

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

JÉSSICA CRISTINA FERREIRA PEREZ

CARACTERIZAÇÃO DO BIOATIVO NATURAL PAEPALANTINA
ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS UNILAMELARES GRANDES - LUVs

UBERABA

2026

JÉSSICA CRISTINA FERREIRA PEREZ

CARACTERIZAÇÃO DO BIOATIVO NATURAL PAEPALANTINA
ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS UNILAMELARES GRANDES - LUVs

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração “Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos”, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.
Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Brando Rocha
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine

UBERABA

2026

CATALOGAÇÃO

Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

P514c	Perez, Jéssica Cristina Ferreira Caracterização do bioativo natural paepalantina encapsulada em lipossomas unilamelares grandes – luvs / Jéssica Cristina Ferreira Perez. -- 2026. 46 p.: il., graf., tab. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2026 Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Brando Rocha Coorientadora: Profa. Dra. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine 1. Compostos bioativos. 2. Materiais nanoestruturados. 3. Plantas medicinais. I. Rocha, Lenaldo Brando. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título. CDU 620.3
-------	---

JÉSSICA CRISTINA FERREIRA PEREZ

CARACTERIZAÇÃO DO BIOATIVO NATURAL PAEPALANTINA
ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS UNILAMELARES GRANDES - LUVs

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, em 24/04/2026, área de concentração Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 24 de abril de 2026.

Banca examinadora:

Dr. Lenaldo Branco Rocha – Orientador
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dr. Leandro Antunes Mendes
Participante Externo

Dr. Breno Henrique Caneguim
Universidade Federal do Triângulo Mineiro



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Antunes Mendes, Usuário Externo**, em 02/07/2026, às 15:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



Documento assinado eletronicamente por **LENALDO BRANCO ROCHA, Professor do Magistério Superior**, em 03/08/2026, às 08:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



Documento assinado eletronicamente por **BRENO HENRIQUE CANEGUIM, Professor do Magistério Superior**, em 10/08/2026, às 11:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 215, de 16 de julho de 2024](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1805533** e o código CRC **10C50C71**.

Ao meu filho Ravi, por ser o meu maior presente, minha
inspiração constante e a luz que ilumina meus caminhos.
Cada página deste trabalho carrega um pouco do amor que
sinto por você. Esta conquista também é sua.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por ter me sustentado e fortalecido em cada etapa desta trajetória, concedendo-me sabedoria, coragem e perseverança para superar os desafios e alcançar esta conquista.

Aos meus pais, por acreditarem incondicionalmente em meu potencial, por me ensinarem o valor do esforço, da dedicação e da perseverança, e por celebrarem comigo cada conquista ao longo da vida. Seu amor, apoio e exemplo foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Ao meu filho Ravi, que, mesmo tão pequeno, compreendeu os momentos em que precisei me ausentar para dedicar-me aos estudos e à realização deste sonho. A ele dedico esta conquista, construída com muito amor, renúncia e esperança em um futuro melhor.

À Professora Dra. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine, pela generosidade em compartilhar conhecimentos, experiências e materiais fundamentais, que contribuíram significativamente para o início desta jornada acadêmica.

Ao meu orientador, Dr. Lenaldo Brando Rocha, pela acolhida, orientação, paciência e confiança durante a etapa final deste percurso. Sua sabedoria, incentivo e dedicação foram essenciais para que eu pudesse concluir este trabalho com segurança e determinação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio e fomento concedidos, fundamentais para o desenvolvimento e a realização desta pesquisa.

À Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e à Secretaria do Programa, agradeço pelo suporte, atenção, profissionalismo e disponibilidade demonstrados ao longo de toda a minha trajetória acadêmica.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste sonho. A cada pessoa que compartilhou conhecimentos, ofereceu apoio, incentivo ou palavras de encorajamento, registro minha mais sincera e profunda gratidão.

"Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos
serão bem-sucedidos."

Provérbios 16:3

RESUMO

Os compostos bioativos têm recebido atenção significativa devido à variedade de atividades biológicas que apresentam e à ampla aplicabilidade nos setores alimentício, cosmético e farmacêutico. Entre esses compostos, a paepalantina se destaca por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas. No entanto, seu potencial terapêutico é limitado por características físico-químicas desfavoráveis, como baixa solubilidade em água, elevada sensibilidade a fatores ambientais e reduzida estabilidade no trato gastrointestinal, fatores que comprometem sua biodisponibilidade e aplicabilidade farmacêutica. Diante dessas limitações, a nanoencapsulação surge como uma estratégia promissora para melhorar a estabilidade e o desempenho da paepalantina em sistemas biológicos. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo caracterizar a interação da paepalantina com sistemas lipossomais, avaliando parâmetros físico-químicos essenciais para o desenvolvimento de formulações nanoestruturadas. As análises espectrofotométricas evidenciaram alterações no perfil de absorção do composto após sua incorporação em matrizes lipídicas, indicando alta afinidade por ambientes hidrofóbicos. As formulações dos lipossomas multilamelares apresentaram estabilidade adequada, conforme demonstrado pelas medidas de tamanho hidrodinâmico e potencial Zeta, reforçando a viabilidade da utilização desses sistemas para o encapsulamento do composto. Os resultados obtidos ampliam o entendimento sobre o comportamento da paepalantina em sistemas lipídicos, fornecendo parâmetros fundamentais para etapas futuras de nanoencapsulamento e para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas mais eficientes. Este estudo contribui para o corpo de conhecimento acerca da aplicação da paepalantina e estabelece bases metodológicas sólidas para investigações subsequentes. Desta forma, é possível destacar que a caracterização realizada demonstra o potencial da paepalantina para o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados aplicáveis à área farmacêutica.

Palavras-chave: Paepalantina. Nanoencapsulamento. Lipossomas.

ABSTRACT

Bioactive compounds have garnered significant attention due to their wide range of biological activities and their applicability in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. Among these compounds, paepalantine stands out for its well-documented anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer properties. However, its therapeutic potential is limited by unfavorable physicochemical characteristics, including low aqueous solubility, high susceptibility to environmental degradation, and reduced stability in the gastrointestinal tract factors that compromise its bioavailability and pharmaceutical applicability. To address these limitations, nanoencapsulation emerges as a promising strategy to enhance the stability and performance of paepalantine in biological systems. In this context, the present study aimed to characterize the interaction of paepalantine with liposomal systems, evaluating key physicochemical parameters essential for the development of nanoformulations. Spectrophotometric analyses revealed changes in the compound's absorption profile following incorporation into lipid matrices, indicating a strong affinity for hydrophobic environments. Multilamellar liposomal formulations exhibited adequate stability, as demonstrated by hydrodynamic size and zeta potential measurements, reinforcing the feasibility of employing liposomal systems for paepalantine encapsulation. The results presented here expand current knowledge regarding the behavior of paepalantine in lipid systems and provide fundamental parameters for future nanoencapsulation approaches and the development of more efficient pharmaceutical formulations. This study contributes to the scientific understanding of paepalantine's applicability and establishes a solid methodological foundation for subsequent investigations. Thus, it is possible to highlight that the characterization performed demonstrates the potential of paepalantine for the development of nanostructured systems applicable to the pharmaceutical field.

Keywords: Paepalantin. Nanoencapsulation. Liposomes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Lipossoma e constituição da bicamada fosfolipídica (respectivamente).....	188
Figura 2 - Espécie <i>Paepalanthus bromelioides</i> (Eriocaulaceae). Distrito de Cardeal Mota - Santana do Riacho - MG - Brasil.....	20
Figura 3 - Estrutura química da paepalantina isolada de capítulos florais de <i>Paepalanthus bromelioides</i>	211
Figura 4 - Estrutura molecular dos fosfolipídios	244
Figura 5 - Preparação dos filmes lipídicos	266
Figura 6 - Membranas de acetato de celulose; 18,2 MΩ cm; corte de 12.400 MW	299
Figura 7 - Bolsa de diálise utilizada no ensaio de liberação <i>in vitro</i>	30
Figura 8 - Espectro de absorbância da paepalantina em metanol.....	322
Figura 9 - Curva de calibração obtida para o padrão da paepalantina usando metanol como solvente	333
Figura 10 - Titulações espectrofotométricas da paepalantina (16 μmol L ⁻¹) sob concentrações crescentes de lipídios (0 - 1500 μmol L ⁻¹)	355
Figura 11 - Ensaios de liberação controlada para a paepalantina com ajuste referente ao modelo de Korsmeyer Peppas	399

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diâmetro médio das composições de lipídios com ou sem paepalantina encapsulada.....	37
Tabela 2 - Potencial Zeta médio das diferentes composições de lipídios contendo paepalantina encapsulada	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
C ₂	Carbono diatômico
DLS	<i>Dynamic light scattering</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
FDA	<i>Foods and Drug Administration</i>
ICBN	Instituto de Ciências Biológicas e Naturais
K _p	Coeficiente de partição
LUVs	Lipossomas Unilamelares Grandes
MLVs	Vesículas Multilamelares Grandes
NaCl	Cloreto de Sódio
PAE	Paepalantina
PC	<i>Phosphatidylcholine</i>
PDI	índice de polidispersidade
PG	<i>Phosphatidylglycerol</i>
POPC	1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina
POPG	1- palmitoil-2-oleoil- sn-glicero-3-fosfatidilglicerol
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1 NANOENCAPSULAMENTO	17
2.2 ISOCUMARINAS	19
2.3 PAEPALANTINA	20
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 MATERIAIS	24
4.2. SOLUÇÃO DE PAEPALANTINA	24
4.3 SOLUÇÕES	25
4.4 SOLUBILIDADE DA PAEPALANTINA EM TAMPÃO COM POLISORBATO 80 (TWEEN 80)	25
4.5 LIPOSSOMAS PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_P)	25
4.6 PREPARAÇÃO CARREGADA COM LIPOSSOMAS ANTIOXIDANTES EM BRANCO	26
4.7 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA PAEPALANTINA EM METANOL.....	27
4.8 TITULAÇÕES ESPECTROFOTOMÉTRICAS PARA DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_P).....	27
4.9 CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E POTENCIAL ZETA.....	28
4.10 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO ANTIOXIDANTE E CINÉTICA DE LIBERAÇÃO	28
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA PAEPALANTINA EM METANOL.....	32

5.2 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_p).....	34
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES LIPÍDICAS POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS) E MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA	36
5.5 ENSAIO DE PERFIL DE LIBERAÇÃO CONTROLADA <i>IN VITRO</i>	38
6 CONCLUSÕES	41
AGÊNCIA DE FOMENTO.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Os compostos bioativos podem ser classificados como nutrientes e/ou não nutrientes com ação metabólica ou fisiológica específica. Essas substâncias podem exercer seus efeitos biológicos agindo como antioxidantes, ativando enzimas, bloqueando a atividade de toxinas virais ou antibacterianas, inibindo a absorção de colesterol, diminuindo a agregação plaquetária ou destruindo bactérias gastrointestinais nocivas (Queiroz, 2012). São constituintes que, normalmente, estão presentes em pequenas quantidades em alimentos, mas vêm sendo extensivamente estudados para avaliar os seus efeitos (Biesalki et al., 2009). Os compostos bioativos vêm ganhando destaque por sua diversidade de funções e aplicabilidade nos diferentes setores da economia, principalmente na indústria alimentícia e farmacêutica, uma vez que trazem benefícios à saúde, com destaque para os carotenoides, catequinas, fitoquímicos, flavonoides e curcuminoides. (Islam; Mohammad, 2015; Sharma, 2010).

Uma análise de moléculas aprovadas pela FDA (*Foods and Drug Administration*), aponta que mais de um terço corresponde a produtos naturais e seus derivados, demonstrando a importância desse tipo de pesquisa no desenvolvimento de novos medicamentos (Patridge et al., 2015). Uma gama de alimentos contém compostos bioativos essenciais à saúde humana, como vitaminas, compostos fenólicos, ácidos graxos essenciais, óleos essenciais, entre outros. Grande parte desses compostos são hidrofóbicos ou pouco solúveis em água e apresentam baixa estabilidade, devido à sensibilidade frente a temperatura, oxigênio, luz, entre outros fatores (Rezaei; Fathi; Jafari, 2019).

