

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM
PROCESSAMENTO DE MATERIAIS
CÂMPUS URBANOVA

JOSUÉ DAVID GIMENEZ DE MELO

**Síntese e Caracterização de Lipossomas Furtivos para a
Incorporação de Extrato de Jambu**

**Synthesis and Characterization of Stealth Liposomes for the Incorporation of
Jambu Extract**

São José dos Campos
2024

JOSUÉ DAVID GIMENEZ DE MELO

**Síntese e Caracterização de Lipossomas Furtivos para a
Incorporação de Extrato de Jambu**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Mestrado Profissional em Processamento de Materiais, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de mestre em Processamento de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Leandro José Raniero
Coorientadora: Profa. Dra. Ivone e Regina de Oliveira

São José dos Campos
2024

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

Ficha catalográfica

Melo, Josué David Gimenez de
Síntese e Caracterização de Lipossomas Furtivos para a
Incorporação de Extrato de Jambu / Josué David Gimenez de Melo;
orientador, Prof. Dr. Leandro José Raniero; co-orientadora
Profa. Dra. Ivone e Regina de Oliveira. - São José dos Campos,
SP, 2024.

1 CD-ROM, 73 p.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Universidade do Vale do
Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em
Processamento de Materiais.

Inclui referências

1. Processamento de Materiais. 2. Nanotecnologia. 3.
Nanopartículas. 4. Plantas Mediciniais. 5. Biodisponibilidade. I.
Raniero, Prof. Dr. Leandro José, orient. II. Oliveira, Profa.
Dra. Ivone e Regina de, co-orient. III. Universidade do Vale do
Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Processamento de Materiais.
IV. Título.

Eu, Josué David Gimenez de Melo, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em
outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o
usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado
respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de
propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e
profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 6 de Janeiro de 2025.

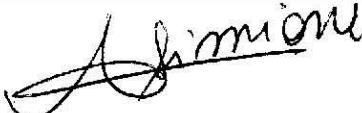
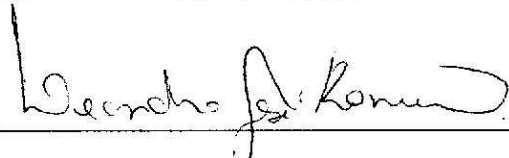


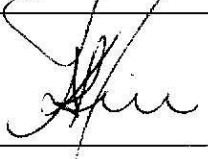


Autor(a) da Obra

JOSUÉ DAVID GIMENEZ DE MELO

**“SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS FURTIVOS PARA A
INCORPORAÇÃO DE EXTRATO DE JAMBU.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Processamento de Materiais, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof.ª Dr.ª Andreza Ribeiro Simioni	
Prof. Dr. Leandro José Raniero	
Prof.ª Dr.ª Ivone Regina de Oliveira	
Prof. Dr. Jairo Sciamareli – DCTA	
Prof.ª Dr.ª Andrea Santos Liu - IFSP	

Prof.ª Dr.ª Juliána Ferreira Strixino

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 04 de novembro de 2024.

Dedico o presente estudo à minha esposa
e a minha família de coração, por todo
amor, carinho e paciência que recebi
durante a elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Leandro José Raniero, que me ajudou e orientou neste trabalho de dissertação do Mestrado.

A todos os professores, amigos e colegas que, direta ou indiretamente, durante todo o curso, me ajudaram na formação do meu conhecimento, contribuindo não apenas para a minha carreira profissional, mas também para que eu me torne um cidadão cada vez melhor.

Um agradecimento em especial:

À Dr^a. Maira pela valiosa contribuição para esse trabalho e por compartilhar o seu conhecimento sobre a síntese de lipossomas.

À Técnica de laboratório Dr^a Angela pelo suporte com as análises de DSC.

À Técnica de laboratório Me Pricila pelo suporte e treinamento na preparação das amostras e análise para microscopia eletrônica.

À Prof^a. Dr^a. Ana Maria, Prof. Dr. Corat e a Lais(aluna de doutorado) pelo suporte com as análises no Microscópio Eletrônico MEV-FEG no INPE.

À Prof^a. Dr^a. Cristina, por ceder amostras de Jambu para realização do trabalho.

Ao Especialista Técnico Milton pelo suporte com as análises de FTIR no DCTA.

À Especialista Técnica Margarete do DCTA pelo suporte na Análise Térmica.

Aos amigos que fiz no laboratório e que tanto me ajudaram Vitor, Giu, Aveline, Livia, Virginia.

"Se você quer realmente entender alguma coisa, tente explicá-la a alguém."

Richard Feynman

RESUMO

Os lipossomas têm se demonstrado uma excelente ferramenta no carreamento de medicamentos e no uso em cosméticos, minimizando os efeitos colaterais, como por exemplo reações alérgicas, tornando-os mais eficazes na entrega de princípios ativos, aumentando a biodisponibilidade e biossegurança. Este estudo tem como objetivo de desenvolver e investigar a composição do lipossoma e as possíveis interações entre os seus constituintes: lipídio S75, colesterol e polivinilpirrolidona. Foram realizadas formulações e análises laboratoriais, buscando caracterizar e maximizar a resistência mecânica e avaliar a estabilidade, que se refere tanto à preservação da integridade física e química dos lipossomas ao longo do tempo quanto à sua eficiência em encapsular compostos ativos, como o Jambu. Foi utilizado o método de hidratação de película fina na formulação dos lipossomas. Para a caracterização foram empregadas técnicas de análises instrumentais como a espectroscopia no infravermelho médio, análise de calorimetria exploratória diferencial, espalhamento dinâmico de luz, microscopia eletrônica de varredura com emissão FEG, Além do uso da quimiometria para otimização dos dados. Os resultados mostram partículas esféricas na escala nanométrica e uma boa integração entre o colesterol, polivinilpirrolidona e a matriz lipídica, conferindo maior estabilidade e resistência à matriz lipossomática. Portanto, as formulações desenvolvidas neste trabalho demonstraram fiabilidade, ou seja, à capacidade dos lipossomas de manterem seu desempenho e consistência ao longo do tempo, mesmo sob diferentes condições, no controle dos componentes, assim como o encapsulamento da erva medicinal Jambu, o potencial de novos desenvolvimentos em fármacos, proporcionando maior biodisponibilidade e controle de liberação dos compostos encapsulados em futuras aplicações terapêuticas e cosméticas.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Nanopartículas, Lipossomas, Encapsulamento de erva medicinal, Biodisponibilidade, Estabilidade Lipossômica.

ABSTRACT

Liposomes have been proven to be an excellent tool for drug delivery and cosmetic use, minimizing side effects, for example allergic reactions, making them more precise and effective in delivering active ingredients, and increasing their bioavailability and biosafety. This study aims to develop and investigate the composition of the liposome and the possible interactions between its constituents: lipid S75, cholesterol, and polyvinylpyrrolidone. Formulations and laboratory analyses were conducted to characterize and maximize the mechanical strength and stability of the liposomes, also assessing the viability of encapsulating medicinal herbs. The thin-film hydration method was used in the formulation of the liposomes. For characterization, instrumental analysis techniques such as mid-infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, dynamic light scattering, field emission scanning electron microscopy (FEG-SEM), and chemometrics for data optimization were employed. The results show spherical particles at the nanometric scale and good integration between cholesterol, polyvinylpyrrolidone, and the lipid matrix, providing greater stability and strength to the liposomal matrix. Therefore, the formulations developed in this study demonstrated reliability in the control of components as well as the encapsulation of the medicinal herb Jambu, enabling the potential for new developments in pharmaceuticals and providing greater bioavailability and controlled release of the encapsulated compounds for future therapeutic and cosmetic applications.

Keywords: Nanotechnology, Nanoparticles, Liposomes, Drug Encapsulation, Bioavailability, Liposomal Stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Máscara mortuária de Tutancâmon	19
Figura 2 - Taça de Lycurgo	20
Figura 3 - Dispersões com concentrações diferentes de ouro	21
Figura 4 – Fullereno (à direita) e Nanotubos (à esquerda)	22
Figura 5 - Tipos de nanopartículas.....	23
Figura 6 - Estrutura dos lipossomas.....	25
Figura 7 - Estrutura dos lipossomas.....	29
Figura 8 - Efeito permeabilidade dos lipossomas.....	30
Figura 9 - Jambu (<i>Acemella oleracea</i>)	31
Figura 10 - Processo de Síntese de Lipossoma.....	35
Figura 11 - Conjunto de extrusora com suporte 1) 2 seringas Hamilton, 2) base/suporte para filtragem e aquecimento, 3) membrana de policarbonato(100 nm), 4) filtros, 5) anéis de borracha para vedação, 6) anel de retenção, 7) suportes para filtros, 8) invólucro, 9) porca de retenção.	35
Figura 12 - Zetasizer Nano ZEN3690 (Malvern Instruments Ltd).....	37
Figura 13 - Spectrum 400 FT-IR/FT-FIR da Perkin Elmer.....	38
Figura 14 - DSC modelo Q10 da TA Instruments.....	39
Figura 15 - Microscópio Eletrônico de Varredura	40
Figura 16 - Espectro de FTIR na região espectral de 4000 a 500 cm ⁻¹ para o Lipoid s75 (LIP), Lipossoma (LIPA), Lipossoma + Colesterol (LIPA-C), Lipossoma + PVP (LIPA-P), Lipossoma + Colesterol + PVP (LIPA-C-P), Lipossoma + Colesterol + PVP + Jambu (LIPA-C-P-J).	42
Figura 17 - Espectro de FTIR de 4000 a 500 cm ⁻¹ para o LIPA, COL, LIPA-C 5%, LIPA-C 10%, LIPA-C 30%.....	45
Figura 18 - Espectros de FTIR de 4000 a 500 cm ⁻¹ para o LIPA, LIPA-C 5%, LIPA-C 10%, LIPA-C 30%.	46
Figura 19 - Espectro de FTIR de 4000 a 500 cm ⁻¹ para o LIPA, PVP, LIPA-P 1%, LIPA-P 1,5%, LIPA-P 3%, LIPA-P 4,8%.....	50
Figura 20 - Espectro de FTIR de 4000 a 500 cm ⁻¹ para o LIPA, PVP, LIPA-P 1%, LIPA-P 1,5%, LIPA-P 3%, LIPA-P 4,8%.....	51
Figura 21 - Modelo de calibração representando a adição de PVP no LIPA em função da razão de bandas (1738/1655) no FTIR.	51

Figura 22 - Modelo de calibração multivariado para adição de COL em LIPA.	53
Figura 23 - Encapsulamento do Jambu.....	53
Figura 24 - Comparação das curvas de DSC do LIP, LIPA, COL e PVP.	55
Figura 25 - Representação dos termogramas LIPA, LIPA-C5, LIPA-C5.4, LIPA-C10, LIPA-C20, representando a temperatura de fusão no máximo do pico e a entalpia de fusão.	56
Figura 26 - Curvas de DSC representando o decréscimo da concentração do LIPA e o aumento da concentração de COL e sua efetiva incorporação ao LIPA.	57
Figura 27 - Representação dos termogramas LIPA, PILPA-P1, LIPA-C-P1.4, LIPA-P3, LIPA-C-P4.8, representando a temperatura de fusão no máximo do pico e a entalpia de fusão.	58
Figura 28 - Comparação das curvas de DSC do LIP, LIPA, COL e PVP.	59
Figura 29 - Comparação das curvas de DSC do LIP, LIPA-C-P, LIPA-C-P-J.60	
Figura 30 - Resultados obtidos na avaliação da morfologia de lipossomas composto por LIPA+COL+PVP com adição de Jambu por microscopia eletrônica de varredura(MEV/FEG)	61
Figura 31 - Comparação da distribuição do tamanho dos LIPA 100%, LIPA 90% + COL 10%, LIPA 97% + PVP 3%, LIPA 89% + COL 5% + PVP 1% + Jambu 5%.	62
Figura 32 - Apresenta o gráfico de boxplot para comparação dos tamanhos dos Lipossomas entre os resultados da 1a análise e da 2a análise e a estatística para teste t pareado.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Atribuição de bandas.....	43
Tabela 2 - Tabela de bandas no FTIR representando razão entre a absorbância e a adição de COL no LIPA.....	47
Tabela 3 - Tabela de bandas no FTIR representando razão entre a absorbância e a adição de PVP no LIPA.....	51
Tabela 4 - Tabela de dados das curvas de DSC, obtidos pela da adição de COL em LIPA.....	56
Tabela 5 - Tabela de dados das curvas de DSC, obtidos através da adição de PVP no LIPA.....	58
Tabela 6 - Tabela de dados da distribuição do tamanho dos LIPA 100%, LIPA 90% + COL 10%, LIPA 97% + PVP 3%, LIPA 89% + COL 5% + PVP 1% + Jambu 5%.	61
Tabela 7 - Tabela de dados da distribuição do tamanho dos lipossomas em função do tempo.	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATR	Reflexão Total Atenuada
COL	Colesterol
DDPH	(2,2-difenil-1-picril-hidrazil)
DLP	Doxorrubicina Lipossomal Peguilada
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPC	Dipalmitoilfosfatidilcolina
DPTAP	Dipalmitoiltrimetilamônio-propano
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FDA	Agência Americana de regulação, do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FEG	Filamento de emissão de campo
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
IC	Concentração Inibitória
LIP	Lipoid s75
LIPA	Lipossoma proveniente do LIP
LIPA-C	Lipossoma com adição de Colesterol
LIPA-C-P	Lipossoma com adição de Colesterol e PVP
LIPA-C-P-J	Lipossoma com adição de Colesterol, PVP + Jambu
LIPA-P	Lipossoma com adição de PVP
LUL	Vesículas Unilamelares
LUP	Lipossomas Unilamelar Pequena
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PCA	Análise de Componentes Principais
PDI	Índice de polidispersão
PEG	Polietileno Glicol
PLS	Mínimos Quadrados Parciais “
PVP 40	Polivinilpirrolidona com peso molecular médio de 40.000
QE	Quercetina equivalente usada para quantificar compostos fenólicos
RNA	Ácido Ribonucleico
SEC	Erro Padrão de Calibração, do inglês <i>Standard Error of Calibration</i>
SLNs	Nanopartículas lipídicas sólidas
STM	Microscopia de Tunelamento, do inglês <i>Scanning Tunneling Microscope</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Principal:	18
2.2	Objetivos Secundários:	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	Um histórico das nanopartículas	19
3.2	Lipossomas	23
3.3	Estruturas dos lipossomas	24
3.4	Técnicas de síntese e uniformização dos lipossomas	27
3.5	Aplicações dos lipossomas	29
3.6	Jambu (<i>Acmella oleracea</i>)	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Preparação dos Lipossomas	34
4.2	Processo de extrusão dos Lipossomas	35
4.3	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	36
4.4	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	37
4.5	Análise de calorimetria exploratória diferencial	38
4.6	Microscópio Eletrônico de Varredura	39
4.7	Quimiometria	40
5	RESULTADOS e DISCUSSÃO	42
5.1	Caracterização de lipossomas: FTIR	42
5.1.1	Influência da adição de Colesterol nos espectros FT-IR	45
5.1.2	Influência da adição de PVP nos espectros FT-IR	49
5.1.3	Encapsulamento do Jambu	53
5.2	Caracterização de lipossomas: DSC	54
5.3	Caracterização de lipossomas: Microscópio Eletrônico de Varredura	60
5.4	Caracterização de lipossomas: Espalhamento de Luz Dinâmico	61
6	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

Uma das limitações dos medicamentos no tratamento de doenças que afligem a humanidade está relacionada à célebre frase do físico e médico suíço-alemão Paracelso, do século XVI: 'A diferença entre o veneno e o remédio está na dose' (Santos; Castanho, 2002). A eficácia de um medicamento depende não apenas do princípio ativo, mas também da precisão com que é administrado, pois a incapacidade de alcançar o local exato onde a doença está presente pode torná-lo ineficaz.

O metabolismo do medicamento é complexo, pois o nosso corpo possui uma série de barreiras que o retêm e o degradam. As barreiras, assim chamadas metabólicas e de transporte, são responsáveis pela retenção e pela degradação dos princípios ativos dos medicamentos. Considerando este fator, se faz necessário o aumento de dosagens para atingir o efeito terapêutico almejado. Em contrapartida, temos o aumento do risco de toxicidade, como também os efeitos adversos. (Armani, *et al.*, 2024). Além disso, os efeitos colaterais, devido à alta concentração, atingem tecidos saudáveis, agravando o quadro de saúde do paciente (Awais, 2024). Os lipossomas, com aproximadamente 100 nanômetros, são compostos por uma dupla camada lipídica muito semelhantes a células eucarióticas. Estes sistemas são amplamente utilizados na liberação de fármacos. Com a capacidade de encapsular fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos, melhorando a biodisponibilidade e reduzindo a toxicidade, além de proteger o princípio ativo até o seu destino, minimizando assim os efeitos adversos. Isto promove uma versatilidade no tratamento das doenças (Rani; Venkatesan; Prabhu, 2022; Guimarães; Cavaco-Paulo; Nogueira, 2021).

Os lipossomas possuem uma ampla aplicação na área farmacêutica como o tratamento e o diagnóstico do câncer (Akkewar *et al.*, 2023), a administração ocular de medicamentos e em distúrbios neurológicos (Akkewar *et al.*, 2023), e no tratamento do Alzheimer, em que são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica na entrega de fármacos às células cerebrais (Hernandez; Shukla, 2021). Em estudos recentes, a aplicação de nanopartículas lipídicas, como os lipossomas, foi explorada com base em pesquisas sobre a formação e as propriedades das vesículas lipídicas de mRNA utilizadas em vacinas contra a COVID-19 (Walde; Ichikawa, 2021). Também possuem aplicações na área cosmeceutica, como em protetores solares, vitaminas e óleos essenciais, devido às suas propriedades naturais, biodegradáveis e de baixa

toxicidade. Além de aumentar a solubilidade e a permeabilidade, podendo ser administrados por via dérmica, subcutânea, intravenosa, oral, nasal, transmucosa, (Tejashree *et al.*, 2022; Akkewar *et al.*, 2023).

As estruturas dos lipossomas podem ser compostas por vesículas fosfolipídicas, podendo ser formadas por um ou mais lipídios. Outras moléculas podem ser incorporadas, como neste estudo, foi utilizado o colesterol e polivinilpirrolidona (PVP) para melhorar a resistência mecânica, que será discutido. Os lipídios são responsáveis pela formação da bicamada lipídica (Song *et al.*, 2022). Enquanto o colesterol possui um papel muito importante para a membrana dos lipossomas, pois permite um aumento da resistência mecânica (Ehsaneh; Moradi, 2023), mas o percentual ideal ainda é objeto de pesquisa (Nakhaei *et al.*, 2021). O PVP atua como um agente estabilizador do carreador em seu estado amorfo, minimizando sua mobilidade molecular. Isso ocorre porque o PVP forma interações intermoleculares (como ligações de hidrogênio) com os compostos ativos, ajudando a manter a estrutura amorfa. Aumentando assim a estabilidade física e melhorando a solubilidade do lipossoma (Bejaoui *et al.*, 2023). Porém, mais pesquisas são necessárias para que se possa comprovar essas características e benefícios apontados na atuação do PVP nos lipossomas (Mutlu-Ağardan; Tort, 2023).

Devido a essas lacunas apresentadas na construção dos lipossomas, são necessários mais estudos para se comprovar os benéficos da adição do colesterol e PVP, quanto à resistência mecânica e a estabilidade física em relação aos lipossomas. Neste trabalho, dentre as opções de melhoramento do lipossoma, pode-se destacar um estudo por meio de formulações com a variação de adição controlada de colesterol e PVP em uma matriz lipídica e a caracterização por meio de técnicas analíticas de espectroscopia de Infravermelho associado a quimiometria, microscopia eletrônica de varredura, e pela análise térmica, visando maximizar a resistência mecânica e a avaliação da estabilidade física dos lipossomas. Como também a aplicação dos lipossomas com parâmetros otimizados no encapsulamento da erva medicinal Jambu, sendo caracterizada por diferentes técnicas instrumentais como Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) associado a quimiometria, Dispersão Dinâmica de Luz (DLS), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG), garantindo assim a caracterização eficaz na matriz lipossomica.

Dentre os diferenciais desta dissertação, destaca-se a incorporação da erva medicinal da flora brasileira, o Jambu, aos lipossomas. O encapsulamento pode trazer benefícios científicos e tecnológicos para futuros usos medicinais, contribuindo como a sociedade brasileira no desenvolvimento da exploração sustentável da flora brasileira.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Formular lipossomas utilizando Lipídio S75, colesterol e PVP para otimizar a entrega da erva medicinal Jambu, avaliando a influência desses componentes na estabilidade e resistência dos lipossomas.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- a) Análise e caracterização do Lipossoma por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.
- b) Análise e caracterização do Lipossoma por Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial.
- c) Análise e caracterização do Lipossoma por Espalhamento Dinâmico de Luz.
- d) Análise e caracterização do Lipossoma por Microscópio Eletrônico de Varredura.
- e) Avaliação da viabilidade do uso da Quimiometria para uso de Modelos Multivariados na construção de lipossomas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 UM HISTÓRICO DAS NANOPARTÍCULAS

Nas margens do Nilo floresceu a civilização Egípcia com feitos admiráveis na matemática, engenharia civil, etc. Dentre os artefatos arqueológicos encontrados por essa civilização pode-se destacar a máscara mortuária de Tutancâmon, encontrada no Vale dos Reis pelo arqueólogo inglês Harold, em 1922 (Figura 1). Os esmaltes e os pigmentos, que são substâncias que conferem cor a materiais usados pelos egípcios possuem cor azul, chamada "azul egípcio ou frita azul". Este pigmento é composto de uma base de sílica, cálcio e cobre, produzidos por um processo complexo, que resulta em um composto cristalino com partículas na faixa nanométrica (Shahbazi *et al.*, 2019).

Figura 1 - Máscara mortuária de Tutancâmon



Fonte: Pinterest (2024).

Os processos de síntese de nanopartículas também remontam a épocas muito antigas como a dos romanos, onde alguns dos processos de refino de materiais levavam a produção de nanomateriais, mas sem o conhecimento científico das propriedades físicas e químicas dos nanomateriais. Por exemplo, o Cálice de Lycurgo (como apresentado na Figura 2) datado do século IV d.C., o qual era composto de um raro vidro dicróico, que quando iluminado apresentava cor verde, mas ao ser

atravessado pela luz apresentava cor vermelho-púrpura. A mudança de coloração é explicada pela presença de nanopartículas de ouro e prata, conferindo fenômenos óticos, que denota um sofisticado conhecimento do processamento do vidro (History, 2021).

