# UNIVERSIDADE DE SOROCABA PRÓ-REITORIA ACADÊMICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Juliana Ferreira de Souza

# DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS, LIOTRÓPICAS, PARA VEICULAÇÃO E LIBERAÇÃO DE CURCUMINA

Sorocaba/SP 2017 Juliana Ferreira de Souza

# DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS, LIOTRÓPICAS, PARA VEICULAÇÃO E LIBERAÇÃO DE CURCUMINA

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud.

### Ficha Catalográfica

S715d líqu Juli	Souza, Juliana Ferreira de Desenvolvimento e avaliação de nanopartículas cristalinas iidas, liotrópicas, para veiculação e liberação de curcumina / ana Ferreira de Souza. – 2017. 149 f. : il.
Uni	Orientador: Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – versidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2017.
Chaud, Título.	<ol> <li>Nanopartículas. 2. Nanotecnologia. 3. Cúrcuma. 4. Medicamentos – Formas farmacêuticas. 5. Farmacologia. I.</li> <li>Marco Vinícius, orient. II. Universidade de Sorocaba. III.</li> </ol>

### Juliana Ferreira de Souza

# DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS, LIOTRÓPICAS, PARA VEICULAÇÃO E LIBERAÇÃO DE CURCUMINA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba.

Aprovado em:

### BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud Universidade de Sorocaba

Prota Dra Denise Grotto

Prota Dra Denise Grotto Universidade de Sorocaba

Reporter a

Profa Dra. Moema Hausen Pontificia Universidade Católica

Sorocaba/SP 2017

#### AGRADECIMENTOS

É com grande satisfação e alegria que dedico este espaço, para todos que foram importantes e contribuíram para a concretização deste trabalho. Desta forma, escrevo meu sincero e especial agradecimento.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela vida e por me surpreender a cada dia, me mostrar que sou capaz e mais forte além do que eu poderia imaginar.

Quero agradecer imensamente ao meu pais, Renê Tadeu Ferreira de Souza e Janete Thomé Ferreira de Souza, sem vocês eu nada seria, vocês são as razões da minha vida, força, inspiração, luz e guia do meu caminho. Obrigada pelo apoio, por não medirem esforços para me ajudar, por serem meu exemplo de vida, amor, esperança e por nunca terem deixado que eu desistisse dos meus sonhos. Amo vocês!!!!!

Às minhas irmãs, Liliane e Mariana, vocês são mais que irmãs, são anjos especiais, amigas, conselheiras e parceiras para toda hora. Agradeço muito por tudo e por sempre estarem ao meu lado, me motivando nesta etapa. Vocês são demais. Amo vocês!!!!!

À minha linda sobrinha Maria Eduarda, gostaria de te agradecer por ser essa menina doce e amorosa, que nos enche a cada dia de alegria e esperança. Amo ser a Tia Ju. Obrigada Dudinha!

Aos meus cunhados, Raphael por desde os primórdios (rs) estar me apoiando, ajudando e incentivando. Saiba que você é muito importante! E Alis por me incentivar, apoiar e sempre poder contar. Agradeço a vocês por tudo!

Quero agradecer toda a minha família, tios, tias, primos, primas, avô e avó que sempre estiveram na torcida para que tudo desse certo. Amo vocês!!!!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud, agradeço por me orientar, acreditar em meu potencial e capacidade. Obrigada pela orientação, dedicação e carinho desde a graduação. Agradeço por sua sabedoria, ensinamentos, disponibilidade, paciência e acima de tudo sua persistência, pois sem ela esse trabalho não seria possível. Muito obrigada!

À minha amiga Marina Gusmão Marum, que compartilhou das minhas apreensões, preocupações e alegrias. Que mesmo longe (muito longe rs), continuou sempre me apoiando e mandando vibrações positivas. Obrigada Ma por todos esses anos de amizade!

À minha amiga Ana Léia Oliveira Souza, que cansou de ouvir minhas inseguranças, meus medos e minhas felicidades quando meus resultados davam certo, e por isso, fez parte de todo processo, para que no fim tudo desse certo! Obrigada Ana por sua amizade!

À minha amiga, Katiusca da Silva Pontes, que esteve presente em todo o processo e que compartilhou comigo o amor pelos Cristais Líquidos! Saiba que foi muito bom poder contar com seu apoio, atenção, companhia e parceria neste processo. Foi demais nossas conversas e aventuras em busca do CL, nossas conversar e quero agradecer por tudo e por sempre se dispor a me ajudar! Obrigada Ka!

À minha amiga, Thais Francine Ribeiro Alves, que esteve sempre presente, oferecendo apoio, atenção e companhia. Agradeço por você compartilhar suas experiências, sempre me salvar quando eu mais precisava. Obrigada Tha por tudo e por sempre estar disposta a me ajudar!

Agradeço ao grupo de pesquisa do LaBNUS: Katiusca, Thais, Venâncio, Denicezar, Cecília, Ana Carolina, Márcia e Mirella. Obrigada pela amizade construída nesses anos, e foi muito bom saber que eu podia contar com vocês!

À minha Professora e amiga Solange Saliba, obrigada por sempre estar torcendo por mim. Thank you!

Ao Denicezar e Venâncio, pelas histórias, conversas e companhia no laboratório. Obrigada!

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e a Profa. Dra. Moema Hausen pela disponibilidade e contribuição na caracterização morfológica dos cristais líquidos.

À Pontifícia Universidade Católica (PUC), Prof. Dr. Daniel Komatsu e a Silvia Mara de Melo Cattani pela colaboração durante a avaliação morfológica dos cristais líquidos.

À Universidade de Sorocaba (UNISO) pela recepção e suporte desde a graduação e também por tornar possível a realização do mestrado.

À empresa Kerry do Brasil por gentilmente ter cedido a monoleína.

À Capes pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

"Quando tudo nos parece dar errado, Acontecem coisas boas, Que não teriam acontecido, Se tudo tivesse dado certo."

(Renato Russo)

#### RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas (NCLL) são nanoestruturas biomiméticas, com fase intermediária entre o sólido cristalino e o líquido isotrópico (ordenada e não-ordenada). As NCLL apresentam diferentes arquiteturas formadas pela auto-organização de lipídios em meio aquoso e morfologicamente apresentam estruturas lamelar (cruz de malta), cúbica ou hexagonal. Os sistemas emulsionados precursores de NCLL favorecem a veiculação e liberação de fármacos lipofílicos, anfifílicos e hidrofílicos. A curcumina (CUR) é um composto fitoquímico e polifenólico, e tem propriedades físico-químicas com potencial terapêutico. OBJETIVO: Desenvolver e avaliar sistemas emulsionados precursores de NCLL para veiculação e liberação de CUR. MÉTODOS: Neste estudo, o lipídio utilizado foi a monoleína (Myverol18-92K), como surfactantes e os hidrótropos foram monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>), monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>), lauril sulfato de sódio (LSS) e poloxamer 407 (P407), e CUR como fármaco modelo. As NCLL foram preparadas pela mistura de monoleína, surfactantes ou hidrótropos e água, mantidas em agitação e com controle de temperatura. A CUR foi adicionada nas formulações previamente selecionadas e dispersa nos sistemas emulsionados precursores de NCLL. As formulações foram avaliadas quanto avaliação macroscópica, ensaio de centrifugação (EC), ensaio de variação térmica (EVT), potencial zeta (PZ), diâmetro de partículas (DP), índice de polidispersidade (IPD), potencial hidrogeniônico (pH), microscopia de luz polarizada (MLP), microscopia confocal a laser (MCL), condutividade iônica (CIFT), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), propriedades mecânicas (dureza, compressibilidade, adesividade, coesividade e mucoadesão), teor da CUR e perfil de dissolução e liberação da CUR. RESULTADOS: Os sistemas emulsionados precursores de NCLL foram obtidos por diferentes técnicas de preparação com variação da adição da água, temperatura e agitação, as quais, foram importantes para seleção das formulações e das melhores condições experimentais para NCLL. Após avaliação da estabilidade físico-química e caracterização estrutural as melhores formulações selecionadas foram: F1A50°C, F6, DFA-F6, DFB-F6, e nas três últimas a CUR foi incorporada. Todas essas formulações apresentaram NCLL no formato de cruz de malta. O maior percentual de teor da CUR foi observado na formulação DFA-F6 (70%) e no estudo de dissolução e liberação da CUR, a liberação

máxima de CUR foi observada após 28h para formulação DFB-F6 (30%). Além disso, as curvas de DSC mostraram mudança no estado cristalino da CUR. As curvas obtidas por FTIR mostraram que os estiramentos dos grupamentos químicos da CUR permaneceram inalterados, e as propriedades mecânicas foram consideradas úteis para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas e vias de administração. **CONCLUSÃO:** Desta forma, as condições experimentais empregadas possibilitaram obter sistemas precursores de NCLL no formato de cruz de malta, com potencial para veiculação da CUR.

**Palavras-chave:** Sistemas biomiméticos. Cristal líquido liotrópico. Curcumina. Sistemas de liberação de fármacos. Carreadores de fármacos.

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Lyotropic liquid crystalline nanoparticles (LLCN) are biomimetic nanostructures with an intermediate phase between the crystalline solid and the isotropic liquid (ordered and unordered). The LLCN have different architectures formed by the self-organization of lipids in aqueous medium and morphologically the LLCN have a lamellar (maltese cross), cubic or hexagonal structure. The LLCN precursor emulsified systems favor the delivery and release of lipophilic, amphiphilic and hydrophilic drugs. Curcumin (CUR) is a phytochemical and polyphenolic compound, that has physical-chemical properties with therapeutic potential. OBJECTIVE: To develop and evaluate LLCN precursor emulsified systems to CUR delivery and release. METHODS: In this study, the lipid used was monoolein (Myverol 18-92K), as hydrotropes were sorbitan monostearate (Span 60<sup>®</sup>), surfactants and as polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20®), sodium lauryl sulfate (LSS), poloxamer 407 (P407) and CUR as the model drug. The LLCN were prepared by the mixture of monoolein, surfactant or hydrotropes and water, kept under agitation and under controlled temperature. The CUR was added in the formulations previously selected and dispersed in the LLCN precursor emulsified systems. The formulations were evaluated for macroscopic evaluation, centrifugation essay (CE), thermal variation essay (VTE), zeta potential (ZP), particle diameter (PD), polydispersity index (PDI), hydrogenionic potential (pH), polarized light microscopy (PLM), laser confocal microscopy (LCM), ion conductivity (IC), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy with Fourier transform (FTIR), mechanical properties (hardness, compressibility, adhesiveness, cohesiveness and mucoadhesion), percentage and dissolution and release profile of CUR. RESULTS: The LLCN precursor emulsified systems were obtained by different preparation techniques with variation of water addition, temperature and agitation, in which were important to selection of formulations and better experimental conditions for LLCN. After physical-chemical stability evaluation and structural characterization, the best formulations were selected: F1A50°C, F6, DFA-F6, DFB-F6, these later three ones were incorporated to CUR. All these formulations presented LLCN in the format of maltese cross. The highest percentage of CUR content was observed in the DFA-F6 formulation (70%) and in the dissolution and release study of CUR, the maximum release of CUR was observed after 28h for DFB-F6 formulation (30%). Furthermore, the DSC curves showed a

change in the crystalline state of CUR. The curves obtained by FTIR showed that the stretches of the CUR chemical groups remained unchanged, and the mechanical properties were considered useful to the development of new pharmaceutical forms and routes of administration. **CONCLUSION:** Thus, the experimental conditions applied allowed obtaining the LLCN precursor emulsified systems in the maltese cross shaped and with potential for the use of CUR.

**Keywords:** Biomimetic systems. Lyotropic liquid crystals. Curcumin. Drug delivery systems. Drug carriers.

### LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da transição de fases entre sólido cristalino,
cristal líquido e líquido isotrópico30
Figura 2 - Representação esquemáticas das mesofases dos cristais líquidos
liotrópicos do tipo (a) lamelar, (b) hexagonal e (c) cúbico
Figura 3 - Representação esquemática da estrutura química da MO41
Figura 4 - Representação esquemática da estrutura química do monolaurato de
polioxietileno sorbitano42
Figura 5 - Representação esquemática da estrutura química do monoestearato de
sorbitano43
Figura 6 - Representação esquemática da estrutura química do lauril sulfato de
sódio43
Figura 7 - Representação esquemática da estrutura química do copolímero44
Figura 8 – Representação da estrutura química da curcumina (1) éter, (2) fenol, (3)
cetona e (4) enol45
Figura 9 - Representação esquemática do delineamento experimental para o
desenvolvimento e caracterização dos sistemas emulsionados precursores de
NCLL
Figura 10 - Representação esquemática do processo de preparação dos sistemas
emulsionados precursores de NCLL68
Figura 11 - Resultados das medidas de potencial zeta das formulações F1A50°C,
F3A50°C e F3C50°C74
Figura 12 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das formulações
F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C75
Figura 13 - Resultados das medidas do índice de polidispersidade das formulações
F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C76
Figura 14 - Resultados das medidas de pH das formulações F1A50°C, F3A50°C e
F3C50°C77
Figura 15 - Micrografias da formulação F1A 50°C obtidas nos tempos zero (A), 24 (B)
e 48 horas (C) por microscopia com luz polarizada em três ajuste de refração (1,
1/2 е 1/4 <i>к</i> )79
Figura 16 - Representação esquemática do delineamento experimental para

otimização das formulações, veiculação da curcumina e caracterização físico-

Figura 17 - Representação esquemática do processo de preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem hidrótropo......90

Figura 20 - Diagrama ternário de fases formado com MO:água:LSS (DFA) e classificações dos sistemas: VT (■), VO (▲) e SF (●)......100

Figura 21- Diagrama ternário de fases formado com MO:água:P407 (DFB) e classificações dos sistemas: VT (■), VO (▲), LO (♦) e SF (●)......101

Figura 22 - Diagrama ternário de fases formado com MO:água:Tween 20 (DFC) e classificações dos sistemas: VT (□), VO (▲), LO (♦) e SF (●).....102

Figura 24 - Curva analítica da CUR.....107

Figura 25 - Resultado de teor da curcumina incorporada nos sistemas emulsionados precursores de cristais líquidos liotrópicos......108

Figura 26 - Resultados das medidas de potencial zeta das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 9°C.....110

Figura 27 - Resultados das medidas de potencial zeta das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C.....111

Figura 28 - Resultados das medidas de potencial zeta das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C.....111

Figura 29 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 9°C......112

Figura 30 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C......113

- Figura 31 Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C......114
- Figura 32 Resultados das medidas de índice de polidispersidade das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 9°C......115

Figura 33 - Resultados das medidas de índice de polidispersidade das amostras sem
e com CUR na condição de armazenamento à 25°C115
Figura 34 - Resultados das medidas de índice de polidispersidade das amostras sem
e com CUR na condição de armazenamento à 37°C116
Figura 35 - Resultados das medidas de potencial hidrogeniônico das amostras sem e
com CUR na condição de armazenamento à 9°C117
Figura 36 - Resultados das medidas de potencial hidrogeniônico das amostras sem e
com CUR na condição de armazenamento à 25°C118
Figura 37 - Resultados das medidas de potencial hidrogeniônico das amostras sem e
com CUR na condição de armazenamento à 37°C118
Figura 38 - Micrografias das formulações na presença e ausência de CUR obtidas por
microscopia com luz polarizada120
Figura 39 - Micrografias obtidas por microscopia confocal a laser das formulações F6,
DFA-F6 e DFB-F6 sem CUR121
Figura 40 - Micrografias obtidas por microscopia confocal a laser das formulações F6,
DFA-F6 e DFB-F6 com CUR122
Figura 41 - Resultados das medidas de condutividade iônica em função do aumento
da temperatura nas formulações com e sem CUR123
Figura 42 - Curva termoanalítica dos (A) componentes da formulação e (B) dos
sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com CUR125
Figura 43 - Resultados dos espectros de (A) componentes da formulação e (B)
formulações dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com
CUR126
Figura 44 - Resultados das propriedades mecânicas (A) compressibilidade, (B)
adesividade, (C) dureza e (D) coesividade dos sistemas emulsionados
precursores de NCLL sem e com CUR128
Figura 45 - Resultados do ensaio de dissolução e liberação de CUR presente nos
sistemas emulsionados precursores de NCLL130

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das formulações para preparação dos sistemas emulsionados
precursores de NCLL67
Tabela 2 - Condições experimentais para preparação dos sistemas emulsionados
precursores de NCLL67
Tabela 3 - Resultados das avaliações macroscópicas dos sistemas emulsionados
precursores de NCLL após tempo zero de preparação71
Tabela 4 - Resultados da estabilidade dos sistemas emulsionados precursores de
NCLL após ensaio de centrifugação e variação térmica após 24h de preparação
Tabela 5 - Proporções (m/m) dos componentes dos sistemas precursores de CL para
construção do diagrama ternário de fases90
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros para avaliação das propriedades mecânicas
Tabela 7 - Resultados de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas ou
NCLL para as formulações (F1-F9) na ausência de hidrótropo: VT (I), VO (A) e
SF (●)103
Tabela 8 - Resultados de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas ou CL
para as formulações (F1-F9) com hidrótropo (DFA, DFB e DFC): VT (🔲 ), VO (🔺),
LO (�) E SF (●)104
Tabela 9 - Temperatura de fusão e entalpia de fusão ( $\Delta H$ ) dos componentes da
formulação e dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com CUR
Tabela 10 - Resultados das propriedades mecânicas: dureza, compressibilidade,
adesividade e coesividade das formulações (Média ± Desvio Padrão) (n=3)129

# ABREVIAÇÕES

- CAC Concentração de agregação critica
- CIFT Condutividade iônica em função do aumento da temperatura
- CL Cristais líquidos
- CLB Cristal líquido biológico
- CLL Cristal líquido liotrópico
- CMC concentração micelar critica
- CUR Curcumina
- DFA Sistema emulsionado precursores de NCLL com LSS (MO:água:LSS)
- DFB Sistema emulsionado precursores de NCLL com P407 (MO:água:P407)
- DFC Sistema emulsionado precursores de NCLL com Tween 20<sup>®</sup> (MO:água:

Tween 20<sup>®</sup>)

- DSC Calorimetria exploratória diferencial
- DP Diâmetro de partículas
- EC Ensaio de centrifugação
- EHL Equilíbrio hidrofílico-lipofílico
- EVT Ensaio de variação térmica
- FTIR Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
- F1 MO:tween 20:água (Capítulo II)
- F2 MO:span 60:água (Capítulo II)
- F3 MO:tween 20:span 60:água (Capítulo II)
- F1-F9 Formulações MO:água (Capítulo III)
- IPD Índice de polidispersidade
- La Fase líquida cristalina lamelar
- lo Fase de estado líquido ordenado
- Id Fase de estado líquido desordenado
- lβ Fase gel
- LO Sistema líquido opaco
- LSS Lauril sulfato de sódio
- LT Sistema líquido translúcido
- m/m Massa/massa
- m/v Massa/volume
- MO Monoleína

- MLP Microscopia de luz polarizada
- MCL Microscopia confocal a laser
- NCLL Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas
- PABA Ácido p-aminobenzóico
- P407 Poloxamer 407
- PEO Polioxietileno
- pH Potencial hidrogeniônico
- PM Propriedades mecânicas
- PPO Polioxipropileno
- PZ Potencial zeta
- SEDDS Sistemas de liberação autoemulsificados
- SF Separação de fase
- SDS Sulfato dodecil de sódio
- Span 60<sup>®</sup> Monoestearato de sorbitano
- Tween 20<sup>®</sup> Monolaurato de polioxietileno sorbitano ou polissorbato 20
- VO Sistema viscoso opaco
- VT Sistema viscoso translúcido
- v/v Volume/volume
- λ Comprimento de onda
- < menor que
- > maior que

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO21
2.	OBJETIVO23
2.1	Geral23
2.2	Específicos
CAP	ÍTULO I24
3. RI	EVISÃO BIBLIOGRÁFICA25
3.1	Cristal líquido biológicos27
3.2	Cristal líquido baseado em sistemas emulsionados29
3.3	Aplicações dos sistemas de detecção baseado em cristal líquido .32
3.4	Sistema de liberação de fármacos e tipos de fases do cristal líquido
liotro	ópico34
3.5	Mecanismos de liberação, absorção e permeação
3.6	Monoleína40
3.6 3.7	Monoleína40 Tensoativos e hidrótropos41
<b>3.6</b> <b>3.7</b> 3.7.1	Monoleína
<b>3.6</b> <b>3.7</b> 3.7.1 3.7.2	Monoleína
<b>3.6</b> <b>3.7</b> 3.7.1 3.7.2 3.7.3	Monoleína
<b>3.6</b> <b>3.7</b> 3.7.1 3.7.2 3.7.3	Monoleína
<ul> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>3.7.2</li> <li>3.7.3</li> <li>3.7.4</li> <li>3.8 (200)</li> </ul>	Monoleína
<ul> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>3.7.2</li> <li>3.7.3</li> <li>3.7.4</li> <li>3.8 (3.9)</li> </ul>	Monoleína
3.6 3.7 3.7.1 3.7.2 3.7.3 3.7.4 3.8 C 3.9 mort	Monoleína
<ul> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>3.7.2</li> <li>3.7.3</li> <li>3.7.4</li> <li>3.8 (C)</li> <li>3.9</li> <li>mort</li> <li>3.9.1</li> </ul>	Monoleína
<ul> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>3.7.2</li> <li>3.7.3</li> <li>3.7.4</li> <li>3.8 C</li> <li>3.9</li> <li>morf</li> <li>3.9.1</li> <li>3.9.2</li> </ul>	Monoleína
<ul> <li>3.6</li> <li>3.7</li> <li>3.7.2</li> <li>3.7.3</li> <li>3.7.4</li> <li>3.80</li> <li>3.9</li> <li>mort</li> <li>3.9.1</li> <li>3.9.2</li> <li>3.9.3</li> </ul>	Monoleína

5. REFERÊNCIAS
4. CONCLUSÃO49
3.9.9 Análise das propriedades mecânicas48
a laser48
3.9.8 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada e confoca
3.9.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier4
3.9.6 Calorimetria exploratória diferencial4
3.9.5 Condutividade iônica em função do aumento da temperatura4

CAPÍTULO II
6. ESTUDO DO COMPORTAMENTO FÍSICO-QUIMICO DA MONOLEÍNA NA PRESENÇA DE TENSOATIVOS E ÁGUA PARA A OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS LIOTRÓPICAS64
6.1 Resumo64
6.2 Abstract
6.3 Delineamento experimental66
6.4 MATERIAL E MÉTODOS66
6.4.1 Matéria prima66
6.4.2 Preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL67
6.5 Avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL
6.5.1 Ensaio de centrifugação68
6.5.2 Ensaio de variação térmica69
6.6 Avaliação da estabilidade físico-química dos sistemas emulsionados
6.6.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade
6.6.2 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)70

6.7 Seleção de amostras	70
6.7.1 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada	70
7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	70
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
8.1 Avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados precursores o NCLL7	de 71
8.2 Avaliação da estabilidade físico-química dos sistemas emulsionado precursores de NCLL	os 73
8.2.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula, índice o polidispersidade e pH	de 74
8.2.2 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada	78
9. CONCLUSÃO	80
10. REFERÊNCIAS	81

CAPÍTULO III
11. OTIMIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES PARA OBTENÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS LIOTRÓPICAS,
VEICULAÇÃO DE CURCUMINA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-
QUÍMICA
11.1 Resumo84
11.2 Abstract
11.3 Delineamento experimental88
12. MATERIAL E MÉTODOS89
12.1 Matéria prima89
12.2 Preparação de sistemas emulsionados precursores de NCLL sem
hidrótropo
12.3 Preparação de sistemas emulsionados precursores de NCLL com
hidrótropos e construção de diagrama ternário de fases90
12.4 Seleção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL91

12.5 Curva analítica da CUR9	)2
12.6 Equilíbrio de solubilidade da CUR em MO9	)2
12.7 Incorporação de CUR nos sistemas emulsionados precursores d NCLL9	le 3
12.8 Teor da curcumina9	)3
12.9 Avaliação da estabilidade físico-química e caracterização estrutura	al
dos sistemas emulsionados precursores de NCLL9	)3
12.9.1 Ensaio de centrifugação9	)3
12.9.2 Ensaio de variação térmica9	94
12.9.3 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula polidispersidade9	е 94
12.9.4 Variação da concentração hidrogeniônica (pH)9	94
12.9.5 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada9	<del>)</del> 5
12.9.6 Caracterização estrutural por microscopia confocal a laser9	95
12.10 Avaliação da condutividade iônica em função do aumento d temperatura9	la 5
12.11 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)9	95
12.12 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourie (FTIR)	er 96
12.13 Avaliação das propriedades mecânicas9	96
12.14. Estudo de dissolução da CUR em meio aquoso9	97
12.15 Estudo de dissolução e liberação da CUR nos sistemas emulsionado precursores de NCLL em meio aquoso9	)S )7
13. ANÁLISE ESTATÍSTICA9	)8
14. RESULTADOS E DISCUSSÃO9	9
14.1 Preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL con ou sem de hidrótropos e seleção das amostras9	m )9
14.2 Curva analítica da CUR10	)6

14.3 Equilíbrio de solubilidade da CUR em MO e incorporação da CUR nos
sistemas emulsionados precursores de NCLL107
14.4 Teor da CUR107
14.5 Caracterização estrutural e avaliação da estabilidade físico-química
dos sistemas emulsionados precursores de CL108
14.5.1 Ensaio de centrifugação109
14.5.2 Ensaio de variação térmica109
14.5.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade109
14.5.2 Variação da concentração hidrogeniônica (pH)116
14.5.1 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada119
14.5.2 Caracterização estrutural por microscopia confocal a laser121
14.6 Avaliação da condutividade iônica em função do aumento da temperatura123
14.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)124
14.8 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)126
14.9 Avaliação das propriedades mecânicas127
14.10 Estudo de dissolução e liberação da CUR nos sistemas emulsionados precursores de CL em meio aquoso
15. CONCLUSÕES131
16. REFERÊNCIAS132
ANEXO A: Artigo de Revisão Bibliográfica135

### 1. INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi estruturado na forma de capítulos e inclui: Capítulo I: Revisão bibliográfica; Capítulo II: Estudo do comportamento físico-químico da monoleína na presença de tensoativos e água para obtenção de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas (NCLL); Capítulo III: Otimização das formulações para obtenção de NCLL, veiculação de curcumina e caracterização físicoquímica.

No capítulo I um estudo histórico e atualizado do estado geral da obtenção e aplicações dos cristais líquidos (CL) é apresentada. Este estudo foi submetido para *Molecules* (Anexo A). O Capítulo II aborda o desenvolvimento e avaliação físico-química e morfológica dos sistemas, obtidos com excesso de fase aquosa. O Capítulo III aborda a otimização para o desenvolvimento, avaliação físicoquímica e morfológica dos sistemas obtidos na presença ou ausência de hidrótropo antes e após a incorporação da CUR.

O efeito do comportamento de sistemas biomiméticos baseado em cristais líquidos liotrópicos (CLL) é influenciado pelas propriedades do fármaco, volume inicial de água, tipo de fase cristalina, capacidade de intumescimento, taxa de carreamento e presença de tensoativos ou hidrótropos. Essas propriedades são responsáveis pela maior ou menor força cosmotrópica ou caotrópica, interação eletrostática entre o fármaco e a bicamada lipídica. Os CLL, além da sua característica biomimética, favorecem a veiculação de fármacos lipofílicos, anfifílicos e hidrofílicos. Embora, o impacto dos CLL sobre a biodisponibilidade de fármacos não esteja suficientemente esclarecido, estudos recentes reportam o aumento da biodisponibilidade de fármacos poucos solúveis em água.

Os CLL com diferentes arquiteturas são formados pela auto-organização de lipídios em meio aquoso e morfologicamente, e apresentam estrutura lamelar (cruz de malta), cúbica ou hexagonal, estas últimas ainda podem ser estruturadas com fase reversa.

Outras propriedades dos CLL, biofarmacotecnicamente relevante, são a viscoelasticidade, ordenamento estrutural, estabilidade termodinâmica e potencial para liberação controlada de fármacos. Além disso, a natureza biodegradável e biocompatível dos lipídios possibilita a administração dos CLL por diferentes vias.

Neste estudo, o lipídio utilizado foi a monoleína (MO) (Myverol 18-92K) com 96% de monoglicerídeo total, como tensoativos e hidrótropos foram testados monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>), monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>), lauril sulfato de sódio (LSS) e poloxamer 407 (P407), e foi obtido NCLL com formato de cruz de malta. A curcumina (CUR) foi utilizada como fármaco modelo, devido as suas propriedades físico-químicas e potencial terapêutico.

## 2. OBJETIVO

## 2.1 Geral

Desenvolver e avaliar sistemas emulsionados precursores de nanopartículas na forma de cristal líquido liotrópico para veiculação e liberação da curcumina.

# 2.2 Específicos

- Otimizar e desenvolver sistemas emulsionados para obtenção de estruturas lamelares na forma de cruz de malta;
- Comparar as técnicas de preparação dos sistemas emulsionados e avaliar a influência dos pontos críticos;
- Caracterizar as propriedades físicas e físico-química das formulações;
- Identificar e caracterizar a morfologia dos cristais líquidos liotrópicos;
- Avaliar a influência da incorporação da curcumina na morfologia e nas propriedades físicas e físico-química das formulações;
- Avaliar o perfil de liberação da curcumina.

# **CAPÍTULO I**

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os materiais biomiméticos são produtos racionalmente projetados e exploram interações específicas, ajustável e reversível ou biodegradável, que oferecem vantagens em relação aos materiais convencionais não modificados. Esses biomateriais podem ser utilizados tanto para medicina regenerativa como para sistemas de liberação controlada de fármacos ou liberação de alvo específico. Estes materiais, quando projetados para detectar e responder a estímulos fisiológicos ou para imitar aspectos estruturais e funcionais de sinalização biológica, são denominados biomiméticos (WEBBER et al., 2015). Os materiais biomiméticos ou biônicos são projetados para imitar a apresentação espacial e temporal nativa ou substituir fatores biológicas (VAKILI et al., 2016).

O projeto de um material biomimético requer apenas a modelagem de um ou mais princípios de funcionamento de qualquer sistema biológico. Uma abordagem para a criação de conceitos biomiméticos seria primeiro resumir a função essencial do sistema que se quer modelar, e então encontrar um sistema biológico, que sirva como modelo e execute funções semelhantes (VAKILI; SHU, 2001).

O cristal líquido (CL) é uma nanoestrutura biomimética e foi descoberta por Friedrich Reinitzer (1888) pela observação de dois pontos de fusão distintos na amostra de benzoato de colesterila. Assim, nas amostras sólidas o aumento de temperatura levava, inicialmente, à formação de um líquido turvo; um aumento continuado da temperatura resultava em um líquido transparente (BECHTOLD, 2005; CARLIN et al., 2005; ECCHER, 2010).

Como descrito por Bechtold (2005) e Carlin (2005), em 1889 Otto Lehmann observou que algumas substâncias fundiam passando por um estado intermediário, o qual possibilitou definir o líquido como birrefringente. A birrefringência ou dupla refração é uma propriedade apresentada por materiais cristalinos, no qual ocasiona um fenômeno de propagação de luz no interior do material. Portanto, Lehmann acreditava que a única diferença entre o CL e o cristal sólido, era apenas o grau de fluidez. Contudo, a diferença entre os CL e os cristais sólidos está no grau de ordem molecular intermediário entre a ordem orientacional e posicional de longo alcance dos sólidos cristalinos, e a desordem de longo alcance dos líquidos isotrópicos (BECHTOLD, 2005; CARLIN et al., 2005; CHORILLI, 2001).

E desta forma, em 1922, G. Friedel utilizou o termo "estado mesomórfico" (*mesos*- intermediário e *morphé*- forma) para definir o CL. A partir disso, o CL passou a ser denominado como fase mesomórfica ou mesofase cristalina, apresentando, propriedades e características intermediárias entre sólidos e líquidos (BECHTOLD, 2005; CHORILLI, 2001).

Portanto, os termos ordenados e desordenados são uma referência ao estado da cadeia acil do lipídeo. O termo "líquido" aqui se refere a falta de ordem posicional de longo alcance, e como consequência uma falta de estrutura dos lipídeos dentro do plano da bicamada e com velocidade elevada de difusão lateral. Nesta terminologia, são considerados como "sólidos", os que apresentam uma ordem posicional dentro da membrana e a difusão lateral é muito lenta (HIRST; UPPAMOOCHIKKAL; LOR, 2011; LINGWOOD; SIMONS, 2010).

As estruturas de fase líquida cristalina são frequentemente encontradas em organismos vivos animais, vegetais e bactérias. As membranas celulares, por exemplo, são resultado de fase líquida cristalina liotrópica resultante da dissolução de fosfolipídios em água. A curvatura da membrana tem um papel crucial na realização de muitas funções da membrana celular entre as quais se destaca a sinalização, o tráfego e a liberação de lipídeos de micobactérias. (BEATTY et al., 2000; WU; LIANG, 2014). Resultados obtidos por Chazotte et al. (1991) mostraram que em uma membrana líquida cristalina a ubiquinona (Coenzima Q) se move lateralmente e transversalmente mas permanece a maior parte do tempo na região da cadeia acil da membrana.

Assim como para as mitocôndrias, há indícios de que nas membranas de microssomos e junções celulares são formadas por uma estruturas líquidas cristalinas não-lamelar. Em estudo detalhado sobre as propriedades de ésteres estéril metilados ou não-metilados foi verificado que um grande número destes compostos são intermediários na sequência biossintética que leva à formação de esteróis (sitosterol e stigmasterol), cujas propriedades têm sido relacionadas com as propriedades de líquidos cristalinos (uma vez que éster estéril pode formar mesofases) essenciais para algumas funções bioquímicas em vegetais (ATALLAH; NICHOLAS, 1974).

As respostas adequadas ao estresse para temperaturas altas e baixas são essenciais para a sobrevivência de muito organismos e está estabelecido que em baixa temperatura a microviscosidade dos lipídios é decisiva para a sobrevivência de micro-organismos (LACZKÓ-DOBOS; SZALONTAI, 2009b). Ao analisar as taxas de alteração estrutural da proteína, a troca hidrogênio-deutério, a desordem membrana-lipídio e a ordem interfacial membrana-água e hidratação como funções da temperatura, Laczkó-Dobos and Szalontai (2009), concluíram que a transição de fase cristalina de gel-para-líquido dos lipídios está correlacionada à temperatura de crescimento em células do tipo selvagem, mas não nas desA-/desD-mutantes.

