

Determinação da solubilidade do ácido p-cumárico (p-CA) em diferentes óleos para produção de sistemas nanoestruturados: estudos de pré-formulação

Determination of the Solubility of p-Coumaric Acid (p-CA) in Different Oils for the Production of Nanostructured Systems: Pre-formulation Studies

Paulo Ricardo Alves de Andrade^{1*}, Bruno Fonseca-Santos^{1,2}

¹Biomédico, Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia (UFBA); ²Farmacêutico, Doutor em Ciências Farmacêuticas, Professor Adjunto, Nanotecnologia e Biomateriais, Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Resumo

Introdução: O ácido p-cumárico (p-CA) é um composto fenólico natural que demonstra grande potencial terapêutico, com atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e antimicrobiana. No entanto, sua aplicação clínica é limitada por baixa solubilidade em água e biodisponibilidade reduzida. A nanotecnologia surge como solução, permitindo a encapsulação do p-CA em nanopartículas para melhorar sua estabilidade e seu direcionamento. Estudos preveem seu uso como adjuvante em doenças neurodegenerativas, diabetes, câncer e infecções microbianas, incluindo cepas multirresistentes. **Objetivo:** o presente estudo teve por objetivo a validação analítica de um método espectrofotométrico para quantificar a solubilidade do p-CA em diversos óleos, visando estabelecer uma metodologia confiável para futuros estudos de sua aplicação terapêutica e para o desenvolvimento de formulações nanotecnológicas. **Metodologia:** a metodologia envolveu a determinação do comprimento de onda máximo (λ_{max}) de 310 nm, por espectrofotometria, e a preparação de soluções-padrão (SP) para assegurar a linearidade da absorbância conforme a Lei de Beer-Lambert. Os testes de solubilidade do p-CA foram realizados em óleos como palmitato de isopropila (PI), carbonato de dicaprilila (CC), alquilato (C12-14) de benzila (AB), isohexadecane (IH), triglicérides do ácido caprílico (TG) e ácido oleico (AO). As amostras foram mantidas em contato com óleos em agitação por 72 horas e analisadas calculando-se a concentração dissolvida pela absorvidade molar (ϵ). **Resultados:** os resultados revelaram que o AO e TG foram os óleos mais eficazes na solubilização do p-CA, enquanto o isohexadecane demonstrou baixa capacidade de solubilidade. A variação da absorvidade molar e dos desvio-padrão (DP e DPR) confirmou a influência da polaridade do óleo na solubilização e na precisão analítica. **Conclusão:** a metodologia desenvolvida mostrou-se sustentável e eficiente, validando um caminho para otimizar as formulações de p-CA para aplicações terapêuticas mais seguras e eficazes.

Palavras-chave: Ácido 4-hidroxycinâmico; solubilidade; pré-formulação; sistemas nanoestruturados.

Abstract

Introduction: p-Coumaric acid (p-CA), a natural phenolic compound, demonstrates great therapeutic potential with antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and antimicrobial activities. However, its clinical application is limited by low water solubility and reduced bioavailability. Nanotechnology emerges as a solution, enabling the encapsulation of p-CA in nanoparticles to enhance its stability and targeting capabilities. Studies predict its use as an adjuvant in the treatment of neurodegenerative diseases, diabetes, cancer, and microbial infections, including multidrug-resistant strains. **Objective:** This study aimed to analytically validate a spectrophotometric method for quantifying the solubility of p-CA in various oils, to establish a reliable methodology for future studies on the therapeutic application of p-CA and the development of nanotechnology formulations. **Methodology:** The methodology involved determining the maximum wavelength (λ_{max}) of 310 nm by spectrophotometry and preparing standard solutions (SP) to ensure a linear absorbance according to the Beer-Lambert Law. The solubility tests of p-CA were performed in oils such as isopropyl palmitate (PI), dicaprylyl carbonate (CC), benzyl alkylate (C12-14) (AB), isohexadecane (IH), caprylic acid triglycerides (TG), and oleic acid (AO). The samples were kept in contact with the oils under stirring for 72 hours and analysed by calculating the dissolved concentration by the molar absorptivity (ϵ). **Results:** The results revealed that AO and TG were the most effective oils in solubilising p-CA, while isohexadecane demonstrated low solubility. The variation in molar absorptivity and standard deviations (SD and RSD) confirmed the influence of oil polarity on solubilization and analytical precision. **Conclusion:** The developed methodology proved to be sustainable and efficient, validating a pathway to optimise p-CA formulations for safer and more effective therapeutic applications.

Keywords: 4-hydroxycinnamic acid; solubility; pre-formulation; nanostructured systems

INTRODUÇÃO

O ácido p-cumárico (p-CA) é um composto fenólico naturalmente presente em uma variedade de fontes vegetais¹. Esse composto tem ganhado destaque no meio científico por força de suas amplas propriedades

Correspondente/ Corresponding: *Paulo Ricardo Alves de Andrade
– End: Rua Laura Costa, 121, Vila Laura – E-mail: andrade.p@ufba.br

farmacológicas, entre as quais se destacam as atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, antimicrobiana, antidiabética e imunomoduladora. No entanto, apesar de seu potencial terapêutico significativo, sua aplicação clínica ainda é limitada por características físico-químicas desfavoráveis, como baixa solubilidade em água, sensibilidade a fatores ambientais e ainda biodisponibilidade reduzida^{2,3}. Portanto, a busca por estratégias inovadoras para otimizar a eficácia do p-CA é crucial. Para solucionar essa questão, novas tecnologias, como a nanotecnologia, podem ser empregadas para criar meios de criopreservação eficientes, que podem ser ferramentas valiosas para a viabilidade do esperma durante o processamento³.