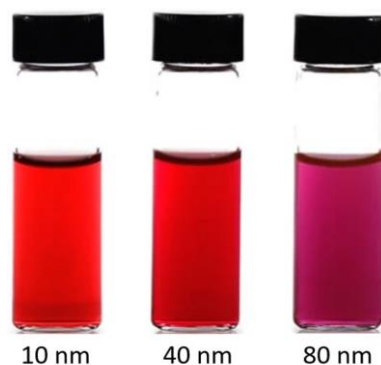
Figura 2 - Taça de Lycurgo



Fonte: yandex.com

Em 1857, um importante trabalho foi publicado por Michael Faraday, elucidando as propriedades da dispersão do ouro coloidal, composto por partículas de dimensões nanométricas. Neste contexto, a Figura 3 apresenta soluções coloidais de ouro, com diferentes comprimentos de onda, pode-se notar uma diferença de coloração. Este fenômeno é conhecido como ressonância plasmônica de superfície, devido à interação da radiação incidente com as nanopartículas em solução coloidal, gerando uma oscilação na interface metal-dielétrico e causando alterações no índice de refração (Kamble *et al.*, 2022; Thawany; Tiwari; Deep, 2023).

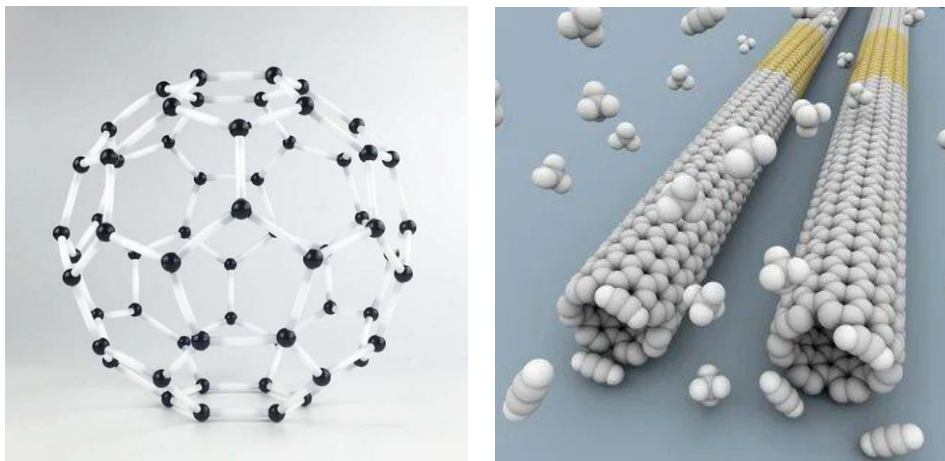
Figura 3 - Dispersões com diferentes tamanhos de nanopartículas de ouro



Fonte: lateralflows.com

Após as descobertas de Faraday é possível citar outros eventos que contribuíram para o avanço na área da nanotecnologia, como a descoberta do elétron promovida por Joseph John Thomson em 1904 e o modelo atômico de Ernest Rutherford em 1911. No ano de 1955, em uma palestra intitulada "There's Plenty of Room at the Bottom," o físico norte-americano Richard Feynman lançou uma ideia que ficou conhecida como o marco conceitual da nanotecnologia. O físico apresentou a possibilidade da manipulação de átomos de maneira individual, a fim de criar dispositivos muito pequenos. Hoje pode-se ver essas ideias já aplicadas através das chamadas armadilhas de átomos com várias aplicações no campo da biotecnologia e medicina (Kim *et al.*, 2022). Posteriormente, à invenção do Microscópio de Varredura por Túnel (STM) em 1981, que rendeu à dupla de pesquisadores o Prêmio Nobel de 1986. Esse avanço mostrou-se significativo no campo da pesquisa de nanomateriais. No entanto, a descoberta de Fullerenos, também conhecidos como buckyballs, por Harold Kroto, Richard Smalley e Robert Curl em 1985 abriu uma nova perspectiva no campo dos nanomateriais. O fato do carbono se combinar e assumir forma, esférica, demonstra a possibilidade de criação de novas estruturas. O físico japonês Sumio Iijima descobriu as estruturas dos nanotubos de carbono. As estruturas mostraram que os cilindros de carbono possuem propriedades mecânicas, térmicas e elétricas únicas, contribuindo significativamente para o campo da nanotecnologia (Figura 4). A partir dos anos 2000, houve uma intensificação de trabalhos de nanotecnologia aplicados na área da medicina com a entrega de medicamentos direcionados, diagnósticos e terapia fotodinâmica (Kim *at al.*, 2022).

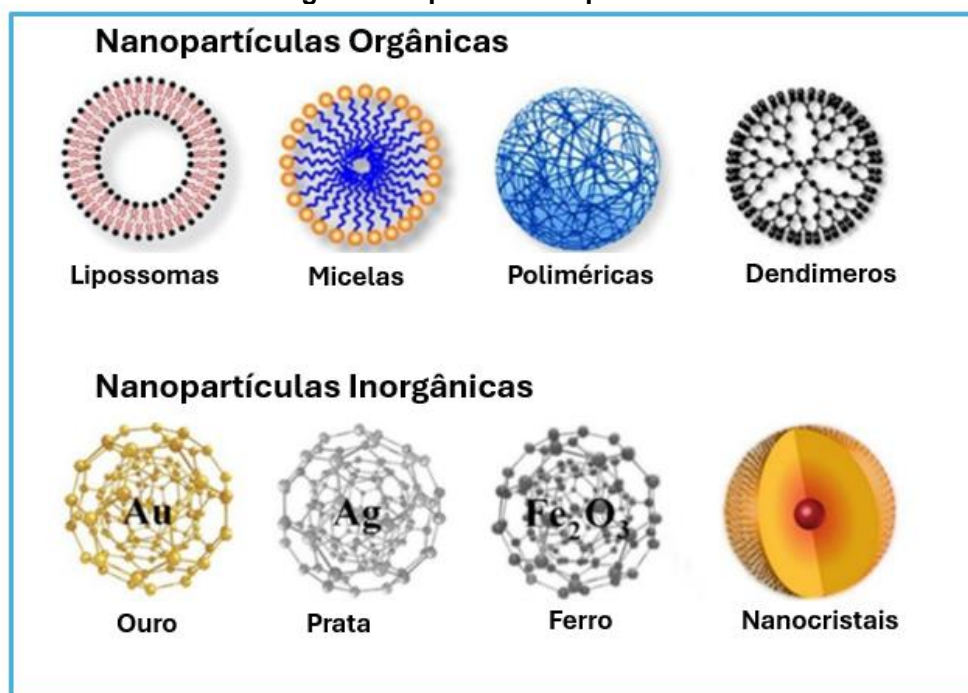
Figura 4 – Estruturas do Fulereno (à direita) e Nanotubos (à esquerda)



Fonte: yandex.com

As nanopartículas são compostas de diferentes tipos de materiais, como os poliméricos, metálicos, cerâmicos, magnéticos, semicondutores etc., (Figura 5). Estes materiais possuem diversas aplicações, devido às suas propriedades químicas e físicas, distintas conferindo sua aplicabilidade em diferentes áreas. Tais partículas apresentam dimensões na faixa nanométrica, geralmente variando entre 1 e 100 nm, conferindo características singulares como o aumento da reatividade, propriedades ópticas específicas e uma capacidade de furtividade, ou seja, a capacidade de não serem reconhecidos pelo sistema imunológico, facilitando a entrada em sistemas biológicos. Dentre tais partículas, mostradas na Figura 5 - Tipos de nanopartículas, destaca-se os lipossomas.

Figura 5 - Tipos de nanopartículas



Fonte: yandex.com

3.2 LIPOSSOMAS

Os lipossomas se caracterizam pelo formato esférico em suspensão coloidal, que são formuladas a partir da dispersão de fosfolipídeos em fase aquosa. As nanopartículas lipossômicas têm a aplicação na melhoria da biodisponibilidade e controle da liberação de compostos. (Song *et al.*, 2022). Na década de 1960, o hematologista inglês Alec Bangham iniciou os trabalhos com os lipossomas, que são basicamente vesículas compostas de colesterol e fosfolipídios naturais não venenosos, formados por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas. Atualmente, em função da aplicabilidade dessas estruturas, uma nova geração de sistemas avançados para entrega de medicamentos vem sendo desenvolvida para a indústria cosmética e farmacêutica, entre outras (Fulton; Najahi-Missaoui, 2023).

Desta forma, os lipossomas permitiram a estabilização de produtos farmacêuticos, assim como difusão pelas barreiras dérmicas, viabilizando uma melhor biodistribuição dos ativos em locais-alvo, possibilitando a redução da toxicidade sistêmica. Em 1995, a primeira formulação de lipossomas liberada como medicamento foi o antifúngico Ambisoma®, que permitiu a redução significativa da toxicidade. Assim, o desenvolvimento dos lipossomas impactou diretamente várias áreas da

biomedicina, como a analgesia antitumoral, antifúngica, antibacteriana e clínica, (He, *et al.*, 2022)

Os lipossomas atuam como uma barreira que envolve o medicamento, promovendo estabilidade química na presença de enzimas do trato digestivo, da flora intestinal e radicais livres, ocorrendo a liberação do ativo apenas em local pré-determinado para a ação em um órgão ou glândula (Johny *et al.*, 2021). Desta forma, tal encapsulamento do medicamento se processa pela interação com a parte hidrofílica e hidrofóbica do lipossoma. Essa mesma característica promove uma versatilidade ao composto de maneira que as moléculas hidrofóbicas sejam inseridas na membrana da bicamada e as moléculas hidrofílicas sejam mantidas no interior do centro aquoso (Nsairat *et al.*, 2023).

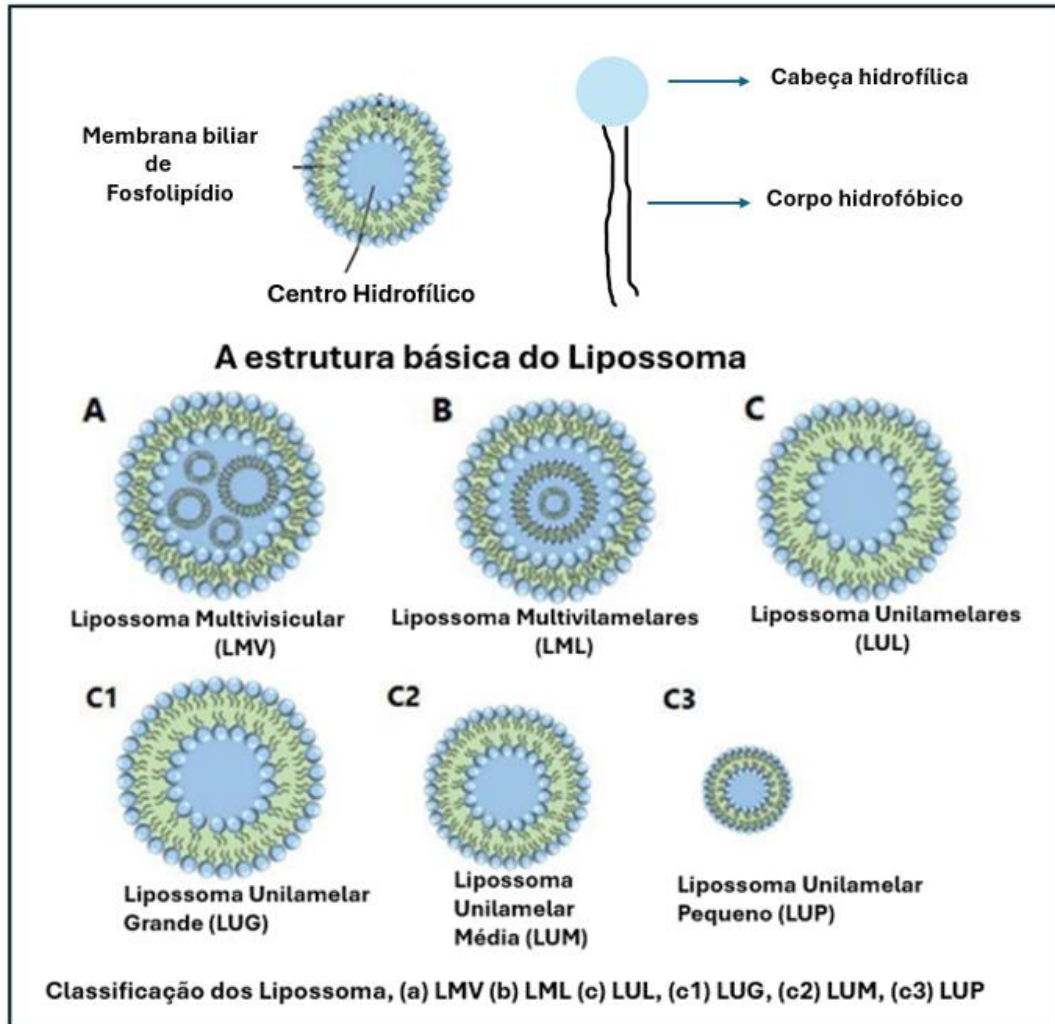
Neste contexto, pode-se caracterizar as formulações lipossômicas em função da composição lipídica, do tamanho do lipossoma, carga, modificação da superfície e da quantidade de lamelas, de maneira que tais características gerenciam a estabilidade química e física do sistema. Estabilidade química protege o medicamento contra a degradação enzimática e oxidativa, enquanto a estabilidade física garante que os lipossomas mantenham sua integridade estrutural, evitando a fusão ou agregação das partículas, assegurando assim uma liberação controlada e eficaz dos compostos encapsulados.

3.3 ESTRUTURAS DOS LIPOSSOMAS

As vesículas de lipossomas podem possuir uma ou mais camadas bi lipídicas, sendo classificadas pelo número de camadas, como apresentado na Figura 6. Os Lipossomas Unilamelares (LUL) possuem uma única bicamada lipídica ao redor do núcleo aquoso. As LUL podem ser subdivididas em Lipossomas Unilamelar Pequena (LUP), pois são lipossomas com diâmetros menores que 100 nm. Devido ao tamanho reduzido, apresentam uma maior área superficial em relação ao volume, podendo influenciar na liberação de fármacos encapsulados. Já os Lipossomas Unilamelar Grande (LUG), possuem diâmetros superiores a 100 nm, são utilizados quando se busca encapsular grandes quantidades de substâncias. Os Lipossomas Multilamelares (LML) são formadas por várias bicamadas concêntricas, parecido como uma cebola, que envolvem múltiplos compartimentos aquosos, podem encapsular uma maior quantidade de substâncias, tanto no núcleo aquoso quanto nas

camadas lipídicas. Enquanto os Lipossomas multivesiculares (LMV), contêm várias vesículas pequenas dentro de uma única estrutura. Cada vesícula individual nesta estrutura multivesicular possui a própria bicamada lipídica (He, *et al.*, 2022).

Figura 6 - Estrutura dos lipossomas



Fonte: Adaptado de He *et al.*, (2022).

Os lipossomas podem ser divididos em quatro tipos principais: os da primeira geração são nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs), que se originam de emulsões óleo-em-água, formados por um lipídio sólido à temperatura ambiente que leva à formação de um núcleo sólido, podendo ser compostos de fosfolípídios catiônicos, aniônicos ou neutros, formando uma matriz sólida, responsável pela liberação controlada de substâncias ativas, assim como pela proteção física e da degradação e química. Embora sejam considerados promissores na entrega de medicamentos em

virtude da biocompatibilidade e biodegradabilidade, apresentam problemas como a expulsão e estabilidade do medicamento (Basso *et al.*, 2022).

Os lipossomas catiônicos são conhecidos como potencializadores para vacinas de subunidades, que seriam como exemplo: ao invés de usar um vírus inativado inteiro, usamos parte dele, minimizando assim o risco. Os lipossomas com carga positiva são amplamente usados na biotecnologia e especialmente na entrega de genes e fármacos, em função de reagirem com material genético carregado negativamente. Esses lipossomas podem ser compostos por um fosfolipídio neutro, como o DPPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina), e um composto catiônico como DDA (Dioctadecilamônio), que é um lipídio catiônico sintético frequentemente usado em lipossomas para aumentar a interação com ácidos nucleicos e promover a entrega de genes. DPTAP (Dipalmitoiltrimetilamônio-propano), um lipídio catiônico que ajuda a formar lipossomas com propriedades de encapsulamento de DNA ou RNA, proporcionando maior estabilidade em sistemas biológicos (Quer *et al.*, 2012).

A segunda geração são os “Lipossomas Estericamente Estabilizados”, são sistemas mais avançados na administração de medicamentos, são os chamados sistemas lipossomais pegilados, que fazem uso de polímeros como o polietileno glicol (PEG) e surfactantes não iônicos, que promovem a estabilização da bicamada lipídica do lipossoma por meio de uma cobertura. Essa modificação promove vantagens sobre os lipossomas convencionais, como uma maior estabilidade e um tempo de circulação prolongado, promovendo uma melhoria na retenção do medicamento e uma redução dos efeitos colaterais (Arndt *et al.*, 1997). Ao se incorporar o polietileno glicol ao lipossoma, cria-se uma barreira estérica que reduz as interações do meio, promovendo uma redução da captação pelo sistema de fagócitos mononucleares e tempos de circulação sanguínea maiores (Arndt *et al.*, 1997). Com essa ação prolongada, há um acúmulo maior nos tecidos alvo, como os tumores, possibilitando um efeito de permeabilidade e de retenção aprimorados (Bestman-Smith *et al.*, 2000). Como conclusão, os sistemas lipossomáticos estéricos possuem vantagens em relação aos convencionais ou de primeira geração, pois possuem sua capacidade aumentada de escapar do sistema imunológico, acumulando-se no tecido-alvo, promovendo assim uma melhora na eficácia dos medicamentos, tornando-se candidatos promissores para aplicações como o tratamento do câncer, doenças infecciosas e a administração direcionada de medicamentos (Moreira *et al.*, 2001).

Os lipossomas direcionados são promissores na entrega dos medicamentos de forma direcionada e seletiva a células tumorais, pois possuem a combinação dos lipossomas tradicionais aliados a ligantes específicos em sua superfície de forma a direcionar as partículas a receptores superexpressos em células carcinogênicas (Rahman *et al.*, 2020). Podemos citar como exemplos de ligantes como folato, transferrina e peptídeos, capazes de aumentar a associação e internalização celular em relação a lipossomas não direcionados (Knudsen, *et al.*, 2012). Como demonstrado em estudos, os lipossomas direcionados melhoram a eficácia terapêutica de agentes antineoplásicos. Como exemplos, podemos citar os lipossomas conjugados com anti-CD19 que aumentaram a ligação e citotoxicidade *in vitro*, bem como a sobrevivência *in vivo* em modelos de linfoma (Iden; Allen, 2001). De fato, a eliminação rápida mediada por anticorpos de carreadores como o hapteno não provocam uma resposta imune por conta própria, mas podem se tornar imunogênicas quando ligadas a uma proteína transportadora, podendo ser um desafio. Entretanto, o uso do polietilenoglicol (PEG) na superfície destes lipossomas pode ser uma opção viável (Li; Mayer; Bally, 2002).

Em resumo, os “Ligantes Direcionados” têm a capacidade de expressar seletivamente, ligantes específicos como anticorpos, peptídeos/proteínas, que permitem uma terapia com maior especificidade, o que pode representar uma abordagem de futuro para o transporte intracelular de medicamentos a células tumorais que expressam receptores específicos, embora sejam necessárias mais pesquisas para otimizar sua formulação e superar os novos desafios (Johny *et al.*, 2021). O quarto tipo de lipossoma seria a combinação desses três tipos de forma a otimizar as potencialidades dos três anteriores, podendo chegar a um resultado muito expressivo, em função das potencialidades combinadas.

3.4 TÉCNICAS DE SÍNTESE E UNIFORMIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS

A síntese de lipossomas emprega vários métodos, dentre os quais pode-se destacar o de Bangham ou método de hidratação de película fina. Trata-se do primeiro método amplamente utilizado para a preparação de lipossomas, sendo muito eficaz para carregamento de substâncias lipofílicas (Xiang; Cao, 2021). O método de remoção de detergente é mais utilizado para carregamento de proteínas cujas membranas são solúveis. O método de injeção de solvente é utilizado em virtude da sua segurança

pelo uso do etanol. Já o método de evaporação de fase reversa é muito utilizado para incorporação de um ativo hidrofílico no espaço interno lipossomal (Zhong; Zhang, 2023). Pelo método da eletroformação, os lipídios são dissolvidos em um solvente orgânico e depois são depositados sobre duas lâminas de vidro revestidas de óxido transparente condutor. Então, após a evaporação do solvente, um filme do lipídio é formado sobre as superfícies. As lâminas são colocadas em uma câmara, que é preenchida com uma solução tampão e uma diferença de potencial é aplicada. A hidratação do filme ocorre sob a influência do campo elétrico (10 Hz, 1 V), que promove a separação dos lipídeos na superfície, produzindo vesículas de menor heterogeneidade composicional, aumentando a proporção de vesículas unilamelares (Boban *et al.*, 2023).

Por último, o método de dupla emulsão, mais conhecido como plataforma DepoFoam™. Este método possui quatro etapas, sendo elas: a produção de uma emulsão água em óleo; formação de uma emulsão “água em óleo em água”, extração com solvente por meio de bomba de vácuo ou reagente gasoso, microfiltração (Burdaev *et al.*, 2023).

A distribuição de tamanho dos lipossomas é um indicador de importância para a segurança e a eficácia na aplicação final. Nesse contexto, o método com ultrassom é frequentemente utilizado pela boa eficiência, permitindo a moagem rápida de um número elevado de partículas em pouco volume. Entretanto, a relação de tempo/potência deve ser respeitada, pois as utilizações excessivas podem degradar a estrutura e liberar o medicamento encapsulado (Yun; Hwangbo; Jeong, 2023).

