



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE MATERIAIS

**ASSOCIAÇÃO DO COMPLEXO *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] EM UM
SISTEMA MICROEMULSIONADO E ESTUDOS DE VIABILIDADE
CELULAR, FAGOCITOSE E ATIVIDADE MICROBICIDA**

BRUNA ALVES RODRIGUES

Pontal do Araguaia – MT

2024

BRUNA ALVES RODRIGUES

**ASSOCIAÇÃO DO COMPLEXO *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] EM UM
SISTEMA MICROEMULSIONADO E ESTUDOS DE VIABILIDADE
CELULAR, FAGOCITOSE E ATIVIDADE MICROBICIDA**

Dissertação de Mestrado realizada no Programa de Pós-graduação em Ciências de Materiais da Universidade Federal de Mato Grosso no Campus Universitário do Araguaia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Wesley Almeida Souza

Coorientador: Prof. Dr. Jackson Antônio Lamounier Camargos Resende

Pontal do Araguaia – MT

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

R696a Rodrigues, Bruna Alves.

Associação do complexo trans-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] em um sistema microemulsionado e estudos de viabilidade celular, fagocitose e atividade microbica [recurso eletrônico] / Bruna Alves Rodrigues. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 51 f., pdf). -- 2024.

Orientador: Wesley Almeida Souza.

Coorientador: Jackson Antônio Lamounier Camargos Resende.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário do Araguaia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, Barra do Garças, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. Complexo trans-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]. 2. microemulsão. 3. viabilidade celular. 4. fagocitose. I. Souza, Wesley Almeida, *orientador*. II. Resende, Jackson Antônio Lamounier Camargos, *coorientador*. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM [NOME DO PPG]

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ASSOCIAÇÃO DO COMPLEXO $\text{trans-[Pt(5-heptil-odztH)2(PPh3)2]}$ EM UM SISTEMA MICROEMULSIONADO E ESTUDOS DE VIABILIDADE CELULAR, FAGOCITOSE E ATIVIDADE MICROBICIDA"

AUTORA: MESTRANDA BRUNA ALVES RODRIGUES

Dissertação defendida e aprovada em **27 de junho de 2024**.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Presidente:

Prof. Dr. Wesley Almeida Souza CPF: 917.978.881-53

Instituição: ICET/UFMT

Membro Interno:

Prof. Dr. Eduardo Luzia França CPF: 536.319.276-49

Instituição: ICBS/UFMT

Membro Externo:

Prof. Dr. Daniel Garcez Santos Quattrociochi CPF: 124.913.667-97

instituição: Departamento de Química CCT/UFRR

Barra do Garças, 27 de junho de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **WESLEY ALMEIDA SOUZA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 03/07/2024, às 14:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Garcez Santos Quattrociochi, Usuário Externo**, em 03/07/2024, às 14:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **EDUARDO LUZIA FRANCA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 03/07/2024, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6932865** e o código CRC **526EE38E**.

Referência: Processo nº 23108.040409/2024-41

SEI nº 6932865

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador do universo e dos seres humanos por percorrer e conduzir comigo o caminhar acadêmico, pessoal, profissional, afetivo e espiritual.

Aos meus pais, Elenice e João Batista, à minhas irmãs Carolina e Isabela pelo amor, apoio e compreensão de sempre.

Ao Prof. Dr. Wesley Almeida Souza, por toda orientação, paciência, dedicação, sensibilidade, organização e inspiração durante esse período de amadurecimento da pesquisa científica, obrigada por acreditar e confiar no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Wagner Batista dos Santos, pelo apoio e encorajamento.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Imunologia da Relação Materno-infantil e Cronoimunomodulação, pela disponibilidade e orientação no preparo de nossas microemulsões e todos os procedimentos experimentais realizados.

Aos professores Eduardo Luzia França, Claudemir Batalini, Joyce Laura da Silva Gonçalves e Daniel Garcez por aceitarem e comporem a banca examinadora de qualificação e defesa, sou grata por toda contribuição, sugestão e possibilidades de novos olhares para a pesquisa.

À Universidade Federal de Mato Grosso e aos professores do PPGMAT pelas contribuições e possibilidade para a realização deste trabalho.

À CAPES e FAPEMAT pelo amparo à pesquisa e incentivo financeiro durante o período de formação, de extrema importância para o desenvolvimento e realização deste trabalho.

Aos companheiros de curso por toda amizade, compartilhamento de ideias, conhecimentos e descontrações, em especial, Rans e Vanessa por termos enfrentado os desafios da pesquisa juntos.

Às minhas amigas da vida, Talitta e Cristina por todo incentivo e parceria, ao Matheus por me acompanhar, incentivar e acreditar que sempre podemos mais.

A todos os amigos, colegas, familiares que estiveram comigo no decorrer deste período, que contribuíram de certa forma para tal ação, meu muito obrigada.

“A maior parte dos sentimentos
habita um terreno onde
palavra alguma jamais pisou”

Rilke

RESUMO

Nos últimos anos a procura por sistemas para entrega de produtos com potencial terapêutico cuja finalidade seja aumentar a eficiência, reduzir a toxicidade e melhorar a biodisponibilidade tem aumentado. Sendo uma mistura de óleo e água, tensoativos e co-tensoativos, as Microemulsões (MEs), são dispersões homogêneas, translúcidas e termodinamicamente estáveis, gerando sistemas modificados para liberação de fármacos, produtos naturais ou sintéticos que apresentam baixa solubilidade em meio aquoso. O objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar uma microemulsão (ME) associada ao complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] e verificar seu efeito biológico na ativação celular. As MEs foram preparados utilizando Span 80 (SP), Tween 80 (TW), 1-butanol (BT), formando o sistema SP/TW/BT (3,5:5,5:1,0), água destilada e triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico associadas ao complexo de Pt(II). As medidas de pH permaneceram em 6,4 a condutividade elétrica se manteve entre 7 e 8 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. A caracterização reológica apresentou perfil de fluxo Newtoniano, a ME associada ao complexo de Pt(II) apresentou o valor de área de histerese mais próxima de zero ($-0,66 \text{ Pa s}^{-1}$) do que a ME não associada ($0,66 \text{ Pa s}^{-1}$), indicando uma maior estabilidade do conjunto complexo/ME. Os resultados de potencial Zeta de $-14.8 \pm 5.72 \text{ mV}$ para a ME não associada ao complexo e $-19.2 \pm 4.49 \text{ mV}$ para a ME associada, com o Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) obtemos tamanhos de partículas na faixa de 160 nm. Os testes de viabilidade celular apresentaram valores superiores a 95% e índices de fagocitose entre 30 a 42% em incubações de 30 min, se mostrando promissor para futuros testes.

Palavras-chave: complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]; microemulsão; viabilidade celular; fagocitose.

ABSTRACT

In recent years, the search for systems to deliver products with therapeutic potential whose purpose is to increase efficiency, reduce toxicity and improve bioavailability has increased. Being a mixture of oil and water, surfactants and co-surfactants, Microemulsions (MEs) are homogeneous, translucent and thermodynamically stable dispersions, generating modified systems for the release of drugs, natural or synthetic products that have low solubility in an aqueous medium. The objective of this work was to prepare and characterize a microemulsion (ME) associated with the complex trans-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] and verify its biological effect on cell activation. MEs were prepared using Span 80 (SP), Tween 80 (TW), 1-butanol (BT), forming the SP/TW/BT system (3.5:5.5:1.0), distilled water and triglyceride of capric/caprylic acid associated with the Pt(II) complex. pH measurements remained at 6.4 and electrical conductivity remained between 7 and 8 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. The rheological characterization presented a Newtonian flow profile, the ME associated with the Pt(II) complex presented the hysteresis area value closest to zero (-0.66 Pa s^{-1}) than the unassociated ME (0.66 Pa s^{-1}), indicating greater stability of the complex/ME set. The Zeta potential results of $-14.8 \pm 5.72 \text{ mV}$ for the ME not associated with the complex and $-19.2 \pm 4.49 \text{ mV}$ for the associated ME, with Dynamic Light Scattering (EDL) we obtain particle sizes in the range of 160 nm. Cell viability tests showed values above 95% and phagocytosis rates between 30 and 42% in 30 min incubations, showing promise for future tests.

Key words: complex trans-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]; microemulsion; cell viability; phagocytosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração dos equilíbrios de fases de acordo com a classificação de Winsor	17
Figura 2. Representação das estruturas mais encontradas de microemulsão, com óleo representado em cinza e água em branco	18
Figura 3. Fórmula estrutural do Triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico.....	19
Figura 4. Fórmula estrutural do oleato de sorbitano ($C_{24}H_{44}O_6$).....	20
Figura 5. Fórmula estrutural do polissorbato 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$).....	21
Figura 6. Fórmula estrutural do 1-butanol.....	21
Figura 7. Representação estrutural de um dos isômeros do oxadiazol e tiadiazol	23
Figura 8. Fórmula estrutural do complexo trans-[Pt(5-heptil-odztH) ₂ (PPh ₃) ₂].....	24
Figura 9. Diagramas pseudoternário de classificação dos pontos (a) e de domínios de região com as microemulsões selecionadas (b) do sistema SP/TW/BT. Microemulsão líquida (MEL), Microemulsão gel (MEG), Emulsão gel (EG), Separação de Fases (SF).	31
Figura 10. Curva de fluxo das microemulsões (25°C)	34
Figura 11. Curva de viscosidade das microemulsões (25°C).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores calculados de porcentagem e EHL resultante da mistura de tensoativos	31
Tabela 2. Determinações do pH e condutividade das microemulsões.....	33
Tabela 3. Análise estatística	35
Tabela 4. Valores de potencial zeta, EDL e índice de polidispersão.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O – Água em óleo
ANOVA – Análise de Variância
BT – 1-butanol
BHI – Brain Heart Infusion
DLS – Dynamic Light Scattering
EG – Emulsão gel
EPEC – *Escherichia Coli* Enteropatogênica
EDL – Espalhamento Dinâmico de Luz
EHL – Equilíbrio Hidófilo-Lipófilo
ME – Microemulsão
MEs – Microemulsões
MEG – Microemulsão gel
MEL – Microemulsão líquida
O/A – Óleo em água
odztH – 1,3,4-oxadiazol
PBS – Tampão fosfato-salino
PPh₃ – Trifenilfosfina
Pt – Platina
SF – Separação de fases
SP – Span 80 (oleato de sorbitano)
TW – Tween 80 (polissorbato 80)
ζ – Potencial Zeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Microemulsão	15
3.2 Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo.....	18
3.3 Agentes tensoativos	19
3.4 Complexos de Platina(II).....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1 Instrumentação.....	25
4.2 Composição do sistema microemulsionado	26
4.3 Associação ao complexo <i>trans</i> -[Pt(5-heptil-odztH) ₂ (PPh ₃) ₂]	26
4.3.1 Densidade aparente	26
4.3.2 Preparo da formulação	26
4.4 Análise de viabilidade celular	27
4.4.1 Separação das células do sangue.....	27
4.4.2 Avaliação da viabilidade celular	27
4.5 Avaliação da fagocitose e atividade microbicida dos fagócitos do sangue.....	28
4.6 Linhagem e cultura de <i>Escherichia Coli</i> Enteropatogênica (EPEC)	28
4.7 Ensaio de fagocitose e atividade microbicida	28
4.8 Análise estatística	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	30
5.1 Preparo da microemulsão.....	30
5.2 Determinação da razão da mistura de tensoativos.....	30
5.3 Sistemas microemulsionados.....	31

5.4	Determinação do pH e condutividade	33
5.5	Caracterização reológica	33
5.6	Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) e potencial Zeta (ζ)	36
5.7	Viabilidade celular das microemulsões associadas e não associadas com o complexo <i>trans</i>-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]	37
5.8	Fagocitose e atividade microbica das microemulsões associada e não associada com o complexo <i>trans</i>-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]	38
6.	CONCLUSÕES	40
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
	ANEXO 1 – Porcentagem de células vivas e mortas nos testes de viabilidade celular	47
	ANEXO 2 – Resultados obtidos da avaliação de fagocitose e atividade microbica da bactéria <i>Escherichia Coli</i> Enteropatogênica (EPEC)	48

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sistemas para a entrega medicamentosa e/ou produtos com potencial terapêutico, cujo objetivo é melhorar o tratamento de doenças, aumentar a eficiência, reduzir a toxicidade e aumentar a biodisponibilidade teve um aumento significativo nos últimos anos (Ramos *et al.*, 2022; Pessoa *et al.*, 2015).

