

Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais -
PPGCEM

MARIA JÚLIA RECCO SARTOR

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO
FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES PARA APLICAÇÃO EM
COSMÉTICOS

CRICIÚMA

2024

MARIA JÚLIA RECCO SARTOR

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO
FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES PARA APLICAÇÃO EM
COSMÉTICOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Gonçalves Dal Bó

Co-orientador: Prof. Dr. Michael Peterson

CRICIÚMA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S251d Sartor, Maria Júlia Recco.

Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo filtros solares e antioxidantes para aplicação em cosméticos / Maria Júlia Recco Sartor. - 2024.

131 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2024.

Orientação: Alexandre Gonçalves Dal Bó.

Coorientação: Michael Peterson

1. Lipossomos. 2. Filtros ultravioletas. 3. Fator de proteção solar. 4. Cosméticos - Indústria. I. Título.

CDD 23. ed. 668.55

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101

Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

Maria Julia Recco Sartor

Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo filtros solares e antioxidantes para aplicação em cosméticos

Esta Tese foi julgada adequada à obtenção do grau de Doutor(a) em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - PPGCEM (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Criciúma, SC, 28 de fevereiro de 2024.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente



ADRIANO MICHAEL BERNARDIN

Data: 19/03/2024 21:49:34-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Adriano Michael Bernardin

Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC

Documento assinado digitalmente



EDUARDO JUNCA

Data: 26/03/2024 14:54:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eduardo Junca

Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC

Documento assinado digitalmente



RICARDO ANDREZ MACHADO DE AVILA

Data: 26/03/2024 12:32:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila

Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC

Documento assinado digitalmente



JEANE DE ALMEIDA DO ROSARIO

Data: 26/03/2024 09:52:41-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^a. Jeane De Almeida Do Rosário

Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC

Às pessoas mais importantes da minha vida: minha família, por todo o incentivo sempre.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela proteção, força e por me guiar e encorajar nos momentos em que tudo parecia impossível e por permitir que eu conseguisse chegar até aqui.

À minha família, meu irmão Arthur, e meus pais Luiz e Carla, e meu esposo Filipe, pela compreensão e incentivo durante estes anos. Essa vitória também é de vocês!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Dal Bó, por toda paciência e pela orientação valiosa durante o desenvolvimento desse trabalho e pelos ensinamentos que tanto me fizeram crescer, profissionalmente e pessoalmente.

Aos professores Dr. Michael Peterson, Dr. Paulo Feuser e Dra. Vânia Rodrigues Lima, que ao longo desses anos me auxiliaram sempre que precisei de ajuda e apoio e contribuíram para que chegássemos no objetivo final.

À empresa Agapé Terceirização de Cosméticos e Suplementos Alimentares e meus colegas de trabalho, que sempre me apoiaram e incentivaram.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta fase da minha vida e contribuíram para a concretização deste trabalho, cujos nomes não figuram neste texto, mas estão presentes no meu coração.

Muito Obrigada!

“Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência em que você realmente para e encara o medo de frente.”

Eleanor Roosevelt

RESUMO

O uso de protetores solares tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. O desenvolvimento de filtros solares lipossomais pode ser de grande interesse para a indústria cosmética, pois por meio desses sistemas pode-se melhorar algumas propriedades, tais como perfil de liberação controlado do ativo encapsulado, melhora na estabilidade e eficácia do produto, entre outros. Este estudo objetivou a obtenção de lipossomas constituídos de Asolectina de soja obtidos pelo método de evaporação por fase reversa e o encapsulamento de substâncias filtros solares para aplicação em protetores solares. Os sistemas lipossomais foram caracterizados, no que tange as propriedades físico-químicas, estruturais e térmicas pelas técnicas de Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Espalhamento de Luz dinâmico (DLS), Microscopia de Força Atômica (AFM), Potencial Zeta (ZP), Calorimetria diferencial de varredura (DSC), Análise Termogravimétrica (TGA) e Espectroscopia de UV-Vis. Além disso, os protetores solares com os lipossomas tiveram a avaliação através de estudo de estabilidade acelerado e determinação do FPS. Os lipossomas obtidos através do método de evaporação de fase reversa resultaram no encapsulamento bem-sucedido de resveratrol nos lipossomas, com eficiências de encapsulamento acima de 93% quantificados por Cromatografia Líquida de alta eficiência (HPLC). Os lipossomas obtidos tiveram valores de PDI $\leq 0,27$ o que sugere homogeneidade no tamanho dos lipossomas e ZP menor que $-30,0$ mV apresentando boa estabilidade dos lipossomas em suspensão. Analisando a curva de absorbância na região UV de algumas formulações dos lipossomas, verificou-se uma absorbância significativa nas regiões UVA e UVB, região onde os protetores solares agem e fazem a proteção da pele. Além disso os lipossomas apresentaram boa estabilidade térmica com degradação acima de 200°C . Alguns lipossomas foram aplicados à base cosmética de protetor solar para avaliação da estabilidade e do Fator de Proteção Solar, onde obteve-se um aumento de até 40% no valor do FPS comparado ao protetor com lipossoma branco.

Palavras-chave: Lipossomas, Filtros Solares, Fator de Proteção Solar, Caracterização.

ABSTRACT

The use of sunscreens has increased considerably in recent years. The development of liposomal sunscreens can be of great interest to the cosmetic industry, as through these systems some properties can be improved, such as the controlled release profile of the encapsulated active ingredient, improvements in the stability and effectiveness of the product, among others. This study aimed to obtain liposomes made up of soy Asolectin obtained by the reverse phase evaporation method and the encapsulation of sunscreen substances for application in sunscreens. The liposomal systems were characterized, regarding their physicochemical, structural and thermal properties by the techniques of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Dynamic Light Scattering (DLS), Atomic Force Microscopy (AFM), Zeta Potential (ZP), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetric Analysis (TGA) and UV-Vis Spectroscopy. Furthermore, sunscreens with liposomes were evaluated through an accelerated stability study and FPS determination. Liposomes obtained through the reverse phase evaporation method resulted in the successful encapsulation of resveratrol in liposomes, with encapsulation efficiencies above 93% quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The liposomes obtained had PDI values ≤ 0.27 , which suggests homogeneity in the size of the liposomes and ZP less than -30.0 mV, showing good stability of the liposomes in suspension. Analyzing the absorbance curve in the UV region of some liposome formulations, a significant absorbance was found in the UVA and UVB regions, the region where sunscreens act and protect the skin. Furthermore, liposomes showed good thermal stability with degradation above 200°C . Some liposomes were applied to the cosmetic base of sunscreen to evaluate stability and Sun Protection Factor, where an increase of up to 40% in the SPF value was obtained compared to the white liposome protector.

Keywords: Liposomes, Sunscreens, Sun Protection Factor, Characterization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diagrama de Jabloski.....	24
Figura 2 – Estrutura química do <i>p</i> -metoxicinamato de octila.....	25
Figura 3 - Estrutura molecular do Resveratrol.....	26
Figura 4 - Representação Esquemática de um Fosfolipídio.....	28
Figura 5 - Estrutura esquemática do lipossoma indicando o posicionamento do fármaco de acordo com a sua afinidade: lipossolúveis – bicamada lipídica; hidrossolúveis –região hidrofílica.	29
Figura 6 - Representação do Lipossoma e da Camada Lipídica.....	29
Figura 7 - Diferentes tipos de estrutura de vesículas	30
Figura 8 - Esquema de preparo de vesículas pelo método de hidratação do filme lipídico	32
Figura 9 - Processo de preparação de vesículas lipossômicas pela evaporação em fase reversa - Etapas de preparo de lipossomas pelo método de evaporação da fase reversa: (1) Fosfolipídios são dissolvidos em um solvente orgânico; (2) Uma solução aquosa contendo o fosfolipídio solubilizado no item (1) é preparada formando duas fases imiscíveis; (3) Ocorre a formação de emulsão água em óleo; (4) Ocorre a evaporação do solvente orgânico; (5) Ocorre a formação do organogel; (6) Formação dos lipossomas, através de adição de água sob agitação.....	33
Figura 10 - Representação esquemática do método de preparação dos lipossomas por evaporação por fase reversa.....	39
Figura 11 – Registro do evaporação dos lipossomas brancos no laboratório	46
Figura 12 – Espectro de FTIR das amostras preparadas.....	47
Figura 13 - Funções de correlação $C(q,t)$ adquirida no ângulo de espalhamento 90° e a respectiva distribuição do tempo de relaxação $A(t)$ a 25°C , para as formulações dos lipossomas brancos (AM_3 azul, AM_2 vermelho e AM_1 preto) Figura inserida mostra a respectiva distribuição do diâmetro $2R_H$, em número total, analisado usando algoritmo CONTIN.	52
Figura 14 - Relação Turbidez x Tamanho do Lipossoma.....	54
Figura 15 - DLS dos lipossomas com filtros	55
Figura 16 - DLS dos lipossomas brancos e com filtro solar	55

Figura 17 - AFM da Amostra 1	56
Figura 18 - AFM da Amostra 2	57
Figura 19 - AFM da Amostra 3	57
Figura 20 - AFM da Amostra 18	58
Figura 21 - AFM da Amostra 19	58
Figura 22 - AFM da Amostra 22	59
Figura 23 – FTIR de (a) Asolectina, (b) Colesterol, (c) Brij 78, (d) Óxido de Zinco, (e) Metoxocinamato de Octila.....	60
Figura 24 - FTIR dos lipossomas com filtros solares. (a) Amostra 05, (b) Amostra 12, (c) Amostra 10, (d) Amostra 16	62
Figura 25 – Termograma TGA dos lipossomas brancos (a) amostra 01, (b) amostra 02, (c) amostra 03	63
Figura 26 - Termograma de DSC das amostras (a) 01, (b) 02 e (c) 03.....	65
Figura 27 - Gráfico de UV das Amostras 19, 20, 21 e 22.....	67
Figura 28 - Espectros de Refletância Difusa Amostras (A)19, (B)20, (C)21 e (D) 22	68
Figura 29 - Cromatograma da amostra 13	69
Figura 30 - Cromatograma da amostra 14	69
Figura 31 - Cromatograma da amostra 15	70
Figura 32 - Cromatograma da amostra 22	70
Figura 33 – Termograma TGA da Amostra 01	92
Figura 34 – Termograma TGA da Amostra 02	92
Figura 35 – Termograma TGA da Amostra 03	92
Figura 36 – Termograma TGA da Amostra 05	93
Figura 37 - Termograma TGA da Amostra 07	93
Figura 38 - Termograma TGA da Amostra 21	94
Figura 39 - Termograma TGA da Amostra 22	94
Figura 40 - Termograma TGA do TiO ₂	95
Figura 41 - Termograma TGA do ZnO	95
Figura 42 - FTIR da amostra 01	97
Figura 43 – FTIR da amostra 02	97
Figura 44 - FTIR da amostra 03	98
Figura 45 – FTIR da amostra 05	98

Figura 46 – FTIR da amostra 06	99
Figura 47 – FTIR da amostra 07	99
Figura 48 – FTIR da amostra 08	100
Figura 49 – FTIR da amostra 09	100
Figura 50 – FTIR da amostra 10	101
Figura 51 – FTIR da amostra 11	101
Figura 52 – FTIR da amostra 12	102
Figura 53 – FTIR da amostra 13	102
Figura 54 - FTIR da amostra 14	103
Figura 55 - FTIR da amostra 15	103
Figura 56 – FTIR da amostra 16	104
Figura 57 – FTIR da amostra 17	104
Figura 58 – FTIR da amostra 18	105
Figura 59 – FTIR da amostra 19	105
Figura 60 – FTIR da amostra 20	106
Figura 61 – FTIR da amostra 21	106
Figura 62 – FTIR da amostra 22	107
Figura 63 – FTIR da Asolectina	107
Figura 64 – FTIR do Colesterol	108
Figura 65 – FTIR do TiO ₂	108
Figura 66 – FTIR do ZnO	109
Figura 67 – FTIR do Resveratrol	109
Figura 68 - Termograma de DSC da Amostra 01	110
Figura 69 – Termograma de DSC da Amostra 02	110
Figura 70 – Termograma de DSC da Amostra 03	111
Figura 71 – Termograma de DSC da Amostra 07	111
Figura 72 - Termograma de DSC da Amostra 08	112
Figura 73 - Termograma de DSC da Amostra 09	112
Figura 74 - Termograma de DSC da Amostra 10	113
Figura 75 - Termograma de DSC da Amostra 11	113
Figura 76 - Termograma de DSC da Amostra 12	114
Figura 77 -Termograma de DSC da Amostra 13	114
Figura 78 -Termograma de DSC da Amostra 14	115

Figura 79 -Termograma de DSC da Amostra 15.....	115
Figura 80 -Termograma de DSC da Amostra 16.....	116
Figura 81 -Termograma de DSC da Amostra 17.....	116
Figura 82 -Termograma de DSC da Amostra 18.....	117
Figura 83 -Termograma de DSC da Amostra 19.....	117
Figura 84 -Termograma de DSC da Amostra 20.....	118
Figura 85 -Termograma de DSC da Amostra 21.....	118
Figura 86 -Termograma de DSC da Amostra 22.....	119
Figura 87 - Espalhamento de Luz da Amostra 1	120
Figura 88 - Espalhamento de Luz da Amostra 2	120
Figura 89 - Espalhamento de Luz da Amostra 3	121
Figura 90 - Espalhamento de Luz da Amostra 5	121
Figura 91 - Espalhamento de Luz da Amostra 6	122
Figura 92 - Espalhamento de Luz da Amostra 7	122
Figura 93 - Espalhamento de Luz da Amostra 8	123
Figura 94 - Espalhamento de Luz da Amostra 9	123
Figura 95 - Espalhamento de Luz da Amostra 10	124
Figura 96 - Espalhamento de Luz da Amostra 11	124
Figura 97 - Espalhamento de Luz da Amostra 12.....	125
Figura 98 - Espalhamento de Luz da Amostra 13.....	125
Figura 99 - Espalhamento de Luz da Amostra 14.....	126
Figura 100 - Espalhamento de Luz da Amostra 15	126
Figura 101 - Espalhamento de Luz da Amostra 16	127
Figura 102 - Espalhamento de Luz da Amostra 17	127
Figura 103 - Espalhamento de Luz da Amostra 18	128
Figura 104 - Espalhamento de Luz da Amostra 19	128
Figura 105 - Espalhamento de Luz da Amostra 20	129
Figura 106 - Espalhamento de Luz da Amostra 21	129
Figura 107 - Espalhamento de Luz da Amostra 22	130
Figura 108 - Curva de calibração construída a partir dos cromatogramas de Resveratrol.....	131
Figura 109 - Cromatograma do Resveratrol.....	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da radiação UV	21
Tabela 2 - Materiais utilizados para a preparação dos lipossomas brancos	38
Tabela 3 - Ativos filtros solares e antioxidantes	40
Tabela 4 - Formulações da base de protetor solar com incorporação dos lipossomas.	40
Tabela 5 - Materiais utilizados para a preparação dos lipossomas brancos	46
Tabela 6 - Resultados de Radio Hidrodinamico (RH), Polidispersão (PDI), Potencial Zeta (ZP), Densidade Optica(D.O ^a).....	48
Tabela 7 - Formulações dos lipossomas brancos escolhidos	49
Tabela 8 - Formulações de lipossomas.....	50
Tabela 9 - Formulações de lipossomas 8 a 22.....	50
Tabela 10 - Resultados de Raio Hidrodinâmico (RH), Polidispersão (PDI), Potencial Zeta(ZP), Densidade Óptica(D.O ^a).....	51
Tabela 11 - Valores de Potencial Zeta x Tempo Lipossomas brancos.....	53
Tabela 12 - Eficiência de Encapsulamento do Resveatrol	71
Tabela 13 - Formulações da base de protetor solar com incorporação dos lipossomas.	71
Tabela 14 - Formulações de Lipossomas com ZnO.....	72
Tabela 15 - Resultados de FPS das formulações de Protetor Solar com incorporação dos lipossomas.....	73
Tabela 16 - Resultados individuais das análises de FPS das formulações.....	73
Tabela 17 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 23	75
Tabela 18 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 24	76
Tabela 19 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 25	77
Tabela 20 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 26	78

ANEXOS

ANEXO A - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE TGA LIPOSSOMAS.....	92
ANEXO B - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE FTIR.....	97
ANEXO C - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE DSC.....	110
ANEXO D - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE ESPALHAMENTO DE LUZ (DLS)...	120
ANEXO E - CURVA DE CALIBRAÇÃO RESVERATROL	131

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

AFM – Microscopia de Força Atômica

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASO – Asolectina de Soja

D.O – Densidade Óptica

DSC – Calorimetria de Varredura Diferencial

DLS – Espalhamento de Luz Dinâmico

EE% - Eficiência do Encapsulamento

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

FDA - Food and Drug Administration

FPS – Fator de Proteção Solar

FTIR - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

INCA – Instituto Nacional de Câncer

IV – Radiação Infravermelha

LUV – Vesículas Unilamelares Grandes

MLV – Vesículas Multilamelares

MMP-1 – Matrix Metaloproteinase-1

OCM – Octilmetoxicinamato

PC - Fosfodilcolina

PDI – Polidispersão

pH – Potencial Hidrogeniônico

PZ – Potencial Zeta

R_H – Raio Hidrodinâmico

RLs – Radicais Livres

SUV – Vesículas Unilamelares Pequenas

TiO_2 – Dióxido de Titânio

UV - Radiação Ultravioleta

Vis – Radiação visível

ZnO – Óxido de Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 PROTETOR SOLAR	20
2.2 RADIAÇÃO SOLAR	20
2.2.1 RADIAÇÃO UV	21
2.3 FILTROS SOLARES	22
2.3.1 FILTROS INORGÂNICOS	22
2.3.2 FILTROS ORGÂNICOS	23
2.4 FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES	25
2.5 LIPOSSOMAS	27
2.5.1 HISTÓRICO	27
2.5.2 DEFINIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS LIPOSSOMAS	27
2.5.3 MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE LIPOSSOMAS	31
2.5.3.1 Hidratação do filme lipídico	32
2.5.3.2 Evaporação em fase reversa	33
2.5.4 ESTABILIDADE DE LIPOSSOMAS	34
2.6 IMPORTÂNCIA CIENTÍFICA E TÉCNICOLÓGICA	34
3. OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	36
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	37
4.1 MATERIAIS	37
4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	37
4.3 MÉTODOS	38
4.3.1 PREPARAÇÃO DOS LIPOSSOMAS	38
4.3.2 PREPARAÇÃO DO PROTETOR SOLAR	40
4.3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS	41
4.3.3.1 Microscopia de Força Atômica (AFM)	41
4.3.3.2 Potencial Zeta (ZP)	41
4.3.3.3 Espectroscopia de Ultravioleta-Visível	42
4.3.3.4 Ensaio de Turbidez	42

4.3.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA).....	42
4.3.6 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)	43
4.4.7 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	43
4.4.8 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)	43
4.4.9 Determinação de eficiência de encapsulamento (EE%) de resveratrol	45
5. RESULTADOS.....	46
5.1 OBTENÇÃO DOS LIPOSSOMAS BRANCOS	46
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS BRANCOS	47
5.3 OBTENÇÃO DOS LIPOSSOMAS COM FILTROS SOLARES	49
5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS COM FILTROS SOLARES	51
5.5 EFICIÊNCIA DO ENCAPSULAMENTO DO RESVERATROL	68
5.6 INCORPORAÇÃO DOS LIPOSSOMAS EM PROTETOR SOLAR	71
5.6.1 DETERMINAÇÃO DO FPS	72
5.6.2 ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA	74
6 CONCLUSÃO	80
7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....	82
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
ANEXO(S).....	91
ANEXO A - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE TGA LIPOSSOMAS	92
ANEXO B - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE FTIR	97
ANEXO C - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE DSC.....	110
ANEXO D - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE ESPALHAMENTO DE LUZ (DLS)	120
ANEXO E - CURVA DE CALIBRAÇÃO RESVERATROL	131

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados de 2022 da ABIHPEC, Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, o segmento cosmético nacional apresentou um crescimento médio deflacionado de 10 % nos últimos 16 anos. O Brasil ocupa atualmente a 2ª posição mundial em comercialização de protetores solares e a 3ª posição no setor cosmético em geral. O segmento de proteção solar foi o que mais cresceu nos últimos anos no Brasil, graças à maior conscientização dos consumidores em relação à proteção de sua pele em relação aos efeitos que podem ser causados pela radiação solar. A radiação ultravioleta (UV), emitida pelo sol é conhecida por provocar inúmeros danos ao tecido epitelial, sendo o mais grave deles o câncer de pele, que, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA) é responsável por milhares de mortes ao ano.

Os produtos utilizados como protetores solares apresentam na sua composição filtros solares físicos e/ou químicos. Os filtros solares são substâncias capazes de absorver, refletir ou dispersar a radiação ultravioleta proveniente dos raios solares, protegendo a pele humana contra efeitos adversos, agudos e crônicos. (GONZALEZ et al, 2008)

A exposição à radiação UV pode aumentar a produção de radicais livres e inativar os componentes do sistema antioxidante. Os filtros solares não proporcionam uma proteção completamente eficaz em relação à não formação de RLs e o uso de substâncias com potencial antioxidante pode fornecer novas perspectivas para a prevenção de danos oxidativos mediados pelos radicais livres. (AFAQ,2011).

Lipossomas, são estruturas coloidais constituídas de um núcleo interno aquoso e uma membrana formada pela auto-associação de moléculas fosfolipídicas em bicamadas. De acordo com o seu tamanho, formato, morfologia e características físico-químicas, estas estruturas que possuem a capacidade de encapsulamento de compostos hidrofílicos no seu núcleo aquoso e compostos hidrofóbicos nas bicamadas lipídicas, oferecendo uma larga aplicação em diversas áreas.

O desenvolvimento de protetores solares lipossomais pode ser de grande interesse para a indústria, pois por meio desses sistemas pode-se modificar as propriedades dos materiais, proporcionando inúmeros benefícios, tais como perfil de liberação controlado do(s) ativo(s) encapsulado(s), melhora na estabilidade dos filtros encapsulados, maior estabilidade e eficácia, bem como a redução de reações adversas. (JAIN & JAIN, 2010).

A tecnologia dos lipossomas permite associar substâncias com ações e finalidades diferentes, obtendo um produto sinérgico de ampla ação com resultados mais eficazes. Sendo assim, o presente projeto visa desenvolver e avaliar lipossomas contendo filtros solares físicos e/ou químicos associados a um ativo antioxidante com objetivo de aumentar a eficácia fotoprotetora da formulação, reduzir a toxicidade do produto, evitar a formação de radicais livres provocados pela radiação solar e melhorar os aspectos cosmetológicos do produto final.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PROTETOR SOLAR

Protetores solares são produtos compostos por moléculas orgânicas e/ou inorgânicas com atividade fotoprotetora incorporadas em uma base cosmética são utilizados para proteger a pele da radiação ultravioleta proveniente do sol. O protetor solar pode ser apresentado comercialmente na forma de creme, gel, spray ou outro produto tópico (JAIN e JAIN, 2010). Há variadas bases cosméticas utilizadas para protetores solares, entretanto a emulsão vem sendo mais utilizada pela facilidade de incorporação dos ativos e filtros solares (OTTO et al., 2009).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define os protetores solares como produtos cosméticos e apresenta a relação de filtros ultravioleta permitidos, contendo 38 ingredientes ativos.

O segmento de proteção solar foi o que mais cresceu nos últimos anos no Brasil, graças à maior conscientização dos consumidores em relação à proteção de sua pele em relação aos efeitos que podem ser causados pela radiação solar. (ABIHPEC, 2012).

2.2 RADIAÇÃO SOLAR

O Sol é a principal fonte de energia de todo o sistema solar. Tal energia é emitida sob a forma de radiações corpusculares (prótons, elétrons e partículas) e eletromagnéticas de diferentes comprimentos de onda, com frequências e níveis de energia associados (NEVES, 2008).

O espectro solar que atinge a superfície terrestre é formado predominantemente por radiações ultravioletas (100–400 nm), visíveis (400–800 nm) e infravermelhas (acima de 800 nm). Nosso organismo percebe a presença destas radiações do espectro solar de diferentes formas. A radiação infravermelha (IV) é percebida sob a forma de calor, a radiação visível (Vis) através das diferentes cores detectadas pelo sistema óptico e a radiação ultravioleta (UV) através de reações fotoquímicas. (FLOR et al, 2006).

2.2.1 RADIAÇÃO UV

A radiação ultravioleta (UV), emitida pelo sol é conhecida por provocar inúmeros danos ao tecido epitelial, sendo o mais grave deles o câncer de pele, que, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA) é responsável por milhares de mortes ao ano. Além disso, a exposição da pele aos raios UV sem nenhuma proteção favorece a ocorrência de estresse oxidativo, danos ao DNA, envelhecimento precoce da pele, geração de espécies reativas de oxigênio e múltiplos efeitos sobre o sistema imune. O espectro responsável por causar esses danos compreende os comprimentos de onda que vão de 290 a 400nm, e inclui a radiação UVA e UVB. (NICHOLS; KATIYAR, 2010).

Um filtro solar deve absorver e/ou refletir a radiação UV e oferecer absorção homogênea sobre um largo espectro de radiação UV. Isto significa que, a formulação fotoprotetora não deve apenas proteger contra a radiação ultravioleta de baixo comprimento de onda (UVB), que é o principal responsável pelo eritema e pela queimadura solar. Deve também proteger contra o UVA, a radiação ultravioleta de alto comprimento de onda que não é apenas responsável pelo bronzeamento, mas também atua nos danos à pele provocados pela luz solar, fotoenvelhecimento, fotodermatose aguda e crônica e imunossupressão. A proteção completa contra toda a faixa do UV raramente é possível com um único filtro UV. Portanto, a maioria dos filtros solares modernos usa uma combinação de vários filtros orgânicos e inorgânicos para cobrir todo o espectro de UV (PETRAZZUOLI, 2000).

A energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, assim a radiação UV é a de menor comprimento de onda e, conseqüentemente, a mais energética, ou seja, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas. (KIMBROUGH, 1997). A radiação UV de energia menor penetra mais profundamente na pele e, ao atingir a derme, é responsável pelo fotoenvelhecimento. A faixa da radiação UV (100 a 400nm) pode ser dividida em três partes: UVA, UVB e UVC, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação da radiação UV

Radiação UV	Comprimento de Onda(λ nm)	Incidência Terrestre(%)
UVA I	340-400	-
UVA II	320-340	

UVB	290-320	05
UVC	200-290	-

Fonte: KIMBROUGH, 1997

2.3 FILTROS SOLARES

Os filtros solares têm sido utilizados por muitos anos para proteger a pele humana contra efeito adversos, agudos e crônicos, da radiação solar. (YESUDIAN, 2002).

Durante os últimos 40 anos, um grande número de diferentes moléculas foi introduzido no mercado mundial para atuarem como filtros solares: ácido tânico, salicilato de benzila, derivados do ácido paraaminobenzóico (PABA), derivados de 2-fenilimidazois, ácido antranílico, vários cinamatos e benzofenonas. (URBACH, 2001).

Atualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) disponibiliza a listagem das substâncias químicas orgânicas e inorgânicas que podem ser utilizadas como filtros solares. (ANVISA, 2005).

2.3.1 FILTROS INORGÂNICOS

Os filtros solares inorgânicos são representados por materiais minerais como caulim, sulfato de bário, mica e óxido de ferro, talco, calamina, mas principalmente por dois óxidos: ZnO e TiO₂. Esses funcionam ao refletir raios ultravioletas que atingem a pele, em vez de envolver um processo de absorção da radiação emitida a partir dos diferentes comprimentos de onda, como fazem os filtros solares orgânicos (FORESTIER, 2008).

Os filtros inorgânicos possuem uma capacidade reconhecida de bloquear as radiações solares UVA e UVB, criando uma barreira para a passagem da radiação, ou seja, eles funcionam como refletores, e representam uma forma segura e eficaz para proteger a pele. Em particular, ZnO e TiO₂ estão na lista de ingredientes ativos seguros para uso em protetores solares, pois apresentam um baixo potencial de irritação, sendo inclusive, os filtros solares recomendados no preparo de fotoprotetores para uso infantil (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Os filtros orgânicos diferem dos filtros inorgânicos por serem excessivamente opacos, não têm uma boa aceitação pelo usuário, pois possuem textura pastosa e deixam a pele com aspecto esbranquiçado. (REETH, 2005)

2.3.2 FILTROS ORGÂNICOS

Os filtros orgânicos são geralmente compostos aromáticos conjugados a grupos carboxílicos. Essas moléculas orgânicas são capazes de absorver a radiação ultravioleta de alta energia transformando-a em radiações de menor energia, inofensivas ao ser humano (LATHA *et al.*, 2013).

Os filtros orgânicos podem induzir alguns efeitos adversos como, por exemplo, irritação da pele, reações alérgicas de contato e fotoalergia (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005). Com base nessas informações, as pesquisas na área dos filtros solares buscam encontrar filtros com proteção e estabilidade cada vez mais amplas e reações adversas menos pronunciadas ou inexistentes (RIEGER, 2006).

Os filtros solares orgânicos são classificados em filtros solares UVA e UVB dependendo do tipo de radiação a qual eles conferem proteção (SHAATH, 1997):

- Filtros solares UVA absorvem radiação entre 320 a 360 nm, exemplo: benzofenonas e antranilatos.
- Filtros solares UVB absorvem radiação entre 290 e 320 nm, exemplo: PABA, salicilatos e cinamatos.

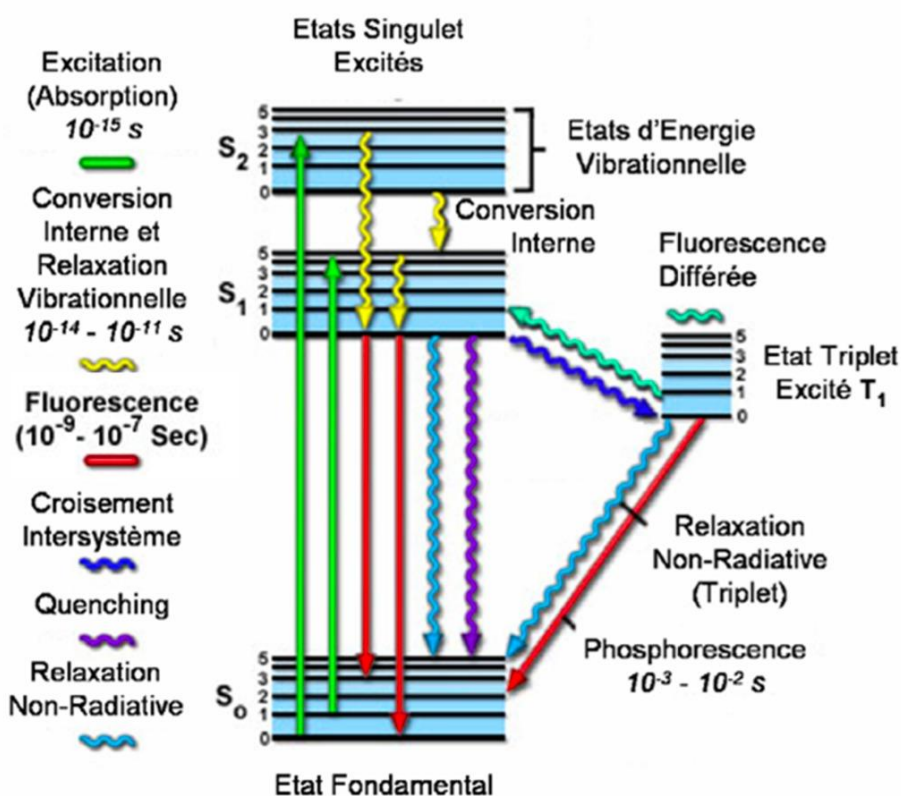
Formulações antissolares contendo filtros solares anti UVB já são utilizadas com frequência por décadas, enquanto que, aquelas com filtros solares anti UVA e de amplo espectro foram desenvolvidas mais recentemente. (LAUTENSCHLAGER, WULF & PITTELKOW, 2007).

Os filtros solares químicos atuam absorvendo a radiação UV devido à presença de um cromóforo em sua estrutura química. Nas moléculas orgânicas, os cromóforos estão associados a elétrons π deslocados em um sistema conjugado. (KIMBROUGH, 1997). De forma geral, quando uma molécula absorve um fóton, há energia suficiente para promover o elétron a um estado energético mais elevado e, portanto, a molécula sai do estado fundamental e passa a um estado excitado. (LATHA *et al.*, 2013). A absorção da radiação UV promove uma mudança no estado eletrônico da molécula no estado fundamental e com isso, minimizam-se os efeitos bioquímicos causados à pele do indivíduo exposto ao sol. (TRUSCOTT, 2001).

A Figura 1, representa o Diagrama de Jablonski simplificado, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após a molécula absorver um fóton com energia da faixa do ultravioleta ou visível. So é o estado fundamental, S_1 e T_1 são, respectivamente,

os estados excitados singlete e triplete de menor energia. S₂ é um segundo estado excitado singlete. (VALEUR, 2001; SOTOMAYOR et al,2008). As setas retas representam os processos radioativos (absorção, fluorescência e fosforescência) enquanto as setas onduladas representam as transições não-radioativas (conversão interna e externa e relaxação vibracional). As linhas horizontais mais finas representam numerosos níveis de energia vibracionais associados a cada um dos quatro estados eletrônicos. (VALEUR, 2001; SOTOMAYOR et al,2008).

Figura 1 - Diagrama de Jabloski



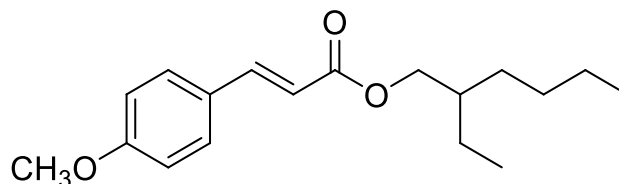
Fonte: PEREZ, 2011.

2.3.2.1 *p* - metoxicinamato de Octila

Atualmente um dos principais compostos utilizado na proteção UV é o *p* metoxicinamato de octila (MCO).

O MCO é um líquido oleoso, transparente, levemente amarelado, inodoro, insolúvel em água, solúvel em etanol e óleo mineral. Seu peso molecular é 290,4 e o ponto de ebulição está na faixa de 185-195°C (THE MERCK INDEX, 2001).

Figura 2 – Estrutura química do *p*-metoxicinamato de octila



Fonte: VOLP, 2011.

O *p*-metoxicinamato de octila ou octilmetoxicinamato (Figura 2) é um filtro solar químico derivado da classe dos cinamatos que absorve na faixa do UVB, apresentando absorção máxima em 310 nm. Seu uso é permitido no Brasil na concentração máxima de 10% em formulações de uso cosmético; (ANVISA,2005).

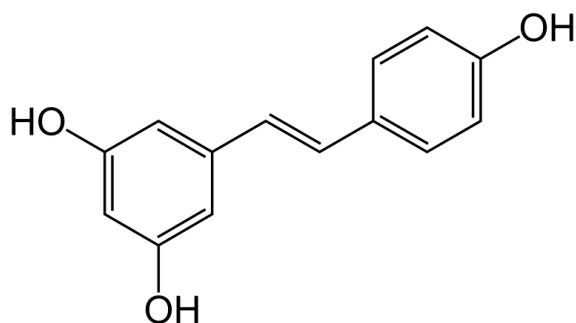
2.4 FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES

Considerando que a exposição à radiação UV pode aumentar a produção de EROs (Espécies reativas de oxigênio) e inativar os componentes do sistema antioxidante, e que os filtros solares não proporcionam uma proteção completamente eficaz, o uso de substâncias com potencial antioxidante pode fornecer novas perspectivas para a prevenção de danos oxidativos mediados pelos radicais livres. (AFAQ,2011).

Nesse sentido, estudos demonstram que os polifenóis estão entre os agentes preventivos mais promissores para serem utilizados contra as desordens da pele. (AFAQ,2011). A maioria dos polifenóis apresenta semelhanças estruturais com os filtros orgânicos convencionais podendo, portanto absorver a radiação UV em todo espectro UVB e em parte do espectro UVA. Dessa forma, a aplicação tópica desses antioxidantes pode complementar a proteção oferecida pelos filtros solares convencionais. (NICHOLS;KATIYAR,2010).

O Resveratrol é um polifenol, com poder antioxidante que possui diversos efeitos biológicos, que é encontrado em uma variedade de plantas, e é notável por suas propriedades fitoquímicas. Os compostos poli fenólicos atuam como antioxidantes devido à sua capacidade de doar hidrogênio para neutralizar espécies de radicais livres geradas por condições de estresse oxidativo (RAMIS et al., 2015). A Figura 3 apresenta a estrutura molecular do resveratrol.

Figura 3 - Estrutura molecular do Resveratrol



Fonte: PANDEY; RIZVI, 2011.

O resveratrol gerou intenso interesse científico e público nos últimos anos, principalmente por ser amplamente divulgado a sua capacidade de adiar o envelhecimento e prevenir doenças de pele (PANGENI et al., 2014). Como antioxidante têm a função de diminuir MMP-1 resultando em efeito anti-colagenase, anti-elastase e anti-hialuronidase (THRING, T.; HILI, P, NAUGHTON, D, 2009).

A sinergia de filtros solares e o resveratrol nos lipossomas, promove efeitos benéficos, principalmente no bloqueio considerável de produtores de radicais livres, relacionados ao fotodano da pele. (RIBEIRO, 2010). Estudos realizados, mostram que a nanotecnologia é uma alternativa viável, apresentando resultados satisfatórios na liberação de resveratrol sem ação citotóxica. (TESKACK., KRISTL, J., 2010). Em outro estudo, a obtenção de resveratrol em lipossomas favoreceu a sua solubilidade, aumentando a compatibilidade nas formulações. (FREITAS, J, V., LOPES, N, P., GASPAR, L, R., 2015).

2.5 LIPOSSOMAS

2.5.1 HISTÓRICO

Os lipossomas foram produzidos artificialmente por acaso em um trabalho de Alec Bahgham e colaboradores publicado em 1965 onde foi feita a caracterização de um sistema de vesículas fosfolipídicas, que mais tarde foram denominados lipossomas. Após o trabalho de Bahgham, os lipossomas estabeleceram-se como sistemas modelo para estudo de membranas biológicas e simulação de interações entre células e o meio extracelular. (IMURA, T.; et al, 2003). Também houve sucesso na incorporação de enzimas e o crescente interesse na sua aplicação médica e farmacológica levou Gregory Gregoriadis a propor o uso de lipossomas como sistema carreador de fármacos em 1971. Desde então, muitos pesquisadores como Demetrius Papahadjopoulos, fundador do científico Liposome Technology nos EUA, têm dedicado seus esforços no desenvolvimento de lipossomas carreadores, desde a produção de matérias-primas e métodos de preparação de lipossomas, até estudos in vitro e in vivo e mais recentemente estudos clínicos. (PALEOS; et al, 2001)

Nos últimos anos os lipossomas passaram a assumir um papel importante nas áreas de dermatologia e cosmetologia. Os lipossomas têm sido amplamente utilizados como veículos em formulações cosméticas, em razão da sua estrutura proporcionar a encapsulação de substâncias ativas hidrofílicas e lipofílicas. (SANTOS & CASTANHO, 2002).

2.5.2 DEFINIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS LIPOSSOMAS

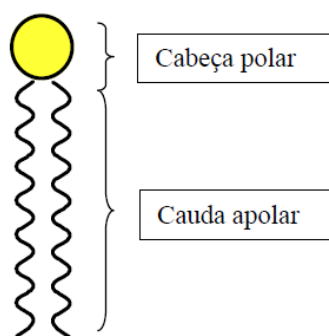
A palavra “lipossoma” é derivada do grego: “lipo” que se refere à sua constituição gordurosa e “soma” refere à sua estrutura. Lipossomas são vesículas microscópicas simples nas quais um volume aquoso é totalmente fechado por uma membrana composta por molécula lipídica. (MUFAMADI et al., 2011).

Lipossomas são estruturas vesiculares compostas por moléculas anfifílicas, tais como fosfolipídios, possuindo elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade. Seu

tamanho pode variar de nanômetros até vários micrometros, sendo tanto a técnica quanto os componentes importantes para definir suas propriedades físico-químicas finais, como carga de superfície, tamanho e estabilidade. (PURI et al., 2009)

A composição lipídica da membrana lipossômica varia muito, dependendo dos fosfolipídios que a constituem. Fosfolipídios, por sua vez, são lipídios de membranas celulares que contêm dois ácidos graxos e um grupo altamente polar ou carregado (grupo-cabeça polar), que está ligado à porção hidrofóbica por uma ligação fosfodiéster. Uma representação esquemática de um fosfolipídio pode ser visualizada na Figura 3, na qual o círculo em amarelo representa a cabeça polar e as caudas em preto representam as cadeias carbônicas apolares do fosfolipídio. (MUFAMADI et al., 2011).

Figura 4 - Representação Esquemática de um Fosfolipídio

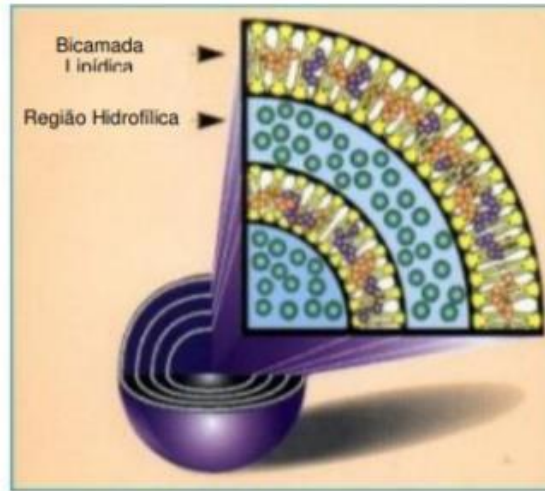


Fonte: MUFAMADI et al., 2011

Dentre os diferentes tipos de fosfolipídeos que podem fazer parte da formação das bicamadas vesiculares lipossomais pode-se citar: fosfatidilcolina, fosfatidilglicerol, diestearoil fosfatiletanolamina, entre outros. Entretanto, as moléculas de Fosfatidilcolina (PC) são as mais utilizadas por possuírem carga neutra e inércia química. (MELO et al, 2003).

Devido à sua composição, os lipossomas possuem a habilidade de encapsular tanto moléculas hidrofílicas quanto lipofílicas, permitindo que uma grande variedade de substâncias seja encapsuladas nestas vesículas. Moléculas lipofílicas ficam inseridas na membrana lipídica e as hidrofílicas ficam encapsuladas no compartimento aquoso, conforme demonstrado na Figura 5. Alternativamente, ambos os tipos de substância podem ser encapsuladas. (CODEVILLA, 2015).

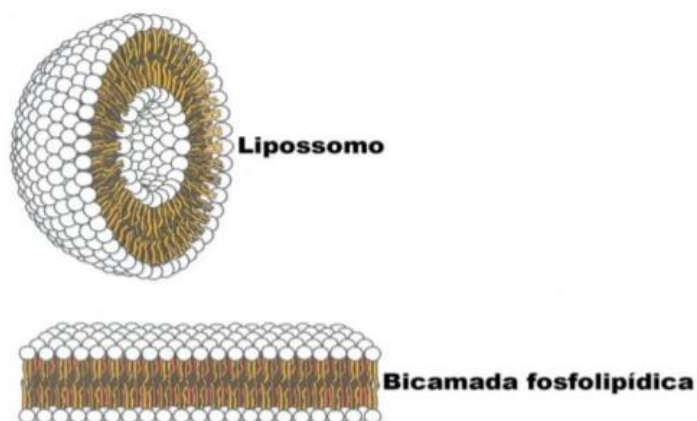
Figura 5 - Estrutura esquemática do lipossoma indicando o posicionamento do fármaco de acordo com a sua afinidade: lipossolúveis – bicamada lipídica; hidrossolúveis – região hidrofílica.



Fonte: CODEVILLA, 2015.

Na evolução de seu emprego como carreadores de fármacos, algumas alterações foram realizadas na estrutura básica dos lipossomas possibilitando maior aplicação terapêutica sendo também classificados quanto às características de interação com sistemas biológicos (DANAELI et al., 2018).

Figura 6 - Representação do Lipossoma e da Camada Lipídica



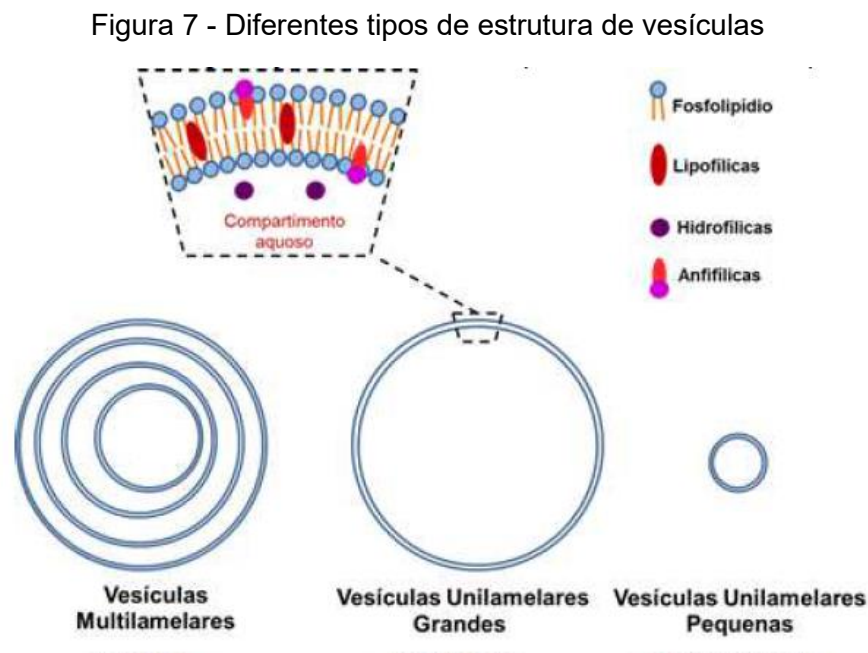
Fonte: SERCOMBE et al., 2015.

