



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

CICERA JANAINE CAMILO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE NIOSOMAS ENRIQUECIDOS COM
COMPOSTOS FENÓLICOS**

CRATO-CE
2018

CICERA JANAINÉ CAMILO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE NIOSSOMAS ENRIQUECIDOS COM
COMPOSTOS FENÓLICOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri-URCA, como requisito para obtenção de título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa.

**CRATO-CE
2018**

CICERA JANAINÉ CAMILO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE NIOSSOMAS ENRIQUECIDOS COM
COMPOSTOS FENÓLICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Apresentada e defendida em: 31/07/2018

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa (URCA)
Orientador/Presidente da Banca

Prof. Dr. Raimundo Nonato Pereira Teixeira (URCA)
Membro Interno

Prof. Dr. Erlânio Sousa Oliveira (CENTEC)
Membro Externo

Prof.^a Dr.^a. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues (UNILEÃO)
Membro Suplente Interno

Dedico esta dissertação a minha mãe
Antonia e irmã Camila, pelo incentivo,
apoio e carinho.

O próprio Senhor irá à sua frente e estará com você; ele nunca o deixará, nunca o abandonará. Não tenha medo! Não se desanime! (Deuteronômio 31:8)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela sabedoria a mim concedida e pelas pessoas que ele tem colocado em minha vida. A minha mãe, Antonia Ferreira e minha irmã Camila, por nunca medirem esforços para minha formação e pelo incentivo de sempre buscar um futuro melhor. A Rafael por me apoiar e incentivar meu crescimento pessoal.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa, pela confiança, paciência, por todos os ensinamentos e pelo exemplo como professor e pesquisador. A Prof.^a Dr.^a Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues, por todos os ensinamentos, conselhos, pela atenção e apoio em todos os momentos.

A Universidade de Fortaleza e ao Professor Angelo Roncalli Alves e Silva pela colaboração no desenvolvimento dos niossomas, por ter me recebido tão bem e pelo incentivo a pesquisa.

A todos que fazem ou fizeram parte do Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN: Carla, Daiany, Wégila, Natália, Fábio, Junior e Gerson, por toda a ajuda e companheirismo. A Soraya, Ivanice e Simoni por terem cedido um espaço em sua casa, no momento em que mais precisei e pelo companheirismo e incentivo diário. As minhas amigas: Maria, Beatriz, Samile, Julimery, Bianca e Delmacia por sempre terem uma palavra de apoio e por estarem presentes em momentos difíceis.

Agradeço a Rayane por ter me ajudado nos testes e por ser amiga, companheira e ter sempre palavras de incentivo e apoio. A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular-PPBM, por todo o apoio. A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo suporte financeiro. A todos que direta ou indiretamente contribuíram e incentivaram a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vx
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Geral.....	17
2.1. Geral.....	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1. Nanotecnologia.....	18
3.2. Vesículas lipídicas.....	20
3.2.1. Niossomas.....	22
3.2.2. Lipossomas.....	24
3.2.3. Fosfatidilcolinas.....	29
3.2.4. Colesterol.....	30
3.2.5. Surfactantes não iônicos.....	32
3.2.6. Aspectos físico-químicos.....	36
3.3. Técnicas para obtenção de lipossomas e niossomas.....	37
3.3.1. Hidratação do filme lipídico.....	37
3.3.2. Injeção de etanol.....	38
3.3.3. Evaporação de fase reversa.....	39
3.4. Atividades biológicas do gênero <i>Stryphnodendron</i> sp.....	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1. Material vegetal e identificação botânica.....	43
4.2. Reagentes químicos e solventes.....	43
4.3. Obtenção da fração fenólica.....	43
4.4. Prospecção química.....	44
4.5. Formulação e caracterização do niossoma da fração fenólica do barbatimão.....	44
4.5.1. Caracterização das vesículas.....	45

4.5.1.1. Tamanho média, polidispersão e potencial zeta.....	45
4.5.1.2. Eficiência do encapsulamento.....	45
4.6. Ensaio antioxidantes.....	45
4.6.1. Ensaio antioxidante pela capacidade de sequestrar o radical ABTS ^{•+}	45
4.6.2. Ensaio antioxidante <i>in vitro</i> pela capacidade quelante de íons Fe ²⁺	46
4.6.3. Ensaio antioxidante <i>in vitro</i> pela degradação da desoxirribose.....	47
4.7. Análises estatísticas.....	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1. Fração fenólica e prospecção química.....	49
5.2. Tamanho médio, polidispersão e potencial zeta.....	50
5.2.1. Eficiência da encapsulação.....	53
5.3. Capacidade da redução do radical ABTS ^{•+}	54
5.4. Capacidade quelante de íons Fe ²⁺	56
5.5. Capacidade de impedir a degradação da desoxirribose.....	59
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
7. REFERÊNCIAS.....	63
ANEXOS.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cronograma da entrega de medicamentos encapsulados em nanopartículas.....	20
Figura 2. Estrutura niossomal multilamelar.....	22
Figura 3. Representação de Lipossoma unilamelar.....	24
Figura 4. Estrutura química dos compostos encapsulados em lipossomas e niossomas citados neste trabalho. A- cefdinir [®] , B- embelin [®] , C- diacereína [®] , D- itraconazol [®] , E- doxil [®] , F- ácido retinóico [®] , G- rutina [®] , H- naringina [®] , I- folato [®] , J- calothixin B [®] , K- capsaicina [®]	27
Figura 5. Estrutura química da fosfatidilcolina.....	29
Figura 6. Estrutura química do colesterol.....	31
Figura 7. Surfactantes não- iônicos: A- tween 80, B- tween 60, C- span 60, D- span 80, E- brij 30, F- brij 35.....	35
Figura 8. Representante do gênero <i>Stryphnodendron</i>	40
Figura 9. Obtenção do filme lipídico e posterior formação dos niossomas.....	44
Figura 10. Reação de estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante.....	46
Figura 11. Mecanismo de neutralização de um radical livre pela doação de um átomo de hidrogênio pelo anel fenólico.....	50
Figura 12. Medição de tamanho, PDI e potencial <i>zeta</i> dos niossomas usando o aparelho Zetasize.....	51
Figura 13. Porcentagem de inibição do radical ABTS ^{•+} da fração fenólica e dos niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão, com $p < 0,05$ (ANOVA e teste de Tukey).....	55
Figura 14. Porcentagem de quelação de íons Fe ²⁺ pela fração fenólica sozinha obtida da espécie <i>S. rotundifolium</i> , e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão. Fração (a), niossoma 60% (b), niossoma 30% (c) e niossoma 15% (d). Os números 1-4 expressam a significância entre as frações na mesma concentração. 1: $p < 0,05$, 2: $p < 0,01$, 3: $p < 0,001$ e 4: $p < 0,0001$, (ANOVA e teste de Tukey).	57
Figura 15. Mecanismo geral de quelação de íons ferro pelo anel catecol.....	58
Figura 16. Porcentagem de inibição da degradação da desoxirribose pela fração fenólica sozinha obtida da espécie <i>S. rotundifolium</i> , e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão, com $p < 0,05$ (ANOVA e teste de Tukey).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taninos e atividade biológicas do gênero <i>Stryphnodendrom</i>	42
Tabela 2. Preparado de soluções para o teste Quelante de íons Fe ²⁺	47
Tabela 3. Preparado de soluções para o teste degradação da desoxirribose.....	48
Tabela 4. Prospecção química da fração fenólica do barbatimão.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS- ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

HPLC- High performance liquid chromatography

PDI- Polidispersão

PEG- Polietilenoglicol

pH – Potencial hidrogeniônico

rpm – rotação por minuto

Span- Sorbitan esters

TBA- Ácido tilbarbitúrico

TCA- Ácido tricloro acético

TRIS-HCL- Trisaminometano

Tween- Polyethoxylated sorbitan esters

Camilo, Cicera Janaine. (Ma.). Universidade Regional do Cariri (URCA). Julho de 2018. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos. José Galberto Martins da Costa.

RESUMO

Vesículas lipídicas são sistemas fechados formados por uma bicamada de fosfolipídios em meio aquoso o qual permite melhorar o transporte e a liberação de compostos, tanto hidrofílicos como lipofílicos, proporcionando o aumento na solubilidade de drogas já utilizadas na terapia convencional. O foco no desenvolvimento dessas vesículas deve estar direcionado para a determinação de composição ideal, com baixa toxicidade, biocompatibilidade e que permaneça estável por longo período. Extratos de plantas encapsulados em niossomas mostram-se mais potentes em baixas concentrações quanto comparada ao extrato sozinho, sendo estas vesículas uma alternativa a utilização de plantas que possuem atividade biológica, porém apresentam alta toxicidade. Este trabalho buscou o desenvolvimento de niossomas contendo uma fração rica em compostos fenólicos obtida da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., afim de avaliar sua atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação e compará-los a atividade da fração sozinha. A fração fenólica foi avaliada quando a presença de compostos fenólicos qualitativamente. Os niossomas foram obtidos pelo método de hidratação do filme lipídico e foram avaliados quanto as suas características físico-químicas, tamanho, PDI, potencial *zeta* e eficiência de encapsulamento, estas análises foram realizadas por um período de três meses afim de avaliar a estabilidade da vesícula. Os testes antioxidantes realizados foram ABTS^{•+}, Quelante de Fe²⁺, Desoxirribose. Os niossomas obtiveram tamanho de 84,07nm, PDI de 0,2, potencial zeta de -50mV e eficiência de encapsulamento de 60%, tais resultados indicam que a vesícula é ideal para realização de testes. Os resultados antioxidantes mostraram melhor eficiência da amostra no teste ABTS^{•+} com valor de 90% para o niossoma a 60% em relação a fração. Os demais testes indicaram de capacidade da amostra em quelar o íon Fe²⁺ e impedir a degradação da desoxirribose, embora não tenham sido estatisticamente significante quando comparado a fração. Conclui-se que os niossomas enriquecidos com compostos fenólicos são mais eficientes na eliminação do radical ABTS^{•+} quando encapsulados em niossomas.

Palavras-chave: Niossomas, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

Camilo, Cicera Janaine. (Ma.). Universidade Regional do Cariri (URCA). Julho de 2018. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos. José Galberto Martins da Costa.

ABSTRACT

Lipid vesicles are closed systems formed by a bilayer of phospholipids with an aqueous center that allow to improve the transport and release of both hydrophilic and lipophilic compounds, providing the increase in solubility of drugs already used in conventional therapy. The focus on the development of these vesicles should be directed to the determination of ideal composition, with low toxicity, biocompatibility and that remains stable for long period. Extracts of plants encapsulated in niosomes are shown to be more potent at low concentrations as compared to the extract alone, these vesicles being an alternative to the use of plants that have biological activity, but present high toxicity. This work aimed to the development of niosomes containing a fraction rich in phenolic compounds obtained from the species *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., In order to evaluate its antioxidant activity by different mechanisms of action and to compare them to the activity of the fraction alone. The phenolic fraction was evaluated when the presence of phenolic compounds qualitatively. The niosomes were obtained by the lipid film hydration method and were evaluated for their physico-chemical characteristics, size, PDI, zeta potential and encapsulation efficiency. These analyzes were performed for a period of three months in order to evaluate the stability of the vesicle. The antioxidant tests performed were ABTS^{•+}, Fe²⁺ Chelating Agent, Deoxyribose. The niosomes obtained a size of 84.07nm, PDI of 0.2, zeta potential of -50mV and encapsulation efficiency of 60%, such results indicate that the vesicle is ideal for tests. The antioxidant results showed better efficiency of the sample in the ABTS^{•+} test with 90% value for the 60% niosome in relation to the fraction. The other tests indicated the capacity of the sample to chelate the Fe²⁺ ion and to prevent the degradation of the deoxyribose, although they were not statistically significant when compared to the fraction. It is concluded that enriched phenolic compounds niosomes are more efficient at eliminating the ABTS^{•+} radical when encapsulated in niosomes

Key words: Niosomes, phenolic compounds, antioxidant activity.

1. INTRODUÇÃO

Atrelado a descoberta de novos compostos de origem natural muitas pesquisas tem investido na encapsulação de substâncias em nanoparticulas, afim de potencializar suas atividades biológicas e minimizar seus efeitos colaterais. A nanomedicina é vista como uma nova alternativa promissora para o tratamento de diversas doenças, tendo como foco principal a entrega controlada de drogas. As substâncias encapsuladas melhoram sua biodisponibilidade, especificidade e permeabilidade (ROJAS-AGUIRRE et al, 2016; LONDOÑO, 2015).

Dentre os vários tipos de nanoparticulas, as vesículas lipídicas são extensamente utilizada pela indústria farmacêutica para entrega de drogas, enzimas, vacinas ou com intuito de prevenção para várias doenças (AQIL et al, 2013). Tendo em vista a ampla aplicabilidade dessas vesículas e a possibilidade de encapsulação tanto substâncias lipofílicas como hidrofílicas, a utilização desses sistemas é de suma importância para o estudo com produtos naturais. Alguns estudos tem demonstrado que extratos vegetais quando são encapsulados em nanoparticulas, principalmente vesículas lipídicas, melhoram sua atividade biológica, além de reduzir sua concentração e diminuir sua toxicidade (MANOSROI et al, 2010; PATEL et al, 2015).

Muitas pesquisas tem direcionado sua atenção para encapsulação de compostos ou extratos que tenham atividade antioxidante, tendo como foco a potencialização desta atividade em sistemas biológicos, assim como a proteção da vesícula lipídica contra a degradação oxidativa (DURAND et al, 2017). Ensaio com o composto eugenol encapsulado em lipossomas mostraram que sua atividade de preservação contra agentes oxidantes em alimentos foi potencialmente maior. Desta forma, trabalhos que buscam testar atividade antioxidante de compostos naturais tem maior aplicabilidade a partir da sua encapsulação em vesículas lipídicas (CUI, et al, 2017).

Os antioxidantes naturais são normalmente encontrados em frutas, legumes e em algumas plantas utilizadas na medicina popular. Tais compostos atuam na redução de radicais livres, promovendo o equilíbrio entre antioxidante/oxidante. No organismo humano são importantes na prevenção e tratamentos de doenças neurodegenerativas, atuando junto a enzimas como a superóxido dismutase e catalase (OLIVEIRA et al, 2015). Geralmente a alimentação rica em antioxidantes é a mais indicada como forma de combate ao estresse oxidativo, no entanto, pessoas que sofrem com alguma doença

que tenha como resposta a produção de radicais livres, necessitam de tratamento com antioxidantes sintéticos (SUCUPIRA et al, 2012; ZIMMERMANN e KIRSTEN, 2008).

Os trabalhos que buscam encontrar antioxidantes naturais tem crescido na busca de uma alternativa para a substituição dos sintéticos. A escolha de plantas está justamente pela diversidade de compostos que podem ser encontrados e pelo espectro de atividades relacionadas a eles. Inicialmente a produção de antioxidantes pelos vegetais foi atribuída a necessidade de proteção contra raios ultravioletas e patógenos, sendo considerada uma característica evolutiva (SCOTTI et al, 2007; DEL RÉ e JORGE, 2012).

Atualmente sabe-se que o consumo de antioxidantes naturais está associada à diminuição dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis, somada a efetiva ação contra agentes oxidantes no organismo, dessa forma é importante a descoberta de novas fontes naturais desses compostos (VIANA et al, 2015). As principais moléculas relacionadas a esta atividade são os compostos fenólicos, tais substâncias atuam na eliminação de radicais livres agindo por diferentes mecanismos de ação, podendo atuar através da doação de elétrons, na quelação de metais de transição, impedindo a peroxidação lipídica, inibição de enzimas produtoras de radicais e desempenhar concomitantemente mais de uma dessas funções (NOVAIS et al, 2013; ANGELO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário dos vegetais e constituem uma grande classe de fitoquímicos. Podem ser encontrados em todas as partes dos vegetais, sendo frequentemente extraídos em maiores quantidades em frutas, hortaliças e seus derivados (MANACH et al, 2004). A diversidade de benefícios causados por esses constituintes desperta interesse da sociedade pesquisadora para o estudo com produtos naturais que sejam ricos em tais componentes (DREOSTI, 2000).

As espécies do gênero *Stryphnodendron* são uma importante fonte de compostos fenólicos, especialmente taninos. Na medicina popular são indicadas para o tratamento de diferentes males tais como, inflamação, feridas, infecções por microrganismos e diarreia. Tais atividades farmacológicas estão relacionadas a presença de compostos fenólicos que estão presentes normalmente em suas cascas (MACÊDO et al, 2015; OLIVEIRA et al, 2014; RIBEIRO et al, 2014).

Popularmente as plantas do gênero *Stryphnodendron* são conhecidas como barbatimão, incluindo cerca de 48 espécies nativas do Cerrado do Brasil (OLIVEIRA, 2010). Trabalhos como o de Oliveira et al (2011) mostram atividade do extrato da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* como antimicrobiano e potencializador da atividade de antibióticos. Sabendo do potencial do gênero *Stryphnodendron* como fonte de compostos fenólicos e que os mesmo estão relacionados a uma variedade de atividades biológicas, especialmente a antioxidante, são necessários estudos químicos e farmacológicos que possam comprovar as atividades dessas espécies.

Sabendo ainda, que os compostos fenólicos estão relacionadas a diminuição e o controle de espécies reativas no organismo, estudos que buscam potencializar a atividade desses compostos pela diminuição da sua concentração através da encapsulação em nanopartículas, são extremamente importantes para o desenvolvimento de fitofármacos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Desenvolver um niossoma contendo a fração fenólica da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* e analisar sua atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação.

2.2. Específicos

- Obter a fração fenólica das cascas de *S. rotundifolium*;
- Formular niossomas a partir da fração fenólica, pelo método de hidratação do filme lipídico;
- Verificar qualitativamente a composição química da fração;
- Testar a capacidade do niossoma na redução do radical livre ABTS^{•+};
- Testar a capacidade do niossoma na quelação de íons Fe²⁺;
- Testar a capacidade do niossoma em impedir a degradação da desoxirribose;
- Verificar se a atividade antioxidante da fração fenólica é aumentada quando encapsulada em niossomas.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Nanotecnologia

O estudo de materiais em escala nanométrica tem despertado interesse de pesquisadores especialmente pelos desafios que estão relacionados a compreensão das propriedades físicas e químicas desses materiais. Além de ser uma área que tem atraído investimento de diversos países que buscam solucionar problemas nos ramos alimentício, farmacêutico e biotecnológico (PASCHOALINO et al, 2010).

O termo nanotecnologia está associado ao controle e a compreensão de materiais cujo tamanho de seus componentes estejam na faixa de nanômetros (1-1000 nm). É uma ciência que possui ampla aplicabilidade em diversas áreas, contribuindo para o progresso em medicina, física, química, biologia e outras (LETCHFORD e BURT, 2007; FERREIRA, 2013). Diferente das estruturas em tamanho macro, os produtos nanométricos possuem particularidades exclusivas que lhes proporcionam vantagens em relação a suas propriedades mecânicas, óticas, elétricas e magnéticas (LOURO et al, 2013).

A obtenção de produtos nanoestruturados ocorre por diferentes métodos os quais atuam de duas formas: top-down ou botton-up, sendo que em top-down as moléculas são reduzidas a tamanhos nanométricos e em botton-up moléculas são integradas para construção de nanopartículas. Em relação aos materiais utilizados para a sua fabricação, existem variedades que vão desde produtos sintéticos até o uso de produtos de origem natural. Os materiais naturais mais utilizados são quitosano, dextrana, ágar e gelatina. Dentre os sintéticos os polímeros tem maior aplicabilidade, pois possuem maior facilidade em sua caracterização e podem ser produzidos por diversas técnicas, um exemplo é o ácido poliláctico (GIMÉNEZ et al, 2017).

Os produtos em escala nano variam em tamanho, composição, propriedades e usos. Atualmente no mercado existem diversos produtos que são utilizados em nosso cotidiano com algum componente manométrico, exemplos são os chips, sensores, fibras de tecidos e cosméticos (ALENCAR et al, 2017). Os Estados Unidos foi o detentor da maior produção de nanoestruturas através de grandes multinacionais, sendo este país dono de 49% da produção. No Brasil o desenvolvimento de pesquisas nanotecnológicas teve seu ápice a partir do ano de 2003 com maior número de publicações no ano de

2006, sendo maior parte das pesquisas relacionadas ao tratamento do câncer, doenças inflamatórias, cardiovasculares e no combate ao vírus HIV (SANT'ANNA et al, 2013).

Um dos principais campos da nanotecnologia é a nanomedicina que surgiu com a interação de ciências como a medicina, física, matemática e biologia (MARCAZZAN et al, 2018). Esse campo apresenta ferramentas inovadoras que buscam melhorar o diagnóstico, prevenção e o tratamento de doenças como o câncer.

Diversas aplicações farmacológicas estão relacionadas a este campo, sendo as pesquisas em oncologia detentoras de grande parte das publicações (VIEIRA e GAMARRA, 2016; KULANDAIVELU e GOTHANDAM, 2016). Outro setor bastante beneficiado pela produção de nanoestruturas é o de cosméticos, onde são utilizadas como protetores de ativos sensíveis, reduzem odores indesejáveis e evitam a incompatibilidade entre os ingredientes da formula (KAUR et al, 2007).

Em pesquisas com alimentos funcionais a produção de nanopartículas visa melhorar a estabilidade dos ingredientes através da sua encapsulação protegendo do contato com oxigênio, água, luz e outras condições (HAN et al, 2015). Como visto as inovações nanotecnológicas trazem benefícios tanto para a indústria como também para o consumidor que terá significativa melhora na qualidade de vida (CASANOVA, 2010).

A maior parte das pesquisas com esses materiais se dá pela capacidade que esses sistemas tem em agirem como bons carreadores de moléculas. Os sistemas de entrega controlada variam em suas propriedades físico-químicas e especificidade a partir do material utilizado para sua produção, podendo ser lipídios, polímeros e materiais inorgânicos (LETCHFORD e BURT, 2007). Entre eles destacam-se as vesículas lipídicas, como os lipossomas, micelas e niossomas, por apresentarem melhor biodisponibilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (ANDREU e ARRUEBO, 2018).