Diferentes estudos têm mostrado que existem muitas estruturas líquidas cristalinas e que a organização lamelar é apenas uma entre outras. Um fosfolipídio biológico, extraído de cérebro humano, foi estudado pela mesma técnica. Duas fases cristalinas líquidas foram encontradas: uma construída por uma sequência ordenada de lipídeos e lâminas de água (fase lamelar), e outra um arranjo hexagonal de cilindros celulares. Cada cilindro é um canal de água fino coberto por grupos hidrófilos das moléculas lipídicas (fase hexagonal), as cadeias de hidrocarboneto preenchem a lacuna entre os cilindros e ambas coexistem em equilíbrio (KRUIJFF, 1997; LUZZATI & HUSSON 1962; TILCOCK, 1986).

A aplicação de modelagem integrada envolvendo termodinâmica/defeitos/reologia para caracterização experimental de diferentes CLB, incluindo soluções de colágeno e DNA, foram mostradas para proporcionar a organização de conceitos e as ferramentas quantitativas com a finalidade de estabelecer as propriedades destes materiais de origem natural (REY, 2010). Embora, a fase cristalina líquida lamelar (Lα) seja o estado natural das membranas celulares há uma distinção desta fase em duas subclasses de estados líquidos ordenados (lo) e desordenados (ld) (LAGERWALL; SCALIA, 2012).

#### 3.1 Cristal líquido biológicos

Os cristais líquidos biológicos (CLB) exibem sequência posicional e orientacional parcial de longo alcance e, assim como os seus homólogos sintéticos, os CLB são materiais estruturais e funcionais que exibem comportamento elástico anisotrópico de cristais e comportamento anisotrópico viscoso de suspensões (STEPHEN e STRALEY, 1974). Os CLB são encontrados, por exemplo, em ácidos nucléicos, proteínas, hidratos de carbono e gorduras (LARSON, 1999). Assim como o CL obtido por síntese, ambos são sensíveis a campos eletromagnéticos, pH, substratos e interfaces, temperatura, intensidade de luz, ultrassom e gradientes de concentração (KAUR et al., 2014; HYDE, 1996; PARK et al., 2014; PATRA et al., 2013; CLOGSTON et al., 2005).

Alejandro D. Rey (2010) publicou um estudo de revisão que mostram com clareza que moléculas racionalmente estruturadas na forma de CL mimetizam CLs orgânicos dos tipos **análogo** (tecidos conjuntivos em mamíferos; tecido ósseo de peixes; exoesqueleto de insetos e crustáceos; paredes celulares das plantas) nos quais a sequência orientacional está congelada no estado sólido), **solução de biopolímero** (colágeno, celulose, quitina, suspensão viral, flagelo de *Salmonella typhimurium*) e **mesofases** *in-vivo* (DNA, cromossomos de bactéria, colágeno na casca dos ovos, seda de aranha, a hemoglobina falciforme, líquido sinovial). Esta classificação embora de natureza ambígua é utilizada para diferenciar a origem dos CLB (NEVILLE & LUKE, 1971; GIRAUD-GUILLE et al., 2008; DOGIC e FRADEN, 2001; GARIDEL et al. 2015).

Os estudos citados demonstram o potencial das moléculas projetadas na criação de novos materiais com modo de funcionamento previsível, devido a sensibilidade dos CL a estímulos endógenos e exógenos (temperatura, intensidade de luz, pH, energia livre) possibilitar a obtenção de liberação de fármacos como resposta a diferentes tipos de gatilhos (NAZARUK et al., 2014). Entre os gatilhos exógenos, a intensidade de luz tem vantagens, porque ela pode ser aplicada remotamente com precisão temporal e espacial capaz de garantir um nível elevado de controle farmacológico e segurança toxicológica. As mesofases líquido cristalinas constituem sistemas para liberação de fármacos alternativos que podem ser disparados por estímulo externo (RAHANYAN-KAGI et al., 2015). Em estudo recente Alehandri et al., (2015) descreveram a síntese de CL responsivo à luz, a qual era composto de monoleína, ácido oleico e lipídios derivado do azobenzeno como unidade fotoativa.

#### 3.2 Cristal líquido baseado em sistemas emulsionados

Emulsões são sistemas dispersos, termodinamicamente instáveis, formados por líquidos imiscíveis um com o outro e um surfactante. As propriedades físicas dos sistemas emulsionados dependem da escolha correta e concentração do surfactante, do tamanho da gota dispersa, da concentração das fases dispersa e contínua e da técnica empregada na preparação das emulsões. Além da influência na estabilidade física, o tamanho da gota dispersas influencia a biodisponibilidade de ativos veiculados nas emulsões. O tamanho da gota pode ser alterado por coalescência discreta da fase dispersa e alterar a biodisponibilidade de nutracêuticos e fármacos em função do tempo de preparação da emulsão (PARTHASARATHI et al., 2016; TERJUNG et al., 2012).

Devido sua importância industrial, científica e como forma de dosagem para liberação de fármacos, muitos esforços em pesquisa têm sido realizados para manter o alto potencial de energia livre das emulsões e, ao mesmo tempo, manter a estabilidade física e química do sistema, evitando ou minimizando coalescência, floculação ou sedimentação. Diferentes estudos têm mostrado que as propriedades físicas e estruturais da emulsão podem ser ajustadas usando diferentes tipos de fase contínua, tais como a fase contínua gelificada (POYATO et al., 2014), fase contínua cristalina (DOUAIRE et al., 2014; THIVILLIERS et al., 2008), partículas (AKARTUNA et al., 2009), cristal líquido termotrópico (LI et al., 2005; MADSEN et al., 2004) e cristal líquido liotrópico (CLL) (MARTIEL et al., 2015; RODRÍGUEZ-ABREU e LAZZARI, 2008) ou sistemas de liberação autoemulsificados (SEDDS) (GUPTA et al., 2013; ZANCHETTA et al. 2016).

Os CL são classificados em mesofases em função do grau de ordem (orientacional e posicional). Com isso, o grau de desordem dos CL interferem com aumento da intensidade de luz, potencial hidrogeniônico (pH), temperatura e variação de energia livre. A transição de fase obtida pela quebra da ordem posicional ou orientacional das moléculas contribuem para aumento ou diminuição do grau de liberdade. Desta forma, o CL apresentam rigidez no ordenamento como sólido e fluidez em ordenamento com líquido (BECHTOLD, 2005; ECCHER, 2010). A Figura 1 mostra uma representação esquemática da organização da mesofase entre o sólido cristalino, cristal líquido e líquido isotrópico.

Figura 1 - Representação esquemática da transição de fases entre sólido cristalino, cristal líquido e líquido isotrópico



Temperatura, intensidade de luz, pH, energia livre

Fonte: Adaptado de BECHTOLD, 2005 e RAMOS, 2003.

Os CL apresentam diferentes tipos de mesofase cristalina, e estas diferem umas das outras de acordo com as respectivas orientações das moléculas e variações de ordem em cada fase líquido cristalina. Assim, o CL são classificados em duas categorias: cristais líquidos termotrópicos e cristais líquidos liotrópicos. Os cristais líquidos termotrópicos que são formados por moléculas ou mistura de moléculas, e as diferentes estruturas e ordenamento local dessas moléculas individuais ocorrem em função da temperatura e em menor grau em função da pressão. Já os cristais líquidos liotrópicos (CLL) são misturas de moléculas anfifílicas e solventes, que em determinadas condições de temperatura, pressão e concentrações relativas dos diferentes componentes, apresentam a formação de agregados moleculares que se organizam no espaço, exibindo assim algum grau de ordem (BECHTOLD, 2005; MORAIS, 2006).

Contudo, os CL que estão comumente associado aos sistemas biomiméticos são classificados como estruturas do tipo CLL. E as mesofases mais comumente descritas são lamelar cristalina ou amorfa, hexagonal dos tipos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub>, cubica descontínua (I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub>) e cúbica bicontínua (V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub>) (Figura 2) (HYDE, 1996; ALAM e ARAMAKI, 2008; ALAM et al., 2010). Assim, a Figura 2 mostra uma representação esquemática das mesofases dos CLL.



Figura 2 - Representação esquemáticas das mesofases dos cristais líquidos liotrópicos do tipo (a) lamelar, (b) hexagonal e (c) cúbico

Fonte: Adaptado de FONSECA-SANTOS, 2015.

O grau de ordem (posicional e orientacional) presente em cada fase é sensível à temperatura, pH, presença de impurezas ou partículas estranhas. Portanto, os CL podem ser considerados materiais responsivos (MULDER et al., 2014). Em relação à mudança orientacional dos CL, não somente a natureza das partículas estranhas, mas também seu formato, tamanho e propriedades de superfície têm papel crítico no processo de fabricação. Desta forma o material líquido cristalino que tem anisotropia óptica, quando são observados sob luz polarizada, e podem apresentar aspecto escuro ou brilhante de acordo com a sua ordem ou orientação (HUSSAIN et al., 2016).

Entre os diferentes tipos de emulsão-fase contínua, os CLL são estrutura mais versáteis que possibilitam a fabricação de materiais mesoporosos ou macroporosos por um método de um único passo, na qual consiste da modelagem de emulsões altamente concentradas com CLL cúbico de fase contínua (BLIN et al., 2006; ESQUENA et al., 2012).

Alam e Aramaki publicaram uma revisão sobre o desenvolvimento recente na formação, estabilidade e reologia de CLs baseado em emulsões do tipo óleo/CL ou água/CL (ALAM e ARAMAKI, 2014). O tipo de estrutura molecular que gera fase líquida cristalina é anfifílico. A anfifilicidade implica na coexistência de duas realidades completamente distintas da molécula em relação a água, com cadeias de hidrocarbonetos flexíveis, por um lado evitando contato com a água e, um grupo de cabeça polar, que por sua vez tende a

orientar em direção a água (MILAK e ZIMMER, 2015; PALEOS e TSIOURVAS, 2001).

As moléculas anfifílicas formam agregados através de um processo de auto-organização que é dirigido pelo efeito hidrofóbico quando são misturados com água. Os sistemas auto-organizados formados por moléculas anfifílicas são caracterizados por estruturas nas quais a parte polar (grupo hidrofílico) protege a cadeia apolar (grupo hidrofóbico) do contato com o solvente aquoso (ZANCHETTA et al., 2015). Em sistema de CL quando a concentração do anfifílico excede a concentração micela crítica (CMC) ou a concentração de agregação crítica (CAC) aparece um agregado anfifílico auto-organizado como entidade independente, em equilíbrio com monômero anfifílico 1992), e sem qualquer (HALLENSLEBEN e KABUS-HENKE, ordem orientacional ou posicional de longo alcance (MILAK e ZIMMER, 2015).

A fase líquida cristalina com diferentes arquiteturas é formada quando a concentração do composto anfifílico em água ultrapassa a CAC e se autoorganiza de forma regular no espaço. O sistema auto-organizado depende de um balanço muito delicado entre as forças intermoleculares para promover a estrutura de CL e uma alteração ainda que pequena neste balanço pode causar rompimento das estruturas ordenadas dos CL (HUSSAIN et al., 2016). A autoorganização anfifílica ou dos lipídios em meio aquoso ou não aquoso depende também da temperatura e do grau de instauração das cadeias hidrofóbicas (WELLS et al., 2006; LIN et al., 2000; FIRESTONE et al., 2002).

### 3.3 Aplicações dos sistemas de detecção baseado em cristal líquido

Um composto biológico macromolecular é ordinariamente imobilizado em estreita proximidade com a superfície de um transdutor facilitando a transferência de sinal direta ou mediada para o transdutor (ARYA et al., 2006; TURNER, ANTHONY e WILSON, 1989).

Diferentes tipos de materiais biologicamente sensíveis podem ser utilizados de forma seletiva para reconhecer uma substância em particular. Estes incluem enzimas, sistemas multienzimas, organelas, membranas fotossensíveis de plantas e bactérias, membranas, protoplastos, células inteiras, fatias de tecido, anticorpos, DNA e proteína de transporte e mesmo sistemas receptores isolados a partir de membranas celulares (KE et al., 2011; KHAN e PARK, 2014; LIAO et al., 2012; WILLNER e KATZ, 2000).

Um sistema de CL com biossensor de acetilcolinesterase, por exemplo, foi desenvolvido, com base no crescimento enzimático de nanopartículas de ouro para detecção amplificada de acetilcolina e inibidor de acetilcolinesterase (LIAO et al., 2012). A glicose é outro exemplo de biomolécula com capacidade de sensores para detectá-la e também medir sua concentração. Um sensor para glicose, baseado no 4-ciano-4'pentil-bifenil, usando como substrato uma lâmina de vidro revestida com octadeiltriclorosilano, mostrou sensibilidade para detectar e medir glicose em concentrações entre 1 pmol e 50 nmol (ZHONG e JANG, 2014). Um sensor pode ser obtido a partir de um composto biológico macromolecular que é, ordinariamente, imobilizado em estreita proximidade com a superfície do transdutor facilitando assim a ampliação e a transferência direta de sinal, ou mediada, para o transdutor (HUSSAIN et al., 2016).

Os CL podem ser utilizados como dispositivo e atuam como amplificadores de sinais para modular associações específicas dependente de interações hidrofóbicas, eletrostática e van der Waals. Esta especificidade pode servir para detectar interações do tipo antígeno-anticorpo, receptor-toxina, enzima-substrato, fármaco-receptor e com isso amplificar a medida da atividade intrínseca transformando a interação em sinais mensuráveis.

Khan and Park (2015), mostram o uso de 4-ciano-4'pentil-bifenil como material para aplicação de biossensores e mostram que biossensor de glucose baseado em CL, funcionalizado com poli(acrilicacid-b-4-cinobifenil-4'- oxiundecilacrilato) e quaternário poli(4-vinilpiridine-b-4-cinobifenil-4- oxiundecilacrilato) tem as vantagens de baixo custo de produção, imobilização de enzimas simples, alta sensibilidade e estabilidade da enzima, e a fácil detecção, e pode ser útil para a triagem inicial do nível de glicose no corpo humano (KHAN e PARK, 2015).

A característica do substrato para alinhamento do CL é um componente chave para sistema de detecção baseado em CL. No entanto, o alinhamento é influenciado também pela natureza e tipo de moléculas de tensoativo. A ramificação e organização da parte apolar do tensoativo influenciam o ordenamento orientacional (ou ancoragem) do CL e de forma semelhante o ordenamento/ancoragem é dependente do núcleo e das cadeias alquil do CL (LOCKWOOD et al., 2005; ZAKREVSKYY, 2006).

O alinhamento das moléculas dos CL é o estado em que a molécula se alinha em relação ao substrato, e é classificado como homeotrópico e homogêneo. O alinhamento homogêneo é o estado em que a molécula se encontra alinhada paralelamente, e alinhamento homeotrópico é o estado em que a molécula se alinha de modo perpendicular (HUSSAIN et al., 2016). O alinhamento das moléculas de CL pode ser realizado pelo fosfolipídio sintético, vesículas lipídicas unilamelares (na sua forma pura ou na sua forma dopada por um receptor complementar do analito a ser detectado) (LIU et al., 2013; LOCKWOOD et al., 2005).

A interação entre a cadeia alquil alifática do surfactante e os CL são, em grande parte, responsáveis por controlar o arranjo orientacional dos CL para a interface CL-água (PRIETO et al., 2003; GUPTA e ABBOTT, 2009). O arranjo orientacional do CL também é sensível ao grau de ramificações e as conjugações presentes nas cadeias alifáticas. No entanto, moléculas anfifílicas para a interface CL-água são essenciais para alinhar homeotropicamente os CL (HUSSAIN et al., 2016).

A endotoxina bacteriana composta de lipídio "A" também tem sido utilizada para fins de alinhamento de CL (MANNA et al., 2013; CARLTON et al., 2013). O sulfato dodecil de sódio (SDS) é um surfactante utilizado para o alinhamento dos CL para a interface ar-líquido, cujo funcionamento é similar ao dos fosfolipídios, com a vantagem de ser usado no estado inalterado em comparação com os fosfolipídios, onde a formação de vesículas lipídicas é uma etapa essencial para induzir o alinhamento na CLs (GUPTA e ABBOTT, 2009).

# 3.4 Sistema de liberação de fármacos e tipos de fases do cristal líquido liotrópico

Diferentes tipos de lipídios têm sido estudados para liberação de fármacos por diferentes vias de administração. Lipídios parcialmente hidrofílicos, no estado sólido, têm sido usados como carreadores de fármacos hidrofílicos para obter sistema de liberação sustentada. Esses sistemas de liberação podem ser aplicados por diferentes vias de administração, como carreador de fármacos em
implantes sólidos ou aplicações em engenharia biomimética (YANG et al., 2015; BOYD et al., 2006).

Devido as propriedades biomiméticas, o potencial para liberação controlada de fármacos e à propriedades biofarmacotécnicas dos CLL ampliou à utilização destes compostos para uso em sistemas de liberação de fármacos (GARIDEL et al., 2015). Atualmente, os CLL fazem parte das estratégias mais promissoras para aumentar a biodisponibilidade, modificar a cinética de liberação e de absorção de fármacos (LAI et al., 2010; LANCELOT et al., 2014; LAI et al., 2009; ALEANDRI et al., 2015) e, também, para liberação de fármacos em alvo específico (HWANG et al., 2002; LEE et al., 2016).

As partículas de CLL são nanoestruturas que têm se mostrado extremamente versáteis para sistemas de liberação de fármacos e aplicação para diferente vias de administração, entre elas oftálmica (ACHOURI et al., 2013), nasal (CARVALHO et al., 2013), vaginal (SALMAZI et al., 2015), dérmica (VERMA e PATHAK, 2010), oral (ZENG et al., 2012), ou parenteral (LANCELOT et al., 2014).

Lipídios anfifílicos polares, tais como os fosfolipídios, quando colocado em meio bicamadas aquoso, formam espontaneamente lipídicas termodinamicamente estáveis. Os lipossomos são exemplos de reorganização de lipídios anfifílicos e têm sido extensivamente estudados para liberação de fármacos, proteínas e genes. Entretanto, a reorganização espontânea de lipídios anfifílicos em meio aquoso pode resultar em outras estruturas tridimensionais de fase lamelar, cúbica e hexagonal, os quais tem sido utilizado como ferramenta importante no carreamento e transporte de fármacos (RATTANAPAK et al., 2012; YAN et al., 2011; YULIN CHEN, PING MA, 2014). A estrutura de fase cúbica tem sido explorada não apenas para fármacos, mas também para proteínas e na via de administração em vacina (SHAH et al., 2001; LANCELOT et al., 2014).

A forma de agitação da dispersão lipídio/água interfere nas características e formação de NCLL (ACHOURI et al., 2013). A preparação de NCLL hexagonal e cúbico pode ser obtida por dispersão simples e agitação com vortex (BOYD et al., 2006), microfluidizador de alta-pressão (GUSTAFSSON, et al., 1997; ACHOURI, et al., 2013) e ultrassonicação (WÖRLE et al., 2007). A adição de copolímeros ou tensoativos não iônicos forma dispersões coloidais mais estáveis formam NCLL na forma cúbica ou hexagonal (ACHOURI et al., 2013).

A reorganização de lipídios anfifílicos polares, quando colocados em água, ocorre invariavelmente para a formação de bicamadas lipídicas. No entanto, dependendo da temperatura e do teor de água no meio, os lipídios se organizam formando mesofases do tipo lamelar, cúbica e hexagonal, as quais constituem os sistemas mais comuns de CLL usados em SLF e micelar reversa (GUO et al., 2010; KIM et al., 2015).

As fases lamelares (Lα) são formadas pela maior concentração de lipídios anfifílicos, e obedecem um ordenamento de longo alcance, cuja estrutura é constituída por um arranjo linear de bicamadas lipídicas alternadas e um canal de água. O aumento da concentração os compostos anfifílicos para além de onde são formadas as fases lamelares leva à formação da fase liotrópica de topologia inversa, denominadas de fase cúbica inversa, fase hexagonal inversa (H<sub>2</sub>) ou fase cúbica micelar inversa. Na prática, as fases de topologia inversa são mais facilmente formadas por moléculas anfifílicas com duas ou mais cadeias de hidrocarbonetos ligados a um único grupo polar. A fase hexagonal reversa (H<sub>2</sub>) consiste de infinitos bastões de água arranjados em uma estrutura bidimensional e separados por bicamadas lipídicas (GUO et al., 2010; LANCELOT et al., 2014).

De uma forma geral, as diferentes fases de líquido-cristalino podem ser obtidos a partir do desordenamento da cadeia de hidrocarbonetos do lipídeo aquecimento, adição de água, imputados pelo energia usada na homogeneização da dispersão, tipo de homogeneizador ou associação de todos estes fatores (WÖRLE et al., 2007). Desta forma, uma transição da fase Lα para a fase cúbica e finalmente para fase H<sub>2</sub> pode ocorrer pela reorganização do lipídio em condições de estresse aquoso ou térmico. A fase cúbica é usualmente encontrada entre as fases hexagonal reversa e lamelar com maior teor de água. Assim, a fase pode coexistir em equilíbrio com excesso de água. Em adição às fases lamelar, hexagonal reversa e cúbica para liberação de fármacos, vários trabalhos indicam outras fases como esponja e partículas cuboides (SHAH et al., 2001).

#### 3.5 Mecanismos de liberação, absorção e permeação

Um sistema para liberação transdermal de fármaco pode ser composto pelo fármaco e por uma mesofase (anfifílica/lipofílica/água). Nesse caso, o referido fármaco está contido no interior da mesofase, que é um carreador adaptado para transportar e após a administração, liberar gradualmente o fármaco de forma sustentada e por um período longo de tempo (BOYD et al., 2006; GARTI et al., 2010).

O comportamento de liberação de fármacos a partir de mesofase hexagonal segue a cinética de difusão controlada de Higuchi (GUO et al., 2010), em que a quantidade acumulada de difusão do fármaco através da matriz apresenta dependência linear em relação à raiz quadrada do tempo. Geraghty et al., (1996) estudaram a liberação de fármacos antimuscarínicos *in vitro*, a partir de hidrogel, monoleína 18-99/água. Os autores constataram que a liberação sustentada do fármaco, durante um período de 18 horas, seguia o modelo de difusão controlada de Higuchi (GERAGHTY et al., 1996). Assim parece que a difusão controlada da molécula do fármaco é influenciada pela ordem interna e simetria da mesofase.

Efrat et al. (2007), desenvolveram um método analítico para detectar em que níveis as moléculas hóspedes de um sistema CLL contribuem para a ordem interna e simetria da mesofase (efeito cosmotrópico) e para qual nível de concentração estas moléculas destroem a simetria interna e são agentes de transformação de fase (efeito caotrópico). Os autores relataram que a presença de íons de moléculas hóspedes podem se complementar estruturalmente uma com a outra e exibir solubilização sinérgica (EFRAT et al., 2007; LOCKWOOD et al., 2008).

Aparentemente, as maiores taxas de permeação podem ser alcançadas com moléculas que possuem maior qualidade de íons cosmotrópico (OH<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>; SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>; HPO<sub>4</sub> <sup>2-</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Li<sup>-</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>). Por outro lado, moléculas com íons mais caotrópicos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>) tendem a serem intercaladas na área interfacial e interagir com a fração polar dos lipídios. Assim, a difusão de um fármaco pelos canais de água de uma mesofase liotrópica é impedida por dois fatores (LIBSTER et al., 2012). O primeiro é o confinamento geométrico do fármaco que restringe o seu movimento e a sua difusão no domínio aquoso do CLL. O

segundo fator é a força de interação química do fármaco com a as frações hidrofílicas e lipofílicas do lipídio (YARIV et al., 2010).

A mesofase hexagonal reversa (H<sub>2</sub>) tem demonstrado que pequenos peptídeos e peptídeos hidrofílicos podem ser solubilizado na mesofase H<sub>2</sub>. Em estudo *in vitro* foi demonstrado que a mesofase hexagonal tem potencial para liberação transdermal de desmopressina e aumenta a permeação transdermal da ciclosporina A (LIBSTER et al., 2009; LIBSTER et al., 2007; LOPES et al., 2006).

Estes sistemas têm demonstrado ser também efetivo para liberação de fármaco em alvo específico. O ácido p-aminobenzóico (PABA) é um fármaco utilizado no tratamento de desordens fibróticas da pele e como agente de filtrosolares. O PABA tem biodisponibilidade oral limitada devido à baixa solubilidade em água (6.1 mg.mL<sup>-1</sup>) o que faz dele um fármaco candidato à formulação de CL. Kadhum et al., (2016), avaliaram a formulações orais de CL para aumentar a biodisponibilidade e o direcionamento alvo específico do PABA para a pele. Neste estudo, o desenvolvimento de uma formulação oral usando dispersão composta de CLL na forma cúbica, aumentou significativamente a biodisponibilidade de PABA-CL, quando comparada com solução de PABA sozinha. Os autores atribuíram a maior biodisponibilidade ao tipo de lipídios formadores do CL, sugerindo que a administração oral de formulações CL é vantajosa para liberação alvo-específica de PABA para o tecido cutâneo (KADHUM et al., 2016). Contudo, é preciso considerar que nos CL as moléculas estão altamente ordenadas com um sólido, enquanto em preparações líquidas as moléculas do fármaco estão livres e difundem randomicamente, reduzindo a biodisponibilidade (CHEN et al., 2014).

As propriedades reológicas e mucoadesivas de uma formulação precursora de CL para administração por via nasal composta de tensoativo nãoiônico (PPG-5-CE-TETH-20), ácido oleico e água mostrou ser uma estratégia promissora para liberação sistêmica de zidovudina e outros fármacos antirretrovirais (CARVALHOI et al., 2013). Sistema mucoadesivo precursor de CL composto de PPG-5-CETETH-20, ácido oleico, quitosana e P407, se mostrou adequado para administração vaginal de curcumina (SALMAZI et al., 2015). Em ambos os estudos os fármacos têm a biodisponibilidade limitada pela baixa solubilidade em água. No estudo com curcumina a forma de CL também aumentou a estabilidade química deste fitoquímico. Altas concentrações dos tensoativos oxiestearato de polietilenoglicol (EHL 14-16) e ricinoleato de polietilenoglicol glicerol (EHL12-14) foram utilizadas para preparação de nanopartículas de CL com o objetivo de transportar finasterida para liberação tópica. Os resultados mostraram estabilidade da forma de dosagem, liberação rápida e aumento significativo de permeação da finasterida por via cutânea. Neste estudo, o aumento da permeação foi atribuído ao grau de desorganização das cadeias acil dos lipídios que resultou em aumento da fluidez do estrato córneo.

A correlação entre a estrutura de diferentes CLL e a administração transdermal do anti-inflamatório diclofenaco também foram avaliadas (CHEN et al., 2014; GUO et al., 2010b; YARIV, et al., 2010). O impacto de agentes cosmotrópico ou caotrópico de sais derivados de diclofenaco (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, e dietilamina - DEA<sup>+</sup>) foi avaliado sobre as características estruturais de diferentes mesofase liotrópicas e sobre o perfil de liberação transdermal (YARIV et al., 2010).

CL Nos estudos. foram preparados de os pela mistura monoleína/etanol/água. O efeito mais caotrópico da dietilamina entre os derivados do diclofenaco (dietilamina diclofenaco) interage com a fração polar da monoleína, rompe a simetria interna, e causa transformação de fase pela expansão da interface lipídio-água das mesofase lamelar e cúbica. O diclofenaco de potássio, o sal menos caotrópico dos derivados do diclofenaco teve efeito menos pronunciado sobre a característica estrutural da mesofase. Como era esperado, o sal sódico (cosmotrópico) teve a menor influência sobre ambas as mesofases lamelar e cúbica (YARIV et al., 2010).

Outra aplicação importante para os CLL é a liberação periodontal de anestésicos e antibióticos para prevenção e tratamento de infecções. A interação de lidocaína e cloridrato de lidocaína com estrutura de CL para uso tópico foi estudada. A preparação *in situ* do anestésico contendo CL levou ao aprisionamento do sal no interior da região aquosa do CL lamelar, possivelmente devido ao efeito caotrópico (FEHÉR et al., 2008).

Neste caso, a liberação do sal (lidocaína-HCl) é lenta devido à baixa propriedade do sal para penetrar a fração mais lipofílica. As diferentes opções descritas para fármacos hospedeiros das microestruturas de sistemas CLL podem ser aplicadas para analgesia, tópica, ocular, pós-herpética entre outras (MUELLER-GOYMANN e FRANK, 1986; SHUKR, 2014; CAMPBELL et al., 2002).

O desenvolvimento de um pré-concentrado CLL livre de água com boa tolerância física e formação espontânea de CL em meio aquoso, foi projetado para ser injetado na bolsa periodontal, onde seria transformado em fase cristalina de alta viscosidade com textura para liberação controlada do fármaco. O benzoato de metronidazol foi usado como agente ativo, Miglyol 810 e *polyethylenoglycol oxy-stearate* (HLB 14-16) e *glycerol polyethylenoglycol ricinoleato* (HLB12-14) foram utilizadas para formar fase CLL com 10-40% de conteúdo de água. A rigidez da estrutura liotrópica influenciada pelos surfactantes exerceu maior efeito sobre a liberação de benzoato de metronidazol (FEHER et al., 2008).

Bruschi et al., (2008), usaram um sistema precursor de fase liquida cristalina composto de micropartículas de gelatina contendo própolis, PPG-5-Ceteth 20, miristato de isopropila e água para tratamento de doenças periodontais. Neste estudo a liberação foi não *Fickian* (anômalos) para 10%, 30% e 50% de carreamento inicial de fármaco.

#### 3.6 Monoleína

Monoestearato de glicerila ou monoleína (MO) é um lipídio monoglicerídeo insaturado de cadeia longa, composto principalmente por glicerídeos do ácido oleico e ácidos graxos. A MO pode ser associada à água de forma termodinamicamente estável, é considerada um material natural, biocompatível, biodegradável e atóxico, com equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) entre 3,0-4,0 e em alguns estudos tem apresentado propriedades mucoadesivas (LARA; BENTLEY; COLLETT, 2005; VERMA; AHUJA, 2015).

Ganem-Quintanar et al., (2000) apresentaram uma revisão sobre aplicações farmacêuticas da MO. As principais aplicações descritas foram emulsificante, solubilizante, potencial para aumento de absorção de fármacos, carreador de fármacos, e também pode ser aplicada em sistemas de liberação de fármacos para as via de administração oral, parenteral, vaginal e periodontal.

A MO é uma substancia anfifílica, lipofílica, composta por uma cadeia de hidrocarbonetos (domínio apolar) ligada a um glicerol por uma ligação éster e grupos hidroxilas de domínio polar (GANEM-QUINTANAR et al., 2000; KULKARNI et al., 2011). Uma representação da estrutura química da MO é apresentada na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática da estrutura química da MO



Fonte: KULKARNI et al., 2011.

A MO pode ser obtida por diferentes reações como esterificação de ácidos graxos (ácido oleico e glicerol) ou por transesterificação do refinamento dos óleos vegetais de canola e girassol. A MO (Myverol<sup>®</sup> 18-92K) derivada do óleo de girassol é composta de 96% de monoglicerídeo total, 0,3% de glicerol livre, 0,07% de umidade, 0,9 mg de KOH/g e 99,6 g de l/100 g (GANEM-QUINTANAR et al., 2000).

Sistemas compostos por MO e solventes tem capacidade de autoorganização espontânea das nanoestruturas cristalinas. Além disso, os lipídios anfifílicos podem se arranjar em diferentes ordens (mesofases cristalinas) na adição de um meio aquoso, promovendo a formação de CLL. A formação do CLL depende da concentração dos componentes (aditivos e solventes), variação de temperatura e energia livre (sonicação, turbilhonamento e ultrassom) (BORGHETI-CARDOSO et al., 2014; GUO et al., 2010; PAN et al., 2013).

#### 3.7 Tensoativos e hidrótropos

Tensoativos são moléculas que apresentam característica anfifílica (domínio polar e apolar) e podem ser aniônicos, catiônicos ou não-iônicos. A porção lipofílica (ou apolar) da molécula, geralmente, é responsável por sua atividade de superfície. A porção apolar de um tensoativo normalmente é formada por hidrocarbonetos saturados ou insaturados, já a porção polar é formada por grupamentos carboxílicos, hidroxílicos, os quais podem ser estereficados, ou aminas secundárias e terciárias (BRANDÃO, 1997; DALTIN, 2011).

Hidrótropos são substâncias com característica tensoativas que promovem o efeito de hidrotropia (aumento de solubilidade). E desta forma, a função dos hidrótropos é permitir o aumento da solubilidade em meio aquoso e nos sistemas das NCLL auxiliam a formação de canais de água (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GUO et al., 2010).

### 3.7.1 Monolaurato de polioxietileno sorbitano

O monolaurato de polioxietileno sorbitano ou polissorbato 20 (Tween 20<sup>®</sup>) (Figura 4) é um tensoativo não-iônico (EHL 16,7), com fórmula molecular C<sub>58</sub>H<sub>114</sub>O<sub>26</sub>, massa molar 1128,0 g.mol<sup>-1</sup>. Embora, seja amplamente utilizado como agente emulsificante e solubilizante, o Tween 20<sup>®</sup>, também pode ser utilizado como hidrótropo.

Os polissorbatos são compostos por óxido de etileno e obtidos a partir do sorbitol. O Sorbitol é desidratado e transformado em sorbitano (anidrido cíclico de sorbitol), que é parcialmente esterificado com ácido oleico ou esteárico, para se obter um éster hexitano e por fim, o óxido de etileno é adicionado para se obter o polissorbato (ROWE, 2006).





Fonte: ROWE, 2006.

#### 3.7.2 Monoestearato de sorbitano

Monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>), representado estruturalmente na Figura 5, é um tensoativo não-iônico (EHL 4,7) com fórmula molecular C<sub>24</sub>H<sub>46</sub>O<sub>6</sub>, massa molar de 430,7 g.mol<sup>-1</sup>. O Span 60<sup>®</sup> é obtido pela desidratação do sorbitol formando o hexitano (1,4-sorbitano), o qual é esterificado com ácidos graxos. O Span 60<sup>®</sup> pode ser utilizado como tensoativo, agente solubilizante e também como hidrótropo (ROWE, 2006).

