

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

GEYZA KATRINNY SOUSA RIBEIRO

**CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS LÍQUIDO-CRISTALINOS PARA
ADMINISTRAÇÃO BUCAL DE CURCUMINA**

RIBEIRÃO PRETO, SP
2023

GEYZA KATRINNY SOUSA RIBEIRO

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS
LÍQUIDO-CRISTALINOS PARA ADMINISTRAÇÃO BUCAL DE CURCUMINA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Marilisa Guimarães Lara

RIBEIRÃO PRETO, SP

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este trabalho foi apresentado e aprovado pela Comissão de Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto em 10/11/2023.

AGRADECIMENTOS

À Deus e aos meus pais, Dona Preta e Chicão, pela força e pelo apoio durante os meus anos de graduação. À minha mãe que não permitiu que eu desistisse.

À Prof.^a Marilisa Guimarães Lara, pela paciência e por toda ajuda durante a escrita deste trabalho.

À Prof.^a Maria Vitória Lopes Badra Bentley, pela disposição do laboratório para utilização de equipamentos para a realização deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Lariane Delboni e José Orestes, pelos ensinamentos no laboratório e pela amizade.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP e aos funcionários da seção de graduação. Um agradecimento especial pela existência dessa instituição.

À todos que estiveram presentes e contribuíram neste trabalho.

RESUMO

Sousa Ribeiro, G. K. **Caracterização de sistemas líquido-cristalinos para administração bucal de curcumina**. 2023. 38f. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A curcumina é um polifenol bioativo isolado de *Curcuma L.*, que apresenta atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, analgésica e antitumoral. Entretanto, sua aplicabilidade clínica é limitada devido às suas características físico-químicas e baixa biodisponibilidade oral. Assim, sua administração em cristais líquidos na mucosa bucal pode ser uma abordagem interessante para viabilizar o seu uso, pois esses sistemas são bioadesivos e aumentam o tempo de contato na mucosa, promovendo liberação controlada. Cristais líquidos podem ter seu perfil de liberação alterados por aditivos como o ácido oleico e o propilenoglicol. A incorporação de aditivos é uma das estratégias utilizadas para intensificar a permeação. Sistemas líquido-cristalinos à base de monoleína e água incorporados de aditivos foram desenvolvidos para a administração de curcumina na mucosa bucal. O ácido oleico e o propilenoglicol se distribuem entre os domínios polares e apolares, alterando o parâmetro de empacotamento e assim, a liberação de um fármaco. De fato, foi demonstrado que os aditivos afetam o perfil de liberação da curcumina. A adição de ácido oleico induziu a transição para fase hexagonal e diminuiu a liberação; a adição de propilenoglicol aumentou ligeiramente a liberação. A cinética de liberação revelou que os sistemas 1 e 6 seguem uma cinética governada por difusão, e os sistemas 2, 3 e 4 seguem a cinética de 1ª ordem.

Palavras-chave: sistemas cristalinos líquidos, cristais líquidos liotrópicos, cristais líquidos, entrega controlada, intensificadores de permeação, liberação de fármacos *in vitro*, curcumina, ácido oleico, monoleato de glicerol, propilenoglicol.

Sousa Ribeiro, G. K. **Characterization of liquid-crystalline systems for buccal administration of curcumin**. 2023. 38f. Final Project. Pharmaceutical Sciences School of Ribeirão Preto - University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

ABSTRACT

Curcumin is a bioactive polyphenol isolated from *Curcuma longa*, which exhibits anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, analgesic, and antitumoral activities. However, its clinical applicability is limited due to its physicochemical characteristics and low oral bioavailability. Therefore, its administration in liquid crystal form on the buccal mucosa may be an interesting approach to facilitate its use, as these systems are bioadhesive and increase the contact time on the mucosa, promoting controlled release. Liquid crystals can have their release profile altered by additives such as oleic acid and propylene glycol. The incorporation of additives is one of the strategies used to enhance permeation. Liquid-crystalline systems based on monolein and water incorporated with additives were developed for the administration of curcumin on the buccal mucosa. Oleic acid and propylene glycol distribute themselves among the polar and nonpolar domains, altering the packing parameter and thus drug release. In fact, it was demonstrated that additives affect the release profile of curcumin. The addition of oleic acid induced a transition to the hexagonal phase and decreased release, while the addition of propylene glycol slightly increased release. The release kinetics revealed that systems 1 and 6 follow a diffusion-controlled kinetics, and systems 2, 3, and 4 follow first-order kinetics.

Keywords: liquid crystalline systems, lyotropic liquid crystals, liquid crystals, controlled delivery, permeation enhancers, *in vitro* drug release, curcumin, acid oleic, glyceryl monooleate, propylene glycol.

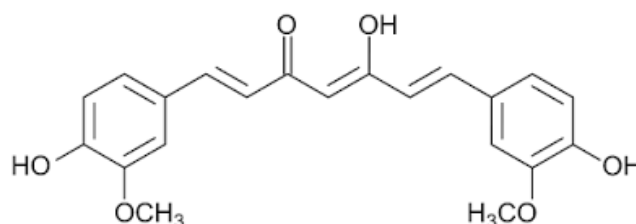
SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2. 1. Curcumina.....	9
2. 2. Cristais Líquidos.....	11
2. 3. Aditivos como promotores de permeação.....	13
2. 4. Sistemas baseados em monoleína e água.....	15
3. OBJETIVOS.....	16
4. METODOLOGIA.....	17
4.1. Preparação dos sistemas líquido-cristalinos.....	17
4.3. Validação de metodologia.....	17
4.3.1. Linearidade.....	18
4.3.2. Precisão.....	18
4.3.3. Limite de Detecção.....	18
4.3.4. Limite de Quantificação.....	19
4.3.5. Exatidão.....	19
4.4. Estudos de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.....	20
4.5. Avaliação da cinética de liberação.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1. Sistemas líquido-cristalinos.....	21
5.2. Validação da metodologia.....	23
5.3. Estudos de liberação <i>in vitro</i> da curcumina.....	24
5. 4. Avaliação da cinética de liberação.....	27
6. CONCLUSÃO.....	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

A curcumina é um composto polifenólico bioativo isolado do rizoma de *Curcuma L.*, que se apresenta na forma de um pó cristalino amarelo alaranjado. Recentemente, esse curcuminóide tem sido alvo de numerosos estudos que atribuem a ele, atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, hepatoprotetoras e anti-tumorais. No entanto, a aplicabilidade terapêutica da curcumina é limitada devido a suas características físico-químicas, como insolubilidade em água, baixa estabilidade química e baixa biodisponibilidade por via oral. Além disso, a curcumina é suscetível à decomposição química quando exposta a luz, a temperaturas elevadas e a condições alcalinas (Zheng & McClements, 2020; Zeng, 2023).

Figura 1: Estrutura molecular da curcumina



Apesar dos problemas de biodisponibilidade e estabilidade, a curcumina é o polifenol mais biologicamente ativo da família dos curcuminóides e tem sido usada como substância alimentícia promotora da saúde há milhares de anos pela medicina tradicional asiática. Mais recentemente, a curcumina tem sido amplamente utilizada como medicamento fitoterápico por demonstrar propriedades farmacológicas, incluindo atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anti-tumorais, e por isso o foco das indústrias tem sido no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, alimentícios e suplementos (Masoodi *et al.*, 2018).

Um dos maiores desafios relacionados à utilização clínica da curcumina é a sua baixa biodisponibilidade oral, que pode ser explicada, a princípio, pela sua estrutura química. A molécula de curcumina consiste em uma região altamente hidrofóbica com dois anéis aromáticos, ponte alifática, grupos metila e três grupos hidroxila. Em pH ácido ou neutro, essas hidroxilas estão protonadas e a molécula é

predominantemente hidrofóbica. Em pH básico, a curcumina é desprotonada e adquire relativa solubilidade no meio aquoso alcalino. Assim, nos fluidos gastrintestinais aquosos a curcumina não se dissolve e permanece na forma cristalina, não sendo absorvida pelas células do epitélio intestinal (Zheng & McClements, 2020). Além disso, a curcumina é suscetível a degradação alcalina no intestino delgado e no cólon; e no fígado e intestino é convertida rapidamente em metabólitos solúveis que são excretados.

Essas limitações impostas pela molécula de curcumina têm direcionado muitas pesquisas visando o desenvolvimento de matrizes de entrega complexas capazes de contornar esses problemas e aumentar a sua absorção. Ultimamente têm sido desenvolvidas e testadas formulações de grande potencial à base de lipídeos como lipossomas, cubossomas, microemulsões, nanoemulsões, transportadores lipídicos nanoestruturados e cristais líquidos (Gitte *et al.*, 2023).

Sistemas líquido-cristalinos têm sido considerados veículos adequados para incorporar fármacos lipofílicos e hidrofílicos devido a sua estrutura composta por domínios polares e apolares. Além disso, possuem a capacidade de sustentar a liberação dos fármacos incorporados, em razão de sua complexa estrutura líquido-cristalina, que libera lentamente o fármaco do sistema por difusão (Geraghty *et al.*, 1996; Turchiello *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2018). Esses sistemas também apresentam propriedades de mucoadesão atribuídas a sua capacidade de absorver água do meio e prolongar o tempo de permanência no local de aplicação (Shah, 2001; Lee, Young & Kellaway, 2001; Fernández, 2023). O fármaco também fica protegido da degradação física e enzimática, por estar em contato direto com a membrana absorvente e reduzir a barreira de difusão (Grabovac, Guggi & Bernkop-Schnurch, 2005).

Dessa maneira, as propriedades de mucoadesão e liberação controlada promovida no local de aplicação, tornam os cristais líquidos uma proposta interessante para a administração de curcumina por vias alternativas à via oral, como a via bucal e cutânea.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. 1. Curcumina

A curcumina é um polifenol bioativo extraído do rizoma de *Cúrcuma Longa* que tem sido extensivamente estudado devido às suas potenciais atividades farmacológicas como por exemplo, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitumoral (Guzmán *et al.*, 2023). Historicamente, a cúrcuma foi utilizada como tempero, pigmento e fitoterápico em alimentos, mas recentemente, tornou-se um nutracêutico muito estudado pela indústria farmacêutica, visando o desenvolvimento de medicamentos, suplementos e produtos alimentícios (Zheng & McClements, 2020).

Ak & Gülçin (2008) demonstraram a atividade antioxidante da curcumina através de diferentes ensaios *in vitro*, como eliminação de radicais livres de DPPH•, ABTS•+, O₂•- e DMPD•+, eliminação de peróxido de hidrogênio e atividade quelante de metais em relação a compostos antioxidantes padrão, como o HA, BHT, α-tocoferol e trolox. Além disso, também empregaram o método do tiocianato férrico em que a curcumina inibiu 97,3% de peroxidação lipídica de um sistema de emulsão de ácido linoléico. Foi relatado que a curcumina atua como um eliminador de radicais livres, supressor de oxigênio singlete e agente quelante, doando, por exemplo, átomos de hidrogênio do grupo fenólico para radicais lipídicos alquil ou lipídicos peroxil.

