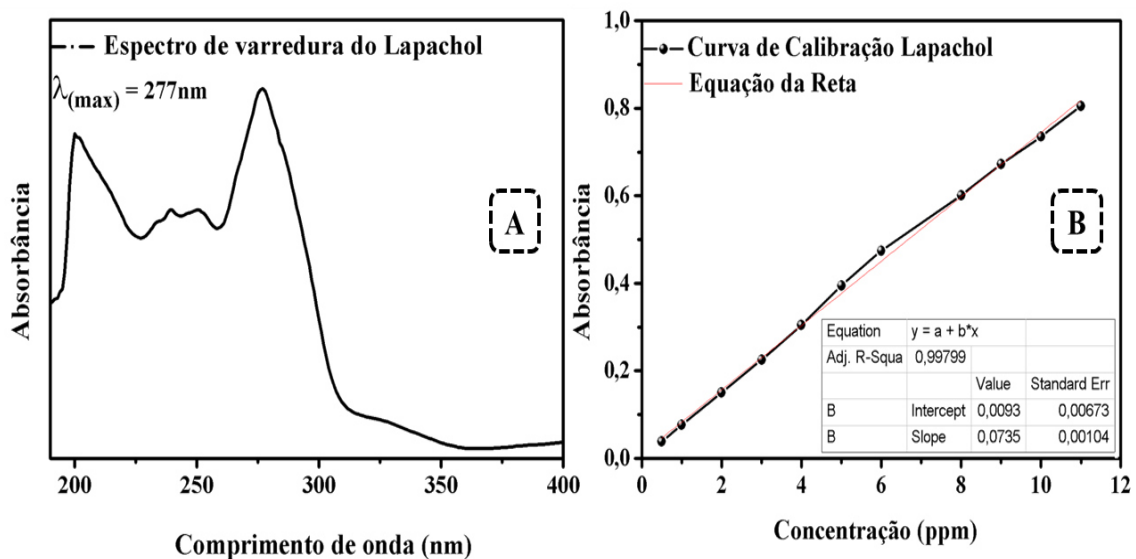
Os baixos valores de cmc dos sistemas os tornam promissores para aplicações farmacológicas, uma vez que possibilita as suas micelas permanecerem estáveis após diluição no sangue (ZHAO et al., 2017).

#### 4.7 Solubilização do Lapachol

A curva de calibração do lapachol (Figura 18B) foi obtida por meio dos dados da concentração (mg/L) *versus* absorbância (A) a partir do comprimento de onda específico do lapachol (277 nm), obtido pelo espectro de varredura representado na Figura 16A. Através da curva de calibração foi obtida a equação 2 que relaciona a absorção e a concentração, esta foi utilizada para calcular a solubilidade do lapachol nos sistemas produzidos. Os gráficos da curva de calibração e varredura do lapachol estão na Figura 18.

$$\text{Abs} = 0,0093 + 0,0735 \cdot (\text{mg/L}) \quad (2)$$

Figura 18– Gráfico da varredura e curva de calibração do lapachol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os valores obtidos das absorbâncias das soluções aquosas do bioativo e dos copolímeros com e sem lapachol foram utilizados para calcular a solubilidade, que é determinada através da massa do bioativo solubilizada (mg) por massa de copolímero (g), denominada capacidade de solubilização ( $S_{cp}$ ). A  $S_{cp}$  é calculada através da solubilidade total do bioativo na solução do copolímero ( $S_{tot}$ ) subtraída a solubilidade do bioativo em água ( $S_0$ ) dividido pela massa do copolímero ( $m_{cop}$ ), como mostra a equação 3.

$$S_{cp} = S_{tot} - S_0 / m_{cop} \quad (3)$$

Os resultados obtidos de solubilidade em água do lapachol foram 0,25 mg/dL a 25 °C, resultado semelhante ao encontrado na literatura 2 mg/L equivalente a 0,2 mg/dL (Tabosa et al, 2018) e 0,51 mg/dL a 37 °C. Segundo Fonseca, Braga e Santana (2003) a solubilidade do



lapachol é favorecida com o aumento da temperatura, estando associado a este processo o surgimento de uma coloração alaranjada. Outro fator que também influencia a solubilidade é o pH. A Tabela 5 apresenta os valores de pH obtidos para os sistemas preparados com lapachol isolado e sistemas micelares com e sem bioativo.

Tabela 5. Valores pH obtidos para os sistemas

Sistemas	pH (ambiente)	pH (25 °C)	pH (37 °C)
F127	5,51	6,53	6,6
S <sub>9</sub>	5,5	6,72	6,55
S <sub>9</sub> 70	5,68	6,29	6,9
S <sub>9</sub> 50	5,67	6,44	6,85
LA	6,3	5,47	5,4
F127 LA	6,4	5,9	5,73
S <sub>9</sub> LA	8,4	6,84	6,83
S <sub>9</sub> 70 LA	7,43	7,02	6,8
S <sub>9</sub> 50 LA	6,69	6,57	6,3

LA: sistema lapachol em água  
 Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os dados obtidos não apresentam grande diferença de pH entre os sistemas a 25 e 37 °C, porém podemos observar um pequeno crescimento do pH para os sistemas com copolímero. O sistema S<sub>9</sub>70LA apresentou pH neutro podendo ser compatível com uma aplicação intravenosa, uma vez que apresentou pH próximo ao do sangue, pH 7,4.

Lui et al (1985) em seu trabalho demonstra que a solubilidade do lapachol é influenciada pelo pH variando de 1,5 µg/ml em pH 4 a 5 mg/ml a pH 10, obtendo um valor de solubilidade igual a 0,002 mg/ml equivalente a 0,2 mg/dl em pH 5 a uma temperatura de 25 °C, valor próximo ao encontrado neste trabalho.

O lapachol possui caráter ácido, com pka de aproximadamente 6,2 (CAMPANHOLI et al., 2018), em sua forma ácida se apresenta como um sólido amarelo pouco solúvel em água, entretanto na sua forma desprotonada, apresenta solubilidade em água, além de uma coloração avermelhada, a reação do lapachol com solução alcalina é utilizada como meio de extração deste ativo de fontes naturais (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013; RAVELO; ESTÉVEZ-BRAUN; PÉREZ-SACAU, 2003).

Durante o processo de solubilização foi evidenciada uma coloração avermelhada, esta se torna mais intensa nos sistemas S<sub>9</sub>LA, S<sub>9</sub>50LA e S<sub>9</sub>70LA, que apresentaram maiores valores de pH. A Figura 19 mostra os sistemas com lapachol no início e fim do processo de solubilização.

Figura 19 – Sistemas com o ativo durante o processo de solubilização



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Esta observação está de acordo com o trabalho de Segoloni e Di Maria (2018), no qual foram observadas mudanças de coloração em soluções aquosas de lapachol em diferentes pHs: em condições alcalina apresenta uma cor vermelha, no entanto a cor tende a se tornar laranja em pH abaixo de 6, já em pH mais baixos que 5,8 tornam-se amarelos, pois o bioativo começa a precipitar como um pó amarelo. Ainda segundo este autor em valores de pH abaixo de 4, sua forma ácida é predominante, enquanto para pH acima de 6,5 o composto está presente majoritariamente em sua forma dissociada. Assim é possível sugerir que durante o processo de solubilização o lapachol é convertido para sua forma desprotonada.

Os principais mecanismos de citotoxicidade propostos para quinonas são estresse oxidativo e alquilação de proteínas celulares cruciais e/ou DNA (BOLTON et al., 2000). Uma das formas de ação tóxica do lapachol pode ser pela sua interação com o O<sub>2</sub> fornecendo o radical desprotonado lapachol e peroxil (GOULART et al., 2003). A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) leva ao estresse oxidativo nas células que pode resultar na apoptose.

O estresse oxidativo pode ser relacionado tanto a patogênese quanto a apoptose de doenças como o câncer. Espécies radicais livres podem ser criadas em células tumorais levando a interação da ERO com ingredientes celulares que contém o esqueleto desoxirribosil de DNA

ou bases de DNA para gerar quebras de fita ou bases danificadas, além de oxidar proteínas ou lipídios produzindo mediadores que reagem com o DNA formando adutos, provocando mutações (POURAHMAD; SALIMI; SEYDI, 2016).

Com a conversão do lapachol para sua forma desprotonada é obtido uma naftosemiquinona, forma reduzida de um elétron de uma quinona, que pode ser tóxica por se só ou reagir com o oxigênio molecular formando o ânion-radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em células (KOVACIC; OSUNA JR., 2000). O ânion-radical superóxido passa por uma reação de desproporcionamento de forma espontânea ou após catalise enzimática para a formação de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) além de reduzir  $Fe^{3+}$  para  $Fe^{2+}$ . O peróxido de hidrogênio reage com  $Fe^{2+}$  para gerar o radical hidroxila ( $HO\cdot$ ), reação de Fenton, que é provavelmente a espécie responsável pelo dano oxidativo pois não é capturada por qualquer enzima presente no meio celular (MONKS; JONES, 2002; SCHAFER; BUETTNER, 2001; VALKO et al., 2007). Dessa forma espera-se que a conversão do lapachol para sua forma desprotonada não afete sua atividade citotóxica.

Os valores de  $S_{cp}$  obtidos para F127 e  $E_{65}S_9E_{65}$  e suas misturas permitem observar que a utilização do copolímero tribloco com núcleo de óxido de estireno e a elevação da temperatura favorece a solubilidade do lapachol. As Tabelas 6 e 7 apresentam a capacidade de solubilização dos sistemas a 25 e 37 °C.

Tabela 6. Capacidade de solubilização dos copolímeros a 25 °C.  $S_o = 0,25$  mg/dL

Sistemas	$S_{tot}$ (mg/dL)	$S_{cp}$ (mg/g)	$S_{tot}/S_o$	CP	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
S <sub>9</sub> LA	4,0±0,46	3,75	16	15	-6,71
F127LA	1,9±0,22	1,65	7,6	7,6	-5,02
S <sub>9</sub> 70LA	8,42±0,21	8,17	33,68	32,68	-8,64
S <sub>9</sub> 50LA	6,24±0,35	5,99	24,96	23,96	-7,87

$S_o$ : solubilidade do lapachol em água;  $S_{tot}$ : solubilidade total do lapachol;  $S_{cp}$ : capacidade de solubilização;  $S_{tot}/S_o$ : aumento da solubilidade; CP: coeficiente de partição;

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Este resultado foi semelhante aos encontrados na literatura, quando se trata de bioativos hidrofóbicos, uma vez que é relacionada a maior capacidade de solubilização ao núcleo de óxido de estireno devido seu maior caráter hidrofóbico em relação ao núcleo de óxido de propileno, resultando em uma maior afinidade dos bioativos pelo núcleo da micela (ATTWOOD; ZHOU; BOOTH, 2007; CAMBÓN et al., 2012).