Figura 5 - Representação esquemática da estrutura química do monoestearato de sorbitano



Fonte: SIGMA-ALDRICH, 2016.

#### 3.7.3 Lauril sulfato de sódio

Lauril sulfato de sódio (LSS) ou Sulfato dodecil de Sódio (SDS) (Figura 6) é tensoativo aniônico da classe dos sulfonatos (EHL 40) obtido pela sulfatação de ácido sulfúrico com dodecanol (álcool láurico) seguido pela neutralização com carbonato de sódio ou hidróxido de sódio. O LSS comumente é utilizado como agente emulsificante, tensoativo e hidrótropo. O LSS apresenta fórmula de C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S e massa molar de 288.4 g.mol<sup>-1</sup> (ANDO; KUWABARA; MORI, 2012; ROWE, 2006).





Fonte: ROWE, 2006

#### 3.7.4 Poloxamer 407

Poloxamer 407 (P407) (EHL 23) é uma substância composta de copolímeros sintetizados por polimeração sequencial de monômeros de óxido de etileno e óxido de propileno na presença de hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio. A molécula de poloxamer (Figura 7) é composta por grupos hidrofílicos de polioxietileno (PEO) intercalado por grupo hidrofóbico de polioxipropilenos (PPO) (RICCI et al., 2002).

Figura 7 - Representação esquemática da estrutura química do copolímero



Fonte: TALASAZ; et al., 2008.

O P407 possui propriedades anfifílicas que dependem da relação em massa entre PEO:PPO. Portanto, a lipofilicidade e hidrofilicidade é modificada pela variação da razão molar entre os grupos PEO:PPO. Com relação em massa de PEO:PPO de 2:1 o P407 apresenta mais hidrofílico e com massa molecular nominal de 12.600g.mol<sup>-1</sup>.

O P407 é utilizado como agente dispersante, emulsificante, coemulsificante, solubilizante e também como hidrótropo (ROWE, 2006). E tem sido utilizado em sistemas para aumentar a propriedade bioadesiva, modular a viscosidade e liberação de fármacos em diferentes vias de administração como vaginal, oftálmicas, intravenosa, pulmonar e oral (ALVES, 2015; TALASAZ; et al., 2008; YUAN et al., 2012).

#### 3.8 Curcumina

A Curcumina (CUR) (1,7-bis (4-hydroxy- 3-methoxyphenyl)-1,6heptadiene-3,5-dione) é um composto fitoquímico presente no rizoma do açafrão-da-índia, da classe dos polifenólicos e é a principal substância bioativa dos curcuminoides (ANUCHAPREEDA et al., 2012; SUETH-SANTIAGO et al., 2015). A estrutura química da CUR é apresentada na Figura 8. A CUR apresenta massa molecular igual 368,38 g/mol<sup>-1</sup> e ponto de fusão de 183°C (SANTOS, 2015; SILVA et al., 2016).

Figura 8 – Representação esquemática da estrutura química da curcumina (1) éter, (2) fenol, (3) cetona e (4) enol



Fonte: Adaptado de WANG et al., 2011.

As principais propriedades farmacológicas comumente relatadas para CUR, entre outras descritas na literatura são: anticoagulante (SHAH et al., 1999), antifúngica (MARTINS et al., 2009), anti-inflamatória (BROUET; OHSHIMA, 1995), antimalárica (CHAKRABARTI et al., 2013; RASMUSSEN et al., 2000), antioxidante (SHARMA, 1976) e antitumoral (WILKEN et al., 2011).

Agrawal et al., (2010) descreveram sobre o efeito da CUR nos os receptores cerebrais de insulina e na função de memória em ratos com demência. Nesse estudo a CUR apresentou atividade neuroprotetota e reduziu danos oxidativos. Assim, a CUR foi indicada para aplicação no tratamento de doenças neurodegenerativas como o mal de Alzheimer e mal de Parkinson.

Contudo, a biodisponibilidade da CUR por via oral é limitada devido à baixa solubilidade em água (MARGULIS et al., 2014; SUETH-SANTIAGO et al., 2015). Além disso, a estabilidade química é afetada pela luz e oxidação. Essas características biofarmacotécnicas tornam a CUR um composto em potencial para veiculação em sistemas nanoparticulados na forma de CLL, obtido a partir de sistemas emulsionados. Nestes sistemas, a CUR está molecularmente dispersa no domínio lipídico do CLL, protegida da degradação oxidativa catalisada pela luz e sua biodisponibilidade se torna menos dependente da solubilidade aquosa (CUI et al., 2009; TIYABOONCHAI, et al., 2007).

## 3.9 Avaliação da estabilidade físico-química e caracterização morfológica

#### 3.9.1 Ensaio de centrifugação

O ensaio de centrifugação é um teste de estabilidade, no qual emprega a força de gravidade, fazendo com que as partículas se movam no interior da amostra. O ensaio provoca estresse na amostra, devido ao aumento da mobilidade das partículas (BRASIL, 2004; MASSON et al., 2005). Para sistemas com baixa estabilidade termodinâmica, a centrifugação acelera a coalescência, agregação ou separação das fases dispersa e dispersante (TADROS, 2004).

#### 3.9.2 Ensaio de variação térmica

O ensaio de variação térmica é um teste de estabilidade, no qual, as amostras são submetidas intencionalmente a mudanças significativas de temperatura, e com isso são mantidas em aquecimento gradual na faixa entre 40 e 80°C. As amostras que sofrem qualquer tipo de alteração macroscópica nesse estudo sugere possível instabilidade do sistema (BRANCONI; et al.,1995; PIANOVSKI et al., 2008). As instabilidades comumente observadas são coalescência, flutuação ou sedimentação e separação de fases (TADROS, 2004).

# 3.9.3 Potencial Zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade

O potencial zeta e a mobilidade eletroforética são determinadas por microeletroforese. O equipamento emprega espalhamento dinâmico de luz (DLS) para medida do diâmetro das partículas, e espalhamento de luz por análise de fase (PALS) para determinação da carga elétrica da superfície das partículas (potencial zeta) e a distribuição multimodal dos tamanhos das partículas é avaliado pelo índice de polidispersidade (EL-REFAIE et al., 2015).

#### 3.9.4 Potencial hidrogeniônico

A medida do potencial hidrogeniônico (pH) envolve leituras potenciométricas de pH em meio aquoso com controle da temperatura do meio. A medida do pH em diferentes tempos é utilizada para avaliar alterações químicas das amostras em função do tempo e da temperatura de armazenamento (BRASIL, 2004).

# 3.9.5 Condutividade iônica em função do aumento da temperatura

A condutividade iônica ou condutância específica avalia as medidas de resistividade elétrica (AOUADA, 2005; NASCIMENTO, 2015) e a capacidade da condução elétricas das amostras (URBAN, 2004). Portanto, o ensaio de condutividade iônica é utilizada para avaliar instabilidades e alterações físicas em função do aumento gradual da temperatura.

#### 3.9.6 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma ensaio termoanalítico. Resumidamente, a energia é fornecida simultaneamente para o cadinho de referência (branco) e para a amostra. O resultado da diferença de calor requerido pela amostra e branco determinam a quantidade de calor absorvido (endotérmico) ou liberado (exotérmico) pelas moléculas (COOPER et al., 2001).

A transição de fase, desidratações, reduções ou reações de decomposição são expressas por eventos endotérmicos, já os eventos exotérmicos são cristalizações, oxidações, ou reações de decomposição. O ensaio é utilizado para caracterização de materiais ou produtos e avaliação direta da energia térmica absorvida, na qual ocorre em faixa de temperatura determinada, e principalmente para avaliar alterações na forma cristalina, entalpia de fusão, variação na temperatura calorífica, temperatura crítica de micelização e reticulação, além da temperatura de degradação (COOPER et al., 2001).

## 3.9.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Estudos de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) consiste na medida de absorbância ou transmitância das energias emitidas pelos estiramentos das ligações interatômicas dos grupamentos químicos. Os espectros são obtidos pelo cálculo da transformada de Fourier, reproduzidos na forma de gráfico de tempo em função da intensidade do sinal denominado interferograma. Os resultados são utilizados para identificação de possíveis interações químicas ou incompatibilidades na estrutura orgânica devido à interação das moléculas (SILVERSTEIN et al., 1991, SILVERSTEIN et al., 2000).

# 3.9.8 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada e confocal a laser

A microscopia de luz polarizada é um ensaio para caracterização de estruturas cristalinas, onde são observadas anisotropia, formação de lamelas e presença de CLL. O princípio desta análise é baseada no fenômeno da birrefringência óptica. A birrefringência é a formação da dupla refração apresentada por materiais cristalinos, e está relacionada com a velocidade e direção de propagação da luz polarizada, em função da anisotropia dos arranjos de CLL, como apresenta os formato lamelar (cruz de malta) e hexagonal. Os CLL no formato cúbicos não apresentam birrefringência (isotrópico), requerendo análise complementar para identificação (PAN et al., 2013).

O ensaio de microscopia confocal a laser é uma caracterização microscópica de alta resolução, dentre os demais métodos ópticos. Este ensaio é utilizado para analisar a anisotropia, formação de lamelas e presença de CLL em diferentes orientações, devido o ensaio construir imagens tridimensionais em diferente plano focal, além do *laser* conseguir obter fatias ópticas finas em resolução sub-nanométrica.

## 3.9.9 Análise das propriedades mecânicas

As medidas de propriedades mecânicas são realizadas usando o analisador de textura, com capacidade para avaliar determinadas características físicas das formulações, tais como dureza, adesividade, compressibilidade e coesividade. O ensaio de textura é empregados com a finalidade de determinar a resistência do material, a força mecânica, compressão e tensão relacionadas às propriedades dos materiais, efeitos de reologia de sólido, semissólido e líquidos viscosos. As propriedades mecânicas citadas são correlacionadas com a tensão de deformação e compressão (ALVES, 2015; AOUADA, 2005; FONSECA-SANTOS, 2015).

#### 4. CONCLUSÃO

Os CL são considerados um sistema biomimético e mesofase cristalina de transição entre sólido cristalino e o líquido isotrópico. Diante disso, os CL apresentam características físicas de sólido (rigidez) e líquido (fluidez) e são classificados pelo grau de ordem molecular como ordenado (sólidos cristalinos) e desordenado (líquidos isotrópicos). Os CL tem capacidade de apresentar arquiteturas distintas, devido aos diferentes arranjos e alinhamentos das moléculas, como por exemplo, os CLs lamelar, cúbicos e hexagonal.

Com isso, os CL apresentam diferentes aplicações. A aplicação mais descrita está relacionada com a capacidade de carrear fármacos, e desta forma poder promover a liberação de fármaco em diferentes vias de administração. As vias comumente descritas são oral, periodontal, vaginal e parenteral. E apresentam potencial para veiculação e incorporação de fármacos lipofílicos, hidrofílicos e substâncias bioativas.

Desta forma, a CUR, fármaco modelo do estudo, por apresentar algumas barreiras biofarmacotécnicas como baixa solubilidade em água e ter a estabilidade química afetada pela degradação oxidativa catalisada pela luz, ao ser veiculada nos sistemas CL e apresentar dispersa molecularmente no domínio lipídico, pode sugerir aumento da solubilidade e biodisponibilidade, promovendo melhor absorção e em consequência aumento do potencial de ação farmacológico.

## 5. REFERÊNCIAS

ACHOURI, D. et al. Self-assembled liquid crystalline nanoparticles as an ophthalmic drug delivery system. Part I: influence of process parameters on their preparation studied by experimental design. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 9045, n. 3, p. 1–7, 2013.

AGRAWAL, R. et al. Effect of curcumin on brain insulin receptors and memory functions in STZ (ICV) induced dementia model of rat. **Pharmacological Research**, v. 61, n. 3, p. 247–252, 2010.

AKARTUNA, I. et al. Macroporous polymers from particle-stabilized emulsions. **Polymer**, v. 50, n. 15, p. 3645–3651, 2009.

ALAM, M. M. et al. Phase behavior and rheology of oil-swollen micellar cubic phase and gel emulsions in nonionic surfactant systems. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 341, n. 2, p. 267–272, 2010.

ALAM, M. M.; ARAMAKI, K. Hexagonal phase based gel-emulsion (O/H1 gelemulsion): Formation and rheology. **Langmuir**, v. 24, p. 12253–12259, 2008.

ALAM, M. M.; ARAMAKI, K. Liquid crystal-based emulsions: progress and prospects. **Journal of oleo science**, v. 63, n. 2, p. 97–108, 2014.

ALEANDRI, S. et al. Design of Light-Triggered Lyotropic Liquid Crystal Mesophases and Their Application as Molecular Switches in "On Demand" Release. **Langmuir**, v. 31, n. 25, p. 6981–6987, 2015.

ALLEN JR., L.V. et al., Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. 9º Edição ed. Porto Alegre, 1-716, 2013.

ALVES, T. F. R. Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis termorresponsivos para administração vaginal e veiculação de curcumina. **Dissertação -Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas**, 2016.

ANDO, N. et al., Surfactant effects on hydrate formation in an unstirred gas/liquid system: An experimental study using methane and micelle-forming surfactants. **Chemical Engineering Science**, v. 73, p. 79–85, 2012.

ANUCHAPREEDA, S. et al. Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. **Journal of Nanotechnology**, v. 2012, 2012.

AOUADA, F. A. Síntese e caracterização óptica, morfológica e mecânica de hidrogéis de poliacrilamida com material eletro-óptico confinado: polímero condutor e cristais líquidos. **Universidade estadual de Maringá**, 2005.

ARYA, S. K. et al., Fundamentals and applications of Biosensors. **Proceedings** of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, v. 72, n. 4, p. 246–266, 2006.

ATALLAH, A. M.; NICHOLAS, H. J. Function of Steryl Esters in Plants : A Hypothesis That Liquid Crystalline Properties of Some Steryl Esters May Be Significant in Plant Sterol Metabolism 1. n. 8, p. 613–622, 1974.

BEATTY, W. L. et al. Trafficking and Release of Mycobacterial Lipids from Infected Macrophages. p. 235–247, 2000.

BECHTOLD, I. H. Cristais líquidos: Um sistema complexo de simples aplicação. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. v.27, n.3, p. 333–342, 2005.

BLIN, J. L. et al. Fluorinated emulsions: Templates for the direct preparation of macroporous-mesoporous silica with a highly ordered array of large mesopores. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 94, n. 1–3, p. 74–80, 2006.

BONIFÁCIO, B. V. et al. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: A review. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2013.

BORGHETI-CARDOSO, L. N. et al. Self-assembling gelling formulation based on a crystalline-phase liquid as a non-viral vector for siRNA delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 1, p. 72–82, 2014.

BOYD, B. J. et al. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1–2, p. 218–226, 2006.

BRANCONI, F. L.; et al. Aplicação cosmética do óleo de canola. **In: Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos**, v. 12, p. 6–19, 1995.

BRANDÃO, M. S. B. Substâncias Tensoativas. **Pesquisa Fapesp**, p. 30–34, 1997.

BRASIL. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Agência de Vigilância Sanitária**, v. 1, 2004.

BROUET, I.; OHSHIMA, H. Curcumin, an anti-tumour promoter and antiinflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. **Biochemical and biophysical research communications**, **Biochemical and biophysical research communications**, 206, 533-540, 1995.

CAMPBELL, B. J. et al. Systemic absorption of topical lidocaine in normal volunteers, patients with post-herpetic neuralgia, and patients with acute herpes zoster. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 5, p. 1343–1350, 2002.

CARLIN ET AL., N. Birrefrigerência em placas de onda e atividade óptica de uma solução de açúcar. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. v.27 n.3, p. 349–355, 2005.

CARLTON, R. J. et al. Chemical and biological sensing using liquid crystals.

Liquid crystals reviews, v. 1, n. 1, p. 29–51, 2013.

CARVALHO, F. C. et al. Nasal administration of liquid crystal precursor mucoadhesive vehicle as an alternative antiretroviral therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 1, p. 219–227, 2013.

CHAKRABARTI, R. et al. Cellular Effects of Curcumin on Plasmodium falciparum Include Disruption of Microtubules. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–14, 2013.

CHAZOTTE, B.; WU, E. S.; HACKENBROCK, C. R. The mobility of a fluorescent ubiquinone in model lipid membranes. Relevance to mitochondrial electron transport. **BBA - Bioenergetics**, v. 1058, n. 3, p. 400–409, 1991.

CHEN, Y.; PING MA; SHUANGYING, G. Cubic and Hexagonal Liquid Crystals as Drug Delivery Systems. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 815981, 2014.

CHORILLI, M. Desenvolvimento e caracterização físico-química de sistemas nanoestruturados contendo palmitato de retinol: Controle microbiológico, avaliação da segurança e eficácia no tratamento do envelhecimento cutâneo. **Universidade estadual paulista "Júlio de Mesquita Filho"**, Araraquara, 2001.

CLOGSTON, J. et al. Controlling release from the lipidic cubic phase by selective alkylation. **Journal of Controlled Release**, v. 102, n. 2, p. 441–461, 2005.

COOPER, A. et al. Heat does not come in different colours: Entropy-enthalpy compensation, free energy windows, quantum confinement, pressure perturbation calorimetry, solvation and the multiple causes of heat capacity effects in biomolecular interactions. **Biophysical Chemistry**, v. 93, n. 2–3, p. 215–230, 2001.

CUI, J. et al. Enhancement of oral absorption of curcumin by selfmicroemulsifying drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1–2, p. 148–155, 2009.

DALTIN, D. Tensoativos: química, propriedades e aplicações, 43, 2011.

DE KRUIJFF, B. Lipid polymorphism and biomembrane function. **Current** opinion in chemical biology, v. 1, n. 4, p. 564–569, 1997.

DOGIC, Z.; FRADEN, S. Development of model colloidal liquid crystals and the kinetics of the isotropic-smectic transition. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 359, n. 1782, p. 997–1015, 2001.

DOUAIRE, M. et al. Fat crystallisation at oil-water interfaces. Advances in

#### **Colloid and Interface Science**, v. 203, p. 1–10, 2014.

ECCHER, J. Estudo de Mesofases Líquido-Cristalinas Através de Processamento Digital de Texturas Ópticas. **Universidade Federal de Santa Catarina Centro de ciências físicas e matemáticas e pós graduação em física**, 2010.

EFRAT, R.; ASERIN, A.; GARTI, N. Synergistic Solubilization of Mixed Nutraceuticals in Modified Discontinuous Micellar Cubic Structures. In: DICKINSON, E.; LESER, M. E. (Eds.). . **Foods Colloids - Self Assembly and Materials Science**. Cambridge: RSC Publisher, 2007. p. 87–102.

EL-REFAIE, W. M. et al. Novel curcumin-loaded gel-core hyaluosomes with promising burn-wound healing potential: Development, in-vitro appraisal and in-vivo studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 486, n. 1–2, p. 88–98, 2015.

ESQUENA, J. et al. Preparation of mesoporous/macroporous materials in highly concentrated emulsions based on cubic phases by a single-step method. **Langmuir**, v. 28, n. 33, p. 12334–12340, 2012.

FEHÉR, A. et al. Lyotropic liquid crystal preconcentrates for the treatment of periodontal disease. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 358, n. 1–2, p. 23–26, 2008.

FIRESTONE, M. A. et al. Lyotropic liquid-crystalline gel formation in a room-temperature ionic liquid. **Langmuir**, v. 18, n. 20, p. 7258–7260, 2002.

FLORENCE, A. T. et al., Princípios Físico-químicos em Farmácia. 2003.

FONSECA-SANTOS, B. Sistemas precursores de cristais liquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal. **Programa de Pós-graduação Farmacêuticas, Ciências**, 2015.

GANEM-QUINTANAR, A. et al. Monoolein: A Review of the Pharmaceutical Applications. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 8, p. 809–820, 2000.

GARIDEL, P. et al. Self-Organisation, Thermotropic and Lyotropic Properties of Glycolipids Related to their Biological Implications. **The Open Biochemistry Journal**, 49–72, 2015.

GARTI, N. et al. Reverse hexagonal mesophases (Hn) and uses there of field of the invention, 2010.

GERAGHTY, P. B. et al. The in vitro release of some antimuscarinic drugs from monoolein/water lyotropic liquid crystalline gels. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 8, p. 1265–1271, 1996.

GIRAUD-GUILLE, M.-M. et al. Liquid crystalline properties of type I collagen :

Perspectives in tissue morphogenesis. C. R. Chimiev. 11, p. 245–252, 2008.

GUO, C. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23–24, p. 1032–1040, 2010.

GUPTA, J. K.; ABBOTT, N. L. Principles for manipulation of the lateral organization of aqueous-soluble surface-active molecules at the liquid crystal - Aqueous interface. **Langmuir**, v. 25, n. 4, p. 2026–2033, 2009.

GUPTA, S.; KESARLA, R.; OMRI, A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on selfemulsifying systems. **ISRN pharmaceutics**, v. 2013, p. 848043, 2013.

GUSTAFSSON, J. et al. Submicron Particles of Reversed Lipid Phases in Water Stabilized by a Nonionic Amphiphilic Polymer. **Langmuir**, v. 13, n. 26, p. 6964–6971, 1997.

HALLENSLEBEN, M. L.; KABUS-HENKE, A. Monomeric and polymeric amphiphiles with oligofunctional carboxylic headgroups. **Polymer Bulletin**, v. 28, n. 3, p. 251–258, 1992.

HIRST, L. S.; UPPAMOOCHIKKAL, P.; LOR, C. Phase separation and critical phenomena in biomimetic ternary lipid mixtures. **Lyquid Crystal**, v. 38, n. 11–12, p. 1735–1747, 2011.

HUSSAIN, Z. et al. Liquid crystal based sensing platform-technological aspects. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 85, p. 110–127, 2016.

HWANG, J. J. et al. Self-assembling biomaterials: liquid crystal phases of cholesteryl oligo(L-lactic acid) and their interactions with cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 15, p. 9662–9667, 2002.

HYDE, S. T. Bicontinuous structures in lyotropic liquid crystals and crystalline hyperbolic surfacesCurrent Opinion in Solid State and Materials Science, 1996.

ISRAELACHVILI, J. N. Intermolecular and surfaces forces. **New York: Academic**, 1991.

KADHUM, W. R. et al. Usefulness of liquid-crystal oral formulations to enhance the bioavailability and skin tissue targeting of p-amino benzoic acid as a model compound. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, p. 282– 290, 2016.

KAUR, R. et al. Effect of pH on the control of molecular orientation in monolayer of bent-core liquid crystal materials by Langmuir–Blodgett method. Liquid **Crystals**, v. 42, n. 1, p. 8–17, 2014.

KE, D. et al. Microfluidic biosensor using liquid crystal. 2011 Proceedings of

#### **IEEE Southeastcon**, p. 42–44, 2011.

KHAN, M.; PARK, S.-Y. Liquid crystal-based glucose biosensor functionalized with mixed PAA and QP4VP brushes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 68, p. 404–412, 2015.

KHAN, M.; PARK, S. Y. Liquid crystal-based proton sensitive glucose biosensor. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 3, p. 1493–1501, 2014.

KIM, D.-H. et al. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery: a review. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 45, n. 1, p. 1–11, 2014.

KULKARNI, C. V et al. Monoolein: a magic lipid? **Phys. Chem. Chem. Phys**, v. 13, 3004–3021, 2011.

LACZKÓ-DOBOS, H.; SZALONTAI, B. Lipids, proteins, and their interplay in the dynamics of temperature-stressed membranes of a cyanobacterium, Synechocystis PCC 6803. **Biochemistry**, v. 48, n. 42, p. 10120–10128, 2009.

### LAGERWALL, J. P. F.; SCALIA, G. A new era for liquid crystal research: Applications of liquid crystals in soft matter nano-, bio- and microtechnologyCurrent Applied Physics, 2012.

LAI, J. et al. Glyceryl monooleate/poloxamer 407 cubic nanoparticles as oral drug delivery systems: I. In vitro evaluation and enhanced oral bioavailability of the poorly water-soluble drug simvastatin. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 960–6, 2009.

LAI, J. et al. Pharmacokinetics and enhanced oral bioavailability in beagle dogs of cyclosporine A encapsulated in glyceryl monooleate/poloxamer 407 cubic nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, n. 1, p. 13–23, 2010.

LANCELOT, A. et al., Nanostructured liquid-crystalline particles for drug delivery. **Expert Opin Drug Deliv**, v. 11, n. 4, p. 547–564, 2014.

LARA, M. G.; BENTLEY, M. V. L. B.; COLLETT, J. H. In vitro drug release mechanism and drug loading studies of cubic phase gels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 293, n. 1–2, p. 241–250, 2005.

LARSON, R. G. The structure and rheology of complex fluids. **New York: Oxford University Press**. New York, 1999.

LARSSON, K. Cubic Lipid-Water Phases : Structures and Biomembrane Aspects. **The journal of Physical Chemistry**, v. 93, n. 21, p. 7304–7314, 1989.

LEE, D. R. et al. Liquid crystal nanoparticle formulation as an oral drug delivery system for liver-specific distribution. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 853–871, 2016.

LI, W. et al. A surfactant-encapsulated polyoxometalate complex towards a thermotropic liquid crystal. **Chemical Communications**, n. 30, p. 3785–3787, 2005.

LIAO, S. et al. Acetylcholinesterase liquid crystal biosensor based on modulated growth of gold nanoparticles for amplified detection of acetylcholine and inhibitor. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 45–49, 2012.

LIBSTER, D. et al. An HII liquid crystal-based delivery system for cyclosporin A: Physical characterization. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 308, n. 2, p. 514–524, 2007.

LIBSTER, D. et al. Concentration- and temperature-induced effects of incorporated desmopressin on the properties of reverse hexagonal mesophase. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 18, p. 6336–6346, 2009.

LIBSTER, D.; ASERIN, A.; GARTI, N. Lipid Nano-Vehicles Based on Lyitropic Liquid Crystals as Drug Delvery Vehicles. In: AHMAD, M. U. (Ed.). . Lipids in Nanotechnology. AOCS PRESS, 2012. p. 191–220.

LIN, J.; ZHU, J.; ZHOU, D. Liquid crystallization in lyotropic liquid crystalline polymers. v. 36, p. 4–9, 2000.

LINGWOOD, D.; SIMONS, K. Lipid rafts as a membrane-organizing principle. **Science (New York, N.Y.)**, v. 327, n. 5961, p. 46–50, 2010.

LIU, D.; HU, Q. Z.; JANG, C. H. Orientational behaviors of liquid crystals coupled to chitosan-disrupted phospholipid membranes at the aqueous-liquid crystal interface. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 108, p. 142–146, 2013.

LOCKWOOD, N. A.; DE PABLO, J. J.; ABBOTT, N. L. Influence of surfactant tail branching and organization on the orientation of liquid crystals at aqueous-liquid crystal interfaces. **Langmuir**, v. 21, n. 15, p. 6805–6814, 2005.

LOCKWOOD, N. A.; GUPTA, J. K.; ABBOTT, N. L. Self-assembly of amphiphiles, polymers and proteins at interfaces between thermotropic liquid crystals and aqueous phases. **Surface Science Reports**, v. 63, n. 6, p. 255–293, 2008.

LOPES, L. B. 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, 2006.

LUZZATI, V.; HUSSON, F. The structure of the liquid-crystalline phasis of lipidwater systems. **The Journal of cell biology**, v. 12, p. 207–219, 1962.

MADSEN, L. A. et al. Thermotropic Biaxial Nematic Liquid Crystals. Physical

**Review Letters**, v. 94, n. 14, p. 145505–1, 2004.

MAITI, K. et al. Curcumin-phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 330, n. 1–2, p. 155–163, 2007.

MANNA, U. et al. Liquid crystal chemical sensors that cells can wear. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 52, p. 14011–14015, 2013.

MARGULIS, K. et al. Formation of curcumin nanoparticles by flash nanoprecipitation from emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 434, p. 65–70, 2014.

MARTIEL, I. et al. Oil and drug control the release rate from lyotropic liquid crystals. **Journal of Controlled Release**, v. 204, p. 78–84, 2015.

MARTINS, C. V. B. et al. Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 337–339, 2009.

MASSON, D. S. et al. Polyhydroxy Alcohols and Peach Oil Addition Influence on Liquid Crystal Formation and Rheological Behavior of O/W Emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 463–468, 2005.

MILAK, S.; ZIMMER, A. Glycerol monooleate liquid crystalline phases used in drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 478, n. 2, p. 569–587, 2015.

MUELLER-GOYMANN, C. C.; FRANK, S. G. Interaction of lidocaine and lidocaine-HCl with the liquid crystal structure of topical preparations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 29, n. 2–3, p. 147–159, 1986.

MULDER, D. J.; J., B. A. P. H.; SCHENNING M., C. W. as one dimensional photonic materials in optical sensors. **Journal of Materials Chemistry**, v. 2, p. 6695–6705, 2014.

NASCIMENTO, M. L. F. Condutividade iônica em vidros. **Universidade** Federal da Bahia, v. Departamen, 2015.

NAZARUK, E. et al. Design and assembly of pH-sensitive lipidic cubic phase matrices for drug release. **Langmuir**, v. 30, n. 5, p. 1383–1390, 2014.

NEVILLE, A. C.; LUKE, B. M. A Biological System Producing a Self-Assembling Cholesteric Protein Liquid Crystal. **J. Cell Sci.**, v. 8, n. 1, p. 93–109, 1971.

PALEOS, C. M.; TSIOURVAS, D. Liquid crystals from hydrogen-bonded amphiphiles. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 6, n. 3, p. 257–267, 2001.

PAN, X. et al. Nanostructured cubosomes as advanced drug delivery system. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 35, p. 6290–7, 2013.

PARK, J. et al. Azobenzene-functionalized metal-organic polyhedra for the optically responsive capture and release of guest molecules. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 23, p. 5842–5846, 2014.

PARTHASARATHI, S. et al., The influence of droplet size on the stability, in vivo digestion, and oral bioavailability of vitamin E emulsions. **Food & Function.** 2294-2302, 2016.

PATRA, D. et al. Dual stimuli-responsive, rechargeable micropumps via "host-guest" interactions. **ACS Nano**, v. 7, n. 9, p. 7674–7679, 2013.

PIANOVSKI, A. R. et al. Uso do óleo de pequi (Caryocar brasiliense) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 249–259, 2008.

POYATO, C. et al. Optimization of a gelled emulsion intended to supply fatty acids into meat products by means of response surface methodology. **Meat Science**, v. 98, n. 4, p. 615–621, 2014.

PRIETO, I. et al. Nanoscale Materials. In: LIZ-MARZÁN, L. M.; KAMAT, P. V (Eds.). . Boston, MA: Springer US, p. 303–333, 2003.

RAHANYAN-KÄGI, N. et al. Stimuli-responsive lipidic cubic phase: triggered release and sequestration of guest molecules. **Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, v. 21, n. 5, p. 1873–1877, 2015.

RAMOS, M. A. DOS S. Syngonanthus nitens (Bong.) Ruhland: Caracterização biológica e prospecção terapêutica do extrato metanólico incorporado ou não em sistema nanoestruturado para aplicação no tratamento da candidíase vulvovaginal. **Universidade estadual Paulista**, 2003.

RASMUSSEN, H. B. et al. A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of Curcuma longa. **Planta Medica**, v. 66, n. 4, p. 396–398, 2000.

RATTANAPAK, T. et al. Comparative study of liposomes, transfersomes, ethosomes and cubosomes for transcutaneous immunisation: Characterisation and in vitro skin penetration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 11, p. 1560–1569, 2012.

REY, A. D. Liquid crystal models of biological materials and processes. p. 3402–3429, 2010.

RICCI, E. J. et al. Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 3, p. 161–167, 2002.

RODRÍGUEZ-ABREU, C.; LAZZARI, M. Emulsions with structured continuous phases. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 198–205, 2008.

ROWE, R. C. ET AL. **Handbook of pharmaceutical excipients**. London/Chicago: Pharmaceutical Press, 2006.

SALMAZI, R. et al. A Curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 4815–4824, 2015.

SANTOS, G. A. DOS. Avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana da curcumina e do pirocatecol na manutenção da qualidade do biodiesel Avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana da curcumina e do pirocatecol na manutenção da. Acadêmica, Pró-reitoria Em, Programa D E Pós-graduação, 2015.

SHAH, B. H. et al. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor- and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca2+ signaling. **Biochemical Pharmacology**, v. 58, n. 7, p. 1167–1172, 1999.

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.

SHARMA, O. P. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. **Biochemical Pharmacology**, v. 25, n. 15, p. 1811–1812, 1976.

SHUKR, M. Formulation, in vitro and in vivo evaluation of lidocaine HCl ocular inserts for topical ocular anesthesia. **Archives of Pharmacal Research**, v. 37, n. 7, p. 882–889, 2014.

SIGMA-ALDRICH. Span 60. Product specification. Estados Unidos, 2016.

SILVA, M. C. et al. Avaliação do método de obtenção de scaffolds quitosana / curcumina sobre a estrutura , morfologia e propriedades térmicas Evaluation of the obtaining method of chitosan / curcumin scaffolds on the structure, morphology and thermal properties. p. 560–568, 2016.

SILVERSTEIN, R.M. et al. **Spectrometric indentification of organic** compounds. 5. ed. 1991.

SILVERSTEIN, R.M. et al. **Identificação espectrofotométrica de compostos** orgânicos. 6. ed. 2000.

STEPHEN, M. J.; STRALEY, J. P. Physics of liquid crystals Liquid Crystals in General. **Reviews of Modern Physics** v. 46, 1975.

SUETH-SANTIAGO, V. et al. Curcumina, O Pó Dourado Do Açafrão-Da-Terra:

Introspecções Sobre Química E Atividades Biológicas. **Quim. Nova**, v. 38, n. 4, p. 538–552, 2015.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the longterm physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science.** 108–109, 2004

TALASAZ, H. H.; ET AL. In situ gel forming systems of poloxamer 507 and hydroxypropyl methylcellulose mixtures for controlled delivery of vancomycin. **Journal of aplied polymers science**, v. 4, p. 2369–2374, 2008.

TERJUNG, N. et al. Influence of droplet size on the efficacy of oil-in-water emulsions loaded with phenolic antimicrobials. **Food & function**, v. 3, n. 3, p. 290–301, 2012.

THIVILLIERS, F. et al. Thermally induced gelling of oil-in-water emulsions comprising partially crystallized droplets: The impact of interfacial crystals. **Langmuir**, v. 24, n. 23, p. 13364–13375, 2008.