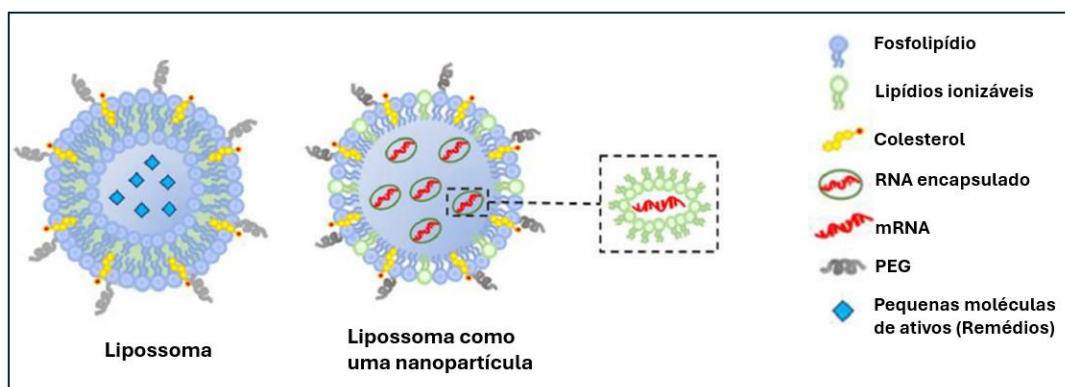
O método de congelamento e descongelamento, consiste em ciclos de resfriamento a valores de temperatura muito baixos, seguido do aquecimento. Esse processo promove a redução do tamanho dos lipossomas, mas também promove um aumento na distribuição do tamanho das partículas e aumento no índice de polidispersividade (Koide *et al.*, 2022).

O método de extrusão consiste na redução do tamanho pela passagem dos lipossomas através de uma membrana de policarbonato com o diâmetro de poro de 50 nm até 5 µm ou filtros cerâmicos assimétricos. Os parâmetros críticos consistem no tamanho do poro da membrana, número de ciclos de passagem, pressão, vazão etc. O mecanismo de redução de tamanho consiste na quebra dos lipossomas maiores nos poros da entrada da membrana, e a reorganização em tamanhos menores após a passagem pela membrana. Apesar deste método se mostrar mais

eficaz em relação aos outros já citados, deve-se atentar para o fato de que o processo de extrusão pode alterar a estrutura dos lipossomas, reduzindo assim a eficiência de incorporação dos ativos aos lipossomas (Pham *et al.*, 2022; Burdaev, *et al.*, 2023; Yanagihara *et al.*, 2023). Este método é muito utilizado na formulação de lipossomas como carreador de medicamentos pela indústria farmacêutica, pois é simples e possui boa reprodutibilidade, não requerendo condições especiais.

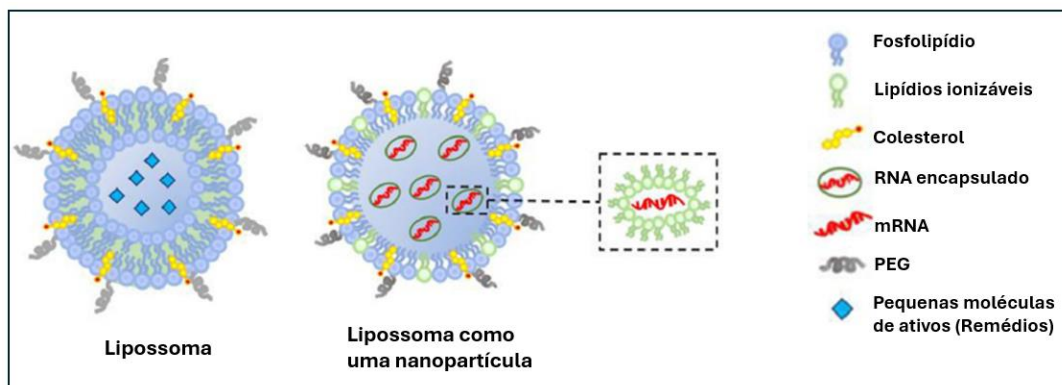
3.5 APLICAÇÕES DOS LIPOSSOMAS

Os lipossomas são amplamente utilizados como carreadores inovadores de medicamentos e eficazes no tratamento de uma grande variedade de patologias. Desde a descoberta há 50 anos, a pesquisa experimental *in vitro* e *in vivo* de transportadores à base de lipídios tem crescido consideravelmente. As aplicações têm sido muito diversificadas em vários tratamentos terapêuticos e agentes de diagnóstico, transporte de ativos moleculares de remédios, terapia genética, agentes bioativos e, em particular, em vacinas lipossomais, (vide



) para combater a COVID-19 (Johny *et al.*, 2021; He *et al.*, 2022).

Figura 7 - Estrutura dos lipossomas



Fonte: Adaptado de He *et al.*, (2022).

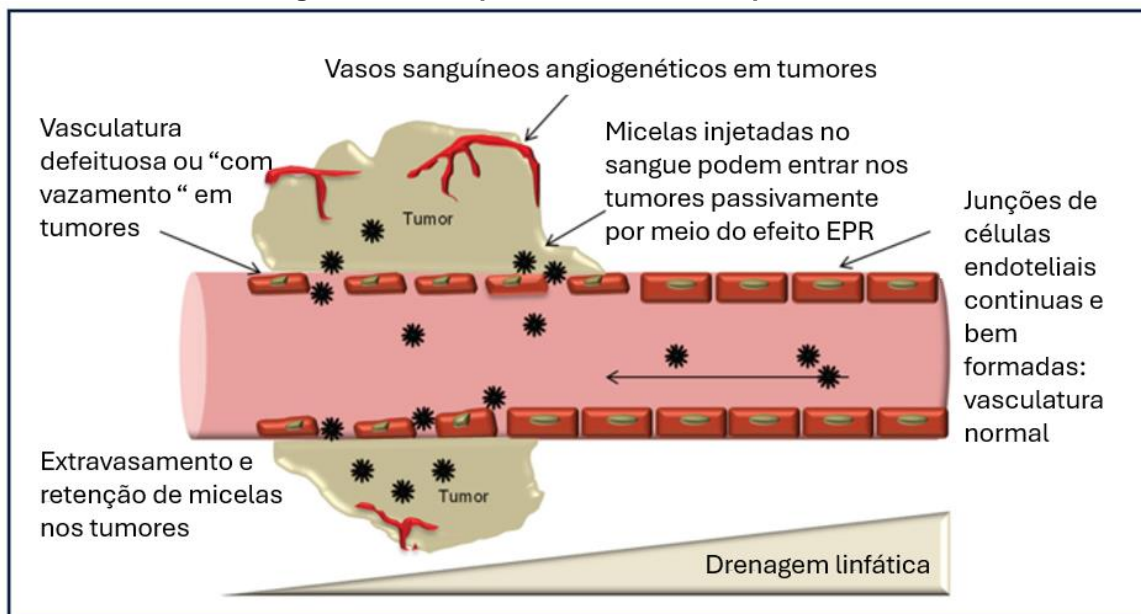
Os medicamentos lipossomais possuem uma estrutura a qual prometem um tempo de fluxo prolongado do medicamento com a prevenção do sistema reticuloendotelial devido ao uso de nanolipossomas pegilados, carga estável com uma alta concentração do medicamento encapsulado e uma membrana fosfolipídica otimizada para obter um equilíbrio aprimorado. O FDA (Agência americana de regulação, do inglês *Food and Drug Administration*) tem como o principal nanofármaco a doxorrubicina, adicionado a um lipossoma pegilado, que são vesículas lipídicas modificadas com polietilenoglicol (PEG), para aumentar sua estabilidade e prolongar seu tempo de circulação no organismo, reduzindo sua eliminação pelo sistema imunológico e utilizados a vários diferentes tipos de medicamentos (Johny *et al.*, 2021).

O PLD (Doxorrubicina Lipossomal Peguilada) é um medicamento utilizado no tratamento de várias formas de leucemia e câncer de mama, ovário, osso, pulmão, cérebro, sarcomas, linfomas, AIDS, Sarcomas de Kaposi, Mieloma múltiplo entre outros. Também foi identificada uma oportunidade para o tratamento para pacientes com o distúrbio cardíaco e que necessitem fazer tratamento contra o câncer, pois os lipossomas pegilados promovem essa proteção, fazendo com que a droga seja protegida por uma vesícula lipídica, o que diminui a exposição direta do coração à doxorrubicina, é uma droga cardiotoxica (Johny *et al.*, 2021).

Uma das vantagens do uso de lipossomas é que o tecido normal possui junções intracelulares estreitas (2 a 6 nm) entre as células endoteliais, enquanto os tecidos anormais, como de um tumor ou um local inflamado, têm células altamente porosas e capilares entre 100 nm e 2 µm, a depender do tamanho e tipo de tecido tumoral. Os lipossomas podem atravessar a neovasculatura descontínua e acumular-se passivamente, ficando retido nos tecidos anormais, o que é chamado de efeito

permeabilidade e retenção aumentadas, como mostrado na Figura 8, (Liu; Chen; Zhang, 2022).

Figura 8 - Efeito permeabilidade dos lipossomas.



Fonte: yandex.com

3.6 JAMBU (ACMELLA OLERACEA)

Como apresentado anteriormente, os lipossomas permitem o encapsulamento de substâncias e a entrega seletiva. Neste contexto, o encapsulamento de ervas medicinais é promissor, devido a essa combinação da furtividade e da biodisponibilidade dos lipossomas aliados aos efeitos sinérgicos dos vários compostos fitoterápicos, combinados no extrato vegetal das plantas medicinais.

Dentre as ervas medicinais, a *Acmella oleracea* (Figura 9) popularmente conhecida como Jambu é uma planta nativa da Amazônia, sendo originária do Peru, Brasil e África Tropical Ocidental. O Jambu também é conhecido por outros nomes como agrião do Pará, abecedária, agrião-bravo, agrião-do-brasil, agrião-do-norte, agrião selvagem, botão-de-ouro, erva-maluca e jabuaçu e nhambu, sendo utilizado como aromatizante alimentar, planta ornamental e como planta medicinal, possuindo as seguintes propriedades: analgésico, antigripal, anti-inflamatório, cicatrizante e digestivo, antimutagênica, antioxidante, vasorrelaxante, diurética, bactericida e antifúngica (Spinozzi *et al.*, 2022).

Figura 9 - Jambu (*Acemella oleracea*).

Fonte: Spinozzi *et al.*, (2022).

O extrato da planta é rico em compostos fenólicos e flavonoides, contribuindo para suas propriedades antioxidantes. Os Flavonoides possuem várias atividades farmacológicas e biológicas e atuam como antioxidante. As folhas do jambu demonstraram possuir um efeito antioxidante dos flavonoides. A atividade antioxidante foi avaliada usando os métodos de sequestro de radical DPPH e radical superóxido. Na quantificação de flavonoides e polifenóis o extrato apresentou concentrações de flavonoides de 72,14QE mg/g e de polifenóis de 84,52 GA mg/g, sendo que o extrato apresentou uma forte atividade antioxidante, com baixos valores de IC₅₀ (concentração inibitória) para os radicais DPPH (134,11 mg.L⁻¹) e para o superóxido (104,51 mg.L⁻¹), apresentando assim uma forte atividade antioxidante observada no extrato etanólico do Jambu, devido à presença de flavonoides e fenóis (Nabi; Shrivastava, 2016).

O encapsulamento do jambu por meio de lipossomas poderá ser muito promissor para aplicações na área de cosméticos e farmacêutica. O extrato de Jambu é um eficaz anestésico para os peixes, sendo avaliado a eficácia do extrato ceroso de flores de Jambu como anestésico para os peixes tambaqui juvenis como modelo, sendo usado as seguintes concentrações (5, 10, 15, 20 e 25 mg.L⁻¹), usados na determinação do tempo de indução e recuperação anestésica. Observou-se uma eficiência anestésica com uma concentração de 20 mg.L⁻¹, com indução rápida (<3 min) com a recuperação sem intercorrências (<5 min). A concentração 2 mg.L⁻¹

foi suficiente para promover uma sedação sem alcançar uma anestesia profunda. O jambu foi considerado um anestésico eficiente para tabaquis com efeitos mínimos e transitórios nas respostas ao estresse (Barbas *et al.*, 2016). Outra aplicação, pode-se citar o creme tópico a base do extrato de Jambu, mostrou-se estável em termos de aparência física, viscosidade e pH durante o período de dois meses, possuindo possíveis aplicações com potencial para tratamento no combate ao câncer de mama em função de suas propriedades anti-carcinogênicas demonstradas em um estudo realizado sobre o extrato do Jambu ao qual foi obtido por maceração com etanol 95% e apresentou teores fenólicos de (62,8 mg/g) e flavonoides (375,6 mg/g), exibindo também atividade antioxidante com concentração inibitória (IC) de 1,2 g.L⁻¹. O Escopoletina, composto fenólico, ácido vanílico e ácido transferúlico foram encontrados na parte aérea do jambu, sendo que tais compostos possuem um efeito citotóxico em células carcinogênicas. Outra pesquisa, com teste em células de adenocarcinoma mamário (MCF-7), o extrato do Jambu demonstrou uma citotoxicidade com IC₅₀ de 37,1 mgL⁻¹ e inibiu a formação de colônias com IC₅₀ de 44,9 µmolL⁻¹ (Boontha *et al.*, 2020).

Todavia, não se encontraram pesquisas que combinem o Jambu e os Lipossomas diretamente, essa combinação apresenta um potencial promissor com aplicações na área farmacêutica e cosmética. Todavia, serão necessários mais estudos para investigar os efeitos sinérgicos dessa combinação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PREPARAÇÃO DOS LIPOSSOMAS COM A ADIÇÃO DE COLESTEROL E PVP

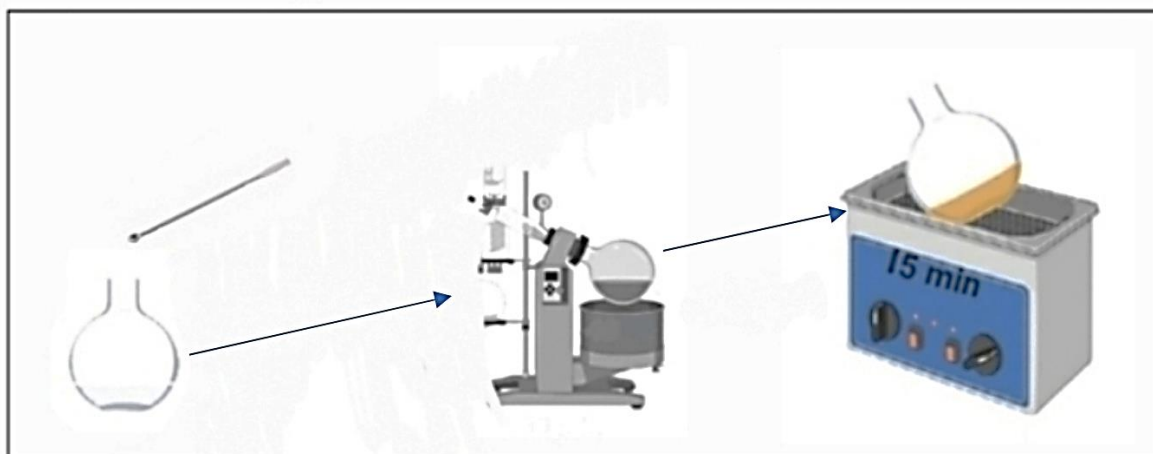
Na síntese dos lipossomas foram utilizados os reagentes químicos: Lipoid s75 (LIPID ingredients); Colesterol (Sigma-Aldrich); PVP 40 (molecular médio de 40.000 Daltons); Clorofórmio PA (Vetec); e Jambu, extrato em solução etanólica 0,3 mg/mL (Silva, 2015).

Em um balão redondo de 250 mL, 20 mg do Lipoid s75 e 1 mg de Colesterol e 10µl da solução etanólica do extrato de Jambu, foram adicionados em 20 mL de Clorofórmio. Então a solução foi homogeneizada por meio de um Evaporador Rotativo (Heidolph modelo Loborata 4001 efficient), por 2h a 37,5 °C e 200 rpm. Neste processo, o solvente foi evaporado e um filme foi formado na superfície do balão.

Na otimização dos lipossomas foram feitos vários experimentos: 1) lipossoma formados por apenas Lipoid s7; 2) lipossomas com adição de colesterol ao Lipoid s7 nas proporções de LIPA-C5(19:1); LIPA-C5,4(17:1); LIPA-C10(9:1); LIPA-C20(4:1), (3) lipossomas com adição de PVP ao Lipoid s7 LIPA-P1(99:1); LIPA-P3(32:1), 4) lipossomas adição de colesterol e PVP ao Lipoid s7 LIPA-C-P1.4(1:21:49); LIPA-C-P4.8(1:9,9:10); LIPA87,7-C1,1-P11,2(79,7: 1: 10) e, posteriormente Jambu LIPA70,3-C3,7-P1-J 25(70,3: 3,7: 1; 25); LIPA89-C5-P1-J5(89: 5: 1; 5).

A formação dos lipossomas se dá com a adição de 20 mL de água ultrapura tipo I (ASTM D1193-06 2018), ao qual foi previamente dissolvido 0,2 mg de PVP 40 e homogeneizado por 2 h a 24 °C e 200 rpm em Evaporador rotativo. Em seguida, foi observado tempo de repouso de uma hora a temperatura ambiente. Para diminuir o tamanho dos lipossomas, 10mL da solução de lipossomas foi sonicado (SOLID STEEL modelo SSBu-6L) por 15 min à 22 °C (Briuglia *et al.*, 2015), como mostrado na Figura 10. Então a solução coloidal foi filtrada por processo de extrusão (item 4.2). Os experimentos foram realizados com e sem a adição de COL, PVP e uma solução etanólica do extrato de Jambu no lipossoma A solução coloidal foi armazenada em geladeira até a utilização.

Figura 10 - Processo de Síntese de Lipossoma



Fonte: Elaborado pelo autor

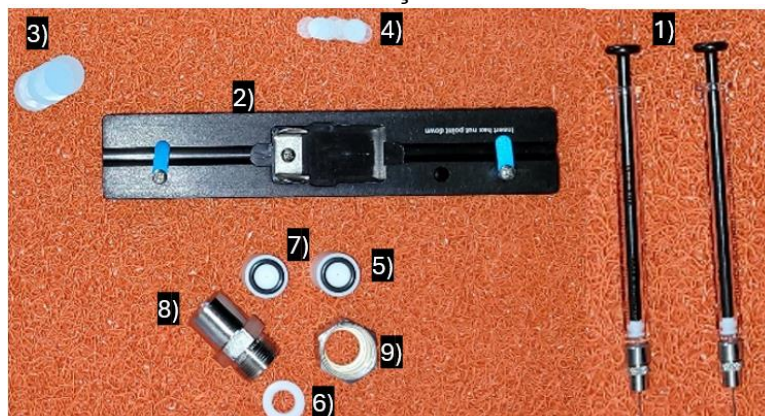
4.2 PROCESSO DE EXTRUSÃO DOS LIPOSSOMAS

O processo de extrusão tem como objetivo padronizar o tamanho os lipossomas em um tamanho médio de 100 nm e esse processo foi feito com um conjunto de extrusora para filtração composto por: 1) 2 seringas Hamilton , 2) base(suporte) para filtração e aquecimento (caso seja necessário), 3) uma membrana de policarbonato que neste caso é de 100 nm, 4) dois filtros, 5) dois anéis de borracha para vedação, 6) um anel de retenção, 7) dois suportes para filtros, 8) invólucro externo da extrusora e 9) uma porca de retenção, como apresentado na

Figura 11.

Figura 11 - Conjunto de extrusora com suporte 1) 2 seringas Hamilton, 2) base/suporte para filtração e aquecimento, 3) membrana de policarbonato(100 nm), 4) filtros, 5) anéis de

borracha para vedação, 6) anel de retenção, 7) suportes para filtros, 8) invólucro, 9) porca de retenção.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O processo seguiu os seguintes passos: primeiramente, os filtros previamente umedecidos em água tipo 1 (é a classificação mais alta de pureza da água, com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C , livre de contaminantes orgânicos, íons, partículas e microrganismos), foram colocados nos suportes, posicionados entre os anéis de vedação e voltados para cima. Em seguida, o suporte com o filtro já encaixado foi colocado no invólucro externo da extrusora. Inseriu-se a membrana de filtração no invólucro externo da extrusora, com cuidado para não amassar a membrana. Posteriormente, o segundo suporte foi encaixado sobre a membrana de filtração, com o anel de vedação e o filtro voltados para baixo. Carregou-se a seringa com os lipossomas, e a passagem através dos filtros da membrana foi feita com uma suave pressão. O procedimento descrito no passo 5 foi repetido três vezes. Após isso, os lipossomas foram transferidos para um frasco estéril e armazenados na geladeira à 4°C .

4.3 ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ

O Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS, do inglês, *Dynamic Light Scattering*) ou Espectroscópica de Correlação de Fótons é uma técnica analítica para realização de medidas de distribuição do tamanho de partícula em suspensões coloidais e emulsões (Babick, 2019). Esta técnica se baseia no espalhamento da luz em flutuações temporais por partículas em um determinado ângulo de espalhamento, provendo informações a respeito do movimento Browniano (Kaszuba *et al.*, 2007). O DLS determina os raios hidrodinâmicos das partículas que podem variar de

nanômetros a micrômetros obtendo como medida as constantes de difusão translacional (Glatter 2018). Os valores de Polidispersidade (PDI) indicam a qualidade da distribuição, podendo ser homogênea para partículas com o valor do PDI próximo de 0 (Briuglia *et al.*, 2015). São considerados partículas estáveis com valores de potencial Zeta (Zeta inferior a -30 mV e superior a 30 mV), (Waghule *et al.*, 2020).

O diâmetro hidrodinâmico, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial Zeta dos lipossomas foram mensurados por DLS, usando o equipamento Zetasizer Nano ZEN3690 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) em um ângulo de dispersão de 90. O aparelho DLS é apresentado na Figura 12. As amostras foram equilibradas por 120 s antes das análises a temperatura de 23,7 °C. As medições foram feitas em triplicata.

Figura 12 - Zetasizer Nano ZEN3690 (Malvern Instruments Ltd)



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A radiação de Infravermelho IV situa-se na região do espectro eletromagnético entre o visível e o micro-ondas entre 14290 cm^{-1} a 200 cm^{-1} . Já a faixa do infravermelho médio, que é usado com maior frequência para identificação e a caracterização de compostos orgânicos situa-se entre (4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}). Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na frequência de forma independente da estrutura da molécula. E é justamente a presença dessas

bandas características de grupos que permite a obtenção de informações, pelo exame do espectro e consulta em tabelas para identificação e caracterização de grupos funcionais (Silverstain *et al.*, 2019).