Tabela 7. Capacidade de solubilização dos copolímeros a 37 °C.  $S_o = 0,51$  mg/dL

Sistemas	$S_{tot}$ (mg/dL)	$S_{cp}$ (mg/g)	$S_{tot}/S_o$	CP	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
S <sub>9</sub> LA	6,35±0,82	5,84	12,45	11,45	-6,3
F127LA	5,49±0,22	4,98	10,76	9,76	-5,87
S <sub>9</sub> 70LA	13,95±0,36	13,44	27,35	26,35	-8,43
S <sub>9</sub> 50LA	10,78±0,52	10,27	21,13	20,13	-7,74

$S_o$ : solubilidade do lapachol em água;  $S_{tot}$ : solubilidade total do lapachol;  $S_{cp}$ : capacidade de solubilização;  $S_{tot}/S_o$ : aumento da solubilidade; CP: coeficiente de partição;

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

A temperatura é um dos fatores que influenciam a micelização dos copolímeros em bloco. Segundo Attwood et al (2007) quando se trata de soluções a temperatura de 25 °C os copolímeros com bloco S apresentam maior capacidade de solubilização em relação a copolímeros com bloco P devido em parte a sua maior capacidade de micelização, uma vez que copolímeros com bloco S frequentemente possuem baixos valores de temperatura micelar crítica (cmt), apresentando uma micelização essencialmente completa à temperatura ambiente (ATTWOOD; ZHOU; BOOTH, 2007). Este fato foi observado neste trabalho, uma vez que o sistema S<sub>9</sub>LA apresentou maior capacidade de solubilização quando comparado a F127LA a 25 °C, além do sistema F127LA apresentar um aumento de  $S_{tot}/S_o$  com a elevação da temperatura enquanto os demais sistemas apresentaram uma redução.

De acordo com Attwood, Zhou e Booth (2007); HE e Alexandridis (2017) a micelização dos copolímeros em bloco é um processo endotérmico, desta forma a temperatura pode alterar a termodinâmica e estrutura da micelização em água, no caso de copolímeros E<sub>m</sub>P<sub>n</sub>E<sub>m</sub> a entalpia é elevada ocorrendo uma diminuição significativa de cmc com o aumento da temperatura resultando em um maior potencial de solubilização em decorrência da elevação do número de micelas em solução.

Os sistemas binários apresentaram aumento da solubilidade quando comparados aos sistemas isolados, destacando-se o sistema S<sub>9</sub>70 que em ambas as temperaturas apresentou o melhor valor de solubilidade para o fármaco. Os dados obtidos concordam com Oliveira et al (2015) que também observou o crescimento da solubilidade de bioativo pouco solúvel em sistemas mistos compostos por copolímeros com bloco óxido de estireno e óxido de propileno.

A solubilização também pode ser avaliada como uma partição do bioativo entre duas fases: aquosa e micelar. O coeficiente de partição (CP) é a razão entre a concentração do bioativo na fase micelar e na fase aquosa para uma concentração específica de surfactante (JABBARI; TEYMOORI, 2018) de acordo com a equação 4.

$$CP = S_{cp}/S_0 \quad (4)$$

Os dados de solubilização mostram uma relação direta entre os valores de P e  $S_{cp}$  que crescem com o aumento da hidrofobicidade do sistema, resultado semelhante ao encontrado na literatura (DUTRA et al., 2015; SHARMA et al., 2018a).

Através dos valores de P é possível determinar a variação da energia de Gibbs da solubilização ( $\Delta G^{\circ}_s$ ), esta função termodinâmica mostra a alteração da energia de Gibbs na transferência do bioativo entre os meios aquoso e micellar (JABBARI; TEYMOORI, 2018), onde R é a constante universal dos gases, T é a temperatura em Kelvin e P é o coeficiente de partição (Equação 5).

$$\Delta G^{\circ}_s = -RT \ln P \quad (5)$$

Os sistemas apresentaram valores negativos de  $\Delta G^{\circ}_s$  indicando a preferência do bioativo pela fase micelar, desta forma expressando que a solubilização foi espontânea, porém os valores de  $\Delta G^{\circ}_s$  para as misturas foram inferiores aos obtidos para copolímeros puros. Assim, o processo de solubilização utilizando misturas binárias foi energeticamente mais favorável, indicando a ocorrência de efeito sinérgico.

Os dados também indicam que o aumento do caráter hidrofóbico da micela favorece a espontaneidade da solubilização, uma vez que os valores de  $\Delta G^{\circ}_s$  para F127LA foram maiores que o do S<sub>9</sub>LA e a mistura com maior proporção de S<sub>9</sub>, copolímero de núcleo mais hidrofóbico, apresentou menor  $\Delta G^{\circ}_s$ .

Esta observação pode ser relacionada a maior afinidade do lapachol pelo núcleo S, que possui maior hidrofobicidade, tornando mais propícia a sua solubilização (ATTWOOD et al., 2007; YANG et al., 2003). No entanto o decréscimo nos valores de  $\Delta G^{\circ}_s$  nos sistemas binários com maior proporção de S<sub>9</sub> pode ser relacionado ao aumento da relação bioativo/unímero, ocorrendo a acomodação de um maior número de moléculas de bioativo nas micelas (SHARMA et al., 2018a).

A mistura de copolímeros obteve melhores resultados de solubilidade e estabilidade estando de acordo com o trabalho de Lee et al. (2018) que consideram a mistura de copolímeros em bloco uma alternativa para compensar as desvantagens de um sistema puro, a estabilidade de copolímeros mais hidrofóbicos em solução aquosa pode ser melhorada ao adicionar um copolímero mais hidrofílico resultando em uma melhora da capacidade de solubilização do bioativo.

#### 4.8 Tamanho de Partícula

O tamanho hidrodinâmico e polidispersividade podem afetar a estabilidade física, interação celular e biodistribuição das micelas no corpo (SOUSA; BRAGA; SOSNIK, 2015). Para que os sistemas micelares permaneçam eficientes durante seu tempo de circulação no sangue devem apresentar reduzido tamanho de partícula (10 – 100 nm) para evitar a sua detecção e destruição pelo sistema retículo-endotelial (HUSSAIN; SAXENA, 2012; PELLOSI et al., 2016). Os valores de diâmetro hidrodinâmico médio do pico ( $D_h$ ) e do índice de polidispersividade do tamanho (PdI) para os sistemas com e sem lapachol estão apresentados nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8. Diâmetro hidrodinâmico médio de pico ( $D_h$ ) dos sistemas poliméricos a 1% m/v preparados a 25 °C

Sistemas	$D_h$ (nm)	PdI
S <sub>9</sub> B	18,09±0,36	0,150±0,029
S <sub>9</sub> LA	18,41±0,32	0,123±0,026
F127B	11,87±1,19	0,494±0,052
F127 LA	12,05±0,59	0,542±0,032
S <sub>9</sub> 70B	18,3±0,151	0,108±0,009
S <sub>9</sub> 70LA	18,44±0,06	0,139±0,009
S <sub>9</sub> 50B	18,93±0,18	0,139±0,009
S <sub>9</sub> 50LA	19,2±0,084	0,2 ±0,009

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O diâmetro hidrodinâmico médio ( $D_h$ ) dos sistemas com e sem lapachol preparados a 25 e 37 °C apresentam uma faixa de tamanho médio de 11 a 22 nm. Os dados expõem um ligeiro aumento do tamanho de partícula dos sistemas após a adição do lapachol, este aumento pode ser relacionado a inclusão do ativo que aumenta o diâmetro hidrodinâmico refletindo um aumento do núcleo da micela (PELLOSI et al., 2016).

Portanto é possível sugerir que o bioativo foi encapsulado no núcleo das micelas, além dos tamanhos das partículas apresentados pelos sistemas representarem uma vantagem para sua aplicação farmacológica, pois seus tamanhos podem contribuir para sua permanência na circulação sanguínea por um maior intervalo de tempo possibilitando o carreamento do ativo ao local alvo. Uma vez que nanopartículas com tamanhos variando de 10 a 100 nm podem

evitar a rápida metabolização e eliminação, propiciando maior estabilidade ao sistema e longo tempo de circulação (HOU et al., 2016).

Tabela 9. Diâmetro hidrodinâmico médio de pico ( $D_h$ ) dos sistemas poliméricos a 1% m/v preparados a 37 °C

Sistemas	$D_h$ (nm)	PdI
S <sub>9</sub> B	18,04±0,26	0,123±0,009
S <sub>9</sub> LA	22,52±0,32	0,081±0,013
F127B	15,09±1,22	0,578±0,038
F127 LA	15,30±0,88	0,710±0,05
S <sub>9</sub> 70B	18,65±0,06	0,142±0,011
S <sub>9</sub> 70LA	19,0±1,27	0,165±0,02
S <sub>9</sub> 50B	20,07±0,13	0,252±0,012
S <sub>9</sub> 50LA	20,59±1,74	0,155±0,007

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Valores de polidispersividade são adimensionais e representam a distribuição de tamanho das partículas, se forem próximos a 0 podem ser relacionados a uma distribuição altamente homogênea, em contraste, próximos a 1 são relacionados a uma distribuição altamente polidispersa (DE COELHO et al., 2017; YOUNES; ABDEL-HALIM; ELASSASY, 2018).

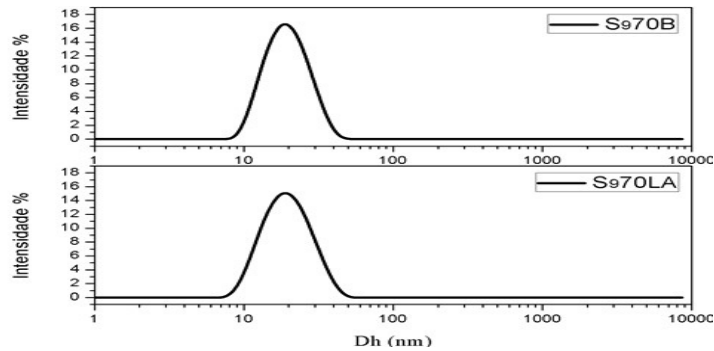
Os sistemas apresentaram moderada polidispersividade com valores de PDI na faixa de 0,1 a 0,4, com exceção dos sistemas compostos por F127 livre e encapsulado, para o qual foram obtidos valores de PDI superiores a 0,4 indicando alta polidispersividade (SHARMA et al., 2018b). Dessa forma os sistemas binários mostraram-se promissores para aplicação intravenosa, pois apresentaram reduzido tamanho de partícula e moderada polidispersividade que contribuem para a sua estabilidade no meio intravenoso.

