



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO QUÍMICA

DANIEL RAPACHI

**ISOLAMENTO DE CUMARINA PRESENTE NO GUACO E INTERAÇÃO COM A
LECITINA DE SOJA ORGÂNICA COM POTENCIAL APLICAÇÃO COSMÉTICA**

REALEZA

2019

DANIEL RAPACHI

**ISOLAMENTO DE CUMARINA PRESENTE NO GUACO E INTERAÇÃO COM A
LECITINA DE SOJA ORGÂNICA COM POTENCIAL APLICAÇÃO COSMÉTICA**

Trabalho de conclusão do curso apresentado ao curso de Química Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientadora: Prof^a. Dra. Gisele Louro Peres

co-orientador: Dr. Hudson Loch Haskel

REALEZA

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Rapachi, Daniel

Isolamento de Cumarina presente no Guaco e interação com a Lecitina de Soja Orgânica com potencial aplicação cosmética / Daniel Rapachi. -- 2019.

62 f.:il.

Orientadora: Doutora Gisele Louro Peres.

Co-orientador: Doutor Hudison Loch Haskel.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Química-Licenciatura, Realeza, PR, 2019.

1. Caracterização. 2. Cosmético. 3. Cumarina. 4. Interação. 5. Lecitina de soja. I. Peres, Gisele Louro, orient. II. Haskel, Hudison Loch, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

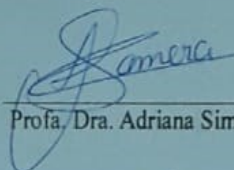
DANIEL RAPACHI

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como requisito para obtenção do grau de LICENCIADO EM QUÍMICA na UFFS, campus Realeza/PR.

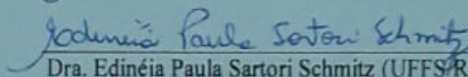
Orientadora: *Profa. Dra. Gisele Louro Peres*
Co-orientador: *Dr. Hudson Loch Haskel*

Este trabalho de TCC foi defendido e aprovado pela banca em 04 de dezembro de 2019.

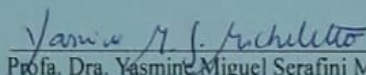
BANCA EXAMINADORA:



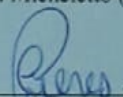
Profa. Dra. Adriana Simane Câmara (UFFS/Realeza/PR)



Dra. Edinéia Paula Sartori Schmitz (UFFS/Realeza/PR)



Profa. Dra. Yasmim Miguel Serafini Micheletto (UFFS/Laranjeiras do Sul/PR)



Profa. Dra. Gisele Louro Peres (UFFS/Realeza/PR)



Dr. Hudson Loch Haskel (UFFS/Realeza/PR)

Dedico este trabalho a minha mãe Roseli Limberger Rapachi e ao meu pai Derli Rapachi, e minha esposa Ieda Paula Rapachi que se dedicam o tempo todo, sem medir esforços para que eu alcance todos os meus sonhos e objetivos. MUITO OBRIGADO!

AGRADECIMENTO

A Deus, por me proporcionar saúde, paz, amor, força, proteção e oportunidades na vida.

A Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus* Realeza, curso de Licenciatura em Química, pelas inúmeras oportunidades ao decorrer da trajetória acadêmica.

A professora e orientadora Dr. Gisele Louro Peres, que sempre esteve presente e dedicou – se a ler, estudar e com paciência sempre buscou me ajudar para que me tornasse um bom profissional, sempre proporcionando diversas oportunidades de estudo e pesquisa.

Ao Dr. Hudison Loch Haskel, que sempre esteve presente se dedicando e orientando o trabalho de conclusão de curso, dentre outras pesquisas realizadas na trajetória acadêmica.

A Dra. Edinéia Paula Sartori Schmitz, técnica de laboratório de química, que esteve sempre presente me auxiliando nos diversos projetos de pesquisa em que participei.

A banca, por ter aceitado o convite, trazendo suas sugestões e colaborações no trabalho.

A Ieda Paula Rapachi (esposa), pelo apoio, compreensão, carinho e amor, e pelas várias horas em que passamos estudando.

Aos meus familiares: Roseli Limberger Rapachi (mãe), Derli Rapachi (pai), Ieda Paula Rapachi (esposa), Duan Rapachi (irmão), Ana Leticia Dargas Rapachi (cunhada), pelo apoio, incentivo, ajuda e compreensão.

Ao Grupo de Pesquisa em Química Tecnológica e Ambiental (GPQTA), por me proporcionar diversos momentos de pesquisa, reuniões e participações em eventos.

Ao técnico de laboratório João Paulo Gollner – Reis, por auxiliar nos processos de secagem e liofilização.

Ao Professor Thiago Bergler Bitencourt pela realização das análises de FT-IR.

A acadêmica do curso de biologia Alini de Almeida, pela ajuda prestada a mim principalmente quando iniciei na pesquisa, e pelas conversas e risadas.

Aos técnicos de laboratório de química pelo apoio para o desenvolvimento das pesquisas.

Aos amigos do curso de química, pelas conversas e trabalhos realizados juntos.

A todos os professores do curso de licenciatura em química, que fizeram suas contribuições no decorrer da graduação, para meu desenvolvimento profissional, meu muito obrigado a todos.

RESUMO

Os compostos cumarínicos são amplamente encontrados em diferentes espécies botânicas e suas propriedades biológicas empregam um grande valor econômico na produção de medicamentos, assim como o uso na formulação de produtos cosméticos como fragrâncias devido ao seu odor semelhante ao da baunilha. Neste trabalho, realizamos a extração de uma fração rica em cumarina do extrato alcoólico do guaco. Posteriormente realizou-se a purificação da lecitina de soja orgânica, para a obtenção de fosfolipídios. Em seguida, a lecitina de soja foi interagida com cumarina (1-Benzopyron-2-one), pelo método de evaporação em fase reversa para produção de lipossomas. As amostras obtidas foram caracterizadas por análise fitoquímica para a indicação de compostos cumarínicos, Cromatografia de Camada Delgada (CCD), e Espectroscopia na Região do Ultravioleta Visível (UV-VIS), Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), Potencial Hidrogeniônico (pH), condutibilidade, diâmetro médio das partículas, Índice de Polidispersão (PD.I) e Potencial Zeta (PZ). Os resultados foram positivos para a presença de compostos cumarínicos no extrato do guaco. Para as amostras de lecitina de soja purificada obtivemos fosfatidilcolina de baixa pureza, com um rendimento de 47,82%, que após interagidas com cumarina as análises de UV-VIS e FT-IR indicam uma possível interação entre a lecitina de soja e a cumarina. O monitoramento das amostras foi realizado por pH, condutibilidade, diâmetro médio, PD.I e PZ foram de $6,063 \pm 0,015$; $0,038 \pm 0,004 \text{ mS.cm}^{-1}$; $464,978 \pm 18,787 \text{ nm}$; $0,512 \pm 0,025$; $-66,425 \pm 5,133 \text{ mV}$, respectivamente. Conclui-se que ocorreu a interação entre a lecitina de soja com a cumarina e as soluções possui futuro potencial cosmético para o tratamento do envelhecimento precoce. O trabalho foi realizado na Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Realeza, dentro do Grupo de Pesquisa em Química Tecnológica e Ambiental (GPQTA), sendo apresentado como trabalho de conclusão de curso de licenciatura em química.

Palavras-chave: Caracterização. Cosmético. Cumarina. Interação. Lecitina de soja.

ABSTRACT

The coumarin compounds are widely found in different botanical species and their biological properties employ a great economic value in the production of medicines, as well as the use in the formulation of cosmetic products as fragrances due to their odor similar to that of vanilla. In this work, we perform the extraction of a fraction rich in coumarin of the alcoholic extract of the guaco. Subsequently, organic soya lecithin was purified to obtain phospholipids. Soybean lecithin was then interacted with coumarin (1-Benzopyron-2-one) by the reverse phase evaporation method for liposomes production. The samples obtained were characterized by phytochemical analysis for indication of coumarin compounds, Delgada Layer Chromatography (CCD), spectroscopy analysis in the Visible Ultraviolet Region (UV-VIS), Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FT-IR), Hydrogen Potential (pH), Conductivity, Average Particle Diameter, Polydispersion Index (PD.I) and Zeta Potential (PZ). The results were positive for the presence of coumarin compounds in the guaco extract. For purified soya lecithin samples we obtained phosphatidylcholine of low purity, with a yield of 47,82%, that after interacting with coumarin the UV-analysisVIS and FT-IR indicate a possible interaction between soya lecithin and coumarin. The monitoring of the samples was performed by pH pH, conductivity, mean diameter, PD. I and PZ were $6,063 \pm 0,015$; $0,038 \pm 0,004 \text{ mS.cm}^{-1}$; $464,978 \pm 18,787 \text{ nm}$; $0,512 \pm 0,025$; $-66,425 \pm 5,133 \text{ mV}$, respectively. It is concluded that the interaction between soybean lecithin and coumarin has occurred and the solutions have future cosmetic potential for the treatment of early aging. The work was conducted at the Federal University of Fronteira Sul - *Campus* Realeza, within the Grupo de Pesquisa em Química Tecnológica e Ambiental (GPQTA), and was presented as a work of completing a degree in chemistry.

Keywords: Characterization. Cosmetic. Coumarin. Interaction. Soya lecithin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- A esquerda <i>M. glomerata</i> e a direita <i>M. laevigata</i>	16
Figura 2- Representação das estruturas moleculares de diferentes compostos cumarínicos. ..	19
Figura 3- Representação estrutural dos diferentes tipos de fosfolipídios. A posição indicada pela letra X na figura é a variável que dá origem a: (A) ácido fosfatídico, (B) fosfatidiletanolamina, (C) fosfatidilcolina, (D) fosfatidilserina, (E) fosfatidilinositol.	22
Figura 4- Representação de um lipossoma, cortado ao meio.	23
Figura 5- Representação da bicamada fosfolipídica, e seu caráter hidrofílico e hidrofóbico. .	24
Figura 6- Etapas da hipótese da formação do lipossoma com quitosana.	25
Figura 7- Representação das vibrações moleculares do CH ₂	28
Figura 8- Representação esquemática da dupla camada elétrica.	30
Figura 9. Extração da cumarina do Guaco.	34
Figura 10- Soluções contendo cumarina quando observada em exposição a luz UV, A) cumarina padrão (1-Benzopyron-2-one), B) cumarina extraída do guaco.....	38
Figura 11- Espectro de UV-VIS obtido para as soluções de Cumarina padrão 2 g L ⁻¹ (1-Benzopyron-2-one) e das cumarinas presente no Guaco.	39
Figura 12. Aspecto físico da Lecitina de soja orgânica, A) antes do processo de purificação e B) após o processo de purificação.	41
Figura 13. Espectro obtido por CCD, A) lecitina de soja orgânica purificada e B) padrão de fosfatidilcolina.	42
Figura 14- Espectro de IR para o organogel de lecitina de soja sem e com a adição de cumarina; e da cumarina.	45
Figura 15- Espectro de absorção por espectroscopia do UV-VIS para as interações da lecitina de soja com cumarina.	47
Figura 16- Espectro da intensidade versus distribuição de tamanho para as soluções de A) lecitina soja e de B) para as interações da lecitina de soja com cumarina.	49
Figura 17- Espectro de FT-IR da cumarina.	59
Figura 18- Espectro de FT-IR para o organogel de lecitina de soja sem a adição de cumarina.	60
Figura 19- Espectro de FT-IR para o organogel de lecitina de soja com a adição de cumarina.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- . Peso inicial e final da purificação da lecitina de soja.....	40
Tabela 2- Vibrações das ligações dos espectros FT-IR do “organogel”, de lecitina de soja com ou sem cumarina.	43
Tabela 3- Caracterização das interações, através de pH e condutibilidade.....	46
Tabela 4- Caracterização das interações através do DLS.	48
Tabela 5- Valores das diferenças de tamanho para as populações e intensidade absorvida. ...	49
Tabela 6- Potencial Zeta das interações.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

CCD – Cromatografia de Camada Delgada

UV-VIS – Espectrofotometria na Região do Ultravioleta Visível

DLS – Espalhamento de Luz Dinâmico (Dynamic Light Scattering)

PD.I – Índice de Polidispersividade

PZ – Potencial Zeta

FT-IR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformação de Fourier

IR - Infravermelho

pH – Potencial Hidrogênionico

A – Absorbância

b – Caminho Óptico

ϵ - Absortividade Molar

c – Concentração molar do soluto

Σ – Somatório

D_H – Diâmetro médio

K_B – Constante de Boltzmann

$n_{(s)}$ – Viscosidade do Solvente

n – Viscosidade a temperatura experimental

DCE – Dupla Camada Elétrica

μ_e – Mobilidade Eletroforética

ϵ_{rs} – Permeabilidade Relativa / Constante dielétrica

ϵ_o – Permissividade de vácuo

f(ka) – Função de Henry

EBC – Extrato Bruto Concentrado

PTFE - Politetrafluoretileno

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
1.1.	Objetivos	13
1.1.1.	Objetivo geral	13
1.1.2.	Objetivos Específicos	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1.	COSMÉTICOS	14
2.1.1.	Nanotecnologia aplicada à produção de cosméticos (Produção de nanocosméticos)	15
2.2.	GUACO	16
2.2.1.	Cumarinas	16
2.2.1.1.	Estrutura e classificação das cumarinas	17
2.3.	LECITINA DE SOJA	20
2.3.1.	Lipossomas de lecitina de soja	23
2.4.	CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)	25
2.5.	TÉCNICAS DE ESPECTROMETRIA	26
2.5.1.	Espectrometria de absorção molecular no ultravioleta-visível	26
2.5.2.	Espectrometria no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) ..	27
2.5.3.	Espectroscopia de espalhamento de luz dinâmico	28
2.5.4.	Potencial zeta	29
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1.	MATERIAIS	32
3.1.1.	Reagentes	32
3.2.	MÉTODOS	32
3.2.1.	Extração de cumarinas	32
3.2.1.1.	Identificação fitoquímica	34
3.2.2.	Purificação da lecitina de soja	34
3.2.3.	Preparo da solução estoque de cumarina padrão	35
3.2.4.	Interação da lecitina de soja com cumarina	35
3.3.	MÉTODOS DE ANÁLISE EMPREGADOS	36
3.3.1.	Potencial hidrogeniônico (pH)	36
3.3.2.	Condutibilidade	36
3.3.3.	Cromatografia de camada delgada (CCD)	36
3.3.4.	Espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)	36
3.3.5.	Caracterização no Ultravioleta Visível (UV-VIS)	36

3.3.6.	Caracterização por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)	36
3.3.7.	Potencial Zeta (PZ)	37
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
4.1.	ISOLAMENTO DO EXTRATO RICO EM CUMARINA	38
4.2.	EFEITO DA PURIFICAÇÃO DA LECITINA DE SOJA	40
4.3.	CARACTERIZAÇÃO DA INTERAÇÃO DA CUMARINA COM LECITINA DE SOJA	42
5.	CONCLUSÕES	51
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	51
7.	REFERÊNCIAS	52
8.	APÊNDICE 1	59

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência que está em crescente desenvolvimento nas últimas décadas em diferentes países. A manipulação de materiais em escala nanométrica atribui diferentes características físico-químicas, tornando-os versáteis para a aplicabilidade em diferentes setores industriais, como o setor químico e petroquímico, têxtil, de energia, de agronegócio, de pigmentos e tintas, de saneamento básico, de produção de medicamentos e cosméticos, (ZANETTI-RAMOS & CRECZYNSKI-PASA, 2008; BERGMANN, 2008) dentre outros.

O emprego da nanotecnologia no desenvolvimento de medicamentos e cosméticos em escala nanométrica, contribui para uma melhora na penetrabilidade dos ingredientes ativos na pele ou cabelo, melhora na estabilidade dos princípios ativos empregados, melhoria da eficácia, das características sensoriais e do controle da liberação dos ativos (BARIL *et al.*, 2012; WISSING & MULLER, 2003; ROSSI-BERGMANN, 2008).

Uma das aplicabilidades da nanotecnologia na indústria de cosméticos é no desenvolvimento de veículos ou excipientes em escala nanométrica, como lipossomas, nanoesferas, nanocápsulas, entre outros (OLIVEIRA, 2004; BARIL *et al.*, 2012; WISSING & MULLER, 2003; ROSSI-BERGMANN, 2008), com a finalidade de proteger os princípios ativos da oxidação ou de outras reações que possam gerar produtos indesejáveis (OLIVEIRA, 2004).

Estes veículos ou excipientes podem ser obtidos da extração de recursos naturais, como plantas, fungos, animais e entre outros. Dentre estes, a lecitina de soja é uma das matérias-primas que pode ser empregada na formulação destes veículos ou excipientes, devido a sua composição química ser composta por uma mistura de fosfolipídios, triglicerídeos, ácidos graxos, compostos oxigenados e entre outros (LOPES, 2008; SCHOLFIELD, 1981), que podem ser empregados para a produção de lipossomas (MERTINS, 2008), como veículos para princípios ativos.