A atividade anti-inflamatória da curcumina tem sido relacionada a sua capacidade de suprimir enzimas de resposta inflamatória e fatores de transcrição, como TNF-α, IL-1, IL-6, IL8, IL12, proteína quimioatraente de monócitos, ciclooxigenase-2, óxido nítrico sintase induzível e lipoxigenase, inibindo assim a produção de citocinas inflamatórias (Coelho *et al.*, 2018). Em estudos, foram demonstrados os efeitos antiinflamatórios e antioxidantes da curcumina em linfócitos e células gastrointestinais humanas, bem como o efeito da curcumina na melhora da colite em modelos animais (Sreedhar *et al.*, 2016). Um estudo conduzido por Masoodi e colaboradores (2018) avaliou a eficácia da curcumina no tratamento de colite ulcerosa leve ou moderada em combinação com mesalamina. Os resultados indicaram que a administração de nanomicelas de curcumina associada a mesalamina reduziu globalmente a atividade da doença após quatro semanas de tratamento. Resultados promissores também foram reportados por Chandran & Goel

(2012), que avaliaram a eficácia da curcumina isoladamente e em combinação com diclofenaco de sódio em pacientes com artrite reumatóide ativa. As descobertas deste estudo demonstraram que em comparação ao conhecido anti-inflamatório, a curcumina foi capaz de aliviar a dor e de reduzir o inchaço e a sensibilidade dos pacientes.

Tyagi e colaboradores (2015) estudaram a atividade antimicrobiana da curcumina contra quatro gêneros de bactérias, as gram-positivas (*S. aureus* e *E. faecalis*) e as gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*). Foram realizados ensaios de morte e ensaios de permeabilização de membrana utilizando densidades celulares baixas (10⁴ UFC /ml) e altas (10⁶ UFC/ml) de *S. aureus* e *E. coli*, uma vez que o elevado número de células bacterianas está diretamente relacionado à resistência bacteriana. A curcumina demonstrou atividade antimicrobiana contra todos os gêneros bacterianos testados. Observou-se uma morte de 100% na exposição de 100 µM de curcumina, mesmo quando foi usada maior densidade bacteriana. Além disso, foi constatada a perda de integridade e ruptura de todas as membranas bacterianas devido à exposição à curcumina, apesar das diferenças estruturais entre as paredes celulares de bactérias gram-negativas e gram-positivas. Alguns mecanismos de ação foram propostos para a atividade antimicrobiana da curcumina, como capacidade de aumentar a permeabilidade das paredes celulares bacterianas, inibição da formação de microtúbulos, comprometimento dos fatores de virulência bacteriana e das principais vias bioquímicas (Vaughn *et al.*, 2017).

Aslanturk & Uzunhisarcikli estudaram a atividade hepatoprotetora da curcumina associada a taurina para melhorar a lesão hepática induzida pelo bisfenol A por meio de estresse oxidativo em ratos. A curcumina diminuiu os níveis de malondialdeído, um indicador de peroxidação lipídica, enquanto reverteu os níveis de superóxido dismutase, catalase, glutathione S-transferase total e glutathione peroxidase total, que são enzimas antioxidantes. Além disso, os ratos que receberam tratamento com curcumina e taurina não apresentaram necrose tecidual no fígado e outras alterações histopatológicas foram observadas em menor extensão com o tratamento pela curcumina e taurina. Assim, as propriedades antioxidantes intrínsecas na curcumina demonstraram promover um efeito hepatoprotetor quando combinada com taurina para tratar ratos com toxicidade induzida por BPA. A curcumina também apresentou atividade antioxidante no trabalho realizado por Yang *et al.*, que tratou ratos diabéticos com doses de 100 e

200 mg/kg de curcumina e reduziu os níveis de malondialdeído e aumentou significativamente a atividade de superóxido dismutase.

A atividade farmacológica antitumor da curcumina foi relacionada a sua capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas pela supressão da angiogênese e indução da apoptose (Tomeh, Hadianamrei & Zhao, 2019). No estudo conduzido por Teiten (2010), a curcumina regulou negativamente a proliferação de células tumorais da próstata, atacando os receptores do fator de crescimento epidérmico. Além disso, também demonstrou suprimir a motilidade celular e a metástase pela inibição de células de câncer de próstata C4-2B derivadas de LNCaP metastáticas ósseas. No caso do câncer de mama, foi relatado que a curcumina medeia a apoptose de células de câncer de mama por meio da supressão da expressão de NFκB, ciclina D e MMP-1 (Liu *et al.*, 2009). Para o câncer de cólon, foi reportado que a curcumina reduz a atividade e expressão do promotor miR-21, inibindo as células HCT116 e as células Rko na fase G2/M, que regula a progressão e metástase das células cancerígenas (Kunnumakkara *et al.*, 2017). No geral, os estudos identificaram múltiplas vias de sinalização em que a curcumina pode regular para produzir efeitos anticancerígenos, que muitas vezes envolvem o direcionamento de múltiplos componentes-chave dentro dessas vias (Zhou, Beevers & Huang 2011).

2. 2. Cristais Líquidos

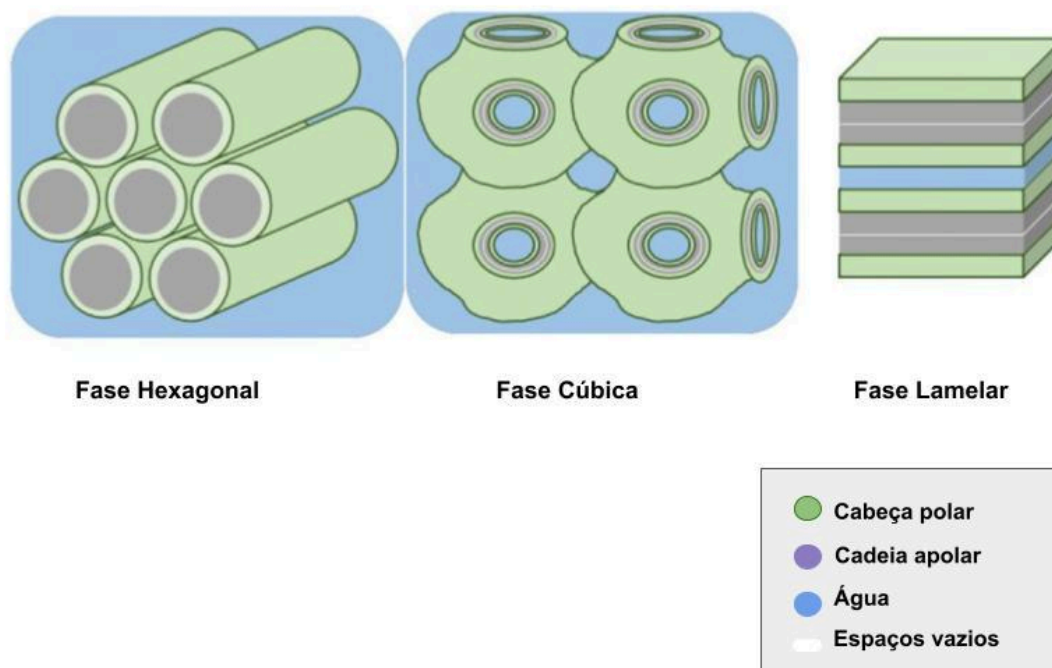
Cristais líquidos são sistemas que combinam propriedades de cristais sólidos e de líquidos isotrópicos. São formados a partir de moléculas anfifílicas em água que se auto-organizam espontaneamente em estruturas denominadas mesofases. Sistemas líquido-cristalinos são classificados principalmente em dois tipos, de acordo com o parâmetro físico-químico responsável pela transição de fases. Em sistemas termotrópicos a transição de fase é induzida em função da temperatura, e em sistemas liotrópicos a transição de fase depende da temperatura e da concentração de moléculas anfifílicas (Milak & Zimmer, 2015; Rüyá *et al.*, 2023).

Cristais líquidos liotrópicos são formados por moléculas anfifílicas e um solvente (geralmente água) que se agregam molecularmente através do efeito hidrofóbico, que minimiza a interação das cadeias hidrocarbonadas com água (Fong *et al.*, 2012; Milak & Zimmer, 2015). Assim, a água circunda a porção polar das moléculas anfifílicas através de ligações de hidrogênio e as cadeias apolares se

agrupam por interações de van der Waals, formando domínios polares e apolares. Dessa maneira, ocorre a formação de canais de água e regiões hidrofóbicas que possuem a capacidade de incorporar fármacos hidrofílicos, lipofílicos e anfifílicos (na interface água-óleo. Dependendo do teor de água, esses agregados moleculares formam três mesofases principais: as fases lamelar, hexagonal e cúbica (Chang & Bodmeier, 1997; Milak & Zimmer, 2015; Wang *et al.* 2018; Bala, 2021; Rüyá *et al.*, 2023).

A fase lamelar é formada por bicamadas lipídicas empilhadas e unidas por canais de água alternados, onde as cadeias hidrofóbicas estão firmemente ligadas e os grupos polares das moléculas anfifílicas estão unidos entre si e em contato direto com a água. A fase hexagonal é formada por micelas cilíndricas contendo água e empilhadas hexagonalmente dispostas bidimensionalmente. A fase cúbica possui a organização espacial mais complexa dentre todas as fases líquido cristalinas. Consiste em uma estrutura tridimensional composta por infinitas bicamadas lipídicas bicontínuas separadas por canais de água (Shah, 2001; Rizwan *et al.*, 2009; Milak & Zimmer, 2015). Essas mesofases diferenciam-se quanto à sua complexidade estrutural, viscosidade, concentração de moléculas anfifílicas e teor de água, resultando em diferentes padrões de liberação (Lopes, *et al.*, 2006).

Figura 2: Estrutura das fases líquido-cristalinas: a) Fase hexagonal, b) Fase cúbica e c) Fase lamelar



Adaptado de: Blanco-Fernandez *et al.* (2022)

O comportamento das mesofases das estruturas líquido-cristalinas são influenciados por vários fatores que podem ser divididos em fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos referem-se à natureza e concentração da molécula anfifílica, teor de água e incorporação de solutos, como um fármaco ou aditivos. Os fatores extrínsecos estão relacionados à temperatura, mudança de pH, pressão, campo magnético e força iônica (Huang, 2018). A formação das mesofases é fortemente influenciada pela geometria e volume da molécula anfifílica. O parâmetro de empacotamento crítico (P) é uma medida geométrica utilizada como abordagem racional para prever qual fase será formada a partir de um lipídeo, uma vez que relaciona o volume da cadeia hidrofóbica (v), o volume da área do grupo polar (a) e o comprimento da cadeia hidrofóbica (l); e é dado pela seguinte equação:

$$P = \frac{v}{al} \quad (1)$$

Esse parâmetro é diretamente proporcional ao volume da cadeia hidrofóbica e inversamente proporcional ao volume da área do grupo polar e ao comprimento da cadeia hidrofóbica (El-Gendy *et al.*, 2020; Pham *et al.*, 2021). Dependendo do valor de parâmetro de empacotamento crítico diferentes mesofases podem ser obtidas. Quando $P = 1$, é esperado que as moléculas anfifílicas se auto organizem de maneira a formarem fase lamelar; quando $P < 1$, a fase hexagonal é favorecida e quando $P > 1$, a fase cúbica ou a fase hexagonal invertida é formada (Guo *et al.*, 2010; Fong *et al.*, 2012; Pham *et al.*, 2021).

Os fatores intrínsecos e extrínsecos mencionados anteriormente influenciam diretamente nas variáveis do parâmetro de empacotamento crítico e podem ser utilizados como estratégia para se obter uma mesofase ou induzir a transição de fases no sistema (Huang, 2018).