As amostras foram analisadas pela Espectroscopia no Infravermelho Médio por Transformada de Fourier, utilizando o acessório de Reflexão Total Atenuada (ATR) acoplado ao equipamento Spectrum 400 FT-IR (Perkin Elmer, Inc. 940 Winter Street Whaltam, MA 02451 USA), sendo apresentado na Figura 13. As amostras foram gotejadas sob a superfície do cristal de diamante, deixando secar com auxílio de fluxo de ar seco contínuo. Os espectros foram registrados com o intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} , com resolução espectral de 4 cm^{-1} . O background foi medido com o cristal limpo em atmosfera ambiente. Coletaram-se todos os espectros com 32 varreduras.

A espectroscopia FT-IR foi utilizada para caracterizar as modificações das interações moleculares, após a transformação do Lipoid s75 em uma solução lipossomal, contendo colesterol, PVP e a incorporação do Jambu no lipossoma.

Figura 13 - Spectrum 400 FT-IR/FT-FIR da Perkin Elmer



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 ANÁLISE DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma das técnicas analíticas da análise térmica, cujo os dois princípios mais comuns de construção de equipamentos são o de compensação de energia e o de fluxo de calor, os dois compararam a energia fornecida a um o suporte onde está a amostra e outro onde fica a referência e pela diferença de energia fornecida em Watts por segundo, obtemos o calor em Joule ou em caloria, que dividido pela massa em gramas por segundo,

resultara na entalpia que será obtida, pela integração da área do pico, podendo ser em relação a temperatura (°C) ou tempo em minutos. Alguns fabricantes por convenção adotam os eventos endotérmicos com picos de sinal negativo, associados a mudanças de fase e a fusão da parte cristalina e os eventos exotérmicos com picos de sinal positivo, associados a cristalização e a transição vítrea (T_g) relacionados a parte amorfa, na forma de um desnível da linha de base (Vogel *et al.*, 2022).

Realizou-se à análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) com um equipamento da TA Instruments, modelo Q10, acoplado a um módulo de resfriamento, como apresentado na Figura 14. As amostras foram condicionadas em porta amostras, fechadas e então analisadas. As amostras de lipossomas e PVP foram resfriadas e aquecidas de -40 a 160 °C e o colesterol de -40 a 200 °C numa razão de 10°C/min para o aquecimento. As curvas de DSC foram obtidas utilizando atmosfera de $N_2(g)$ num fluxo de 50 mL/min. Os picos no sentido ascendente convencionaram-se como exotérmicos. Enquanto os picos indicados no sentido descendente como endotérmicos.

Figura 14 - DSC modelo Q10 da TA Instruments



Fonte: Elaborado pelo autor.

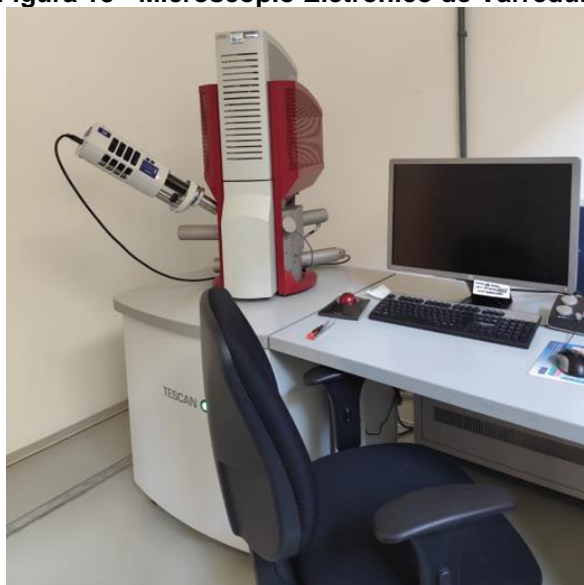
4.6 MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

O microscópio eletrônico com canhão de elétrons por emissão por efeito de campo (FEG do inglês field emission gun, marca Tescan modelo MIRA3, com capacidade de análise de energia dispersiva por raios-X, da marca Oxford modelo X-MAX 50, detector de 50 mm² foi utilizado para avaliar a morfologia e distribuição de tamanho (Figura 15). Estas análises foram feitas em colaboração com o INPE-SJC. Este microscópio eletrônico possui basicamente um sistema ótico eletrônico que consiste em uma fonte de elétrons, sistema de condensação de duplo feixe, unidade

de varredura, câmera de amostra, sistema de detectores do sistema de visualização de imagem. A microscopia eletrônica de varredura é utilizada para determinação do estado microestrutural dos materiais onde a área e o microvolume a ser analisado é irradiado por um fino feixe de elétrons.

Na preparação da amostra, alíquotas de 1 a 5 gotas foram pipetadas sobre os suportes de alumínio. Na primeira metodologia, após a evaporação da água foi depositado uma camada de ouro, procedendo-se então às análises. Na segunda abordagem, as amostras foram preparadas com alíquotas de 1 a 5 gotas foram pipetadas sobre os suportes de alumínio então os lipossomas foram liofilizados para a remoção da água, em um equipamento liofilizador (Enterprise Versão 3.0/2014), posteriormente foi feita a deposição de uma camada de ouro, permitindo a aquisição das imagens, (SEM HV: 30.0 kV; View field: 0,989/1,43; SEM MAG: 280/194 kx; WD: 4,74/6,78 mm; Det: In- Beam SE).

Figura 15 - Microscópio Eletrônico de Varredura



Fonte: INPE.

4.7 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é uma área da química, que utiliza a estatística e a matemática para planejar experimentos, analisar dados químicos e otimizar processos. A aplicação desta ferramenta inclui o desenvolvimento de métodos analíticos e no processamento de grandes volumes de dados gerados, como por exemplo, pela

cromatografia e espectroscopias (Miller, 2018). A quimiometria usa calibração multivariada para criar modelos matemáticos, que conectam variáveis dependentes (como a concentração de um analito) a variáveis independentes (como intensidades espectrais). As técnicas mais comuns de calibração multivariada incluem Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) e Análise de Componentes Principais (PCA). A calibração multivariada faz uso das várias variáveis simultaneamente, ao contrário da calibração univariada, que emprega apenas uma variável para prever o valor de interesse. Essa característica permite modelar sistemas mais complexos e melhorar a precisão e a robustez das previsões (Brereton, 2003). Pode-se definir alguns termos comumente usados em uma calibração multivariada:

O bias, também conhecido como viés, é uma estatística que calcula a diferença sistemática entre a média dos erros entre os valores experimentais e os valores teóricos de referência, sendo uma métrica crucial para avaliar a precisão de um modelo, porque indica a presença de erros sistemáticos que podem comprometer as previsões (Varmuza; Filzmoser, 2009).

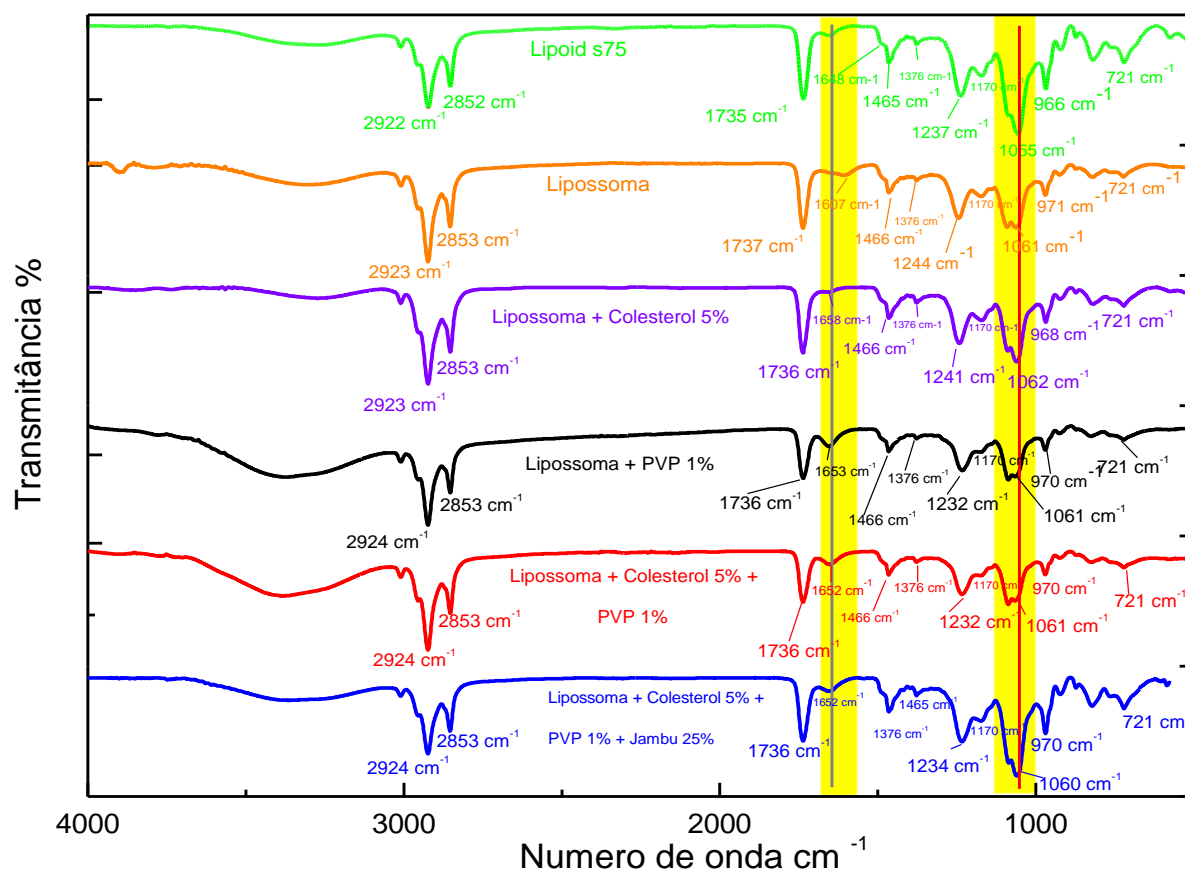
- 1) Os componentes principais são calculados a partir de um conjunto de variáveis originais usando dados espectrais. Cada componente principal representa uma direção distinta de variação nos dados, pois cada componente é ortogonal (Jolliffe; Cadima, 2016).
- 2) O Standard Error of Calibration (SEC), ou erro padrão de calibração, é uma medida da variabilidade da diferença entre os valores previstos e os de referência para um conjunto de amostras de calibração. Essa medida quantifica a precisão do modelo de calibração, mostrando o quão bem o modelo se ajusta aos dados de calibração (Martens; Næs, 1992).
- 3) O Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC) é a raiz quadrada do SEC e fornece uma indicação da precisão, com que o modelo de calibração pode prever os valores de concentração ou outra variável de interesse nos dados de calibração, sendo assim uma medida de desempenho do modelo de calibração (Esbensen; Geladi, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização de lipossomas: FTIR

Para melhor entendimento, a Figura 16 apresenta os espectros de infravermelho de cada grupo experimental estudado, destacando as principais bandas de caracterização (em amarelo). O Lipoid S75 é o reagente básico para a formação dos lipossomas. Os modos vibracionais deste reagente estão presentes na estrutura dos lipossomas, contribuindo para a formação da bicamada fosfolipídica e facilitando as interações com os outros componentes, como colesterol, PVP e Jambu. Posteriormente, a influência da variação da adição de colesterol, PVP, Jambu e suas misturas será apresentada separadamente.

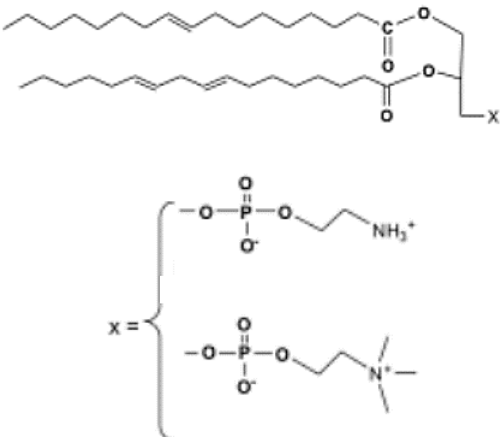
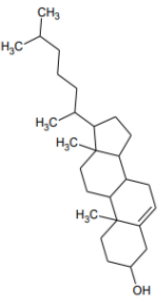
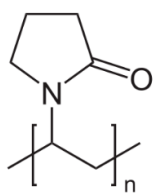
Figura 16 - Espectro de FTIR na região espectral de 4000 a 500 cm^{-1} para o Lipoid s75 (LIP), Lipossoma (LIPA), Lipossoma + Colesterol (LIPA-C), Lipossoma + PVP (LIPA-P), Lipossoma + Colesterol + PVP (LIPA-C-P), Lipossoma + Colesterol + PVP + Jambu (LIPA-C-P-J).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 1 apresenta as estruturas moleculares e os principais modos vibracionais dos componentes dos lipossomas.

Tabela 1 Atribuição de bandas

Composto	Banda (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
<p>LIP</p> 	2923 - 2853	Estiramento axial de C-H dos grupos CH ₃ e CH ₂	Silverstain <i>et al.</i> , 2019
	1376	Vibração de deformação angular simétrica (CH ₃ , CH ₂)	
	1466	Deformação angular assimétrica (CH ₂)	
	1736	vibração de estiramento simétrico da ligação C=O	
	720	Deformação fora do plano do CH ₂	
	~1200	Estiramento assimétrico do P=O	
	1237 - 1061	Estiramento simétrico e assimétrico do PO ₂	
966 - 971	Estiramento assimétrico N(CH ₃) ₃		
<p>Colesterol</p> 	1055	Vibração de deformação do anel	(Bilagi; Godhi, 2022)
<p>PVP 40</p> 	1643	Estiramento simétrico da ligação C=O do grupo N-vinilpirrolidona	(Huang et al., 2019)
<p>Jambu</p> <p>Composto por multiplas moléculas</p>	1070-1061	Deslocamento das bandas de estiramento em 1.070 cm ⁻¹ para 1061 cm ⁻¹ , se refere à flexão de C–O–C e ao alongamento de grupos funcionais C–O–(H), respectivamente com adição de Jambu e a Interação com o colesterol.	(Santos, Orquidea Vasconcelos dos <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Segundo Silverstain e colaboradores, os números de onda das ligações simétricas e assimétricas, correspondem à deformação axial de C-H, dos grupos CH₃ e CH₂ estão localizados entre 2923 cm⁻¹ e 2853 cm⁻¹. Enquanto as vibrações de deformação angular simétrica e assimétrica (CH₃ e CH₂) estão centradas em 1376 cm⁻¹, e a banda de deformação angular assimétrica do CH₂ em 1466 cm⁻¹, como também se deforma em fase em 720 cm⁻¹ e, as absorções de deformação angular assimétrica fora do plano do CH₂ são observadas, em 1170 cm⁻¹ (Silverstain *et al.*, 2019).

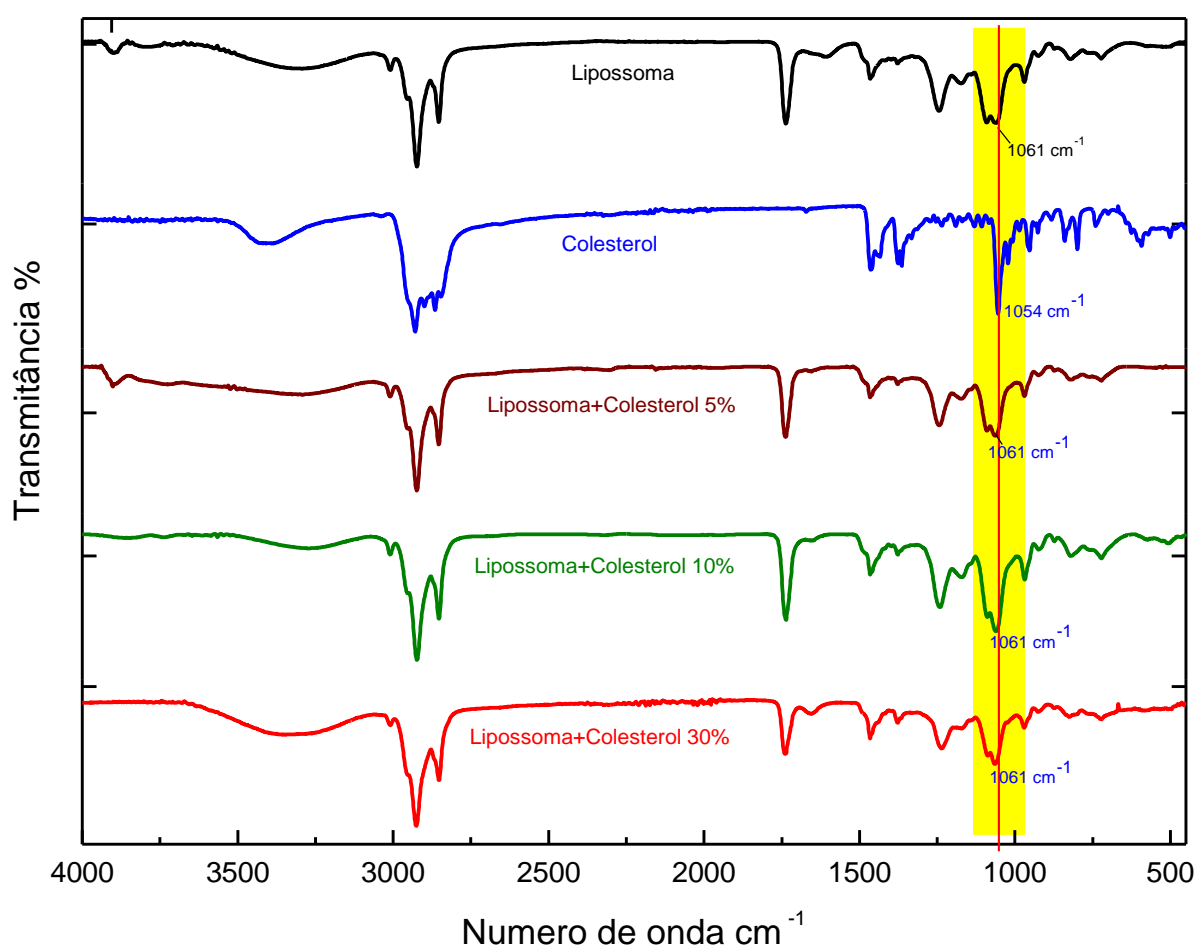
A banda em 1736 cm⁻¹ está relacionada a vibração de estiramento simétrico da ligação C=O, estando centrada na mesma posição para LIP, LIPA e LIPA-C-P-J, indicando possível estabilidade para este grupo funcional (Briuglia *et al.*, 2015).

A banda relacionada ao estiramento assimétrico N(CH₃)₃, pode ser observada em diferentes números de onda, sendo para: LIP em 966 cm⁻¹; LIPA em 971 cm⁻¹; LIPA-C em 968 cm⁻¹; LIPA-P em 970 cm⁻¹; LIPA-C-P em 970 cm⁻¹; LIPA-C-P em 970 cm⁻¹ (Patel; Agrawal, 2011). A vibração de estiramento assimétrico do P=O está em ~1200 cm⁻¹ (Popova; Hinha, 2023). As bandas centradas em 1237 cm⁻¹ e 1061 cm⁻¹ estão relacionadas aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo funcional PO₂ (Mantsch; Mcelhaney, 1991). A ligação de estiramento da banda do P=O é sensível a ligações de hidrogênio, deslocando-se para número de ondas menores (Lewis; Mcelhaney, 1996). Esse comportamento pode explicar a posição da banda de 1237 cm⁻¹ no LIP, e o deslocamento dela para números de onda menores nas amostras de LIPA-C em 1232 cm⁻¹, LIPA-P em 1232 cm⁻¹, LIPA-C-P em 1232 cm⁻¹, LIPA-C-P-J em 1234 cm⁻¹. Enquanto, observou-se a banda de LIP em 1055 cm⁻¹, houve um deslocamento das bandas obtidos para o LIPA em 1061 cm⁻¹, LIPA-C em 1062 cm⁻¹, LIPA-P em 1061 cm⁻¹, LIPA-C-P em 1061 cm⁻¹ e, LIPA-C-P-J em 1060 cm⁻¹, que estão provavelmente ligados a adição do colesterol e as interações com ligações de hidrogênio, (Song *et al.*, 2022), como apresentado na Figura 17.

5.2 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE COLESTEROL NOS ESPECTROS FT-IR

Por outro lado, observou-se um aumento proporcional na intensidade da banda centrada em 1061 cm^{-1} do LIPA, atribuída ao estiramento simétrico da ligação C=O após a adição de colesterol em várias concentrações diferentes (5%, 10%, 30%), como se observa na Figura 17 - Espectro de FTIR de 4000 a 500 cm^{-1} para o LIPA, COL, LIPA-C 5%, LIPA-C 10%, LIPA-C 30%.

Figura 17 - Espectro de FTIR de 4000 a 500 cm^{-1} para o LIPA, COL, LIPA-C 5%, LIPA-C 10%, LIPA-C 30%.