A entrega controlada de bioativos surgiu na medicina no ano de 1960, a partir daí houve um grande avanço nos estudos que visam cada vez mais aperfeiçoar esta técnica. A figura 1 mostra o avanço da nanotecnologia destacando alguns sistemas de entrega.

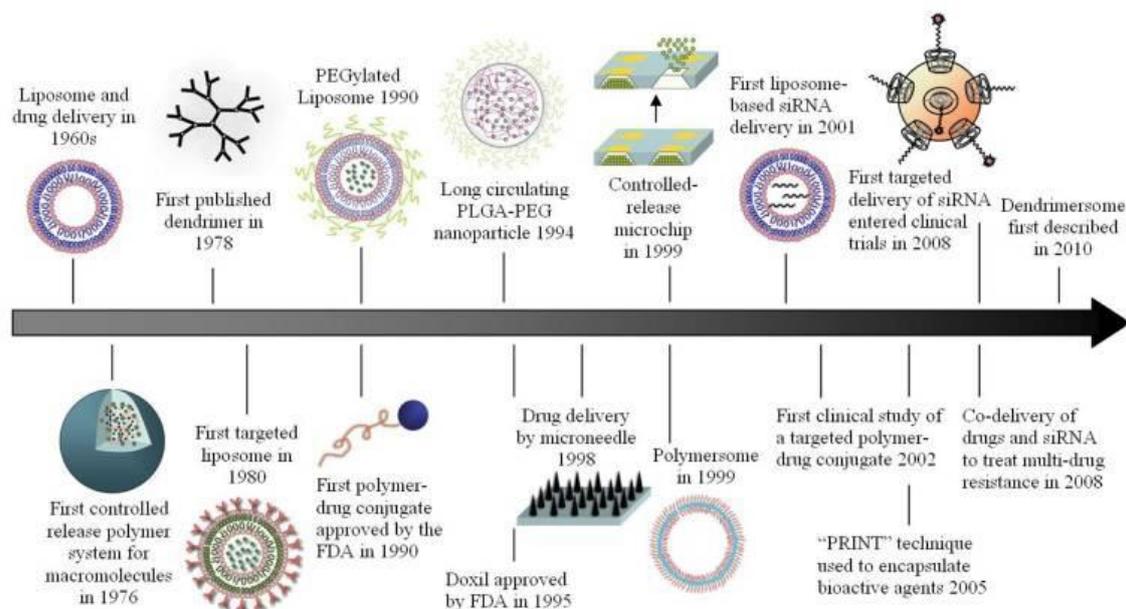


Figura 1. Cronograma da entrega de medicamentos encapsulados em nanopartículas.

Fonte. Adaptado de Shi et al, (2010)

Os benefícios que esses sistemas possuem é devido a suas propriedades físicas e químicas que facilitam a passagem de substâncias, geralmente fármacos, por barreiras biológicas dentro corpo, como exemplo as membranas celulares e a barreira hematoencefálica (LETCHEFFORD e BURT, 2007).

3.2. Vesículas lipídicas

Vesículas lipídicas são estruturas fechadas organizadas em bicamadas de fosfolípídeos com um compartimento interno aquoso. Sua utilização na terapêutica ocorre a cerca de 40 anos, sendo suas primeiras aplicações na área de cosméticos. Os produtos à base destas vesículas incluem lipossomas e niossomas que são considerados importantes representantes na liberação controlada de substâncias. (KHAN et al, 2015; SUZUKI et al, 2017).

Desde a sua criação até os dias atuais as vesículas lipídicas são utilizadas como sistemas coloidais para o estudo dos fenômenos bioquímicos celulares, sendo grande parte do entendimento sobre biologia celular dada através destes sistemas (PERRIER et al, 2017). São constituídas por anfífilos que se organizam em compartimentos fechados na presença de água, por conta da orientação dos seus grupos polares através

de interações hidrofóbicas e Forças de van der Waals. As vesículas formadas podem apresentar uma ou mais bicamadas de fosfolípídeos, sendo caracterizadas como unilamelares ou multilamelares (KHAN et al, 2015).

Dentre essas vesículas os lipossomas e niossomas se destacam por serem considerados bons carreadores de moléculas e apresentarem alta biodisponibilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (ANDREU e ARRUEBO, 2018). A utilização desses sistemas abrange áreas como as de cosméticos, alimentícia, agricultura, genética e produtos farmacêuticos, visando principalmente a melhoria na qualidade dos produtos através do aumento na estabilidade e durabilidade (FATHIMA et al, 2016). Farmacologicamente o interesse nesses sistemas está na semelhança que eles possuem com as membranas biológicas, sendo que suas propriedades físicas e químicas permitem maior facilidade na passagem do fármaco por barreiras dentro corpo, proporcionando melhor direcionamento na entrega da droga (LETCHFORD e BURT, 2007).

Lipossomas e niossomas são considerados nanocarreadores lipídicos relativamente seguros por serem produzidos com produtos de origem natural, tais como as fosfatidilcolinas e o colesterol. Essa composição permite vantagens em relação a outros nanocarreadores, como as nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono ou nanopartículas de ouro, que podem demonstrar algum tipo de toxicidade (LIM et al, 2012).

Estudos mostram a importância da encapsulação de substâncias em vesículas lipídicas para o combate a espécies reativas de oxigênio, além disso essas vesículas podem ser utilizadas como modelos em estudos com antioxidantes que combatem principalmente a peroxidação lipídica (BARROSO et al, 2018; GIRI et al, 2016). Esses e outros estudos tem ampliado o interesse no desenvolvimento de estruturas vesiculares nanométricas que visam superar obstáculos encontrados principalmente na entrega de medicamentos.

O grande impasse no desenvolvimento de carreadores à base de fosfolípídeos é encontrar uma formulação ideal, que tenha alta estabilidade, biocompatibilidade e que uma vez encapsulada a substância tenha sua atividade potencializada, permanecendo estável por um longo período. Tendo em vista as dificuldades encontrados no desenvolvimento de vesículas lipídicas é importante reunir informações sobre os métodos utilizados para o seu desenvolvimento, incluindo seus principais componentes

e o que se tem atualmente em relação ao comportamento de cada um quando utilizado em diferentes formulações.

3.2.1. Niossomas

Niossomas são vesículas lipídicas formadas a partir da automontagem de tensoativos não-iônicos por interações hidrofóbicas em meio aquoso (GUTIÉRREZ et al., 2016). Estão representados por uma ou mais bicamadas lipídicas, sendo caracterizadas como unilamelares ou multilamelares (KHAN et al, 2015). O seu tamanho geralmente está entre 80 e 200 nm, dependendo do método utilizado para sua formulação. Os tensoativos mais utilizados para produção de niossomas são os polissorbatos (tween 60 e 80) e os sorbitans (Span 60 e 80) (YEOM et al, 2014). Wang et al, (2016)^a afirmam que formulações a base de tween 80 são farmacologicamente mais aceitáveis por permitirem melhora na estabilidade da molécula. A figura 2 mostra a estrutura de um niossoma multilamelar formado por tween 80 e polietilenoglicol (PEG).

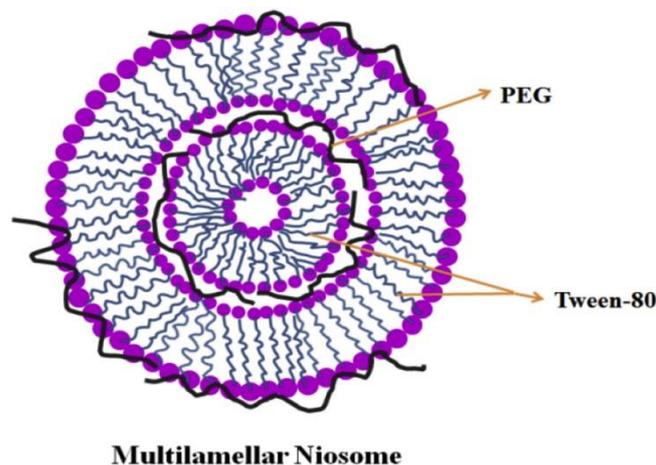


Figura 2. Estrutura niossomal multilamelar
Fonte: Adaptado de Wang et al, (2016)^a

Apesar de ser bastante semelhante a dos lipossomas a composição dos niossomas por surfactantes não-iônicos permite que os mesmos sejam mais estáveis à oxidação e hidrólise, possuindo boa estabilidade a longo prazo e biocompatibilidade, além de ser uma formulação mais barata e de fácil reprodução (SOMJID et al, 2018; SAMED et al, 2017). Essas características permitiram que os niossomas fossem logo

inseridos no mercado como alternativa aos lipossomas na entrega controlada de medicamentos no organismo. Semelhante as demais vesículas lipídicas os niossomas podem incorporar substâncias tanto lipofílicas como hidrofílicas. As substâncias de caráter lipofílico ficam retidas na bicamada, enquanto que as hidrofílicas ficam no centro da vesícula, meio aquoso (KHAN et al, 2015).

As primeiras formulações de niossomas ocorreram na área de cosméticos pela L'Oreal®, sendo logo descritas como bons carreadores de moléculas e como conservadores de alimentos. Essas vesículas são consideradas como importante sistema de entrega controlada, no qual as drogas que são encapsuladas podem aumentar a solubilidade, estabilidade e o tempo para degradação, fazendo com que as substâncias permaneçam mais tempo no organismo (PANDO et al, 2015; BANSAL et al, 2013).

O estudo de Liang et al, (2016) mostra que niossomas são capazes de proteger a substância encapsulada da digestão intestinal, esta característica se dá através da capacidade no controle da liberação de substâncias e a proteção contra agentes externo que a vesícula oferece. Além de aumentar o tempo da substância no organismo, niossomas podem intensificar atividades biológicas de drogas já utilizadas no mercado, como exemplo verificou-se que a atividade antimicrobiana do composto celfdinir® frente à espécie *Staphylococcus aureus* é aumentada quando este é incorporado a essas vesículas (BASAL et al., 2013).

O aumento da atividade de fármacos já utilizados no mercado pela encapsulação em niossomas permite a diminuição na concentração das drogas, promovendo a diminuição de efeitos colaterais e o aumento da especificidade na entrega da droga no local de ação dentro do organismo (KANAANI et al, 2017). Outro estudo mostra que niossomas carregados com embelin® possuem um eficiente efeito hipoglicemiante, assim como atividade antioxidante através da diminuição dos níveis de peroxidação lipídica, esses resultados foram relacionados a uma melhora na absorção intestinal do fármaco encapsulado (ALAM et al, 2018).

Em particular os niossomas são considerados como um sistema interessante de administração de fármacos para o tratamento de distúrbios dermatológicos. A aplicação tópica de niossomas pode aumentar o tempo de resistência das drogas no estrato córneo e epiderme e ao mesmo tempo reduz a absorção sistêmica da droga, reduz a perda de água transdérmica e promove a reposição de lipídeos. O estudo de Moghddam et al,

(2016) mostrou que niossomas aumentam a penetração da diacereína[®] em camadas mais profundas da pele. Em outro trabalho foi demonstrado que vesículas menores são mais eficientes na penetração do fármaco na pele (PANDO et al, 2015).

Outro benefício na utilização de niossomas é a capacidade que o sistema tem de potencializar o efeito de fármacos já utilizados no mercado. Sendo comprovado pelo estudo de absorção cutânea com agente antifúngico itraconazol[®], onde as formulações niossomais contendo o fármaco mostraram-se mais eficientes do que o ele sozinho (ALOMRANI et al, 2015).

3.2.2. Lipossomas

Os lipossomas são vesículas lipídicas formadas por misturas de lipídeos anfipáticos organizados de forma esférica em um centro aquoso (Figura 3) (SANTOS e CASTANHO, 2002). Por ser semelhante as membranas biológicas, inicialmente os lipossomas foram utilizados como modelo para estudo de membranas, mas logo passaram a ter aplicações médicas e farmacológicas, principalmente no transporte de substâncias. Essa semelhança com as membranas biológicas permite vantagens as vesículas, como por exemplo, interações celulares, endocitose e fusão (CHORILLI et al, 2004). Outra vantagem está na encapsulação de drogas que permite a diminuição dos efeitos colaterais, através da redução da dose exigida e consequente acumulação da droga no local de administração.



Figura 3. Representação de Lipossoma unilamelar.

Fonte: Adaptado de Müller e Landfester, (2015).

Sua classificação é feita de acordo com a quantidade de lamelas presentes na vesícula, sendo caracterizados como unilamelares (apenas uma lamela) ou multilamelares (duas ou mais lamelas), quanto ao tamanho podem ser grandes ou pequenas vesículas unilamelares, grandes ou pequenas vesículas multilamelares (GARCIA, 2014). Como vantagem os lipossomas pequenos e multilamelares são mais esféricos e apresentam maior rigidez, estas características permitem propriedades mecânicas benéficas na absorção celular.

Os lipossomas formulados com fosfatidilcolina e colesterol são rapidamente eliminados da circulação sanguínea, uma estratégia a esse problema é a produção de lipossomas com tamanho inferior a 100 nm e a utilização de polímeros conjugados na sua membrana como PEGs (Polietilenoglicol) que são capazes de formar uma camada protetora na bicamada (FONTES et al, 2018).

Os lipossomas podem encapsular diversas substâncias com solubilidades diferentes. Assim, a localização de tais substâncias depende de suas características, principalmente a solubilidade entre os componentes do lipossoma. Dessa forma substâncias com caráter lipofílico ficam inseridas na parte hidrofóbica da membrana enquanto as substâncias de caráter hidrofílico permaneceram no núcleo aquoso e as anfifílicas passam a fazer parte da membrana do lipossoma (MÜLLER e LANDFESTER, 2015). Um exemplo da localização de compostos hidrofóbicos são os derivados do eugenol que quando inseridos na fase aquosa tendem a migrar lentamente para a bicamada, sendo que cada componente tem um tempo diferente para penetração e ligação com a superfície da bicamada (SAHA e VERMA, 2018).

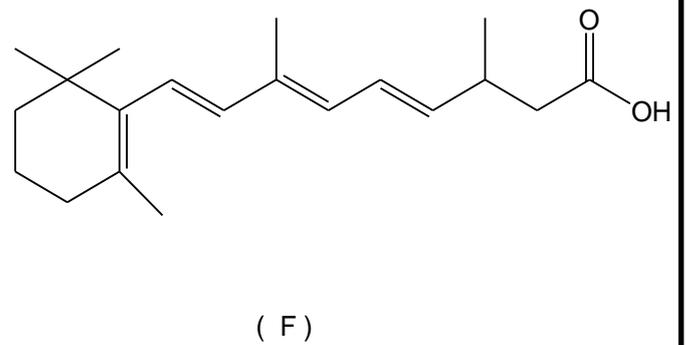
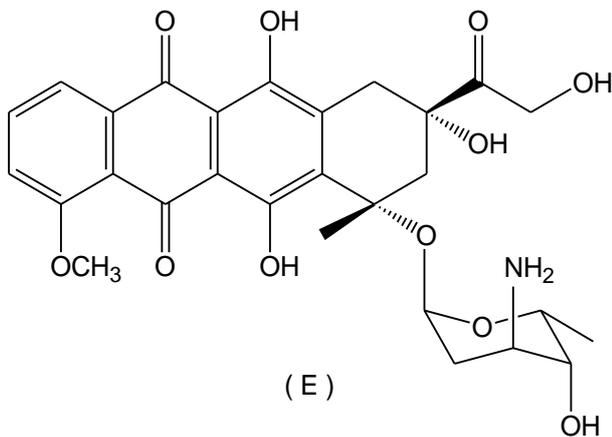
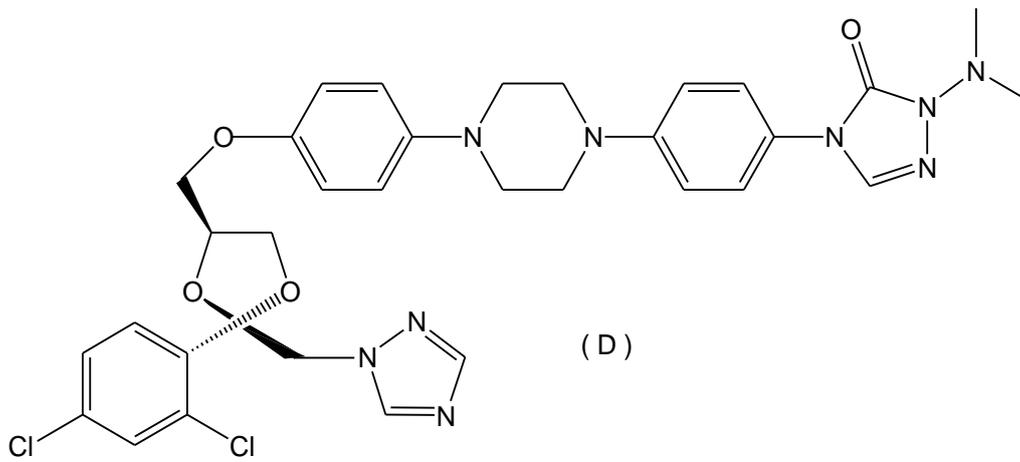
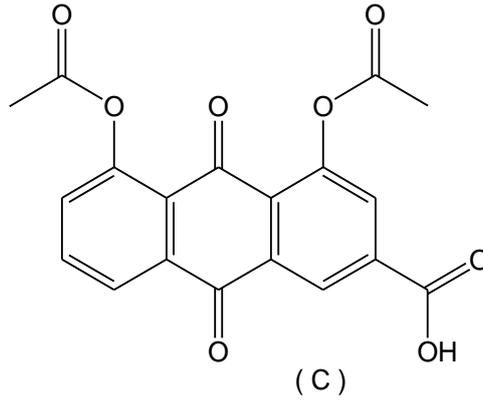
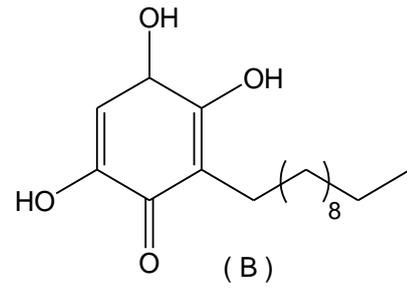
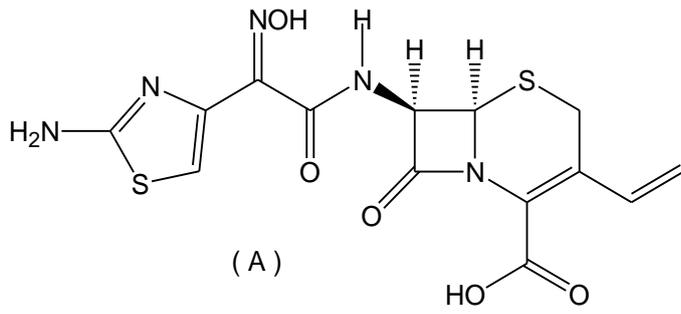
A princípio na área médica os lipossomas eram visados apenas como bons carreadores de moléculas capazes de promover a liberação de forma lenta e controlada, a partir daí foi descoberto que a membrana lipossomal é capaz de proteger substâncias de agentes externos como a luz, umidade e oxigênio, aumentando sua durabilidade (ASSIS et al, 2012). O primeiro medicamento formulado com base em lipossoma foi o doxil[®], um anticancerígeno que entrou no mercado no ano de 1995, após este surgiram uma infinidade de formulações farmacológicas que estão disponíveis no mercado, assim como um grande número de trabalhos são frequentemente publicados com formulações lipossomais (RAHNFELD et al, 2018).

Alguns trabalhos mostram a capacidade que os lipossomas tem de aumentar a estabilidade físico-química de compostos como o ácido retinoico e a rutina, o aumento da estabilidade está relacionado ao aumento da durabilidade da formulação (BABAZADEH, GHANBARZADEH et al, 2017). Além disso, podem reduzir a toxicidade de compostos e aumentar o seu tempo de ação no organismo (ARAÚJO et al, 2017). Outra aplicação dos lipossomas é a utilização no tratamento de doenças inflamatórias dérmicas através da encapsulação de compostos antiinflamatórios como naringina, potencializando sua atividade e diminuindo os efeitos colaterais (PLEGUEZUELOS-VILLA et al, 2018).

A entrega controlada de substâncias por lipossomas pode ser melhorada a partir da adição de componentes que direcionam os lipossomas até o local de ação. O estudo de Poh et al, (2018) demonstra que lipossomas direcionados com folato se ligam especificamente a células positivas para receptores de folato se acumulando no local da inflamação, tendo melhor resposta na atividade biológica. Os lipossomas aumentam a penetração de substâncias no estrato córneo através do aumento da fluidez da bicamada pela perturbação dos lipídeos (IMAM et al, 2017) sendo considerados como um sistema de entrega bem sucedido pela via transdérmica (ABDEL-HAFEZ et al, 2018).

Substâncias com baixas solubilidades em água tem sua aplicação na terapêutica limitada, no entanto, quando encapsuladas a lipossomas tais substâncias podem melhorar sua biodisponibilidade, um exemplo é o estudo Yingyuad et al, (2018) que encapsularam o composto calothrixin B e verificaram melhora significativa no tratamento do cancro. Em estudo com a capsaicina para verificar a redução do estresse oxidativo no fígado foi verificado que a atividade desta substância é potencializada quando também é encapsulada (GIRI et al, 2016).

Apesar dos lipossomas serem os primeiros sistemas produzidos para entrega controlada de substâncias eles tem como desvantagem a alta instabilidade, o que promove a agregação das vesículas (GÁLVEZ et al, 2011). Essa característica está relacionada a composição e o método utilizado para formulação da vesícula, uma solução é a adição de dicetilfosfato que diminui a agregação pela repulsão eletrostática entre as moléculas (SHEHATA et al, 2016). A figura 4 mostra a estrutura química dos compostos encapsulados em lipossomas e niossomas, citados neste trabalho.