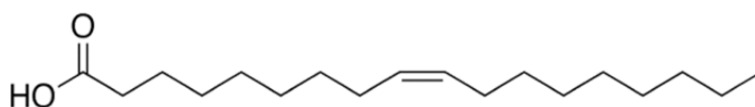
2. 3. Aditivos como promotores de permeação

A incorporação de aditivos promotores de permeação aos sistemas de cristais líquidos consiste em uma das estratégias mais empregadas atualmente para otimizar e promover a entrega controlada de medicamentos na pele (Lane, 2013; Dante *et al.*, 2018). Esses aditivos podem ter caráter tanto hidrofílico como lipofílico. Aditivos hidrofílicos ficam retidos na porção polar dos cristais líquidos e aumentam o

volume da área do grupo polar. Conseqüentemente, o valor do parâmetro de empacotamento crítico diminui e assim a fase lamelar é preferencialmente formada. Já os aditivos lipofílicos se fundem na região apolar e aumentam o volume da cadeia hidrofóbica. Conseqüentemente, o valor do parâmetro de empacotamento aumenta e a formação de fases hexagonais e cúbicas é favorecida. Uma vez que o comprimento da cadeia hidrofóbica será o mesmo, o parâmetro de empacotamento crítico será determinado pela relação do volume ocupado pelos grupos polares e apolares do sistema (Chang & Bodmeier, 1997; Shah & Paradkar, 2007; Milak & Zimmer, 2015; Wang, 2018).

O ácido oleico é um ácido graxo livre utilizado como aditivo lipofílico para intensificar a permeação de sistemas líquido-cristalinos. Tal propriedade é atribuída às cadeias de ácidos graxos com insaturações *cis*, que se fundem a bicamada lipídica e introduzem uma dobra que não se ordena uniformemente com os lipídeos e conseqüentemente provoca uma certa fluidez na membrana (Leekumjorn, 2009). De maneira semelhante, essa propriedade é exibida nos sistemas de cristais líquidos, em que o ácido oleico ocupa um volume adicional no domínio apolar devido a dobra imposta pela insaturação de sua cadeia na estrutura líquido cristalina, reduzindo o empacotamento lipídico (Leekumjorn, 2009; El-Gendy *et al.*, 2020). Assim, como conseqüência do aumento do volume da cadeia hidrofóbica, ocorreria um aumento no valor do parâmetro de empacotamento crítico na medida em que a fase cúbica mudaria para fase hexagonal (El-Gendy *et al.*, 2020).

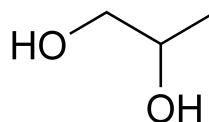
Figura 3: Estrutura molecular do ácido oleico



O propilenoglicol é um aditivo hidrofílico utilizado como solubilizante que atua se distribuindo nos domínios polares dos sistemas líquido-cristalinos, aumentando o tamanho dos canais de água. Fármacos lipossolúveis podem ficar retidos nos domínios apolares dos cristais líquidos e serem pouco liberados. Assim, a adição de propilenoglicol favorece a partição de ativos lipofílicos entre os canais de água e as regiões apolares, aumentando a liberação (Alfons & Engström, 1998; Dante *et al.*, 2018). Uma vez que o propilenoglicol é um composto hidrofílico, o volume da área do grupo polar aumenta, e conseqüentemente diminui o valor de parâmetro de

empacotamento crítico, favorecendo a formação de fase lamelar (Shah & Paradkar, 2007).

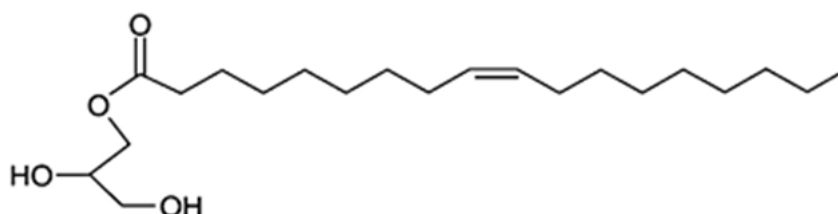
Figura 4: Estrutura molecular do propilenoglicol



2. 4. Sistemas baseados em monoleína e água

A monoleína é um monoglicerídeo de cadeia longa insaturada formado pela mistura de glicerídeos de ácido oleico e de outros ácidos graxos. É uma molécula anfifílica que se auto organiza espontaneamente em água formando diversas estruturas líquido-cristalinas com domínios polares e apolares para carrear fármacos de naturezas distintas. Fármacos hidrofílicos se ligam próximos à cabeça polar da monoleína ou nos canais de água, fármacos lipofílicos se ligam nas regiões apolares e fármacos de caráter anfifílico se ligam na interface (Chang & Bodmeier, 1997; Guo *et al.*, 2010; Rüyá *et al.*, 2023). Além disso, é uma lipídeo natural que se assemelha às microestruturas da pele e interage com seus componentes; aumentando a fluidez dos lipídeos intercelulares, promovendo a permeação e conseqüentemente a difusão das mesofases através do estrato córneo (Esposito *et al.*, 2018; Madheswaran *et al.*, 2019; Rüyá *et al.*, 2023). Também é biodegradável e seus produtos de lipólise através de esterases são esteróis e ácido oleico, ambos biocompatíveis (Chang & Bodmeier, 1997; Shah, 2001; Lim *et al.*, 2014).

Figura 5: Estrutura molecular da monoleína



Sistemas compostos por monoleína e água vêm sendo extensivamente utilizados como sistemas de liberação controlada para administração na mucosa bucal, devido a sua capacidade de aumentar a permeabilidade de fármacos e a sua propriedade de mucoadesão (Lee & Kellaway, 2001; Milak & Zimmer, 2015). Além

disso, as fases hexagonais e cúbicas formadas a partir de sistemas líquido-cristalinos à base de monoleína têm sido muito estudadas devido a complexidade das estruturas bidimensionais e tridimensionais que se formam e que retardam a difusão e promovem uma liberação controlada dos fármacos (Silvestrini *et al.*, 2020; Pham *et al.*, 2021; Rüyá *et al.*, 2023). A fase cúbica, em particular, favorece o desenvolvimento de sistemas de entrega controlada de medicamentos, devido a alta viscosidade e a estabilidade em meio salino e em excesso de água (Chang & Bodmeier, 1997; Shah & Paradkar, 2007). A fase lamelar apresenta um padrão de liberação relativamente rápido devido a sua simplicidade estrutural, que não conduz o fármaco a liberação sustentada (Guo *et al.*, 2010).

Assim, o desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos à base de monoleína para administração de curcumina na mucosa bucal consiste em uma estratégia promissora para a liberação tópica de curcumina. Esses sistemas apresentam propriedades de mucoadesão e promovem maior tempo de contato e maior permeabilidade do fármaco no local. A incorporação de aditivos é uma das estratégias utilizadas para aumentar a permeação e liberação sustentada do medicamento. O ácido oleico e o propilenoglicol podem induzir transições de fases, pois ao se incorporarem a matriz líquida-cristalina, se distribuem entre os domínios polares e apolares, alterando o parâmetro de empacotamento e assim, o comportamento de liberação de um fármaco. As mesofases resultantes, possuem características intrínsecas que resultam em padrões de liberação diferentes. Assim, uma vez que a incorporação de aditivos com polaridades opostas podem alterar o parâmetro de empacotamento, a mesofase formada e por consequência, o padrão de liberação de curcumina, é necessário caracterizar os sistemas na presença dos aditivos.

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho consistiu em caracterizar e avaliar o potencial de sistemas líquido-cristalinos compostos por monoleína/água (70:30) e aditivos para veicular a curcumina. A caracterização dos sistemas foi realizada através da identificação e avaliação da fase líquido-cristalina formada e de estudos de liberação *in vitro*. Também foi feita a avaliação da cinética de liberação, visando uma caracterização ampla dos sistemas.

4. METODOLOGIA

4.1. Preparação dos sistemas líquido-cristalinos

Os sistemas de MO/água acrescidos de aditivos foram feitos com proporções de ácido oleico e/ou propilenoglicol para se obter géis de cristais líquidos consistentes e moldáveis. A preparação dos géis foi feita com a dissolução da curcumina e dos aditivos lipofílicos na monoleína previamente fundida em banho-maria a 40°C. Em seguida, a essa fase oleosa adicionou-se a fase aquosa composta de propilenoglicol dissolvido em água na mesma temperatura. Por fim, o gel foi mantido em repouso por 24 horas para atingir o equilíbrio e formação dos cristais líquidos.

Tabela I. Composição dos sistemas

Sistemas	Proporção MO: H ₂ O	Curcumina (%)	Ácido Oleico (%)	Propilenoglicol (%)
1	70:30	0,1	-	-
2	70:30	0,1	1	-
3	70:30	0,1	5	-
4	70:30	0,1	10	-
5	70:30	0,1	5	10
6	70:30	0,1	5	15

4.2. Avaliação da fase líquido-cristalina formada

A formação dos cristais líquidos foi analisada através da observação do gel por microscopia de luz polarizada utilizando um microscópio Eclipse E200 (Nikon) provido de um filtro polarizador e uma câmera digital (Moticam 2000) anexada. Em uma lâmina de microscópio, uma pequena quantidade foi aplicada sobre uma lâmina de microscopia e fixada com uma lamínula. Além disso, a formulação era avaliada macroscopicamente observando-se aspectos visuais como consistência e turbidez.

4.3. Validação de metodologia

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA determina através da Resolução N° 166, de 24 de junho de 2017, os critérios para a validação de métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção. Essa resolução determina que os parâmetros utilizados, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e

limite de quantificação (LQ), garantam a confiabilidade dos resultados do método analítico. Assim, foi realizada a validação da espectrofotometria em tampão fosfato, pH 5,9 e contendo Tween 20 a 10% (v/v). A curcumina foi quantificada por espectrofotometria UV-Vis em espectrofotômetro UV-VIS Beckman Coulter DU 730 à 425 nm.

4.3.1. Linearidade

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de se obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra. A determinação da linearidade foi obtida a partir da análise em espectrofotometria para cinco concentrações diferentes (entre 1,0 a 5,0 µg/mL) e construída uma curva padrão média que representa a média das três determinações (n=3). O valor do coeficiente de correlação (r) deve estar acima de 0,990.

4.3.2. Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade entre os resultados obtidos em uma série de medidas com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado. A precisão intra-corrída foi avaliada em três concentrações diferentes (baixa (1,0 µg/mL), média (3,0 µg/mL) e alta (5,0 µg/mL)) com 3 réplicas de cada (n = 3) e deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR)), segundo a fórmula:

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (2)$$

Na fórmula, DP é o desvio padrão, e CMD é a Concentração Média Determinada.

4.3.3. Limite de Detecção

O Limite de Detecção é a menor quantidade de analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas e é determinado pela equação:

$$LD = \frac{DP \times 3}{IC} \quad (3)$$

Na fórmula, LD é o Limite de Detecção, IC é a inclinação da curva e DP é o desvio padrão obtido a partir do intercepto com o eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto limite de detecção.

4.3.4. Limite de Quantificação

O limite de quantificação é a menor quantidade de analito presente em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas e é determinada pela equação:

$$LQ = \frac{DP \times 10}{IC} \quad (4)$$

Na fórmula, LQ é o Limite de Detecção, IC é a inclinação da curva e DP é o desvio padrão obtido a partir do intercepto com o eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto limite de detecção.

4.3.5. Exatidão

A exatidão de um método analítico consiste na proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor verdadeiro. Foi verificada em três concentrações (baixa (1,0 µg/mL), média (3,0 µg/mL) e alta (5,0 µg/mL)), em triplicata e expressa entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. Para o cálculo da exatidão intra-corrída, as 3 réplicas foram obtidas num mesmo experimento.

$$Exatidão = \frac{Concentração\ Média\ Experimental}{Concentração\ Teórica} \times 100 \quad (5)$$

4.4. Estudos de liberação *in vitro* da curcumina

Os ensaios de liberação de curcumina foram feitos em um dissolutor usando aparato 2 à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ sob agitação constante (50 rpm) durante 6 horas em 80 mL de solução receptora de tampão fosfato isotônico (pH = 5,9) com 10% (v/v) de Tween 20 em cada cuba. As amostras de géis de cristal líquido foram moldadas manualmente para que tivessem aproximadamente a mesma área de superfície. As coletas da solução receptora foram realizadas em intervalos de tempo fixo (1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas) e a concentração de curcumina foi quantificada utilizando um espectrofotômetro UV-VIS Beckman Coulter DU 730 no comprimento de onda de 425 nm. O comprimento de onda adequado para identificar a curcumina liberada foi definido previamente por varredura de uma solução concentrada. Após a leitura das amostras, os valores de absorbância foram plotados em um gráfico de regressão linear para o cálculo das concentrações de curcumina liberada, segundo metodologia validada.