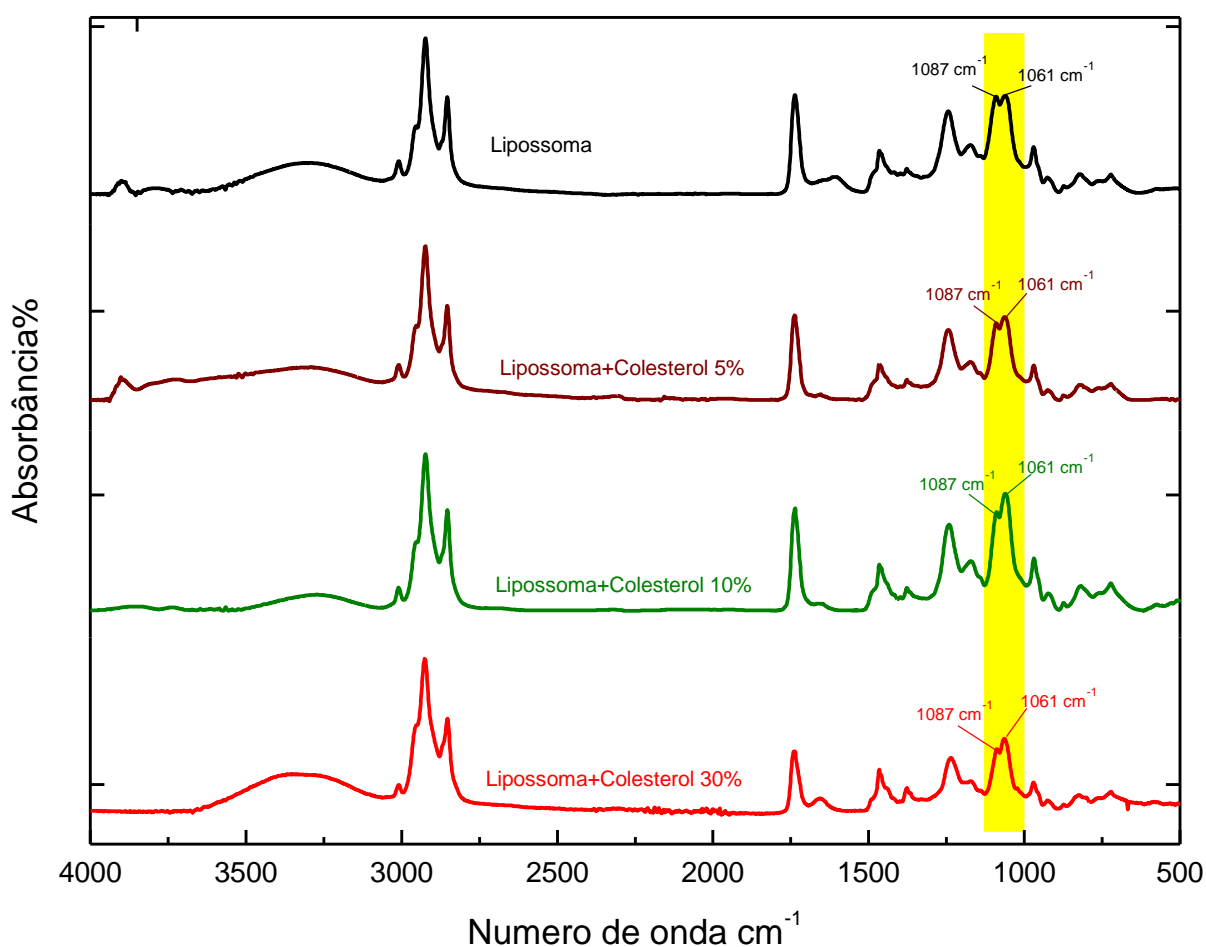


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 18 mostra os espectros de FT-IR no modo de absorção, para as amostras com adição de colesterol na matriz LIPA, nas proporções de 5%, 10% e 30%. Os espectros de absorção favorecem o cálculo de área ou medidas comparativas entre as intensidades de banda. Neste contexto, foi criada uma curva de calibração entre a razão dos valores de intensidade das bandas (1087 cm^{-1} e 1061

cm^{-1}) em função do aumento proporcional de COL, como pode ser visto na Tabela 2, esses dados foram plotados na Figura 19, o qual apresentou uma correlação $R = 0,9416$, evidenciando a incorporação do COL à matriz LIPA. De acordo com a lei de Lambert-Beer, que estabelece que a absorvância de uma substância é diretamente proporcional à sua concentração e ao caminho óptico (distância percorrida pela luz através da amostra).

Figura 18 - Espectros de FTIR de 4000 a 500 cm^{-1} para o LIPA, LIPA-C 5%, LIPA-C 10%, LIPA-C 30%.



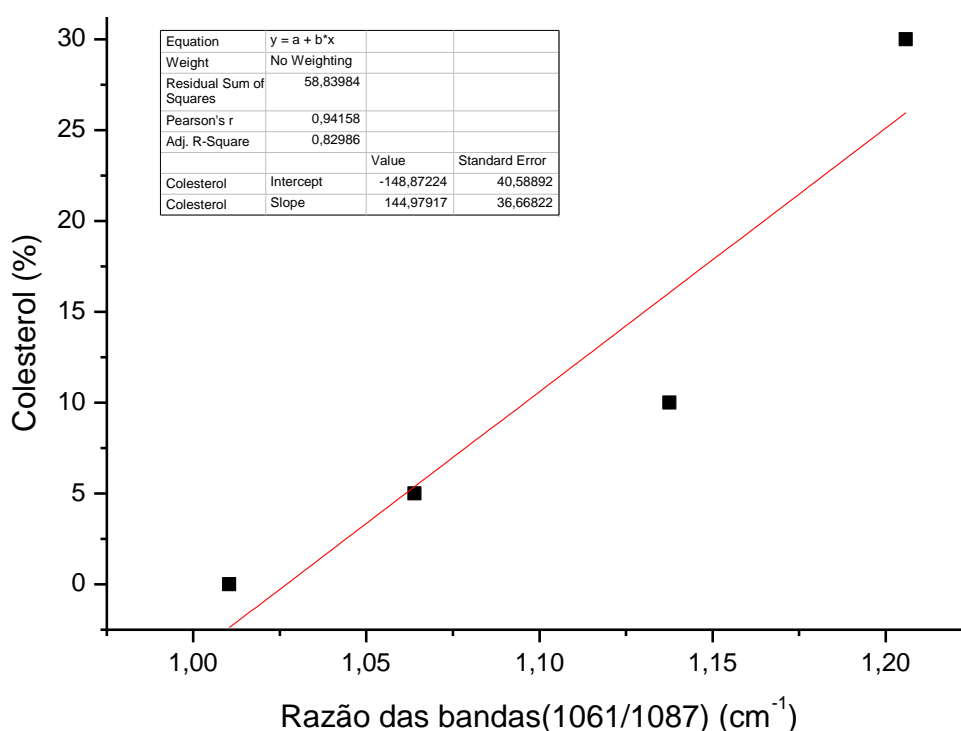
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 - Tabela de bandas no FTIR representando razão entre a absorvância e a adição de Colesterol no Lipossoma.

Amostras	% Colesterol	% LIP	Intensidade em 1087 cm ⁻¹	Intensidade em 1061cm ⁻¹	Razão das bandas 1061/1087
LIPA	0	100	0,0617	0,0623	1,0104
LIPA-COL5	5	95	0,0351	0,0374	1,0639
LIPA—COL10	10	90	0,0874	0,0995	1,1376
LIPA--COL30	30	70	0,0487	0,0587	1,2059

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 - Modelo de calibração representando a adição de colesterol no lipossoma em função da razão de bandas (1061/1093 cm⁻¹) no FTIR.

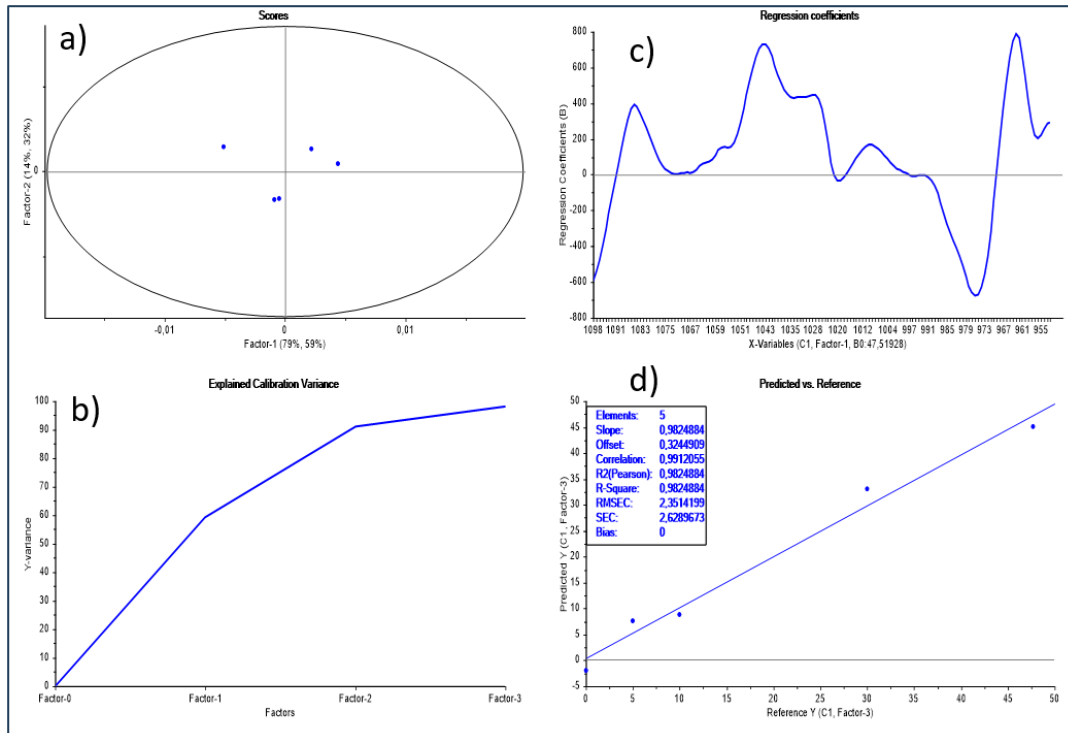


Fonte: Elaborado pelo autor.

Em uma outra tentativa de correlação entre os teores de adição de colesterol de (0, 5%, 10%, 30% e 47,7%) na matriz LIPA no intervalo espectral de 1093 cm⁻¹ a 1061 cm⁻¹, utilizou-se a quimiometria na construção de um modelo multivariado utilizando do algoritmo PLS, como mostrado na Figura 20. A Figura ^a mostra o gráfico de Scores, que é uma ferramenta utilizada em quimiometria para visualizar e interpretar os resultados de métodos como a Análise de Componentes Principais (PCA, fatores ou variáveis latentes). Ele mostra como as amostras se distribuem em relação aos componentes principais, ajudando a identificar padrões, agrupamentos ou anomalias nos dados, demonstrando a ausência de outliers no caso aqui específico,

os dados apresentam a ausência de outliers com 95% de confiança por estar dentro da elipse, caso houve-se pontos fora seriam considerados ao contrário. Enquanto, gráfico Figura 20^b mostra os três fatores ou variáveis latentes na construção do modelo, que explicam mais de 98% da variância dos dados. O algoritmo PLS (Mínimos quadrados parciais, do inglês *Partial Least Squares*) é uma técnica estatística usada em quimiometria para modelar dados que correlacionam as variáveis latentes com as variáveis de resposta. O gráfico da Figura 20^c mostra os coeficientes de regressão em função do número de onda, para a região do modelo construído. O gráfico da Figura 20^d resume os dados estatísticos deste modelo, sendo que o número de elementos, constitui os pontos usados para construção do modelo.

Figura 20 - Modelo de calibração multivariado para adição de colesterol em lipossoma.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Neste gráfico, o termo *slop* é a inclinação de uma regressão PLS indicando que a variável independente e dependente aumenta ou diminui ao mesmo tempo. O *offset* se refere ao intercepto do modelo, ou seja, quando a linha da regressão cruza o eixo da variável dependente (Y), representando a média ou valor esperado da variável dependente quando todas as variáveis independentes são zero, assim como também pode ser utilizado como ferramenta de ajuste para o modelo.

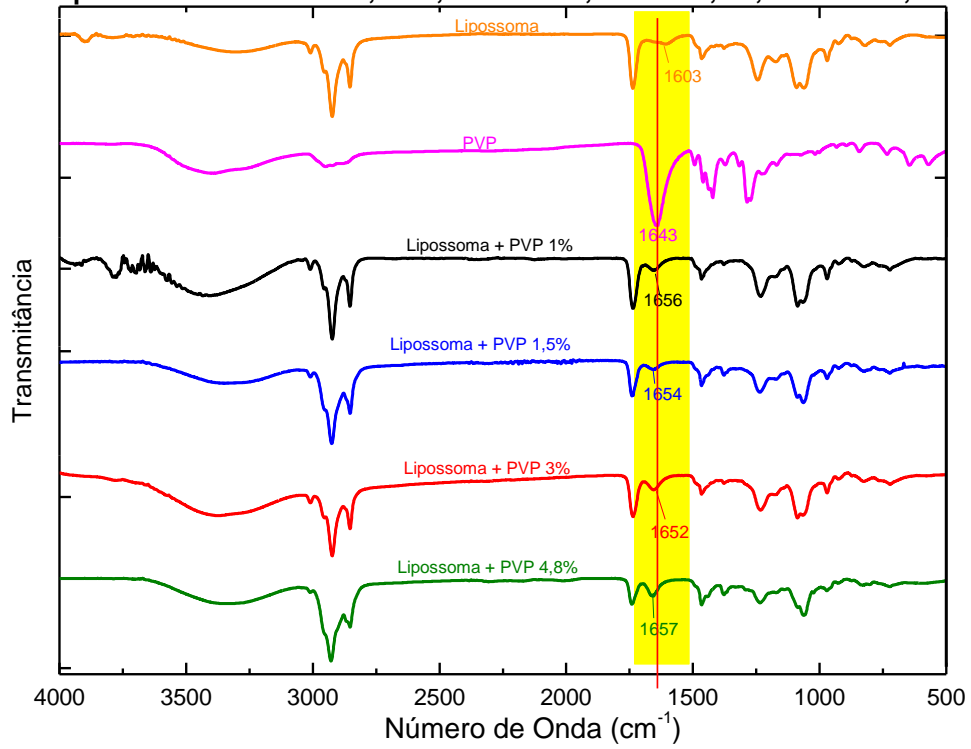
O PLS utiliza a correlação das variáveis independentes (X) com as variáveis dependentes (Y) a fim de identificar as componentes principais que explicam a variabilidade dos dados. Uma vez extraídas essas componentes elas serão usadas para maximizar a covariância entre X e Y. A correlação também ajuda a extrair as componentes da variável (X) que tem maior correlação com (Y), assim como avaliar a eficácia do modelo, comparando os valores teóricos versus os experimentais. O R^2 de Person é uma medida estatística que explica a qualidade do ajuste do modelo aos dados, ou seja, o quanto o modelo explica a variável dependente, a partir das variáveis independentes em um modelo de regressão linear. O Standard Error of Calibration (SEC), Standard Error of Calibration (SEC) e Bias de acordo com o item 4.7.

Esta análise é importante em casos em que o número de variáveis é muito grande e estejam correlacionadas. Porém promove também a redução da dimensionalidade dos dados, gerando componentes principais que explicam grande parte da variabilidade dos dados. O modelo construído promove a correlação das variáveis observadas com as variáveis de resposta, promovendo um aumento de precisão nas respostas, podendo ser usado em análises exploratórias quanto em modelos preditivos. Neste contexto, obteve uma sensível melhora no coeficiente de correlação $R = 0,9912$, reforçando as correlações entre o percentual de COL na matriz LIPA utilizando a técnica de FT-IR.

5.3 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE PVP NOS ESPECTROS FT-IR

A Figura 19 mostra os espectros de FT-IR dos lipossomas com a adição de PVP nas proporções de 1%, 1,5%, 3%, 4,8%. A banda em 1643 cm^{-1} está relacionada a vibração de estiramento simétrico da ligação do grupo C=O, de N-vinil pirrolidona (Huang *et al.*, 2019). Foi observado um deslocamento das bandas (LIPA-P 1% em 1656 cm^{-1} , LIPA-P 1,5% em 1654 cm^{-1} , LIPA-P 3% em 1652 cm^{-1} , LIPA-P 4,8% em 1657 cm^{-1}) possivelmente em função de um aumento proporcional do teor de PVP adicionado ao lipossoma.

Figura 19 - Espectro de FTIR do LIPA, PVP, LIPA-P 1%, LIPA-P 1,5%, LIPA-P 3%, LIPA-P 4,8%.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A

Figura 20 mostra os espectros de FT-IR da

Figura 20 no modo de absorção. Assim, foi criada uma curva de calibração em função da razão das bandas a partir da adição de PVP em uma matriz de lipossoma, como se observa na Tabela 3, esses dados foram plotados na

Figura 21 que mostrou uma correlação $R = 0,9687$ evidenciando a incorporação do PVP à matriz lipossômica.

Figura 20 - Espectro de FTIR do o LIPA, PVP, LIPA-P 1%, LIPA-P 1,5%, LIPA-P 3%, LIPA-P 4,8%.

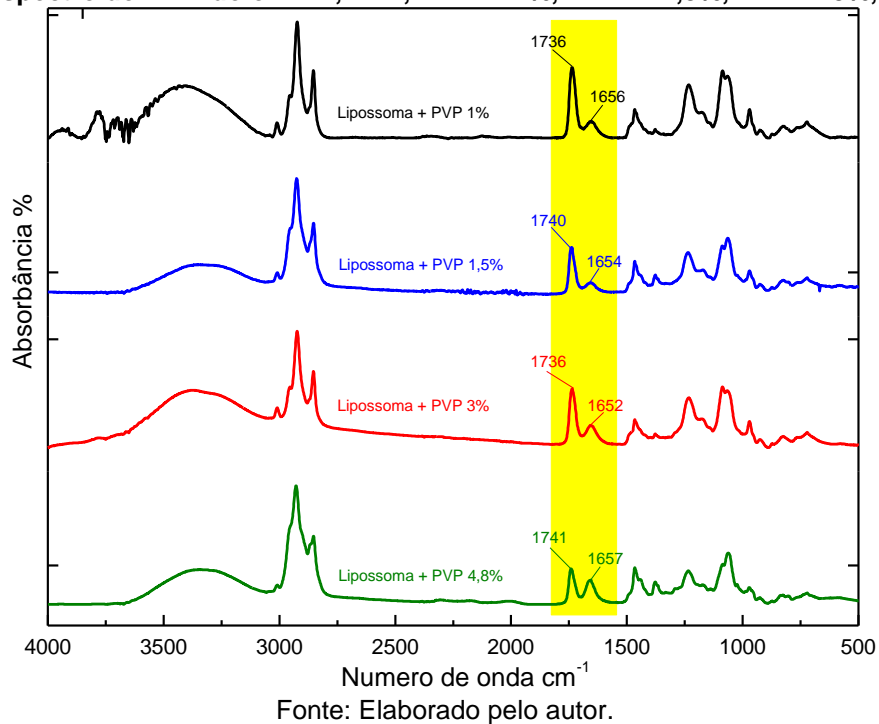
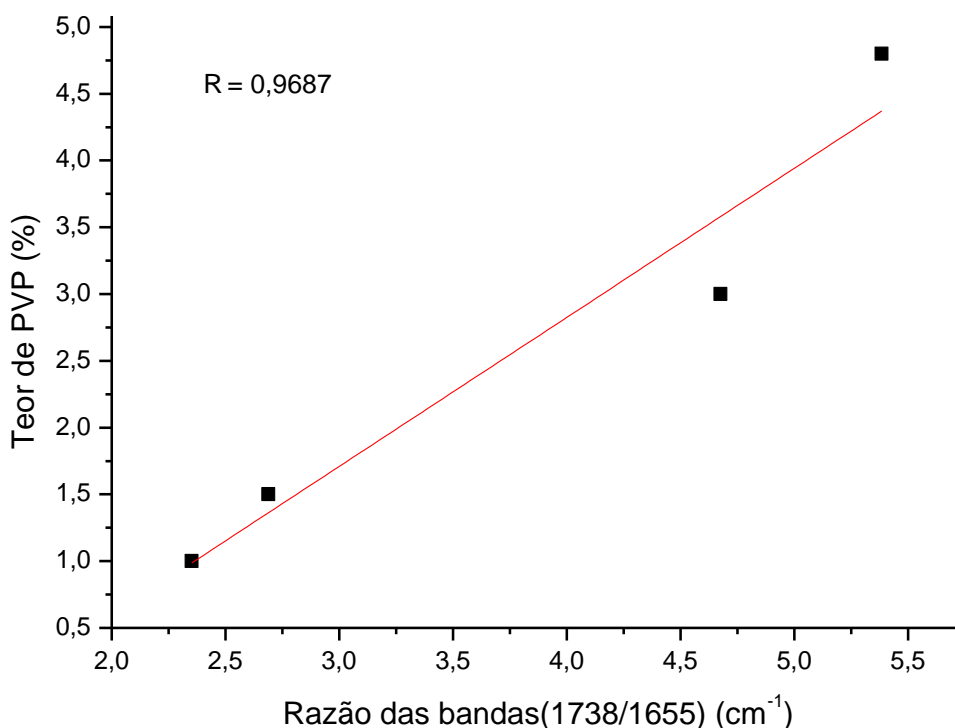


Tabela 3 - Tabela de bandas no FTIR representando a razão entre a absorbância e a adição de PVP no LIPA.

Amostras	PVP (%)	COL (%)	LIP (%)	Intensidade em 1738 cm^{-1}	Intensidade em 1655 cm^{-1}	Razão das bandas 1738/1655
LIPA-P1.0	1,0	-	99,0	0,0532	0,0226	2,3519
LIPA-P1.5	1,5	30	68,5	0,0330	0,0122	2,6892
LIPA-P3.0	3,0	-	97,0	0,0312	0,0066	4,6765
LIPA-P4.8	4,8	47	48,2	0,1179	0,0219	5,3840

Fonte: Elaborado pelo autor.