Os lipossomas podem conter uma única bicamada lipídica ou bicamadas múltiplas em torno do compartimento aquoso interno, portanto (Figura 6), são classificados em

unilamelar e multilamelar, respectivamente. A nomenclatura dos lipossomas é baseada no número de lamelas e tamanho, podendo ser divididas nas seguintes categorias. (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

- a) Vesículas unilamelares pequenas (*Small Unilamellar Vesicles* – SUV): formadas por uma única bicamada, são as menores, com diâmetro variando de 20 nm a 80 nm.
- b) Vesículas unilamelares grandes (*Large Unilamellar Vesicles* – LUV): formadas por uma única bicamada lipídica, com tamanho intermediário e diâmetro variando de 80 nm e 1 μm .
- c) Vesículas multilamelares (*Multilamellar Vesicles* – MLV): formadas por várias bicamadas lipídicas, com tamanho médio e com diâmetro variando de 400 nm a alguns μm .

A Figura 7 mostra os diferentes tipos de estruturas das vesículas.



Fonte: SERCOMBE et al., 2015.

Na área cosmética, os lipossomas vêm sendo utilizados, tanto para aumentar a incorporação e melhorar a performance de substâncias ativas às células, quanto como veículos para liberação controlada de princípios ativos. Eles têm sido empregados na prevenção da queda de cabelos, promoção do crescimento capilar, desaceleração do processo de envelhecimento da pele, clareamento da pigmentação cutânea, proteção solar, entre outros. As principais vantagens do emprego de lipossomas para a administração de agentes dermocosméticos são o fato de que podem transportar substâncias hidro e

lipossolúveis, apresentam alta afinidade pelas membranas biológicas, são constituídos de anfífilos naturais biocompatíveis e biodegradáveis, além de acentuarem a hidratação natural da pele e cabelo. (CHORILLI et al, 2013).

De acordo com FERREIRA (2016), os lipossomas são encontrados em muitas formulações cosméticas de maneira a transportar substâncias ativas até a epiderme. Além disso, podem ser incorporados nos cosméticos com o intuito de elevar a quantidade de lipídios no estrato córneo, hidratar a pele ou reduzir alguma característica indesejada causada pela substância ativa. Verificou-se que a maioria das formulações que apresentam lipossomas em sua constituição têm a finalidade de evitar precocemente o envelhecimento. Os ativos responsáveis e integrantes neste tipo de cosméticos são os derivados de vitamina A, vitamina E, retinol, alfa hidroxí-ácidos e Coenzima Q10. Através de vários estudos, existem benefícios da encapsulação desses ativos nos lipossomas. Ativos sensíveis como as vitaminas podem ser incorporadas nos lipossomas onde são protegidos da degradação química, da luz e da temperatura, beneficiando a sua estabilidade a longo prazo. (ANTUNES, 2016).

Segundo AZEVEDO (2002) os sistemas lipossômicos oferecem numerosas vantagens, tais como:

- a)** Maior eficácia terapêutica, com percentual menor de ativo;
- b)** Diminuição significativa da toxicidade, evitando a ocorrência de irritabilidade dérmica;
- c)** Proteger os ativos, aumentando sua estabilidade à degradação;
- d)** Tanto substâncias lipofílicas como hidrofílicas podem ser incorporadas;

2.5.3 MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE LIPOSSOMAS

Existem vários métodos de preparo de lipossomas, dentre eles: hidratação do filme lipídico, extrusão, sonicação, injeção de etanol e evaporação de fase reversa (AKBARZADEH et al., 2013).

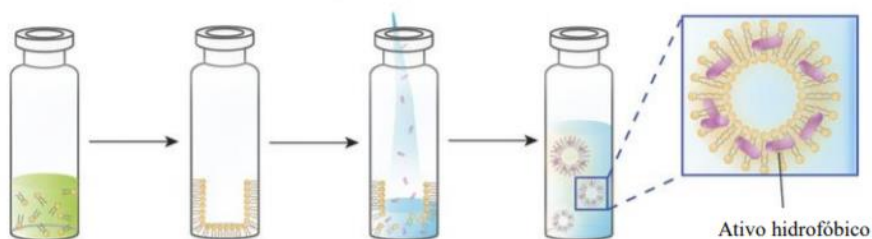
Os lipossomas podem ser preparados a partir de misturas lipídicas naturais extraídas e purificadas, ou a partir de lipídios sintéticos, disponíveis comercialmente. Estas vesículas

são constituídas basicamente por fosfolipídeos (podendo ser de natureza sintética ou natural), esteróis e um antioxidante. (SANTOS; CASTANHO, 2002)

2.5.3.1 Hidratação do filme lipídico

Vários métodos são preconizados para a preparação dos diferentes tipos de lipossomas. A maioria dos métodos inclui a hidratação de um filme lipídico, onde primeiramente os lipídeos são dissolvidos em solvente orgânico, seguido da evaporação do solvente com conseqüente formação do filme lipídico. A hidratação deste último pode ser efetuada com água ou solução tampão, sob agitação magnética vigorosa, promovendo a formação da dispersão de lipossomas multilamelares. O fármaco a ser encapsulado pode ser incorporado na solução tampão (hidrofílicos) ou dissolvido na mistura lipídica (lipofílicos). (TONIAZZO, 2014). A Figura 8 mostra o esquema da obtenção de lipossomas através do método de hidratação do filme lipídico.

Figura 8 - Esquema de preparo de vesículas pelo método de hidratação do filme lipídico



Fonte: TONIAZZO, 2014.

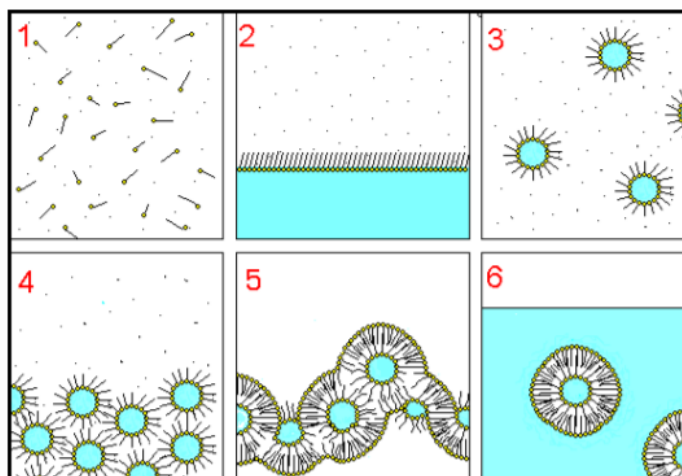
Inicialmente prepara-se o filme lipídico, solubilizando todos os componentes lipofílicos em solvente orgânico, coloca-se em balão de fundo redondo e evapora-se o solvente, formando o filme. A hidratação do filme lipídico consiste em adicionar uma solução aquosa ao filme lipídico seco e através de agitação o filme antes aderido à parede do balão se desprende e forma as MLVs como representado na Figura 8 (LASCH; WEISSIG; BRANDL, 2013).

2.5.3.2 Evaporação em fase reversa

O método de evaporação em fase reversa foi primeiramente descrito por SZOKA e PAPAHAADJOPOULOS em 1978, e representou grande avanço no preparo de lipossomas, devido à capacidade de produzir LUV's com grande núcleo aquoso, capaz de encapsular grandes quantidades de fármacos hidrofílicos (SZOKA; PAPAHAADJOPOULOS, 1978; LASCH; WEISSIG; BRANDL, 2003).

Neste método os fosfolipídios são dissolvidos em um solvente orgânico, uma solução aquosa previamente preparada contendo o bioativo a ser encapsulado é adicionada formando duas fases não miscíveis. Essa mistura é então homogeneizada para formação de uma emulsão água em óleo. Essa emulsão resultante caracteriza-se da seguinte forma: a extremidade polar dos fosfolipídios é atraída pela fase aquosa, enquanto a extremidade hidrofóbica interage com o solvente orgânico. Em seguida, a emulsão é submetida a evaporação do solvente orgânico em evaporador rotatório, conseqüentemente, o sistema é convertido para uma dispersão aquosa de vesículas. A evaporação do solvente orgânico resulta na formação de um gel. Na etapa final, sob agitação, os lipossomas são formados e o sistema torna-se um líquido leitoso. (TAYLOR, et al, 2005). A Figura 9 mostra as etapas de preparação dos lipossomas pelo método de evaporação em fase reversa.

Figura 9 - Processo de preparação de vesículas lipossômicas pela evaporação em fase reversa - Etapas de preparo de lipossomas pelo método de evaporação da fase reversa: (1) Fosfolipídios são dissolvidos em um solvente orgânico; (2) Uma solução aquosa contendo o fosfolipídio solubilizado no item (1) é preparada formando duas fases imiscíveis; (3) Ocorre a formação de emulsão água em óleo; (4) Ocorre a evaporação do solvente orgânico; (5) Ocorre a formação do organogel; (6) Formação dos lipossomas, através de adição de água sob agitação.



Fonte: BRANGEL, 2011.

2.5.4 ESTABILIDADE DE LIPOSSOMAS

A estabilidade dos lipossomas está intimamente ligada à sua composição lipídica. A escolha dos fosfolipídios pode determinar o tempo e a forma de armazenagem de uma formulação lipossomal. Tanto os fosfolipídios saturados quanto os insaturados sofrem degradação através de processos de hidrólise e oxidação, porém os insaturados são mais susceptíveis, por permitirem o deslocamento desse elétron não emparelhado ao longo da cadeia lipídica, acarretando na formação de radicais livres, que na presença de oxigênio levam a formação de hidroperóxidos e ruptura da cadeia de ácidos graxos (GRIT; CROMMELIN, 1993).

A degradação desses fosfolipídios acarreta na desestruturação da bicamada lipídica, podendo levar à coalescência e aumento do diâmetro médio das partículas, diminuição na EE% (Eficiência do Encapsulamento), acidificação no pH, além da formação de produtos tóxicos. Todos os processos podem influenciar no desempenho *in vivo* da formulação (ZUIDAM et al., 1996; ZUIDAM; CROMMELIN; 1995). Para tanto, existem técnicas capazes de proporcionar maior estabilidade às formulações, como adição de antioxidantes, a incorporação de colesterol e a liofilização (ZHAO, et al., 2007).

No entanto, mesmo com técnicas para desacelerar este processo é importante que haja maneiras de detectar a presença de tais produtos, para acompanhar essa estabilidade em diversas condições e estabelecer parâmetros que mantenham as características da formulação. Em 2015, o FDA, divulgou um guia para as indústrias, com características que devem ser avaliadas para aprovação a comercialização de formulações lipossomais, tais quais análise do tamanho, carga superficial, EE% e entre outros a análise dos produtos de degradação dos componentes lipídicos da formulação.

2.6 IMPORTÂNCIA CIENTÍFICA E TÉCNICOLÓGICA

Lipossomas são estruturas que apresentam grande similaridade às membranas celulares, tanto do ponto de vista estrutural como de composição. De maneira geral, são produzidos com fosfolipídios encontrados na natureza, biodegradáveis e não tóxicos. Assim, os lipossomas adquiriram uma larga aceitação tanto na ciência fundamental como em áreas aplicadas.

Do ponto de vista de aplicação tecnológica e comercial, deve ser considerada a capacidade que os lipossomas possuem em encapsular moléculas hidrofílicas no núcleo aquoso e moléculas hidrofóbicas na região apolar das bicamadas e liberar estas moléculas dentro de determinadas condições ambientais e energéticas. Por consequência, estas propriedades tornam o lipossoma um veículo extremamente atrativo para o transporte de fármacos para locais específicos, processos que vem sendo designado como vetorização de fármacos. (TORCHILIN, 2005)

Para a efetiva aplicação de lipossomas como sistema carreador e vetorizador de fármacos devem ser considerados os parâmetros físico-químicos e coloidais tais como composição, tamanho, capacidade e eficiência de encapsulamento ou incorporação do fármaco, estabilidade no armazenamento e no meio de aplicação e interações com células e o meio de aplicação. (TORCHILIN, 2005)

Lipossomas podem ser formulados em suspensões, como aerossol, gel ou mesmo em pó, tendo uma ampla aplicação na cosmetologia. O mecanismo de ação de lipossomas permite o transporte de ativos hidratantes, nutrientes e outras substâncias através da pele. Lipossomas com propriedades diferenciadas tem sido desenvolvido, visando proporcionar além da ação, uma estabilidade maior em formulações cosméticas.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem o objetivo de encapsular de filtros solares (orgânicos e inorgânicos) e ativo antioxidante em lipossomas obtidos pelo método de evaporação em fase reversa, para o aumento da eficácia fotoprotetora, da estabilidade e a melhoria no aspecto do produto final.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Obter lipossomas pelo método de evaporação em fase reversa e através de técnicas de caracterização definir as melhores formulações de lipossomas para o estudo;
- Incorporar o(s) filtro(s) solares e o ativo antioxidante nos lipossomas e realizar as análises de caracterização físico-química, estrutural e térmica;
- Manipular formulações de Protetores solares e realizar a incorporação dos lipossomas obtidos e determinar os valores de FPS dos produtos;
- Avaliar a ação dos lipossomas obtidos em relação à proteção solar, através de análise de UV e determinação de FPS.
- Realizar avaliação do protetor solar com os lipossomas através de estudo de estabilidade de cosméticos.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

Os insumos utilizados na obtenção dos lipossomas foram obtidos de fontes comerciais da Sigma-Aldrich Chemical Company, Vetec e BASF, usados sem purificações prévias.

- Água pura (MilliQ)
- Asolectina (~25% de Fosfatidilcina, Cefalina e Fosfatidilinositol), Sigma-Aldrich Chemical Company;
- BRIJ 78 (Éter Polioxietileno-20-Estearílico) - Sigma-Aldrich Chemical Company;
- Colesterol - Sigma-Aldrich Chemical Company;
- Clorofórmio - Vetec;
- Fosfatidilcolina - Sigma-Aldrich Chemical Company;
- *p*-Metoxicinamato de octila - BASF, Alemanha.
- Pluronic F68 (PEO-PPO-PEO), Sigma-Aldrich Chemical Company;
- Óxido de Zinco – BASF;
- Dióxido de Titânio – BASF;
- Resveratrol.

4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- Balança Shimadzu modelo ATY224, n° série D31900036, inmetro 11832179, certificado de calibração M33742/2023;
- Banho de Ultrassom – T14, Thorton;
- Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-1800;
- Pipeta automática para Líquidos 200, 1000 e 5000 µL;
- IKA® RV 10 Rotary Evaporator model IKA®, Staufen, German;
- Analisador NanoBrook Omni ZP;
- Espectrofotômetro Ultravioleta-Visível Shimadzu - modelo UV-2450
- Equipamento Shimadzu (modelo TGA-50);
- Netzsch, modelo DSC 3500 Sirius;

- SHIMADZU modelo IR Prestige 21;
- Microscópio de Força Atômica Shimadzu SPM-9700;
- Agitador de bancada Fisatom 713D;
- pHmetro de bancada KASVI;
- Estufa microprocessada Q317M – Quimis.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 PREPARAÇÃO DOS LIPOSSOMAS

Os lipossomas foram preparados pelo método de evaporação em fase reversa. (MERTINS *et al.*, 2005, FEUSER *et al.*, 2022). Primeiramente foram feitos os lipossomas brancos, para avaliar a estabilidade e tamanho do lipossoma e definir qual a melhor composição para incorporar os filtros solares e o ativo antioxidante. Os materiais escolhidos para compor os lipossomas brancos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Materiais utilizados para a preparação dos lipossomas brancos

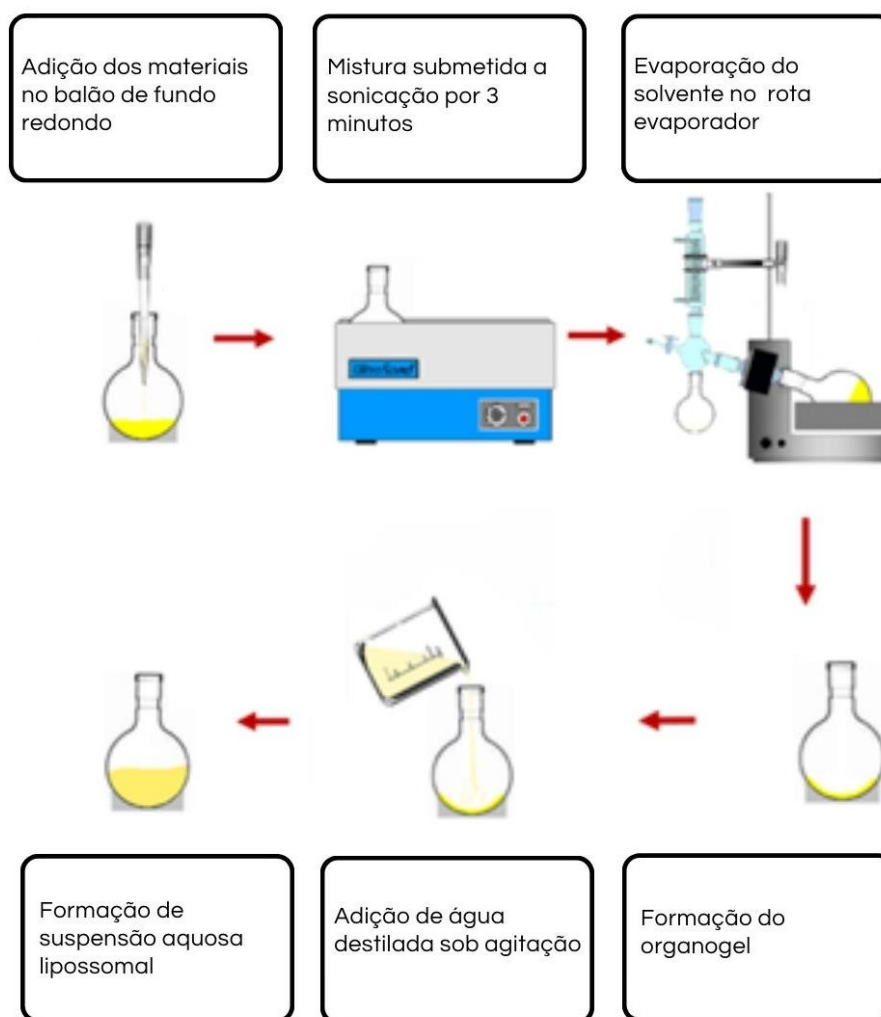
MATERIAIS	AMOSTRAS / FÓRMULAS (Quantidade(mg))												
	ASO 1	ASO 2	ASO 3	ASO 4	ASO 5	ASO 6	ASO 7	ASO 8	ASO 9	ASO 10	PC 1	PC 2	PC 3
Asolectina	250	225	200	175	225	200	175	225	200	175	-	-	-
Fosfodilcolina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	200	100
Colesterol	-	25	50	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pluronic F-68	-	-	-	-	25	50	75	-	-	-	-	-	-
BRIJ 78	-	-	-	-	-	-	-	25	50	75	-	-	-
TOTAL	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	200	100

Fonte: O Autor, 2021.

O processo de preparação dos lipossomas brancos pelo método de evaporação por fase reversa iniciou com a adição dos materiais listados na Tabela 2 em um balão de fundo redondo de 50 mL e dissolvidos em 10mL clorofórmio. Sob agitação manual os materiais foram solubilizados e na sequência dispersos em água 500 µL (MilliQ), onde ocorreu a formação de duas fases. Em seguida, a mistura foi sonicada por 3 min em banho ultrassônico, produzindo uma dispersão homogênea e opalescente de micelas reversas. O clorofórmio foi evaporado em rotaevaporador sob vácuo pressão 600mmHg, resultando em

um organogel viscoso. Amostras dos lipossomas foram obtidas adicionando 10ml de água pura (MilliQ) ao organogel com agitação vigorosa. A concentração final da amostra foi de 25 mg/mL. A Figura 10 representa um esquema com as etapas de preparo e obtenção dos lipossomas.

Figura 10 - Representação esquemática do método de preparação dos lipossomas por evaporação por fase reversa



Fonte: O Autor, 2022.

Os lipossomas obtidos foram caracterizados, para avaliação das suas características e escolha das melhores formulações para seguir o estudo.

Após definição das melhores formulações dos lipossomas brancos, de acordo com sua estrutura e estabilidade, foram incorporados às formulações dos lipossomas selecionados os filtros solares e substância antioxidante, onde foram obtidos os lipossomas

com filtros solares através do mesmo método de obtenção através de evaporação por fase reversa. Os filtros solares e ativo antioxidante escolhidos para esse estudo estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 - Ativos filtros solares e antioxidantes

FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTE
ZnO – filtro inorgânico
TiO ₂ – filtro inorgânico
MCO – filtro orgânico
Resveratrol - antioxidante

Fonte: O Autor, 2022.

Depois da preparação dos lipossomas com encapsulação dos filtros solares e antioxidante, eles foram caracterizados e avaliados, através de técnicas descritas no item 4.3.3.

4.3.2 PREPARAÇÃO DO PROTETOR SOLAR

As formulações de protetor solar, foram formadas por uma base de emulsão simples, formulação básica de protetor solar, para que os componentes da base do produto não tivessem interferência com os lipossomas nos resultados desta pesquisa.

À base do protetor solar, foram incorporados os lipossomas na proporção descrita na Tabela 4.

A adição do lipossoma à base do protetor solar ocorreu sob agitação mecânica lenta, onde os lipossomas foram adicionados lentamente até completa homogeneidade, obtendo-se um protetor solar em forma de creme homogêneo.

Tabela 4 - Formulações da base de protetor solar com incorporação dos lipossomas.

FORMULAÇÃO PROTETOR SOLAR	%
Base Creme Protetor Solar	75%
Lipossomas	25%

Fonte: O Autor, 2022.

Após a finalização da manipulação dos protetores solares com a incorporação dos lipossomas, os mesmos serão submetidos aos estudos de estabilidade e determinação de FPS, aplicados para produtos cosméticos, seguindo o Guia de Estabilidade de Cosméticos da ANVISA.

4.3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS

4.3.3.1 Microscopia de Força Atômica (AFM)

O AFM foi utilizado para investigar a morfologia das auto-associações dos lipossomas. As medições de AFM foram realizadas utilizando um instrumento Shimadzu SPM-9700 (Kyoto, JP) com varredura em modo dinâmico. Suspensões dos lipossomas (25mg/mL) foram diluídas para 0,1 a 0,05 mg/mL em água deionizada, colocadas sobre uma superfície de mica moscovita para AFM de tamanho de 15mm e espessura 0,15 - 0,2mm e posteriormente secas à temperatura ambiente.

4.3.3.2 Potencial Zeta (ZP)

Sistemas como lipossomas em suspensão aquosa podem apresentar comportamentos variados em relação a fenômenos de agregação. Uma forma de investigar a relativa estabilidade coloidal dessas partículas é determinar o Potencial Zeta das mesmas. O potencial zeta é um importante indicador de carga na superfície coloidal e pode ser usado para prever e controlar a estabilidade de sistemas coloidais. Valores elevados de potencial zeta indicam vesículas estáveis em suspensão devido a repulsão entre as partículas causada pela carga superficial, o que evita a agregação entre as vesículas. (SATHAPPA,2016)

As medições do potencial zeta (ZP) foram realizadas utilizando um analisador NanoBrook Omni ZP (Brookhaven Instruments Corp., EUA) equipado com um laser vermelho de diodo padrão de 40 mW, utilizando a técnica de espalhamento de luz com análise de fase (PALS). A faixa de mobilidade foi de 10^{11} a 10^7 m²/V·s, a faixa ZP de trabalho varia de -500 a 500 mV, e o ângulo de espalhamento usado foi de 15°. As amostras foram medidas em água Milli-Q, e as medições foram realizadas em triplicata a 25 ± 1 °C. Optou-

se medir a mobilidade eletroforética (U_E) e converter o valor em potencial miliVolts (mV) através da equação de Henry:

$$U_E = \frac{2 \varepsilon \zeta f(ka)}{3 \eta}$$

Onde ε é a constante dielétrica do meio e η é a viscosidade. Além disso, $f(ka)$ é a função de Henry, que foi calculada através da aproximação de Smoluchowski $f(ka) = 1,5$.

4.3.3.3 Espectroscopia de Ultravioleta-Visível

As propriedades óticas dos lipossomas foram realizadas utilizando um Espectrofotômetro Ultravioleta-Visível Shimadzu - modelo UV-2450 com esfera de integração com ISR-2200 a 25°C. Para análise as amostras foram diluídas utilizando 50µL da solução mãe e diluídas em 3mL de água deionizada, analisadas em cubeta de quartzo quadrada de duas faces polidas com caminho ótico de 1,0cm e volume de 3,5mL.

4.3.3.4 Ensaios de Turbidez

As medições da turbidez das formulações dos lipossomas foram realizadas a 400nm por meio de espectroscopia de UV-vis em um aparelho Shimadzu UV-1800 (Kyoto, JP). Foram utilizadas em cubeta de quartzo quadrada de duas faces com caminho ótico de 1,0cm e volume de 3,5mL, na concentração de 1mg/mL.

4.3.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

Para análises termogravimétricas foram utilizados ~5mg ± 1mg das amostras. A análises foram realizadas com um equipamento Shimadzu (modelo TGA-50) em atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 50mL/min, com taxa de aquecimento de 10°C/min e cadinho de platina como porta amostra. A temperatura máxima foi de 900°C.

4.3.6 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

A DSC pode quantificar a variação de energia em uma transição de fase de um sistema, a partir de uma relação entre temperatura e o fluxo de calor em função do tempo. O aparelho de DSC fornece diretamente a medida de calor específico da dispersão lipídica, que na T_m (Temperatura de Transição de Fase), apresenta um pico.

Amostras de $5\text{mg} \pm 0,5\text{mg}$ foram analisadas por DSC (Netzsch, modelo DSC 3500 Sirius) em atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de $40\text{mL}/\text{min}$, gás de purga com fluxo de $60\text{mL}/\text{min}$, taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e cadinho de alumínio como porta amostra. A faixa de temperatura estudada foi de -40°C a 60°C .

4.4.7 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros foram obtidos em um equipamento da marca SHIMADZU modelo IR Prestige 21, pelos métodos de transmitância e refletância, utilizando pó/pastilha de brometo de potássio (KBr) e reflectância total atenuada (ATR) entre 4000 cm^{-1} a 700 cm^{-1} , utilizando 20 varreduras em resolução de 2cm^{-1} .

4.4.8 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

Os experimentos de DLS foram conduzidos em água Milli-Q e as medições foram realizadas em um ângulo de 90°C . Com base nas medições obtidas, a equação de Stokes-Einstein foi aplicada para calcular o raio hidrodinâmico das partículas. Essa equação estabelece uma relação fundamental entre a difusão de partículas em um meio líquido e suas propriedades físicas, permitindo assim a determinação precisa do tamanho das nanopartículas.

Além disso, utilizou-se o método espalhamento de luz, sendo uma técnica que permite a analisar sistemas nanoestruturados, vesículas, lipossomas, nanopartículas e outros sistemas coloidais e/ou nanopartículas metálicas. (Wang et al., 2019)

Por meio dessa técnica é possível investigar parâmetros como tamanho de partícula, conformação molecular, interações entre partículas e propriedades físico-químicas.

O espalhamento de luz dinâmico em (inglês DLS, *Dynamic Light Scattering*) é capaz de detectar flutuações temporais na intensidade da luz espalhada, proporcionando

informações sobre difusão e relaxações internas dos sistemas nanoestruturados. Através do DLS, é possível obter o coeficiente de difusão translacional, que pode ser utilizado para determinar o raio hidrodinâmico (R_H) das partículas em solução. (MISHRA et al., 2009).

O espalhamento de luz dinâmico (DLS) é também designado na literatura com o nome de espectroscopia de correlação de fótons (PCS) ou espalhamento de luz quase elástico (QELS). Essa técnica capaz de mensurar as flutuações na intensidade de luz espalhada, as quais se originam de modificações locais do índice de refração da solução, como um resultado da difusão rotacional, difusão translacional e/ou relaxações internas das cadeias poliméricas. (MISHRA et al., 2009).

Basicamente, a flutuação medida do sinal da luz espalhada é autocorrelacionada no tempo através de uma função de correlação temporal (FCT). A técnica é eficaz para se detectar flutuações temporais na intensidade de luz espalhada devido a flutuações de concentração e, densidade na amostra (causas do movimento Browniano). Desta função, é possível obter a taxa de relaxação (Γ), a qual pode ser relacionada ao coeficiente de difusão translacional (D). O valor de (Γ) pode ser obtido através da análise de uma função de correlação temporal. O coeficiente de difusão D é o coeficiente angular de um gráfico da frequência de relaxação Γ ($\Gamma = \tau^{-1}$) em função de q^2 , obtido pela equação (1):

$$\frac{\Gamma}{q^2} \Big|_{q \rightarrow 0} = D_{app} \quad (1)$$

onde q é o vetor de onda definido como:

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \text{sen} \left(\frac{\theta}{2} \right) \quad (2)$$

A extrapolação dos valores de D obtidos para diferentes concentrações, quando a concentração tende a zero, fornece o coeficiente de difusão à diluição infinita, D_0 . Um importante parâmetro que pode ser acessado por intermédio de D_0 é o raio hidrodinâmico, R_H , da macromolécula em solução, aplicando-se a relação de Stokes-Einstein e desde que se conheça a viscosidade do solvente, η_0 , e a temperatura T na qual é realizada a medida. Assim, D_0 pode ser obtido através da equação (3):

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta\Gamma} q^2 = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad (3)$$

Na equação (3), k_B é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$).

4.4.9 Determinação de eficiência de encapsulamento (EE%) de resveratrol

Para a determinação da eficiência do encapsulamento, as amostras de lipossomas que continham resveratrol, em concentração comum de 250µg/mL, foram centrifugadas por 30min usando filtro Amicon Ultra 0,5 (Millipore®, 100 kDa) a 13.000rpm. (FEUSER, et al, 2021). O sobrenadante foi analisado por HPLC. (KUMAR, et al, 2016). A concentração de resveratrol foi medida utilizando uma curva de calibração com $R^2 \geq 0,99$ utilizando diferentes concentrações do padrão de referência de resveratrol (0,5 a 35 µg · mL⁻¹) solubilizado em metanol:acetonitrila:água ultrapura Milli-Q (60:10:30, v/v). A EE (%) foi calculada como a diferença entre a quantidade total de resveratrol adicionada aos lipossomas (C_t) e a quantidade encontrada no sobrenadante (C_s), conforme mostrado na Equação (1). As quantificações foram realizadas em triplicata.

$$EE(\%) = \frac{(C_t - C_s)}{C_t} \times 100 \quad (1)$$

5. RESULTADOS

5.1 OBTENÇÃO DOS LIPOSSOMAS BRANCOS

Os lipossomas foram preparados pelo método de evaporação em fase reversa. (MERTINS et al., 2005). Os componentes das formulações dos lipossomas foram pesados em balanças analíticas, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Materiais utilizados para a preparação dos lipossomas brancos

MATERIAIS	AMOSTRAS / FÓRMULAS (Quantidade(mg))												
	ASO 1	ASO 2	ASO 3	ASO 4	ASO 5	ASO 6	ASO 7	ASO 8	ASO 9	ASO 10	PC 1	PC 2	PC 3
ASO	250	225	200	175	225	200	175	225	200	175	-	-	-
Fosfodilcolina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	200	100
Colesterol	-	25	50	75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pluronic F-68	-	-	-	-	25	50	75	-	-	-	-	-	-
BRIJ 78	-	-	-	-	-	-	-	25	50	75	-	-	-
TOTAL	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	200	100

Fonte: O Autor, 2022.

Os materiais foram transferidos para um balão de fundo redondo de 50mL e dissolvidos em 10mL de Clorofórmio. Após a dissolução dos mesmos, 500µL de água pura (MilliQ) foi adicionado. A mistura formada foi submetida à sonicação por três minutos em ultra-som para obtenção das micelas reversas. Em seguida o clorofórmio foi evaporado em um rota evaporador (Figura 11) a 30°C e 600mmHg. Após a evaporação do solvente orgânico, foram adicionados 10ml de água pura (MilliQ), sob agitação manual, ocorrendo a formação do organogel.

Figura 11 – Registro do evaporação dos lipossomas brancos no laboratório



Fonte: O Autor (2022).

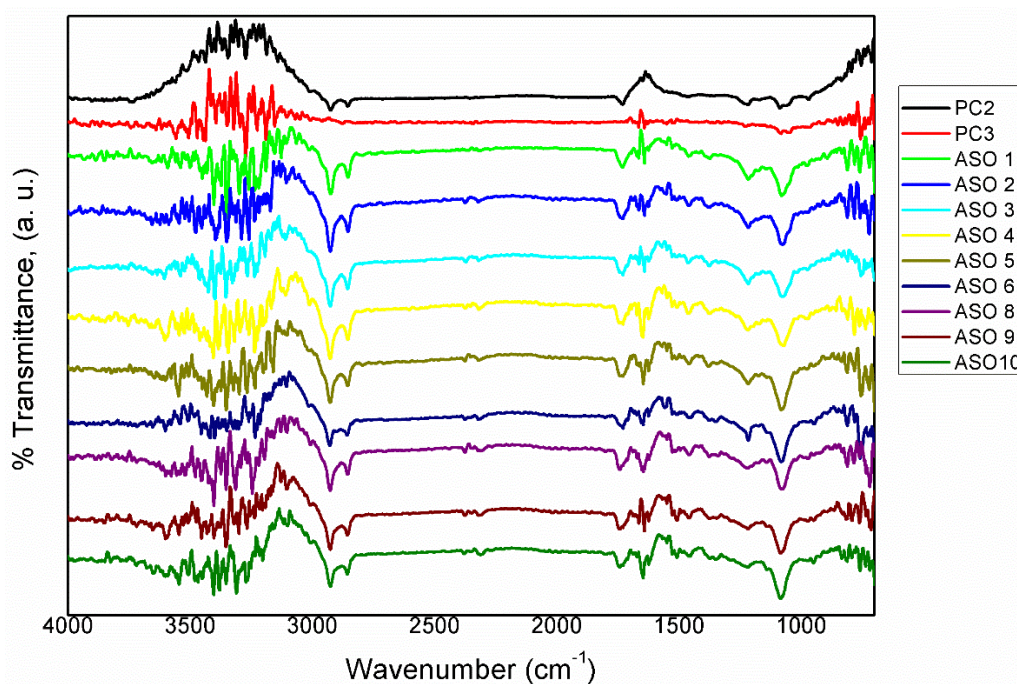
Das treze formulações brancas que foram preparadas, descritas na Tabela 5, as amostras ASO7 e PC1 não ficaram homogêneas, mostrando a formação de um precipitado e foram descartadas do estudo.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS BRANCOS

As onze formulações de lipossomas homogêneos obtidas foram analisadas através de FTIR, DSC, Potencial Zeta, Turbidez, para avaliação e escolha da melhor composição do lipossoma para incorporação dos ativos e aplicação. Os resultados estão demonstrados a seguir.

No espectro de FTIR dos lipossomas brancos preparados pode-se observar um comportamento semelhante entre todas as amostras analisadas, com picos característicos dos grupos presentes nos fosfolipídios, conforme demonstrado na Figura 12.

Figura 12 – Espectro de FTIR das amostras preparadas



Fonte: O Autor, 2022.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados de Raio Hidrodinâmico, Polidispersão, Potencial Zeta e Densidade óptica das amostras preparadas.

Tabela 6 - Resultados de Radio Hidrodinamico (RH), Polidispersão (PDI), Potencial Zeta (ZP), Densidade Optica(D.O^a)

Amostras	D.O^a	2R_H (nm)	PDI	ZP (mV)
ASO1	0,482	228,0	0,253	-53,4
ASO2	0,509	268,4	0,238	-40,7
ASO3	0,600	259,6	0,312	-44,3
ASO4	0,693	312,5	0,289	-45,3
ASO5	0,517	267,3	0,241	-36,9
ASO6	0,375	203,3	0,228	-34,4
*ASO7	nd	nd	nd	nd
ASO8	0,490	226,4	0,171	-40,6
ASO9	0,273	175,3	0,202	-25,6
ASO10	0,202	156,0	0,145	-33,5
*PC1	nd	313,3	0,278	26,7
PC2	1,418	340,0	0,265	14,4
PC3	0,790	287,7	0,245	14,7

Fonte: O Autor, 2022.

As amostras ASO2, ASO5 e ASO8 foram as formulações escolhidas para a continuidade da pesquisa. A definição da escolha, foi através da composição dos lipossomas e análises realizadas sendo: uma amostra de cada combinação de componentes e avaliação o conjunto dos resultados: raio, densidade óptica, avaliação da estabilidade e polidispersão das vesículas.

A presença de uma carga superficial em partículas suspensas num líquido afeta a distribuição de íons que estão numa região próximas a partícula, ou seja, na interface entre a superfície da partícula e o meio de suspensão. O Potencial Zeta é, portanto, a diferença de potencial entre o meio de dispersão e a camada externa. A magnitude deste potencial permite a avaliação da estabilidade das partículas em suspensão considerando que, se todas as partículas apresentam um valor altamente positivo ou altamente negativo de Potencial Zeta, elas irão repelir umas às outras evitando a agregação. No caso de valores de Potencial Zeta muitos baixos, próximos a zero, a ausência de carga superficial pode

favorecer, em alguns casos, interações entre as partículas o que promove processos de floculação ou agregação.

A escolha ocorreu avaliando os fatores descritos acima, vesículas com maior raio e densidade óptica, onde é provável uma maior encapsulação dos ativos e tamanhos acima de 200 nm para que não ocorra a permeação até as camadas profundas da pele e corrente sanguínea e para melhor efetividade da aplicação do produto que é aplicação tópica e ação na epiderme. O Potencial Zeta foi avaliado, apesar de todas as amostras apresentarem valores aceitáveis de estabilidade foram escolhidas as amostras que apresentaram os melhores resultados. O Espalhamento de Luz representa uma técnica experimental importante no estudo das características estruturais de vesículas em suspensão. Os resultados da análise de polidispersão foram satisfatórios para todas as formulações, com quase todos os resultados abaixo de 0,3, sendo as formulações escolhidas as amostras que apresentarem os menores valores.

As formulações ASO2, ASO5 e ASO8 foram as formulações de lipossomas branco escolhidas, pelas justificativas explicadas acima para dar continuidade da pesquisa. A formulação de cada lipossoma escolhido está descrita na Tabela 7.

Tabela 7 - Formulações dos lipossomas brancos escolhidos

COMPONENTES	ASO 2	ASO 5	ASO 8
ASO (mg)	225	225	225
Colesterol (mg)	25	-	-
Pluronic F-68 (mg)	-	25	-
BRIJ 78 (mg)	-	-	25
TOTAL	250	250	250

Fonte: O Autor, 2022.

5.3 OBTENÇÃO DOS LIPOSSOMAS COM FILTROS SOLARES

Os lipossomas brancos escolhidos na etapa anterior foram reproduzidos novamente (amostras 1, 2 e 3) junto com as primeiras formulações de lipossomas com a incorporação dos filtros solares para teste de concentração dos mesmos (amostras de 4 a 7), conforme formulação descrita na Tabela 8.

Tabela 8 - Formulações de lipossomas

AMOSTRAS / FORMULAÇÕES (Quantidade(mg))							
MATERIAIS	1	2	3	4	5	6	7
ASO	175	225	225	175	225	225	175
Colesterol	75	-	-	75	-	-	75
Pluronic F-68	-	25	-	-	25	-	-
BRIJ 78	-	-	25	-	-	25	-
Metoxinamato de Octila	-	-	-	25	25	25	-
TiO ₂	-	-	-	-	-	-	2,5
ZnO	-	-	-	-	-	-	2,5

Fonte O Autor, 2022.

Ao manipular as primeiras amostras com a encapsulação dos filtros solares, foi observado que as quantidades de filtros a serem encapsuladas precisavam ser menores, pois o lipossoma obtido após o final do processo de fabricação não estava ficando homogêneo. Dessa forma, outras combinações foram feitas, considerando quantidades menores de filtros na encapsulação nas vesículas, testando-se também outras opções disponíveis dos filtros solares inorgânicos, dessa forma foram obtidas 22 formulações diferentes de lipossomas a serem caracterizadas e avaliadas. As formulações estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 - Formulações de lipossomas 8 a 22

AMOSTRAS / FORMULAÇÕES (Quantidade(mg))															
MATERIAIS	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
ASO	225	225	175	225	225	175	225	225	175	175	175	175	175	175	175
Colesterol	-	-	75	-	-	75	-	-	75	75	75	75	75	75	75
Pluronic F-68	25	-	-	25	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-	-
BRIJ 78	-	25	-	-	25	-	-	25	-	-	-	-	-	-	-
Metoxinamato de Octila	-	-	2,5	2,5	2,5	-	-	-	2,5	2,5	-	-	-	-	-
TiO ₂	2,5	2,5	-	-	-	-	-	-	2,5	2,5	-	-	-	-	-
ZnO	2,5	2,5	-	-	-	-	-	-	2,5	2,5	-	2,5	-	-	-
Resveratrol	-	-	-	-	-	2,5	2,5	2,5	-	2,5	-	-	-	-	2,5
ZnO + Açai	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-
ZnO + Aloe vera	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5	2,5

Fonte: O Autor, 2022.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS COM FILTROS SOLARES

As amostras de 1 a 22, foram analisadas por através de FTIR, DSC, DLS, Potencial Zeta, Turbidez. Os resultados estão demonstrados na Tabela 10 e nas Figuras apresentados a seguir.

Tabela 10 - Resultados de Raio Hidrodinâmico (RH), Polidispersão (PDI), Potencial Zeta(ZP), Densidade Óptica(D.O^a)

Amostra	D.O ^a	2R _H (nm)	PDI	ZP (mV)	ZP (mV) ^b
AM_1	0,595	270,0	0,27	-48,8± 1,5	-45,5± 2,0
AM_2	0,550	255,0	0,23	-53,0±3,2	-49,0±2,5
AM_3	0,542	242,2	0,23	-52,8±2,5	-48,8±3,0
AM_4	nd	nd	nd	nd	nd
AM_5	0,524	237,2	0,22	-55,0±3,5	-50,2±1,8
AM_6	0,776	352,0	0,28	-52,1±1,8	-51,2±1,4
AM_7	0,804	380,0	0,24	-48,9± 1,1	-45,4± 3,3
AM_8	0,705	319,5	0,19	-54,7± 1,2	-48,5± 1,5
AM_9	0,718	321,3	0,18	-56,0± 1,9	-52,6± 0,5
AM_10	0,552	250,0	0,28	-58,2± 0,8	-57,1±1,4
AM_11	0,778	357,0	0,24	-60, 1± 1,3	-59,1± 2,4
AM_12	0,642	294,1	0,21	-55,4± 1,3	-53,2± 3,5
AM_13	0,592	268,0	0,25	-60,05± 1,2	-59,5± 0,9
AM_14	0,792	367,0	0,26	-60,3± 1,7	-57,3± 1,4
AM_15	0,742	341,0	0,24	-51,4± 0,9	-48,4± 1,5
AM_16	1,248	482,0	0,20	-45,7± 2,0	-42,8± 2,5
AM_17	1,582	580,0	0,29	-44,8± 2,2	-43,1± 2,4
AM_18	0,604	275,0	0,24	-43,3± 1,2	-42,6± 2,9
AM_19	0,698	316,0	0,22	-43,6± 0,9	-40,3± 1,2
AM_20	0,728	321,8	0,25	-37,2± 1,7	-35,2± 1,1
AM-21	0,665	295,6	0,26	-47,4± 0,8	-44,6± 0,8
AM_22	0,705	310,0	0,23	-46,8± 2,3	-44,6± 0,9

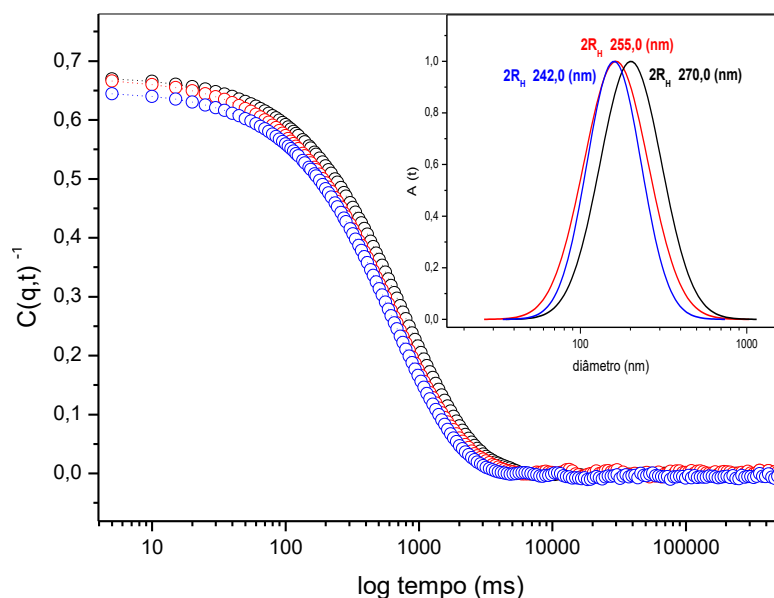
Fonte: O Autor, 2022.