Os princípios ativos empregados nas formulações de cosméticos ou medicamentos, muitas das vezes são tóxicos, além de possuir uma alta absorção pelo organismo (SOUZA, 2005, LAKE, 1999; COHEN, 1979), podendo causar grandes riscos a saúde. Porém em baixas concentrações e por meio de liberação controlada o mesmo pode ser empregado para o tratamento de diversos problemas. Dentre os diversos tipos de princípios ativos a cumarina é um composto que pode ser obtido através de uma variedade de plantas e fungos, atribuindo a molécula diferentes propriedades biológicas como, antiespasmódica, antiedematogênica,

broncodilatadora, espasmolítica, vasodilatadora, antiofídica, antimicrobiana, relaxante vascular, hipolipidêmica, hipotensora, inibidor da peroxidação lipídica, inibidores de ânion radical superóxido, quelante de íons ferro, anti-HIV (SIMÕES *et al.*, 2004, ABOY *et al.*, 2002), porém a mesma é tóxica em elevadas concentrações (LAKE, 1999; COHEN, 1979).

O presente trabalho, tem como foco a extração de compostos cumarínicos presentes no guaco e a interação da cumarina (1-Benzopyron-2-one) com lecitina de soja orgânica, com finalidade futura de aplicação cosmética para a redução ou eliminação da peroxidação lipídica e da formação de ânion radical superóxido na pele, que são os principais agentes causadores do envelhecimento precoce, trazendo grandes problemas a este órgão (MOUAD & PORTO, 2014).

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Realeza, no Grupo de Pesquisa em Química Tecnológica e Ambiental (GPQTA), que vem desenvolvendo diversos estudos em nanotecnologia, produção de veículos de fontes naturais para diversas aplicabilidades, obtenção de princípios ativos de plantas, entre outros estudos de diversas áreas do conhecimento.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

Estudar a extração de compostos cumarínicos do guaco e a interação de cumarina com lecitina de soja orgânica, através do processo de evaporação em fase reversa.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Extrair cumarinas naturais do guaco;
- Caracterizar as cumarinas naturais, através de análise fitoquímica e espectrometria UV-VIS;
- Purificar a lecitina de soja orgânica bruta;
- Caracterizar a lecitina de soja orgânica purificada, através de Cromatografia de Camada Delgada (CCD);
- Interagir a cumarina com a lecitina de soja orgânica, através do método de evaporação em fase reversa;
- Caracterizar as soluções obtidas através das análises de FT-IR, UV-VIS, pH, condutibilidade, DLS, PZ.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. COSMÉTICOS

Há uma crescente preocupação com o bem-estar e saúde da pele, que é o maior órgão do corpo humano. De acordo com Barbosa (2011), a pele é dividida em três camadas fundamentais; epiderme, derme e hipoderme, desempenhando diferentes funções como, termorregulação, equilíbrio hidro-eletrolítico, controle hemodinâmico, metabolismo energético, sistema sensorial e defesa contra agressões externas. Porém, quando a mesma sofre alguma mudança como forma de adaptação para combater algum tipo de alteração, seja físico-químico ou biológico, podem ocorrer danos celulares que podem ou não ser revertidos dependendo do estágio que se encontra (BARBOSA, 2011). Portanto, se faz necessário a produção de produtos que venham atender essa demanda, onde os cosméticos são grandes promissores na prevenção, controle e inibição destes danos.

Os cosméticos são relatados a muitos anos no uso para a proteção de danos externos e para mudança da estética da pele. No Antigo Egito, os registros relatam o uso de sais de antimônio empregados para pintura dos olhos, assim como o uso de gordura vegetal e animal, entre outros materiais para a produção de cremes para a proteção da pele das altas temperaturas do deserto (GALEMBECK & CSORDAS, 2011) e como forma de proteção e intimidação contra os “inimigos” (SATHLER, 2018).

Porém para ser comercializado necessita de uma regulamentação, registro, fiscalização e monitoramento, no Brasil o órgão responsável é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), vinculada ao Ministério da Saúde, que disponibiliza esse acompanhamento de informação e dados para os vários tipos de produtos produzidos em território nacional. Segundo a Resolução Diretoria Colegiada (RDC) 211, de 14 de julho de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os cosméticos são:

Preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.

O órgão ANVISA classifica os cosméticos em dois grupos: produtos de grau I e grau II (RDC 211, de 14 de julho de 2005). Os produtos caracterizados por possuírem propriedades básicas ou elementares, não necessitando comprovação de segurança e/ou eficiência, são classificados por produtos de grau I, pertencente a este grupo são, água de colônia, água perfumada, perfume, extrato aromático, desodorante corporal, xampu e entre outros. Os produtos caracterizados por possuírem, indicações específicas, cujas características exigem

comprovação de segurança e/ou eficácia, são classificados como produtos de grau II, os produtos pertencentes a este grupo são, água oxigenada 10 a 40 volumes, enxaguatório bucal anti-séptico, removedor químico de manchas de nicotina, maquiagem com fotoprotetor, entre outros.

A formulação de um cosmético pode ser constituída por princípios ativos (composto com atividade específica), adjuvantes (espalhante, umectante, detergentes, espalhante, umectante, detergentes, dispersantes, aderentes, óleo mineral ou vegetal, sulfato de amônio e uréia, entre outros), veículos e conservantes. Porém quando os cosméticos possuem em sua formulação princípios ativos, pode ocorrer de os mesmos serem instáveis, irritantes para a pele, ou podendo reagir com o restante da formulação, causando lesões ao organismo (OLIVEIRA, 2004).

Uma estratégia para proteger estes princípios ativos da oxidação, ou de outras reações que possam gerar produtos indesejáveis e permitindo a sua liberação controlada, é o emprego da encapsulação de princípios ativos em algum tipo de veículo (OLIVEIRA, 2004), facilitando sua absorção e penetrabilidade do produto.

Algumas formas de veículos empregados são: as emulsões óleo/água ou água/óleo, sistemas de hidrogéis, emulsões múltiplas, lipossomas, microcápsulas, complexos moleculares e nanopartículas (OLIVEIRA, 2004; BARIL *et al.*, 2012; WISSING & MULLER, 2003; ROSSI-BERGMANN, 2008).

2.1.1. Nanotecnologia aplicada à produção de cosméticos (Produção de nanocosméticos)

A Nanotecnologia pode ser empregada nas mais diferenciadas formas. Em cosméticos, uma das aplicações é no desenvolvimento de veículos ou excipientes em escala nanométrica, que atribui ao produto uma melhor penetrabilidade dos ingredientes ativos na pele ou cabelo, melhora na estabilidade e eficácia dos princípios ativos empregados, bem como na sua característica sensorial e no controle da liberação dos ativos na pele ou cabelo (BARIL *et al.*, 2012; WISSING & MULLER, 2003; ROSSI-BERGMANN, 2008). Estas vantagens atribuíram aos produtos alto valor econômico.

Os sistemas nanoestruturados mais empregados na produção de cosméticos são nanocápsulas, nanoesferas, nanopartículas lipídicas sólidas, nanoemulsões, microemulsões, lipossomas e niossomas (DAUDT *et al.*, 2013). Dentre os sistemas nanoestruturados, os lipossomas, em especial, são encontrados na formulação de vários produtos, como tintas para cabelos, condicionadores, cremes e loções faciais, loções pós - barba, protetores solares, xampus, sabonetes líquidos, hidratantes para a pele, produtos antienvhecimento e maquiagem,

atuando como liberador do princípio ativo, podendo aumentar ou repor os lipídios endógenos do extrato córneo, hidratação e redução da secura da pele (GALEMBECK & CSORDAS, 2011; DAUDT *et al.*, 2013).

2.2. GUACO

O guaco “Figura 1” é um subarbusto silvestre pertencente ao gênero *Mikania*, possui folhagem densa e perene, com caule cilíndrico, ramificado e glabro, sendo encontrado naturalmente em margens dos rios, matas primárias, capoeiras, capoeirões, orla de matas, terrenos de aluvião, várzeas sujeitas a inundações (CZELUSNIAK *et al.*, 2012). São empregados para a produção de xaropes, balas, pirulitos e licores (OLIVEIRA *et al.*, 1986).

Figura 1- A esquerda *M. glomerata* e a direita *M. laevigata*.



Fonte: adaptado de SANTOS, 2005.

As espécies de guaco possuem em sua composição química uma gama de compostos com diferentes aplicabilidades, sendo constituídas por um elevado teor de cumarinas, foco deste estudo, além de triterpenos / esteróides, heterosídeos flavônicos (BOLINA *et al.*, 2009), ácido cupressênico, ácido caurenóico, ésteres diterpênicos, entre outros (BIGHETTI, 2004), que atribuem diferentes atividades farmacológicas como antiespasmódica, antiedematogênica, broncodilatadora, espasmolítica, vasodilatadora, antiofídica e antimicrobiana (ABOY *et al.*, 2002).

2.2.1. Cumarinas

As cumarinas são compostos químicos de alta estabilidade, baixo custo e com odor semelhante ao da baunilha, devido a esta característica, por muito tempo foi utilizada na produção de alimento, empregando-as como aromatizantes e na formulação de cosméticos, medicamentos e produtos de limpeza (SIMÕES *et al.*, 2004, SPROLL *et al.*, 2008). Na indústria

cosmética são empregados em desodorantes antiperspirantes, produtos para banho, loções corporais, cremes faciais, spray de cabelo, xampus, gel de banho, entre outros, atuando como fragrância, além de possuírem uma diversidade de propriedades biológicas e com elevada absorção e extensividade pela pele (SOUZA, 2005).

Atualmente o uso de cumarinas para formulação de alimentos é proibido, baseado em relatos de hepatotoxicidade em ratos, em estudos realizados nos Estados Unidos da América em 1954 (LAKE, 1999; COHEN, 1979). Para a indústria farmacêutica o grande potencial das cumarinas é devido suas propriedades biológicas como imunossupressora, relaxante vascular, hipolipidêmica, hipotensora, inibidor da peroxidação lipídica, inibidores de ânion radical superóxido, quelante de íons ferro, anti-HIV (SIMÕES *et al.*, 2004), tornando-os compostos de grande interesse de estudos. Um exemplo é o medicamento Varicoss[®] indicado para o tratamento de síndromes varicosas, varizes, hemorróidas, flebites, tromboflebites, periflebites, síndromes pré-flebiticas, estases linfáticas, linfangites, linfadenites, linfedemas, estases venosas, edemas, profilaxia de trombose pré e pós-operatória e na gravidez; profilaxia e tratamento de edemas e estases, na forma comercial.

Cumarinas são compostos que podem ser obtidos através de sínteses orgânicas, ou via biossíntese. Nos vegetais, frutos, plantas e fungos, constitui o metabólito secundário desempenhando funções diretas nos mecanismos de regulação e manutenção da planta (DIAS, 2015). O processo de biossíntese da cumarina, ocorre por meio da glicosilação seguido da isomerização do ácido o-cumarico, formando através da lactonização as cumarinas (SIMÕES *et al.*, 2004; CZECUSNIAK, *et al.*, 2012).

Na produção de cumarina via síntese orgânica, algumas metodologias mais empregadas são baseadas nas reações de Perkin, Pechmann e de Knoevenagel (PERKIN, 1868, VIEIRA, 2010; VIANNA 2011). A reação de Perkin consiste na formação de cumarinas, através da reação de sal de sódio de salicilaldeído em anidrido acético. Já a reação de Pechmann, para produção de cumarina consiste na condensação de compostos fenólicos com um β -ceto ésteres, na presença de um ácido. A produção de cumarina pela reação de Knoevenagel, emprega a condensação de aldeídos com grupamentos metileno ativo na presença de um catalisador, onde os catalisadores utilizados podem ser tanto bases fracas ou combinação de amidas e ácidos carboxílicos de Lewis.

2.2.1.1. Estrutura e classificação das cumarinas

As cumarinas são divididas em quatro grupos especiais, o das cumarinas simples, das furanocumarinas, piranocumarinas e cumarinas substituídas no anel lactona, estes quatro

grupos possuem em comum o núcleo cumarínico, “Figura 2A”, com um anel aromático fundido a um anel lactona condensado (LAKE, 1999).

A cumarina 7 – Hidroxicumarina (Figura 2B), é um exemplo de cumarinas simples hidroxiladas no anel benzênico, este grupo é caracterizado por ser derivado hidroxilado, alcoxilado ou alquilado no anel de benzeno (LACY & O’KENNEDY, 2004), sendo estes facilmente encontrados em plantas (SIMÕES *et al.*, 2004).

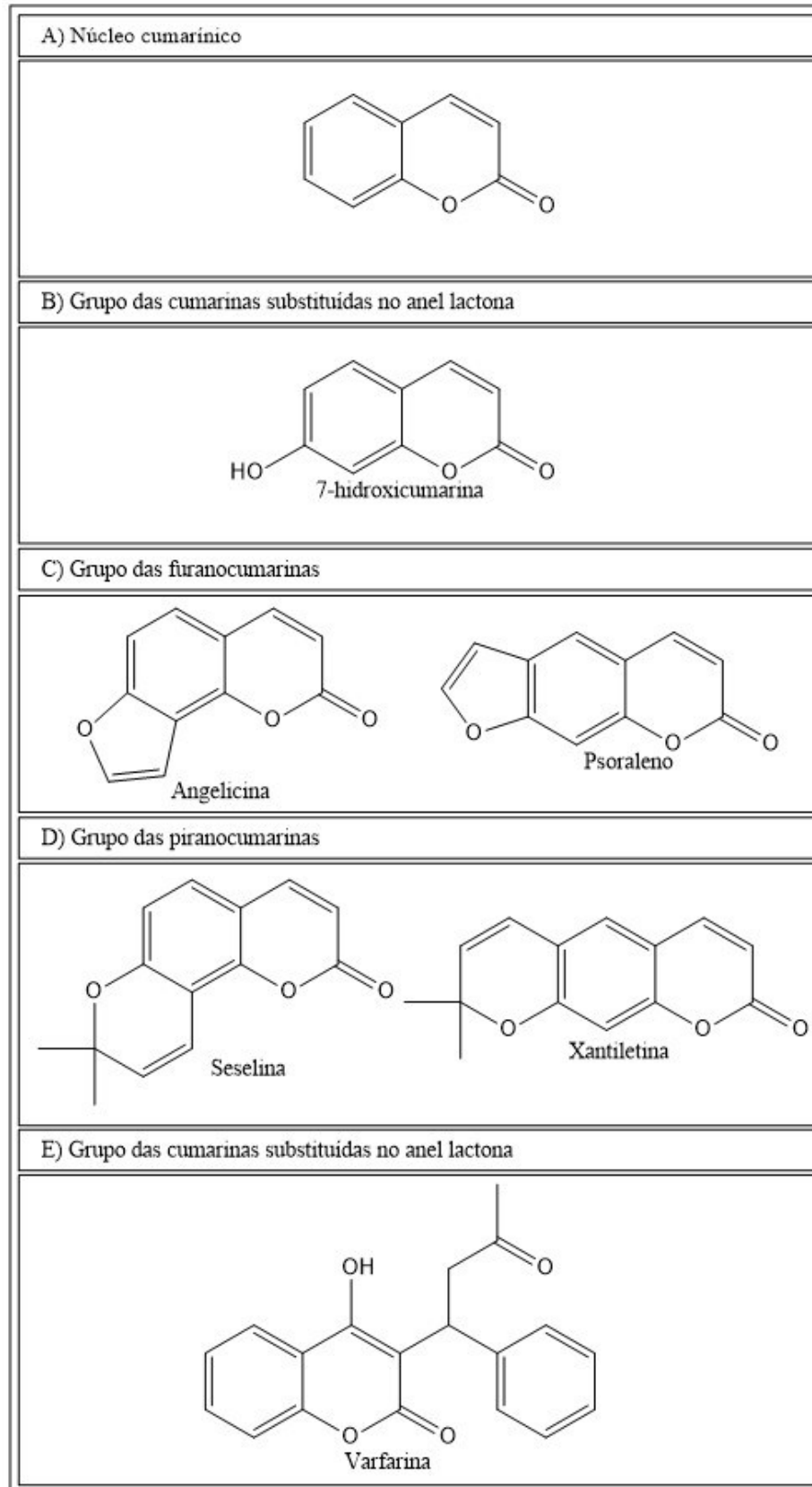
As furanocumarinas, possuem um anel de furano de cinco membros, ligado ao anel aromático do núcleo cumarínico. O Psoraleno (Figura 2C) é um exemplar linear deste grupo, já a Angelicina (Figura 2C) é um composto angular que pertence a este grupo (LACY & O’KENNEDY, 2004).

As piranocumarinas possuem um anel pireno de 6 membros, ligado de forma linear ou angular com o anel aromático do núcleo cumarínico. Exemplos de compostos pertencentes a este grupo é a Seselina e a Xantiletina (Figura 2D) (LACY & O’KENNEDY, 2004).

A Varfarina (Figura 2E) é um representante do grupo das cumarinas substituídas no anel lactona, os substituintes são principalmente encontrados nos carbonos 3 e 4 do anel lactona (LACY & O’KENNEDY, 2004).

As diferenças encontradas nos diferentes tipos cumarinas se devem à natureza e posição do grupo substituintes, atribuindo as mais variadas características físico-químicas, conferindo-lhes assim um espectro UV característico (SIMÕES *et al.*, 2004).

Figura 2- Representação das estruturas moleculares de diferentes compostos cumarínicos.



Fonte: autor.

2.2.1.2 Identificação e isolamento de cumarina de extrato de plantas

As cumarinas podem ser identificadas qualitativamente, por exposição em luz ultravioleta, no comprimento de onda de 360 nm, em meio alcalino. A observação de cumarinas em meio alcalino, ocorre devido ao rompimento do anel lactônico que pode ser revertido pela adição de uma substância ácida. Em meio alcalino na presença de luz UV, desenvolvem uma fluorescência azul-brilhante, verde, amarela ou roxa, que pode ser realçada na presença de vapor de amônio (SIMÕES *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.* 2001).

