

ARTIGO ORIGINAL

ABERTO

Preparação e avaliação de ubiquinona complexada (coenzima Q10) soro antienvhecimento de ácido hialurônico e vitamina C para cuidados com a pele

Hawazin Arkan Yousif¹ | Israa Al-Ani¹  | Maha N. Abu Hajleh²  | Sem Matalqah¹  | Wael Abu Dayyih³  | Emad A. Al-Dujaili⁴ 

¹Departamento de Produtos Farmacêuticos e Tecnologia Farmacêutica, Centro de Pesquisa Farmacológica e Diagnóstica, Faculdade de Farmácia, Universidade Al-Ahliyya Amman, Amã, Jordânia | ²Departamento de Ciência Cosmética, Centro de Pesquisa Farmacológica e Diagnóstica, Faculdade de Ciências Médicas Aliadas, Universidade Al-Ahliyya Amman, Amã, Jordânia | ³Departamento de Química Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Mutah, Al-Karak, Jordânia | ⁴The Queen's Medical Research Institute, Centro de Ciências Cardiovasculares, Universidade de Edimburgo, Edimburgo, Reino Unido

Correspondência: Maha N. Abu Hajleh (m.abuhajleh@ammanu.edu.jo)

Recebido: 26 de agosto de 2024 | **Revisado:** 4 de outubro de 2024 | **Aceito:** 18 de novembro

Palavras-chave: antienvhecimento | coenzima Q10 | ácido hialurônico | cuidados com a pele | ubiquinona

RESUMO

Fundo: A coenzima Q10 (CoQ10) é amplamente reconhecida pelas suas poderosas propriedades antioxidantes, despertando um interesse considerável na sua aplicação em tratamentos de cuidados com a pele. No entanto, a sua inerente baixa solubilidade em água representa um grande desafio na formulação de produtos eficazes para o cuidado da pele.

Métodos: Esta pesquisa teve como objetivo desenvolver e avaliar um soro CoQ10 solúvel em água formando um complexo com hidroxipropil β-ciclodextrina (HPβCD). O estudo se concentrou na avaliação de suas propriedades físico-químicas, concentração de CoQ10, espalhabilidade, viscosidade, pH, estabilidade física, potencial de irritação e desempenho de difusão. O processo de complexação foi realizado utilizando técnicas de amassamento e trituração, com caracterização minuciosa por meio de métodos analíticos validados, como testes de solubilidade, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Resultados: O complexo CoQ10-HPβCD preparado pela técnica de trituração na proporção de 2:1 (CoQ10 para HPβCD) demonstrou solubilidade em água superior, atingindo $17,5 \pm 1,8 \text{ mg mL}^{-1}$, o maior entre as formulações testadas. Além disso, esta formulação alcançou a maior eficiência de encapsulamento, retendo $71\% \pm 3,8\%$ de CoQ10. As análises de FTIR e DSC confirmaram o sucesso da formação do complexo. O soro formulado exibiu comportamento de afinamento, um pH ideal de $4,3 \pm 0,2$ que combina perfeitamente com a acidez natural da pele para maior compatibilidade - junto com excelente espalhabilidade e estabilidade. Os testes de difusão revelaram um aumento significativo na solubilidade quando a CoQ10 foi complexada, superando eficazmente a sua barreira de solubilidade. Os testes de irritação validaram a segurança do soro para uso tópico.

Conclusão: Este estudo desenvolveu com sucesso um soro CoQ10 que superou sua limitação de solubilidade, demonstrando propriedades favoráveis para aplicação em cuidados com a pele. Com suas fortes características físico-químicas e biocompatibilidade, esta formulação mostra-se promissora para uma incorporação mais ampla em produtos para a pele.

Abreviações: CoQ10, coenzima Q10; DSC, calorimetria exploratória diferencial; EE, eficiência de encapsulamento; FTIR, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier; AH, ácido hialurônico; HPβCD, hidroxipropil-β-ciclodextrina; ICH, Conselho Internacional de Harmonização; LD, eficiência de carregamento; OCDE, Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico; R₂, coeficiente de correlação; DPR, desvio padrão relativo; DP, desvio padrão; UV, ultravioleta.

Este é um artigo de acesso aberto nos termos do [Atribuição Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) Licença, que permite o uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que a obra original seja devidamente citada.

© 2024 O(s) Autor(es). *Revista de Dermatologia Cosmética* publicado pela Wiley Periodicals LLC.

1 | Introdução

O envelhecimento da pele é um processo biológico complexo caracterizado por um declínio progressivo na integridade estrutural e funcional da pele, levando a sinais visíveis de envelhecimento e aumento da suscetibilidade a doenças relacionadas à pele [4].1]. Acredita-se que o envelhecimento da pele seja o resultado de fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos são determinados geneticamente e ocorrem naturalmente, enquanto os fatores extrínsecos são consequências de fatores ambientais que podem acelerar o processo de envelhecimento [2].2]. O fotoenvelhecimento causado pela exposição à radiação ultravioleta representa a causa mais significativa do envelhecimento extrínseco [14].3]. No entanto, vários fatores, incluindo má nutrição, privação de sono, estresse e tabagismo, são os principais contribuintes para o envelhecimento da pele [4].4]. As principais características do envelhecimento da pele podem ser categorizadas em várias áreas principais. Rugas e linhas finas estão entre os sinais mais visíveis do envelhecimento da pele. À medida que envelhecemos, as fibras de colágeno e elastina da pele²² (fornecem suporte e elasticidade) começam a se decompor, levando à formação de rugas e linhas finas [4].5]. A secura é outro sintoma do envelhecimento da pele que ocorre devido à diminuição da produção de sebo e à redução da capacidade de reter a umidade, o que pode resultar em uma textura áspera ou escamosa [4].6]. A perda de elasticidade é outra característica do envelhecimento da pele, resultando em flacidez da pele [7]. Manchas senis e hiperpigmentação também se tornam mais prevalentes com a idade, pois a exposição solar e os processos naturais de envelhecimento podem resultar na superprodução de melanina, levando à formação de manchas senis, sardas e outras áreas de hiperpigmentação [4].8]. A diminuição da circulação sanguínea é outro fator que contribui para o envelhecimento da pele devido à redução do fluxo sanguíneo para a pele, que pode causar uma tez pálida ou opaca, bem como uma cicatrização mais lenta de feridas. Além disso, a perda de gordura subcutânea e a perda óssea ocorrem à medida que envelhecemos, levando a uma aparência oca ou encovada, principalmente ao redor dos olhos e bochechas [4].9].

Uma ampla gama de produtos antienvelhecimento tem sido continuamente desenvolvida para tratar vários aspectos do envelhecimento da pele. Ingredientes comuns em produtos antienvelhecimento incluem retinóides (derivados da vitamina A), peptídeos e fatores de crescimento, alfa e beta hidroxiácidos, ácido hialurônico (HA), niacinamida (vitamina B3) e antioxidantes, incluindo vitaminas C e E, extrato de chá verde. e ubiquinona ou Coenzima Q10 (CoQ10)¹⁰. Ubiquinona (CoQ10) é uma benzoquinona com peso molecular de 863,3 g mol⁻¹e uma fórmula química de C₅₉H₉₀O₄ [11] (Figura1A). A CoQ10 atua como um agente antienvelhecimento, reduzindo o estresse oxidativo. É um potente antioxidante que atua neutralizando os radicais livres e reduzindo o estresse oxidativo nas células da pele. Com isso, ajuda a prevenir danos oxidativos aos componentes celulares como o colágeno e a elastina, que são essenciais para manter a estrutura e a elasticidade da pele. Também regenera

outros antioxidantes, como a vitamina E, aumentando a capacidade da pele de combater o envelhecimento¹².

A CoQ10 também é essencial para a função mitocondrial e produção de energia. Aumenta a síntese de ATP, melhorando o metabolismo celular e promovendo a renovação e reparação celular. Isto apoia a manutenção das células da pele e ajuda-as a resistir aos danos relacionados com o envelhecimento. Além disso, tem efeito antiinflamatório e fotoprotetor, combatendo a inflamação e a luz, os dois problemas que potencializam o envelhecimento da pele.¹³. Todas essas funções ajudam a manter uma aparência jovem, reduzir rugas e combater sinais de envelhecimento causados por fatores ambientais e intrínsecos [4].11].

A vitamina C (ácido ascórbico) é um micronutriente solúvel em água crucial, vital para vários processos biológicos, especialmente para a saúde da pele. Como os humanos não conseguem sintetizar a vitamina C, ela deve ser obtida por meio de dieta ou suplementos. Uma de suas funções principais é na síntese de colágeno, essencial para a força, elasticidade e estrutura da pele. A vitamina C facilita a hidroxilação da prolina e da lisina, auxiliando na formação adequada de colágeno, vital para a manutenção da pele e no combate ao envelhecimento. Como um poderoso antioxidante, neutraliza os radicais livres, prevenindo danos celulares, degradação do colágeno e degradação das fibras de elastina [4].14]. Além disso, a vitamina C proporciona proteção contra a radiação UV, neutralizando os radicais livres gerados pela exposição solar e trabalhando em sinergia com a vitamina E para reduzir os danos oxidativos. O seu envolvimento na cicatrização de feridas, através da síntese de colagénio e da regulação imunitária, sublinha ainda mais a sua importância. A aplicação tópica de vitamina C em soros ou cremes aumenta a concentração da pele, promovendo a produção de colágeno e reduzindo os sinais de envelhecimento, tornando-a fundamental em produtos para a pele [4].15].