O p-CA se apresenta como uma molécula com grande capacidade de eliminar os radicais livres, a exemplo do radical DPPH, devido ao grupo hidroxila fenólico da fração p-CA. O ácido fenólico pode transferir o átomo H no grupo hidroxila fenólico para um radical livre (RO), formando ROH, pelo qual o radical livre é eliminado, e o próprio ácido fenólico forma um radical fenoxil altamente estável (PhO). A taxa de eliminação de radicais de cada NPs era dependente da concentração. As determinações foram feitas a partir da espectrofotometria, no comprimento de 720nm^{4,5}.

Os avanços da nanotecnologia têm oferecido novas possibilidades para superar essas limitações. Sistemas de liberação baseados em nanopartículas têm se mostrado eficazes em melhorar a estabilidade, absorção e biodisponibilidade de compostos bioativos como o p-CA⁶. Por meio da encapsulação em materiais biocompatíveis, como a quitosana ou as ciclodextrinas, torna-se possível não apenas proteger o composto das condições adversas do meio, mas também direcioná-lo, de forma mais eficiente, ao local de ação desejado, potencializando seus efeitos terapêuticos e reduzindo efeitos adversos⁷.

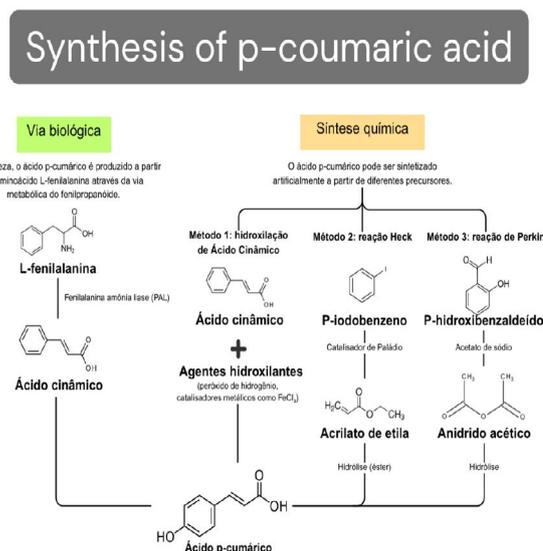
Nesse contexto, diversos estudos têm investigado o uso do p-CA em modelos experimentais para o tratamento de uma gama de doenças, especialmente as relacionadas ao estresse oxidativo e à inflamação, como doenças neurodegenerativas, diabetes e câncer. Evidências demonstram que o p-CA pode atuar como agente adjuvante em terapias para esclerose múltipla, Alzheimer, doença renal crônica e até feridas crônicas, atuando na neutralização de radicais livres, na modulação da inflamação e na promoção da regeneração tecidual⁹.

O p-CA exibe uma variedade vantajosa de efeitos terapêuticos, abrangendo propriedades antiplaquetárias, anticancerígenas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas e imunomoduladoras. Afirma-se que o p-CA é um antioxidante moderadamente potente e neutralizador de radicais livres. Contudo, a absorção e a disponibilidade biológica limitadas são desvantagens significativas *in vivo*. Várias pesquisas mostraram que o componente fenólico reduziu significativamente os processos inflamatórios e a proliferação celular, fortalecendo os níveis de antioxidantes e do

sistema imunológico em uma variedade de cenários experimentais^{9,10}.

Esses compostos naturais podem desempenhar outro papel importante, como compostos antienvhecimento, com mecanismos variados, como quelação de metais, eliminação de radicais, ligação de proteínas e capacidade pró-oxidativa. CA é um ácido hidroxicinâmico natural, que se apresenta em uma forma de éster com ácido tartárico¹¹. O p-CA comercial é obtido principalmente por meio da extração direta de plantas ricas, como palha, trigo e farelo de arroz, ou sintetizado pela via do chiquimato com fenilalanina e tirosina como precursores¹², como é ilustrado na Figura 1. Essas rotas destacam alternativas naturais e sintéticas para obtenção do p-CA.

Figura 1 – Síntese do p-CA pela via biológica e sintética



Fonte: autoria própria

Diversos estudos vêm investigando as diversas propriedades desenvolvidas pelo p-CA, dentre elas o seu potencial antineoplásico¹³. O p-CA é um agente anticâncer eficaz, devido a sua capacidade de regulação das diversas vias metabólicas, incluindo apoptose, necrose, angiogênese e inflamação. No entanto, a utilização do p-CA como um medicamento anticâncer é muito limitada devido a sua menor biodisponibilidade e biocompatibilidade. Desde então, diferentes abordagens de nanotecnologia foram desenvolvidas para aumentar a biodisponibilidade e a natureza da biocompatibilidade dos fitoquímicos¹⁴.

Pesquisadores avaliaram o efeito de nanopartículas de amido conjugadas com aptâmeros carregados com p-CA para terapia eficaz contra câncer de mama triplo-negativo (CMTN), sendo uma abordagem inovadora no tratamento desse tipo de câncer. Nesse estudo, os pesquisadores desenvolveram nanopartículas de amido funcionalizadas com aptâmeros específicos, que são sequências curtas de ácidos nucleicos capazes de reconhecer e se ligar seletivamente a moléculas-alvo, nas

células tumorais. Essas nanopartículas foram carregadas com p-CA, um composto fenólico com propriedades antioxidantes e potencial atividade anticancerígena¹⁴.

Apesar do potencial terapêutico do p-CA, sua aplicação é dificultada por desafios, como a falta de um sistema de administração ideal, controle da liberação e estabilidade. Além disso, a baixa solubilidade em água e a farmacocinética desfavorável limitam sua biodisponibilidade. Portanto, a busca por estratégias inovadoras para otimizar a eficácia do p-CA é crucial. Para solucionar essa questão, novas tecnologias, como a nanotecnologia, podem ser empregadas para criar meios de criopreservação eficientes, que podem ser ferramentas valiosas para a viabilidade do esperma durante o processamento¹⁵.