A distribuição do diâmetro hidrodinâmico também pode indicar a existência de micelas híbridas ou independentes. Misturas que apresentam um único pico com distribuição de tamanho estreito indicam que ocorreu o processo de co-micelização nas misturas binárias, enquanto um único pico largo ou uma bimodal distribuição de tamanho sugere duas famílias de micelas separadas (OLIVEIRA et al., 2015; PRAGATHEESWARAN et al., 2014).

Nos gráficos da intensidade de dispersão versus diâmetro hidrodinâmico dos sistemas poliméricos em água com e sem lapachol preparados a 25 e 37 °C é possível observar

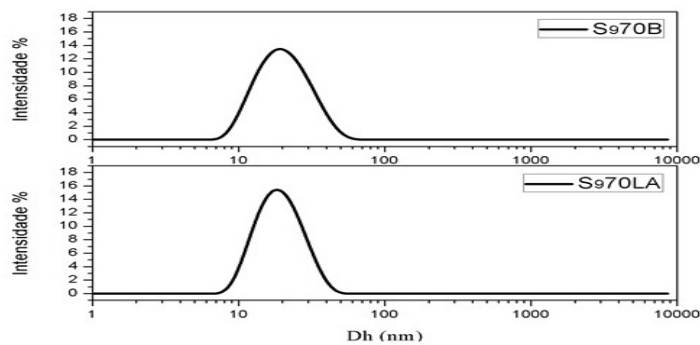
que o sistema S<sub>970</sub> com e sem lapachol apresentou apenas um pico indicando que ocorreu o processo de co-micelização e a formação de micelas binárias. Os gráficos de distribuição de tamanho para o sistema S<sub>970B</sub> e S<sub>970LA</sub> estão apresentados nas Figuras 20 e 21.

Figura 20 - Gráficos de distribuição de tamanho dos sistemas a 25 °C do sistema S<sub>970B</sub> S<sub>970LA</sub>



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 21 - Gráficos de distribuição de tamanho dos sistemas a 37 °C do sistema S<sub>970B</sub> e S<sub>970LA</sub>



Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.9 Atividade antioxidante dos sistemas

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* pelo ensaio baseado na capacidade de redução do radical livre DPPH vem sendo utilizada para investigar as capacidades antioxidantes de sistemas nanocarreadores (CADDEO et al., 2019; RAHDAR et al., 2019) por ser um teste de manipulação relativamente simples.

Os resultados foram expressos em valores de CI<sub>50</sub>, concentração necessária para reduzir 50% do radical DPPH, que apresenta cor violeta, em difenil-picril-hidrazina, de



coloração amarela. Estes valores foram determinados graficamente através da relação entre a concentração da amostra e a porcentagem de redução do DPPH.

Utilizou-se a quercetina, ativo de origem natural pertencente a classe dos flavonoides que apresenta alta capacidade antioxidante (CADDEO et al., 2019), como controle positivo. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 10.

Observou-se que o bioativo livre e encapsulado apresentou atividade antioxidante, porém menor que a do controle. O sistema S<sub>970</sub>LA manteve a atividade antioxidante semelhante à do bioativo livre indicando que a incorporação do lapachol nas micelas não alterou sua eficiência no teste. Sheth e Bahadur (2018) sugerem que este comportamento ocorre devido a interação do bioativo com o solvente utilizado e com o sistema polimérico que propicia sua solubilização e conseqüentemente tornando disponível a interação do ativo com o radical DPPH.

Tabela 10. Valores de CI<sub>50</sub> do bioativo livre e micelas com e sem lapachol encontrados a partir da medição da atividade antioxidante *in vitro*.

CI <sub>50</sub> (µg/ml)	Quercetina	LA	S <sub>970</sub> LA	S <sub>970</sub> B
<b>DPPH</b>	0,67 ± 0,02	4,06 ± 0,16	3,8 ± 0,34	15,09 ± 1,48

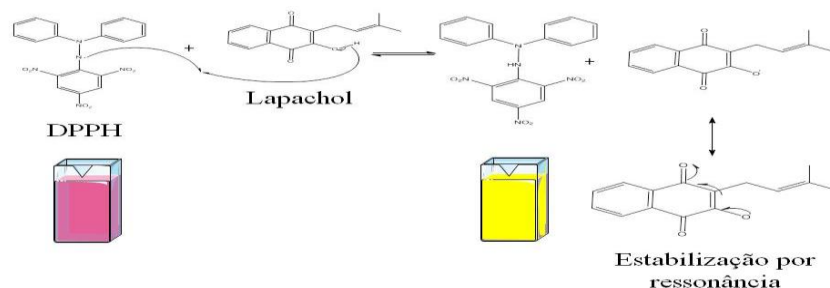
Menores valores de CI<sub>50</sub> indicam melhores atividades antioxidantes

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O resultado de CI<sub>50</sub> obtido para o lapachol foi inferior ao encontrado na literatura, 100 µg/ml (THEODULOZ et al., 2012). Essa diferença pode ter ocorrido devido à modificação realizada na metodologia utilizada para o teste.

Segundo ZERAIK et al. (2016) a atividade antioxidante pode ser afetada pela presença de carbonilas e o número de hidroxilas livres, fatores esses que são evidenciados na estrutura química do lapachol. A possível inibição do radical DPPH está sugerida na Figura 22.

Figura 22 - Redução do radical livre DPPH pelo antioxidante lapachol.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

#### 4.10 Ensaio para inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE)

A enzima AChE atua como um catalizador para reação de hidrólise da acetilcolina (ACh), neurotransmissor do sistema colinérgico, com efeito predominante nos neurônios motores envolvidos na formação de memória (KHAN et al., 2018). A falta de ACh pode ser atribuída à destruição de neurônios colinérgicos ou à maior taxa de degradação da acetilcolina, que resulta na falta de estímulo colinérgico necessário para um eficiente funcionamento neurológico (MADAV; WAIRKAR; PRABHAKAR, 2019). Dessa forma os inibidores podem ser utilizados para impedir que a AChE hidrolise a ACh, fazendo com que este neurotransmissor permaneça ativo.

Trabalhos na literatura tentam relacionar algumas atividades com a capacidade inibitória da acetilcolinesterase, como a propriedade inseticida (SHANG et al., 2018) e antioxidante (ZERAİK et al., 2016). Considerando esta relação foi realizado um estudo qualitativo da possível capacidade do lapachol de inibir a AChE, uma vez que este apresenta ambas atividades (BORGES et al., 2019). Os resultados qualitativos da inibição da enzima estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE).

<b>Amostras</b>	<b>Resultado</b>	<b>Tamanho do halo (mm)</b>
<b>LA</b>	positivo	11
<b>S<sub>970</sub>LA</b>	positivo	7
<b>S<sub>970</sub>B</b>	negativo	**
<b>Padrão Eserina</b>	positivo	9

\*\* Não apresentou formação do “halo” de inibição

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Foi utilizado como controle positivo o alcaloide Eserina (Fisostigmina) com capacidade inibidora da acetilcolinesterase, utilizado na terapia de várias doenças como Alzheimer e glaucoma (MARINHO et al., 2019).

Observou-se que o halo de inibição da enzima pelo lapachol livre mostrou-se bastante eficiente se comparado com o controle Eserina. No entanto o sistema sem o bioativo

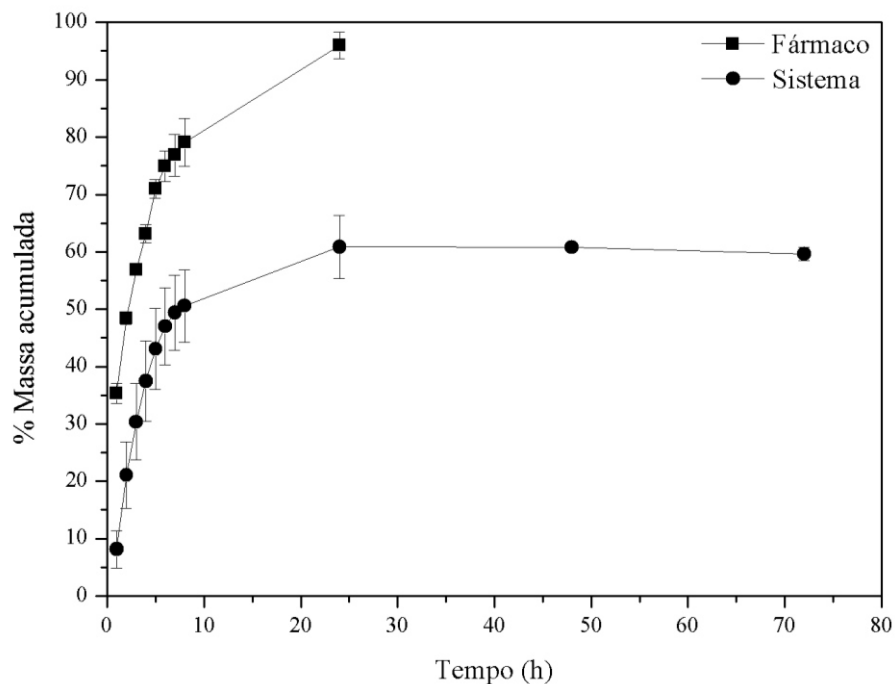
não apresentou inibição, logo o resultado positivo do sistema S<sub>970</sub>LA pode ser atribuído apenas a presença do lapachol confirmando seu encapsulamento.

O menor halo de inibição obtido para o sistema encapsulado poder ser atribuído a parte do bioativo estar revestido nas micelas, fato esse que proporcionou uma menor interação do ativo com a enzima. Como o resultado foi de natureza qualitativa torna-se interessante maior investigação da capacidade inibitória do lapachol para confirmar que se trata de promissor agente no tratamento de doenças neurodegenerativas

#### 4.11 Liberação *in vitro*

O ensaio de liberação foi realizado para verificar o perfil de liberação do ativo livre e do sistema micelar contendo o bioativo em pH fisiológico, adicionado o etanol para solubilizar o bioativo difundido, possibilitando sua quantificação. Para a quantificação foi obtida uma curva de calibração do lapachol nas condições de realização do ensaio, obtendo-se uma equação que foi utilizada para determinar a concentração do ativo no meio receptor. A quantidade de bioativo liberada no meio receptor, para os ensaios do lapachol e do sistema micelar foram quantificadas e expostas em termos de porcentagem, mostradas na Figura 23.