Neves et al. (2021) destacam que, nesse contexto, é necessário buscar estratégias que permitam a manutenção dos efeitos farmacológicos dos compostos bioativos. Dentre essas estratégias, as tecnologias de encapsulação têm se mostrado promissoras para contornar os problemas supracitados.

Considerando o exposto, o objetivo desta pesquisa foi realizar o encapsulamento do bioativo natural paepalantina, em lipossomas unilamelares grandes (LUVs), com fins medicinais, a fim de avaliar a afinidade do composto bioativo pela composição lipídica da matriz encapsulante. Para isso, foram caracterizadas a estabilidade e a eficiência do encapsulamento, possibilitando a comparação entre as características das diferentes formulações.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 NANOENCAPSULAMENTO

O encapsulamento é um processo pelo qual substâncias, como compostos bioativos sólidos, líquidos ou gasosos, são acondicionadas dentro de um material de revestimento de modo a formar um ambiente fechado capaz de controlar interações entre as condições internas e externas (Queirós-Sauceda et al., 2014; Yang, 2009; Ezhilarasi et al., 2013). Essa técnica viabiliza a proteção de compostos, contra diversos fatores, como degradação natural ou por outros agentes, e vem sendo empregada em diversas áreas, como na indústria farmacêutica, de alimentos e de cosméticos. Sendo o seu principal objetivo proteger o material encapsulado das condições adversas do meio e liberá-lo em seu sítio de ação em quantidade e no momento adequado para exercer a função desejada (Shahidi; Han, 1993; Gibbs, 1999).

A nanoencapsulação envolve a incorporação ou dispersão de combinações das entidades ou substâncias no estado sólido, líquido ou gasoso, dentro de vesículas pequenas, com diâmetro na escala manométrica. A incorporação dessas entidades bioativas protege-as contra a degradação por agentes ambientais como o pH, a temperatura, sais e solventes orgânicos, melhora a estabilidade e a solubilidade, e permite ainda a solubilização de componentes hidrofóbicos em matrizes hidrofílicas e vice-versa (Jafari et al, 2008).

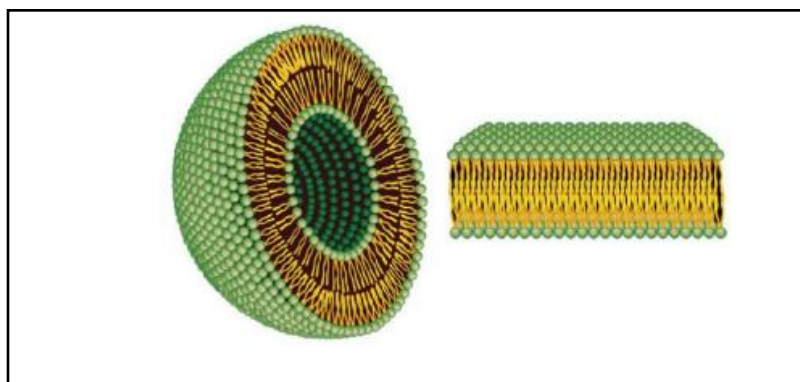
Lane e Heath (2004), destacam que, atualmente, a nanotecnologia está passando por avanços em diferentes áreas, como aplicações biomédicas, imagens moleculares, biomarcadores, biossensores e administração de medicamentos. Diversos trabalhos científicos indicam que o panorama da nanotecnologia vem ganhado amplitude em associação à tecnologia de nanoencapsulamento, principalmente na indústria farmacêutica e alimentícia (Santos et al., 2015; Hu et al., 2015; Shakeri, et al., 2014; Yi et al., 2014). O nanoencapsulamento tem despertado considerável interesse nos últimos anos, pois constitui uma alternativa atóxica, biodegradável e não imunogênica, sendo o encapsulamento uma boa opção para proteger e melhorar a biocompatibilidade de componentes bioativos (Fukui e Fujimoto, 2009, Teramura e Iwata, 2009).

A nanoencapsulação de agentes terapêuticos aumenta sua eficácia, especificidade e capacidade de direcionamento (Soppimath et al., 2001). Sistemas carreadores coloidais, como nanopartículas, nanoemulsões, lipossomas, nanosuspensões e micelas, têm atraído atenção nos últimos anos por diminuírem a toxicidade de ativos, solubilizarem ativos lipofílicos e manterem o efeito do princípio ativo no tecido alvo, entre outras vantagens (Mehnert e Mader, 2001). As

principais substâncias de interesse para o encapsulamento incluem os lipídios, proteínas, vitaminas e pigmentos naturais. Os lipídios constituem um grupo heterogêneo de compostos, relacionados mais por suas propriedades físicas do que por suas propriedades químicas, mas que apresentam algumas características em comuns como serem relativamente insolúveis na água e solúveis nos solventes não polares, tais como o éter, o clorofórmio, os óleos, os esteroides e as ceras (Botham e Mayes, 2012).

Os lipossomas, representados na figura 1, são vesículas microscópicas compostas de uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, separadas por um meio aquoso. Eles podem encapsular substâncias hidrofílicas e/ou lipofílicas, sendo que as primeiras ficam no compartimento aquoso e as lipofílicas inseridas ou adsorvidas na membrana. Por serem biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogênicos são altamente versáteis para pesquisa, terapêutica e aplicações analíticas (Edwards, Baeumner, 2006; New, 1990; Puisieux et al., 1995). Uma das grandes vantagens dos lipossomas, em relação a outros sistemas transportadores de medicamento, é a sua elevada biocompatibilidade, especialmente quando estes são formados de lipídeos pertencentes às famílias de lipídeos naturais, como o colesterol e os fosfolipídios das membranas. (Frézard e Braz, 1999).

Figura 1 - Lipossoma e constituição da bicamada fosfolipídica (respectivamente)



Fonte: Bitounis, D., Fanciullino, R. et al.

A técnica de encapsulação em lipossomas tem sido amplamente utilizada em estudos com compostos bioativos de alimentos (Chen et al., 2019; González - Ortega et al., 2021; Pettinato et al., 2020; Sarkar et al., 2019), uma vez que os lipossomas são capazes de encapsular moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas ou ambas, simultaneamente (Maurya; Bashir; Aggarwal, 2020). Os lipossomas protegem os agentes terapêuticos da degradação, os entregando-os diretamente ao sítio – alvo, e são versáteis o suficiente para permitir a marcação de pequenas moléculas para entrega direcionada (Felnerova et al., 2004). O encapsulamento de colorantes naturais pode aumentar a

estabilidade destes compostos e a manutenção da cor ao ser aplicado em alimentos, fármacos e embalagens. Além disso, essa técnica pode preservar características benéficas desses biocompostos como a atividade antioxidante e antimicrobiana (Siegrist et al., 2007).

2.2 ISOCUMARINAS

As isocumarinas compreendem uma classe de produtos naturais polifenólicos presentes em uma variedade de espécies vegetais. São metabólitos secundários estruturalmente relacionados às cumarinas, mas com um anel lactônico invertido, produzido por fungos e algumas plantas superiores (Hill, 1986). As isocumarinas são isômeros das cumarinas, sendo diferenciadas apenas pela posição de suas carbonilas. Além disso, são polifenóis, assim como os flavonoides, compostos bem conhecidos por interagirem com múltiplos sistemas biológicos (Santos et al., 1998; Dorta et al., 2005).

Na biossíntese, as isocumarinas são derivadas do ácido chiquímico ou de várias condensações cabeça-cauda de unidades C_2 da via acetato-malonato, seguidas de ciclização adicional, formando compostos com um ou mais anéis fenólicos. Poucos estudos investigaram a atividade biológica desses compostos, sendo que apenas algumas isocumarinas foram avaliadas quanto ao potencial citotóxico, mutagênico, clastogênico e antimicrobiano (Varanda et al., 1997; Tavares et al., 1999; Coelho et al., 2000; Devienne et al., 2002; Varanda et al., 2004). Nos últimos anos, as isocumarinas têm atraído atenção substancial, não apenas por sua prevalência natural, mas principalmente devido à sua ampla gama de atividades biológicas relatadas, incluindo propriedades antimicrobianas, antialérgicas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antidiabéticas, antitumorais, antineoplásicas e antivirais (Matsuda et al., 1999; Furuta et al., 1986; Gohil et al., 2021; Salloum et al., 2000; Brasholz et al., 2007; Goldman et al., 1990; Kumar et al., 2020; Zhou et al., 2020; Yoshikawa et al., 1994).

Atualmente, alguns destes compostos apresentam notável interesse farmacológico devido à sua comprovada atividade biológica. Por exemplo, foi relatado que a isocumarina paepalantina, presente em diferentes extratos de *Paepalanthus bromelioides* e *Paepalanthus vellozioides*, exibe uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo antimicrobiana (Devienne e Raddi, 2002; Devienne et al., 2005), anti-inflamatória (Di Stasi et al., 2004), antioxidante (Kitagawa et al., 2003, Devienne et al., 2007), citotóxica (Varanda et al., 1997, Devienne et al., 2002), atividades genotóxica (Tavares et al., 1999) e mutagênica (Varanda et al., 2004).

2.3 PAEPALANTINA

As espécies do gênero *Paepalanthus* (Eriocaulaceae), representada na figura 2, são popularmente conhecidas como “sempre-vivas” e possuem valor ornamental, porque ainda parecem vivas anos depois de serem colhidas (Vilegas et al., 1998). *Paepalanthus*, com cerca de 500 espécies, é um de seus principais gêneros comumente encontrados nos estados da Bahia e Minas Gerais, Brasil. *Paepalanthus bromelioides* aparece como endêmico da Serra do Cipó, sendo encontrada em prados abertos com o solo arenoso e oligotrófico (Guilietti et al., 1987). Segundo Sano (1996), o Brasil abriga cerca de 400 espécies desse gênero, reforçando sua relevância botânica e biodiversidade.

Figura 2 - Espécie *Paepalanthus bromelioides* (Eriocaulaceae). Distrito de Cardeal Mota - Santana do Riacho - MG - Brasil



Fonte: Lamar. R., 2012.

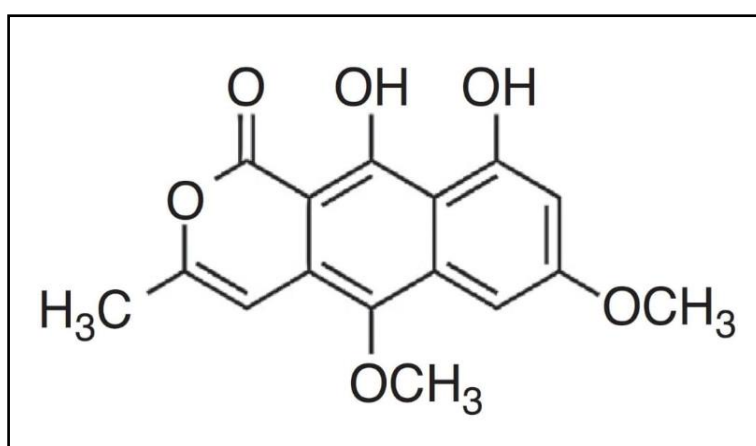
Zanutto (2013) destaca que o interesse científico por essas plantas e estudo da atividade biológica, iniciou-se com a descoberta do metabólito paepalantina, classificada como uma naftopiranona, composto que raramente é encontrado em plantas, sendo mais comum em microrganismos fúngicos, como os do gênero *Penicillium* spp. Desde então, diversos estudos investigaram a atividade biológica de extratos vegetais e substâncias isoladas dessas espécies (Zanutto, 2013; Oliveira et al., 2013; Ramos, 2015). De maneira geral, vários estudos demonstraram que quase todas as espécies de *Paepalanthus* possuem flavonoides, naftoquinonas, ácido caféico e derivados de naftopiranona, incluindo paepalantina e o dímero 8,8-paepalantina isolado de *P. bromelioides* (Vilegas et al., 1990; Coelho et al., 2000). Apesar dessas plantas ainda possuírem apenas valor ornamental por conta das suas inflorescências e não serem tradicionalmente utilizadas na medicina tradicional, as naftopiranonas presentes nelas têm demonstrado ampla gama de

atividades biológicas, como por exemplo, atividade antibiótica (Vilegas et al., 1990; Vilegas et al., 1998).