TILCOCK, C. P. S. Lipid polymorphism. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 40, n. 2–4, p. 109–125, 1986.

TIYABOONCHAI, W.; TUNGPRADIT, W.; PLIANBANGCHANG, P. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 337, n. 1–2, p. 299–306, 2007.

TURNER, A. P.; WILSON, G. Biosensors Fundamentals and Applications. 1989.

URBAN, M. C. C. Desenvolvimento de sistemas de liberação mico e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona. Dissertação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Araraquara, 2004.

VAKILI, V.; SHU, L. H. Towards Biomimetic Concept Generation. **ASME 2001 Design Engineering Technical Conferences**. v. 4, p. 1–9, 2001.

VERMA, P.; AHUJA, M. Optimization, characterization and evaluation of chitosan-tailored cubic nanoparticles of clotrimazole. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 73, n. 1, p. 138–145, 2015.

VERMA, P.; PATHAK, K. Therapeutic and cosmeceutical potential of ethosomes: An overview. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 1, n. 3, p. 274, 2010.

VILELA, C. A. A.; ARTUR, P. O. Secagem do açafrão (Curcuma longa L.) em diferentes cortes geométricos Food Science and Technology (Campinas) scielo. 2008.

WANG, S. et al. Nanotechnologies for curcumin: An ancient puzzler meets

modern solutions. Journal of Nanomaterials, 2011.

WEBBER, M. J. et al. Supramolecular biomaterials. **Nature Materials**, v. 15, n. 1, p. 13–26, 2015.

WELLS, D.; FONG, C.; DRUMMOND, C. J. Nonionic urea surfactants: Formation of inverse hexagonal lyotropic liquid crystalline phases by introducing hydrocarbon chain unsaturation. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 25, p. 12660–12665, 2006.

WILKEN, R. et al. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. **Molecular cancer**, v. 10, p. 12, 2011.

WILLNER, I.; KATZ, E. Integration of Layered Redox Proteins and Conductive Supports for Bioelectronic Applications. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 39, p. 1180–1218, 2000.

WÖRLE, G. et al. Influence of composition and preparation parameters on the properties of aqueous monoolein dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 150–157, 2007.

WU, Q. Y.; LIANG, Q. Interplay between curvature and lateral organization of lipids and peptides/proteins in model membranes. **Langmuir**, v. 30, n. 4, p. 1116–1122, 2014.

YAN, Y.-D. et al. Enhanced oral bioavailability of curcumin via a solid lipidbased self-emulsifying drug delivery system using a spray-drying technique. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 34, n. August, p. 1179–1186, 2011.

YANG, E. Y.; KRONENFELD, J. P.; STABLER, C. L. Engineering Biomimetic Materials for Islet Transolantation. **Current Diabetes Review**, v. 11, n. 3, p. 163–169, 2015.

YARIV, D. et al. In vitro permeation of diclofenac salts from lyotropic liquid crystalline systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, n. 2, p. 185–192, 2010.

YUAN, Y. et al. Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 430, n. 1–2, p. 114–119, 2012.

ZAKREVSKYY, Y. Liquid Crystallinity and Alignment of Ionic Self-Assembly Complexes. p. 118, 2006.

ZANCHETTA, B.; CHAUD, M. V.; SANTANA, M. H. A. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) in Pharmaceutical Development. **Journal of Advanced Chemical Engineering**, v. 5, n. 3, 2015.

ZANCHETTA, B.; et al. Design and Development of self-emulsifying drug

delivery systems novel cardiosctive N-acylhydrazone compound. International Journal of Nanotechnology and Nanoscience, v. 4, p. 1–13, 2016.

ZENG, N. et al. Lipid-based liquid crystalline nanoparticles as oral drug delivery vehicles for poorly water-soluble drugs: Cellular interaction and in vivo absorption. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 3703–3718, 2012.

ZHONG, S.; JANG, C. H. Highly sensitive and selective glucose sensor based on ultraviolet-treated nematic liquid crystals. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 59, p. 293–299, 2014.

Capítulo II

# 6. ESTUDO DO COMPORTAMENTO FÍSICO-QUIMICO DA MONOLEÍNA NA PRESENÇA DE TENSOATIVOS E ÁGUA PARA A OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS LIOTRÓPICAS

#### 6.1 Resumo

Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas (NCLL) são nanoestruturas físicas, biomiméticas e apresentam diferentes arquiteturas formadas pela autoorganização de lipídios em meio aguoso, e morfologicamente os NCLL apresentam diferentes formas estruturais (lamelar ou cruz de malta, cúbica ou hexagonal). Os sitemas emulsionados precursores de NCLL favorecem a veiculação e liberação de fármacos lipofílicos, anfifílicos e hidrofílicos. O objetivo deste presente estudo foi obter e avaliar sistemas emulsionados precursores de NCLL. Neste estudo, o lipídio utilizado foi a monoleína (Myverol18-92K) e como tensoativos foram monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>), monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>) ou mistura dos tensoativos. Os sistemas emulsionados precursores de NCLL foram preparados pela mistura de monoleína, tensoativo e água em agitação e com controle de temperatura, de acordo com as condições experimentais. As formulações foram avaliadas guanto análise da estabilidade físico-química e caracterização estrutural, como avaliação macroscópica, ensaio de centrifugação (EC), ensaio de variação térmica (EVT), potencial zeta (PZ), diâmetro de partícula (DP), índice de polidispersidade (IPD), potencial hidrogeniônico (pH) e microscopia de luz polarizada (MLP). Após avaliação macroscópica, EC e EVT as formulações F1A, F3A e F3C à 50°C permaneceram estáveis. No período de 35 dias de acompanhamento, o PZ das formulações F1A, F3A e F3C à 50°C apresentaram valor médio entre -20 e -25mV, para DP o valor médio no período foi entre 300 e 400 nm, o IPD apresentou valor médio entre 0,25 e 0,30 e o pH o valor médio obtido foi de 6,0 e 7,0. Na caracterização de MLP as formulações F3A50°C e F3C50°C não apresentaram anisotropia, formação de lamelas ou NCLL, porém, as formulações F1A50°C após 48h de preparação apresentou NCLL com formato de cruz de malta. Desta forma, as diferentes formulações e técnicas empregadas neste estudo serviram para selecionar os componentes das formulações e as melhores condições experimentais para obtenção de NCLL.

#### 6.2 Abstract

Lyotropic liquid crystalline nanoparticles (LLCN) are physical, biomimetic nanostructures and to present different architectures formed by the selforganization of lipids in aqueous medium and morphologically the LLCN have different structural form (lamellar or maltese cross, cubic or hexagonal). The LLCN precursor emulsified systems to favor the delivery and release of lipophilic, amphiphilic and hydrophilic drugs. The objective was to obtain and evaluate LLCN precursor emulsified systems. In this study, the lipid used was monoolein (Myverol 18-92K) and as surfactants were sorbitan monostearate Span 60<sup>®</sup>) and polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20<sup>®</sup>) or mixture of surfactants. The LLCN precursor emulsified systems were prepared by the mixture of monoolein, surfactant and water, kept under agitation and with temperature control, according to the experimental conditions. The formulations were evaluated to physical-chemical stability analysis and structural characterization, such as macroscopic evaluation, centrifugation essay (CE), thermal variation essay (VTE), zeta potential (ZP), particle diameter (PD), polydispersity index (PDI), hydrogenionic potential (pH) and polarized light microscopy (PLM). After macroscopic evaluation, EC and EVT the F1A, F3A and F3C at 50°C formulations remained stable. During the 35-day follow-up period, the ZP of the formulations F1A, F3A and F3C at 50°C presented mean value between -20 and -25mV, to PD the mean value in the period was between 300 and 400 nm, the PDI presented mean value between 0.25 and 0.30 and the pH mean value obtained was 6.0 and 7.0. In the characterization of MLP the F3A50°C and F3C50°C formulations did not to present anisotropy, lamella or LLCN formation, however, the F1A50°C formulations after 48h of preparation presented LLCN maltese cross shaped. Thus, the different formulations and techniques employed in this study, served to select the components of the formulations and the better experimental conditions to obtain NCLL.

### 6.3 Delineamento experimental

O desenvolvimento dos estudos que envolveram a preparação, caracterização e seleção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL estão apresentados esquematicamente na Figura 9.

Figura 9 - Representação esquemática do delineamento experimental para o desenvolvimento e caracterização dos sistemas emulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas



Nota: Formulações: F1 - MO:Tween 20; F2 - MO:Span 60; F3- MO:Tween 20:Span 60. EC - Ensaio de centrifugação; EVT - Ensaio de variação térmica; PZ - Potencial zeta; DP - Diâmetro de partícula; IPD - Índice de polidispersidade e pH - Potencial hidrogeniônico. Fonte: Elaboração própria.

## 6.4 MATERIAL E MÉTODOS

## 6.4.1 Matéria prima

Monoestearato de glicerila (Monoleína) (Myverol 18-92K. Kerry do Brasil. Lote: 5Z10549, Brasil); Monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>. Dinâmica. Lote: 48311, Brasil); Monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>. Sigma Aldrich. Lote: SLBL1314V, USA) e água purificada (18,2 MΩ. cm<sup>-1</sup>).

# 6.4.2 Preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Para obtenção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL foi utilizado monoleína (MO) (EHL 3,0-4,0) como fase oleosa, Tween 20<sup>®</sup> (EHL 16,7) e Span 60<sup>®</sup> (EHL 4,7) como agentes tensoativos. A composição de cada formulação (F1-F3) é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição das formulações para preparação dos sistemasemulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas

Composição	Formulações			
	F1	F2	F3	
Fase oleosa				
Monoleína	3%	3%	3%	
Fase aquosa				
Água purificada qsp.	100	100	100	
Tensoativo				
Tween 20	6%	-	3%	
Span 60	-	6%	3%	

Fonte: Elaboração própria.

A preparação de cada formulação foi realizada em diferentes temperaturas (40, 45 ou 50°C). A água foi adicionada gota a gota (titulação) ou *in bolus.* A agitação foi executada por turbilhonamento (Agitador vortex. Quimis, AP 220,1. Diadema, Brasil) ou sob frequência (40 kHz) de ultrassom (Unique, USC-3300. Indaiatuba, Brasil). Estas variáveis originaram 36 formulações, e as condições experimentais são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Condições experimentais para preparação dos sistemasemulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas

Condições	Variação d	da temper	atura (⁰C)	Adição de fase aquosa	Agitação
Α	40	45	50	Titulação	Banho-ultrassom
В	40	45	50	Titulação	Turbilhonamento
С	40	45	50	In bolus	Banho-ultrassom
D	40	45	50	In bolus	Turbilhonamento

Fonte: Elaboração própria.

Uma representação esquemática do processo de preparação é mostrada na Figura 10. Resumidamente, as formulações foram obtidas pelo método de inversão de fases, conforme descrito por Brooks e Richmond (1991) com ligeiras modificações. As fases oleosa e aquosa foram previamente aquecidas (Tabela 2). Os tensoativos foram adicionados na fase oleosa, e sobre esta mistura a fase aquosa foi adicionada por titulação ou *in bolus* e concomitantemente mantida em agitação por banho de ultrassom ou turbilhonamento (vortex).

Figura 10 - Representação esquemática do processo de preparação dos sistemas emulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas



# 6.5 Avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Avaliação macroscópica das formulações consideraram os seguintes parâmetros: homogeneidade das fases, ausência de floculação ou coalescência, cremeação e sedimentação (TADROS, 2004). Este ensaio foi realizado nos tempos zero e 24 horas após a preparação da formulação.

## 6.5.1 Ensaio de centrifugação

O ensaio de centrifugação (Centrífuga. CELM, Combate. São Caetano do Sul, Brasil) foi realizado à 25°C±2 com velocidade de rotação (rpm) de 3.400 (1163G). As amostras com aproximadamente 5g foram transferidas para os tubos de centrífuga, e foram centrifugadas por 30 minutos (BRASIL, 2004, MASSON et al., 2005). Em seguida, as amostras foram avaliadas por dois

analistas e classificadas conforme os parâmetros da avaliação macroscópica (TADROS, 2004).

#### 6.5.2 Ensaio de variação térmica

No ensaio de variação térmica, o banho termostatizado (Brookfield, TC 550. Middleborough Estados Unidos) foi controlado na faixa de temperatura entre 40 e 80°C. As amostras com aproximadamente 5g, foram transferidas para os tubos de ensaio e submetidas ao aquecimento gradual e progressivo de 10°C/30min. A avaliação da estabilidade dos sistemas emulsionados precursores de NCLL foi realizada após o retorno das amostras à 25±2°C (BRANCONI; et al.,1995; PIANOVSKI et al., 2008). A seleção das amostras estáveis foram realizadas pela avaliação de dois analistas e pela classificação conforme os parâmetros da avaliação macroscópica (TADROS, 2004).

## 6.6 Avaliação da estabilidade físico-química dos sistemas emulsionados

As formulações selecionadas pela análise macroscópica foram armazenadas (25°C±2) durante 35 dias. Durante esse tempo, as formulações que permaneceram estáveis foram avaliadas quanto potencial zeta, diâmetro de partícula, índice de polidispersidade, potencial hidrogeniônico e caracterização estrutural. Para classificação das amostras foram adotados os termos "Sem modificação" (SM) e "Com modificação" (CM) em comparação ao aspecto inicial dos sistemas emulsionados.

## 6.6.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade

Para ensaio de potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade (BrookHaven – NanoBrook-90 Plus, Nova Iorque, Estados Unidos) o equipamento foi ajustado para comprimento de onda de 635 nm e ângulo fixo de 90°. As amostras foram diluídas em água purificada (1:10) e a leitura foi realizada em células eletroforética e analisadas à 25°C em triplicata. O resultado da estabilidade termodinâmica para o potencial zeta são expressos em milivolt (mV) e para diâmetro de partículas em nanômetro (nm) (EL-REFAIE et al., 2015).

#### 6.6.2 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

A medida do pH foi realizada com peagômetro digital (Tecnal, TE-5. Piracicaba, Brasil) previamente calibrado na faixa de pH entre 4-7, na temperatura de 25°C±2. As amostras analisadas foram dispersas (1:10) em água purificada e neutralizada, ajustada para o pH entre 6,9 e 7,0. As medidas foram realizadas em triplicata na temperatura de 25°C±2 (BRASIL, 2004).

#### 6.7 Seleção de amostras

As amostras classificadas como SM após avaliação macroscópica, ensaios de centrifugação, ensaio de variação térmica e acompanhamento das propriedades físico-químicas foram selecionadas para caracterização microscópica com luz polarizada.

# 6.7.1 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada

A caracterização de microscópica com luz polarizada foi utilizada para avaliar ausência ou presença de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas e/ou NCLL. As formulações selecionadas foram analisadas nos tempos zero, 24 e 48 horas após a preparação das amostras. Para a microscopia, as amostras foram depositas em lâminas de vidro e coberta com lamínula de vidro. As análises foram realizadas em microscópio (TOA25. Topcon, Tóquio. Japão) em modo de luz polarizada com campo claro, contraste automático com resolução em alta exposição para controle e ajuste de nitidez, e três condições de ajuste de refração de 1, 1/2 e 1/4 de comprimento de onda ( $\Lambda$ ) (PAN et al., 2013). As micrografias foram capturadas com câmera Eurekam 3.0 (Bel, STM-PRO-T Led. Piracicaba, Brasil) com auxílio do *Software* Bel view.

## 7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey para comparação das médias, e determinada com intervalo de confiança de 95% (p<0,05).
#### 8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 8.1 Avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Os resultados da avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL referente ao tempo zero após a preparação são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados das avaliações macroscópicas dos sistemasemulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas apóstempo zero de preparação

*Form.	Aspecto	Alteração	*Form.	Aspecto	Alteração	*Form.	Aspecto
F1 - 40°C	>		F2 - 40°0	С		F3 - 40°	C
F1A	СМ	Coalescência	F2A	СМ	Sedimentação	F3A	SM
F1B	СМ	Coalescência	F2B	СМ	Sedimentação	F3B	SM
F1C	СМ	Coalescência	F2C	СМ	Sedimentação	F3C	SM
F1D	СМ	Coalescência	F2D	CM	Sedimentação	F3D	SM
F1 - 45°C	;		F2 - 45°(	C		F3 - 45°	C
F1A	SM	-	F2A	СМ	Sedimentação	F3A	SM
F1B	SM	-	F2B	СМ	Sedimentação	F3B	SM
F1C	SM	-	F2C	СМ	Sedimentação	F3C	SM
F1D	SM	-	F2D	СМ	Sedimentação	F3D	SM
F1 - 50°C	;		F2 - 50°(	C		F3 - 50°	C
F1A	SM	-	F2A	СМ	Sedimentação	F3A	SM
F1B	SM	-	F2B	СМ	Sedimentação	F3B	SM
F1C	SM	-	F2C	СМ	Sedimentação	F3C	SM
F1D	SM	-	F2D	СМ	Sedimentação	F3D	SM

Nota: \*Form. - Formulações; SM - Sem modificação; CM - Com modificação. Formulação: F1 - MO:Tween 20; F2 - MO:Span 60 e F3 - MO:Tween 20:Span 60. Condição experimental: A - Titulação e banho de ultrassom; B - Titulação e turbilhonamento; C - *in bolus* e ultrassom e D - *in bolus* e turbilhonamento. Fonte: Elaboração própria.

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL na formulação F1 nas condições A, B, C e D, na temperatura de 40°C apresentaram coalescência seguida de separação de fases. Porém, as mesmas formulações com a mesma técnica de preparação e aumento da temperatura para 45°C (F1A-F1D) e 50°C (F1A-F1D) não apresentaram qualquer modificação macroscópica.

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL na formulação F2 nas condições A, B, C e D nas temperaturas 40, 45 e 50°C apresentaram sedimentação seguida de precipitação, sem separação das fases aquosa e

oleosa. Paras as formulações F2 a temperatura não contribuiu para melhorar a estabilidade do sistema. Os sistemas emulsionados precursores de NCLL na formulação F3 nas condições A, B, C e D permaneceram estáveis independente da temperatura de aquecimento.

Na análise desses resultados a forma de adição da água (titulação ou *in bolus*) e o tipo de agitação (banho de ultrassom ou turbilhonamento) não interferiram na obtenção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL. A temperatura de aquecimento foi crítica apenas para a formulação F1. Para essa formulação, o aumento na temperatura para 45 e 50°C contribuiu para uma melhor distribuição do Tween 20<sup>®</sup> e estabilização da emulsão O/A. Para a formulação F3, a mistura dos tensoativos foi suficiente para estabilizar o sistema emulsionado.

Devido à proximidade dos valores de EHL do Span 60<sup>®</sup> (4,7) com a MO (3,0-4,0), o melhor resultado de estabilidade era esperado para a formulação F2. No entanto, o melhor resultado observado foi para a mistura 1:1 m/m de Tween 20<sup>®</sup> com Span 60<sup>®</sup> (EHL 10,7). Neste caso, o maior volume de água (MO:água 3:100 m/m) foi o fator responsável para a estabilização do sistema emulsionado com a mistura dos tensoativos.

Diante disso, a análise de avaliação macroscópica realizada, após tempo zero de preparação, selecionou 20 amostras para avaliação da estabilidade pelo ensaio de centrifugação e variação térmica, cujo os resultados dos ensaios referente ao tempo de 24h após a preparação são apresentados na Tabela 4. Tabela 4 - Resultados da estabilidade dos sistemas emulsionados precursoresde nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas após ensaio de centrifugação evariação térmica após 24h de preparação

*Form.	Centrifugação	Variação térmica	*Form.	Centrifugação	Variação térmica
			F3 - 40°C		
-	-	-	F3A	CM / SF	CM / SD
-	-	-	F3B	CM / SF	CM / SD
-	-	-	F3C	CM / SF	CM / SD
-	-	-	F3D	CM / SF	CM / SD
F1 - 45ºC			F3 - 45ºC		
F1A	CM / SF	CM / SD	F3A	SM	CM / SD
F1B	CM / SF	CM / SD	F3B	CM / SF	CM / SD
F1C	CM / SF	CM / SD	F3C	CM / SF	CM / SD
F1D	CM / SF	CM / SD	F3D	CM / SF	CM / SD
F1 - 50ºC			F3 - 50ºC		
F1A	SM	SM	F3A	SM	SM
F1B	CM / SD	CM / SF	F3B	CM / SD	CM / SD
F1C	CM / SD	CM / SF	F3C	SM	SM
F1D	CM / SD	CM / SF	F3D	CM / SD	CM / SD

Nota: \*Form. - Formulações; SM - Sem modificação; CM - Com modificação. SF - Separação de fases. SD - Sedimentação. Formulação: F1 - MO:Tween20 e F3 - MO:Tween20:Span60. Condição experimental: A - Titulação e banho de ultrassom; B - Titulação e turbilhonamento; C - *in bolus* e ultrassom e D - *in bolus* e turbilhonamento. Fonte: Elaboração própria.

O comportamento de sistemas emulsionados submetidos ao ensaio de centrifugação, dependem da diferença de densidade e resistência interfacial entre as fases oleosa e aquosa. E para o ensaio de variação térmica, o aumento da temperatura acelera o processo de degradação dos componentes presente nas formulações. Assim, a ausência de instabilidade com separação de fases, para ambos os ensaios, é considerado um indicativo de estabilidade (CANGUSSÚ et al., 2015). Após a realização dos ensaios de centrifugação e variação térmica, as únicas formulações que permaneceram estáveis foram a F1A, F3A e F3C à 50°C, e desta forma, seguiram para avaliação físico-química.

## 8.2 Avaliação da estabilidade físico-química dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

As formulações selecionadas (F1A, F3A e F3C à 50°C) foram armazenadas à 25±2°C e acompanhadas durante 35 dias. Os ensaios para avaliação da estabilidade físico-química foram realizados nos tempos 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias e estão apresentados nas Figuras 11 à 14, conforme segue.

## 8.2.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula, índice de polidispersidade e pH

O potencial zeta mede a carga elétrica de superfície das partículas e serve como indicativo da estabilidade termodinâmica dos sistemas dispersos (RIZWAN et al., 2007; SCHAFFAZICK et al., 2003). Alguns estudos consideraram estáveis para os sistemas emulsionados precursores de NCLL, potencial zeta entre -15 (JIN et al., 2013) e -33 mV (EL-REFAIE et al., 2015).

Neste estudo, o valor médio do potencial zeta para as formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C durante o período de acompanhamento estão apresentados na Figura 11, e podemos observar que o valor médio entre as formulações foram obtidos entre -15 mv e -26 mv, o que representa que as formulações apresentaram um sistema termodinamicamente estável.



Figura 11 - Resultados das medidas de potencial zeta das formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C

Nota: Formulações: F1A50°C (MO:Tween20; A - Titulação e banho de ultrassom); F3A50°C (MO:Tween20:Span60; A - Titulação e banho de ultrassom) e F3C50°C (MO:Tween20:Span60; C - *in bolus* e ultrassom). Fonte: Elaboração própria.

Comparando os tempos 1 e 35 dias o potencial zeta para formulação F1A50°C foram respectivamente -24,22 $\pm$ 1,7 mV e -22,45 $\pm$ 3,73 mV, para F3A50°C foram respectivamente -26,25 $\pm$ 2,44 mV e -20,87 $\pm$ 2,94 mV e para F3C50°C foram respectivamente -21,04 $\pm$ 4,88 mV e -21,53 $\pm$ 2,51.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias. A comparação dos resultados das formulações, entre os grupos e intragrupos, foi significativamente diferentes (p<0,05). Entretanto, como apontado na literatura, as formulações são consideradas estáveis na variação entre -15 e -33 mV, devido a carga elétrica de superfície ter uma amplitude de variação que é aceita na literatura.

O diâmetro de partícula das formulações podem ser alterados devido alguns fatores como composição das amostras, temperatura e agitação (MARCATO, 2009). El-Refaie et al., (2015) e Avachat e Parpani (2015) consideraram, respectivamente, estáveis para os sistemas emulsionados precursores de NCLL, diâmetro de partícula entre 99,2 e 202,7 nm.

Neste estudo, o valor médio do diâmetro de partícula para as formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C durante o período de acompanhamento estão apresentados na Figura 12, cujos valores ficaram entre 300 e 400 nm.



Figura 12 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C



Comparando os tempos 1 e 35 dias, os diâmetros de partícula para formulação F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C foram respectivamente, 298,22±5,43 e 283,64±16,7 nm, 384,7±12,11 e 379,85±11,67 nm e, 339,39±6,73 e 327,77±1,37 nm. Os sistemas carreadores lipídicos, bem como, os sistemas

emulsionados precursores de NCLL, geralmente, apresentam sistemas estáveis com partículas inferiores a 300 nm (PETRILLI, 2013), como foi observado para a formulação F1A50°C, diferente para as outras formulações.

Em análise estatística, as medidas do diâmetro de partícula foram comparadas entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias. Os resultados das formulações não mostraram diferenças estatísticas, entre os grupos e intragrupos, para as formulações durante o período de armazenamento (p>0,05), demonstrando que o processo de preparação e o tempo de armazenamento não interferem no diâmetro de partícula.

O índice de polidispersidade está relacionado com a variação do diâmetro de partícula, e os valores menores que 0,25 é indicativo de homogeneidade para o diâmetro de partícula, e em consequência, sugerem estabilidade termodinâmica dos sistemas dispersos (CHO, 2013).

Neste estudo, o valor médio do índice de polidispersidade para as formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C durante o período de acompanhamento estão apresentados na Figura 13, cujos valores ficaram entre 0,25 e 0,30, sugerindo que os sistemas são termodinamicamente estáveis.





Em análise estatística, as medidas do índice de polidispersidade foram comparadas entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias.

Nota: Formulações: F1A50°C (MO:Tween20; A - Titulação e banho de ultrassom); F3A50°C (MO:Tween20:Span60; A - Titulação e banho de ultrassom) e F3C50°C (MO:Tween20:Span60; C - *in bolus* e ultrassom). Fonte: Elaboração própria.

Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas (p>0,05) entre os grupos e intragrupos para as formulações durante todo o período de armazenamento.

O pH é um ensaio importante para inferir sobre a estabilidade química das formulações durante o período de armazenamento (MONTEIRO e SILVA, et al., 2013). A redução ou aumento do valor de pH sugerem modificações químicas tais como degradação ou formação de novos compostos (SAVIAN et al., 2011).

No estudo de estabilidade química, os valores médios de pH para as formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C são apresentadas na Figura 14, e ficaram entre 6,0 e 7,0.



Figura 14 - Resultados das medidas de pH das formulações F1A50°C, F3A50°C e F3C50°C

Nota: Formulações: F1A50°C (MO:Tween20; A - Titulação e banho de ultrassom); F3A50°C (MO:Tween20:Span60; A - Titulação e banho de ultrassom) e F3C50°C (MO:Tween20:Span60; C - *in bolus* e ultrassom). Fonte: Elaboração própria.

Comparando os tempos 1 e 35 dias o pH para formulação F1A 50°C foram respectivamente 6,28±0,035 e 6,30±0,015, para F3A 50°C foram respectivamente 6,06±0,01 e 6,27±0,01 e F3C 50°C foram respectivamente 6,19±0,015 e 6,98±0,02. Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de armazenamento. Nos resultados houve diferença estatística (p<0,05) entre os grupos e intragrupos para as formulações durante o período de armazenamento.

### 8.2.2 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada

A análise microscópica com luz polarizada foi utilizada para avaliar a ausência ou presença de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas e/ou NCLL. As formulações selecionadas foram observadas nos tempos zero, 24 e 48 horas após a preparação, e as micrografias foram capturadas em três condições de ajuste de refração de 1, 1/2 e 1/4 de comprimento de onda ( $\lambda$ ).

As formulações F3A e F3C à 50°C não apresentaram formação de lamelas ou NCLL do tipo anisotrópico (na forma de cruz de malta e hexagonal) ou isotrópico (na forma cúbica) (micrografias não apresentadas), sugerindo que a forma de adição de água (titulação ou *in bolus*) ou agitação (banho de ultrassom) não são determinantes na formação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL. Porém, a formulação F1A50°C apresentou formação de lamelas e NCLL anisotrópico no formato de cruz de malta, cujas micrografias obtidas nos tempos zero, 24 e 48h são apresentadas, respectivamente, na Figura 15.

A micrografia da formulação F1A50°C mostrou, no tempo zero de preparação, a formação de lamela. Após 24h de preparação, houve um ligeiro estreitamento das lamelas observadas, e em 48h de preparação foi possível observar a presença de estruturas de NCLL do tipo anisotrópico com formato de cruz de malta (lamelar). Estes resultados são coincidentes como descrito e observado por El-Refaie e Fonseca-Santos (EL-REFAIE et al., 2015; FONSECA-SANTOS, 2015).

Figura 15 - Micrografias da formulação F1A 50°C obtidas nos tempos zero (A), 24 (B) e 48 horas (C) por microscopia com luz polarizada em três ajuste de refração (1, 1/2 e 1/4 λ)



Nota: As micrografias foram obtidas em modo polarizado com aumento óptico de 100x. As imagens foram obtidas em campo claro, com contraste automático com resolução em alta exposição para controle e ajuste de nitidez em três condições de refração de comprimento de onda ( $\lambda$ =1, 1/2 e 1/4) na emissão de luz. NCLL - Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas. Fonte: Elaboração própria

#### 9. CONCLUSÃO

As diferentes formulações e técnicas empregadas neste estudo serviram para selecionar os componentes das formulações e as melhores condições experimentais para obtenção de NCLL, bem como para definir se os surfactantes seriam utilizados como tensoativos ou hidrótropos nas formulações com curcumina.

Neste estudo, as condições experimentais variaram na técnica de adição de água (*in bolus* ou titulação), na temperatura de aquecimento (40, 45 ou 50°C) e no tipo de agitação (turbilhonamento em vortex ou banho de ultrassom). Em relação a composição foram desenvolvidas três diferentes formulações de sistemas emulsionados: F1 (MO:Tween 20:água), F2 (MO:Span 60:água) e F3 (MO:Tween 20:Span 60:água). A formulação F2 se mostrou fisicamente instável, com separação de fases. Para as formulações F1 e F3, as variáveis do processo de preparação e da composição das formulações influenciaram para obtenção de sistemas estáveis.

Das formulações, apenas a F1A50°C obtida pela técnica de adição de água por titulação, agitação por banho de ultrassom e na temperatura à 50°C, apresentou NCLL do tipo anisotrópico na forma de cruz de malta, química e termodinamicamente estável. Este resultado sugere que o Tween 20 (EHL 16,7) e a temperatura (50°C) foram decisivos para obtenção de um sistema na forma de CLL anisotrópico. E a forma de adição de água e agitação contribuíram para estabilidade do sistema.

Entretanto, a formulação F1A50°C apresentou quantidade reduzida de NCLL. Assim, para adição de curcumina (Capítulo III) a proporção (m/m) MO:água foi alterada, o Tween 20<sup>®</sup> foi adicionado como hidrótropo e as condições experimentais para adição de água por titulação, agitação por banho de ultrassom e temperatura à 50°C foram mantidas.

#### **10.REFERÊNCIAS**

AVACHAT, A. M.; PARPANI, S. S. Formulation and development of bicontinuous nanostructured liquid crystalline particles of efavirenz. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 87–97, 2015.

BRANCONI, F. L.; et al. Aplicação cosmética do óleo de canola. **In: Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos**, v. 12, p. 6–19, 1995.

BRASIL. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Agência de Vigilância Sanitária**, v. 1, 2004.

BROOKS, B. W.; RICHMOND, H. N. Dynamics of liquid-liquid phase inversion using non- ionic surfactants. v. 58, p. 131–148, 1991.

CANGUSSÚ, I. M.; VASCONCELOS, T. Y. L.; MEDEIROS, D. P. Desenvolvimento de formulações contendo diferentes concentrações de digluconato de clorexidina e avaliação da estabilidade preliminar das formulações Development of formulations containing different concentrations chlorhexidine digluconate and preliminary. **Dissertação de mestrado**. v. 4, p. 134–140, 2015.

CHO, E. J. et al. Nanoparticle characterization: State of the art, challendes, and emerging technologies. **Molecular pharmaceutical**, 2013.

EL-REFAIE, W. M. et al. Novel curcumin-loaded gel-core hyaluosomes with promising burn-wound healing potential: Development, in-vitro appraisal and in-vivo studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 486, n. 1–2, p. 88–98, 2015.

FONSECA-SANTOS, B. Sistemas precursores de cristais liquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal. **Dissertação de mestrado**, 2015.

JIN, X. et al. A nanostructured liquid crystalline formulation of 20(S)protopanaxadiol with improved oral absorption. **Fitoterapia**, v. 84, n. 1, p. 64– 71, 2013.

MARCATO, P. D. Preparation, caracterization and application in drugs and cosmetics of solid lipid nanoparticles. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 2, p. 01–31, 2009.

MONTEIRO E SILVA, S. A. ET AL. Estudo de estabilidade, análise de comportamento reológico e investigação de Cristais-Líquidos de formulações contendo pó-de-pérola. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 94, n. 14, p. 199–210, 2013.

PAN, X. et al. Nanostructured cubosomes as advanced drug delivery system. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 35, p. 6290–7, 2013.

PETRILLI, R. Nanopartículas de fase líquido cristalina hexagonal funcionalizadas com peptídeos de transdução para veiculação de siRNA na terapia de doenças tópicas. **Dissertação de mestrado**, 2013.

PIANOVSKI, A. R. et al. Uso do óleo de pequi (Caryocar brasiliense) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 249–259, 2008.