A principal molécula envolvida na manutenção da umidade da pele é considerada o hialuronano ou ácido hialurônico (AH), conhecido por sua capacidade excepcional de ligar e reter moléculas de água. O AH não só contribui para a integridade estrutural da pele, mas também desempenha um papel crucial na manutenção da hidratação da pele à medida que envelhecemos.¹⁶.]. HA é um polissacarídeo longo e não ramificado composto por unidades dissacarídicas repetidas de ácido D-glucurônico e N-acetil-D-glucosamina. O peso molecular do HA pode variar muito, de alguns milhares de Daltons a vários milhões de Daltons (Figura1C). O AH pode reter até 1.000 vezes seu peso em água, contribuindo para suas propriedades hidratantes e de retenção de água em formulações cosméticas e de cuidados com a pele.¹⁸.]. À medida que as pessoas envelhecem, a produção de ácido hialurônico (AH) pelo corpo diminui, levando à diminuição da hidratação e elasticidade da pele, o que contribui para rugas e linhas finas. Além disso, o peso molecular de

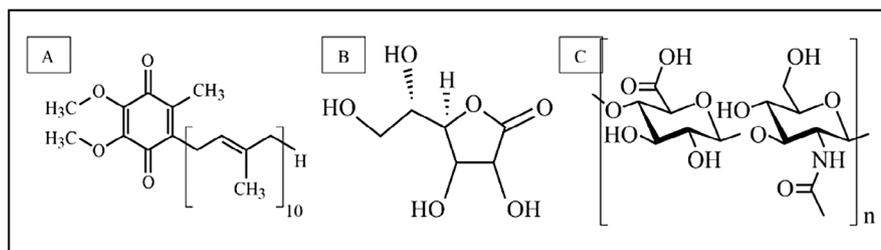


FIGURA 1 | Estrutura química de (A) ubiquinona (coenzima Q10); (B) vitamina C; (C) ácido hialurônico.

O HA muda para fragmentos menores e menos eficazes que reduzem a retenção de água e o suporte estrutural. Este declínio enfraquece a barreira da pele, tornando-a mais vulnerável à radiação UV e aos fatores de stress externos, que aceleram o envelhecimento.¹⁶ Para combater esses efeitos, o AH é comumente usado em produtos anti-envelhecimento para a pele, incluindo soros e cremes, para restaurar a hidratação. Preenchimentos dérmicos à base de HA também são injetados para restaurar temporariamente o volume e suavizar rugas, tornando o HA um ingrediente chave em formulações cosméticas [1].²⁰.

As metas e objetivos deste estudo são produzir um soro estável e eficaz para aplicação em cuidados com a pele, com boa integridade física e química.

Os materiais hidrofílicos enfrentam desafios na penetração na pele devido à natureza lipofílica do estrato córneo. Como resultado, os compostos hidrofílicos são absorvidos de forma menos eficiente. Para aumentar a absorção pela pele, muitas vezes são necessários intensificadores de penetração, formulações especializadas, como emulsões, ou métodos oclusivos que hidratam e aumentam a permeabilidade da pele. Neste trabalho, o objetivo é formular ácido hialurônico, um agente altamente hidratante, que os usuários se opõem a formulações lipofílicas que resultam em uma textura oleosa indesejada. Ao tornar a CoQ10 solúvel em gordura solúvel em água, o ácido hialurônico aumentará o teor de umidade e melhorará a permeabilidade do complexo solúvel em água. Além disso, o complexo oferecerá uma libertação gradual de CoQ10, evitando que seja rapidamente eliminado pela derme, aumentando potencialmente a sua eficácia.

2 | Materiais e Métodos

2.1 | Materiais

A ubiquinona (pureza 99, 2%) e a hidroxipropil β-ciclodextrina (pureza 99, 6%) foram obtidas da Wacker Chemie AG (Alemanha). Glicerol, fenoxietanol e propilenoglicol foram obtidos da Fisher Scientific (EUA); *Aloe vera* extrato de Coats Aloe International Inc. (EUA); vitamina C da Sigma Aldrich (EUA, 99,5%); goma xantana da Cargill (EUA); estearato de glicerilo da BASF Pharma (Alemanha); triglicerídeo caprílico/cáprico da IOI Oleochemicals (Malásia), extrato de chá verde da Naturex (França); ácido hialurônico da Bloomage Freda BioPharm (China); ácido cítrico da Otsuka Pharmaceutical (Japão) e benzoato de sódio da Cargill (EUA). Todos os outros solventes ou materiais orgânicos eram de grau HPLC, analítico ou farmacêutico.

2.2 | Animais

Ratos Wistar machos saudáveis pesando 250±15 g foram aclimatados e alojados individualmente na Unidade de Pesquisa em Animais de Laboratório da Universidade de Ciências Aplicadas. Os animais foram mantidos em ciclos de 12 horas de claro e escuro com livre acesso a água e ração (Purina-Labdiet, EUA) 1 semana antes do experimento. O jejum foi iniciado na noite do experimento (12 h) apenas com acesso à água.

O estudo recebeu aprovação ética do comitê de ética da Universidade Al-Ahliyya Amman (Decisão nº 2/3-2022-2023 AUP: AAU).

2.3 | Métodos

2.3.1 | Desenvolvimento do Método Coenzima Q10 de Análise

Um espectrofotômetro UV foi utilizado para detecção e quantificação de CoQ10 livre e seus complexos. A solubilidade ideal foi alcançada usando uma proporção de metanol para água de 80:20. Uma solução estoque de CoQ10 foi subsequentemente preparada dissolvendo 50 mg de CoQ10 em 50 mL do sistema solvente com agitação suave. A solução foi então filtrada para produzir uma solução límpida. Diluição adicional para uma concentração de 50 µg mL⁻¹ foi preparado usando o mesmo sistema solvente. Para a análise espectral, esta solução foi utilizada na concentração de 50 µg mL⁻¹ a concentração foi varrida em uma faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm usando um espectrofotômetro UV. O sistema solvente (metanol:água 80:20) foi utilizado tanto para o branco quanto para o controle. Para garantir a especificidade e precisão do método ao medir a CoQ10 e seus complexos preparados, a hidroxipropil beta ciclodextrina (HPβCD) também foi escaneada na faixa de 200–400 nm.

2.3.2 | Validação de Métodos Analíticos

O método analítico empregado neste estudo foi validado de acordo com as diretrizes do Conselho Internacional de Harmonização (ICH). Diferentes diluições de CoQ10, preparadas a partir da solução estoque em solvente metanol-água, foram empregadas para os testes de validação.

A linearidade do método desenvolvido foi validada. Uma série de concentrações de CoQ10 foram preparadas e analisadas para derivar uma curva de calibração. Especificamente, seis concentrações de CoQ10 – 100, 125, 250, 500, 750 e 1000 µg mL⁻¹—foram preparadas a partir da solução estoque, e seus valores de absorbância foram medidos em 276 nm. Cada concentração foi medida três vezes e o valor médio de absorbância ± desvio padrão (DP) foi registrado. Os valores de absorbância foram então plotados em relação às concentrações correspondentes para criar uma curva de calibração.

A precisão e exatidão do método desenvolvido foram avaliadas através da análise de um conjunto de amostras usando medidas intradiárias (dentro da corrida) e interdias (entre corridas). A precisão intradiária foi avaliada analisando seis amostras individuais (nas concentrações de calibração) com três réplicas cada no mesmo dia. Isso ajudou a determinar a consistência das medições em uma única execução analítica. A precisão entre dias foi avaliada reanalisando as mesmas seis amostras em dias diferentes seguindo as mesmas etapas processuais. O objetivo era avaliar a consistência do método em diferentes execuções em dias diferentes, o que é crucial para manter medições confiáveis ao longo do tempo. A precisão do método foi quantificada em termos do desvio padrão relativo (DPR). De acordo com as diretrizes do ICH, um coeficiente aceitável de

A variação (CV%) deve ser inferior a 2%, que foi o limite utilizado neste estudo. A precisão foi estabelecida usando uma concentração de amostra de 250 µg mL⁻¹ uma vez que está dentro da faixa de linearidade estabelecida pela curva de calibração.

Para o teste de recuperação, um total de 0,5 g do soro CoQ10 foi dissolvido em 100mL de metanol. A solução foi agitada vigorosamente para garantir a solubilização completa da CoQ10. Após agitação, a mistura foi filtrada para garantir a remoção de qualquer material insolúvel. O filtrado foi então diluído utilizando o solvente metanol-água (proporção 80:20) para análise espectrofotométrica. Essas diluições foram avaliadas em triplicata e o valor médio de absorbância ± DP foi registrado. A porcentagem de recuperação foi então calculada.