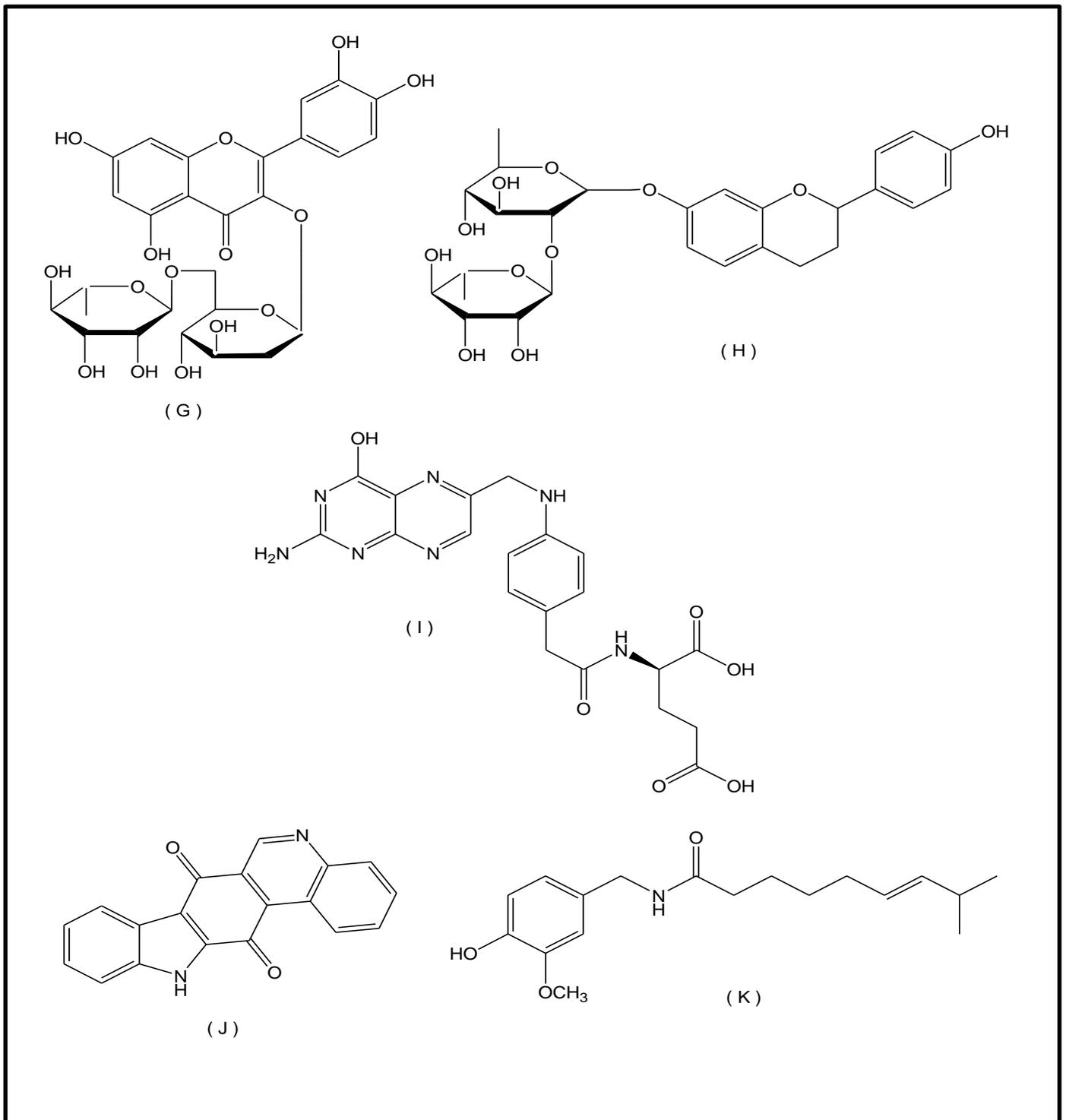


Figure 4. Estrutura química dos compostos encapsulados em lipossomas e niossomas citados neste trabalho. A- cefdinir[®], B- embelin[®], C- diacereína[®], D- itraconazol[®], E- doxil[®], F- ácido retinóico[®], G- rutina[®], H- naringina[®], I- folato[®], J- calothixin B[®], K-capsaicina[®].

Fonte. Camilo CJ, (2018).

3.2.3. Fosfatidilcolinas

As fosfatidilcolinas são os fosfolipídeos mais utilizados na produção de vesículas lipídicas e com maior emprego na área de cosméticos como emulsificadores. São constituídas por misturas de lipídeos de origem natural ou animal, como soja ou ovo respectivamente. Sua estrutura química apresenta um esqueleto de glicerol, esterificado nas posições 1 e 2 (KOLBINA et al, 2017). Essas lectinas fazem parte da composição das membranas biológicas podendo estar presente no plasma sanguíneo como constituinte das lipoproteínas, a figura 5 mostra a estrutura da fosfatidilcolina.

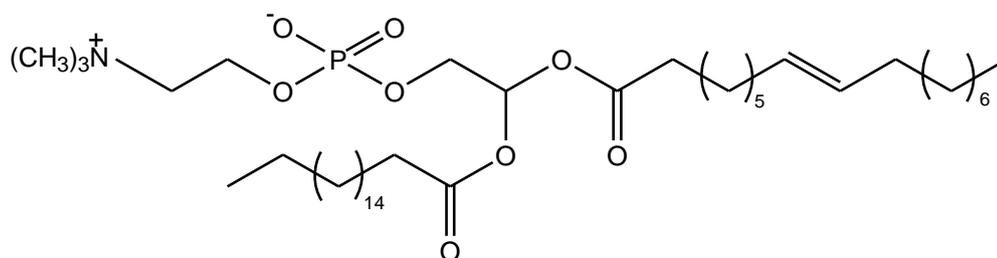


Figura 5: Estrutura química da fosfatidilcolina

Fonte. Camilo CJ, (2018).

São consideradas biocompatíveis e biodegradáveis por não apresentarem carga em pH fisiológico, sendo importantes na estabilização a longo prazo das emulsões. Além disso, as fosfatidilcolinas de cadeia hidrocarbonada saturadas e curtas são consideradas mais potentes para produção de emulsificantes (BRUXEL et al, 2012). A principal característica das fosfatidilcolinas que justifica o seu sucesso na produção de vesículas lipídicas é que as mesmas são anfifílicas, que por sua vez permite a auto-organização e formação de bicamadas em meio aquoso, imitando as membranas biológicas (MERTINS et al, 2008). A formação das várias estruturas ocorre de acordo com as propriedades específicas desses fosfolipídeos, formando normalmente micelas (FRICKER et al, 2010).

A capacidade de imitação de membranas biológicas permite que essas lectinas sejam utilizadas como modelo para estudo da peroxidação lipídica através da oxidação fotoinduzida por compostos como a pterina (THOMAS et al, 2016). Os lipossomas preparados com fosfatidilcolinas saturadas limitam a incorporação de fármacos hidrofóbicos devido a rigidez da membrana, uma alternativa é a incorporação de triglicerídeos de cadeia media ou longa que promovem maior fluidez e o aumento na quantidade de fármaco encapsulado (HONG et al, 2015). O aumento na permeabilidade da membrana também pode ser melhorada pela adição do α -tocoferol, esse composto tende a reduzir o ângulo de inclinação das cadeias de hidrocarbonetos dos fosfolipídeos promovendo uma orientação mais vertical, com passagem de uma fase gel para fase normal (QUINN, 2012).

Lipossomas a base de fosfatidilcolina de soja são mais resistentes a oxidação devido a menor grau de instauração presente na molécula, em comparação com outros fosfolipídeos (RUDOLPHI-SKÓRSKA et al, 2017). As substâncias de caráter lipofílico que são incorporadas podem aumentar de 200 a 500 vezes o seu grau de solubilidade o que permite que lipossomas a base de fosfatidilcolina seja adequado para o estudo com substâncias lipofílicas (CAGNO et al, 2011). Além disso, esses fosfolipídeos possuem temperatura de transição de fase relativamente alta o que promove uma formulação vesicular mais estável (KITAYAMA et al, 2014).

3.2.4. Colesterol

O colesterol é caracterizado pela presença de um anel de esteroide, possui em sua estrutura química 27 carbonos, constituído por uma cadeia hidrocarbonada. É encontrado em todas as membranas biológicas dos animais. A incorporação do colesterol em formulações de vesículas lipídicas tem papel importante na organização, estabilidade, dinâmica e função das membranas, por tanto é importante compreender o papel desse componente em diferentes formulações. A localização do colesterol na membrana das vesículas lipídicas ocorre próximo a interface lipídeo-água com o grupo acilo na região de hidrocarbonetos da bicamada. Esse arranjo modula as propriedades da membrana por interações com as cadeias de acil dos lipídeos (MARQUARDT et al, 2016).

É utilizado nas formulações de vesículas lipídicas com a finalidade de aumentar a estabilidade mecânica da bicamada afetando a sua elasticidade, o estudo de Somjid et al, (2018) mostra que formulações niossomais apenas com surfactantes, exemplo span 60, são mais vagas, no entanto, quando o colesterol é adicionado há uma interação entre a água e os grupos principais do surfactante, levando uma maior resistência mecânica do sistema. Quando a concentração do colesterol é aumentada as vesículas tendem a aumentar de tamanho, assim como se tornam mais rígidas e as membranas menos fluídas. Essa característica interfere diretamente na liberação da substância encapsulada pois, um sistema mais rígido promove a diminuição ou tempo mais longo na entrega da droga (KADDAH et al, 2018). A figura 6 mostra a estrutura do colesterol.

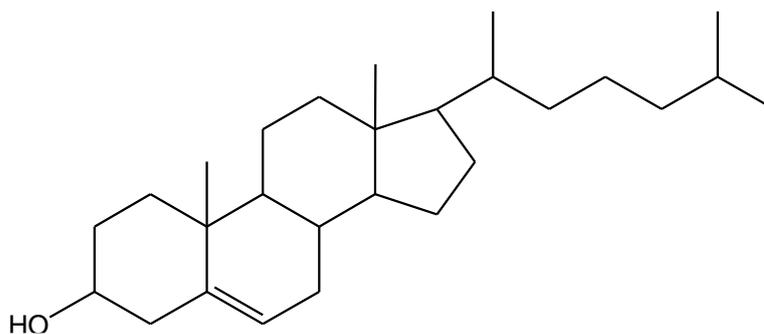


Figura 6. Estrutura química do colesterol.

Fonte. Camilo CJ, (2018).

Em contrapartida quando o colesterol é adicionado em membranas fosfolipídicas em concentrações fisiológicas, ele é capaz de regular a rigidez da membrana ao mesmo tempo em que permite a sua fluidez, devido sua alta mobilidade lateral (ARRIAGA et al, 2017). O aumento da estabilidade física das vesículas ocorre por que a inclusão do colesterol promove o aumento da distância entre os grupos de cabeça carregados da membrana, podendo ainda maximizar o contato entre as cadeias hidrocarbonadas vizinhas (KUO et al, 2018). Em relação a sua participação na fusão de membranas já foi demonstrado sua importante participação na agregação de membranas lipídicas, dependendo da sua concentração e temperatura, no entanto, essa capacidade de

formação de misturas fusogênicas nem sempre está ligada a desestabilização na bicamada das vesículas (IBARGUREN et al, 2015).

O colesterol usado em proporções molares 1/1 formam vesículas mais estáveis e com capacidade maior de encapsulação, tal característica está relacionado a capacidade de diminuição da permeabilidade da bicamada e conseqüente diminuição na taxa de degradação por fatores como a luz, pH e temperatura (RAVAGHI et al, 2016). As vesículas apresentam alto valores negativos de potencial zeta proporcionando repulsão eletrostática e uma nanoemulção relativamente estável (GUNES et al, 2017).

3.2.5. *Surfactantes não-iônicos*

Os surfactantes são estruturas orgânicas compostas por anfifílicas, ou seja, caracterizada por duas regiões, uma polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica. Especialmente os surfactantes não iônicos são mais utilizados na preparação de vesículas lipídicas por apresentarem equilíbrio entre as regiões hidrofílica e lipofílica, são derivados do polioxietileno e polioxipropileno. Os exemplos mais comuns são os polissorbatos e sorbitans (SILVA et al, 2015).

A utilização de surfactante não-iônico para formulação de vesículas lipídicas é uma das alternativas para superar desvantagens encontradas em formulações tradicionais que são a base apenas de fosfolipídeos. Esses compostos conferem a vesícula biocompatibilidade, estabilidade, flexibilidade, além de se adequarem aos métodos já utilizados. Os surfactantes podem interagir com as membranas vesiculares e alterar a tensão superficial das mesmas, através do aumento da solubilidade uma vez que os surfactantes podem se inserir dentro da bicamada (CHABANON e RANGAMANI, 2018).

Os polissorbatos são os surfactantes não-iônicos mais utilizados, pois possuem a capacidade de formar vesículas sem a presença do colesterol, isso ocorre devido a presença de uma fração hidrofóbica maior na molécula, tendo por tanto menor solubilidade em água o que promove a organização em sistema coloidal (JUNYAPRASERT et al, 2012). Um exemplo é o polioxietileno monooleato de sorbitano-80 (tween 80) que é um tensoativo amplamente aceito em formulações farmacológicas, devido a presença de uma cadeia de polioxietileno que confere equilíbrio entre os domínios hidrofílicos e lipofílicos (KAUR e MEHTA, 2017). O

estudo realizado por Alomrani et al, (2015) mostrou que a entrega do fármaco itraconazol[®] na pele, estrato córneo, é aumentada quando o composto é incorporado a niossomas preparados com tween 80, aumentando o efeito antifúngico do fármaco.

Quando a concentração do surfactante não iônico é aumentada na formulação, promove um aumento das interações hidrofóbicas com a droga, um exemplo é a incorporação da curcumina, onde pode ocorrer uma ligação mais forte entre esse composto e a membrana lipídica promovendo alta estabilidade da formulação (WANG e GAO, 2018; RAVAL et al, 2017). Junyaprasert et al, (2012) mostraram que niossomas a base de tween 60 são transportadores eficientes na entrega dérmica do ácido elágico. Tal característica está relacionada a baixa capacidade que o tween 60 tem em solubilizar estruturas a base de fosfolipídeos, o que confere a essa molécula potencial para formação de vesículas lipídicas para o transporte de substâncias (LIM e LAWRENCE, 2004).

Outro surfactante bastante utilizado para a preparação de vesículas lipídicas são os sorbitans (span 60 e span 80), já foi demonstrado que vesículas preparadas com span 80 são mais flexíveis e sua membrana possui maior fluidez comparada a lipossomas preparados apenas com fosfolipídeos (HAYASHI et al, 2011). Em um estudo de liberação do composto resveratrol verificou-se que formulações a base de span 60 promove a liberação do composto de forma mais lenta quando comparado a formulações a base de span 80 (PANDO et al, 2013).

Em contrapartida vesículas formadas com span 80 são bons carreadores de antígenos e quando liofilizados obtêm estabilidade de até 9 meses (FREIXEIRO et al, 2017). A alta estabilidade das vesículas preparadas com span 80 é confirmada pelo estudo de Hua e Liu (2007) onde foi demonstrado que formulações com span 80 e PEG 400 são altamente estáveis, podendo permanecer cerca de um ano sem alterações em sua morfologia e tamanho, isso ocorre devido a regulação da hidrofílicidade que a molécula de PEG oferece, sendo que a molécula Span 80 tem alta capacidade hidrofóbica o que a torna menos propícia a formação de vesículas.

Um aumento na concentração de surfactante leva a diminuição do tamanho da vesícula, assim como pode reduzir a agregação e aumentar a estabilidade da formulação pelo aumento de carga, sendo que a eficiência do aprisionamento da substância não

depende somente do surfactante, mas também da estrutura da substância a ser encapsulada (BNYAN et al, 2018).

Outro surfactante não iônico utilizado para formulações é a família Brij, sua molécula contém uma cadeia hidrofílica do grupo oxietileno e uma hidrofóbica composta por hidrocarbonetos. São considerados interessantes para formulações de vesículas lipídicas por terem baixa toxicidade e serem bons solubilizantes (RIBEIRO et al, 2012). Lipossomas preparados com Brij de cadeia curta (Brij30 e Brij35) possuem potencial de encapsulação baixa, enquanto que as formulações preparadas com Brij52 e Brij56 tem capacidade de incorporação maior que 80%, tendo ainda um perfil de liberação de substância ideal (TAGAMI et al, 2011). Niossomas preparados com Brij 72 e Span 20 demonstram rápida capacidade de eliminação do sistema sanguíneo, no entanto, quando é adicionado PEG na membrana as vesículas permanecem mais tempo no sistema (SHEHATA et al, 2016). A figura 7 mostra as estruturas químicas dos surfactantes não-iônicos mais utilizados para formulações de vesículas lipídicas.

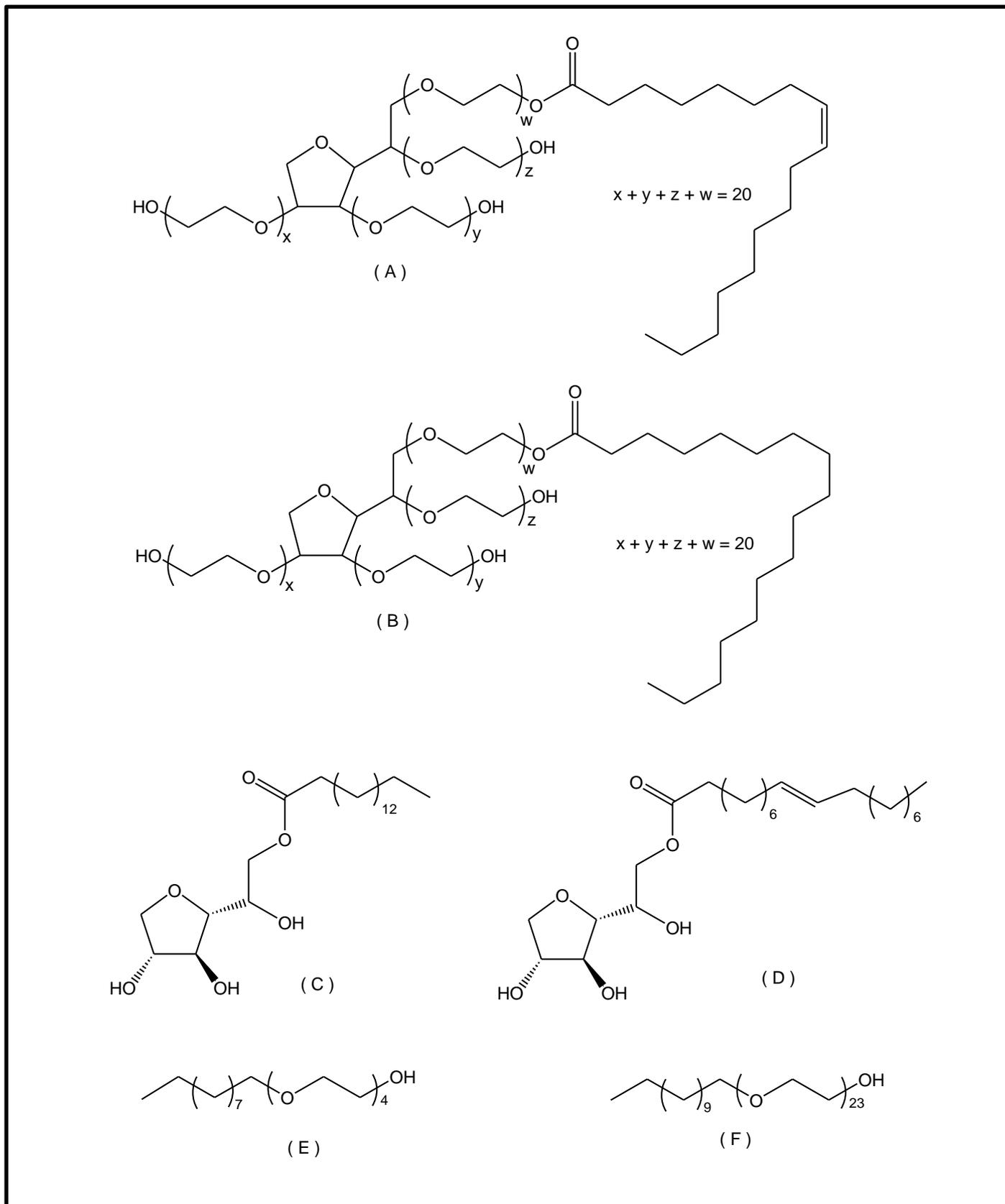


Figura 7. Surfactantes não- iônicos: A- tween 80, B- tween 60, C- span 60, D- span 80, E- brij 30, F- brij 35.

Fonte. Camilo CJ, (2018).

3.2.6. Aspectos físico-químicos

A caracterização das vesículas é um fator importante que pode influenciar na estabilidade, durabilidade, direcionamento, localização, acumulação e eliminação da substância encapsulada, tendo influência direta no comportamento da nanopartícula dentro do sistema biológico. Um dos fatores físico-químicos mais importantes que devem ser analisados antes mesmo da produção da vesícula é a temperatura de transição de fase em que se encontra os fosfolipídeos que serão utilizados na formulação. Este parâmetro está diretamente ligada à fluidez e à estabilidade da membrana, uma vez que a temperatura de transição é uma ferramenta importante para a compreensão de diversos sistemas coloidais (MATSUKI et al, 2017). Geralmente a variação da temperatura ocorre quando é adicionado algum componente à membrana vesicular, sendo influenciada pelo grau e o ponto de ramificação das vesículas de fosfolipídeos hidratados (NATALIE et al, 2016). A incorporação de substâncias como o colato de sódio diminui a temperatura de transição da formulação, deixando-a mais flexível (ABDEL-HAFEZ et al, 2018).