RIZWAN, S. B. et al. Characterisation of bicontinuous cubic liquid crystalline systems of phytantriol and water using cryo field emission scanning electron microscopy (cryo FESEM). **Micron**, v. 38, n. 5, p. 478–485, 2007.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 91, n. 2, p. 82–88, 2011.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the longterm physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science.** 108–109, 2004

## CAPÍTULO III

## 11.OTIMIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES PARA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CRISTALINAS LÍQUIDAS LIOTRÓPICAS, VEICULAÇÃO DE CURCUMINA E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

#### 11.1 Resumo

Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas (NCLL) são nanoestruturas físicas, biomiméticas e apresentam diferentes arquiteturas formadas pela autoorganização de lipídios em meio aguoso, e morfologicamente os NCLL apresentam diferentes formas estruturais (lamelar ou cruz de malta, cúbica ou hexagonal). Os sitemas emulsionados precursores de NCLL favorecem a veiculação e liberação de fármacos lipofílicos, anfifílicos e hidrofílicos. O objetivo deste estudo foi otimizar as formulações para obtenção de sistemas emulsionados precursores de NCLL, veicular a curcumina (CUR) e realizar a caracterização físico-química. Neste estudo, o lipídio utilizado foi a monoleína (Myverol18-92K). Como hidrótropos foram utilizados monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>), lauril sulfato de sódio (LSS) e poloxamer 407 (P407) e como fármaco modelo a CUR. Os sistemas foram preparados pela mistura de monoleína, hidrótropos e água, em agitação e com controle de temperatura e construção de diagrama de fases. A CUR foi adicionada nas formulações previamente selecionadas. As formulações foram avaliadas quanto à avaliação macroscópica, ensaio de centrifugação (EC), ensaio de variação térmica (EVT), potencial zeta (PZ), diâmetro de partícula (DP), índice de polidispersidade (IPD), potencial hidrogeniônico (pH), microscopia com luz polarizada (MLP) e confocal a laser (MCL), condutividade iônica (CIFT), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), propriedades mecânicas (dureza, compressibilidade, adesividade, coesividade e mucoadesão), teor da CUR e perfil de dissolução e liberação da CUR. Em avaliação macroscópica, as formulações classificadas como sistema viscosos translúcidos e que na MLP apresentaram anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas e/ou NCLL foram selecionadas. Nestas a CUR foi incorporada. O maior percentual de teor da CUR incorporada ao sistema foi de 70%. Após EC e EVT(i), as formulações se mantiveram estáveis. Para o EVT (ii), no período durante 60 dias, as formulações com e sem CUR apresentaram PZ

médio entre -16 e -45 mV, DP médio para as sem CUR foi entre 200 e 400 nm, paras as com CUR foi 200 e 250 nm, o valor médio de IPD para as formulações com e sem CUR foi entre 0,09 e 0,35 e pH médio para ambas as formulações com e sem CUR foi entre 6,0 e 7,0. Em avaliação de MLP e MCL as formulações selecionas apresentaram formação de lamelas e CL no formato de cruz de malta. A formulação mais estáveis para o ensaio de CIFT foram as DFB-F6 sem e com CUR. As curvas de DSC mostraram mudança no estado cristalino da CUR. As curvas obtidas por FTIR mostraram que os estiramentos dos grupamentos químicos da CUR permaneceram inalterados. As propriedades mecânicas foram consideradas úteis para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas e vias de administração. Além disso, no estudo de dissolução e liberação da CUR, a liberação máxima de CUR foi observado após 28h para formulação DFB-F6 (30%).

#### 11.2 Abstract

Lyotropic liquid crystalline nanoparticles (LLCN) are physical, biomimetic nanostructures and to present different architectures formed by the selforganization of lipids in aqueous medium and morphologically the LLCN have different structural form (lamellar or maltese cross, cubic or hexagonal). The LLCN precursor emulsified systems favors the delivery and release of lipophilic, amphiphilic and hydrophilic drugs. The objective was to optimize the formulation to obtain LLCN precursor emulsified systems, to carry the curcumin (CUR) and accomplish the physical-chemical characterization. In this study, the lipid used was monoolein (Myverol 18-92K). As hydrotropes were used polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20<sup>®</sup>), sodium lauryl sulfate (SLS), poloxamer 407 (P407) and as model drug the CUR. The LLCN precursor emulsified systems were prepared by the mixture of monoolein, hydrotropes and water, kept under agitation and with temperature control and phase diagram construction. The CUR was added in the formulations previously selected. The formulations were evaluated as macroscopic evaluation, centrifugation essay (CE), thermal variation essay (TVE), zeta potential (ZP), particle diameter (PD), polydispersity index (PDI), hydrogenionic potential (pH), polarized light microscopy (LPM), confocal laser microscopy (CFM), ion conductivity (IC), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy (FTIR), mechanical properties (hardness, compressibility, adhesiveness, cohesiveness and mucoadhesion), percentage of CUR and dissolution and release profile of CUR. In the macroscopic evaluation, the formulations classified as translucent viscous system, and that in the LPM to present anisotropy, homogeneity and lamella and/or LLCN formation were selected (F6, DFA-F6 e DFB-F6). The highest CUR content was observed in the DFA-F6 formulation (70%). The formulations remained stable after CE and VTE (i). In the VTE (ii), after the 60-day period, the formulations with and without CUR presented mean ZP between -20 and -45 mV, mean PD for those without CUR was between 200 and 400 nm, for with CUR was 200 and 250 nm, the mean PDI value for formulations with and without CUR was between 0.1 and 0.35 and mean pH for both formulations, with and without CUR was between 6.0 and 7.0. In LPM and CFM evaluation the selected formulations presented lamella and CL formation with the malt cross format. The most stable

formulation for the ion conductivity were DFB-F6 without and with CUR. The DSC curves showed a change in the crystalline state of CUR. The curves obtained by FTIR showed that the stretches of the CUR chemical groups remained unchanged. The mechanical properties found were considered useful for the development of novel dosage forms and routes of administration. In addition, in the dissolution and release study of CUR, the maximum release of CUR was observed after 28h for DFB-F6 formulation (30%).

#### 11.3 Delineamento experimental

O desenvolvimento dos estudos envolveu a preparação, seleção das amostras, incorporação da CUR e caracterização da estabilidade físico-química. A otimização das formulações precursoras de NCLL foi realizada pela adição de hidrótropos. Como hidrótropos foram utilizados lauril sulfato de sódio (LSS) (EHL 40), poloxamer 407 (P407) (EHL 23) e Tween 20<sup>®</sup> (EHL 16,7). Nestas formulações foram reajustados a taxa MO:água (m/m). Além disso, todas as formulações foram preparadas na temperatura à 50°C, com adição de água por titulação e agitação por banho de ultrassom. O delineamento experimental do estudo está apresentado esquematicamente na Figura 16.

Figura 16 - Representação esquemática do delineamento experimental para otimização das formulações, veiculação da curcumina e caracterização físico-química e morfológica dos sistemas emulsionados precursores de nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas



Nota: EC - Ensaio de centrifugação; EVT - Ensaio de variação térmica; PZ - Potencial zeta; DP - Diâmetro de partícula; IPD - Índice de polidispersidade; pH - Potencial hidrogeniônico; MLP - Microscopia de luz polarizada; MCL - Microscopia confocal a laser; CIFT Condutividade iônica em função do aumento da temperatura; DSC - Calorimetria exploratória diferencial; FTIR - Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier e PM - Propriedade mecânicas. Fonte: Elaboração própria.

### **12. MATERIAL E MÉTODOS**

#### 12.1 Matéria prima

Monoestearato de glicerila (Monoleína) (Myverol 18-92K. Kerry do Brasil. Lote: 5Z10549, Brasil), Monolaurato de polioxietileno sorbitano (Tween 20<sup>®</sup>. Dinâmica. Lote: 48311, Brasil), Lauril sulfato de sódio (Dinâmica. Lote: 131351, Brasil), Poloxamer 407 (Kolliphor P 407 micro. BASF. Lote: WPOI545T, Brasil), Fosfato de sódio bibásico anidro (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Synth. Lote: 61997, Brasil), Fosfato de sódio monobásico anidro (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Synth. Lote: 87959, Brasil), Cloreto de sódio (NaCl) (Dinâmica. Lote: 64939, Brasil), Curcumina (Sigma Aldrich. Lote: SLBD0850V) e água purificada (18,2 MΩ. cm<sup>-1</sup>).

## 12.2 Preparação de sistemas emulsionados precursores de NCLL sem hidrótropo

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL sem hidrótropo foram preparados com monoleína (MO) (18-92; EHL 3,0-4,0) como fase oleosa e água purificada como fase aquosa. Para obtenção dos sistemas as formulações (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9) eram compostas por MO:água, respectivamente, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1 m/m.

Uma representação esquemática dos processos de preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem hidrótropo são mostradas na Figura 17. Resumidamente, as formulações foram preparadas sob aquecimento (50°C), a água foi adicionada por titulação e as formulações foram agitadas em banho de ultrassom (Unique, USC-3300. Indaiatuba, Brasil) durante 5 minutos. O processo resultou em 9 formulações (F1-F9). As formulações obtidas foram avaliadas e selecionadas, a partir de avaliação macroscópica e por microscopia com luz polarizada.



Fonte: Elaboração própria.

# 12.3 Preparação de sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos e construção de diagrama ternário de fases

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos foram preparados com MO (18-92; EHL 3,0-4,0), os hidrótropos: LSS (EHL 40), P407 (EHL 23) e Tween 20<sup>®</sup> (EHL 16,7) e água. O diagrama ternário de fases foi representado por um triângulo equilátero, onde cada vértice corresponde a massa de cada fase da formulação (fase oleosa, aquosa e hidrótropo). A fase oleosa foi representada no vértice superior esquerdo, o hidrótropo foi representado no vértice da base do triângulo e a fase aquosa foi representada no vértice superior esquerdo, o hidrótropo foi representado no vértice. A leitura da massa referente as concentrações de cada componente das formulações devem ser seguidas no sentido horário. As proporções dos componentes dos sistemas precursores de NCLL com hidrótropos são apresentados na Tabela 5.

Formulações	Composição				
	Monoleína (g)	Água purificada (g)	Hidrótropos (g)		
F1	1	9	0,09		
F2	2	8	0,08		
F3	3	7	0,07		
F4	4	6	0,06		
F5	5	5	0,05		
F6	6	4	0,04		
F7	7	3	0,03		
F8	8	2	0,02		
F9	9	1	0,01		

**Tabela 5** - Proporções (m/m) dos componentes dos sistemas precursores deNCLL para construção do diagrama ternário de fases

Fonte: Elaboração própria

Uma representação esquemática dos processos de preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos e construção dos diagramas ternários de fases são mostradas na Figura 18. Os diagramas ternários de fases foram obtidos pela titulação da fase aquosa adicionados à mistura MO:hidrótropo (m/m). A massa de hidrótropo adicionada em cada formulação foi equivalente a 1% da massa de água em cada sistema. As formulações foram preparadas em aquecimento (50°C) e mantidas sob agitação em banho de ultrassom durante 5 minutos.

Figura 18 - Representação esquemática do processo de preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos e construção dos diagramas ternários de fases



Fonte: Elaboração própria.

Portanto, com base na construção dos diagramas ternários de fases foram construídas 27 formulações, ou seja, cada hidrótropo obteve 9 formulações (F1-F9). Os sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos foram identificados como diagrama ternário de fases "A" (DFA) para as formulações com LSS, diagrama ternário de fases "B" (DFB) para P407 e diagrama ternário de fases "C" (DFC) para o Tween 20<sup>®</sup>.

#### 12.4 Seleção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL, na presença ou ausência de hidrótropos foram selecionados a partir da avaliação macroscópica e microscopia com luz polarizada. A avaliação macroscópica foi realizada pela classificação descrita por Calixto et al. (2016), como sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT) ou opaco (VO), líquidos com aspecto translúcido (LT)

ou opaco (LO) e instabilidade com separação de fases (SF). Nos sistemas emulsionados precursores de NCLL com hidrótropos essa avaliação foi utilizada para delimitação das regiões nos diagramas ternários de fases.

A microscopia com luz polarizada foi utilizada para avaliar a ausência ou presença de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas e/ou NCLL após 24h de preparação da formulação. Para microscopia, as amostras foram depositas gentilmente em lâmina de vidro, formando um filme e coberta com lamínula de vidro. A análise foi realizada em microscópio (Nikon, Eclipse E800. Tóquio, Japão) com modo polarizado, com contraste em modo ampliado e resolução em alta exposição para ajuste de nitidez. As micrografias foram capturadas com câmera (Nikon, DS-r 1. Tóquio, Japão) com auxílio do *Software NIS-Elements* (PAN et al., 2013).

#### 12.5 Curva analítica da CUR

A construção da curva analítica para CUR foi realizada conforme descrito por Alves (2015). Resumidamente, uma solução padrão foi preparada com 1 mg.mL<sup>-1</sup> de CUR em etanol 95% (m/v). A solução padrão foi diluída em concentrações entre 0,05 e 5  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>. A concentração de CUR, preparada em triplicata para cada amostra, foi determinada por espectroscopia (MultiSpec-1501, Shimadzu, Kyoto, Japão) em comprimento de onda ( $\Lambda$ ) de 427 nm.

#### 12.6 Equilíbrio de solubilidade da CUR em MO

O equilíbrio de solubilidade da CUR em MO foi determinado, experimentalmente, a partir de uma dispersão supersaturada contendo 0,02 g de CUR/1 g de MO. Esta taxa foi estabelecida após ensaio de solubilidade (dados não apresentados). As amostras foram mantidas sob agitação (95 rpm) constante durante 24 horas em agitador orbital (TE-4200, TECNAL, Piracicaba, Brasil) mantido na temperatura à 25±2°C. As amostras preparadas em triplicata foram centrifugadas a 3400 rpm durante 60 minutos, após este tempo o sobrenadante foi recolhido com auxílio de uma pipeta automática (Gilson, Pipetman P200, França). Para determinação da massa de CUR dissolvida, o sobrenadante foi diluído em solução etanólica 95% e a concentração foi determinada por espectroscopia ( $\lambda$  427 nm) (ALVES, 2015; BASKARAN et al., 2014).

## 12.7 Incorporação de CUR nos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Resumidamente, a MO foi previamente aquecida até a temperatura de 50°C, os hidrótropos foram adicionados e a mistura foi homogeneizada. Nessa mistura, a CUR foi adicionada e homogeneizada até completa dissolução. Sobre esta mistura, a fase aquosa foi adicionada por titulação, sob agitação constante por banho de ultrassom (frequência de 40 kHz), esse processo de agitação foi realizado durante 5 minutos.

#### 12.8 Teor da curcumina

O teor da CUR incorporado nas amostras foi determinado experimentalmente a partir da equação da reta, utilizando as absorbâncias obtidas por espectroscopia ( $\lambda$  427 nm). Para medida das absorbância, as amostras com aproximadamente 30 mg foram dissolvidas em etanol 95% (m/v), (JIN et al., 2013). A determinação do teor da CUR foi realizada em triplicata.

# 12.9 Avaliação da estabilidade físico-química e caracterização estrutural dos sistemas emulsionados precursores de NCLL

A estabilidade físico-química foi analisada após repouso de 24h e após os ensaios de centrifugação e variação térmica. A caracterização estrutural foi realizada por microscopia com luz polarizada e confocal a laser nos tempos 24h e 7 dias. E as propriedades físico-químicas das amostras foram avaliadas por condutividade iônica em função do aumento da temperatura (CIFT), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e propriedades mecânicas (dureza, compressão, adesividade e coesividade).

#### 12.9.1 Ensaio de centrifugação

O ensaio de centrifugação (CELM, Combate. São Caetano do Sul, Brasil) foi realizado à 25°C±2 e 3400 rpm (1163G). As amostras foram avaliadas macroscopicamente para homogeneidade das fases, ausência de floculação ou coalescência, cremeação e sedimentação (TADROS, 2004). Este ensaio foi realizado após 24h de preparação da formulação (BRASIL, 2004; MASSON et al., 2005).

#### 12.9.2 Ensaio de variação térmica

O ensaio de variação térmica foi realizado em duas condições: (i) variação gradual da temperatura realizada na taxa 10°C/min entre 40 e 80°C (a estabilidade das amostras foi avaliada após o resfriamento e retorno para 25±2°C) (BRANCONI; et al.,1995; PIANOVSKI et al., 2008); (ii) armazenamento das amostras em três diferentes temperaturas (9, 25 ou 37°C) e acompanhamento da estabilidade durante 60 dias (ISAAC et al., 2008). A estabilidade das amostras foram avaliadas nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias e foram avaliadas quanto ao potencial zeta, diâmetro de partícula, índice de polidispersidade e variação da concentração hidrogeniônica (pH) (BRASIL, 2004).

# 12.9.3 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula e polidispersidade

Para ensaio de potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade (BrookHaven – NanoBrook-90 Plus, Nova Iorque, Estados Unidos) o equipamento foi ajustado para comprimento de onda de 635 nm e ângulo fixo de 90°. As amostras foram diluídas em água purificada (1:10) e a leitura foi realizada em células eletroforética e analisadas à 25°C em triplicata. O resultado da estabilidade termodinâmica para o potencial zeta foram expressos em milivolt (mV) e para diâmetro de partículas em nanômetro (nm) (EL-REFAIE et al., 2015).

#### 12.9.4 Variação da concentração hidrogeniônica (pH)

A determinação do pH foi realizado com peagômetro digital (Tecnal, TE-5. Piracicaba, Brasil) previamente calibrado na faixa de pH entre 4-7 na temperatura de 25°C±2. As amostras analisadas foram dispersas (1:10) em água purificada e neutralizada, ajustada para o pH entre 6,9 e 7,0. As medidas foram realizadas à 25°C±2 em triplicata (BRASIL, 2004).

## 12.9.5 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada

A avaliação estrutural por microscópica com luz polarizada foi utilizada para avaliar a ausência ou presença de anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL após 24h e 7 dias de preparação das formulações. Para a microscopia, a análise foi realizada conforme descrito no item 12.4 (Seleção dos sistemas emulsionados precursores de NCLL).

#### 12.9.6 Caracterização estrutural por microscopia confocal a laser

A avaliação estrutural por microscopia confocal a laser (Leica, TCS SP8. Solms, Alemanha) foi utilizada com a finalidade de observar a formação tridimensional de estruturas lamelares e/ou NCLL. Para o ensaio, as amostras foram preparadas sobre lamínulas de vidro formando um filme e ajustadas na plataforma do microscópio para visualização e captação de imagem, em ambiente com pouca luminosidade e controle de temperatura (20°C). As micrografias digitais foram obtidas utilizando filtro polaróide, modo *Photo Multiplier Transmitter* (PMT) na linha de laser na faixa de comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 488 nm e PMT-Trans para reflexão, em aumento óptico de 400x e reconstruída em modo XYZ com auxílio do *Software Las X*.

## 12.10 Avaliação da condutividade iônica em função do aumento da temperatura

A avaliação da condutividade foi realizada utilizando condutivímetro (Tecnopon, mCa 150. Piracicaba, Brasil) acoplado com banho termostatizado. Os sistemas emulsionados precursores de NCLL foram submetidos a uma rampa de aquecimento (5°C/10min) entre 25 e 70°C, e para realização da análise, uma amostra de 2g foi transferida para porta-amostra de camisa dupla. O sistema foi adaptado para controle de temperatura e leitura da condutividade iônica a cada 10 min. O ensaio foi realizado em triplicata (URBAN, 2004).

#### 12.11 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A caracterização termoanalítica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL foi realizada por DSC (Termal Analyzer TA 60W - Shimadzu DSC-60.

Kyoto, Japão). Para análise foi utilizado cadinho de alumínio e 5mg de amostra hermeticamente fechado. O aquecimento foi realizado na faixa de 20 e 200°C com taxa de aquecimento de 2°C.min<sup>-1</sup> em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 35 mL.min<sup>-1</sup>.

## 12.12 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupamentos químicos específicos para os componentes dos sistemas emulsionados precursores de NCLL, foi determinado por FTIR (FTIR IRAffinity-1S. Shimadzu. Kyoto, Japão) pela técnica de reflectância atenuada (ATR) no modo transmitância. Espectros foram obtidos na faixa de comprimento de onda de 4.000 a 400 cm<sup>-1</sup>, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 64 scans. Os espectros foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupamentos químicos de cada componente dos sistemas (ALVES, 2015).

### 12.13 Avaliação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas avaliadas foram dureza, compressão, adesividade e coesividade. Para ensaio o analisador de textura (TA-TX Plus, Stable Micro Systems, Reino Unido) foi previamente calibrado com carga de 5Kg. Para ensaio, as amostras (10g) foram acondicionadas em Becker de vidro com capacidade para 25mL e armazenadas por 24h sob temperatura controlada (25±2°C) para remoção das bolhas de ar (ALVES, 2015). Os parâmetros para realização deste ensaio estão descritos na Tabela 6.

	Parâmetros
Modo de teste	Compressão
Velocidade pré-teste	0,50 mm/s
Velocidade de teste	0,50 mm/s
Velocidade pós-teste	0,50 mm/s
Modo	<i>Strain</i> (tensão)
<i>Strain</i> (tensão) Força de gatilho	10% 5,00 g

Tabela 6 - Parâmetros para avaliação das propriedades mecânicas

Fonte: Elaboração própria

O ensaio de avaliação das propriedades mecânicas foi analisado pela relação entre carga em gramas (g) *versus* tempo em segundos (s). Uma representação esquemática da curva de resistência mecânica é apresentada na Figura 19.

Figura 19 - Representação esquemática da curva de resistência mecânica (A) compressibilidade, (B) adesividade, (C) dureza e (D) coesividade



Fonte: Elaboração própria

#### 12.14 Estudo de dissolução da CUR em meio aquoso

No estudo de dissolução, a CUR (1 mg) foi dispersa em 5 mL de tampão fosfato (pH 7,4) em placa de cultura de células com fundo chato, com dimensão de 35 mm de diâmetro e 17,5 mm de profundidade. O sistema foi mantido em agitador orbital (Tecnal, TE-4200, Piracicaba, BR), na temperatura de  $37\pm2^{\circ}$ C em agitação constante (100 rpm). Uma alíquota de 1 mL, do sobrenadante, foi retirada em triplicata após 24h. As alíquotas foram diluídas em etanol 95% (v/v) e as absorbâncias da CUR determinadas por espectroscopia ( $\lambda$  427 nm). O cálculo da concentração de CUR foi realizado utilizando a equação da reta obtida da curva analítica. O ensaio foi realizado em triplicata.

## 12.15 Estudo de dissolução e liberação da CUR nos sistemas emulsionados precursores de NCLL em meio aquoso

O estudo de liberação e dissolução da CUR foram realizados para as formulações S6-CUR, DFA-S6-CUR e DFB-S6-CUR. Para ensaio, 2 g das formulações foram acomodadas cuidadosamente em placa de 6 poços. Em cada poço da placa contendo a amostra foi adicionado 5,0 mL de tampão fosfato (pH

7,4). O sistema foi mantido em agitador orbital, na temperatura de 37±2°C em agitação constante (100 rpm). As condições *sink* foram estabelecidas com base no estudo de equilíbrio de solubilidade e mantidas durante o experimento.

Uma alíquota de 1 mL, do sobrenadante, foi retirada, em triplicata, nos intervalos de tempo de 1, 2, 4, 6, 24 e 28 horas. O volume do meio foi mantido constantemente pela adição de 1 mL de tampão fosfato (pH 7,4) aquecido à  $37\pm2^{\circ}$ C. As alíquotas foram diluídas em etanol 95% (v/v) e as absorbâncias da CUR foram determinadas por espectroscopia ( $\lambda$  427 nm). Para determinação, o cálculo da concentração de CUR foi realizado utilizando a equação da reta obtida da curva analítica. O ensaio foi realizado em triplicata (ALVES, 2015; JIN et al., 2013).

### 13. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey para comparação das médias, e determinada com intervalo de confiança de 95% (p<0,05).

#### 14. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 14.1 Preparação dos sistemas emulsionados precursores de NCLL com ou sem de hidrótropos e seleção das amostras

A estratégia para este estudo foi preparar sistemas emulsionados precursores de NCLL na presença ou ausência de hidrótropos, com finalidade de otimizar a obtenção de mesofases de CLL. Hidrótropos são substâncias com características tensoativas que promovem o efeito de hidrotropia, cuja função é permitir o aumento da solubilidade em meio aquoso e auxiliar a formação de canais de água nos precursores de NCLL (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GUO et al., 2010). Estes hidrótropos foram escolhidos com base no valor de EHL e nos resultados obtidos para Tween 20<sup>®</sup> (Capítulo II), no qual o sistema emulsionado precursor de NCLL composto por MO:Tween 20:água (F1A50°C) foi considerado química e termodinamicamente estável, com presença de NCLL do tipo anisotrópico na forma de cruz de malta.

Calixto et al., (2016) descreveram, macroscopicamente, os sistemas emulsionados e os diferenciaram considerando a estabilidade (separação de fases), viscosidade e opalescência. Este estudo denominou os sistemas como viscosos translúcido (VT) ou opaco (VO), líquidos translúcido (LT) ou opaco (LO) e instáveis com separação de fases (SF). Nas formulações com presença ou ausência de hidrótropos a análise do resultados obtidos neste estudo foram: sistemas viscosos translúcido (VT) e opaco (VO), líquidos opaco (LO) e instabilidade com separação de fases (SF).

As formulações dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem hidrótropos eram compostas por MO:água (m/m) (formulações F1-F9). As formulações F1-F9 foram classificadas macroscopicamente como: SF (F1, F2 e F3), VO (F4, F7, F8 e F9) e as formulações F5 e F6 eram do tipo VT.

Para avaliação macroscópica dos sistemas emulsionados com hidrótropos, o diagrama ternário de fases foi usado como superfície de resposta. O diagrama ternário de fases é uma ferramenta importante para otimizar as formulações e a investigação das transições de fases dos sistemas emulsionados precursores de NCLL (CARVALHO et al., 2013; CHORILLI, 2007).

Com base no diagrama ternário de fases foram projetadas 27 formulações, sendo 9 formulações para cada hidrótropo utilizado (LSS, P407 ou

Tween 20<sup>®</sup>). Os diagramas ternário de fases dos sistemas emulsionados precursores de NCLL estão apresentados nas Figuras 20 à 22, respectivamente, para as formulações cujos hidrótropos utilizados foram LSS (DFA), P407 (DFB) e Tween 20<sup>®</sup> (DFC).

**Figura 20** - Diagrama ternário de fases composto por monoleína, água e lauril sulfato de sódio (DFA) e classificações dos sistemas: VT (□), VO (▲) e SF (●)



Nota: Formulações DFA - F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9 eram compostas por MO:água:LSS, respectivamente, 1:9:0,09, 2:8:0,08, 3:7:0,08, 4:6:0,06, 5:5:0,05, 6:4:0,04, 7:3:0,03, 8:2:0,02 e 9:1:0,01 m/m. Sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT), ou viscosos opaco (VO) e separação de fases (SF). Fonte: Elaboração própria.

Nas formulações em que LSS foi utilizado como hidrótropo, os melhores resultados foram aqueles obtidos para os sistemas VT (F5 e F6), cujas formulações eram, respectivamente, compostas de 50 ou 60% de MO, 50 ou 40% de água, adicionados 0,05g (F5) e 0,04g (F6) de LSS. Na presença de LSS não foram encontrados sistemas líquidos translúcidos (LT) ou opacos (LO).





Nota: Formulações DFB - F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9 eram compostas por MO:água:P407, respectivamente, 1:9:0,09, 2:8:0,08, 3:7:0,08, 4:6:0,06, 5:5:0,05, 6:4:0,04, 7:3:0,03, 8:2:0,02 e 9:1:0,01 m/m. Sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT), ou viscosos opaco (VO), sistemas líquidos opacos (LO) e separação de fases (SF). Fonte: Elaboração própria.

Nas formulações, no qual o P407 foi utilizado como hidrótropo, os sistemas VT (F5 e F6) foram considerados com melhores resultados, cuja concentração de MO:água:P407 são correspondente às formulações com LSS (Fig. 20). Na presença de P407 não foram encontrados apenas sistemas líquidos translúcidos (LT).

Embora o LSS e o P407 sejam compostos física e quimicamente diferentes nenhum efeito macroscópico diferente foi observado, nas características das formulações com ambos os hidrótropos. Exceto na formação de sistemas LO para MO:água:P407 (1:9:0,09 m/m).

O LSS é um sal sulfatado do ácido láurico, o qual em meio aquoso ioniza para formar um tensoativo aniônico (EHL 40). O LSS é apresentado na forma de pó e dissolve facilmente em água formando espuma por agitação (ANDO; KUWABARA; MORI, 2012; ROWE, 2006). O P407 (EHL 23) é de estrutura física e composição química diferente do LSS e do Tween 20<sup>®</sup>.

O P407 são compostos de copolímeros sintetizados por polimeração sequencial de monômeros de óxido de etileno e óxido de propileno na presença de hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, que tem propriedades anfifílicas que dependem da relação em massa entre grupos hidrofílicos de polioxietileno (PEO): grupo hidrofóbico de polioxipropilenos (PPO). Assim, a lipofilicidade e hidrofilicidade é modificada pela variação da razão molar entre os grupos PEO:PPO, com relação em massa de PEO:PPO de 2:1 o P407 apresenta mais hidrofílico (RICCI et al., 2002). O Tween 20<sup>®</sup> é o monolaurato de polioxietileno sorbitano, um tensoativo não-iônico (EHL 16,7) é líquido na temperatura ambiente e facilmente dispersível em água (ROWE, 2006).

Para os sistemas nos quais o Tween 20<sup>®</sup> foi utilizado como hidrótropo (Fig. 22) apenas a formulação F6 apresentou sistema VT. As demais apresentaram SF (F2 e F3), LO (F1) e VO (F4-F5 e F7-F9). Nenhuma das formulações apresentaram sistemas LT e o melhor resultado obtido foi para o sistema VT, encontrado em equilíbrio entre a razão (m/m) da fase lipídica (MO) e água foi de 60% de MO, 40% fase aquosa com massa de hidrótropo de 0,04g. A importância da massa de hidrótropo na formação destes sistemas estão sendo avaliadas.

**Figura 22** - Diagrama ternário de fases composto por monoleína, água e Tween 20<sup>®</sup> (DFC) e classificações dos sistemas: VT (■), VO (▲), LO (♦) e SF (●)



Nota: Formulações DFC - F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9 eram compostas por MO:água:Tween 20, respectivamente, 1:9:0,09, 2:8:0,08, 3:7:0,08, 4:6:0,06, 5:5:0,05, 6:4:0,04, 7:3:0,03, 8:2:0,02 e 9:1:0,01 m/m. Sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT), ou viscosos opaco (VO), sistemas líquidos opacos (LO) e separação de fases (SF). Fonte: Elaboração própria.

Enquanto, separação de fases são instabilidades física e química dos sistemas emulsionados, a classificação como opaco ou translúcido estão

relacionadas com a diferença no índice de refração da fase dispersa (interna) e contínua (externa), especialmente, nos casos em que o tamanho da gota e o volume da fração dispersa são moderados (Alam e Aramaki, 2014).

Embora, a presença de NCLL esteja associada aos sistemas líquidos ou viscosos translúcidos (CALIXTO et al., 2016; CARVALHO et al., 2013). Assim, apesar da constatação destes pesquisadores e outros não citados neste trabalho, nós avaliamos, concomitantemente, o aspecto macroscópico (Fig. 20-22) e o microscópico usando luz polarizada.

Diante disso, nas tabelas 7 e 8 estão apresentados os resultados de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas e/ou NCLL, respectivamente, para as formulações com e sem hidrótropos.

**Tabela 7** - Resultados de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas ou NCLL para as formulações (F1-F9) na ausência de hidrótropo: VT (■), VO (▲) e

Formulações	Anisotropia	Homogeneidade	Formação de lamela e/ou NCLL
F1 (●)	Não	Não	Não
F2 (🔍 )	Não	Não	Não
F3 (🔍 )	Não	Não	Não
F4 (🔺)	Não	Sim	Não
F5 (🗖 )	Sim	Sim	Sim
F6 ( <mark>=</mark> )	Sim	Sim	Sim
F7 (🔺 )	Não	Sim	Não
F8 (🔺 )	Não	Sim	Não
F9 (🔺 )	Não	Sim	Não

SF (●)

Nota: Sim - Presença. Não - Ausência. Formulações - F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9 eram compostas por MO:água, respectivamente, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1 m/m. Sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT), ou opaco (VO) e separação de fases (SF). Fonte: Elaboração própria.

As formulações classificadas como sistema VT (F5 e F6) apresentaram melhores resultados para anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. Por outro lado, as formulações classificadas como sistema SF (F1, F2 e F3) e como sistema VO (F8 e F9) não apresentaram anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. E as formulações classificadas como sistema VO (F4 e F7) foram homogêneas, mas não apresentaram anisotropia e formação de lamela ou NCLL.

 Tabela 8 - Resultados de anisotropia, homogeneidade e formação de lamelas

 ou NCLL para as formulações (F1-F9) com hidrótropo (DFA, DFB e DFC): VT (■),

Formulações	Ponto diagrama	Anisotropia	Homogeneidade	Formação de lamela e/ou NCLL
LSS				
DFA-F1 (●)	1:9:0,09	Não	Não	Não
DFA-F2 ( <sup>©</sup> )	2:8:0,08	Não	Não	Não
DFA-F3 (🔍)	3:7:0,07	Sim	Não	Não
DFA-F4 (🔺)	4:6:0,06	Sim	Sim	Não
DFA-F5 (🗏)	5:5:0,05	Sim	Sim	Sim
DFA-F6 (🔳)	6:4:0,05	Sim	Sim	Sim
DFA-F7 (🔺)	7:3:0,3	Não	Não	Não
DFA-F8 (🔺)	8:2:0,02	Sim	Não	Não
DFA-F9 (🔺)	9:1:0,01	Sim	Não	Não
P407				
DFB-F1 (🔶)	1:9:0,09	Não	Não	Não
DFB-F2 ( <sup>©</sup> )	2:8:0,08	Não	Não	Não
DFB-F3 (🔍)	3:7:0,07	Não	Não	Não
DFB-F4 (🔺)	4:6:0,06	Sim	Sim	Não
DFB-F5 (🗏 )	5:5:0,05	Sim	Sim	Não
DFB-F6 (🔳 )	6:4:0,05	Sim	Sim	Sim
DFB-F7 (🔺)	7:3:0,3	Não	Não	Não
DFB-F8 (🍐)	8:2:0,02	Sim	Não	Não
DFB-F9 (🔺 )	9:1:0,01	Sim	Não	Não
Tween 20				
DFC-F1 (🔶)	1:9:0,09	Não	Não	Não
DFC-F2 (●)	2:8:0,08	Não	Não	Não
DFC-F3 (🔍 )	3:7:0,07	Não	Não	Não
DFC-F4 (🔺 )	4:6:0,06	Não	Não	Não
DFC-F5 (🔺)	5:5:0,05	Não	Sim	Não
DFC-F6 (🗖 )	6:4:0,05	Sim	Sim	Não
DFC-F7 (🍐)	7:3:0,3	Não	Não	Não
DFC-F8 (🍐)	8:2:0,02	Sim	Não	Não
DFC-F9 (🔺)	9:1:0,01	Sim	Não	Não

VO (▲), LO (♦) e SF (●)

Nota: Sim - Presença. Não - Ausência. DFA - MO:água:LSS. DFB - MO:água:P407. DFC - MO:água:Tween 20. Formulações - F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 e F9 eram compostas por MO:água, respectivamente, 1:9:0,09, 2:8:0,08, 3:7:0,08, 4:6:0,06, 5:5:0,05, 6:4:0,04, 7:3:0,03, 8:2:0,02 e 9:1:0,01 m/m. Sistemas viscosos com aspecto translúcido (VT) ou opaco (VO), sistemas líquidos opacos (LO) e separação de fases (SF). Fonte: Elaboração própria.