Segundo Chaud (2014), a literatura tem mostrado que as microemulsões (MEs) surgiram como uma estratégia atrativa para entrega de fármacos. Nesse sentido, os estudos e pesquisas envolvendo o Equilíbrio Hidófilo-Lipófilo (EHL) têm agregado valor no desenvolvimento de MEs surgindo como forma de propor novas formas de transporte, baseados em mistura óleo, água e tensoativos (Kreilgaard, 2002; Ramos *et al.*, 2022).

Microemulsões são sistemas modificados para liberação de fármacos, produtos naturais ou sintéticos com potencial medicinal, são dispersões homogêneas de óleo e água, translúcidas e termodinamicamente estáveis, as MEs são estabilizadas por um filme interfacial composto por tensoativos e co-tensoativos conjugado, existente na forma de gotícula. São caracterizados por agregados esféricos com diâmetro normalmente na ordem de 100 nm (Oliveira; Scarpa, 2001; Kreilgaard, 2002; Ramos *et al.*, 2022).

As propriedades da liberação controlada de emulsões são indicadas de acordo com a viscosidade da fase oleosa, a equivalência óleo-água e o tamanho da gotícula da emulsão (Ribeiro *et al.*, 2015). Para caracterizar completamente esses sistemas, as medidas como pH, condutividade e as técnicas de caracterização reológica, difração de raios-X e entre outras são de grande valia (Podlogar *et al.*, 2004; Boonme *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 2015).

Segundo Anjomshoa *et al.*, (2019), em relação aos compostos de platina (Pt) que obtiveram grande sucesso na quimioterapia do câncer, com ênfase a cisplatina, que foi aprovada para uso clínico, no entanto, apresenta baixa solubilidade em água, resistência e uma variedade de efeitos colaterais, podendo afetar rins, sistema nervoso e audição. Isso acontece devido a molécula não ser muito seletiva, levando-a a atacar também as células saudáveis.

Neste contexto, a utilização de sistemas microemulsionados e/ou encapsulados torna-se uma estratégia interessante para minimizar as dificuldades encontradas na administração de fármacos que são insolúveis em água (Egito *et al.*, 2021).

A preparação de novos fármacos anticancerígenos a partir de metais de transição, é uma área de pesquisa promissora na busca por tratamentos mais eficazes contra o

câncer. Metais de transição, como platina, rutênio, ródio, irídio e outros, têm propriedades únicas que podem ser exploradas para desenvolver compostos capazes de combater células cancerígenas de maneiras específicas com menores efeitos colaterais (Rijt; Sadler, 2009; Bai *et al.*, 2017). Ainda assim os critérios de caminhos para tais compostos ainda estão em construção, não nos permitindo, por enquanto, um fornecimento de regras gerais a serem seguidas.

Pensando nos sistemas microemulsionados e na baixa solubilidade de compostos de platina contendo fosfinas terciárias como a trifenilfosfina (PPh_3) e derivados de 1,3,4-oxadiazol-2-tiona (odztH) sintetizados (Souza *et al.*, 2021), propor a associação do complexo em um sistema microemulsionado pode ser uma solução à realização de ensaios biológicos e suas possíveis aplicações.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar uma microemulsão associada ao complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] e verificar seu efeito biológico na ativação celular.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolvimento e caracterização do neomaterial;
- Ensaios biológicos de biocompatibilidade (viabilidade);
- Ensaios biológicos de ativação celular (fagocitose e atividade microbicida).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Microemulsão

A formação de microestruturas em soluções aquosas de substâncias tensoativas é o fenômeno comum da auto-organização molecular como forma de alcançar estabilidade termodinâmica. As moléculas de surfactante geralmente se auto agregam na presença de água e formam uma rica variedade de estruturas (Ezrahi; Aserin; Garti, 1999; Egito *et al.*, 2021).

Misturas de compostos coloidais de dois solventes imiscíveis podem ser estabilizados por um filme tensoativo em que adsorvem na interface líquido-líquido e têm uma ampla gama de aplicações em reações químicas, cosméticos e sistemas de distribuição de medicamentos (Lucas *et al.*, 2020).

Em misturas do tipo tensoativos-solvente, soluções homogêneas de agregados micelares podem se formar. Esses agregados podem originar melhores estruturas ao adicionar uma fase oleosa e co-tensoativa, sendo essa uma substância que é usada em conjunto com um surfactante para melhorar ou modificar suas propriedades de redução da tensão superficial em uma interface entre duas fases imiscíveis, como água e óleo (Alves *et al.*, 2021).

A partir desta adição, o grau de organização estrutural dependerá da concentração e composição das fases do sistema (Gurgel *et al.*, 2024). Sendo assim, a organização estrutural da mistura, óleo e água pode formar diferentes tipos de agregados, entre os quais está a microemulsão (Wennerström; Olsson, 2009; Ribeiro *et al.*, 2015).

Microemulsões surgiram durante a década de 1940, foram inicialmente estudados por Hoar e Schulman, em que descreviam sistemas onde óleo e água podiam se misturar aproximadamente em proporções iguais promovidas por surfactantes e co-surfactantes, ou seja, sistemas de aparência transparentes ou translúcidos obtidos a partir da titulação de uma emulsão comum com aspecto leitoso e que por adição de um álcool de cadeia média clarificava-se (Wennerström; Olsson, 2009). No entanto, foi apenas em 1959 que o termo foi sugerido por Schulman depois de criar um sistema estável, homogêneo e translúcido contendo álcool de cadeia média ou curta, água, benzeno, hexanol e oleato de sódio potássio (Schulman *et al.*, 1959; Ribeiro *et al.*, 2015).

As MEs são diferentes de emulsões simples, que são dispersões grosseiras bifásicas, termodinamicamente instável e turvas com diâmetros de suas gotículas variam

de 2000 a 10000 nm, visto que apresentam tensão interfacial menor, porque as moléculas de co-tensoativos estão intercaladas entre moléculas de tensoativos na interface óleo-água afetando a curvatura da gotícula (Ribeiro *et al.*, 2015).

A baixa tensão interfacial faz com que haja a formação espontânea de sistemas monofásicos e a formação de gotículas com tamanhos reduzidos e termodinamicamente estáveis, com isso, as MEs oferecem uma excelente superfície de contato entre a pele e o veículo, portanto, a proporção entre as fases aquosa, lipofílica e tensoativo, facilitam a transição do fármaco do veículo para o estrato córneo lipofílico (Fanun, 2012; Cotrim; Honório-França; França, 2016).

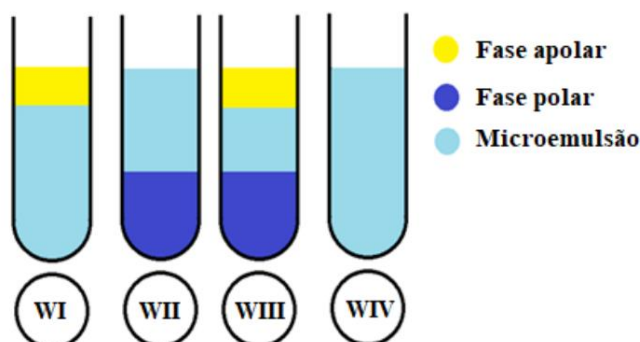
MEs possuem gotículas com diâmetro por volta de 150 nm, normalmente na ordem de 10 a 200 nm (Karunaratne; Pamunuwa; Ranatunga, 2017). As MEs são formadas de gotículas com tamanhos suficientemente pequenos para serem visualmente transparentes, devido a isso, outras denominações, como submicroemulsão e nanoemulsão são empregadas (Cotrim; Honório-França; França, 2016).

Winsor (1948) descreveu o comportamento dos sistemas de equilíbrio dos quais participavam as microemulsões, realizada pelo filme interfacial dos sistemas ternários, água/óleo/tensoativo, uma fase polar e/ou uma fase apolar em excesso, assim foi criada a classificação de Winsor.

Denominados quatro tipos de sistemas: Winsor I (WI), sistema bifásico com microemulsão do tipo óleo-água (O/A), que coincide com um excesso da fase oleosa; Winsor II (WII), sistema bifásico, que coincide com a fase aquosa em excesso, do tipo água-óleo (A/O); Winsor III (WIII), sistema trifásico, que coexistem com fases de óleo e água, sendo do tipo bicontínua; e Winsor IV (WIV), sistema monofásico translúcido resumido em uma única fase, resultando em uma microemulsão, a estrutura pode ser do tipo O/A, A/O ou bicontínua, em função da composição do sistema e temperatura (Bartscherer *et al.*, 1995; Lucas *et al.*, 2020).

A classificação de Winsor está ilustrada na Figura 1, a seguir.

Figura 1. Ilustração dos equilíbrios de fases de acordo com a classificação de Winsor

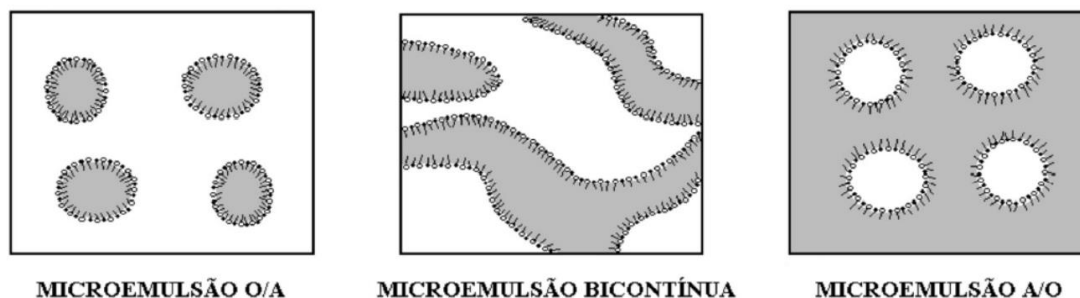


Fonte: Lucas *et al.*, 2020.

Segundo Wanderley Neto *et al.* (2020), o tipo de sistema formado vai depender da curvatura praticada pelo filme interfacial. A camada de tensoativo irá elevar-se até certo ponto entre a fase aquosa (A) e oleosa (O), ou seja, na interface, em que vai adotar a configuração que apresente o balanço das energias de interação das moléculas de tensoativo, óleo e água.

Quando as forças de solvatação na fase aquosa são maiores, o filme surfactante é curvado em direção a fase oleosa e uma ME do tipo O/A é formada, já quando as forças de solvatação são maiores na fase oleosa, o filme é curvado em direção a fase aquosa e a formação ME do tipo A/O como ilustrado na Figura 2, são facilitados e, em um acontecimento intermediário o sistema bicontínuo é gerado sendo um tipo de microemulsão na qual as fases aquosa e oleosa coexistem de maneira interconectada, formando uma estrutura contínua em ambas as fases, não havendo uma clara distinção entre a fase aquosa e a fase oleosa, mas sim uma rede de domínios aquosos e oleosos (Ribeiro *et al.*, 2015).