Outro fator importante a ser analisado é a carga superficial (potencial *zeta*) e o tamanho da partícula, uma vez que estas características podem afetar a estabilidade da formulação. O potencial *zeta* tem influência direta da densidade de carga superficial da vesícula e a sua determinação pode fornecer a orientação de compostos na vesícula, como aminoácidos (MORINI et al, 2015; DISALVO e BOUCHET, 2014). Quando o potencial *zeta* é muito baixo significa que a vesícula tem baixa ou nenhuma carga superficial e não consegue se repelir, o que pode levar a agregação, sendo esse potencial um indicador da estabilidade de sistemas coloidais (GUTIÉRREZ et al, 2016).

Ravaghi et al, (2016) mostraram que o potencial *zeta* de niossomas é influenciado pelo tipo de surfactante utilizado, sendo que preparações com Span 60 tem melhores valores de potencial, e maior tempo de estabilidade. A quantidade de colesterol utilizado na formulação também influencia nesses valores, tendo correlação inversa entre quantidade de colesterol e valor do potencial, sendo considerados valores ideais de potencial *zeta* $\pm 30\text{mV}$ ou superior a este (TAHARA et al, 2018). Os valores de potencial podem ser melhorados pela adição de agentes indutores de carga como o fosfato de dicetila que são ideais para formulações que não apresentam potencial *zeta*

superior a 30mV e são instáveis, eles induzem a estabilidade da vesícula evitando a sua agregação (KHAN et al, 2016).

Alguns fatores físico-químicos tem influência sobre os valores de potencial zeta, um dos mais importantes é o pH, sendo que a obtenção de valores altos ou baixos estão correlacionados com o pH ácido ou básico, respectivamente. A força iônica também é importante, sendo que seu aumento tende a diminuir os valores do potencial. O estudo desses fatores está relacionado com a estabilidade do sistema coloidal (BHATTACHARJEE, 2016).

3.3. Técnicas para obtenção de lipossomas e niossomas

As técnicas de produção de niossomas e lipossomas são diversos e levam a formação de diferentes vesículas, com tamanhos e quantidade de lamelas diferentes. Algumas técnicas tem maior destaque em laboratórios, pois são consideradas de fácil reprodução e mais seguras. Merece destacar que em todos os métodos realizados são utilizados algum dos componentes: lipídeos como as fosfatidilcolinas (soja ou ovo), esteróis como o colesterol e surfactantes não-iônicos, sejam combinados ou em formulações diferentes (CHORILLI et al, 2006). Assim, como também necessitam de algum tipo de energia seja por agitação, sonicação ou centrifugação. A utilização de energia é necessária para produzir tamanhos uniformes. Geralmente a quantidade dos componentes é decidida a partir de vários testes com diferentes proporções molares, até obter a formulação desejada. Os métodos relacionados a seguir indicam como as técnicas são desenvolvidas na maioria das pesquisas realizadas com vesículas lipídicas.

3.3.1. Hidratação do filme lipídico

Esse método foi desenvolvido por Bangham e colaboradores (1965), sendo um dos mais utilizados para formulações de vesículas lipídicas. Ao longo dos anos tem sofrido várias adaptações visando seu aperfeiçoamento.

Inicialmente deve ser preparada uma solução contendo fosfatidilcolina, colesterol e um tensoativo não-iônico, como tweens ou polisorbatos, esses componentes devem ser diluídos em uma mistura de solventes orgânicos (clorofórmio/etanol). A partir desta solução será obtido um filme lipídico através da evaporação do solvente com auxílio de uma bomba a vácuo. É importante que todo o solvente seja evaporado. O filme deve ser

hidratado com água ou solução tampão por um período em que seja possível a soltura total do filme das paredes do balão (aproximadamente 30 minutos). É necessário que seja empregado algum tipo de energia para que haja formação das vesículas lipídicas, geralmente são utilizadas a sonicação por 5-10min ou agitação em vortex (ABAEE e MADADLOU, 2016).

Uma desvantagem deste método é a formação de micropartículas em conjunto com as nanopartículas, esse problema pode ser resolvido por agitação que promove a homogeneização e uniformidade das partículas. Outro impasse é a quantidade de substância hidrofílica a ser encapsulada, sabendo que grande parte destas podem ficar dissolvidas no meio aquoso em que a vesícula foi formulada (ELOY et al, 2014). Lipossomas preparados por este método são importantes no estudo com substâncias anticancerígenas, pois permitem que pequena quantidade da droga seja eficaz em até 99% na diminuição de células cancerígenas. Podem promover o direcionamento das substâncias e são capazes de passar por barreiras como a hematoencefálica (SINGH, 2018; SUN et al, 2018; ZHAO et al, 2018).

3.3.2. Injeção de etanol

Descrito pela primeira vez por Batzri e Korn (1973) como alternativa para preparação de vesículas pequenas unilamelares. Atualmente é utilizado para o desenvolvimento de diversas estruturas com diferentes tamanhos a partir de adaptações na quantidade de componentes utilizados (CHARCOSSET et al, 2015). Uma mistura de surfactante com etanol é injetada com ajuda de uma seringa, aproximadamente 130 mL/h em solução aquosa à 40°C sob agitação constante de até 5000 rpm, com ajuda de um homogeneizador. A formação das vesículas ocorre no momento em que há o contato da solução orgânica com a aquosa, no entanto, é necessária a agitação vigorosa para obtenção de tamanhos mais estreitos e uniformes. Após aproximadamente 5 minutos o etanol deve ser removido com ajuda de evaporador rotativo sob pressão reduzida. As vesículas permanecem na fase aquosa e podem necessitar de algum tipo de energia, por agitação ou sonicação (GUTIÉRREZ et al, 2016). Esse é um dos métodos mais simples e bastante utilizado por ser facilmente reproduzível.

Niossomas preparados por este método possuem eficiência de encapsulamento maior quando comparado ao método de hidratação do filme, além disso a substância encapsulada possui maior capacidade de penetração quando aplicada na pele (PANDO et al, 2015). Toniazzo et al, (2017) mostraram que lipossomas carregados com quercetina formulados por este método apresentam boa estabilidade e potencial *zeta* de -17 mV, tais características são típicas de vesículas pequenas e com boa estabilidade. A obtenção de tamanho pequeno das vesículas por esse método é confirmado no trabalho de Liang et al, 2016, que obtiveram tamanhos de 60nm.

3.3.3. *Evaporação de fase reversa*

O surfactante e os lipídeos são diluídos em mistura de solventes orgânicos (éter etílico, clorofórmio, etanol ou metanol) em diferentes proporções molares. A essa mistura é adicionado solução tampão e/ou água e sonicado por 10 minutos. O solvente é evaporado com ajuda de evaporador rotativo sob pressão reduzida, para que haja a formação de gel que em seguida deve ser reidratado com solução aquosa. A não dissociação do gel viscoso pelo contato entre as vesículas faz-se necessário alta agitação para separação e obtenção final das vesículas lipídicas (OJEDA et al, 2016).

Niossomas preparados por esse método apresentam tamanho nano-escalonado que são apropriados para entrega de genes, possuem valores altos e positivos de potencial *zeta*, o que assegura a estabilidade das vesículas (Attia et al, 2018). A formulação de lipossomas convencionais por este método promove maior potencial de encapsulação quando comparado aos métodos de hidratação do filme e injeção de etanol, sendo que as vesículas formadas possuem potencial *zeta* ideal com formas regulares e uniformes (WANG et al, 2016)^b.

Em outro estudo foi demonstrado a eficiência de aprisionamento da curcumina em lipossomas preparados por este método, sendo evidenciado o aumento da liberação da substância em lipossomas cobertos com quitosano (CUOMO et al, 2017). Também foi observado um aumento na liberação do fármaco gemcitabina[®] pela incorporação em lipossomas com tratamento a laser. A produção de vesículas por esse método mostra-se eficiente na obtenção de formulações com potencial para liberação controlada de substâncias úteis para o tratamento de diferentes doenças (FUSÍVEL et al, 2018).

3.4. Atividades biológicas do gênero *Stryphnodendron* sp.

O gênero *Stryphnodendron* (Fabaceae) possui cerca de 48 espécies distribuídas pelos biomas brasileiros Cerrado e Caatinga. Estão representadas por árvores e arbustos, sendo popularmente conhecidas como “barbatimão” (Figura 8) (OLIVEIRA et al, 2014). Em trabalhos etnobotânicos suas espécies são indicadas para o tratamento de inflamações, cicatrizes, diarreia, contra parasitas e com efeito antisséptico. São verificadas diversas formas de uso dessas plantas tendo como exemplos os chás, cozimentos e garrafadas, sendo na maioria das vezes ingerida por via oral (OLIVEIRA et al, 2014; SILVA et al, 2010).



Figura 8. Representante do gênero *Stryphnodendron*

Fonte: Ribeiro DA, (2017)

As pesquisas com espécies do gênero *Stryphnodendron* estão relacionadas com a presença de taninos em sua composição química. Esses compostos conferem aos vegetais propriedades como adstringência, ação anti-inflamatória, antimicrobiana e outras atividades biológicas. Além disso, são utilizadas na indústria de couro e na fabricação de tintas, tendo importância na fitoterapia e na indústria (MONTEIRO et al, 2005; FONSECA e LIBRANDI, 2008).

Apesar de ser citado em muitos trabalhos a existência de uma grande quantidade de taninos em espécies de barbatimão, ainda são poucos os estudos que relatam o isolamento desses compostos (SANTOS et al, 2006; LOPES et al, 2009; ZOCOLER et al, 2009; ALMEIDA et al, 2010). Isso pode ser demonstrado através do levantamento de dados feito no período de 22 anos com espécies desde gênero (Tabela 1).

Foi verificado que das 21 espécies estudadas em apenas três foi possível o isolamento de taninos. Isso pode ser explicado pela dificuldade existente no isolamento desses compostos por conta de suas características químicas, como peso molecular e alta polaridade, além de serem facilmente reativos capazes de formar pontes de hidrogênio intra e intermoleculares (MONTEIRO et al, 2005).

Em relação as atividades biológicas citadas para esse gênero, a antimicrobiana foi relatada para as três espécies, sendo relacionada à diversidade de compostos presentes nessas plantas. Lopes et al (2005) afirmam que a molécula ativa contra microrganismos presente no extrato de *S. polyphyllum* possivelmente esteja diluído na mistura complexa de compostos presentes no extrato, enquanto Sanches et al (2005) associaram a atividade antifúngica das frações de *S. obovatum* aos taninos.

Souza et al, (2007) avaliaram a atividade antioxidante e antimicrobiana de frações obtidas da espécie *S. adstringens* e comprovaram que as frações mais polares, ou seja, as que continham provavelmente maior concentração de taninos tiveram melhor resultado para as duas atividades testadas, quando comparado as frações obtidas com clorofórmio. No estudo de Faria Luiz et al (2015) foi verificado que esta espécie é promissora para o tratamento de biofilme formado por espécies de *Candida*.

No estudo realizado por Aguiar-filho et al (2013) com a espécie *Stryphnodendron fissuratum* foi verificado que a ingestão das suas favas provocavam intoxicação em bovinos podendo levar a má formação em filhotes. O autor explica que a toxicidade das favas pode estar relacionada a sua composição química, onde nos testes fitoquímicos apresentou taninos hidrossolúveis, proantocianidinas, leucoantocianidinas e saponina triterpenóide β -amirina, tais compostos em grandes quantidades podem se tornar tóxicos.

Dentre as três espécies estudadas *Stryphnodendron adstringens* foi a mais referida com sete trabalhos. Essa vantagem pode ser explicada por essa espécie ser

citada em muitos estudos etnobotânicos, sendo indicada para o tratamento de diversos males o que chama a atenção de pesquisadores para a descoberta de novos princípios ativos naturais provenientes deste gênero (RODRIGUES e CARVALHO, 2001; SOUZA e FELFILI, 2006).

A espécie *Stryphnodendron adstringens* já foi avaliada quanto a sua genototoxicidade a partir de uma fração rica em proantocianidina extraída das cascas do seu caule e testado em camundongos, como resultado foi observado que a fração é segura em relação a genotoxicidade (COSTA et al, 2010). Por outro lado, foi demonstrado que o uso prolongado do extrato de barbatimão produz efeitos tóxicos em camundongos (REBECCA et al, 2003). Esse efeito pode estar relacionado a capacidade que o extrato dessa espécie tem em provocar o desacoplamento da fosforilação oxidativa, inibição do transporte de elétrons mitocondrial e inibição da ATP-sintase quando ingerido por via oral por tempo prolongado (REBECCA et al, 2003).

Tabela 1. Taninos e atividades biológicas do gênero *Stryphnodendron* sp.

Espécie	Parte utilizada	Compostos	Atividades biológicas	Referência
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Folhas; Cascas do caule	Galocatequina; epigalocatequina; 3-O-galato de epigalocatequina; Proantocianidina; Delfinidina; prodelfinidina	Antifúngica; Anti-inflamatório;	MELO et al, 1996; MELO et al, 1999; SANTOS et al, 2006; ISHIDA et al, 2006; ISHIDA et al, 2009; NASCIMENTO et al, 2013; HENRIQUES et al, 2016.
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>	Folhas; Cascas do caule	Delfinidina; Galocatequina; Epigalocatequina; epigalocatequina- (4 β →8)- galocatequina	Antimicrobiana	SANTOS et al, 2006; LOPES et al, 2005
<i>Stryphnodendron obovatum</i> Benth.	Cascas do caule	Galocatequina; Epigalocatequina; epigalocatequina- (4 β →8)- Galocatequina; metilgalocatequina	Antioxidante; Antifúngica; Leishmanicida	SANCHES et al, 2005; ZOCOLER et al, 2009; LOPES et al, 2009; RIBEIRO et al, 2015.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material vegetal e identificação botânica

O material testado foi as cascas da espécie *S. rotundifolium* conhecida popularmente como “barbatimão”. As amostras vegetais foram coletadas na Chapada do Araripe em uma área de Cerrado situada no sítio Barreiro Grande Crato, Ceará. Foram coletadas amostras vegetais de quatro espécimes com distância aproximada de 1m². As cascas foram selecionadas e em seguida mantidas em estufa a 60°C por 24 horas para a retirada total da água.

Uma exsicata foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima na Universidade Regional do Cariri-URCA afim da certificação da identificação científica da espécie. O número de registro foi de #33621.

4.2. Reagentes químicos e solventes

Todos os solventes e reagentes utilizados foram de pureza com grau analítico.

Acetona; Ácido acético; Ácido clorídrico; Ácido tilbarbitúrico (TBA), Ácido tricloro acético (TCA); ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)-ABTS; Água destilada; Álcool etílico 70%; Álcool metílico PA; Cloreto férrico; Clorofórmio; Colesterol; Desoxirribose Dragendorf; Éter de petróleo; Fenantrolina; Fosfatidilcolina; Fosfato de potássio mono e dibásico; Hidróxido de sódio; Peróxido de hidrogênio; Persulfato de potássio; Sulfato ferroso; TRIS-HCl; Tween 80.

4.3. Obtenção da fração fenólica

Inicialmente 20 g das cascas secas trituradas foram colocadas em contato com 50 mL de solução de acetona: água (7:3), usando banho ultrassônico, com temperatura de 5° C, durante 30 minutos. Após esse período a solução foi filtrada e o procedimento repetido por mais três vezes. O resíduo sólido foi descartado e as fases líquidas combinadas e concentradas em evaporador rotatório até a completa evaporação da acetona. A fase aquosa foi particionada com éter de petróleo 20 mL (3 x), seguida de destilação em evaporador rotativo e liofilização.

4.4. Prospecção química

Uma solução contendo 300 mg da fração fenólica foi diluída em 30 mL de etanol 70%. Alíquotas contendo 3 mL desta solução foram submetidas a adição de reagentes ácidos e básicos para a observação da mudança de cor e/ou formação de precipitado, indicando a classe de metabólito secundário presente (MATOS, 1997).

4.5. Formulação e caracterização do niossoma da fração fenólica do barbatimão

O niossoma foi preparado pelo método de hidratação do filme, onde foram pesadas 90 mg de fosfatidilcolina de soja, 10 mg de Tween 80 e 20 mg de colesterol no mesmo recipiente. O material foi diluído pela mistura de clorofórmio e etanol 5/1 em 5mL e transferido para um balão de fundo redondo. Evaporou-se o solvente com ajuda de uma bomba a vácuo, girando lentamente até obter um filme uniforme. Após sair o excesso de solvente o filme permaneceu em uma secadora com auxílio de vácuo por 1h para total retirada do solvente. Após esse período o filme foi hidratado com uma solução aquosa de 0,2 mg/mL da fração fenólica. A hidratação permaneceu por 1 hora e depois foi agitada em vortex até a soltura do filme e formação das vesículas lipídicas. A solução foi sonicada por cinco minutos com amplitude 60 Htz para obtenção dos niossomas. O procedimento de obtenção dos niossomas está mostrado na figura 9.



Figura 9. Obtenção do filme lipídico e posterior formação dos niossomas.

Fonte: Camilo CJ, (2018).

4.5.1. Caracterização das vesículas

4.5.1.1. Tamanho média, polidispersão e potencial zeta

Cada formulação do niossoma foi diluída em solução de Tampão fosfato pH 6,5 e analisadas em potenciômetro *zeta*, a fim de medir o tamanho médio, a polidispersidade e o potencial *zeta* das vesículas.

4.5.1.2. Eficiência do encapsulamento

A eficiência do encapsulamento foi realizada por análise de espectrofotometria. O teor livre de compostos fenólicos foi obtido por centrifugação a 3000 rpm durante 60 minutos a 25°C. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro a 292nm. A eficiência do encapsulamento foi definida pela equação 1:

$$EE = \frac{CT - CL}{CT} * 100$$

Onde: EE= Eficiência de encapsulamento; CT= Conteúdo Total; CL= Conteúdo Livre.

4.6. Ensaio Antioxidantes

Todos os ensaios antioxidantes buscaram comparar a atividade da fração do barbatimão sozinho com a fração encapsulada em niossomas. Os métodos utilizados demonstram alguns dos mecanismos em que as amostras podem agir como antioxidantes. Preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra. Previamente os niossomas foram incorporados em um gel de carbopol que possibilitou a obtenção das concentrações de 60%, 30% e 15%. Em relação a fração, a concentração testada foi de 0,2 mg/mL, pois foi a concentração encapsulada nos niossomas.

4.6.1 Ensaio antioxidante *in vitro* pela capacidade de sequestrar o radical ABTS^{•+}.

Para a realização do ensaio utilizou-se o cátion radical ABTS^{•+}, que apresenta coloração azul-esverdeada forte e pode ser formado pela oxidação do sal diamônio do ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) com persulfato de potássio (K₂S₂O₈) (RE et al, 1999). Esta análise baseia-se na capacidade do composto antioxidante em reduzir o ABTS^{•+} pela doação de um elétron ao radical, causando a

descoloração da solução e consequente diminuição da absorbância em 734 nm. A figura 10 mostra a reação de estabilização do $ABTS^{\bullet+}$ por um antioxidante.

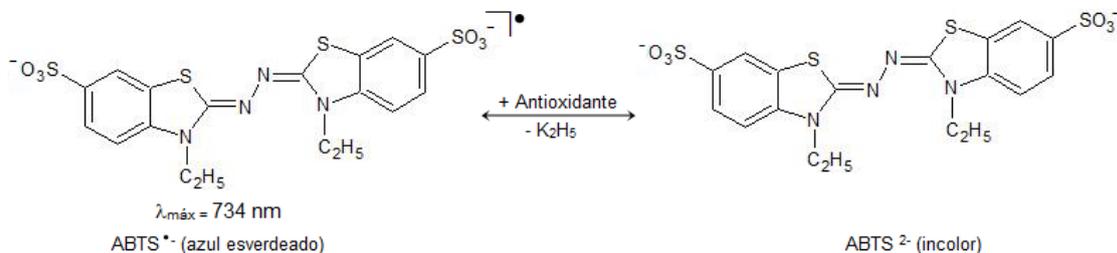


Figura 10. Reação de estabilização do radical $ABTS^{\bullet+}$ por um antioxidante.

Fonte: Camilo CJ, (2018).

Para a realização do teste inicialmente foi preparada a solução de $ABTS^{\bullet+}$ que permaneceu durante 16 horas ao abrigo da luz, após este período a solução foi estabilizada com solução Tampão Fosfato de Potássio a pH 7,3. Em seguida foi adicionada diferentes concentrações dos niossomas (15%, 30% e 60%) à 1985 μ L da solução de $ABTS^{\bullet+}$, esperou-se 5 min para a leitura em espectrofotômetro UV-Visível à 734 nm. Para obtenção dos resultados em porcentagem de inibição foi empregado a equação 2:

$$\text{Atividade antioxidante} = [(A_0 - A_x) / A_0 \times 100]$$

Onde: A_0 = Absorbância do controle ABTS; A_x = Absorbância da amostra.

4.6.2. Ensaio antioxidante *in vitro* pela capacidade quelante de íons Fe^{2+}

A técnica foi adaptada de Puntel et al. (2005). As soluções de Fenantrolina 0,25% em etanol, $FeSO_4$ 2mM aquosa e TRIS HCl 0,1M (pH 7,4) aquosa foram preparadas. Cada amostra nas concentrações de 15%, 30%, 60% foram diluídas em metanol. As amostras do teste foram preparadas conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Preparado de soluções para o teste Quelante de íons Fe²⁺

	H ₂ O	TRIS-HCl 0,1M, pH 7,2	Amostra	FeSO ₄ (2 mM)
Controle	838 µL	336 µL	---	---
Amostra	438 µL	336 µL	100 µL	300 µL
Branco	538 µL	336 µL	---	300 µL

Todas as amostras foram incubadas, ao abrigo da luz, por um período de 5 minutos, em seguida procedeu-se a adição de 26 µL de Fenantrolina 0,25%. A absorbância foi medida em um Espectrofotômetro UV-Visível em 510 nm. A capacidade quelante das amostras foram expressas em porcentagem (%) conforme Equação 03.

$$\text{Atividade antioxidante} = 100 - (A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / A_{\text{controle}} \times 100$$

Onde: A_{amostra} = Absorbância de cada amostra; A_{branco} = Absorbância do branco das amostras; A_{controle} = Absorbância do controle negativo.