As formulações DFA com LSS classificadas como sistema VT (F5 e F6) apresentaram melhores resultados para anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. Porém, as formulações classificadas como sistema SF (F1 e F2) e com sistema VO (F7) não apresentaram anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. As formulações classificadas como sistema VO (F8 e F9) e com sistema SF (F3) não foram homogêneas e formação de lamelas e/ou NCLL, mas apresentaram anisotropia. E as formulações classificadas como

sistema VO (F4) apresentaram anisotropia e homogeneidade, mas não apresentaram a formação lamela e/ou NCLL.

As formulações DFB com P407 classificadas como sistema VT (F6) apresentaram melhores resultados para anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL, mas para a formulação F5 (VT), essa apresentou homogeneidade e anisotropia, porém, não houve formação de lamela e/ou NCLL. Assim, as formulações classificadas como sistema LO (F1), com sistema SF (F2 e F3) e VO (F7) não apresentaram anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. As formulações classificadas como sistema VO (F4) não apresentou formação de lamela e/ou NCLL, porém, são homogêneas e com anisotropia. Para as formulações classificadas como sistemas VO (F8 e F9) apresentaram anisotropia, mas não foram homogêneas e não houve formação de lamela e/ou NCLL.

As formulações DFC com Tween 20<sup>®</sup> classificadas como sistema LO (F1), com sistema SF (F2 e F3) e VO (F4, F5 e F7) não apresentaram anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL. Nas formulações classificadas como sistemas VO (F8 e F9) foi observado anisotropia, porém, as formulações não eram homogêneas e não houve formação de lamelas e/ou NCLL. Para as formulações classificadas como sistema VT (F6) foi observado anisotropia e homogeneidade, porém, não houve formação de lamela e/ou NCLL.

Diante disso, a avaliação de anisotropia, homogeneidade das fases e formação de lamelas e/ou NCLL são caracterizadas, em conjunto, pelo desvio da luz polarizada e da birrefringência. A birrefringência óptica é a formação de dupla refração apresentada por materiais cristalinos, na qual apresenta relação com a propagação de luz polarizada. As NCLL do tipo anisotrópicas são birrefringentes, enquanto as NCLL do tipo isotrópicos não apresentam birrefringência (CALIXTO et al., 2016; LEE et al., 2016).

Embora as NCLL hexagonal e lamelar (cruz de malta) sejam birrefringentes devido à anisotropia dos arranjos das moléculas, diferentemente as NCLL no formato cúbico (isotrópico) não apresentam birrefringência e necessitam de análises complementares para caracterização (BECHTOLD, 2005; PAN et al., 2013). Desta forma, em análise concomitante, para os resultados da avaliação macroscópica e microscópica, as formulações selecionados foram classificadas como sistemas VT (). Estas formulações selecionadas eram compostas pela razão (MO:água) com 60% de fase oleosa (MO), 40% de fase aquosa, e nas formulações com hidrótropo foi adicionado 0,04g. Assim, as formulações selecionadas foram F6, DFA-F6, e DFB-F6. Os resultados da avaliação microscópica e caracterização morfológica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL das formulações selecionadas são apresentados na Figura 23.

Figura 23 - Micrografias das formulações F6, DFA-F6 e DFB-F6 obtidas por microscopia com luz polarizada



Nota: As micrografias foram obtidas em campo claro aumento óptico de 400x. As letras representam as formulações: (A) F6 (MO:água); (B) DFA-F6 (MO:água:LSS); e (C) DFB-F6 (MO:água:P407). Fonte: Elaboração própria.

#### 14.2 Curva analítica da CUR

A curva analítica da CUR apresentou pico máximo de comprimento de onda em 427 nm, como descrito por Alves (2015) e Zsila et al., (2003). O método analítico para quantificação da CUR, alcançou linearidade na faixa entre 0,05 e 5 µg.mL<sup>-1</sup>. A curva analítica da CUR é apresentada na Figura 24 e os resultados correspondem à média da medida em triplicata. O coeficiente de correlação linear (r) foi igual a 0,998, sugerindo relação funcional linear entre a correlação da CUR em comprimento de onda de 427 nm e equação da reta foi y=0,1748x + 0,0397.




Fonte: Elaboração própria.

# 14.3 Equilíbrio de solubilidade da CUR em MO e incorporação da CUR nos sistemas emulsionados precursores de NCLL

O equilíbrio entre MO:CUR foi realizado conforme descrito por Baskaran et al., (2014) e o resultado foi equivalente a 0,35 mg.g<sup>-1</sup>. Assim, o equilíbrio de solubilidade experimental determinou a concentração de CUR incorporada nos sistemas emulsionados precursores de NCLL. A CUR foi incorporada nas amostras previamente selecionadas (F6, DFA-F6 e DFB-F6) pelas análises macroscópica e microscópica.

### 14.4 Teor da CUR

O teor da CUR presente nos sistemas foi determinado experimentalmente. As formulação apresentaram valor médio de incorporação da CUR entre 50 e 70%. A formulação F6 (sem hidrótropo) apresentou aproximadamente 52% da CUR incorporado ao sistema. As formulações DFA-F6 e DFB-F6 (com hidrótropos) apresentaram, respectivamente, 70% e 55% da CUR.

Com isso, foi possível observar que os sistemas com hidrótropo obteve um ligeiro aumento de incorporação da CUR nos sistemas com (DFB) P407, em comparação com a formulação F6. Porém, o sistema com LSS (DFA), em comparação com a formulação F6, apresentou aumento de aproximadamente 20% de incorporação da CUR. Os resultados de teor da CUR presente nos sistemas emulsionados precursores de NCLL são apresentados na Figura 25.



Nota: Letras iguais para mesma análise, indicam que não há diferença significativa entre as médias dos valores (p>0,05) (n=3). Os demais resultados são estatisticamente diferentes (p<0,05) (n=3). Formulações: F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte Elaboração própria.

Diante da análise dos resultados foi observado que os sistemas F6-CUR e DFB-F6-CUR não tiveram diferença estatística, porém, a DFA-F6-CUR foi significativamente maior que a F6-CUR e DFB-F6-CUR.

# 14.5 Caracterização estrutural e avaliação da estabilidade físicoquímica dos sistemas emulsionados precursores de CL

A avaliação da estabilidade físico-química foi realizada após os ensaios de centrifugação e variação térmica. A caracterização estrutural foi analisada por microscopia com luz polarizada e confocal a laser e as propriedades físico-químicas das amostras foram avaliadas por condutividade iônica em função do aumento da temperatura, calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e propriedades mecânicas (dureza, compressão, adesividade e coesividade).

#### 14.5.1 Ensaio de centrifugação

As amostras foram submetidas em estresse por centrifugação, com finalidade de inferir possíveis instabilidade dos sistemas emulsionados precursores de NCLL. De acordo com avaliação macroscópica, os resultados das amostras foram classificados pelo termo SM em comparação ao aspecto inicial, ou seja, não apresentaram alterações macroscópicas.

### 14.5.2 Ensaio de variação térmica

As amostras foram submetidas ao estresse por variação térmica com finalidade de inferir possíveis instabilidade dos sistemas emulsionados precursores de NCLL. Desta forma, após aumento gradual e progressivo na faixa de 40 e 80°C (i), os resultados das amostras foram classificados pelo termo SM em comparação ao aspecto inicial, ou seja, não apresentaram alterações macroscópicas.

Para o ensaio de variação térmica, as amostras também foram avaliadas pelas condições de armazenamento (ii). A estabilidade termodinâmica e físicoquímica foi avaliada pelo potencial zeta, diâmetro de partícula, índice de polidispersidade e variação da concentração hidrogeniônica (pH).

# 14.5.1 Determinação do potencial zeta, diâmetro de partícula e índice de polidispersidade

Nas Figuras de 25 à 27 são apresentados os resultados de potencial zeta das formulações sem (F6, DFA-F6 e DFB-F6) e com CUR (F6-CUR, DFA-F6-CUR e DFB-F6-CUR) sob as diferentes condições de armazenamento (9, 25 e 37°C). Os valores de potencial zeta para as formulações foram negativos, devido os grupamentos químicos presentes nas amostras analisadas (FONSECA-SANTOS, 2015). As formulações apresentaram valor médio entre -16 e -45mv durante o período de acompanhamento.

O potencial zeta é determinado por eletroforese, no qual, mede a carga elétrica de superfície das partículas e serve como indicativo da estabilidade termodinâmica dos sistemas dispersos (RIZWAN et al., 2007; SCHAFFAZICK et al., 2003). O potencial zeta é influenciado pela dissociação dos grupos funcionais na camada de superfície da partícula ou da adsorção de cargas iônicas

presentes no meio. Em relação a estabilidade físico-química, valores relativamente altos de potencial zeta são importantes para evitar a tendência de agregação (SCHAFFAZICK et al., 2003). Alguns estudos consideraram estáveis sistemas emulsionados precursores de NCLL com potencial zeta entre -15 (JIN et al., 2013) e -33 mV (EL-REFAIE et al., 2015).

Os resultados das medidas de potencial zeta para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 9°C são apresentados na Figura 26.





Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações na presença e ausência da CUR, entre os grupos e intragrupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05).

Os resultados das medidas de potencial zeta para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 25°C são apresentados na Figura 27.



Figura 27 - Resultados das medidas de potencial zeta das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações na presença e ausência da CUR, entre os grupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, intragrupos a formulações F6-CUR foi estatisticamente semelhante (p>0,05).

Os resultados das medidas de potencial zeta para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 37ºC são apresentados na Figura 28.



Figura 28 - Resultados das medidas de potencial zeta das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR, entre os grupos e intragrupos, as formulações foram estatisticamente diferentes (p<0,05). Assim, para análise de potencial zeta as formulações armazenadas à 9°C apresentaram, valor médio, de -16 e -45 mV, para 25°C de -25 e -45 mV e à 37°C de -20 e -45 mV. Entretanto, apesar das diferenças, pode observar que a estabilidade termodinâmica das formulações com presença e ausência da CUR não sofreram influência das condições de armazenamento (9, 25 ou 37°C).

Nas Figuras de 29 à 31 são apresentados os resultados de diâmetro de partícula das formulações sem e com CUR, sob as diferentes condições de armazenamento. As formulações apresentaram valor médio entre 200 e 400 nm no período do acompanhamento. De acordo com Marcato (2009), o diâmetro de partícula é influenciado pela composição das amostras, métodos e condições de preparação (temperatura e agitação).

O diâmetro de partícula é um indicativo da estabilidade termodinâmica dos sistemas dispersos (RIZWAN et al., 2007; SCHAFFAZICK et al., 2003). El-Refaie et al., (2015) e Avachat e Parpani (2015), descreveram respectivamente, como sistemas emulsionados precursores de NCLL estáveis com diâmetro de partícula médio entre 99,2 e 202,7 nm. Os resultados das medidas de diâmetro de partícula para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 9°C são apresentados na Figura 29.



Figura 29 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 9°C

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria. Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos as formulações foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, em comparação intragrupos as formulações DFB-F6 e F6-CUR não apresentaram diferenças estatísticas (p>0,05).

Os resultados das medidas de diâmetro de partícula para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 25°C são apresentados na Figura 30.



Figura 30 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos as formulações foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, em comparação intragrupos as formulações F6 e F6-CUR não apresentaram diferenças estatísticas (p>0,05).

Os resultados das medidas de diâmetro de partícula para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 37ºC são apresentados na Figura 31.

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.



Figura 31 - Resultados das medidas de diâmetro de partícula das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos e intragrupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05).

Diante dos resultados apresentados para análise de diâmetro de partículas, as formulações armazenadas à 9°C apresentou, valor médio, de 200 e 400 nm, para 25°C de 200 e 300 nm e à 37°C de 200 e 280 nm. Com isso, pode observar que a estabilidade termodinâmica das formulações com a presença e ausência de CUR não sofreram influência das condições de armazenamento (9, 25 ou 37°C). Porém, as formulações estocadas à 25 e 37°C apresentaram melhores resultados.

Nas Figuras de 32 à e 34, são apresentados os resultados de índice de polidispersidade das formulações sem e com CUR sob as diferentes condições de armazenamento. Os índices de polidispersidade, para as formulações sem e com CUR, foram entre 0,1 e 0,35 durante o período de acompanhamento.

De acordo com CHO (2013), uma organização da distribuição do tamanho das partículas ocorrem quando há uma variação do índice de polidispersão. Os sistemas homogêneos apresentam índice de polidispersidade inferior a 0,25 e consequentemente, são indicativos de sistemas termodinamicamente mais estáveis. El-Refaie et al., (2015) consideraram estáveis sistemas precursores de CL com índice de polidispersidade de 0,259±0,08. Os resultados das medidas de índice de polidispersidade para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 9ºC são apresentados na Figura 32.





Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos e intragrupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05).

Os resultados das medidas de índice de polidispersidade para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 25°C são apresentados na Figura 33.



**Figura 33** - Resultados das medidas de índice de polidispersidade das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos e intragrupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05).

Os resultados das medidas de índice de polidispersidade para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 37°C são apresentados na Figura 34.



**Figura 34 -** Resultados das medidas de índice de polidispersidade das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C

Em análise estatística, os resultados comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos e intragrupos, apresentaram diferenças estatísticas (p≤0,05).

Com base nos resultados observados para o índice de polidispersidade, o valor médio, para as amostras armazenadas à 9°C foi de 0,10 e 0,30, para 25°C de 0,09 e 0,30 e à 37°Cde 0,10 e 0,25, esses resultados sugerem que as diferentes condições de armazenamento (9, 25 e 37°C) não influenciaram na estabilidade termodinâmica, e em consequência, não causaram variações na organização do tamanho das partículas.

## 14.5.2 Variação da concentração hidrogeniônica (pH)

A medida de pH é uma parâmetro indicado para avaliar a estabilidade físico-química das amostras. Nas Figuras de 35 à 37, são apresentados os

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

resultados da medida de pH das formulações com presença e ausência da CUR sob as diferentes condições de armazenamento. As medidas de pH durante o período de acompanhamento apresentou valores entre 6,0 e 7,0.

Na análise das medidas de pH as modificações bruscas indicam possíveis instabilidades no sistema (MONTEIRO e SILVA, et al., 2013). Porém, a redução ou alteração do valor de pH sugerem modificações químicas ou degradação dos compostos presentes na formulação (SAVIAN et al., 2011).

Os resultados das medidas pH para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 9ºC são apresentados na Figura 35.





Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, intragrupos a formulação DFB-F6-CUR foi estatisticamente semelhantes (p>0,05).

Os resultados das medidas pH para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 25ºC são apresentados na Figura 36.



Figura 36 - Resultados das medidas de potencial hidrogeniônico das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 25°C

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. As formulações sem e com CUR entre os grupos foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, intragrupos a formulação DFB-F6-CUR foi estatisticamente semelhantes (p>0,05).

Os resultados das medidas pH para os sistemas precursores de NCLL na condição de armazenamento à 37ºC são apresentados na Figura 37.

![](_page_119_Figure_5.jpeg)

Figura 37 - Resultados das medidas de potencial hidrogeniônico das amostras sem e com CUR na condição de armazenamento à 37°C

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em análise estatística, os resultados foram comparados entre os grupos e intragrupos nos tempos 1, 7, 15, 30 e 60 dias. Nas formulações sem CUR e com CUR as formulações são estatisticamente semelhantes (p>0,05).

Conforme os resultados observados para as medidas de pH, o valor médio, para as amostras à 9°C foi de 6,0 e 7,0 e para 25 e 37°C de 6,0 e 6,5. Os resultados indicaram que durante o período de armazenamento, as formulação mantiveram estáveis e não sofreram instabilidade química.

# 14.5.1 Caracterização estrutural por microscopia com luz polarizada

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL selecionados (F6, DFA-F6, DFB-F6, F6-CUR, DFA-F6-CUR e DFB-F6-CUR) foram avaliados por microscopia com luz polarizada quanto à ausência ou presença de anisotropia, homogeneidade e formação de lamela e/ou NCLL após 24h e 7 dias de preparação das formulações nas condições de armazenamento (9, 25, 37°C).

As amostras na presença e ausência da CUR, apresentaram formação de lamelas e NCLL na forma de cruz de malta. Após 7 dias de preparação foi possível notar a presença das NCLL, porém, com tamanho reduzido em comparação com as análises realizada após 24h de preparação. Assim, essa redução de tamanho das NCLL no tempo de 7 dias nas condições à 9, 25 ou 37°C, sugere que as NCLL estavam em processo de estabilização.

Os resultados das micrografias de microscopia com luz polarizada dos sistemas precursores de NCLL com e sem CUR estão apresentados na Figura 38.

![](_page_121_Figure_0.jpeg)

Figura 38 - Micrografias das formulações na presença e ausência de CUR obtidas por microscopia com luz polarizada

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407); F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). As micrografias foram obtidas em modo polarizado em campo claro com aumento óptico de 400x e analisadas nos tempos: 24 horas e 7 dias nas diferentes condições de armazenamento. As setas indicam a presença de NCLL e formação de lamelas. Fonte: Elaboração própria.

## 14.5.2 Caracterização estrutural por microscopia confocal a laser

Os sistemas emulsionados precursores de NCLL (F6, DFA-F6, DFB-F6, F6-CUR, DFA-F6-CUR e DFB-F6-CUR) foram analisados quanto à formação de estruturas lamelares e NCLL por microscopia confocal a laser.

Os resultados das micrografias de microscopia confocal a laser dos sistemas precursores de NCLL sem CUR estão apresentados na Figura 39.

Figura 39 - Micrografias obtidas por microscopia confocal a laser das formulações F6, DFA-F6 e DFB-F6 sem CUR

![](_page_122_Picture_4.jpeg)

Nota: Micrografia digitais reconstruída em modo XYZ com filtro polaróide, modo PMT na linha de laser 488 nm e PMT-Trans para reflexão com observação pela reflexão do laser sem detectores de emissão ativados. Formulações: A - F6 (6:4: Mo:água); B - DFA-F6 (6:4:0,04 Mo:água:LSS); C - DFB-F6 (6:4:0,04 Mo:água:P407). As setas indicam a presença de NCLL e formação de lamelas. Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 39 foi possível observar nas formulações (F6, DFA-F6 e DFB-F6), a ausência de fluorescência das NCLL, formação de lamelas e CLL e com isso, pode confirmar a presença de NCLL na forma de cruz de malta nos sistemas.

Os resultados das micrografias de microscopia confocal a laser dos sistemas precursores de NCLL com CUR estão apresentados na Figura 40.

![](_page_123_Figure_0.jpeg)

Figura 40 - Micrografias obtidas por microscopia confocal a laser das formulações F6, DFA-F6 e DFB-F6 com CUR

Nota: Micrografia digitais reconstruída em plano confocal XYZ com filtro polaróide, modo PMT na linha de laser 488 nm e PMT-Trans para reflexão com observação pela reflexão do laser com detectores de emissão ativados. Formulações: A - F6 (Mo:água:CUR); B - DFA-F6 (Mo:água:LSS:CUR); C - DFB-F6 (Mo:água:P407:CUR). As setas indicam a presença de NCLL. Em (1), detecção da emissão de autofluorescência da CUR entre 490-590 nm. Para (2) imagens de reflexão do laser sobre o material, e (3) sobreposição das imagens 1 e 2. Fonte: Elaboração própria.

Diante desta análise foi observado que a CUR tem característica autofluorescente na faixa verde (490-590 nm). As formulações na presença da CUR mantiveram sistemas com as NCLL na forma de cruz de malta. Nas micrografias digitais as imagens (1) apresentaram regiões escuras ao redor do verde indicando a não detecção de curcumina em parte da área ocupada pela cruz de malta identificada pela reflexão do laser nas imagens 2, neste caso, a região verde indica a presença da CUR. As imagens (2) apresentam os resultados da detecção apenas do laser que refletiu do aspecto morfológico do material, e para a obtenção das imagens (3) foi observado a sobreposição das imagens 1 e 2, em que a curcumina se encontrou nos vértices laterais da cruz de malta e em seu cerne central.

# 14.6 Avaliação da condutividade iônica em função do aumento da temperatura

Os valores das medidas de condutividade iônica nos sistemas emulsionados precursores de NCLL com e sem CUR são apresentados na Figura 41.

Figura 41 - Resultados das medidas de condutividade iônica em função do aumento da temperatura nas formulações com e sem CUR

![](_page_124_Figure_4.jpeg)

Nota: Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407). F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte Elaboração própria.

Diante dos resultados apresentados, as amostras foram fisicamente mais estáveis quando apresentaram menores valores de condutividade iônica. Assim, na

análise dos resultados permitiram observar que a formulação DFA-F6-CUR apresentou valores entre 77 e 140  $\mu$ S/cm, DFA-F6 valores entre 24 e 140  $\mu$ S/cm, F6 foi entre 30 e 38  $\mu$ S/cm e a F6-CUR entre 2 e 25  $\mu$ S/cm. Estes resultados sugerem instabilidade nas formulações. Nas formulações DFB-F6 e DFB-F6-CUR, os valores observados para essa análise foi inferior a 10  $\mu$ S/cm, com isso, os resultados dessas formulações indicaram sistemas mais estáveis.

Os resultados foram comparados estatisticamente entre os grupos e intragrupos nas temperaturas entre 25 à 70°C. Em comparação entre os grupos, as formulações foram estatisticamente diferentes (p<0,05), porém, intragrupos as formulações DFB-F6 e DFB-F6-CUR não apresentaram diferenças estatísticas (p>0,05).

### 14.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A caracterização termoanalítica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL foi realizada por DSC. Na Tabela 9 são apresentados as temperaturas de fusão, entalpia de fusão (ΔH) dos componentes da formulação e dos sistemas emulsionados precursores de NCLL.

	Amendered	Danta da fueña (ºC)	
formulaç	ão e dos sistemas emulsio	onados precursores de l	NCLL sem e com CUR
Tabe	ela 9 - Temperatura de fus	são e entalpia de fusão (	(ΔH) dos componentes da

Amostras	Ponto de fusão (°C)	ΔH (J/g)
MO	46,27	-15,09
CUR	174,10	-50,35
LSS	103,19	-10,59
P407	56,53	-120,70
F6-CUR	103,10	-112,21
F6	90,34	-51,67
DFA-F6-CUR	104,81	-127,67
DFA-F6	112,69	-27,53
DFB-F6-CUR	104,99	-3,66
DFB-F6	115,36	-62,08

Nota: NCLL - Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas. CUR - Curcumina. Formulações: F6 (MO:água); DFA-F6 (MO:água:LSS); DFB-F6 (MO:água:P407). F6-CUR (MO:água:CUR); DFA-F6-CUR (MO:água:P407:CUR). Fonte Elaboração própria.

E os resultados das curvas termoanalítica são apresentados na Figura 42 (A) componentes da formulação (MO, CUR, LSS, P407) e (B) sistemas precursores de NCLL (F6-CUR, F6, DFA-F6-CUR, DFA-F6, DFB-F6-CUR e DFB-F6).

![](_page_126_Figure_0.jpeg)

Figura 42 - Curva termoanalítica dos (A) componentes da formulação e (B) dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com CUR

Nota: A - Termograma dos componentes da formulação; B - Termograma das formulações com e sem CUR. MO – Monoleína; NCLL - Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas. CUR - Curcumina; LSS - Lauril sulfato de sódio; P407 - Poloxamer 407; F6 (Mo:água); DFA-F6 (Mo:água:LSS); DFB-F6 (Mo:água:P407); F6-CUR (Mo:água:CUR); DFA-F6-CUR (Mo:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (Mo:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Com relação aos componentes das formulações (Fig.42-A) o ponto de fusão de MO apresentou em 46,27°C como descrito por THAPA et al., 2015. O evento térmico em 174°C corresponde ao ponto de fusão da CUR, e o evento térmico na faixa de

158,96 - 179,091°C sugere um estágio de transição vítrea (Tg). O LSS apresentou ponto de fusão em 103,2°C e Tg em 99,81 - 108,74°C. O ponto de fusão de P407 em 56,53°C corresponde ao descrito na literatura (PARK et al., 2010; THAPA et al., 2015), o evento térmico na faixa de 47,23 - 64,06°C sugere um estágio de Tg.

Em relação as formulações (Fig. 42-B) nenhum evento térmico de fusão para CUR pode ser observado nas formulações F6-CUR, DFA-F6-CUR e DFB-F6-CUR. Assim, a ausência do pico endotérmico da CUR indica uma redução da cristalinidade da CUR, sugerindo uma amorfização da CUR. O desenvolvimento de formulações com fármacos na forma amorfa é considerado benéfico em termos de dissolução e biodisponibilidade (ALVES, 2015). Neste caso, é possível inferir que o desaparecimento do pico endotérmico da CUR nas amostras são indicativos da presença de CUR nas NCLL (FONSECA-SANTOS, 2015; JIN et al., 2013).

# 14.8 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os resultados dos espectros são apresentados na Figura 43 (A) componentes da formulação (MO, CUR, LSS, P407) e (B) sistemas precursores de NCLL (F6-CUR, F6, DFA-F6-CUR, DFA-F6, DFB-F6-CUR e DFB-F6).

**Figura 43 -** Resultados dos espectros de (A) componentes da formulação e (B) formulações dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com CUR

![](_page_127_Figure_5.jpeg)

Figura 43 (continuação)

![](_page_128_Figure_1.jpeg)

Nota: NCLL - Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas. CUR - Curcumina. A - Espectros dos componentes da formulação; B - Espectros das formulações com e sem CUR; MO – Monoleína; CUR - Curcumina; LSS - Lauril sulfato de sódio; P407 - Poloxamer 407; F6 (Mo:água); DFA-F6 (Mo:água:LSS); DFB-F6 (Mo:água:P407); F6-CUR (Mo:água:CUR); DFA-F6-CUR (Mo:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Em relação aos componentes das formulações (Fig.43-A) foi possível identificar os estiramentos característicos da CUR. O estiramento em 3510 e 3500 cm<sup>-1</sup> é referente a presença de OH do grupo fenol. O estiramento referente ao anel benzeno pode ser identificado em 1600 cm<sup>-1</sup>. O estiramento referente à conversão ceto-enol foi observado na região entre 1562-1420 cm<sup>-1</sup>. O estiramento referente a C=O na região de 1400 cm<sup>-1</sup>. Na região de 1230 cm<sup>-1</sup> foi possível identificar estiramentos da banda de C-O-C. O estiramento referente C=C do composto aromático pode ser identificado em 1380 e 1000 cm<sup>-1</sup> (ALVES, 2015; GANGWAR et al., 2012).

Os espectros das formulações F6-CUR, DFA-F6-CUR e DFB-F6-CUR foram apresentados na Figura 43-B. Nos resultados foram observados os mesmos estiramentos referentes a CUR e com isso, esses resultados indicam que não houve interação química entre os componentes da formulação e a CUR.

## 14.9 Avaliação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas avaliadas foram dureza, compressão, adesividade e coesividade. Os resultados de propriedade mecânica dos sistemas emulsionados precursores de NCLL, são apresentados na Figura 44.

Figura 44 - Resultados das propriedades mecânicas (A) compressibilidade, (B) adesividade, (C) dureza e (D) coesividade dos sistemas emulsionados precursores de NCLL sem e com CUR

![](_page_129_Figure_1.jpeg)

Nota: NCLL - Nanopartículas cristalinas líquidas liotrópicas. CUR - Curcumina. Formulações: F6 (Mo:água); DFA-F6 (Mo:água:LSS); DFB-F6 (Mo:água:P407); F6-CUR (Mo:água:CUR); DFA-F6-CUR (Mo:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração própria.

Nos parâmetros avaliados, como descrito por Alves (2015) a força necessária para atingir uma certa deformação (dureza) é apresentado no pico positivo (C). A área positiva (A) representa compressibilidade e está relacionada com um trabalho necessário para realizar deformação do produto; essa consiste da característica da dureza da formulação. A adesividade está representada na área negativa (B) e o efeito da tensão de cisalhamento sobre as propriedades estruturais da formulação é representada pela coesividade no pico negativo (D).

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados nominais para as propriedades mecânicas avaliadas.

Formulações	Dureza (g)	Compressibilidade (g.s)	Adesividade (g.s)	Coesividade (g)
F6-CUR	354,3±5,11 <sup>b</sup>	3038,82±320,88 b	933,23±659,03 <sup>b</sup>	322,676±25,85 <sup>bc</sup>
F6	354,5±18,6 <sup>b</sup>	3498,9±117,3 <sup>C</sup>	2788,43±156,56 d	352,24±12,40 <sup>c</sup>
DFA-F6-CUR	359,52±10,9 <sup>b</sup>	3193,41±70,77 <sup>b</sup>	580,92±129,2 <sup>a</sup>	304,60±30,02 <sup>b</sup>
DFA-F6	303,8±7,8 <sup>a</sup>	2544,70±295,73 <sup>a</sup>	1290,35±452,27 c	278,98±9,94 <sup>a</sup>
DFB-F6-CUR	355,144±24,6 <sup>b</sup>	3163,92±180,71 b	680,13±330,53 <sup>a</sup>	419,23±15,68 <sup>d</sup>
DFB-F6	327,75±24,65 <sup>ab</sup>	2393, 87±135,5 <sup>a</sup>	2558,97±136,94 d	300,7±23,86 <sup>b</sup>

**Tabela 10 -** Resultados das propriedades mecânicas: dureza, compressibilidade, adesividade e coesividade das formulações (Média ± Desvio Padrão) (n=3)

Nota: Formulações: F6 (Mo:água); DFA-F6 (Mo:água:LSS); DFB-F6 (Mo:água:P407); F6-CUR (Mo:água:CUR); DFA-F6-CUR (Mo:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (Mo:água:P407:CUR). As letras iguais (para mesma análise) indicam que não houve diferenças estatísticas para as médias dos valores (p>0,05) (n=3). Os demais resultados são estatisticamente diferentes. Fonte: Elaboração Própria

Os resultados das propriedades das formulações mostram que na presença da CUR houve aumento da resistência à deformação para as formulações DFA-F6 e DFB-F6, que foram estatisticamente semelhantes (p<0,05). Sendo assim, a força necessária para deformação mecânica é maior para estas mesmas formulações (p<0,05). Os resultados nominais mostraram redução da adesividade na presença da CUR. Por outro lado, a CUR tem efeito sobre a tensão de cisalhamento, influenciando positivamente a coesividade do sistema apenas para a formulação DFB-F6.

Entretanto, poucos estudos de propriedades mecânicas foram encontrados para avaliação de sistemas de NCLL. Contudo, nós consideramos que estas propriedades estruturais podem ser útil no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas e vias de administração.

# 14.10 Estudo de dissolução e liberação da CUR nos sistemas emulsionados precursores de CL em meio aquoso

O estudo de liberação e dissolução da CUR nos sistemas emulsionados precursores de NCLL são apresentados na Figura 45.

![](_page_131_Figure_0.jpeg)

Figura 45 - Resultados do ensaio de dissolução e liberação de CUR presente nos sistemas emulsionados precursores de NCLL

Nota: Formulações: F6 (Mo:água); DFA-F6 (Mo:água:LSS); DFB-F6 (Mo:água:P407); F6-CUR (Mo:água:CUR); DFA-F6-CUR (Mo:água:LSS:CUR); DFB-F6-CUR (Mo:água:P407:CUR). Fonte: Elaboração Própria

As amostras com CUR incorporada nos sistemas apresentaram baixa taxa de liberação de CUR. As formulações F6-CUR e DFA-F6-CUR apresentaram taxa de liberação inferior a 5% no período de 28h e a formulação DFB-F6-CUR apresentou liberação máxima de 30% no tempo máximo de estudo. Os resultados foram estatisticamente diferentes (p<0,05).

O comportamento de baixa ou nula taxa de dissolução e liberação de fármacos em sistemas nanoestruturados na forma de CLL foram reportados por Fonseca-Santos (2015), Calixto (2013) e Oyafuso (2012). Neste caso, sugere que a CUR tenha afinidade pelo domínio lipofílico do sistema, e com isso a CUR se mantém retida na matriz do sistema emulsionado precursor de NCLL. Contudo, é possível observar em comparação ao estudo de dissolução de CUR livre (*insert*), que apresentou 0,3% de CUR livre após 24h. Apesar da afinidade entre fármaco e matriz, o sistema tem potencial para veiculação e aumento da liberação de CUR.

## 15. CONCLUSÕES

Diferente dos resultados obtidos no estudo anterior (Capítulo II) as formulações otimizadas compostas de MO:Tween 20:água (DFC) não apresentaram a formação de lamelas e/ou NCLL. Este resultado pode ser justificado ao uso do Tween 20<sup>®</sup> como hidrótropo e a menor taxa relativa MO:água (6:4 m/m). Assim, os melhores resultados foi observado nas formulação com a presença do hidrótropo LSS (EHL 40) na formulação com proporção 6:4 (MO:água m/m) (DFA-F6). Essa formulação apresentou melhor potencial para formação de NCLL na forma de cruz de malta e veiculação da CUR.

Apesar da formulação DFB-F6-CUR ter apresentado maior taxa de dissolução e liberação da CUR (30%). A formulação DFA-F6-CUR foi eleita como a melhor, diante do conjunto dos resultados das avaliações de estabilidade termodinâmica e com maior teor da CUR incorporada aos sistemas (70%). Embora, a DFA-F6-CUR tenha apresentado um comportamento de baixa taxa de dissolução e liberação da CUR, que pode ser um indicativo que houve uma maior afinidade da CUR pela matriz dos sistemas, e com isso, ocorreu uma menor taxa de liberação da CUR. Porém, houve aumento da taxa de dissolução e liberação da CUR livre, sugerindo que os sistemas compostos por NCLL apresentaram potencial para veiculação e aumento da liberação da CUR.