Figura 2. Representação das estruturas mais encontradas de microemulsão, com óleo representado em cinza e água em branco



Fonte: Damasceno *et al.*, 2011.

Modificação da curvatura por filme interfacial de surfactantes podem promover a existência de domínios de polaridades diferentes nas MEs, permitindo que substâncias solúveis em água, solúveis em óleo ou anfifílicas sejam solubilizadas. Das tendências básicas que podem ser analisadas em relação aos componentes das MEs, podemos citar a alta capacidade de incorporação ou associação do fármaco no veículo e efeito intensificador de permeação (Oliveira *et al.*, 2004; Ramos *et al.*, 2022).

Características assim fazem com que a ME seja vantajosa em relação às formas farmacêuticas orais convencionais, reduzindo a toxicidade, garantindo proteção da substância contra o meio biológico, o que possibilita a vetorização do fármaco, dando maior potência terapêutica e facilidade na administração (Talegaonkar *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2015).

3.2 Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo

Com o intuito de sistematizar a seleção de um tensoativo, Griffin em 1948 apresentou a ideia de Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL), desenvolvendo um sistema de classificação numérica de 1 a 20, com base nas características hidrofílicas e lipofílicas de um composto (Chaud *et al.*, 2014).

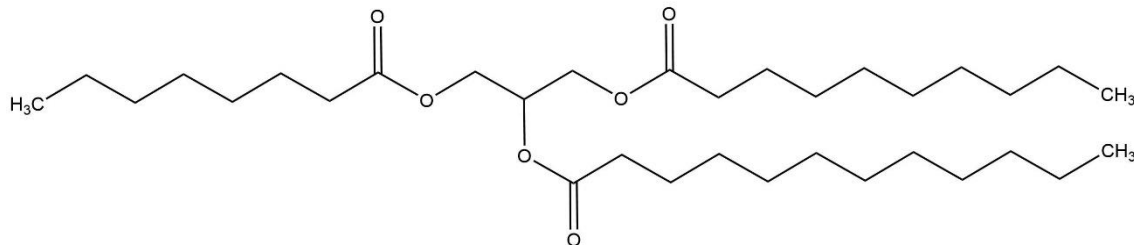
Esta classificação tinha como referência um conceito já conhecido que admite que toda substância tensoativa tem uma parte hidrossolúvel e uma parte lipossolúvel, devido a isso, quanto maior o valor de EHL, maior será a hidrofiliabilidade da substância e a tendência é formar sistemas O/A, da mesma forma, quanto menor o EHL, maior a lipofiliabilidade e a tendência é formar sistemas A/O (Lin, 1970; Housaindokht; Pour, 2012; Cotrim; Honório-França; França, 2016).

A combinação de tensoativos que resulta o EHL, permite a escolha do tensoativo e mostra o domínio dos sistemas acerca da classificação de fases, O/A ou A/O, também influencia o design mais firme e estável do filme na interação óleo/água, o que depende da geometria molecular e arranjo entre os tensoativos. A combinação de surfactantes destina-se a fornecer valores próximos de EHL, o mais próximo possível do EHL exigido pela fase oleosa (Zhang; Que, 2008; Wanderley Neto *et al.*, 2020).

Referente ao descrito por Lawrence e Rees (2012), matérias primas oleosas possuem um valor de EHL requerido e este valor é aquele que fornece um maior equilíbrio dinâmico entre a fase oleosa e a fase aquosa, proporcionando tamanho mínimo da partícula e estabilidade do sistema.

O Triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico (EHL = 10,8) (Figura 3), empregado na fase oleosa é promissor para a formação de sistemas de liberação modificada de compostos que apresentam baixa solubilidade. Triglicerídeos de cadeia média são vistos como não tóxicos, sendo empregados em uma variedade de formulações farmacêuticas (Abrar; Bhaskarwar, 2019; Harwansh; Deshmukh; Rahman, 2019; Leite *et al.*, 2022).

Figura 3. Fórmula estrutural do Triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico



Fonte: Autor, 2024.

3.3 Agentes tensoativos

Moléculas anfifílicas capazes de modificar as propriedades físico-químicas de superfícies ou interfaces de sistemas dos quais participam são caracterizados como tensoativos, também chamados de surfactantes, agentes emulsificantes ou emulsificadores, estas moléculas possuem uma região apolar ou hidrofóbica e outra polar ou hidrofílica (Yang; McClements, 2013). O efeito da adsorção de tensoativo é reduzir a tensão interfacial e aumentar a área de contato entre as fases (Silva *et al.*, 2015).

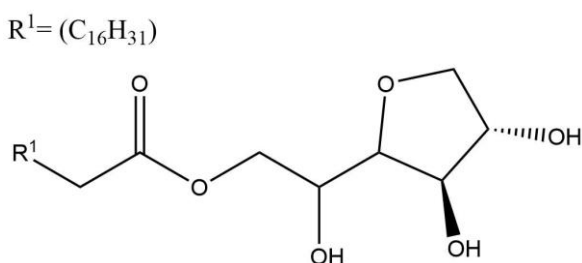
Dependendo da carga existente na região polar, os tensoativos são classificados em tensoativos catiônicos, aqueles que apresentam carga positiva; tensoativos aniônicos,

os que apresentam carga negativa; tensoativos não-iônicos, aqueles que não apresentam carga; e tensoativos anfóteros, que possuem cargas positiva e negativa (Ezrahi; Aserin; Garti, 1999; Ribeiro *et al.*, 2015).

Os tensoativos mais utilizados no preparo de MEs são aqueles de características não iônicas, como os copolímeros dos óxidos de etileno e propileno, polissorbatos e polietilenoglicóis (Cunha-Júnior *et al.*, 2003). O oleato de sorbitano (Span 80) Figura 4, é um tensoativo hidrofóbico não iônico presente em formulações farmacêuticas orais e produtos alimentícios, usado para estabilizar emulsões de água e óleo. Geralmente não apresentam toxicidade e a ingestão diária é admissível de 25 mg kg⁻¹ da massa corpórea (Rowe *et al.*, 2009). Relatado por Yuan *et al.* (2006) indica que a associação com outros tensoativos é possível para formulação de MEs.

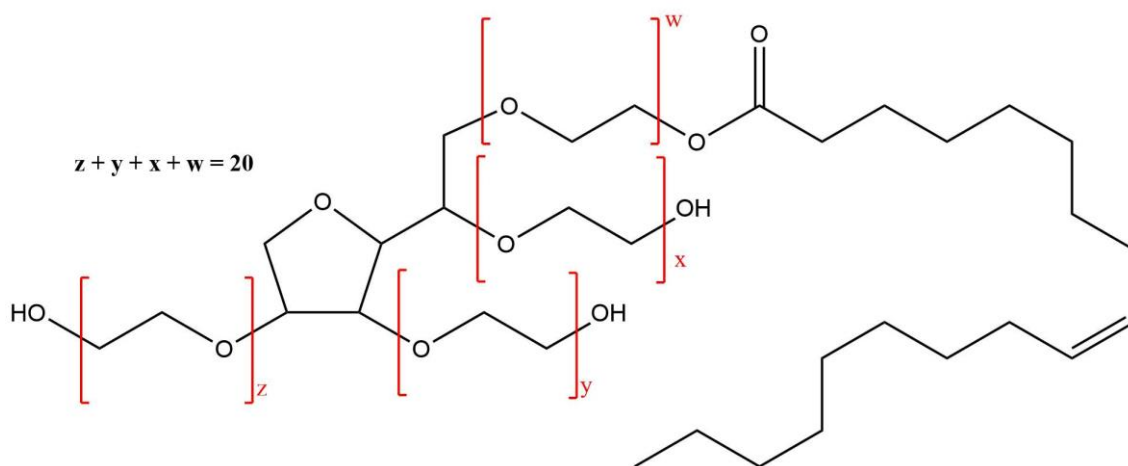
O tensoativo hidrofílico, para obtenção de microemulsão, não iônico muito usado em formulações medicamentosas, cosmética e alimentícia é conhecido como, Polissorbato 80 (Tween 80) Figura 5, apresenta uma ingestão diária de 25 mg kg⁻¹ da massa corpórea, não possui toxicidade ou irritabilidade (Rowe *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2015).

Figura 4. Fórmula estrutural do oleato de sorbitano (C₂₄H₄₄O₆)



Fonte: Autor, 2024.

Figura 5. Fórmula estrutural do polissorbato 80 (C₆₄H₁₂₄O₂₆)



Fonte: Autor, 2024.

A estabilidade pode aumentar com a associação de tensoativos e co-tensoativos, além do aumento de extensão e organização dos sistemas microemulsionados e diminuição da tensão interfacial, melhorando a solubilidade de compostos a ser incorporados, se fazendo necessário a adição de co-tensoativo para a obtenção da microemulsão. Normalmente um álcool de cadeia média, amina ou ácidos orgânicos são usados como agentes co-tensoativos (Lawrence, 1996; Leite *et al.*, 2022).

O 1-butanol (Figura 6) tem sido uma opção atrativa para o desenvolvimento de microemulsões, aumentando a elasticidade do filme interfacial (Ribeiro *et al.*, 2015). De acordo com o Centro Nacional de Informação em Biotecnologia (2023), sabendo que os álcoois devem ser usados com cuidado, devido ao risco de intoxicação, o 1-butanol quando utilizado em porções geralmente aceitas na indústria farmacêutica, sendo 50 mg por dia é compatível biologicamente.

Figura 6. Fórmula estrutural do 1-butanol



Fonte: Autor, 2024.

3.4 Complexos de Platina(II)

Complexos de coordenação de platina foram reconhecidos como agentes citotóxicos, na década de 60, por Rosenberg e colaboradores, quando estudavam, a influência de campo elétrico no crescimento de um cultivo de *Escherichia coli* (Rosenberg; Van Camp; Krigas, 1965; Rosenberg *et al.*, 1967; Neves; Vargas, 2011). Entre os compostos liberados pelos eletrodos de platina a *cis*-diaminodicloroplatina(II) (cisplatina) foi identificada como a mais ativa (Rosenberg; Van Camp, 1970; Gibson, 2019).

Em investigações subsequentes, a cisplatina em novos ensaios apresentou-se como um favorável agente antitumoral em diferentes tipos de câncer como, testicular, próstata, ovário, esôfago, melanoma, entre outros (Gibson, 2019; Souza, 2021). Os componentes envolvidos no mecanismo de ação da cisplatina são, cisplatina, DNA e as proteínas da classe HMG (*High Mobility Group*) que são capazes de se ligar especificamente ao DNA com presença de cisplatina, podendo assim, levar a morte celular (Fuertes; Alonso; Pérez, 2003; Neves; Vargas, 2011).

Sendo um medicamento de alta eficácia quimioterápica, a cisplatina também vem acompanhada de alguns efeitos colaterais, como, náuseas, vômitos, podendo causar danos aos rins, danos aos ouvidos e prejudicar o sistema nervoso periférico (Neves; Vargas, 2011; Souza, 2021). Devido a isso, a busca por novos complexos que sejam eficazes e que reduzam os efeitos colaterais se faz presente até os dias atuais.

Expondo um perfil de toxicidade celular viável, os complexos que possuem fosfinas terciárias, como, a trifenilfosfina (PPh₃) são compostos organofosforados que desempenham um papel crucial como ligantes em catálise homogênea, especialmente em química de coordenação de metais de transição. Com o intuito de promover a melhora das propriedades biológicas, complexos de platina ligados a PPh₃ e ligantes bioativos vem sendo sintetizados (Dell'Anna *et al.*, 2016; Souza, 2021).