A especificidade e seletividade do método analítico desenvolvido foram avaliadas utilizando soro placebo. Isto envolveu a varredura do placebo no predeterminado $\lambda_{m\acute{a}x}$. para avaliar se alguma absorvância de fundo foi observada neste comprimento de onda, o que potencialmente indicaria interferência por outras substâncias além da CoQ10. O soro placebo foi testado usando diluições seriadas com um sistema solvente de metanol-água 80:20. Absorção no $\lambda_{m\acute{a}x}$. para cada diluição foi registrada e analisada. Este procedimento permitiu determinar se o método desenvolvido era específico para CoQ10. Além disso, uma varredura espectral completa a 200–400 nm foi realizada no soro placebo. Esta varredura de amplo alcance forneceu um perfil espectral abrangente que poderia ser comparado com o espectro CoQ10 para confirmar ainda mais a seletividade do método.

2.3.3 | Preparação de Complexos de Inclusão Q10 – HPβCD

Os complexos de inclusão HPβCD e CoQ10 foram preparados por dois métodos diferentes: os métodos de amassamento e trituração [10].22]. Cada método foi realizado em diferentes proporções molares de HPβCD para CoQ10, conforme mostrado na Tabela 1.

O processo de amassamento foi iniciado pesando 50 ou 100mg de HPβCD. O HPβCD pesado foi colocado em um almofariz e misturado com água suficiente para formar uma pasta espessa. Gradualmente, 50 mg

TABELA 1 | Amostras de complexos Q10 – HPβCD preparados por métodos de amassamento e trituração ilustrando as proporções em peso das seis formulações preparadas e método de preparação.

Código de exemplo	Quantidade de CoQ10/ Amostra (mg)	Quantidade de HPβCD (mg).
Método de amassar		
S1	50	50
S2	50	100
Método de trituração		
S3	50	50
S4	50	100
S5	100	50
S6	150	50

CoQ10 foi incorporada nesta pasta. Isto resultou em proporções molares de HPβCD para CoQ10 de 1:1 ou 1:2. Esta mistura foi então amassada manualmente, mantendo uma direção consistente, durante 1 h. Esta etapa garantiu a incorporação homogênea de CoQ10 na pasta HPβCD. Após o processo de amassamento, foi adicionada uma quantidade adicional de água para manter a consistência da pasta. A pasta foi então deixada secar a uma temperatura controlada entre 37°C e 40°C por um período de 2–4 h. Concluída a fase de secagem, a mistura seca foi suavemente triturada em almofariz e pilão até obter um pó fino. A mistura triturada foi então peneirada através de uma peneira de malha (#65) para assegurar um tamanho de partícula uniforme. O complexo de inclusão produzido foi armazenado em recipiente lacrado para evitar contaminação ou degradação.

No método de trituração, HPβCD e CoQ10 em pesos predeterminados de acordo com as proporções desejadas (1:1, 1:2, 2:1 e 3:1) foram combinados em um almofariz. Os componentes foram então completamente triturados por uma duração de 1 h para garantir a mistura adequada e a formação do complexo de inclusão. Como este método não envolveu nenhum solvente, não houve necessidade de etapa de secagem. Após trituração, a mistura foi coletada diretamente. As amostras foram armazenadas em um dessecador para manter a secura e evitar a exposição à umidade atmosférica antes de análises posteriores. Os códigos e proporções das amostras estão listados na Tabela 1.

2.4 | Caracterização dos Complexos Preparados

2.4.1 | Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram realizados com FTIR (Shimadzu, Japão) usando um método de disco de brometo de potássio e digitalizados de 4500 a 500 cm⁻¹. Eles foram utilizados como meio de confirmar a formação dos complexos CoQ10 – HPβCD e analisar suas propriedades estruturais. Os espectros para CoQ10 pura e HPβCD também foram obtidos e todos os espectros foram registrados.

2.4.2 | Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O DSC foi realizado como método suplementar para fornecer mais evidências de formação complexa. CoQ10, HPβCD e os complexos CoQ10 – HPβCD preparados foram escaneados em uma faixa de temperatura controlada de 4°C a 300°C a uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. Os termogramas resultantes foram então cuidadosamente estudados.

2.4.3 | Solubilidade do Complexo em Água

A solubilidade em água dos complexos CoQ10 – HPβCD preparados foi avaliada. Foram preparados seis tubos de ensaio, cada um correspondendo a uma das seis amostras preparadas. Os primeiros seis tubos de ensaio foram rotulados de S1 a S6 e cada um recebeu 1mL de água destilada, seguido de excesso do respectivo complexo CoQ10 – HPβCD. Foi necessário um sétimo tubo de ensaio contendo 1mL de água destilada e CoQ1 pura. Este último tubo serviu como controle para demonstrar a solubilidade inerente em água da CoQ10 sem qualquer complexação.

Uma vez preparadas as amostras, elas foram colocadas em ambiente controlado mantido a 25°C. Os tubos de ensaio foram então agitados a uma velocidade de 50 rpm durante 24 horas. Este processo facilitou a obtenção do equilíbrio entre as formas solúveis e insolúveis dos complexos em cada tubo de ensaio. Após o término do período de 24 horas, cada solução foi cuidadosamente filtrada. Os filtrados ficaram então prontos para análise posterior para quantificar a quantidade de CoQ10 dissolvida em água, o que representou a solubilidade de cada complexo.

2.4.4 | Determinação do Conteúdo do Medicamento

A quantificação do teor de CoQ10 nos complexos preparados foi fundamental para avaliar a eficiência do processo de complexação e a eficácia do método utilizado. Este procedimento foi baseado nos resultados obtidos no estudo de solubilidade. Para cada amostra, um volume equivalente da fração solúvel foi adicionado a 10 mL de metanol, que serviu para extrair a CoQ10 solúvel do complexo. Para garantir a extração completa, a mistura foi agitada continuamente durante 1, 2 e 3 horas. Esses intervalos de tempo foram investigados para otimizar o processo de extração. Após cada período de extração, as amostras foram filtradas. O filtrado foi então diluído adequadamente e sua absorbância foi lida três vezes a 276 nm. A média destas leituras foi tirada e a concentração correspondente de CoQ10 foi determinada.

2.4.5 | Estabilidade do Complexo Seco

A estabilidade do complexo CoQ10 – HPβCD preparado foi avaliada aproximadamente durante um período de 4 meses. Esta avaliação teve como objetivo monitorar potenciais alterações nas propriedades do complexo ao longo do tempo, o que é fundamental para a aplicação prática e armazenamento dos complexos formulados. Para tanto, foi preservado 1 g do complexo selecionado (escolhido com base em suas características superiores de solubilidade e carga de fármaco). O complexo foi armazenado em um tubo Eppendorf, que foi então embrulhado em papel alumínio para minimizar a exposição à luz, fator conhecido por influenciar a estabilidade da CoQ10. A amostra foi então deixada em condições ambientais de laboratório. A cada intervalo mensal, uma porção de 100 mg do complexo armazenado foi retirada para análise. A análise envolveu a reavaliação do teor de CoQ10 e da solubilidade em água do complexo. Este processo forneceu uma visão precisa de quaisquer alterações nas características físico-químicas do complexo que possam ter ocorrido e ajudou a estabelecer o seu perfil de estabilidade ao longo do período de armazenamento.

2,5 | Preparação do Soro

A formulação de todos os soros foi realizada conforme ilustrado na Tabela 2. Uma quantidade de 200 g de soro foi preparada utilizando complexo CoQ10. Para fins de comparação, também foi preparada uma formulação controle utilizando CoQ10 livre.

TABELA 2 | A composição da fórmula do soro mostrando a porcentagem de cada ingrediente e a função de cada um na fórmula final do soro.

Fase nº.	Ingredientes	Fórmula mestre% (p/p)	Função
UM	Água desionizada	Perguntas 100	Veículo
	Glicerol	7	Hidratante e emoliente
	Propilenoglicol	3	Umectante
	Goma xantana	0,2	Modificador de viscosidade
	EDTA dissódico	0,1	Agente quelante
B	Estearato de glicerila	3	Um ingrediente emulsionante e estabilizante
	Triglicerídeo caprílico/cáprico	4	Um emoliente e dispersante agente e solvente
C	Extrato de chá verde	1	Atividade antioxidante, de-efeito pigmentante
	Ácido hialurônico	1	Agente condicionador
	<i>Aloe vera</i> extrair	1	Agente condicionador de pele, hidratante
	Complexo Q10	Complexo equivalente a 2%	A API
	Ácido cítrico	0,2	Agente tampão
	Vitamina C	0,5	Antioxidante
	Benzoato de sódio	0,4	Conservante
	Fenoxietanol	1	Conservante
	Perfume (lavanda)	0,2	Agente aromatizante

O processo de preparação de cada soro foi realizado de forma sistemática e controlada, seguindo um método trifásico. Esta abordagem envolveu a preparação inicial de duas fases distintas (Fases A e B), que foram então combinadas para formar uma emulsão antes de uma Fase C final ser adicionada. Na Fase A, todos os ingredientes necessários à formulação foram adicionados à água em recipiente específico. Esta mistura foi então aquecida a uma temperatura de 70°C enquanto se agitava continuamente. A Fase B foi preparada simultaneamente em recipiente separado. Isto envolveu misturar todos os ingredientes designados da Fase B e aquecer esta mistura à mesma temperatura de 70°C. Para garantir mistura e aquecimento completos, a agitação foi mantida durante todo este processo. Uma vez que tanto a Fase A como a Fase B foram produzidas adequadamente e aquecidas uniformemente, elas foram combinadas adicionando a Fase B à Fase A enquanto mantinham agitação contínua para assegurar a formação completa da emulsão. Depois disso, a temperatura da mistura foi deixada esfriar até a temperatura ambiente. Neste ponto, os ingredientes da Fase C foram adicionados sucessivamente e os soros preparados estavam prontos para análise posterior.