O p-CA se apresenta como uma molécula com grande capacidade de eliminar os radicais livres, a exemplo do radical DPPH, devido ao grupo hidroxila fenólico da fração p-CA. O ácido fenólico pode transferir o átomo H no grupo hidroxila fenólico para um radical livre (RO), formando ROH, pelo qual o radical livre é eliminado, e o próprio ácido fenólico forma um radical fenoxil altamente estável (PhO). A taxa de eliminação de radicais de cada NPs era dependente da concentração. As determinações foram feitas a partir da espectrofotometria, no comprimento de 720nm¹⁶.

Estudos realizados em culturas de células, modelos animais e pacientes demonstraram que distúrbios na estrutura e na função mitocondrial estão envolvidos na neurodegeneração, levando a déficits motores e cognitivos em doenças neuro inflamatórias (NI) e neurodegenerativas (ND), como esclerose múltipla (EM), doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson (DP), doença de Huntington (DH) e esclerose lateral amiotrófica (ELA)¹⁶. O ácido p-cumárico pode atenuar o progresso da neurodegeneração hipocampal, podendo ser considerado agente adjuvante promissor contra a progressão da neurodegeneração^{17,18}.

Além disso, o potencial antimicrobiano do p-CA também tem sido explorado com sucesso¹⁹. Pesquisas recentes mostram sua eficácia contra microrganismos patogênicos relevantes, como *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii*, inclusive em modelos resistentes a múltiplos fármacos¹⁹. A combinação com óxidos metálicos para o desenvolvimento de nanopartículas leishmanicidas representa mais uma aplicação inovadora, mostrando a versatilidade do composto em áreas críticas da saúde pública¹⁹.

Apesar das inúmeras propriedades já conhecidas relacionadas ao p-CA, estudos mais recentes buscam entender melhor seu possível efeito microbicida, bem como todos os mecanismos envolvidos. Em um desses estudos, foi feita a determinação de que as amostras de teste possuem alguma atividade antimicrobiana. As propriedades antimicrobianas das amostras foram avaliadas, determinando-se a concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração bactericida mínima (MBC) e usando-se o método de microdiluição em caldo e zona de inibição (ZOI). E um estudo *ex ovo* também foi feito para avaliar o efeito antimicrobiano das amostras em embriões vivos¹⁹.

Através do estudo mencionado anteriormente, foi verificado o potencial antimicrobiano do p-CA, um composto polifenólico bem conhecido, um antioxidante potente. E um polifenol teve a potência de matar as bactérias. De acordo com os valores de MIC e MBC, é mais eficaz contra *S. aureus*, que é 62,5 e 125 µg/mL respectivamente. Esse composto se liga ao ânion fosfato na dupla hélice do DNA e intercala o sulco na dupla hélice do DNA, o que pode afetar a replicação, transcrição e expressão do microrganismo¹⁹.

A atividade antimicrobiana e antibiofilme do p-CA foi demonstrada em alguns estudos. De acordo com a literatura, os mecanismos relativos às atividades antimicrobianas dos ácidos cinâmicos são o aumento da permeabilização da membrana celular, o vazamento de componentes citoplasmáticos e alterações morfológicas celulares²⁰. Um estudo avaliou e comparou as atividades antimicrobianas e antibiofilme de alguns ácidos, dentre eles o p-CA, contra *Acinetobacter baumannii* (COLR-Ab). Os resultados relatados nesse estudo indicam que o p-CA apresentou efeitos antimicrobianos e antibiofilme em isolados de COLR-Ab, corroborando o que já é relatado na literatura acerca das propriedades antimicrobianas apresentadas pela substância²⁰⁻²².

Uma abordagem inovadora no tratamento da leishmaniose visceral, causada pelo protozoário *Leishmania donovani*, avaliou nanopartículas de ácido paracumárico aprimoradas com óxido de metal, para direcionamento de precisão do tratamento. A leishmaniose visceral é uma doença tropical negligenciada, que afeta órgãos internos e pode ser fatal se não tratada adequadamente²³. Os resultados do estudo demonstraram que as nanopartículas de quitosana carregadas com ácido p-cumárico e revestidas com óxido de titânio (E-PCA NPs) apresentaram características físico-químicas favoráveis, como tamanho médio de ~418 nm, boa estabilidade coloidal (PDI ≈ 0,217) e alta carga superficial positiva (+72 mV), o que favorece sua interação com membranas celulares. A eficiência de encapsulamento foi de cerca de 73%, e a liberação do ácido p-cumárico ocorreu de forma sustentada ao longo de 12 horas, o que contribui para um efeito terapêutico prolongado²³.

Nos testes biológicos, as E-PCA NPs exibiram atividade antiparasitária significativa contra *Leishmania donovani*, com valores de IC₅₀ de 11,7 µg/mL para promastigotas e 14,2 µg/mL para amastigotas, sendo menos tóxicas para os macrófagos hospedeiros (IC₅₀ de 34,9 µg/mL). O índice de seletividade foi superior ao do PCA livre, indicando maior eficácia e segurança. A análise por fluorescência mostrou redução visível da carga parasitária intracelular após o tratamento com as nanopartículas, confirmando sua capacidade de atingir e eliminar os parasitas dentro dos macrófagos. Esses achados sugerem que a formulação pode ser uma estratégia eficaz e promissora no combate à leishmaniose visceral e de outras doenças parasitárias e inflamatórias^{23,24}.

Diversos estudos, atualmente, focalizam o p-CA aplicado nos sistemas nanométricos. Uma dessas pesquisas investigou a formulação de uma emulsão multi-fásica nanoestruturada (W/O/W) capaz de encapsular simultaneamente arbutina (hidrofílica) e ácido cumárico (hidrofóbico). Utilizando hidrocoloides, os pesquisadores avaliaram parâmetros como estabilidade, eficiência de encapsulamento e bioacessibilidade dos compostos. Os resultados demonstraram que a nanoemulsão apresentou partículas de pequeno tamanho, baixo índice de polidispersividade e alto potencial zeta, indicando boa estabilidade física²⁵.