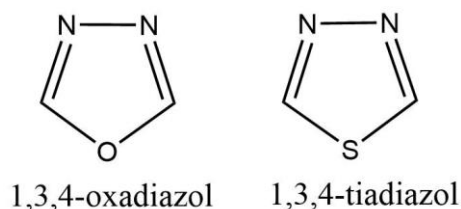
Segundo Chai *et al.* (2019), complexos de Pt(II) contendo fosfina e terpiridina funcionalizada foram eficazes contra as linhagens celulares de câncer de pulmão A549, carcinoma hepático humano HepG2, especialmente nas células A549_{cisR} resistentes à cisplatina, mostrando também que a citotoxicidade dos complexos, foram mais ativos e seletivos que a cisplatina.

O interesse em ligantes heterocíclicos que são amplamente utilizados em catálise homogênea, química de coordenação e síntese orgânica, vem devido às suas propriedades únicas e à capacidade de formar complexos metálicos estáveis, com diversas funções biológicas, que acontecem pela presença de alguns compostos possuírem em sua estrutura

um anel heterocíclico como, ATP, ADN, ARN, hormônios, neurotransmissores, entre outros (Bajaj; Roy; Singh, 2018).

Um grupo de compostos heterocíclicos que têm despertado o interesse devido a sua diversidade em atividades biológicas como, antifúngica, antibacteriana, analgésica, anti-inflamatória, antiparasitária, antidepressiva, antioxidante, anticonvulsivante, antitumoral e diurética, são os oxadiazóis e tiadiazóis, (Figura 7). Estes formam um anel de cinco membros que consiste em dois átomos de nitrogênio, os tiadiazóis se diferem dos oxadiazóis pela presença de um átomo de enxofre ao invés do oxigênio, estes podem ser encontrados em diferentes isômeros estruturais, por suas diferentes posições que os átomos de nitrogênio podem assumir no anel (Souza *et al.*, 2021).

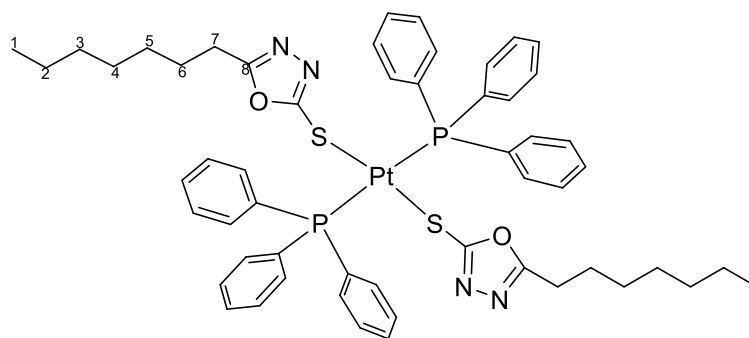
Figura 7. Representação estrutural de um dos isômeros do oxadiazol e tiadiazol



Fonte: Autor, 2024.

Considerando a efetividade dos complexos contendo os tipos de ligantes citados acima, avaliar o potencial biológico de um complexo de Pt(II) estando coordenado a trifenilfosfinas e derivados de 1,3,4-oxadiazol, (Figura 8), uma vez que os ligantes e outros complexos contendo-os apresentam uma grande variedade de propriedades biológicas, principalmente a atividade antitumoral, sendo assim, a pesquisa e avaliação biológica, deste complexo, torna-se interessante (Barbosa; De Aguiar, 2019; Souza *et al.*, 2021).

Figura 8. Fórmula estrutural do complexo $\text{trans-[Pt(5-heptil-odztH)}_2\text{(PPh}_3\text{)}_2\text{]}$



Fonte: Souza *et al.*, 2021.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Os procedimentos experimentais e medidas de pH foram realizados no Laboratório de Química do Estado Sólido – UFMT/CUA, a análise de viabilidade celular, fagocitose, atividade microbica, caracterização reológica e condutividade elétrica, foram realizados no Laboratório de Imunologia da Relação Materno-infantil e Cronoimunomodulação – UFMT/CUA, as medidas de Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) e Potencial Zeta, foram realizadas na Central de Análises Multiusuários (CAM) – UFG Campus Samambaia.

Caracterização reológica: Os parâmetros reológicos foram determinados em Modular Compact Rheometer - MCR 102 (Anton Paar® GmbH, Ostfildern, Germany). Utilizando 700 µL das microemulsões adicionados a superfície da placa de leitura, sendo removido o excesso de amostra à 25°C. As leituras foram realizadas com controle permanente do gap de medição com suporte TruGap™ em 0,099 mm, célula de medição Toolmaster™ CP 50 e controle preciso da temperatura com recurso T-Ready™, utilizando Software Rheoplus V3.61.

Condutividade elétrica: A condutividade elétrica foi avaliada inserindo o eletrodo diretamente na amostra, utilizando um condutivímetro (LIDA®, São Paulo, Brasil) calibrado com solução padrão de KCl 0,1 mol L⁻¹.

Medidas de pH: As medidas de pH foram obtidas no pHmetro de bancada (MS Tecnopon® Instrumentação) mPA-210, com eletrodo de vidro, calibrado com tampões padrões de pH 10, pH 7,0 e pH 4,0.

Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL do inglês Dynamic Light Scattering, ou DLS) e Potencial Zeta: As dimensões de partículas em suspensão foram medidas a 25°C utilizando um ZetaSizer Nano (Malvern Instruments), excitação de 633 nm. O solvente utilizado para esta caracterização foi água destilada, com a microemulsão apresentando um índice de refração de 1,44 e absorção de 0,190. A suspensão das amostras (em triplicata) foram realizadas a partir de uma diluição de 1:10 das MEs.

A carga superficial das MEs foi determinada por medidas de potencial Zeta com o mesmo equipamento das análises de EDL. O experimento foi realizado a 25 °C e em três repetições separadas.

Teste biológico: Para contagem de células utilizou-se o Microscópio de fluorescência Nikon Eclipse E 200, Nikon Corporation, Tokyo, Japan.

4.2 Composição do sistema microemulsionado

As microemulsões (MEs) foram preparadas utilizando água destilada, Triglicérido de ácido cáprico/caprílico – Polymol 812[®], EHL= 10,8 (Emfal[®], Betim, Brasil), Oletado de sorbitano – Span 80[®] (SP), EHL=4,3 (Emfal[®], Betim, Brasil), Polissorbato 80 – Tween 80[®] (TW) – EHL= 15,0 (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil) e 1-butanol (BT), (Vetec[®], Rio de Janeiro, Brasil), designando o sistema de SP/TW/BT (Ribeiro *et al.*, 2015).

O complexo utilizado foi o *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂] sintetizado pelo grupo de pesquisa LasFar, gerido pelo professor Wendell Guerra da Universidade Federal de Uberlândia (Souza *et al.*, 2021).

4.3 Associação ao complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]

4.3.1 Densidade aparente

A medição do volume aparente foi realizada em micropipeta com capacidade para 500 µL, seguido da pesagem em balança analítica. A densidade aparente do sistema e da formulação escolhida foi determinada segundo a Eq. 1:

$$Dap = \frac{m}{v}$$

Em que: *Dap* = densidade aparente; *m* = massa; e *v* = volume.

4.3.2 Preparo da formulação

Segundo a densidade aparente, o complexo de Pt (10 mg) foi utilizado na concentração de $6,13 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$ para a preparação da fase oleosa, em agitação juntamente com 1 mL de ácido cáprico/caprílico, 0,2 mLs de BT, SP e TW, em seguida permanecendo em temperatura ambiente sem agitação por 24 horas.

Para o preparo da microemulsão utilizamos 0,5029 g (16,05%) de fase oleosa, 0,8124 g (25,10%) de SP, 1,2941 g (40,00%) de TW, 0,45g (13,80%) de água destilada em duas etapas, por último adicionamos 0,1749 g (5,40%) de BT, homogeneizamos e deixamos a ME em repouso por 24 horas, obtendo assim uma ME com concentração do complexo de Pt de $8,71 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$.

4.4 Análise de viabilidade celular

4.4.1 Separação das células do sangue

As amostras de sangue foram coletadas de seis doadores saudáveis, de idades entre 20 a 50 anos.

Foram coletadas 5 mL de sangue periférico em tubos com EDTA de cada doador para obtenção dos leucócitos. Em seguida foi realizada a separação das células por gradiente de densidade com Ficoll-Paque (Pharmacia-Upsalla Sueder), centrifugadas a 1600 rpm durante 40 min. O anel de células mononucleares foi retirado separadamente e lavado duas vezes em solução salina tamponada de fosfato 7,4 (PBS). As células foram contadas em câmara de Neubauer e as concentrações ajustadas para 2×10^6 células mL^{-1} .

4.4.2 Avaliação da viabilidade celular

A análise de viabilidade celular das células mononucleares foi realizada pela técnica de microscopia de fluorescência com alaranjado de acridina (França *et al.*, 2011). Para a aferição de viabilidade foi utilizado 500 μL de células mononucleares e 5 μL da microemulsão associada e não associada com o composto de Pt, foram misturadas e incubadas por 30 min a 37 °C.

Após esse período as suspensões de células e microemulsões foram centrifugadas por 10 min à 1600 rpm. O *pellet* celular foi corado com 200 μL de alaranjado de acridina durante 1 min e posteriormente lavado e centrifugadas duas vezes com PBS. A seguir foram montadas lâminas para contagem em microscópio de fluorescência (Nikon Eclipse E 200, Nikon Corporation, Tokyo, Japan). Os estudos de viabilidade são representados em porcentagem a partir da contagem de 100 células, que são classificadas como vivas as coradas de verde e mortas as de coloração laranja.

4.5 Avaliação da fagocitose e atividade microbica dos fagócitos do sangue

A separação das células do sangue e obtenção dos fagócitos, se deu conforme o procedimento descrito no item 4.4.1.

4.6 Linhagem e cultura de *Escherichia Coli* Enteropatogênica (EPEC)

A cultura estoque da bactéria é mantida em ágar semissólido a temperatura ambiente em ausência de luz. A partir da cultura estoque de EPEC, 18 horas antes do ensaio, repiques foram feitos em tubos contendo 8 mL de BHI (Brain Heart Infusion) e estes foram incubados em estufa a 35 °C por 18 horas. Após o crescimento, as bactérias foram homogeneizadas e centrifugadas por 15 min à 3000 rpm, em seguida descartamos o sobrenadante e diluímos em PBS, posteriormente foi ajustado a concentração de bactérias para $1,00 \times 10^7$ bactérias mL⁻¹ medida em espectrofotômetro (620 nm, na faixa entre 0,1 – 0,2) (França *et al.*, 2011). Após ajuste preparamos 20% da solução de bactérias para 80% de PBS.

4.7 Ensaio de fagocitose e atividade microbica

A fagocitose e a atividade microbica foram avaliadas pelo método de alaranjado de acridina (Acros organics, New Jersey, USA) (França *et al.*, 2011). Os volumes de 500,0 µL da suspensão de bactérias, 500,0 µL suspensões de células (fagócitos mononucleares) e 5,0 µL das microemulsões associada e não associada com o complexo de Pt(II), foram misturados em tubos *falcon* e submetida à incubação por 30 minutos, sob agitação a 37 °C.

Após o período de incubação a fagocitose foi interrompida pela adição de PBS gelado e a suspensão foi centrifugada por 10 min a 1600 rpm. O *pellet* foi corado com 200,0 µL de alaranjado de acridina durante 1 min em seguida foi ressuspensão em PBS, centrifugado e lavado mais uma vez. A seguir foram preparadas as lâminas e a contagem das células realizada com o auxílio de um microscópio de fluorescência (Nikon-Eclipse E200).