4.6.3. Ensaio antioxidante *in vitro* pela degradação da desoxirribose

A técnica foi adaptada de Puntel et al (2005). As soluções de Sulfato de Ferro 1 mM, desoxirribose 20 mM, Tampão fosfato de potássio 0,5 M pH 7,5, peróxido de hidrogênio 10 mM, TCA 2,8% e TBA 0,6% foram preparadas. Um volume de 1,5 mL da cada amostra diluída em metanol foi preparado nas concentrações de 25 µg/mL; 10 µg/mL; 5,0 µg/mL; 2,5 µg/mL e 1,0 µg/mL para rutina e para quercetina. O teste foi realizado conforme apresentado na Tabela 3. Todas as amostras foram incubadas por um período de 30 min à 37°C, transcorrido esse tempo todas as amostras receberam 800 µL de TCA, 400 µL de TBA e 500 µL de água, seguida de nova incubação por 20 min em banho fervente (100°C). Realizou-se a leitura da absorbância em um Espectrofotômetro de UV-Visível em 532 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de acordo com a equação 3.

Tabela 3: Preparado de soluções para o teste de degradação da desoxirribose

	H ₂ O	Amostra	TFK 0,5M (pH: 7,4)	Desoxirribose (20mM)	H ₂ O ₂ (10mM)	FeSO ₄ (1mM)
Basal	600 µL	---	80 µL	120 µL	---	---
Induzido	440 µL	---	80 µL	120 µL	80 µL	80 µL
Amostra	340 µL	100 µL	80 µL	120 µL	80 µL	80 µL
Branco	620 µL	100 µL	80 µL	---	---	---

4.6. Análises estatísticas

As análises estatísticas dos testes antioxidantes foram realizadas no programa Prisma versão 6.0. Os valores foram expressos como média \pm DP, utilizando ANOVA de uma via com correção de Greenhouse- Geisser, seguido do teste de múltiplas comparações. O intervalo de confiança foi de 0,05 (95%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fração fenólica e prospecção química

A fração fenólica obteve rendimento de 15,98%, a comprovação da presença de classes de compostos fenólicos foi analisada qualitativamente pela prospecção química, como mostra a tabela 2. Os resultados confirmam a presença das classes dos taninos, flavonoides e fenóis no geral.

Tabela 4: Prospecção química da fração fenólica do barbatimão

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fração fenólica	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-

1: Fenóis; 2:Taninos condensados; 3:Taninos pirogálicos; 4:antocianinas e antocianidinas; 5: Flavonas, flavonóis e xantona; 6: flavononóis; 7: flavononas; 8: chalconas e auronas; 9: leucoantocianidinas; 10: catequinas;11 alcaloides. (+) presente e (-) ausente

A maior concentração compostos fenólicos, dentre eles taninos, ocorrente em espécies do gênero *Stryphnodendron* é no período de floração, onde as características climáticas são favoráveis a produção dessas substâncias (SANTOS et al, 2006). Tendo em vista que a variação sazonal implica diretamente em sua concentração, alguns parâmetros como a temperatura, precipitação e a insolação são consideradas variáveis que podem contribuir para maior diferença no conteúdo total desses compostos (CASTRO et al, 2017).

Sousa et al, (2014) demonstraram que os teores de polifenóis e taninos no extrato da espécie *Stryphnodendron adstringens* foram de 22,95 e 11,95%, respectivamente. Esses compostos são responsáveis por atividades, como a antioxidante, desempenhada pelas espécies de barbatimão, as quais podem ter um potencial de inibição de até 41, 91% de radicais livres (LINS NETO et al, 2016).

Inúmeras atividades biológicas desempenhadas pelos compostos fenólicos já foram descritas, onde destacam-se a anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica, e antioxidante (CUSHNIE e LAMB, 2005). A capacidade antioxidante desses compostos é regulada por características da molécula, como número e posição dos grupos

hidroxilas e posição da glicosilação. Geralmente, tais moléculas agem na retirada do oxigênio livre pela doação de um elétron, impedindo processos como a peroxidação lipídica, gerada pelos radicais superóxido e hidroxil (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al, 2002; BEHLING et al, 2004). A figura 11 mostra o mecanismo geral de neutralização de um radical livre pelos compostos fenólicos.

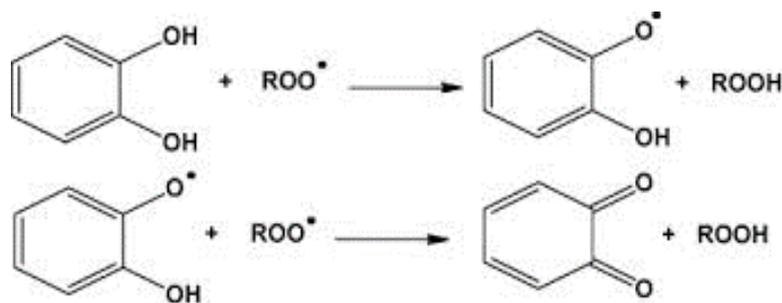


Figura 11. Mecanismo de neutralização de um radical livre pela doação de um átomo de hidrogênio pelo anel fenólico.

Fonte: <http://radicaislivres96.wordpress.com/antioxidantes/>.

Em trabalho de revisão foi demonstrado que maior parte dos estudos etnobotânicos apontam as cascas dessas espécies como a parte mais utilizada para tratamentos de enfermidades, corroborando com estudos químicos que demonstram que a maior concentração de compostos fenólicos está também nas suas cascas (SOUZA-MOREIRA et al, 2018). Extratos que são ricos em taninos possuem boa capacidade cicatrizante e antimicrobiana, sendo estas atividades relacionadas ao aumento da migração celular e prevenção de possíveis infecções por microrganismos (SU et al, 2017). Estudos mostram que frações fenólicas, especialmente as tânicas, obtidas das cascas de espécies *Stryphnodendron* mostram-se eficiente potencial de inibição do crescimento de espécies de fungos (FREITAS et al, 2018).

5.2. Tamanho médio, polidispersão e potencial *zeta*

As vesículas apresentaram tamanho médio de 84,07 nm, com polidispersão (PDI) de 0,2 e media Z de 64,71, indicando boa uniformidade entre as vesículas. Esses parâmetros foram avaliados repetidamente durante 3 meses afim de verificar se houve alterações significativas. Como os valores se mantiveram constantes apenas um gráfico foi mostrado (Figura 12). A análise repetida é necessária para demonstrar a estabilidade

da formulação, sendo que a alteração do tamanho pode influenciar em propriedades como eficiência e estabilidade do sistema (JUNYAPRASERT et al, 2013). Em estudo anterior verificou-se que a estabilidade de lipossomas preparados com fosfatidilcolina se manteve por um período de 3 meses, sem alterações no tamanho, PDI e potencial *zeta* (GULDIKEN et al, 2018).

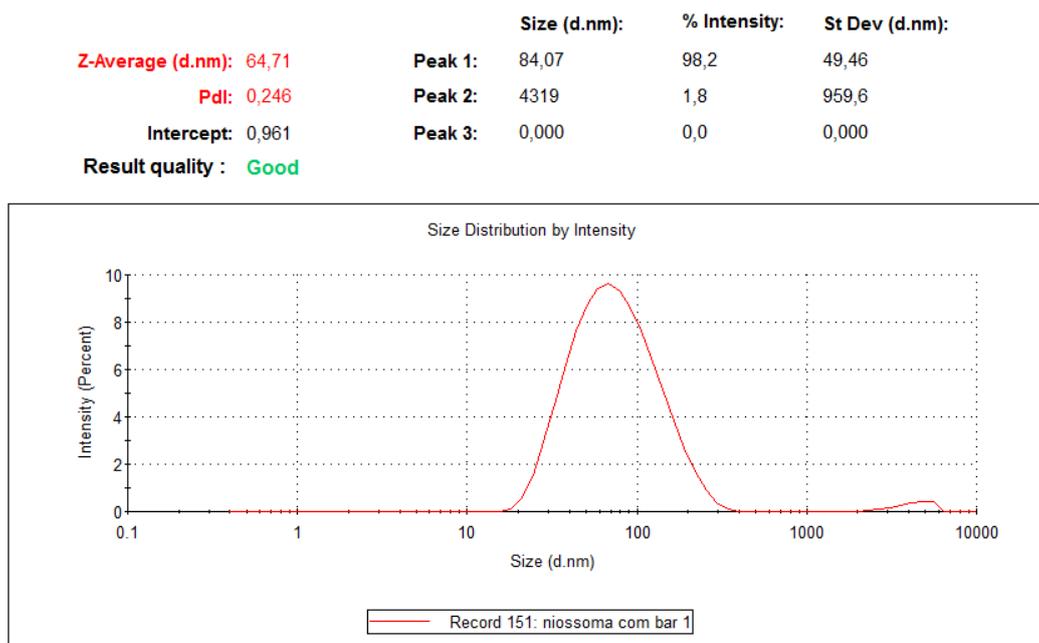


Figura 12. Medição de tamanho, PDI e potencial *zeta* dos niossomas usando o aparelho Zetasize.

Fonte: Camilo CJ, 2017

O tamanho pequeno obtido pode estar relacionado a presença do componente tween 80 que proporciona tamanhos menores do que vesículas preparadas com spans (BASIRI et al, 2017). Exemplo é o trabalho realizado por Puras et al, (2014) onde os niossomas formados obtiveram tamanhos menores quando a concentração de tween 80 foi aumentada. Lipossomas preparados com tween 80 também obtiveram tamanhos aproximados de 100 nm, com índice de polidispersão inferior a 0,3, confirmando a boa homogeneidade das vesículas preparadas com esse surfactante (BORIN et al, 2018). Em contra partida trabalhos mostram que vesículas preparadas com o surfactantes não-iônico span, possuem tamanhos superiores a 200 nm e valores de PDI superiores a 0,4

utilizando diferentes métodos para a formulação (BALAKRISHNAN et al, 2009; NEGI et al, 2017). No trabalho de Borborema et al, (2016) a obtenção de vesículas pela formação de um filme lipídico seguido por sonicação obteve tamanho médio de 162 nm, corroborando com o método utilizado neste trabalho.

O colesterol também pode influenciar na uniformidade da vesícula, sendo que o aumento na concentração desse componente proporciona um aumento no tamanho da vesícula e diminuição no valores de polidispersão (SAINI et al, 2016; TAVANO et al, 2014). Neste trabalho o valor de PDI indicou que a suspensão possui uma população única e homogênea, segundo Pando et al (2015), quando esses valores são maiores que 0,4 não são considerados bons, pois as vesículas não serão estreitas o suficiente para obter uniformidade. Já foi demonstrado que niossomas preparados pelo método de hidratação do filme geralmente possuem valores de PDI igual ou inferior a 0,2, o que indica que o método pode estar relacionado com este parâmetro (HONG et al, 2009; SINGH et al, 2017). O trabalho de Ibrahim e Shehata (2018) mostra que vesículas preparadas com o surfactante tween 80 obtém valores mais baixos de PDI quando comparado a formulações com outros surfactantes.

Outro fator a ser considerado que pode influenciar no tamanho e valor de PDI das vesículas é o tempo de sonicação em que as mesmas são submetidas, sendo que quando o tempo aumenta as vesículas tendem a diminuir de tamanho o que proporciona distribuição mais uniforme (PANDO et al, 2013). Analisando outros trabalhos é possível afirmar que os valores de PDI podem estar também ligados a agitação em que a formulação foi submetida, sendo que quanto maior o tempo e mais vigorosa for a agitação os valores de PDI tendem a diminuir (BORIN et al, 2018; TORRES et al, 2012).

O valor do potencial *zeta* obtido neste trabalho foi de $-50 \text{ mV} \pm 1,3$, indicando a presença de partículas carregadas negativamente. O potencial *zeta* é uma excelente técnica para caracterizar e medir a estabilidade de sistemas coloidais. Quando os valores do potencial estão distantes de 0, seja positivamente ou negativamente significa que a estabilidade das vesículas é excelente, diminuindo a tendência de agregação (MARIANECCI et al. 2012; TAVANO et al, 2016). Vesículas preparadas com a adição de surfactantes não iônicos aos componentes, colesterol e fosfatidilcolina, geralmente aumentam a possibilidade de se obter um potencial *zeta* negativo (VOIGT et al, 2014).

XIA et al, (2015) mostraram que lipossomas preparados apenas com fosfatidilcolina e colesterol pelo método de injeção de etanol obtiveram potencial *zeta* negativo que pode impedir a agregação das vesículas, no entanto o potencial está próximo de zero o que pode dificultar a estabilidade da vesícula com o tempo.

Manca et al, (2014) relacionaram o aumento de potencial negativo a composição lipídica, principalmente por ácido graxos que são carregados negativamente. Em outro trabalho verificou-se que vesículas preparadas sem a presença de surfactantes apresentam potencial zeta baixo, induzindo a baixa estabilidade física proporcionada pelo fenômeno da agregação, sendo ideal que as formulações tenham a presença tanto de fosfolipídios como de surfactantes não iônicos (MAESTRELLI et al, 2017).

5.2.1. Eficiência da encapsulação

A eficiência de encapsulamento da vesícula niossomal foi de 60%. Além da técnica de medida por espectrometria a eficiência de encapsulamento pode ser medida por centrifugação e HPLC, a primeira é mais utilizada pois é facilmente aplicada, é eficiente no resultado e não exige a presença de um padrão (YAMAMOTO et al, 2018).

Mokhtar et al (2008) mostrou que a eficiência no encapsulamento de substâncias está relacionada a estrutura química do surfactante, sendo que a classe dos spans tem capacidade maior de aprisionamento, a qual está relacionada ao tamanho do grupo cabeça da molécula. Um dos requisitos para melhorar a eficiência de encapsulamento é a organização da membrana através da adição de componentes como o colesterol, sendo que o aumento na concentração deste aditivo proporciona uma eficiência de encapsulamento maior, devido a sua capacidade de tornar a membrana mais compacta e menos fluída (HAO et al, 2002).

Os surfactantes que possuem equilíbrio hidrofílico-lipofílico mais alto apresentam eficiência de encapsulamento maior, sendo que a classe dos polissorbatos demonstram maior afinidade com substâncias hidrofílicas principalmente por serem da mesma natureza, proporcionando maior interação com a substância encapsulada (IBRAHIM E SHEHATA, 2018). Outro fator a ser avaliado é a razão molar entre os componentes da formulação, sendo que esta proporção é essencial para determinação da eficiência de encapsulamento e também do tamanho e potencial *zeta* da amostra (ALAM et al, 2018).

A substância que permanece fora da vesícula localiza-se na solução que foi utilizada para hidratação e formação dos niossomas e apesar de não estar dentro do sistema sua atividade deve ser considerada, pois a presença da vesícula lipídica permite maior fluidez em sistemas biológicos e portanto pode promover a passagem da substância não encapsulada. Desse modo, este trabalho utilizou a formulação por completo sem a separação do não encapsulado. Entretanto, fármacos utilizados convencionalmente que possuem dificuldades na entrega e que seu uso provoque muitos efeitos colaterais é importante que sua eficiência encapsulamento seja maior, sabendo que o uso das vesículas lipídicas podem resolver estes problemas (MEHTA e JINDAL, 2013).

5.3. Capacidade da redução do radical ABTS^{•+}

Antioxidantes são descritos como substâncias que em baixas concentrações possuem a capacidade de diminuir ou impedir o processo de oxidação por diferentes mecanismos de ação. A atividade antioxidante da amostra pelo sequestro do radical livre ABTS^{•+} mostrou que os niossomas testados possuem atividade estatisticamente significativa (Figura 13). Foi observado que as três concentrações obtiveram potencial de sequestro maior que 50%, sendo que a de 60% obteve valor maior que 90% de redução do radical ABTS^{•+}.

A análise estatística mostrou ainda que a encapsulação da fração em niossomas promove um aumento na atividade redutora do radical ABTS^{•+}, com maior diferença significativa para o niossoma a 15%, em relação a fração. Esta análise mostra a capacidade de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos em aumentar a doação de elétrons pela amostra para neutralizar o radical livre ABTS^{•+}.

É sabido que formulações que possuem atividade antioxidante são extremamente importantes no auxílio ao tratamento e prevenção de diversas enfermidades, especialmente as que tem como um dos fatores para sua patologia o estresse oxidativo, dentre elas podem-se destacar a diabetes, Alzheimer, câncer, infecções por microrganismos entre outras. Na terapia popular as plantas medicinais são utilizadas como remédio contra tais enfermidades, sendo que estudos científicos apontam que espécies com atividade antioxidante estão relacionadas a diminuição dessas patologias, tendo como principais agentes os compostos fenólicos (SHORI, 2015; PRAUD et al, 2015; STANKOVIĆ et al, 2016; LI et al, 2017).

Dentre as diversas enfermidades destacam-se os processos inflamatórios causados por microrganismos, tendo em vista que um dos resultados dos vários processos envolvidos para eliminar o agente infeccioso é a produção de radicais livres, que por sua vez pode promover um quadro de estresse oxidativo. Com isso, as substâncias antioxidantes podem atuar no equilíbrio desses radicais impedindo danos maiores ao tecido, ao mesmo tempo em que podem controlar a quantidade de espécies reativas formadas (TÜMEN et al, 2018; CAO et al, 2017). A ação das substâncias pode ser diretamente reduzindo o estresse oxidativo como também aumentando a atividade de enzimas como a superóxido dismutase e a catalase que são responsáveis pela manutenção do equilíbrio antioxidante-oxidante no organismo (DWIVEDI et al, 2017; GHLISSI et al, 2016).

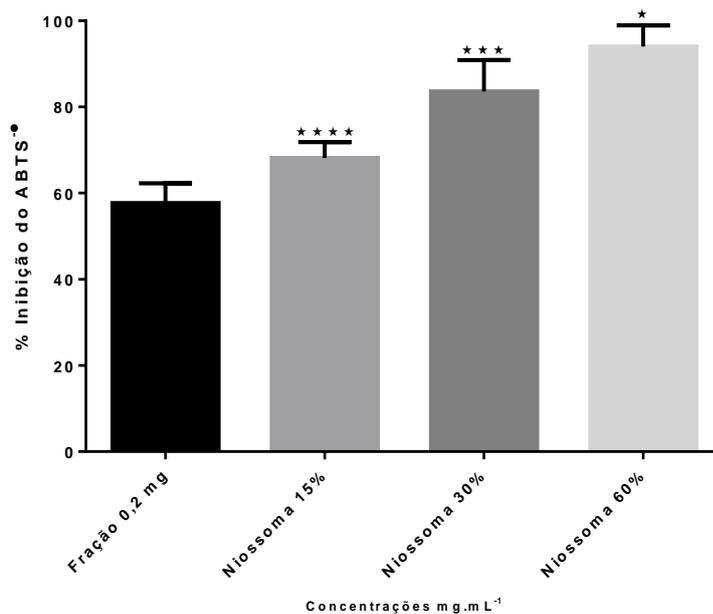


Figura 13. Porcentagem de inibição do radical ABTS^{•+} da fração fenólica e dos niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão, com $p < 0,05$ (ANOVA e teste de Tukey).

Os testes antioxidantes frequentemente mais utilizados para avaliar a capacidade de produtos naturais em reduzir o estresse oxidativo são DPPH, ABTS^{•+}, TBARS e FRAP (KTARI et al, 2017). Os ensaios antioxidantes com o radical ABTS^{•+} são mais utilizados, pois podem ser desenvolvidos com substâncias tanto hidrofílicas como lipofílicas através da doação de elétrons. Quando comparado ao teste DPPH foi demonstrado que o teste ABTS^{•+} possui maior capacidade de determinação da atividade antioxidante, sendo associado a maior absorção de radicais do oxigênio pela amostra (FLOEGEL et al, 2011).

Anteriormente foi demonstrado que taninos condensados obtiveram capacidade antioxidante contra o radical ABTS^{•+}, DPPH e FRAP, promovendo a proteção do DNA contra radicais hidroxila (DENG et al, 2016). Geralmente a atividade antioxidante está relacionada a concentração dos compostos presentes no extrato, sendo que a quantidade de compostos fenólicos, como os taninos em espécies do gênero *Stryphnodendron* é variável com as condições climáticas, tendo sido encontrado seus maiores teores na estação chuvosa (CASTRO et al, 2017).

Outro estudo com a espécie *Stryphnodendron barbadetimam* demonstrou que a mesma possui eficiente capacidade de redução de radicais do oxigênio, sendo este resultado atrelado a quantidade de compostos fenólicos presentes no seu extrato (SILVA et al, 2007). A avaliação de diferentes extratos mostrou que o extrato etanólico possui maior concentração de compostos fenólicos, nesse mesmo estudo foi possível relacionar a atividade antioxidante do extrato com o conteúdo total de compostos fenólicos (SANTOS FILHO et al, 2011).

Ainda são poucos os trabalhos que mostram a capacidade antioxidante da espécie em estudo, Costa et al, (2012) avaliaram a capacidade antioxidante pelo teste de DPPH de diferentes extratos do barbatimão, concluíram que o melhor resultado foi para o extrato hidroalcolico com valor de IC₅₀ de 5,43µg/mL. Nesse mesmo trabalho foi possível detectar a presença de composto como o ácido gálico, catequina, ácido caféico e rutina, que estão diretamente relacionado a doação de elétrons para radicais livres. A capacidade antioxidante relatada para extratos, na maioria da vezes, é observado valores mais baixos de IC₅₀, isso ocorre provavelmente devido a uma interação entre as substâncias presentes no extratos.

5.4. Capacidade quelante de íons Fe^{2+}

Agentes quelantes são utilizados na eliminação de substâncias, como metais, no organismo. O teste quelante está baseado na capacidade da amostra em inibir a formação do complexo $Fe^{2+} + \text{Fenantrolina}$, através de um complexo formado entre a amostra e o íon Fe^{2+} , impedindo reações de fe-ton. Com isso, o teste quelante está baseado na capacidade da amostra em quelar o ferro disponível no meio (BRANCO, 2010). Este trabalho é o primeiro a avaliar a capacidade quelante da fração fenólica de uma espécie de barbatimão, como também o primeiro a avaliar tal atividade a partir da encapsulação desta fração.