4.5. Avaliação da cinética de liberação

Os mecanismos de liberação dos sistemas contendo 0,1% de curcumina foram determinados a partir dos dados de liberação submetidos a modelos matemáticos para avaliação da cinética de liberação. A cinética de liberação foi determinada comparando a linearidade das relações entre a quantidade de curcumina liberada em função do tempo (modelo de ordem zero), a quantidade de curcumina liberada em função da raiz quadrada do tempo (modelo de Higuchi) e log da quantidade de curcumina remanescente no sistema em função do tempo (modelo de primeira ordem) (Serra, 1998). No entanto, os resultados da cinética de liberação exigiram a aplicação de outro modelo capaz de diferenciar a liberação controlada pelo modelo de difusão e pelo modelo de primeira ordem, o modelo proposto por Schwartz *et al.* (1968). Neste modelo, se o gráfico da razão de liberação em função da quantidade de fármaco liberada (Q) for linear, a liberação segue modelo de 1ª ordem, enquanto que, se o gráfico da razão de liberação em função do recíproco de Q for linear, a liberação é controlada pela difusão. A aplicação desses modelos matemáticos é importante para determinar quais mecanismos influenciam a liberação do fármaco da matriz.

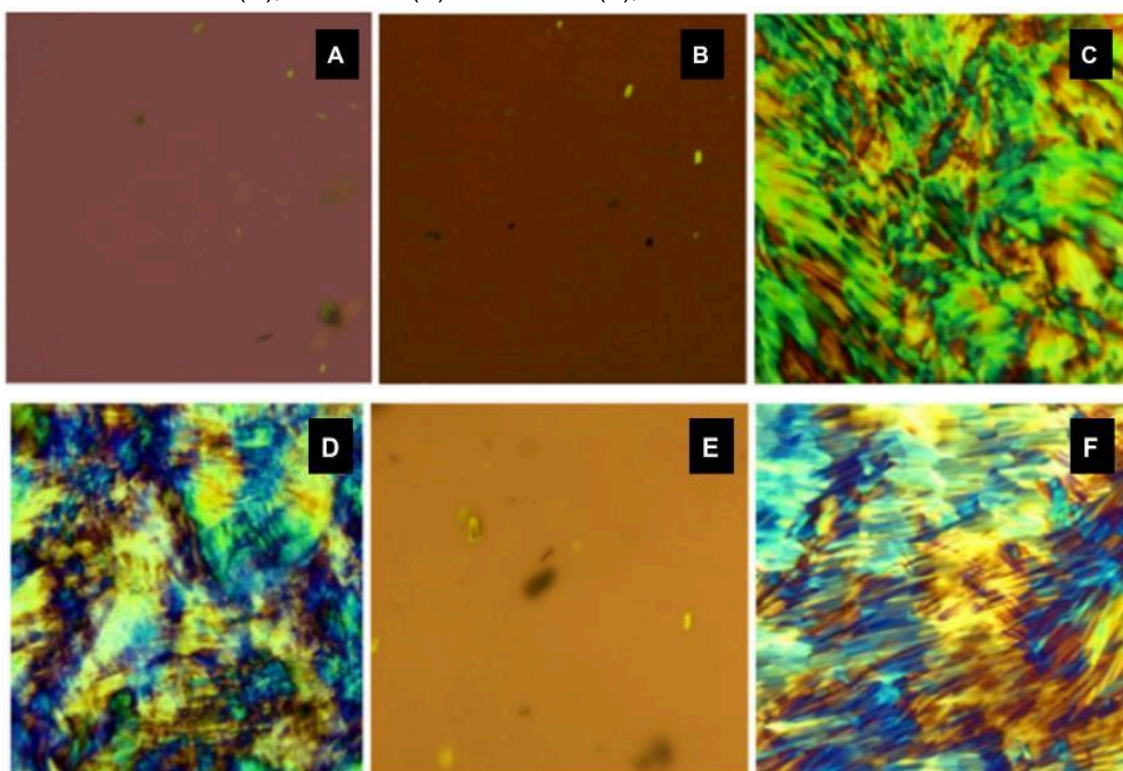
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Sistemas líquido-cristalinos

As análises macro e microscópica dos sistemas líquido-cristalinos são fundamentais para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, pois a mesofases formadas podem ser identificadas por microscopia de luz polarizada através de suas características intrínsecas. Além disso, essas características influenciam diretamente no comportamento de liberação de um fármaco.

Os géis dos sistemas líquido-cristalinos preparados com curcumina possuem coloração amarelada intensa. A fase cúbica se apresenta na forma de um gel translúcido, muito viscoso e não birrefringente. A fase lamelar possui uma aparência turva e pouco viscosa e sob luz polarizada apresenta birrefringência com textura de cruces de Malta (Rüya *et al.*, 2023). A fase hexagonal, por sua vez, também possui birrefringência, porém com padrões de estrias paralelas (Sallam *et al.*, 2002; Bender *et al.*, 2008). Nas figuras abaixo estão apresentadas a aparência microscópica de todos os sistemas-líquido-cristalinos.

Figura 6. Microscopia de luz polarizada. Na sequência: sistema 1 (A), sistema 2 (B), sistema 3 (C), sistema 4 (D), sistema 5 (E) e sistema 6 (F), conforme indicados na tabela 1.



A incorporação de aditivos com polaridades diferentes pode induzir transições de fase devido à alterações no parâmetro de empacotamento crítico resultante da interação dos aditivos com a bicamada lipídica bicontínua curva (Guo *et al.*, 2010; Fong *et al.*, 2012; Pham *et al.*, 2021). O ácido oleico é um ácido graxo livre usado como aditivo lipofílico que se introduz nos domínios apolares do sistema, aumentando o domínio apolar do sistema e resultando em mais uma região de interação com o fármaco (Leekumjorn, 2009; El-Gendy *et al.*, 2020). O propilenoglicol é um aditivo hidrofílico que se distribui nos domínios aquosos favorecendo a partição dos fármacos entre os canais de água e os domínios hidrofóbicos, aumentando a liberação (Shah & Paradkar, 2007; Dante *et al.*, 2018). A combinação de ácido oleico e propilenoglicol no sistema líquido-cristalino resulta em uma competição entre o efeito hidrofóbico do ácido oleico e o efeito hidrofílico do propilenoglicol. O ácido oleico favorece a formação de fase hexagonal e fase cúbica, aumentando o volume da cadeia hidrofóbica e consequentemente o valor do parâmetro de empacotamento crítico. O propilenoglicol favorece a transição para fase lamelar, por aumentar o volume da área do grupo polar e diminuir o parâmetro de empacotamento crítico (Chang & Bodmeier, 1997; Shah & Paradkar, 2007; Milak & Zimmer, 2015; Dante, 2018).

Na figura 6A, o sistema de MO/água com apenas fármaco apresentou-se isotrópico e com aspecto macroscópico característico de fase cúbica (translúcido e consistente) em que é possível observar alguns cristais de curcumina não dissolvidos. Essas características já eram esperadas, pois a fase cúbica é encontrada em sistemas contendo até 40% de água (Lara, Bentley & Collett, 2005). No sistema 2 (fig. 6B), a adição de 1% de ácido oleico ao sistema poderia induzir a uma transição para fase hexagonal por aumentar o volume hidrofóbico do lipídeo, mas não foi suficiente para induzir transformações na mesofase e no gel, que manteve as características de fase cúbica.

Nas figuras 6C e 6D estão representados os sistemas 3 e 4 em que foram adicionados ácido oleico nas concentrações 5 e 10%, respectivamente. A presença do ácido oleico nessas concentrações foi suficiente para aumentar a hidrofobicidade da matriz líquida-cristalina e transformar a mesofase de cúbica para hexagonal. Assim, esses sistemas apresentaram-se anisotrópicos e com aspectos de fase hexagonal. Essa transição ocorre devido ao aumento do volume lipofílico pela adição de ácido oleico, que provoca uma mudança no empacotamento molecular

dos monoglicerídeos e induz a transição da fase cúbica para a hexagonal (Cáboi *et al.* 1997; Rizwan *et al.*, 2009; Dante *et al.*, 2018). El-Gendy (2020) estudou a adição de diferentes promotores de permeação - entre eles o ácido oleico -, em nanopartículas líquido-cristalinas à base de monoleína. De maneira similar, o ácido oleico induziu a formação de fase hexagonal ao sistema que até então era fase cúbica. Em outros trabalhos essa transição de fase cúbica para fase hexagonal provocada pelo ácido oleico também foi observada (Chang & Bodmeier, 1997; Madheswaran *et al.*, 2013; Milak & Zimmer, 2015; Lopes *et al.*, 2006).

Nos sistemas 5 e 6, representados pelas figuras 6E e 6F, foram adicionados tanto o aditivo lipofílico como o propilenoglicol. No sistema 5 em que foi adicionado 5% de ácido oleico e 10% de propilenoglicol, a concentração de propilenoglicol foi o bastante para suprimir o efeito do ácido oleico e resultar na formação da mesofase cúbica. Um sistema idêntico composto de monoleína, água e acrescido de 5% de ácido oleico foi testado por Dante (2018), e também resultou na formação de fase cúbica com aumento na liberação. Entretanto, no sistema 6 em que foi adicionado 5% de ácido oleico e 15% de propilenoglicol, foi observada a formação de uma fase hexagonal muito fluida, provavelmente devido ao excesso de propilenoglicol.

5.2. Validação da metodologia

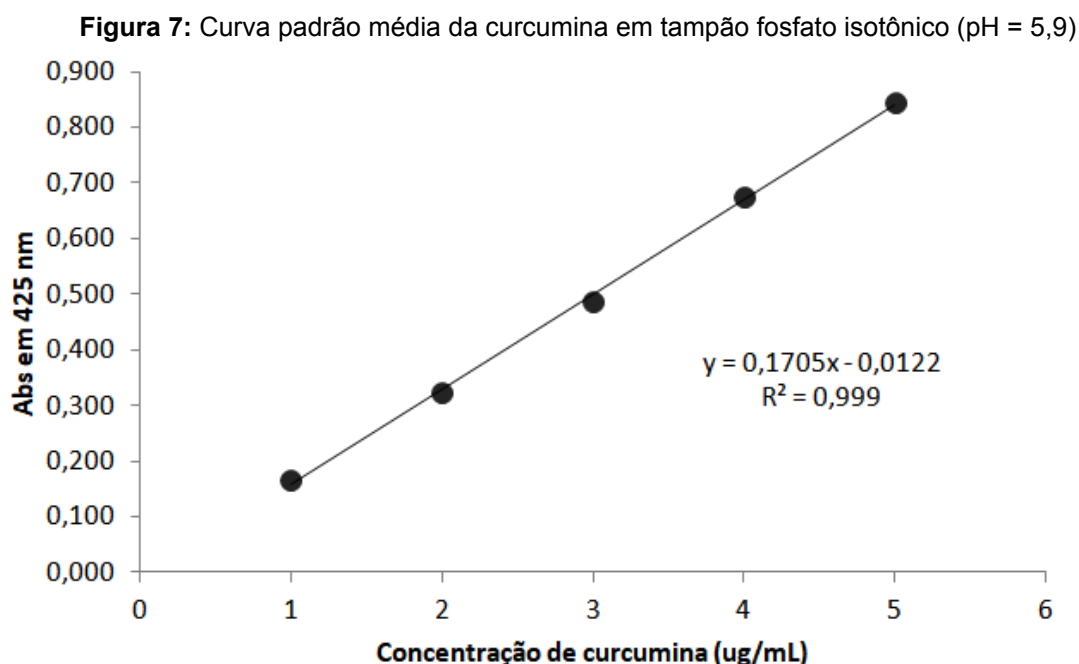
A curva padrão média foi obtida a partir dos dados na tabela abaixo, em que é apresentada a média e desvio padrão da triplicata de leitura no espectrofotômetro UV-VIS ($\lambda = 425 \text{ nm}$) para as concentrações entre 1,0 $\mu\text{g/mL}$ e 5 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 2: Média de valores de absorbância e desvio padrão para curva de calibração da curcumina, liberada em solução receptora contendo tween 20 10%.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância em Tween 20 10%	Desvio Padrão
1	0,167	0,0099
2	0,323	0,0014
3	0,487	0,0114
4	0,675	0,0098
5	0,844	0,0307

Na figura 8, a linearidade do método foi avaliada através de um gráfico obtido por meio de uma curva analítica, que relaciona à concentração de curcumina na matriz com o sinal analítico. O valor mínimo do coeficiente de correlação (R_2) deve

ser 0,990, uma vez que quanto mais próximo de 1 menor é a dispersão dos pontos experimentais. O valor de $R_2 = 0,999$ indica a linearidade do método.