Figura 23 - Perfil de liberação do lapachol livre e do sistema S<sub>970</sub> encapsulado com lapachol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O perfil de liberação foi diferente para a solução de lapachol e para o sistema micelar. A difusão do bioativo em solução foi rápida, cerca de 96% do lapachol foi liberado em 24 horas, enquanto o sistema liberou 60% em 72 horas, indicando que este pode prolongar o tempo de liberação do ativo.

A liberação no sistema ocorreu em dois estágios, na primeira etapa uma liberação rápida foi observada nas primeiras 8 horas em que cerca de 50% do lapachol foi liberado, este estágio pode ser relacionado a rápida quebra das micelas, que pode resultar em elevação da concentração plasmática do ativo e possibilitar o bioativo atingir o nível terapêutico (PATIL; MAHAJAN, 2018). O segundo estágio de liberação é lento e constante até a conclusão do estudo.

Este resultado é promissor tendo em vista que pode corroborar para a redução da toxicidade do lapachol podendo favorecer a redução dos efeitos colaterais proveniente do seu uso ao retardar a liberação do ativo.

#### 4.12 Estudo cinético de liberação

Possíveis mecanismos de liberação do sistema micelar são difusão, erosão e intumescimento (ZHAO et al., 2017). Para determinar o mecanismo de liberação do lapachol nas micelas binárias seu perfil de liberação foi submetido a modelos cinéticos e seus respectivos valores de coeficiente de correlação ( $R^2$ ) foram calculados (Tabela 12).

Os resultados mostram que os dados de liberação de lapachol se ajustam melhor ao modelo cinético de Kormeyer-Peppas, que apresentou maior valor do coeficiente de correlação. Este modelo é geralmente utilizado para se referir ao perfil de liberação de drogas em sistemas poliméricos quando os mecanismos não são bem conhecidos ou quando mais de um tipo de fenômeno de liberação pode está envolvido (SARHAN et al., 2010).

Tabela 12 – Parâmetros de modelo da cinética de liberação

Modelo	$R^2$
Ordem zero	0,9359
Primeira ordem	0,9176
Korsmeyer-Peppas	0,9728
Higuchi	0,9537

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O modelo cinético de Kormeyer-Peppas pode ser representado pela equação 6, onde  $k$  representa uma constante que incorpora as características estruturais e geométricas da forma de dosagem do medicamento,  $n$  é o expoente de liberação, indica o mecanismo de liberação do medicamento,  $M_t/M_\infty$  é a fração do medicamento liberado ao longo do tempo e  $t$  representa o tempo:

$$M_t/M_\infty = kt^n \quad (6)$$

O valor do expoente de liberação obtido pela inclinação da reta foi de 1,9684, indicando a liberação do tipo transporte super caso II (Tabela 13). Isso sugere que mais de um mecanismo está envolvido; a combinação de difusão e relaxamento pode ocorrer conforme descrito na literatura (MAITI; MUKHERJEE; DATTA, 2014).

Tabela 13 - Interpretação do expoente de liberação considerando a forma esférica

Expoente de Liberação (n)	Mecanismo de liberação
0,43	Difusão Fickiana
$0,43 < n < 0,85$ ;	Transporte anômalo (não-fickiano)
0,85	Transporte Caso-II / Possível liberação de ordem zero
$0,85 < n$	Transporte Super Caso-II

Fonte: (MAITI; MUKHERJEE; DATTA, 2014; RITGER; PEPPAS, 1987)

Os copolímeros utilizados neste trabalho são triblocos com segmento hidrofílico, polóxido de etileno (E), maior que a camada hidrofóbica, polóxido de propileno (P) ou polioxiestireno (S). A forma das micelas resultantes dessas combinações é geralmente esférica (SAMADDAR; DEEP; KIM, 2018), portanto, os valores do expoente de liberação para formas esféricas foram considerados.

#### 4.13 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio MTT foi utilizado para investigar a citotoxicidade e calcular os valores de  $CI_{50}$  do lapachol livre e em sistema micelar contra as linhagens de células de câncer de próstata, glioblastoma, colorretal e leucemia (Tabela 14). Os dados obtidos estão representados em valores de  $CI_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) e correspondem à média  $\pm$  E.P.M. de três experimentos independentes

realizados em triplicata, determinados por regressão não linear gerado no programa GraphPad Prism 6.

Tabela 14 - Atividade antiproliferativa do lapachol livre e encapsulado em quatro linhagens de células tumorais avaliado pelo ensaio do MTT em 72 h de tratamento.

Amostras	MTT (CI <sub>50</sub> µg/mL) – 72 h			
	PC3 (Prostáta)	SNB-19 (Glioblastoma)	HCT-116 (Colorretal)	HL-60 (Leucemia)
LA	5,891 ± 1,063	21,98 ± 3,047	9,975 ± 1,595	7,415 ± 1,084
S <sub>970</sub> LA	19,07 ± 2,821	> 40	12,37 ± 2,017	17,54 ± 2,643
S <sub>970</sub> B	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

O sistema micelar sem o ativo não apresentou toxicidade para as linhagens celulares testadas indicando uma excelente biocompatibilidade (WANG et al., 2019). O ativo livre e encapsulado, apresentaram elevados valores de CI<sub>50</sub> quanto a linhagem de câncer glioblastoma indicando baixa atividade tóxica.

Os valores de CI<sub>50</sub> do lapachol e sistema encapsulado contra as células do câncer de próstata, colorretal e leucemia foram menores que os obtidos para a linhagem de Glioblastoma indicando potencial efeito tóxico. No entanto foi observada uma diferença entre o lapachol livre e o sistema encapsulado. A maior atividade do lapachol livre pode ser explicada pela liberação incompleta do ativo pelo sistema micelar resultando na redução de sua eficácia (BIRHAN et al., 2019).

## 5. CONCLUSÃO

Os sistemas micelares formados pelas misturas binárias dos copolímeros triblocos E<sub>65</sub>S<sub>9</sub>E<sub>65</sub>/F127 apresentaram melhores resultados que os sistemas isolados contribuindo para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade do lapachol. O sistema que apresentou os melhores resultados foi o S<sub>970</sub>, logo foi escolhido para participar dos testes antioxidante, inibição da enzima acetilcolinesterase, ensaio citotóxico e de liberação *in vitro*. Os resultados revelaram que o sistema produzido é promissor para o carreamento do fármaco, uma vez que mostrou-se promissor para aplicação intravenosa, pois apresentou reduzido tamanho e moderada polidispersividade, manteve a atividade antioxidante do lapachol livre, apresentou capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase, além de potencial efeito tóxico em células de câncer de próstata, colorretal e leucemia e capacidade de retardar a liberação do ativo, apresentando mecanismo de liberação Transporte Super Caso-II. Portanto o sistema pode ser cogitado para auxiliar no carreamento de bioativos pouco solúveis e quando utilizado como excipiente para o lapachol torna-se promissor para auxiliar na prevenção e terapia de várias doenças como Alzheimer, glaucoma e câncer.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. R. De; FILHO, A. A. da S.; SANTOS, E. R. Dos; LOPES, C. A. C. Antiinflammatory action of lapachol. **Journal of Ethnopharmacology**, Irlanda, v. 29, n. 2, p. 239–241, 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037887419090061W>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- AMARAL, C.; MAGALHAES, M.; CABRAL, C.; VEIGA, F.; FIGUEIRAS, A. Preparation and Characterization of Mixed Polymeric Micelles as a Versatile Strategy for Meloxicam Oral Administration. **Letters in Drug Design & Discovery**, [S. l.], v. 14, n. 12, p. 1401–1408, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/320818147\\_Preparation\\_and\\_Characterization\\_of\\_Mixed\\_Polymeric\\_Micelles\\_as\\_a\\_Versatile\\_Strategy\\_for\\_Meloxicam\\_Oral\\_Administration](https://www.researchgate.net/publication/320818147_Preparation_and_Characterization_of_Mixed_Polymeric_Micelles_as_a_Versatile_Strategy_for_Meloxicam_Oral_Administration). Acesso em: 19 mar. 2019.
- ATTWOOD, D.; BOOTH, C.; YEATES, S. G.; CHAIBUNDIT, C.; RICARDO, N. M. P. S. Block copolymers for drug solubilisation: Relative hydrophobicities of polyether and polyester micelle-core-forming blocks. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 345, n. 1–2, p. 35–41, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517307006576>. Acesso em: 15 jul. 2018.
- ATTWOOD, D.; ZHOU, Z.; BOOTH, C. Poly(ethylene oxide) based copolymers: solubilisation capacity and gelation. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Reino Unido, v. 4, n. 5, p. 533–546, 2007. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425247.4.5.533?journalCode=iedd20>. Acesso em: 14 jul. 2018.
- AUCÉLIO, R. Q.; PERÉZ-CORDOVÉS, A. I.; XAVIER LIMA, J. L.; FERREIRA, A. B. B.; ESTEVA GUAS, A. M.; DA SILVA, A. R. Determination of lapachol in the presence of other naphthoquinones using 3MPA-CdTe quantum dots fluorescent probe. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 100, p. 155–160, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142512003721>. Acesso em: 27 jan. 2020.
- BARBOSA, T. P.; DINIZ NETO, H. Preparação de derivados do lapachol em meio ácido e em meio básico: uma proposta de experimentos para a disciplina de Química Orgânica Experimental. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 331–334, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422013000200021&lng=pt&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013000200021&lng=pt&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 1 maio. 2019.
- BIRHAN, Y. S.; HAILEMESKEL, B. Z.; MEKONNEN, T. W.; HANURRY, E. Y.; DARGE, H. F.; ANDRGIE, A. T.; CHOU, H.-Y.; LAI, J.-Y.; HSIUE, G.-H.; TSAI, H.-C. Fabrication of redox-responsive Bi(mPEG-PLGA)-Se<sub>2</sub> micelles for doxorubicin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 567, n. June, p. 118486, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517319305289>. Acesso em: 21 jul. 2019.



BOLTON, J. L.; TRUSH, M. A.; PENNING, T. M.; DRYHURST, G.; MONKS, T. J. Role of quinones in toxicology. **Chemical Research in Toxicology**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 135–160, 2000. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/tx9902082>>. Acesso em: 10 fev. 2020.