Como as cumarinas são consideradas metabólitos secundários, existem cerca de 1300 tipos de cumarinas já identificados em diferentes espécies de fungos, vegetais e bactérias, predominantemente em angiospermas na forma estrutural mais simples (SIMÕES *et al.*, 2004; CZECUSNIAK, *et al.* 2012). São facilmente extraídas com solventes orgânicos e o teor é influenciado pelo meio em que a planta se encontra, pois quanto maior a incidência solar maior o teor de cumarina presente na planta, favorecendo um rendimento maior na extração (CZECUSNIAK, *et al.* 2012).

Nos estudos realizados por Bighetti (2004), o mesmo realizou a extração de uma fração rica em cumarinas empregando um extrato alcoólico seco de *Mikania laevigata schultz bip.* (Guaco), solubilizado em clorofórmio em meio básico e após seguidas extração com frações de clorofórmio, a parte aquosa obtida foi acidificada e realizadas a extração com clorofórmio, evaporando o solvente e purificada em metanol, obtendo uma fração rica em cumarina.

Outro método simples de extração de cumarina, é abordado no trabalho de Baggio (2014), que obteve através da maceração do material vegetal e seco da *Pterocaulon balansae* (*Asteraceae*), empregando n-hexano e diclorometano, caracterizados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

2.3. LECITINA DE SOJA

O termo lecitina é atribuído a uma mistura de fosfolipídios que são encontrados em grande abundância na natureza, principalmente nas membranas celulares de praticamente todas as células vivas, além de ser encontrado em diversos alimentos, como na gema de ovo, chocolate, soja, entre outros (MOTTA, 2012). A soja é um alimento que está presente diariamente, nas refeições dos brasileiros, em especial nos pães e em outras comidas. A lecitina obtida da soja, é extraída do óleo bruto obtido da prensagem da soja (LOPES, 2008).

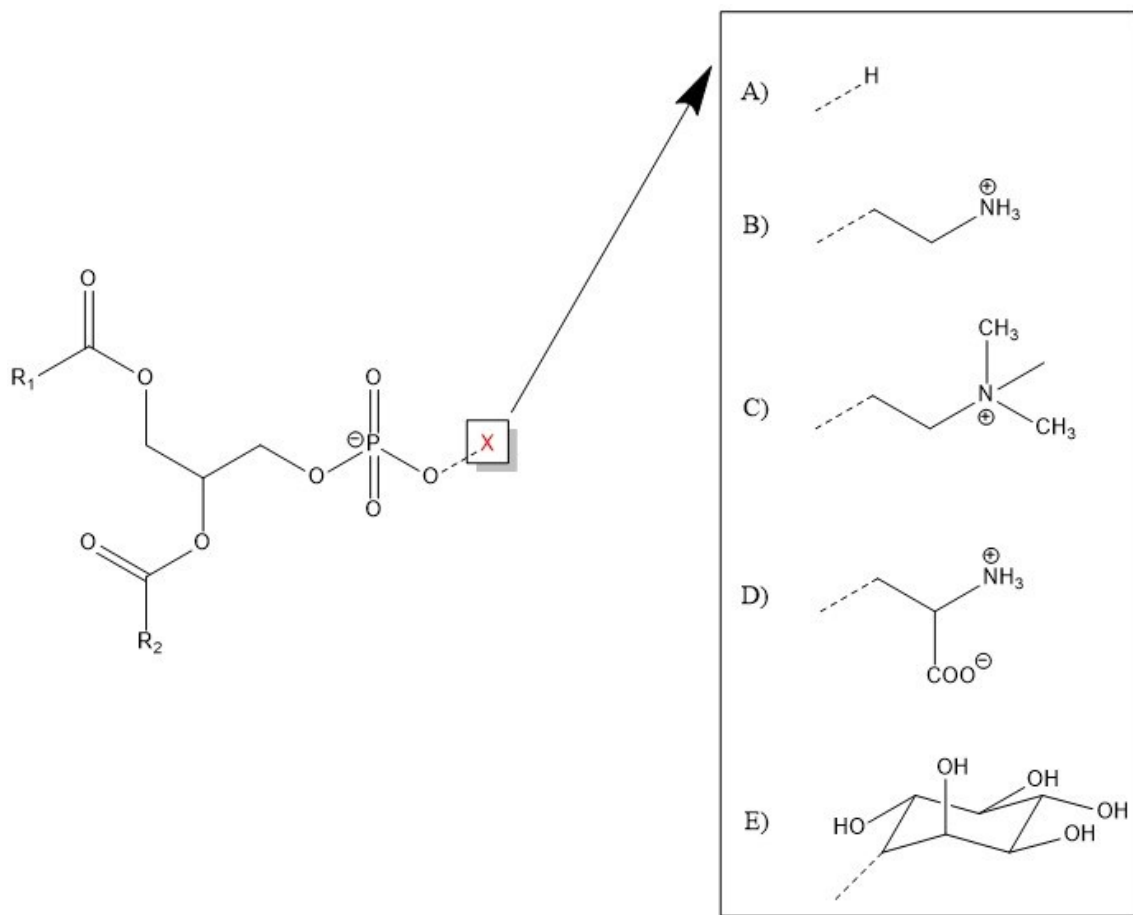
Neste trabalho empregamos da lecitina de soja orgânica bruta, fornecida pela indústria Gebana Brasil, que possuem um acordo de cooperação técnico com a Universidade Federal da

Fronteira Sul, através do GPQTA. O nome “lecitina de soja orgânica”, deve-se que a matéria-prima fornecida pela indústria é produzida livre do uso de agroquímicos.

O emprego industrial da lecitina é dado pelas suas propriedades emulsificantes, solubilizante e emolientes, com uma vasta aplicabilidade nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e de alimentos (ZULIAN, 2016; GALEMBECK & CSORDAS, 2011). As propriedades da lecitina de soja são atribuídas a sua composição química, composta por uma mistura de fosfolipídios que variam de 65 a 75 % da composição, de triglicerídeos, de ácidos graxos, de compostos oxigenados, entre outros (LOPES, 2008; SCHOLFIELD, 1981).

As moléculas de fosfolipídios que constituem a lecitina de soja possuem caráter anfifílico, a parte correspondente polar da molécula é composta por grupamentos funcionais ligados ao grupo fosfato, atribuindo a formação de diferentes fosfolipídios, como a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol e ácido fosfatídico, (Figura 3). A parte com caráter apolar dos lipídeos são compostos por ácidos graxos ligados ao glicerol, que varia de acordo com a saturação do carbono e pelo tamanho da cadeia dos resíduos R_1 e R_2 (hidrocarbonetos) do ácido graxos (RECKZIEGEL, 2015).

Figura 3- Representação estrutural dos diferentes tipos de fosfolipídios. A posição indicada pela letra X na figura é a variável que dá origem a: (A) ácido fosfatídico, (B) fosfatidiletanolamina, (C) fosfatidilcolina, (D) fosfatidilserina, (E) fosfatidilinositol



Fonte: autor.

A solubilidade dos fosfolipídios em solventes orgânicos varia de acordo com o grupo polar e com a composição do ácido graxo que os constitui. Em meio aquoso os mesmos são insolúveis, porém em solventes orgânicos com a presença de água, são capazes de formar micelas (MOTTA, 2012; MERTINS, 2004).

Devido ao crescente uso da lecitina de soja e seus derivados, principalmente na produção de cosméticos e medicamentos, diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de purificá-la, visando a obtenção de uma fração rica em fosfolipídios.

Um método muito usado para purificação da lecitina de soja, é a remoção dos solúveis em acetona, prescrito por Castejon (2015), que determina que a parte insolúvel corresponde a uma estimativa aproximada da massa molecular média dos fosfolipídios.

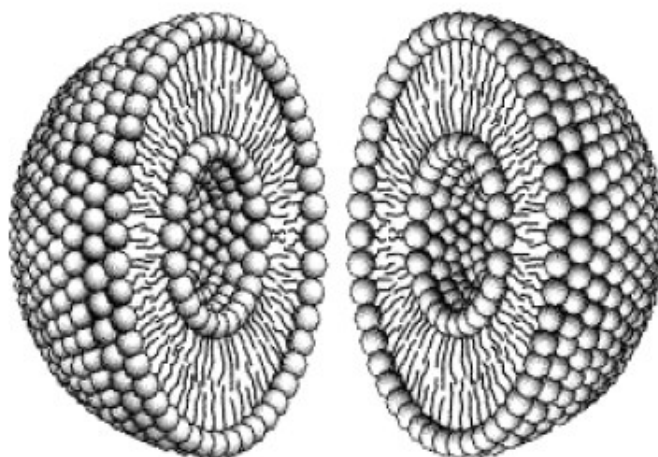
Mertins e colaboradores (2008) realizaram dois métodos diferentes de purificação um por extração, empregando a solubilização em acetato de etila e assim obtendo uma fase rica em

fosfolipídios, porém de baixa pureza, que foi formado pela adição de água e posteriormente, com a remoção do solúveis em acetona. O segundo método prescrito foi o da purificação por coluna cromatográfica, solubilizando a lecitina de soja bruta com clorofórmio e eluídas com uma mistura de clorofórmio, metanol e água, obtendo uma fração rica em fosfolipídios de elevada pureza.

2.3.1. Lipossomas de lecitina de soja

Uma das grandes utilidades da lecitina de soja é o emprego para a formação de lipossomas (MERTINS, 2004). Os lipossomas (Figura 4 e 5), são vesículas compostas de uma ou mais bicamadas lipídicas, constituído de um núcleo aquoso. São formados principalmente por moléculas de fosfolipídios, principalmente daquelas que apresentam uma forma cilíndrica, como as fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomiéline (BATISTA, DE CARVALHO & MAGALHÃES, 2007; MEDEIROS, PATERNO & MATTOSO, 2006, MERTINS, 2004).

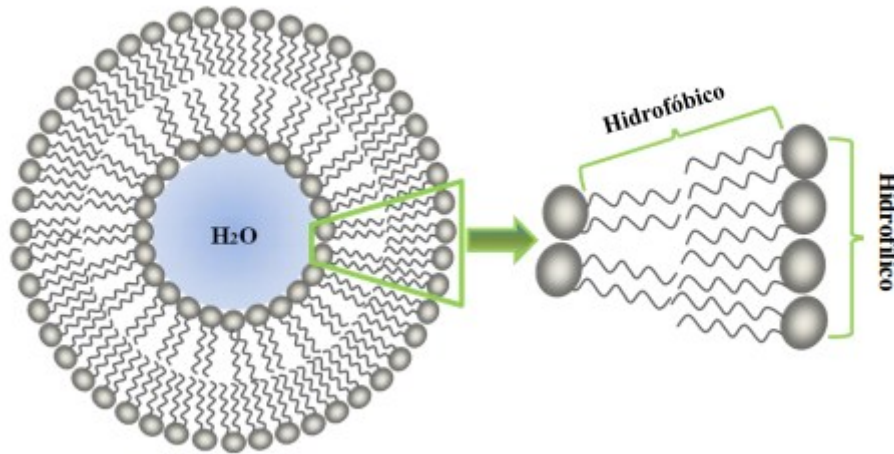
Figura 4- Representação de um lipossoma, cortado ao meio.



Fonte: MERTINS, 2004.

Os lipossomas são empregados para encapsular substâncias de caráter hidrofílicas e/ou lipofílicas, sendo que na parte interna e externa, ocorre a interação com as moléculas hidrofílicas e entre as camadas fosfolipídica ocorre a interação ou absorção de compostos hidrofóbicos, além destes tipos de interação a superfície dos lipossomas pode ser modificada, por meio de ligação de compostos (BATISTA, DE CARVALHO & MAGALHÃES, 2007; MEDEIROS, PATERNO & MATTOSO, 2006).

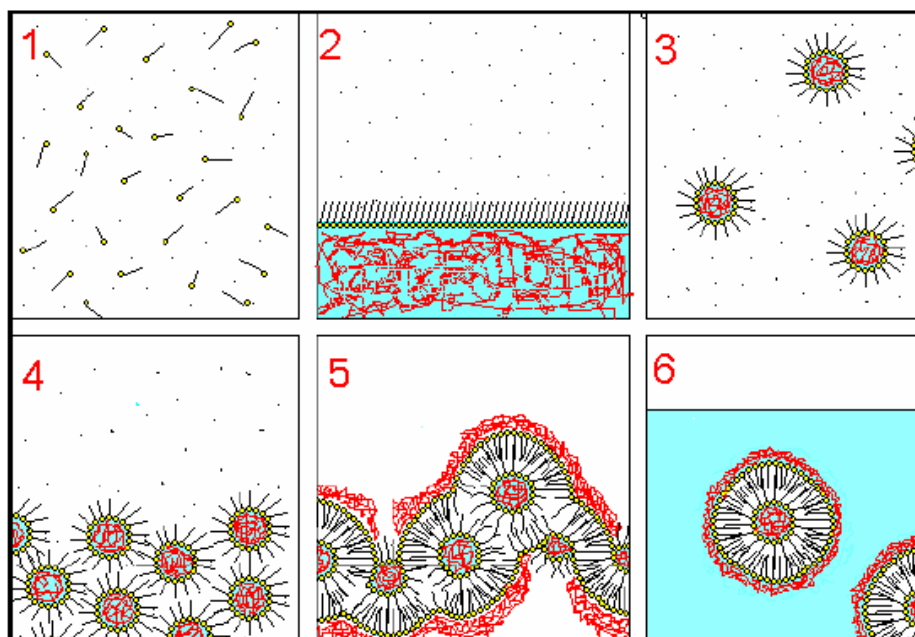
Figura 5- Representação da bicamada fosfolipídica, e seu caráter hidrofílico e hidrofóbico.



Fonte: GRAÇA & FERREIRA, 2015.

Um método bastante utilizado para a formação de lipossomas é o método de evaporação em fase reversa. Este método foi prescrito por Szoka e Papahadjopoulos (1978), o qual consiste no primeiro momento (Figura 6-1) em solubilizar os fosfolípidios em um solvente orgânico como éter dietílico ou éter isopropílico. Além destes solventes podem ser empregados acetato de etila, halotano ou trifluorotricloroetano (MERTINS, 2004). Após a fase aquosa ser adicionada na solução orgânica “Figura 6-2”, esta fase aquosa pode conter materiais a serem encapsulados como princípios ativos. Em seguida a solução é submetida a tratamento banho ultrassônico (Figura 6-3), por um período determinado de tempo. Após o solvente é evaporado (Figura 6-4) ocorrendo a formação de um organogel “Figura 6-5”, em seguida solubilizado em solução aquosa para que ocorra a formação de uma suspensão de lipossomas (Figura 6-6). Mertins (2004) propôs uma hipótese de como seria a formação dos lipossomas, empregando quitosana em meio aquoso.

Figura 6- Etapas da hipótese da formação do lipossoma com quitosana.



Fonte: MERTINS, 2004.

2.4. CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA (CCD)

A cromatografia compreende um grupo diversificado e importante de métodos que permitem a separação, identificação e determinação de componentes muito semelhantes de misturas complexas. A amostra é transportada por uma fase móvel, que pode ser um gás, um líquido ou fluido supercrítico. Essa fase móvel é, então, forçada a passar através de uma fase estacionária imiscível fixa, colocada em uma coluna ou sobre uma superfície sólida. As duas fases são escolhidas de modo que os componentes da amostra distribuam-se entre as fases móvel e estacionária em graus variados (PERES, 2002; HOLLER, 2009).

São empregados em diferentes estudos para a identificação de composto através da comparação com padrões pré-determinados, purificação de compostos indesejáveis de uma substância e separação de componentes de uma mistura (DEGANI, CASS & VIEIRA, 1998).

Uma classificação mais fundamentada dos métodos cromatográficos baseia-se no tipo de fase móvel e estacionária, e nos tipos de equilíbrios envolvidos. São três classificações gerais: cromatografia gasosa, cromatografia líquida e cromatografia com fluido supercrítico (PERES, 2002). Neste estudo empregamos a cromatografia de camada delgada, sendo está um tipo de cromatografia líquida, com o objetivo de identificação da presença de compostos fosfolipídios.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método físico-químico de adsorção líquido-sólido, a separação dos compostos se dá pela diferença de afinidade dos componentes

de uma mistura pela fase estacionária que é formada por uma fina camada de um sólido granulado como sílica, alumina, poliamida, entre outros, depositado sobre um suporte inerte, a fase móvel empregada deve ser de acordo com a substância que deseja-se separar, geralmente a fase móvel é uma mistura de mais de dois diferentes tipos de eluentes (DEGANI, CASS & VIEIRA, 1998, PERES, 2002).

Após a separação, para a identificação de muitos compostos orgânicos é necessário o emprego de processos de revelação, alguns métodos usados são a utilização de placas fluorescentes, ou empregando atmosfera de iodo (DEGANI, CASS & VIEIRA, 1998), neste estudo utilizaremos do processo de revelação utilizando de uma atmosfera de iodo.