2.6 | Avaliação do Soro Preparado

Após a preparação dos soros, foi realizada uma avaliação rigorosa para avaliar a qualidade e características de cada soro.

2.6.1 | Determinação do conteúdo de CoQ10

O conteúdo de CoQ10 no soro foi determinado através de um método de extração acoplado à análise espectrofotométrica UV. Especificamente, uma amostra de 1 g de soro foi colocada em um frasco cônico, ao qual foram adicionados 10mL de metanol. A mistura foi então agitada vigorosamente e foram introduzidos mais 10mL de metanol, e o frasco foi colocado em agitador magnético por 1 h. Isto permitiu a extração completa da CoQ10 presente na amostra de soro. Após o processo de agitação, a mistura foi filtrada duas vezes para remover qualquer material não dissolvido. A solução filtrada foi então devidamente diluída e a absorvância foi subsequentemente medida três vezes a 276 nm. O valor médio dessas medidas foi utilizado para determinar o conteúdo de CoQ10 no soro.

2.6.2 | Viscosidade

Um reômetro Physica MCR 302 (Anton Paar) foi empregado para estudar o comportamento reológico do soro preparado. Todas as medições foram realizadas a uma temperatura de 25°C ± 1°C, utilizando fuso Cp 50. Um volume de amostra de 5 a 10 mL de soro foi carregado entre os cilindros concêntricos do reômetro. Este volume garantiu a precisão das medições. O comportamento reológico do soro foi analisado através da construção de curvas de fluxo. Estes foram produzidos traçando a viscosidade em relação à taxa de cisalhamento, fornecendo informações sobre as propriedades de fluxo do soro sob diferentes taxas de cisalhamento. Além das curvas de fluxo, também foram traçadas curvas de viscosidade-temperatura.

2.6.3 | pH do soro

O pH de um produto para a pele influencia marcadamente a sua compatibilidade com a pele e a sua estabilidade. A pele humana tem um pH ligeiramente ácido^[23]. Para garantir a compatibilidade ideal com a pele e minimizar qualquer irritação potencial, recomenda-se que o pH dos produtos tópicos para a pele também seja ligeiramente ácido. Para medição do pH, uma pequena amostra do soro foi colocada em um béquer limpo e seco. O eletrodo do medidor de pH calibrado foi cuidadosamente mergulhado na amostra, garantindo que estivesse totalmente submerso, mas sem tocar o fundo do béquer. A leitura do pH foi então registrada.

2.6.4 | Espalhabilidade

Este teste foi realizado de acordo com Sabale, Kunjwani e Sabale^[24]. Nesta experiência, um peso fixo de 1 g do soro preparado foi espalhado sobre um círculo pré-marcado com diâmetro de 2 cm sobre uma placa de vidro. Uma segunda placa de vidro foi então cuidadosamente colocada sobre o soro espalhado. Para aplicar a pressão necessária, um peso de meio quilograma (obtido usando um copo cheio de água até o peso alvo) foi colocado na placa de vidro superior e deixado por 5 min. Este método imita a pressão normalmente aplicada quando um usuário aplica um produto na pele. Decorrido o tempo, o peso foi retirado e o novo diâmetro da pasta de soro foi medido. A espalhabilidade do soro é diretamente proporcional ao diâmetro aumentado, indicando quão bem o soro pode se espalhar sob uma determinada pressão. Essa medição foi feita três vezes para consistência e a média foi determinada.

2.6.5 | Teste de diluição

A amostra de soro contendo o complexo CoQ10-HPβCD foi inicialmente preparada e 1 g de soro foi cuidadosamente pesado em balança analítica. A amostra de soro foi transferida para um béquer limpo e seco e foram adicionados 20 mL de água deionizada para garantir que a amostra de soro estivesse totalmente submersa. A mistura foi agitada continuamente a uma velocidade constante de 400 rpm usando um agitador magnético até que uma solução homogênea fosse alcançada^[1].^[25] O volume da solução foi então aumentado gradualmente; Alíquotas de 10 mL de água deionizada foram adicionadas ao béquer em intervalos regulares. Após cada adição, a solução foi agitada por mais 10 minutos para garantir uma mistura completa. O processo de diluição continuou até que o volume total de solução no béquer atingisse 100 mL. Após cada etapa de diluição, a solução foi observada quanto a quaisquer sinais visíveis de separação de fases, sedimentação ou precipitação.

2.6.6 | Liberação e Difusão de Drogas

Para prever a eficácia do soro preparado, a formulação foi submetida a um estudo de difusão *in vitro*, que visa emular o desempenho do produto na aplicação em humanos

pele. Para tanto, foi utilizado um modelo de Célula de Difusão de Franz. O compartimento receptor da célula de difusão foi preenchido com 12 mL de soro. O meio de difusão consistiu em uma solução tampão fosfato com pH 7,0. A área de difusão foi estabelecida em 1,7 cm². Dois conjuntos de amostras foram preparados para este experimento. Para o primeiro conjunto, foram adicionados 200 mg de soro CoQ10 a cada uma das três células. Para o segundo conjunto, a fórmula de controle foi adicionada a cada uma das outras três células. As leituras foram feitas em intervalos de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 24 horas. Para manter as condições de afundamento, o meio foi substituído por tampão novo após cada leitura. Devido à sensibilidade à luz da CoQ10, foram tomadas precauções especiais durante o experimento para evitar a exposição à luz. Todo o aparato de difusão foi coberto com papel alumínio, as luzes do laboratório foram apagadas e as cortinas fechadas para proporcionar um ambiente ideal para o experimento.

2.7 | Teste de irritação

O teste de irritação foi realizado em dois ratos Wistar machos saudáveis, cada um pesando aproximadamente 250 ±15 g. Cada rato recebeu um tratamento diferente; O rato número 1 foi utilizado como controle negativo e não recebeu tratamento, e o rato número 2 foi tratado com a fórmula sérica CoQ10. Os ratos foram mantidos sob condições controladas a uma temperatura de 20°C±3°C, umidade de 50%±15% e um ciclo de fotoperíodo de 12 horas de luz/12 horas de escuridão. Eles receberam uma dieta convencional de laboratório e um fornecimento irrestrito de água potável [19].26,].

Antes do experimento, a área dorsal do tronco de cada rato foi bem cortada para remover pelos, garantindo a contenção humana do rato durante o processo. Uma vez garantida a pele saudável e intacta, os ratos foram preparados para a aplicação da formulação sérica de CoQ10. A fórmula foi aplicada em uma área de aproximadamente 6 cm² de pele e coberto com gaze.

De acordo com a diretriz da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico), um teste inicial foi realizado aplicando um adesivo e removendo-o após 4 minutos. Se nenhuma reação cutânea grave fosse observada, um segundo adesivo era aplicado e removido após 1 h. Posteriormente, o terceiro, o quarto e o quinto adesivos foram aplicados e deixados por 4, 12 e 24 horas, respectivamente. Os animais foram examinados imediatamente após a remoção do adesivo quanto a sinais de eritema e edema, e as reações dérmicas foram avaliadas. A avaliação da irritação dérmica foi realizada seguindo o modelo de pontuação de irritação dérmica de Draize, de acordo com as recomendações da OCDE (Tabela3) [28].

TABELA 3 | O Sistema de Pontuação de Irritação Dérmica Draize mostrando a escala de eritema e edema (26).

Eritema e formação de cicatriz	Valor	Formação de edema	Valor
Sem eritema	0	Sem edema	0
Eritema muito leve (quase imperceptível)	1	Edema muito leve (quase imperceptível)	1
Eritema bem definido	2	Edema leve (bordas da área bem definido por aumento definido)	2
Eritema moderado a grave	3	Edema moderado (elevado aproximadamente 1mm)	3

2.8 | Estudo de Estabilidade

A estabilidade do produto sérico final foi avaliada durante um período de 3 meses. O foco principal deste estudo foi o exame físico do produto e a avaliação do conteúdo de CoQ10 no soro. O estudo foi conduzido em temperatura ambiente, que foi controlada dentro do ambiente de laboratório durante o dia, entre 24°C e 26°C. Para mitigar quaisquer efeitos potenciais da exposição à luz na estabilidade do produto, os recipientes contendo as amostras de soro foram cuidadosamente embrulhados em papel alumínio.

Mensalmente, foram coletadas três amostras de soro para teste, além da coleta inicial do tempo zero. Juntamente com os exames físicos, o conteúdo de CoQ10 no soro foi determinado e registrado. Esta determinação foi realizada três vezes para cada amostra, e uma média dessas leituras foi feita para garantir a precisão e confiabilidade dos resultados. A avaliação do conteúdo de CoQ10 em cada momento ofereceu informações valiosas sobre a estabilidade do soro durante o período do estudo.