BORGES, J. C. M.; HADDI, K.; OLIVEIRA, E. E.; SILVA ANDRADE, B.; NASCIMENTO, V. L.; SILVA MELO, T.; DIDONET, J.; CARVALHO, J. C. T.; CANGUSSU, A. S.; SOARES, I. M.; ASCENCIO, S. D.; RAPOSO, N. R. B.; AGUIAR, R. W. S. Mosquitocidal and repellent potential of formulations containing wood residue extracts of a Neotropical plant, *Tabebuia heptaphylla*. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 129, p. 424–433, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018310744>. Acesso em: 19 maio. 2019.

BOUKHOBZA, I.; CRANS, D. C. Application of HPLC to measure vanadium in environmental, biological and clinical matrices. **Arabian Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 1198–1228, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535217301892>. Acesso em: 29 abr. 2019.

BRANCA, C.; KHOUZAMI, K.; WANDERLINGH, U.; D'ANGELO, G. Effect of intercalated chitosan/clay nanostructures on concentrated pluronic F127 solution: A FTIR-ATR, DSC and rheological study. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 517, p. 221–229, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.02.004>. Acesso em: 10 set. 2018.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 2. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5<sup>a</sup>+edição+-+Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>. Acesso em: 25 jun. 2019.

CADDEO, C.; GABRIELE, M.; FERNÁNDEZ-BUSQUETS, X.; VALENTI, D.; FADDA, A. M.; PUCCI, L.; MANCONI, M. Antioxidant activity of quercetin in Eudragit-coated liposomes for intestinal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 565, p. 64–69, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517319303606>. Acesso em: 18 maio. 2019.

CAGEL, M.; TESAN, F. C.; BERNABEU, E.; SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M. B.; MORETTON, M. A.; CHIAPPETTA, D. A. Polymeric mixed micelles as nanomedicines: Achievements and perspectives. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l.], v. 113, p. 211–228, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641116306944?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio. 2019.

CAMBÓN, A.; BARBOSA, S.; REY-RICO, A.; FIGUEROA-OCHOA, E. B.; SOLTERO, J. F. A.; YEATES, S. G.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A.; TABOADA, P.; MOSQUERA, V. Poly(ethylene oxide)–poly(styrene oxide)–poly(ethylene oxide) copolymers: Micellization, drug solubilization, and gelling features. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 387, n. 1, p. 275–284, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979712008521#b0100>. Acesso em:

15 jan. 2019.

CAMPANHOLI, K. da S. S.; GEROLA, A. P.; VILSINSKI, B. H.; DE OLIVEIRA, É. L.; DE MORAIS, F. A. P.; RABELLO, B. R.; BRAGA, G.; CALORI, I. R.; SILVA, E. L.; HIOKA, N.; CAETANO, W. Development of Pluronic® nanocarriers comprising Pheophorbide, Zn-Pheophorbide, Lapachol and  $\beta$ -lapachone combined drugs: Photophysical and spectroscopic studies. **Dyes and Pigments**, [S. l.], v. 157, p. 238–250, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143720817323835>. Acesso em: 1 maio. 2019.

CAO, J.; KARAYANNIDIS, G.; MCINTYRE, J. E.; TOMKA, J. G. Thermotropic polyesters: effect of heat treatment on thermal transitions of highly disordered copolymers. **Journal of Materials Science**, Reino Unido, v. 28, n. 24, p. 6639–6644, 1993. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00356408>. Acesso em: 20 out. 2018.

CHIAPPETTA, D. A.; FACORRO, G.; RUBIN DE CELIS, E.; SOSNIK, A. Synergistic encapsulation of the anti-HIV agent efavirenz within mixed poloxamine/poloxamer polymeric micelles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 624–637, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2011.01.017>. Acesso em: 20 out. 2018.

CHONG, Y. K.; ZAINOL, I.; NG, C. H.; OOI, I. H. Miktoarm star polymers nanocarrier: synthesis, characterisation, and in-vitro drug release study. **Journal of Polymer Research**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 1–15, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10965-019-1726-4#citeas>. Acesso em: 12 mar. 2019.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 123–133, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098701000951?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2019.

DAWSON, B. A.; GIRARD, M.; KINDACK, D.; FILLION, J.; AWANG, D. V. C. <sup>13</sup>C NMR of lapachol and some related naphthoquinones. **Magnetic Resonance in Chemistry**, New Jersey, v. 27, n. 12, p. 1176–1177, 1989. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mrc.1260271212>. Acesso em: 11 abr. 2019.

DE ANDRADE-NETO, V. F.; GOULART, M. O. .; DA SILVA FILHO, J. F.; DA SILVA, M. J.; PINTO, M. do C. F. .; PINTO, A. V.; ZALIS, M. G.; CARVALHO, L. H.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of phenazines from lapachol,  $\beta$ -lapachone and its derivatives against Plasmodium falciparum in vitro and Plasmodium berghei in vivo. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 14, n. 5, p. 1145–1149, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X03013738>. Acesso em: 11 abr. 2019.

DE COELHO, E. L.; DE MOURA, C. L.; DE MAIA, D. S.; DE ARAÚJO, T. G.; DE FRANÇA, F. C. F.; RICARDO, N. M. P. S.; RIBEIRO, M. E. N. P.; RICARDO, N. M. P. S. Binary systems of BRIJ® surfactants with pluronic® F127 as griseofulvin carrier. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 305–309, 2017. Disponível em:

<http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/AR20160451.pdf>. Acesso em: 15 out. 2019.

DELARMELINA, M.; FERREIRA, G. B.; FERREIRA, V. F.; JOSÉ, J. W. Vibrational spectroscopy of lapachol,  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone: Theoretical and experimental elucidation of the Raman and infrared spectra. **Vibrational Spectroscopy**, [S. l.], v. 86, p. 311–323, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2016.08.009>. Acesso em: 12 set. 2018.

DUTRA, L.; CAVALCANTE, I.; DE BRITO, D.; VIEIRA, Í.; TREVISAN, M.; RIBEIRO, M.; YEATES, S.; RICARDO, N.; DUTRA, L. M. U.; CAVALCANTE, I. M.; BRITO, D. H. A. De; VIEIRA, Í. G. P.; TREVISAN, M. T. S.; RIBEIRO, M. E. N. P.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S. Synergistic Effect in Drug Solubility by New Binary Micelles of Poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethylene oxide) and F127®. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 28, n. 7, p. 1341–1346, 2016. Disponível em: [http://jbcs.sbq.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=4843&nomeArquivo=160576SR.pdf](http://jbcs.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=4843&nomeArquivo=160576SR.pdf). Acesso em: 16 maio. 2019.

DUTRA, L. M. U.; RIBEIRO, M. E. N. P.; CAVALCANTE, I. M.; DE BRITO, D. H. A.; DE MORAES SEMIÃO, L.; DA SILVA, R. F.; FECHINE, P. B. A.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S. Binary mixture micellar systems of F127 and P123 for griseofulvin solubilisation. **Polímeros: ciência e tecnologia**, São Paulo, v. 25, n. 5, p. 433–439, 2015. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282015000500003&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282015000500003&lng=en&tlng=en). Acesso em: 19 nov. 2018.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006295261901459>. Acesso em: 27 jan. 2020.

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: A review. **Phytochemistry Reviews**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 37–49, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-013-9289-1>. Acesso em: 15 ago. 2018.

FENG, R.; DENG, P.; SONG, Z.; CHU, W.; ZHU, W.; TENG, F.; ZHOU, F. Glycyrrhetic acid-modified PEG-PCL copolymeric micelles for the delivery of curcumin. **Reactive and Functional Polymers**, [S. l.], v. 111, p. 30–37, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381514816302383>. Acesso em: 30 abr. 2019.

FONSECA, S. G. C.; SILVA, L. B. L. Da; CASTRO, R. F.; SANTANA, D. P. De. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 157–159, 2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422004000100026&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000100026&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 10 abr. 2019.

FONSECA, S. G. da C.; BRAGA, R. M. C.; SANTANA, D. P. De. Lapachol – química, farmacologia e métodos de dosagem. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 9–16, 2003. Disponível em:

[http://www.rbfarma.org.br/files/RBF\\_V84\\_N1\\_2003\\_PAG\\_9\\_16.pdf](http://www.rbfarma.org.br/files/RBF_V84_N1_2003_PAG_9_16.pdf). Acesso em: 15 jul. 2018.

FROST, R. L.; KLOPROGGE, J. T. Vibrational spectroscopy of ferruginous smectite and nontronite. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 56, n. 11, p. 2177–2189, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142500002791>. Acesso em: 27 jan. 2020.

GÓRNIAK, A.; KAROLEWICZ, B.; CZAPOR-IRZABEK, H.; GŁADYSZ, O. A physicochemical and dissolution study of ketoconazole-pluronic F127 solid dispersions. **Farmacia**, Romênia, v. 64, n. 2, p. 244–251, 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/301541114\\_A\\_physicochemical\\_and\\_dissolution\\_study\\_of\\_ketoconazole-pluronic\\_F127\\_solid\\_dispersions](https://www.researchgate.net/publication/301541114_A_physicochemical_and_dissolution_study_of_ketoconazole-pluronic_F127_solid_dispersions). Acesso em: 11 mar. 2019.

GOULART, M. O. .; FALKOWSKI, P.; OSSOWSKI, T.; LIWO, A. Electrochemical study of oxygen interaction with lapachol and its radical anions. **Bioelectrochemistry**, [S. l.], v. 59, n. 1–2, p. 85–87, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567539403000057?via%3Dihub>. Acesso em: 17 mar. 2020.

GRAZZIOTINV, J. D.; SCHAPOVAL, E. E. S.; CHAVES, C. G.; GLEYE, J.; HENRIQUES, A. T. Phytochemical and analgesic investigation of *Tabebuia chrysotricha*. **Journal of Ethnopharmacology**, Irlanda, v. 36, n. 3, p. 249–251, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037887419290051R>. Acesso em: 11 abr. 2019.

HE, Z.; ALEXANDRIDIS, P. Micellization thermodynamics of Pluronic P123 (EO20PO70EO20) amphiphilic block copolymer in aqueous Ethylammonium nitrate (EAN) solutions. **Polymers**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–18, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/322106754\\_Micellization\\_Thermodynamics\\_of\\_Pluronic\\_P123\\_EO20PO70EO20\\_Amphiphilic\\_Block\\_Copolymer\\_in\\_Aqueous\\_Ethylammonium\\_Nitrate\\_EAN\\_Solutions](https://www.researchgate.net/publication/322106754_Micellization_Thermodynamics_of_Pluronic_P123_EO20PO70EO20_Amphiphilic_Block_Copolymer_in_Aqueous_Ethylammonium_Nitrate_EAN_Solutions). Acesso em: 15 fev. 2019.