Para a determinação do índice de fagocitose e atividade microbicida as suspensões foram coradas com alaranjado de acridina para contagem de 100 células que fagocitaram bactérias. As bactérias no interior das células coradas em laranja foram contadas como mortas, enquanto bactérias englobadas pelos fagócitos coradas em verde foram classificadas como vivas. Sendo a fagocitose o resultado obtido das células MN que fagocitou mais as que fagocitou e matou e o índice microbicida as células que fagocitou e matou.

4.8 Análise estatística

Para a análise estatística dos ensaios foi utilizado Análise de Variância (ANOVA), seguido por comparações múltiplas através do teste de Tukey, realizado no software estatístico BioEstat 5.0, sendo consideradas significantes quando os valores de p foram menores que 0,05 ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Preparo da microemulsão

As microemulsões associada e não associada com o complexo de Platina(II) foram preparadas à temperatura ambiente apresentando aparência translúcida e homogênea.

5.2 Determinação da razão da mistura de tensoativos

A revisão do Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (EHL) do sistema microemulsionado pode proporcionar referências sobre as medidas adequadas de tensoativos, com o objetivo de formar grupos opticamente translúcidos que apresentam maior estabilidade. Os tensoativos escolhidos são aqueles que apresentam valores de EHL iguais ou próximos ao da fase oleosa.

Com o intuito de atingir o EHL requerido pela fase oleosa, a determinação das frações da mistura de tensoativos, foram considerados os EHLs dos tensoativos SP e TW, de acordo com Ribeiro *et al.*, (2015), segundo as Eqs. 2 e 3:

$$EHL_r = \frac{EHL_{T_1} \times F_{T_1} + EHL_{T_2} \times F_{T_2}}{10 - (F_C)} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$F_{T_1} + F_{T_2} + F_C = 10 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: EHL_r representa EHL requerido pela fase oleosa; EHL_{T_1} , o EHL do tensoativo 1; EHL_{T_2} , o EHL do tensoativo 2; F_{T_1} , a fração do tensoativo 1; F_{T_2} , a fração do tensoativo 2 e F_C , a fração do co-tensioativo ($F_C = 1$) (Allen Jr; Popovich; Ansel, 2013).

Para agir como co-tensioativo o BT foi empregado na razão de 10% da mistura de tensoativos, por não apresentar valor de EHL, e a porcentagem dos tensoativos SP e TW foram calculadas de forma a atingir o EHL requerido pelo Triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico como mostrado no Quadro 1, a seguir. A fração da mistura de tensoativos SP/TW/BT, determinadas por Ribeiro *et al.*, (2015), resultou no EHL requerido pela fase oleosa, na fração de 3,5:5,5:1,0.

Tabela 1. Valores calculados de porcentagem e EHL resultante da mistura de tensoativos

Mistura de Tensoativos	SP (%)	TW (%)	BT (%)	EHL _r
SP/TW/BT	35	55	10	10,8

Onde: EHL_r= EHL Resultante da mistura de tensoativos

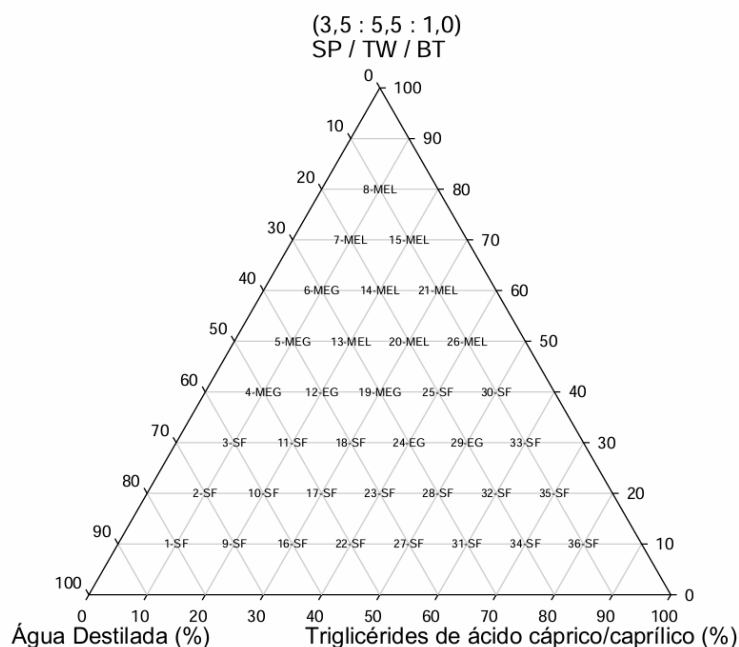
Fonte: Ribeiro *et al.*, 2015.

5.3 Sistemas microemulsionados

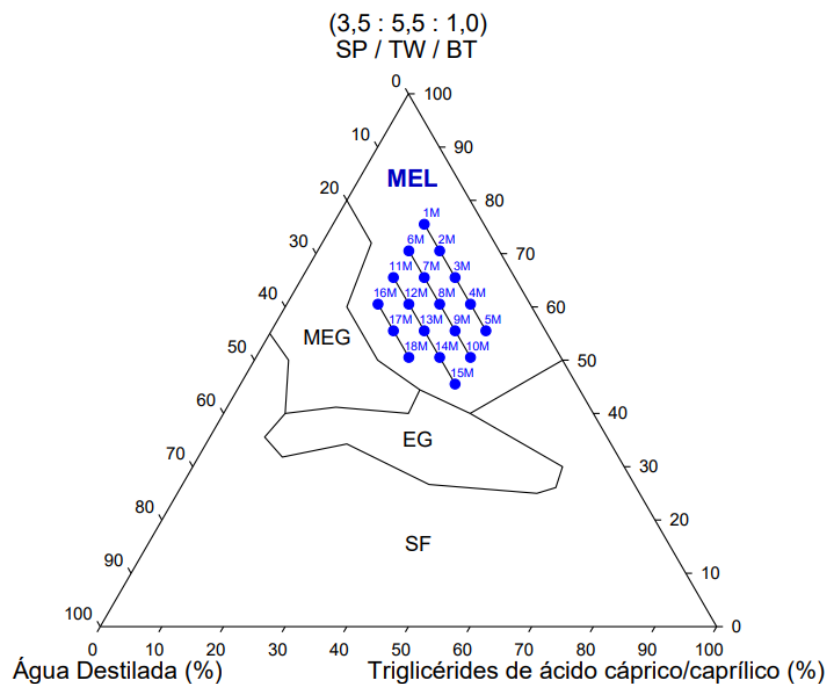
De acordo com as proporções pré-estabelecidas pelo diagrama de fases pseudoternário para classificação dos pontos de domínios das regiões de água destilada, triglicerídeo de ácido cáprico/caprílico associados a mistura de tensoativos SP/TW/BT (3,5:5,5:1,0), resultou em 36 formulações com níveis de estabilidades diferentes, representados na Figura 9, abaixo.

Figura 9. Diagramas pseudoternário de classificação dos pontos (a) e de domínios de região com as microemulsões selecionadas (b) do sistema SP/TW/BT. Microemulsão líquida (MEL), Microemulsão gel (MEG), Emulsão gel (EG), Separação de Fases (SF).

(a)



(b) Continuação da figura 9



Fonte: Ribeiro *et al.*, 2015.

Na Figura 9a o diagrama de fases apresenta as 36 formulações obtidas e seus respectivos aspectos visuais (MEL, MEG, EG e SF), podendo assim observar que acima de proporções de 45% de tensoativos temos os sistemas homogêneos e translúcidos. A figura 9b apresenta as delimitações das regiões de domínios, os pontos selecionados na região MEL são para o estudo do sistema SP/TW/BT. Observando o comportamento das fases, constatamos que o sistema de tensoativos promoveu amplas faixas de sistemas estáveis (MEG e MEL). No entanto, os materiais de domínios em regiões abaixo de 40 % de tensoativos demonstraram instabilidade e separação de fases (EG e SF).

As caracterizações reológicas, as classificações físico-químicas de estabilidade forneceram informações que mostram o grau de estabilidade relativa da MEL em variadas condições (Ribeiro *et al.*, 2015). Submetidas ao teste de centrifugação, que simula estresse gravitacional, aumenta a colisão entre as partículas, permitindo prever de forma rápida e preliminar a estabilidade da formulação, as MELs foram centrifugadas a 3600 rpm durante 30 minutos, após este período os pontos com heterogeneidade (MEG) visual eram excluídos.

Segundo Ribeiro *et al.*, (2015), os pontos mantiveram a translucidez e homogeneidade após a centrifugação, os valores de pH obtidos antes e ao final do teste permaneceram na faixa de 6,5 e os pontos foram classificados como O/A por

apresentarem valores de condutividade elétrica superiores ao da água destilada ($> 1,3 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$).

5.4 Determinação do pH e condutividade

O Quadro 2 apresenta as medidas de pH e condutividade à 25°C, das microemulsões, associada com Pt(II) e não associada. Investigou-se as determinações das medidas com o intuito de avaliarmos a estabilidade das microemulsões quando associadas com o complexo estudado.

Tabela 2. Determinações do pH e condutividade das microemulsões

	pH	Condutividade ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)
ME	6,42 $\pm$ 0,05	7,11 $\pm$ 0,24
ME/complexo de Pt(II)	6,47 $\pm$ 0,4	8,02 $\pm$ 0,33

Fonte: Autor, 2024.

Atingiu-se então as medidas dos pHs das MEs, como descrito no quadro acima, em que permaneceram na faixa de aproximadamente 6,5 e a condutividade se manteve entre os 18 pontos estudados por Ribeiro *et al.*, (2015) no preparo das formulações de microemulsões do tipo MEL (3,5:5,5:1,0) em seus testes de estabilidade, sendo assim, o complexo associado não altera a estabilidade ou aparência da formulação estabelecida da ME.

5.5 Caracterização reológica

A caracterização reológica é uma técnica utilizada para estudar o comportamento do fluxo e deformação de materiais, como líquidos, géis, polímeros, pastas e suspensões. Essas análises fornecem informações sobre as propriedades viscoelásticas e reológicas dos materiais, realizando o controle de qualidade (Corrêa *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2021). As Figuras 10 e 11 mostram o perfil reológico das MEs, associada com o complexo de Pt(II) e não associada, a análise estatística, curva de fluxo e viscosidade estão resumidas no Quadro 3.

A área de histerese quando apresenta valores entre -1 Pa s^{-1} e $+1 \text{ Pa s}^{-1}$ mostram que os materiais tem comportamento Newtoniano e em relação a estabilidade, valores entre $-0,2 \text{ Pa s}^{-1}$ e $+0,2 \text{ Pa s}^{-1}$ indicam um padrão Newtoniano estável (Cotrim; Honório-França; França, 2016).

O comportamento das curvas de fluxo das microemulsões partem da origem não variando a viscosidade com a tensão de cisalhamento, indicando assim um perfil de fluxo Newtoniano, apresentando área de histerese de $-0,06 \text{ Pa s}^{-1}$ para a ME associada com o complexo de Pt(II) e $0,66 \text{ Pa s}^{-1}$ para a ME não associada, como mostrado na Figura 10.