A precisão foi calculada para as concentrações de 1,0 $\mu\text{g/mL}$, 3,0 $\mu\text{g/mL}$ e 5,0 $\mu\text{g/mL}$ apresentando DPR de 5,52; 2,28 e 3,59 respectivamente. A exatidão também foi calculada para as concentrações acima citadas, apresentando os valores de 105,1; 97,7 e 100,4, respectivamente.

O limite de detecção calculado foi de 0,194 $\mu\text{g/mL}$ e o limite de quantificação calculado foi de 0,587 $\mu\text{g/mL}$.

Todos os parâmetros de validação estão dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA, confirmando assim que o método utilizado é reproduzível.

5.3. Estudos de liberação *in vitro* da curcumina

O perfil de liberação de um fármaco a partir de sistemas líquido-cristalinos está relacionado a vários fatores como: a complexidade estrutural das mesofases, partição do fármaco para a fase aquosa, teor inicial de água do sistema, interação entre o fármaco e os componentes da matriz, entre outros (Zabara & Mezzenga, 2014; Guo *et al.*, 2010; Shah & Paradkar, 2007). A liberação de fármacos hidrofílicos depende apenas de sua partição na fase aquosa, enquanto a liberação de fármacos lipofílicos, além de ser controlada pela partição na fase aquosa, também depende da

sua difusão nos canais de água (Boyd, 2003; Clogston & Caffrey, 2005). De maneira geral, a taxa de liberação de qualquer fármaco lipofílico e hidrofílico, é maior na fase cúbica do que na fase hexagonal. Isso é explicado pela maior quantidade de água no sistema cúbico, que resulta na geometria dos domínios hidrofílicos, formados por grandes canais aquosos que constitui a principal via de liberação. Por outro lado, a fase hexagonal é composta por grandes micelas fechadas em forma de bastões, que retardam a liberação do fármaco em maior extensão (Rizwan *et al.*, 2009; Cohen-Avrahami *et al.*, 2014; Madheswaran *et al.* 2013). No entanto, a liberação também é influenciada por outros fatores, como as características intrínsecas do fármaco, que irão definir sua afinidade pelo sistema.

O gráfico a seguir ilustra o perfil de liberação de curcumina de todos os sistemas desenvolvidos neste trabalho.

Figura 8. Perfil de liberação dos sistemas líquido-cristalinos (7:3) de curcumina 0,1% com os desvios padrões.

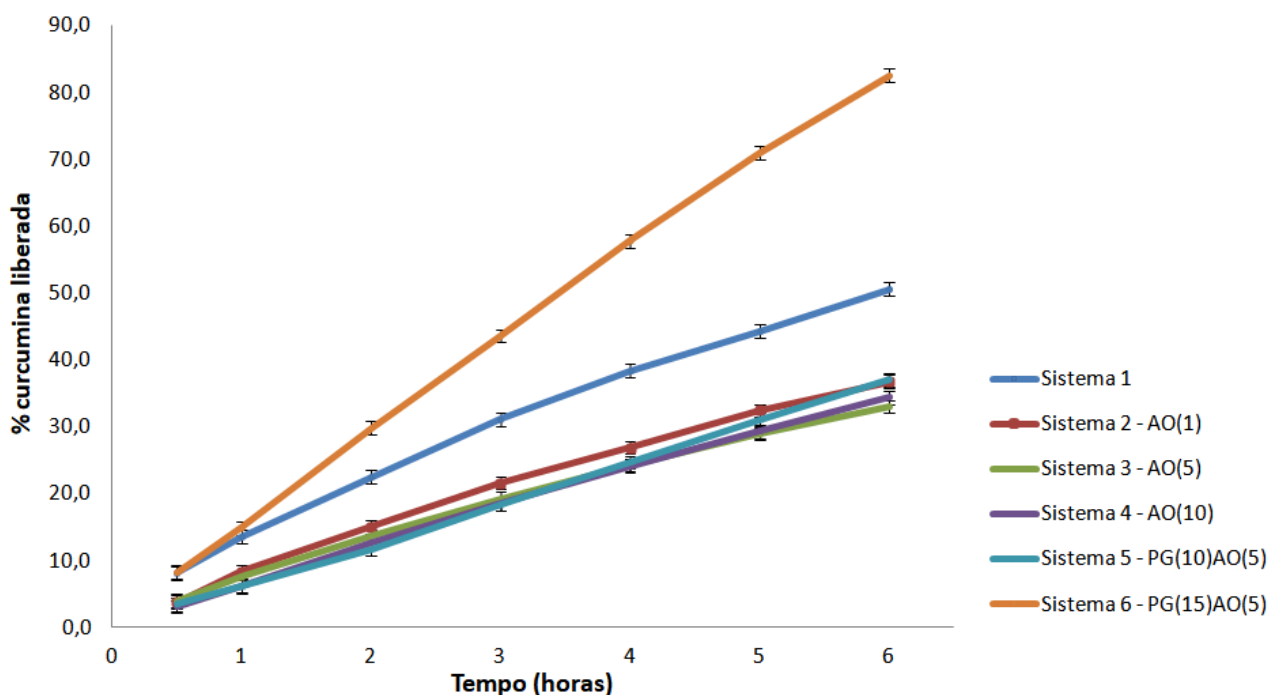


Tabela 3: Quantidade de curcumina liberada (mg) \pm desvio padrão para os sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água

Tempo (h)	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 3
0,5	0,081 \pm 0,012	0,038 \pm 0,011	0,040 \pm 0,006
1	0,135 \pm 0,018	0,083 \pm 0,010	0,075 \pm 0,005
2	0,225 \pm 0,031	0,150 \pm 0,018	0,136 \pm 0,006
3	0,311 \pm 0,043	0,216 \pm 0,023	0,192 \pm 0,006
4	0,384 \pm 0,051	0,269 \pm 0,029	0,242 \pm 0,009
5	0,443 \pm 0,057	0,324 \pm 0,030	0,289 \pm 0,012
6	0,506 \pm 0,061	0,367 \pm 0,033	0,330 \pm 0,015

Tempo (h)	Sistema 4	Sistema 5	Sistema 6
0,5	0,031 \pm 0,003	0,034 \pm 0,004	0,082 \pm 0,005
1	0,062 \pm 0,003	0,061 \pm 0,006	0,148 \pm 0,006
2	0,127 \pm 0,006	0,117 \pm 0,016	0,298 \pm 0,022
3	0,185 \pm 0,009	0,184 \pm 0,021	0,436 \pm 0,038
4	0,241 \pm 0,007	0,247 \pm 0,021	0,578 \pm 0,057
5	0,293 \pm 0,003	0,310 \pm 0,025	0,709 \pm 0,068
6	0,344 \pm 0,003	0,370 \pm 0,027	0,825 \pm 0,078

No sistema 1 com apenas 0,1% curcumina, a mesofase resultante foi a cúbica e após 6 horas no dissolutor a porcentagem de liberação foi de 50,6%. O sistema 2 com 1% de ácido oleico, resultou em uma liberação máxima de 37% em que a fase cúbica foi mantida. A redução na porcentagem de liberação de curcumina da matriz pode ter ocorrido devido ao efeito retentor do ácido oleico que ao ser incorporado, expandiu os domínios hidrofóbicos do sistema e diminuiu a partição do fármaco para a fase aquosa, uma vez que constitui mais um local hidrofóbico de interação para a curcumina.

A liberação dos sistemas 3 e 4 levou a uma transição para a fase hexagonal em ambos, que diminuiu a liberação para 33 e 34,4%, respectivamente. Nesses sistemas, o ácido oleico está em concentrações adequadas para diminuir a liberação tanto por induzir transições para a fase hexagonal quanto por reter o fármaco nos domínios apolares expandidos. De fato, a taxa de liberação de fármacos é maior na fase cúbica do que na fase hexagonal devido aos canais de água que interpenetram a matriz de cristal líquido até o exterior. Na fase hexagonal, as micelas em forma de bastão retardam a liberação do fármaco em maior proporção do que na fase cúbica.

No sistema 5 contendo 5% de ácido oleico e 10% de propilenoglicol a porcentagem de liberação foi de 37% com transição para a fase cúbica. Esses

resultados estão de acordo com o esperado, pois o propilenoglicol parece interferir no balanço de forças do sistema favorecendo a formação de cristais líquidos com menor parâmetro de empacotamento, como a fase cúbica, aumentando a liberação devido à sua partição com os canais aquosos (Dante *et al*, 2018). O ligeiro aumento na liberação do sistema 5 também pode estar relacionado com a partição de curcumina favorecida pelo propilenoglicol. No trabalho de Madheswaran (2013), o propilenoglicol também aumentou a liberação de finasterida de nanopartículas à base de monoleína. Peng (2010) também relatou resultados similares em que o propilenoglicol incorporado ao seu sistema à base de monoleína aumentou a taxa de liberação.

Por fim, o sistema 6 contendo 5% de ácido e 15% de propilenoglicol resultou em uma porcentagem de liberação de 82% com transição para uma fase hexagonal pouco viscosa, o que representou uma limitação técnica em nosso trabalho devido a impossibilidade de moldar a amostra de gel líquido cristalino. Dessa maneira, a hipótese é de que grande parte da matriz líquido-cristalina pode ter sido desintegrada na solução receptora e assim, devido a fragilidade desse sistema, não o consideramos promissor para a administração de curcumina.

Esses resultados mostram que a incorporação do ácido oleico aos sistemas, em geral, diminuiu a porcentagem de liberação de curcumina quando comparado ao sistema 1 (contendo apenas fármaco). De fato, o aumento no teor de lipídeos em um sistema líquido cristalino pode diminuir a quantidade de fármaco lipossolúvel liberado uma vez que compostos apolares dissolvem-se no domínio lipídico da estrutura cristalina líquida e aumentam o volume aparente da cadeia hidrofóbica do lipídeo, o que por sua vez, aumenta o parâmetro de empacotamento (Kazi *et al.*, 2019). Além disso, nossos resultados sugerem que a presença do ácido oleico e do propilenoglicol afeta a formação das mesofases líquido-cristalinas de maneira dependente da concentração. Resultados semelhantes foram demonstrados por Dante *et al.*, (2018) que estudou a associação desses aditivos em sistemas de monoleína e água.