^aDensidade óptica /turbidez

^b Análises de potencial zeta após 30 dias

Através do tratamento matemático das curvas de correlação das amostras 1 a 3, lipossomas brancos, variando tempo de agitação, Figura 13, usando algoritmo CONTIN, foram possíveis determinar os tamanhos médios das formulações dos lipossomas e o índice de polidispersão (PDI) de cada amostra, ver Tabela 10. A Figura 13, apresenta as funções de correlação temporal, medida a 90° e a respectiva distribuição do tempo de relaxação $A(t)$, através do tratamento das curvas de correlação temporal foram possíveis determinar o tamanho médio dos lipossomas brancos 1, 2 e 3 que são apresentadas nas curvas de intensidade versus diâmetro.

Figura 13 - Funções de correlação $C(q,t)$ adquirida no ângulo de espalhamento 90° e a respectiva distribuição do tempo de relaxação $A(t)$ a 25°C, para as formulações dos lipossomas brancos (AM_3 azul, AM_2 vermelho e AM_1 preto) Figura inserida mostra a respectiva distribuição do diâmetro $2R_H$, em número total, analisado usando algoritmo CONTIN.



Fonte: O Autor, 2022.

As amostras se apresentaram estáveis sem flutuações nas curvas de correlação, demonstrando pequenas alterações nos decaimentos de tempo de relaxação conforme o aumento de tamanho relacionado a formulação analisada, por consequência as amostras apresentaram tamanhos variando de 240 a 270nm, e apresentaram um baixo índice de polidispersão ($PDI \leq 0,27$). O valor encontrado de PDI para sistemas lipossomais pode-se considerado baixo sugerindo homogeneidade do sistema analisado, ou seja, o tamanho das vesículas/lipossomas mais próximas entre elas, mostrando ser monodispersas,

quanto menor o valor obtido, preferencialmente $\leq 0,3$ para sistemas vesiculares, maior o grau de homogeneidade das suspensões coloidais.

O potencial zeta (ZP) foi utilizado para avaliar a carga de superfície das formulações dos lipossomas brancos e encapsulados para avaliar a estabilidade das formulações do processo de auto associação espontâneo. As formulações foram avaliadas no dia da preparação e após 30 dias como um controle da estabilidade dos sistemas coloidais. Os valores elevados de potencial zeta indicam partículas/sistemas coloidais estáveis em suspensão devido à repulsão entre partículas causadas pela carga superficial residual, o que evita processos de agregação e/ou separação de fase, as amostras apresentaram valores de potencial zeta (PZ) negativos no dia da preparação e após 30 dias, ver dados na Tabela 10.

As 3 (três) amostras de lipossomas brancos mostraram estáveis com valores inferiores a $-45,0\text{mV}$ nas leituras no tempo zero e após 30 dias, comparando os valores do Potencial Zeta no tempo 0 e tempo 30, observa-se uma pequena redução nos valores, a redução está associada a reorientação dos grupos polares das formulações no plano, porém permanecem dentro do que se considera seguro para manter a estabilidade, conforme dados da Tabela 11, isso demonstra que as formulações analisadas não estão apresentando tendências a separação de fase durante esse período analisado.

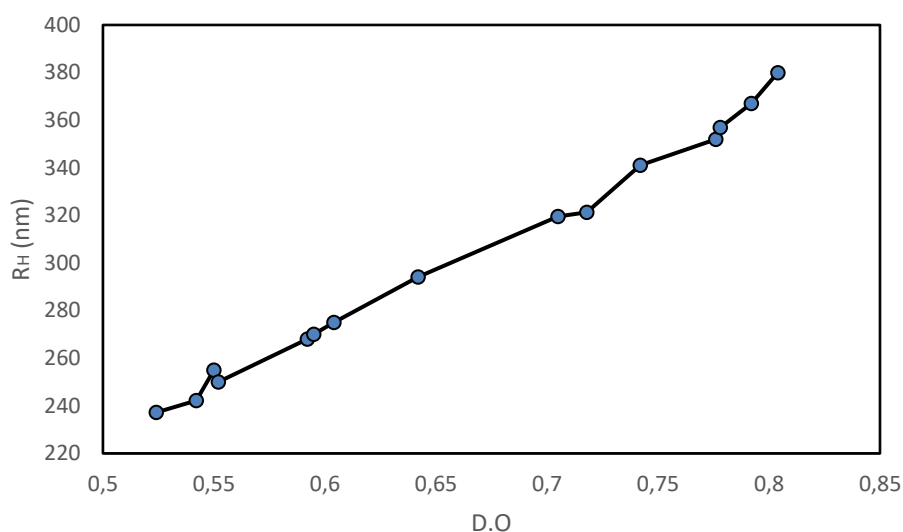
Tabela 11 - Valores de Potencial Zeta x Tempo Lipossomas brancos

Amostras	ZP (mV)	
	Tempo 0	Tempo 30
AM_1	$-48,8 \pm 1,5$	$-45,5 \pm 2,0$
AM_2	$-53,0 \pm 3,2$	$-49,0 \pm 2,5$
AM_3	$-52,8 \pm 2,5$	$-48,8 \pm 3,0$

Fonte: O Autor, 2023.

As demais formulações também foram avaliadas, e os lipossomas após a encapsulação dos filtros, mantiveram bons resultados de Potencial Zeta, PDI e DLS, apresentando-se estáveis sem tendência de separação de fase ou agregação. Assim como também os valores de PDI se mantiveram abaixo de 0,30, mostrando a homogeneidade das suspensões. Observa-se na Figura 14, uma relação entre o tamanho do lipossoma e a turbidez. Verifica-se um aumento da turbidez com o aumento do tamanho do lipossoma, quanto maior o diâmetro, maior a turbidez. (WANG et al., 2019)

Figura 14 - Relação Turbidez x Tamanho do Lipossoma

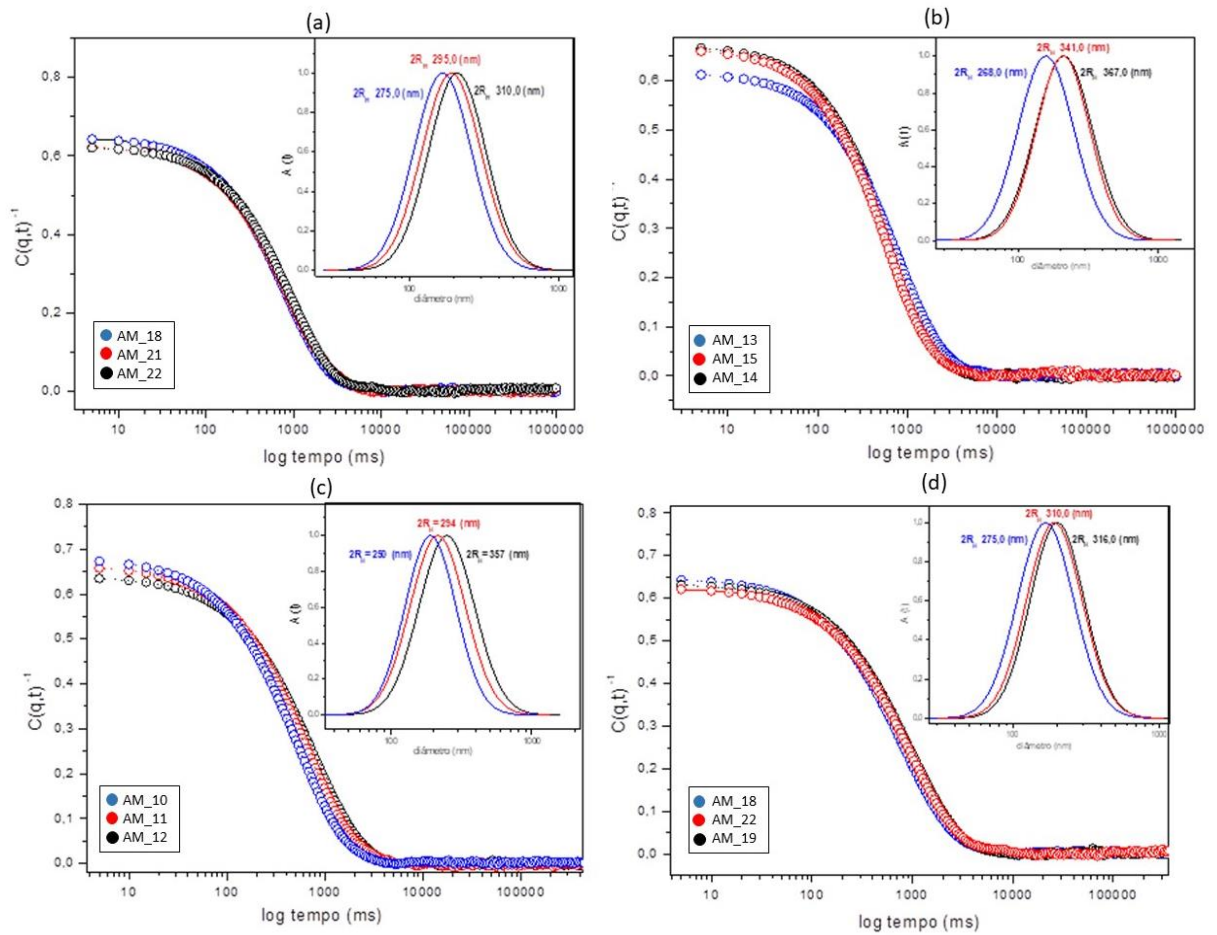


Fonte: O Autor, 2023.

Observou-se um raio maior nos lipossomas que tiveram o encapsulamento dos três filtros solares associados: OCM, ZnO, TiO₂, cerca de 100 nm a mais do que as demais formulações, porém os valores de ZP e PDI mantiveram-se semelhantes às demais amostras, evidenciando uma boa eficácia no encapsulamento e na estabilidade das formulações.

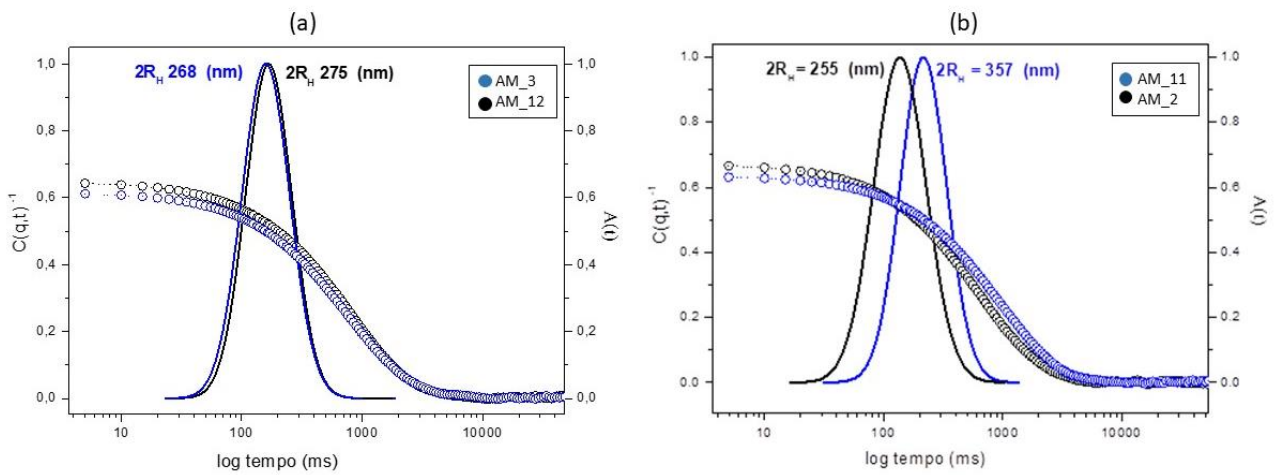
As Figuras 15 e 16 mostram algumas correlações entre os lipossomas brancos e encapsulados, mostrando os tamanhos dos lipossomas. As figuras com os resultados de DLS das outras formulações de lipossomas estão apresentadas no Anexo D desta tese.

Figura 15 - DLS dos lipossomas com filtros



Fonte: O Autor, 2022.

Figura 16 - DLS dos lipossomas brancos e com filtro solar

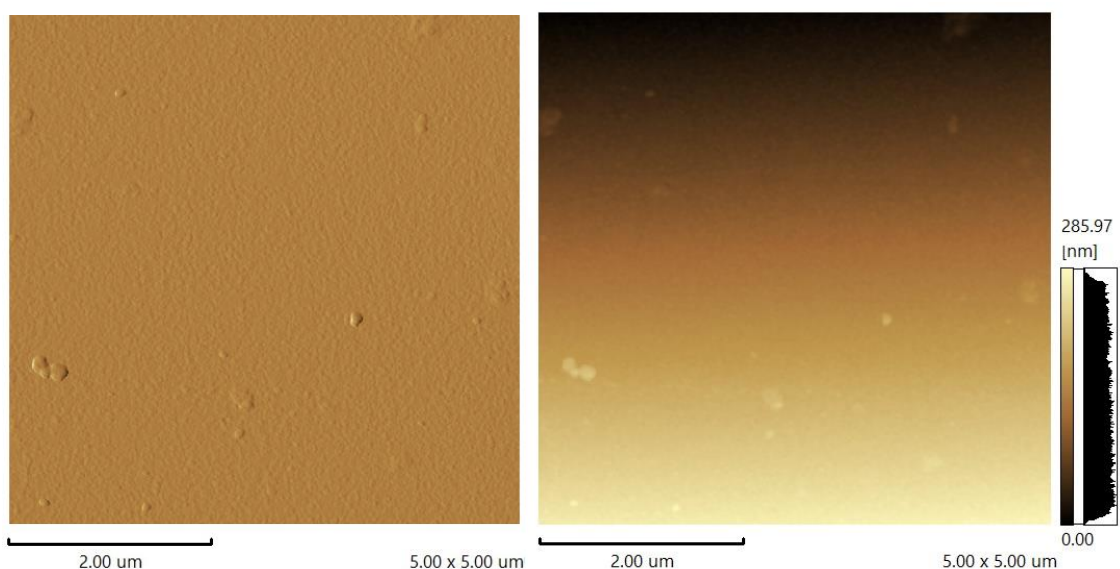


Fonte: O Autor, 2022.

Uma série de técnicas estão disponíveis para caracterizar a topografia das membranas, dinâmica molecular e morfologia do sistema, como microscopia de fluorescência, espalhamento dinâmico de luz, difração de raios X e microscopia eletrônica. Apesar desta variedade, só recentemente as estruturas e propriedades em nível nanométrico dos filmes lipídicos foram determinadas. Neste contexto, a força atômica a microscopia (AFM) é uma ferramenta essencial na pesquisa de filmes lipídicos, fornecendo informações sobre as arquiteturas e mudanças topográficas que ocorrem nas superfícies desses sistemas coloidais. As Figuras 17 a 22 apresentam as imagens topográfica das vesículas lipídicas. Os lipossomas mostram-se com uma certa homogeneidade e têm tamanho médio de 230 a 320 nm.

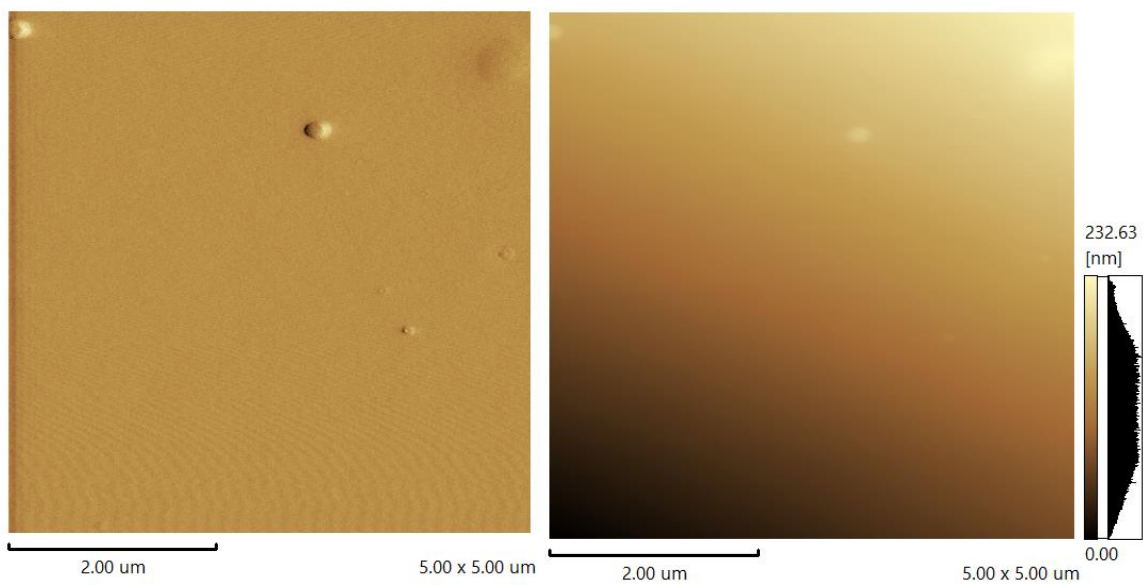
Observa-se ainda na topografia das Figuras 20, 21 e 22 pequenas partículas de óxido de zinco presentes da formulação desses lipossomas. Uma melhor visualização da camada da membrana lipídica, núcleo aquoso na ausência e presença dos materiais encapsulados somente seria possível através de Criomicroscopia Eletrônica de Transmissão (crio-ME) na qual a amostra seria estudada a temperaturas criogénicas. Os resultados encontrados nas topografias realizada dos lipossomas corroboram com os resultados encontrados pelas de medidas ZP, DLS evidenciando auto associação espontânea e estabilidade nas formulações lipossomais.

Figura 17 - AFM da Amostra 1



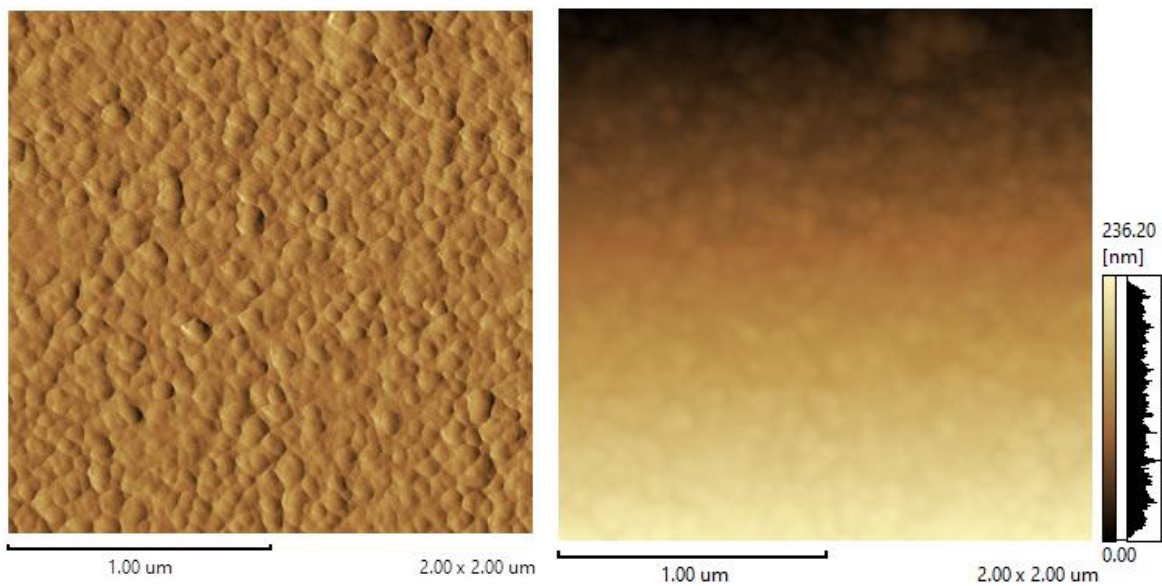
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 18 - AFM da Amostra 2



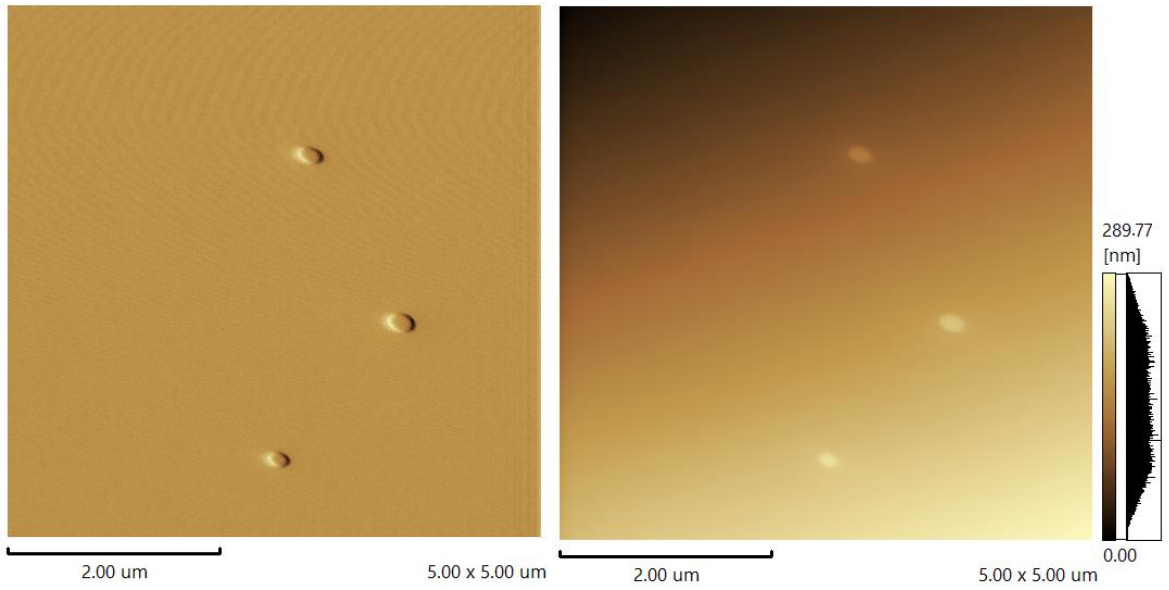
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 19 - AFM da Amostra 3



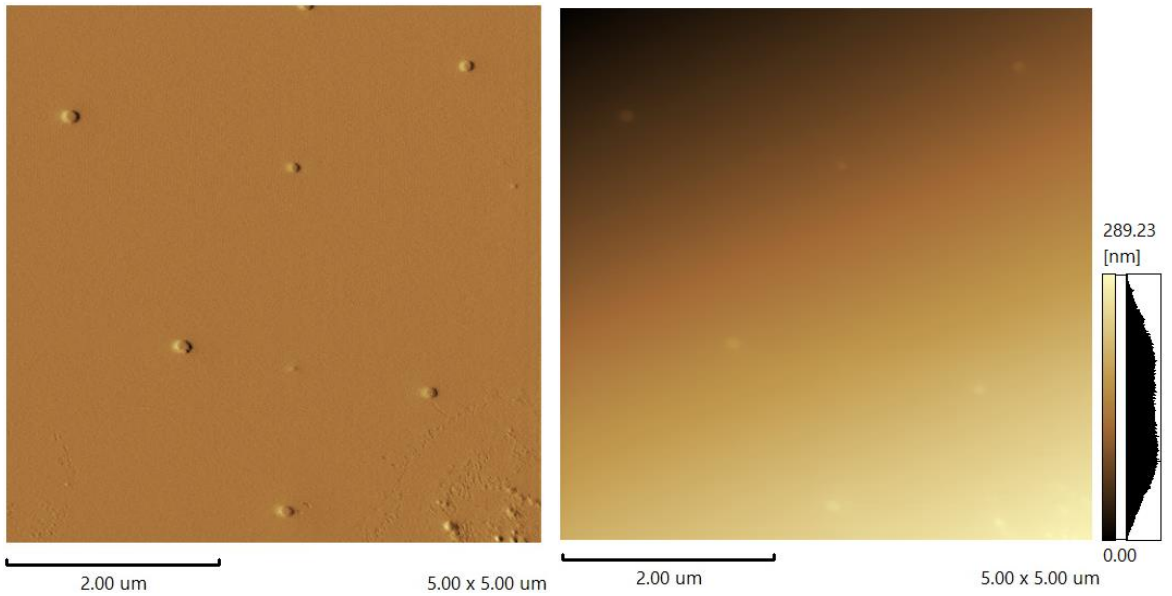
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 20 - AFM da Amostra 18



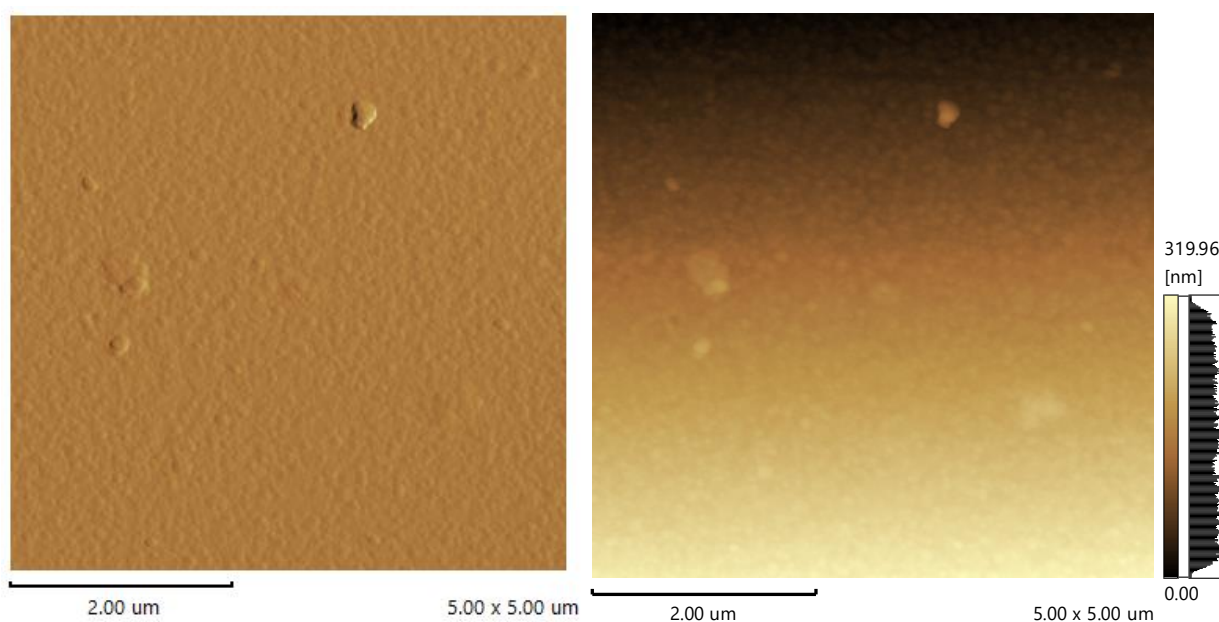
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 21 - AFM da Amostra 19



Fonte: O Autor, 2023.

Figura 22 - AFM da Amostra 22



Fonte: O Autor, 2023.

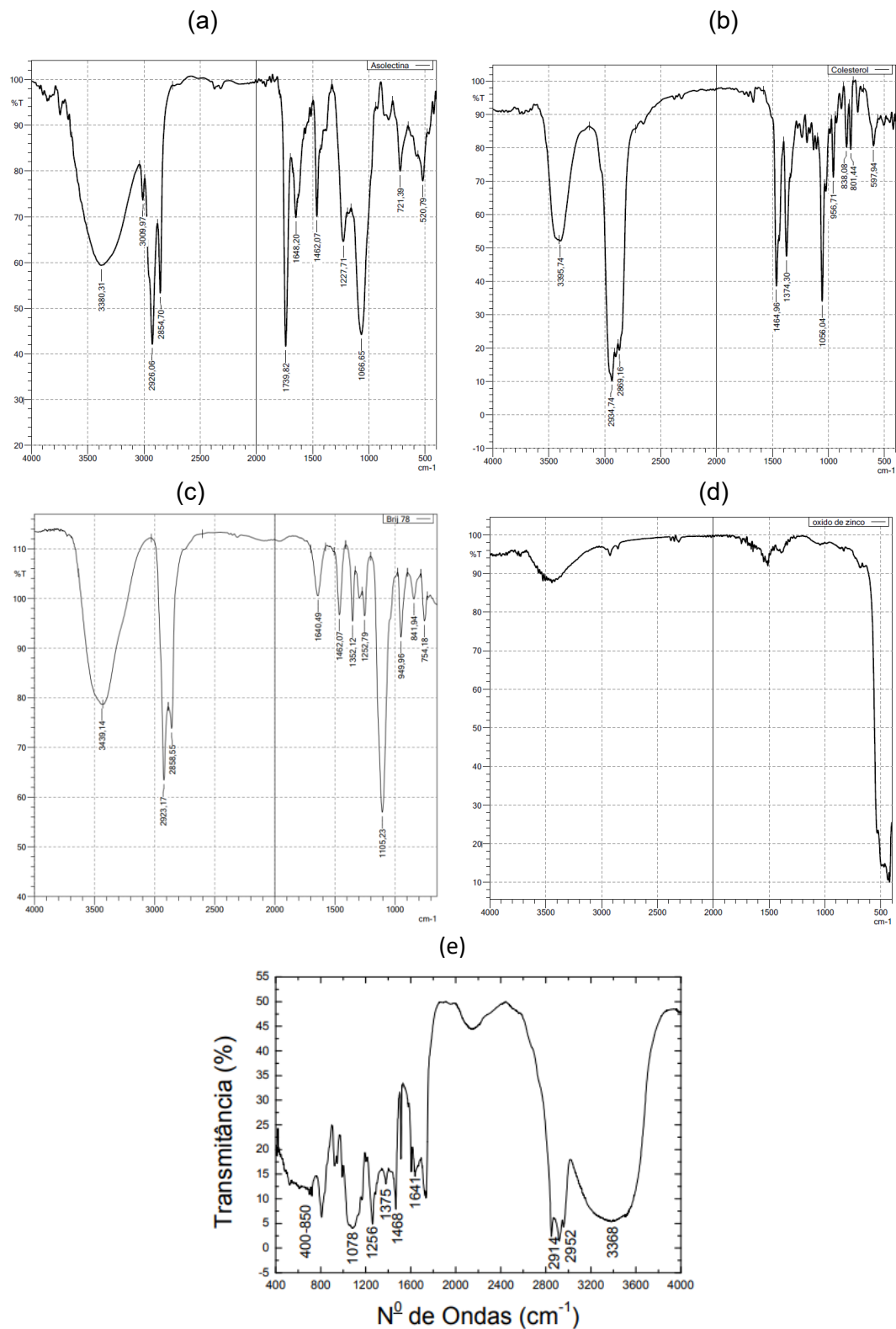
A técnica de espectroscopia de infravermelho, permite a identificação estrutural de compostos orgânicos ou inorgânicos, bem como estudos de dinâmica molecular. A técnica fornece importantes informações sobre os grupos funcionais da amostra, de acordo com a sua natureza (SEVERCAN, M; KAZANCI, N., 2005). Assim, sistemas lipossomais podem ser caracterizados quando submetidos à radiação infravermelha. A Figura 23 traz o espectro de FTIR dos componentes dos lipossomas.

No espectro da Asolectina pura (Figura 23a) observa-se os picos em 1227cm^{-1} , característico do grupo PO_2 , o grupo $\text{C}=\text{O}$ em 1739cm^{-1} , a evidência do grupo NCH em 3009cm^{-1} , e as bandas 2926 e 2854 características dos grupos CH_2 . Na Figura 23 (b), trazendo as bandas características do Colesterol, observa-se na banda $3395,74\text{cm}^{-1}$ a presença do grupo OH , em $2934,74$ e $3869,16\text{cm}^{-1}$ a presença de CH_2 , na banda com vibração em $1464,96\text{cm}^{-1}$ a ligação C-H , e em $1056,04\text{cm}^{-1}$ o grupo C-O . As bandas entre $590,0\text{cm}^{-1}$ e $960,0\text{cm}^{-1}$ são características das substituições aromáticas. Observa-se na Figura 23(d), as bandas vibracionais típicas do ZnO , sendo os picos entre 514 e 442cm^{-1} característicos da vibração Zn-O (JURABLU, 2015).

Na Figura 23(e) referente ao Metoxicinamato de Octila, observa-se uma banda larga na região de 3368cm^{-1} referente à ligação OH , as bandas em 2952cm^{-1} e 2914cm^{-1} indicam a presença das ligações C-H do anel aromático e dos demais átomos de carbono do composto. O vale em 1641cm^{-1} indica a presença da ligação $\text{C}=\text{O}$. Em 1256cm^{-1} e 1078

cm⁻¹ observa-se as bandas características das ligações C-O do anel aromático e da ligação C-O-C, respectivamente.

Figura 23 – FTIR de (a) Asolectina, (b) Colesterol, (c) Brij 78, (d) Óxido de Zinco, (e) Metoxocinamato de Octila



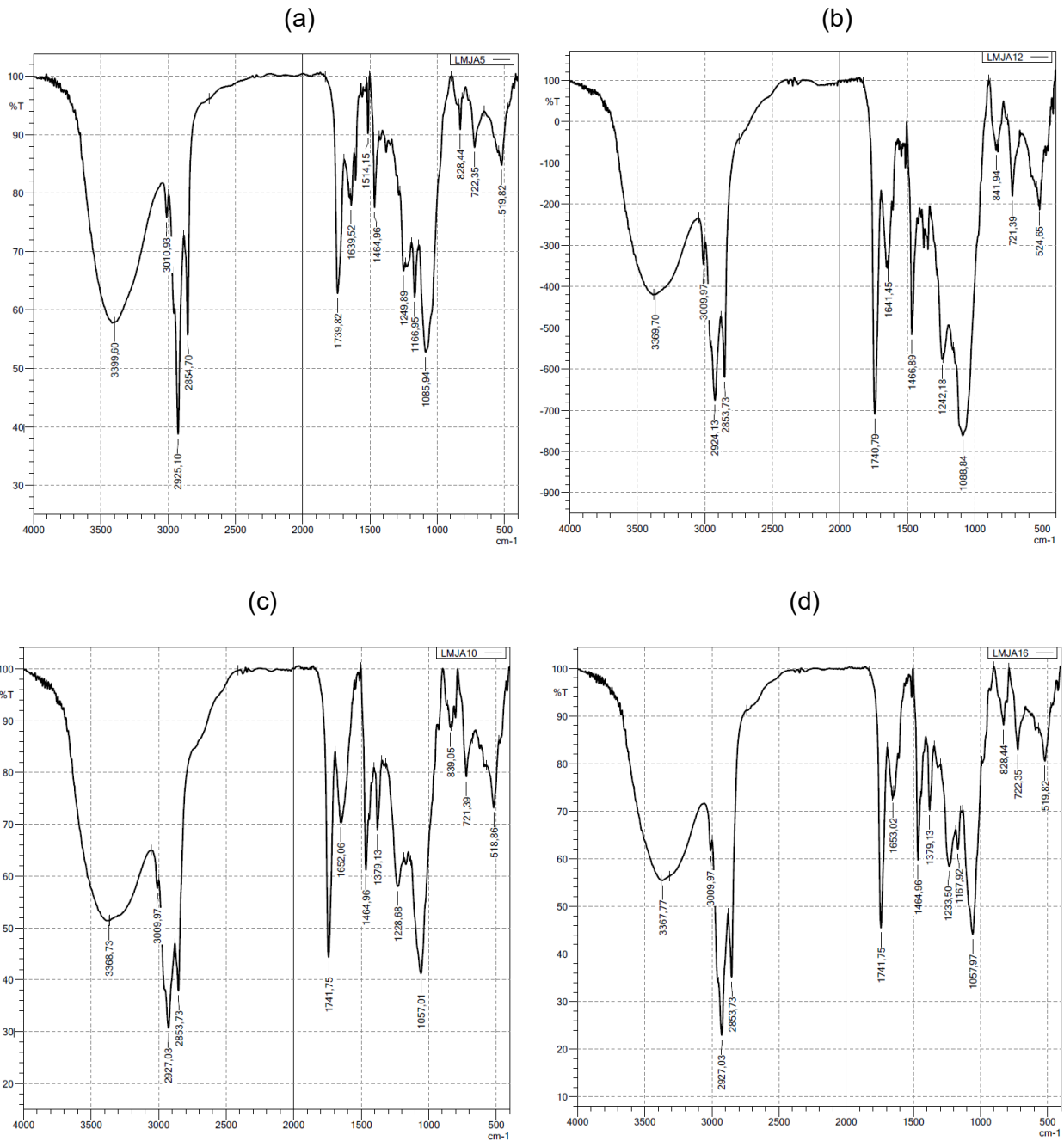
Fonte: O Autor, 2022.

Cada molécula possui suas próprias vibrações, absorvendo ondas eletromagnéticas de número de onda específico e, gera um espectro de absorção característico (LEITE & PRADO 2012). Considerando-se as interações que poderão ou não ocorrer ao adicionar um composto aos lipossomos, é possível analisar no espectro de IV, as variações ocorridas nos estiramentos dos grupos específicos das bandas que constituem os lipossomos, como por exemplo os estiramentos axiais (ν) e angulares (δ), são duas formas de vibrações fundamentais. As principais regiões lipídicas de sistema lipossomal, geralmente analisadas, são: o estiramento axial assimétrico (ν_{as}) do grupo metileno (CH_2), próximo a faixa de absorção de 2920cm^{-1} ; o estiramento axial simétrico (ν_s) do grupo 24 metileno (CH_2), próximo a faixa de absorção 2850cm^{-1} ; o ν do grupo carbonila (C=O), na faixa de absorção de $1725 - 1740\text{cm}^{-1}$; o ν_{as} do grupo fosfato (PO_2^-), na faixa de absorção de $1260 - 1220\text{cm}^{-1}$ e o ν_{as} do grupo colina ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$) na faixa de absorção próxima a 970cm^{-1} (MORENO ET AL., 2010).

O grupo carbonila, na região de interface, e o grupo fosfato, na região polar lipídica, podem interagir com moléculas de água ou com um composto exógeno por interações eletrostáticas e/ou ligações de hidrogênio. O aumento do grau de hidratação destes (carbonila e fosfato), pode ser indicado pelo deslocamento do número de onda das suas bandas de estiramento para menores valores, e vice-versa (CHEN ET AL., 2008; MORENO ET AL., 2010; SEVECAN ET AL., 2005)

A Figura 24 traz os resultados de FTIR de algumas amostras dos lipossomos, observa-se as bandas características dos grupos que compõem os lipossomos, avaliando as bandas características, pode-se observar as bandas em $3399,60\text{cm}^{-1}$ (ligação OH), a banda em $1464,96\text{cm}^{-1}$ (ligação CH) características do Colesterol, assim como a banda em $3010,93\text{cm}^{-1}$ (ligação CNH) e $2925,10\text{cm}^{-1}$ e $2854,70\text{cm}^{-1}$ referentes as ligações CH_2 da Asolectina. Também é possível observar a banda característica do filtro solar Metoxicinamato de Octila, em $1639,52\text{cm}^{-1}$ proveniente das ligações C=O . A largura das bandas tem influência dos efeitos translacionais, rotacionais e/ou colisões na ausência ou presença de uma substância exógena, em regiões específicas da membrana. O aumento da largura da banda característica de um lipídio, indica um aumento da dinâmica molecular e vice-versa (TOYRAN & SEVERCAN 2003). A interação entre os componentes dos lipossomos ocasiona o deslocamento das bandas, resultado da interação após a formação dos lipossomos. Os espectros de FTIR das demais formulações de lipossomos, estão apresentadas no Anexo B deste documento.

Figura 24 - FTIR dos lipossomas com filtros solares. (a) Amostra 05, (b) Amostra 12, (c) Amostra 10, (d) Amostra 16



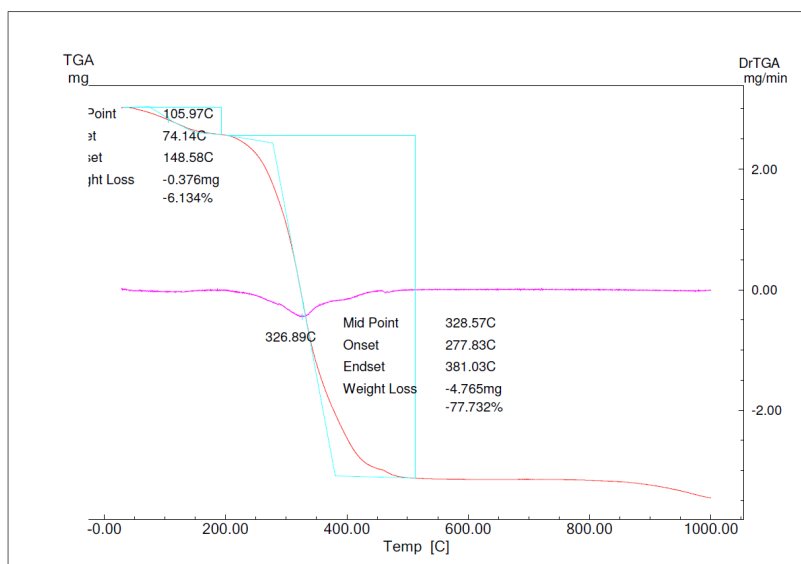
Fonte: O Autor, 2022.

A análise termogravimétrica dos lipossomas brancos, amostras 01, 02 e 03, estão apresentadas na Figura 25. Observa-se um comportamento semelhante entre as três formulações avaliadas, mostrando boa estabilidade térmica. O primeiro evento térmico das formulações onde ocorre aproximadamente 6% de perda de massa, está associado a

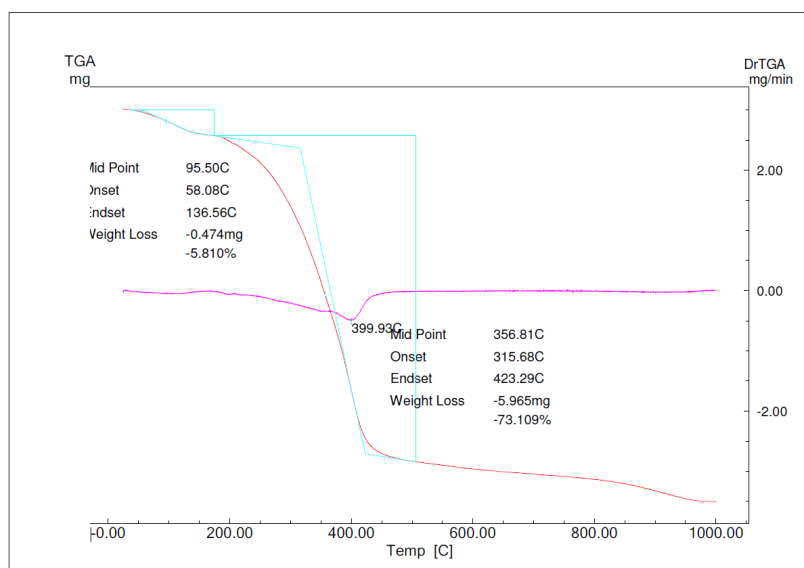
desidratação dos lipossomas. A degradação dos compostos orgânicos ocorre acima de 200°C na temperatura de aplicação, na matriz de aplicação proposta de uso protetor solar pode ser utilizado com segurança, geralmente é exposto a temperaturas de no máximo 45°C, onde não irá ocorrer a degradação dos materiais orgânicos, para as três amostras analisadas. O comportamento térmico das demais formulações foi semelhante, com exceção às formulações que contém filtros físicos onde não ocorre 100% degradação devido à presença do material inorgânico. Os termogramas das demais formulações estão disponíveis no Anexo A.

Figura 25 – Termograma TGA dos lipossomas brancos (a) amostra 01, (b) amostra 02, (c) amostra 03

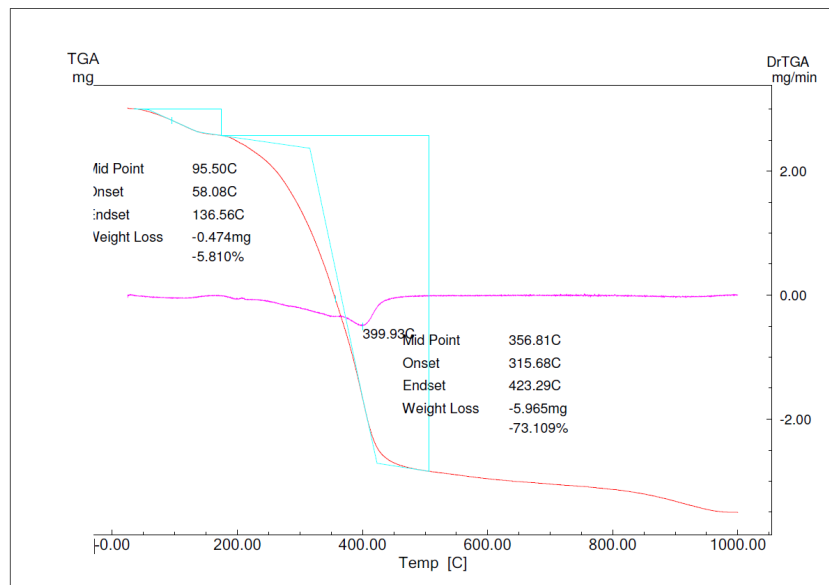
(a)



(b)



(c)



Fonte: O Autor, 2022.