3 | Resultados e Discussão

3.1 | Desenvolvimento de Método

Para determinar o comprimento de onda ideal ($\lambda_{m\acute{a}x}$) para a absorção de Q10, uma solução amostral foi submetida à análise espectroscópica UV-Vis. A solução testada tinha concentração de 50 µg mL⁻¹

CoQ10 em uma mistura solvente de metanol:água na proporção de 80:20. Os resultados da digitalização conforme ilustrado na Figura2 revelou um pico distinto com uma absorvância máxima num comprimento de onda de 276 nm. Este comprimento de onda representa o ponto de absorção máxima da CoQ10 na determinada mistura de solventes. Esses achados são consistentes com a literatura anterior. El-Leithy e Abdel-Rashid29] relataram que a CoQ10 exibe $\lambda_{m\acute{a}x}$ a 276 nm em soluções metanólicas. Da mesma forma, Wu et al. [30] transmitiram que em um sistema solvente metanol-hexano (85:15), o $\lambda_{m\acute{a}x}$ da CoQ10 também estava localizada em 276 nm. Além disso, Orozco et al. [31] utilizaram o comprimento de onda de 276 nm para a quantificação de CoQ10 em suplementos dietéticos.

3.1.1 | Validação de Método

Para verificar a linearidade da relação absorvância-concentração da CoQ10 no sistema solvente metanol:água (80:20), uma série de soluções com concentrações variadas foram preparadas e analisadas. Para uma correlação linear robusta, recomenda-se um mínimo de seis pontos de concentração. Nosso estudo abrangiu

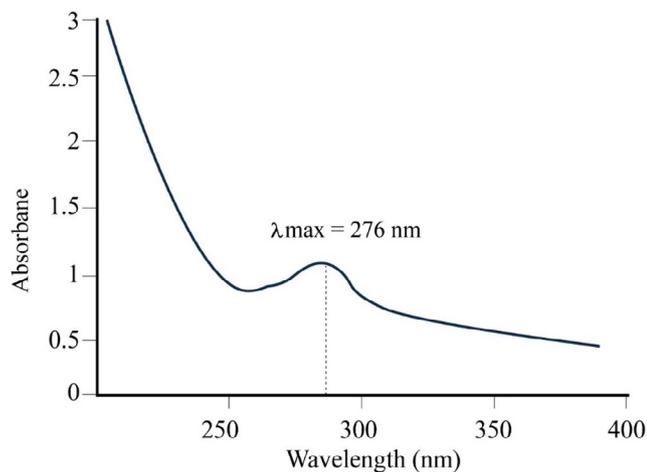


FIGURA 2 | Varredura UV de CoQ10 mostrando o λ_{max} em 276 nm.

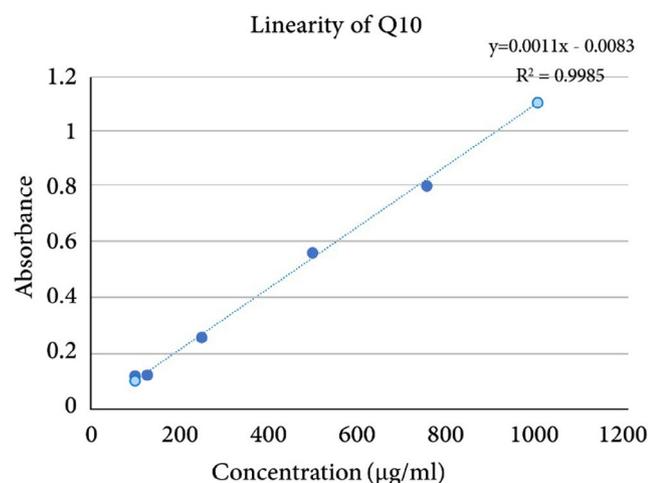


FIGURA 3 | O gráfico de linearidade de Q10 mostrando a regressão linear equação e coeficiente de correlação.

uma faixa de concentração de 100–1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a qual foi medida a absorvância a 276 nm e foi estabelecida uma relação linear. O coeficiente de correlação (R^2) para o teste de linearidade foi calculado como 0,9985, indicando uma relação linear excepcionalmente forte entre a absorvância e a concentração de CoQ10 dentro da faixa testada. Um coeficiente de correlação próximo de 1 é indicativo de uma correlação linear quase perfeita, e o valor observado confirma a adequação do método espectroscópico UV-Vis para quantificar CoQ10 na faixa de concentração especificada. A representação gráfica desta relação linear de concentração versus absorvância é mostrada na Figura 3.

Para todos os ensaios subsequentes relativos à quantificação de CoQ10 neste estudo, era imperativo que as diluições produzissem concentrações dentro da faixa de 100–1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ faixa. Esta abordagem garantiu que as leituras obtidas estivessem linearmente relacionadas com as concentrações, garantindo assim a precisão e exatidão das medições. A linearidade foi estabelecida na faixa de 100–1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a faixa validou o método espectroscópico UV-Vis usado e também reforçou a importância de manter as concentrações das amostras dentro dessa faixa para leituras confiáveis e consistentes.

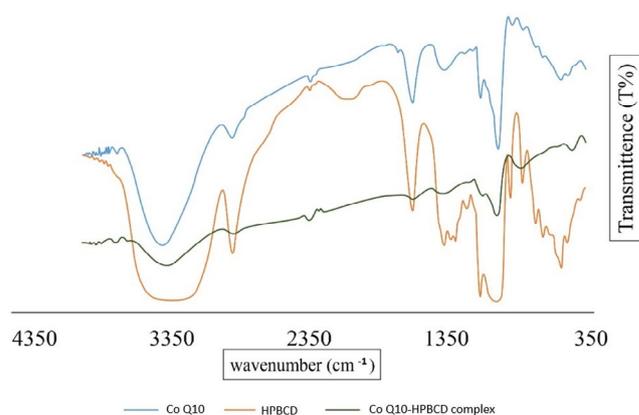


FIGURA 4 | Espectro FTIR de CoQ10 pura mostrando os picos distintos em 3.412,08 cm^{-1} (Alongamento OH), 1020 cm^{-1} (alongamento de CO) e 1715 cm^{-1} (alongamento de carbonila); HP β CD mostrando picos distintos em 3385 cm^{-1} (Alongamento OH), 1030 cm^{-1} (alongamento de CO); e complexo CoQ10-HP β CD mostrando deslocamento oculto e leve dos picos de CoQ10 como uma indicação de interação física.

Todas as medições foram realizadas durante dois dias consecutivos para avaliar a precisão interdiária e intradiária para quantificação de CoQ10. Os valores RSD calculados para todas as medições variaram entre 1,6 e 1,68, comparando com o limite aceitável prescrito pelas diretrizes do ICH. De acordo com as diretrizes do ICH, um RSD não superior a 2,0 é considerado indicativo de precisão aceitável. Além disso, a precisão ou taxa de recuperação de CoQ10 das amostras variou entre 95,4% e 102,3%. Notavelmente, a diretriz do ICH estipula uma faixa de precisão aceitável de 90% a 110%. Para verificar a especificidade e seletividade do nosso método para determinação de CoQ10 a 276 nm, um soro placebo, desprovido de qualquer CoQ10, foi analisado sob condições semelhantes. O soro placebo na proporção de diluição de 1:10 com metanol:água (80:20) foi analisado e a absorvância registrada foi em torno de $0,25 \pm 0,02$. Isto sugere a presença de alguns constituintes no soro placebo que podem absorver luz nas proximidades do λ_{max} de CoQ10. No entanto, diluir ainda mais o soro placebo para uma proporção de 1:20 e superior com o mesmo sistema de solvente produziu absorvância insignificante de valores abaixo de 0,01. Tendo em conta estes resultados, todas as amostras para quantificação precisa de CoQ10 devem ser diluídas com o solvente numa proporção de 1:20 ou superior. Isto garante que o nosso método permaneça seletivo para CoQ10 e não seja influenciado por quaisquer outros componentes séricos endógenos que possam possuir uma absorvância próxima de 276 nm.

Para verificar a capacidade do método de quantificação em recuperar com precisão a CoQ10 da matriz da amostra, foi então realizado um estudo de recuperação. Uma quantidade inicial de 0,5 g de soro que teoricamente continha 10 mg de CoQ10 foi dissolvida em 20 mL de metanol. Esta solução foi posteriormente diluída na proporção de 1:1 e sua absorvância foi medida três vezes para garantir a consistência. A absorvância do extrato filtrado também foi determinada e, curiosamente, quando submetido a uma razão de diluição mais elevada de 1:40, os resultados pareceram ser mais fiáveis. A justificativa por trás desta observação pode ser atribuída ao efeito da diluição nos excipientes. Com o aumento da diluição, o impacto destes excipientes na absorvância global diminuiu, facilitando uma análise mais clara e precisa.

quantificação de CoQ10. Além disso, quando uma amostra contendo 1 g de soro foi dissolvida em 20 mL de metanol, foi observada uma recuperação média inesperadamente elevada de aproximadamente 120%. Esta maior recuperação foi atribuída à maior absorvância conferida pelos excipientes presentes no soro. Considerando estas observações, torna-se evidente que para minimizar os efeitos de confusão dos excipientes e para garantir a recuperação precisa da CoQ10, todas as amostras de soro devem ser submetidas a uma razão de diluição superior a 1:20.