5. 4. Avaliação da cinética de liberação

Os dados apresentados na figura 8 foram submetidos a modelos matemáticos para avaliação da cinética de liberação e graficamente foram obtidos valores de coeficiente de correlação linear. Inicialmente, os dados foram submetidos ao modelo

de Higuchi, de ordem zero e de primeira ordem. Sistemas líquido-cristalinos de monoleína e água geralmente apresentam cinética segundo modelo de Higuchi, em que a difusão do medicamento através da matriz é linear em função da raiz quadrada do tempo e, portanto, segue a cinética controlada por difusão de Higuchi. No entanto, a cinética de ordem zero também pode ser observada para alguns fármacos dependendo de sua solubilidade (Geraghty *et al.*, 1996; Guo *et al.*, 2010; Zabara & Mezzenga, 2014).

Na tabela 3, estão relacionados os sistemas líquido-cristalinos com as mesofases formadas e os respectivos valores de coeficiente de correlação linear. É possível observar que embora a maioria dos sistemas apresentem alguma linearidade com a cinética de difusão de Higuchi ($R_2 > 0,990$), todos eles possuem valores de coeficiente de correlação próximos ao modelo de ordem zero e de 1ª ordem, exigindo a aplicação de outros modelos matemáticos capazes de diferenciar as cinéticas de liberação.

Tabela 4: Valores de coeficiente de correlação linear obtidos graficamente para avaliação da cinética de liberação segundo o modelo de higuchi, de ordem zero e cinética de 1ª ordem.

Sistemas	Mesofase formada	R^2		
		Ordem Zero	Modelo de Higuchi (difusão)	1ª ordem
1	cúbica	0,9912	0,9957	0,9996
2	cúbica	0,9921	0,9954	0,9989
3	hexagonal	0,9942	0,9937	0,9993
4	hexagonal	0,9980	0,9880	0,9990
5	cúbica	0,9994	0,9713	0,9948
6	hexagonal	0,9989	0,9835	0,9627

Figura 9. Gráfico para avaliação da cinética de liberação dos sistemas líquido-cristalinos segundo o modelo de ordem zero

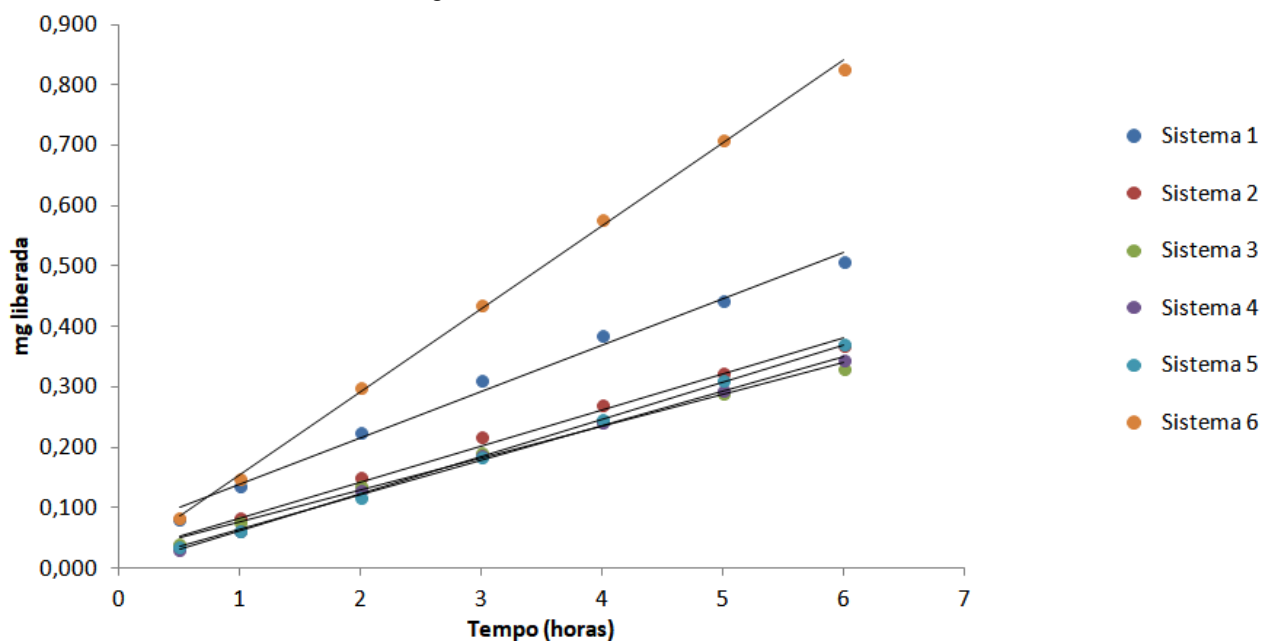


Figura 10. Gráfico para avaliação da cinética de liberação dos sistemas líquido-cristalinos segundo o modelo de Higuchi.

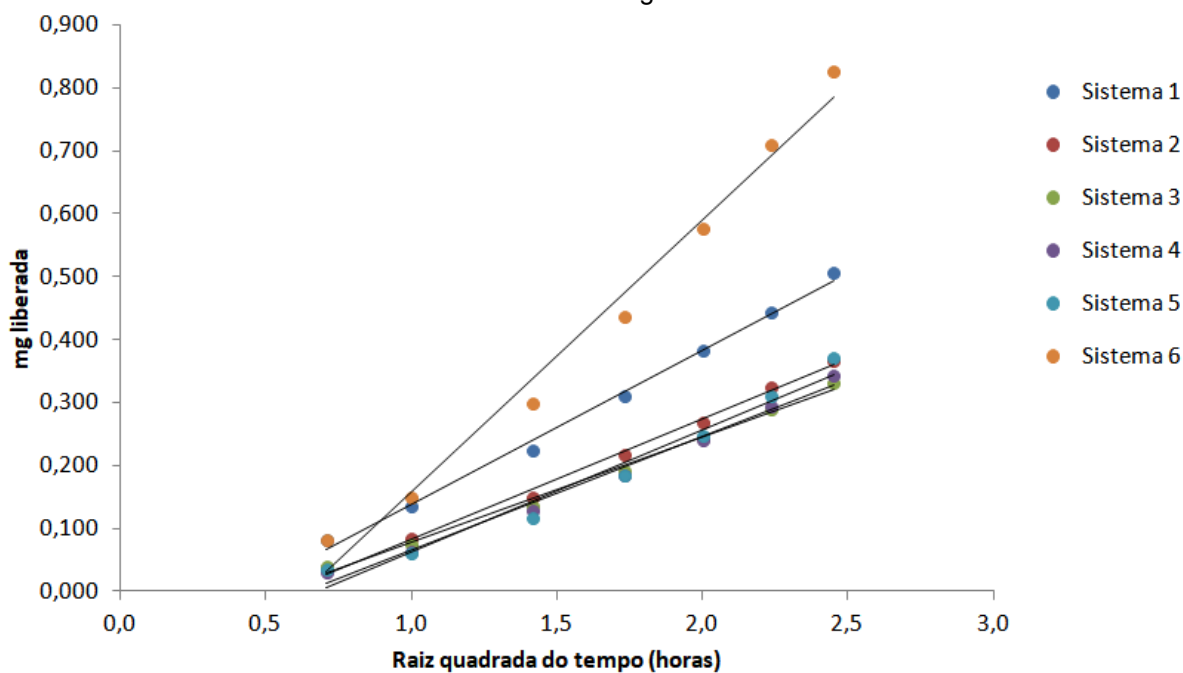
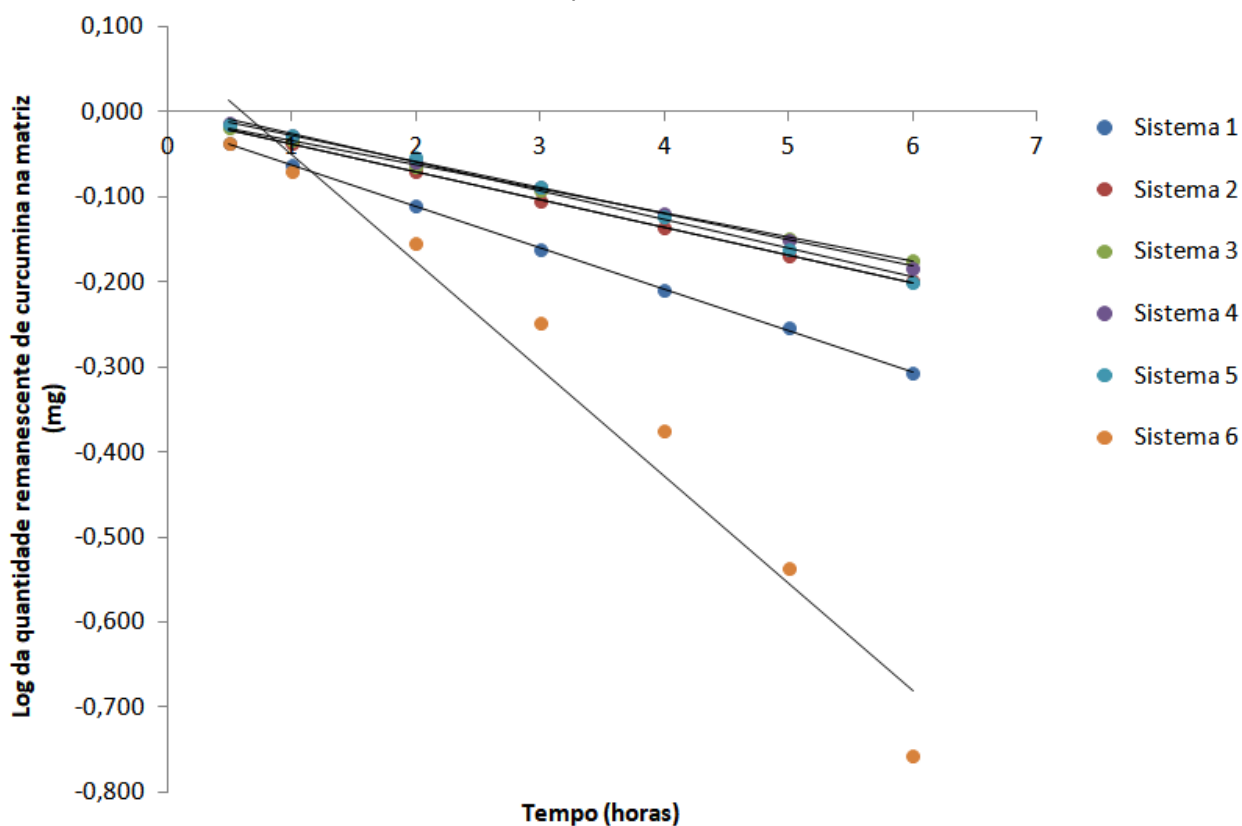


Figura 11. Gráfico para avaliação da cinética de liberação dos sistemas líquido-cristalinos segundo a cinética de primeira ordem.



Assim, os resultados da cinética de liberação exigiram a aplicação do modelo de Schwartz, em que é possível distinguir entre os modelos de Higuchi e de 1ª ordem.

Tabela 5: Valores de coeficiente de correlação linear obtidos graficamente para avaliação da cinética de liberação segundo o modelo de Schwartz.

Sistemas	Modelo de Schwartz	
	R ² 1ª ordem	R ² Difusão
1	0,9047	0,9738
2	0,8674	0,3827
3	0,9784	0,8476
4	0,7422	0,2123
5	0,1038	0,5647
6	0,7336	0,8869

Figura 12. Gráfico da razão de liberação em função da quantidade de fármaco liberada (Q) para avaliação da cinética de liberação dos sistemas líquido-cristalinos segundo o modelo de Schwartz.