O potencial antioxidante desta isocumarina foi avaliado por Leitão et al. (2002) por meio de técnicas espectrofotométricas, utilizando o ensaio de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Esse método, amplamente empregado para medir a capacidade de neutralização do radical livre estável DPPH, é uma das abordagens mais difundidas na determinação da atividade antioxidante. De acordo com Moon e Shibamoto (2009), o ensaio DPPH é utilizado em mais de 90% dos estudos voltados à avaliação antioxidante de substâncias puras, misturas ou matrizes complexas, destacando sua relevância na análise de compostos bioativos.

A importância dessa atividade antioxidante se relaciona às características estruturais da molécula. Nesse contexto, Vilegas et al. (1990) ressaltam que a carbonila na posição 1 e os grupos hidroxila nas posições 9 e 10 da paepalantina (figura 3), favorecem a formação de duas fortes pontes intramoleculares de Hidrogênio, conferindo à molécula caráter lipofílico, característica previamente observada por sua alta solubilidade em clorofórmio. Damasceno (2016), destaca que a paepalantina é uma molécula que apresenta potencial farmacológico, principalmente relacionado aos estudos das atividades antibacteriana e antioxidante. No entanto, sua característica lipofílica dificulta a aplicação em ensaios que dependem de solubilização em meio aquoso, sendo normalmente solubilizada em dimetilsulfóxido.

Figura 3 - Estrutura química da paepalantina isolada de capítulos florais *Paepalanthus bromelioides*



Fonte: Adaptado de Kitagawa et al., 2004.

Embora muitos compostos de origem vegetal demonstrem ter considerável atividade farmacológica, algumas propriedades indesejáveis, como mutagenicidade, carcinogenicidade e

toxicidade, podem restringir seu uso como agentes terapêuticos (Simões et al., 1999). Um passo importante no desenvolvimento de um novo fármaco é a avaliação de suas características físico-químicas e possíveis interações com adjuvantes que possam ser utilizados para seu desenvolvimento (Wang et al., 2006). Bharate e Vishwakarma (2013) ressaltam que os estudos de pré-formulação auxiliam os cientistas na triagem de candidatos líderes com base em suas propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas. As informações de pré-formulação (permeabilidade, solubilidade e estabilidade) são úteis para a seleção de novas entidades químicas para estudos pré-clínicos de eficácia/toxicidade, que é uma seção importante em aplicações investigacionais de novos medicamentos inovadores.

Diante desse contexto, a paepalantina apresenta características importantes que justificam estudos mais aprofundados, especialmente quanto à sua citotoxicidade, visando seu potencial uso futuro como fármaco. Contudo, seu encapsulamento se mostra necessário, uma vez que, assim como outros bioativos naturais, como a quercetina e a curcumina, a paepalantina apresenta baixa solubilidade e instabilidade fisiológica. Nesse contexto, o nanoencapsulamento em LUVs constitui uma estratégia que contribui diretamente para aplicações terapêuticas, permitindo um direcionamento mais eficiente ao alvo de ação, o desvio das barreiras estomacais, o aumento do índice terapêutico e a minimização de possíveis efeitos colaterais. Dessa forma, o encapsulamento promove melhorias nas propriedades físico-químicas da molécula, favorecendo seu estudo e aplicação em terapias futuras.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Encapsular a paepalantina em lipossomas para fins medicinais e caracterizar o produto obtido, a fim de investigar suas propriedades físico – químicas.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

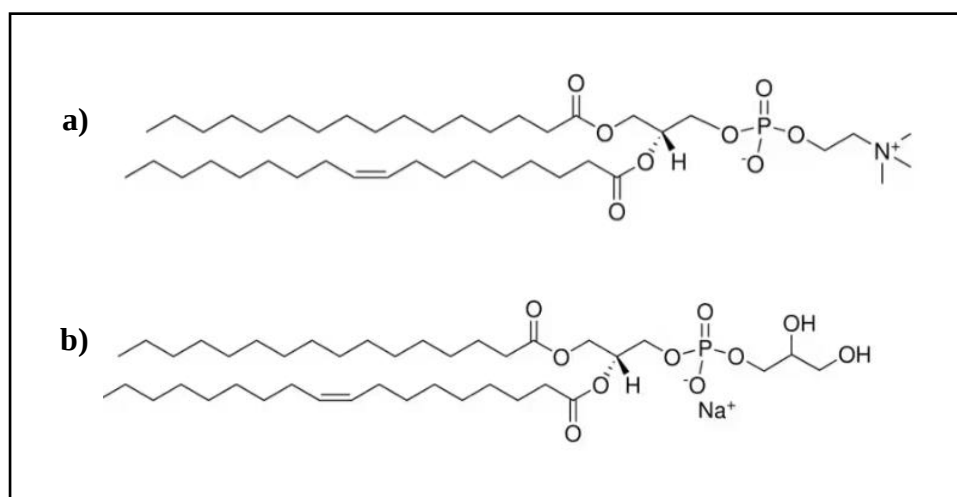
- Realizar o encapsulamento da paepalantina em lipossomas unilamelares grandes;
- Avaliar afinidade do composto bioativo pela composição lipídica da matriz encapsulante;
- Caracterizar a estabilidade e a eficiência do encapsulamento e do composto bioativo;
- Comparar as características do encapsulamento do bioativo;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para a realização do presente trabalho, foram os seguintes fosfolipídios: 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina - (POPC) com uma cabeça polar zwitteriônica (em pH 7,4) e 1- palmitoil-2-oleoil- sn-glicero-3-fosfatidilglicerol - (POPG) apresentando caráter aniônico (a pH 7,4), ambos obtidos da Avanti Polar Lipids®, (Figura 4), os reagentes HEPES, NaCl (Sigma – Aldrich) e o solvente orgânico metanol obtidos de fornecedores de qualidade certificada e de grau analítico, o bioativo paepalantina foi fornecido pela Prof. Dra. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine, do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais – ICBN, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Campus Uberaba – MG.

Figura 4 - Estrutura molecular dos fosfolipídios



Fonte: Adaptado da Sigma Aldrich (2024).

Nota: **a)** POPC

b) POPG

4.2. SOLUÇÃO DE PAEPALANTINA

Para os ensaios de determinação do coeficiente de partição (k_p) com LUVs foi preparada a solução de paepalantina diluindo 1 mg de paepalantina em 0,5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), devido à baixa solubilidade da paepalantina em solventes aquosos. Para o preparo das vesículas multilamelares grandes (MLVs), foi preparada uma solução de paepalantina a 1 mM (10^{-3} mol/L) em clorofórmio.

4.3 SOLUÇÕES

A solução tampão utilizada ao longo de todo trabalho é composta de HEPES a 20 mmol L⁻¹ e NaCl a 150 mmol L⁻¹, pH 7,4. Para os ensaios de liberação controlada, o meio receptor foi preparado de tampão HEPES a 20 mmol L⁻¹ e NaF a 150 mmol L⁻¹ e adicionado 0,5 % (v/v) de Tween 80, pH 7,4.

4.4 SOLUBILIDADE DA PAEPALANTINA EM TAMPÃO COM POLISORBATO 80 (TWEEN 80)

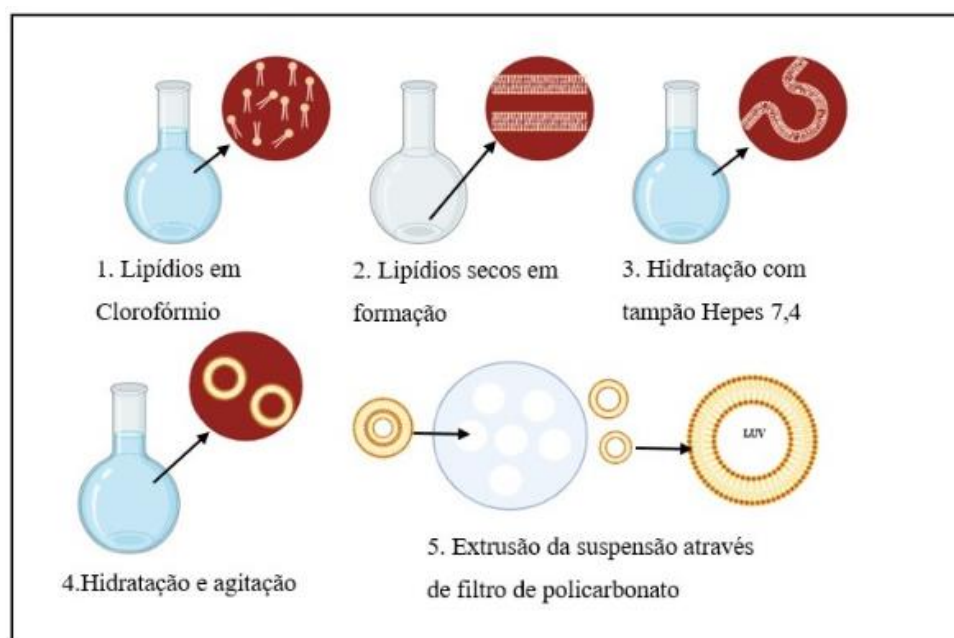
O estudo da solubilidade da paepalantina em tampão foi realizado na presença de polisorbato 80, a fim de encontrar a melhor condição para o meio receptor nos ensaios que avaliaram a cinética de liberação. Para tanto, na primeira etapa deste ensaio, 15 mg de paepalantina foi adicionado à 10 ml das soluções: HEPES pH 7,4 contendo 0% e 0,5% de Tween 80. Após este preparo, o sistema foi submetido a agitação magnética por 24 horas ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. Após 24 horas a amostra foi filtrada com filtro de corte 0,45 µm e analisada por espectroscopia de UV-Vis modelo Shimadzu UV 1800. A partir da análise das amostras contendo paepalantina foi determinada a quantidade máxima do bioativo que pode ser solubilizada no meio receptor de escolha sem que ocorra saturação.

4.5 LIPOSSOMAS PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS DE DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (KP)

Os lipossomas foram preparados através da formação de filmes lipídicos na mistura desejada, dos fosfolipídios *Phosphatidylcholine* (PC) e *Phosphatidylglycerol* (PG), na proporção de PC / PG (50:50) mol:mol. Um esquema representativo deste processo pode ser visto na Figura 5. Para tanto, realizou-se a diluição dos fosfolipídios em clorofórmio. Em seguida, a completa evaporação do solvente clorofórmio em atmosfera de N₂, seguida de 3h de vácuo foi realizada. Ao final, um filme lipídico foi formado e subsequentemente hidratado com solução tampão HEPES 20 mmol L⁻¹ + NaCl 150 mmol L⁻¹ e agitado em vórtex formando MLVs que são submetidas ao processo de extrusão manual na miniextrusora Avanti, através de uma membrana de policarbonato com poros de 100nm 21 vezes, que desencadeia a ruptura das MLVs e a remontagem em LUVs como esquematizado na figura 5. Durante a extrusão, a solução lipídica é tipicamente empurrada para frente e para trás através

da membrana dezenas de vezes, de modo que o corte da membrana define o tamanho final das vesículas (Luchini e Vitiello, 2021).

Figura 5 - Preparação dos filmes lipídicos



Fonte: Da Autora, 2024.

4.6 PREPARAÇÃO CARREGADA COM LIPOSSOMAS ANTIOXIDANTES EM BRANCO

Os lipossomas em branco foram preparados obtendo filmes lipídicos finos e secos. Para isso, soluções estoque lipídicas foram misturadas em clorofórmio e submetidas à evaporação do solvente sob fluxo de N_2 seguida de secagem sob vácuo por 3 h. Este processo foi repetido para cada lipídio PC e PG, para resultar na composição desejada: PC / PG (50:50) mol:mol. Os filmes foram hidratados pela adição de tampão HEPES 20 mmol L^{-1} contendo 150 mmol L^{-1} de NaCl, pH 7.4. Esta suspensão foi homogeneizada por agitação em vórtex durante 2,5 min. Para obtenção dos LUVs, após homogeneização, a suspensão foi submetida à extrusão através de membranas de policarbonato (21 vezes em membranas com tamanho de poro de 100 nm) em miniextrusora Avanti. A incorporação da paepalantina dependeu da sua natureza. Por se tratar de um bioativo não solúvel em água, a paepalantina foi solubilizada nos filmes lipídicos com clorofórmio e posteriormente submetidos aos mesmos processos de secagem e extrusão das amostras em branco. As LUVs brancas e as LUVs carregadas de paepalantina foram mantidas sob refrigeração, protegidos da luz e usados dentro de 24 horas após a preparação. Cada formulação foi preparada pelo menos duas vezes.