Figura 10. Curva de fluxo das microemulsões (25°C)

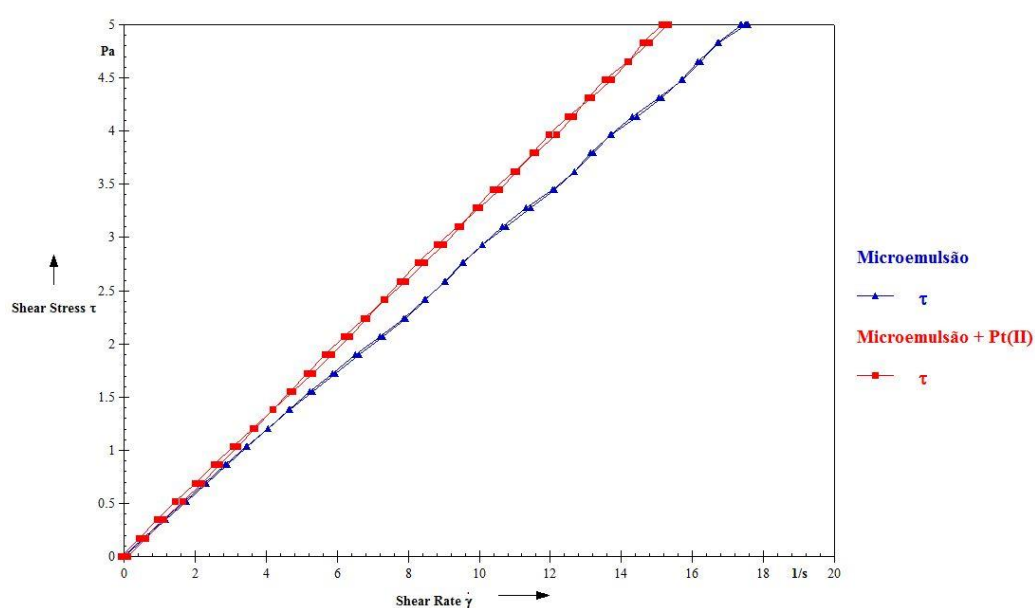
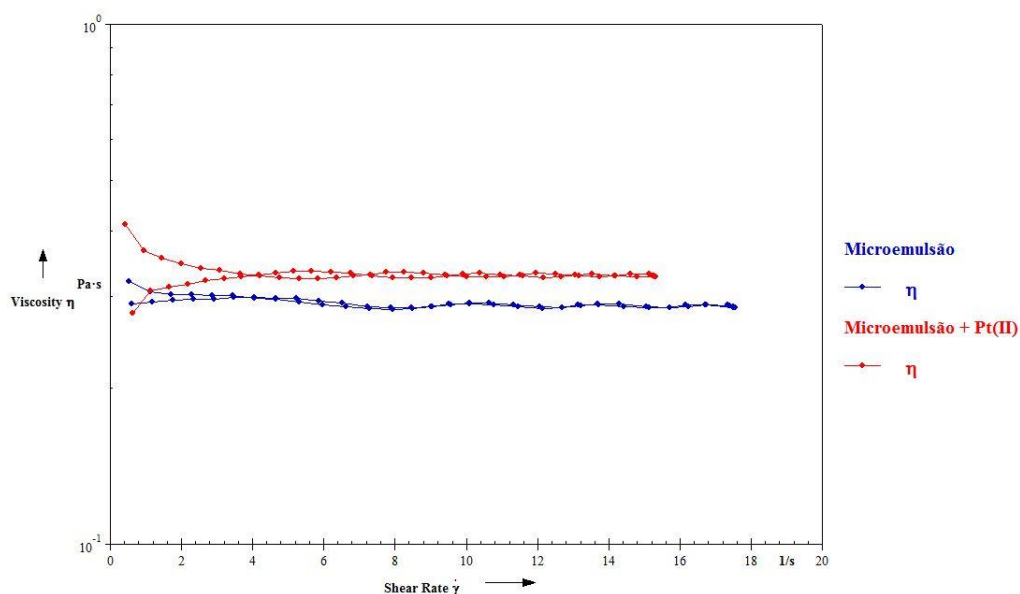


Figura 11. Curva de viscosidade das microemulsões (25°C)



A viscosidade não apresenta variação significativa com o aumento da taxa de cisalhamento, contendo curvas lineares com valores diferentes, havendo um pequeno aumento quando associada, o que indica que a associação do complexo altera os parâmetros de viscosidade da microemulsão, como mostrado na figura 11.

No Quadro 3 podemos observar a análise estatística da caracterização reológica das MEs.

Tabela 3. Análise estatística

	Curva de fluxo (s ⁻¹)	Valor-p	Curva de viscosidade (Pa s ⁻¹)	Valor-p
ME	15,3455	0,0006	0,2866	0,0001
ME/complexo de Pt(II)	14,0364		0,3287	

Fonte: Autor, 2024.

A associação do complexo de Pt(II) altera os parâmetros reológicos da microemulsão sem alterar o comportamento inicialmente observado sendo Newtoniano e apresenta maior estabilidade quando comparado com a microemulsão não associada, segundo estudos que indicam que valor da área de histerese baixos como o observado (−0,06 Pa s⁻¹) apresentam maior estabilidade como citado acima.

5.6 Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) e potencial Zeta (ζ)

O potencial Zeta (ζ) fornece informações importantes sobre a estabilidade coloidal do sistema, estando relacionado a atividade eletrostática das partículas dispersas em suspensão, medindo a magnitude da atração ou repulsão das cargas entre as partículas indicando seu estado eletrônico (Singh *et al.*, 2018).

Em concordância com Raiser *et al.*, (2024), valores de ζ superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV, estão relacionados a uma alta estabilidade das partículas, devido a maior repulsão eletrostática não apresentando tendência de floculação ou agregação das mesmas, sendo valores mais próximos de 0 relacionados a maior estabilidade.

Nesse trabalho obtemos valores de ζ em diluição 1:100 que apresentaram cargas negativas, sendo eles para a ME -14,8 mV e para a ME/complexo de Pt(II) de -19,2 mV. A variação observada é resultado da associação do complexo estudado à microemulsão.

O espalhamento dinâmico de luz (EDL) é especialmente útil na caracterização de partículas nanométricas. Os dados do ζ e EDL mostram que o complexo de Pt(II) está associado a microemulsão como representado na Quadro 4 abaixo. Os parâmetros de tamanho médio obtidos em diluição 1:100 foram de 165,4 nm para a ME e 168,0 nm para a ME/complexo de Pt(II).

Ao analisar os valores alcançados podemos constatar que as microemulsões foram formadas, já que os valores obtidos estão na faixa de 10 a 200 nm. Os valores observados para o índice de polidispersão estão na faixa de 0,01 a 0,7, o que é característica de microemulsões monodispersas (Raiser *et al.*, 2024; Kiromah; Sugihartini; Nurani, 2023).

Os resultados alcançados confirmam que as microemulsões preparadas são termodinamicamente estáveis.

Tabela 4. Valores de potencial zeta, EDL e índice de polidispersão

	Potencial Zeta (mV)	EDL (nm)	Índice de polidispersão
ME	-14.8±5.72	165.4	0.352
ME/complexo de Pt(II)	-19.2±4.49	168.0	0.391

Fonte: Autor, 2024.

5.7 Viabilidade celular das microemulsões associadas e não associadas com o complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]

A viabilidade celular refere-se à capacidade das células permanecerem vivas e funcionais após exposição às microemulsões. Para as análises de viabilidade celular foram utilizadas células mononucleares do sangue periférico (PBMC), a fim de verificar a toxicidade das microemulsões associada com o complexo de Pt(II) e não associada em células normais (Lucas *et al.*, 2020).

As avaliações estatísticas de Análise de Variância (ANOVA), com $F_{\text{calculado}}$ sendo menor que o $F_{\text{crítico}}$, com valor- $p = 0,13$, não havendo a evidência de diferença significativa entre os grupos, que possuem pouca variabilidade, a estatística F pode não ser suficientemente sensível para determinar diferenças reais, assim como o valor- p (Ferreira; Patino, 2015).

Com viabilidade acima de 90%, após a incubação observou-se que as células não apresentaram diferenças significativas, não causaram danos ao DNA e RNA ou toxicidade frente as microemulsões comparadas ao grupo controle ($98,80 \pm 0,45$), o grupo da microemulsão não associada (ME) e microemulsão associada com o complexo de platina (ME/complexo de Pt(II)) apresentaram valores percentuais de $96,80 \pm 2,17$, $97,40 \pm 1,34$, respectivamente, conforme mostrado no Gráfico 1.

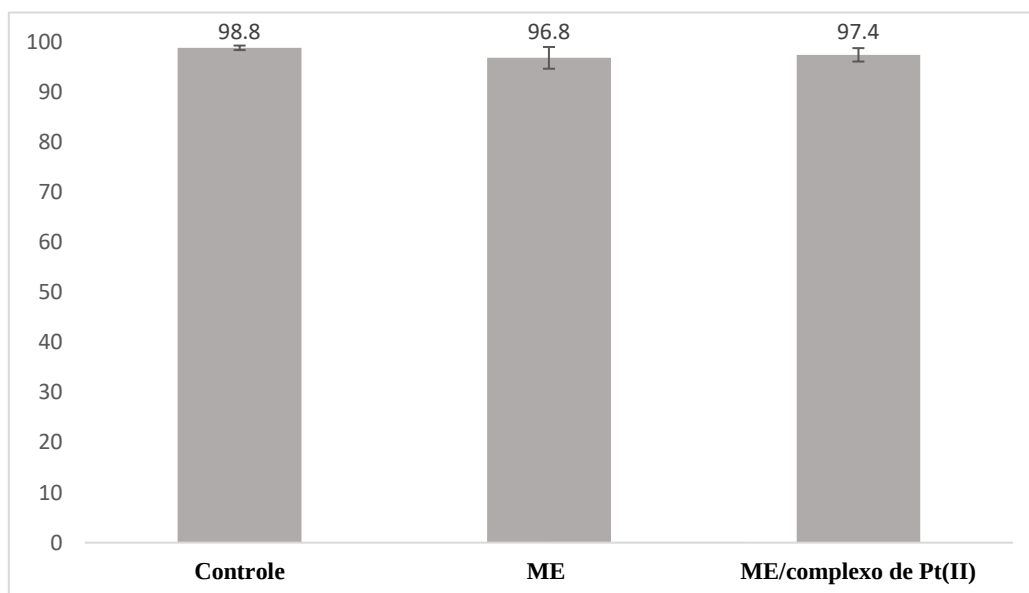


Gráfico 1. Viabilidade celular

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados apresentados acima representam o índice de viabilidade do grupo controle somente células PBMC, PBMC com ME e PBMC com ME com o complexo Pt(II), representando a média e o desvio padrão de cinco repetições com células de diferentes amostras de sangue.

5.8 Fagocitose e atividade microbicida das microemulsões associada e não associada com o complexo *trans*-[Pt(5-heptil-odztH)₂(PPh₃)₂]

A fagocitose e atividade microbicida desempenham um papel fundamental na defesa do organismo contra infecções bacterianas, após a ingestão das bactérias, as células fagocíticas ativam diferentes mecanismos para neutralizar e eliminar os agentes infecciosos (Galvão Silva *et al.*, 2020).

No Gráfico 2 observa-se a fagocitose em presença da microemulsão associada com o complexo de Pt (ME/complexo de Pt(II)) com média de 42,00%±3,08, microemulsão não associada (ME), 31,67%±8,21 e grupo Controle, 30,00%±6,42. Quando incubadas (30 min) com a ME associada foi possível verificar um aumento do índice de fagocitose quando comparada aos outros grupos experimentais.