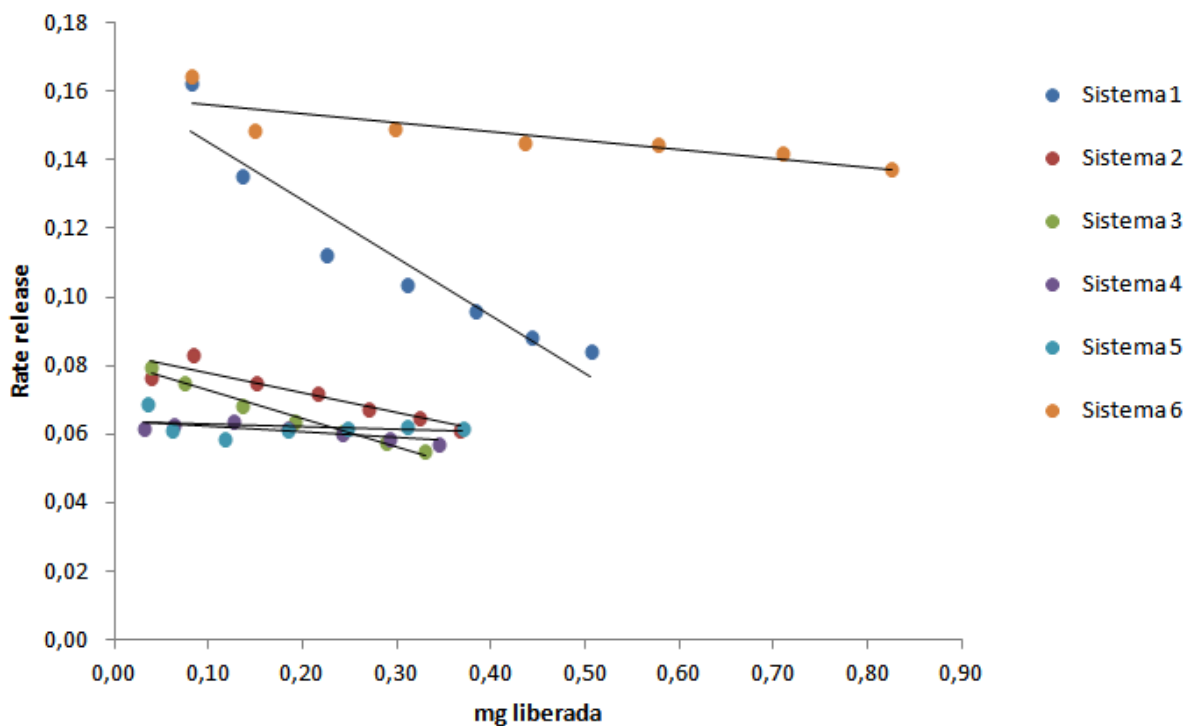
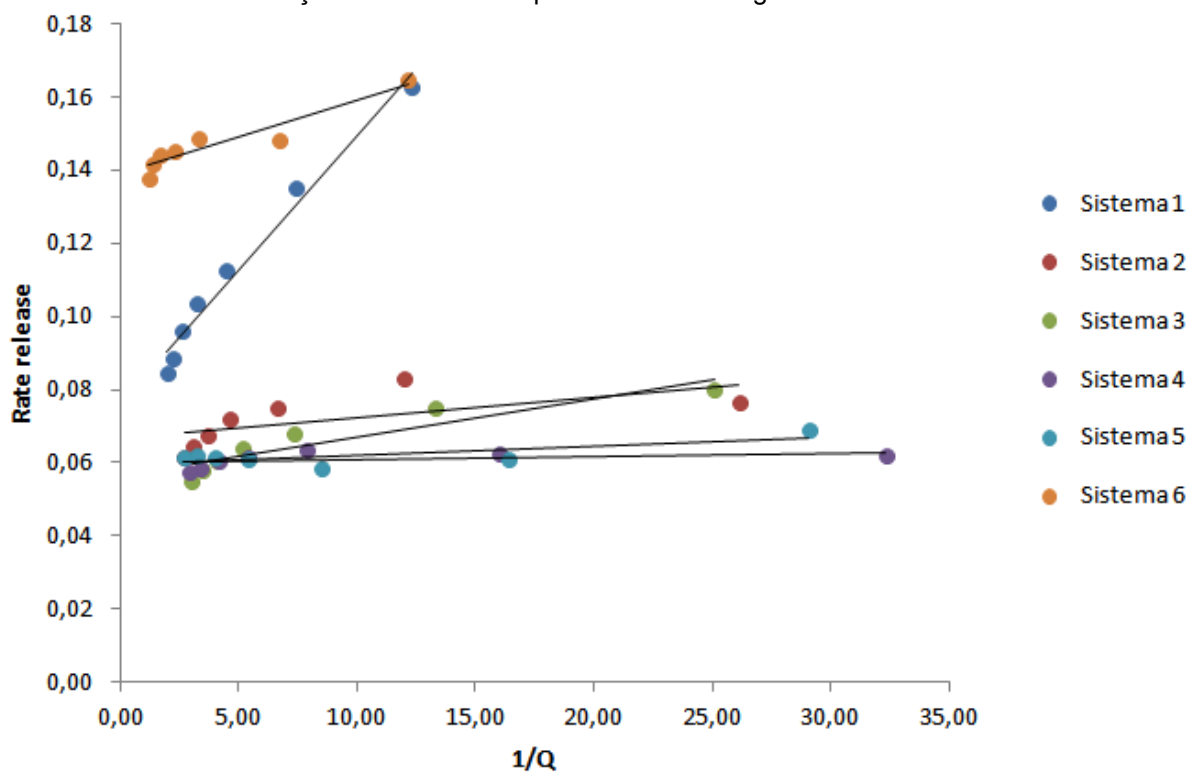


Figura 13. Gráfico da razão de liberação como função do recíproco de Q para avaliação da cinética de liberação dos sistemas líquido-cristalinos segundo o modelo de Schwartz.



Os sistemas 1 e 6 seguem a cinética controlada por difusão, em que a taxa de liberação do fármaco é controlada pela difusão das moléculas através do sistema, ou seja, o fármaco deve se difundir pela matriz para o meio exterior e por isso a difusão diminui com o tempo. Este resultado está de acordo com a literatura científica que descreve a maioria dos sistemas líquido-cristalinos como sendo governado pelo modelo de Higuchi.

Os sistemas 2, 3 e 4 seguem a cinética de 1ª ordem em que a concentração do fármaco influencia no perfil de liberação quando a concentração do fármaco na matriz é inferior à sua concentração de saturação. O sistema 5 apresentou valores de coeficiente de correlação linear obtidos através do modelo de Schwartz que não indica ajuste com nenhuma cinética e, assim, os dados são inconclusivos para determinar o mecanismo de liberação.

6. CONCLUSÃO

Analisando os resultados dos ensaios de liberação *in vitro* e as cinéticas de liberação é possível concluir que a presença de aditivos afeta expressivamente o perfil de liberação da curcumina dos sistemas líquido-cristalinos. A adição de concentrações crescentes de ácido oleico aos sistemas reduz a quantidade de curcumina liberada e induz transição para fase hexagonal. O sistema líquido-cristalino 1 (sem aditivos) resultou em uma matriz de fase cúbica que após 6 horas liberou 50,6%; mostrando que é viável para a veiculação de curcumina. O propilenoglicol adicionado ao sistema 5 juntamente com ácido oleico aumentou discretamente a liberação. No sistema 6 em que foi adicionado 15% de propilenoglicol, a porcentagem de liberação máxima foi de 82%; provavelmente devido ao efeito solubilizante do propilenoglicol. No entanto, a matriz líquido-cristalina desse sistema pode ter se dissolvido no meio e assim, esse sistema não se mostrou promissor para a administração de curcumina. A cinética de liberação feita a partir dos modelos de Higuchi, de ordem zero e de 1ª ordem não foi capaz de distinguir entre os modelos de Higuchi e de 1ª ordem. Para isso, os dados foram aplicados segundo o modelo de Schwartz para análise da maior linearidade. Os sistemas 1 e 6 demonstraram seguir uma cinética governada pela difusão, enquanto os sistemas 2, 3 e 4 seguem a cinética de 1ª ordem.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Ministério da Saúde). **Resolução nº 166, de 24 de julho de 2017**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, seção 1, p. 87, 2017.

Ak, T.; Gülçin, I. **Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin**. Chemico-Biological Interactions, v. 174, n. 1, p. 27-37, 2008.

Apaydin, F.G.; Aslanturk, A.; Uzunhisarcikli, M.; Bas, H.; Kalender, S.; Kalender, Y. **Histopathological and biochemical studies on the effect of curcumin and taurine against bisphenol A toxicity in male rats**. Environ Sci Pollut Res, v. 26, p. 12302–12310, 2019.

Alfons K. & Engström S. **Drug compatibility with the sponge phases formed in monoolein, water, and propylene glycol or poly(ethylene glycol)**. J Pharm Sci. v. 87, n. 12, p. 1527-1530, 1998.

Bala, R.; Sindhu, R. K.; Kaundle, B.; Madaan, R.; Cavalu, S. **The prospective of liquid crystals in nano formulations for drug delivery systems**. Journal of Molecular Structure, v. 1245, e131117, 2021.

Boyd, B. J. **Characterisation of drug release from cubosomes using the pressure ultrafiltration method**. International Journal of Pharmaceutics, v. 260, p. 239-247, 2003.

Caboi, F.; Nylander, T.; Razumas, V.; Talaikytė, Z.; Monduzzi, M.; Larsson, K. **Structural Effects, Mobility, and Redox Behavior of Vitamin K1 Hosted in the Monoolein/Water Liquid Crystalline Phases**. ACS Publications, v. 13, n. 20, p. 5476-5483, 1997

Caboi, F.; Amico, G. S.; Pitzalis P.; Monduzzi, M.; Nylander, T.; Larsson, K. **Addition of hydrophilic and lipophilic compounds of biological relevance to the monoolein/water system. Phase behavior**, Chemistry and Physics of Lipids, vol.109, no. 1, 2001, pp. 47-62.

Chang, C. M.; Bodmeier, R. **Effect of dissolution media and additives on the drug release from cubic phase delivery systems**. J Controlled Release, v. 46, n. p. 215-222, 1997.

Chang, C. M.; Bodmeier, R. **Binding of drugs to monoglyceride-bases drug delivery system**. Int. J. Pharm, v. 147, p. 135-142, 1997.

Chandran, B.; Goel, A. **A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis**. Phytother. Res., v. 26, p. 1719-1725, 2012.

Clogston, J.; Caffrey, M. **Controlling release from the lipidic cubic phase. Amino acids, peptides, proteins and nucleic acids.** *Journal of Controlled Release*, v. 107, p. 97-111, 2005.

Coelho, M. R.; Romi, M. D.; Ferreira, D. M. T. P.; Zaltman, C.; Mota, M. S. **The Use of Curcumin as a Complementary Therapy in Ulcerative Colitis: A Systematic Review of Randomized Controlled Clinical Trials.** *Nutrients*, v. 12, n. 8, p. 2296, 2020.

Cohen-Avrahami, M.; Shames, A. I.; Ottaviani, M. F.; Aserin, A.; Garti, N. **On the correlation between the structure of lyotropic carriers and the delivery profiles of two common NSAIDs.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 122, p. 231-240, 2014.

Dante, M. C. L.; Borgheti-Cardoso, L. N.; Fantini, M. C. A.; Praça, F. S. G.; Medina, W. S. G.; Pierre, M. B. R.; Lara, M. G. **Liquid Crystalline Systems Based on Glyceryl Monooleate and Penetration Enhancers for Skin Delivery of Celecoxib: Characterization, *In Vitro* Drug Release, and *In Vivo* Studies.** *J Pharm Sci*, v. 107, n. 3, p. 870-878, 2018.