4.7 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA PAEPALANTINA EM METANOL

Uma curva de calibração da paepalantina em metanol foi construída a fim de estabelecer uma referência para quantificá-la ao longo do estudo e garantir as condições que melhor caracterizam o sistema de interesse. Para isso, distintas amostras de paepalantina foram diluídas em metanol compreendendo a faixa de concentração de 0 a 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a paepalantina. Cada amostra foi submetida a uma varredura de 250 nm a 550 nm em espectrofotômetro UV/Vis modelo Shimadzu UV 1800. Os comprimentos de máxima absorção, bem como as respectivas intensidades de absorbância foram registrados. Desta forma, foi possível construir um gráfico da variação da intensidade de absorbância em função concentração de cada bioativo.

4.8 TITULAÇÕES ESPECTROFOTOMÉTRICAS PARA DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_P)

Titulações espectrofotométricas foram realizadas na ausência e na presença de LUVs para obtenção da curva de calibração do bioativo e das isotermas de partição. Para as curvas de calibração, os espectros da paepalantina foram registrados em concentrações crescentes variando de 0 a 1500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando um espectrofotômetro UV-Vis modelo Shimadzu UV 1800 (Shimadzu Corp, Japão) considerando a varredura de 250 a 550 nm. Curvas de calibração foram construídas considerando o aumento da absorbância em relação à concentração e ajustadas linearmente considerando a Lei de Beer Lambert. A determinação dos coeficientes de partição (K_P) foi feita fixando a concentração do bioativo (16 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e monitorando a variação de suas propriedades espectrais na presença de concentrações crescentes de lipossomas brancos (0 a 1500 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Todos os espectros foram corrigidos para diluição de volume e efeitos de dispersão de luz, subtraindo os espectros das LUVs brancas na ausência de paepalantina. Os valores de K_P foram determinados através do ajuste não linear (Eq. 1) das isotermas de partição construídas a partir das intensidades de absorbância normalizadas em função das concentrações lipídicas, conforme segue:

Equação 1:

$$\frac{\text{Abs (L)}}{\text{Abs}_0} = 1 + \left(\frac{\text{Abs}_{\text{max}}}{\text{Abs}_0} - 1 \right) \times \frac{K_p \gamma_L [L]}{1 + K_p \gamma_L [L]}$$

Onde $Abs(L)$, Abs_0 e Abs_{max} são as absorbâncias na presença e ausência de LUVs e a absorbância máxima obtida; $[L]$ é a concentração de fosfolipídios; K_p é o coeficiente de partição molecular lipídeo: água e γL é o volume molar do lipídio ($0,75 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$) (Marsh, 2010). Todas as experiências foram realizadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

4.9 CARACTERIZAÇÃO DE TAMANHO E POTENCIAL ZETA

A técnica DLS (do inglês *Dynamic light scattering*) foi utilizada para avaliar o tamanho e o índice de polidispersidade (PDI) das formulações. As amostras foram diluídas em tampão HEPES 20 mmol L^{-1} , NaF 150 mmol L^{-1} atingindo concentração final de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e analisadas em ZetaSizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido).

Em seguida, a suspensão ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi diluída na proporção de 50:950 (v:v) no mesmo tampão e em seguida transferida para uma cubeta descartável DTS 1060 (Malvern) com elétrodos de ouro para realizar medidas de potencial zeta através de experimentos de velocimetria laser Doppler nos quais a mobilidade eletroforética foi medida a partir de três medições. Todas as experiências foram realizadas pelo menos três vezes a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, em experimentos separados.

4.10 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO ANTIOXIDANTE E CINÉTICA DE LIBERAÇÃO

A eficiência de aprisionamento do bioativo (%EE) foi determinada por espectrofotometria UV-Vis pelo método indireto. $0,5 \text{ mL}$ de LUVs carregados com o bioativo foram centrifugados por 10 min a 7000 rpm , dos quais $100 \mu\text{L}$ do sobrenadante foram diluídos em $1.900 \mu\text{L}$ de metanol. Os espectros de absorbância da amostra foram registrados utilizando o espectrofotômetro modelo Shimadzu UV 1800 (Shimadzu Corp. Japão) e a concentração do bioativo foi acessada com o auxílio da respectiva curva de calibração. Após isso, o %EE foi avaliado por meio da Eq. 2. Todos os experimentos foram realizados em duplicata em ensaios diferentes.

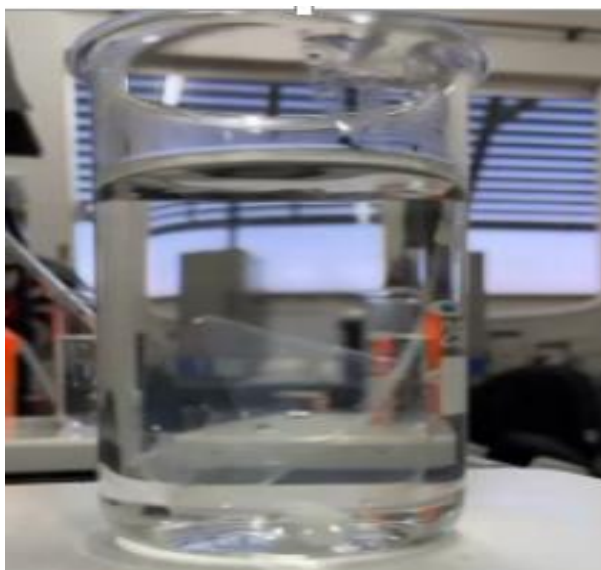
Equação 2:

$$\%EE = 100 - \left(\frac{[BIO]_{supernatant}}{[BIO]_{total}} \times 100 \right)$$

Onde, $[BIO]_{\text{sobrenadante}}$ é a concentração de bioativo no sobrenadante e $[BIO]_{\text{total}}$ é a concentração total de bioativo utilizado na preparação de LUVs.

Os estudos de liberação *in vitro* das LUVs carregadas de paepalantina foram conduzidos utilizando bolsa de diálise (membranas de acetato de celulose; 18,2 M Ω cm; corte de 12.400 MW, Sartorius, Alemanha), previamente acondicionada por lavagens sucessivas em água deionizada a 60 °C, conforme ilustrado na Figura 6.

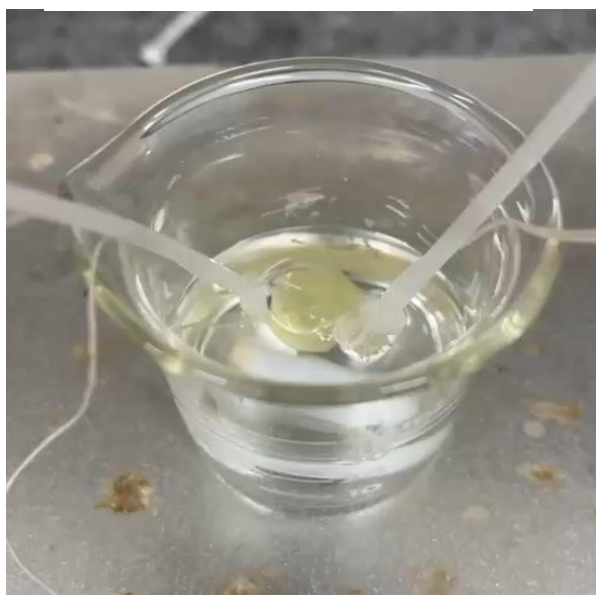
Figura 6 - Membranas de acetato de celulose;
18,2 M Ω cm; corte de 12.400 MW



Fonte: Da Autora, 2024.

Para isso, 1350 μL de LUVs carregadas de paepalantina foram adicionadas à membrana de diálise e ambos os lados foram selados para evitar vazamentos, conforme representado na figura 7. As bolsas foram colocadas imersas em 30 mL de tampão HEPES pH 7,4 (20 mmol L⁻¹ HEPES + 150 mmol L⁻¹ NaCl + 0,5% de Tween 80) e mantidos sob agitação ao abrigo da luz. A liberação do bioativo foi analisada extraíndo alíquotas de 700 μL da solução receptora em intervalos de 30 min, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas em temperatura ambiente. A cada retirada de 700 μL de uma alíquota para análise, foram adicionados 700 μL do tampão utilizado no meio receptor para manter o volume constante durante o experimento.

Figura 7 - Bolsa de diálise utilizada
ensaio de liberação *in vitro*.



Fonte: Da Autora, 2024.

A quantidade de bioativo liberado em cada tempo foi determinada com o espectrofotômetro Shimadzu UV 1800. A absorbância obtida em cada alíquota foi convertida em percentual de liberação utilizando a curva de calibração, ao comparar a absorção em cada instante com o total do bioativo encapsulado. As curvas obtidas foram ajustadas com o modelo Korsmeyer-Peppas para investigar o mecanismo pelo qual a liberação ocorre. Uma vez que este modelo permite a determinação do mecanismo de liberação dos ingredientes em função do expoente de difusão, n , conforme apresentado na equação semi-empírica de Korsmeyer-Peppas (equação 3):

$$\text{Equação 3: } \frac{M_t}{M_\infty} = K_{KP} \times t^n,$$

Onde M_t é a liberação do composto ativo no tempo t , M_∞ é a quantidade de liberação do composto por tempo infinito, K_{KP} é uma constante que considera aspectos estruturais e geométricos do sistema, e o valor do expoente (n) indica o mecanismo de liberação. Para sistema de distribuição de geometria esférica, $n < 0,43$ sugere um comportamento de difusão Fickiano, para $0,43 < n < 0,85$ corresponde a um transporte anômalo não-fickiano e para $n > 0,85$ o mecanismo de liberação está relacionado ao transporte relaxal (Silva et al., 2020; Custódio et al., 2022). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

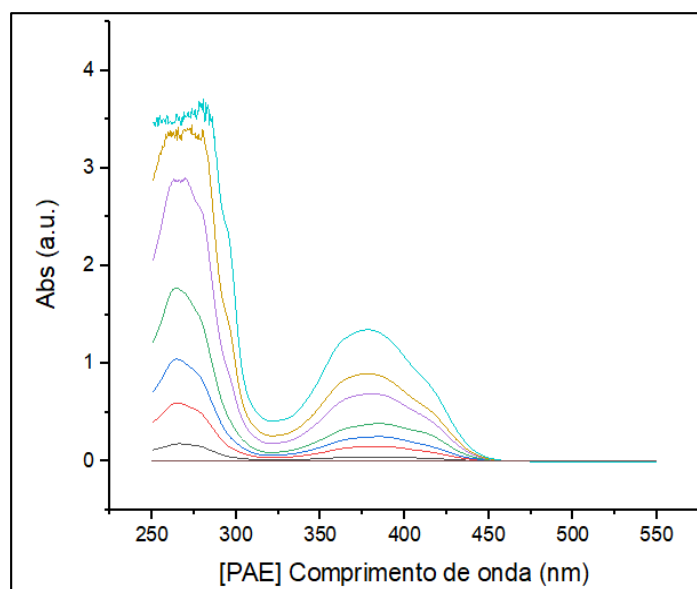
Os resultados obtidos foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP). As estatísticas foram realizadas no Software Origin (versão 8.5) utilizando análise ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Tukey. O software GraphPad Prism v.8.0.2 (GraphPad, San Diego, CA, EUA) foi utilizado para analisar os ensaios biológicos. O teste t não pareado foi adotado para comparação pareada, e ANOVA unidirecional ou Kruskal Wallis com teste post hoc de Dunn foram realizados para comparação multigrupo. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA PAEPALANTINA EM METANOL

A curva de calibração corresponde à relação gráfica entre os valores de absorbância (Abs) e os de concentração. Com base nisso, inicialmente, foram verificadas no espectrofotômetro a absorbância (Abs) das soluções cujas concentrações eram conhecidas. A figura 8 exibe o comportamento espectral da PAE em distintas concentrações. É possível perceber que a paepalantina apresentou bandas bipartidas com picos de absorbância na região de 376 nm para banda I e de 265 nm para a banda II, o que segundo Vilegas et al. (1988) é uma característica de naftopiranonas, demonstrando, assim como descrito na literatura, as espécies de *Paepalanthus* possuem moléculas que apresentam naftopiranonas e flavonoides (Vilegas et al., 1998; Santos, et al., 2001, Zanutto et al., 2012 e Amaral et al., 2012), uma vez que as naftopiranonas apresentam no espectro no UV-Vis bandas bipartidas características em 270-273 nm.