As transições de fase representam um parâmetro importante no design e desempenho de lipossomas para fins específicos. Fosfolipídios podem ser escolhidos para a formação de lipossomas pensando-se no aproveitamento de determinada transição de fase para a satisfação de um comportamento desejado, como, por exemplo, a liberação controlada de material encapsulado, assim as transições de fase podem ser exploradas para controlar a liberação de ativos.

A análise de DSC pode quantificar a variação de energia em uma transição de fase de um sistema, a partir de uma relação entre temperatura e o fluxo de calor em função do tempo. Assim, pode-se obter informações sobre parâmetros termodinâmicos da transição de fase em amostras, como as membranas lipídicas (Castelli et al., 1997).

A T_m é específica para cada lipídio, sendo assim, a T_m dos fosfolipídios depende da natureza do grupo polar, comprimento e grau de insaturação das suas cadeias de hidrocarboneto. A T_m tende a aumentar com o aumento do tamanho das cadeias apolares e diminuir com o grau de insaturação. A inserção de compostos nos lipossomos, pode alterar a T_m do lipídio que os compõem. (ATKINS et al., 2008).

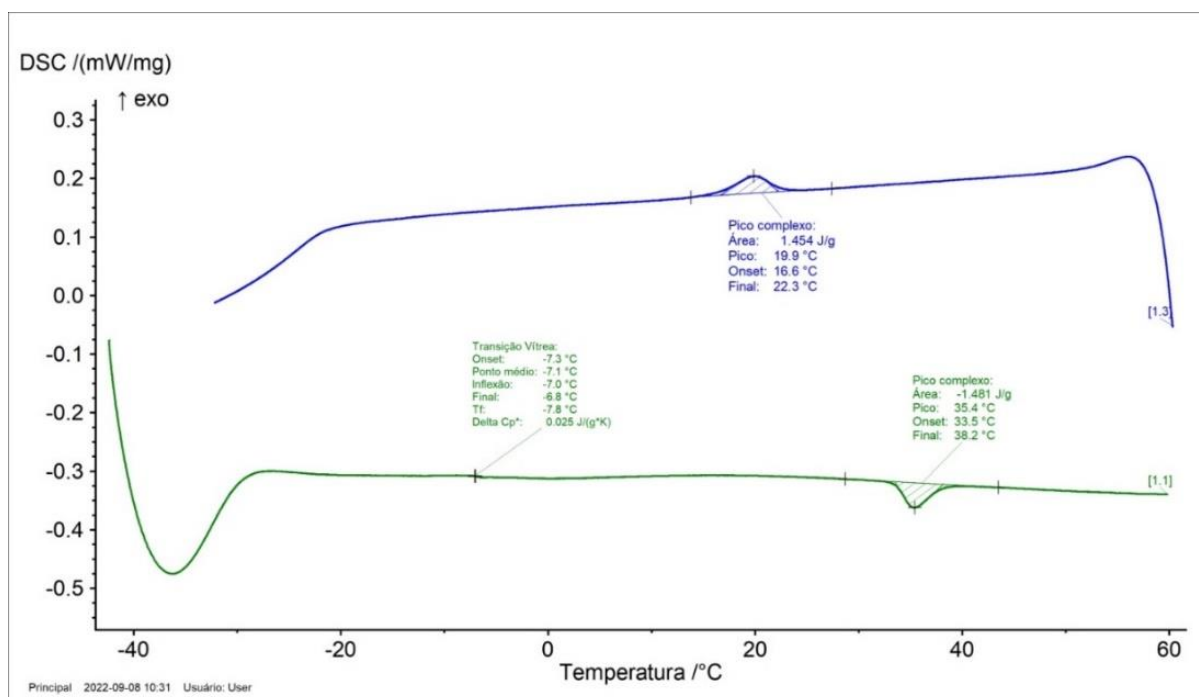
A medida de DSC é feita a pressão constante, o calor absorvido durante a T_m é igual à variação de entalpia (ΔH) da transição gel-fluido. A ΔH é, portanto, associada à processos exotérmicos e endotérmicos. (RISKE & PEREZ 2014). Os picos gerados nas análises de lipossomos são endotérmicos, onde ocorre absorção de calor pela amostra. Assim, através destes eventos térmicos, pode-se analisar a ordem do sistema lipossomal,

pelas medidas de T_m , após a inserção de compostos, visto que os lipídios podem sofrer transições de fase. (JIAO et al., 2018).

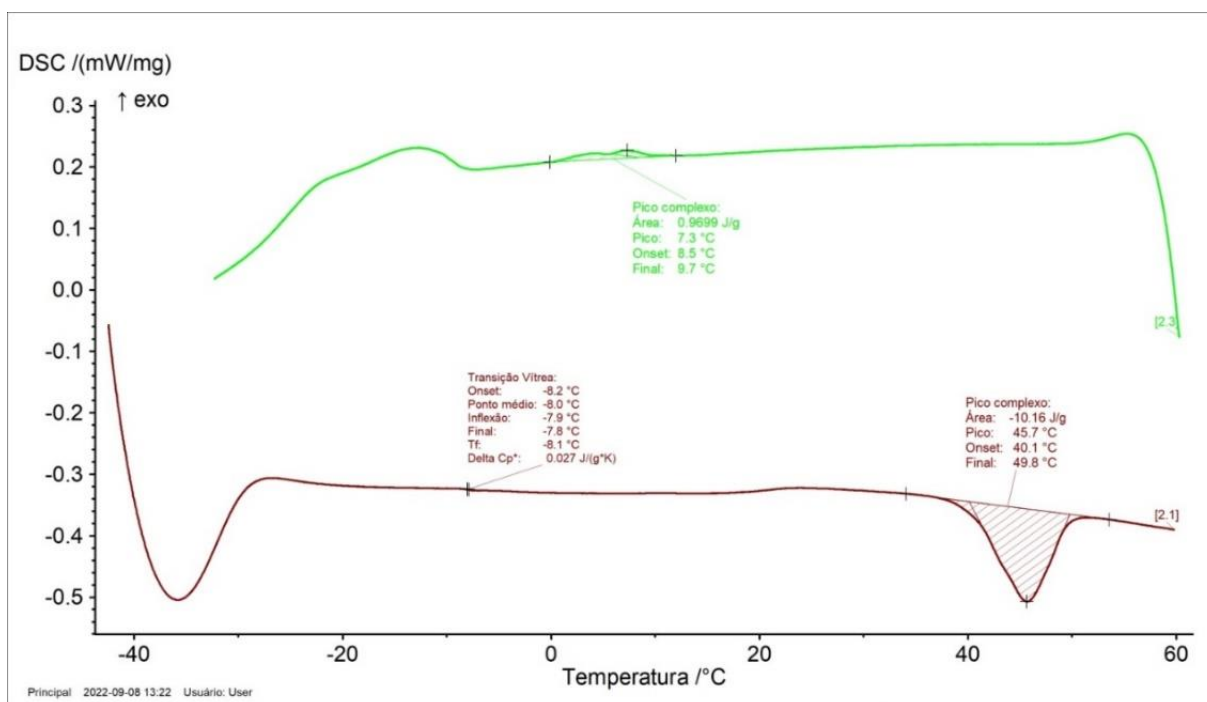
As amostras de lipossomas foram submetidas à análise de DSC para avaliar a estabilidade térmica das formulações, os termogramas estão apresentados na Figura 26. Observa-se um pico endotérmico, onde ocorre a transição de fase do lipossoma, líquido-gel. Ao ocorrer a encapsulação, ocorre uma alteração da Temperatura evidenciando a interação entre os grupos colina e fostato da Asolectina com óxido de zinco por interações eletrostáticas e com resveratrol por ligações de Hidrogênio, eletrostáticas ou por ligações hidrofóbicas aumentando ou diminuindo a entropia do sistema afetando as transições térmicas. Os termogramas de todas as formulações estão disponíveis no Anexo C.

Figura 26 - Termograma de DSC das amostras (a) 01, (b) 02 e (c) 03

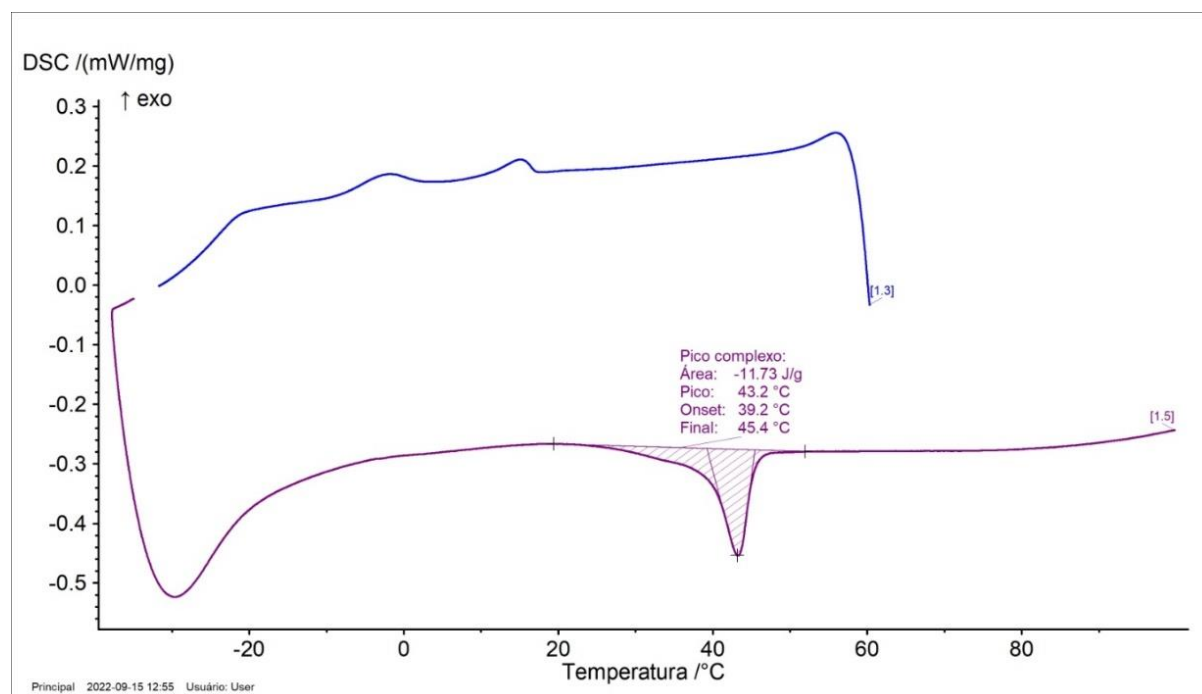
(a)



(b)



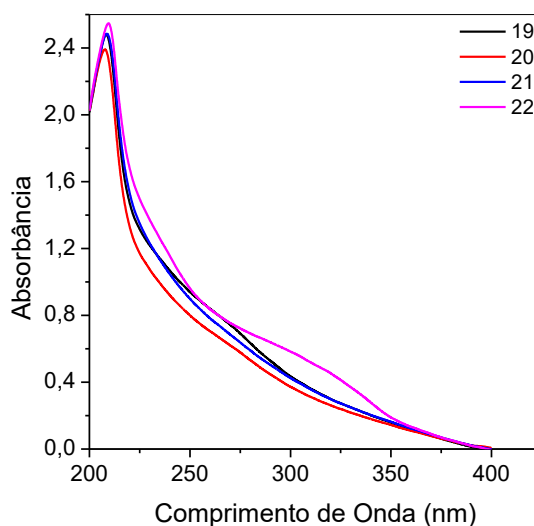
(c)



Fonte: O Autor, 2023.

Os espectros de absorção UV-Vis das formulações produzidas são apresentados na Figura 27. Todos os espectros revelaram uma característica pico de absorção de ZnO em 220 nm aproximadamente. Contudo, um efeito batocrômico pode ser observado na amostra 22 em 310 nm aproximadamente, este efeito pode ter relação com o espectro de absorção do resveratrol, que em água tem seu máximo de absorção em torno 302 nm para sua forma trans, já para sua forma cis em água é de 282 nm. Este comportamento é interessante do ponto de vista da eficiência de bloqueio de radiação solar, pois este efeito na verdade é resultado do aumento da absorvidade molar da amostra 22 nesta região do UVB (290-320 nm).

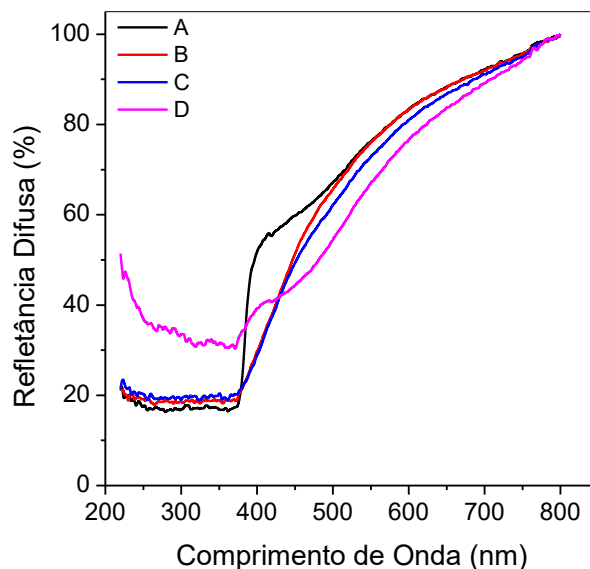
Figura 27 - Gráfico de UV das Amostras 19, 20, 21 e 22



Fonte: O Autor, 2023.

Os espectros de refletância difusa das amostras 19-22 são apresentados na Figura 28, neles é possível observar que um aumento na refletância, ou seja, no espalhamento de luz, das amostras 19-22 começam em torno de 750 nm com 100% de reflexão terminando em 210 nm com uma ampla faixa 210-380 nm onde a reflexão está em torno de 20%. Novamente a amostra 22 destaca-se frente as demais apresentado a menor faixa de reflexão.

Figura 28 - Espectros de Refletância Difusa Amostras (A)19, (B)20, (C)21 e (D) 22



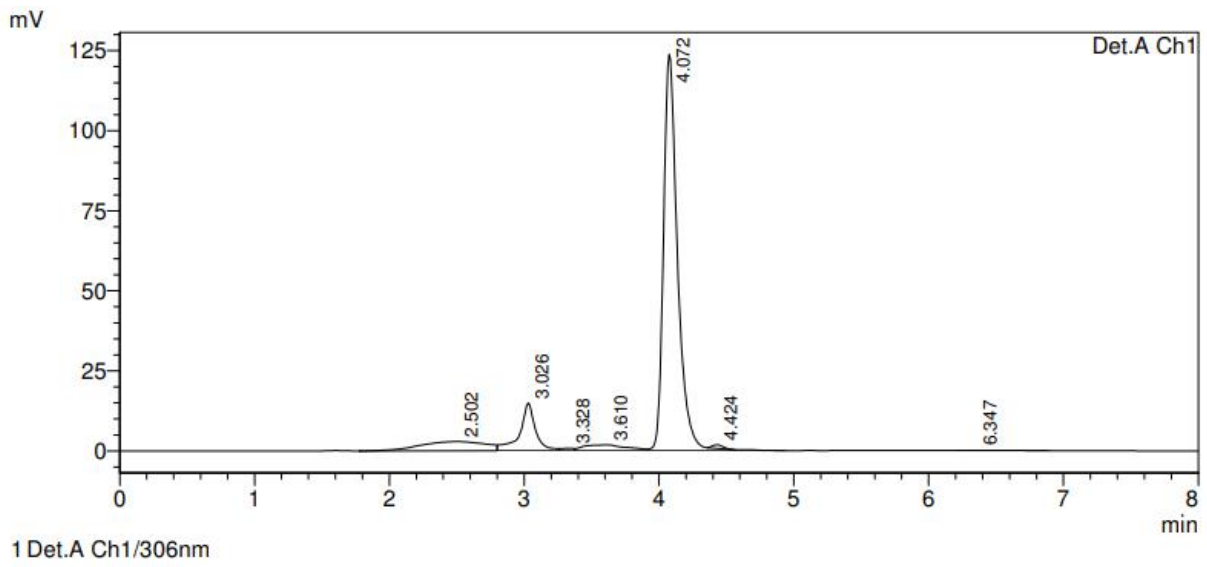
Fonte: O Autor, 2023.

Após avaliação dos resultados das técnicas de análise as quais os lipossomas forma submetidos, todas as amostras mostraram-se estáveis em solução, com lipossomas de tamanho adequado para a aplicação à qual são propostos, com boa homogeneidade e estabilidade em suspensão, onde os resultados das técnicas de DLS, Turbidez, AFM, ZP se complementaram. A avaliação térmica das formulações também apresentou resultado satisfatório através das técnicas de DCS e TGA. Dessa forma, os dados corroboram à lipossomas estáveis e adequados para a aplicação proposta em protetores solares.

5.5 EFICIÊNCIA DO ENCAPSULAMENTO DO RESVERATROL

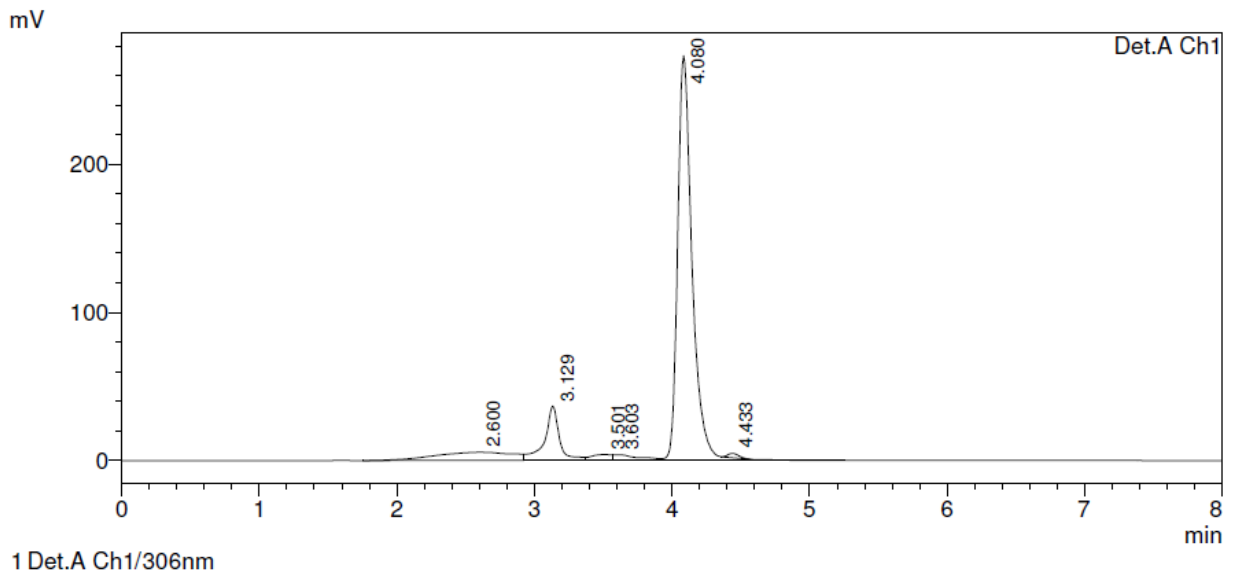
As amostras de lipossomas que contém resveratrol, tiveram a eficiência de encapsulamento avaliada. Durante a obtenção dos lipossomas com resveratrol, foram adicionados 2,5mg de resveratrol junto ao lipossoma diluído em 10mL, obtendo uma concentração comum de 250 $\mu\text{g/mL}$ de resveratrol. Ao EE% foi calculado a partir de dados da análise de HPLC do resveratrol e dos lipossomas e metodologia descrita no item 4.4.9. A curva de calibração do resveratrol está apresentada no ANEXO E, e as Figuras abaixo mostram o HPLC dos lipossomas encapsulados.

Figura 29 - Cromatograma da amostra 13



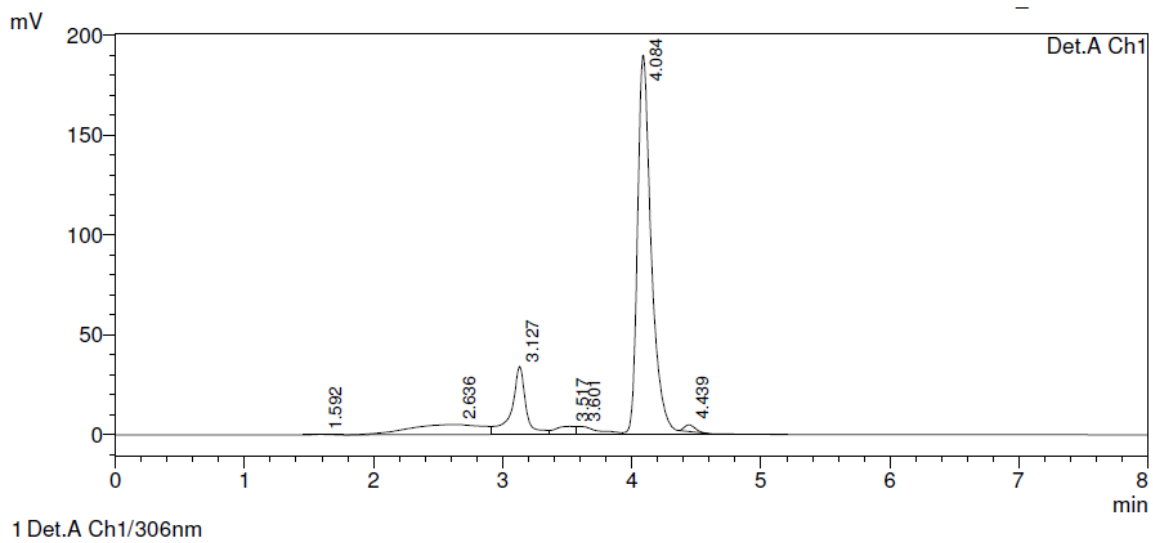
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 30 - Cromatograma da amostra 14



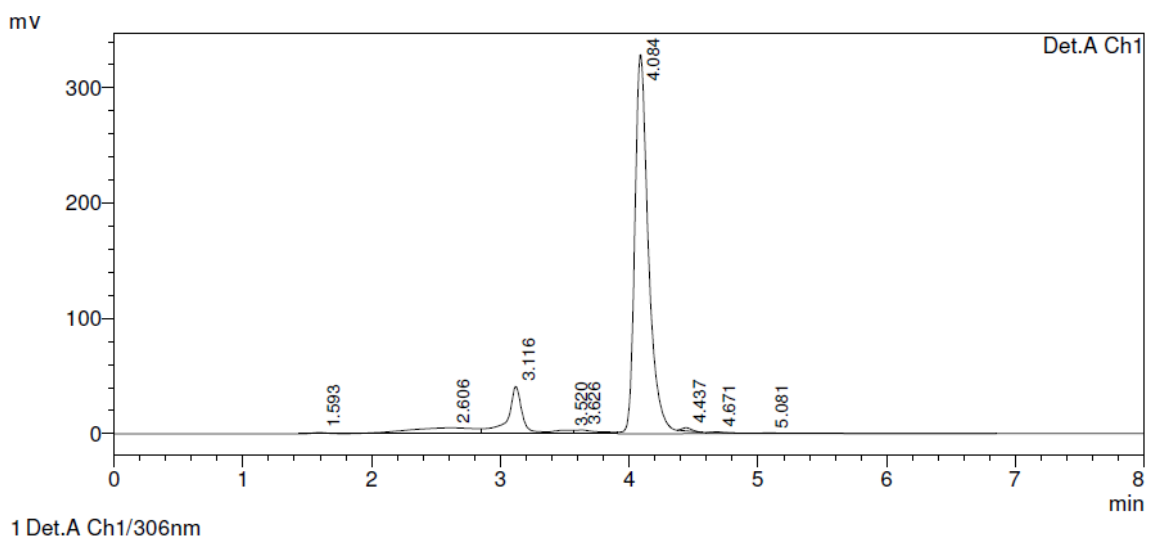
Fonte: O Autor, 2023.

Figura 31 - Cromatograma da amostra 15



Fonte: O Autor, 2023

Figura 32 - Cromatograma da amostra 22



Fonte: O Autor, 2023

A Tabela 12 apresenta dos resultados obtidos de EE% para o Resveratrol. Observa-se que em todas as amostras analisadas, os resultados de encapsulamento são superiores a 93%, atingindo valores acima de 98% em uma das formulações de lipossomas.

Este resultado de EE% para o resveratrol, corrobora com os demais resultados obtidos e análises realizadas nesta pesquisa, mostrando que o método utilizado para o encapsulamento foi eficaz e teve um resultado satisfatório.

Tabela 12 - Eficiência de Encapsulamento do Resveatrol

Amostra	C _s média (µg/mL)	EE (%)
13	4,348	98,26
14	12,015	95,19
15	7,964	96,81
22	15,139	93,94

Fonte: O Autor, 2024.

5.6 INCORPORAÇÃO DOS LIPOSSOMAS EM PROTETOR SOLAR

A fim de avaliar o comportamento dos lipossomas à base de um produto cosmético e para avaliar a efetividade dos lipossomas quanto ao Fator de Proteção Solar, alguns lipossomas foram aplicados em uma base pronta de protetor solar. A concentração dos lipossomas na base cosmética está descrita na Tabela 13.

A adição dos lipossomas à base cosmética foi realizada sob agitação mecânica leve, onde o lipossoma foi vertido à temperatura ambiente sob a base lentamente. A agitação ocorreu até completa homogeneidade do protetor solar.

Tabela 13 - Formulações da base de protetor solar com incorporação dos lipossomas.

FORMULAÇÃO PROTETOR SOLAR	%
Base Creme Protetor Solar	75%
Lipossomas	25%

Fonte: O Autor, 2023.

Para avaliar o comportamento dos lipossomas incorporados à formulação de um protetor solar, os lipossomas com ZnO foram os escolhidos e foram preparadas amostras com o filtro físico óxido de zinco, com diferentes associações onde foi possível avaliar a estabilidade do produto cosmético e o valor do Fator de Proteção Solar (FPS) do produto final. As composições dos lipossomas aplicados à base do protetor solar, estão descritas na Tabela 14.

Tabela 14 - Formulações de Lipossomas com ZnO

MATERIAIS	AMOSTRAS / FÓRMULAS (Quantidade(mg))				
	B	23	24	25	26
ASO	175	175	175	175	175
Colesterol	75	75	75	75	75
ZnO	-	63	-	-	-
ZnO + Açai	-	-	63	-	-
ZnO + Aloe vera	-	-	-	63	63
Resveratrol	-	-	-	-	2,5

Fonte: O Autor, 2023.

Dessa forma, foram obtidas cinco formulações diferentes de protetor solar, cada uma possuindo um lipossoma com composições diferentes, identificados conforme a Tabela 14.

As amostras de protetor solar foram avaliadas quanto a sua estabilidade acelerada, para verificar a estabilidade do produto após a incorporação do lipossoma, avaliando os parâmetros estabelecidos pela Anvisa para estudo de estabilidade acelerado em cosméticos e o Fator de Proteção Solar (FPS) das amostras também foi avaliado.

5.6.1 DETERMINAÇÃO DO FPS

As formulações de protetor solar tiveram seu Fator de Proteção Solar avaliado. Os resultados (média) obtidos estão descritos na Tabela 15. Avalia-se um acréscimo no Fator de Proteção Solar das amostras contendo os lipossomas com filtro solar incorporado em relação ao lipossoma branco. Para a formulação com o lipossoma branco obteve-se um FPS médio de 12,0, enquanto o melhor resultado em proteção foi obtido para Amostra de número 23, que é composta pelo ZnO padrão, sem estar em associações, esta amostra obteve um FPS médio de 17,0. Observa-se que por ser uma formulação de protetor solar com a utilização de um único ativo filtro solar (ZnO), os resultados de FPS foram significativos, pois geralmente utiliza-se associações de filtros para conseguir um incremento em FPS das formulações. Além do valor de FPS, o comprimento de onda crítico em todas as amostras ficou na região do UVB entre 340,0 e 350,0.

Tabela 15 - Resultados de FPS das formulações de Protetor Solar com incorporação dos lipossomas

Amostra	FPS	Desvio Padrão FPS	Relação UVA/UVB	Desvio Relação UVA/UVB	Comprimento de Onda Crítico	Desvio Comprimento de Onda Crítico
Branco	12,00	2,6333	0,2453	0,0177	348,67	2,7867
23	17,00	1,6667	0,2207	0,0173	344,00	3,4467
24	15,00	1,9667	0,2067	0,0177	341,00	3,0800
25	15,33	2,1333	0,2157	0,0117	343,00	1,9067
26	14,00	2,5000	0,2310	0,0103	345,33	2,2733

Fonte: O Autor, 2023.

As leituras de FPS das formulações foram feitas em triplicata, os resultados de cada leitura estão descritos na Tabela 16.

Tabela 16 - Resultados individuais das análises de FPS das formulações

Dados individuais de cada leitura						
Formulações (Triplicatas)	FPS	Desvio Padrão FPS	Relação UVA/UVB	Desvio Relação UVA/UVB	Comprimento de Onda Crítico	Desvio Comprimento de Onda Crítico
Branco (1ª Leitura)	11	3,4	0,234	0,012	346	2,29
Branco (2ª Leitura)	12	3,1	0,255	0,027	351	3,6
Branco (3ª Leitura)	13	1,4	0,247	0,014	349	2,47
23 (1ª Leitura)	17	1,1	0,213	0,019	342	3,5
23 (2ª Leitura)	18	1	0,22	0,023	343	4,24
23 (3ª Leitura)	16	2,9	0,229	0,01	347	2,6
24 (1ª Leitura)	15	1,4	0,213	0,017	342	3,06
24 (2ª Leitura)	16	2,8	0,208	0,011	341	2,18
24 (3ª Leitura)	14	1,7	0,199	0,025	340	4,0
25 (1ª Leitura)	14	1,3	0,199	0,011	340	1,9
25 (2ª Leitura)	15	1,8	0,221	0,009	344	1,27
25 (3ª Leitura)	17	3,3	0,227	0,015	345	2,55
26 (1ª Leitura)	13	2,3	0,229	0,006	345	1,74
26 (2ª Leitura)	14	1,3	0,235	0,007	346	1,48
26 (3ª Leitura)	15	3,9	0,229	0,018	345	3,6

Fonte: O Autor, 2023.

5.6.2 ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA

As formulações com os lipossomas 23 a 26, as quais tiveram seus valores de FPS avaliados, também tiveram a sua estabilidade avaliada seguindo o Guia de Estabilidade de Cosméticos da Anvisa, estudo que é obrigatório para todo produto cosmético, onde verificam-se as propriedades físico-químicas e microbiológicas do produto durante pelo menos 90 dias, em condições extremas de estresse térmico. Durante o período de estudo, periodicamente são avaliados alguns parâmetros para verificar o comportamento do produto, simulando seu tempo de validade em prateleira. (ANVISA, 2004).

Situações como princípios de separação de fase do produto em centrífuga ou visualmente, mudança de coloração, alteração no cheiro do produto, alterações significativas no pH do produto são indícios que o produto não está estável para ser posteriormente comercializado. As características físico-químicas são avaliadas nos intervalos de tempo: 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias.

Além das características físico-químicas, o produto também é submetido a análise microbiológica, para verificar se além de manter suas propriedades físico-químicas, eles mantem suas características microbiológicas, dentro da especificação.

As especificações microbiológicas são definidas pela Anvisa, através da RDC 752/2022 (ANVISA, 2022), os parâmetros para controle microbiológico de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes são os seguintes:

- I - contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios: $\leq 5 \times 10^3$ UFC/g ou mL;
- II - ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1g ou 1mL;
- III - ausência de *Staphylococcus aureus* em 1g ou 1mL;
- IV - ausência de Coliformes totais e fecais em 1g ou 1mL.

Os produtos em estudo, são submetidos a análise microbiológica nos tempos 0, 30 e 90, em todas as condições físicas as quais encontram-se expostos.

Os resultados do teste de estabilidade acelerada das amostras de Protetor Solar com os lipossomas, estão descritas resumidamente nas tabelas abaixo.

Tabela 17 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 23

AMOSTRA: PROTETOR SOLAR COM LIPOSSOMA 23						
	Tempo (Dias)	Condições do teste				
		Geladeira	45°C	Luz solar	Ambiente Escuro	
pH	T0	5,80	5,80	5,80	5,80	
	T7	5,81	5,83	5,83	5,79	
	T15	5,80	5,82	5,84	5,79	
	T30	5,79	5,80	5,83	5,78	
	T60	5,75	5,80	5,84	5,80	
	T90	5,76	5,79	5,83	5,81	
	Cor e Odor	T0	1	1	1	1
T7		1	1	1	1	
T15		1	1	1	1	
T30		1	1	1	1	
T60		1	1	1	1	
T90		1	1	1	1	
Aspecto		T0	1	1	1	1
		T7	1	1	1	1
	T15	1	1	1	1	
	T30	1	1	1	1	
	T60	1	1	1	1	
	T90	1	2	2	1	
	Microbiológico	T0	Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
		T30	Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T90		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado	

Legenda:

1 - Não alterado / 2 – Levemente modificado / 3 – Alteração significativa (reprovação)

Fonte: O Autor, 2023.

Tabela 18 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 24

AMOSTRA: PROTETOR SOLAR COM LIPOSSOMA 24					
	Tempo (Dias)	Condições do teste			
		Geladeira	45°C	Luz solar	Ambiente Escuro
pH	T0	5,74	5,74	5,74	5,74
	T7	5,73	5,73	5,70	5,76
	T15	5,75	5,72	5,69	5,75
	T30	5,75	5,70	5,68	5,78
	T60	5,78	5,70	5,71	5,76
	T90	5,75	5,74	5,73	5,77
	Cor e Odor	T0	1	1	1
T7		1	1	1	1
T15		1	1	1	1
T30		1	1	1	1
T60		1	1	1	1
T90		1	1	1	1
Aspecto		T0	1	1	1
	T7	1	1	1	1
	T15	1	1	1	1
	T30	1	1	1	1
	T60	1	2	1	1
	T90	1	2	2	1
	Microbiológico	T0	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T30		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T90		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado

Legenda:

1 - Não alterado / 2 – Levemente modificado / 3 – Alteração significativa (reprovação)

Fonte: O Autor, 2023.

Tabela 19 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 25

AMOSTRA: PROTETOR SOLAR COM LIPOSSOMA 25						
	Tempo (Dias)	Condições do teste				
		Geladeira	45°C	Luz solar	Ambiente Escuro	
pH	T0	5,81	5,81	5,81	5,81	
	T7	5,81	5,83	5,79	5,78	
	T15	5,78	5,80	5,77	5,79	
	T30	5,79	5,82	5,80	5,82	
	T60	5,76	5,78	5,82	5,83	
	T90	5,75	5,76	5,78	5,80	
	Cor e Odor	T0	1	1	1	1
		T7	1	1	1	1
T15		1	1	1	1	
T30		1	1	1	1	
T60		1	1	1	1	
T90		1	1	1	1	
Aspecto		T0	1	1	1	1
		T7	1	1	1	1
	T15	1	1	1	1	
	T30	1	1	1	1	
	T60	1	2	2	1	
	T90	1	2	2	1	
	Microbiológico	T0	Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
		T30	Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T90		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado	

Legenda:

1 - Não alterado / 2 – Levemente modificado / 3 – Alteração significativa (reprovação)

Fonte: O Autor, 2023.

Tabela 20 - Resultados do estudo de Estabilidade da Amostra 26

AMOSTRA: PROTETOR SOLAR COM LIPOSSOMA 26					
	Tempo (Dias)	Condições do teste			
		Geladeira	45°C	Luz solar	Ambiente Escuro
pH	T0	5,80	5,80	5,80	5,80
	T7	5,80	5,82	5,82	5,77
	T15	5,78	5,80	5,81	5,76
	T30	5,76	5,78	5,83	5,79
	T60	5,75	5,77	5,85	5,80
	T90	5,76	5,79	5,85	5,82
	Cor e Odor	T0	1	1	1
T7		1	1	1	1
T15		1	1	1	1
T30		1	1	1	1
T60		1	1	1	1
T90		1	1	1	1
Aspecto		T0	1	1	1
	T7	1	1	1	1
	T15	1	1	1	1
	T30	1	1	1	1
	T60	1	2	1	1
	T90	1	2	1	1
	Microbiológico	T0	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T30		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado
T90		Aprovado	Aprovado	Aprovado	Aprovado

Legenda:

1 - Não alterado / 2 – Levemente modificado / 3 – Alteração significativa (reprovação)

Fonte: O Autor, 2023.

Observou-se que as todas as formulações tiveram um comportamento semelhante ao longo de todo o estudo, mostrando que a adição do lipossoma na base do protetor solar não interferiu na estabilidade da emulsão e nas suas características. Ao longo do estudo,

foi observado uma leve queda na viscosidade das formulações a partir de 60 dias na estufa e na luz solar em algumas amostras, perca de viscosidade essa muito suave, devido a exposição do produto a uma temperatura um pouco mais elevada, porém não foram evidenciados indícios de separação de fase ou de precipitações decorrentes dessa queda de viscosidade. O pH das amostras teve uma leve oscilação ao longo dos dias nas diferentes condições a quais as amostras foram expostas, porém considerado não significativo para o estudo, pois as variações máximas não passaram de 0,5 entre uma leitura e outra.

As características microbiológicas mantiveram-se durante todo o estudo, onde todas as análises tiveram um resultado satisfatório, sem apresentar qualquer indício de crescimento microbiológico.

Os resultados encontrados no estudo de estabilidade acelerado em base cosmética e no Fator de Proteção Solar mostraram-se positivos, os lipossomas não interferiram na estabilidade da emulsão e os resultados de FPS foram satisfatórios, chegando a alcançar um acréscimo de 40% no valor do FPS em uma das amostras comparando com o produto com lipossoma branco.

6 CONCLUSÃO

Os lipossomas de Asolectina de soja com encapsulação de filtros solares foram preparados com sucesso pelo método de evaporação por fase reversa, foram preparadas diversas formulações a fim de avaliar diferentes composições de lipossomas e diferentes filtros solares encapsulados.

Os sistemas lipossomais foram caracterizados, no que tange as propriedades físico-químicas e térmicas pelas técnicas de FTIR (espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier), Espalhamento de Luz (DLS), Potencial Zeta (ZP), Microscopia de Força Atômica (AFM), DSC (calorimetria diferencial de varredura), TGA (Análise Termogravimétrica) e Espectroscopia de UV-Vis.

Através das técnicas utilizadas, pode-se avaliar a estabilidade e homogeneidade dos lipossomas obtidos. Os valores de PDI $\leq 0,27$ sugerem uma homogeneidade no tamanho dos lipossomas e os valores de ZP encontrados foram menores que $-30,0\text{mV}$ apresentando boa estabilidade dos lipossomas em suspensão. Avaliando as propriedades térmicas, os lipossomas apresentaram boa estabilidade térmica com degradação acima de 200°C , o que para a matriz de aplicação do produto é um ótimo comportamento térmico, avaliando a temperatura de aplicação/uso do produto. Os resultados de UV mostraram absorvância entre 210 a 380nm, abrangendo toda a região do UVB e parte da região UVA, regiões essas de interesse do estudo, onde os protetores solares atuam na proteção da pele.

A avaliação da eficácia de encapsulamento nos lipossomas foi realizada, através da determinação do EE% do antioxidante Resveratrol, os resultados obtidos através de cromatografia líquida de alta eficiência, mostraram que o encapsulamento pelo método de evaporação de fase reversa foi bem-sucedido, com eficiência de encapsulamento acima 93%.

Realizando uma avaliação entre todas as análises realizadas e os resultados obtidos, todas as amostras mostraram-se estáveis em solução, com lipossomas de tamanho adequado para a aplicação à qual são propostos, com boa homogeneidade e estabilidade em suspensão, assim como bom comportamento térmico. Dessa forma, os dados corroboram à lipossomas estáveis e adequados para a aplicação proposta em protetores solares.

Os lipossomas que foram aplicados à base cosmética de protetor solar para avaliar sua estabilidade e o Fator de Proteção Solar, tiveram resultados satisfatórios, onde verificou-se no estudo de estabilidade acelerado realizado ao longo de 90 dias, que a adição dos lipossomas à base dos protetores solar não desencadeou problemas de instabilidade como floculação, precipitação, separação de fase, sendo as formulações aprovadas em todas as condições extremas em que o produto foi exposto. Além disso, os protetores solares tiveram seu Fator de Proteção Solar avaliado e pode-se observar um aumento no valor do FPS das formulações contendo os lipossomas com filtros encapsulados, sendo que uma das formulações de lipossomas teve um aumento de 40% no valor do FPS comparado ao protetor solar com lipossoma branco.

Os resultados obtidos nesta pesquisa foram satisfatórios e contribuem com novos sistemas de entrega de filtros solares de forma a aumentar a eficiência de protetores solares.

7 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

- Avaliação biológica do lipossoma em células através da análise de citotoxicidade;
- Estudo de segurança aplicado à cosméticos de irritabilidade dérmica primária (HRIPT);
- Avaliação do poder antioxidante do resveratrol associado aos filtros solares, aplicado no produto cosmético.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC, Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do Setor – Evolução**, 2022.

AFAQ, F. **Natural Agents: cellular and molecular mechanisms of photoprotection**. Arch Biochem Biophys, 2011.

ANTUNES, Ana Filipa Valente. **Sistemas nanoparticulados aplicados à dermocosmética**. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa, 2016.

ANVISA, **Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/rdc211_adequacao.htm>. 2005.

ANVISA, **Resolução RDC nº 752, de 19 de setembro de 2022**. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5738443/RDC_752_2022_.pdf/66ee0d82-4641-441b-b807-109106495027>.

ANVISA, **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, maio de 2004**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/@@download/file>>.

AKBARZADEH, A. et al. **Liposome: classification, preparation, and applications**. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, p. 102-102, 2013

ATKINS, P., De Paula, J. Friedman, R. **Quanta, Matéria e Mudança. Uma Abordagem Molecular para a Físico-química**. Tradução do v. 1. Rio de Janeiro. LTC v. 1, 2008.

AZEVEDO, Marcelo Mantovani Martiniano. Introdução à Nanotecnologia: Um Enfoque Químico. In: **Primeiro workshop do curso tópicos especiais em química inorgânica IV**, 2002, Instituto de Química, UNICAMP. Nanoesferas e a Liberação Controlada de Fármacos, dezembro, 2002, p.01-20.

BATISTA, C. M., et al. **Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte**. Rev. Brasileira Ciencia Farm. São Paulo, v.43, n.2, p 167-179, 2007.

CHEN, C; TRIPP, C. P. **An Infrared Spectroscopic Based Method to Measure Membrane Permeance in Liposomes.** Biochim. Biophys. Acta. v. 1778, p. 2266-2272, 2008. doi: 10.1016/j.bbamem.2008.05.010

CHOROLLI, M et al. **Lipossomas em formulações dermocosméticas.** Infarma – Ciências Farmacêuticas. v.16, n. 7;8, p. 75-79, 2013. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/79/22-lipossomas.pdf>>

CODEVILLA, Cristiane Franco, et I. **Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas.** Ciência e Natura, São Paulo, v.65, n.3, p 28-31, 2013.

DANAEI, M. et al. **Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems.** Pharmaceutics, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2018.

DIFFEY, B. L.; ROBSON, J. **A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum.** Soc. Cosmet. Chem., v. 40, p. 127-133.

FERREIRA, Laura Victória Vieira. **Nanotecnologia na formulação de cosméticos.** Dissertação de Mestrado. Universidade de Coimbra, 2016.

FEUSER, P. E. et al, **Cisplatin and paclitaxel-loaded liposomes induced cervical cancer (HeLa) cell death with multiple copies of human papillomavirus by apoptosis and decreased their cytotoxic effect on non-tumor cells.** Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022. doi:10.1016/j.jddst.2022.103457

FEUSER, P.E., et al. **In vitro phototoxicity of zinc phthalocyanine (ZnPc) loaded in liposomes against human breast cancer cells.** J Porphyr Phthalocyanines 25 (2021) 153–161. doi:10.1142/S1088424621500073.

FREITAS JV, LOPES NP, GASPAR LR. **Photostability evaluation of five UV-filters, trans-resveratrol and beta-carotene in sunscreens.** Eur J Pharm Sci. 2015. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26159738> > Acesso em: 22 de maio de 2021.

FLOR et al. **Protetores solares**. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

FORESTIER, S. **Rationale for sunscreen development**. J Am Acad Dermatol, v. 58, n. 5, p.133-138, 2008.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE M.; GILBERTE-CALZADA, Y. **The latest on skin photoprotection**. Clinical Dermatology v.26, p. 614-626, 2008

GRIT, M. CROMMELIN, D.J.A. **Chemical stability of liposomes: Implication for their physica stability**. Chemistry and Physics of Lipids. v. 64, p. 3-18, 1993.