Os grandes desafios relacionados à administração do p-CA são sua baixa solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Alternativas vêm sendo exploradas, a exemplo da produção de nanoesponjas de ciclodextrina (CDNS) para encapsular o PCA, empregando-se o método de fusão. As nanoesponjas foram caracterizadas por diversas técnicas, incluindo espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (XRD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (TGA), ressonância magnética nuclear (RMN), microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FE-SEM) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Os resultados indicaram que as partículas formadas estavam na faixa nanométrica, com baixo índice de polidispersão, potencial zeta aceitável e liberação controlada do p-CA²⁶.

Estudos demonstraram que o p-CA pode ter um efeito significativo ainda sobre o câncer de pele. A tirosinase é conhecida como uma enzima iniciadora e limitadora da taxa de síntese de melanina, devido a sua estrutura química semelhante à da tirosina. O p-CA pode inibir vários efeitos pré-melanogênicos causados pela tirosina. Pesquisas mostraram que o p-CA induz apoptose em células de câncer gástrico SNU16 por meio da regulação da expressão de proteínas antiapoptóticas e pró-apoptóticas, como Bcl-2, poli (ADP-ribose) polimerase (PARP), Bax, procaspase-3 e caspase 3 clivada. Em outro estudo, foi demonstrado que o p-CA é capaz de inibir a proliferação celular em células de melanoma humano A375 e camundongo B16 de maneira dose-dependente. Além disso, o p-CA induziu apoptose nessas células ao regular positivamente a expressão de Apaf-1 e Bax, e regular negativamente a expressão de Bcl-2²⁷.

Embora biologicamente ativo, o p-CA apresenta limitações quanto à sua biodisponibilidade, estabilidade e tempo de meia-vida no organismo, o que restringe sua aplicação clínica direta. Para superar essas barreiras, diferentes estratégias de encapsulamento e sistemas de liberação controlada têm sido exploradas, com foco em potencializar seus efeitos farmacológicos por meio de tecnologias inovadoras, como o uso de nanopartículas²⁸. O p-CA vêm amplamente sendo empregado nos sistemas nanoestruturados para promover maior eficácia terapêutica, visando obtenção das suas propriedades bioquímicas e aplicações promissoras, especialmente na

modulação de processos inflamatórios e na prevenção de doenças crônicas e infecciosas^{29,30}.

Dessa forma, o p-CA surge como um fitocomposto promissor, com múltiplas aplicações terapêuticas. Sua eficácia, no entanto, depende diretamente da superação dos desafios relacionados à sua formulação e administração. A nanotecnologia aparece como uma ferramenta-chave para transformar as limitações do p-CA em oportunidades terapêuticas concretas, promovendo o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e seguros.

Este trabalho se propõe a discutir taxas de solubilidade do p-CA em diferentes óleos visando aplicações em futuros estudos para verificação de seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, anti cancerígenos e antimicrobianos, além das estratégias baseadas em nanotecnologia voltadas para sua aplicação terapêutica.

METODOLOGIA

A escolha adequada da metodologia analítica é fundamental para os procedimentos de controle de qualidade de uma substância ativa ou forma farmacêutica. No entanto, a validação de um método analítico não implica sua aplicação irrestrita a diferentes substâncias, pois os resultados analíticos podem ser influenciados por diversos fatores, como a estrutura química do fármaco, os solventes empregados e as variações nas formulações entre diferentes laboratórios. A validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios definidos^{31,32}. Todas as etapas descritas nessa metodologia foram feitas em triplicata.

Determinação da absorvidade molar das soluções de p-CA

Como ferramenta inicial para execução do método analítico, foi preparada solução-mãe (SM), na concentração de 1000 µg/mL. Foram preparadas soluções secundárias nas concentrações de 8 µg/mL, 6 µg/mL e 5 µg/mL, e se realizou uma varredura entre 200 e 700 nm, a fim de encontrar o comprimento de onda de maior absorvidade em espectrofotômetro da marca ION, modelo IL-0082-Y-NM-BI. A absorvidade molar foi calculada pela equação 1.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Fórmula 1, onde: A é absorvância; ϵ é absorvidade molar; b é caminho óptico; e C é concentração

Determinação da absorvidade molar do p-CA nos óleos

Para entender como os diferentes óleos testados interferem na absorvância do p-CA, foram preparadas soluções na concentração de escolha (8 µg/mL) e contaminando-as com 200 µL de cada óleo. Foi feita a leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 310nm.

A capacidade de absorção da molécula, ou seja, a absorvidade molar (ϵ), foi calculada em cada óleo, uma vez que cada óleo analisado pode influenciar na capacidade de uma substância absorver luz em um determinado comprimento de onda. O ϵ foi definido a partir da fórmula 1.

Teste de solubilidade do p-CA em diferentes óleos

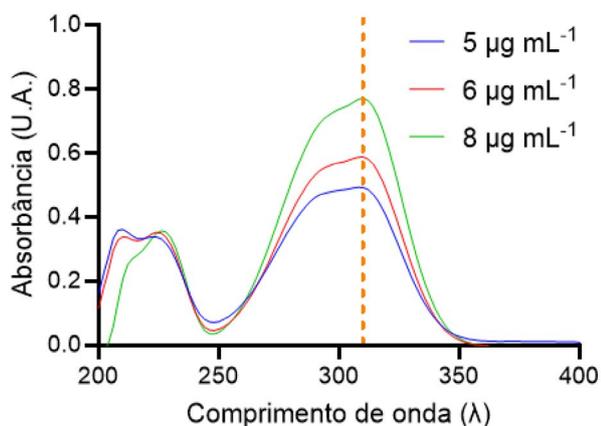
Já padronizados os parâmetros analíticos, foi realizado o teste de solubilidade do p-CA em diferentes óleos, sendo eles: PI, CC, AB, IH, TG e AO. Para a avaliação, foram adicionados 500 μL de cada óleo em microtubos com capacidade de 1,5 mL. Em seguida, foi adicionado o p-CA em excesso, e os microtubos foram cobertos com papel alumínio e colocados em mesa agitadora tipo *shaker* orbital, com aquecimento (SL-222/USB), na rotação de 150 RPM, durante 72 horas.