3.2 | Caracterização do Complexo Preparado

3.2.1 | Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .

O FTIR serve como uma ferramenta analítica primária para identificar grupos funcionais e detectar interações potenciais entre moléculas [6].32]. O FTIR foi empregado para explorar as interações moleculares dentro do complexo CoQ10 - HPβCD usando espectros de CoQ10 e HPβCD puros como linhas de base de referência (Figura 1).4). O espectro FTIR de CoQ10 pura exibiu picos característicos em 3.412,08 cm⁻¹ correspondendo ao alongamento OH, dado que CoQ10 tem estrutura quinona, e 2.924 cm⁻¹ que pode ser atribuído ao estiramento CH que é típico dos hidrocarbonetos alifáticos. No contexto da CoQ10, provavelmente corresponde à cadeia lateral isoprenóide da molécula e a um pico de cerca de 1020 cm⁻¹, o que é consistente com o alongamento do CO. O pico em 1715 cm⁻¹ foi pensado para se referir ao alongamento do grupo carbonila.

A análise FTIR do HPβCD revelou picos distintos em 3385 cm⁻¹. A estrutura das ciclodextrinas contendo múltiplos grupos hidroxila é consistente com a presença de grupos hidroxila (-OH), o que é indicativo de estiramento OH. Além disso, um pico forte em 1030 cm⁻¹ foi observado, o que poderia ser potencialmente atribuído ao estiramento de CO: uma característica chave nas ciclodextrinas devido às suas subunidades de glicose. Estas características espectrais são consistentes com a estrutura molecular e funcionalidades das ciclodextrinas.

O espectro FTIR do complexo CoQ10 - HPβCD mostrou picos em 3399, 2922,16 e 1026,13 cm⁻¹ que mostrou notavelmente um ligeiro desvio em comparação com os componentes individuais. O pico inicialmente observado em 3412,08 cm⁻¹ em CoQ10 puro e 3385,07 cm⁻¹ em HPβCD mudou para 3399 cm⁻¹ no complexo. Da mesma forma, os picos em 2.924 cm⁻¹ (CoQ10) e 1020 cm⁻¹

(CoQ10) mudou para 2.922,16 e 1.026,13 cm⁻¹, respectivamente. O pico do grupo carbonila ficou quase escondido no espectro do complexo. Tais mudanças espectrais foram documentadas na literatura como evidência da formação de complexos de inclusão [1].33]. As interações podem ser devidas a ligações de hidrogênio, forças de der Waals ou outras forças intermoleculares que levam à formação do complexo. As mudanças nas vibrações de estiramento de OH e CO no complexo indicam uma interação potencial entre os grupos hidroxila de HPβCD e CoQ10.

3.2.2 | Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .

DSC serve como uma técnica analítica fundamental para investigar propriedades térmicas de materiais, incluindo transições de fase. Neste estudo, o DSC foi empregado para caracterizar o complexo CoQ10 - HPβCD, CoQ10 e HPβCD. O termograma DSC para HPβCD demonstrou um amplo evento endotérmico em torno de 60°C, significando a desidratação do composto. Outra transição foi evidente a 260°C, sugerindo que ocorreu fusão ou decomposição de HPβCD (Figura.5A). Por outro lado, o termograma DSC da CoQ10 pura exibiu um pico endotérmico acentuado a 55°C, que corresponde ao seu ponto de fusão (Figura.5B). Este pico proeminente foi associado à natureza cristalina da CoQ10, e este resultado concordou com os valores da literatura para o seu ponto de fusão.

Em contraste com os termogramas individuais de CoQ10 e HPβCD, o traço DSC do complexo CoQ10 - HPβCD apresentou diferenças perceptíveis (Fig.5C). O pico endotérmico correspondente à fusão da CoQ10 teve sua intensidade visivelmente diminuída. Estes eventos térmicos distintos associados ao composto puro, como a sua fusão, podem ser reduzidos ou mesmo obliterados. Isto se deve principalmente ao encapsulamento ou inclusão da molécula na cavidade da ciclodextrina, dificultando sua estrutura cristalina regular. Além disso, o pico foi ligeiramente deslocado para uma temperatura mais elevada, indicando a interação bem-sucedida da CoQ10 com o HPβCD, o que levou a uma possível forma amorfa ou a um estado cristalino alterado.

3.2.3 | Solubilidade do Complexo

A solubilidade dos complexos CoQ10 - HPβCD em água foi avaliada em diferentes proporções de peso de CoQ10 e HPβCD. Esses complexos foram preparados usando amassamento e trituração

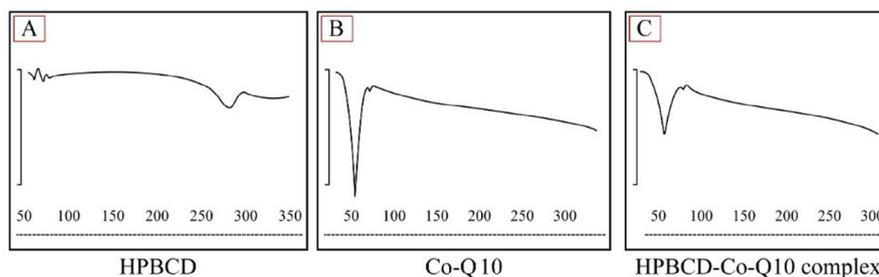


FIGURA 5 | Análise DSC do HPβCD (A) mostrando um pequeno pico largo em torno de 260°C representando fusão e decomposição, CoQ10 (B) com um pico claro e nítido a 55°C representando o ponto de fusão da forma cristalina, e complexo CoQ10 - HPβCD (C) mostrando um pequeno pico largo e achatado ao redor do ponto de fusão da CoQ10, o que pode indicar uma interação física com a ciclodextrina.

métodos para determinar a formulação e o procedimento ideais que fornecem solubilidade máxima.

As várias proporções em peso investigadas foram 1:1, 1:2, 2:1 e 3:1 de CoQ10 para HPβCD. Os resultados revelaram diferenças significativas nos perfis de solubilidade dos complexos dependendo do método de preparação e da relação de peso específico utilizada. A amostra preparada pelo método de trituração (proporção em peso 2:1 (CoQ10:HPβCD)), codificada como (S5) exibiu a maior solubilidade de 17,5%±1,8%. Curiosamente, para cada proporção dada, as formulações preparadas pelo método de trituração demonstraram consistentemente uma solubilidade melhorada em comparação com aquelas produzidas pelo método de amassamento. Os complexos formulados pelo método de amassamento apresentaram valores de solubilidade relativamente mais baixos. Especificamente, as proporções em peso de 1:1 e 1:2 alcançaram solubilidades de 4,5% e 6,3%, respectivamente.

Utilizando análise de variância (ANOVA), S1 (método de amassamento, proporção 1:1) deu a menor solubilidade. Em comparação com esta fórmula, todas as amostras apresentaram valores de solubilidade em água mais elevados. S2 deu aumento não significativo na solubilidade ($p=0,1167$, $> 0,05$), e isso significa que o método de amassamento produziu uma solubilidade quase próxima e a proporção não afetou a solubilidade. Isto é provavelmente devido às fracas forças de ligação durante o processo de complexação. S3 e S5 proporcionaram aumentos altamente significativos na solubilidade com $p < 0,0001$ sem diferença significativa entre eles ($p=0,6891$, $> 0,05$), o que significa que este método foi mais eficiente na formação de complexos. Aumentar ainda mais a proporção em peso para 3:1 proporcionou uma diminuição não significativa na solubilidade com S5 (1999), $p=0,0819$; ou seja, $> 0,05$). Concluindo, o método de trituração foi mais eficiente no aumento da solubilidade do Q10 utilizando HPβCD.

3.2.4 | Conteúdo de CoQ10 nos Complexos Preparados (EE) .

Várias proporções de CoQ10 e HPβCD foram preparadas para determinar a formulação ideal em relação à eficiência de encapsulamento (EE). Estas proporções em peso foram de 1:1, 1:2, 2:1 e 3:1 e foram formuladas utilizando métodos de amassamento e trituração. A formulação com proporção 2:1 (CoQ10:HPβCD) (formulação S5) preparada pelo método de trituração revelou a eficiência de encapsulamento mais promissora de 71%±3,8% com proporções significativamente maiores que outras ($p < 0,05$). Este EE superior foi o candidato ideal para formulação de soro subsequente, considerando tanto o seu EE como a sua solubilidade na fase aquosa. Para atingir 2 g de CoQ10 por 100 g de soro, é necessária uma quantidade de 2,85 g desta formulação (denominada S5). Uma observação abrangente foi que todas as formulações preparadas através do método de trituração superaram significativamente aquelas preparadas pelo método de amassamento em termos de eficiência de encapsulação. A eficiência de carregamento (LE) também foi medida para todas as amostras e foi geralmente maior no método de trituração do que no método de amassamento. LE reflete a capacidade do procedimento de minimizar a perda de API durante a preparação. Os resultados revelaram que a trituração (2:1 e 3:1) poderia utilizar maior carga de CoQ10 em relação ao peso total utilizado. Usando ANOVA, o método de trituração deu maior EE. Embora o EE de S1 e S2 tenha sido significativo ($p=0,0257$), mas ambos são inferiores aos obtidos pelo método de trituração. S5 deu um EE significativamente maior que S4, mas não maior EE que S3 e S6 ($p = 0,0532$ e $0,0601$, respectivamente). Com base nos resultados de solubilidade e EE, S5 foi escolhido para completar o estudo.