HOU, J.; WANG, J.; SUN, E.; YANG, L.; YAN, H. M.; JIA, X. Bin; ZHANG, Z. H. Preparation and evaluation of icariside II-loaded binary mixed micelles using Solutol HS15 and Pluronic F127 as carriers. **Drug Delivery**, [S. l.], v. 23, n. 9, p. 3248–3256, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10717544.2016.1167270>. Acesso em: 18 mar. 2019.

HUSSAIN, M. D.; SAXENA. Poloxamer 407/TPGS mixed micelles for delivery of gambogic acid to breast and multidrug-resistant cancer. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], n. 7, p. 713–721, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3284221/>. Acesso em: 20 mar. 2019.

JABBARI, M.; TEYMOORI, F. An insight into effect of micelle-forming surfactants on aqueous solubilization and octanol/water partition coefficient of the drugs gemfibrozil and ibuprofen. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 262, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732217362372>. Acesso em: 17 out. 2019.

JINDAL, N.; MEHTA, S. K. Nevirapine loaded Poloxamer 407/Pluronic P123 mixed micelles: Optimization of formulation and in vitro evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 129, p. 100–106, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776515001642?via%3Dihub#bib0505>. Acesso em: 13 dez. 2019.

JUÁREZ, J.; GOY-LÓPEZ, S.; CAMBÓN, A.; VALDEZ, M. A.; TABOADA, P.; MOSQUERA, V. Surface properties of monolayers of amphiphilic poly(ethylene oxide)-poly(styrene oxide) block copolymers. **Journal of Physical Chemistry C**, [S. l.], v. 114, n. 37, p. 15703–15712, 2010. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp1049777>. Acesso em: 15 dez. 2018.

KHAN, H.; MARYA; AMIN, S.; KAMAL, M. A.; PATEL, S. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 101, p. 860–870, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217356998>. Acesso em: 18 maio. 2019.

KOVACIC, P.; OSUNA JR., J. Mechanisms of Anti-Cancer Agents Emphasis on Oxidative Stress and Electron Transfer. **Current Pharmaceutical Design**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 277–309, 2000. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/12677848\\_Mechanisms\\_of\\_Anti-Cancer\\_Agents\\_Emphasis\\_on\\_Oxidative\\_Stress\\_and\\_Electron\\_Transfer](https://www.researchgate.net/publication/12677848_Mechanisms_of_Anti-Cancer_Agents_Emphasis_on_Oxidative_Stress_and_Electron_Transfer). Acesso em: 18 maio. 2019.

KUMAR, N.; RAVIKUMAR, M. N. V.; DOMB, A. J. Biodegradable block copolymers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 23–44, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X01002198#FIG2>. Acesso em: 19 maio. 2019.

KUMAR, P.; MOHAN, C.; UMA SHANKAR, M. K. S.; GULATI, M. Physicochemical characterization and release rate studies of solid dispersions of Ketoconazole with Pluronic F127 and PVP K-30. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. 685–694, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3813076/>. Acesso em: 14 dez. 2018.

LEE, C.-F.; TSENG, H.-W.; BAHADUR, P.; CHEN, L.-J. Synergistic Effect of Binary Mixed-Pluronic Systems on Temperature Dependent Self-assembly Process and Drug Solubility. **Polymers**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 105, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6415020/>. Acesso em: 18 fev. 2019.

LEMO, T. L. G.; MONTE, F. J. Q.; SANTOS, A. K. L.; FONSECA, A. M.; SANTOS, H. S.; OLIVEIRA, M. F.; COSTA, S. M. O.; PESSOA, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R. Quinones from plants of northeastern Brazil: Structural diversity, chemical transformations, NMR data and biological activities. **Natural Product Research**, [S. l.], v. 21, n. 6, p. 529–550, 2007. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786410601130604>. Acesso em: 14 nov. 2018.

LUI, C. Y.; AYENI, A. A.; GYLLENHAAL, C.; GROVES, M. J. Some formulation properties of lapachol, a potential oncolytic agent of natural origin. **Drug Development and**

**Industrial Pharmacy**, Nova York, v. 11, n. 9–10, p. 1763–1779, 1985. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/03639048509057698?journalCode=ididi20>. Acesso em: 18 jul. 2018.

LUONG, T. Q.; VERMA, P. K.; MITRA, R. K.; HAVENITH, M. Onset of hydrogen bonded collective network of water in 1,4-dioxane. **Journal of Physical Chemistry A**, [S. l.], v. 115, n. 50, p. 14462–14469, 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp204927r>. Acesso em: 28 jan. 2019.

MACIEL TABOSA, M. A.; SOUTO DE MELO, E. K.; SEIXAS, K. B.; MOURA, I.; DE, F.; DANTAS, S.; PEREIRA DE SANTANA, D.; LEAL, L. B. Physicochemical characterization of lapachol. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 131–138, 2015. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/AJPP>. Acesso em: 20 dez. 2018.

MADAV, Y.; WAIRKAR, S.; PRABHAKAR, B. Recent therapeutic strategies targeting beta amyloid and tauopathies in Alzheimer's disease. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 146, p. 171–184, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0361923018308499?via%3Dihub>. Acesso em: 18 maio. 2019.

MAITI, S.; MUKHERJEE, S.; DATTA, R. Core–shell nano-biomaterials for controlled oral delivery and pharmacodynamic activity of glibenclamide. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 70, p. 20–25, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014004140?via%3Dihub>. Acesso em: 28 nov. 2019.

MANAGA, M.; BRITTON, J.; PRINSLOO, E.; NYOKONG, T. Effects of Pluronic F127 micelles as delivering agents on the vitro dark toxicity and photodynamic therapy activity of carboxy and pyrene substituted porphyrins. **Polyhedron**, [S. l.], v. 152, p. 102–107, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538718303498>. Acesso em: 13 dez. 2019.

MARINHO, C. S.; MATIAS, M. V. F.; BRANDÃO, I. G. F.; SANTOS, E. L.; MACHADO, S. S.; ZANTA, C. L. P. S. Characterization and kinetic study of the brain and muscle acetylcholinesterase from Danio rerio. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S. l.], v. 222, p. 11–18, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1532045618302667>. Acesso em: 18 maio. 2019.

MONKS, T.; JONES, D. The Metabolism and Toxicity of Quinones, Quinonimines, Quinone Methides, and Quinone-Thioethers. **Current Drug Metabolism**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 425–438, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12093358>. Acesso em: 2 abr. 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, [S. l.], v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175983903034?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jan. 2020.

OGUNTADE, S.; RAMHARACK, P.; SOLIMAN, M. E. Characterizing the ligand-binding landscape of Zika NS3 helicase-promising lead compounds as potential inhibitors. **Future Virology**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. 261–273, 2017. Disponível em: <https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fvl-2017-0014>. Acesso em: 15 maio. 2019.

OLIVEIRA, R. A. S.; AZEVEDO-XIMENES, E.; LUZZATI, R.; GARCIA, R. C. The hydroxy-naphthoquinone lapachol arrests mycobacterial growth and immunomodulates host macrophages. **International Immunopharmacology**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. 1463–1473, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576910002778?via%3Dihub>. Acesso em: 11 abr. 2019.

OLIVEIRA, S. A.; MOURA, C. L.; CAVALCANTE, I. M.; LOPES, A. A.; LEAL, L. K. A. M.; GRAMOSA, N. V.; RIBEIRO, M. E. N. P.; FRANÇA, F. C. F.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S.; OLIVEIRA, S. A.; MOURA, C. L.; CAVALCANTE, I. M.; LOPES, A. A.; LEAL, L. K. A. M.; GRAMOSA, N. V.; RIBEIRO, M. E. N. P.; FRANÇA, F. C. F.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S. Binary Micellar Solutions of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Styrene Oxide) Copolymers with Pluronic® P123: Drug Solubilisation and Cytotoxicity Studies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 26, n. 11, p. 2195–2204, 2015. Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0103-5053.20150205>. Acesso em: 10 abr. 2019.

PATIL, P. H.; MAHAJAN, H. S. Mixed micelles for bioavailability enhancement of nelfinavir mesylate: In vitro characterisation and In vivo pharmacokinetic study. **Materials Technology**, [S. l.], v. 33, n. 12, p. 793–802, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10667857.2018.1511317>. Acesso em: 12 nov. 2018.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. Bellingham: CENGAGE Learning, 2010.

PELLOSI, D. S.; TESSARO, A. L.; MORET, F.; GAIO, E.; REDDI, E.; CAETANO, W.; QUAGLIA, F.; HIOKA, N. Pluronic® mixed micelles as efficient nanocarriers for benzoporphyrin derivatives applied to photodynamic therapy in cancer cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [S. l.], v. 314, p. 143–154, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochem.2015.08.024>. Acesso em: 10 set. 2018.

PERES, R. S.; SANTOS, G. B.; CECILIO, N. T.; JABOR, V. A. P.; NIEHUES, M.; TORRES, B. G. S.; BUQUI, G.; SILVA, C. H. T. P.; COSTA, T. D.; LOPES, N. P.; NONATO, M. C.; RAMALHO, F. S.; LOUZADA-JÚNIOR, P.; CUNHA, T. M.; CUNHA, F. Q.; EMERY, F. S.; ALVES-FILHO, J. C. Lapachol, a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis. **Arthritis Research and Therapy**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-017-1236-x>. Acesso em: 8 fev. 2019.

PINHO, M. E. N.; COSTA, F. de M. L. L.; FILHO, F. B. S.; RICARDO, N. M. P. S.; YEATES, S. G.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Mixtures of triblock copolymers E62P39E62 and E137S18E137: Potential for drug delivery from in situ gelling micellar formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 328, n. 1, p. 95–98, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517306006399#tbl1>. Acesso em: 15 maio. 2019.

POURAHMAD, JALAL; SALIMI, AHMAD; SEYDI, E. Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development and Treatment. **Intech**, [S. l.], v. 1, p. 347–362, 2016. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>. Acesso em: 9 fev. 2019.

PRAGATHEESWARAN, A. M.; CHEN, S. B.; CHEN, C.-F.; CHEN, B.-H. Micellization and gelation of PEO-PPO-PEO binary mixture with non-identical PPO block lengths in aqueous solution. **Polymer**, [S. l.], v. 55, n. 20, p. 5284–5291, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238611400723X>. Acesso em: 9 maio. 2019.