Após o tempo, as amostras foram centrifugadas em microcentrífuga por 10 minutos, sob a velocidade de 2500 rpm. Ao final da centrifugação, 80 μL do sobrenadante foram diluídos em 920 mL de metanol. Dessa solução, foram retirados 100 μL e adicionados em 900 μL de metanol. A absorbância de todas as amostras foi lida, e cálculos foram feitos a partir da lei de Lambert-Beer (fórmula 1), para determinar a concentração de p-CA dissolvida em cada óleo.

RESULTADOS

Como parte do método analítico, foi investigado o ponto de maior absorbância do p-CA em metanol, desde que a concentração que melhor se adequa à lei de Beer ficasse abaixo de 1. Os espectros de absorção em metanol em diferentes concentrações de p-CA são apresentados na Figura 2.

Figura 2 – Espectros de absorção de soluções com p-CA em diferentes concentrações



Fonte: autoria própria

A partir das absorbâncias do p-CA que foram determinadas nos diferentes óleos, determinou-se a ϵ , como é observado na Tabela 1. Usando o ϵ , pode-se calcular a concentração de p-CA no teste de solubilidade (Figura 3).

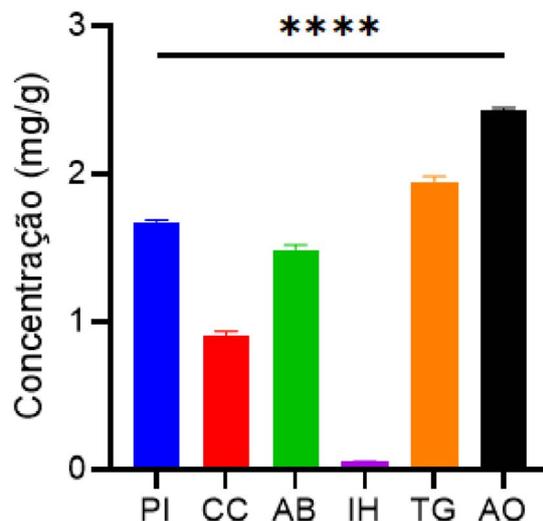
Tabela 1 – Densidade dos veículos e valores da absorvidade molar do p-CA encontrados em diferentes óleos.

Óleos	Densidade (g/mL)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
Palmitato de isopropila (PI)	0,852	11764,28
Carbonato de dicaprilila (CC)	0,892	15570,13
Alquilato de benzila (AB)	0,856	14991,78
Isohexadecane (IH)	0,79	18167,50
Triglicerídeos ácido caprílico (TG)	0,95	17070,74
Ácido oleico (AO)	0,895	11182,72

Fonte: dados da pesquisa

A partir do ϵ , foi possível determinar a quantidade de p-CA solubilizada em cada óleo, usando-se a fórmula 1. Na Figura 3, é possível visualizar a quantidade máxima de solubilidade em cada óleo, o DP, e ainda a equivalência estatística entre os valores de solubilidade encontrados.

Figura 3 – Teste de solubilidade do p-CA em diferentes óleos



Fonte: autoria própria

DISCUSSÃO

A escolha criteriosa de um método espectrofotométrico para quantificação do p-CA em diferentes óleos se mostrou adequada, considerando a simplicidade operacional, o baixo custo e a rápida execução, respeitando-se os limites estabelecidos pela Lei de Beer-Lambert. Nesse sentido, foi fundamental a determinação do comprimento de onda ideal (λ_{max}), que, nos ensaios preliminares, apresentou médias em torno de 310 nm –valor confirmado na literatura, que descreve variações de 308 a 310 nm para o p-CA em metanol³³⁻³⁵.

Durante o desenvolvimento do método, a escolha da concentração padrão de 8 $\mu\text{g/mL}$ se baseou na necessidade de manter a absorbância abaixo de 1, garantindo a linearidade entre concentração e absorbância. A partir da análise da solubilidade do p-CA nos diferentes óleos,

observou-se variação significativa na concentração dissolvida, evidenciando a influência das propriedades físico-químicas de cada veículo. O AO apresentou a maior capacidade de solubilização (2,43 mg/g), seguido pelo TG (1,94 mg/g) e PI (1,67 mg/g). Já o IH exibiu a menor capacidade de solubilização (0,06 mg/g).

Analisando estatisticamente os dados, é possível notar um valor de significância $p < 0,0001$ em todas as amostras. Na comparação direta entre os valores obtidos, evidenciou-se uma diferença estatisticamente significativa entre as amostras. A partir dessa análise, compreende-se que o tipo de óleo utilizado influencia diretamente a capacidade de solubilização do p-CA, reforçando a importância da escolha do veículo lipídico em formulações com p-CA.

A análise da absorvidade molar (ϵ), em cada óleo, também refletiu essas diferenças, com valores variando de 11182,72 L·mol⁻¹·cm⁻¹ (AO) a 18167,49 L·mol⁻¹·cm⁻¹ (IH). Essa variação é atribuída ao grau de interação intermolecular do óleo com a molécula de p-CA, que interfere na intensidade da absorção espectrofotométrica.