IMURA, T.; OTAKE, K.;HASHIMOTO,S.;GOTOH,T.;YUASA,M. **Colloids and Surfaces B**. 27, 133. 2003.

JAIN, S. K.; JAIN, N. K. **Multiparticulate carriers for sun-screening agents**. Int. J. Cosmetic Sci., v.32, p.89-98, 2010.

JIAO, Q., Wang, R., Jiang, Y., Liu, B. **Study on the Interaction Between Active Components from Traditional Chinese Medicine and Plasma Proteins**. Chem. Cent. J., v 12, p. 48, 2018. doi:10.1186/s13065-018-0417-2

JURABLU, S.FARAHMANDJOU, M., T. P. **Sol-Gel Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles: Study of Structural and Optical Properties**. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 26(3): 281 – 285. Firoozabadi, 2015.

KIMBROUCH, D. R. **The Photochemistry of Sunscreens**. Journal of Chemical Education. v.74, 1997.

KULLAVANIJAYA, P. LIM, H. Photoprotection. **Journal of Americam Academy of Dermatology**. v. 52, n. 6, p. 937-958, 2005.

KUMAR S., et al. **Stability indicating simplified HPLC method for simultaneous analysis of resveratrol and quercetin in nanoparticles nd human plasma**. Food Chem 197 (2016) 959–964. doi:10.1016/j.foodchem.2015.11.0.

LASH, J. WEISSIG, V. BRANDL, M. **Preparation of liposomes. Liposomes: A Practical Approach.** New York: Oxford University Press, 2003.

LATHA, M. S.; et al. **Sunscreening agents: a review**, 2003.

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H.; PITTELKOW, M. **Photoprotection.** The Lancet, v. 370, n. 9586, p. 528-537, 2007.

LEITE, D. DE O., PRADO, R. J. **Espectroscopia no Infravermelho: Uma Apresentação para o Ensino Médio. Revista Brasileira de Ensino de Física.**, v. 34, 2012. doi:10.1590/s1806- 11172012000200015.

MELO, C. P. de; PIMENTA, M. **Nanociências e nanotecnologia.** Parcerias Estratégicas, n. 18, p. 9 – 21, Agosto 2003.

MERTINS O., SEBBEN, M., POHLMANN, A. R., SILVEIRA, N. P. **Production of Soybean Phosphatidylcholine–Chitosan Nanovesicles by Reverse Phase Evaporation: A Step by Step Study.** Chem. Phys. Lipids., v. 138, p. 29-37, 2005. doi: 10.1016 / j.chemphyslip.2005.07.004

MISHRA, P. R., Al Shaal, L., Müller, R. H., Keck, C. M. **Production and Characterization of Hesperetin Nanosuspensions for Dermal Delivery.** Int. J. Pharm., v. 371, p. 182-189, 2009. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.12.030

MORENO, M. M., HOWE, J., SUWALSKY, M., GARIDIEL, P., BRANDENBURG, K. **Physicochemical Interaction Study of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs with Dimyristoylphosphatidylethanolamine Liposomes.** Lett. Drug Des. Discovery., v. 7, p. 50-56, 2010. doi: 10.2174 / 157018010789869280.

MUFAMADI, M. S.; PILLAY, V.; CHOONARA, Y. E.; DU TOIT, L. C.; MODI, G.; NAIDOO, D.; NDESENDO, V. M. **A review on composite liposomal technologies for specialized drug delivery.** J Drug Deliv, v. 2011, p. 1-19, 2011.

NEVES, K. **Espectro Solar, Sol e origem da radiação eletromagnética**. Tecnopress – Edição Temática: Proteção Solar, nº7, Ano 3, p.10-13. Março, 2008.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR,S.K. **Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, anti-oxidant and DNA repair mechanisms**. Archives of Dermatological Research, v. 302, n. 2, 2010.

OTTO, A.; PLESSIS, J. D.; WIECHERS, J. W. **Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery**. . Int J Cosmet Sci, v.31, p. 1–19, 2009.

PALEOS, C.M.; SIDERATOU, Z.; TSIOURVAS, D. **Chembiochem**, cap 2, pag 205. 2001.

PANDEY, K. B., RIZVI, S. I. **Anti-oxidative action of resveratrol: Implications for human health**. Arabian Journal of Chemistry, Allahabad – India, n. 4, p. 293-298, 2011.

PANGENI, R. et al.; **Resveratrol: review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery**. Expert Opinion, v.11, n.8, p. 1285-1298, 2014.

PALM, D. M.; O'DONOGHUE, N.M. **Update on photoprotection**. Dermatol Ther, v. 20, p. 360-376, 2007.

PATTANAARGSON, S. *et al.* Photoisomerization of octyl methoxycinnamate. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**., v.161, p.269- 274, 2004.

PEREZ, Emmanuel. **Molecular layers on silicon for selective protein detection**. Materials science [cond-mat.mtrl-sci]. Ecole Polytechnique X, French, 2011.

PETRAZZUOLI, M. **Advances in sunscreens. Current Problems in Dermatology**. v.12, n. 6, p. 287-290, 2000.

PURI, A. et al. **Lipid-Based Nanoparticles as Pharmaceutical Drug Carriers: From Concepts to Clinic. Critical reviews in therapeutic drug carrier systems**, v. 26, p. 523-580, 2009.

RAMIS et.al.; **Caloric restriction, resveratrol and melatonin: Role of SIRT1 and implications for aging and related-diseases.** Mechanisms of Ageing and Development. v. 146-148, p. 28-41, 2015.

REETH, I.V. **Beyond skin feel: innovative methods for developing complex sensory profiles with silicones.** J Cosmet Dermatol, v. 5, p.61-67, 2005.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética.** 2. ed. Sao Paulo: Pharma books, 2010.

RIEGER, M.M, **Current aspects of cosmetics sciences III. Liposomes and their uses.** Cosmet Toiletries, 2006.

RISKE, K. A., PEREZ, K. R. **Entre Sólidos e Líquidos - Uma Visão Contemporânea e Multidisciplinar- Para a Formação de Professores e Divulgação do Conhecimento.** Ed. Livraria da Física., Ed 1. p. 167-191, 2014.

SANTOS, Nuno C.; CASTANHO, Miguel A. R.B. **Lipossomas: a bala magica acertou.** Quim. Nova, v.25, n. 6B, p1181-1185, 2002.

SATHAPPA, M., Alder, N. N. **Ionization Properties of Phospholipids Determined by Zeta Potential Measurements.** Bio-protocol., e2030, p.6, 2016.
doi:10.21769/BioProtoc.e2030

SERCOMBE, L. et al. **Advances and challenges of liposome assisted drug delivery.** Frontiers in Pharmacology, v. 6, p. 1–13, 2015.

SEVERCAN, F., KAZANCI, N. **Melatonin Strongly Interacts with Zwitterionic Model Membranes-Evidence from Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Differential Scanning Calorimetry,** Biochim. Biophys. Acta, v. 1668, p. 215-222, 2005.
doi: 10.1016 / j.bbamem.2004.12.009

SHAATH, N.A. **Evolution of modern sunscreen Chemicals. Sunscreens Development, Evaluation, and Regulatory Aspects.** New York: Marcel Dekker, p. 589-600, 1997.

SOTOMAYOR, M.D.P.T.; DIAS, I. L. T.; LANZA, M. R. V.; MOREIRA, A. B.; KUBOTA, L. T. **Aplicação e avanços de espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas.** Química Nova, v.31, 2008.

SZOKA, F. PAPAHADJOPOULOS, D. **Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation.** Proceedings of National Academy of Science of USA. v. 75, p. 4194-4198, 1978.

TAYLOR, T.M.; DAVIDSON, P.M.; BRUCE, B.D.; WEISS, J. **Liposomal Nanocapsules in Food Science and Agriculture.** Food Science and Nutrition. V.45, 587-605, 2005.

TESKAC K, KRISTL J. **The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol.** Int J Pharm. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19833178> > Acesso em: 22 de maio de 2021

THE MERCK INDEX. **Thirteenth Edition, Merck Co. Inc., USA, ISBN: 0911910- 13-1, P.1213, 2001.**

TONIAZZO, T.; BERBEL, I. F.; CHO, S.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; MORAES, I. C. F.; PINHO, S. C. **β -carotene-loaded liposome dispersions stabilized with xanthan and guar gums: 125 physicochemical stability and feasibility of application in yogurt.** LWT - Food Science and Technology. 59, 1265–1273, 2014.

TORCHILIN, V.P. **Recent advances with liposomes as pharmaceutical carrier.** *Nature Rev. Drug Disc.*, London, v. 4, p. 145-160, 2005.

TOYRAN, N., SEVERCAN, F. **Competitive Effect of Vitamin D2 and Ca 2+ on Phospholipid Model Membranes: an FTIR Study.** J. Mol. Struct., v. 123, p. 165-176, 2003. Doi: 10.1016/S0009- 3084(02)00194-9.

THRING, T., HILI, P. AND NAUGHTON, D. **Anticollagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants.** *BMC Complement. Altern. Med.* 9, 27 (2009).

TRUSCOTT, G. **Photochemical and photophysical properties of sunscreens.** In: Giacomoni, P. U. *Sun Protection in Man.* Elsevier Science B.V, 2001.

URBACH, F. The historical aspects of sunscreen. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 64, p. 99-104, 2001.

VALEUR, B. **Molecular Fluorescence: Principles and Applications.** Weinheim: Wiley – VHC, 2001.

WANG, A., MILLER, C. C., SZOSTAK, J. W. **Core-Shell Modeling of Light Scattering by Vesicles: Effect of Size, Contents, and Lamellarity.** *Biophys. J.*, v.116, p. 659-669, 2019. doi:10.1016/j.bpj.2019.01.006

YESUDIAN, P. D. **Severe contact urticaria and anaphylaxis from benzophenone-3 (2 – hydroxyl 4 –methoxy benzophenone).** *Contact Dermatitis*, v. 46. p. 55-56, 2002.

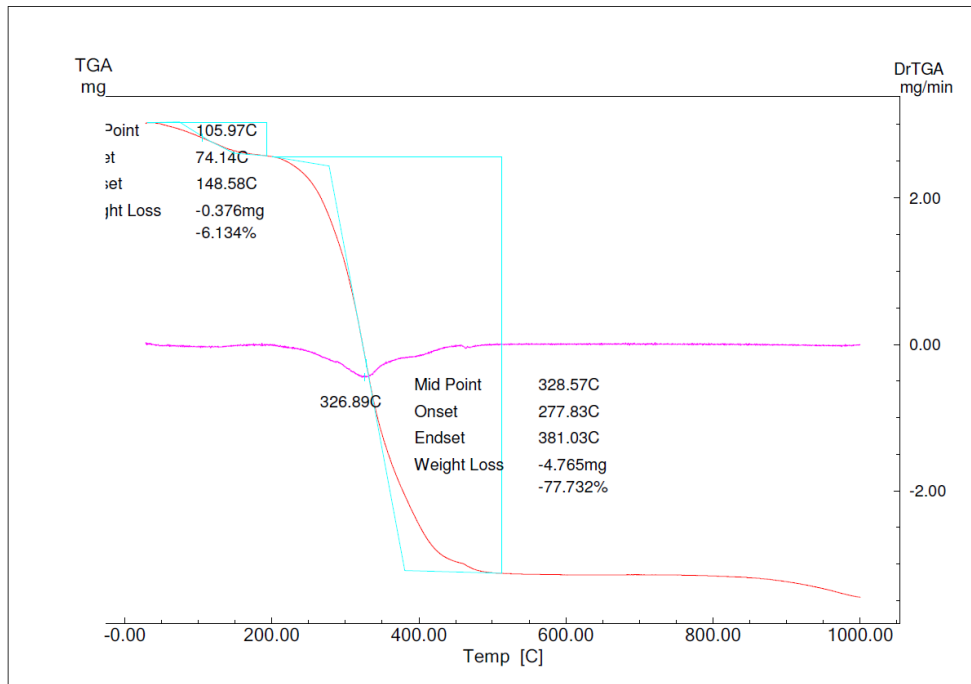
ZHAO, L. et al. **DSC and EPR investigation of effects of cholesterol component on molecular interactions between paclitaxel and phospholipid within lipid bilayer membrane.** *International Journal of Pharmaceutics.* v. 338, p. 258-266, 2007.

ZUIDAM, N.J. CROMMELIN, D.J.A. **Differential scanning calorimetric analyses of dipalmitoylphosphatidylcholine-liposomes upon hydrolysis.** *International Journal of Pharmaceutics.* v. 126, p. 209-217, 1995.

ANEXO(S)

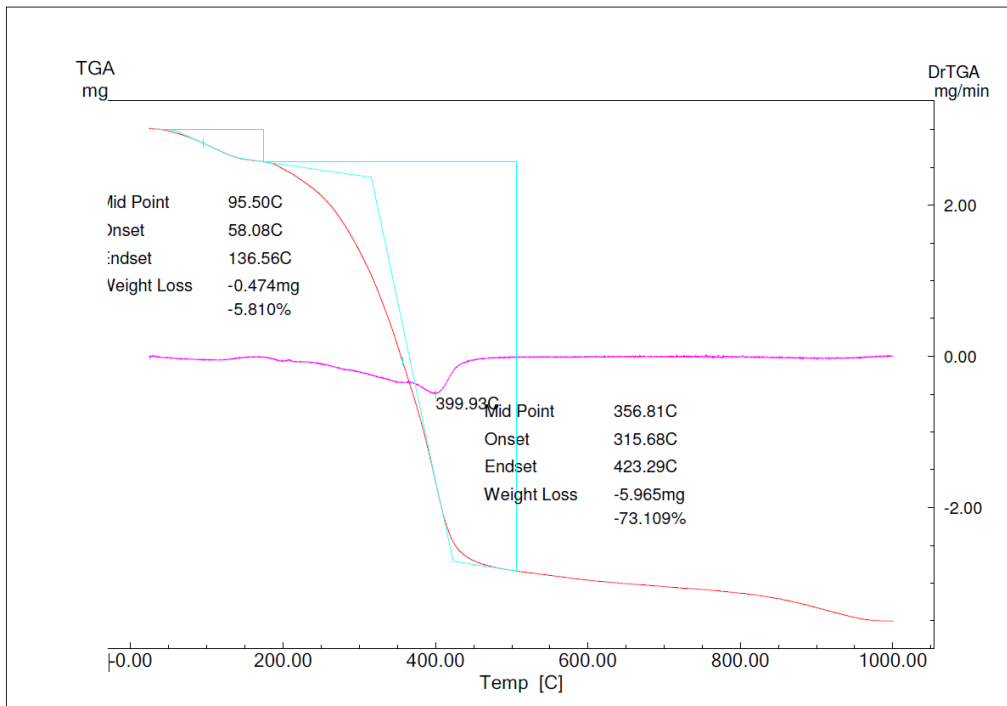
ANEXO A - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE TGA LIPOSSOMAS

Figura 33 – Termograma TGA da Amostra 01



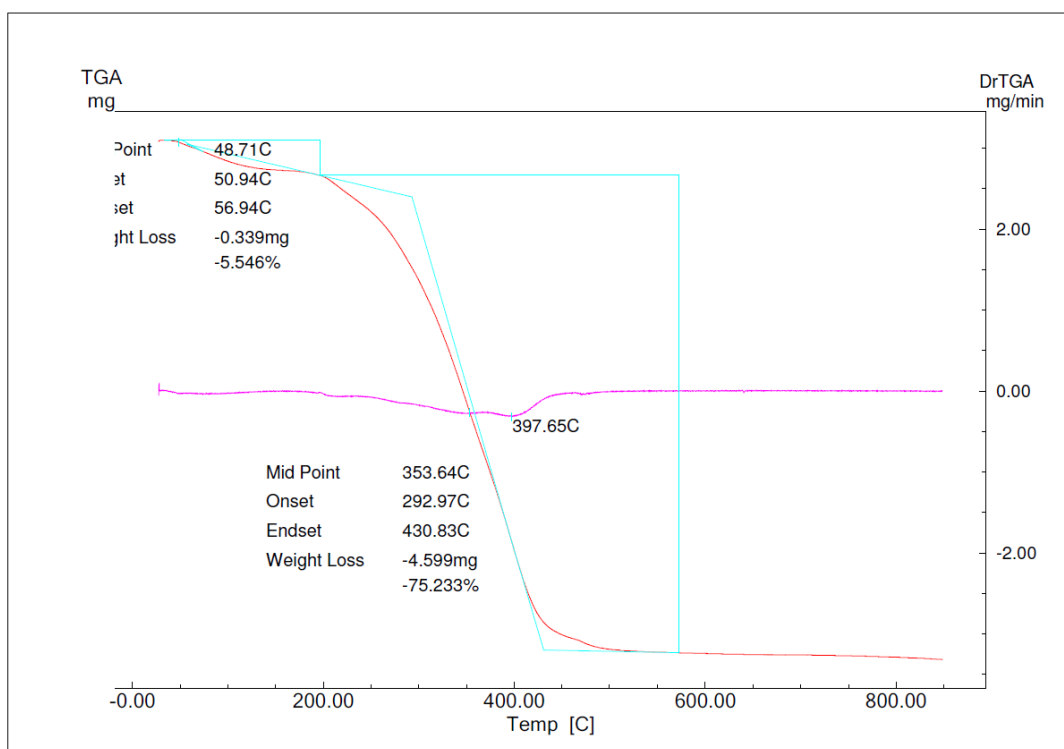
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 34 – Termograma TGA da Amostra 02



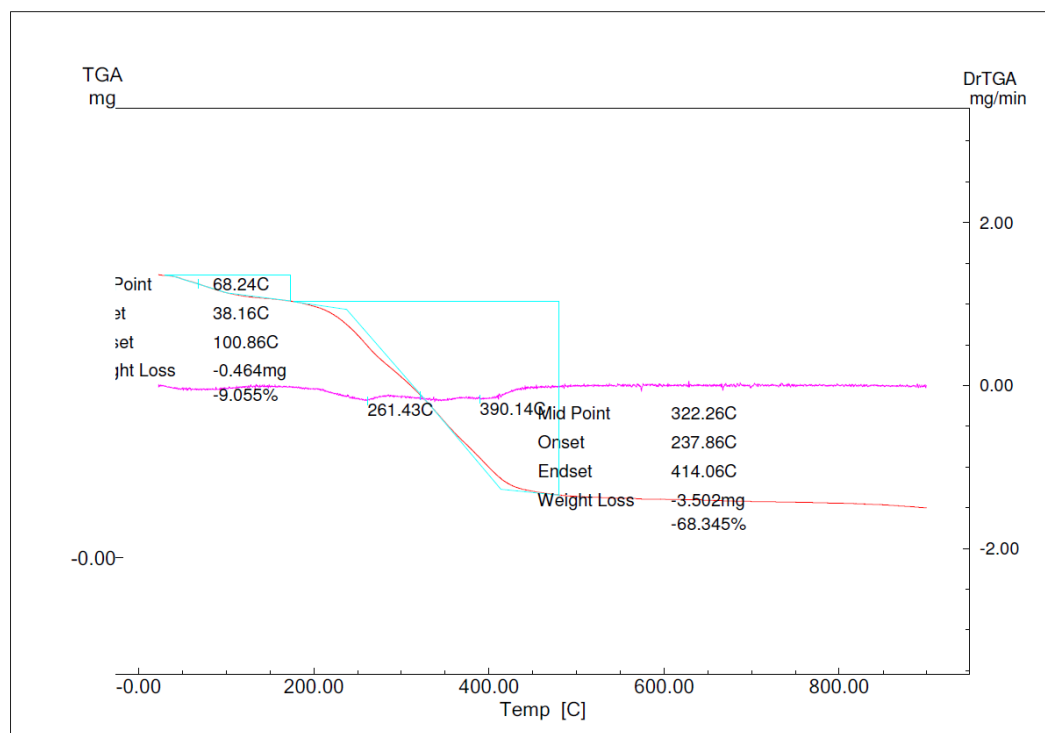
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 35 – Termograma TGA da Amostra 03



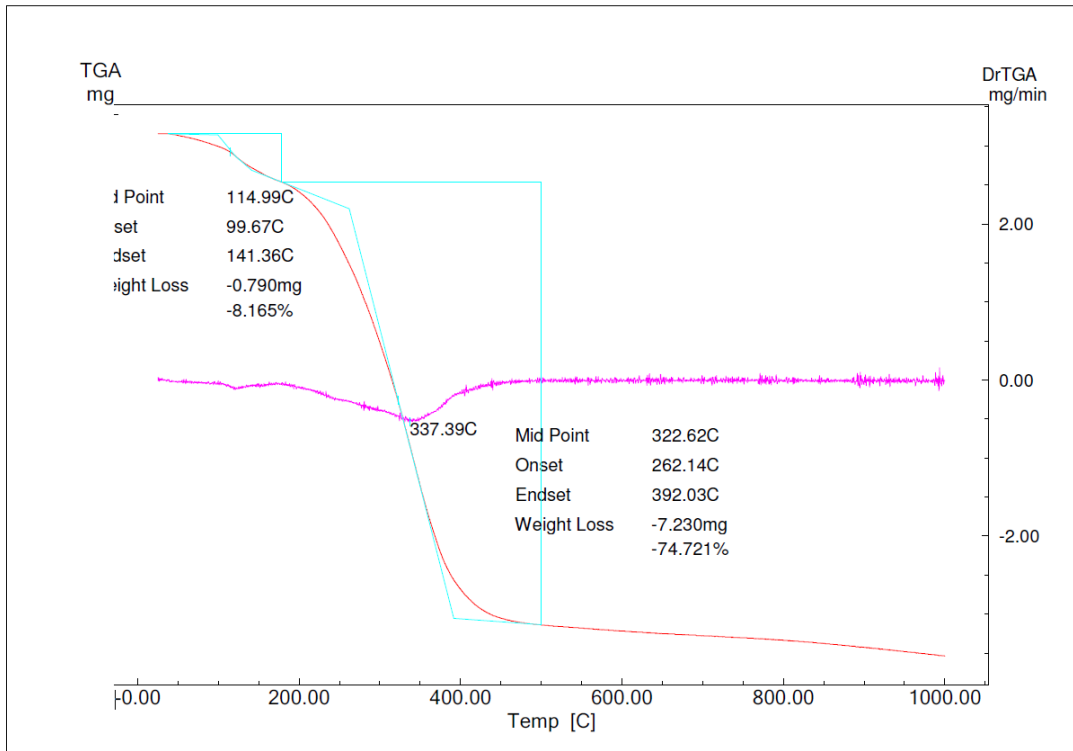
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 36 – Termograma TGA da Amostra 05



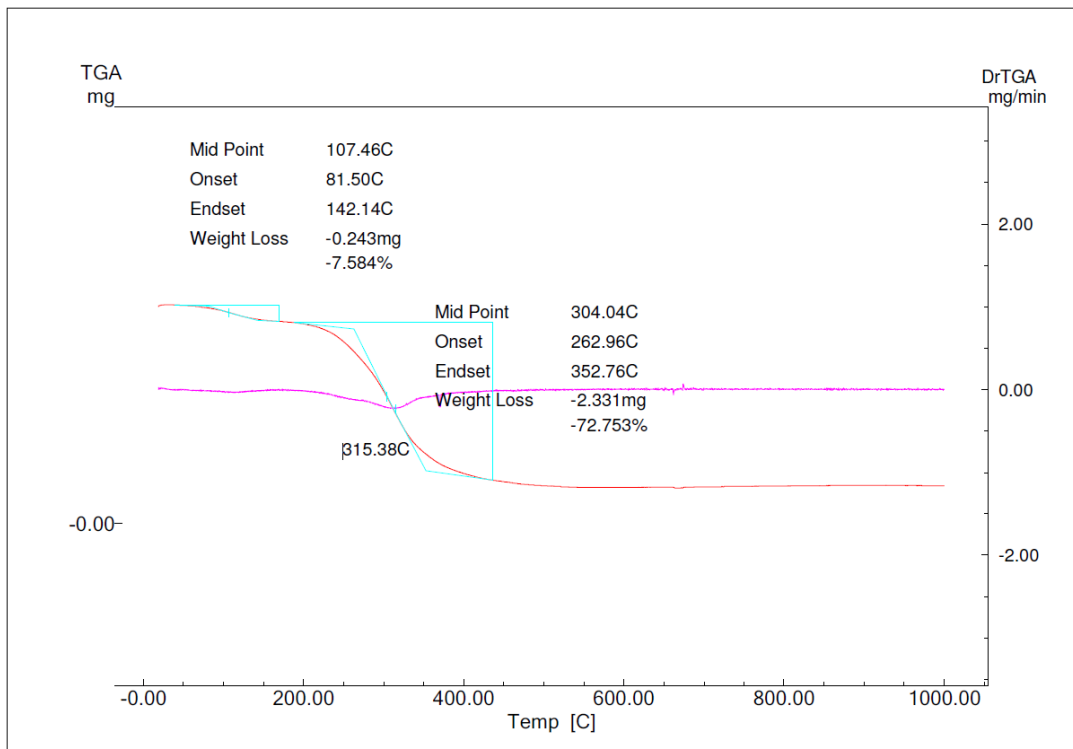
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 37 - Termograma TGA da Amostra 07



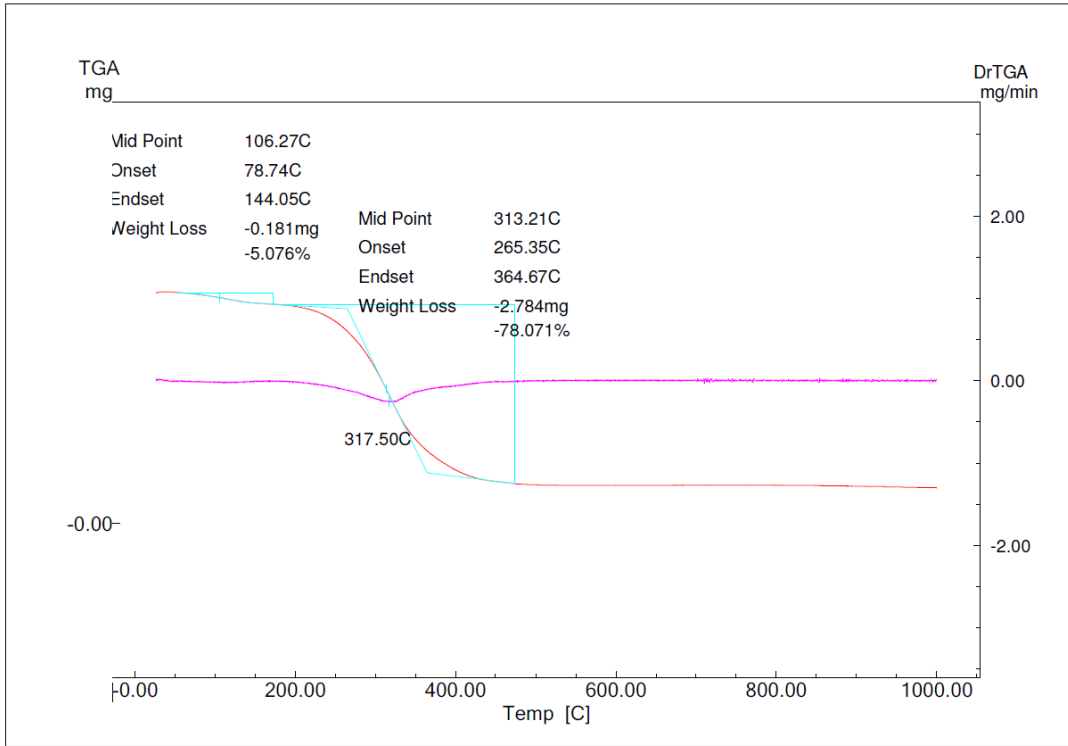
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 38 - Termograma TGA da Amostra 21



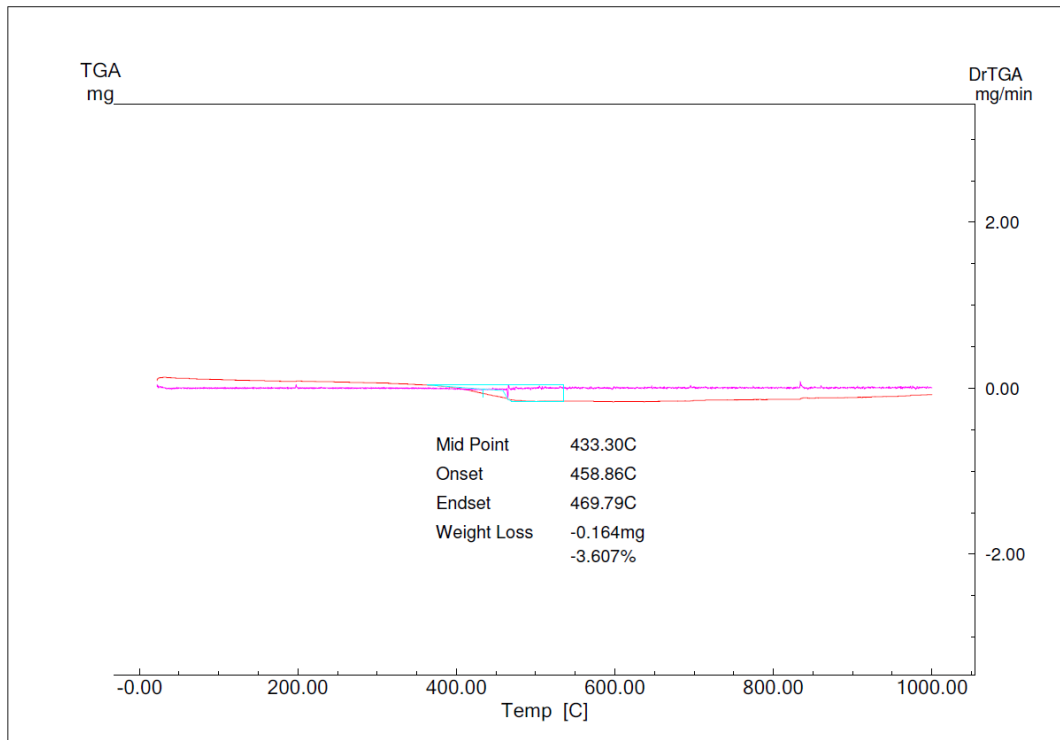
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 39 - Termograma TGA da Amostra 22



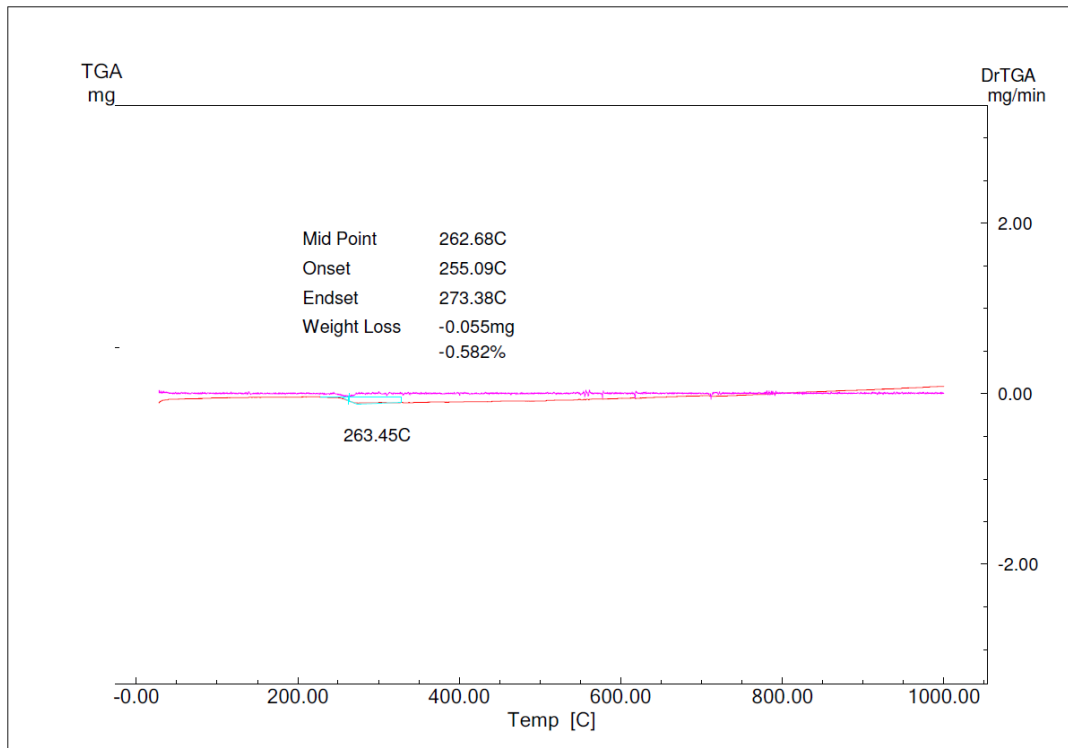
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 40 - Termograma TGA do TiO₂



Fonte: O Autor, 2022.

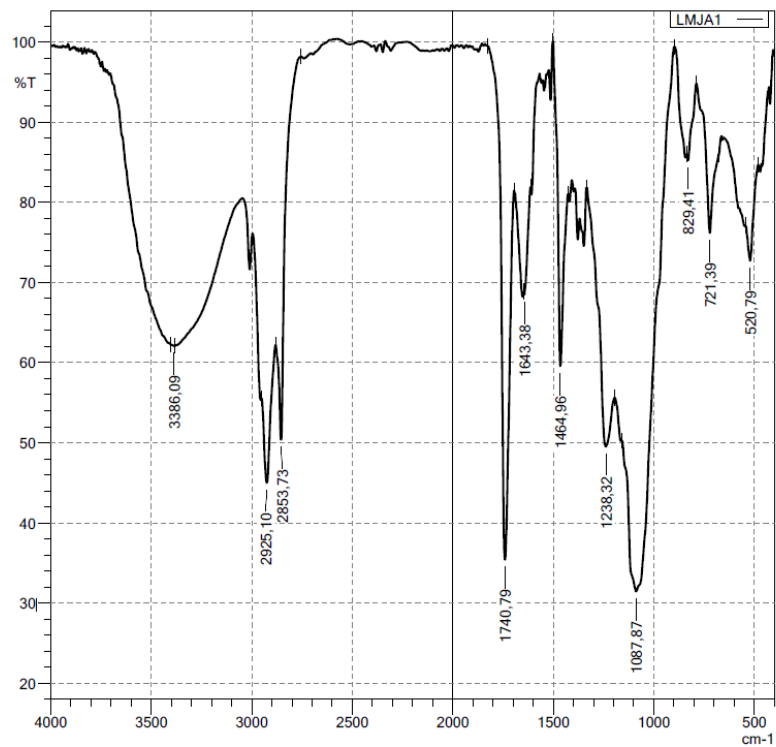
Figura 41 - Termograma TGA do ZnO



Fonte: O Autor, 2022.

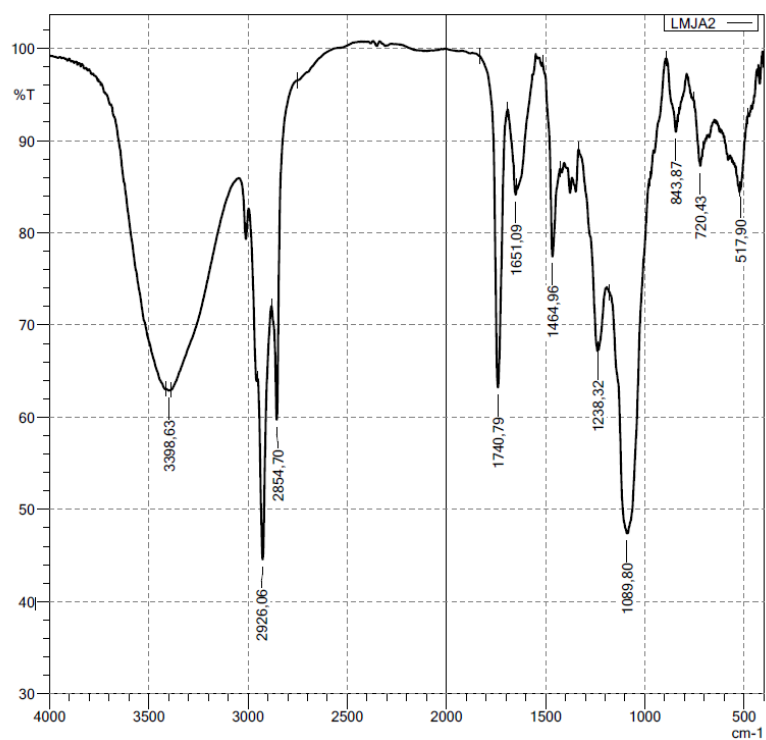
ANEXO B - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE FTIR

Figura 42 - FTIR da amostra 01



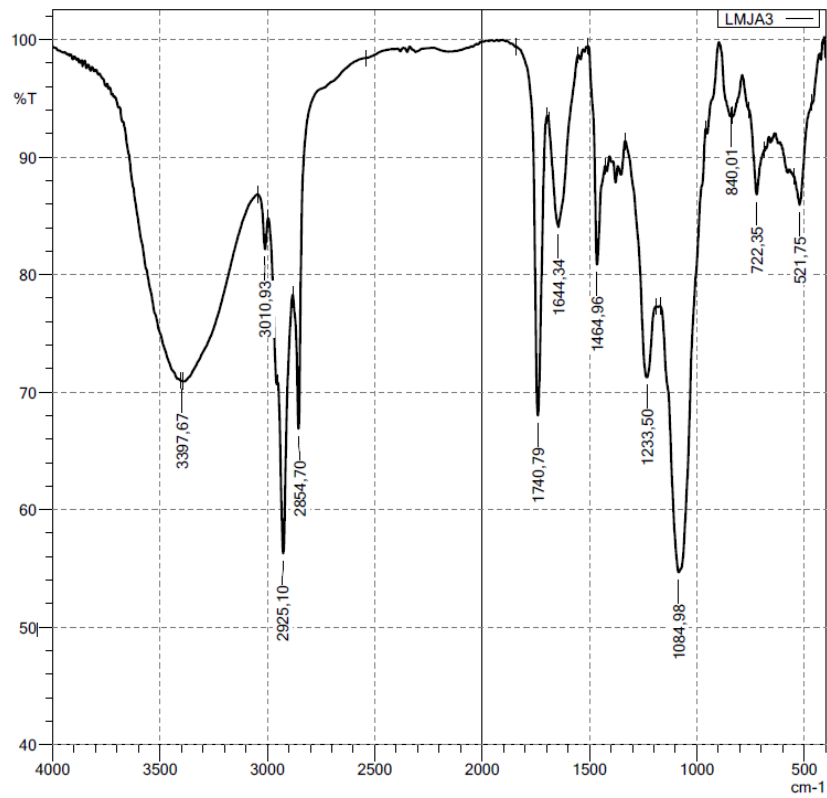
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 43 – FTIR da amostra 02



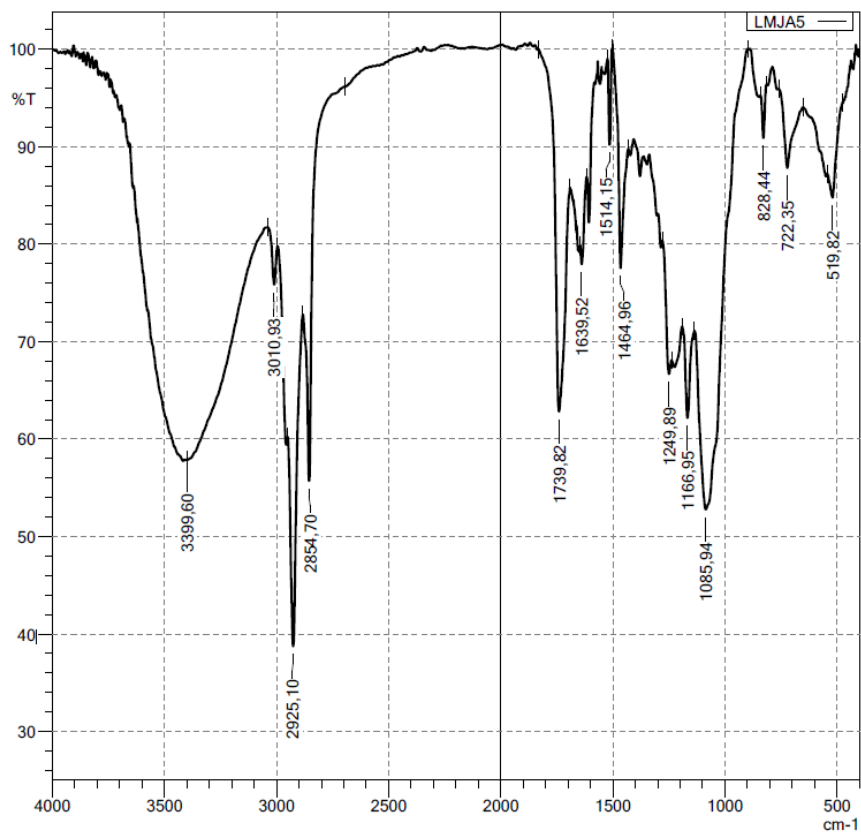
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 44 - FTIR da amostra 03



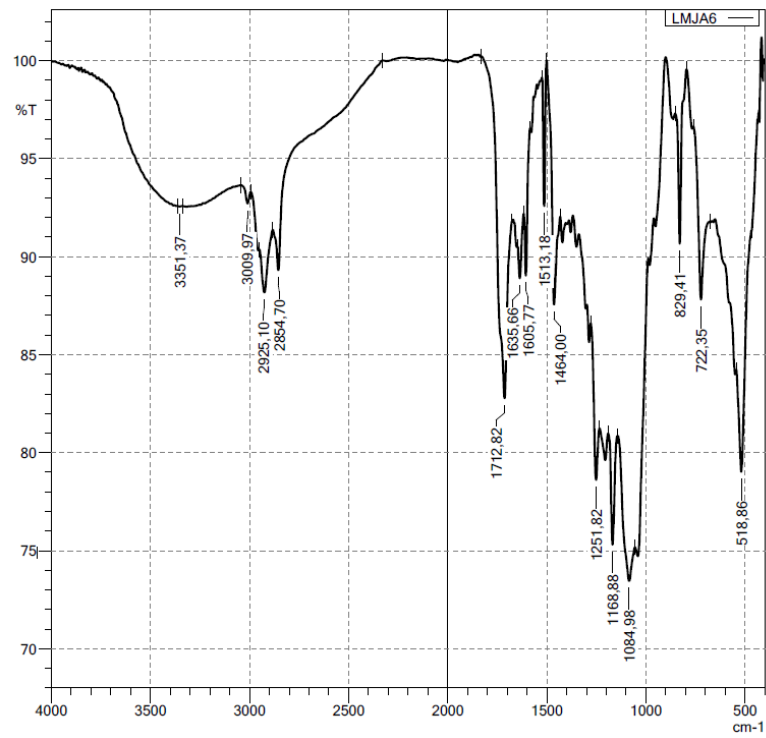
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 45 – FTIR da amostra 05



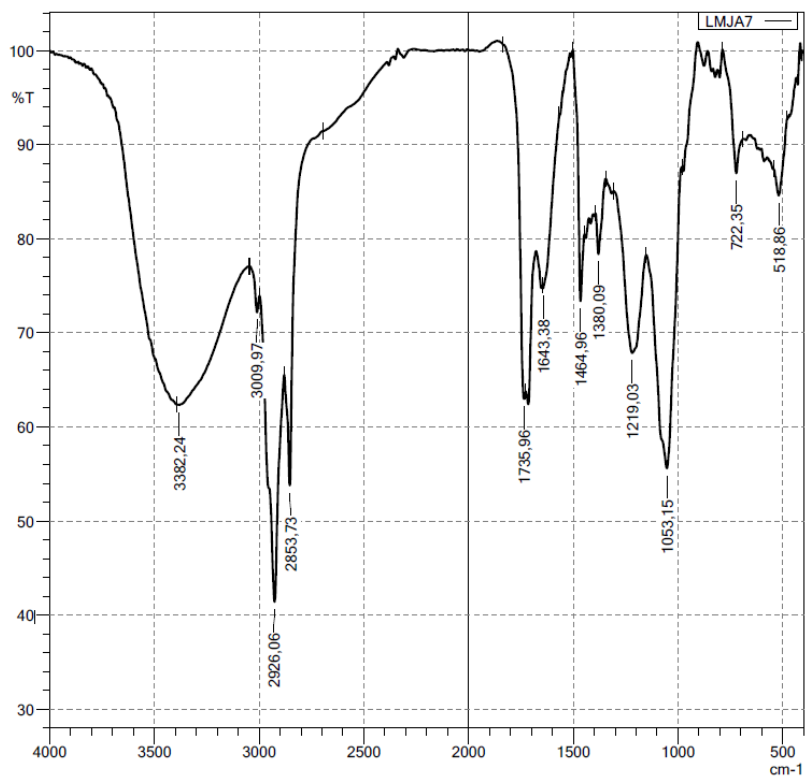
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 46 – FTIR da amostra 06