Figura 8 - Espectro de absorbância da paepalantina em metanol



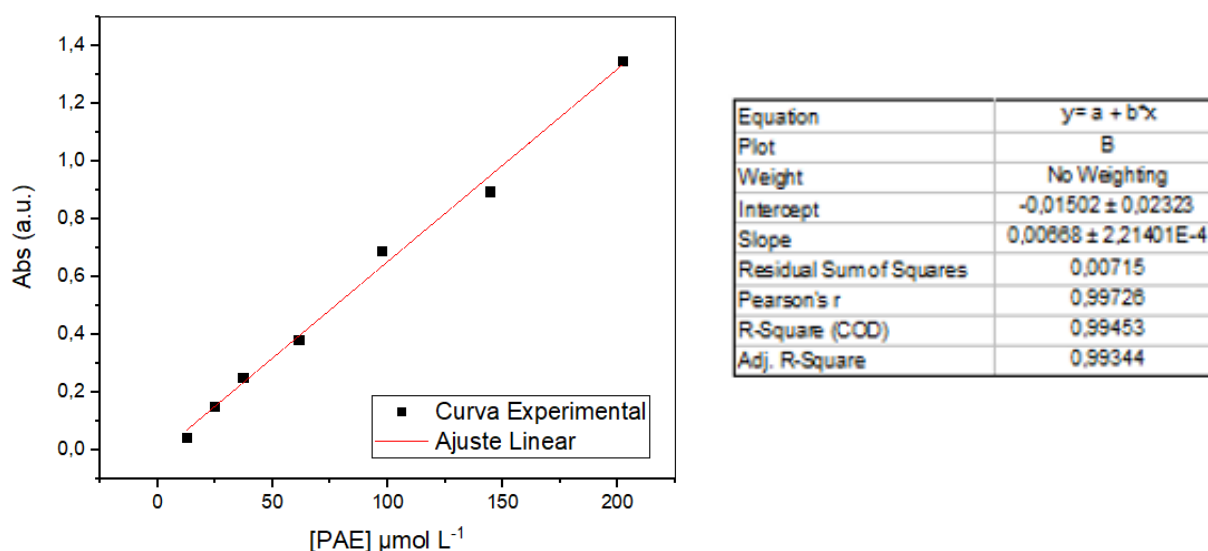
Fonte: Da Autora, 2024.

Através do resultado apresentado na figura 8, foi possível construir a curva de calibração da PAE. A figura 9 representa as intensidades de máxima absorção que foram plotadas em função da respectiva concentração do bioativo. Nesse sentido, a curva de calibração obtida para o padrão do bioativo, foi submetida a um ajuste linear para verificação da linearidade do sistema e a conformidade

com a lei de Beer-Lambert. É notório que a curva construída apresenta um comportamento linear respeitando os limites da lei de Beer-Lambert. O ajuste linear sobre os dados experimentais foi realizado exibindo o coeficiente de correlação $R^2 = 0,99344$. Haja vista que, o R^2 é um dos parâmetros para verificar um bom ajuste dos pontos experimentais, segundo Chui et al (2001), o coeficiente de correlação permite estimar a qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Com base no resultado obtido, comprovou-se estatisticamente que a curva de calibração obtida do bioativo está expressa de forma linear com os pontos obtidos das concentrações das soluções analisadas.

Logo, verificou-se a linearidade da relação entre absorbância e concentração, de modo que a curva obtida obedece à lei de Beer - Lambert, em que soluções absorvem diferentes quantidades de luz em função de sua concentração (Mazag, 2018). De posse da curva de calibração, é possível determinar e calcular o fator de conversão de valores de absorbância em concentração (Vaz et al., 2017; Moura et al., 2007) e assim, a curva de calibração do bioativo PAE em metanol permite estabelecer uma referência que possibilita quantificar tanto o bioativo encapsulado nas LUVs, quanto a fração liberada nas cinéticas de liberação.

Figura 9 - Curva de calibração obtida para o padrão da paepalantina usando metanol como solvente



Fonte: Da Autora, 2024.

5.2 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_p)

Foram obtidas vesículas unilamelares grandes (LUVs) com diâmetro médio variando entre 120 e 198 nm e índice de polidispersividade (PDI) médio de 0,05, conforme determinado por espalhamento de luz dinâmico (DLS), utilizando o equipamento ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, U.K.). O baixo valor de PDI evidencia a formação de um sistema homogêneo, com distribuição de tamanho uniforme, característica essencial para garantir reprodutibilidade e confiabilidade nos estudos de interação com compostos bioativos.

A adequada padronização do tamanho e da homogeneidade das vesículas constitui um fator determinante para a avaliação de parâmetros físico-químicos associados à interação lipídio–bioativo, uma vez que variações estruturais podem influenciar diretamente os processos de incorporação, estabilidade e liberação de compostos encapsulados (Lasic, 1993; Torchilin, 2005). Sistemas lipossomais com baixa polidispersividade apresentam comportamento biofísico mais previsível e maior reprodutibilidade experimental, aspectos fundamentais para estudos de interação molecular em modelos de membrana (New, 1990). Nesse contexto, o coeficiente de partição (K_p) foi empregado para avaliar a afinidade do composto bioativo pela composição lipídica encapsulante PC/PG (50:50). O K_p é amplamente utilizado como parâmetro quantitativo para estimar a distribuição de um composto entre as fases aquosa e lipídica, refletindo sua preferência pelo ambiente hidrofóbico da membrana e, conseqüentemente, seu potencial de encapsulamento e liberação controlada (Santos; Castanho, 2005; Castanho; Santos, 2000).

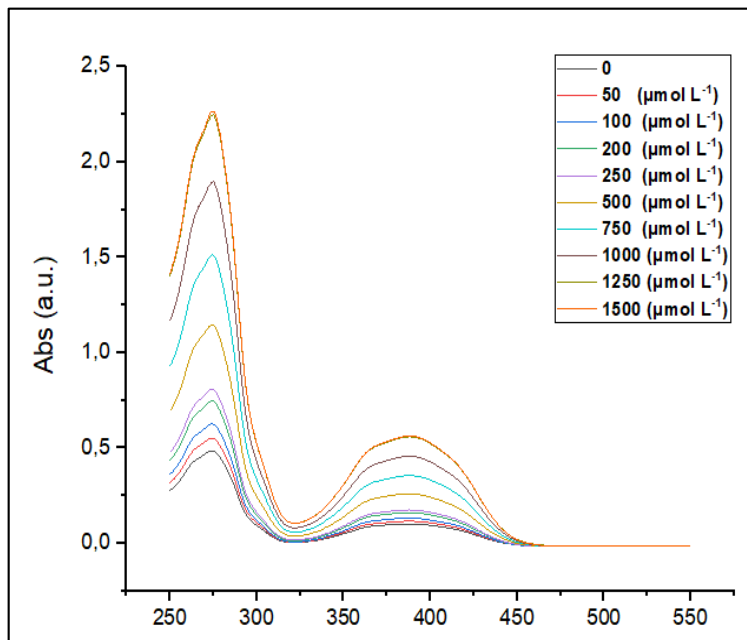
Para a determinação de K_p , foram realizadas titulações espectrofotométricas da PAE na concentração de $16 \mu\text{mol L}^{-1}$ com soluções lipídicas em concentrações crescentes (0 a $1500 \mu\text{mol L}^{-1}$), correspondentes às alíquotas lipídicas de interesse. A abordagem espectrofotométrica é amplamente empregada para investigação de interações entre compostos bioativos e membranas modelo, permitindo a obtenção de parâmetros termodinâmicos a partir de variações nas propriedades ópticas do sistema (Castanho; Santos, 2000). Posteriormente, os dados experimentais foram tratados utilizando o software Origin 9.5® (2018), por meio de ajuste não linear da curva construída a partir das intensidades de absorbância normalizadas em função da concentração lipídica, conforme descrito na Equação 1, possibilitando a obtenção dos valores de K_p em M^{-1} .

Na figura 10a, é possível observar a variação do padrão espectral da paepalantina em função da adição da solução lipídica de LUVs PC/PG (50:50). Esse resultado apresentado consiste em um espectro que indica os comprimentos de ondas absorvidos e a intensidade da absorção em cada comprimento de onda em função da adição de solução lipídica. É possível notar que existe um

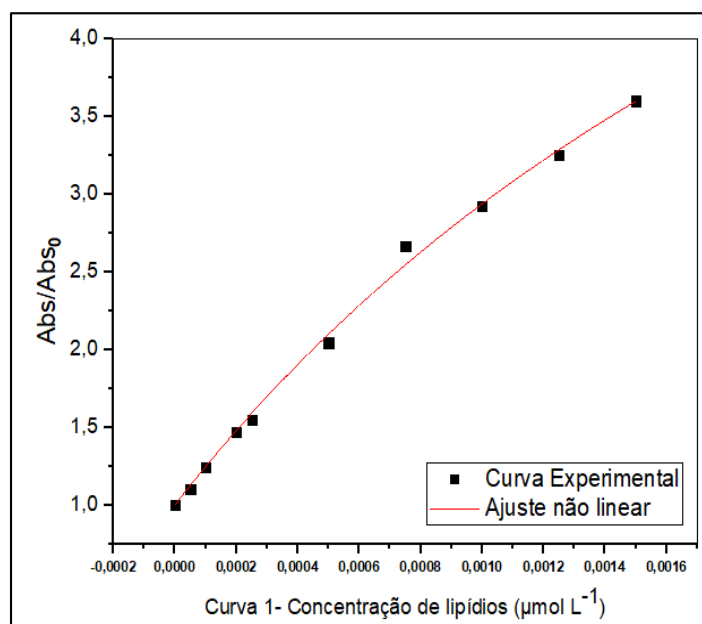
aumento na intensidade de absorbância com o aumento da concentração de lipídio. Esse efeito é um indicativo de que o bioativo está se deslocando de um ambiente polar, como o tampão, para um ambiente apolar, como a bicamada lipídica (Rich et al., 2017; Leite et al., 2014). Os valores de máxima absorção obtidos para cada concentração de lipídio adicionado foram divididos pela absorção da paepalantina em tampão. Estes valores foram plotados em função da concentração lipídica e usados na construção da isoterma de partição exibida na Figura 10b. Adicionalmente, a curva resultante foi submetida ao ajuste não linear, através da eq. 1, para obtenção do K_P , representado pela linha vermelha contínua na Figura 10b. O valor de K_P obtido foi de $(425 \pm 75) \text{ mol L}^{-1}$ e o $R^2 = 0,992$. Não foi possível fazer comparativo em literaturas, visto que este é o primeiro trabalho proposto para investigação de encapsulamento da paepalantina, porém o resultado obtido é similar ao apresentado para o bioativo quercetina com a mesma composição lipídica (Rich et al., 2017; Leite et al., 2022). Este resultado sugere que a afinidade da paepalantina pela composição lipídica é equilibrada, sendo suficiente para viabilizar o encapsulamento sem comprometer sua liberação.

Figura 10 - Títulações espectrofotométricas da paepalantina ($16 \mu\text{mol L}^{-1}$) concentrações crescentes de lipídios ($0 - 1500 \mu\text{mol L}^{-1}$)

a)



b)



Fonte: Da Autora, 2024.