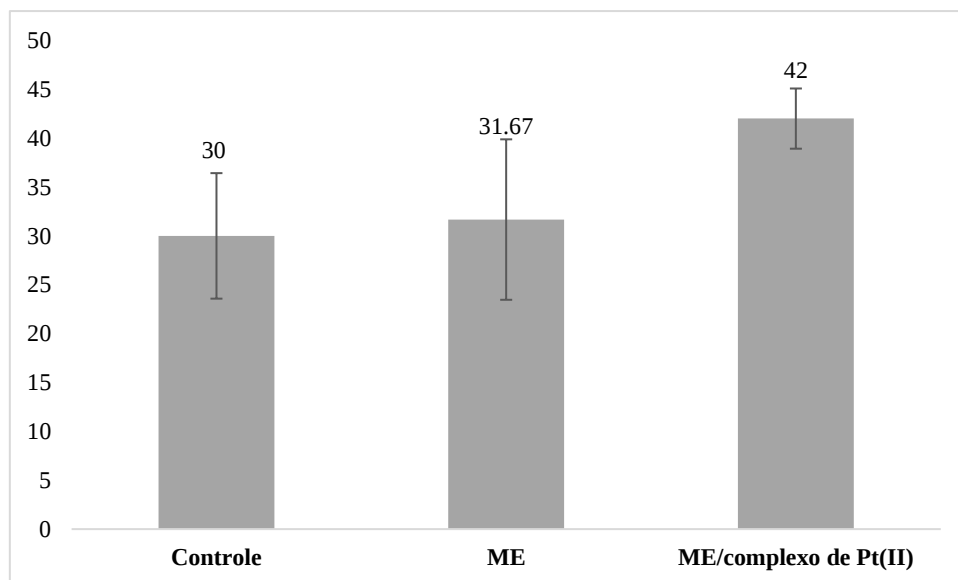


Gráfico 2. Índice de Fagocitose

Fonte: Autor, 2024.

O grupo da ME não apresenta diferença estatística significativa em relação ao grupo controle, já quando comparamos o grupo da ME e controle em relação ao grupo ME/complexo de Pt(II), os testes estatísticos de análise de Variância (ANOVA) mostraram a existência de diferença significativa, com $F_{\text{calculado}}$ sendo maior que o $F_{\text{crítico}}$, mostrando que a microemulsão associada tem potencial para estimular a fagocitose.

A atividade microbicida apresentada no Gráfico 3, em que temos o grupo Controle com média (5,25%±1,70), ME com média (8,75%±5,38) e ME com complexo de Pt(II) (8,10%±3,61). Em relação a atividade microbicida, os tratamentos estatísticos não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao grupo controle.

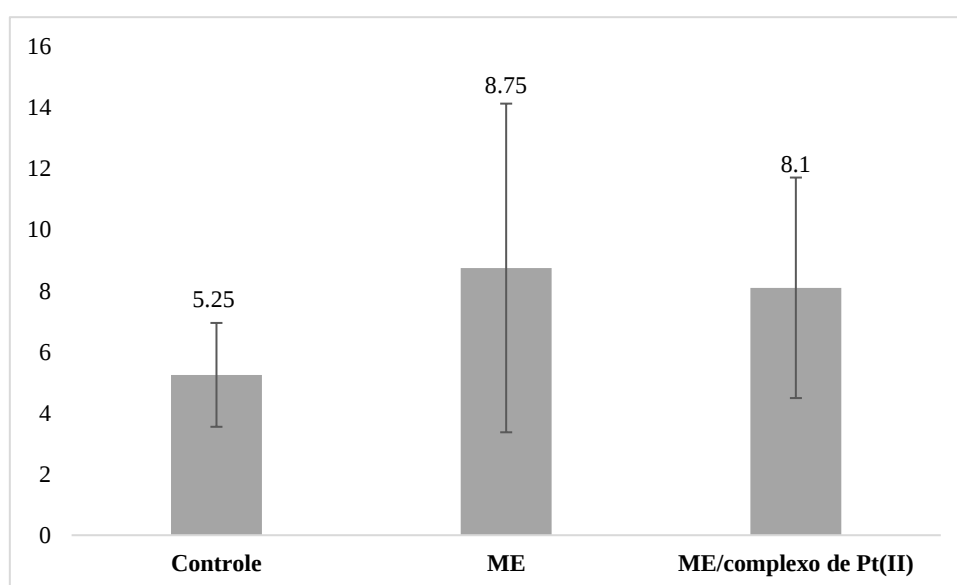


Gráfico 3. Atividade Microbicida

Fonte: Autor, 2024.

Com um tempo de incubação de 30 min, não foi possível notar atividade microbicida com os grupos experimentais, o tempo de incubação não foi o suficiente para evidenciar a atividade.

6. CONCLUSÕES

Foi possível constatar que o sistema SP/TW/BT na fração de 3,5:5,5:1,0 apresenta o EHL requerido pela fase oleosa o que resulta em diagramas com uma ampla faixa de microemulsões, apresentando pH compatível biologicamente, na faixa de 6,4 tanto para a ME quanto para a ME/complexo de Pt(II), com condutividade elétrica de 7,11 e 8,02 $\mu\text{S cm}^{-1}$, não alterando a estabilidade ou aparência da formulação desenvolvida.

Com as caracterizações reológicas observamos que nossas microemulsões apresentam um perfil de fluxo Newtoniano, que mesmo com a associação do complexo de Pt(II) alterando os parâmetros reológicos não altera o perfil de fluxo observado, com maior estabilidade, possuindo um valor da área de histerese baixo de $-0,06 \text{ Pa s}^{-1}$.

Os resultados alcançados com as caracterizações de potencial zeta e Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL), confirmam que as microemulsões são termodinamicamente estáveis, apresentando tamanhos de partículas e valores de potencial zeta para a ME e ME/complexo de Pt(II) de 165,4 nm e $-14.8 \pm 5.72 \text{ mV}$ e 168,0 nm e $-19.2 \pm 4.49 \text{ mV}$, respectivamente.

As avaliações biológicas, sendo elas, viabilidade celular, fagocitose e atividade microbida nos mostram valores promissores para testes futuros, com viabilidade superior a 95%, com índices de fagocitose na faixa de 30 a 42%, sendo valores melhorados com a associação do complexo de estudo, em incubações de 30 min, já a atividade microbida se mostrou baixa, devido ao pouco tempo de incubação (30 min), não sendo suficiente para evidenciar a atividade.

Com isso, os trabalhos utilizando microemulsões são de características favoráveis, levando em consideração que inicialmente tínhamos um complexo insolúvel e que associado à microemulsão foi possível realizar uma série de testes para possíveis aplicações do mesmo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAR, I.; BHASKARWAR, A. N. Microemulsion fuels for compression ignition engines: A review on engine performance and emission characteristics. **Fuel**, London, v. 257, p. 115944, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115944>.
- ALLEN Jr, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Sistemas dispersos. In: Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. cap. p. 14. 381-433.
- ALVES, H. O.; OLIVEIRA, G. V. B.; VIANA, F. F.; RODRIGUES, M. A. F.; DANTAS NETO, A.; DANTAS, T. Obtaining and characterizing microemulsion systems containing Alkali-Surfactant-Polymer (ASP) for advanced oil recovery application. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 5, p. e33010514807, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14807>
- ANJOMSHOA, M.; TORKZADEH-MAHANI, M.; SAHIHI, M.; RIZZOLI, C.; ANSARI, M.; JANCZAK, J.; ESFAHANI, S. S.; ATAIEI, F.; DEHKHODAEI, M.; AMIRHEIDARI, B. Tris-chelated complexes of nickel(II) with bipyridine derivatives: DNA binding and cleavage, BSA binding, molecular docking, and cytotoxicity. **Journal of biomolecular structure and dynamics**, v. 37, n. 15, 3887–3904, 2019. DOI: 10.1080/07391102.2018.1534700. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1534700>.
- BAJAJ, S.; ROY, P. P.; SINGH, J. Synthesis, thymidine phosphorylase inhibitory and computational study of novel 1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives as potential anticancer agents. **Computational Biology and Chemistry**. v. 76, p. 151–160, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.05.013>.
- BARBOSA, G. de A. D.; DE AGUIAR, A. P. Synthesis of 1,3,4-thiadiazole derivatives and microbiological activities: A review. **Revista Virtual de Química**. v. 11, n. 3, p. 806–848, 2019. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190058>.
- BARTSCHERER, K. A.; MINIER, M.; RENON, H. Microemulsions in Compressible Fluids -- A Review. **Fluids Phase Equilibria**, v. 107, p. 93–150, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-3812\(95\)02726-U](https://doi.org/10.1016/0378-3812(95)02726-U).
- BOONME, P.; KRAUEL, K.; GRAF, A.; RADES, T.; JUNYAPRASERT, V. B. Characterization of microemulsion structures in the pseudoternary phase diagram of isopropyl palmitate/water/Brij 97:1-butanol. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, p. 1–6, 2006.
- CENTRO NACIONAL DE INFORMAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA. Resumo do composto PubChem para CID 263, 1-Butanol, 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Butanol>. Acesso em 10 de out. 2023.
- CHAI, K.; KUANG, W.; LAN, Z.; ZHANG, L.; JIANG, Y.; HAN, T.; NIU, J.; WANG, J.; DUAN, X. Synthesis, characterization, DNA binding, topoisomerase I inhibition and

antiproliferation activities of three new functionalized terpyridine platinum(II) complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 192, n. 2018, p. 17–24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.12.003>.

CHAUD, N. G.; FRANÇA, E. L.; RIBEIRO, E.B.; PESSOA, R. S.; LANES, P.K.; HONORIO-FRANÇA, A.C. Desenvolvimento e caracterização de uma microemulsão à base de neomateriais como veículo de Lippia sidoides. **SODEBRAS**. 2014; 9:31–38. Disponível em: <http://sodebras.com.br/edicoes/N98.pdf>. Acesso em: 05 de out. 2023.

CORRÊA, A. M.; CAMARGO JÚNIOR, F. B.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Rev. Brás. Cienc. Farm**, v. 41, p. 73–78, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100008>.

COTRIM, A. C. M.; HONÓRIO-FRANÇA, A. C.; FRANÇA, E. L. rheology analysis can be added in termal stability test for design microemulsion materials. **Biointerface Res. Appl. Chem**. V. 6, p. 1128-1136. 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/299425199>

CRUZ, G. P. DA; ANDRADE, W. DOS A.; SILVA, L. A. DA; CUNHA, A. DE L.; SILVA, G. F. DA; SANTOS, J. P. L. DOS. Avaliação do uso de microemulsões à base de óleo de Moringa Oleifera Lam saponificado como fase contínua de fluidos de perfuração: Análise das propriedades reológicas. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 4, p. e30910414188, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14188>.

CUNHA-JÚNIOR, A. DA S.; FIALHO, S. L.; CARNEIRO, L. B.; ORÉFICE, F. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, p. 385–391, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-27492003000300025>.

DAMASCENO, B. P. G. L. SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, p. 9-18, 2011.

EGITO, E. S. T.; AMARAL-MACHADO, L.; ALENCAR, E. N.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsion systems: from the design and architecture to the building of a new delivery system for multiple-route drug delivery. **Drug Delivery and Translational Research**, 11, 2108–2133, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00872-8>.

EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV) microemulsion systems. In: P. Kumar; K. L. Mittal (Eds.); **Handbook of Microemulsion Science and Technology**. New York: Marcel Dekker, 1999. p.185–246. DOI: [10.1201/9780203752739-7](https://doi.org/10.1201/9780203752739-7).

FANUN, M. Microemulsion as delivery systems. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 17, p. 306–313, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2012.06.001>.

FERREIRA, J.C.; PATINO C. M. What does the p value really mean? **J Bras Pneumol**, v. 41(5), p. 485, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132015000000215>.

FRANÇA, E. L.; MORCELI, G.; FAGUNDES, D. L. G.; RUDGE, M. V. C.; CALDERON, I. M. P.; HONORIO-FRANÇA, A. C. Secretory IgA-Fc α receptor interaction modulating phagocytosis and microbicidal activity by phagocytes in human colostrum of diabetics. **APMIS. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 119, p. 710-719, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2011.02789.x>.