El-Gendy, M. A.; Mansour, M.; El-Assal, M. I. A.; Ishak, R. A. H.; Mortada, N. D. **Delineating penetration enhancer-enriched liquid crystalline nanostructures as novel platforms for improved ophthalmic delivery.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 582, p. 119313, 2020.

Esposito, E.; Carducci, F.; Mariani, P.; Huang, N.; Simelière, F.; Cortesi, R.; Romeo, G.; Puglia, C. **Monoolein liquid crystalline phases for topical delivery of crocetin.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 171, p. 67-74, 2018.

Fernández, G. B.; Fernández, B. B.; Ferreiro, A. F.; Otero-Espinar, F. J. **Lipidic lyotropic liquid crystals: Insights on biomedical applications.** *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 313, p. 102867, 2023.

Fernández, G. B.; Fernández, B. B.; Ferreiro, A. F.; Otero-Espinar, F. J. **Bringing lipidic lyotropic liquid crystal technology into biomedicine.** *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 44, n. 1, p. 7-10, 2023.

Fong, C.; Le, T.; Drummond, C. J.. **Lyotropic liquid crystal engineering-ordered nanostructured small molecule amphiphile self-assembly materials by design.** *Chem. Soc. Rev.*, v. 41, p. 1297-1322, 2012

Geraghty, P. B.; Attwood, D.; Collett, J. H.; Dandiker, Y. **The *in vitro* release of some muscarinic drugs from monoolein/water lyotropic crystalline gels.** *Pharm Res*, v. 13, p. 1265-1271, 1996.

Grabovac, V.; Guggi, D.; Bernkop-Schnurch, A. **Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers.** *Adv Drug Deliv Rev*, v. 57, n. 11, p. 1713-1723, 2005.

Gitte, M.; Gomte, S. S.; Agnihotri, T. G.; Singh, N.; Jain, A. **Development of amoxicillin Trihydrate-Loaded lyotropic liquid crystal nanoparticles for skin infection,** v. 374, p. 121281, 2023.

Guo, C.; Wang, J.; Cao, F.; Lee, R. J.; Zhai, G. **Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery.** *Drug Discovery Today*, v. 15, n. 23/24, p. 1032-1040, 2010.

Guzmán, J. M.; Caro, C. M. A.; Esquivias, F. M.; Espinoza, M. A. I.; La Torre, L. F. **Molecular mechanism of curcumin on periodontitis: A pharmacological network study.** *Journal of Oral Biosciences*. Disponível on-line: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007923001202>. Acesso em: 5 de setembro de 2023.

Huang, J.; Peng, T.; Zhan, Z.; Zeng, Y.; Huang, Y.; Xin, P.; Wu, C. Y.; Wu, C. **Ocular Cubosome Drug Delivery System for Timolol Maleate: Preparation, Characterization, Cytotoxicity, Ex Vivo, and In Vivo Evaluation.** *AAPS PharmSciTech*, v. 18, p. 2919-2926, 2017.

Lane, M. E. **Skin penetration enhancers.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 447, n. 1/2, p. 12-21, 2013.

Lara, M.G.; Bentley, M.V.; Collett, J.H. **In vitro drug release mechanism and drug loading studies of cubic phase gels.** *International journal of pharmaceutics*, v. 293, p. 241-50, 2005.

Lee, J.; Young, S. A.; Kellaway, I. W. **Water quantitatively induces the mucoadhesion of liquid crystalline phases of glyceryl monooleate.** *J Pharm Pharmacol*, v. 53, n. 5, p. 629-636, 2001.

Liu, Q; Loo, W. T. Y.; Sze, S. C. W.; Tong, Y. **Curcumin inhibits cell proliferation of MDA-MB-231 and BT-483 breast cancer cells mediated by down-regulation of NFkappaB, cyclinD and MMP-1 transcription.** *Phytomedicine*, v. 16, n. 10, p. 916-922, 2009.

Leekumjorn, S.; Cho, H. J.; Wu, Y.; Wright, N. T.; Sum, A. K.; Chan, C. **The role of fatty acid unsaturation in minimizing biophysical changes on the structure and local effects of bilayer membranes.** *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, v. 1788, n. 7, p. 1508-1516, 2009.

Lopes, L. B.; Lopes, J. L. C.; Oliveira, D. C. R.; Thomazini, J. A.; Garcia, M. T. J. *et al.* **Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporin A: Characterization and study of in vitro and in vivo delivery.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 63, n. 2, p. 146-155.

Kazi, M.S.; Dehghan, M. H. **Mapping the Impact of a Polar Aprotic Solvent on the Microstructure and Dynamic Phase Transition in Glycerol Monooleate/Oleic Acid Systems.** Turk J Pharm Sci, v. 17, n. 3, p. 307-318, 2019.

Kunnumakkara, A. B.; Bordoloi, D.; Harsha, C.; Banik, K.; Gupta, S. C.; Aggarwal, B. B. **Curcumin mediates anticancer effects by modulating multiple cell signaling pathways.** Clin Sci (Lond), v. 131, n. 15, p. 1781-1799, 2017.

Madheswaran, T.; Baskaran, R.; Thapa, R. K.; Rhyu, J. Y.; Choi, H. Y.; Kim, J. O.; Yong, C. S.; Yoo, B. K. **Design and *In Vitro* Evaluation of Finasteride-Loaded Liquid Crystalline Nanoparticles for Topical Delivery.** AAPS PharmSciTech, v. 14, p. 45-52, 2013.

Madheswaran, T.; Kandasamy, M.; Bose, R. J. C.; Karuppagounder, V. **Current potential and challenges in the advances of liquid crystalline nanoparticles as drug delivery systems.** Drug Discovery Today, v. 24, n. 7, p. 1405-1412, 2019.

Masoodi, M.; Mahdiabadi, M. A.; Mokhtare, M.; Agah, S.; Kashani, A. H. F.; Rezadoost, A. M.; Sabzikarian, M.; Talebi, A. **The efficacy of curcuminoids in improvement of ulcerative colitis symptoms and patients' self-reported well-being: A randomized double-blind controlled trial.** Journal of Cellular Biochemistry, v. 119, n. 11, p. 9552-9559, 2018.

Milak, S.; Zimmer, A. **Glycerol monooleate liquid crystalline phases used in drug delivery systems.** Int J Pharm, v. 478, n. 2, p. 569-587, 2015.

Pham, A. C.; Clulow, A. J.; Boyd, B. J. **Formation of Self-Assembled Mesophases During Lipid Digestion.** Front. Cell Dev. Biol., v. 9, p. 1-17, 2021.

Rizwan, S. B., Hanley, T., Boyd, B. J., Rades, T., & Hook, S. **Liquid crystalline systems of phytantriol and glyceryl monooleate containing a hydrophilic protein: Characterisation, swelling and release kinetics.** Journal of pharmaceutical sciences, v. 98, n. 11, p. 4191-4204, 2009.

Rüya, A.; Bahadori, F.; Kizilcay, G. R.; Kizilcay, G. E.; Ide, S.; Gürsel, Y. **Preparation and characterization of glyceryl dibehenate and glyceryl monostearate-based lyotropic liquid crystal nanoparticles as carriers for hydrophobic drugs.** Journal of Drug Delivery Science and Technology, v. 87, p. 104821, 2023.

Peng, X.; Wen, X.; Pan, X.; Wang, R.; Chen, B.; Wu, C. **Design and *In Vitro* Evaluation of Capsaicin Transdermal Controlled Release Cubic Phase Gels.** AAPS PharmSciTech, v. 11, n. 3, p. 1405-1410, 2010.

Sallam, A.; Khalil, E.; Ibrahim, H.; Freij, I. **Formulation of an oral dosage form utilizing the properties of cubic liquid crystalline phases of glyceryl monooleate.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 53, no. 3, 2002, pp. 343-352.

Serra, C. H. R. **Avaliação biofarmacotécnica de comprimidos contendo furosemida: cinética de dissolução e bioequivalência.** Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 206 p., 1998.

Shah, J. C.; Sadhale, Y.; Chilukuri, D. M. **Cubic phase gels as drug delivery systems.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 47, n. 2-3, p. 229-250, 2001.

Shah; M. H.; Paradkar, A. **Effect of HLB of additives on the properties and drug release from the glyceryl monooleate matrices.** *Eur J Pharm Biopharm*, v. 67, p. 166- 174, 2007.

Schwartz, J. B.; Simonelli, A. P.; Higuchi, W. I. **Drug release from wax matrices. I. Analysis of data with first-order kinetics and with the diffusion-controlled model.** *J. Pharm. Sci.*, v. 57, p. 274-277, 1968

Silvestrini, A. V. P.; Debiasi, B. W.; Praça, F. G.; Bentley, M. V. L. B. **Progress and challenges of lyotropic liquid crystalline nanoparticles for innovative therapies.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 628, e122299, 2022.

Sreedhar, R.; Arumugam, S.; Thandavarayan, R. A.; Karuppagounder, V.; Watanabe, K. **Curcumin as a therapeutic agent in the chemoprevention of inflammatory bowel disease.** *Drug Discovery Today*, v. 21, n. 5, p. 843-849, 2016.

Teiten, M. H.; Gaascht, F.; Eifes, S.; Dicato, M.; Diederich, M. **Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer.** *Genes Nutr*, v. 5, n. 1, p. 61-74, 2009.

Tomeh, A.; Hadianamrei, R.; Zhao, X. **A Review of Curcumin and Its Derivatives as Anticancer Agents.** *Int J Mol Sci*, v. 20, n. 5, e1033, 2019.

Turchiello, R. F.; Vena, F. C.; Maillard, P.; Souza, C. S.; Bentley, M. V.; Tedesco, A.C. **Cubic phase gel as a drug delivery system for topical application of 5- ALA, its ester derivatives and m-THPC in photodynamic therapy (PDT).** *J. Photochem. Photobiol B*, v. 70, n.1, p.1-6, 2003.

Tyagi, P.; Singh, M.; Kumari, H.; Kumari, A.; Mukhopadhyay, K. **Bactericidal Activity of Curcumin I Is Associated with Damaging of Bacterial Membrane.** *PLoS One*, v. 10, n. 3, e0121313, 2015.

Vaughn, A. R.; Haas, K. N.; Burney, W.; Andersen, E.; Clark, A. K.; Crawford, R.; Sivamani, R. K. **Potential Role of Curcumin Against Biofilm-Producing Organisms on the Skin: A Review.** *Phytotherapy Research*, v. 31, n. 12, p. 1807-1816, 2017.

Zheng, B. & McClements, D.J. **Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability.** *Molecules*, v. 25, n. 12, p. 2791, 2020.

Zhou, H.; Beevers, C. S.; Huang, S. **Targets of curcumin.** *Curr Drug Targets*, v. 12, n. 3, p. 332-347, 2011.

Wang, X.; Zhang, Y.; Gui, S.; Huang, J.; Cao, J.; Li, Z. *et al.* **Characterization of lipid-based lyotropic liquid crystal and effects of guest molecules on its microstructure: a systematic review.** *AAPS Pharm Sci Tech*, v. 19, n. 5, p. 2023-2040, 2018.

Zabara, A.; Mezzenga, R. **Controlling molecular transport and sustained drug release in lipid-based liquid crystalline mesophases.** *Journal of Controlled Release*, v. 188, p. 31-43, 2014.

Zeng, Z.; Deng, S.; Liu, Y.; Li, C.; Fang, Z.; Hu, B.; Chen, H.; Wang, C.; Chen, S.; Wu, W.; Liu, Y. **Targeting transportation of curcumin by soybean lipophilic protein nano emulsion: Improving its bioaccessibility and regulating intestinal microorganisms in mice.** *Food Hydrocolloids*, v. 142, p. 108781, 2023.