2.5. TÉCNICAS DE ESPECTROMETRIA

2.5.1. Espectrometria de absorção molecular no ultravioleta-visível

A espectrometria na região do ultravioleta e visível (UV-VIS), é uma técnica empregada para a caracterização de substâncias químicas, principalmente nas áreas de química, física, farmacológicas, entre outras. É utilizada para diferentes tipos de análises, por ser uma técnica quantitativa, de fácil manuseio e de interpretação de dados, além de seu baixo custo operacional (GALO & COLOMBO, 2009).

É empregada para a quantificação de metais presente nas formulações dos produtos cosméticos (ALMEIDA *et al.*, 2019), o uso desta técnica de análise, ajuda a reduzir o risco da comercialização de produtos com elevado nível de metais tóxicos ou bioacumulantes para o organismo, como Cd, Co, Cr, Ni, As, Hg e Pb. Ela é usada para o estudo de reatividade de produtos químicos e de sistema biológicos, descrição de mecanismos e cinética de reações biológicas complexas, mudança estrutural e a formação de complexos quando as substâncias analisadas reagem entre si (KAUR, K. *et al.*, 2015; LI, X. *et al.*, 2011; HU, Y. J. *et al.*, 2004; GALO & COLOMBO, 2009).

A espectrometria UV-VIS é fundamentada pela Lei de Beer-Lambert e usa de funções matemáticas para medidas de absorção de radiação nas regiões do ultravioleta-visível e infravermelho de amostras nos estados líquido, sólido ou gasoso (ROCHA & TEIXEIRA, 2004). A absorbância de espécies químicas, constituídas por um único grupo cromóforo é determinado pela “Equação 1”, onde a absorbância é diretamente proporcional ao comprimento do caminho óptico da cela (b), a absorvidade molar (\mathcal{E}) e (c) a concentração molar do soluto (PAIVA *et al.* 2010).

$$A = \mathcal{E}bc \quad \text{Equação 1.}$$

Para espécies constituídas de dois ou mais grupos cromóforos em sua composição, a absorvância da amostra é diretamente proporcional à somatória individual do comprimento do caminho óptico da cela (b), da absorvância molar (\mathcal{E}) e a concentração molar (c) do soluto de cada cromóforo constituinte na amostra, sendo definida pela “Equação 2” (GALO & COLOMBO, 2009).

$$A = \sum \mathcal{E}bc \quad \text{Equação 2.}$$

Os espectros são obtidos quando uma radiação eletromagnética na região do UV ou visível, que compreende entre os comprimentos de onda de 190 nm a 800 nm, passam por um determinado caminho óptico (cela) contendo substâncias químicas, entre eles o analito de interesse compostas por grupamentos cromóforos, que são grupos insaturados covalentes responsáveis pela absorção eletrônica (exemplo, C=C, C=O ou NO₂), absorvem parte dessa radiação. Esta radiação absorvida causa uma promoção dos elétrons dos orbitais ocupados de maior energia (HOMO), para um orbital desocupado de menor energia (SHRIVER & ATKINS, 2003; PAIVA *et al.*, 2015), gerando um espectro característico da substância analisada.

Essa técnica é usada também para a determinação da formação de complexos de inclusão, onde ocorre um equilíbrio entre as moléculas complexadas e livres, se ocorrer a complexação entre as moléculas em estudo, há uma alteração no espectro de absorção do UV-VIS (GRILLO *et al.*, 2008), seja na intensidade da absorvância ou formação de novas bandas de absorvância, que indicam a formação de complexos.

2.5.2. Espectrometria no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

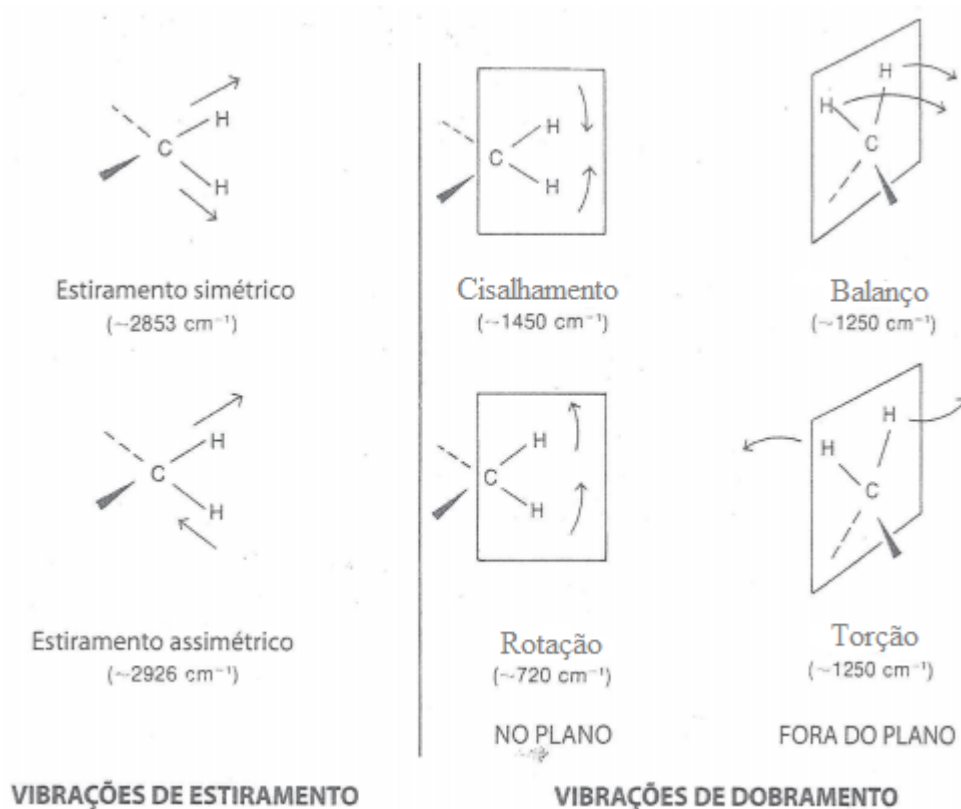
A espectroscopia do infravermelho (IR) é uma técnica de análise, com aplicações nas indústrias cosméticas, farmacêutica, tintas, têxtil, petróleo, carvão e de polímeros (SOTELO, 2006), empregada para a determinação e caracterização de compostos químicos, sendo que a mesma se compreende entre a região de 4000 a 400 cm⁻¹ do espectro eletromagnético (PAIVA *et al.*, 2010). O espectro do IR é dividido em três regiões: do IR médio (~1,5-5,6 μm), do IR distante (~5,6-1.000 μm), empregado para o estudo das rotação e vibração molecular e a região IR próximo (~0,8-1,5 μm), usado para o estudo dos harmônicos das vibrações moleculares (MONTEIRO, 2015, PAIVA *et al.*, 2010).

Neste trabalho aplicou-se a espectrometria FT-IR, que possuem alta luminosidade na região do IR distante, que é um processo baseado na interferometria.

Os espectros obtidos dos movimentos vibracionais das ligações moleculares dos compostos, são classificados em dois tipos de vibrações, a vibração de estiramento (simétricas e assimétricas) e o de deformação (simétricas e assimétricas) (MONTEIRO, 2015; PAIVA *et*

al., 2010). A “Figura 7” aborda a representação das vibrações de estiramento e deformação, para o grupamento -CH₂. Sendo que apenas absorve radiação no IR as moléculas que possuem ligações com um momento dipolo que muda como uma função do tempo (BICAS *et al.*, 2017; PAIVA *et al.*, 2010).

Figura 7- Representação das vibrações moleculares do CH₂.



Fonte: adaptado de PAIVA *et al.*, 2010.

O uso do interferômetro é empregado para a manipulação da energia enviada a amostra, sendo que o sinal do interferograma modificado que chega ao detector, fornece informação sobre a quantidade de energia absorvida em cada comprimento de onda, usando da operação matemática conhecida como transformada de Fourier que separa as frequências das absorções individuais contidas no interferograma (PAIVA *et al.*, 2010; AMORIM, KLIER & ANGELIS, 2013).

2.5.3. Espectroscopia de espalhamento de luz dinâmico

A técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), vem se mostrando promissora na caracterização do tamanho médio das partículas. O espalhamento de luz se baseia no movimento das partículas (DALGLEISH & HALLET, 1995) e está relacionado a intensidade da luz espalhada que forma um padrão de movimento e ao movimento Browniano das

partículas, que possibilita a determinação do diâmetro médio das partículas (GOTO, 2011; PERES, 2013).

No DLS a intensidade da luz é registrada como sendo uma função de tempo, e as flutuações são as consequências das concentrações no volume da amostra gerado pelo movimento molecular presente na amostra desejada, obtendo assim o coeficiente de difusão das macromoléculas ou de polímeros em soluções, a partir da detecção da intensidade da luz, em um determinado ângulo (LUCAS, SOARES & MONTEIRO, 2001).

O diâmetro hidrodinâmico médio das partículas em suspensão, é definido através da equação de Stokes-Einsten com o coeficiente de difusão translacional puro da partícula (D_0), expresso na “Equação 3” (MATTEUCCIA, DINIS, GUIMARÃES, 2017) onde K_b é constante de Boltzmann e $\eta_{(s)}$ a viscosidade do solvente.

$$D_H = \frac{K_b T}{3\pi\eta_{(s)}D_0} \quad \text{Equação 3.}$$

O DLS também fornece o índice de polidispersividade (PD.I) das partículas, que é uma informação importante sobre a distribuição das populações de tamanho de partícula (ALBERNAZ, 2014). Segundo Gaumet e colaboradores (2008), considerando-se uma escala de 0 a 1 para a polidispersão, valores inferiores a 0,1 podem estar associados a populações de partículas com tamanhos homogêneos, já valores elevados de índice de polidispersão sugerem uma variedade de distribuição de tamanhos.

2.5.4. Potencial zeta

O Potencial Zeta (PZ), conhecido também como potencial eletrocinético, é de grande importância para entender a estabilidade e a agregações de dispersões coloidais (JOYE & MCCLEMENTS, 2014; KASZUBA *et al.*, 2010), é definido como a medida da diferença efetiva do potencial elétrico de um colóide carregado, que depende da presença de contra-íons ligados fortemente a si, e da densidade de carga superficial (JOYE & MCCLEMENTS, 2014). As medidas de PZ são uma tentativa de quantificar as interações, pois o mesmo é uma medida das forças repulsivas entre as partículas (JAHANSHAHI & BABAEI, 2008).

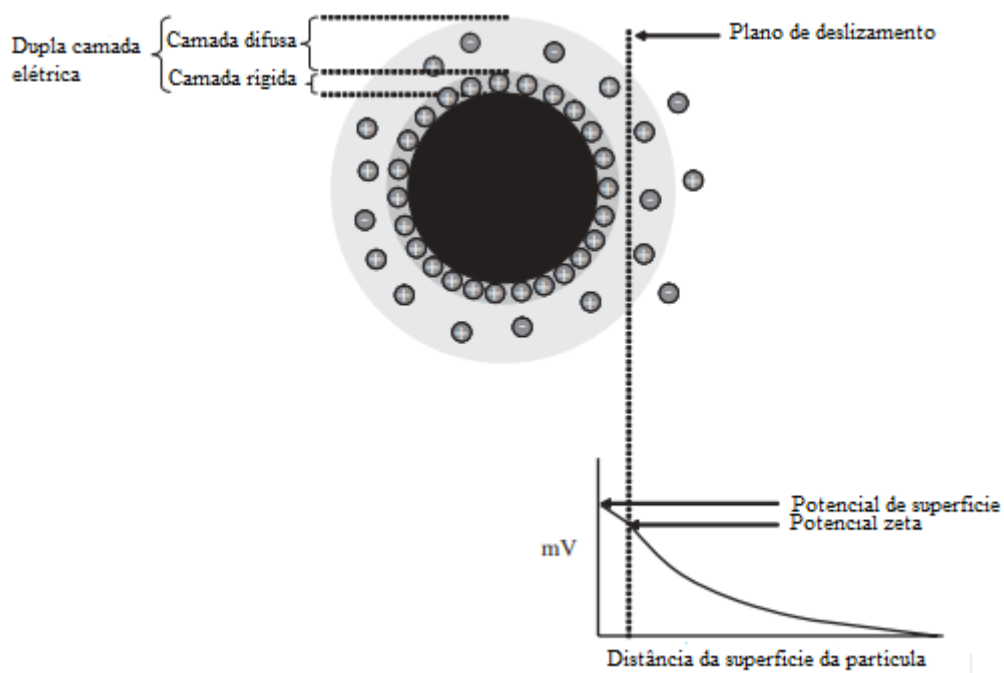
As partículas dispersas em meio líquido podem ser carregadas devido à adsorção de íons provenientes da solução ou da ionização de grupamentos, encontrados na superfície das partículas, onde a presença destas cargas eleva a concentração de contra-íons, próximos à superfície formando a dupla camada elétrica (DCE), “Figura 8”, (BEDIN, 2011).

Essa dupla camada elétrica é formada por duas regiões, sendo a região interna, onde os íons estão fortemente ligados à superfície e a região externa, onde os íons se encontram ligados

com uma força de menor interação à superfície. Nesta região externa (superfície de cisalhamento hidrodinâmico ou plano de escorregamento) há um limite, onde as partículas e os íons se encontram estáveis, ou seja, quando a partícula se movimenta os íons dentro do limite também se movimentam conjuntamente, formando um potencial e este limite é chamado de Potencial Zeta (BEDIN, 2011; KASZUBA *et al.*, 2010).

Os valores do PZ são influenciados por diversos parâmetros, como pH, força iônica e concentração (BHATTACHARJEE, 2016). O pH é um parâmetro que afeta diretamente no PZ, conforme a aumento no valor do pH a magnitude da PZ se reduz (USKOKOVIĆ *et al.* 2010), ou seja, em meio alcalino o PZ possui valores menores que em meio ácido, e em dispersão aquosa, o pH torna-se relevante para a formulação farmacêutica (BHATTACHARJEE, 2016), pois os valores de PZ influenciam no transporte dos princípios ativos.

Figura 8- Representação esquemática da dupla camada elétrica.



Fonte: adaptado de KASZUBA, *et al.*, 2010.

A força iônica é um parâmetro que influencia na DCE alterando os valores de PZ. Conforme há um aumento da força iônica o PZ diminui devido a DCE estar mais comprimida, já com a redução da força iônica a DCE descomprime, aumentando o PZ. Já para íons com maior número de valência a DCE é mais compacta, reduzindo a magnitude do PZ (BHATTACHARJEE, 2016).

A concentração é um fator que geralmente é determinado por adsorção de superfície e o efeito de DCE, no geral, soluções em condições diluídas, a adsorção superficial domina,

portanto, com o aumento da concentração a magnitude do PZ aumentam (BHATTACHARJEE, 2016).

O fundamento matemático de PZ é deduzido a partir da mobilidade eletroforética (μ_e) das partículas carregadas sob um campo elétrico aplicado. A μ_e é expressa pela velocidade das partículas ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) dividido pela magnitude da força do campo elétrico ($\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$), “Equação 4” (DELGADO *et al.*, 2005; BHATTACHARJEE, 2016).

$$\mu_e = \frac{V}{E} \quad \text{Equação 4.}$$

Onde: μ_e = mobilidade eletroforética; V = velocidade das partículas; E = força do campo elétrico.

Portanto, o PZ pode ser calculado através do μ_e obtido pela equação de Henry, para partículas que não possuam condutividade nula, “Equação 5” (DELGADO *et al.*, 2005).

$$\mu_e = \frac{2}{3n} \varepsilon_{rs} \varepsilon_0 \zeta \cdot f(Ka) \quad \text{Equação 5.}$$

Onde: ε_{rs} = permissividade relativa/constante dielétrica, ε_0 = permissividade de vácuo, η = viscosidade à temperatura experimental, ζ = PZ= potencial zeta, $f(Ka)$ = função de Henry.

Quando a espessura do DCE é muito menor em comparação com o raio da partícula, devido a presença de partículas maiores (até 1 μm) dentro de soluções aquosas de alta concentração salina ($>10^{-2}$ M), onde o valor de $f(Ka)$ é de 1,5 (BHATTACHARJEE, 2016) e o μ_e é expressa pela “Equação 6”.

$$\mu_e = \frac{1}{n} \varepsilon_{rs} \varepsilon_0 \zeta \quad \text{Equação 6.}$$

Onde: ε_{rs} = permissividade relativa/constante dielétrica, ε_0 = permissividade de vácuo, η = viscosidade à temperatura experimental, ζ = PZ= potencial zeta.

Os valores de PZ encontrado, ajudam a caracterização das soluções, como a determinação das cargas superficiais das partículas, importante para a determinação da estabilidade dos produtos em suspensões. Uma suspensão com valores de potencial zeta maiores que +30 mV ou menores que -30 mV, são consideradas suspensões estáveis, devido às soluções desfavorecem a formação de agregação, devido às forças de repulsão oriundas da densidade de carga superficial (MERTINS, 2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

Os materiais empregados foram agitador mecânico, balão volumétrico, banho ultrassônico, bomba a vácuo, bastão de vidro, béqueres, erlenmeyers, espátulas, estufa, filtro de politetrafluoretileno¹ (PTFE) filtro hidrofóbico 0,45 µm, funil de separação, moinho de facas, pipetas volumétricas, papel filtro quantitativo²; placa cromatográfica³.