RAHDAR, A.; TABOADA, P.; HAJINEZHAD, M. R.; BARANI, M.; BEYZAEI, H. Effect of tocopherol on the properties of Pluronic F127 microemulsions: Physico-chemical characterization and in vivo toxicity. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 277, p. 624–630, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.12.074>. Acesso em: 9 maio. 2019.

RAVELO, Á. g.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; PÉREZ-SACAU, E. The chemistry and biology of lapachol and related natural products  $\alpha$  and  $\beta$ -lapachones. **Studies in Natural Products Chemistry**, [S. l.], v. 29, p. 719–760, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572599503800170#bb0620>. Acesso em: 1 maio. 2019.

RHEE, I. K.; VAN DE MEENT, M.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 915, n. 1–2, p. 217–223, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301006240?via%3Dihub>. Acesso em: 10 abr. 2019.

RIBEIRO, K. A. L.; DE CARVALHO, C. M.; MOLINA, M. T.; LIMA, E. P.; LÓPEZ-MONTERO, E.; REYS, J. R. M.; DE OLIVEIRA, M. B. F.; PINTO, A. V.; SANTANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Activities of naphthoquinones against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), vector of dengue and *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), intermediate host of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 111, n. 1, p. 44–50, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X09000370?via%3Dihub>. Acesso em: 11 abr. 2019.

RICARDO, N. M. P. S.; PINHO, M. E. N.; YANG, Z.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Controlling the gelation of aqueous micellar solutions of ethylene-oxide-based block copoly(oxyalkylene)s. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 300, n. 1–2, p. 22–31, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517305002929>. Acesso em: 22 abr. 2019.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, Amsterdã, v. 5, n. 1, p. 37–42, 1987. Disponível em:



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168365987900356>. Acesso em: 16 dez. 2019.

RODRIGUES, A. M. S.; DE PAULA, J. E.; ROBLOT, F.; FOURNET, A.; ESPÍNDOLA, L. S. Larvicidal activity of *Cybistax antisiphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. **Fitoterapia**, [S. l.], v. 76, n. 7–8, p. 755–757, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X05001917?via%3Dihub>. Acesso em: 11 abr. 2019.

SAMADDAR, P.; DEEP, A.; KIM, K.-H. An engineering insight into block copolymer self-assembly: Contemporary application from biomedical research to nanotechnology. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 342, p. 71–89, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894718300780#>. Acesso em: 17 dez. 2019.

SARHAN, A. A.; MONIER, M.; AYAD, D. M.; BADAWEY, D. S. Evaluation of the Potential of Polymeric Carriers Based on Chitosan-grafted-Polyacrylonitrile in the Formulation of Drug Delivery Systems. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 118, n. 5, p. 1837–1845, 2010. Disponível em: <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/app.32522>. Acesso em: 14 set. 2018.

SCHAFFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology and Medicine**, EUA, v. 30, n. 11, p. 1191–1212, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584901004804?via%3Dihub>. Acesso em: 2 abr. 2020.

SEGOLONI, E.; DI MARIA, F. UV–VIS spectral and GC–MS characterization of *Handroanthus serratifolius* (Vahl.) Grose (a.k.a. *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nichols/Lapacho) heartwood main extractives: a comparison of protocols aimed at a practical evaluation of Lapachol and Dehydro- $\alpha$ -L. **European Journal of Wood and Wood Products**, [S. l.], v. 76, n. 5, p. 1547–1561, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00107-018-1331-y>. Acesso em: 19 maio. 2019.

SENTHILKUMAR, M.; DASH, S. Interaction of methylparaben and propylparaben with P123/F127 mixed polymeric micelles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 176, p. 140–149, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776518309494?via%3Dihub>. Acesso em: 19 maio. 2019.

SEZGIN-BAYINDIR, Z.; ERGIN, A. D.; PARMAKSIZ, M.; ELCIN, A. E.; ELCIN, Y. M.; YUKSEL, N. Evaluation of various block copolymers for micelle formation and brain drug delivery: In vitro characterization and cellular uptake studies. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], v. 36, p. 120–129, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224716303355>. Acesso em: 29 abr. 2019.

SHAH, P. Use of nanotechnologies for drug delivery. **MRS Bulletin**, [S. l.], v. 31, n. November, p. 894–899, 2006. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge->

core/content/view/AA005B51D416FC5FE6C3F6E858B038B6/S0883769400011568a.pdf/used\_of\_nanotechnologies\_for\_drug\_delivery.pdf. Acesso em: 12 jun. 2018.

SHANG, X. F.; LIU, Y. Q.; GUO, X.; MIAO, X. Lou; CHEN, C.; ZHANG, J. X.; XU, X. S.; YANG, G. Z.; YANG, C. J.; LI, J. C.; ZHANG, X. S. Application of Sustainable Natural Resources in Agriculture: Acaricidal and Enzyme Inhibitory Activities of Naphthoquinones and Their Analogs against *Psoroptes cuniculi*. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19964-0>. Acesso em: 4 dez. 2018.

SHARMA, R. K.; SHAIKH, S.; RAY, D.; ASWAL, V. K. Binary mixed micellar systems of PEO-PPO-PEO block copolymers for lamotrigine solubilization: a comparative study with hydrophobic and hydrophilic copolymer. **Journal of Polymer Research**, [S. l.], v. 25, n. 3, p. 1–11, 2018. a. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10965-018-1473-y>. Acesso em: 12 jan. 2019.

SHARMA, S. K.; VERMA, D. S.; KHAN, L. U.; KUMAR, S.; KHAN, S. B. **Handbook of Materials Characterization**. Gewerbestrasse: Springer, 2018. b.

SHETH, U.; BAHADUR, A. In-vitro evaluation of cytotoxic and antioxidant properties of drugs solubilized in EO-PO star block copolymer micelles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 171, n. April, p. 343–350, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.051>. Acesso em: 11 out. 2019.

SILVA, E. O.; DE CARVALHO, T. C.; PARSHIKOV, I. A.; DOS SANTOS, R. A.; EMERY, F. S.; FURTADO, N. A. J. C. Cytotoxicity of lapachol metabolites produced by probiotics. **Letters in Applied Microbiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 108–114, 2014. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12251>. Acesso em: 9 set. 2018.

SILVA, E. O.; RUANO-GONZÁLEZ; SANTOS, R. A. Dos; SÁNCHEZ-MAESTRE, R.; FURTADO, NIEGE, A. J. C.; COLLADO, I. G. ; ALEU, J. Antifungal and Cytotoxic Assessment of Lapachol Derivatives Produced by Fungal Biotransformation. **Natural Product Communications**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 95–98, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26996030>. Acesso em: 8 dez. 2018.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

SONG, Z.; SUN, J.; DENG, P.; ZHOU, F.; XU, H.; WEN, Y.; TENG, F.; GE, D.; FENG, R. Oligochitosan-pluronic 127 conjugate for delivery of honokiol. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, [S. l.], v. 46, p. 740–750, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21691401.2018.1434785>. Acesso em: 5 dez. 2018.

SOTOUDEGAN, F.; AMINI, M.; FAIZI, M.; ABOOFAZELI, R. Nimodipine-loaded Pluronic® block copolymer micelles: Preparation, characterization, in-vitro and in-vivo studies. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 641–661, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5316244/>. Acesso em: 5 set. 2018.

SOUSA, H. C. D.; BRAGA, M. E. M. ; SOSNIK, A. **Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados**. Imprensa d ed. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10316.2/36860>. Acesso em: 29 jan. 2020.

SOUZA, M. A.; JOHANN, S.; LIMA, L. A. R. dos S.; CAMPOS, F. F.; MENDES, I. C.; BERALDO, H.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. De; CISALPINO, P. S.; ROSA, C. A.; ALVES, T. M. de A.; SA, N. P. De; ZANI, C. L.; SOUZA, M. A.; JOHANN, S.; LIMA, L. A. R. dos S.; CAMPOS, F. F.; MENDES, I. C.; BERALDO, H.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. De; CISALPINO, P. S.; ROSA, C. A.; ALVES, T. M. de A.; SA, N. P. De; ZANI, C. L. The antimicrobial activity of lapachol and its thiosemicarbazone and semicarbazone derivatives. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 3, p. 342–351, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762013000300342&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762013000300342&lng=en&tlng=en). Acesso em: 11 abr. 2019.

SÜTEKIN, S. D.; ATICI, A. B.; GÜVEN, O.; HOFFMAN, A. S. Controlling of free radical copolymerization of styrene and maleic anhydride via RAFT process for the preparation of acetaminophen drug conjugates. **Radiation Physics and Chemistry**, [S. l.], v. 148, p. 5–12, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X1830029X>. Acesso em: 27 jan. 2020.

SWAIN, R. P.; SUBUDHI, B. B. Effect of semicrystalline copolymers in solid dispersions of pioglitazone hydrochloride: in vitro - in vivo correlation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 775–786, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/03639045.2019.1572183>. Acesso em: 12 mar. 2019.

TABOSA, M. A. M.; DE ANDRADE, A. R. B.; LIRA, A. A. M.; SARMENTO, V. H. V.; DE SANTANA, D. P.; LEAL, L. B. Microemulsion Formulations for the Transdermal Delivery of Lapachol. **AAPS PharmSciTech**, [S. l.], v. 19, n. 4, p. 1837–1846, 2018. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1208/s12249-018-0995-2>. Acesso em: 8 set. 2018.

TEIXEIRA, M. J.; DE ALMEIDA, Y. M.; VIANA, J. R.; HOLANDA FILHA, J. G.; RODRIGUES, T. P.; RÔMULO, J.; PRATA, C.; CASTELO, I.; COELHO, B.; RAO, V. S.; POMPEU, M. M. L. In vitro and in vivo Leishmanicidal Activity of 2-Hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol). **Phytotherapy Research**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 44–48, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1099-1573%28200102%2915%3A1%3C44%3A%3AAID-PTR685%3E3.0.CO%3B2-1>. Acesso em: 9 nov. 2018.

THANITWATTHANASAK, S.; SAGIS, L. M. C.; CHITPRASERT, P. Pluronic F127/Pluronic P123/vitamin E TPGS mixed micelles for oral delivery of mangiferin and quercetin: Mixture-design optimization, micellization, and solubilization behavior. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 274, p. 223–238, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732218342296>. Acesso em: 19 maio. 2019.

THEODULOZ, C.; CARRIÓN, I.; PERTINO, M.; VALENZUELA, D.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Potential gastroprotective effect of novel cyperenoic acid/quinone derivatives in human cell cultures. **Planta Medica**, Nova york, v. 78, n. 17, p. 1807–1812,

2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23047252>. Acesso em: 8 fev. 2019.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272506002196?via%3Dihub#!>. Acesso em: 2 abr. 2020.