Os resultados mostraram que os niossomas obtiveram bons resultados como quelantes, em contrapartida, o resultado não foi estatisticamente significativo em relação a fração, com pouca diferença apenas para os niossomas a 15%. O gráfico permite verificar que o efeito quelante da amostra foi dependente da concentração, sendo que quanto maior a concentração dos niossomas, melhor o resultado observado. A figura 14 mostra os resultados em porcentagem de quelação.

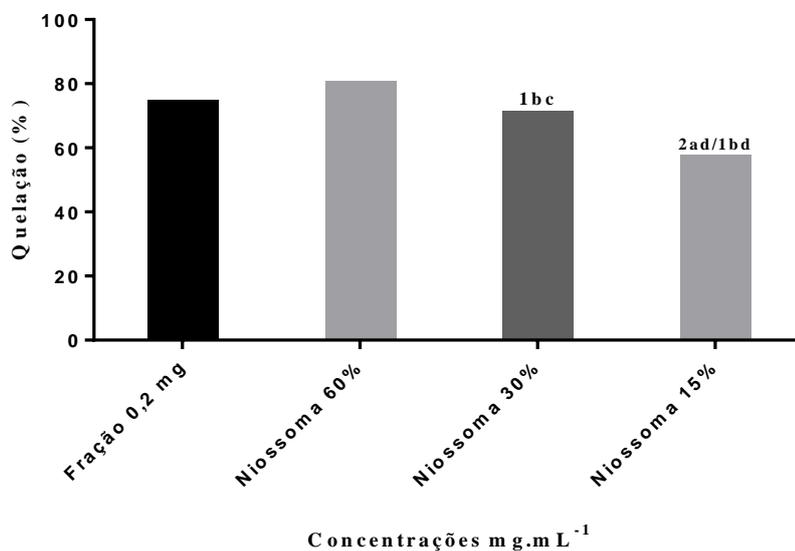


Figura 14. Porcentagem de quelação de íons Fe^{2+} pela fração fenólica sozinha obtida da espécie *S. rotundifolium*, e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão. Fração (a), niossoma 60%(b), niossoma 30% (c) e niossoma 15% (d). Os números 1-4 expressam a significância entre as frações na mesma concentração. 1: $p < 0,05$, 2: $p < 0,01$, 3: $p < 0,001$ e 4: $p < 0,0001$, (ANOVA e teste de Tukey).

O trabalho de Alves, (2010) mostra que alguns compostos fenólicos, como os flavonoides, podem agir como pro-oxidantes na presença de metais de transição. Contudo, o resultado observado pode estar relacionado a grande quantidade de hidroxilas que estão presentes nos taninos, compostos estes que foram indentificados anteriormente na prospecção química. É importante ressaltar que o ferro, embora seja um elemento essencial para sobrevivência, sua alta concentração no organismo pode levar a produção excessiva de espécies reativas do oxigênio, sendo o principal o radical hidroxila. Uma alternativa para o controle na produção desses radicais é uma alimentação rica em compostos fenólicos, que por sua vez são considerados eficientes no sequestro do ferro livre. A figura 15 mostra o mecanismo geral por qual os compostos fenólicos podem formar complexos com o ferro.

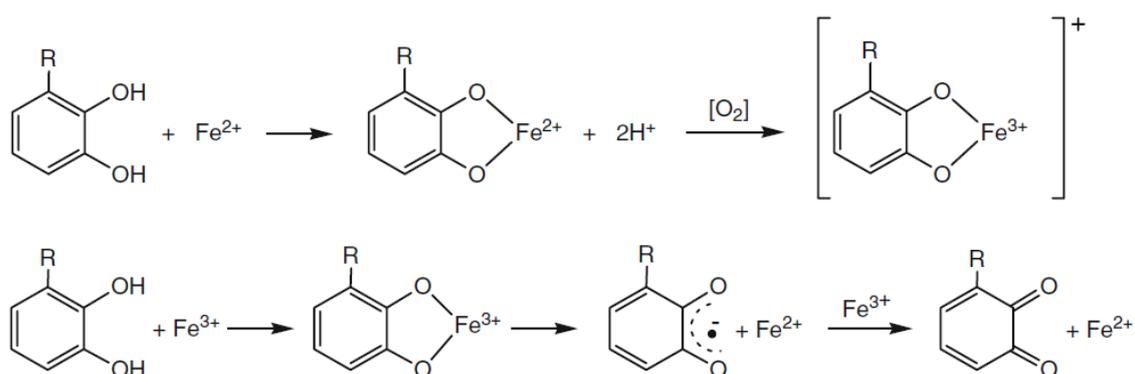


Figura 15. Mecanismo geral de quelação de íons ferro pelo anel catecol.

Fonte: <https://radicaislivres96.wordpress.com/antioxidantes/>

Os antioxidantes, como os compostos fenólicos, podem agir como primários onde atuam na neutralização dos radicais livres impedido a formação e propagação de reações em cadeia oxidativa, ou como secundários, atuando na inibição da formação do radical e desta forma suprimindo o dano oxidativo (Loganayaki e Manian 2010). Dessa forma é pertinente dizer que a fração sozinha, assim como encapsulada pode agir como antioxidante primário e/ou secundário.

5.5. Capacidade de impedir a degradação da desoxirribose

O radical hidroxila é uma das classes de radicais mais reativos, tendo suas principais ações danosas em proteínas, membranas lipídicas e na molécula de DNA. A capacidade de uma substância impedir a degradação da desoxirribose esta relacionada a inativação do radical OH^\bullet , que é originalmente formado a partir de reações de feton ou reações de Haber-Weiss. Sem a presença do antioxidante o radical OH^\bullet promove o rompimento do anel cíclico da desoxirribose, ocasionando a produção malondialdeido (MDA), que combinado ao ácido tilbarbitúrico (TBA) gera um cromóforo de coloração róseo que pode ser absorvido a um comprimento de onda de 530 nm em espectrofotômetro.



A análise da degradação da desoxirribose é um teste que pode possibilitar a avaliação da capacidade de uma amostra antioxidante em agir como doador de elétrons ou átomos de hidrogênio, promovendo o bloqueio dos precursores do radical OH^\bullet , assim como, pode analisar a capacidade da amostra em impedir a ação do ferro sobre o H_2O_2 . Ambos mecanismos vão resultar no impedimento da degradação da desoxirribose (FILGUEIRAS et al., 2009).

Em relação a este ensaio os resultados mostraram baixa capacidade de sequestro do radical OH^\bullet e/ou inibição do ferro pelas amostras, sendo o niossoma à 60% único que apresentou significância estatística em relação à fração (Figura 16). De modo geral as amostra apresentaram poder de inibição menor que 50%, com excessão para o niossoma a 60%. A baixa capacidade de proteção da desoxirribose pelas amostras pode estar relacionado ao baixo conteúdo encapsulado e a concentração da fração utilizada para a formulação, uma vez que a atividade observada para os niossomas foi pouco significativa em relação a fração sozinha. Outro fator à contribuir para o resultado é o conteúdo total de compostos fenólicos presentes na fração, sendo que a atividade

antioxidante desses compostos está relacionada a sua concentração e estruturas químicas.

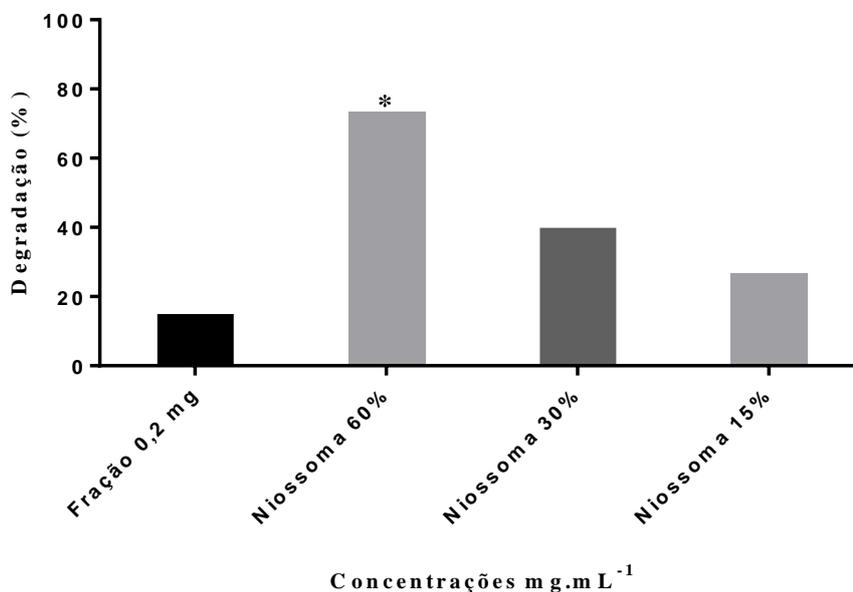


Figura 16. Porcentagem de inibição da degradação da desoxirribose pela fração fenólica sozinha obtida da espécie *S. rotundifolium*, e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15%, 30% e 60%. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão, com $p < 0,05$ (ANOVA e teste de Tukey).

A atividade antioxidante demonstrada para os três ensaios nesse estudo pode estar relacionada a encapsulação da fração em niossomas, sabendo que extratos podem aumentar em até duas vezes a quantidade acumulada em sistemas biológicos aumentando sua atividade (MANOSROI et al, 2010). Além disso, a encapsulação promove a proteção da substância, impedindo a sua decomposição por enzimas e permitindo maior tempo de ação (ABDEL-MAGEED et al, 2012). Estudos mostram que compostos com atividade antioxidante já comprovada tem maior eficiência quando encapsulados em niossomas, essa atividade está relacionada principalmente a maior acumulação das substâncias, com efeito dependente da dose, e ao sinergismo que pode ocorrer entre compostos, um exemplo é o ácido gálico e a curcuminina quando foram encapsulados nas mesmas vesículas (TAVANO et al, 2014).

Outro estudo com a rutina encapsulada em lipossomas mostrou maior eficiência na proteção de células lesadas com peróxido de hidrogênio (GUO et al, 2016). Com a mesma finalidade a capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigênio também foi avaliada pela comparação da ação do composto resveratrol sozinho ou encapsulado a lipossomas, como resultado foi verificado maior redução pelo resveratrol encapsulado (VANAJA et al, 2013).

A biocompatibilidade das vesículas e a estabilidade a longo prazo são algumas das características que interferem no potencial antioxidante do composto encapsulado. Em estudo com o resveratrol encapsulado em lipossomas foi mostrado sua ação redutora do estresse oxidativo em células humanas com potencial de inibição de 92,9%, quando comparado ao resveratrol sozinho que obteve potencial igual a 26, 7% (CADDEO et al, 2018). A reparação de danos pulmonares induzida por radicais livres foi avaliada por Galvão et al, (2016) pela administração de vitamina C e E encapsuladas em lipossomas, os resultados foram compensatórios através da eliminação de radicais como ânion superóxido e diminuição da peroxidação lipídica. Esses resultado indicam que substâncias encapsuladas potencializam sua atividade antioxidante, corroborando com estudos anteriores com substâncias e extratos encapsulados.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os niossomas obtidos pelo método de hidratação do filme lipídico apresentaram características ideais para encapsulação da fração fenólica. A análise de suas características físico-químicas mostraram que as vesículas permaneceram estáveis por um período de três meses. Sendo que todos os dados se encontram de acordo com a literatura.

O ensaio antioxidante com o radical ABTS^{•+} mostrou elevada absorção nas três concentrações testadas, com porcentagem de inibição maior de 90% para o niossoma à 60%. Quando comparado a fração, o niossoma a 15% obteve maior significância estatística.

No ensaio quelante foi observada que os niossomas obtiveram bons resultados na quelação do ferro, no entanto, não divergiram estatisticamente da fração.

Em relação ao ensaio para medir o impedimento da degradação da desoxirribose, foi verificado baixa atividade das amostras, com valor pouco significativo para os niossomas em relação a fração.

O resultado antioxidante está relacionado a encapsulação da fração fenólica aos niossomas, tendo em vista que a encapsulação promove o aumento da atividade de substâncias, pelo aumento da solubilidade, liberação lenta e promoção da acumulação da substância no meio.

É importante destacar que são necessários mais estudos que possam verificar outros mecanismos antioxidantes e a capacidade de liberação controlada da amostra pelo niossoma, uma vez que este parâmetro correlaciona tempo com atividade.

É necessário também, verificar a possibilidade de aumentar a concentração da fração encapsulada, sendo que a atividade antioxidante aqui demonstrada tem relação com a concentração da amostra.

7. REFERÊNCIAS

ABAEE, A; MADADLOU, A. Niosome-loaded cold-set whey protein hydrogels. *Food Chemistry*, v. 196, p. 106-113, 2016.

^aBASIRI, L; RAJABZADEH, G; BOSTAN, A. Physicochemical properties and release behavior of Span 60/Tween 60 niosomes as vehicle for α -Tocopherol delivery. *LWT - Food Science and Technology*, v. 84, p. 471-478, 2017.

ABDEL-HAFEZ, S. M; HATHOUT, R. M; SAMMOUR, A. O. Curcumin-loaded ultradeformable nanovesicles as a potential delivery system for breast cancer therapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.167, p. 63-72, 2018.

ABDEL-MAGEED, H. M; EL-LAITHY, H. M; MAHRAN, L. G; FAHMY, A. S; MADER, K; MOHAMED, S. A. Development of novel flexible sugar ester vesicles as carrier systems for the antioxidant enzyme catalase for wound healing applications. *Process Biochemistry*, v. 47, p. 1155–1162, 2012.

AGUIAR-FILHO, C. R; ALBUQUERQUE, R. F; ROCHA, B. P; COLODEL, E. M; LEMOS, R. A. A; RIET-CORREA, F; EVÊNCIO-NETO, J; MENDONÇA, F. S. Evaluation of the toxicity of *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) pods in pregnant cows. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, p. 607-612, 2013.

ALAM, M. D.S; AHAD, A; ABIDIN, L; AQIL, M; MIR, SR; MUJEEB, M. Embelin-loaded oral niosomes ameliorate streptozotocin-induced diabete in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 97, p. 1514–1520, 2018.

ALENCAR, M. S. M; BOCHNER, R; DIAS, M. F.F; ANTUNES, A. M. S. Analysis of brazilian scientific articles about nanotechnology and health. *Rev Eletron Comun Inf Inov Saúde*, v. 11, p. 1-16, 2017.

ALMEIDA, A. C; SOBRINHO, E. M; PINHO, L; SOUZA, P. N. S; MARTINS, E. R; DUARTE, E. R; SANTOS, H. O; BRANDI, I. V; CANGUSSU, A. S; COSTA, J. P. R. Acute toxicity of leaf hydroalcoholic extracts of *Lippia sidoides*, *Myracrodun urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* and of *Caryocar brasilliense* administered by intraperitoneal route. *Ciência Rural*, v. 40, p. 1-4, 2010.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

ALOMRANI, A. H; AL-AGAMY, M. H; BADRAN, M. M. In vitro skin penetration and antimycotic activity of itraconazole loaded niosomes: Various non-ionic surfactants. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 28, p. 37-45, 2015.

ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante em vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, vol. 33, p. 2202-2210, 2010.

ANDREU, V; ARRUEBO, M. Current progress and challenges of nanoparticle-based therapeutics in pain management. *Journal of Controlled Release*, v. 269, p. 189–213, 2018.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista instituto Adolfo Lutz*. v. 66, p. 1-9, 2007.

AQIL, F; MUNAGALA, R; JEYABALAN, J; VADHANAM, M. V. Bioavailability of phytochemicals and its enhancement by drug delivery systems. *Cancer Letters*, v. 334, p. 133–141, 2013.

ARAÚJO, A. K. L. Aspectos morfológicos do processo de Cicatrização induzido por *Ouratea* sp. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2010.

ARAÚJO, R. S; SILVEIRA, A. L. M; SOUZA, E. L. S; FREIRE, R. H; SOUZA, C. M; REIS, D. C; COSTA, B. R. C; SUGIMOTO, M. A; SILVEIRA, J. N; MARTINS, F. S; CASSALI, G. D; LEITE, J. I. A; SOUSA, L. P; FERREIRA, A. V. M; OLIVEIRA, M. C; CARDOSO, V. N. Intestinal toxicity evaluation of long-circulating and pH-sensitive liposomes loaded with cisplatin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 106, p. 142-151, 2017.

ARRIAGA, L. R; RODRÍGUEZ-GARCÍA, R; MOLEIRO, L. H; PRÉVOST, S; MONTERO, I. L; HELLWEG, T; MONROY, F. Dissipative dynamics of fluid lipid membranes enriched in cholesterol. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 247, p. 514-520, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

ASSIS, L. M; ZAVAREZE, E. R; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C; SOUZA-SOARES, L. A. Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 15, p. 99-109, 2012.

ATTIA, N; MASHAL, M; GRIJALVO, S; ERITJA, R; ZÁRATE, J; PURAS, G; PEDRAZ, J. L. Stem cell-based gene delivery mediated by cationic niosomes for bone regeneration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 14, p. 521-531, 2018.

^aWANG, J. P; PAN, Y; LI, P; ZHAO, G. J. Photophysical investigation of methyl 2-hydroxy-3-naphthoate (MHN23) in different self-organized supramolecular assemblies of micelles and niosomes formed by nonionic surfactante. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 686, p. 656-661, 2016.

BABAZADEH, A; GHANBARZADEH, B; HAMISHEHKAR, H. Phosphatidylcholine-rutin complex as a potential nanocarrier for food applications. *Journal of Functional Foods*, v. 33, p. 134-141, 2017.

BALAKRISHNAN, P; SHANMUGAM, S; LEE, W. S; LEE, W. M; KIM, J. O; OH, D. H; KIM, D. D; KIM, J. S; YOO, B. K; CHOI, H. G; WOO, J. S; YONG, C. S. Formulation and in vitro assessment of minoxidil niosomes for enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 377, p. 1-8, 2009.

BANSAL, S; AGGARWAL, G; CHANDEL, P; HARIKUMAR, S. L. Design and development of cefdinir niosomes for oral delivery. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, v. 5, p. 318-326, 2013.

BARROSO, M. F; LUNA, M. A; MOYANO, F; DELERUE-MATOS, C; CORREA, N. M; MOLINA, P. G. Study of lipid peroxidation and ascorbic acid protective role in large unilamellar vesicles from a new electrochemical performance. *Bioelectrochemistry*, v. 120, p. 120-126, 2018.

BATZRI, S; KORN, E. D. Single bilayer liposomes prepared without sonication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, v. 298, p. 1015-1019, 1973.

^bBASIRI, L; RAJABZADEH, G; BOSTAN, A. α -Tocopherol-loaded niosome prepared by heating method and its release behavior. *Food Chemistry*, v. 221, p. 620-628, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

BEHLING, E. B; SENDÃO, M. C; FRANCESCATO, H. D. C; ANTUNES, L. M. G; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. *Alimento e nutrição*. v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not?. *Journal of Controlled Release*, v. 235, p. 337–351, 2016.

BNYAN, R; KHAN, I; EHTEZAZI, T; SALEEM, I; GORDON, S; O'NEILL, F; ROBERTS, M. Surfactant Effects on Lipid-Based Vesicles Properties. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 1, 2018.

BORBOREMA, S. E. T; OSSO JUNIOR, J. A; ANDRADE JUNIOR, H. F; NASCIMENTO, N. Antimonial drugs entrapped into phosphatidylserine liposomes: physicochemical evaluation and antileishmanial activity. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 49, p. 196-203, 2016.

BORIN, D. B; MEZZOMO, N. J; VAUCHER, R. A; CARMO, G; RODRIGUES JUNIOR, L. C; SULCZEWSKI, F. B; SCHWERTZ, C. I; MENDES, R. E; DAMIANI, A. P; ANDRADE, V. M; RECH, V. C; BOECK, C. R. Production, characterization and toxicology assay of creatine pegylated nanoliposome with polysorbate 80 for brain delivery. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 1, p. 1-13, 2018

BRANCO, E.M. Estudo da migração do ferro das latas para a cerveja. (Dissertação de Mestrado). Universidade Aveiro, 2010.

BRUXEL, F; LAUX, M; WILD, L. B; FRAGA, M; KOESTER, L. S; TEIXEIRA, H. F. Nanoemulsions as parenteral drug delivery systems. *Química nova*, v. 35, p. 1827-1840, 2012.

^bWANG, W. X; FENG, S. S; ZHENG, C. H. A comparison between conventional liposome and drug-cyclodextrin complex in liposome system. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 513, p. 387–392, 2016.

CADDEO, C; PUCCI, L; GABRIELE, M; CARBONE, C; FERNÁNDEZ-BUSQUETS, X; VALENTI, D; PONS, R; VASSALLO, A; FADDA, A. M; MANCONI, M. Stability, biocompatibility and antioxidant activity of PEG-modified

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

liposomes containing resveratrol. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 538, p. 40–47, 2018.

CAGNO, M; STYSKALA, J; HLAVÁČ, J; BRANDL, M; BAUER-BRANDL, A; SKALKO-BASNET, N. Liposomal solubilization of new 3-hydroxy-quinolinone derivatives with promising anticancer activity: a screening method to identify maximum incorporation capacity. *Journal of Liposome Research*, v. 21, p. 272-278, 2011.

CAMPOS, A. C. L; BORGES-BRANCO, A; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, v. 20, p. 51-58, 2007.

CAO, X. P; CHEN, Y. F; ZHANG, J. L; YOU, M. M; WANG, K; HU, F. L. Mechanisms underlying the wound healing potential of propolis based on its in vitro antioxidant activity. *Phytomedicine*, v. 34, p. 76–84, 2017.

CASANOVA, M. C. R. Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis. Dissertação (Mestrado em ciências) Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2010.

CASTRO, A. H. F; Alvarenga, A. A; BARBOSA, J. P. R. A. D; MANSUR, T. O. F; Paula, A. C. C. F. F. Seasonal patterns of phenylalanine ammonia-lyase activity and total phenol and tannin contents in *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Ciência Florestal*, v. 27, p. 1037-1048, 2017.