Nota: **a)** Mudanças espectrais da paepalantina representativas em função da adição de solução lipídica para PC/PG (50:50). **b)** Determinação dos valores de K_P na presença de PC/PG (50:50) LUVs em pH 7,4. A linha contínua foi obtida usando o ajuste não linear mostrado na equação 1 para as duas curvas de absorvância. Os experimentos foram realizados em temperatura ambiente.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES LIPÍDICAS POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO (DLS) E MEDIDAS DE POTENCIAL ZETA

A técnica de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), foi utilizada neste trabalho para obter o tamanho médio das LUVs na presença e na ausência de paepalantina. Uma das características mais importantes a serem levadas em consideração na formulação de sistemas nano e microparticulados, pois este parâmetro influencia em fatores tais como a capacidade de carregamento, biodistribuição, toxicidade, meia-vida sistêmica, perfil de liberação, estabilidade, internalização celular, perfil de liberação e capacidade de agir em um alvo específico (De Lima e Mortari, 2022). Vale ressaltar que o DLS não fornece informações sobre o formato da nanopartícula, no entanto é característico das lipossomas a geometria esférica que permite a obtenção precisa de seu raio hidrodinâmico por meio desta técnica. Além disso, destaca-se que os lipossomas não absorvem no mesmo comprimento de onda do laser usado no equipamento, outro fator que favorece a determinação de seu tamanho pela técnica escolhida (Manaia et al., 2017). A tabela 1 apresenta o diâmetro médio das composições de lipídios contendo paepalantina encapsulada.

Tabela 1 - Diâmetro médio das composições de lipídios com ou sem paepalantina encapsulada

Composição Lipídica	Diâmetro Médio (nm)
POPC (50:50) + PAE	D= 188,5 ± 13,4
POPC (50:50)	D= 122,2 ± 5,2

Fonte: Da Autora, 2024.

As nanopartículas carregadas com paepalantina tiveram seu diâmetro médio medido pelo método DLS de, onde foi possível obter que o tamanho médio é de $188,5 \pm 13,4$ nm. Enquanto os lipossomas brancos apresentam um diâmetro médio de $122,2 \pm 5,2$ nm. Através destes resultados foi possível observar que a paepalantina contribui significativamente para o aumento do diâmetro médio das estruturas, esse efeito também foi observado no encapsulamento de outros bioativos em sistemas lipídicos (Custódio et al., 2022, Mendes et al., 2024) Justifica-se em função do aumento de massa e volume ocupado pelas moléculas dos bioativos no interior e superfície das lipossomas.

Além do tamanho médio foi possível acessar o potencial Zeta destes sistemas. Segundo Puglia e colaboradores (2014), o potencial Zeta é um parâmetro importante, pois permite a observação da estabilidade das partículas dispersas. Segundo os autores, valores elevados de potencial Zeta (positivos ou negativos), permitem a estabilização dos sistemas nanoparticulados, sendo que fenômenos de instabilidade, como, por exemplo, agregação são improváveis de acontecer em sistemas com partículas de potencial Zeta (> -30 mV), em consequência da repulsão eletrostática entre partículas com mesma carga elétrica. Na tabela 2 são apresentados os valores médios do potencial Zeta obtidos a partir das formulações analisadas.

Tabela 2 - Potencial Zeta médio das diferentes composições de lipídios contendo paepalantina encapsulada

Composição Lipídica	Potencial Zeta (mV)
POPC (50:50) + PAE	Z= -95,0 ± 1,4
POPC (50:50)	Z= -68,3 ± 1,8 mV

Fonte: Da Autora, 2024.

O potencial zeta encontrado apresentou resultado médio de $-68,3 \pm 1,8$ mV para as lipossomas brancas e $-95,0 \pm 1,4$ mV para as lipossomas com paepalantina. O potencial negativo está relacionado com o caráter aniônico da molécula de PG e proporciona maior estabilidade ao sistema como nanocarreador. Nota-se que a inclusão da paepalantina contribuiu para o aumento deste potencial. Isso pode ser atribuído pela presença da paepalantina na superfície das lipossomas, como observado anteriormente para quercetina e outros polifenóis (Custódio et al., 2022, Mendes et al., 2024). Esta estabilidade se dá pela repulsão eletrostática entre as LUVs dispersas em solução, reduzindo a tendência de agregação e fusão entre essas estruturas (Pivetta et al., 2019; Sciolla et al., 2021; Mano et al., 2018; Váňová et al., 2017; Paquet-Côté et al., 2019; Batista et al., 2007; De Lima e Mortari, 2022). Isso sugere que os sistemas nanoparticulados preparados usando o método deste trabalho têm potencial de alta estabilidade.

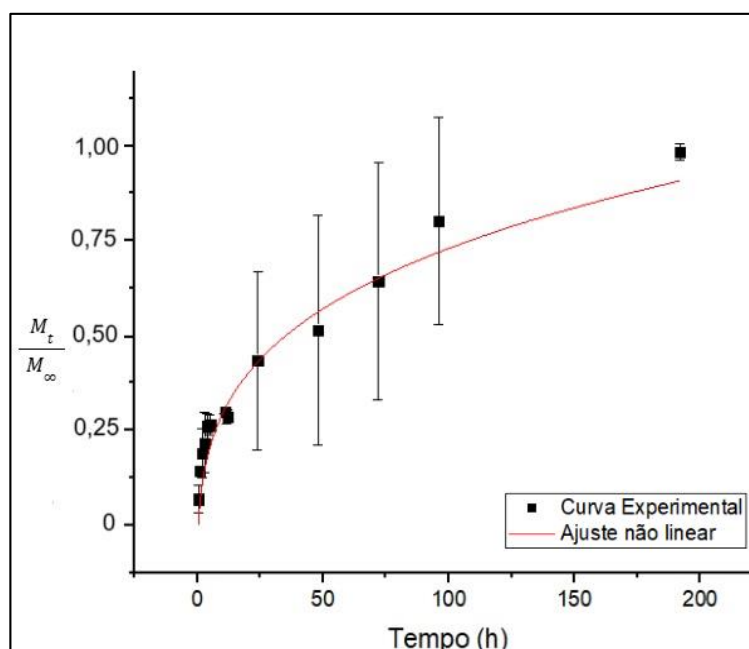
5.4 DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO DA PAEPALANTINA EM MLVS

A eficiência de aprisionamento de um bioativo depende muito da sua solubilidade no material da matriz ou polímero (dissolução ou dispersão sólida). Isso está relacionado à composição do polímero, peso molecular, interação fármaco-polímero e presença de grupos funcionais finais (éster ou carboxila) (Fresta et al., 1995; Govender et al., 2000; Panyam et al., 2004). Desta forma, a eficiência de encapsulamento da paepalantina em função da composição das LUVs também foi avaliada. Os espectros de absorbância da amostra foram registrados utilizando espectroscopia UV-Vis e a concentração do bioativo foi acessada com o auxílio da respectiva curva de calibração. Após isso, o %EE foi calculado por meio da equação 2, resultando em uma eficiência média de encapsulamento de $74 \pm 6\%$.

5.5 ENSAIO DE PERFIL DE LIBERAÇÃO CONTROLADA *IN VITRO*

Ensaio de liberação controlada da paepalantina encapsulada nas LUVs foram realizados para avaliar a cinética de liberação do bioativo. O perfil de liberação controlada da paepalantina foi avaliado *in vitro* em função do tempo e os resultados até 192^o hora e é exibido na figura 11.

Figura 11 - Ensaios de liberação controlada para a paepalantina com ajuste referente ao modelo de Korsmeyer Peppas



Fonte: Da Autora, 2024.

Nota: Os pontos representam a média de uma duplicata e a linha contínua são obtidas pelo ajuste não linear, considerando a equação de Korsmeyer Peppas.

Para as análises de liberação controlada, as lipossomas PC/PG (50:50) contendo paepalantina apresentaram uma maior taxa de liberação nas primeiras horas iniciais. No entanto, a taxa de liberação se manteve estável após a 4ª hora até a 12ª hora de análise, sem grandes aumentos na taxa de liberação. Porém, entre a 24ª hora até a 192ª hora, as formulações exibiram uma liberação significativa, apresentando um aumento da liberação no meio até sua estabilização após 192ª hora. Dash et al (2010), destaca que, essa combinação de uma liberação inicial rápida, seguida por uma fase controlada e posteriormente sustentada, configura um perfil de liberação ideal para diversas aplicações farmacológicas, ao associar a obtenção de eficácia terapêutica imediata com a manutenção prolongada do efeito. Tal perfil pode contribuir para reduzir a frequência de administração, melhorar a adesão ao tratamento e otimizar a resposta clínica.

Por outro lado, é importante ressaltar que a liberação de substâncias é resultado de diversos fatores, incluindo a penetração do meio utilizado (tampão) para a matriz da partícula, a difusão do composto ativo através da matriz, a degradação do polímero, a espessura da parede da partícula, a afinidade dos compostos ativos com o polímero, difusão do composto ativo através da matriz do polímero e a absorção e degradação do polímero (Washington. 1996; Zigoneanu et al., 2008). Zigoneanu (2008), ressalta que, o efeito cumulativo desses fatores resulta no perfil de liberação do

composto, caracterizado por uma grande liberação inicial seguida de um patamar constante de liberação. Esse comportamento pode estar relacionado com o fato do composto ativo estar perto ou ligado à superfície das nanopartículas (Zigoneanu et al., 2008) e é coerente com o que foi observado no resultado obtido para a paepalantina em PC/PG (50:50).

O modelo matemático de Korsmeyer-Peppas foi usado para entender os mecanismos de liberação controlada e está representado pela linha vermelha contínua na figura 11. A execução do ajuste não linear, considerando a equação 3 resultou em um R^2 de 0,99, a constante K_{KP} 40 h^{-1} , um expoente n de 0,24. Esses números indicam que o modelo de Korsmeyer Peppas é adequado para descrever o mecanismo de liberação da paepalantina pelos lipossomas PC/PG (50:50). Além disso, revelam que o mecanismo pelo qual a paepalantina é liberada envolve um comportamento de difusão Fickiano, dependente apenas da diferença de concentração da paepalantina no interior e no exterior das lipossomas ($n < 0,43$).

6 CONCLUSÕES

As caracterizações realizadas ao longo deste estudo evidenciam que a paepalantina apresenta um comportamento consistente em sistemas lipídicos, especialmente quanto à sua distribuição entre ambientes hidrofílicos e hidrofóbicos. A variação observada no comprimento de onda máximo após a incorporação lipídica indica que o composto migra preferencialmente para regiões menos polares, comportamento que reforça sua afinidade por matrizes lipídicas.

As formulações de lipossomas multilamelares (MLVs) contendo paepalantina apresentaram parâmetros físico-químicos estáveis, conforme indicado pelas análises de espalhamento de luz dinâmico e pelas medidas de potencial Zeta. Esses resultados sugerem que a estrutura do lipossoma obtida é adequada para manter a integridade do composto, permitindo sua distribuição homogênea no sistema. As eficiências de encapsulação e os perfis de liberação, determinados por espectrofotometria, demonstraram que o método empregado foi capaz de incorporar o bioativo de maneira satisfatória e promover sua liberação gradual, dentro do esperado para sistemas dessa natureza.

Os dados obtidos nesta etapa inicial apontam para a necessidade de aprofundar a investigação sobre o comportamento da paepalantina encapsulada em lipossomas unilamelares de grande tamanho (LUVs). Etapas futuras incluirão análises *in vitro*, com uso de técnicas de cultura celular, a fim de observar possíveis interações do composto encapsulado com diferentes modelos celulares. Essas análises permitirão compreender, de forma mais abrangente, como o bioativo se comporta em condições experimentais que simulam o ambiente biológico.

Considerando a escassez de estudos voltados ao encapsulamento da paepalantina, especialmente nas concentrações aqui exploradas, este trabalho contribui significativamente para a literatura ao demonstrar a viabilidade da nanoencapsulação e ao apresentar um conjunto de parâmetros que podem orientar pesquisas subsequentes. Os sistemas desenvolvidos mostraram-se estáveis e constituem uma base metodológica sólida para estudos futuros, tanto no que diz respeito à otimização do processo de encapsulamento quanto à ampliação das análises físico-químicas e experimentais que envolvem esse composto.

AGÊNCIA DE FOMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

AMARAL, F. P.; et al. HPLC-ESIMSⁿ profiling, isolation, structural elucidation, and evaluation of the antioxidant potential of phenolics from *Paepalanthus geniculatus*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 547-556, 2012. Doi: 10.1021/np200604k.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B. D.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 167-179, 2007. Doi.org/10.1590/S1516-93322007000200003.

BÍBLIA. Português. **Bíblia Sagrada: Almeida Revista e Atualizada**. Barueri, SP: Sociedade Bíblica do Brasil, 2011.