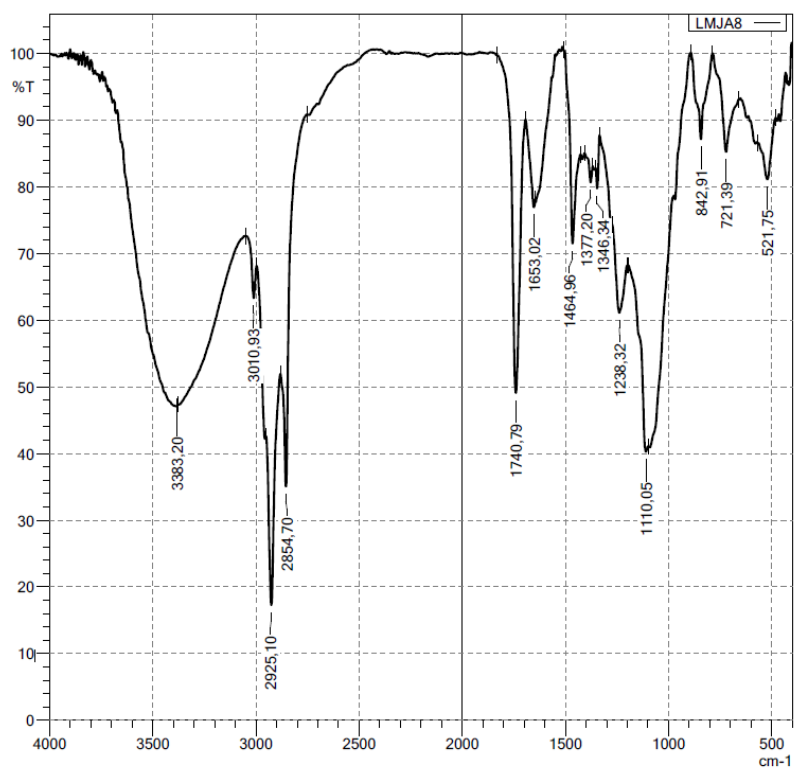
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 47 – FTIR da amostra 07



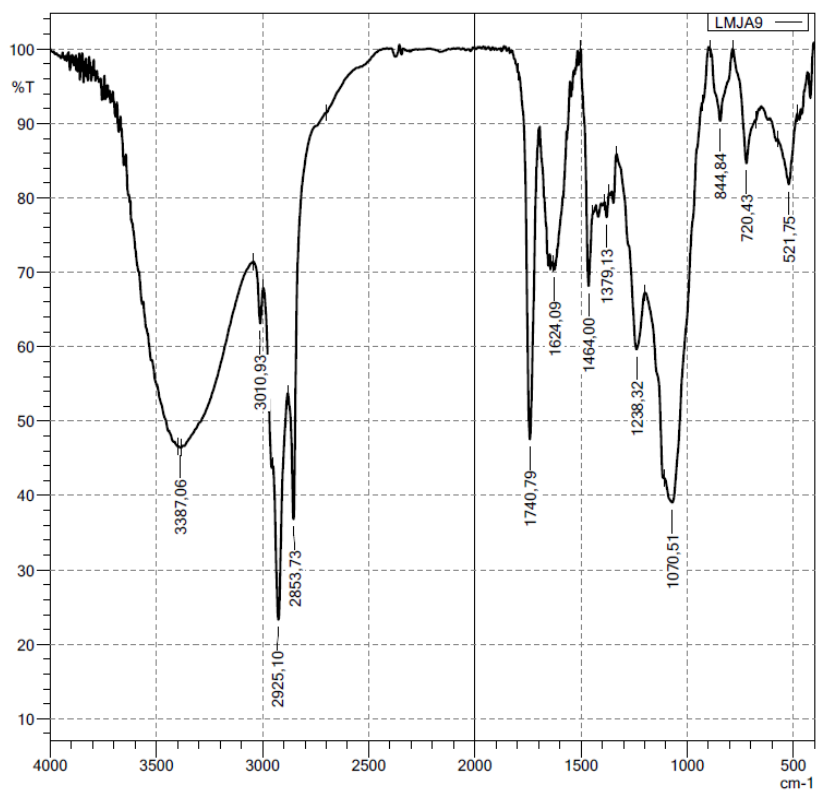
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 48 – FTIR da amostra 08



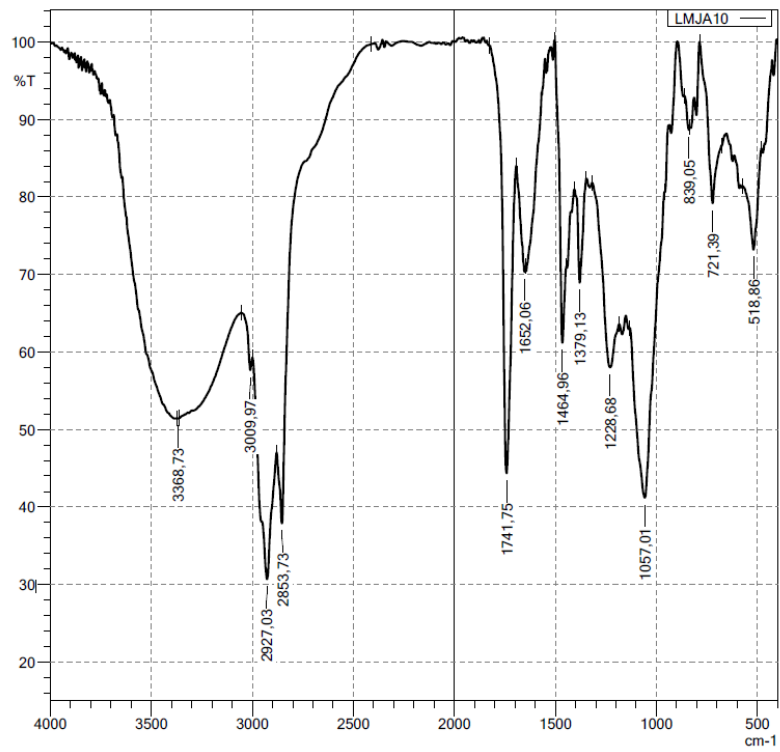
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 49 – FTIR da amostra 09



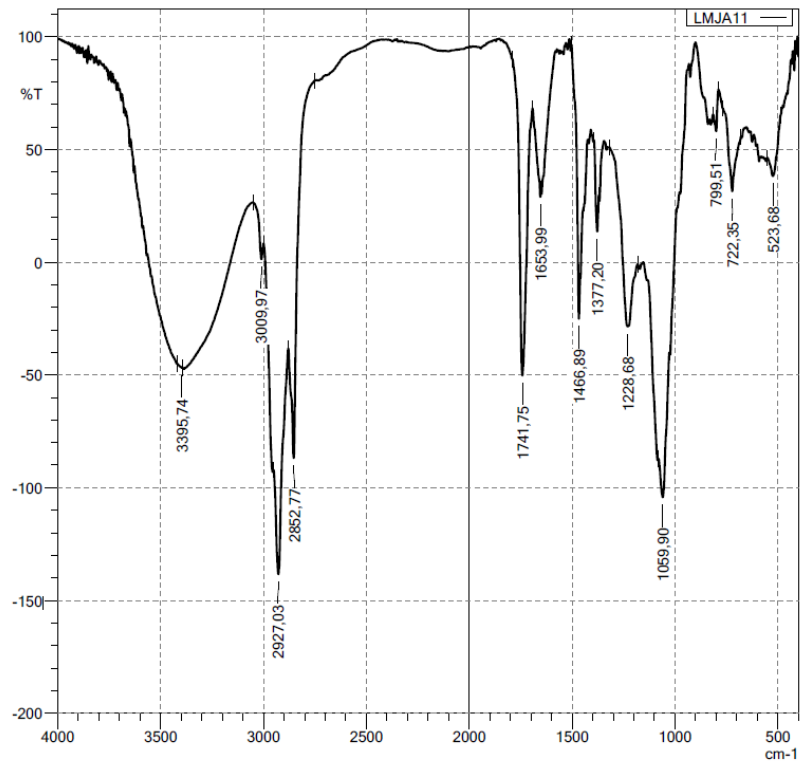
Fonte: O Autor, 2022

Figura 50 – FTIR da amostra 10



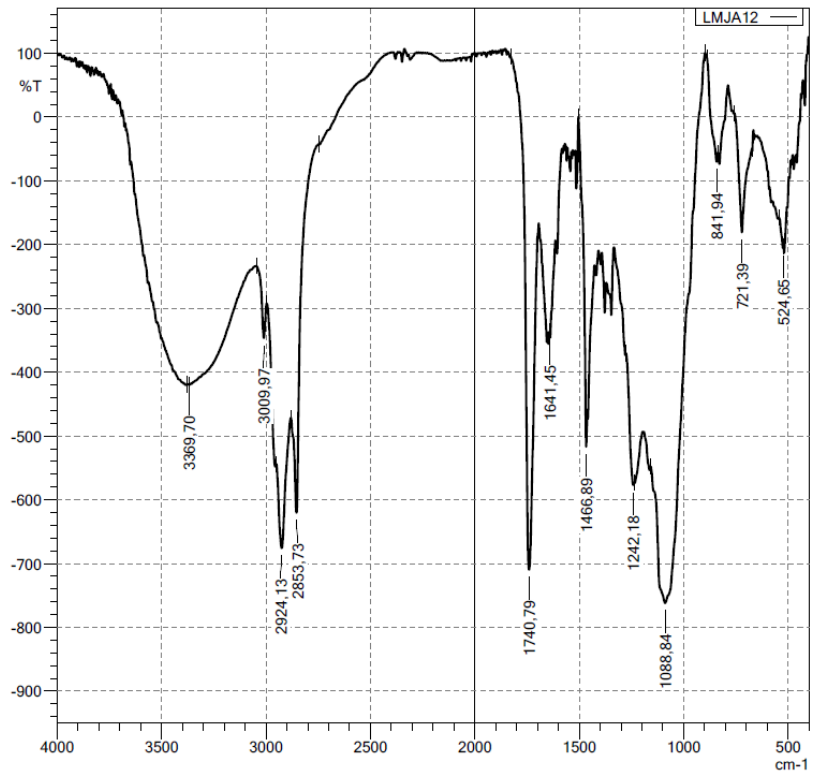
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 51 – FTIR da amostra 11



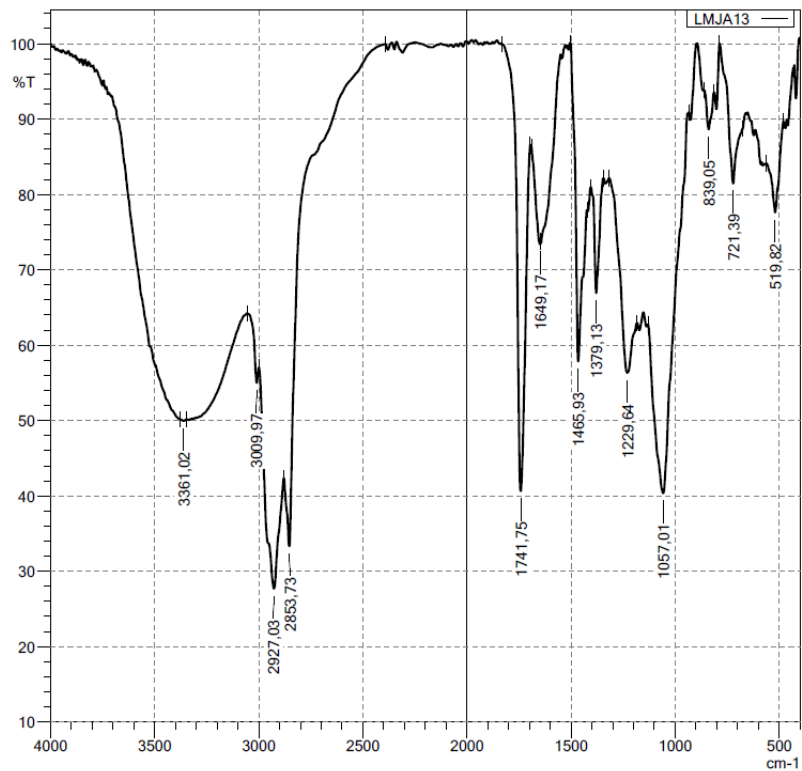
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 52 – FTIR da amostra 12



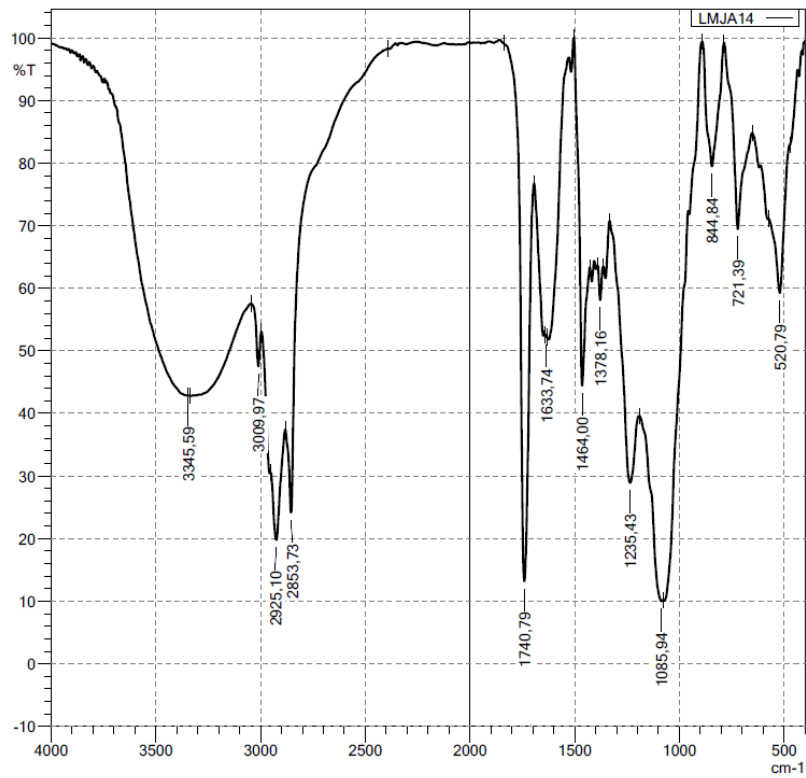
Fonte: O Autor, 2022

Figura 53 – FTIR da amostra 13



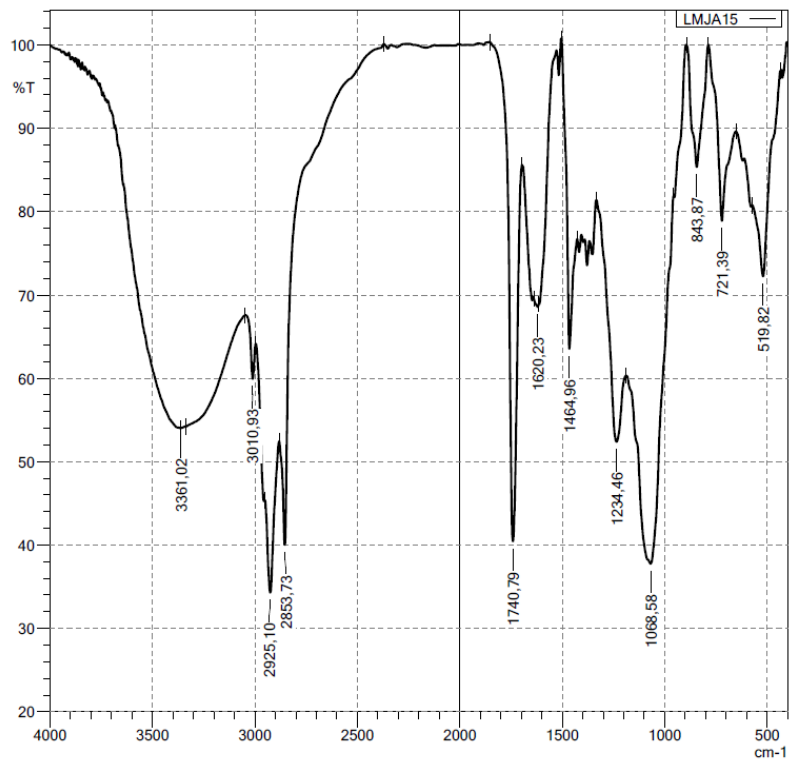
Fonte: O Autor, 2022

Figura 54 - FTIR da amostra 14



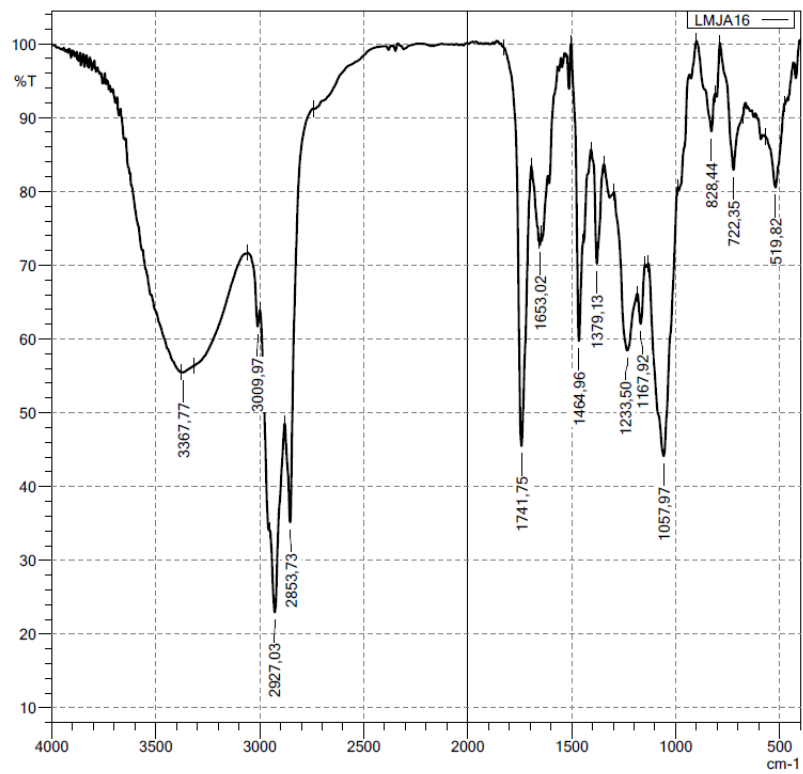
Fonte: O Autor, 2022

Figura 55 - FTIR da amostra 15



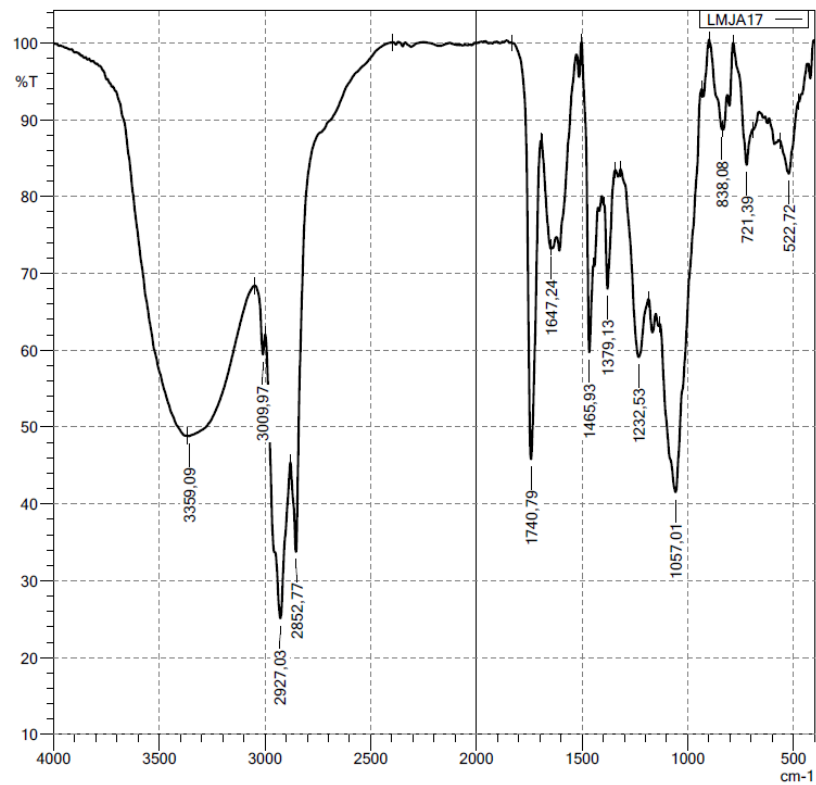
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 56 – FTIR da amostra 16



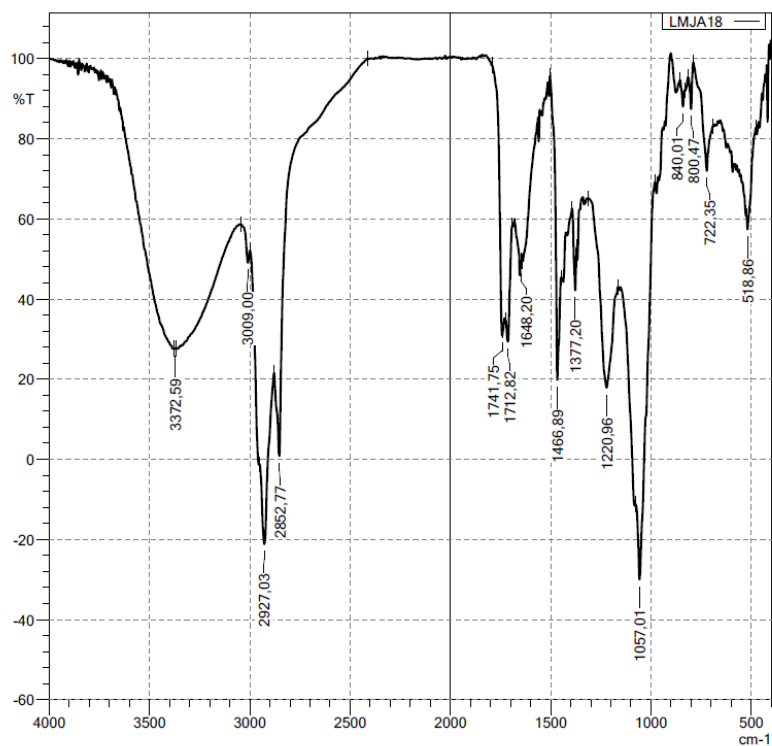
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 57 – FTIR da amostra 17



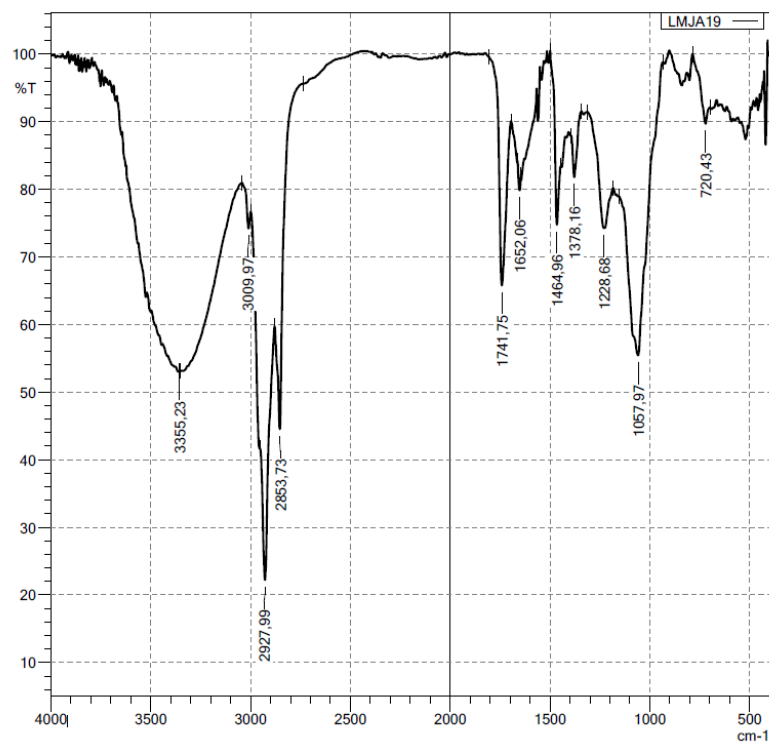
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 58 – FTIR da amostra 18



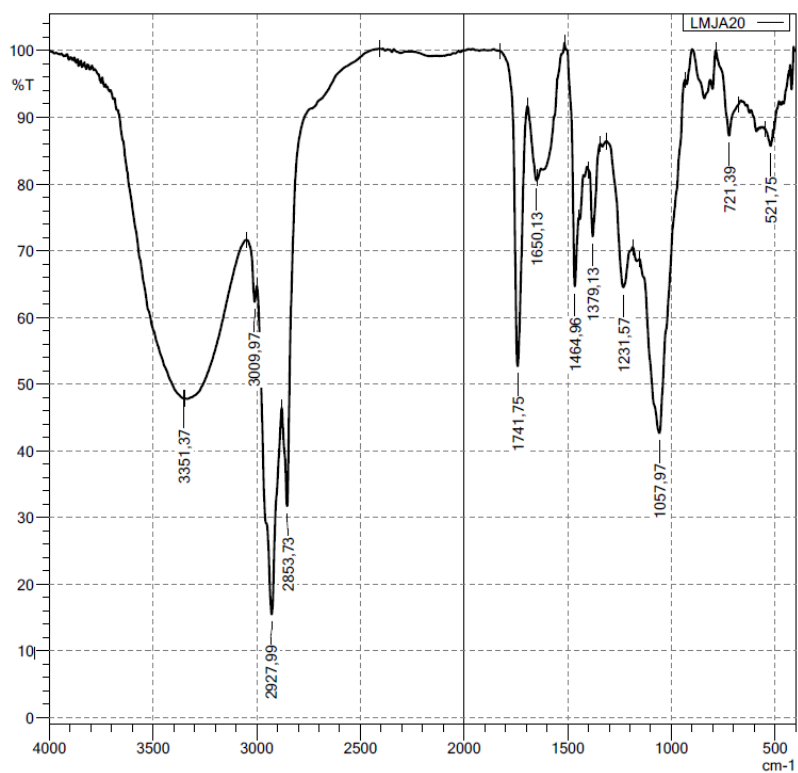
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 59 – FTIR da amostra 19



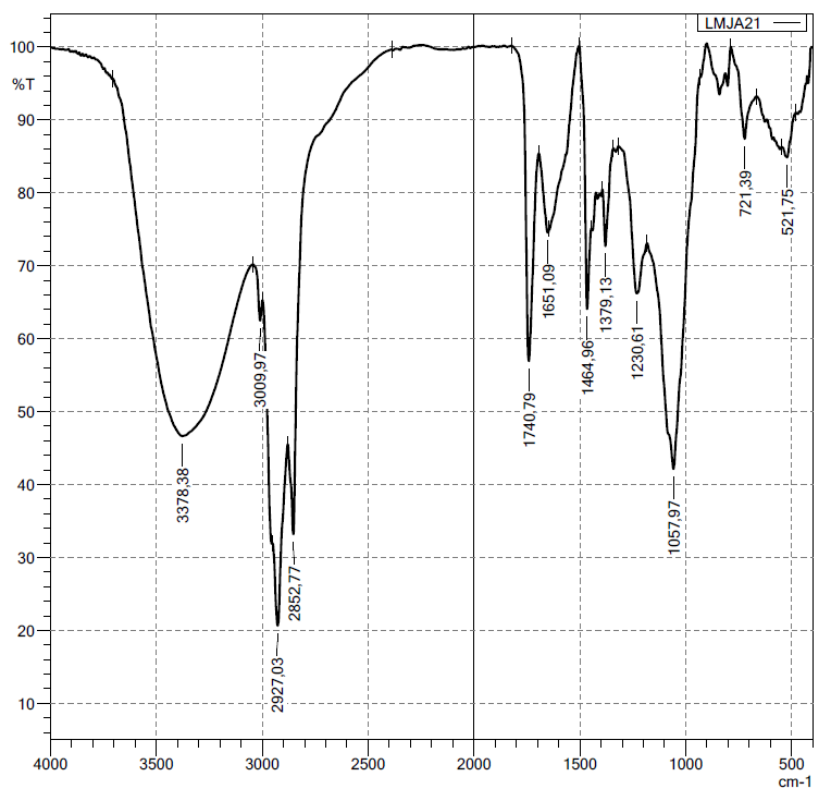
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 60 – FTIR da amostra 20



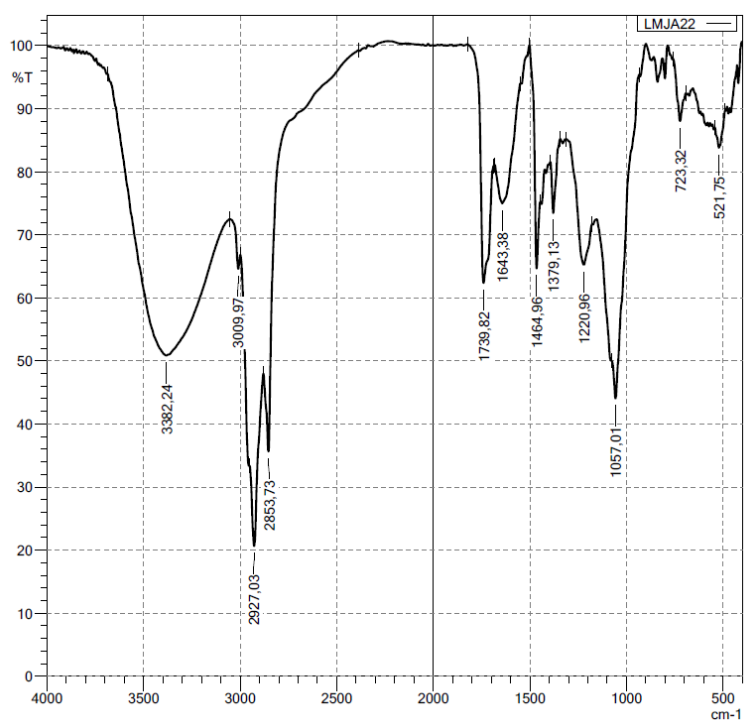
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 61 – FTIR da amostra 21



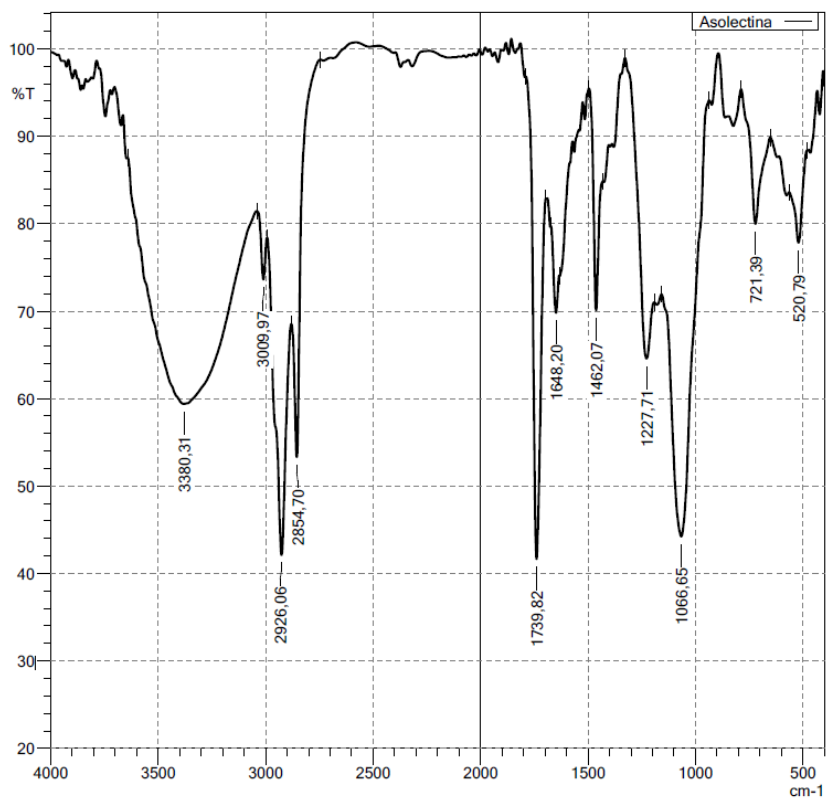
Fonte: O Autor, 2022

Figura 62 – FTIR da amostra 22



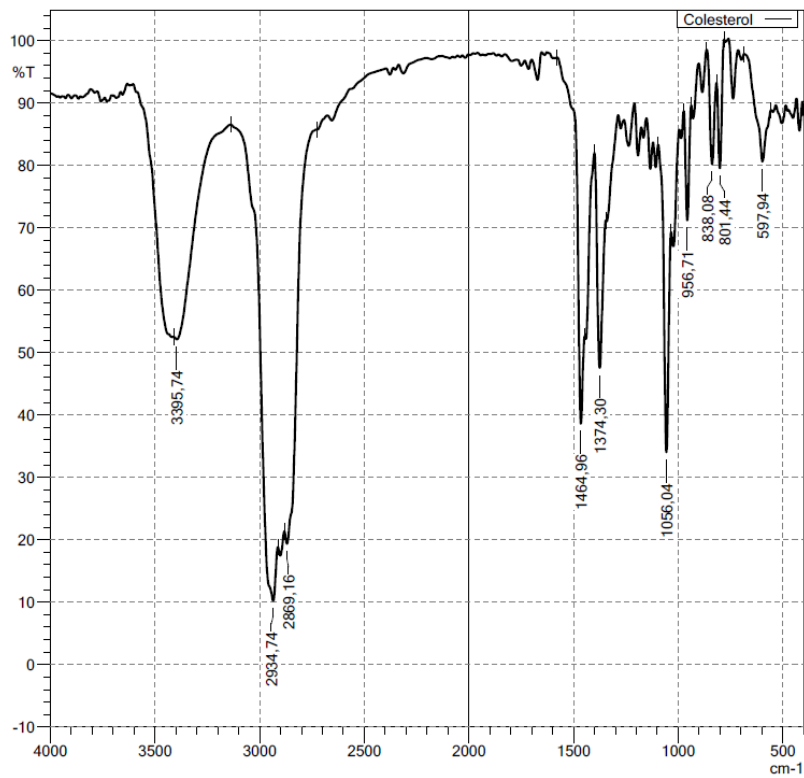
Fonte: O Autor, 2022

Figura 63 – FTIR da Asolectina



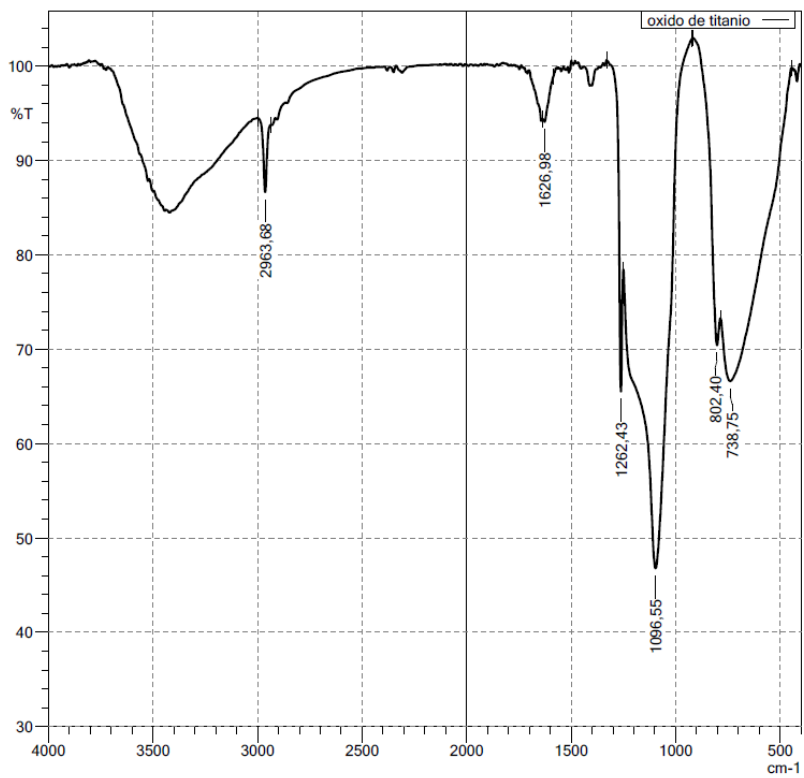
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 64 – FTIR do Colesterol



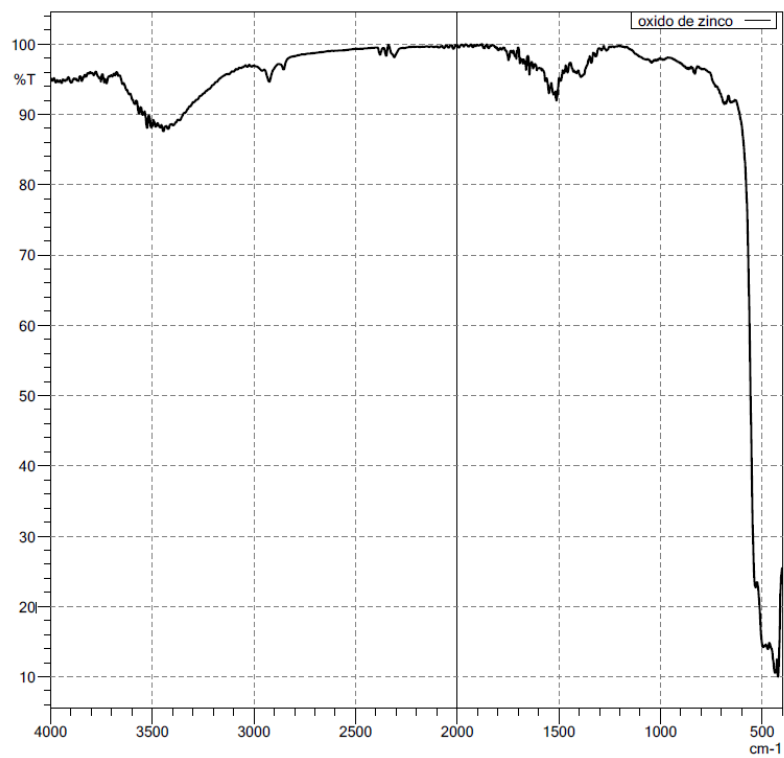
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 65 – FTIR do TiO₂



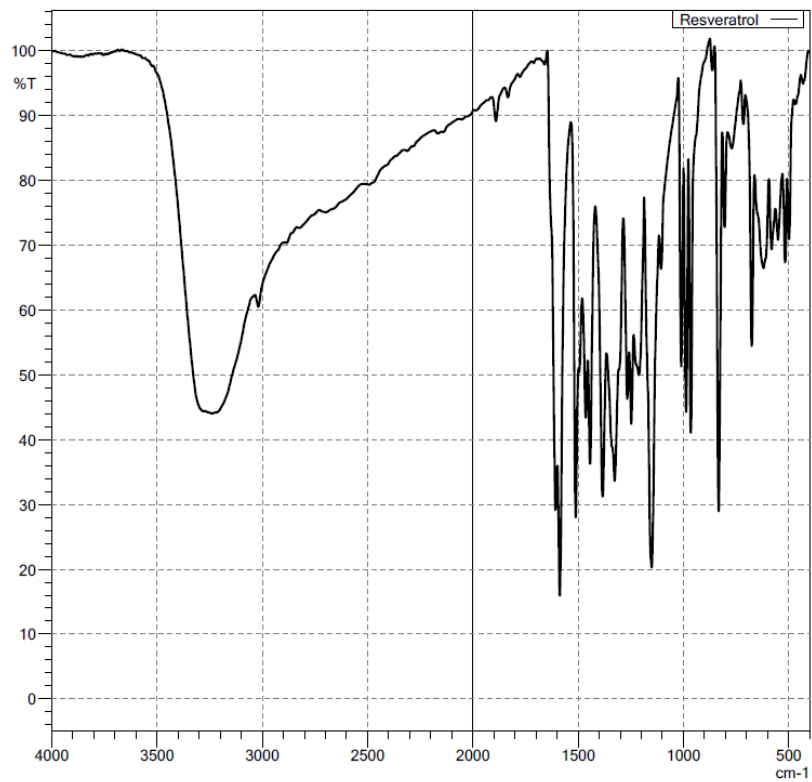
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 66 – FTIR do ZnO



Fonte: O Autor, 2022.

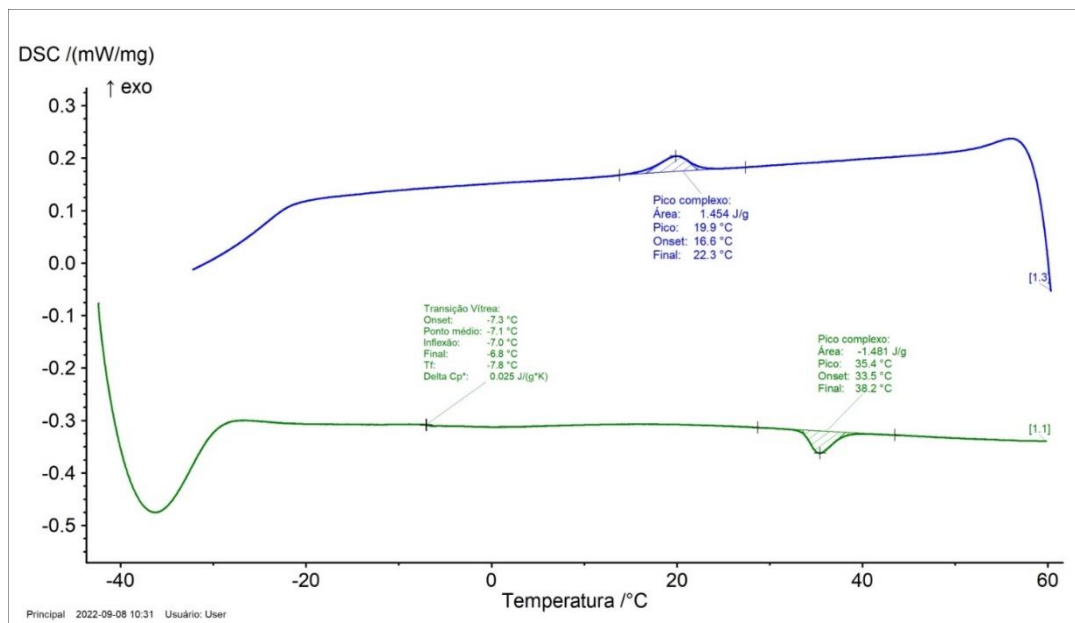
Figura 67 – FTIR do Resveratrol



Fonte: O Autor, 2022.