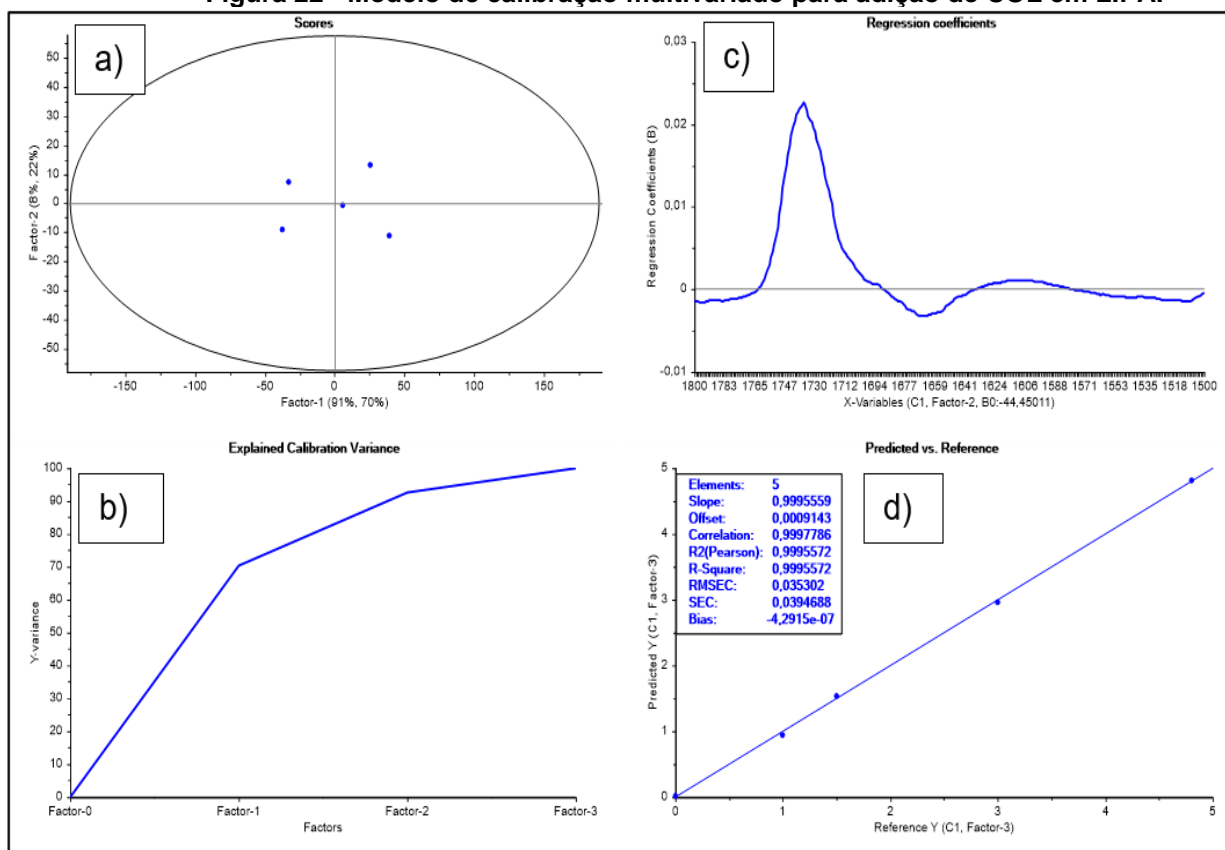
Figura 21 - Modelo de calibração representando a adição de PVP no LIPA em função da razão de bandas (1738/1655) no FTIR.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em uma outra tentativa de correlação entre os teores de adição de PVP de (0 %, 1 %, 1,4 %, 3 % e 4,8 %) na matriz LIPA no intervalo espectral de 1800 cm⁻¹ a 1501 cm⁻¹, utilizou-se a quimiometria na construção de um modelo multivariado utilizando do algoritmo PLS, como mostrado na Figura 22. O Figura 22^a mostra os Scores, demonstrando a ausência de outliers com 95% de confiança. Enquanto, gráfico Figura 22^b mostra quatro fatores ou variáveis latentes na construção do modelo, que explicam mais de 98% da variância dos dados. O Figura 22^c mostra os coeficientes de regressão em função no número de onda, para a região do modelo construído. A Figura 22^d resume os dados estatísticos deste modelo, que obteve uma sensível melhora no coeficiente de correlação R = 0,9997, reforçando as correlações entre o percentual de colesterol na matriz LIPA utilizando a técnica de FTIR.

Figura 22 - Modelo de calibração multivariado para adição de COL em LIPA.



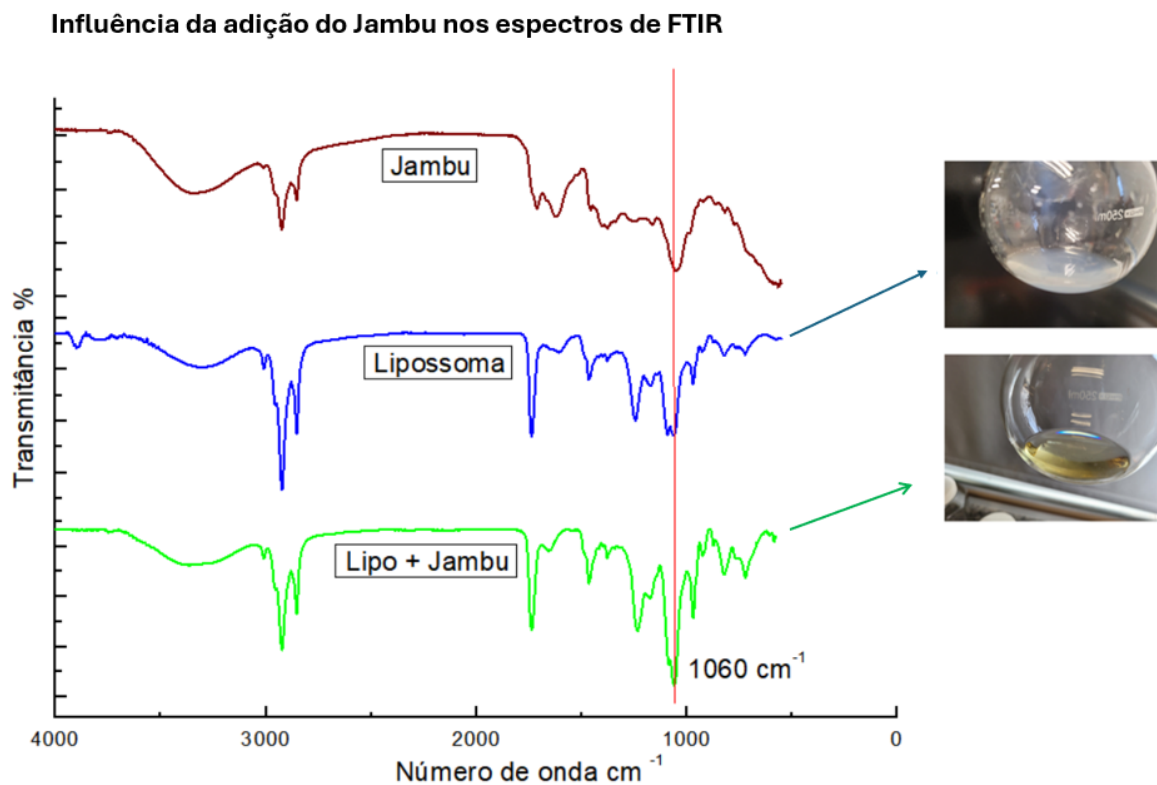
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 ESPECTROS DE AMOSTRAS DE LIPOSSOMAS CONTENDO COLESTEROL E JAMBU

Neste trabalho foi verificado a possibilidade do encapsulamento do jambu, devido suas propriedades discutidas no item 3.6. Após a adição do Jambu a matriz lipossômica, discutidas no item 4.1, percebeu-se a mudança da coloração da solução lipossômica o que pode ser observado visualmente. Como consequência dessa incorporação, houve um deslocamento das bandas de estiramento em 1.070 cm^{-1} para 1061 cm^{-1} (Santos *et al.*, 2021), que se refere à flexão de C–O–C e ao alongamento de grupos funcionais C–O–(H), respectivamente em função da adição de Jambu e a Interação do colesterol como mostra a

Figura 23.

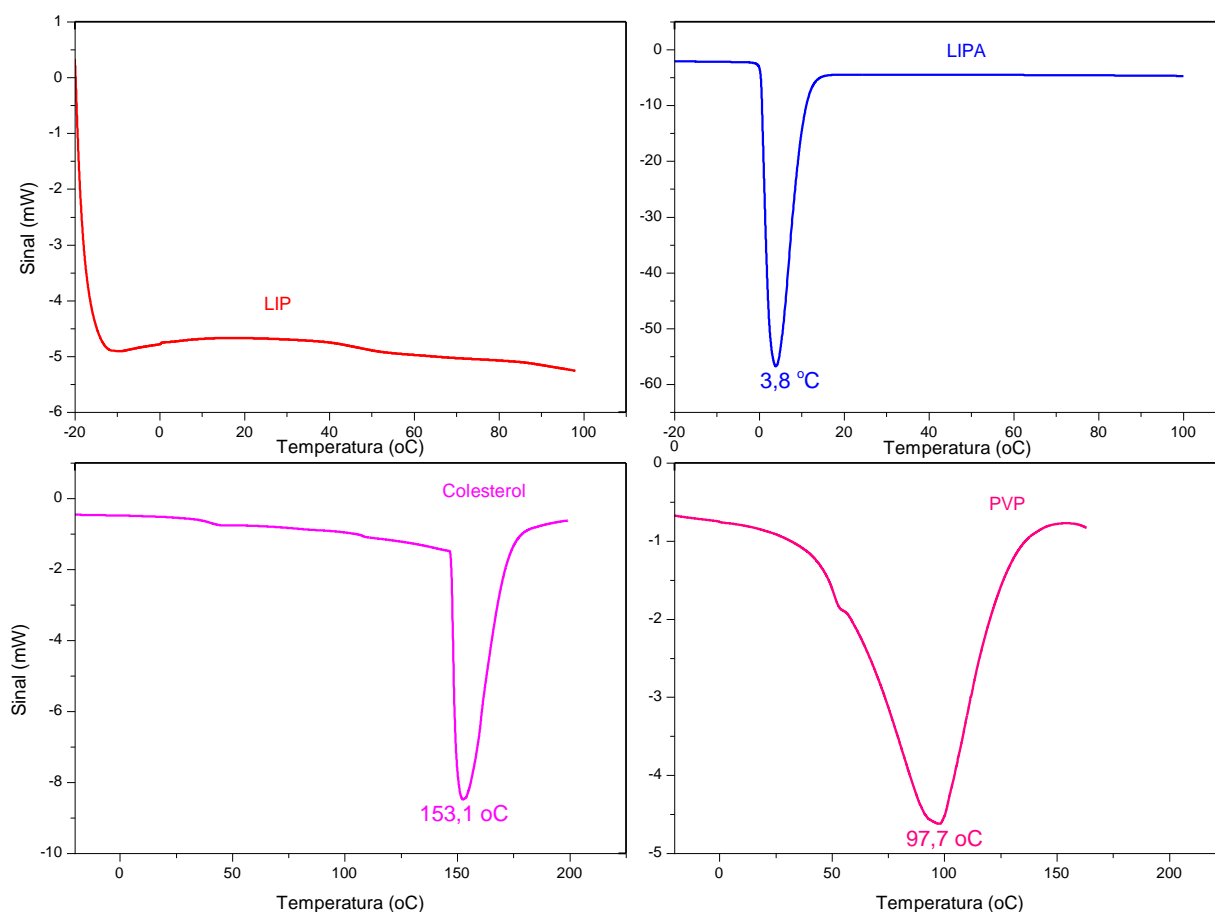
Figura 23 - Encapsulamento do Jambu



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.6 CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS: DSC

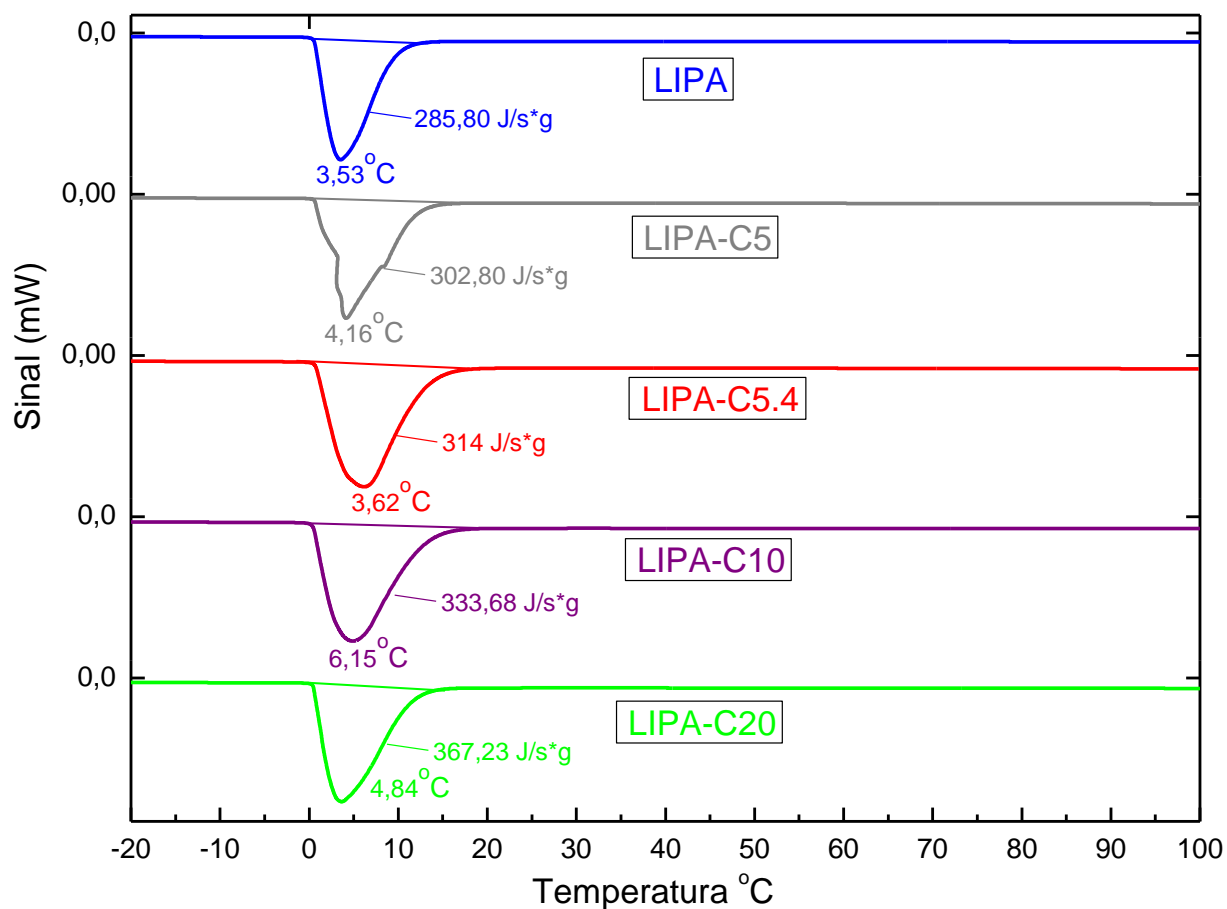
Conforme apresentado na Figura 24, a incorporação do colesterol e do PVP na construção da matriz LIPA, a partir do LIP, (Tosato, 2016) desempenha um papel fundamental no aumento da resistência da estrutura lipossomica. Entretanto, a literatura não converge para quantidades ideais a serem utilizadas na construção desta matriz (Briuglia *et al.*, 2015), pode-se notar que o LIP não possui nenhum evento térmico, mas após sua transformação em LIPA ocorre uma transição endotérmica com um pico máximo em 3,8 °C. Enquanto para o COL ocorre uma transição endotérmica com pico máximo em 153,1 °C (Xia *et al.*, 2010) e para o PVP (Briuglia, *et al.*, 2015), a ocorrência de uma transição endotérmica com pico máximo está em 97,7 °C.

Figura 24 - Comparação das curvas de DSC dos compostos puros LIP, LIPA, COL e PVP.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O decréscimo da concentração do LIPA e o aumento da concentração, de COL, e a sua efetiva incorporação ao LIPA, estão representados nos termogramas da Figura 25, e nos dados da Tabela 4, que foram representados na Figura 26. Os dados mostraram uma correlação linear de 0,9793, por meio do incremento da concentração de COL versus o calor necessário para ocorrência de um pico endotérmico, associado à fusão da transição de fase do estado gel para o estado líquido cristalino (Song *et al.*, 2022).

Figura 25 - Representação dos termogramas LIPA, LIPA-C5, LIPA-C5.4, LIPA-C10, LIPA-C20, representando a temperatura de fusão no máximo do pico e a entalpia de fusão.



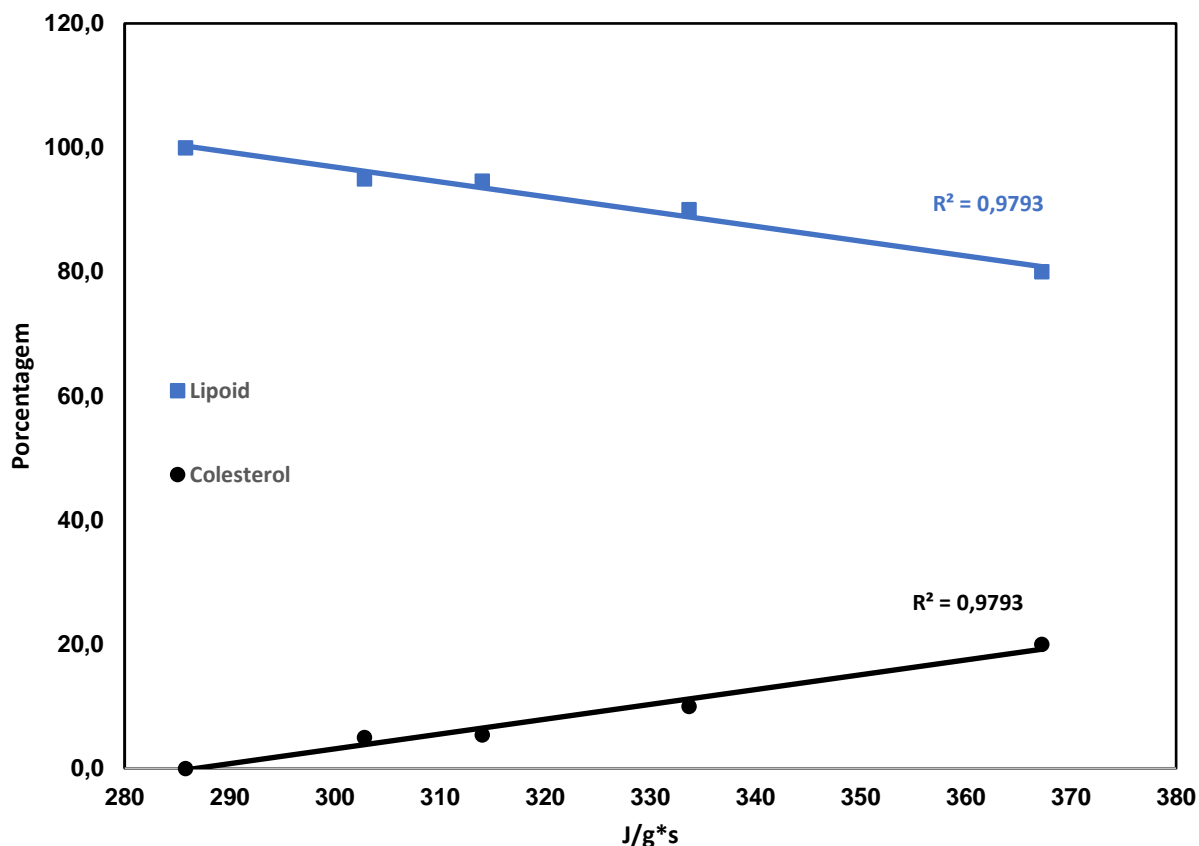
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 4 - Tabela de dados das curvas de DSC, obtidos pela adição de COL em LIPA.

Amostra	Colesterol (%)	LIP (%)	Temperatura (°C)	Massa (mg)	Entalpia (J/s*g)
LIPA	0,0	100,0	3,53	4,67	285,80
LIPA-C5	5,0	95,0	4,16	5,24	302,80
LIPA-C5.4	5,4	94,6	3,62	7,78	314,00
LIPA-C10	10,0	90,0	6,15	9,31	333,68
LIPA-C20	20,0	80,0	4,84	9,35	367,23

Fonte: Elaborado pelo autor.

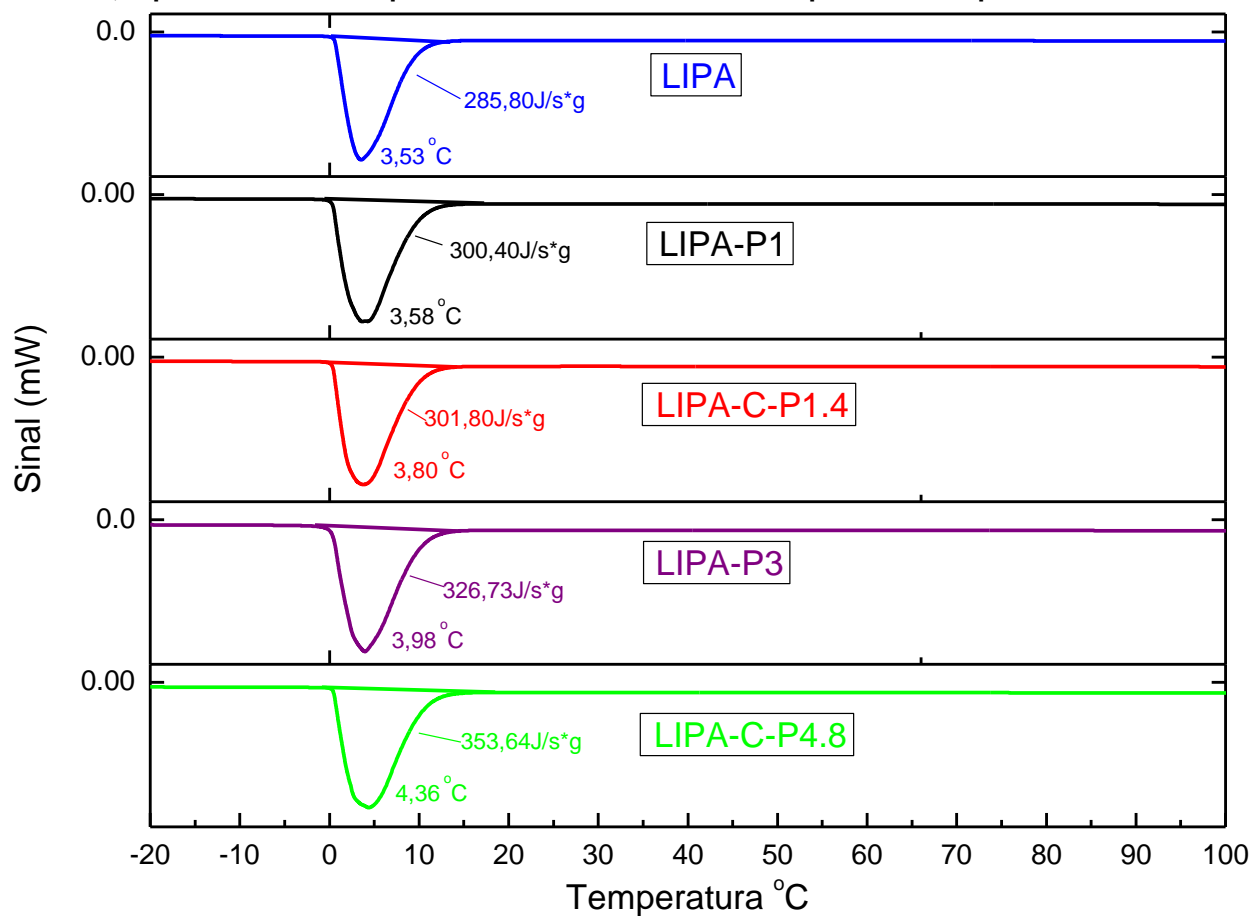
Figura 26 - Curvas de DSC representando o decréscimo da concentração do LIPA e o aumento da concentração de COL e sua efetiva incorporação ao LIPA.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O decréscimo da concentração do LIP, o aumento da concentração de PVP e sua efetiva incorporação ao LIPA estão apresentados na Figura 27 e na Tabela 5. Os dados do gráfico na Figura 28, obtendo uma correlação linear de 0,9958, formada pelo LIPA mais o PVP. Estes resultados demonstram um aumento progressivo na entalpia e no ponto de fusão, conferindo uma maior resistência e estabilidade ao LIPA (Basso *et al.*, 2023), possibilitando também uma melhor biodistribuição do ativo por ajudar a evitar o reconhecimento do sistema imunológico (Delmas *et al.*, 2011).