WANG, Z.; LING, L.; XIA, Q.; LI, X. Disulfide-crosslinked reduction-responsive Prodrug Micelles for On-demand Paclitaxel Release. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], v. 53, p. 101168, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101168>. Acesso em: 14 set. 2019.

WEI, W.; LI, S.; XU, H.; ZHOU, F.; WEN, Y.; SONG, Z.; FENG, S.; FENG, R. MPEG-PCL Copolymeric Micelles for Encapsulation of Azithromycin. **AAPS PharmSciTech**, [S. l.], v. 19, n. 5, p. 2041–2047, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1208%2Fs12249-018-1009-0>. Acesso em: 15 jan. 2019.

YANG, Z.; CROTHERS, M.; RICARDO, N. M. P. S.; CHAIBUNDIT, C.; TABOADA, P.; MOSQUERA, V.; KELARAKIS, A.; HAVREDAKI, V.; MARTINI, L.; VALDER, C.; COLLETT, J. H.; ATTWOOD, D.; HEATLEY, F.; BOOTH, C. Micellization and gelation of triblock copolymers of ethylene oxide and styrene oxide in aqueous solution. **Langmuir**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 943–950, 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/la026479l>. Acesso em: 28 fev. 2019.

YOUNES, N. F.; ABDEL-HALIM, S. A.; ELASSASY, A. I. Solutol HS15 based binary mixed micelles with penetration enhancers for augmented corneal delivery of sertaconazole nitrate: Optimization, in vitro, ex vivo and in vivo characterization. **Drug Delivery**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 1706–1717, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1497107>. Acesso em: 12 fev. 2019.

ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; DA SILVA BOLZANI, V.; WOLFENDER, J.-L. Antioxidants, quinone reductase inducers and acetylcholinesterase inhibitors from Spondias tuberosa fruits. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 21, p. 396–405, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615006131>. Acesso em: 17 maio. 2019.

ZHANG, Y.; PAN, M.; LIU, C.; HUANG, J. Preparation of Amphiphilic Ternary Block Copolymers with PEO as the Middle Block and the Effect of PEO Position on the Glass Transition Temperature (T<sub>g</sub>) of Copolymers. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, [S. l.], v. 46, p. 2624–2631, 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pola.22592>. Acesso em: 12 fev. 2019.


ZHAO, J.; XU, Y.; WANG, C.; DING, Y.; CHEN, M.; WANG, Y.; PENG, J.; LI, L.; LV, L. Soluplus/TPGS mixed micelles for dioscin delivery in cancer therapy. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [S. l.], v. 43, n. 7, p. 1197–1204, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28300426>. Acesso em: 14 fev. 2019.

**ANEXO A – PRODUTO OBTIDO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO  
ESTUDO: ARTIGO ACEITO**


**BINARY MICELLES (E45S8/F127) FOR QUERCETIN AND  
GRISEOFULVIN SOLUBILISATION**

Journal:	<i>Química Nova</i>
Manuscript ID	QN-2019-0497
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	18-Dec-2019
Complete List of Authors:	Lopes, Karen; Universidade Federal do Ceará, Química Orgânica e Inorgânica Cavalcante, Igor; Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica Silva, Raquel; Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica de Brito, Debora; Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica Fechine, Lillian; Universidade Federal do Ceará Moreira, Denise; Universidade Federal do Ceara Vieira, Icaro; Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) Azul, Francisco Vinícius ; Universidade Federal do Ceará, Farmácia LEAL, LUZIA KALYNE; UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, FARMÁCIA Ribeiro, Maria; Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica Ricardo, Nágila; Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica

## ANEXO B – PRODUTO OBTIDO DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO: PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSO



**15º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS (CBPol)**  
27 a 31 de Outubro de 2019  
Bento Gonçalves-RS



---

### SOLUBILIZAÇÃO DO LAPACHOL EM MICELAS DE COPOLI(OXIALQUILENO)S

Tathilene B. M. G. Arruda<sup>1</sup>, Karen P. S. Lopes<sup>1</sup>, Matheus S. Campelo<sup>1</sup>, Lillian M. U. D. Fechine<sup>1</sup>, Maria E. N. P. Ribeiro<sup>1</sup>, Nágila M. P. S. Ricardo<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE.  
*\*maricam@ufc.br*

#### INTRODUÇÃO

Micelas poliméricas, em especial lâqüelas formadas por copoli(oxialquilenos), têm despertado o interesse por consistir em uma alternativa para otimizar a liberação de fármacos pouco solúveis [1,2,3,4,5].

O lapachol (2-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) é um exemplo de bioativo pouco solúvel, que apresenta diversas atividades, sendo conhecido principalmente pela sua atividade antitumoral. No entanto, devido sua baixa biodisponibilidade são necessárias altas doses para atingir seu potencial terapêutico levando a efeitos colaterais graves [6].

#### OBJETIVOS

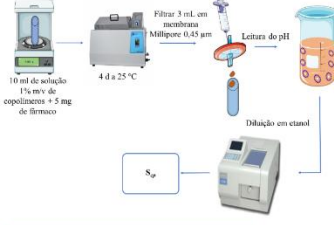
□ **Objetivo Geral**  
Estudar sistemas formados por F127 e E<sub>12</sub>S<sub>12</sub>E<sub>12</sub> visando aplicação no carregamento do fármaco lapachol.

□ **Objetivos Específicos**

- Desenvolver sistemas poliméricos micelares a partir dos copolímeros tribloco E<sub>12</sub>S<sub>12</sub>E<sub>12</sub> e F127 para o carregamento do lapachol.
- Testar soluções dos copolímeros tribloco como meio para solubilizar o lapachol.

#### METODOLOGIA

□ **Processo de solubilização**



#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

□ **Capacidade de solubilização dos copolímeros e o pH do meio a 25 °C e 37 °C**

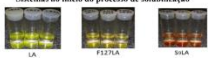
Temperatura	25 °C			37 °C		
	S <sub>90</sub> (mg/dL)	S <sub>90</sub> (mg/g)	pH	S <sub>90</sub> (mg/dL)	S <sub>90</sub> (mg/g)	pH
Lapachol	0,25±0,061	-	5,5	0,51±0,022	-	5,4
E <sub>12</sub> S <sub>12</sub> E <sub>12</sub>	4,0±0,46	3,75	6,8	6,35±0,82	5,84	6,8
F127	1,9±0,22	1,65	5,9	5,49±0,22	4,98	5,7

LA: sistema lapachol em água; S<sub>90</sub>: solubilidade do fármaco em água; S<sub>90</sub>: solubilidade total de fármaco; S<sub>90</sub>: capacidade de solubilização.


Os resultados de solubilidade do fármaco estão de acordo com a literatura que relaciona o crescimento da solubilidade do lapachol à variação do pH, quanto mais alcalino o meio maior a solubilidade. Além de mudanças na coloração de soluções aquosas de lapachol com diferentes pHs, coloração vermelha em condições alcalinas, laranja em pH próximo de 6 e amarelo em pH menor que 5,8 [7,8].

□ **Sistemas com o ativo durante o processo de solubilização**

Sistemas na início do processo de solubilização



Sistemas no final do processo de solubilização




Através dos dados obtidos de S<sub>90</sub> foi possível inferir que a utilização do copolímero E<sub>12</sub>S<sub>12</sub>E<sub>12</sub> e a elevação da temperatura favoreceram a solubilidade do fármaco, resultado semelhante ao encontrado na literatura que relaciona a maior S<sub>90</sub> ao núcleo de óxido de estireno devido uma maior catíon hidrofóbico em relação ao núcleo de óxido de propileno e maior afinidade do ativo pelo núcleo da micela. Observou-se também, o aumento do número de micelas com o aumento da temperatura [9,10].

#### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que o lapachol foi encapsulado no sistema micelar. Verificou-se que a formulação contendo o copolímero tribloco E<sub>12</sub>S<sub>12</sub>E<sub>12</sub> promoveu maior solubilidade do bioativo. Portanto, uma alternativa promissora no carregamento do lapachol para fins terapêuticos.

#### AGRADECIMENTOS



#### REFERÊNCIAS

1. M. Cruz, F. Torres, K. Nishimura, M. Sakurai, M. Ishikawa, M. Minoura, D. Okamoto, *Exp. J. Pharm. Biotechnol.* 2011, 1(1-20).  
2. D. A. Chiappini, D. Paschoa, T. B. de Brito, A. C. de Souza, *Teratocarcinoma Neurobiológico* Biol. Med. 2011, 2, 628.  
3. V. S. de Brito, *Pharm. J.* 2012, 7(2).  
4. P. S. de Brito, M. A. de Brito, R. A. de Brito, *Int. J. Pharm. Res.* 2016, 11, 441.  
5. A. A. Oliveira, S. A. C. L. Oliveira, M. C. Cordeiro, A. A. Lopes, S. V. Gomes, M. E. N. P. Ribeiro, F. C. F. França, S. G. Yano, N. M. P. S. Ricardo, *J. Pharm. Res.* 2011, 9, 210.  
6. P. F. de Brito, M. A. de Brito, D. Paschoa, V. M. de Brito, R. E. de Brito, *Pharm. Res.* 2014, 12, 37.  
7. T. C. Liu, A. A. de Brito, C. de Brito, *J. Pharm. Res.* 2016, 11, 183.  
8. P. S. de Brito, F. D. M. de Brito, *J. Pharm. Res.* 2016, 11, 192.  
9. A. C. de Brito, F. D. M. de Brito, *J. Pharm. Res.* 2016, 11, 192.  
10. V. M. de Brito, F. D. M. de Brito, *J. Pharm. Res.* 2016, 11, 192.  
11. D. A. Chiappini, D. Paschoa, T. B. de Brito, A. C. de Souza, *Teratocarcinoma Neurobiológico* Biol. Med. 2011, 2, 628.



**15º Congresso Brasileiro de Polímeros**  
27 A 31 DE OUTUBRO DE 2019  
Bento Gonçalves-RS

## CERTIFICADO

Certificamos que

**Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda**

apresentou na forma de Pôster o trabalho **Solubilização do lapachol em micelas de Copoli(Oxialquilenos)**, de autoria de **Karen Pâmela Sales Lopes, Matheus da Silva Câmpelo, Lillian Maria Uchoa Dutra Fechine, Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro, Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda e Nágila Maria Pontes Silva Ricardo**

no 15º Congresso Brasileiro de Polímeros, realizado em Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul - Brasil, de 27 a 31 de outubro de 2019.