3.3 | Caracterização do Soro CoQ10 - HPβCD

3.3.1 | Conteúdo CoQ10

Para determinar a quantidade real de CoQ10 encapsulada no complexo CoQ10 - HPβCD presente no soro, foi empregado o método espectrofotométrico UV descrito anteriormente. As amostras do soro foram adequadamente diluídas em metanol, filtradas e analisadas quanto à sua absorvância no $\lambda_{m\acute{a}x}$ de 276 nm. Para determinar o conteúdo de CoQ10 nas amostras de soro, os resultados foram interpolados com uma curva de calibração pré-estabelecida com concentrações conhecidas de CoQ10. Com base neste método de quantificação, o conteúdo de CoQ10 no soro CoQ10 - HPβCD foi de 980 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o que corresponde a um valor de recuperação de 98%±1,1%. Este valor esteve em linha com a concentração esperada, reafirmando a confiabilidade e precisão do processo de encapsulamento.

3.3.2 | Viscosidade

Para avaliar as propriedades reológicas do soro CoQ10 - HPβCD, as medições foram realizadas utilizando um reômetro. Ao investigar as propriedades reológicas do soro CoQ10 - HPβCD, foram observadas variações distintas em sua viscosidade. Este declínio consistente na viscosidade foi observado em todo o espectro de taxas de cisalhamento aplicadas, variando de 0,0102 a 100 s^{-1} . À medida que a taxa de cisalhamento aumentou, a viscosidade geralmente diminuiu, indicando um comportamento de afinamento típico de muitos fluidos complexos (Fig.6). Este comportamento em que os fluidos se tornam mais finos ou menos viscosos à medida que são agitados ou submetidos a cisalhamento é típico de muitos fluidos complexos, incluindo géis, cremes e suspensões. A diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura observada no soro CoQ10 durante o aquecimento é consistente com princípios físicos gerais e observações em vários sistemas [1].34] (Figura7). A razão por trás disso é o aumento da energia cinética das moléculas em temperaturas mais altas, o que leva à sua maior mobilidade e à redução da resistência ao fluxo. No entanto, a diminuição da viscosidade de 2.000 mPa s a 5°C a 600 mPa s o soro não é considerado uma faixa ampla a 40°C, o que significa que o soro é capaz de preservar sua consistência na faixa

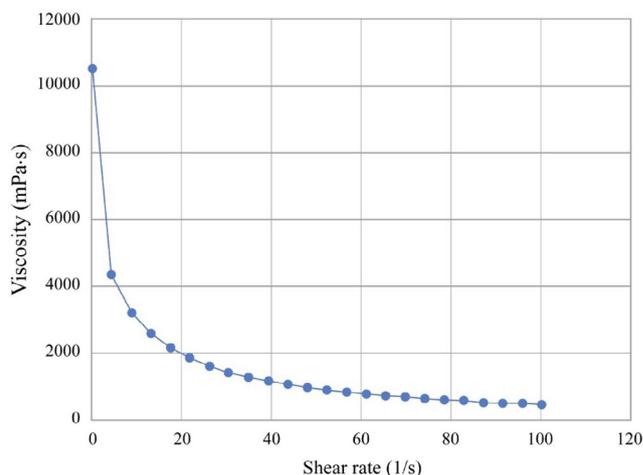


FIGURA 6 | Perfil de viscosidade dependente de cisalhamento do soro CoQ10 mostrando comportamento de afinamento de cisalhamento, à medida que a taxa de cisalhamento aumenta, a viscosidade diminui.

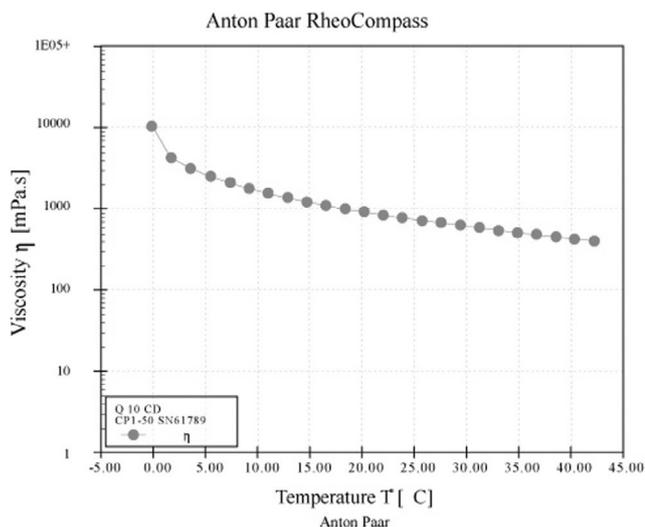


FIGURA 7 | Comportamento termo-reológico do soro CoQ10, apresentando diminuição da viscosidade com aumento da temperatura com valor de viscosidade de 800mPa s⁻¹.

de temperatura entre a temperatura do refrigerador e a temperatura ambiente de clima quente. O valor da viscosidade do soro foi registrado como 800mPa s⁻¹ (800 cP) a 25°C, que está dentro da faixa aceita de viscosidade da loção tópica – baixa viscosidade e facilmente espalhada (100–1000 cP) – conforme declarado pelo ICH (Q8). Isso significa que pode ser facilmente espalhado na pele sem qualquer atrito.

3.3.3 | Determinação do pH do soro CoQ10

O valor do pH desempenha um papel fundamental na determinação da compatibilidade e eficácia das formulações para a pele. O pH do soro CoQ10 foi determinado como sendo 4,3±0,2. A pele saudável mantém um pH ligeiramente ácido, muitas vezes referido como “manto ácido”, que normalmente fica entre 4,5 e 5,5. Este ambiente ácido apoia a função de barreira, mantém a hidratação e afasta potenciais patógenos. O pH de 4,3 do soro CoQ10 alinha-se bem com o pH natural da pele, sugerindo que o soro pode oferecer compatibilidade ideal e minimizar a irritação da pele. Além disso, um produto que reflete o pH natural da pele auxilia na manutenção da microbiota e da saúde geral da pele.

3.3.4 | Espalhabilidade

A espalhabilidade é um parâmetro crítico para produtos tópicos, pois afeta a facilidade de aplicação do produto e a satisfação do consumidor. É a extensão em que um produto pode se espalhar sobre uma área superficial sob uma certa pressão.

A espalhabilidade dos produtos para a pele pode influenciar significativamente sua eficácia, cobertura e experiência geral do usuário. Para o soro CoQ10, compreender a sua espalhabilidade fornece informações sobre o seu desempenho potencial quando aplicado na pele. O soro CoQ10 foi inicialmente aplicado em um círculo compacto com raio de 1 cm. Ao espalhar, o soro se expandiu uniformemente para cobrir uma área mais ampla, atingindo um círculo com raio de 5 cm e circunferência de 31,42 cm. Isto representa um

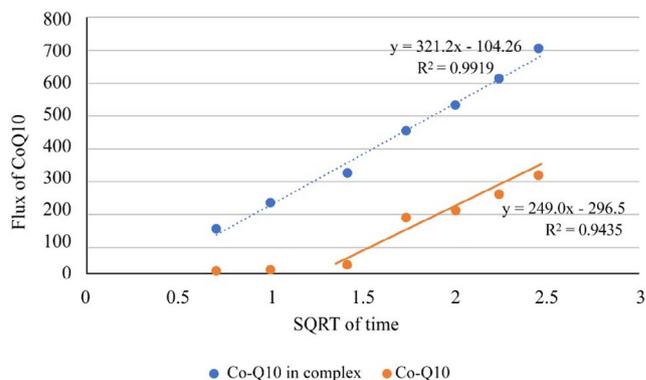


FIGURA 8 | Gráfico de difusão de soro contendo CoQ10 como complexo HPβCD e a fórmula de controle contendo CoQ10 sem complexo.

aumento significativo na área de propagação, indicando que o soro se espalha sem esforço e cobre uma área de pele consideravelmente maior a partir de uma área inicial relativamente pequena. Esta espalhabilidade eficiente sugeria que os utilizadores não necessitariam de quantidades excessivas de soro para uma cobertura ótima, conduzindo a um produto economicamente utilizado. A capacidade do soro de se espalhar uniformemente sem acumular garante uma distribuição uniforme crucial para a absorção uniforme de seus ingredientes ativos e a eficácia geral do produto [2], [35]. Assim, a espalhabilidade uniforme do soro CoQ10 garante uma sensação agradável e não oleosa na pele.