CHABANON, M; RANGAMAN, P. Solubilization kinetics determines the pulsatory dynamics of lipid vesicles exposed to surfactante. *BBA – Biomembranes*, v. 1, p. 1-20, 2018.

CHARCOSSET, C; JUBAN, A; VALOUR, J. P; URBANIAK, S; FESSI, H. Preparation of liposomes at large scale using the ethanol injection method: Effect of scale-up and injection devices. *chemical engineering research and design*. *chemical engineering research and design*, v. 94, p. 508–515, 2015.

CHORILLI, M; LEONARDI, G. R; OLIVEIRA, A. G; SCARPA, M. V. Lipossomas em formulações dermocosméticas. *Infarma*, v. 16, p. 75-79, 2004.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

CHORILLI, M; RIMÉRIO, T. C; OLIVEIRA, A. G; SCARPA, M. V. Study of liposomes stability containing soy phosphatidylcholine and hydrogenated soy phosphatidylcholine adding or not cholesterol by turbidity method. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, p. 31-37, 2006.

COSTA, J. G. M; LEITE, G. O; DUBOIS, A. F; SEEGER, R. L; BOLIGON, A. A; ATHAYDE, M. L; CAMPOS, A. R; ROCHA, J. B. T. Antioxidant Effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius Extracts from Cariri-Ceará State (Brazil): Potential Involvement in Its Therapeutic Use. *Molecules*, v. 17, p. 934-950, 2012.

COSTA, M. A; ISHIDA, K; KAPLUM, V; KOSLYK, E. D. A; MELLO, J. C. P; UEDA-NAKAMURA, T; DIAS FILHO, B. P; NAKAMURA, C. V. Safety evaluation of proanthocyanidin polymer-rich fraction obtained from stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (BARBATIMÃO) for use as a pharmacological agent. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 58, p. 330-335, 2010.

CUI, H; YUAN, L; LI, W; LIN, L. Antioxidant property of SiO₂-eugenol liposome loaded nanofibrous membranes on beef. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 11, p. 49–57, 2017.

CUOMO, F; COFELICE, M; VENDITTI, F; CEGLIE, A; MIGUEL, M; LINDMAN, B; LOPEZ, F. In-vitro digestion of curcumin loaded chitosan-coated liposomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 1, p. 1-6, 2017.

CUSHNIE, T. P. T; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v. 26, p. 343-356, 2005.

DEL RÉ, P. V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista brasileira de plantas medicinais*, v. 14, p. 389-399, 2012.

DENG, Y. T; LIANG, G; SHI, Y; LI, H. L; ZHANG, J; MAO, X. M; FU, Q. R; PENG, W. X; CHEN, Q. X; SHEN, D. Y. Condensed tannins from *Ficus altissima* leaves: Structural, antioxidant, and antityrosinase properties. *Process Biochemistry*, v. 51, p. 1092–1099, 2016.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

DISALVO, E. A; BOUCHET, A. M. Electrophoretic mobility and zeta potential of liposomes due to arginine and polyarginine adsorption. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 440, p. 170–174, 2014.

DREOSTI, I. E. Antioxidant Polyphenols in Tea, Cocoa, and Wine. *Nutrition*. v. 16, p. 692-694, 2000.

DURAND, E; DELAVAUULT, A; BOURLIEU, A; LECOMTE, J; BARÉA, B; ESPINOZA, M. C. F; DECKER, E, A; SALAUN, F. M; KERGOURLAY, G; VILLENEUVE, P. Eleostearic phospholipids as probes to evaluate antioxidants efficiency against liposomes oxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 209, p. 19–28, 2017.

DWIVEDI, D; DWIVEDI, M; MALVIYA, S; SINGH, V. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, v. 7, p. 79-85, 2017.

ELOY, J. O; SOUZA, M. C; PETRILLI, R; BARCELLOS, J. P. A; LEE, R; MARCHETTI, J. M. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: Strategies to enhance encapsulation and delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 123, p. 345–363, 2014.

FARIA LUIZ, R. L; VILA, T. V. M; MELLO, J. C. P; NAKAMURA, C. V; ROZENTAL, S; ISHIDA, K. Proanthocyanidins polymeric tannin from *Stryphnodendron adstringens* are active against *Candida albicans* biofilms. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 15, p. 1-11, 2015.

FATHIMA, S. J; FATHIMA, I; ABHISHEK, V; KHANUM, F. Phosphatidylcholine, an edible carrier for nanoencapsulation of unstable thiamine. *Food Chemistry*, v. 197, p. 562-570, 2016.

FERREIRA, C. T. G. Nanopartículas poliméricas para inclusão de compostos de origem natural. Monografia (Graduação em Farmácia) Instituto Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

FILGUEIRAS, C. T.; SOARES, A. L.; SHIMOKOMAKI, M.; CASAGRANDE, R.;
IDA, E. I. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de milho.
Quimica Nova, v. 32, p. 1787-1791, 2009.

FLOEGEL, A; KIM, D. O; CHUNG, S. J; KOO, S. I; CHUN, O. K. Comparison of
ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US
foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 24, p. 1043–1048, 2011.

FONSECA, P; LIBRANDI, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e
fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*).
Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 44, p. 271-277, 2008.

FONTES, M. A. P; VAZ, G. C. CARDOSO, T. Z. D; OLIVEIRA, M. F;
CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J; SANTOS, R. A. S; SHARMA, N. M; PATEL, K. P;
FRÉZARD, F. GABA-containing liposomes: neuroscience applications and
translational perspectives for targeting neurological diseases. *Nanomedicine:
Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 14, p. 781–788, 2018.

FREITAS, A. L. D; KAPLUM, V; ROSSI, D. C. P; SILVA, L. B. R; MELHEM. M. S.
C; TABORDA, C. P; MELLO, J. C. P; NAKAMURA, C. V; ISHIDA, K.
Proanthocyanidin polymeric tannins from *Stryphnodendron adstringens* are effective
against *Candida* spp. isolates and for vaginal candidiasis treatment. *Journal of
Ethnopharmacology*, v. 216, p. 184–190, 2018.

FREIXEIRO, P; PENSADO, A; ALLEN, L; HUMPHRIES, H; TAYLOR, S; SEIJO, B;
FERREIRÓS, C; GORRINGE, A; SÁNCHEZ, S; SÁNCHEZ, A. Solid sorbitan esters
nanoparticles are efficient and low-cost vehicles for subunit vaccines: Proof of concept
with *Neisseria meningitidis* protein Mip. *Journal of Drug Delivery Science and
Technology*, v. 42, p. 299-306, 2017.

FRICKER, G; KROMP, T; WENDEL, A; BLUME, A; ZIRKEL, J; REBMANN, H;
SETZER, C; QUINKERT, R. O; MARTIN, F; MÜLLER-GOYMANN, C.
Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharmaceutical
Research*, v. 27, p. 1469–1486, 2010.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

FUSE, T; TAGAMI, T; TANE, M; OZEKI, T. Effective light-triggered contents release from helper lipid-incorporated liposomes co-encapsulating gemcitabine and a water-soluble photosensitizer. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 540, p. 50-56, 2018.

GALVÃO, A. M; GALVÃO, J. S; PEREIRA, M. A; CADENA, P. G; MAGALHÃES, N. S. S; FINK, J. B; ANDRADE, A. D; CASTRO, C. M. M. B; MAIA, M. B. S. Cationic liposomes containing antioxidants reduces pulmonary injury in experimental model of sepsis. Liposomes antioxidants reduces pulmonary damage. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v. 231, p. 55–62, 2016.

GÁLVEZ, P; RUIZ, A; CLARES, B. El futuro de la medicina clínica hacia nuevas terapias: terapia celular, génica y nanomedicina. The future of new therapies in clinical medicine. *Medicina Clínica*, v. 137, p. 645-649, 2011.

GARCIA, F. M. Avanços da nanomedicina: a nova fronteira da medicina – artigo de atualização. *Revista Ciência Saúde Nova Esperança*, v. 12, p. 110-117, 2014.

GHLISSI, Z; SAYARI, N; KALLEL, R; BOUGATEF, A; SAHNOUN, Z. Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 84, p. 115–122, 2016.

GIMÉNEZ, V. M. M; KASSUHA, D; MANUCHA, W. Nanotechnology offers a promising therapeutic approach for hypertension treatment. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, v. 38, p. 120-127, 2017.

GIRI, T. K; MUKHERJEE, P; BARMAN, T. K; MAITY, S. Nano-encapsulation of capsaicin on lipid vesicle and evaluation of their hepatocellular protective effect. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 88, p. 236-243, 2016.

GIRI, T. K; MUKHERJEE, P; BARMAN, T. K; MAITY, S. Nano-encapsulation of capsaicin on lipid vesicle and evaluation of their hepatocellular protective effect. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 88, p. 236-243, 2016.

GULDIKEN, B; GIBIS, M; BOYACIOGLU, D; CAPANOGLU, E; WEISS, J. Physical and chemical stability of anthocyanin-rich black carrot extract loaded liposomes during storage. *Food Research International*, v. 108, p. 491-497, 2018.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

GUNES, A; GULER, E; UM, R. N; DEMIR, B; BARLAS, F. B; YAVUZ, M; COSKUNOL, H; TIMUR, S. Niosomes of Nerium oleander extracts: In vitro assessment of bioactive nanovesicular structures. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 37, p. 158-165, 2017.

GUO, Y; SHEN, L; LU, Y; LI, H; MIN, K; LI, L; YU, C; ZHENG, X. Preparation of Rutin-liposome Drug Delivery Systems and Evaluation on Their in vitro Antioxidant Activity. *Chinese Herbal Medicines*, v. 8, p. 371-375, 2016.

GUTIÉRREZ, G; MATOS, M; BARRERO, P; PANDO, D; IGLESIAS, O; PAZOS, C. Iron-entrapped niosomes and their potential application for yogurt fortification. *LWT - Food Science and Technology*, v. 74, p. 550-556, 2016.

HAN, H. J; LEE, J. S; PARK, S; AHN, J; LEE, H. G. Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 130, p. 93–100, 2015.

HAO, Y; ZHAO, F; LI, N; YANG, Y; LI, K. Studies on a high encapsulation of colchicine by a niosome system. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 244, p. 73–80, 2002.

HAYASHI, K; SHIMANOUCI, T; KATO, K; MIYAZAKI, T; NAKAMURA, A; UMAKOSHI, H. Span 80 vesicles have a more fluid, flexible and “wet” surface than phospholipid liposomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 87, p. 28-35, 2011.

HENRIQUES, B.O; CORRÊA, O; AZEVEDO, E. P. C; PÁDUA, R. M; OLIVEIRA, V. L. S; OLIVEIRA, T. H. C; BOFF, D; DIAS, A. C. F; SOUZA, D. G; AMARAL, F. A; TEIXEIRA, M. M; CASTILHO, R. O; BRAGA, F. C. In Vitro TNF- α Inhibitory Activity of Brazilian Plants and Anti-Inflammatory Effect of *Stryphnodendron adstringens* in an Acute Arthritis Model. Hindawi Publishing Corporation, v. 2016, p. 1-16, 2016.

HONG, M; ZHU, S; JIANG, Y; TANG, G; PEI, Y. Efficient tumor targeting of hydroxycamptothecin loaded PEGylated niosomes modified with transferrin. *Journal of Controlled Release*, v. 133, p. 96-102, 2009.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

HONG, S. S; KIM, S. H; LIM, S. J. Effects of triglycerides on the hydrophobic drug loading capacity of saturated phosphatidylcholine-based liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, p. 142-150, 2015.

HUA, W; LIU, T. Preparation and properties of highly stable innocuous niosome in Span 80/PEG 400/H₂O system. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 302, p. 377-382, 2007.

IBARGUREN, M; BOMANS, P. H. H; RUIZ-MIRAZO, K; FREDERIK, P. M; ALONSO, A; GONI, F. M. Thermally-induced aggregation and fusion of protein-free lipid vesicles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 136, p. 545-552, 2015.

IBRAHIM, M. M; SHEHATA, T. M. Tramadol HCl encapsulated niosomes for extended analgesic effect following oral administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 46, p. 14-18, 2018.

IMAM, S. S; AHAD, A; AQIL, M; AKHTAR, M; SULTANA, Y; ALI, A. Formulation by design based risperidone nano soft lipid vesicle as a new strategy for enhanced transdermal drug delivery: In-vitro characterization, and in-vivo appraisal. *Materials Science and Engineering*, v. 75, p. 1198-1205, 2017.

ISHIDA, K; MELLO, J. C. P; CORTEZ, D. A. G; DIAS FILHO, B. P; UEDA-NAKAMURA, T; NAKAMURA, C. V. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 58, p. 942-949, 2006.

JUNYAPRASERT, V. B; SINGHSA, P; JINTAPATTANAKIT, A. Influence of chemical penetration enhancers on skin permeability of ellagic acid-loaded niosomes. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 8, p. 110-117, 2013.

JUNYAPRASERT, V. B; SINGHSA, P; SUKSIRIWORAPONG, J; CHANTASART, D. Physicochemical properties and skin permeation of Span 60/Tween 60 niosomes of ellagic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 423, p. 303-311, 2012.

KADDAH, S; KHREICH, N; KADDAH, F; CHARCOSSET, C. Cholesterol modulates the liposome membrane fluidity and permeability for a hydrophilic molecule. *Food and Chemical Toxicology*, v. 113, p. 40-48, 2018.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

KANAANI, L; TABRIZI, M. M; KHIYAVI, A. A; JAVADI, I. Improvement the Efficacy of Cisplatin by Niosome Nanoparticles Against Human Breast Cancer Cell Line BT-20: an In Vitro Study. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*, v. 2, p. 25-26, 2017.

KAUR, G; MEHTA, S. K. Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 529, p. 134-160, 2017.

KAUR, I; KAPILA, M; AGRAWAL, R. Role of novel delivery systems in developing topical antioxidants as therapeutics to combat photoageing. *Ageing Research Reviews*, v. 6, p. 271-288, 2007.

KHAN, M. I; MADNI, A; AHMAD, S; MAHMOOD, M. A; REHMAN, M; ASHFAQ, M. Formulation design and characterization of a non-ionic surfactante based vesicular system for the sustained delivery of a new chondroprotective agente. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 51, p. 607-615, 2015.

KHAN, M. I; MADNI, A; PELTONEN, L. Development and in-vitro characterization of sorbitan monolaurate and poloxamer 184 based niosomes for oral delivery of diacerein. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 95, p. 88-95, 2016.

KITAYAMA, H; TAKECHI, Y; TAMAI, N; MATSUKI, H; YOMOTA, C; SAITO, H. Thermotropic Phase Behavior of Hydrogenated Soybean Phosphatidylcholine–Cholesterol Binary Liposome Membrane. *Pharmaceutical Society of Japan*, v. 62, p. 58-63, 2014.

KOLBINA, M; BODMEIER, R; KÖRBER, M. Saturated phosphatidylcholine as matrix former for oral extended release dosage forms. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 108, p. 86-92, 2017.

KTARI, N; TRABELSI, I; BARDAA, S; TRIKI, M; BKHAIRIA, BKHAIRIA, I; SALEM, R. B. S. B; NASRI, M; SALAH, R. B. Antioxidant and hemolytic activities, and effects in rat cutaneouswound healing of a novel polysaccharide from fenugreek (*Trigonellafoenum-graecum*) seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 95, p. 625–634, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

KULANDAIVELU, B; GOTHANDAM, K. M. Cytotoxic Effect on Cancerous Cell Lines by Biologically Synthesized Silver Nanoparticles. *Brazilian archives of biology and technology*, v. 59, p. 1-8, 2016.

KUO, A. T; TU, C. L; YANG, Y. M; CHANG, C. H. Enhanced physical stability of positively charged cationic vesicles: Role of cholesterol-adjusted molecular packing. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 000, p. 1-7, 2018.

LETCHFORD, K; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 65, p. 259-269, 2007.

LI, Q; TU, Y; ZHU, C; LUO, W; HUANG, W; LIU, W; LI, Y. Cholinesterase, β -amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, v. 108, p. 512-519, 2017.

LIANG, R; CHEN, L; YOKOYAMA, W; WILLIAMS, P. A; ZHONG, F. Niosomes Consisting of Tween-60 and Cholesterol Improve the Chemical Stability and Antioxidant Activity of (-)-Epigallocatechin Gallate under Intestinal Tract Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 64, p. 9180–9188, 2016.

LIM, S. B; BANERJEE, A; ÖNYÜKSEL, H. Improvement of drug safety by the use of lipid-based nanocarriers. *Journal of Controlled Release*, v. 163, p. 34-45, 2012.

LIM, W. H; LAWRENCE, M. J. Influence of surfactant and lipid chain length on the solubilisation of phosphatidylcholine vesicles by micelles comprised of polyoxyethylene sorbitan monoesters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 250, p. 449-447, 2004.

LINS NETO, J. R; UCHÔA, A. D. A; MOURA, P. A; BEZERRA FILHO, C. M; TENÓRIO, J. C. G; SILVA, A. G; XIMENES, R. M; SILVA, M. V; CORREIA, M. T. S. Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 10, p. 409-416, 2016.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

LONDOÑO, M. E. Nanotecnología y nanomedicina: avances y promesas para la salud humana. *Biomédica Instituto Nacional de Salud*, v. 35, p. 1-3, 2015.

LOGANAYAKI, N. MANIAN, S. In vitro antioxidant properties of indigenous underutilized fruits. *Food Sci. Biotechnol.* v. 19, p. 725–734, 2010.

LOPES, G. C; SANCHES, A. C. C; NAKAMURA, C. V; DIAS FILHO, B. P; HERNANDES, L; MELLO, J. C. P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 99, p. 265-272, 2005.

LOPES, G. C; SANCHES, A. C. C; TOLEDO, C. E. M; ISLER, A. C; MELLO, J. C. P. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, p. 135-143, 2009.

LOURO, H; Borges, T; SILVA, M. J. Manufactured nanomaterials: New challenges for public health. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, v. 31, p. 188-200, 2013.

MACÊDO, D. G; RIBEIRO, D. A; COUTINHO, H. D. M; MENEZES, I. R. A; SOUZA, M. M. A. Práticas terapêuticas tradicionais: uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. v. 14, p. 491-508, 2015.

MAESTRELLI, F; MURA, P; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. L; CÓZAR-BERNAL, M. J; RABASCO, A. M; MANNELLI, L. D. C; GHELARDINI, C. Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 530, p. 430-439, 2017.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. v. 79, p. 727-747, 2004

MANCA, M. L; MANCONI, M; NACHER, A; CARBONE, C; VALENTI, D; MACCION, A. M; SINICO, C; FADDA, A. M. Development of novel diolein–

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

niosomes for cutaneous delivery of tretinoin: Influence of formulation and in vitro assessment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 477, p. 176–186, 2014.

MANOSROI, A; KHANRIN, P; LOHCHAROENKAL, W; WERNER, R. G; GÖTZ F; MANOSROI, W; MANOSROI J. Transdermal absorption enhancement through rat skin of gallidermin loaded in niosomes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 392, p. 304–310, 2010.

MARCAZZAN, S; VARONI, E. M; BLANCO E; LODI, G; FERRARI, M. Nanomedicine, an emerging therapeutic strategy for oral cancer therapy. *Oral Oncology*, v. 76, p. 1-7, 2018.

MARIANECCI, C; RINALDI, F; MASTRIOTA, M; PIERETTI S; TRAPASSO, E; PAOLINO, D; CARAFA, M. Anti-inflammatory activity of novel ammonium glycyrrhizinate/niosomes delivery system: Human and murine models. *Journal of Controlled Release*, v. 164, p. 17-25, 2012.

MARQUARDT, D; KUCERKA, N; WASSALL, S. R; HARROUN, T. A; KATSARAS, J. Cholesterol's location in lipid bilayers. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 199, p. 17-25, 2016.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S; GONZÁLEZ-GALLEGO, J; CULEBRAS, J. M; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MATSUKI, H; KATO, K; OKAMOTO, H; YOSHIDA, S; GOTO, M; TAMAI, N; KANESHINA, S. Ligand partitioning into lipid bilayer membranes under high pressure: Implication of variation in phase-transition temperatures. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 209, p. 9-18, 2017.

MEHTA, S. K; JINDAL, N. Formulation of Tyloxapol niosomes for encapsulation, stabilization and dissolution of anti-tubercular drugs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 101, p. 434-441, 2013.

MELLO, J. P; PETEREIT, F; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 41, p. 807-813, 1996.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

MELO, J. C. P; PETEREIT, F; NAHRSTEDT, A; A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 51, p. 1105-1107, 1999.

MERTINS, O; SEBBEN, M; SCHNEIDER, P. H; POHLMANN, A. R; SILVEIRA, N. P. Characterization of soybean phosphatidylcholine purity by ¹H and ³¹P NMR. *Química nova*, v. 31, p. 1856-1859, 2008.

MITCHELL, N. J; SEATON, P; POKORNY, A. Branched phospholipids render lipid vesicles more susceptible to membrane-active peptides. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1858, p. 988–994, 2016.

MOGHDDAM, S. R. M; AHAD, A; AQIL, M; IMAM, S. S; SULTANA, Y. Formulation and optimization of niosomes for topical diacerein delivery using 3-factor, 3-level Box-Behnken design for the management of psoriasis. *Materials Science and Engineering*, v. 69, p. 789–797, 2016.

MOKHTAR, M; SAMMOUR, O. A; HAMMAD, M. A; MEGRAB, N. A. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 361, p. 104-111, 2008.

MOKHTAR, M; SAMMOUR, O. A; HAMMAD, M. A; MEGRAB, N. A. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 361, p. 104-111, 2008.

MONTEIRO, J. M; Albuquerque, U. P; Araújo, E. L; Amorim, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química nova*, v. 28, p. 892-896, 2005.

MORINI, M. A; SIERRA, M. B; PEDRONI, V. I; ALARCON, L. M; APPIGNANESI, G. A; DISALVO, EA. Influence of temperature, anions and size distribution on the zeta potential of DMPC, DPPC and DMPE lipid vesicles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 131, p. 54-58, 2015.