Os valores de DPR foram adequados para o método: abaixo de 10%. Os menores valores de DPR foram observados para o AO (0,62) e PI (1,04), evidenciando menor variabilidade devido à alta solubilização do p-CA nesses sistemas. Por outro lado, o IH apresentou um DPR elevado (8,14), refletido pela baixa capacidade de solubilização, ou seja, quanto menor a média, mais sensível o DPR se torna a pequenas variações.

Esses resultados destacam a importância da escolha adequada do veículo para formulações contendo p-CA, não apenas considerando a capacidade de solubilização, mas também o desenvolvimento analítico. O estudo confirma que veículos mais polares, como o AO e o TG, são mais compatíveis para a solubilização de fenólicos como o p-CA, enquanto solventes apolares, como o IH, comprometem a *performance* analítica e a solubilidade do sistema. Isso reflete o fenômeno “like dissolves like”: compostos fenólicos (polares) se dissolvem melhor em meios com alguma polaridade³⁶.

Nesse contexto, a escolha do veículo lipídico exerce papel central. Os lipídios naturais, como triglicerídeos e ácidos graxos, não apenas melhoram a solubilidade de compostos fenólicos, como também atuam como promotores de permeação e proteção contra degradação. Essa característica é particularmente relevante para o p-CA, que possui estrutura aromática com grupos hidroxila capazes de formar interações específicas com veículos mais polares, favorecendo sua dissolução³⁶.

A caracterização físico-química do fármaco em diferentes meios é essencial para a escolha racional do sistema de entrega. Parâmetros como ϵ , os DPR e o λ_{\max} devem ser levados em conta não apenas para fins de quantificação analítica, mas também para inferir a compatibilidade do composto com diferentes veículos³⁷.

A baixa solubilidade em água de muitos compostos bioativos, como o ácido p-cumárico (p-CA), representa

um obstáculo relevante para sua aplicação clínica, especialmente no que tange à biodisponibilidade oral e à estabilidade em formulações. Esse desafio tem motivado o desenvolvimento de estratégias para otimizar sua solubilização, destacando-se a utilização de veículos lipofílicos e sistemas de liberação controlada como abordagens promissoras.

Os sistemas de liberação controlada podem ser fundamentais para compostos com baixa solubilidade, promovendo não apenas o aumento da solubilidade aparente, mas também uma liberação mais eficaz e direcionada do fármaco. A solubilização eficaz é especialmente crítica para compostos fenólicos como o p-CA, cujas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias são altamente desejáveis, mas cuja aplicação terapêutica é restrita pela sua baixa afinidade com meios aquosos³⁸.

Dessa forma, ao associar esses fundamentos à investigação experimental desenvolvida, observa-se que a escolha criteriosa de um método espectrofotométrico para quantificação do p-CA, em diferentes óleos, demonstrou ser uma estratégia robusta. A simplicidade, a rapidez e o baixo custo do método foram equilibrados com parâmetros técnicos rigorosos, como o respeito à Lei de Beer-Lambert, a manutenção da absorbância abaixo de 1 e a determinação precisa do λ_{\max} (310 nm), em consonância com os dados da literatura.

Além disso, a variabilidade observada nos valores de ϵ e nos desvios relativos reforça a ideia de que veículos mais compatíveis com a estrutura do p-CA resultam em maior precisão analítica. Valores de DPR inferiores a 10% para AO e PI refletem boa sensibilidade do método e estabilidade na quantificação, ao passo que o IH, com menor solubilização, apresentou DPR significativamente elevado.

Portanto, conforme é sustentado pela literatura, o aumento da solubilidade do p-CA em veículos adequados não só amplia sua aplicabilidade terapêutica – facilitando a incorporação em sistemas nanotecnológicos – como também assegura confiabilidade no desenvolvimento de métodos analíticos. A escolha do veículo ideal deve, portanto, integrar tanto critérios farmacotécnicos quanto analíticos, com vistas à formulação de sistemas de liberação eficazes, seguros e clinicamente viáveis.

Por fim, a metodologia desenvolvida demonstrou ser eficiente, uma vez que apresentou baixos valores de DPR para a maioria dos veículos analisados, respeitou os critérios da Lei de Beer e reproduziu resultados compatíveis com a literatura para as propriedades espectrofotométricas do p-CA.

CONCLUSÃO

O p-CA, um composto fenólico promissor, com vasto potencial terapêutico, incluindo atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, enfrenta desafios significativos para sua aplicação clínica devido à baixa solubilidade em água e à biodisponibilidade limitada. A

nanotecnologia surge como uma solução inovadora para superar essas barreiras, permitindo a encapsulação do p-CA e, conseqüentemente, a melhora de sua estabilidade e direcionamento.

Este trabalho focou no método espectrofotométrico para a quantificação do p-CA em diferentes óleos. Os resultados confirmam que o método é confiável e preciso, operando dentro dos parâmetros da Lei de Beer-Lambert e apresentando um comprimento de onda máximo (λ_{max}) de aproximadamente 310 nm.

Os estudos de solubilidade demonstraram que a escolha do veículo é crucial para o desenvolvimento de sistemas nanotecnológicos baseados em óleos e lipídios. O AO e o TG foram os óleos mais promissores na solubilização do p-CA, enquanto o IH se mostrou pouco adequado. A análise da absorvidade molar (ϵ) e dos desvios-padrão (DP e DPR) reforçou que a polaridade do óleo afeta não apenas a solubilização, mas também a precisão das medições analíticas.

Em suma, este estudo propõe uma metodologia analítica para a investigação da solubilidade do p-CA e destaca a importância da seleção do veículo adequado para futuras formulações. Os resultados iniciais obtidos são fundamentais na aplicação terapêutica do p-CA, abrindo caminho para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e seguros baseados nesse fitocomposto promissor.