# 16.REFERÊNCIAS

ALAM, M. M.; ARAMAKI, K. Liquid crystal-based emulsions: progress and prospects. **Journal of oleo science**, v. 63, n. 2, p. 97–108, 2014.

ALVES, T. F. R. Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis termorresponsivos para administração vaginal e veiculação de curcumina. **Universidade de Sorocaba**, p. 139, 2015.

ANDO, N.; KUWABARA, Y.; MORI, Y. H. Surfactant effects on hydrate formation in an unstirred gas/liquid system: An experimental study using methane and micelle-forming surfactants. **Chemical Engineering Science**, v. 73, p. 79–85, 2012.

AVACHAT, A. M.; PARPANI, S. S. Formulation and development of bicontinuous nanostructured liquid crystalline particles of efavirenz. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 87–97, 2015.

BASKARAN, R. et al. Entrapment of curcumin into monoolein-based liquid crystalline nanoparticle dispersion for enhancement of stability and anticancer activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, n. 1, p. 3119–3130, 2014.

BECHTOLD, I. H. Cristais líquidos: Um sistema complexo de simples aplicação. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. v.27, n.3, p. 333–342, 2005.

BRANCONI, F. L.; et al. Aplicação cosmética do óleo de canola. **In: Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos**, v. 12, p. 6–19, 1995.

BRASIL. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Agência de Vigilância Sanitária**, v. 1, 2004.

CALIXTO, G. M. F. Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos contendo peptídeo análogo à adesina do Streptococcus mutans. **Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista (Araraquara)**, p. 105f, 2013.

CALIXTO, G. M. F. et al. Design and Characterization of a Novel p1025 Peptide-Loaded Liquid Crystalline System for the Treatment of Dental Caries. **Molecules** (Basel, Switzerland), v. 21, n. 2, p. 1–10, 2016.

CARVALHO, F. C. et al. Nasal administration of liquid crystal precursor mucoadhesive vehicle as an alternative antiretroviral therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 1, p. 219–227, 2013.

CHORILLI, M. Desenvolvimento e caracterização físico-química de sistemas nanoestruturados contendo palmitato de retino: controle biológico, avaliação da segurança e eficácia no tratamento do envelhecimento cutâneo. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). **Dissertação de Mestrado**, 2007.

EL-REFAIE, W. M. et al. Novel curcumin-loaded gel-core hyaluosomes with promising burn-wound healing potential: Development, in-vitro appraisal and in-vivo

studies. International Journal of Pharmaceutics, v. 486, n. 1–2, p. 88–98, 2015.

FONSECA-SANTOS, B. Sistemas precursores de cristais liquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal. **Programa de Pós-graduação Farmacêuticas, Ciências**, 2015.

GANGWAR, R. K. et al. Conjugation of curcumin with PVP capped gold nanoparticles for improving bioavailability. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 8, p. 2659–2663, 2012.

ISAAC, V. L. B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. p. 81–96, 2008.

JIN, X. et al. A nanostructured liquid crystalline formulation of 20(S)-protopanaxadiol with improved oral absorption. **Fitoterapia**, v. 84, n. 1, p. 64–71, 2013.

LEE, D. R. et al. Liquid crystal nanoparticle formulation as an oral drug delivery system for liver-specific distribution. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 853–871, 2016.

MARCATO, P. D. Preparation, caracterization and application in drugs and cosmetics of solid lipid nanoparticles. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 2, p. 01–31, 2009.

MASSON, D. S. et al. Polyhydroxy Alcohols and Peach Oil Addition Influence on Liquid Crystal Formation and Rheological Behavior of O/W Emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 463–468, 2005.

MONTEIRO E SILVA, S. A. ET AL. Estudo de estabilidade, análise de comportamento reológico e investigação de Cristais-Líquidos de formulações contendo pó-de-pérola. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 94, n. 14, p. 199–210, 2013.

OYAFUSO, M. H. Desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoestruturados para a administração cutânea de acetato de dexametasona. **Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista (Araraquara)**, p. 87f, 2012.

PAN, X. et al. Nanostructured cubosomes as advanced drug delivery system. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 35, p. 6290–7, 2013.

PARK, Y. J. et al. Development of novel itraconazole-loaded solid dispersion without crystalline change with improved bioavailability. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 8, p. 1217–1225, 2010.

PIANOVSKI, A. R. et al. Uso do óleo de pequi (Caryocar brasiliense) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 249–259, 2008.

RICCI, E. J. et al. Rheological characterization of Poloxamer 407 lidocaine hydrochloride gels. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 3, p.

161-167, 2002.

RIZWAN, S. B. et al. Characterisation of bicontinuous cubic liquid crystalline systems of phytantriol and water using cryo field emission scanning electron microscopy (cryo FESEM). **Micron**, v. 38, n. 5, p. 478–485, 2007.

ROWE, R. C. ET AL. **Handbook of pharmaceutical excipients**. London/Chicago: Pharmaceutical Press, 2006.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 91, n. 2, p. 82–88, 2011.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quimica Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science.** 108–109, 2004.

THAPA, R. K. et al. Multilayer-coated liquid crystalline nanoparticles for effective sorafenib delivery to hepatocellular carcinoma. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 7, n. 36, p. 20360–20368, 2015.

URBAN, M. C. C. Desenvolvimento de sistemas de liberação mico e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona. **Dissertação de Mestrado**, v. Araraquara, 2004.

ZSILA, F.; BIKÁDI, Z.; SIMONYI, M. Molecular basis of the Cotton effects induced by the binding of curcumin to human serum albumin. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 14, n. 16, p. 2433–2444, 2003.

## ANEXO A: Artigo de Revisão Bibliográfica

Review

# Spotlight on Biomimetic Systems Based on Lyotropic Liquid Crystal

Juliana F. de Souza <sup>1</sup>, Katiusca da S. Pontes <sup>1</sup>, Thais F. R. Alves <sup>1</sup>, Venâncio A. Amaral <sup>1</sup>, Márcia de A. Rebelo <sup>1</sup>, Moema A. Hausen <sup>2,3</sup> and Marco V. Chaud <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Laboratory of Biomaterials and Nanotechnology, University of Sorocaba (UNISO), Sorocaba, SP 18078-005, Brazil; julianafsz@yahoo.com.br (J.F.S.); katiusca.pontes@outlook.com (K.S.P.); thaisfrancine1@hotmail.com (T.F.R.A.); venancio\_mt@hotmail.com (V.A.A.); marciarebelo@ig.com.br (M.A.R.)
- <sup>2</sup> Laboratory of Post-Graduate Program in Biotechnology and Environmental Monitoring (PPGBMA), University of São Carlos (UFSCAR), Sorocaba, SP 18052-780, Brazil; mahausen@pucsp.br
- <sup>3</sup> Laboratory of Biomaterials (LABIOMAT), Pontificial University Catholic (PUC), Sorocaba, SP 18030-070, Brazil
- \* Correspondence: marco.chaud@prof.uniso.br; Tel.: +55-15-2101-7149

Academic Editor: Derek J. McPhee

Received: 23 January 2017; Accepted: 28 February 2017; Published: 7 March 2017.

**Abstract:** The behavior of lyotropic biomimetic systems in drug delivery was reviewed. These behaviors are influenced by drug properties, the initial water content, type of lyotropic liquid crystals (LLC), swell ability, drug loading rate, the presence of ions with higher or less kosmotropic or chaotropic force, and the electrostatic interaction between the drug and the lipid bilayers. The in vivo interaction between LCC—drugs, and the impact on the bioavailability of drugs, was reviewed. The LLC with a different architecture can be formed by the self-assembly of lipids in aqueous medium, and can be tuned by the structures and physical properties of the emulsion. These LLC lamellar phase, cubic phase, and hexagonal phase, possess fascinating viscoelastic properties, which make them useful as a dispersion technology, and a highly ordered, thermodynamically stable internal nanostructure, thereby offering the potential as a sustained drug release matrix for drug delivery. In addition, the biodegradable and biocompatible nature of lipids demonstrates a minimum toxicity and thus, they are used for various routes of administration. This review is not intended to provide a comprehensive overview, but focuses on the advantages over non modified conventional materials and LLC biomimetic properties.

**Keywords:** liquid crystals; lyotropic liquid crystals; biomimetic systems; immunodetection; drug carriers

#### 1. Introduction

Rationally designed materials that explore specific, adjustable, reversible, and biodegradable interactions offer advantages over non modified conventional materials, for both regenerative medicine and controlled or target-specific drug delivery systems. When designed to detect and respond to physiological stimuli or imitate structural and functional aspects of biological signaling, these materials are denominated as biomimetic [1]. Biomimetic, biomimicry, or bionic materials are designed to imitate the native temporal and spatial presentation of biochemical and physiological factors, or replace them, using a "like with like" approach in order to improve or restore biological functions. Biomimetic material design only requires the modeling of one or more functional principles, from any biological system. One approach to biomimetic concept creation is to first summarize the essential function of the

desired system and then obtain a biological system that serves as a model and performs similar functions [2].

Liquid crystalline phase structures are often found in living animals, plants, and bacteria. Cellular membranes, for example, are the result of lyotropic liquid crystalline phase, resulting from the dissolution of phospholipids in water. Membrane curvature plays a crucial role in its performance, especially in cell signaling and traffic, and the release of mycobacterial lipids [3,4]. In 1991, Chazotte et al. showed that ubiquinone (also known as Coenzyme Q) moves laterally and transversely in a liquid crystalline membrane, but mostly remains in the membrane's acyl chain region [5]. In addition, evidence indicates that the mitochondrial microsomal membrane and tight junctions between cells are formed by a non-lamellar, liquid crystalline structure. Detailed studies on the properties of methylated or non-methylated sterile esters have shown that a large number of these compounds are intermediates in the biosynthetic sequence, leading to the formation of sterols (sitosterol and stigmasterol), whose properties have been related to crystalline liquid properties that are essential for some plant biochemical processes (since sterile ester can form mesophases) [6].

The stress responses to extreme temperatures are essential for the survival of several organisms, and it has been established that in low temperatures, lipid microviscosity is crucial for a microorganism's survival [7]. When analyzing the protein structural alteration rate, hydrogendeuterium exchange, membrane-lipid disorder, and membrane–water interfacial order/hydration as functions of temperature, Laczkó-Dobos and Szalontai concluded that the gel-to-liquid lipid crystalline phase transition is related to the temperature of cell growth in wild types, but not in desA-/desD mutants [7].

Different studies have shown the existence of many liquid crystalline structures, with lamellar organization being only one. When a phospholipid extracted from a human brain was analyzed using the same technique, two liquid crystalline phases were found: one formed by lipid and water layers in an ordered sequence (lamellar phase) and the other formed by a hexagonal arrangement of cell cylinders. Finally, each cylinder is a thin water channel covered by the hydrophilic groups of lipid molecules (hexagonal phase), with hydrocarbon chains filling the gap between them, and both coexist in equilibrium [8–10].

Alejandro D. Rey published a review on the phase transition, self-organization, interfaces, defects, rheology, and integrated application of biological mesophases and biological liquid crystal (BLC) models, clearly indicating rationally structured molecules in the form of liquid crystals (LC). Imitated organic LC types are analogous, wherein the orientational sequence is frozen in solid form (mammalian connective tissues, fish dermal scales, insect and crustacean exoskeletons, and plant cell walls); biopolymer solution (collagen, cellulose, chitin, viral suspension, and Salmonela typhimurium flagella); and in vivo mesophases (DNA, bacterial chromosome, egg shell collagen, spider silk, sickle cell hemoglobin, and synovial fluid). This classification, although ambiguous, is used to differentiate the origin of the BLC [11-14]. Integrated modeling applications involving thermodynamics/defects/rheology for the experimental characterization of different BLC, including DNA and collagen solutions, have been shown to provide conceptual organization and quantitative tools to establish the properties of these natural occurring materials [15]. Although lamellar liquid crystalline phase (L $\alpha$ ) is the natural state of cell membranes, it can be divided into two distinct subclasses: ordered (lo) or disordered (ld) liquid states [16]. Ordered and disordered, in these terms, refer to a lipid's acyl chain of state. The term "liquid" herein refers to the lack of long-range positional order, and consequently, to a "lack of the lattice" within the bilayer plane and to high-speed lateral diffusion; in contrast to gel phase, such as L $\beta$ , which, in this terminology, is considered to be "solid," with a positional order within the membrane and very slow lateral diffusion [17,18].

#### 2. Biological Liquid Crystals

BLC exhibit long-range partial positional and orientational sequences, and, similar to their synthetic counterparts, are structural and functional materials that display crystal anisotropic elastic behavior and anisotropic suspension viscous behavior [19]. The BLC are found, for example, in nucleic

acids, proteins, carbohydrates, and fats [20], and, as synthetic LC, are sensitive to electromagnetic fields, pH, substrate and interfaces, temperature, light intensity, ultrasound, and concentration gradients [21–25]. These studies demonstrate the potential of molecular design to create new functional materials with predictable operating modes, owing to a LC sensitivity to endogenous and exogenous stimuli, which enables drug release in response to different triggers [26]. Among the exogenous triggers, light intensity is advantageous, since it can be applied remotely with spatial and temporal precision, ensuring high levels of drug control and toxicological safety. Lipidic mesophases (LMP) are systems for alternative drug release that can be triggered by external stimuli [27]. Aleandri et al. recently described light-responsive LLC synthesis using an LMP system comprising monoolein, oleic acid, and azobenzene-derived lipids as the photoactive unit [28].

#### 3. Lyotropic Liquid Crystals-Based Emulsion

Emulsions are dispersing and thermodynamically unstable systems, comprising mutually immiscible liquids and a surfactant. The physical properties of emulsified systems depend on the correct surfactant choice and concentration, the dispersed droplet size, the dispersed and continuous phase's concentration, and its preparation technique. In addition to the influence on the physical stability, the dispersed droplet size also influences the active conveyed emulsions' bioavailability. The droplet size can be altered by dispersed phase slight coalescence and changes in the bioavailability of drugs and nutraceuticals, depending on the emulsion preparation time [29,30].

Because of their industrial, scientific, and drug-release-related importance, many research efforts have been conducted to maintain emulsion-free, energy-high potential, while maintaining their physical and chemical stability, preventing or minimizing coalescence, flocculation, or sedimentation. Different studies have shown that the physical and structural properties of emulsion can be adjusted by using different types of continuous phases, such as the gelled, continuous phase [31], continuous crystalline phase [32,33], particles [34], thermotropic liquid crystal [35,36], and LLC [37,38], or self-emulsified delivery systems (SEDDS) [39,40].

Among the different types of continuous emulsion-phase, LLC are the most versatile structures, enabling the production of mesoporous or macroporous material by a simple, single-step method, through the modeling of highly concentrated emulsions with liquid cubic crystals in the continuous phase [41,42]. Alam and Aramaki published a review on the progress and prospects of LLC, based on emulsions. In the present article, the authors summarize the recent development in oil/liquid crystal or water/LC emulsions' formation, stability, and rheology [43].

The type of molecular structure that generates a liquid crystalline phase is amphiphilic. Amphiphilicity involves the coexistence of two completely different molecule realities, in relation to water. On one hand, flexible hydrocarbon chains prevent contact with the water, while a polar head group tends to orient toward water [44,45]. An amphiphilic self-organized system aggregates through a self-organization process, directed by the hydrophobic effect when mixed with water. Amphiphilic self-organized systems are characterized by structures in which the polar part (hydrophilic group) protects the nonpolar chain (hydrophobic group) from contact with the aqueous solvent [46]. When the amphiphilic concentration in a lyotropic system exceeds the micelle critical concentration or the critical aggregation concentration (CAC), an amphiphilic self-organized aggregate is formed as an independent entity, in balance with an amphiphilic monomer in the solution [47], without any orientational or positional long-range order [44].

Liquid crystalline phases with different architectures are formed when the amphiphilic concentration in the water exceeds CAC, and this compound self-organizes in a spatially regular manner. The self-organized system depends on a delicate balance between intermolecular forces to promote the structure of LC, and even a small alteration can disrupt the ordered structures of LC [48]. Amphiphilic self-organization in aqueous or non-aqueous medium also depends on the temperature and the degree of hydrophobic chain introduction [49–51]. LC have different phases known as mesophases, which differ in the individual orientation of their molecules, with different orders in each phase. The most commonly described phases are the crystalline lamellar or amorphous, hexagonal types

H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub>, and discontinuous (I<sub>1</sub> and I<sub>2</sub>) and bicontinuous cubic types (V<sub>1</sub> and V<sub>2</sub>) [22,52,53]. Each stage is sensitive to temperature, pH, and the presence of impurities or foreign particles. Therefore, LC can be considered responsive materials [54]. Regarding LC orientational changes, not only the nature of foreign particles, but also their shape, size, and surface properties, play a critical role in the manufacturing process. Thus, LC materials that have optical anisotropy when observed under polarized light may have a dark or bright appearance, according to their order or orientation [48].

Molecular orientation in LC is the origin of the birefringence that is not present in the glassy state, as it does not have the molecular orientational order. LC show general properties like birefringence; a response to magnetic and electric fields; optical activity in twisted nematic phases; and sensitivity to temperature, resulting in color changes [55]. An aligned LC phase shows two refractive indices, along and across the long molecular axis. When a sample is illuminated, it is split into two components: ordinary (polarized perpendicular) and extraordinary (polarized parallel) rays. The difference in the refractive index between the two directions is the birefringence. The extraordinary refractive index ( $n_e$ ) is bigger than the ordinary refractive index ( $n_e$ ). Nearly all LC have a positive birefringence. The birefringence decreases with temperature, due to a reduction in the order parameter with increasing temperature. The birefringence's optical property can be defined as the resolution of a light wave into two unequally reflected or transmitted waves, by an optically anisotropic medium [56].

The dielectric constant of an aligned LC phase depends on the direction of the molecules within the sample. In an electric field, the higher dielectric constant will tend to assume a horizontal position on the supporting surface. The dielectric property of the liquid crystalline system can be defined as the material that does not readily conduct electricity [55,56].

#### 4. Viscoelastic Properties

Only a small number of materials obey Newton's law of viscosity or Hooke's law of elasticity, and neither are applicable to LC. The complex behavior of rheological materials, which often have both fluid and solid properties, is called viscoelasticity. Yu et al. shows that a typical creep curve consists of three regions: the elastic (first part), viscoelastic (second part), and viscous region (third part), respectively. An instantaneous elastic response, retarded elastic response, and a linear relationship between strain and time, begins at the viscoelastic region to infinity [57]. Further manifestations of viscoelasticity were reported for a lecithin/water binary system after detecting normal stress differences under shear flow, measuring the stress relaxation after steady flow and attempting to conduct small amplitude oscillatory shear experiments [58]. In 1993, Robles Vazquez et al. presented the whole linear viscoelastic spectrum and interpreted it on the basis of a weak-gel response, which implies a preponderance of the elastic component on the viscous one, within the standard available experimental conditions [59]. The conclusion that emerges from this work is that the interaction between electrical double layers of the surfactant molecules in the lamellar bilayers, as well as hydration and van der Waals forces, play an important role in the viscoelastic behaviour of surfactant-based lyotropic mesophases. In 2005, Mezzenga et al. showed that each distinct LC phase has a specific rheological signature. The lamellar phase was demonstrated to be a plastic material, the hexagonal phase to be a viscoelastic material, and the bicontinuous cubic phase showed complex rheological behaviour, with different characteristic relaxation times. They argued that current models describing the viscoelasticity of bicontinuous cubic phases are inadequate for fully explaining the experimental features observed [60].

#### 5. Medical Setting

Zhou et al. (2014) and Fong et al. (2016) concluded that LLC materials will continue to evolve as unique systems with advantageous physical, chemical, and biological properties, which will be exploited in a wide range of advanced biomedical material and devices, and which will bring about changes in medical settings [61,62]. Liquid-crystal materials have often been referred to as a curious phases of matter, but their impact on modern technology has been profound [63].

A large subset of the LLC research community is making use of our new understanding of these materials, to develop innovative biosensor devices for bedside diagnostics and laboratory applications.

LLC materials, with their birefringent properties and extreme sensitivity to surface interactions, are poised to play an important role in these devices. Optical sensors using LC materials could eliminate the need for markers or tags, as the LLC molecules act to enhance the optical appearance of signals of a biological process or structure. LLC have been recently used in a wide array of sensing applications that exploit the high sensitivity of their alignment to the conditions of surrounding immiscible media [63,64]. Combined with the optical anisotropy of LLC, this sensitivity produces a rapid, easily-visualized response. The potential of LLC as a sensor is significant and the design of the sensor permits a response to be viewed in a small area [64].

Yamaguchi et al., using small angle x-ray scattering (SAXS) analysis, demonstrated that a response to the transient structural change of a lipid was detectedm which might result from the diffusion of oil and/or water from nanocube<sup>™</sup> LC, towards the lipid lamella phase. Simultaneously, a significant increase in growth factors and inflammatory cytokines was detected after the administration of nanocube<sup>™</sup>. Not only the excess expression of cytokines, but also the extent of transepidermal water loss as a barrier marker of skin, increased. These observations suggest that a structural change in a lipid can stimulate and trigger the recognition of a slight injury in the wound defence and a repair response as homeostasis [65]. In addition to traditional polymer processing, biopolymers were fabricated with nanometer scale network morphology, using LLC templates to impart lamellar nanoscale architecture within the synthetic scaffolds. For three-dimensional directional cell growth, hydrogels with oriented channels have been used with some success. However, the microscopic pores usually have no nanoscale orientation for guiding cell growth, and the scaffolds are most often preformed, thus requiring invasive implantation surgery. The aligned nanofibers can direct cell growth. The alignment of LC at low shear rates has also been used to create scaffolds with a nanoscale orientation. Three-dimensional, cellcontaining scaffolds with a long-range directional order can be produced by a variety of external force fields (i.e., magnetic field, flow field, and meniscus force). LLC of nanoscale phage particles can be mixed with cells and injected into a matrix, to yield microscale fibers displaying a long-range (greater than 1 cm) ordering of aligned phage. So, constructing tissue regenerating materials with phage nanofibers may provide several advantages over conventional methods [66-68]. Responsive, lipidbased mesophase systems offer other opportunities in biomedical applications, such as biosensing, diagnostics, drug delivery systems [62], tissue targeting [69], and tissue regeneration [65,67,70]. Fong et al. (2016) completed the important review on responsive, self-assembled nanostructured lipid systems for drug delivery and diagnostics. They summarized the distinctive features of this LLC and concluded that the promising applications of LLC depend of the synergistic exploitation of the mesophases and the advancement of science [62].

#### 6. Liquid Crystals as Sensing Systems

The LC biosensor is a research area of sensor technology, which integrates modern biotechnology, and in recent years, the LC biological sensors have become a hotspot of associated research [71]. A macromolecular organic compound is ordinarily immobilized in close proximity to a transducer surface, facilitating direct or mediated signal transfer to the transducer [72,73]. Different types of biologically sensitive materials can be selectively used to recognize a particular substance. These include enzymes, multi-enzymatic systems, organelles, photosensitive plant and bacterial membranes, protoplasts, whole cells, tissue slices, antibodies, DNA, carrier protein, and even receptor systems isolated from cell membranes [74–76]. An acetylcholinesterase biosensor LC system was developed, based on the enzymatic growth of gold nanoparticles for amplified acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitor detection [77]. Glucose is an example of an important biomolecule, and the sensor's ability to detect it and measure its concentration, is important for a better understanding of its role in biological environments such as single cells and bacterial cultures. A glucose sensor based on 4-cyano-4'pentyl biphenyl and on octadeyltrichlorosilane-coated glass slide as a substrate, showed the sensitivity to detect and measure glucose concentrations from 1.0 pmol to 50.0 nmol [78]. A sensor may be obtained from a biological macromolecular compound, ordinarily immobilized in close proximity to

the transducer surface, thereby facilitating signal expansion and direct or mediated transfer to the transducer [48].

Biomimetic devices such as LC can act as signal amplifiers to modulate specific associations, dependent on hydrophobic, electrostatic, and van der Waals interactions. This specificity can be used to detect antigen-antibody, receptor-toxin, enzyme-substrate, and drug-receptor interactions, thereby amplifying the measure of intrinsic activity, transforming the interaction into measurable signals. Valloran et al. (2016) showed that, during the in meso peroxidase enzymatic reaction, the converted product crystallizes within the mesophase domains, generating a detectable birefringence signal. A new general assay principle is presented for the detection of an unprecedented vast class of analytes, using birefringence as a sole optical output signal [79].

Khan and Park showed the use of 4-cyano-4'pentyl biphenyl as a sensing application material, and demonstrated that the LC-based glucose biosensor functionalized with poly (acrylicacid-b-4-cynobiphenyl-4'-oxyundecylacrylate), and that quaternized poly(4-vinylpyridine-b-4-cynobiphenyl-4-oxyundecylacrylate) has advantages such as low production costs, simple enzyme immobilization, high enzyme sensitivity and stability, and easy polarized optical microscope detection, and may be useful for prescreening the glucose level in the human body [80].

The immunodetection of cancer biomarkers is an essential procedure in cancer detection and diagnosis. The LC-based immunodetection offers an alternative and sensitive approach for the detection of biomarker proteins, with the potential of replacing conventional immunoassays used in biochemical studies. When considering the detection of biomolecules, a higher sensitivity can be achieved through a more significant phase retardation, using a LC mixture of larger birefringence material. Studies on the label-free immunodetection of the cancer biomarker CA125, using larger birefringence material, show that techniques based on birefringent LC have the potential of detecting a wide range of biomolecules and should be further pursued, in addition to conventional immunoassays [81].

The substrate feature for LC alignment is a key component for a LC-based detection system (sensing-LC system). However, the alignment is also influenced by the nature and type of the surfactant molecule at the air-liquid interface. Nonpolar surfactant portion branching and organization influence the liquid crystals' orientational order (or anchorage). Similarly, ordering/anchoring is dependent on liquid crystals' alkyl chains and core [82,83]. Studies of the biosensors should focus on adopting new technology and using new materials, selecting the suitable function materials for the determination of the objects. Besides, the bionic biosensors have the potential to replace biological visual, olfactory, gustatory, auditory, tactile, and other sensory organs [71].

#### 7. Liquid Crystals Homeotropic Alignment

There are many different types of LC phases, which can be distinguished by their different optical properties. When viewed under a polarized light source, different LC phases appear to have distinct textures. The contrasting areas in the textures correspond to domains where the LC molecules are oriented in different directions. Early on in LC research, observations were made concerning the spontaneous interaction of the fluid with surfaces. Chatelain (1943), in his classic investigation of homogeneous alignment on rubbed surfaces, hypothesized that the orientation results from dipole interactions between an ordered layer of adsorbed fatty impurities and the proximate nematic molecules, but he was unable to eliminate the possibility that the mechanism involved the alteration of the substrate surface itself [84]. Berreman (1972) showed that elastic strain energy may account for the tendency of nematic LC to lie parallel to the direction of rubbing on a solid surface that has been slightly deformed, or perpendicular to a surface that is slightly rough in two dimensions [85]. Homeotropic alignment is the state in which a rod-shaped liquid crystalline molecule is perpendicularly aligned to the substrate, in contrast to homogeneous alignment, in which molecules and substrates are aligned in parallel. This phenomenon of the orientation of liquid LC by surfaces is the so-called anchoring. The phenomenon of anchoring is also similar to the epitaxia observed in the growth of some solid crystals on others. While an epitaxial layer is seldom obtained, LC phases are oriented by any surface, even free surfaces [86].

LLC differ from thermotropic LC in that they are not homogeneous phases. They are obtained by putting rod-like particles or macromolecules in solution, by making soap solutions, or by mixing oil and water by mean surfactants. Amphiphilic surfactant molecules form micelles, with their hydrophilic heads pointing into the water. The hydrophobic tails point into the oil, if it is stabilizing the oil/water interface. All materials showing LC behavior belong to two general classes: lyotropic materials, in which fluid anisotropy results from interactions between anisotropic aggregates of amphiphilic molecules; and thermotropic materials, in which the orientational order arises from interactions among partially rigid anisotropic molecules. Amphiphilic compounds can form a variety of thermotropic LC phases as a function of temperature by themselves, and LLC phases upon the addition of some solvent, such as water or diethylene glycol [87].

The interaction between the surfactant aliphatic alkyl chain and the LC is largely responsible for controlling the orientational arrangement of LC in the LC-water interface [88, 89]. The orientational arrangement of LC is also sensitive to the degree of branching and conjugations in aliphatic chains. However, amphiphilic molecules for the LC-water interface are essential for homeotropically aligning the LC [48]. When a synthetic phospholipid is used to align LC molecules, unilamellar lipid vesicles or doped unilamellar lipid vesicles by a receiver, complementary to the target analyte, can also be used to homeotropically align LC molecules [82,90].

The lipid "A" bacterial endotoxin has also been used for LC alignment purposes [68,69]. Sodium dodecyl sulfate is a surfactant used for LC alignment at the air-liquid interface, whose operation is similar to that of phospholipids, but with the advantage that it is used in its unaltered form, where lipid vesicle formation is an essential step to the induction of LC alignment [89]. Ionic surfactants have been used to study the interaction of LC droplets, coated with polyelectrolytes. Bromide octa-decyl-trimethyl ammonium adsorption at the LC-water interface has been undertaken to develop homeotropically aligned LC molecule and immobilized LC droplet optical sensors on living cells [91–93]. LC-based sensors have been developed to analyze label-free polyelectrolytes, ions, molecules, and biological systems. Copolymer amphiphilic blocks have been used as sensors [94] for glucose [80] and protein [95]. A protein-containing solution such as bovine serum albumin causes an orientational ordering change of LC sensing dots; this change is indicated by a dark-to-bright transition in LC sensing dots' optical appearance [96]. The principle of detection of these sensors is based on the LC highly sensitive orientational response to small changes in the surface structure [97].

#### 8. Drug Delivery

With the advent of drug design, different lipid types have been studied for drug delivery through different administration routes. Partially hydrophilic lipids in solid state have been used as hydrophilic drug carriers in sustained release systems, in different administration routes, as drug carriers in solid implants, or in biomimetic engineering applications [98, 99]. Polar amphiphilic lipid reorganization in water invariably forms lipid bilayers. However, depending on the temperature and on the media's water content, lipids are organized in cubic lamellar (V<sub>2</sub>) and hexagonal (H<sub>2</sub>) mesophases, which constitute the most common LLC systems used in drug delivery systems (DDS) [91,96]. Lamellar phases (L $\alpha$ ) are formed by higher amphiphilic lipid concentrations and meet a long-range order, whose structure is constituted by a linear arrangement of alternating lipid bilayers and a water channel.

Owing to its potential for controlled drug release, and biomimetic and biopharmaceutical properties, the use of partially hydrophilic lipids in LLC preparation expanded their use in the drug delivery system [14]. At present, LLC are among the most promising strategies for increasing a drug's bioavailability, and for modifying release and absorption kinetics [28, 100–102], as well as for target-specific drug delivery systems [103, 69]. LLC particles are nanostructures proven to be extremely versatile for DDS, are nontoxic and biodegradable, and can be used for various routes of administration including ophthalmic [104], nasal [105], vaginal [106], dermal [107], oral [108], or parenteral [101].

The structures of the cubic and hexagonal phases have received considerable attention because of their potential as vaccine delivery systems [78,90]. Cubic and hexagonal phases provide a slow drug release matrix, and protect nucleic acids, proteins, and peptides from physical and chemical

degradation, with a view to exploiting these features for small molecules such as acyclovir [109] and salbutamol [44]. For a given cubic phase, the rate of diffusion depends on the molecular size of the diffusant. Further, the rate of transport for a given diffusant can be adjusted when the aqueous channel size of the hosting cubic phase is changed by using lipids with different acyl chains. Additional control over the release was demonstrated when the strength of the electrostatic interaction between the diffusant and the walls of the channels were fine-tuned. Exquisite control over the release can be achieved by adjusting the electrostatic interaction's strength and by his-tagged displacement [110].

#### 9. Release, Absorption, and Permeation Mechanism

Drug colloidal carriers, especially LLC, seem to be promising candidates for the different administration routes and modified release of drugs, peptides, genes, and other bioactive compounds. Libster et al. first reported that the inverse hexagonal lyotropic mesophase could be used as a hydrophobic peptide crystallization medium, resulting in crystals of high specific quality which were stable for crystallographic analysis. In this study, cyclosporine-A crystals provided excellent X-ray information, with a 1.0 Å limit resolution diffraction [109].

A drug transdermal release system comprising the drug and a mesophase (amphipathic/lipophilic/water), or an expanded mesophase form, wherein the drug is contained within the mesophase, is a carrier adapted to transport and, after administration, gradually releases the drug in a sustained manner and for a long period of time [76,96].

Hexagonal mesophase drug release behavior seems to follow the Higuchi diffusion-controlled kinetic model [92], where the cumulative amount of drug diffusion through the matrix linearly depends on the square root of time. Geraghty et al. studied the in vitro antimuscarinic drug release from monoolein 18–99/water hydrogel, and found that sustained drug release for an 18-h period followed the Higuchi diffusion-controlled model [111]. Therefore, it seems that drug-controlled diffusion is influenced by the internal order and symmetry of mesophase.

Efrat et al. developed an analytical method to detect the levels in which LLC system host molecules contribute to mesophase's internal order and symmetry (kosmotropic effect), and the level to which they destroy the internal symmetry and are phase transformation agents (chaotropic effect). In contrast, these authors reported that the presence of host molecule ions could be structurally complementary to one another and exhibit synergistic solubilization [70,98,112]. Apparently, the highest permeation rates can be obtained with molecules of higher ionic kosmotropic quality (OH<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Li, Zn<sup>2+</sup>, and Al<sup>3+</sup>). In contrast, molecules with more chaotropic ions (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Br<sup>-</sup>, and I<sup>-</sup>) tend to be intercalated in the interfacial area and interact with the polar fraction of lipids. Thus, drug diffusion by the water channels of lyotropic mesophase is prevented by two factors [113]. The first is the drug geometric confinement, which restricts their movement and their diffusion in the LLC aqueous domain. The second factor is the chemical interaction's strength between the drug's and lipid's hydrophilic and lipophilic fractions [114].

Using inverse hexagonal mesophase (HII), the authors have shown that small and hydrophilic peptides may be solubilized in the mesophase HII. In vitro studies demonstrated that hexagonal mesophase has the potential to release transdermal desmopressin and increase transdermal permeation of cyclosporine-A [100, 101, 115].