MÜLLER, L. K; LANDFESTER, K. Natural liposomes and synthetic polymeric structures for biomedical applications. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 468, p. 411-418, 2015.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

NASCIMENTO, A. M; GUEDES, P. T; CASTILHO, R. O; VIANNA-SOARES, C. D. *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) proanthocyanidins quantitation by RP-HPLC. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 49, p. 549-558, 2013.

NASCIMENTO-JÚNIOR, T. F. Análise do efeito da sulfadiazina de prata e do confrei na cicatrização cutânea de ratos Wister. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas) Universidade federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

NEGI, P; AGGARWAL, M; SHARMA, G; RATHORE, C; SHARMA, G; SINGH, B; KATARE, O. P. Niosome-based hydrogel of resveratrol for topical applications: An effective therapy for pain related disorder(s). Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 88, p. 480–487, 2017.

NETO, M. L. C. B; RIBAS-FILHO, J. M; MALAFAIA, O; OLIVEIRA-FILHO, M.A; CZECZKO, N. G; AOKI, S; CUNHA, R; FONSECA, V.R; TEIXEIRA, H. M; AGUIAR, L. R. F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 21, p. 17-22, 2006.

NOVAIS, G. M.; SILVA, M. J. D.; ACHKAR, M. T.; VILEGAS, W. Compostos antioxidantes e sua importância nos organismos. Revista da Universidade Vale do Rio Verde. v. 11, p. 535-539, 2013.

OJEDA, E; AGIRRE, M; VILLATE-BEITIA, I; MASHAL, M; PURAS, G; ZARATE, J; PEDRAZ, J. L. Elaboration and Physicochemical Characterization of Niosome-Based Nioplexes for Gene Delivery Purposes. Non-Viral Gene Delivery Vectors, v. 1445, p. 63-75, 2016.

OLIVEIRA, D. R. Contribuição ao estudo da bioprospecção Farmacológica de plantas medicinais do nordeste Brasileiro: barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium* Mart.). Dissertação (Mestrado em Brioprospecção Molecular) Universidade Regional do Cariri, Crato, 2010.

OLIVEIRA, D. R; BRITO-JÚNIOR, F. E; BENTO, E. B; MATIAS, E. F. F; SOUSA, A. C. A; COSTA, J. G. M; COUTINHO, H. D. M; KERNTOPF, M. R; MENEZES, I.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

R. A. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. *Pharmaceutical Biology*, v. 49, p. 1265-1270, 2011.

OLIVEIRA, D. R; FERREIRA-JÚNIOR, W. S; BITU, V. C. N; PINHEIRO, P. G; MENEZES, C. D. A; BRITO-JÚNIOR, F. E; ALBUQUERQUE, U. P; KERNTOPF, M. R; COUTINHO, H. D. M; FACHINETTO, R; MENEZES, I. R. A. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de farmacognosia*, v. 25, p. 124-132, 2014.

OLIVEIRA, V. B; ZUCHETTO, M; PAULA, C. S; VERDAM, M. C. S; CAMPOS, R; DUARTE, A. F. S; MIGUEL, M. D; MIGUEL, O. G. Evaluation of antioxidant potential against lipid oxidation and preliminary toxicity of extract and fractions obtained from the fronds of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 17, p. 614-621, 2015.

PANDO, D; BELTRÁN, M; GERONE, I; MATOS, M; PAZOS, C. Resveratrol entrapped niosomes as yoghurt additive. *Food Chemistry*, v. 170, p. 281-287, 2015.

PANDO, D; GUTIÉRREZ, G; COCA, J; PAZOS, C. Preparation and characterization of niosomes containing resveratrol. *Journal of Food Engineering*, v. 117, p. 227–234, 2013.

PANDO, D; MATOS, M; GUTIÉRREZ, G; PAZOS, C. Formulation of resveratrol entrapped niosomes for topical use. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 128, p. 398-404, 2015.

PASCHOALINO, M. P; MARCONE, G. P. S; Jardim, W. F. Nanomaterials and the environment. *Química Nova*, v.33, p. 421-430, 2010.

PATEL, J; KETKAR, S; PATIL, S; FEARNLEY, J; MAHADIK, K. R; PARADKAR, A. R. Potentiating antimicrobial efficacy of propolis through niosomal-based system for administration. *Integr medres*, v. 4, p. 94–101, 2015.

PERRIER, D. L; REMS, L; BOUKANY, P. E. Lipid vesicles in pulsed electric fields: Fundamental principles of the membrane response and its biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 249, p. 248-271, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

PLEGUEZUELOS-VILLA, M; MIR-PALOMO, S; DÍEZ-SALES, O; BUSO, M. A. O. V; SAURI, A. R; NÁCHER, A. Novos lipossomas ultra-formuláveis de Naringina para terapia anti-inflamatória. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 162, p. 265-270, 2018.

POH, S; CHELVAM, V; AYALA-LÓPEZ, W; PUTT, K. S; LOW, P. S. Selective liposome targeting of folate receptor positive immune cells in inflammatory diseases. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 14, p. 1033-1043, 2018.

PRAUD, D; PARPINEL, M; SERAFINI, M; BELLOCCO, R; TAVANI, A; LAGIOU, P; VECCHIA, C. L; ROSSI, M. Non-enzymatic antioxidant capacity and risk of gastric câncer. *Cancer Epidemiology*, v. 39, p. 340–345, 2015.

PUNTEL, R.L.; NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B.T.; Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain in vitro. *Neurochemical Research*, v. 30, p. 225-255, 2005.

PURAS, G; MASHAL, M; ZÁRATE, J; AGIRRE, M; OJEDA, E; GRIJALVO, S; ERITJA, R; DIAZ-TAHOSES, A; NAVARRETE, G. M; AVILÉS-TRIGUEROS, M; FERNÁNDEZ, E; PEDRAZ, J. L. A novel cationic niosome formulation for gene delivery to the retina. *Journal of Controlled Release*, v. 174, p. 27-36, 2014.

QUINN, PJ. The effect of tocopherol on the structure and permeability of phosphatidylcholine liposomes. *Journal of Controlled Release*, v. 160, p. 158-163, 2012.

RAHNFELD, L; THAMM, J; STEINIGER, F; HOOGEVEST, P. V; LUCIANI, P. Study on the in situ aggregation of liposomes with negatively charged phospholipids for use as injectable depot formulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 1, p. 1-8, 2018.

RAVAGHI, M; RAZAVI, S. H; MOUSAVI, S. M; SINICO, C; FADDA, A. M. Stabilization of natural canthaxanthin produced by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 by encapsulation in niosomes. *LWT - Food Science and Technology*, v. 73, p. 498-504, 2016.

RAVAL, A; BAHADUR, P; RAVALL, A. Effect of nonionic surfactants in release media on accelerated in-vitro release profile of sirolimus eluting stents with

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

biodegradable polymeric coating. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 8, p. 45-54, 2018.

REBECCA, M. A; ISHII-IWAMOTO, E. L; KELMER-BRACHT, A. M; CAPARROZ-ASSEF, S. M; CUMAN, R. K. N; PAGADIGORRIA, C. L. S; MELLO, J. C. P; BRACHT, A; BERSANI-AMADO, C. A. Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) on energy metabolism in the rat liver. *Toxicology Letters*, v. 143, p. 55-63, 2003.

RIBEIRO, D. A; OLIVEIRA, L. G. S; MACÊDO, D. G; MENEZES, I. R. A; COSTA, J. G. M; Silva, M. A. P; LACERDA, S. R; SOUZA, M. M. A. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 155, p. 1522–1533, 2014.

RIBEIRO, M. E. N. P; MOURA, C. L; VIEIRA, M. G. S; GRAMOSA, N. V; CHAIBUNDIT, C; MATTOS, M. C; ATTWOOD, D; YEATES, S. G; NIXON, S. K; RICARDO, N. P. S. Solubilisation capacity of Brij surfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 436, p. 631-635, 2012.

RIBEIRO, T. G; NASCIMENTO, A. M; HENRIQUES, B. O; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. A; FRANCA, J. R; DUARTE, M. C; LAGE, P. S; ANDRADE, P. H. R; LAGE, D. P; RODRIGUES, L. B; COSTA, L. E; MARTINS, V. T; FARACO, A. A. G; COELHO, E. A. F; CASTILHO, R. O. Antileishmanial activity of standardized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimão) extract and constituent compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 165, p. 238–242, 2015.

RODRIGUES, V. E. G; RODRIGUES, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto rio Grande –Minas Gerais. *Ciência e agrotecnologia*, v. 25, p. 102-123, 2001.

ROJAS-AGUIRRE, Y; AGUADO-CASTREJÓN, K; GONZÁLEZ-MÉNDEZ I. La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer?. *Educación Química*, v. 27, p. 286-291, 2016.

RUDOLPHI-SKÓRSKA, E; FILEK, M; ZEMBALA, M. The Effects of the Structure and Composition of the Hydrophobic Parts of Phosphatidylcholine-Containing Systems

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

on Phosphatidylcholine Oxidation by Ozone. *Journal of Membrane Biology*, v. 250, p. 493–505, 2017.

SAHA, S; VERMA, R. J. Molecular interactions of active constituents of essential oils in zwitterionic lipid bilayers. *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 1, p.1-38, 2018.

SAINI, N; SODHI, R. K; BAJAJ, L; PANDEY, R. S; JAIN, U. K; KATARE, O. P; MADAN, J. Intravaginal administration of metformin hydrochloride loaded cationic niosomes amalgamated with thermosensitive gel for the treatment of polycystic ovary syndrome: In vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 144, p. 161-169, 2016.

SAMED, N; SHARMA, V; SUNDARAMURTHY, A. Hydrogen Bonded Niosomes for Encapsulation and Release of Hydrophilic and Hydrophobic Anti-Diabetic Drugs: An Efficient System for Oral Anti-Diabetic Formulation. *Applied Surface Science*, v. 423, p. 1-24, 2017.

SANCHES, A. C. C; LOPES, G. C; NAKAMURA, C. V; DIAS FILHO, B. P; MELLO, J. C. P. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, p. 101-107, 2005.

SANT'ANNA, L. S; ALENCAR, M. S. M. FERREIRA, A. P. Patenteamento em nanotecnologia no Brasil: desenvolvimento, potencialidades e reflexões para o meio ambiente e a saúde humana. *Química Nova*, v. 36, p. 348-353, 2013.

SANTOS FILHO, P. R; FERREIRA, L. A; GOUVÊA, C. M. C. P. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* ("barbatimão") leaf extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, p. 1000-1005, 2011.

SANTOS, N. C; CASTANHO, M. A. R. B. Liposomes: has the magic bullet hit the target? *Química Nova*, v. 25, p. 1181-1185, 2002.

SANTOS, S. C; COSTA, W. F; BATISTA, F; SANTOS, L. R; FERRI, P. H; FERREIRA, H. D; SERAPHIN, J. C. Seasonal variation in the content of tannins in

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

barks of barbatimão species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 16, p. 552-556, 2006.

SCOTTI, L; SCOTTI, M. T; CARDOSO, C; PAULETTI, P; CASTRO-GAMBOA, L; BOLZANI, V. S; VELASCO, M. V. R; MENEZES, C. M. S; FERREIRA, E. I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Revista brasileira de ciências farmacêuticas*, v. 43, p. 153-166, 2007.

SHEHATA, T; KIMURA, T; HIGAKI, K; OGAWARA, K. I. In-vivo disposition characteristics of PEG niosome and its interaction with serum proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 512, p. 322-328, 2016.

SHORI, A. B. Screening of antidiabetic and antioxidante activities of medicinal plants. *Journal of Integrative Medicine*, v. 13, p. 297–305, 2015.

SILVA, E. M; SOUZA, J. N. S; ROGEZ, H; REES, J. F; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, v. 101, p. 1012–1018, 2007.

SILVA, J. D. F; SILVA, Y. P; PIATNICKI, C. M. S; BÖCKEL, W. J; MENDONÇA, C. R. B. Microemulsions: components, characteristics, potentialities in food chemistry and other Applications. *Química nova*, v. 38, p. 1196- 1206, 2015.

SILVA, N. L. A; MIRANDA, F. A. A; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. *Scientia plena*, v. 6, p. 1-7, 2010.

SINGH, S. Liposome encapsulation of doxorubicin and celecoxib in combination inhibits progression of human skin cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*, v. 13, p. 11-13, 2018.

SINGH, S; PARASHAR, P; KANOUIA, J; SINGH, I; SAHA, S; SARAF, S. A. Transdermal potential and anti-gout efficacy of Febuxostat from niosomal gel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 39, p. 348-361, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

SOHRABI, S; HAERI, A; MAHBOUBI, A; MORTAZAVI, A; DADASHZADEH, S. Chitosan gel-embedded moxifloxacin niosomes: An efficient antimicrobial hybrid system for burn infection. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 85, p. 625-633, 2016.

SOMJID, S; KRONGSUK, S; JOHNS, J. R. Cholesterol concentration effect on the bilayer properties and phase formation of niosome bilayers: A molecular dynamics simulation study. *Journal of Molecular Liquids*, v. 256, p. 591-598, 2018.

SOUSA, A. P. B. Efetividade de medicamentos homeopáticos em ensaios biológicos de gastroproteção e cicatrização. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) Universidade Tiradentes, Aracaju, 2009.

SOUSA, J. N; PEDROSO, N. B; BORGES, L. L; OLIVEIRA, G. A. R; PAULA, J. R; CONCEIÇÃO, E. C. Optimization of Ultrasound-assisted extraction of polyphenols, tannins and epigallocatechin gallate from barks of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville bark extracts. *Pharmacognosy Magazine*, v. 10, p. 1-14, 2014.

SOUZA, C. D; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, p. 135-142, 2006.

SOUZA, T. M; SEVERI, J. A; SILVA, V. Y. A; SANTOS, E; PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 28, p. 221-226, 2007.

SOUZA-MOREIRA, T. M; QUEIROZ-FERNANDES, G. M; PIETRO, R. C. L. R. *Stryphnodendron* Species Known as “Barbatimão”: A Comprehensive Report. *Molecules*, v. 23, p. 1-25, 2018.

STANKOVIĆ, N; MIHAJLOV-KRSTEV, T; ZLATKOVIĆ, B; TANKOV-JOVANOVIĆ, V; MITIĆ, V; JOVIĆ, J; ĆCOMIĆ, L; KOCIĆ, B; BERNSTEIN, N. Antibacterial and Antioxidant Activity of Traditional Medicinal Plants from the Balkan Peninsula. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, v. 78, p. 21–28, 2016.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

SU, X; LIU, X; WANG, S; LI, B; PAN, T; LIU, D; WANG, F; DIAO, Y; LI, K. Wound-healing promoting effect of total tannins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in rats. *Burns*, v. 43, p. 830–838, 2017.

SUCUPIRA, N. R; SILVA, A. B; PEREIRA, G; COSTA, J. N. Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, v. 14, p. 263-269, 2012.

SUN, Y; DAI, C; YIN, M; LU, J; HU, H; CHEN, D. Hepatocellular carcinoma-targeted effect of configurations and groups of glycyrrhetic acid by evaluation of its derivative-modified liposomes. *International Journal of Nanomedicine*, v. 13, p. 1621–1632, 2018.

TAGAMI, T; ERNSTING, M. J; LI, S. D. Optimization of a novel and improved thermosensitive liposome formulated with DPPC and a Brij surfactant using a robust in vitro system. *Journal of Controlled Release*, v. 154, p. 290-297, 2011.

TAHARA, K; KOBAYASHI, M; YOSHIDA, S; ONODERA, R; INOUE, N; TAKEUCHI, H. Effects of cationic liposomes with stearylamine against virus infection. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 1, p. 1-30, 2018.

TAVANO, L; AIELLO, R; IOELE, G; PICCI, N; MUZZALUPO, R. Niosomes from glucuronic acid-based surfactant as new carriers for cancer therapy: Preparation, characterization and biological properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 118, p. 7-13, 2014.

TAVANO, L; ROSSI, C. O; PICCI, N; MUZZALUPO, R. Spontaneous temperature-sensitive Pluronic based niosomes: Triggered drug release using mild hyperthermia. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 511, p. 703–708, 2016.

THOMAS, A. H; CATALÁ, A; VIGNONI, M. Soybean phosphatidylcholine liposomes as model membranes to study lipid peroxidation photoinduced by pterin. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1858, p. 139–1450, 2016.

TONIAZZO, T; PERES, M. S; RAMOS, A. P; PINHO, S. C. Encapsulation of quercetin in liposomes by ethanol injection and physicochemical characterization of dispersions and lyophilized vesicles. *Food Bioscience*, v. 19, p. 17-25, 2017.

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niossomas enriquecidos com compostos fenólicos

TORRES, I. M. S; BENTO, E. B; ALMEIDA, L. C; DE SÁ, L. Z. C. M; LIMA, E. M. Preparation, characterization and in vitro antimicrobial activity of liposomal ceftazidime and cefepime against *pseudomonas aeruginosa* strains. Brazilian Journal of Microbiology, v. 1, p. 984-992, 2012.

TÜMEN, I; AKKOL, E. K; TAŞTAN, H; SÜNTAR, I; KURTCA, M; Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). Journal of Ethnopharmacology, v. 211, p. 235–246, 2018.

VANAJA, K; WAHL, M. A; BUKARICA, L; HEINLE, H. Liposomes as carriers of the lipid soluble antioxidant resveratrol: Evaluation of amelioration of oxidative stress by additional antioxidant vitamin. Life Sciences, v. 93, p. 917-923, 2013.

VIANA, M. M. S; CARLOS, L. A; SILVA, E. C; PEREIRA, S. M. F; OLIVEIRA, D. B; ASSIS, M. L. V. Composição fitoquímica e potencial antioxidante de hortaliças não convencionais. Horticultura brasileira. v. 33, p. 504-509, 2015.

VIEIRA, D. B; GAMARRA, L. F; Advances in the use of nanocarriers for cancer diagnosis and treatment. Einstein, v. 14, p. 99-103, 2016.

VOIGT, N; HENRICH-NOACK, P; KOCKENTIEDT, S; HINTZ, W; TOMAS, J; SABEL, B. A. Surfactants, not size or zeta-potential influence blood–brain barrier passage of polymeric nanoparticles. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 87, p. 19–29, 2014.

WANG, X; GAO, Y. Effects of length and unsaturation of the alkyl chain on the hydrophobic binding of curcumin with Tween micelles. Food Chemistry, v. 246, p. 242-248, 2018.

XIA, H; CHENG, Y; XU, Y; CHENG, Z. Retinoic acid liposome-hydrogel: preparation, penetration through mouse skin and induction of F9 mouse teratocarcinoma stem cells differentiation. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 51, p. 542-549.

YAMAMOTO, E; MIYAZAKI, S; AOYAMA, S; KATO, M. A simple and rapid measurement method of encapsulation efficiency of doxorubicin loaded liposomes by

CAMILO, C. J. Atividade antioxidante de niosomas enriquecidos com compostos fenólicos

direct injection of the liposomal suspension to liquid chromatography. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 536, p. 21-28, 2018.

YEOM, S; SHIN, B. S; HAN, S. An electron spin resonance study of non-ionic surfactant vesicles (niosomes). *Chemistry and Physics of Lipids*, v. 181, p. 83-89, 2014.

YINGYUAD, P; SINTHUVANICH, C; LEEPASERT, T; THONGYOO, P; BOONRUNGSIMAN, S. Preparation, characterization and in vitro evaluation of calothrixin B liposomes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 44, p. 491-497, 2018.

ZHAO, M; ZHAO, M; FU, C; YU, Y; FU, A. Targeted therapy of intracranial glioma model mice with curcumin nanoliposomes. *International Journal of Nanomedicine*, v. 13, p. 1601–1610, 2018.

ZIMMERMANN, A. M; KIRSTEN, V. R. Food with antioxidant function in chronic diseases: a clinical approach. *Disciplinarum Scientia*, v. 9, p. 51-68, 2008.

ZOCOLER, A. M. D; SANCHES, A. C. C; ALBRECHT, I; MELLO, J. C. P. Antioxidant capacity of extracts and isolated compounds from *Stryphnodendron obovatum* Benth. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, p. 443-452, 2009.

ANEXOS

Artigo de revisão Submetido no periódico “Future Medicinal Chemistry”

ISSN: 1756-8927

Fator de impacto: 3.556

Lipid vesicles: Principal components and methods used in their formulations

Cicera Janaine Camilo^a, Débora Odília Duarte Leite^a, Angelo Roncalli Alves e Silva^b, Irwin Rose Alencar Menezes^a, Henrique Douglas Melo Coutinho^a, José Galberto Martins da Costa^{a*}.

^aPrograma de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular, Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato, CE, Brasil.

^bDivisão de Pesquisa Desenvolvimento e Inovação DPDI - Fundação Edson Queiroz - Universidade de Fortaleza.

* Corresponding author: galberto.martins@gmail.com

Artigos publicados no período do mestrado

CAMILO, C. J.; Nonato, C. F. A ; RODRIGUES, F. F. G. ; Costa, W. D. ; Clemente, G. G ; Macedo, M. A.C. S. ; Rodrigues, F. F. G. ; Costa, J. G. M. . Acaricidal activity of essential oils: a review. Trends in Phytochemical Research (TPR), v. 1, p. 183-198, 2017.

Bezerra, Camila Fonseca; Camilo, Cicera Janaine; do Nascimento Silva, Maria Karollyna; de Freitas, Thiago Sampaio; Ribeiro-Filho, Jaime; Coutinho, Henrique Douglas Melo . Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria. Microbial Pathogenesis, v. 113, p. 265-268, 2017

Caldas Pereira, Rafael; Nonato, Carla de Fátima Alves; Camilo, Cicera Janaine; Melo Coutinho, Henrique Douglas; Rodriguesa, Fabíola Fernandes Galvão; Xiao, Jianbo; da Costa, José Galberto Martins. Development and validation of a rapid RP-HPLC-DAD analysis method for the quantification of pilocarpine in *Pilocarpus microphyllus* (Rutaceae). FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY, v. 1, p. 1-30, 2018.