Figura 27 - Representação dos termogramas LIPA, LIPA-P1, LIPA-C-P1.4, LIPA-P3, LIPA-C-P4.8, representando a temperatura de fusão no máximo do pico e a entalpia de fusão.



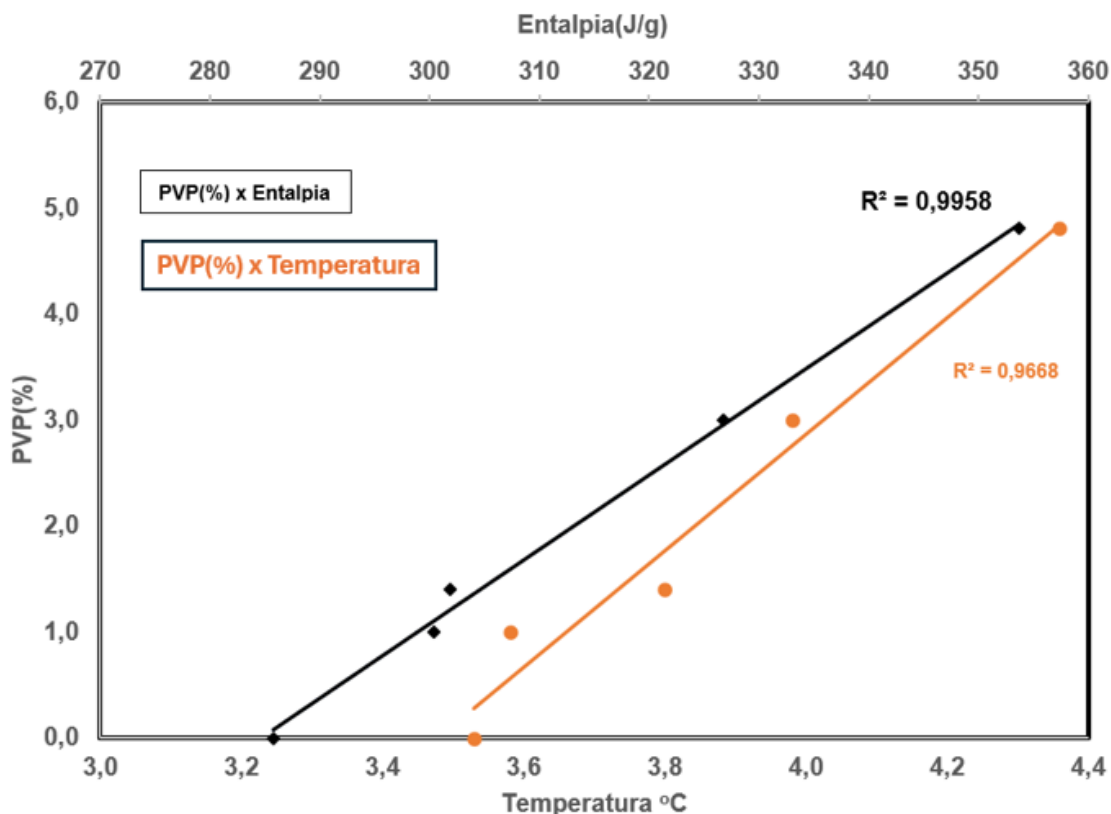
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 5 - Tabela de dados das curvas de DSC, obtidos através da adição de PVP no LIPA.

Amostra	PVP%	LIP%	COL%	Temp °C	Massa	Entalpia(J/g)
LIPA	0,00	100,00	0,00	3,53	4,67	285,80
LIPA-P1	1,00	99,00	0,00	3,58	6,20	300,40
LIPA-C-P1.4	1,40	68,60	30,00	3,80	6,25	301,80
LIPA-P3	3,00	97,00	0,00	3,98	5,70	326,73
LIPA-C-P4.8	4,80	48,65	47,65	4,36	6,26	353,64

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28 - Comparação das curvas de DSC do LIP, LIPA, COL e PVP.

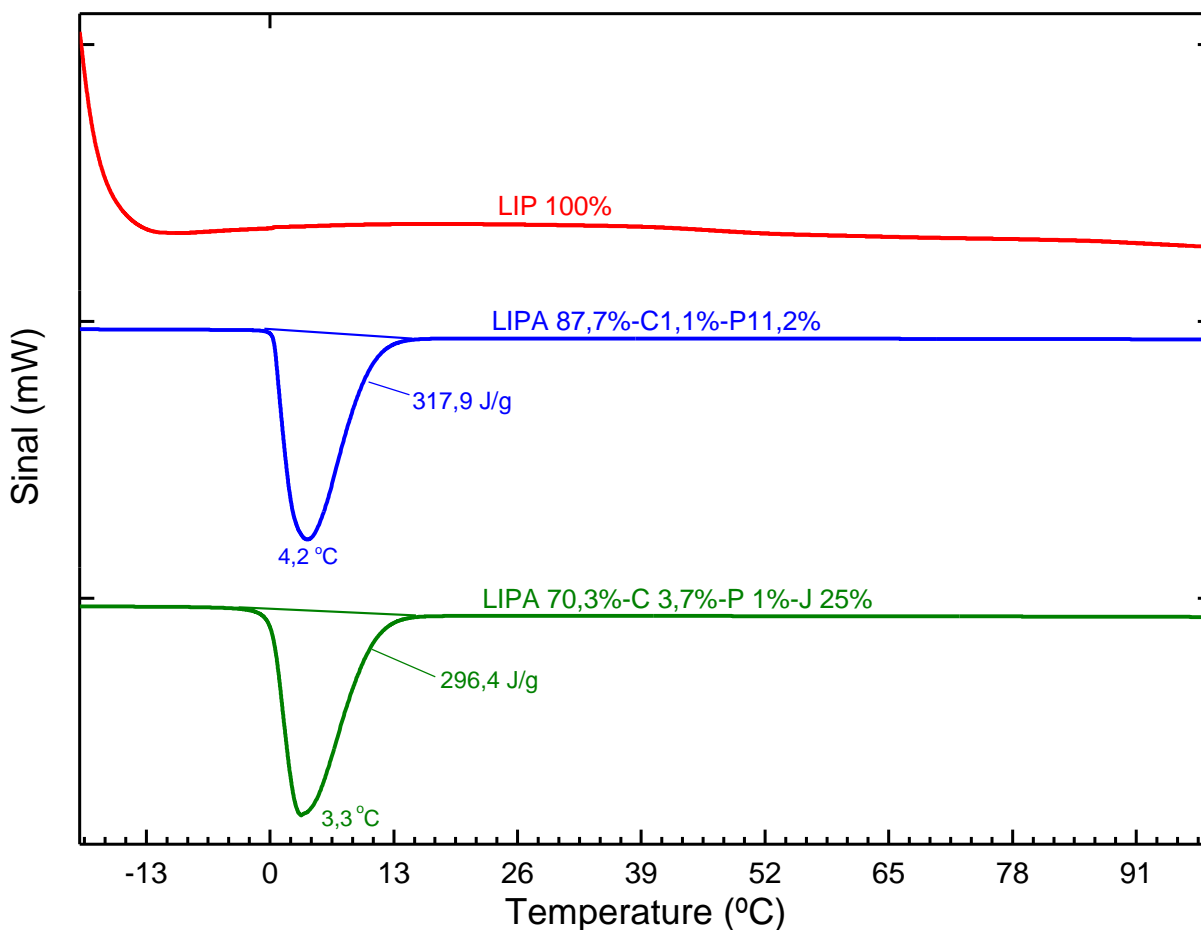


Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme demonstrado na Figura 29, o LIP, LIPA-C-P e LIPA-C-P-J foram resfriados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e aquecidos até $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ no DSC, com taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. O LIP não apresentou nenhum evento térmico no intervalo estudado. A formação do LIPA-C-P é conferida/demonstrada por meio de um pico de fusão endotérmico em $4,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e da entalpia de fusão de $317,9\text{ J/g}$. O pico endotérmico associado à fusão da transição de fase do estado gel para o estado líquido cristalino (Song *et al.*, 2022).

Com a incorporação do Jambu ao LIPA-C-P ocorre um deslocamento do pico de fusão endotérmico para $3,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e decréscimo da entalpia de fusão para $296,4\text{ J/g}$, o que indica uma diminuição da parte cristalina e uma possível incorporação do composto na parte lipídica do LIPA, favorecendo assim uma maior biodisponibilidade dos compostos do Jambu (Eloy, 2016).

Figura 29 - Comparação das curvas de DSC do LIP, LIPA-C-P, LIPA-C-P-J.

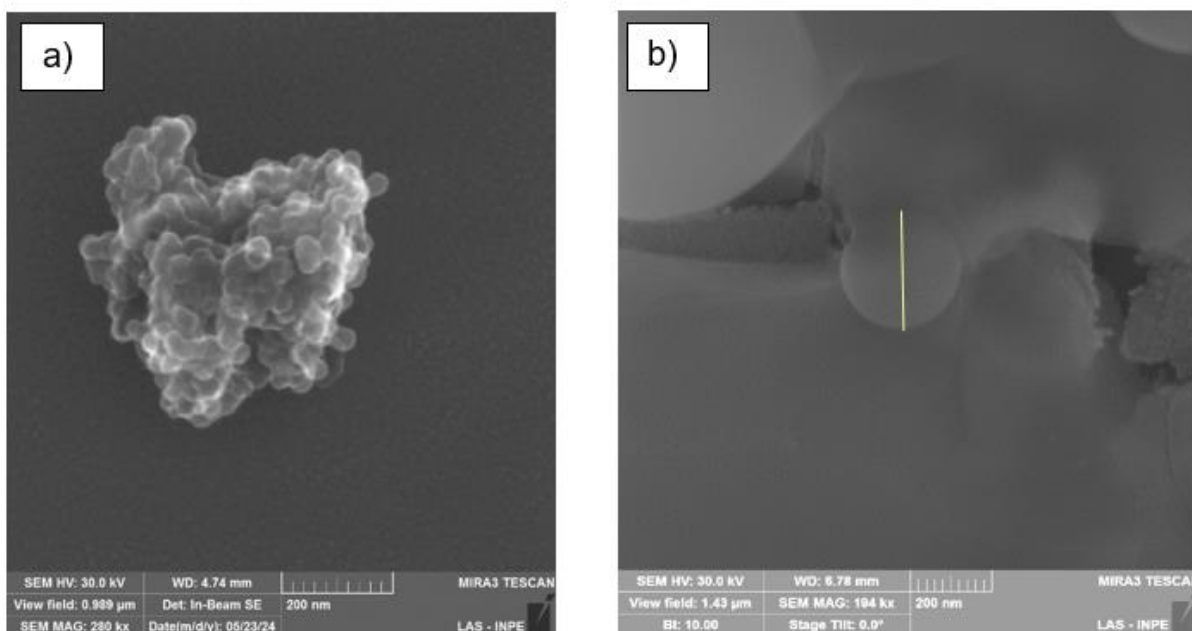


5.7 CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS: MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

A caracterização da morfologia dos lipossomas é de extrema importância para validar os resultados do DLS, pois o modelamento matemático utilizado na técnica faz uma aproximação para partículas esféricas.

Nesta caracterização, o lipossoma formado a partir de LIP, COL e PVP, com Jambu, teve seu tamanho e forma avaliada pela análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV / FEG), como apresentado na Figura 30. As Figura 30^a e Figura 30^b mostram os lipossomas com ~50 nm e ~300 nm, respectivamente. Estes diâmetros são comparáveis aos medidos no DLS. As imagens confirmaram a natureza esférica dos lipossomas formados (Waghule *et al.*, 2020). Entretanto, em virtude da dificuldade de preparação das amostras, a distribuição de tamanhos foi avaliada por DLS, que não precisa da desidratação dos lipossomas, sendo um resultado mais confiável.

Figura 30 - Resultados obtidos na avaliação da morfologia de lipossomas composto por LIPA+COL+PVP com adição de Jambu por microscopia eletrônica de varredura(MEV/FEG)



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.8 CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS: ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO

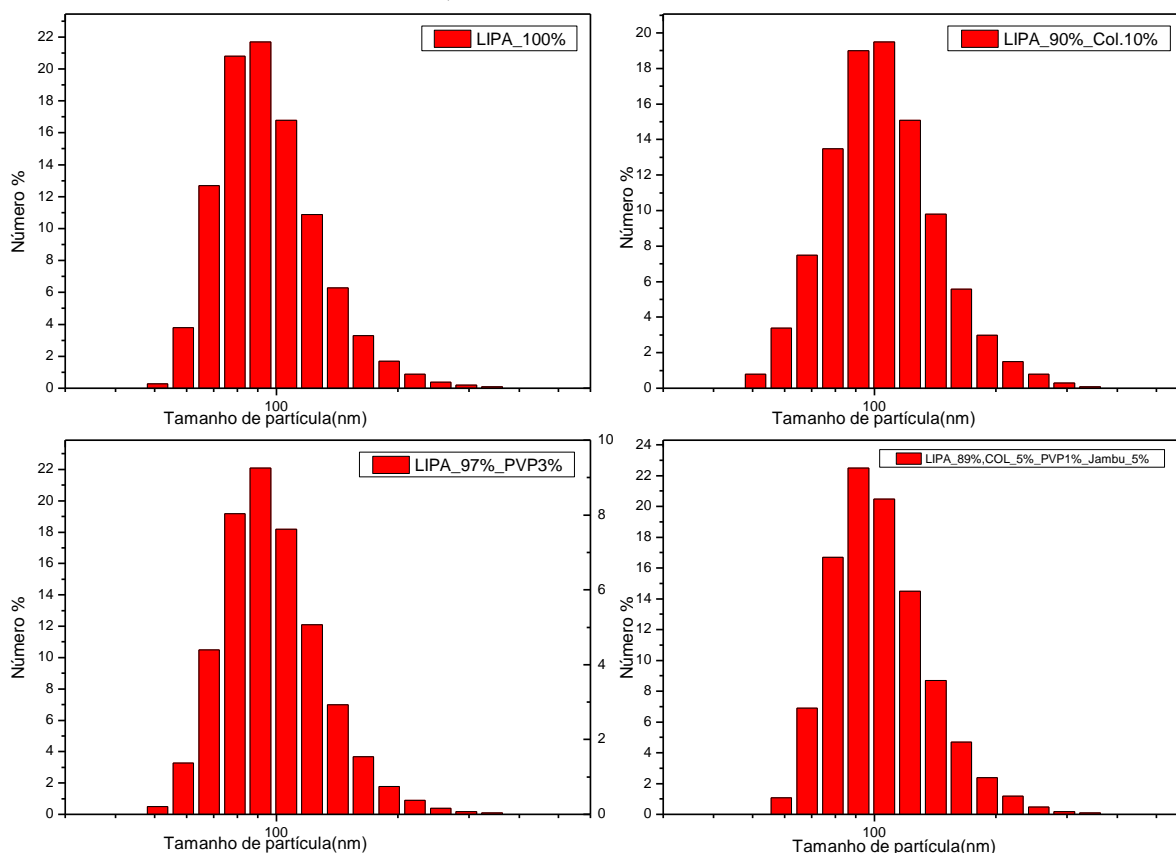
Como mencionado no item 5.3, os resultados do DLS foram de extrema importância na avaliação da distribuição de tamanhos. A média dos valores de diâmetro hidrodinâmico ficou em 105 nm e os dados estão na Tabela 6 e os gráficos representando esses valores estão na Figura 31.

Tabela 6 - Tabela de dados da distribuição do tamanho dos LIPA 100%, LIPA 90% + COL 10%, LIPA 97% + PVP 3%, LIPA 89% + COL 5% + PVP 1% + Jambu 5%.

Amostras	LIPA(%)	COL(%)	PVP(%)	Jambu(%)	Tamanho (nm)	PDI	Zeta (mV)
LIPA	100	0	0	0	100	0,179	-49,9
LIPA-C	90	10	0	0	110	0,164	-56,1
LIPA-P	97	0	3	0	102	0,155	-47,9
LIPA-C-P-J	89	5	1	5	108	0,150	-51,9

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 31 - Comparação da distribuição do tamanho dos LIPA 100%, LIPA 90% + COL 10%, LIPA 97% + PVP 3%, LIPA 89% + COL 5% + PVP 1% + Jambu 5%.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O índice de polidispersidade (PDI) é uma medida da distribuição do tamanho de partículas, podendo variar de 0 (tamanho homogêneo) a 1 (tamanho polidisperso) (Briuglia *et al.*, 2015). Os resultados relativos à dispersão do tamanho do lipossoma mostraram-se muito homogêneos em todas as formulações de acordo com os dados da Tabela 7 e Figura 31. O potencial Zeta representa a carga superficial da partícula, o que influencia sua estabilidade (Song *et al.*, 2022).

A formulação com potencial Zeta inferior a -30 mV e superior a 30 mV é considerada estável (Waghule *et al.*, 2020). Todas as formulações apresentaram potencial Zeta semelhantes e negativos, como se observa na Tabela 7, indicando não haver a formação de aglomerados. O valor negativo do potencial zeta ao utilizar o PVP para recobrir formulações lipossômicas, ocorre porque o PVP forma interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio, com os fosfolipídios da segunda bicamada lipossômica. Essas interações resultam em uma carga negativa na superfície dos lipossomas, reduzindo a mobilidade molecular e aumentando a estabilidade da formulação.

Utilizou-se o DLS para comparação do diâmetro hidrodinâmico, sendo fundamental avaliar a distribuição do tamanho dos lipossomas para sua caracterização (Briuglia *et al.*, 2015). Foram conduzidas análises do diâmetro hidrodinâmico realizadas no DLS, para obter uma compreensão mais detalhada do efeito de estabilização física dos lipossomas ao longo do tempo. Conduziu-se um estudo em amostras com diferentes quantidades de COL, PVP adicionadas aos LIPA e variando entre nove e quarenta e seis dias o tempo de armazenamento em geladeira, para avaliação da estabilidade dos lipossomas. Os resultados da 1ª análise e da 2ª análise dos lipossomas seguem listados na Tabela 7. Podemos notar uma tendência de redução entre as médias, mas esse desvio entre as médias não mostra uma diferença estatística significativa ($p = 0,13429$), assim como do ponto de vista prático essa diferença não é significativa como demonstrado na Figura 32 .

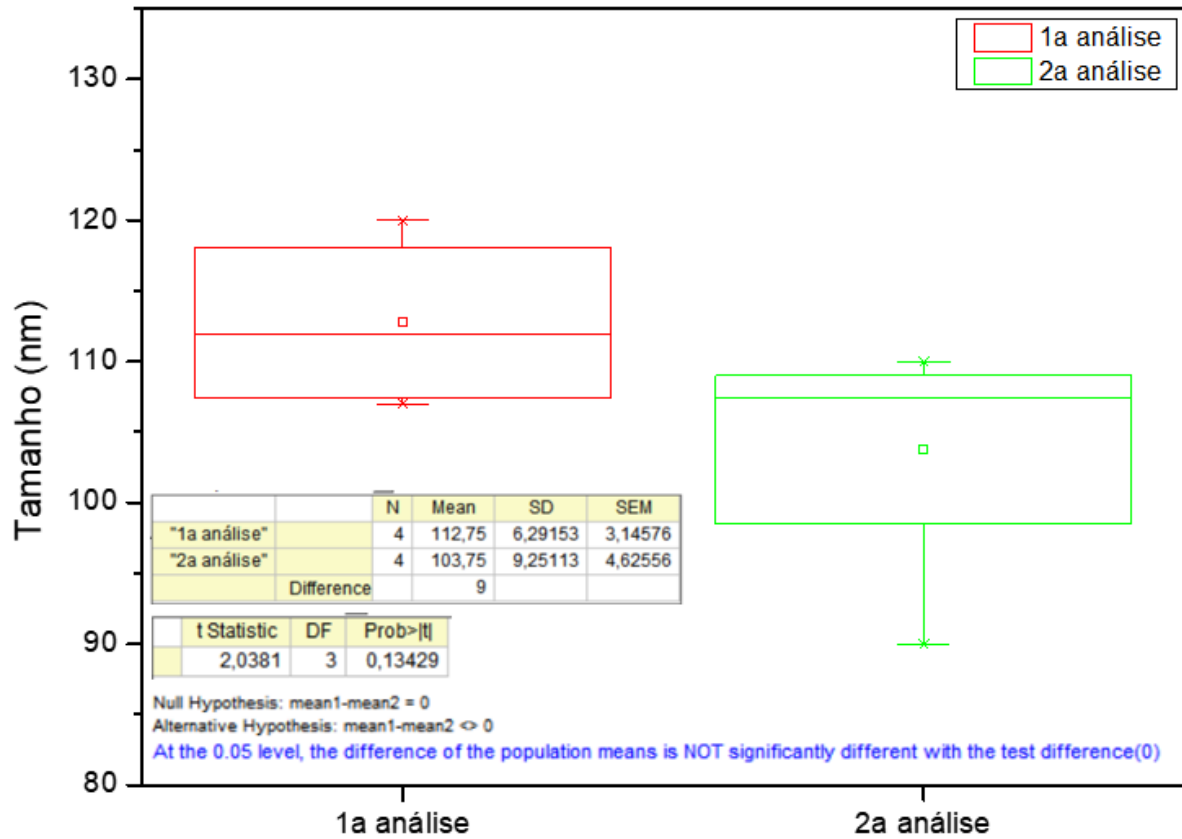
A caracterização dos lipossomas, via DLS, é essencial para compreensão de possíveis alterações na distribuição do tamanho e do potencial Zeta. Os lipossomas com tamanho de 100 nm ou menores são os ideais para o uso no tratamento de câncer e aplicações dérmicas (Briuglia *et al.*, 2015). Não se observou um aumento no diâmetro hidrodinâmico na amostra com Jambu, pois a amostra foi extrudada homogeneizando o tamanho dos lipossomas como indicado na Tabela 7.