REFERÊNCIAS

- Akhtarshenas B, Kowsar R, Hajian M, Vash NT, Soltani L, Mahdavi AH, et al. p-Coumaric acid-zinc oxide nanoparticles improve post-thaw quality of goat spermatozoa and developmental competence of fertilized oocytes in vitro. *Sci Rep*. 2024 Dec 30;14(1):1–15. doi: 10.1038/s41598-024-83585-z
- Guo J, Su K, Wang L, Feng B, You X, Deng M, et al. Poly(p-coumaric acid) nanoparticles alleviate temporomandibular joint osteoarthritis by inhibiting chondrocyte ferroptosis. *Bioact Mater*. 2024 Oct;40:212–26. doi: 10.1016/j.bioactmat.2024.06.007
- Kavanaugh TE, Werfel TA, Cho H, Hasty KA, Duvall CL. Particle-based technologies for osteoarthritis detection and therapy. *Drug Deliv Trans Res*. 2015 May 20;6(2):132–47. doi: 10.1007/s13346-015-0234-2
- Li B, Chang G, Dang Q, Liu C, Song H, Chen A, et al. Preparation and characterization of antibacterial, antioxidant, and biocompatible p-coumaric acid modified quaternized chitosan nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2023 Jul;242:125087. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125087
- Filipović M, Marković Ž, Đorović J, Marković JD, Lučić B, Amić D. QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxybenzoic acids and simple phenolics. *Comptes Rendus Chimie*. 2024 Nov 21;18(5):492–8. doi: 10.1016/j.crci.2014.09.001
- Venkatesan A, Samy JVRA, Balakrishnan K, Natesan V, Kim SJ. In Vitro Antioxidant, Anti-inflammatory, Antimicrobial, and Antidiabetic Activities of Synthesized Chitosan-loaded p-Coumaric Acid Nanoparticles. *Curr Pharm Biotechnol*. 2023 Jul;24(9):1178–94. doi: 10.2174/1389201023666220822112923
- Lotfallah AH, Andreu JJ, Hathout RM, Kassem DH, Ibrahim SS, Altava B, et al. Tripodal amphiphilic pseudopeptidic nanovesicles as p-coumaric acid delivery systems for brain cancer cells. *Mater Today Chem*. 2023 Jan;27:101266. doi: 10.1016/j.mtchem.2022.101266
- Wang J, Zhang N, Huang Y, Li S, Zhang G. Simple and efficient enzymatic procedure for p-coumaric acid synthesis: Complete bioconversion and biocatalyst recycling under alkaline condition. *Bioch Eng J*. 2022 Dec;188:108693. doi: 10.1016/j.bej.2022.108693
- Venkatesan A, Roy A, Kulandaivel S, Natesan V, Kim SJ. p-Coumaric Acid Nanoparticles Ameliorate Diabetic Nephropathy via Regulating mRNA Expression of KIM-1 and GLUT-2 in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Metabolites*. 2022 Nov 23;12(12):1166. doi: 10.3390/metabo12121166
- González LF, Bevilacqua LE, Naves R. Nanotechnology-Based Drug Delivery Strategies to Repair the Mitochondrial Function in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Diseases. *Pharmaceutics*. 2021 Dec 1;13(12):2055. doi: 10.3390/pharmaceutics13122055
- Şenocak A. Fast, Simple and Sensitive Determination of Coumaric Acid in Fruit Juice Samples by Magnetite Nanoparticles-zeolitic Imidazolate Framework Material. *Electroanalysis*. 2020 Sep 2;32(10):2330–9. doi: 10.1002/elan.202060237
- Sabaghi Y, PourFarzad F, Zolghadr L, Bahrami A, Shojazadeh T, Farasat A, et al. A nano-liposomal carrier containing p-coumaric acid for induction of targeted apoptosis on melanoma cells and kinetic modeling. *Bioch Biophys Res Commun*. 2024 Jan;690:149219. doi: 10.1016/j.bbrc.2023.149219
- Jang MG. Anti-proliferative Properties of p-Coumaric Acid in SNU-16 Gastric Cancer Cells – Journal of Life Science. *J Life Sci*. 2019 Jan 1;29(7):809–16. doi: 10.5352/JLS.2019.29.7.809
- Mariadoss AVA, Saravanakumar K, Sathiyaseelan A, Karthikkumar V, Wang MH. Smart drug delivery of p-Coumaric acid loaded aptamer conjugated starch nanoparticles for effective triple-negative breast cancer therapy. *Int J Biol Macromol*. 2022 Jan;195:22–9. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.11.170
- Huang H, Belwal T, Liu S, Duan Z, Luo Z. Novel multi-phase nano-emulsion preparation for co-loading hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid using hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*. 2019 Aug;93:92–101. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.02.023
- Kinra M, Ranadive N, Nampoothiri M, Arora D, Mudgal J. Involvement of NLRP3 inflammasome pathway in the protective mechanisms of ferulic acid and p-coumaric acid in LPS-induced sickness behavior and neuroinflammation in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2023 Sep 27;397(3):1829–39. doi: 10.1007/s00210-023-02743-8
- Abdel-Moneim A, Yousef AI, Abd El-Twab SM, Abdel Reheim ES, Ashour MB. Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. *Metab Brain Dis*. 2017 Jun 2;32(4):1279–86. doi: 10.1007/s11011-017-0039-8
- Selvakumar G, Lonchin S. A bio-polymeric scaffold incorporated with p-Coumaric acid enhances diabetic wound healing by modulating MMP-9 and TGF- β 3 expression. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2023 May;225:113280. doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113280
- Venkadkrishnan J, Chatterjee A, Saha R, Chatterjee K, Deb PK, Sarkar B, et al. Ameliorative effect of apple cider vinegar and p-coumaric acid combination in Ex ovo antimicrobial and in vivo wound healing models. *Pharmacol Res – Mod Chin Med*. 2024 Mar;10:100364. doi: 10.1016/j.prmcm.2024.100364
- Korkut A, Özkaya Gül S, Aydemir E, Er H, Odabaş Köse E. Cinnamic Acid Compounds (p-Coumaric, Ferulic, and p-Methoxycinnamic Acid) as Effective Antibacterial Agents Against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*. 2025 Jan 11;14(1):71. doi: 10.3390/antibiotics14010071
- Narasimhan B, Belsare D, Pharande D, Mourya V, Dhake A. Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: synthesis,