BIESALSKI, H. K. et al. Bioactive compounds: definition and assessment of activity, **Nutrition**, v. 25, n. 11 - 12, p. 1202– 1205, 2009. Doi: 10.1016/j.nut.2009.04.023.

BOTHAM, K. M., MAYES, P. A. Lipídeos de Importância Fisiológica. In: MURRAY, R. K. et al. **Harper Bioquímica Ilustrada**. 29 ed. MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A., p. 140 -151, 2012. ISBN: 978-0-07-176576-3.

BHARATE, S. S.; VISHWAKARMA, R. A. Impact of preformulation on drug development. **Expert opinion on drug delivery**. v. 10, set, 2013. Doi: 10.1517/17425247.2013.783563. Doi: 10.1517/17425247.2013.783563.

BRASHOLZ, M.; SÖRGEL, S.; AZAP, C.; REIßIG, H.-U.; Rubromycins: structurally intriguing, biologically valuable, synthetically challenging antitumour antibiotics. **European Journal of Organic Chemistry**. n. 23, p. 3801 – 3814, 2007. Doi: 3801-3814, 10.1002/ejoc.200601054.

CASTANHO, Manuel A. R. B.; SANTOS, Nuno C. Spectroscopic methods to study the interaction of drugs with lipid membranes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes**, Amsterdam, v. 1508, n. 1–2, p. 1–17, 2000.

CHEN, W., ZOU, M., MA, X., LV, R., DING, T., LIU, D. Co-Encapsulation of EGCG and Quercetin in Liposomes for Optimum Antioxidant Activity. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 1, p.111–120. 2019. Doi.org/10.1111/1750-3841.14405.

COELHO, R. G., VILEGAS, W.; DEVIENNE, K. F.; RADDI, M. S. G. A new cytotoxic naphthopyrone dimer from *Paepalanthus bromelioides*. **Fitoterapia**; n. 71, p. 497-500, 2000. Doi: 10.1016/s0367-326x(00)00159-3.

COLINA, R. A. Isocumarinas naturais. **Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe**, n. 49, p. 1-78, 1986.

CUSTÓDIO, L. **Estudo do encapsulamento e da liberação de quercetina em sistemas lipídicos: efeitos de carga e rigidez**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 77 f. 2022.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. **Química Nova**, v. 24, p. 374. 2001.

DAMASCENO, J, P, L. **Estudo de solubilidade e das atividades antioxidante e anti-*Helicobacter pylori* da isocumarina paepalantina obtida de *Paepalanthus latipes*** Silv. 2016. 83 f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitória, ES, 2016.

DASH, S., MURTHY, P. N., NATH, L., CHOWDHURY, P. **Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems**. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(3), 217-223. 2010.

DE LIMA, L. S.; MORTARI, M. R. Therapeutic nanoparticles in the brain: A review of types, physicochemical properties and challenges. **International journal of pharmaceutics**, v. 612, p. 121367. 2022. Doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121367

DEVIIENNE, K. F; RADDI, M. S. G.; Screening for antimicrobial activity of natural products using a microplate photometer. *Basic Microbiology*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v 33, n. 2. jun. 2002. Doi.org/10.1590/S1517-83822002000200014.

DEVIIENNE. K. F.; RADDI. M.; VARANDA. E.; VILEGAS.; W. **In Vitro Cytotoxicity of Some Natural and Semi-Synthetic Isocoumarins from *Paepalanthus bromelioides***. *Zeitschrift für Naturforschung*. v. 57, n.1-2, p. 85-88. 2002. Doi.org/10.1515/znc-2002-1-215.

DEVIIENNE. K.; FERRAZZOLI, et al. Structure–antimicrobial activity of some natural isocoumarins and their analogues. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 378-381. 2005. Doi: 10.1016/j.phymed.2003.09.010.

DEVIIENNE, KARINA F., et al. Antioxidant activity of isocoumarins isolated from *Paepalanthus bromelioides* on mitochondria. **Phytochemistry** v. 68, n. 7, p. 1075-1080, 2007. Doi: 10.1016/j.phytochem.2007.01.014.

DI STASI, LUIZ. C.; et al. Intestinal anti-inflammatory activity of paepalantine, an isocoumarin isolated from the capitula of *Paepalanthus bromelioides*, in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **Planta Médica**, v. 70, n. 04, p. 315-320, 2004. Doi: 10.1055/s-2004-818942.

DORTA, D J.; et al. A interação de flavonóides com mitocôndrias: efeitos em processos energéticos. **Interações Químico-Biológicas**, v. 152, n. 2-3, p. 67-78, 2005. Doi: 10.1016/j.cbi.2005.02.004.

EDWARDS, K. A.; BAEUMNER, A. J. **Liposomes in analyses**. *Talanta*, London, v. 68, n. 5, p. 1432-1441, 2006. Doi: 10.1016/j.talanta.2005.08.044.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N. C, ANANDHARAMAKRISHNAN. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: **A Review, Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 628–647, 2013. Doi: 10.1007/s11947-012-0944-0 [21].

FELNEROVA, D.; VIRET, J. F.; GLUCK, R.; MOSER, C. Lipossomas e virossomas como sistemas de entrega de antígenos, ácidos nucleicos e drogas. **Opin Biotechnol Atual**, v. 15 p. 518–529. 2004. Doi: 10.1016/j.copbio.2004.10.005.

FRÉZARD, F.; BRAZ. Liposomes: from biophysics to the design of peptide vaccines Journal. Med. Biol. Res. v. 32, n. 2. 1999. Doi.org/10.1590/S0100-879X1999000200006.

FURUTA, T.; FUKUYAMA, Y.; ASAKAWA, Y.; Polygonolide, an isocoumarin from polygonum hydropiper possessing anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, v. 25, ed. 2, p. 517-520, 1986.

FUKUI, Y. FUJIMOTO, K. The Preparation of Sugar Polymer-Coated Nanocapsules by the Layer-by-Layer Deposition on the Liposome. **Langmuir**, v. 25, n. 7, July 2009. Doi: 10.1021/la9008834.

FRESTA, M. et al. Nanopartículas de polietilcianoacrilato carregadas com mesilato de pefloxacina e ofloxacina: caracterização da formulação coloidal de carreador de fármacos. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 84, n. 7, p. 895-902, 1995. Doi: 10.1002/jps.2600840721.

GIBBS, S. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 50, n. 3, p. 213-224. 1999. Doi: 10.1080/096374899101256.

GOLDMAN, M. E. et al. Inhibition of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase activity by rubromycins: competitive interaction at the template. Primer site. **Molecular pharmacology**, v. 38, n. 1, p. 20-25, 1990.

GONZÁLEZ-ORTEGA, R.; et al. Liposomal Encapsulation of Oleuropein and an Olive Leaf Extract: Molecular Interactions, Antioxidant Effects and Applications in Model Food Systems. **Food Biophysics**, v. 16, p. 84–97, 2021. Doi.org/10.1007/s11483-020-09650-y.

GOVENDER, Thirumala et al. Definindo as propriedades de incorporação de fármacos de nanopartículas de PLA–PEG. **International journal of pharmaceutics** , v. 199, n. 1, p. 95-110, 2000. Doi: 10.1016/S0378-5173(00)00375-6.

GOHIL, A. R.; DESHMUKH, V.; BHATTACHARYA, R.; LAVHALE, S.; VEREKAR, A.; KATE.; Exophiarin, an isocoumarin from the fungus exophiala sp. with antihyperglycemic activity. **Nat. Prod. Res.**, v. 35, n. 10, p. 1573-1581 2021. Doi: 10.1080/14786419.2019.1624957.

GIULIETTI, A. M., MENEZES, N. L., PIRANI, J. R., MEGURO, M. & WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização geral e lista de espécies. **Boletim Botânico**, v. 9, p. 1-151, 1987. Doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v9i0p1-151.

HILL, R. A. et al. Naturally occurring isocoumarins. **Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, p. 1-78, 1986.

HU, K.; HUANG, X.; GAO, Y.; HUANG, X.; XIAO, H.; & MCCLEMENTS, D. J. Core-Shell Biopolymer Nanoparticle Delivery Systems: Synthesis and Characterization of Curcumin Fortified Zein-Pectin Nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 182, p. 275–281, 2015. Doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.009.

ISLAM, S.; MOHAMMAD, F. Natural Colorants in the Presence of Anchors So-Called Mordants as Promising Coloring and Antimicrobial Agents for Textile Materials. **ACS Sustainable Chemistry Engineering**, v. 3, p. 2361-2375, 2015. Doi: 10.1021/acssuschemeng.5b00537.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; BHANDARI, B.; HE, Y. **Nanoparticle encapsulation of fish oil by spray drying**. Food Research International, v. 41, p. 172-183, 2008. Doi: 10.1016/j.foodres.2007.11.002.

JOHNS, H. E.; CUNNINGHAM, J. R. **The Physics of Radiology**. Fourth. [S.l.]: Charles C. Thomas, 1983.

KITAGAWA, R. R.; et al. **Effect of the isocoumarin paepalantine on the luminol and lucigenin amplified chemiluminescence of rat neutrophils**. Biological and Pharmaceutical Bulletin, v. 26, n. 6, p. 905-908. 2003. Doi: 10.1248/bpb.26.905.

KUMAR, J. S.; et al. Rosuvastatin based novel 3-substituted isocoumarins/3-alkylidenephthalides: Ultrasound assisted synthesis and identification of new anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 201, p. 112335, 2020. Doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112335.

LANE, N. HEATH, J. B. **Manual de Nanotecnologia**. Springer. Bhushan (Ed.). Alemanha. 2004.

LASIC, Danilo D. **Liposomes: from physics to applications**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1993.

LEITE, N. B.; DOS SANTOS ALVARES, D.; DE SOUZA, B. M.; PALMA, M. S.; NETO, J. R. Effect of the aspartic acid D2 on the affinity of Polybia-MP1 to anionic lipid vesicles. **European Biophysics Journal**, Berlin, v. 43, p. 121-130, 2014. Doi: 10.1007/s00249-014-0945-1.

LEITE, N. B.; MARTINS, D. B.; ALVARES, D. S.; CABRERA, M. P. S. Quercetin induces lipid domain – dependent permeability. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.242, 2022. Doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2021.105160.

LEITÃO, G. G.; et al. Quick Preparative Separation of Natural Naphthopyranones with Antioxidant Activity by High-Speed Counter-Current Chromatography. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 57, n. 11-12, p. 1051-1055. 2002. Doi.org/10.1515/znc-2002-11-1217.

LUCHINI, A.; VITIELLO, G. Mimicking the Mammalian Plasma Membrane: An Overview of Lipid Membrane Models for Biophysical Studies. **Biomimetics**, v. 6, n. 1, p. 3, 2020. Doi: 10.3390/biomimetics6010003.

MANAIA, E. B.; et al. Physicochemical characterization of drug nanocarriers. **International journal of nanomedicine**, v. 12 p. 4991-5011. 13 jul. 2017, Doi:10.2147/IJN.S133832.

MANO, C. M. et al. Astaxanthin restrains nitrate-oxidative peroxidation in mitochondrial-mimetic liposomes: a pre-apoptosis model. **Marine Drugs**, v. 16, n. 4, p. 126, 2018. Doi: 10.3390/md16040126.

MATSUDA, H.; SHIMODA, M.; YOSHIKAWA, M.; Structure-requirements of isocoumarins, phthalides, and stilbenes from *hydrangeae dulcis folium* for inhibitory activity on histamine release from rat peritoneal mast cells. **Bioorg. Med. Química**. v. 7, ed. 7, p. 1445 - 1450 , 1999. Doi: 10.1016/S0968-0896(99)00058-9.

MAZAG. Curva de calibração. 2018. Disponível em: <https://www.manutencaoesuprimentos.com.br/curva-de-calibracao/#gsc.tab=0>. Acesso em: 27 mar. 2023.

MAURYA, V. K., BASHIR, K., AGGARWAL, M. Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 196, 2020. 105489. Doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105489.

MEHNERT, W.; MADER, K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 47, n. 2-3, p.165-196, 2001.

MENDES, L. A.; et al. Antitumor potential of lipid nanoformulations with natural antioxidants. **Nano Trends**, v. 7, 100040, 2024. Doi.org/10.1016/j.nwnano.2024.100040

MOON, J. L.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J Agric Food Chem*, v. 57, n.5, p 1655 – 1666, 2009.