Tabela 7 - Tabela de dados da distribuição do tamanho dos lipossomas em função do tempo.

Amostras	Composição do Lipossoma			Incorporado	1ª análise	Tamanho (nm)	2ª análise	Tamanho (nm)	Dias
	LIPA (%)	COL (%)	PVP (%)	Jambu (%)					
LIPA-C-P	94	5	1	0	18/02/24	116	27/02/24	107	9
LIPA-C-P	94	5	1	0	01/03/24	107	18/03/24	110	17
LIPA-P	99	0	1	0	22/02/24	108	18/03/24	90	25
LIPA-C-P-J	89	5	1	5	18/03/24	120	03/05/24	108	46

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 32 - Apresenta o gráfico de boxplot para comparação dos tamanhos dos Lipossomas entre os resultados da 1a análise e da 2a análise e a estatística para teste t pareado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados e discutidos evidenciaram a eficácia das formulações de lipossomas à base de lipídio S75, colesterol e polivinilpirrolidona, que foram capazes de encapsular o Jambu, um composto natural e fitoterápico. As partículas obtidas apresentaram tamanho nanométrico, morfologia esférica, polidispersividade apropriada e potencial Zeta adequado.

Este processo de construção do lipossoma pode ser demonstrado pelos resultados de infravermelho médio que apresentaram uma perfeita integração do colesterol e da polivinilpirrolidona à matriz lipídica. Este fato caracteriza-se por meio do incremento quantitativo destes compostos, demonstrando a existência de uma correlação positiva e previsível para essas adições. O uso da quimiometria aliada a espectroscopia demonstrou ser uma ferramenta útil de otimização na criação de modelos multivariados de predição, aplicados no auxílio do desenvolvimento das formulações de lipossomas.

O aumento linear da entalpia, observado nas análises de calorimetria exploratória diferencial, juntamente com a adição gradual de colesterol e polivinilpirrolidona à matriz lipídica, confirma os resultados da espectroscopia de infravermelho, quanto à integração dos constituintes à formulação dos lipossomas e o encapsulamento do Jambu. Como resultado, o aumento na resistência do sistema lipossomal, devido à mais energia necessária para romper o lipossoma, é demonstrado pelas transições endotérmicas nas análises, levando a uma maior estabilidade do sistema lipídico, como se observa no estudo conduzido ao longo das 6 semanas e meia em que os lipossomas foram armazenados a 4 °C.

Os lipossomas não apresentaram mudanças significativas nos parâmetros de tamanho hidrodinâmico, distribuição de partículas e no potencial Zeta, demonstrando uma boa estabilidade.

Em suma, a formulação de lipossomas à base de lipídios, com a adição de colesterol e um polímero em diferentes concentrações, proporcionou o encapsulamento da erva medicinal Jambu, conforme demonstrado neste trabalho. Esta abordagem é promissora e pode servir de base para futuras formulações, permitindo combinações ajustadas às especificidades e objetivos dos medicamentos no tratamento de doenças, representando um avanço significativo na pesquisa sobre lipossomas.

REFERÊNCIAS

- AKKEWAR, A. *et al.* Liposomes in the Targeted Gene Therapy of Cancer: A Critical Review. **Current Drug Delivery**, v. 20, n. 4, p. 350–370, maio 2023. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/203891/article>. Acesso em: 12 dez. 2024.
- AMEN, R. *et al.* History and development of nanomaterials. In: TAHIR, M. B.; SAGIR, M.; ASIRI, A. M. (Org.). **Nanomaterials: synthesis, characterization, hazards and safety**. Amsterdam: Elsevier, 2021. (Micro and nano technologies). <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128238233000082>. Acesso em: 6 jan. 2025.
- ARMANI, Sara. *et al.* Effect of changes in metabolic enzymes and transporters on drug metabolism in the context of liver disease: Impact on pharmacokinetics and drug–drug interactions. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 90, n. 4, p. 942–958, abr. 2024. Disponível em: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bcp.15990>. Acesso em: 11 dez. 2024.
- ARNDT, D. *et al.* Antineoplastic activity of sterically stabilized alkylphosphocholine liposomes in human breast carcinomas. **Breast cancer research and treatment**, v. 43, p. 237-246, 1997.
- AWAIS, M. *et al.* Strategies for Crossing Biological Barriers in Drug Delivery. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 94, n. 2, p. 235–243, abr. 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s40011-023-01478-z>. Acesso em: 11 dez. 2024.
- BABICK, F. Dynamic light scattering (DLS). In: VASILE-DAN HODOROABA; UNGER, W. E. S.; SHARD, A. G. (ed.). **Characterization of Nanoparticles**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 137–172. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128141823000109>. Acesso em: 18 dez. 2024.
- BARBAS, L. A. L. *et al.* Jambu, *Spilanthes acmella* as a novel anaesthetic for juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*: Secondary stress responses during recovery. **Aquaculture**, v. 456, p. 70–75, abr. 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848616300254>. Acesso em: 18 dez. 2024..
- BASSO, João *et al.* A stepwise framework for the systematic development of lipid nanoparticles. **Biomolecules**, v. 12, n. 2, p. 223, 2022.
- BEJAOU, M. *et al.* Multifunctional Roles of PVP as a Versatile Biomaterial in Solid State. In: AHMAD, U. (org.). **Dosage Forms: Innovation and Future Perspectives**. [S. l.]: IntechOpen, 2023. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/79355>. Acesso em: 12 dez. 2024.
- BESTMAN-SMITH, Julie *et al.* Sterically stabilized liposomes bearing anti-HLA-DR antibodies for targeting the primary cellular reservoirs of HIV-1. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1468, n. 1-2, p. 161-174, 2000.

BILAGI, Anil; GODHI, Ashok S. An analytical study of gallstones by Fourier transform infrared spectroscopy technique. **International Surgery Journal**, v. 9, n. 3, p. 584-589, 2022.

BOBAN, Zvonimir *et al.* Electroformation of Giant Unilamellar Vesicles from Damp Lipid Films Formed by Vesicle Fusion. **Membranes**, v. 13, n. 3, p. 352, 2023.

BOONTHA, Supavadee *et al.* Cytotoxic, colony formation and anti-migratory effects of *Spilanthes acmella* (Asteraceae) aerial extract on MCF-7 cells and its cream formulation. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 1, p. 17-24, 2020.

BRERETON, R. G. **Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. New York: John Wiley & Sons., 2003.

BRIUGLIA, M.-L. *et al.* Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 5, n. 3, p. 231–242, jun. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13346-015-0220-8>. Acesso em: 18 dez. 2024..

BRIUGLIA, M.-L. *et al.* Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 5, n. 3, p. 231–242, jun. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13346-015-0220-8>. Acesso em: 6 jan. 2025..

BURDAEV, N. I. *et al.* Liposomes as Drug Carriers: Classification, Preparation Methods, and Medicinal Use. **Regulatory Research and Medicine Evaluation**, v. 13, n. 2-1, p. 316-332, 2023.

DELMAS, Thomas *et al.* How to prepare and stabilize very small nanoemulsions. **Langmuir**, v. 27, n. 5, p. 1683-1692, 2011.

ELOY, Josimar de Oliveira. **Lipossomas e imunolipossomas contendo fármacos antitumorais: desenvolvimento, caracterização e avaliação da eficácia contra o câncer de mama**. 2016. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016. doi:10.11606/T.60.2016.tde-03102016-153049. Acesso em: 2025-01-06.

ESBENSEN, K. H.; GELADI, P. Principles of Proper Validation: use and abuse of re-sampling for validation. **Journal of Chemometrics**, v. 24, n. 3–4, p. 168–187, mar. 2010. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cem.1310>. Acesso em: 6 jan. 2025.

ADRAR, N. *et al.* Stability evaluation of interdigitated liposomes prepared with a combination of 1, 2-d istearoyl -sn-glycero-3-phosphocholine and 1, 2-dilauroyl -sn-glycero-3-phosphocholine. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 96, n. 9, p. 2537–2546, set. 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.6793>. Acesso em: 6 jan. 2025.

FULTON, Melody D.; NAJAH-MISSAOUI, Wided. Liposomes in cancer therapy: how did we start and where are we now. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, p. 6615, 2023.

GLATTER, O. Dynamic Light Scattering (DLS). *In*: GLATTER, O **Scattering Methods and their Application in Colloid and Interface Science**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 223–263. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128135808000110>. Acesso em: 6 jan. 2025..

GUIMARÃES, Diana; CAVACO-PAULO, Artur; NOGUEIRA, Eugenia. Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications. **International journal of pharmaceutics**, v. 601, p. 120571, 2021.

HE, Yonglong *et al.* Liposomes and liposome-like nanoparticles: From anti-fungal infection to the COVID-19 pandemic treatment. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 6, p. 817-837, 2022.

HERNANDEZ, Carely; SHUKLA, Surabhi. Liposome based drug delivery as a potential treatment option for Alzheimer's disease. **Neural regeneration research**, v. 17, n. 6, p. 1190-1198, 2022.

HISTORY and Development of Nanomaterial Research. 2021. Disponível em: <https://encyclopedia.pub/entry/1234>. Acesso em: 2 Set 2024.

HUANG, Shu-Wei *et al.* Synthesis of fluorescent carbon dots as selective and sensitive probes for cupric ions and cell imaging. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1785, 2019.

IDEN, Debbie L.; ALLEN, Theresa M. In vitro and in vivo comparison of immunoliposomes made by conventional coupling techniques with those made by a new post-insertion approach. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes**, v. 1513, n. 2, p. 207-216, 2001.

JOHNY, Joseph *et al.* Liposome assisted drug delivery-A review. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 12, n. 3, p. 594-601, 2021.

JOLLIFFE, Ian T.; CADIMA, Jorge. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical transactions of the royal society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2065, p. 20150202, 2016.

KAMBLE, Sharad *et al.* Methods of Preparation of Nanoparticles. **International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology**, v.2, n.1, p. 640–646, 28 ago. 2022. Disponível em: <http://ijarsct.co.in/aug1i.html>. Acesso em: 12 dez. 2024.

KASZUBA, Michael *et al.* Resolving concentrated particle size mixtures using dynamic light scattering. **Particle & Particle Systems Characterization**, v. 24, n. 3, p. 159-162, 2007.

KHODADADI, Ehsaneh; MORADI, Mahmoud. Cholesterol concentration effect on bilayer membranes and its role in designing efficient liposomal drug delivery systems. **Biophysical Journal**, v. 122, n. 3, p. 365a, 2023.

KNUDSEN, Nina Ø. *et al.* Design of cyclic RKKH peptide-conjugated PEG liposomes targeting the integrin $\alpha 2\beta 1$ receptor. **International journal of pharmaceuticals**, v. 428, n. 1-2, p. 171-177, 2012.

KOIDE, Hiroyuki. *et al.* Easy preparation of a liposome-mediated protein delivery system by freeze–thawing a liposome–protein complex. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 10, n. 35, p. 6768–6776, 2022. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=D2TB00271J>. Acesso em: 18 dez. 2024.

LEWIS, R.N.A.H.; MCELHANEY, R.N. Fourier transform infrared spectroscopy in the study of hydrated lipids and lipid bilayer membranes. *In*: MANTSCH, H.H.; CHAPMAN, D. (Eds.). **Infrared Spectroscopy of Biomolecules**. New York: John Wiley & Sons, 1996. p. 159-202.

LI, Wai Ming; MAYER, Lawrence D.; BALLY, Marcel B. Prevention of antibody-mediated elimination of ligand-targeted liposomes by using poly (ethylene glycol)-modified lipids. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 300, n. 3, p. 976-983, 2002.

LIU, Peng; CHEN, Guiliang; ZHANG, Jingchen. A review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1372, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/4/1372>. Acesso em: 18 dez. 2024.

MANTSCH, H. H.; MCELHANEY, R. N. Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy. **Chemistry and physics of lipids**, v. 57, n. 2-3, p. 213-226, 1991.

MARTENS, H.; NÆS, **Tormod. Multivariate Calibration**. [S.l.]: John Wiley & Sons., 1992.

[MÁSCARA mortuária de Tutancâmon], 2024. Disponível em: <https://br.pinterest.com/pin/421086633929039262/>. Acesso em: 18 dez. 2024.

MILLER, J. N. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6.Ed. Harlow: Pearson, 2018.

MOREIRA, João N. *et al.* A growth factor antagonist as a targeting agent for sterically stabilized liposomes in human small cell lung cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1514, n. 2, p. 303-317, 2001.

MUTLU-AĞARDAN, N. Başaran; TORT, Serdar. Cholesterol included self-assembled electrospun proliposomes as a feasible approach for drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 86, p. 104749, 2023.

NABI, N. G.; SHRIVASTAVA, M. Estimation of total flavonoids and antioxidant activity of *Spilanthes acmella* leaves. **Pharmaceutical and Biosciences Journal**, v. 4, n. 6, p. 29–34, 2016. Disponível em:

<http://pharmabiosciencejournal.com/index.php/pbj/article/download/2172/1533>. Acesso em: 18 dez. 2024.

NAKHAEI, P. *et al.* Liposomes: Structure, Biomedical Applications, and Stability Parameters With Emphasis on Cholesterol. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 9, p. 705886, 9 set. 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.705886/full>. Acesso em: 12 dez. 2024.

NSAIRAT, Hamdi *et al.* Liposome bilayer stability: Emphasis on cholesterol and its alternatives. **Journal of Liposome Research**, v. 34, n. 1, p. 178-202, 2024.

PATEL, V.; AGRAWAL, Y. Nanosuspension: An approach to enhance solubility of drugs. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 2, p. 81, 2011. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.4103/2231-4040.82950>. Acesso em: 6 jan. 2025.

PHAM, Dan The *et al.* A low-cost, flexible extruder for liposomes synthesis and application for Murrayafoline A delivery for cancer treatment. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 37, n. 5, p. 872-880, 2022.

POPOVA, Antoaneta V.; HINCHA, Dirk K. Intermolecular interactions in dry and rehydrated pure and mixed bilayers of phosphatidylcholine and digalactosyldiacylglycerol: a Fourier transform infrared spectroscopy study. **Biophysical journal**, v. 85, n. 3, p. 1682-1690, 2003.

QUER, Christophe Barnier *et al.* Cationic liposomes as adjuvants for influenza hemagglutinin: more than charge alone. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 2, p. 294-302, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641112000884>. Acesso em: 18 dez. 2024.

RAHMAN, Mahfoozur *et al.* Liposomes as anticancer therapeutic drug carrier's systems: more than a Tour de Force. **Current Nanomedicine**, v. 10, n. 2, p. 178-185, 2020. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/172771/article>. Acesso em: 18 dez. 2024

RANI, V.; VENKATESAN, J.; PRABHU, A. Liposomes- A promising strategy for drug delivery in anticancer applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, p. 103739, out. 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224722006505>. Acesso em: 11 dez. 2024.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, M. A. R. B. Lipossomas: a bala mágica acertou? **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1181–1185, dez. 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000700019&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 11 dez. 2024.

SANTOS, Orquidea Vasconcelos dos *et al.* Physicochemical properties and bioactive composition of the lyophilized *Acmella oleracea* powder. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 4, p. e15354, 2021.

SHAHBAZI, Sorour *et al.* Preparation, characterization, and application of a lipophilic coated exfoliated Egyptian blue for near-infrared luminescent latent fingerprint detection. **Forensic Chemistry**, v. 18, p. 100208, 2020.

SILVA, Carlos Augusto Priante da. **Fracionamento biomonitorado pela atividade citotóxica do extrato hidroalcoólico de *Acmella oleracea***. 2015. 114 f.; 1 disco laser Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, São José dos Campos, 2015.

SILVERSTAIN, R. M. *et al.* **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro: GEN, 2019. Edição Kindle.

SONG, Fanfan *et al.* Effect of phospholipids on membrane characteristics and storage stability of liposomes. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 81, p. 103155, 2022.

SPINOZZI, Eleonora *et al.* A review of the chemistry and biological activities of *Acmella oleracea* ("jambù", Asteraceae), with a view to the development of bioinsecticides and acaricides. **Plants**, v. 11, n. 20, p. 2721, 2022.

THAWANY, P.; TIWARI, U. K.; DEEP, A. Surface Plasmon Resonance (SPR)-Based Nanosensors for the Detection of Pathogenic Bacteria. In: ACHARYA, A.; SINGHAL, N. K. (org.). **Nanosensors for Point-of-Care Diagnostics of Pathogenic Bacteria**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 41–57. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-981-99-1218-6_3. Acesso em: 13 dez. 2024.

TOSATO, M. G. **Desarrollo y caracterización de vehículos biocompatibles y sistemas de liberación de compuestos de acción antioxidante y fotoprotectora**. 2016. Tese (Doutorado) Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, 2016.

VARMUZA, K.; FILZMOSER, Peter. **Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics**. Boca Raton: CRC Press, 2009.

VERHOEVEN, J. D. The Mystery of Damascus Blades: Technology for the Production of a Legendary Weapon. **Materials Research**, v. 33, , n. n. 2, 2022. 144-150. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41586-022-03003-6>>. Acesso em: 2 set 2024.

VOGEL, A. I. *et al.* **Análise química quantitativa**. 6ª. ed. Rio de Janeiro: GEN, 2022.

WALDE, Peter; ICHIKAWA, Sosaku. Lipid vesicles and other polymolecular aggregates: from basic studies of polar lipids to innovative applications. **Applied Sciences**, v. 11, n. 21, p. 10345, 2021.

XIA, X.-J. *et al.* Formulation, Characterization and Hypersensitivity Evaluation of an Intravenous Emulsion Loaded with a Paclitaxel-Cholesterol Complex. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 59, n. 3, p. 321–326, 2011. Disponível em: http://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/59/3/59_3_321/_article. Acesso em: 6 jan. 2025.

XIANG, B.; CAO, D.-Y. Preparation of Drug Liposomes by Thin-Film Hydration and Homogenization. *In*: LU, W.-L.; QI, X.-R. (org.). **Liposome-Based Drug Delivery Systems. Biomaterial Engineering**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2021. p. 25–35. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-662-49320-5_2. Acesso em: 18 dez. 2024.

YANAGIHARA, Shin *et al.* Preparing size-controlled liposomes modified with polysaccharide derivatives for pH-responsive drug delivery applications. **Life**, v. 13, n. 11, p. 2158, 2023.

YUN, Ji-Soo; HWANGBO, Seon-Ae; JEONG, Young-Gyu. Preparation of uniform nano liposomes using focused ultrasonic technology. **Nanomaterials**, v. 13, n. 19, p. 2618, 2023.

ZHONG, Q.; ZHANG, H. Preparation of Small Unilamellar Vesicle Liposomes Using Detergent Dialysis Method. *In*: D'SOUZA, G. G. M.; ZHANG, H. (org.). **Liposomes: Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer US, 2023. v. 2622, p. 49–56. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-2954-3_3. Acesso em: 18 dez. 2024.

REFERÊNCIAS CONSULTADAS

ADRAR, N. *et al.* Stability evaluation of interdigitated liposomes prepared with a combination of 1, 2-d istearoyl -sn-glycero-3-phosphocholine and 1, 2-dilauroyl -sn-glycero-3-phosphocholine. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 96, n. 9, p. 2537–2546, set. 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.6793>. Acesso em: 6 jan. 2025.

ABDELHAMID, Moaaz *et al.* Mechanically promoted lipid-based filaments via composition tuning for extrusion-based 3D-printing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 643, p. 123279, 2023.

BISWAS, S. *et al.* Gold Nanoparticles in Ancient Medicine: A Historical Overview. **Journal of Nanomedicine**, v. 45, p. 123-134, 2022.

DONG, Bingxue; LIM, Li Ming; HADINOTO, Kunn. Enhancing the physical stability and supersaturation generation of amorphous drug-polyelectrolyte nanoparticle complex via incorporation of crystallization inhibitor at the nanoparticle formation step: a case of HPMC versus PVP. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 138, p. 105035, 2019.

KIM, J.H. Optical tweezers in biomedical applications: advancements since 2021. **Nature Biomedical Engineering**, 2022.

LUO, Yu *et al.* Multifunctional role of polyvinylpyrrolidone in pharmaceutical formulations. **AAPS PharmSciTech**, v. 22, p. 1-16, 2021.

NEEDHAM, Joseph *et al.* **Science And Civilisation In China Volume 5, Chemistry And Chemical Technology, Part 11: Ferrous Metallurgy**. Cambridge: Cambridge University Press, 1971. Disponível em: http://archive.org/details/science-and-civilisation-in-china-volume-5-chemistry-and-chemical-technology-par_20210927_1445. Acesso em: 2 Set 2024.

SMITH, J. D.; LEE, R. K. Nanotechnology in Roman Construction Materials. *Journal of Historical Nanoscience*. **Journal of Historical Nanoscience**, v. 12, n. 4, 2021. 215-230. Acesso em: 02 Set 2024.

SMITH, J. D. Color and Composition: The Science Behind Venetian Glass. **Materials Science & Art History Review**, v. 45, p. 112-128, 2023. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20421307.2023.0018>>.

SUBBOTIN, V.; FIKSEL, G. Exploring the Lipid World Hypothesis: A Novel Scenario of Self-Sustained Darwinian Evolution of the Liposomes. **Astrobiology**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 344–357, 1 mar. 2023. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ast.2021.0161>. Acesso em: 6 jan. 2025.

TRONVALL. The Art of Nano-Scale Engineering in Renaissance Artistry. **Journal of Historical Nanoscience**, v. 10, p. 78-91, 2021. Disponível em: <<https://www.journals.elsevier.com/journal-of-historical-nanoscience>>.

WAGHULE, Tejashree *et al.* Design of temozolomide-loaded proliposomes and lipid crystal nanoparticles with industrial feasible approaches: comparative assessment of drug loading, entrapment efficiency, and stability at plasma pH. **Journal of liposome research**, v. 31, n. 2, p. 158-168, 2021.

WAGHULE, Tejashree *et al.* Tailoring the multi-functional properties of phospholipids for simple to complex self-assemblies. **Journal of Controlled Release**, v. 349, p. 460-474, 2022.