- antimicrobial activity and QSAR investigations. *Eur J Med Chem.* 2004 Oct;39(10):827–34. doi: 10.1016/j.ejmech.2004.06.013
22. Cueva C, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bills G, Vicente MF, Basilio A, et al. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res Microb.* 2010 Jun;161(5):372–82. doi: 10.1016/j.resmic.2010.04.006
23. Sahu K, Samant RAS, Routh T, Bawali S, Mondal S, Biswas A, et al. Metal Oxide-Enhanced Para-Coumaric Acid Nanoparticles for Precision Targeting of *Leishmania donovani*. *BioNanoScience.* 2025 Jan 7;15(1). doi: 10.1007/s12668-024-01772-8
24. Tekin S, Sengul E, Yildirim S, Aksu EH, Bolat İ, Çınar B, et al. Molecular insights into the antioxidative and anti-inflammatory effects of P-coumaric acid against bisphenol A-induced testicular injury: In vivo and in silico studies. *Reprod Toxicol.* 2024 Apr;125:108579. doi: 10.1016/j.reprotox.2024.108579
25. Huang H, Belwal T, Liu S, Duan Z, Luo Z. Novel multi-phase nano-emulsion preparation for co-loading hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid using hydrocolloids. *Food Hydrocolloids.* 2019 Aug;93:92–101. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.02.023
26. Kumar A, Rao R. Formulation and modification of physicochemical parameters of p-Coumaric acid by cyclodextrin nanosponges. *J Incl Pheno Macro Chem.* 2022 Jan 24;102(3–4):313–26. doi: 10.1007/s10847-021-01121-2
27. Hoveizi E, Hushmandi K. Comparison of effects of P-coumaric acid and coumarin on colorectal cancer cell line by inducing apoptosis and autophagy. *Avicenna J Phytomed.* 2024 Jan 7;14(4):470–84. doi: 10.22038/ajp.2024.24194
28. Huang X, You Y, Xi Y, Ni B, Chu X, Zhang R, et al. p-Coumaric Acid Attenuates IL-1 β -Induced Inflammatory Responses and Cellular Senescence in Rat Chondrocytes. *Inflammation.* 2019 Dec 10;43(2):619–28. doi: 10.1007/s10753-019-01142-7
29. Ramorobi LM, Matowane GR, Mashele SS, Bonnet SL, Noreljaleel AEM, Swain SS, et al. Bioactive synergism between zinc mineral and p-coumaric acid: A multi-mode glycemic control and antioxidative study. *J Food Bioch.* 2022 Aug 5;46(10). doi: 10.1111/jfbc.14360
30. Kheiry M, Dianat M, Badavi M, Mard SA, Bayati V. p-Coumaric Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation in Rats by Scavenging ROS Production: an In Vivo and In Vitro Study. *Inflammation.* 2019 Jul 3;42(6):1939–50. doi: 10.1007/s10753-019-01054-6
31. Kiokias S, Oreopoulou V. Review on the Antioxidant Activity of Phenolics in o/w Emulsions along with the Impact of a Few Important Factors on Their Interfacial Behaviour. *Colloids Interfaces.* 2022 Dec 12;6(4):79. doi: 10.3390/colloids6040079
32. Nagy DM, Derayea SM, Zaaan AAS, Oraby M. Development and validation of derivative UV spectroscopic methods for simultaneous estimation of duloxetine and tadalafil in their binary mixtures: greenness-bluness evaluation. *BMC Chemistry.* 2025 May 16;19(1). doi: 10.1186/s13065-025-01483-5
33. Kaeswurm JAH, Scharinger A, Teipel J, Buchweitz M. Absorption Coefficients of Phenolic Structures in Different Solvents Routinely Used for Experiments. *Molecules.* 2021 Jul 31;26(15):4656. doi: 10.3390/molecules26154656
34. García-Prieto FF, Galván IFdez, Muñoz-Losa A, Aguilar MA, Martín ME. Solvent Effects on the Absorption Spectra of the para-Coumaric Acid Chromophore in Its Different Protonation Forms. *J Chem Theory Comput.* 2013 Sep 4;9(10):4481–94. doi: 10.1021/ct400145z
35. Vilas-Boas SM, Alves RS, Brandão P, Campos LMA, Coutinho JAP, Pinho SP, et al. Solid-liquid phase equilibrium of trans-cinnamic acid, p-coumaric acid and ferulic acid in water and organic solvents: Experimental and modelling studies. *Fluid Phase Equilibria.* 2020 Oct;521:112747. doi: 10.1016/j.fluid.2020.112747
36. Honmane SM, Dange YD, Osmani RAM, Jadge DR. General Considerations of Design and Development of Dosage Forms: Pre-formulation Review. *Asian J Pharm.* 2017 Sep 11;11(3). doi: 10.22377/ajp.v11i03.1448
37. Jain S, Patel N, Lin S. Solubility and dissolution enhancement strategies: current understanding and recent trends. *Drug Dev Ind Pharm.* 2014 Oct 24;41(6):875–87. doi: 10.3109/03639045.2014.971027
38. Shah AK, Agnihotri SA. Recent advances and novel strategies in pre-clinical formulation development: An overview. *J Control Release.* 2011 Dec;156(3):281–96. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.07.003

SUBMISSÃO: 06/04/2025
ACEITE: 22/07/2025