FUERTES M. A.; ALONSO C.; PÉREZ J. M. Biochemical modulation of Cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. **Chem Rev.** v. 103, p. 645-62, 2003. DOI: [10.1021/cr020010d](https://doi.org/10.1021/cr020010d).

GALVÃO SILVA, K. P.; HONORIO FRANÇA, D. C.; HONORIO, M. DA S.; BORGES, F. C.; DE SOUSA, C. C.; TORRES, A. H. F.; HONORIO FRANÇA, A. C.; FRANÇA, E. L. Immunomodulation of Lippia sidoides extract in the functional activity of phagocytes in human peripheral blood. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78615–78626, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n10-335>.

GIBSON, D. Multi-action Pt(IV) anticancer agents; do we understand how they work? **Journal of Inorganic Biochemistry.** v. 191, p. 77–84, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.11.008>.

GURGEL, Y. K. P. A.; AUM, P. T. P.; SILVA, D. N. N. D.; BRAGA, N. D. P.; SOUZA, C. D. R. D.; BARROS NETO, E. L. D.; DANTAS, T.N.D.C. Effective removal of paraffin deposits using oil-in-water microemulsion systems. **FUEL**, v. 358, p. 130112, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.130112>.

HARWANSR, R. K.; DESHMUKH, R.; RAHMAN, M. A. Nanoemulsion: Promising nanocarrier system for delivery of herbal bioactives. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 51, p. 224–233, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.006>.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydromicelle. **Nature**, 152, 102–103, 1943. DOI: <https://doi.org/10.1038/152102a0>.

HOUSAINDOKHT, M. R.; POUR, A. N. Study the effect of HLB of surfactant on particle size distribution of hematite nanoparticles prepared via the reverse microemulsion. **Solid State Sci**, v. 14, p. 622-625, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2012.01.016>.

KARUNARATNE, D. N.; PAMUNUWA, G.; RANATUNGA, U. Introductory Chapter: Microemulsions. In: PAMUNUWA, G. (Org.). **Properties and Uses of Microemulsions**. Rijeka: IntechOpen, 2017. p. Ch. 1.

KIROMAH, N. Z. W.; SUGIHARTINI, N.; NURANI, L. H. Development and Characterization of Clove Oil Microemulsion. **Pharmacia**, v. 70, p. 233–241, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e98096>

KREILGAARD, M. Influence of microemulsion on cutaneous drugs delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 77–98, 2002. DOI: [10.1016/s0169-409x\(02\)00116-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00116-3).

LAWRENCE, M. J. Microemulsions as drug delivery vehicles. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 1, p. 826–832, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(96\)80087-2](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(96)80087-2).

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems ☆. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 175–193, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.018>.

LEITE, J. M. S.; ARAÚJO, C. B. B.; ALVES, L. P.; PEREIRA, M. R. B.; GUEDES, G. G.; MOREIRA, L. M. C. C.; ROCHA, B. P.; BORGES, J. C.; DE AZEVEDO, E. P.; FERNANDES, F. H. A.; OSHIRO JUNIOR, J. A.; DE LIMA D.; GOULART, B. P. Trends and application of analytical methods for the identification and quantification of dexamethasone in drug delivery system. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 18, p. 1, 2022. DOI: [10.2174/1573412918666221004122046](https://doi.org/10.2174/1573412918666221004122046).

LIN, T. J. Surfactant Location and Required HLB. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 21, p. 365–375, 1970.

LUCAS, C. R. S.; AUM, Y. K. P. G.; ARAÚJO, E. A.; CASTRO DANTAS, T. N.; ARAÚJO, E. A.; SOUSA, T. N.; AUM, P. T. P. Investigating the Fluid-Solid Interaction of Acid Nonionic Nanoemulsion with Carbonate Porous Media. **MOLECULES**, v. 25, p. 1475, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25061475>.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M.V. **Microemulsões I**: Fundamentos teóricos da formação do sistema microemulsionado. **Infarma**, v. 13, p. 73-79, 2001.

OLIVEIRA, A. G. DE; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química nova**, v. 27, p. 131–138, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100023>.

PODLOGAR, F.; GASPERLIN, M.; TOMSIC, M.; JAMNIK, A.; ROGAC, M. B. Structural characterisation of water-Tween 40/Imwitor 308-isopropyl myristate microemulsions using different experimental methods. **International journal of pharmaceutics**, v. 276, p. 115–28, 2004. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2004.02.018](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.02.018).

RAMOS, L.; TORRES, A.; DALCIN, L.; SILVA, K.; FREITAS, L.; FUJIMORI, M.; FAGUNDES, D.; FRANÇA, E. L.; FRANÇA, A. A liberação de ânion superóxido por fagócitos sanguíneos humanos pode aumentar a atividade microbicida induzida por um novo sistema microemulsionado contendo óleo de algodão. **Avanços em Química Biológica**, v. 12, p. 207-227, 2022. DOI: [10.4236/abc.2022.126018](https://doi.org/10.4236/abc.2022.126018).

RAISER, A. L.; HOSHINO, T. T.; TORRES, M. P. R.; DEBIASI, B. W.; COTRIM, A. C. M.; RIBEIRO, E. B.; VALLADÃO, D. M. S. Potential Application of Munguba Butter in the Formulation of Nanoemulsified Systems. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.281236>

RIBEIRO, E. B.; LANES, P. K. D.; CHAUD, N. G. A.; PESSOA, R. S.; HONORIO-FRANÇA, A. C.; FRANCA, EDUARDO LUZIA. Microemulsions with Levamisole Delivery Systems as Novel Immunomodulating Agents with Potential for Amebiasis Therapies. **Science of Advanced Materials** (Print) **JCR**, v. 7, p. 15-27, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1166/sam.2015.2003>

RIJT, S. V.; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. **Drug Discovery Today**, 14(23-24), 1089–1097, 2009. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.09.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.09.003>.

ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**. v. 205, n. 4972, p. 698–699, 1965. DOI: <https://doi.org/10.1038/205698a0>.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer research**. v. 30, n. 6, p. 1799–1802, 1970. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5457941>.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Manual de Excipientes Farmacêuticos**. 6ª Edição, Imprensa Farmacêutica, 506-509, 2009.

SCHULMAN, J. H.; STOECKENIUS, W.; PRINCE, L. M. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 63, p. 1677–1680, 1959. DOI: <https://doi.org/10.1021/j150580a027>.

SILVA, J. D. F.; SILVA, YARA P.; PIATNICKI, C. M. S.; BÖCKEL, W. J.; MENDONÇA, CARLA R. B. MICROEMULSIONS: components, characteristics, potentialities in food chemistry and other applications. **Química Nova**, [S.L.], v. 6, n. 5, p. 38-47, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150135>.

SINGH, J.; DUTTA, T.; KIM, K. H.; RAWAT, M.; SAMDDAR, P.; KUMAR, P. ‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 84, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>

SOUZA, W. A.; ALMEIDA, A. M.; PIVATTO, M.; ALMEIDA, M. V.; GUEDES, G. P.; RESENDE, J. A. L. C.; GUERRA, W. Crystal structure and spectroscopy properties of new PtII complexes containing 5-alkyl-1,3,4-oxadiazol-2-thione derivatives. **Journal of Molecular Structure**. v. 1226, p. 129250, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129250>.

TALEGAONKAR, S.; AZEEM, A.; AHMAD, F. J.; KHAR, R. K.; PATHAN, S. A.; KHAN, Z. I. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery. **Recent**

Patents Drug Delivery Formulation, v. 2, p. 238–257, 2008. DOI: [10.2174/187221108786241679](https://doi.org/10.2174/187221108786241679).

WANDERLEY NETO, A.; SILVA V. L.; RODRIGUES, D. V.; RIBEIRO, L. S.; SILVA, D. N. N.; FREITAS, J. C. O. A novel oil-in-water microemulsion as a cementation flushing fluid for removing non-aqueous filter cake. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 184, p. 106536. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2019.106536>.

WENNERSTRÖM, H.; OLSSON, U. Microemulsions as model systems. **Comptes Rendus Chimie**, v. 12, p. 4–17, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2008.08.011>.

WINSOR, P. A. Hydrotropy, solubilisation and related emulsification processes. **Transactions of Faraday Society**, v. 44, p. 376–398, 1948. DOI: [10.1039/TF9484400376](https://doi.org/10.1039/TF9484400376).

YANG, Y.; McCLEMENTS, D. J.; Vitamin E bioaccessibility: influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. **Food Chem.** 141(1):473-81, 2013. DOI: [10.1016/j.foodchem.2013.03.033](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.033).

ZHANG, L.; QUE, G. Influence of the HLB parameter of surfactants on the dispersion properties of brine in residue. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 320, p. 111–114, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.01.035>.

ANEXO 1 – Porcentagem de células vivas e mortas nos testes de viabilidade celular

Tubo	Grupo Controle	Vivas	Mortas	Totais	%
1	500µl de células (2×10^6 cel/mL)	99	1	100	99
2	500µl de células (2×10^6 cel/mL)	99	1	100	99
3	500µl de células (2×10^6 cel/mL)	99	1	100	99
4	500µl de células (2×10^6 cel/mL)	98	2	100	98
5	500µl de células (2×10^6 cel/mL)	99	1	100	99
Tubo	Grupo Teste 1 - Microemulsão	Vivas	Mortas	Totais	%
6	500µl de células + 5µl de microemulsão	95	5	100	95
7	500µl de células + 5µl de microemulsão	98	2	100	98
8	500µl de células + 5µl de microemulsão	99	1	100	99
9	500µl de células + 5µl de microemulsão	98	2	100	98
10	500µl de células + 5µl de microemulsão	94	6	100	94
Tubo	Grupo Teste 2 - Microemulsão com composto de Pt	Vivas	Mortas	Totais	%
11	500µl de células + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	98	2	100	98
12	500µl de células + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	95	5	100	95
13	500µl de células + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	98	2	100	98
14	500µl de células + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	98	2	100	98
15	500µl de células + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	98	2	100	98

ANEXO 2 – Resultados obtidos da avaliação de fagocitose e atividade microbicida da bactéria *Escherichia Coli* Enteropatogênica (EPEC)

Tubo	Controle (EPEC)	Vivas	Ind. Fagocitose	At. Microb.
6	500µl de células + 500µl de bactérias	60	40	5.00
7	500µl de células + 500µl de bactérias	64	36	2.78
8	500µl de células + 500µl de bactérias	69	31	6.45
10	500µl de células + 500µl de bactérias	76	24	8.33
18	500µl de células + 500µl de bactérias	79	21	4.76
19	500µl de células + 500µl de bactérias	71	29	3.45
20	500µl de células + 500µl de bactérias	77	23	4.35
21	500µl de células + 500µl de bactérias	65	35	5.71
22	500µl de células + 500µl de bactérias	69	31	6.45
Tubo	Grupo Teste 1 - Microemulsão	Vivas	Ind. Fagocitose	At. Microb.
11	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	69	31	6.45
12	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	65	35	17.14
23	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	54	46	13.04
24	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	70	30	3.33
25	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	78	24	8.33
27	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão	76	24	4.17
Tubo	Grupo Teste 2 - Microemulsão c/ composto de Pt	Vivas	Ind. Fagocitose	At. Microb.
15	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	55	45	6.67
16	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	68	42	14.29
28	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	62	38	7.89
29	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	60	40	5.00
30	500µl de células + 500µl de bactérias + 5µl de microemulsão c/ composto de Pt	55	45	6.67