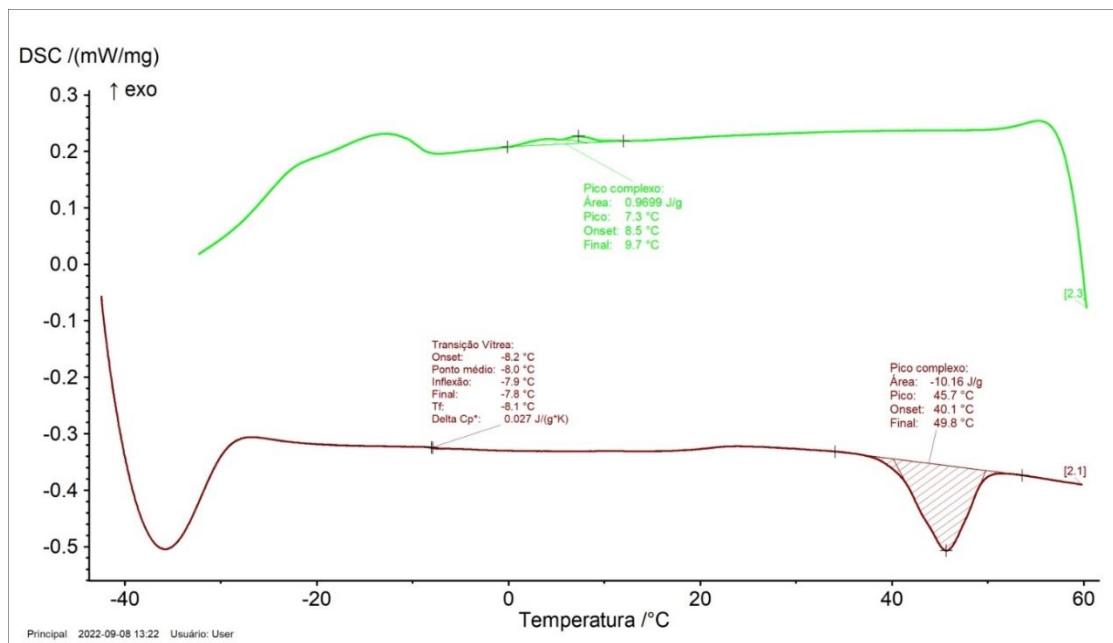
ANEXO C - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE DSC

Figura 68 - Termograma de DSC da Amostra 01



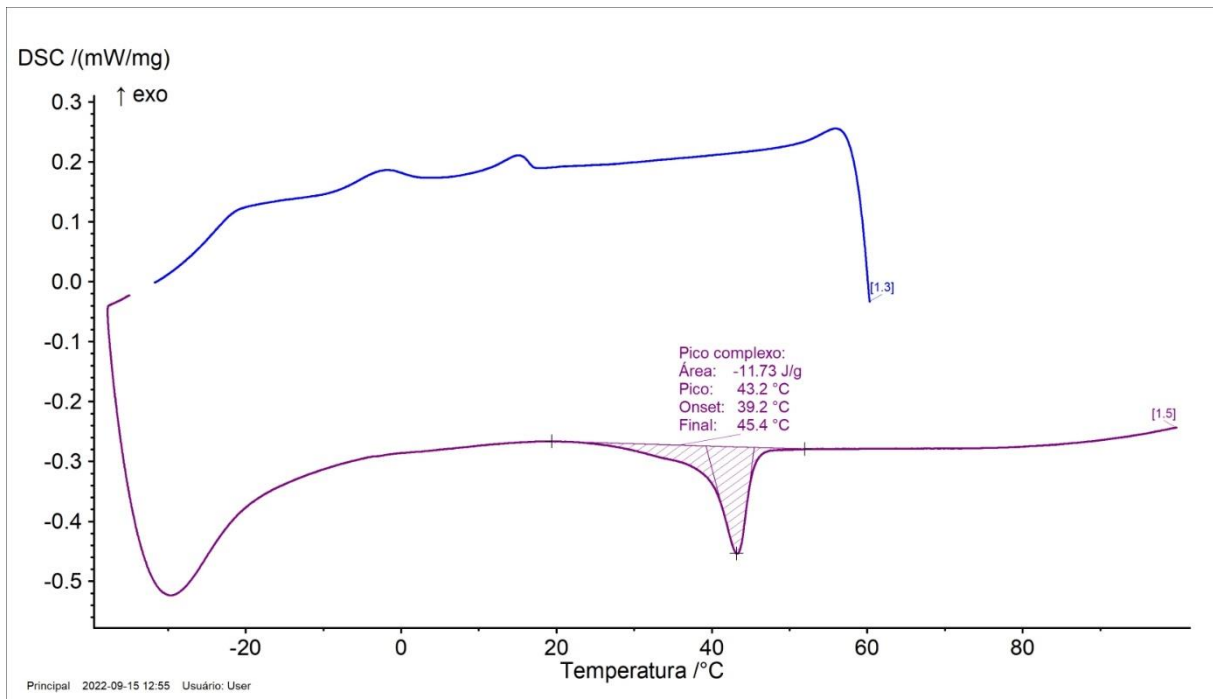
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 69 – Termograma de DSC da Amostra 02



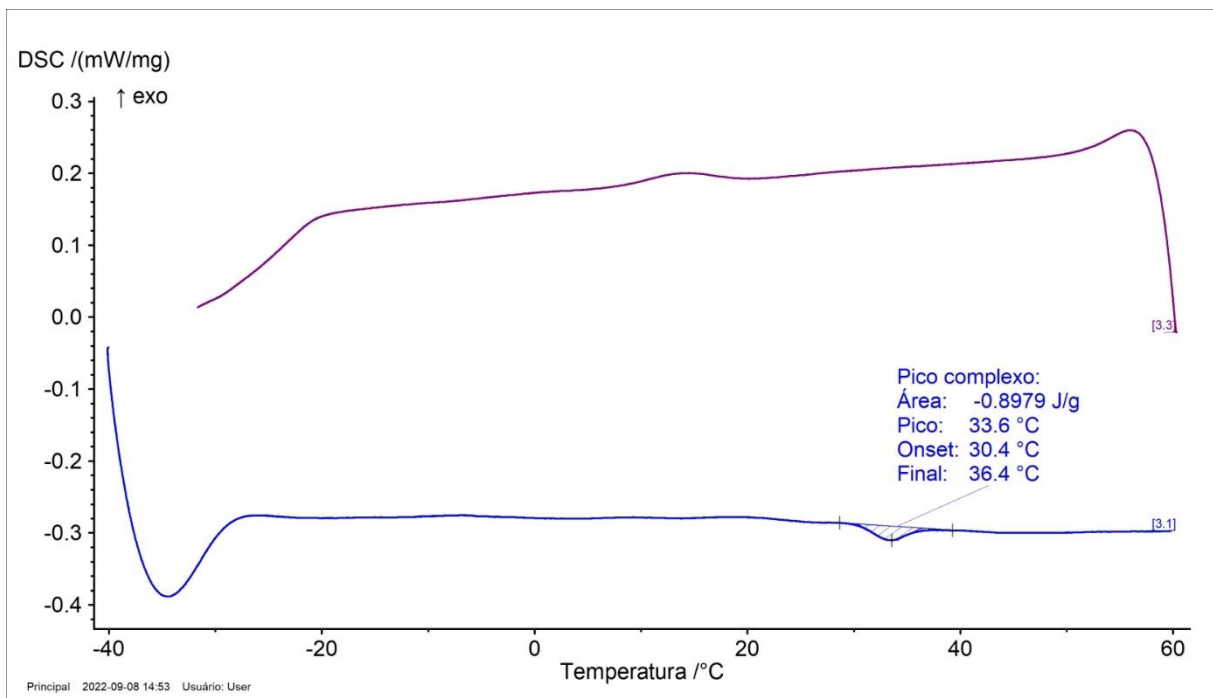
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 70 – Termograma de DSC da Amostra 03



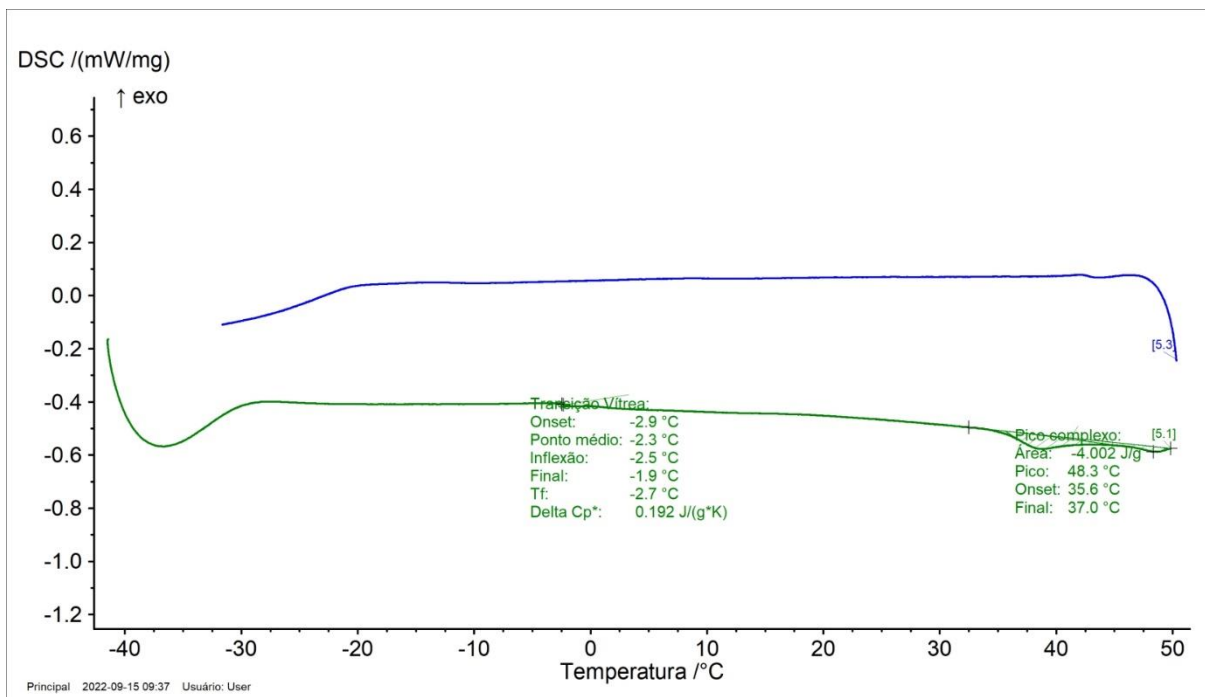
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 71 – Termograma de DSC da Amostra 07



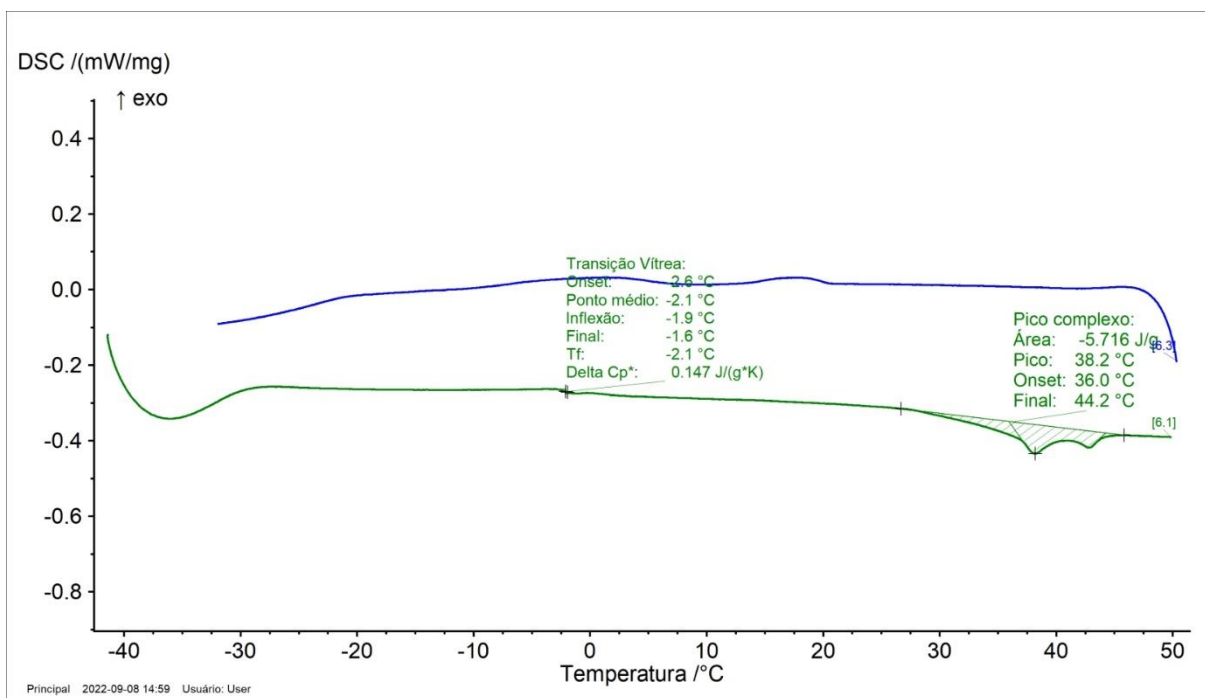
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 72 - Termograma de DSC da Amostra 08



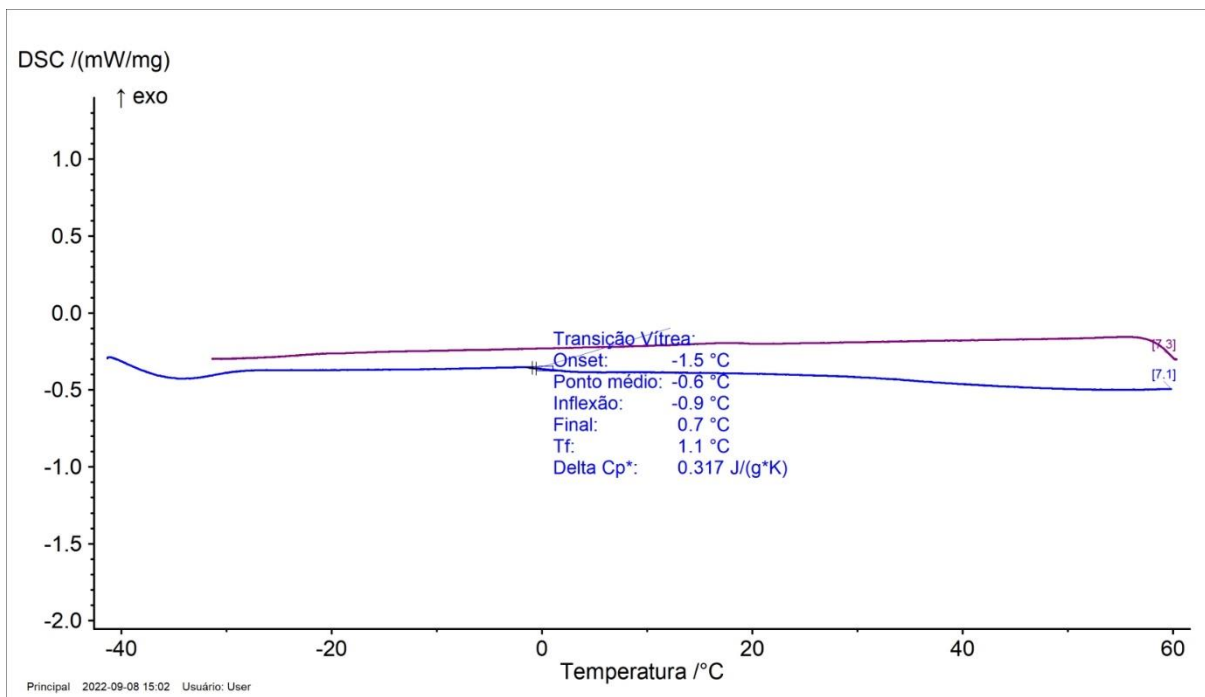
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 73 - Termograma de DSC da Amostra 09



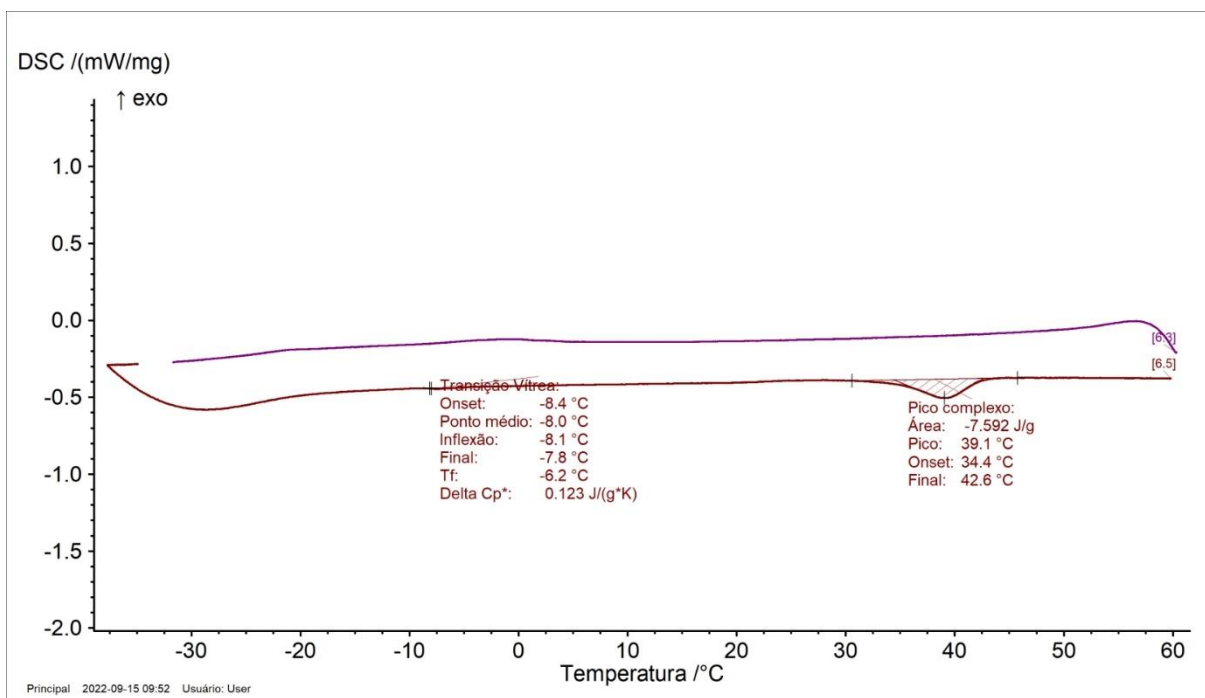
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 74 - Termograma de DSC da Amostra 10



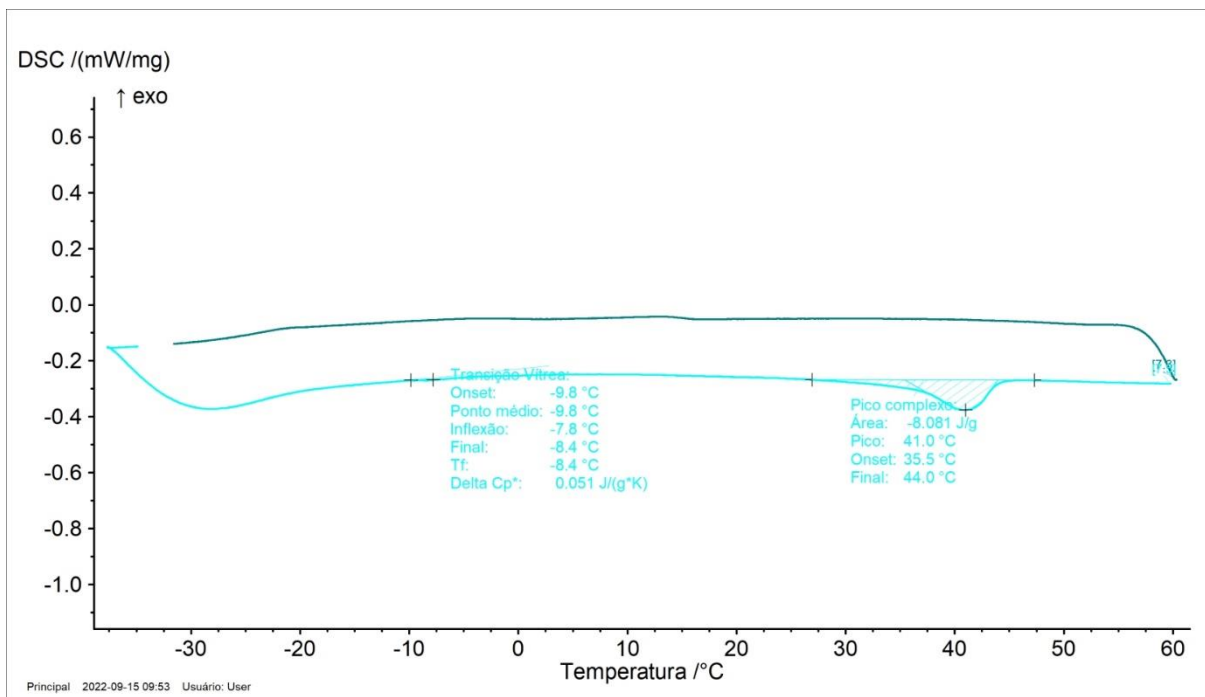
Fonte: O Autor, 2022

Figura 75 - Termograma de DSC da Amostra 11



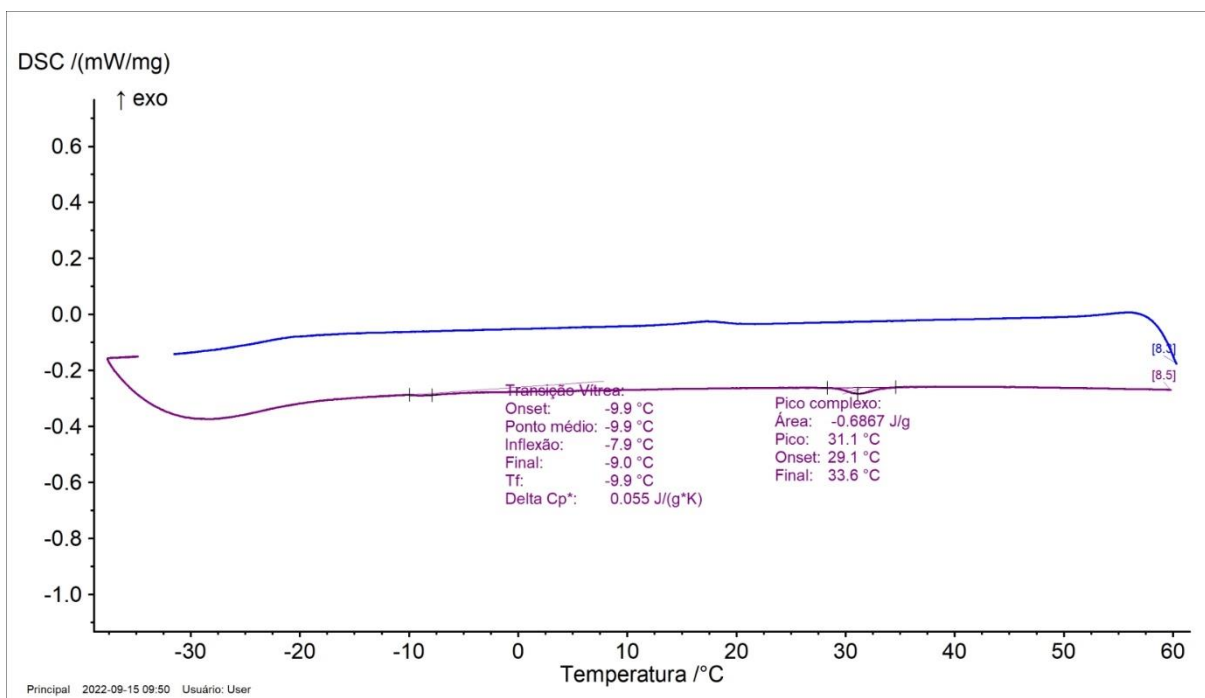
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 76 - Termograma de DSC da Amostra 12



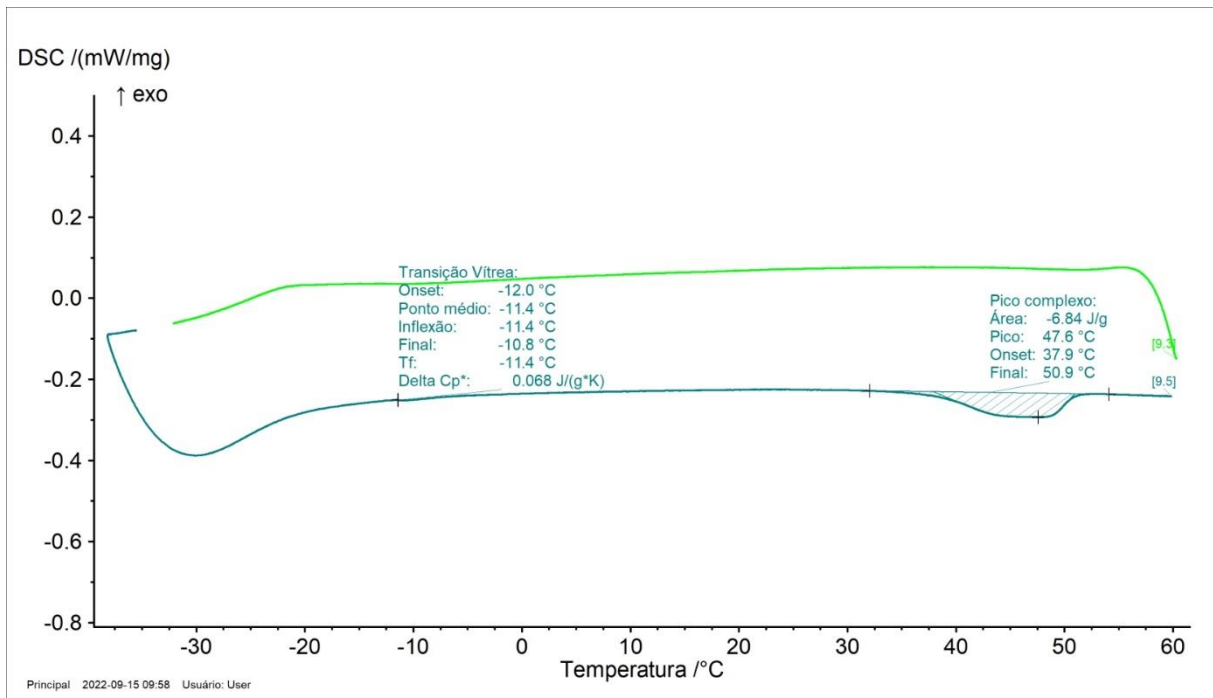
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 77 -Termograma de DSC da Amostra 13



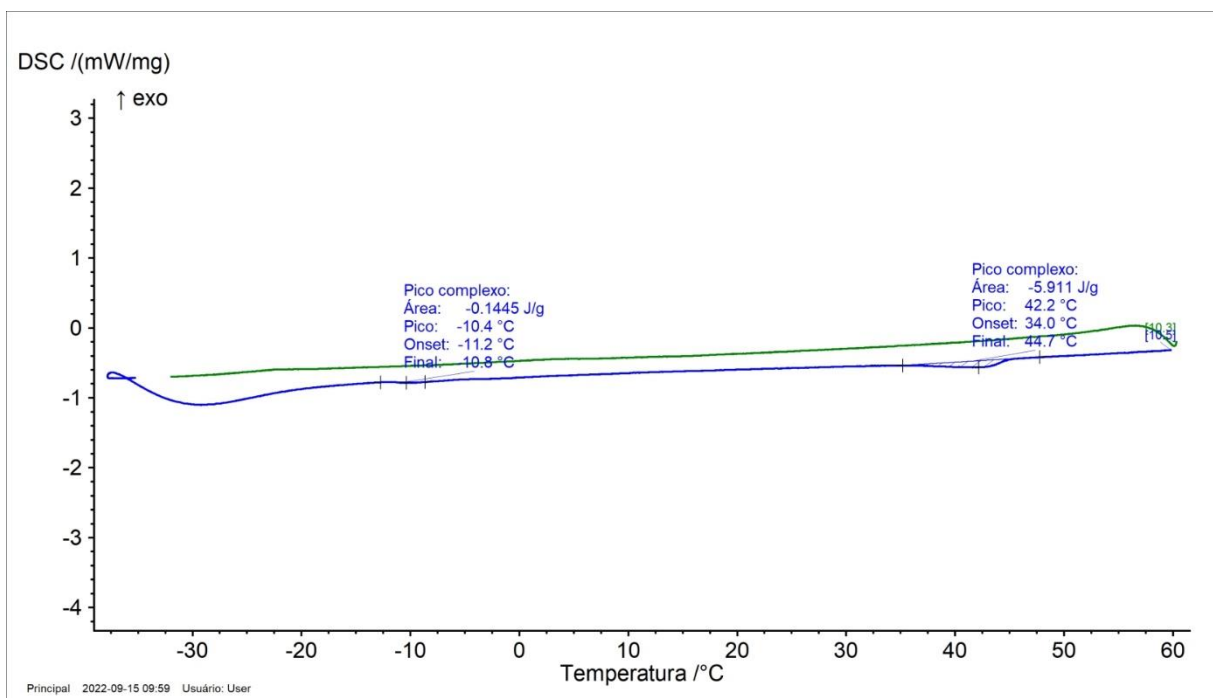
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 78 -Termograma de DSC da Amostra 14



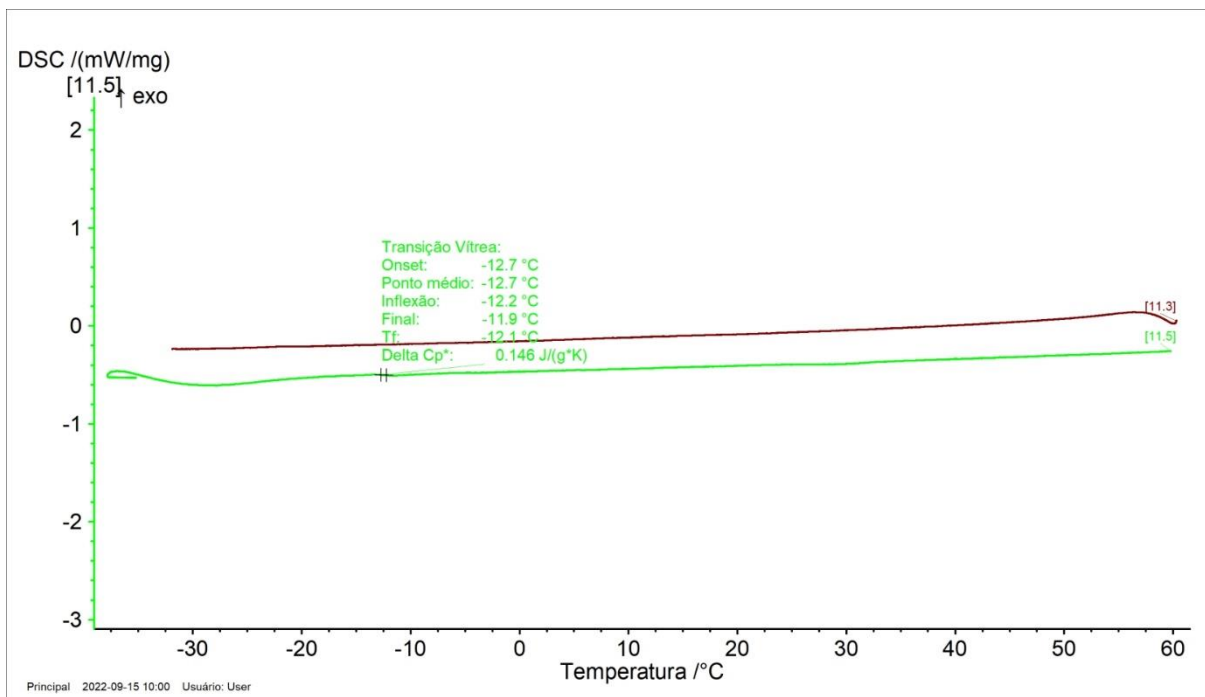
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 79 -Termograma de DSC da Amostra 15



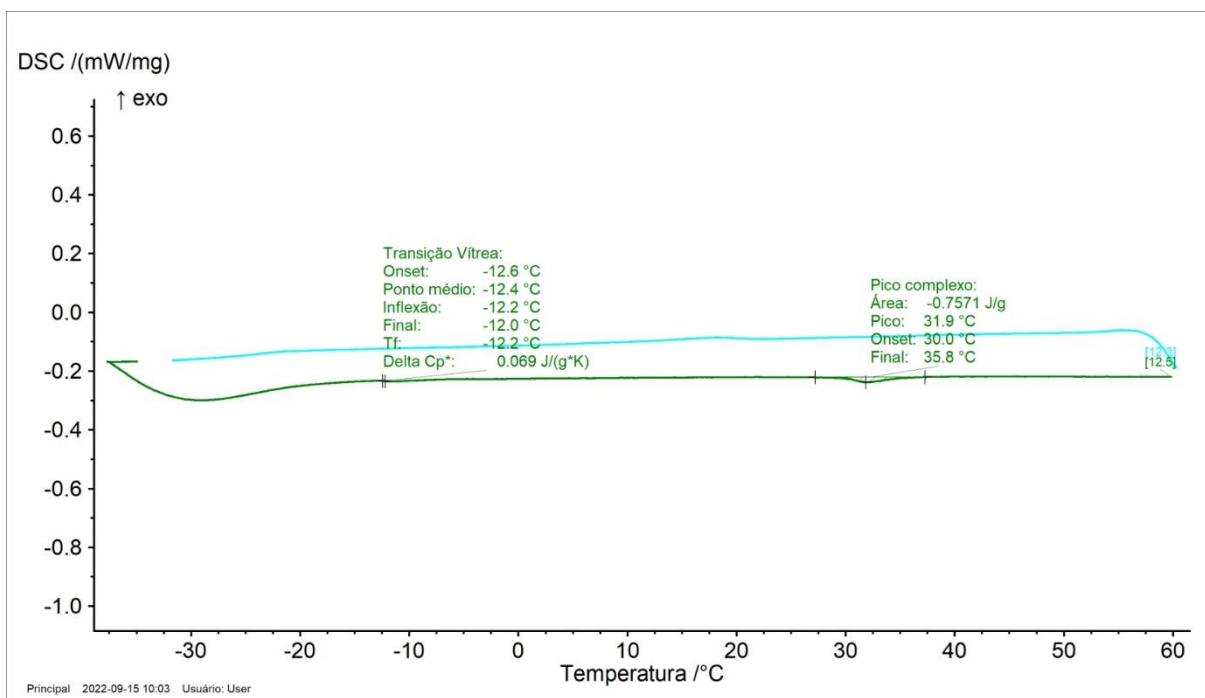
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 80 -Termograma de DSC da Amostra 16



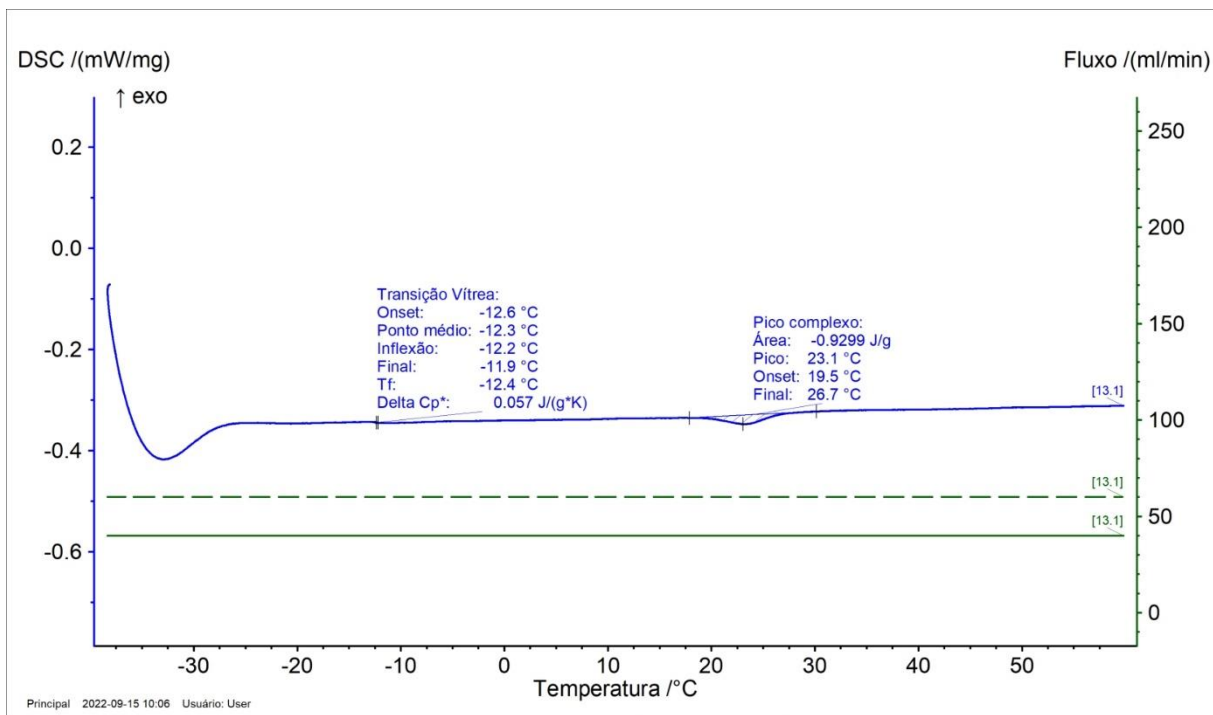
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 81 -Termograma de DSC da Amostra 17



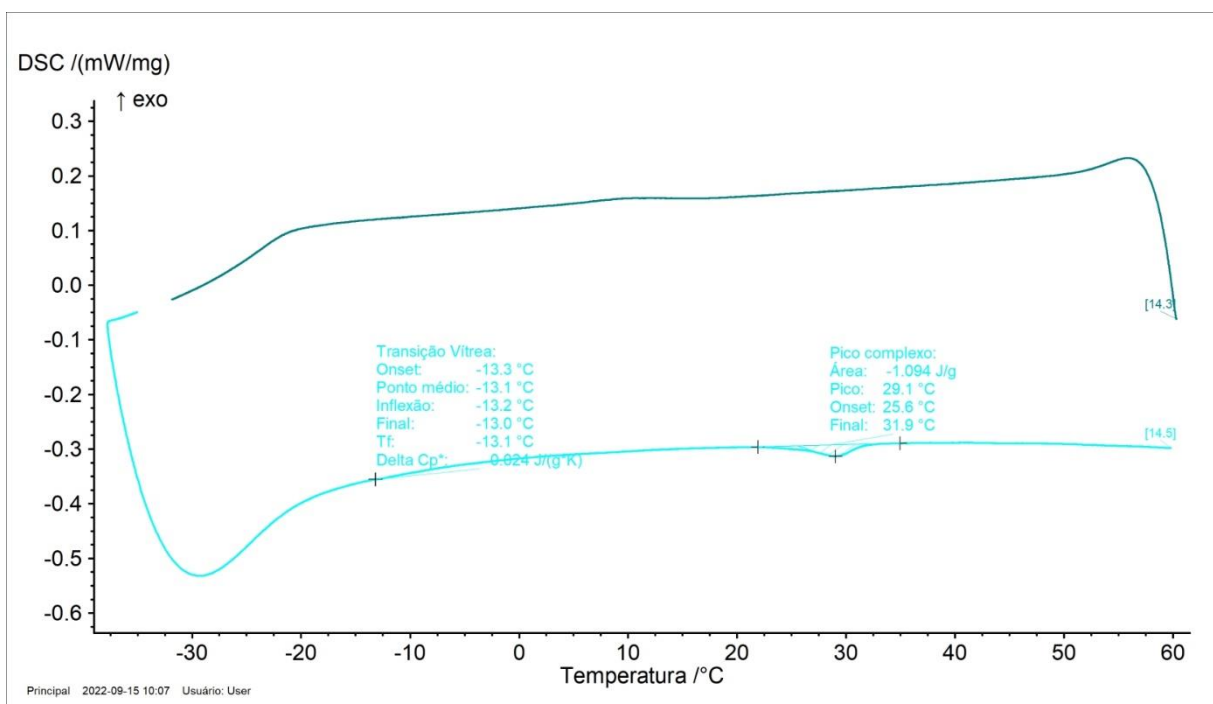
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 82 -Termograma de DSC da Amostra 18



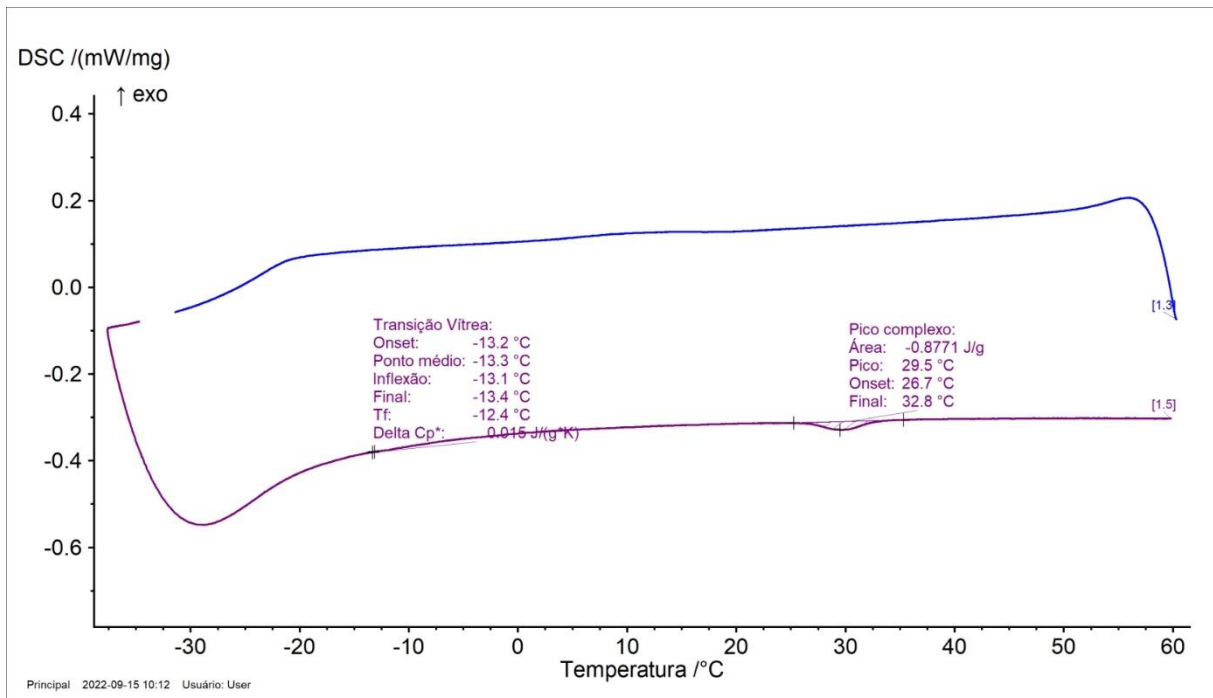
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 83 -Termograma de DSC da Amostra 19



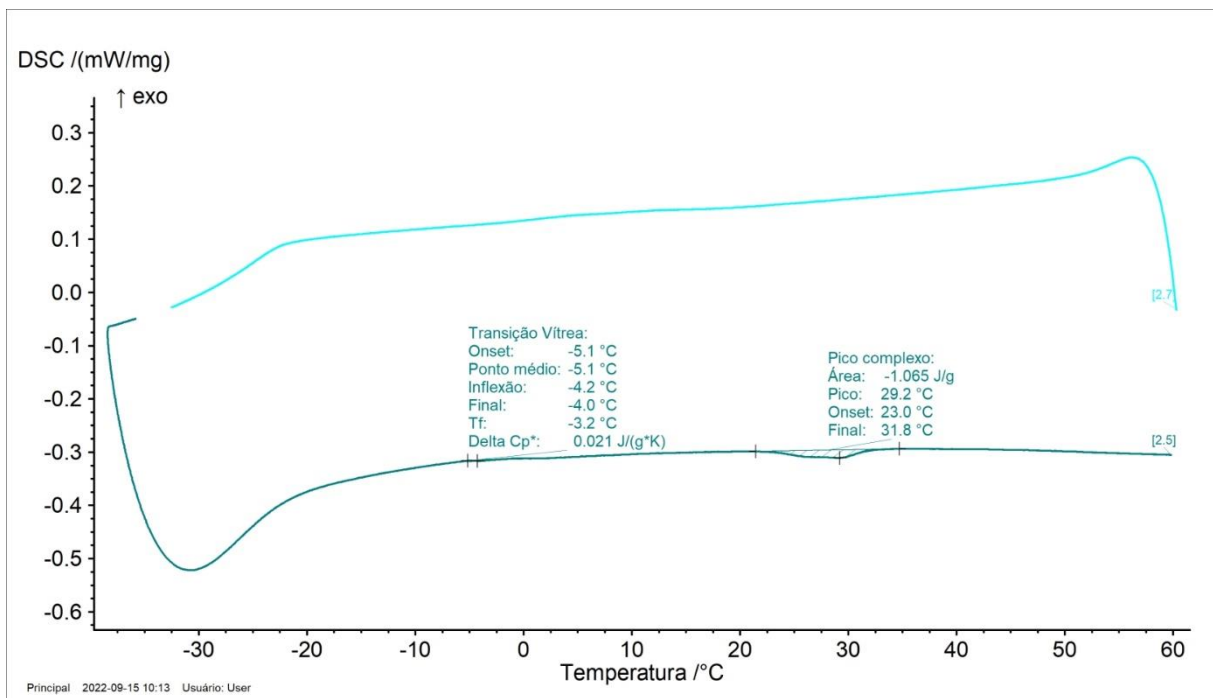
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 84 -Termograma de DSC da Amostra 20



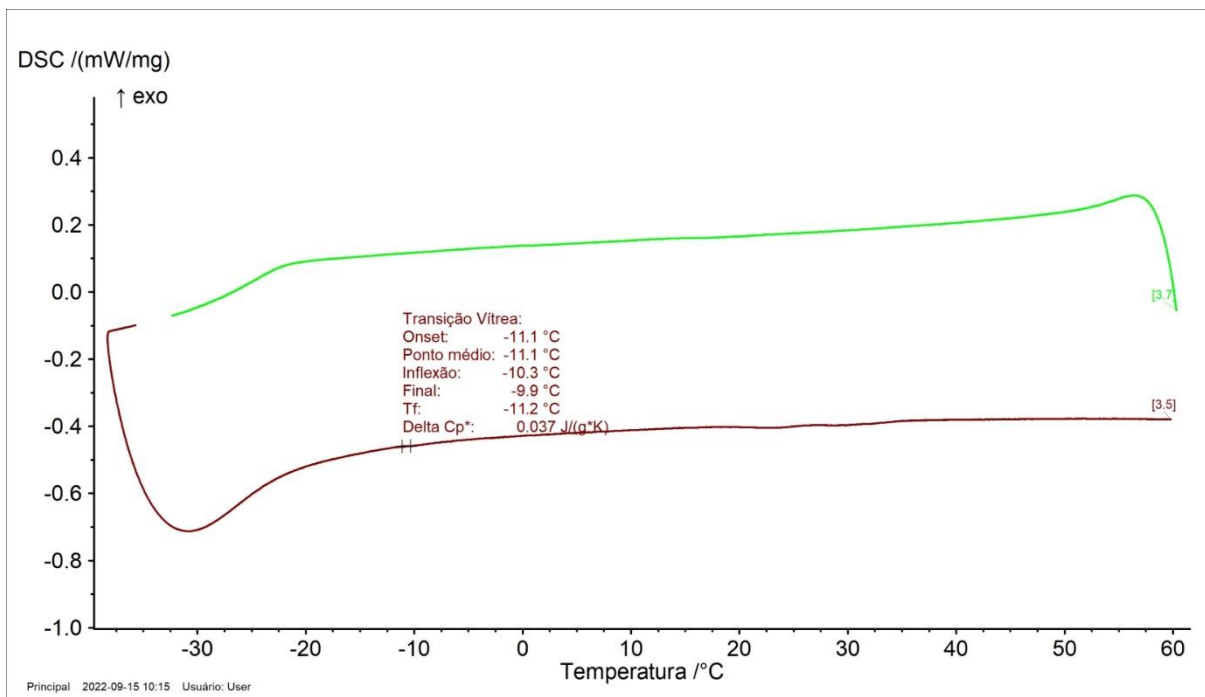
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 85 -Termograma de DSC da Amostra 21



Fonte: O Autor, 2022.