3.1.1. Reagentes

Os reagentes empregados para o estudo da extração das cumarinas e da interação da lecitina de soja com a cumarina foram: acetato de etila⁴ P.A, acetona⁴ P.A, água destilada, álcool etílico⁵ P.A, álcool metílico⁴ P.A, ácido clorídrico⁶ (HCl) P.A, clorofórmio⁷ P.A, cumarina⁸ (1-benzopyron-2-one) P.A, fosfatidilcolina⁸ P.A, hidróxido de sódio⁷ (NaOH) P.A.; iodo resublimado⁵ P.A; lecitina de soja orgânica⁹, sulfato de sódio¹⁰ (Na₂SO₄) P.A. E foram empregadas a solução de álcool etílico 10% e 70%; solução de NaOH 1 mol L⁻¹; solução de HCl 2 mol L⁻¹, preparada a partir de seus respectivos padrões P.A.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Extração de cumarinas

A coleta do guaco, seguiu os parâmetros estipulados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006), seguido do descarte das partes indesejáveis. Após a etapa de limpeza, a matéria vegetal foi deixada para secar em estufa¹¹ de ar circulante por 72 horas na temperatura de 45°C. Após, foi triturada em moinho de facas¹² e armazenado em frascos de vidro.

O extrato e o isolamento das cumarinas, foram preparados conforme prescrito por Bighetti (2004), com algumas adaptações “Figura 9”: 100 g da parte aérea da planta e 500 mL

¹ Marca Microlab Scientific.

² Marca Unifil.

³ DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra Sil G/ UV₂₅₄

⁴ Marca Êxodo® científica.

⁵ Marca Dinâmica®.

⁶ Marca Vetec.

⁷ Marca Alphatec.

⁸ Marca Sigma-Aldrich® Corporation.

⁹ Marca indústria Gebana Brasil.

¹⁰ Marca Neon.

¹¹ Estufa de secagem e esterilização com circulação e renovação de ar Al - 102/480, AmericanLab.

¹² Moinho de facas tipo willye Al- 032S, AmericanLab.

de solvente extrator etanol 70%, foi deixado em agitação mecânica por 4 horas em temperatura ambiente, após filtrou-se a vácuo e o resíduo foi submetido novamente ao processo de extração, empregando 500 mL de álcool etílico 70%, por 4 horas em temperatura ambiente, sob agitação mecânica. Em seguida filtrado a vácuo e realizado a lavagem do resíduo com 250 mL de álcool etílico 70% a vácuo. Juntou-se as três frações e concentrou-se em estufa¹³ a temperatura de 45°C, até completa remoção do solvente.

O extrato bruto concentrado (EBC), foi solubilizado em 300 mL de clorofórmio, após adicionou-se 200 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol.L⁻¹ e deixado sob agitação por 4 horas em temperatura ambiente, adicionado em um funil de separação de fase.

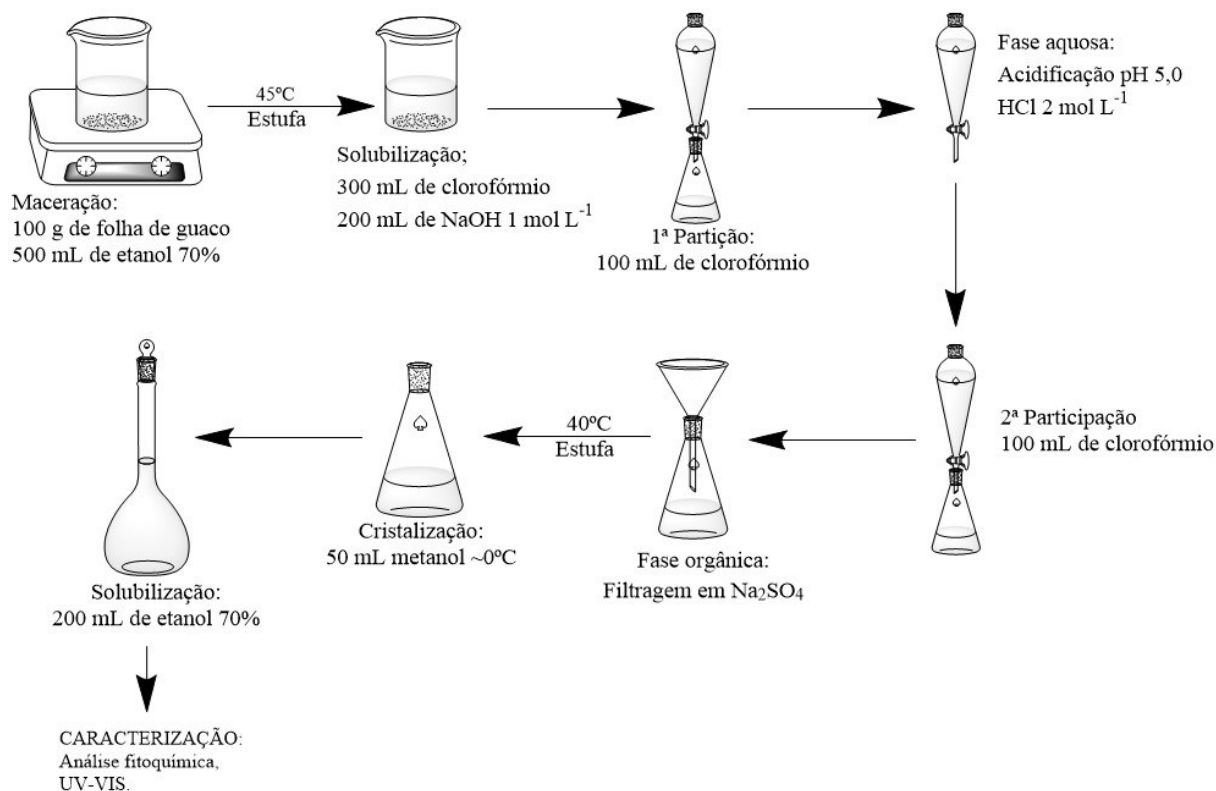
A fase aquosa foi extraída com 100 mL de clorofórmio e acidificada com uma solução de HCl 2 mol.L⁻¹, até pH 5,0, seguida de três extrações empregando 100 mL de clorofórmio. Após as extrações, foram agrupadas e filtradas em sulfato de sódio (Na₂SO₄) e o solvente foi evaporado em estufa a 40°C, levando a obtenção de uma fração rica em cumarinas. A fração rica em cumarina foi cristalizada com 50 mL de metanol a 0°C e filtrada.

Os filtros¹⁴ empregados para a filtragem após o processo de cristalização foram lavados com álcool etílico 70% para remoção completa da cumarina e seu volume foi aferido com etanol 70% em um balão volumétrico de 200 mL. Após esse procedimento, o extrato foi caracterizado por identificação fitoquímica e espectroscopia na região do ultravioleta visível.

¹³ Estufa de secagem e Esterilização SL-100, Solab.

¹⁴ Marca Unifil.

Figura 9. Extração da cumarina do Guaco.



Fonte: autor.

3.2.1.1. Identificação fitoquímica

As cumarinas presentes no extrato foram identificadas pela absorção sob a luz ultravioleta em 360 nm, com o aparecimento da coloração azul brilhante ou verde (SIMÕES *et al.*, 2004). Foram empregados 10 mL do extrato rico em cumarina do guaco e 0,5 mL de NaOH 1 mol.L⁻¹, expostos a luz ultravioleta¹⁵ num comprimento de onda de 365 nm, para então ser comparado com o padrão de cumarina (1-Benzopyron-2-one).

3.2.2. Purificação da lecitina de soja

A purificação da lecitina de soja foi preparada conforme prescrito por Mertins e colaboradores (2008), com adaptações: 10 g de goma de lecitina de soja bruta foi dissolvida em 50 mL de acetato de etila. Sob agitação, adicionaram-se 2 mL de água destilada, ocorrendo a formação de duas fases, onde o sobrenadante foi separado da fase inferior e descartado. A fase inferior com aspecto de gel, foi dispersa em 30 mL de acetona, formando aglomerados que foram triturados utilizando-se um bastão de vidro.

¹⁵ Câmera escura UV, Cienlab.

A seguir, a acetona foi separada por decantação e uma nova porção de 30 mL de acetona foi adicionada, repetindo-se o processo de trituração. Após foi adicionado novamente mais uma alíquota de 30 mL de acetona, repetindo-se o processo de trituração. O precipitado foi filtrado sob vácuo e seco em estufa a 60°C, por 3 horas. Em seguida liofilizado por 7 horas e 30 minutos. O processo foi realizado em triplicata.

3.2.3. Preparo da solução estoque de cumarina padrão

Pesou-se 0,1004±0,0002 g de cumarina padrão (1-Benzopyron-2-one, ≥ 99% HPLC), MW:146,14 g/mol) e solubilizado em 5 mL de etanol absoluto PA, posteriormente completou-se o volume com água destilada para 50 mL.

3.2.4. Interação da lecitina de soja com cumarina

Para a interação, foram empregados de lecitina de soja purificada (item 3.2.2) e da cumarina padrão (item 3.2.3). O uso da cumarina padrão para a interação, ocorreu devido a quantidade de cumarinas extraída do guaco ser muito pequena, impossibilitando a determinação do seu rendimento com precisão.

A interação seguiu o método proposto por Szoka e Papahadjopoulos (1978) e Mertins (2008) para produção de lipossomas, com adaptações que serão descritas nas etapas a seguir:

Etapa 1 - 0,06 g de lecitina de soja e 10 mL de acetato de etila P.A, foram submetidos ao tratamento ultrassônico por 3 minutos para solubilização dos fosfolipídios. Etapa 2 - após, adicionaram-se 200 µL da solução de cumarina (item 3.2.3). Etapa 3 – em seguida submetido ao tratamento de banho ultrassônico por 3 minutos. Etapa 4 - após levado à estufa a 40°C, para evaporação da fase orgânica. Etapa 5 – a fase orgânica evaporada formou um organogel que foi caracterizado por FT-IR. Etapa 6- após as amostras foram solubilizadas com 100 mL de água destilada e filtradas com filtro¹⁶ de PTFE de 0,45 µm, e caracterizadas por UV-VIS, pH, condutibilidade, DLS e PZ. Para o padrão de comparação (branco), na etapa 2 foram empregados 200 µL álcool etílico 10%.

¹⁶ Marca Microlab Scientific.

3.3. MÉTODOS DE ANÁLISE EMPREGADOS

3.3.1. Potencial hidrogeniônico (pH)

As medidas de pH foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), usando um pHmetro Digital modelo mPA210 (MS TECNOPON Instrumentação), previamente calibrado com solução padrão de pH = 4 e pH = 7. As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.2. Condutibilidade

As análises de condutibilidade foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), usando um equipamento Zetasizer Nano series ZS90 (Malvern), utilizando uma cubeta de poliestireno DTS1070 e caracterizadas em triplicada.

3.3.3. Cromatografia de camada delgada (CCD)

As análises de CCD foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), solubilizando-se 60 mg de lecitina purificada em 5 mL de clorofórmio. Após a corrida cromatográfica foi realizada empregando como fase móvel uma mistura de clorofórmio: metanol: água a proporção de 6,5 mL: 2,5 mL: 0,4 mL, respectivamente (MERTINS *et al.*, 2008), em seguida expostos a luz UV (254 nm) em atmosfera de iodo e comparadas ao padrão de fosfatidilcolina.

3.3.4. Espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros de IR foram obtidos no modo de absorção em um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) da marca Shimadzu, utilizando 32 varreduras por amostra na faixa de 700-4000 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e intervalo de 2 cm^{-1} .

3.3.5. Caracterização no Ultravioleta Visível (UV-VIS)

As análises na região do UV-VIS foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), usando espectrofotômetro UV-Visible Spectrophotometer Evolution 201 Thermo Scientific, empregando de uma cubeta de quartzo, de caminho óptico de 1 cm. Foi empregado o branco para cada respectiva amostra. As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.6. Caracterização por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

As análises de DLS, foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), usando um equipamento Zetasizer Nano series ZS90 (Malvern), utilizando uma cubeta de poliestireno

DTS0012. As amostras foram caracterizadas em triplicata. Desta análise foram obtidos o diâmetro médio das partículas (dh) e a polidispersão (PD.I).

3.3.7. Potencial Zeta (PZ)

As análises de PZ foram realizadas em temperatura ambiente (20°C - 25°C), usando um equipamento Zetasizer Nano series ZS90 (Malvern), utilizando uma cubeta de poliestireno DTS1070. As amostras foram caracterizadas em triplicada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. ISOLAMENTO DO EXTRATO RICO EM CUMARINA

Após a purificação da fração rica em cumarinas obtidas do guaco, não foi possível determinar a quantidade de cristais ricos em cumarinas para estas condições em estudo, devido o mesmo estar abaixo da precisão da balança analítica (quatro casas decimais após a vírgula). Porém Bighetti (2004), utilizando do mesmo método de extração de cumarinas, com um volume de material vegetal maior, obteve 0,65 g de cumarina. Sendo assim a fração rica em cumarina contida no papel filtro foi removida utilizando-se de álcool etílico 70%, conforme prescritos no item 3.2.1. A solução obtida foi submetida a caracterização através da análise fitoquímica para os compostos cumarínicos descrita por Simões e colaboradores (2004) e comparados a cumarina padrão (1-Benzopyron-2-one), “Figura 9A ”.

Figura 10- Soluções contendo cumarina quando observada em exposição a luz UV, A) cumarina padrão (1-Benzopyron-2-one), B) cumarina extraída do guaco.



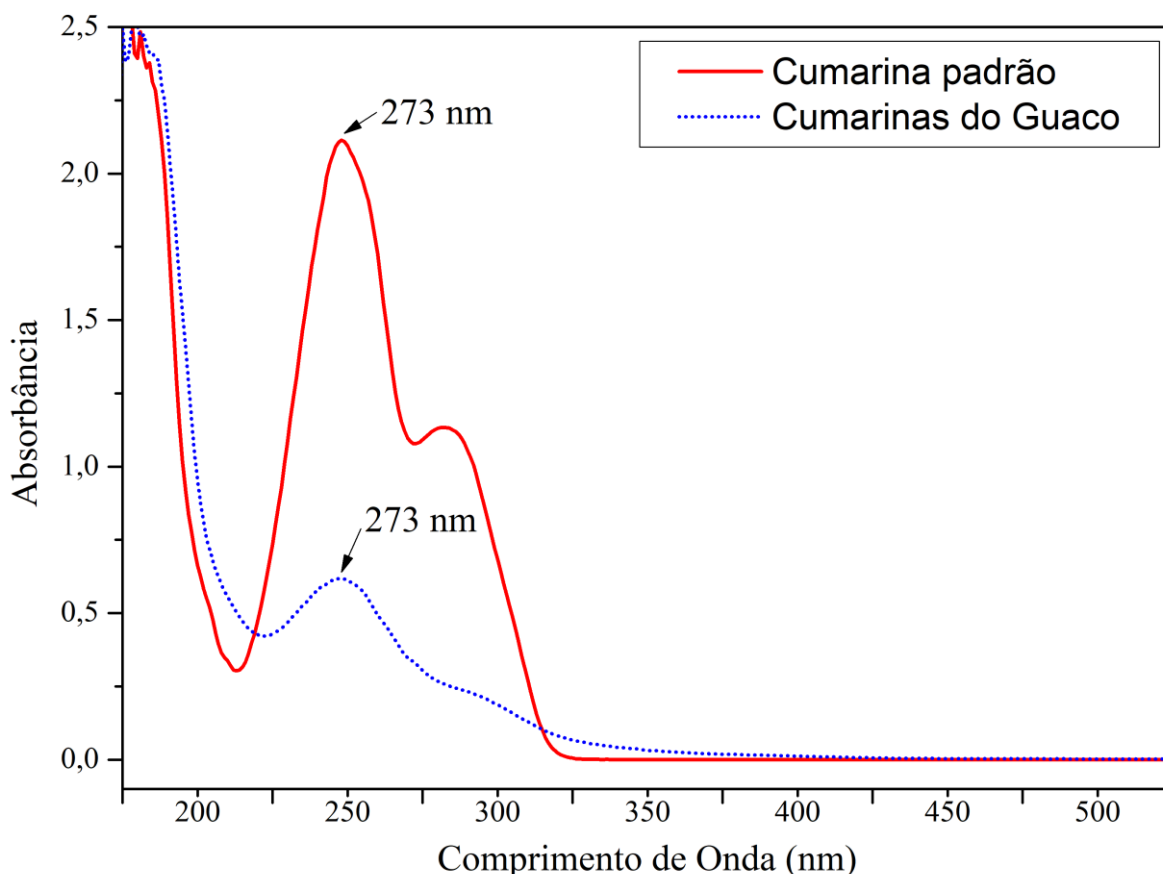
Fonte: autor.

A observação da amostra exposta em luz ultravioleta (365 nm) em meio alcalino, revela a presença de compostos cumarínicos por meio do surgimento da coloração verde fluorescente, como mostra a “Figura 10B ”, que ocorre devido ao rompimento do anel lactônico dos compostos cumarínicos (SIMÕES *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.* 2001).

Os espectros característicos das cumarinas na região do ultravioleta visível são constituídos por bandas de alta intensidade entre a região de 220-350 nm (LOZHKIN &

SAKANYAN, 2006), como mostra a “Figura 11” para a cumarina padrão. O espectro obtido para a fração rica em cumarinas em solução obtidas do guaco é mostrado na “Figura 11”. A mesma possui um espectro semelhante ao da cumarina padrão, tendo um pico característico de absorção máxima em 273 nm.