These systems have also been shown to be effective for target specific drug release. *p*-Aminobenzoic acid (PABA) is a drug used to treat skin fibrotic disorders and is also used as a sun screening agent. PABA has a limited oral bioavailability owing to its low solubility in water (6.1 mg·mL<sup>-1</sup>), which makes it a candidate drug for LC formulation. Kadhum et al. evaluated the utility of oral formulations to enhance PABA bioavailability and specific skin targeting. In this study, an oral formulation using the dispersions of LC cubosomes significantly increased LC-PABA bioavailability, when compared with PABA solution alone. The authors attributed the effect to LC-forming lipid types, suggesting that the oral administration of LC formulations is advantageous for the target specific release of PABA to the dermal tissue [116]. However, one must consider that the LC molecules are highly
ordered, such as in solid state, whereas drug molecules in liquid preparations are free and diffuse randomly, reducing their bioavailability [117].

The rheological mucoadhesive properties of the LC precursor formulation for nasal administration comprising PPG-5-CE-TETH-20, oleic acid, and water, proved to be a promising strategy for the systemic release of zidovudine and other antiretroviral drugs [117]. The mucoadhesive LC precursor system comprising PPG-5-CETETH-20, oleic acid, chitosan, and poloxamer 407, was suitable for vaginal curcumin administration [106]. In both studies, drugs have their bioavailability limited by low water solubility. In the curcumin study, the LC form also increased the chemical stability of this phytochemical.

High concentrations of the polyethylene glycol oxy-stearate (HLB 14-16) and glycerol polyethylene glycol ricinoleate (HLB12-14) surfactants were used to prepare LLC nanoparticles to carry finasteride for topical delivery. Results showed dosage stability, a quick release, and a significant increase of finasteride dermal permeation. Permeation increase was attributed to the degree of lipid acyl chain disorganization, which might cause a fluidity increase in the stratum corneum.

The correlation between the structure of various LLC and anti-inflammatory diclofenac transdermal administration has been evaluated [89,92,118]. The Kosmotropic or chaotropic agents' impact of diclofenac derived salts (Na <sup>+</sup>, K <sup>+</sup>, and diethylamine—DEA<sup>+</sup>) was assessed for different lyotropic mesophase structural characteristics and the transdermal release profile. The LC from this study was prepared by mixing monoolein/ethanol/water. The most chaotropic DEA effect between diclofenac derivatives (diclofenac DEA<sup>+</sup>) interacts with monoolein polar fraction and breaks its internal symmetry, causing phase transformation by expanding the lipid-water interface of lamellar and cubic mesophases. Potassium diclofenac, which is the least chaotropic diclofenac salt derivative, had a less pronounced effect on the mesophase structure. As expected, sodium salt (kosmotropic) had the least influence on both lamellar and cubic mesophases [115].

Another important application of LLC is the periodontal release of anesthetics and antibiotics for the prevention and treatment of infections. The interaction of lidocaine and lidocaine hydrochloride with the LC structure, for topical use, was studied. The in situ preparation of the anesthetic containing LC led to the arrest of the salt within the aqueous lamellar LC region, possibly owing to the chaotropic effect. In this case, the release of salt (lidocaine HCl) is slow, owing to the inability of the salt to penetrate more of the lipophilic fraction [119]. The various options described for the host drugs of microstructure LLC systems can be applied for analgesia, topical, ocular, post herpetic, and other applications [104–106].

The development of a pre-concentrate LLC-free water, with a good physical tolerance and the spontaneous formation of LC in an aqueous medium, is designed to be injected in the periodontal pocket, where it would be transformed into a crystalline phase of higher viscosity with a texture for controlled drug release. Metronidazole benzoate was used as an active agent. Miglyol 810 and polyethylenoglycol oxy-stearate (HLB 14–16), and glycerol polyethylenoglycol ricinoleate (HLB12-14), were used to form the LLC phase with 10%–40% water content. The rigidity of the lyotropic structure influenced by surfactants exerted a higher effect on the release of the metronidazole benzoate [119]. Bruschi et al. used a precursor system LC phase compound of gelatin microparticles, containing propolis, PPG-5-Ceteth 20, isopropyl myristate, and water for the treatment of periodontal diseases. In this study, the release was not Fickian (anomalous) for 10%, 30%, and 50% of the initial drug loading [120].

## 10. Conclusions

The alignment layers for LC and the creation of patterned surfaces by self-organization anisotropic molecules can be previewed in advance, using bottom-up approaches, for example. However, the complete control of adsorption on a surface is not easily achieved. As proposed by Hoogboom et al., one way to produce well-defined arrays is to use self-assembling molecules associated with physical phenomena, such as surface dewetting [121]. More detailed studies on this proposal could help overcome one of the main obstacles of clinical application and the business of the LLC forms.

The behavior of lyotropic biomimetic systems in drug delivery is multifactorial, such as the properties of the drugs, initial water content, phase LLC type, swellability, drug loading rate, the presence of ions with higher or less kosmotropic or chaotropic force, and the electrostatic interaction between the drug and the lipid bilayers. In this regard, it is a range that can be determined by the free energy of salt hydrogen bonds ( $\Delta G_{HB}$ ). The higher the value of  $\Delta G_{HB}$ , the greater the kosmotropic effect, while the chaotropic effect is more pronounced for lower  $\Delta G_{HB}$  values. Conversely, in vivo interaction studies between the LC and the drugs are limited, and the LC biopharmaceutical impact on the drugs' bioavailability is not sufficiently clarified. The marketing of LLC systems still faces obstacles, including well defined methods for production scheduling, the loss of physical stability, and the absence of lipids with previously known phase behavior. However, scientific research on the mesophase systems continues to instigate researchers in both academia and industry. Studies not yet published by our group have shown an advance in knowledge to improve the clinical use of LLC in systems for drug delivery.

**Acknowledgments:** This work had financial support from CAPES/PROSUP (Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares). We thank Kerry (Brazil) for supplying the raw material.

Author Contributions: All authors worked closely together, Juliana Ferreira de Souza, Katiusca da Silva Pontes, Thais Francine Ribeiro Alves, Venâncio Alves Amaral, Márcia de Araújo Rebelo and Moema Alencar Hausen contributed to the drafted, data search, review, description of the manuscript and the construction of graphical abstract. In particular: Marco Vinícius Chaud coordinated and drafted the manuscript. Juliana Ferreira de Souza and Katiusca da Silva Pontes and Moema Alencar Hausen have worked at Lyotropic liquid crystal-based emulsion, Liquid crystal as sensing systems and Liquid crystals homeotropic alignment. Thais Francine Ribeiro Alves, Venâncio Alves Amaral have worked at Viscoelastic properties and Drug delivery. Márcia de Araújo Rebelo and Marco Vinícius Chaud have worked at Medical setting and Release, absorption, and permeation mechanism. All authors have read and approved the final manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

## References

- Webber, M.J.; Appel, E.A.; Meijer, E.W.; Langer, R. Supramolecular biomaterials. *Nat. Publ. Gr.* 2016, 15, 13–26.
- Vakili, V.; Shu, L.H.; Vakili, V.; Shu, L.H. Towards Biomimetic Concept Generation. Des. Theory Methodol. 2001, 1, 1–10.
- 3. Wu, Q.; Liang, Q. Interplay between Curvature and Lateral Organization of Lipids and Peptides/Proteins in Model Membranes. *Langmuir* **2014**, *30*, 1116–1122.
- 4. Beatty, W.L.; Rhoades, E.R.; Ullrich, H.; Chatterjee, D.; Heuser, J.E.; Russell, D.G. Trafficking and Release of Mycobacterial Lipids from Infected Macrophages. *Traffic* **2000**, *1*, 235–247.
- 5. Chazotte, B.; Wu, E.; Hackenbrock, C.R. The mobility of a fluorescent ubiquinone in model lipid membranes. Relevance to mitochondrial electron transport. *Biochim. Biophys. Acta* **1991**, *1058*, 400–409.
- 6. Atallah, A.M.; Nicholas, H.J. Function of Steryl Esters in Plants: A Hypothesis That Liquid Crystalline Properties of Some Steryl Esters May Be Significant in Plant Sterol Metabolism. *Lipids* **1974**, *9*, 613–622.
- 7. Laczkó-Dobos, H.; Szalontai, B. Lipids, Proteins, and Their Interplay in the Dynamics of Temperature-Stressed Membranes of a Cyanobacterium, Synechocystis PCC 6803. *Biochemistry* **2009**, *48*, 10120–10128.
- 8. De Kruijff, B. Lipid polymorphism and biomembrane function. Curr. Opin. Chem. Biol. 1997, 1, 564–569.
- 9. Luzzati, V.; Husson, F. Structure of the liquid—Crystalline systems phases of lipid—Water systems. J. Cell Biol. 1962, 12, 207–219.
- 10. Tilcock, C.P.S.; Cullis, P.R. Lipid Polymorphism. Biochim. Biophys. Acta 1979, 559, 399-420.
- 11. Neville, A.C.; Luke, B.M. A biological system producting a self-assembling cholesteric protein liquid crystal. *J. Cell Sci.* **1971**, *71*, 93–109.
- 12. Giraud-Guille, M.-M.; Belamie, E.; Mosser, G.; Helary, C.; Grobeaux, F.; Vigier, S. Liquid crystalline properties of type I collagen: Perspectives in tissue morphogenesis. *Com. Rend. Chim.* **2008**, *11*, 245–252.
- 13. Dogic, Z.; Fraden, S. Development of model colloidal liquid crystals and the kinetics of the isotropic—Smectic transition. *Universität Potsdam* **2001**, 997–1015, doi:10.1098/rsta.2000.0814.
- 14. Garidel, P.; Kaconis, Y.; Heinbockel, L.; Wulf, M.; Gerber, S.; Munk, A.; Vill, V.; Brandenburg, K. Self-

Organisation, Thermotropic and Lyotropic Properties of Glycolipids Related to their Biological Implications. *Open Biochem. J.* **2015**, 2015, 49–72.

- 15. Rey, A.D. Liquid crystal models of biological materials and processes. *Soft Matter* **2010**, *6*, 3402–3429.
- 16. Lagerwall, J.P.F.; Scalia, G.; Scalia, G. A new era for liquid crystal research: Applications of liquid crystals in soft matter nano-, bio- and microtechnology. *Curr. Appl. Phys.* **2012**, *12*, 1387–1412.
- 17. Hirst, L.S.; Taylor, P.; Uppamoochikkal, P.; Lor, C. Phase separation and critical phenomena in biomimetic ternary lipid mixtures. *Liq. Cryst.* **1735**, *2011*, 11-12-1747.
- 18. Lingwood, D.; Simons, K. Lipid Rafts as a Membrane-Organizing Principle. Science 2010, 327, 46–50.
- 19. Stephen, M.J.; Straley, J.P. Physics of liquid crystals Liquid Crystals in General. *Liq. Cryst. Display Drivers* **1974**, 46, 67.
- 20. Larson, R.G. *The Structure Rheology of Complex Fluids*; New York Oxford Univ. Press: New York, NY, USA, 1999.
- 21. Kaur, R.; Bhullar, G.K.; Rao, N.V.S.; Raina, K.K. Effect of pH on the control of molecular orientation in monolayer of bent-core liquid crystal materials by Langmuir–Blodgett method. *Liq. Cryst.* **2014**, *42*, 8–17.
- 22. Hyde, S.T. Bicontinuous structures in lyotropic liquid crystals and crystalline hyperbolic surfaces. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1996**, *1*, 653–662.
- 23. Park, J.; Sun, L.B.; Chen, Y.P.; Perry, Z.; Zhou, H.C. Azobenzene-functionalized metal-organic polyhedra for the optically responsive capture and release of guest molecules. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5842–5846.
- 24. Patra, D.; Zhang, H.; Sengupta, S.; Sen, A. Dual stimuli-responsive, rechargeable micropumps via 'host-guest' interactions. *ACS Nano* **2013**, *7*, 7674–7679.
- 25. Clogston, J.; Craciun, G.; Hart, D.J.; Caffrey, M. Controlling release from the lipidic cubic phase by selective alkylation. *J. Control. Release* **2005**, *102*, 441–461.
- 26. Nazaruk, E.; Szleïzak, M.; Górecka, E.; Bilewicz, R.; Osornio, Y.M.; Uebelhart, P.; Landau, E.M. Design and assembly of pH-sensitive lipidic cubic phase matrices for drug release. *Langmuir* **2014**, *30*, 1383–1390.
- 27. Rahanyan-Kägi, N.; Aleandri, S.; Speziale, C.; Mezzenga, R.; Landau, E.M. Stimuli-responsive lipidic cubic phase: Triggered release and sequestration of guest molecules. *Chemistry* **2015**, *21*, 1873–1877.
- Aleandri, S.; Speziale, C.; Mezzenga, R.; Landau, E.M. Design of Light-Triggered Lyotropic Liquid Crystal Mesophases and Their Application as Molecular Switches in 'On Demand' Release. *Langmuir* 2015, *31*, 6981– 6987.
- 29. Parthasarathi, S.; Muthukumar, S.P.; Anandharamakrishnan, C. The influence of droplet size on the stability, in vivo digestion, and oral bioavailability of vitamin E emulsions. *Food Funct.* **2016**, *7*, 2294–2302.
- Terjung, N.; Löffler, M.; Gibis, M.; Hinrichs, J.; Weiss, J. Influence of droplet size on the efficacy of oil-in-water emulsions loaded with phenolic antimicrobials. *Food Funct.* 2012, *3*, 290–301.
- Poyato, C.; Ansorena, D.; Berasategi, I.; Navarro-Blasco, Í.; Astiasarán, I. Optimization of a gelled emulsion intended to supply ω-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Sci.* 2014, 98, 615–621.
- 32. Douaire, M.; di Bari, V.; Norton, J.E.; Sullo, A.; Lillford, P.; Norton, I.T. Fat crystallisation at oil-water interfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, 203, 1–10.
- Thivilliers, F.; Laurichesse, E.; Saadaoui, H.; Calderon, F.L.; Schmitt, V. Thermally induced gelling of oil-inwater emulsions comprising partially crystallized droplets: The impact of interfacial crystals. *Langmuir* 2008, 24, 13364–13375.
- Akartuna, I.; Tervoort, E.; Wong, J.C.H.; Studart, A.R.; Gauckler, L.J. Macroporous polymers from particlestabilized emulsions. *Polymer (Guildf)*. 2009, 50, 3645–3651.
- 35. Li, W.; Bu, W.; Li, H.; Wu, L.; Li, M. A surfactant-encapsulated polyoxometalate complex towards a thermotropic liquid crystal. *Chem. Commun.* **2005**, 3785–3787, doi:10.1039/b503550c.
- 36. Madsen, L.A.; Dingemans, T.J.; Nakata, M.; Samulski, E.T. Thermotropic Biaxial Nematic Liquid Crystals. *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *94*, 145505-1–145505-4.
- 37. Martiel, I.; Baumann, N.; Vallooran, J.J.; Bergfreund, J.; Sagalowicz, L.; Mezzenga, R. Oil and drug control the release rate from lyotropic liquid crystals. *J. Control. Release* **2015**, *204*, 78–84.
- Rodríguez-Abreu, C.; Lazzari, M. Emulsions with structured continuous phases. *Curr. Opin. Colloid Interface* Sci. 2008, 13, 198–205.
- 39. Gupta, S.; Kesarla, R.; Omri, A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. *ISRN Pharm.* **2013**, 2013, 848043.

- 40. Zanchetta, B.; Chaud, M.V.; Santana, M.H.A. Design and Development of self-emulsifying drug delivery systems novel cardiosctive N-acylhydrazone compound. *Int. J. Nanotechnol. Nanosci.* **2016**, *4*, 1–13.
- 41. Blin, J.L.; Bleta, R.; Ghanbaja, J.; Stébé, M.J. Fluorinated emulsions: Templates for the direct preparation of macroporous-mesoporous silica with a highly ordered array of large mesopores. *Microporous Mesoporous Mater.* **2006**, *94*, 74–80.
- 42. Esquena, J.; Nestor, J.; Vílchez, A.; Aramaki, K.; Solans, C. Preparation of mesoporous/macroporous materials in highly concentrated emulsions based on cubic phases by a single-step method. *Langmuir* **2012**, *28*, 12334–12340.
- 43. Alam, M.M.; Aramaki, K. Liquid crystal-based emulsions: Progress and prospects. J. Oleo Sci. 2014, 63, 97–108.
- 44. Milak, S.; Zimmer, A. Glycerol monooleate liquid crystalline phases used in drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* **2015**, *478*, 569–587.
- 45. Paleos, C.M.; Tsiourvas, D. Liquid crystals from hydrogen-bonded amphiphiles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2001, *6*, 257–267.
- 46. Zanchetta, B.; Chaud, M.V.; Santana, M.H.A. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) in Pharmaceutical Development. *J. Adv. Chem. Eng.* **2015**, *5*, 1–7.
- 47. Hallensleben, M.L.; Kabus-henke, A. Monomeric and polymeric amphiphiles with oligofunctional carboxylic headgroups. *Polym. Bull.* **1992**, *258*, 251–258.
- 48. Hussain, Z.; Qazi, F.; Ahmed, M.I.; Usman, A.; Riaz, A.; Abbasi, A.D. Liquid crystals based sensing platformtechnological aspects. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *85*, 110–127.
- 49. Wells, D.; Fong, C.; Drummond, C.J. Nonionic urea surfactants: Formation of inverse hexagonal lyotropic liquid crystalline phases by introducing hydrocarbon chain unsaturation. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 12660–12665.
- 50. Lin, J.; Zhu, J.; Zhou, D. Liquid crystallization in lyotropic liquid crystalline polymers. *Eur. Polym. J.* **2000**, *36*, 309–314.
- 51. Firestone, M.A.; Dzielawa, J.A.; Zapol, P.; Curtiss, L.A.; Seifert, S.; Dietz, M.L. Lyotropic Liquid-Crystalline Gel Formation in aRoom-Temperature Ionic Liquid. *Langmuir* **2002**, *18*, 7258–7260.
- 52. Alam, M.M.; Aramaki, K. Hexagonal phase based gel-emulsion (O/H-gel-emulsion): Formation and rheology. *Langmuir* **2008**, *24*, 12253–12259.
- 53. Alam, M.M.; Sugiyama, Y.; Watanabe, K.; Aramaki, K. Phase behavior and rheology of oil-swollen micellar cubic phase and gel emulsions in nonionic surfactant systems. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *341*, 267–272.
- 54. Mulder, D.-J.; Schenning, A.; Bastiaansen, C. Chiral-nematic liquid crystals as one dimensional photonic materials in optical sensors. *J. Mater. Chem. C* 2014, *2*, 6695–6705.
- 55. Zeba, S.; Nikita, N.; Prachee, D.; Bhushan, R.; Nayan, G.; Rajesh, A. Liquid crystalline system: A novel approach for drug delivery. *J. Biomed. Pharm. Res.* **2015**, *4*, 22–32.
- 56. Omray, L.K. Liquid crystals as novel vesicular delivery system: A review. *Curr. Trends Technol. Sci.* **2013**, *2*, 347–353.
- 57. Yu, T.; Malcolm, K.; Woolfson, D.; Jones, D.S.; Andrews, G.P. Vaginal gel drug delivery systems: Understanding rheological characteristics and performance. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2011**, *8*, 1309–1322.
- 58. Duke, R.W.; Chapoy, L.L. The rheology and structure of lecithin in concentrated solution and the liquid crystalline state. *Rheol. Acta* **1976**, *15*, 548–557.
- Robles-Vasquez, O.; Corona-Galvan, S.; Soltero, J.F.A.; Puig, J.; Tripodi, S.B.; Valles, E.; Manero, O. Rheology of lyotropic liquid crystals of AOT-2. High concentration regime. J. Colloid Interface Sci. 1993, 160, 65–71.
- 60. Mezzenga, R.; Meyer, C.; Servais, C.; Romoscanu, A.I.; Sagalowicz, L.; Hayward, R.C. Shear rheology of lyotropic liquid crystals: A case study. *Langmuir* **2005**, *21*, 3322–3333.
- 61. Zhou, S.; Sokolov, A.; Lavrentovich, O.D.; Aranson, I.S. Living liquid crystals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 1265–70.
- 62. Fong, W.-K.; Negrini, R.; Vallooran, J.J.; Mezzenga, R.; Boyd, B.J. Responsive self-assembled nanostructured lipid systems for drug delivery and diagnostics. *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, *484*, 320–339.
- 63. Woltman, S.J.; Jay, G.D.; Crawford, G.P. Liquid-crystal materials find a new order in biomedical applications. *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 929–938.
- 64. Popov, P.; Honaker, L.W.; Kooijman, E.E.; Mann, E.K.; Jákli, A.I. A Liquid Crystal Biosensor for Specific Detection of Antigens. *Sens. Biosens. Res.* **2016**, *8*, 31–35.
- 65. Yamaguchi, Y.; Nagasawa, T.; Kitagawa, A.; Nakamura, N.; Matsumoto, K.; Uchiwa, H.; Hirata, K.; Igarashi,

R. New nanotechnology for the guided tissue regeneration of skin—Potential of lyotropic liquid crystals. *Pharmazie* **2006**, *61*, 112–116.

- Gao, Y.; Mori, T.; Manning, S.; Zhao, Y.; Nielsen, A.D.; Neshat, A.; Sharma, A.; Mahnen, C.J.; Everson, H.R.; Crotty, S.; et al. Biocompatible 3D Liquid Crystal Elastomer Cell Scaffolds and Foams with Primary and Secondary Porous Architecture. ACS Macro Lett. 2016, 5, 4–9.
- Merzlyak, A.; Indrakanti, S.; Lee, S.; Di, V.; Berkeley, L.; Nanoscience, B. Genetically Engineered Nanofiber-Like Viruses For Tissue Regenerating Materials 2009. *Nano Lett.* 2009, *9*, 846–852.
- 68. Deming, T.J. Regenerative medicine: Noodle gels for cells. Nat. Mater. 2010, 9, 535–536.
- 69. Lee, D.R.; Park, J.S.; Bae, I.H.; Lee, Y.; Kim, B.M. Liquid crystal nanoparticle formulation as an oral drug delivery system for liver-specific distribution. *Int. J. Nanomed.* **2016**, *11*, 853–871.
- Gan, L.; Han, S.; Shen, J.; Zhu, J.; Zhu, C.; Zhang, X.; Gan, Y. Self-assembled liquid crystalline nanoparticles as a novel ophthalmic delivery system for dexamethasone: Improving preocular retention and ocular bioavailability. *Int. J. Pharm.* 2010, 396, 179–87.
- 71. Li, L.Y.; Jiang, W.C.; He, Y. Liquid Crystal Biosensors. Adv. Mater. Res. 2013, 655–657, 834–837.
- 72. Arya, S.K.; Chaubey, A.; Malhotra, B.D. Fundamentals and applications of Biosensors. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.* **2006**, *72*, 246–266.
- 73. Turner, A.P.; Wilson, G. Biosensors Fundamentals and Applications. *Biosens. Bioelectr.* 2015, doi:10.1016/j.bios.2014.10.027.
- 74. Ke, D.; Zou, Y.; Lin, Y.; Lindquist, R. Microfluidic biosensor using liquid crystal. In Proceedings of the IEEE Southeastcon, Nashville, TN, USA, 17–20 March 2011; pp. 42–44.
- 75. Khan, M.; Park, S.Y. Liquid crystal-based proton sensitive glucose biosensor. Anal. Chem. 2014, 86, 1493–1501.
- Liao, S.; Qiao, Y.; Han, W.; Xie, Z.; Wu, Z.; Shen, G.; Yu, R. Acetylcholinesterase liquid crystal biosensor based on modulated growth of gold nanoparticles for amplified detection of acetylcholine and inhibitor. *Anal. Chem.* 2012, *84*, 45–49.
- 77. Willner, I.; Katz, E. Integration of Layered Redox Proteins and Conductive Supports for Bioelectronic Applications. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 1180–1218.
- 78. Zhong, S.; Jang, C.-H. Highly sensitive and selective glucose sensor based on ultraviolet-treated nematic liquid crystals. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *59*, 293–299.
- 79. Vallooran, J.J.; Handschin, S.; Pillai, S.M.; Vetter, B.N.; Rusch, S.; Beck, H.; Mezzenga, R. Lipidic Cubic Phases as a Versatile Platform for the Rapid Detection of Biomarkers, Viruses, Bacteria, and Parasites. *Adv. Funct. Mater.* **2016**, *26*, 181–190.
- 80. Khan, M.; Park, S.Y. Liquid crystal-based glucose biosensor functionalized with mixed PAA and QP4VP brushes. *Biosens. Bioelectron.* 2015, 68,404–412.
- Su, H.-W.; Lee, Y.-H.; Lee, M.-J.; Hsu, Y.-C.; Lee, W. Label-free immunodetection of the cancer biomarker CA125 using high-∆n liquid crystals. J. Biomed. Opt. 2014, 19, 77006.
- 82. Lockwood, N.A.; de Pablo, J.J.; Abbott, N.L. Influence of surfactant tail branching and organization on the orientation of liquid crystals at aqueous-liquid crystal interfaces. *Langmuir* **2005**, *21*, 6805–6814.
- 83. Zakrevskyy, Y. Liquid Crystallinity and Alignment of Ionic Self-Assembly Complexes. Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Potsdam 2006, 1–124.
- Creagh, L.T.; Kmetz, A.R. Mechanism of Surface Alignment in Nematic Liquid Crystals. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 1973, 24, 59–68.
- Berreman, D. Solid Surface Shape and the Alignment of an Adjacent Nematic Liquid Crystal. *Phys. Rev. Lett.* 1972, 28, 1683–1686.
- 86. Jerome, B. Surface Effects and Anchoring in Liquid-Crystals. *Rep. Prog. Phys.* **1991**, *54*, 391–451.
- Bubnov, A.; Kašpar, M.; Hamplová, V.; Dawin, U.; Giesselmann, F. Thermotropic and lyotropic behaviour of new liquidcrystalline materials with different hydrophilic groups: Synthesis and mesomorphic properties. *Beilstein J. Org. Chem.* 2013, 9, 425–436.
- 88. Líz-Marzán, L.M.; Kamat, P.V. Nanoscale Materials. Springer: Boston, MA, USA, 2003; pp. 303–333.
- 89. Gupta, J.K.; Abbott, N.L. Principles for manipulation of the lateral organization of aqueous-soluble surfaceactive molecules at the liquid crystal—Aqueous interface. *Langmuir* **2009**, *25*, 2026–2033.
- 90. Liu, D.; Hu, Q.Z.; Jang, C.H. Orientational behaviors of liquid crystals coupled to chitosan-disrupted phospholipid membranes at the aqueous-liquid crystal interface. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2013**, *108*, 142–146.

- 91. Manna, U.; Zayas-Gonzalez, Y.M.; Carlton, R.J.; Caruso, F.; Abbott, N.L.; Lynn, D.M. Liquid crystal chemical sensors that cells can wear. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 14011–14015.
- 92. Lockwood, N.A.; Gupta, J.K.; Abbott, N.L. Self-assembly of amphiphiles, polymers and proteins at interfaces between thermotropic liquid crystals and aqueous phases. *Surf. Sci. Rep.* **2008**, *63*, 255–293.
- 93. Carlton, R.J.; Hunter, J.T.; Miller, D.S.; Abbasi, R.; Mushenheim, P.C.; Tan, L.N.; Abbott, N.L. Chemical and biological sensing using liquid crystals. *Liq. Cryst. Rev.* **2013**, *1*, 29–51.
- 94. Wyman, I.; Liu, G. Self-assembly and chemical processing of block copolymers: A roadmap towards a diverse array of block copolymer nanostructures. *Sci. China Chem.* **2013**, *56*, 1040–1066.
- 95. Sardesai, N.P.; Kadimisetty, K.; Faria, R.; Rusling, J.F. A microfluidic electrochemiluminescent device for detecting cancer biomarker proteins. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 405, 3831–3838.
- 96. Aliño, V.J.; Sim, P.H.; Choy, W.T.; Fraser, A.; Yang, K.L. Detecting proteins in microfluidic channels decorated with liquid crystal sensing dots. *Langmuir* **2012**, *28*, 17571–17577.
- 97. Wang, D.; Park, S.-Y.; Kang, I.-K. Liquid crystals: Emerging materials for use in real-time detection applications. J. Mater. Chem. C 2015, 3, 9038–9047.
- Yang, E.Y.; Kronenfeld, J.P.; Stabler, C. Engineering biomimetic materials for islet transplantation. *Curr. Diabetes Rev.* 2015, 11, 163–169.
- Boyd, B.J.; Whittaker, D.V.; Khoo, S.-M.; Davey, G. Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems. *Int. J. Pharm.* 2006, 309, 218–226.
- Lai, J.; Lu, Y.; Yin, Z.; Hu, F.; Wu, W. Pharmacokinetics and enhanced oral bioavailability in beagle dogs of cyclosporine A encapsulated in glyceryl monooleate/poloxamer 407 cubic nanoparticles. *Int. J. Nanomed.* 2010, 5, 13–23.
- 101. Lancelot, A.; Sierra, T.; Serrano, J.L. Nanostructured liquid-crystalline particles for drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* **2014**, *11*, 547–564.
- 102. Lai, J.; Chen, J.; Lu, Y.; Sun, J.; Hu, F.; Yin, Z.; Wu, W. Glyceryl monooleate/poloxamer 407 cubic nanoparticles as oral drug delivery systems: I. In vitro evaluation and enhanced oral bioavailability of the poorly watersoluble drug simvastatin. AAPS PharmSciTech 2009, 10, 960–966.
- 103. Hwang, J.J.; Iyer, S.N.; Li, L.-S.; Claussen, R.; Harrington, D.; Stupp, S.I. Self-assembling biomaterials: Liquid crystal phases of cholesteryl oligo(L-lactic acid) and their interactions with cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 9662–9667.
- 104. Achouri, D.; Hornebecq, V.; Piccerelle, P.; Andrieu, V.; Sergent, M. Self-assembled liquid crystalline nanoparticles as an ophthalmic drug delivery system. Part I: Influence of process parameters on their preparation studied by experimental design. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2013, 9045, 1–7.
- Carvalho, F.C.; Campos, M.L.; Peccinini, R.G.; Gremião, M.P.D. Nasal administration of liquid crystal precursor mucoadhesive vehicle as an alternative antiretroviral therapy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013, 84, 219– 227.
- 106. Salmazi, R.; Calixto, G.; Bernegossi, J.; Dos, M.A.; Ramos, S.; Bauab, T.M.; Chorilli, M. A Curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. *Int. J. Nanomed.* 2015, 10, 4815–4824.
- 107. Verma, P. Therapeutic and cosmeceutical potential of ethosomes: An overview. J. Adv. Pharm. Technol. Res. 2010, 1, 274–282.
- 108. Zeng, N.; Gao, X.; Hu, Q.; Song, Q.; Xia, H.; Liu, Z.; Gu, G.; Jiang, M.; Pang, Z.; Chen, H.; et al. Lipid-based liquid crystalline nanoparticles as oral drug delivery vehicles for poorly water-soluble drugs: Cellular interaction and in vivo absorption. *Int. J. Nanomed.* **2012**, *7*, 3703–3718.
- 109. Geraghty, P.B.; Attwood, D.; Collett, J.H.; Dandiker, Y. The in vitro release of some antimuscarinic drugs from monoolein/water lyotropic liquid crystalline gels. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1265–1271.
- 110. Clogston, J.; Caffrey, M. Controlling release from the lipidic cubic phase. Amino acids, peptides, proteins and nucleic acids. *J. Control. Release* **2005**, *107*, 97–111.
- 111. Libster, D.; Aserin, A.; Amar-Yuli, I.; Mishraki, T.; Domovich-Eisenberg, Y.; Livnah, O.; Garti, N. Crystallization of cyclosporin A in lyotropic reverse hexagonal liquid crystals. *Cryst. Eng. Commun.* 2010, 12, 2034.
- 112. Efrat, R.; Aserin, A.; Garti, N. Synergistic solubilization of mixed nutraceuticals in modified discontinuous micellar cubic structures. *Foods Colloids Self Assem. Mater. Sci.* 2007, *6*, 87–102.
- 113. Libster, D.; Aserin, A.; Garti, N. Lipid Nano-Vehicles Based on Lyitropic Liquid Crystals as Drug Delvery

Vehicles. In Lipids Nanotechnol; Ahmad, M.U., Ed.; AOCS Press: Urbana, IL, USA, 2012; pp. 191-220.

- 114. Yariv, D.; Efrat, R.; Libster, D.; Aserin, A.; Garti, N. In vitro permeation of diclofenac salts from lyotropic liquid crystalline systems. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2010**, *78*, 185–192.
- 115. Kim, D.-H.; Jahn, A.; Cho, S.-J.; Kim, J.S.; Ki, M.-H.; Kim, D.-D. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery: A review. J. Pharm. Investig. 2014, 45, 1–11.
- 116. Kadhum, W.R.; Oshizaka, T.; Ichiro, H.; Todo, H.; Sugibayashi, K. Usefulness of liquid-crystal oral formulations to enhance the bioavailability and skin tissue targeting of p-amino benzoic acid as a model compound. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016**, *88*, 282–290.
- 117. Chen, Y.; Ma, P.; Gui, S. Cubic and hexagonal liquid crystals as drug delivery systems. *Biomed. Res. Int.* **2014**, 2014, 282–290.
- 118. Guo, C.; Wang, J.; Cao, F.; Lee, R.J.; Zhai, G. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. *Drug Discov. Today* **2010**, *15*, 1032–1040.
- 119. Fehér, A.; Urbán, E.; Eros, I.; Szabó-Révész, P.; Csányi, E. Lyotropic liquid crystal preconcentrates for the treatment of periodontal disease. *Int. J. Pharm.* **2008**, *358*, 23–26.
- 120. Bruschi, M.L.; de Freitas, O.; Lara, E.H.G.E.; Panzeri, H.; Gremião, M.P.D.; Jones, D.S. Precursor system of liquid crystalline phase containing propolis microparticles for the treatment of periodontal disease: Development and characterization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2008**, *34*, 267–278.
- 121. Hoogboom, J.; Elemans, J.A.A.W.; Rowan, A.E.; Rasing, T.H.M.; Nolte, R.J.M. The development of selfassembled liquid crystal display alignment layers. *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2007, 365, 1553–1576.