Figura 86 -Termograma de DSC da Amostra 22

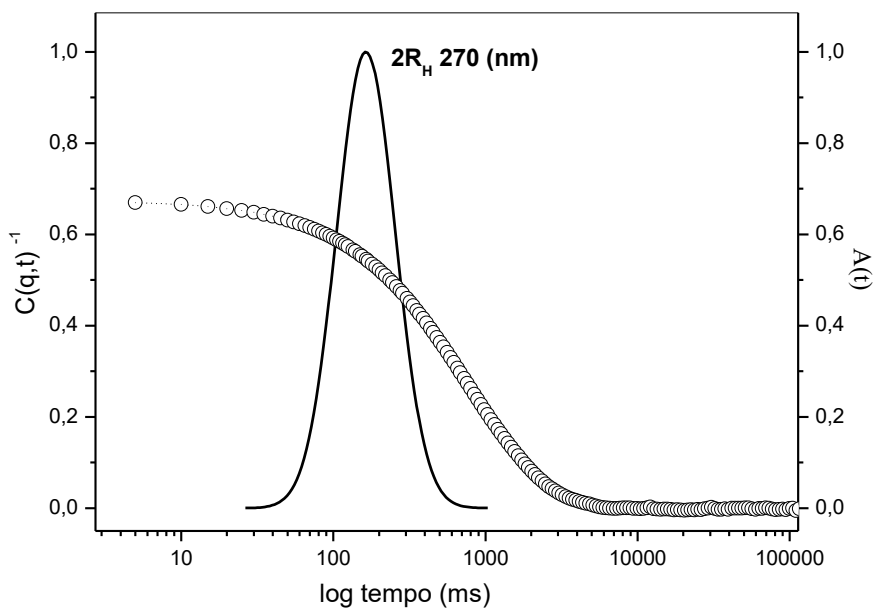


Fonte: O Autor, 2022.

ANEXO D - GRÁFICOS DE ANÁLISE DE ESPALHAMENTO DE LUZ (DLS)

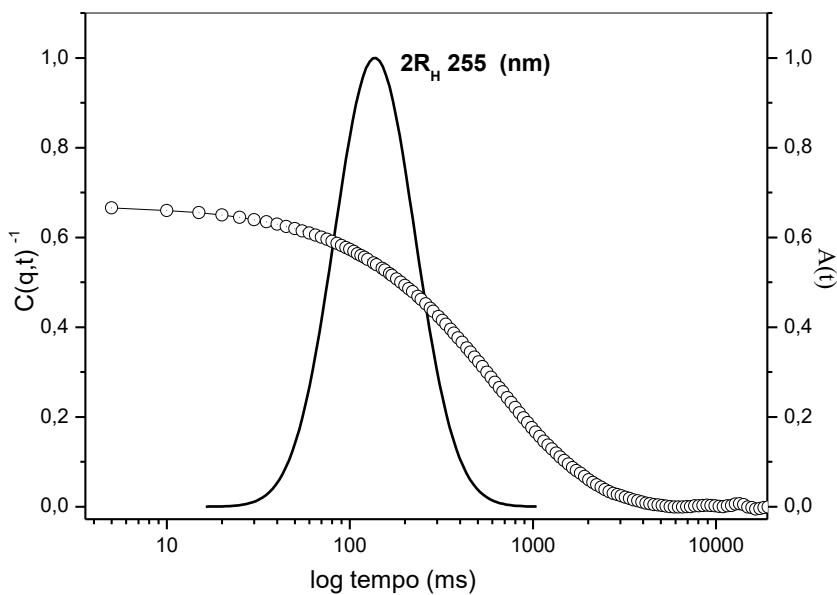
Funções de correlação $C(q,t)$ adquirida no ângulo de espalhamento $\theta = 90^\circ$ e a respectiva distribuição do tempo de relaxação $A(t)$ a 25°C , para uma solução aquosa de $0,25\text{ mg/mL}$.

Figura 87 - Espalhamento de Luz da Amostra 1



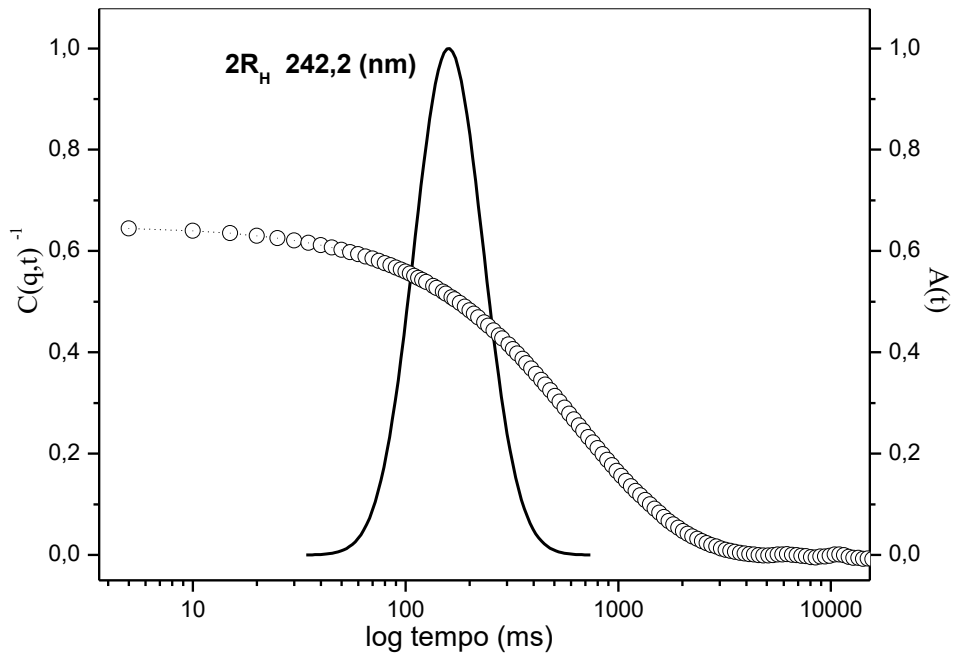
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 88 - Espalhamento de Luz da Amostra 2



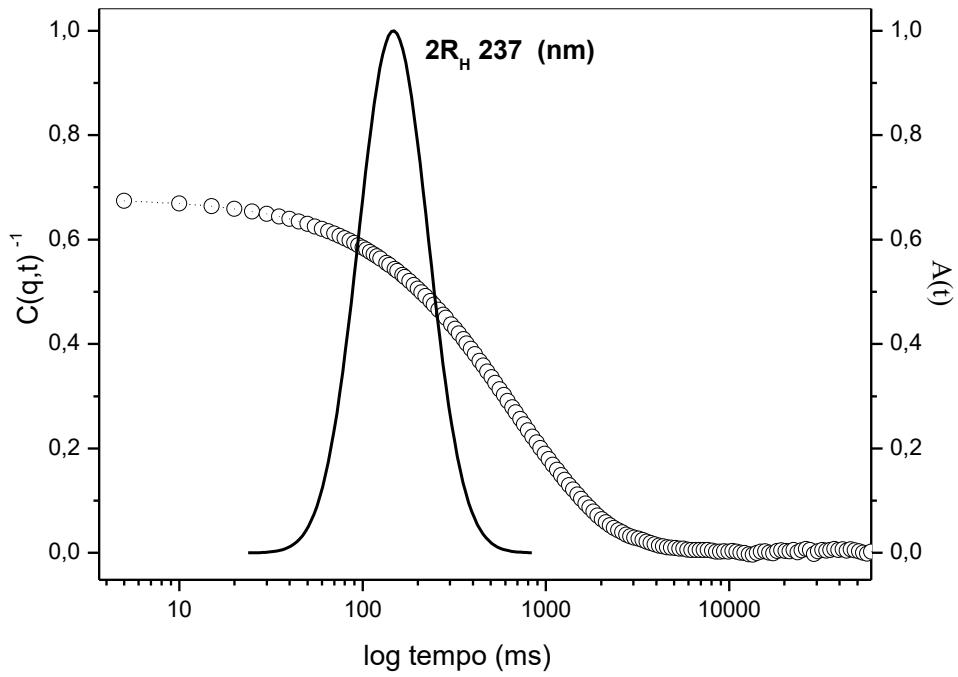
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 89 - Espalhamento de Luz da Amostra 3



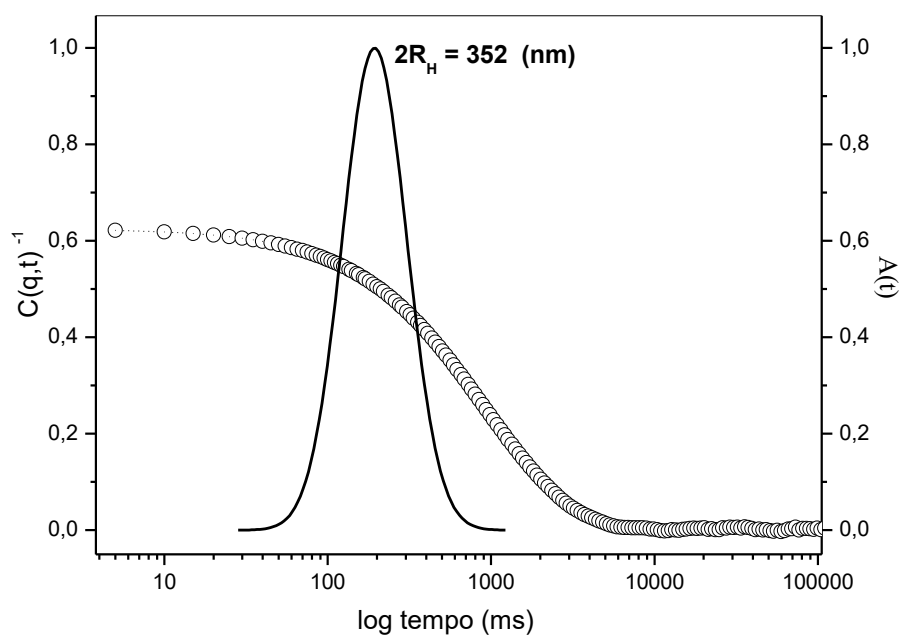
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 90 - Espalhamento de Luz da Amostra 5



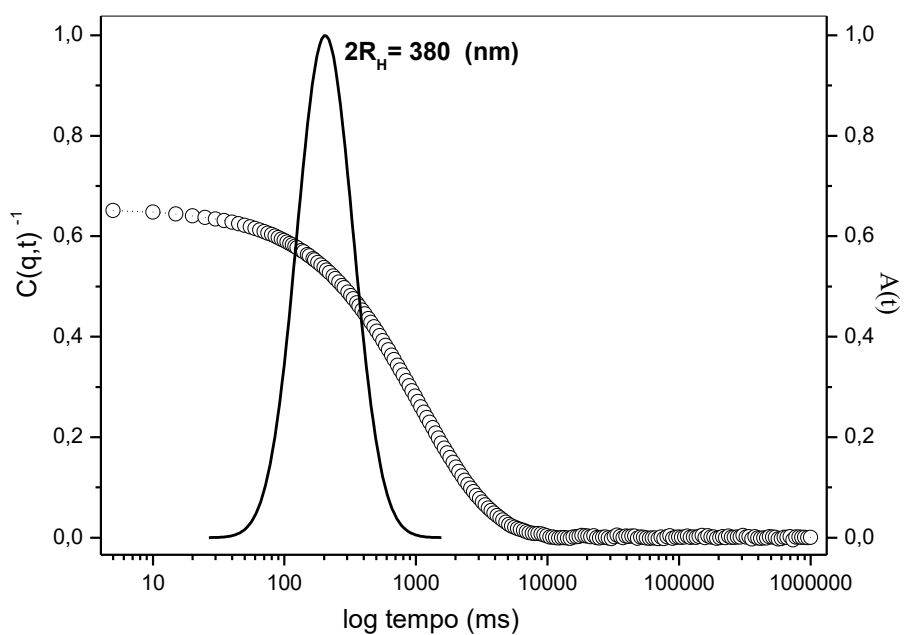
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 91 - Espalhamento de Luz da Amostra 6



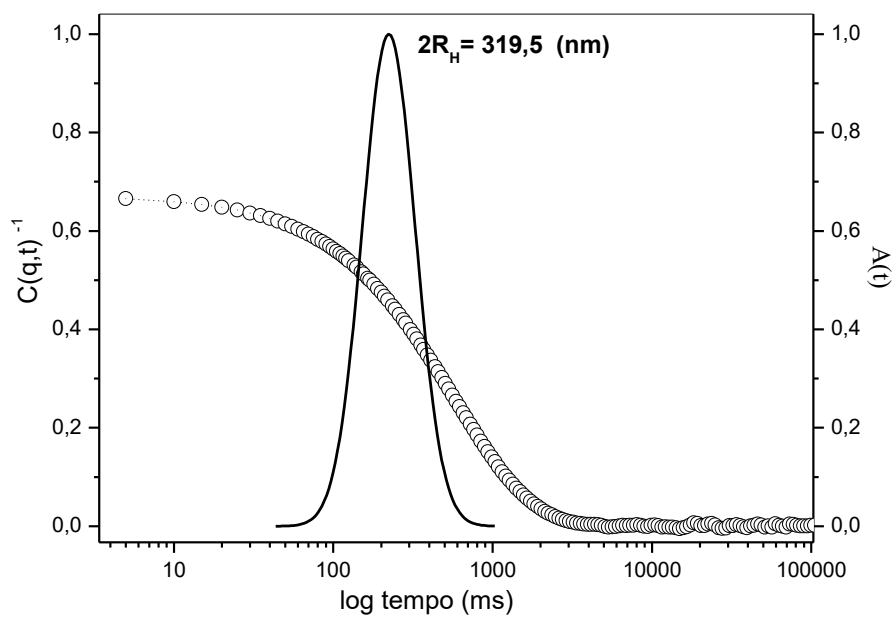
Fonte: O Autor, 2022

Figura 92 - Espalhamento de Luz da Amostra 7



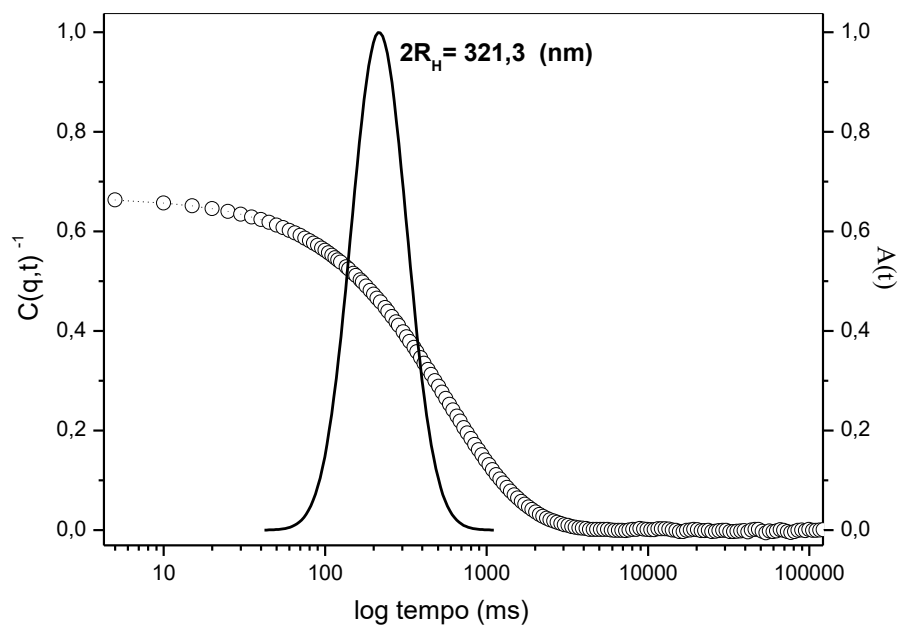
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 93 - Espalhamento de Luz da Amostra 8



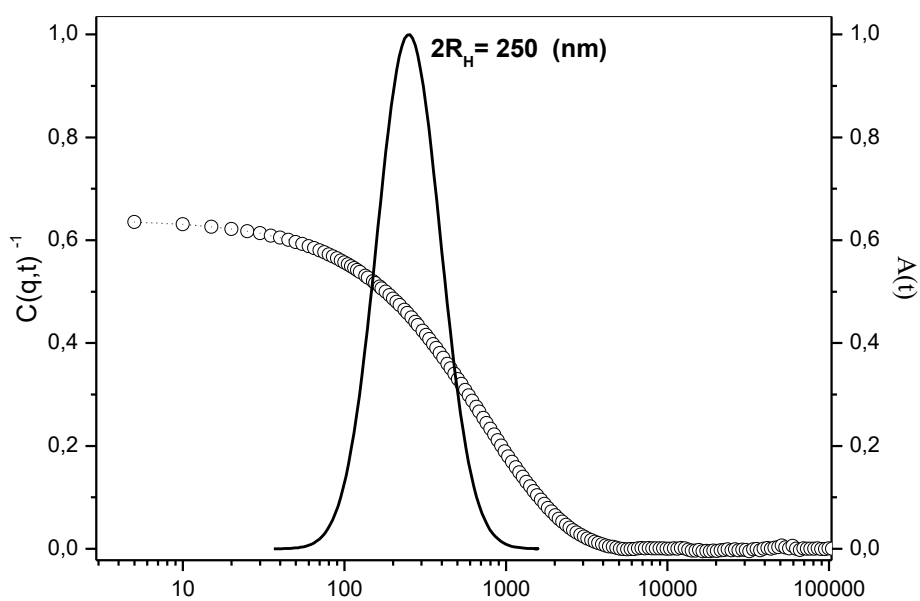
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 94 - Espalhamento de Luz da Amostra 9



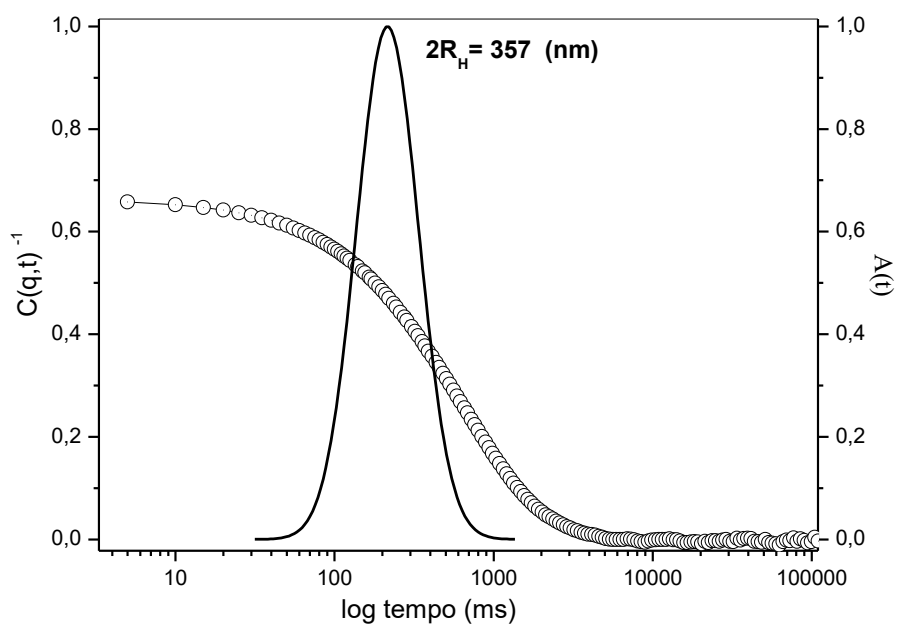
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 95 - Espalhamento de Luz da Amostra 10



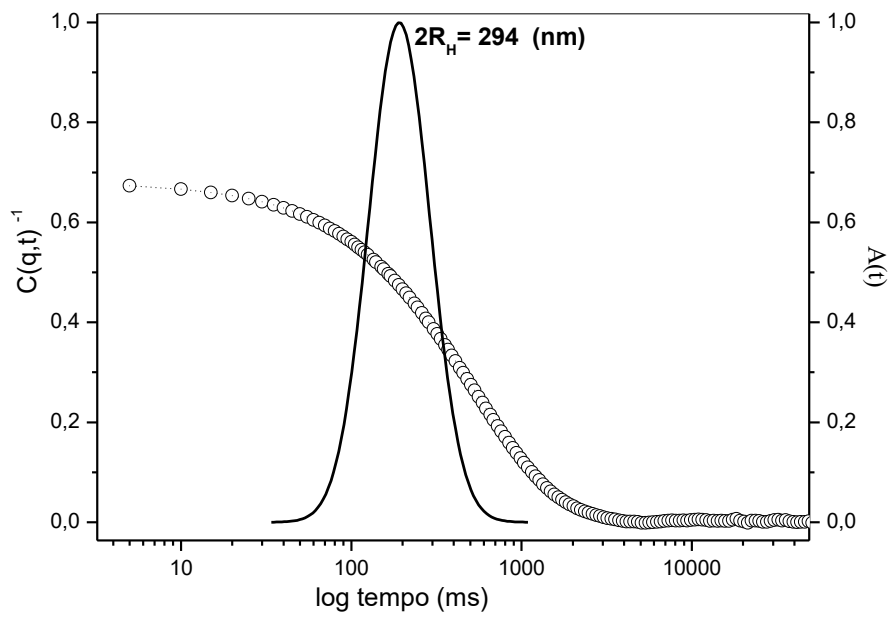
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 96 - Espalhamento de Luz da Amostra 11



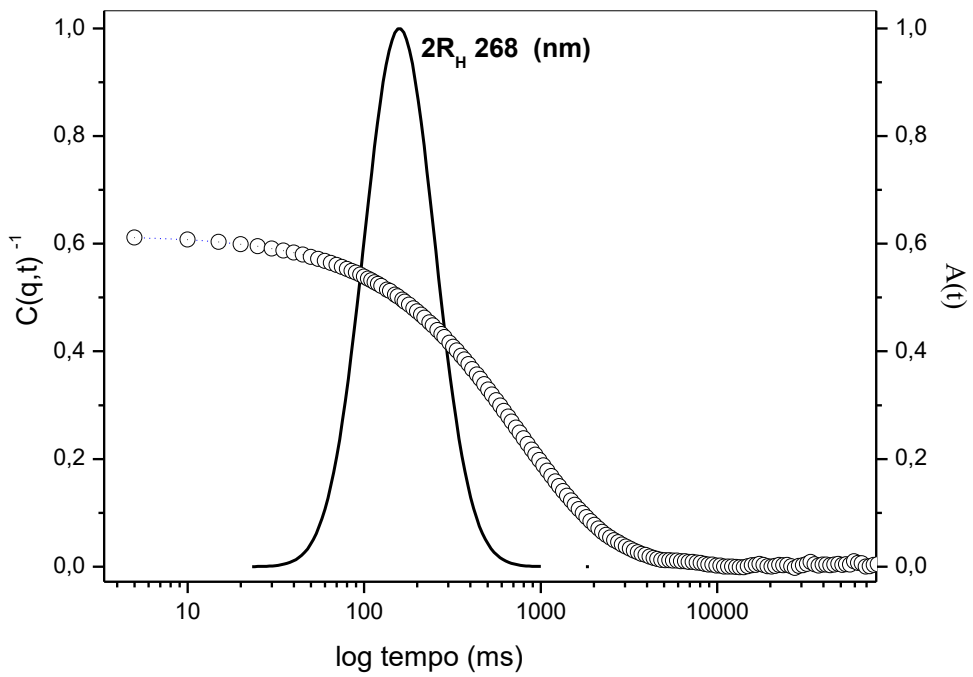
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 97 - Espalhamento de Luz da Amostra 12



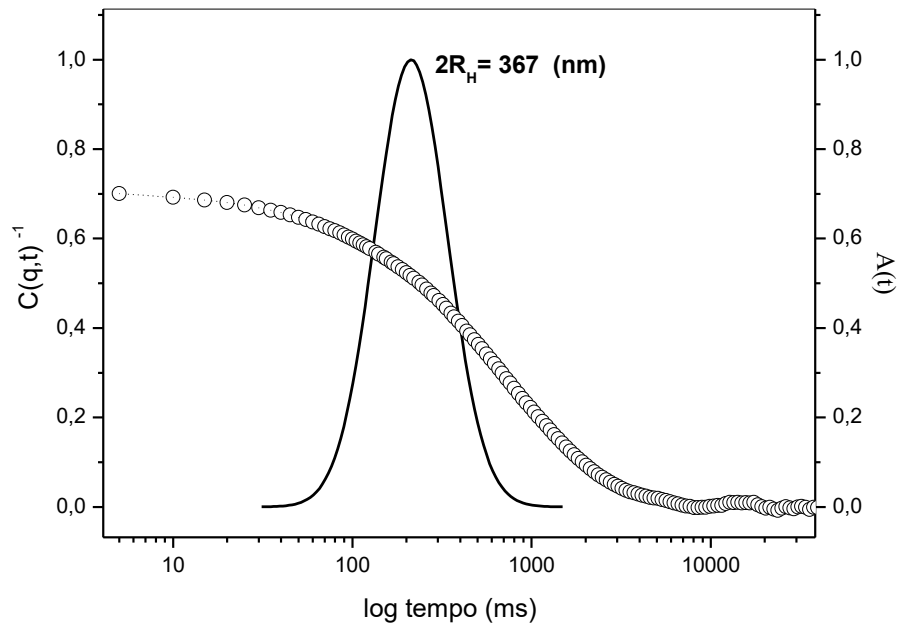
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 98 - Espalhamento de Luz da Amostra 13



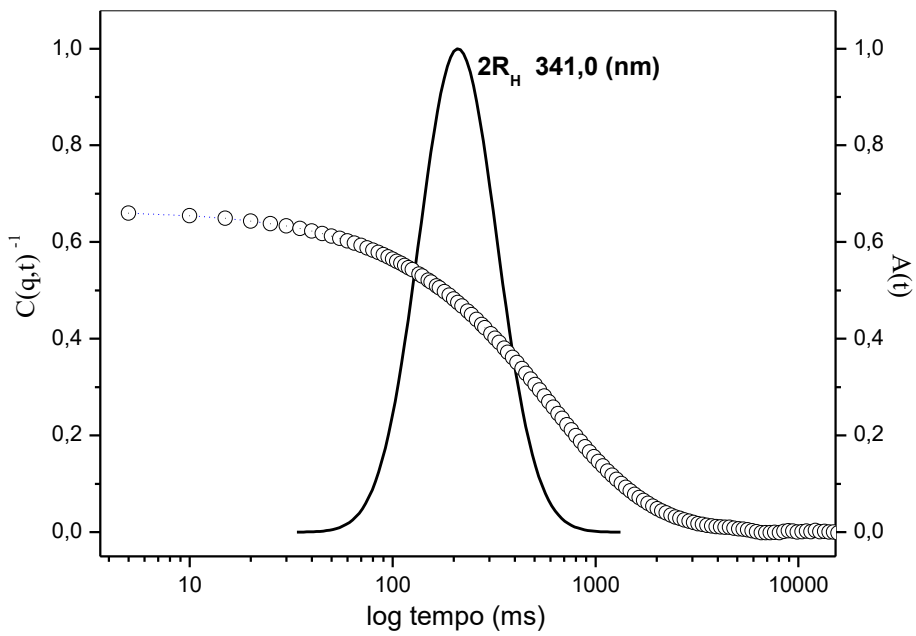
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 99 - Espalhamento de Luz da Amostra 14



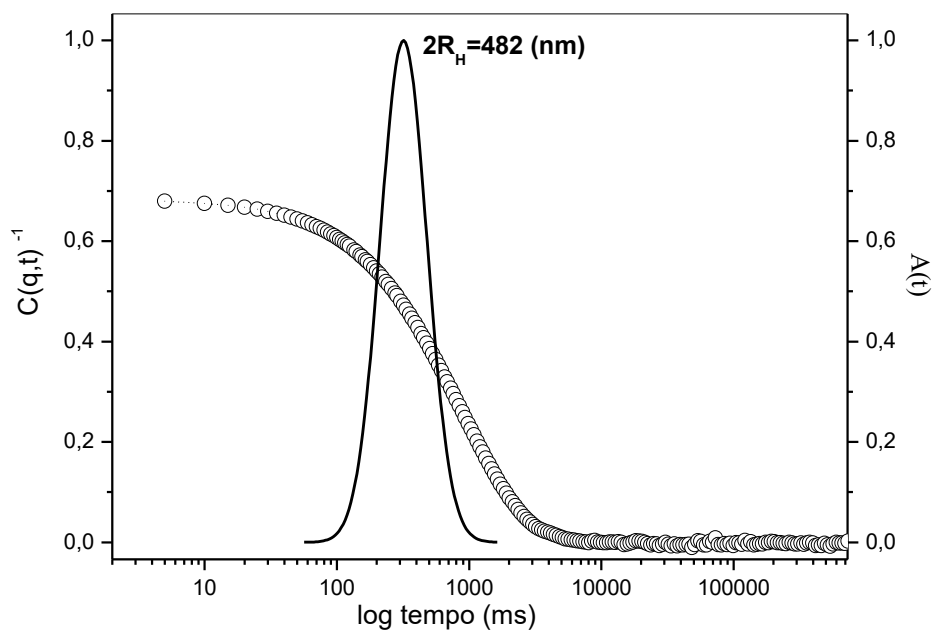
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 100 - Espalhamento de Luz da Amostra 15



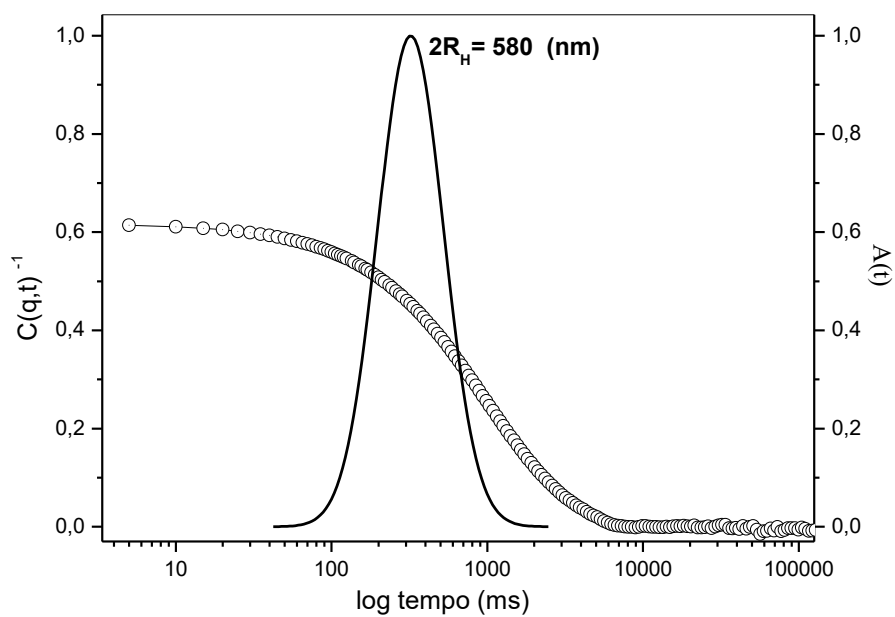
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 101 - Espalhamento de Luz da Amostra 16



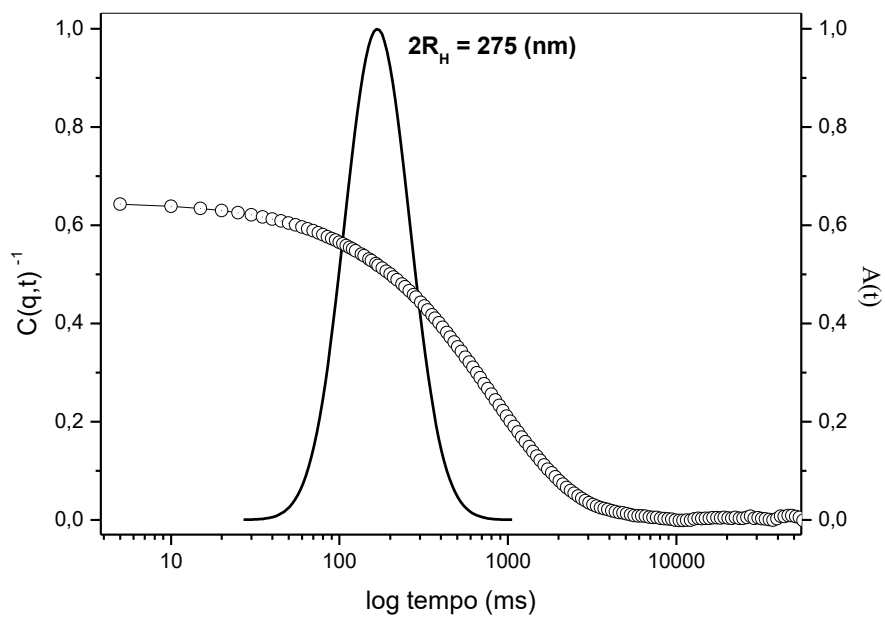
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 102 - Espalhamento de Luz da Amostra 17



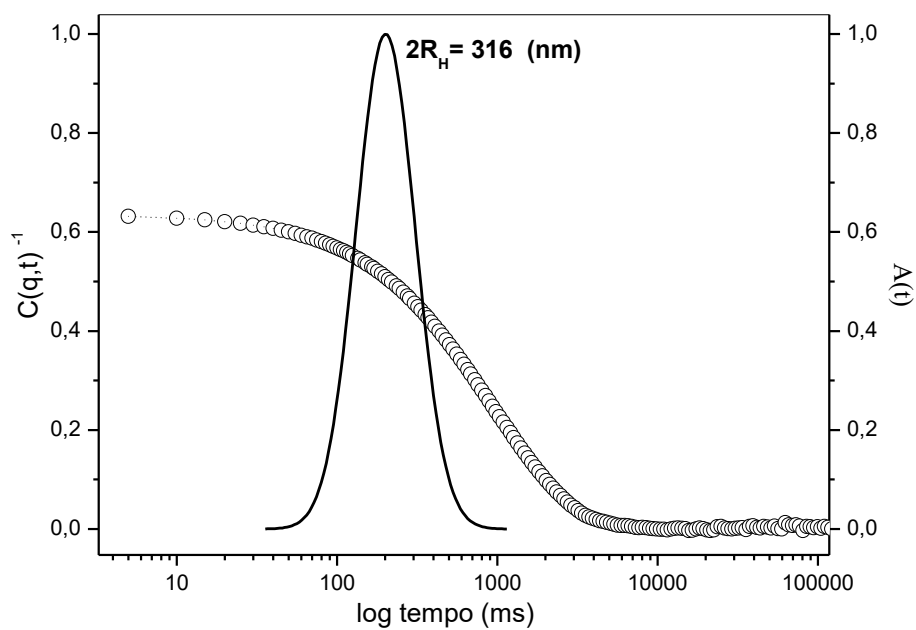
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 103 - Espalhamento de Luz da Amostra 18



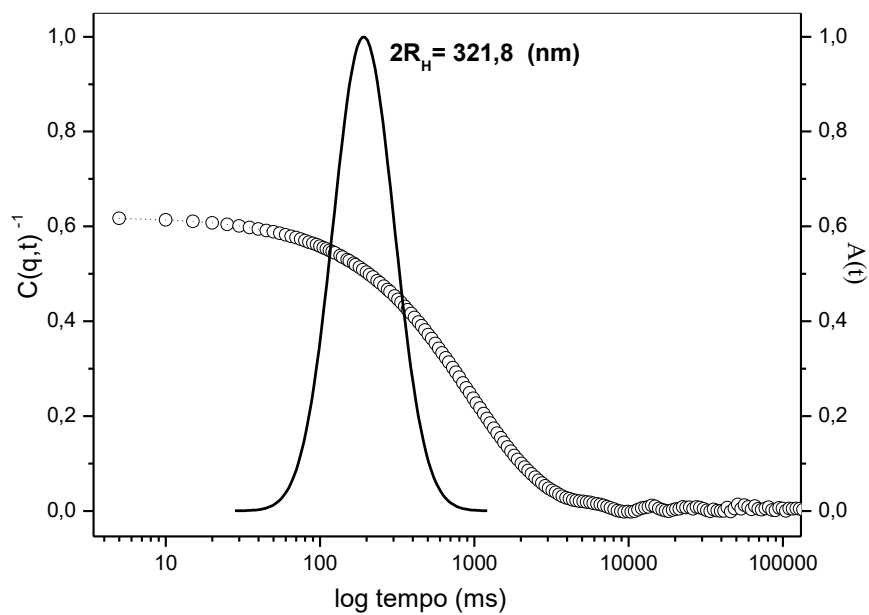
Fonte: O Autor, 2022

Figura 104 - Espalhamento de Luz da Amostra 19



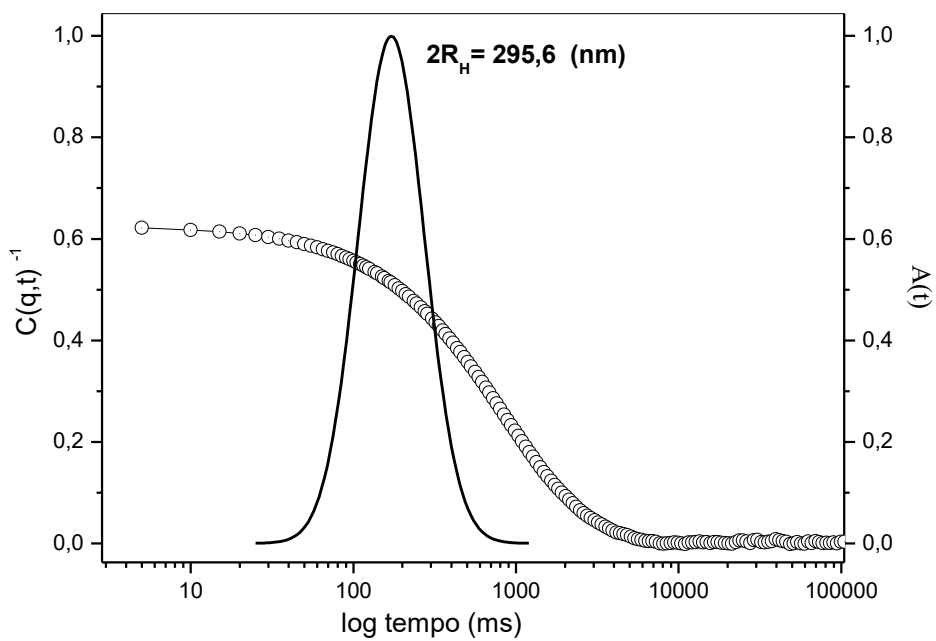
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 105 - Espalhamento de Luz da Amostra 20



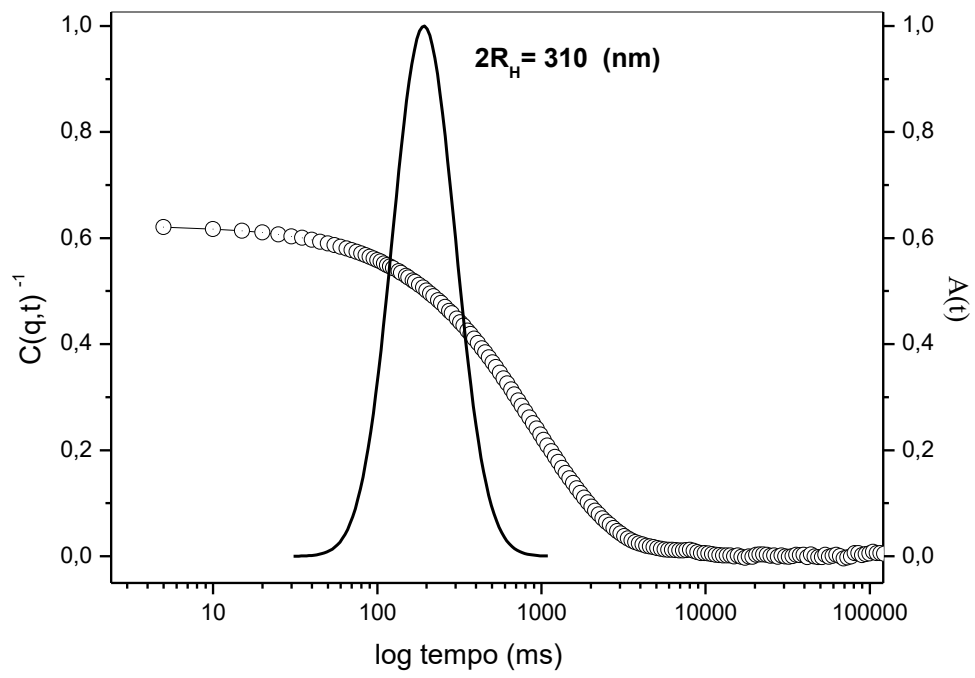
Fonte: O Autor, 2022.

Figura 106 - Espalhamento de Luz da Amostra 21



Fonte: O Autor, 2022.

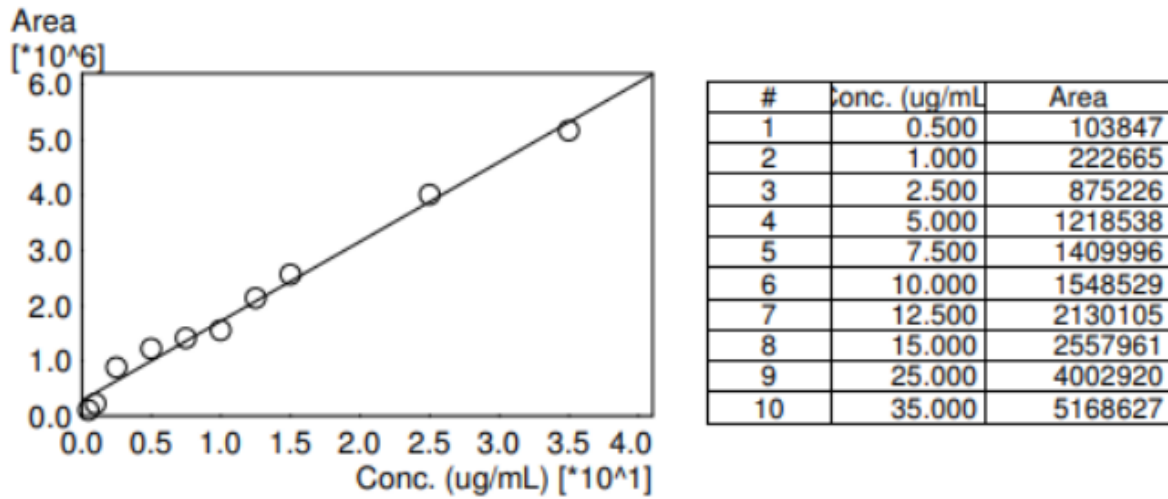
Figura 107 - Espalhamento de Luz da Amostra 22



Fonte: O Autor, 2022.

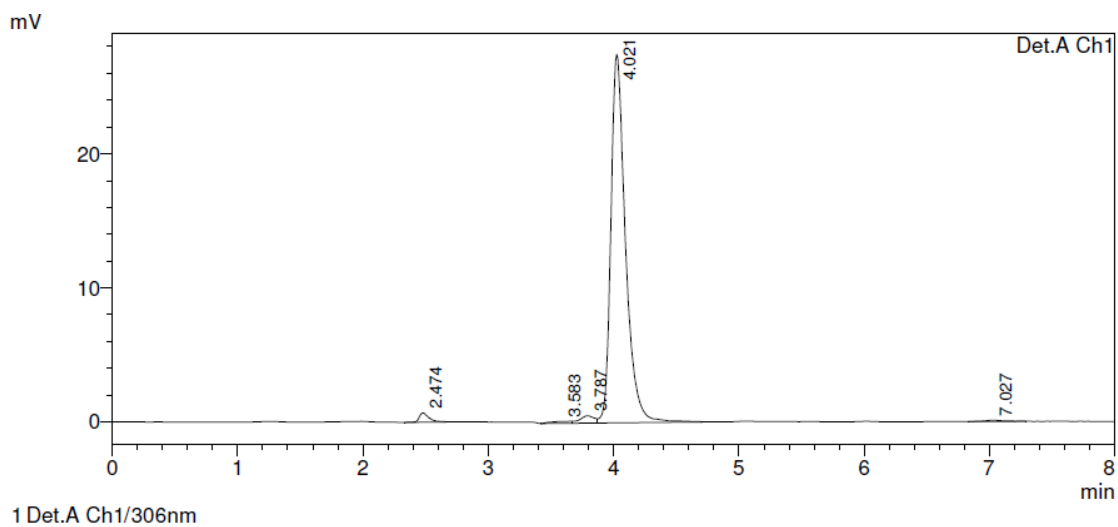
ANEXO E - CURVA DE CALIBRAÇÃO RESVERATROL

Figura 108 - Curva de calibração construída a partir dos cromatogramas de Resveratrol



Fonte: O Autor, 2023.

Figura 109 - Cromatograma do Resveratrol



Fonte: O Autor, 2023.