Figura 11- Espectro de UV-VIS obtido para as soluções de Cumarina padrão 2 g L^{-1} (1-Benzopyron-2-one) e das cumarinas presente no Guaco.



O espectro característico da cumarina (1-Benzopyron-2-one) em estudo, deve-se a promoção dos elétrons dos orbitais ocupados de maior energia, para os orbitais de menor energia das transições eletrônicas dos grupos cromóforos insaturados covalentes C=C e C=O (SHRIVER & ATKINS, 2003; PAIVA *et al.*, 2010) responsável pela absorção eletrônica da molécula de cumarina (núcleo cumarínico), conforme a “Figura 2”.

O baixo rendimento de cumarina obtida neste estudo, nos levou a optar por dar continuidade da interação de cumarina com lecitina de soja, só que empregando da cumarina padrão 1-Benzopyron-2-one.

4.2. EFEITO DA PURIFICAÇÃO DA LECITINA DE SOJA

A primeira etapa do processo de purificação da lecitina de soja orgânica bruta, consiste na solubilização de diferentes compostos fosfolipídios, triglicerídeos, ácidos graxos, compostos oxigenados e entre outros (LOPES, 2008; SCHOLFIELD, 1981), em acetato de etila. O uso do acetato de etila para a solubilização é dado pelo mesmo possuir polaridade moderada e ser pouco solúvel em água (PATTANAİK, MANDALIA, 2011). Nesta etapa o solvente interage em especial com a parte apolar dos diferentes compostos orgânicos presentes na lecitina de soja, principalmente com os ácidos graxos presente nos fosfolipídios que corresponde a parte apolar destas moléculas.

Após a solubilização, ocorre a separação de fases empregando da adição de 2 mL de água destilada. Na fase formada com o aspecto de gel, encontram-se os fosfolipídios entre outros compostos e após os mesmos são solubilizados parcialmente em acetona, ocorrendo a remoção dos solúveis em acetona.

No final do processo de remoção de diferentes compostos orgânicos com acetona, obtivemos um percentual de rendimento de 47,82% de lecitina de soja orgânica purificada, que podem ser observadas na “Tabela 1”. Segundo Castejon (2015), a parte insolúvel corresponde a uma estimativa aproximada da massa molecular média dos fosfolipídios.

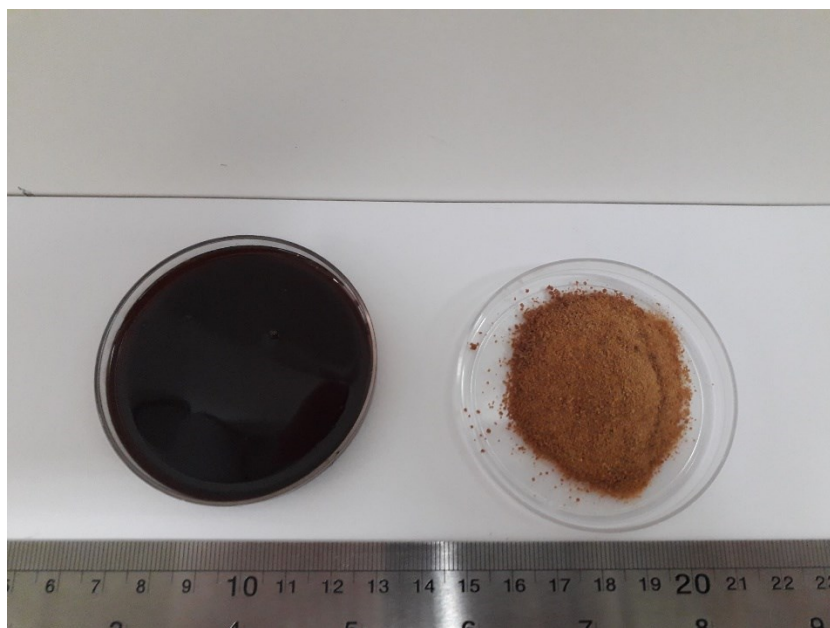
Tabela 1- . Peso inicial e final da purificação da lecitina de soja.

Amostra	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)
A	10,000	4,630
B	10,000	4,604
C	10,000	5,112
$X_{\text{média}} \pm \sigma$	$10,000 \pm 0,000$	$4,782 \pm 0,286$

Fonte: autor.

Antes da purificação da lecitina de soja orgânica a mesma possuía um aspecto de goma, altamente viscoso de coloração marrom escura, como mostra a “Figura 12A”, sendo que ao término da purificação o aspecto da lecitina de soja, foi um de pó de coloração marrom claro como pode ser observado na “Figura 12B”.

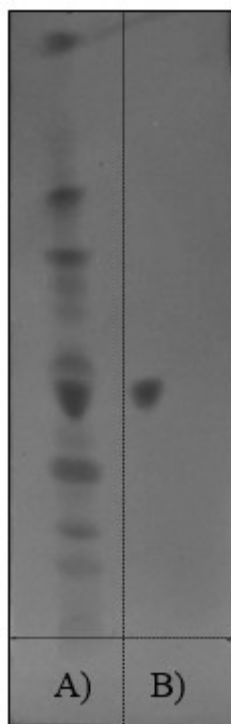
Figura 12. Aspecto físico da Lecitina de soja orgânica, A) antes do processo de purificação e B) após o processo de purificação.



Fonte: autor

Em seguida, a lecitina de soja orgânica purificada foi submetida a análise de (CCD), para a identificação da presença de fosfatidilcolina. Constatou-se a presença de fosfatidilcolina na amostra purificada, assim como a presença de outros compostos como triglicerídeos, compostos oxigenados e entre outros, que pode ser observada na “Figura 13”, sendo um método de obtenção de fosfatidilcolina de baixa pureza.

Figura 13. Espectro obtido por CCD, A) lecitina de soja orgânica purificada e B) padrão de fosfatidilcolina.



Fonte: autor.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DA INTERAÇÃO DA CUMARINA COM LECITINA DE SOJA

As medidas de FT-IR foram empregadas para fornecer informações sobre a cumarina padrão, do organogel formado na quinta etapa do método de evaporação em fase reversa e sobre as interações da lecitina de soja com a cumarina no organogel (item 3.2.4). Segundo Mertins (2004), após a evaporação do solvente orgânico, os componentes constituintes na amostra estariam presentes no organogel formado, que posteriormente são diluídos em água ocorrendo a formação dos lipossomas.

Os espectros de IR são formados pelas vibrações das ligações de diferentes grupos funcionais. Para a cumarina, esses espectros do IR são característicos principalmente pelas vibrações da carbonila do anel β -lactona em 1720 cm^{-1} e das vibrações das ligações C=C do anel aromático encontradas entre a região de 1600 cm^{-1} a 1475 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2012). Como observado na “Figura 17 - Apêndice 1” em 1716 cm^{-1} a banda de absorção da carbonila do anel β -lactona e às absorções das vibrações das ligações C=C do anel aromático, entre 1589 cm^{-1} a 1467 cm^{-1} . As vibrações referentes às ligações de hidrogênio intermoleculares são observadas pela presença do pico entre aproximadamente 3676 cm^{-1} a 3200 cm^{-1} .

Já para o organogel de lecitina de soja sem, “Figura 18- Apêndice 1”, e com a presença de cumarinas (1-Benzopyron-2-one), “Figura 19 - Apêndice 1” são obtidos principalmente pelas seguintes vibrações presentes nas ligações: CH₃, CH₂, CH, O–H, C–C(=O)–O, O–C–C, C=O, P=O, P–O–C. As atribuições da intensidade da transmitância do FT-IR para os diferentes espectros do organogel sem e com a presença da cumarina podem ser observados na “Tabela 2”.

Tabela 2- Vibrações das ligações dos espectros FT-IR do “organogel”, de lecitina de soja com ou sem cumarina.

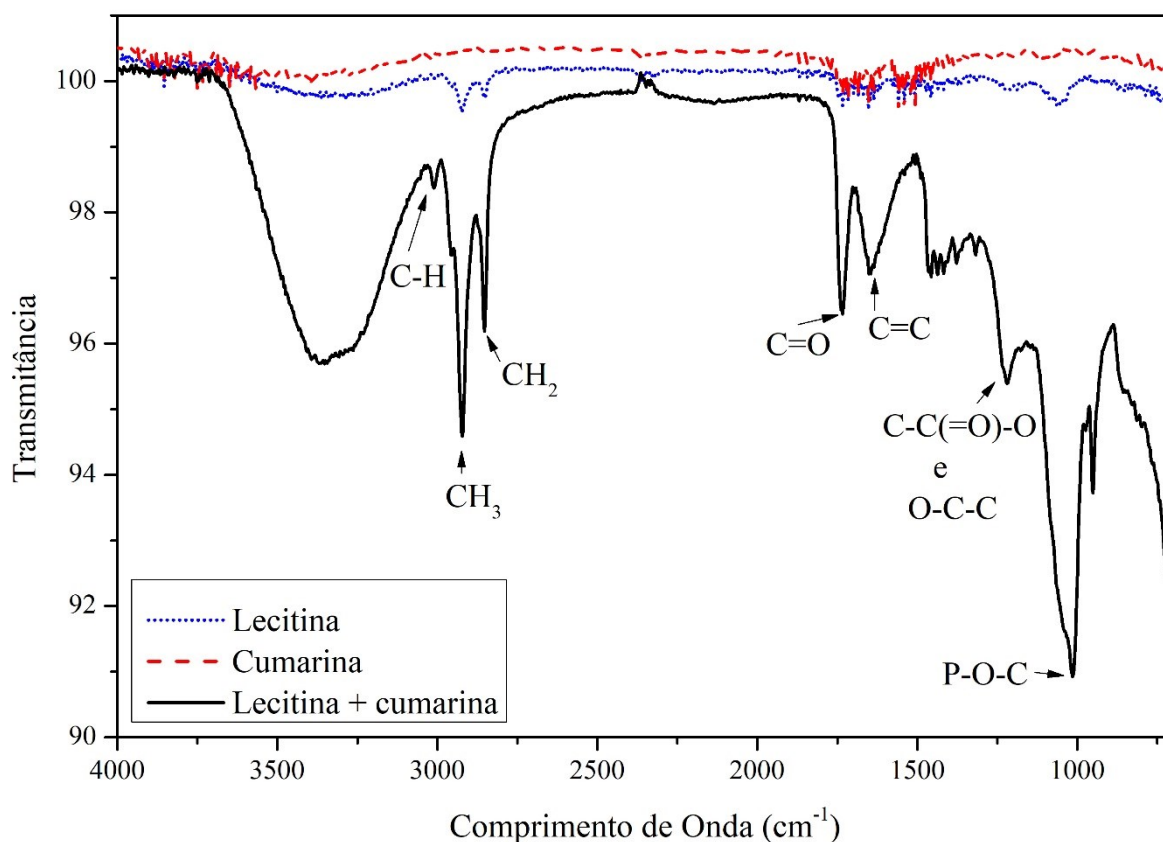
Tipo de vibração	Posição cm⁻¹ (SILVERSTEIN, 2012)	Observado (sem cumarina)	Observado (com cumarina)
Deformação axial de CH ₃	Assimétrica: 2926 cm ⁻¹	~ 2952 cm ⁻¹	~ 2961 cm ⁻¹
	Simétrica: 2853 cm ⁻¹	-	~ 2872 cm ⁻¹
Deformação axial de CH ₂	Assimétrica: 2962 cm ⁻¹	~ 2923 cm ⁻¹	~ 2922 cm ⁻¹
	Simétrica: 2871 cm ⁻¹	~ 2852 cm ⁻¹	~ 2853 cm ⁻¹
Deformação angular de CH ₃	Assimétrica: 1450 cm ⁻¹	~ 1450 cm ⁻¹	~ 1456 cm ⁻¹
	Simétrica: 1375 cm ⁻¹	~ 1361 cm ⁻¹	~ 1377 cm ⁻¹
Deformação angular de CH ₂	Assimétrica no plano: 720 cm ⁻¹	~ 736 cm ⁻¹	~ 705 cm ⁻¹
	Simétrica no plano: 1450 cm ⁻¹	~ 1460 cm ⁻¹	~ 1436 cm ⁻¹
	Assimétrica e simétrica fora do plano:	~ 1356 cm ⁻¹	
	1350 – 1150 cm ⁻¹		
Ligação intermoleculares O– H	3550 – 3200 cm ⁻¹	~ 3500 – 3200 cm ⁻¹	~ 3500 – 3200 cm ⁻¹
Deformação axial dos ésteres alifáticos C=O	1750 – 1735 cm ⁻¹	~ 1735 cm ⁻¹	~ 1734 cm ⁻¹

C–C(=O)–O e O–C–C	Assimétrico (duas bandas): 1300 – 1000 cm^{-1}	$\sim 1220 \text{ cm}^{-1}$ $\sim 1170 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1218 \text{ cm}^{-1}$ -
Deformação axial P–O–C alifático	1050 – 970 cm^{-1}	$\sim 1056 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1014 \text{ cm}^{-1}$
Deformação axial P=O	$\sim 1150 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1158 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1152 \text{ cm}^{-1}$
C–N acoplado com as ligações adjacentes	1250 – 1020 cm^{-1}	$\sim 1180 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1189 \text{ cm}^{-1}$
Estiramento do C–H do anel aromático	3150 – 3050 cm^{-1}	-	$\sim 3017 \text{ cm}^{-1}$
C=C		$\sim 1647 \text{ cm}^{-1}$	$\sim 1644 \text{ cm}^{-1}$

Fonte: autor.

A análise dos espectros de IR, “Figura 14” foi possível concluir que a cumarina interagiu com a lecitina de soja. Duas hipóteses da interação da cumarina com a lecitina de soja foram levantadas.

Figura 14- Espectro de IR para o organogel de lecitina de soja sem e com a adição de cumarina; e da cumarina.



A primeira hipótese consiste na possível interação dos grupamentos polares das moléculas em estudo, sendo que a molécula de cumarina possui um dipolo que atribui uma polaridade ao anel lactona da molécula formado pela presença do grupamento carbonila, que pode estar interagindo com o grupamento fosfato ou pelos grupamentos polares ligados ao fosfato dos fosfolipídios, como também podem estar interagindo com outros grupamentos polares da lecitina de soja.

A segunda hipótese é que esteja ocorrendo interações apolares, estas interações podem ocorrer devido a presença do anel aromático da molécula de cumarina, com os grupamentos apolares da lecitina de soja, sendo os principais os ácidos graxos saturados e insaturados ligados ao glicerol dos fosfolipídios.

Após a caracterização por FT-IR das amostras com aspectos de gel (quinta etapa da produção de lipossomas por evaporação em fase reversa), as mesmas foram diluídas com água destilada, filtrada em filtro de PTFE de 0,45 μm para a caracterização por análise de pH, condutibilidade e por espectroscopia de UV-VIS, DLS e PZ.

A “Tabela 3” traz os resultados obtidos da caracterização físico-química da interação da cumarina com a lecitina de soja. Podemos constatar que após a interação da cumarina com a lecitina de soja, não houve uma grande variação no pH, quando comparadas as amostras de lecitina de soja sem cumarina, assim como também na condutibilidade das soluções.

Tabela 3- Caracterização das interações, através de pH e condutibilidade.

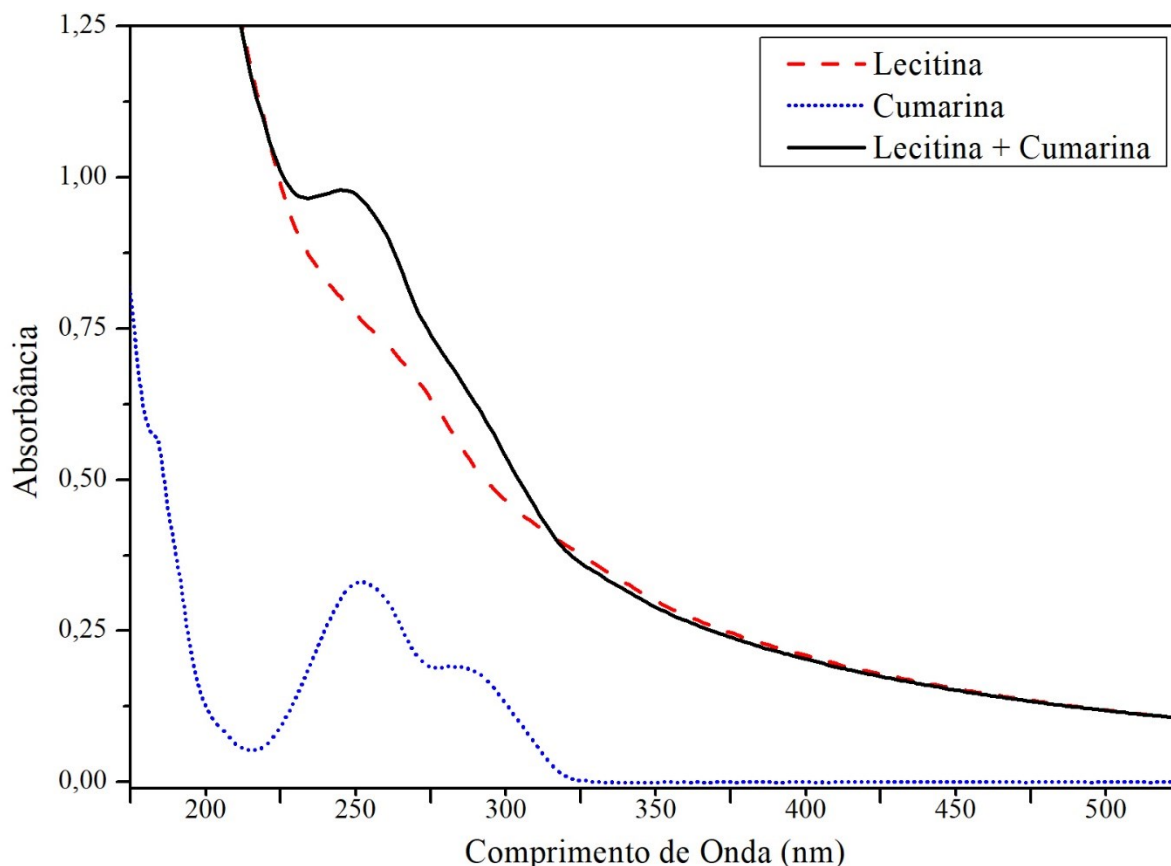
Amostra	pH	Condutibilidade (mS.cm⁻¹)
Sem cumarina	5,96 ± 0,020	0,041 ± 0,004
Com cumarina	6,063 ± 0,015	0,038 ± 0,004

Fonte: autor.