MOURA, C. L. A.; PINTO, G. A. S.; RODRIGUES, S. Determinação da atividade de invertase em extratos enzimáticos. **Embrapa Agroindústria Tropical**, v. 18 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 108). Fortaleza. 2007.

NEW, R. R. C. (Ed.). **Liposomes: A practical approach**, IRL/Oxford University Press, Oxford. p.432. 1990.

NEVES, T. M.; et al. Use of liposome technology in the encapsulation of bioactive compounds – Review. **The Journal of Engineering and Exact Sciences – JCEC**, v. 7, n. 4, 2021. Doi.org/10.18540/jcecvl7iss4pp13295-01-20e.

OLIVEIRA, S. S.; GIGLIO, A. B. D.; LERNER, T. G.; et al. Paullinia cupana para o controle de fogachos em pacientes com câncer de mama: um estudo piloto. **Einstein**, v. 11, n. 4, p. 435-438. 2013. Doi.org/10.1590/S1679-45082013000400005.

PAQUET-CÔTÉ, P. A.; et al. Modulação da atividade de peptídeos ativos na membrana por meio da complexação de Zn (II). **Tetrahedron Letters** , v. 58, n. 50, p. 4672 - 4676, 2017.

PATRIDGE, E.; GAREISS, P.; KINCH, M.S.; HOYER, D. An analysis of FDA approved drugs: natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, p. 204-7, 2015. Doi: 10.1016/j.drudis.2015.01.009.

PANYAM, Jayanth et al. Solid-state solubility influences encapsulation and release of hydrophobic drugs from PLGA/PLA nanoparticles. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 93, n. 7, p. 1804-1814, 2004. Doi: 10.1002/jps.20094.

PETTINATO, M., TRUCILLO, P., CAMPARDELLI, R., PEREGO, P.; REVERCHON, E. Bioactives extraction from spent coffee grounds and liposome encapsulation by a combination of green technologies. **Chemical Engineering and Processing- Process Intensification**, v. 151, 107911. 2020. Doi.org/10.1016/J.CEP.2020.107911.

PERKAMPUS, H. H.; **UV-VIS Spectroscopy and its Applications**, Springer-Verlag: Berlin, 1992.

PIVETTA, Thais P. et al. Formulação tópica de quercetina encapsulada em nanocarreadores lipídicos naturais: Avaliação das propriedades biológicas e efeito fototóxico. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 53, p. 101148, 2019.

PUISIEUX, F. COUVREUR, P., DELATTRE, J., DEVISAGUET, J.P. (Eds.). **Liposomes, new systems and new trends in their applications** Paris: Éditions de Santé, p. 266. 1995.

PUGLIA, C.; DAMIANI, E.; OFFERTA, A.; RIZZA, L., TIRENDI, G. G.; TARICO, M. S.; CURRERI, S.; BONINA, F.; PERROTTA, R. E. Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV-filters: characterization, in vitro penetration and photostability studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 211-217, 2014. Doi: 10.1016/j.ejps.2013.09.023.

QUEIROZ, E. R. **Frações de lichia: Caracterização química e avaliação de compostos bioativos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras - UFLA, p. 122, 2012.

QUEIRÓS-SAUCEDA, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; OLIVAS, G. I.; GONZÁLEZ-AGUILAR G. A. Edible Coatings As Encapsulating Matrices For Bioactive Compounds: A Review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 1674–1685, 2014. Doi: 10.1007/s13197-013-1246-x.

RAMOS, M. A. S.; **Syngonanthus nitens (Bong.) Ruhland: Caracterização biológica e prospecção terapêutica do extrato metanólico incorporado ou não em sistema nanoestruturado para aplicação no tratamento da candidíase vulvovaginal**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Araraquara. 2015.

REZAEI, A., FATHI, M. JAFARI, S. M. Nanoencapsulação de compostos bioativos alimentares hidrofóbicos e pouco solúveis em diferentes nanocarreadores. **Food Hydrocolloids**, v.88, p. 146-162. 2019.

RICH, G. T.; BUCHWEITZ, M.; WINTERBONE, M. S.; KROON, P. A. Wilde PJ Towards an understanding of the low bioavailability of quercetin: A study of its interaction with intestinal lipids. **Nutrients**, v. 9, n2. P. 111, 2017. Doi: oi.org/10.3390/nu9020111

SARKAR, A.; CARVALHO, E.; D' SOUZA, A. A.; ANERJEE, R. (2019). **Liposome-encapsulated fish oil protein-tagged gold nanoparticles for intra-articular therapy in osteoarthritis.** *Nanomedicine (London, England)*, v. 14, n. 7, p. 871–887, 2019. Doi.org/10.2217/nnm-2018-0221.

SALLOUM, R. M.; et al. NM-3, uma isocumarina, aumenta os efeitos antitumorais da radioterapia sem toxicidade. **Cancer research**, v. 60, n. 24, p. 6958-6963, 2000.

SANO, P. T. Phenology of *Paepalanthus hilairei* Koern., *P. polyanthus* (Bong.) Kunth and *P. robustus* Silveira: *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* Koern. – *Eriocaulaceae*. **Acta Bot. Bras**, v. 10, n. 2, dez 1996. Doi.org/10.1590/S0102-33061996000200006

SANTOS, A. C.; et al. Effect of naturally occurring flavonoids on lipid peroxidation and membrane permeability transition in mitochondria. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 24, n. 9, p. 1455-1461, 1998.

SANTOS, L. C.; PIACENTE, S.; DE RICCARDIS, F.; ELETTO, A. M.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Xanthonés and flavonoids from *Leiothrix curvifolia* and *Leiothrix flavescens*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 853-856, 2001. Doi: 10.1016/s0031-9422(00)00480-5.

SANTOS, N. C.; CASTANHO, MANUEL A. R. B. Liposome–drug interactions: importance of partition coefficients and membrane binding. **Biophysical Chemistry**, Amsterdam, v. 114, n. 2–3, p. 179–188, 2005.

SANTOS, P. P., PAESE, K., GUTERRES, S. S., POHLMANN, A. R., COSTA, T. H., JABLONSKI, A., FLORES, H. S.; RIOS, A. D. O. Development of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and stability study. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 17, n. 2, 2015. Doi: 10.1007/s11051-015-2917-5

SCIOLLA, F.; et al. Influence of drug/lipid interaction on the entrapment efficiency of isoniazid in liposomes for antitubercular therapy: A multi-faced investigation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 208, p. 112054, 2021. Doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.112054.

SIEGRIST, M.; COUSIN, M-E.; KASTENHOLZ, H.; WIEK, A. **Public acceptance of nanotechnology foods and food packaging: The influence of affect and trust.** *Appetite*, v. 49, n. 2, p. 459-466, 2007. Doi: 10.1016/j.appet.2007.03.002.

SILVA, Raphael TC et al. Development of gold (III) thiosemicarbazone complex–loaded PLGA nanoparticles: characterization and sustained release studies. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 22, p. 1-13, 2020. Doi: 10.1007/s11051-020-05064-6.

SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, ed. 6 Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/UFRGS/UFSC. 1999.

SOPPIMATH, K. S.; et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society**, v. 70, p. 1-2. 29, jan. 2001. Doi:10.1016/s0168-3659(00)00339-4

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993. Doi: 10.1080/10408399309527645.

SHAKERI, F.; SHAKERI, S.; HOJJATOLESLAMI, M. Preparation and Characterization of Carvacrol Loaded Polyhydroxybutyrate Nanoparticles by Nanoprecipitation and Dialysis Methods. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 697-715, 2014. Doi: 10.1111/1750-3841.12406.

SHARMA R, SINGH RB. Bioactive foods and nutraceutical supplementation criteria in cardiovascular protection. **The Open Nutraceuticals Journal**, v. 3, p. 141–153, 2010. Doi: 10.2174/18763960010030300141.

TAVARES, D. C; et al. Avaliação do potencial genotóxico da isocumarina paepalantina em sistemas de mamíferos in vivo e in vitro. **Revista de etnofarmacologia**. v. 68, n. 1-3, p. 115-120, 1999. Doi.org/10.1590/S1516-05722012000400010.

TERAMURA, Yuji, and Hiroo Iwata. “Islet encapsulation with living cells for improvement of biocompatibility.” **Biomaterials** v. 30, n. 12, p. 2270-5, 2009. Doi:10.1016/j.biomaterials.2009.01.036

TORCHILIN, V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 4, n. 2, p. 145–160, 2005.

VÁŇOVÁ, J.; et al. Determination of distribution constants of antioxidants by electrokinetic chromatography. **Cogent Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 1385173, 2017. Doi: 10.1080/23312009.2017.1385173.

VARANDA, E. A.; et al. **Atividade mutagênica e citotóxica de uma isocumarina (paepalantina) isolada de Paepalanthus vellozioides**. Teratogênese, carcinogênese e mutagênese. v. 17, n. 2, p. 85-95, 1997. Doi.org/10.1002/(SICI)1520-6866(1997)17:2<85::AID-TCM4>3.0.CO;2-A.

VARANDA, E. A.; et al. Mutagenicity of paepalantine dimer and glycoside derivatives from *Paepalanthus bromelioides*. **Toxicology in Vitro**, v. 18, n. 1, p. 109 -114, 2004.

VAZ, L. S. et al. Construção de curva de calibração para determinação de atividade enzimática. In: 8º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP (8º CONICT), 8. 2017, IFSP, Cubatão – SP, Brasil, 2017.

VILEGAS, W.; SANTOS, L. C.; ALECIO, A. C.; PIZZA, C.; PIACENTE, S.; PAUW, E.; SANO, P. T. Naphthopyranone glycosides from *Paepalanthus bromelioides*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 207-210, 1998.

VILEGAS W., ROQUE N. F., SALANTINO A., Giesbrecht A. M., Davino S., **Phytochemistry**, v. 29, p. 2299 – 2301, 1990.

WASHINGTON, C. **Drug release from microparticulate systems**. In S. (Ed.), *Microencapsulation: Methods and industrial application* n, p. 155–181. NewYork: Marcel Dekker, 1996.

WANG, Q., MA, D., HIGGINS, J.P., 2006. **Analytical method selection for drug product dissolution testing**. *Dissolut. Technol*, v. 13, n. 6, p. 13. 2006. Doi: 10.14227/DT130306P6.

YANG, F. L.; LI, X. G.; Zhu, F.; LEI, C. L. Structural Characterization of Nanoparticles Loaded with Garlic Essential Oil and Their Insecticidal Activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 21 2009. Doi:10.1021/jf9023118.

YI, J., LAM, T. I., YOKOYAMA, W., CHENG, L. W., & ZHONG, F. (2014). Cellular uptake of β carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization-evaporation method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 5, p. 1096–1104, 2014. Doi: 10.1021/jf404073c.

YOSHIKAWA, Masayuki et al. Desenvolvimento de funções bioativas em *Hydrangeae Dulcis* Folium. III. Sobre os princípios antialérgicos e antimicrobianos de *Hydrangeae Dulcis* Folium.(1). Thunbergins A, B e F. **Chemical and pharmaceutical bulletin** , v. 42, n. 11, p. 2225-2230, 1994. Doi: 10.1248/cpb.42.2225.

ZANUTTO, F. V.; BOLDRIN, P. K.; VARANDA, E. A.; SOUZA, S. F.; SANO, P. T.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C. **Characterization of flavonoids and naphthopyranones in methanol extracts of *Paepalanthus chiquitensis* Herzog by HPLC-ESI-IT-MSn and their mutagenic activity**. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 244-262, 2012. Doi: 10.3390/molecules18010244.

ZANUTTO, F. V. **Estudo Químico e Atividades Mutagênica e Antiradicalar de *Paepalanthus Chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

ZIGONEANU, I. G., ASTETE, C. E., SABLIOV, C. M. Nanoparticles with entrapped alfatocopherol: Synthesis, characterization, and controlled release. **Nanotechnology**, v. 19, p. 1–8, 2008. Doi: 10.1088/0957-4484/19/10/105606.

ZHOU, Min et al. Alatains A e B, polifenóis heterodiméricos únicos de *Cassia alata* e sua atividade antivírus do mosaico do tabaco. **Fitoterapia**, v. 147, p. 104763, 2020. Doi.org/10.3390/foods10102277.