Estes valores de pH das amostras em estudo se fazem promissores, pois segundo Leonardo, Gasparin e Campos (2002) a pele possui um pH de caráter levemente ácido, que varia em torno de 4,6 - 5,8, que atribui ao órgão proteção bactericida e fungicida. Então, o uso de produtos cosméticos com pH muito diferente ao da pele, podem deixar o órgão vulnerável a agente externos, como bactérias e fungos. Além de que, se houvesse um aumento muito elevado tornando a solução alcalina, pode levar ao rompimento do anel lactona da cumarina, formando outros produtos indesejáveis (SIMÕES *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.*, 2001).

As análises na região do UV-VIS das interações da lecitina de soja e da cumarina, são abordados na “Figura 15”. Podemos observar um aumento da absorbância entre os comprimentos de onda de 250 nm a 350 nm do espectro da interação da lecitina de soja com cumarina, quando comparado ao espectro da lecitina de soja sem cumarina.

Figura 15- Espectro de absorção por espectroscopia do UV-VIS para as interações da lecitina de soja com cumarina.



A alteração na intensidade da absorbância entre os comprimentos de onda prescritos, indica uma possível inclusão (GRILLO *et al.*, 2008) das moléculas de cumarinas empregados na etapa 2 do método de evaporação em fase reversa. Esta interação também foi observada nos espectros de FT-IR, porém os resultados podem também ser influenciados pela presença de cumarinas livre em solução e no organogel.

Para além das caracterizações por pH, condutibilidade, FT-IR, UV-VIS, as análises de DLS e de PZ, são importantes para elucidar outros parâmetros das amostras em estudos, como diâmetro médio, índice de polidispersão e carga superficial das partículas.

A determinação do dh das partículas desenvolvidas é de grande importância para a compreensão da absorção das mesmas na pele, pois segundo Lourenço (2013), a penetração de lipossomas na pele é afetada principalmente pelo seu tamanho, sendo que lipossomas com tamanhos maiores que 600 nm permanecem contidos no extrato córneo¹⁷, já os lipossomas com tamanho menores que 300 nm, penetram-se em tecidos mais profundos da pele.

¹⁷ Extrato córneo = camada externa da pele

Podemos observar que o diâmetro médio das partículas de lecitina de soja orgânica sem a adição de cumarina foi de $488,744 \pm 10,467$ nm e para as amostras contendo lecitina de soja e cumarina, foi de $464,978 \pm 18,787$ nm, como descritos na “Tabela 4”, sendo que não houve uma variação significativa com o emprego da cumarina. Porém, ao analisar às curvas de distribuição, verifica-se que os valores diferem entre si “Figura 16”.

Essa diferença nos dados obtidos, refere-se ao fato de que os valores obtidos pelo método dos cumulantes correspondem ao tamanho médio de partículas presentes em função das flutuações da intensidade de luz (JOHNSON & GABRIEL, 1994), ou seja, os valores encontrados correspondem a uma média de tamanho hidrodinâmico de todas as populações presentes em solução.

Já as curvas de distribuição revelam informações mais detalhadas sobre a distribuição da intensidade de cada grupo de partículas e informam quais os tamanhos de partículas estão realmente presentes na amostra. Assim, podemos observar que as soluções são polidispersas como mostram os valores obtidos na PD.I (Tabela 4). Os valores de diâmetro indicam que a penetrabilidade da amostra poderá ocorrer até os tecidos intermediários da pele, já discutidos anteriormente.

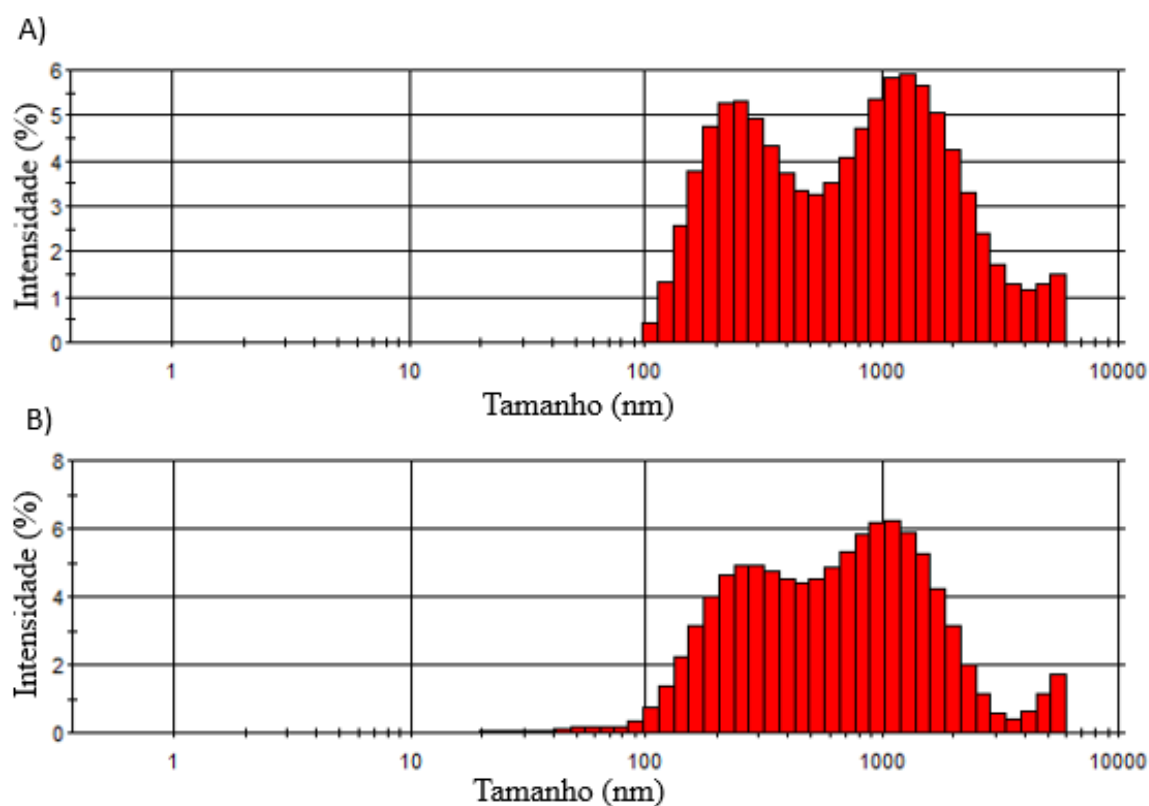
Tabela 4- Caracterização das interações através do DLS.

Amostra	dh (nm)	PD.I
Sem cumarina	$488,744 \pm 10,467$	$0,492 \pm 0,025$
Com cumarina	$464,978 \pm 18,787$	$0,512 \pm 0,025$

Fonte: autor.

Colaborando para a caracterização, a análise da PD.I das amostras, sugere-se uma variedade de distribuição de tamanhos (GAUMET *et al.*, 2008). Estes valores podem ser observados na “Tabela 4”, onde podemos perceber que os valores foram de $0,492 \pm 0,025$ para a lecitina de soja sem a adição de cumarina e de $0,512 \pm 0,025$ para as amostras de lecitina de soja com adição de cumarina, os valores obtidos sugerem a heterogeneidade da amostra com tamanhos ou populações diferentes, está heterogeneidade pode ser observada na “Figura 16”.

Figura 16- Espectro da intensidade versus distribuição de tamanho para as soluções de A) lecitina soja e de B) para as interações da lecitina de soja com cumarina.



Acredita-se que estas diferenças de distribuições ocorrem porque as partículas estão em constante movimento browniano em solução, podendo formar diferentes agregados. Como o sistema é polidisperso, em cada medição, uma população de partículas aparece na linha da detecção do DLS, o que resulta em valores diferentes para as curvas de distribuição, como mostra a “Tabela 5”.

Tabela 5- Valores das diferenças de tamanho para as populações e intensidade absorvida.

	Tamanho (nm)	Intensidade (%)
Sem cumarina	1463,0	55,0
	285,4	41,2
	4895,0	3,8
Com cumarina	1144,0	57,0
	274,4	38,3
	4888,0	3,7

Fonte: autor.

Para a determinação do PZ das partículas em solução aquosa sob o efeito de um campo elétrico constante, foi realizado empregando do modelo de Smoluchowski, devido às partículas em estudo possuírem diâmetro maiores que 200 nm. Podemos constatar que para ambas as amostras em estudo os valores de PZ foram negativos e não houve variação significativa nestes valores, para lecitina de soja sem a adição de cumarina o PZ foi de $-68,033 \pm 5,873$ mV e para lecitina de soja interagida com cumarina $-66,425 \pm 5,133$ mV, como abordados na “Tabela 6”.

Tabela 6- Potencial Zeta das interações.

Amostra	PZ	pH
Sem cumarina	$-68,033 \pm 5,873$	$5,96 \pm 0,02$
Com cumarina	$-66,425 \pm 5,133$	$6,06 \pm 0,01$

Fonte: autor.

A predominância de cargas negativas em ambas as amostras, indicada pelo PZ, atribui a suspensão uma maior estabilidade em relação aos processos de agregação, pois ocorre a repulsão entre as partículas, devido a sua carga superficial retardando o processo de agregação (MERTINS, 2008; BATISTA, DE CARVALHO & MAGALHÃES, 2007), os valores obtidos de PZ negativos, também são observados nos lipossomas produzidos por Mertins (2008) e Mota (2013).

Os valores negativos de PZ, deve-se a presença de ácido fosfatídico, que pode ser encontrada na composição da lecitina de soja e da fosfatidilcolina, sendo que a fosfatidilcolina possui carga efetiva igual a zero, portanto a presença do ácido fosfatídico é o responsável principal pelos valores altamente negativos que atribui uma alta estabilidade relacionada ao processo de agregação.

Os resultados obtidos das amostras produzidas possuem potencial para futuras aplicações cosméticas, devido aos valores de pH, diâmetro médio das partículas e das propriedades biológicas da cumarina para a redução ou eliminação da peroxidação lipídica e do ânion radical superóxido.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos da extração de princípios ativos do guaco, indicam a presença de compostos cumarínicos através da semelhança nos espectros UV-VIS e da análise fitoquímica comparados a cumarina padrão, porém obteve-se um baixo rendimento de cumarinas, atribuído a quantidade de folhas de guaco usado para a extração.

No processo de purificação da lecitina de soja orgânica, obtivemos um rendimento de 47,82%, que corresponde a uma estimativa aproximada da massa molecular média dos fosfolipídios, porém o mesmo demonstra ser um método de obtenção de fosfatidilcolina de baixa pureza, que pode ser constatado na cromatografia de camada delgada.

A interação da lecitina de soja purificada com cumarina padrão, através do método de evaporação em fase reversa, pode ser observada através da análise do IR o surgimento de novos picos de absorção e também através dos espectros na região do ultravioleta visível, pela variação da absorbância entre os comprimentos de onda de 250 nm a 350 nm, comparadas às moléculas sem interagirem.

Os valores de pH da interação da lecitina de soja com a cumarina foram de 6,063, não variaram significativamente, que os tornam promissores para futura aplicação cosmética, pois os mesmos não estão distantes aos valores de pH da pele.

A análise de DLS mostrou que o diâmetro médio das partículas interagidas não variaram significativamente, em relação às amostras de lecitina de soja. Assim como os valores de PD.I indicam a presença de diferentes tamanhos e de diferenciadas populações.

Através da análise de PZ os resultados indicam que as partículas possuem uma característica superficial de predominância negativas, atribuindo as amostras elevada estabilidade relacionadas aos processos de agregação.

Os resultados obtidos da interação da lecitina de soja orgânica com a cumarina, são promissores no desenvolvimento de um cosmético para o tratamento do envelhecimento precoce, pois os mesmos possuem valores de diâmetro médios de partículas que favorece uma absorção até os tecidos intermediário da pele, assim como os valores de pH obtidos não romperiam a barreira biológica da pele causando danos indesejáveis, além de possuir elevada estabilidade, que atribui ao produto uma durabilidade maior e um alto valor econômico.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

As perspectivas futuras para o trabalho são: obter uma quantidade maior de compostos cumarínicos do guaco para posteriormente serem utilizados para a interação com a lecitina de

soja; desenvolver um método de obtenção de fosfatidilcolina de elevado grau de pureza; determinar a eficiência de encapsulação; comparação dos métodos de purificação; desenvolver testes *in vitro*; comparação dos teste *in vitro* das amostras empregando de lecitina de soja de baixa e elevada pureza na redução ou eliminação da peroxidação lipídica e da ânion radical superóxido.

7. REFERÊNCIAS

ABOY, Ana Lúcia; *et al.* Atividade antiespasmódica de soluções extrativas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco). **Acta farmacéutica bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 185-192, 2002.

ALBERNAZ, Vanessa Lima. Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização fisicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico. 2014. Dissertação (Mestre em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília - DF, 2014.

ALMEIDA, Alex Magalhães, *et al.* DETERMINAÇÃO DE Al^{3+} , Fe^{3+} E Cu^{2+} PRESENTES EM SOMBRAS DE MAQUIAGEM POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis: UMA PROPOSTA DE EXPERIMENTO CONTEXTUAL EM NÍVEL SUPERIOR DE ENSINO. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 355-360, Mar. 2019.

AMORIM, Suellen Rezende; KLIER, Anderson Hollerbach; ANGELIS, L. H. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. **Rev Bras Farm**, v. 94, n. 3, p. 234-242, 2013.

ANCONI, Glasiela Lemos. **Aplicação de peptídeos em cosméticos: Desenvolvimento de formulações, estabilidade e eficácia**. 2008. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto – SP, 2008.

BAGGIO, Stéphanie Oliveira. Extração de cumarinas de *Pterocaulon balansae* (Asteraceae). Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS, p. 36, 2014.

BARBOSA, Fernanda de Souza Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea. 2011. 107f. Dissertação (mestrado em ciências em Engenharia) – Programa de Engenharia Biomédica, UFRJ, Rio de Janeiro, 2011.

BARBOSA, W. L. R. *et al.* Manual para análise fotoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém – PA, 2001.

BARIL, M. B. *et al.* Nanotecnologia aplicada aos cosméticos. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 1, P. 45-54, Jan. – Mar, 2012.

BATISTA, Cinthia Meireles; DE CARVALHO, Cícero Moraes Barros; MAGALHÃES, Nereide Stela Santos. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 167-179, 2007.

BEDIN, C. A. Nanoemulsões contendo Benzoilmetronidazol: Desenvolvimento, caracterização e Estudo de Liberação in vitro. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, 2011.

BICAS, Thariane Carvalho; *et al.* Uso da Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (IV-TF) e quimiometria para classificação de vinhos e suco de uva. *Brazilian Journal of Food Research*, Campo Mourão, v. 8, n. 2, p. 89-97, abr./jun. 2017.

BIGHETTI, Aparecida Érica. Atividade Antiulcerigênica, Isolamento e Identificação dos Princípios Ativos da *Mikania laevigata* Schultz Bip. Tese de Doutorado (Doutorado em Clínica médica na Área de Ciências Básicas) – Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 152, 2004.

BOLINA, Ricardo C.; GARCIA, Eliana de F.; DUARTE, Maria Gorette R. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Rev Bras Farmacogn**, v. 19, n. Suppl 1B, p. 294-298, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Boas Práticas Agrícola (BPA) de plantas medicinais aromáticas e condimentares/ ed. preliminar Marianne Christina Scheffer, Cirino Corrêa Júnior; Coordenação, Maria Consolacion Udry, Nivaldo Estrela Marques e Rosa Maria Peres Kornijezuk. - Brasília: MAPA/SDC, 2006.

CASTEJON, Leticia Vieira; *et al.* Parâmetros de qualidade na clarificação da lecitina de soja. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – MG, p. 169, 2015.

COHEN, A. J. Critical review of the toxicology of coumarin with special reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their significance to man. *Food and Cosmetics Toxicology*, V. 17, n. 3, p. 277–289, 1979.

CZELUSNIAK, K.E. *et al.* Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 400-409, 2012.

DAUDT, Renata M. *et al.* A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 28-31, jul., 2013.

DALGLEISH, D. G.; HALLET, F. R. Dynamic light scattering: applications to food systems. **Food Res. Int.**, v. 28, n. 3, p. 181-193, 1995.

DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. Cromatografia um breve ensaio. *Química nova na escola*, v. 7, n. 1, 1998.

DIAS, Ana Rita da Silva Vargas Guerreiro. Cumarinas: Origem, Distribuição e Efeitos Tóxicos. Mestrado (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Mestre Integrado em Ciências Farmacêuticas do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, p. 55, 2015.

FARIA, Andrea Bonuzzi de; *et al.* Desenvolvimento e avaliação de produtos cosméticos para a higiene capilar contendo tensoativos “não-sulfatados”. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 521-527, 2013.

GALEMBECK, Fernando; CSORDAS, Yara. Cosméticos: a química da Beleza. **Coordenação Central de Educação a Distância**, 2011.

GALO, André Luiz; COLOMBO, Márcio Francisco. Espectrofotometria de longo caminho óptico em espectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 488-492, 2009.

GAUMET, Marie; *et al.* Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 1, p. 1–9, 2008.

GRAÇA, Juliana S.; FERREIRA, Marystela. Encapsulação de biomoléculas em lipossomos: aplicações em biossensores enzimáticos e imunossensores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1552-1564, 2015.

GRILLO, Renato; *et al.* Caracterização físico-química de complexo de inclusão entre hidroximetilnitrofurazona e hidroxipropil-beta-ciclodextrina. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 290-295, 2008.

GOTO, Patrícia Leme. Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas por polimerização In Situ a partir de nanoemulsões produzidas por inversão de fases. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto – MG, p. 89, 2011.

HOLLER, F. JAMES. Princípios de análise instrumental / F. James Holler, Douglas A. Skoog, Stanley R. Crouch; tradução Celio Pasquini [coordenação]; Jarbas José Rodrigues Rohwedder. [*et al.*]. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HU, Yan-Jun; *et al.* Study of the interaction between monoammonium glycyrrhizinate and bovine serum albumin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 4, p. 915-919, 2004.

JAHANSHAHI, Mohsen; BABAEI, Zahra. Protein nanoparticle: a unique system as drug delivery vehicles. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 25, 2008.

JOHNSON, Charles S.; GABRIEL, Don A. Laser light scattering. is corrected and includes a new preface, 1994.

JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J., Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417-427, 2014.

KAUR, Khushwinder, *et al.* Energy efficient, facile and cost effective methodology for formation of an inclusion complex of resveratrol with hp- β -CD. **New Journal of Chemistry**, v. 39, n. 11, p. 8855-8865, 2015.

KASZUBA, Michael; *et al.* High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 368, n. 1927, p. 4439-4451, 2010.

LACY, Aoife; O'KENNEDY, Richard. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. **Current pharmaceutical design**, v. 10, n. 30, p. 3797-3811, 2004.

LAKE, B. (1999). Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment. **Food and Chemical Toxicology**, V. 37, n. 4, p. 423–453, 1999.

LEONARDI, Gislaine Ricci; GASPAR, Lorena Rigo; CAMPOS, P.M.B.G.M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia, Rio de Janeiro**, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

LI, Xudong, *et al.* From guest to ligand—A study on the competing interactions of antitumor drug resveratrol with β -cyclodextrin and bovine serum albumin. **Thermochimica acta**, v. 521, n. 1-2, p. 74-79, 2011.

LOPES, Keila da Silva. Avaliação da etapa de clarificação do óleo de soja através de planejamento composto central e investigação do potencial de melhoria energética no processamento da soja. Dissertação (Mestre em Engenharia de Processos Térmicos e Químicos) - Pós-Graduação em Engenharias (PIPE), da Universidade Federal do Paraná. Curitiba – PR, p.256, 2008.

LOURENÇO, Ana Rita Nunes. Administração tópica de fármacos: das restrições aos desafios. 2013. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêutica) – Universidade Lisófona de Humanidades e Tecnologias, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Lisboa, 2013.

LOZHKIN A. V, SAKANYAN, E. I. Natural coumarins: Methods of isolation and analysis. **Pharm Chem J**, v. 40, n. 6, p. 337-346, 2006.

LUCAS, Elizabete F.; SOARES, Bluma G.; MONTEIRO, Elisabeth EC. **Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica**. Editora E-papers, 2001.

MATTEUCCI, Cyntia; DINIS, Aline Cotta; GUIMARÃES, Kleber Lanigra. Cálculo e avaliação da incerteza estimada de medição dos ensaios de análise de tamanho de partículas-espalhamento de luz (DLS). *Revista IPT: Tecnologia e Inovação*, v. 1, n. 5, 2017.

MEDEIROS, E. S.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. Nanotecnologia: Introdução, Preparação e Caracterização de Nanomateriais e Exemplos de Aplicação. **Nanotecnologia**, v. 1, p. 208, 2006.

MERTINS, Omar., *et al.* Caracterização da pureza de fosfatidilcolina da soja através de RMN de ^1H e de ^{31}P . **Química nova. São Paulo**. Vol. 31, n. 7, p. 1856-1859, 2008.

MERTINS, Omar. Desenvolvimento e caracterização de nanovesículas lipossômicas compósitas de fosfatidilcolina da lecitina de soja e quitosana. Dissertação (Mestre em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS, p. 63, 2004.

_____. Estudos físico-químicos e estruturais de lipossomas compósitos de fosfatidilcolina e quitosana. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS, p. 185, 2008.

MONTEIRO, Filomena Karla de Castro. Utilização da espectroscopia de infravermelho próximo para quantificação de adição de soro em leite. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Tecnológica do Leite e Derivado) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 2015

MOTA, Aline de Carvalho Varjão. Lipossoma com o filtro solar p-metoxicinamato de octila: permeação cutânea, eficácia e segurança/ Aline de Carvalho Varjão Mota; orientador Elisabete Pereira dos Santos. – Rio de Janeiro: UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2013.

MOTTA, Caroline. Incorporação do Antioxidante Natural α -Tocoferol em Filmes de Carboximetilcelulose. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, p. 109, 2012.

MOUAD, Ana Maria; PORTO, André Luiz M. Uma Abordagem Química sobre a Pele e a Biocatálise no Desenvolvimento de Moléculas Antioxidantes de Aplicação Cosmética. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1642-1660, 2014.

OLIVEIRA, Ana Paula Correa de. Produção e caracterização de partículas de hidrogéis para aplicações em cosméticos. Dissertação (Dissertação em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química. Campinas – São Paulo, p. 158, 2004.

OLIVEIRA, Fernando de; AKISUE, Gokithi; AKISUE, Maria K. and JORGE, Luzia Ilza Ferreira. Morfodiagnose de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker - guaco-do-mato - estudo do Axófito. **Rev. bras. farmacogn.**[online]. 1986, vol.1, n.1, pp.45-57. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X1986000100006>.

PAIVA, Donald L; *et al.* Introdução à espectroscopia. 4ª ed. São Paulo, SP: Cengage Learning, 2010.

PATTANAIK, Bijay N.; MANDALIA, Hiren C. Ethyl acetate: properties, production processes and applications-A review. **IJCRR**, v. 3, p. 23-40, 2011.

PERES, Gisele, Peres. Relação estrutura – propriedades da amilopectina presente na solução do amido do topo AMIDEX 40003 e seus complexos metálicos. Tese de doutorado em Química no Programa de Pós-graduação em Química na Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 2013.

PERES, Terezinha Bonanho. Palestra: NOÇÕES BÁSICAS DE CROMATOGRAFIA. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.227-229, jul./dez., 2002.

PERKIN, W. H. XXIII. — On the hydride of aceto-salicyl. **Journal of the Chemical Society**, v. 21, p. 181-186, 1868.

RECKZIEGEL, Yessica. Characterization and comparison of the functionality of fractionated lecithin from different sources. Dissertation (Master of Science in Food Technology) – Interuniversity Programme (IUPFOOD) of Faculty of Bioscience Engineering, p. 89, 2015.

ROCHA, Fábio RP; TEIXEIRA, Leonardo SG. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.

ROSSAN, Marcos Roberto. Preparação e caracterização de micro e nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos. 2011. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química. Campinas – SP, 2011.

ROSSI-BERGMANN, Bartira. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, jul., 2008.

SANTOS, Willian Henrique dos; SIQUEIRA, Mayara de Souza; SILVA FILHO, Luiz Carlos da. Síntese de derivados 4-aril-3, 4-di-hidrocumarínicos catalisada por NbCl₅. **Química Nova**, Vol. 36, No. 9, p. 1303-1307, 2013.

SATHLER, Nathalia Souza. Cosméticos multifuncionais: aspectos históricos, características e uma proposta de formulação. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) - Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, p. 47, 2018.

SCHOLFIELD, C. R. Composition of Soybean Lecithin. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 58, n. 10, p. 889-892, out., 1981.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química inorgânica**. trad. Maria Aparecida Gomes. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2003.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; et al. O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Florianópolis, SC: Editora da UFRGS, Editora da UFSC, 2004. 1102 p. ISBN 8570256825.

SOTELO, Francisco Falla. Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na caracterização de petróleo: simulação de uma unidade de destilação atmosférica. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química. São Paulo, 2006

SOUZA, Simone Machado de. Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados. 2005. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) – Pós-Graduação em Biotecnologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

SOUZA, Thiago Vasques de Souza. Uma Nova Forma de Caracterização do Espessamento de Látexes Acrílicos. 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal – RN, 2016

SPROLL, Constanze et al. HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. **Food chemistry**, v. 109, n. 2, p. 462-469, 2008.

STRÖHER, Alessandra; ARMIJO, Cristián Jesús Velásquez, RAFFIN, Renata Platchek. Nanocosméticos: Conceitos, Vantagens e Aplicações. **Cosmetics & Toiletries (Brasil)**, v. 22, p. 54 – 60, set-out, 2010.

SZOKA F., PAPAHAJDOPOULOS, D., "Procedure for Preparation of Liposomes with Large Internal Aqueous Space and High Capture by Reverse-phase Evaporation", Proc. Natl. Acad. Sci., USA, v. 75, p. 4194-4198, 1978.

USKOKOVIĆ, Vuk *et al.* Zeta-potential and particle size analysis of human amelogenins. **Journal of dental research**, v. 89, n. 2, p. 149-153, 2010.

VIANNA, Damiana da Rocha. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica e citotóxica de cumarinas naturais e sintéticas. Tese (Ciências Farmacêutica) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêutica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS, p. 148, 2011.

VIEIRA, Lucas Campos Curcino. Síntese de uma coleção de cumarinas, possíveis inibidores da enzima acetilcolinesterase. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos. São Carlos – SP, p. 141, 2010.

WISSING, Sylvia A.; MÜLLER, Rainer H. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 254, n. 1, p. 65-68, 2003.

ZACARONI, Lidiany Mendonça. Compostos Fenólicos e Cumarinas: Certificação de um método analítico para caracterização e quantificação em aguardentes de cana envelhecidas em barris de diferentes espécies de madeira. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2009

ZULIAN, Sibebe Liane. Adição de Ácido Graxo de Soja como Agente Estabilizante da Viscosidade de Lecitina de Soja. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis - SC, p. 98, 2016.

8. APÊNDICE 1

Figura 17- Espectro de FT-IR da cumarina.

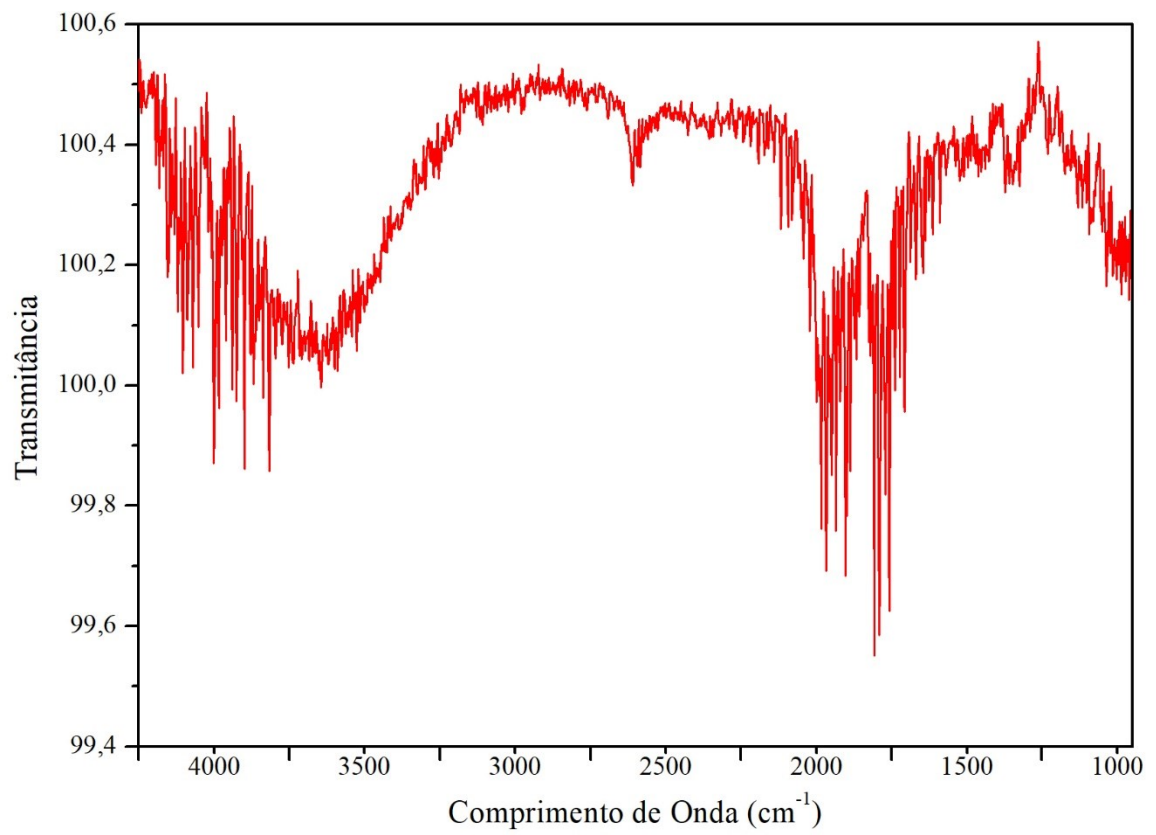


Figura 18- Espectro de FT-IR para o organogel de lecitina de soja sem a adição de cumarina.

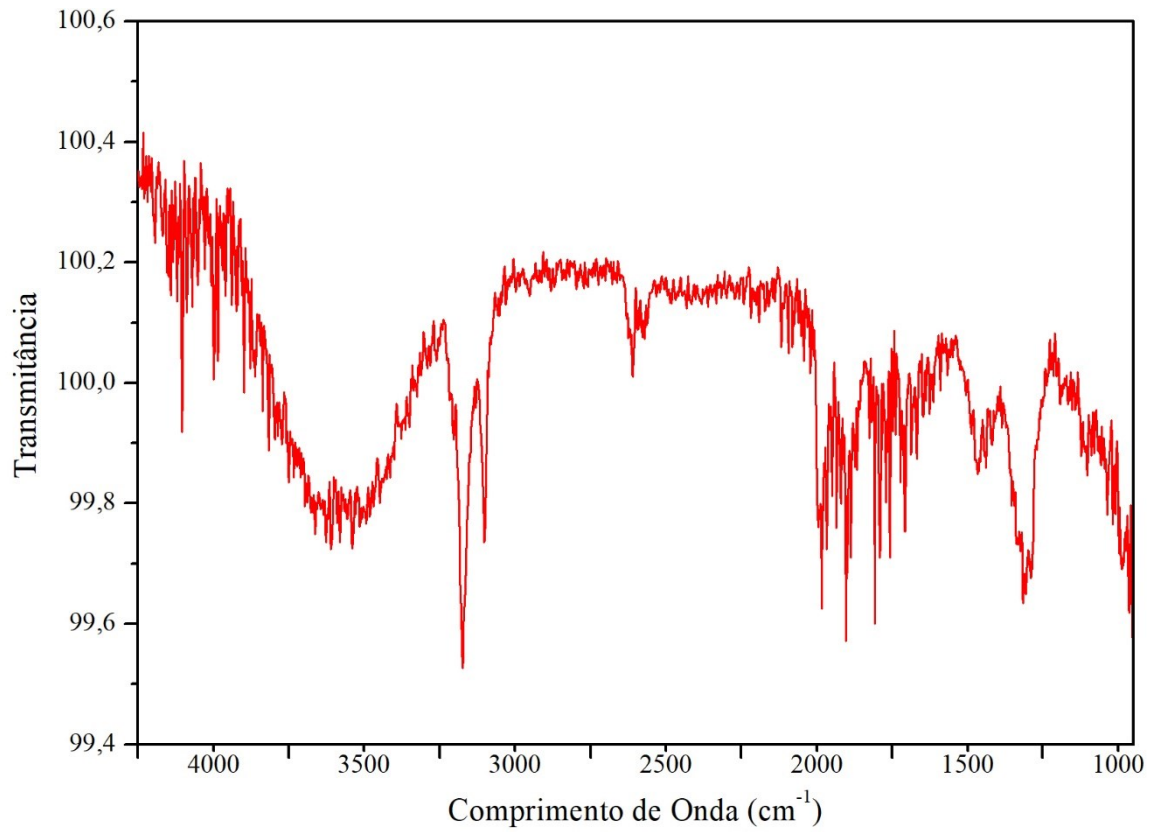


Figura 19- Espectro de FT-IR para o organogel de lecitina de soja com a adição de cumarina.