3.3.5 | Teste de diluição

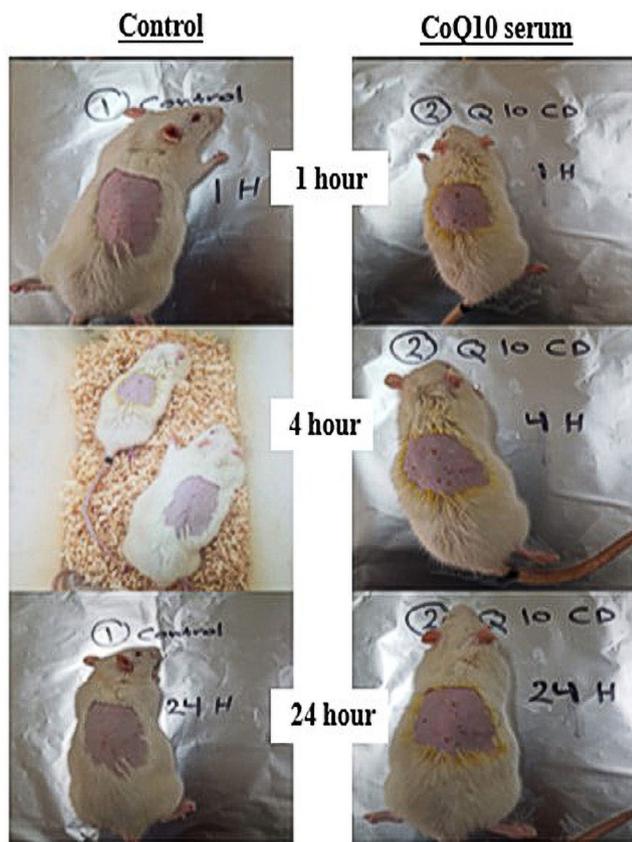
Num esforço para avaliar a estabilidade e consistência do soro CoQ10 quando sujeito a diluição, foram realizadas uma série de testes de diluição. Os resultados demonstraram inequivocamente a resiliência e estabilidade do soro após diluição. O soro CoQ10 não apresentou indícios de alteração em suas propriedades físicas ou químicas. É importante ressaltar que não houve evidência de quebra, separação ou desintegração dos componentes do soro, independentemente do nível de diluição. Esta estabilidade sugeriu um produto bem formulado e estável, que pode permanecer consistente mesmo quando exposto a variações no seu volume de solvente.

3.3.6 | Estudo de Difusão

O estudo de difusão (Fig.8) foi projetado para investigar o comportamento de liberação de CoQ10 a partir de duas formulações diferentes: uma fórmula complexa contendo CoQ10 como um complexo HPβCD e uma fórmula de controle com CoQ10 na ausência de qualquer complexo. A observação inicial do teste mostrou que após 0,5 h, a fórmula complexa liberou 12,1%±1,5% com fluxo de 141,17 µg cm⁻². Pelo contrário, a fórmula de controle demonstrou uma liberação visivelmente menor de 0,99%±0,01% com um fluxo de 11,70 µg cm⁻². Com o passar do tempo, a liberação da fórmula complexa superou consistentemente o controle. No período de 6 horas, a fórmula complexa liberou 60,65% ± 3,0% e um fluxo de 705,88 µg cm⁻², enquanto a fórmula controle ficou com liberação de 26,35%±2,0% e fluxo de 310,22 µg cm⁻². Ao final do período de teste de 24 horas, a fórmula complexa atingiu liberação de 68,47%, enquanto a fórmula controle atingiu 41,01%.

TABELA 4 | As respostas dérmicas foram observadas em ratos individuais não apresentando sinais de qualquer nível de eritema e edema pelos animais testados.

Controle de rato Wistar (1), teste de rato (2)	Avaliação após aplicação da substância teste			
	0min	4 minutos	1 hora	24 horas
Eritema				
(1) Controle	0	0	0	0
(2) Teste	0	0	0	0
Edema				
(1) Controle	0	0	0	0
(2) Teste	0	0	0	0

**FIGURA 9** | Avaliação visual das respostas dérmicas após tópicamente aplicação cal de soro CoQ10 durante um período de 24 horas.

Parece que a fórmula complexa mostrou consistentemente valores de fluxo mais elevados em todos os intervalos de tempo, indicando uma taxa de difusão mais eficiente. Para comparar as taxas de difusão, a formulação complexa registrou uma taxa de $321 \mu\text{g cm}^{-2}$, enquanto a fórmula controle registrou $249 \mu\text{g cm}^{-2}$. Na verdade, a formulação complexa HP β CD de CoQ10 manifestou desempenho superior em termos de volume de liberação e taxa de difusão durante o período de observação de 24 horas, indicando a vantagem potencial da formulação complexa para produzir uma entrega mais regulada e prolongada de CoQ10. A cinética de liberação de um medicamento ou ingrediente ativo está intimamente ligada ao sistema transportador utilizado na formulação. A disparidade nos tempos de latência entre as duas formulações pode ser atribuída às propriedades intrínsecas do sistema transportador na formulação complexa, o que parece ter facilitado uma liberação rápida

de CoQ10. Esta liberação exibida pela fórmula complexa pode ser particularmente benéfica em cenários onde é desejado um efeito farmacológico imediato. Além disso, a liberação e o fluxo globalmente mais elevados da fórmula complexa ao longo do período de observação indicam características de difusão melhoradas. A porcentagem de liberação cumulativa de CoQ10 após 6h foi estatisticamente maior que a da fórmula complexa ($60,65 \pm 3,0 \mu\text{g cm}^{-2}$) em comparação com a fórmula controle ($26,35 \pm 2,0 \mu\text{g cm}^{-2}$) ($p < 0,0001$). O mesmo resultado foi obtido comparando o fluxo ($705,88 \pm 10,6$) da fórmula complexa em comparação com a fórmula de controle que deu ($310,22 \pm 8,9$) (2010), $p < 0,0001$) conforme mostrado na Figura 8.

3.4 | Estudo de irritação

Um teste de irritação foi realizado para avaliar a reatividade potencial da fórmula do soro CoQ10 quando aplicada topicamente. As observações de possíveis sinais de irritação foram realizadas em vários momentos pós-aplicação: 4min, 1h, 4h e 24h. Os critérios de avaliação foram baseados no sistema de pontuação de irritação dérmica Draize [20].28] conforme descrito nas Tabelas 3e4, um sistema confiável empregado para avaliar o potencial irritativo de agentes tópicos em modelos animais. Em todos os intervalos de tempo inspecionados, os ratos não exibiram sinais discerníveis de irritação, eritema ou vermelhidão após tratamento com a fórmula sérica CoQ10 durante 24 horas (Figura 1).9). Esta observação permaneceu consistente ao longo de múltiplas aplicações, indicando a potencial compatibilidade e suavidade do soro quando aplicado na pele. A ausência de irritação pela formulação do soro CoQ10, mesmo após exposição prolongada, sugeriu a sua potencial segurança para aplicação em humanos. Isto é particularmente encorajador, uma vez que muitos produtos tópicos podem causar irritação transitória, especialmente em locais sensíveis após a remoção dos pelos.

Além disso, a CoQ10, também conhecida como ubiquinona, é um antioxidante natural no corpo humano. Os seus benefícios dermatológicos bem documentados vão desde efeitos anti-envelhecimento até ao seu potencial para aumentar a resiliência da pele. No entanto, é essencial reconhecer que o potencial de irritação global de uma fórmula é determinado não apenas pelo seu ingrediente ativo, mas também por toda a sua composição. Os resultados do teste de irritação podem ser cruciais para dermatologistas e especialistas em cuidados com a pele na defesa de sua aplicação segura, especialmente para pessoas com pele sensível. Tais descobertas também abrem caminho para testes em humanos, que validarão ainda mais a compatibilidade do soro com a pele humana e demonstrarão a segurança das formulações à base de CoQ10.

3.5 | Os Estudos de Estabilidade

Os testes de estabilidade são fundamentais na indústria farmacêutica e de cuidados com a pele e na introdução de uma nova formulação. Ele garante que o produto permaneça seguro e eficaz durante sua vida útil. De acordo com Farough et al. [36], a estabilidade de ingredientes ativos como CoQ10, neste caso, é indicativa da robustez e viabilidade da fórmula para armazenamento a longo prazo. A estabilidade do soro CoQ10 foi cuidadosamente avaliada durante um período de 3 meses, incluindo a concentração de CoQ10 e vários parâmetros físicos.

No início, após a preparação do soro, a recuperação de CoQ10 situou-se em 99,5%±0,9%. Ao longo do tempo, após 1 mês, houve uma diminuição modesta na recuperação para 97,5%±1,1%. No final do período de 3 meses, a taxa de recuperação apresentou um ligeiro aumento de 98,6%±1,5%. Os atributos físicos do soro também foram monitorados de perto, pois são indicadores igualmente críticos da estabilidade da fórmula. Por exemplo, alterações na viscosidade podem afetar a aplicação, enquanto alterações no pH podem influenciar a compatibilidade com a pele. Ao longo de toda a avaliação de 3 meses, não houve alterações detectáveis na cor, consistência, viscosidade, espalhabilidade e pH do soro. Esta consistência nos parâmetros físicos forneceu evidência da estabilidade do soro.

4 | Conclusão

A complexação do Ubiquinol (CoQ10) com HPβCD teve sucesso em aumentar notavelmente a solubilidade em água, facilitando sua incorporação na fórmula hidrofílica. A nova fórmula do soro CoQ10 forneceu informações valiosas sobre suas propriedades e potencial nos cuidados com a pele. As principais conclusões destacam o comportamento de afinamento do soro, o que garante facilidade de aplicação e desempenho de alta qualidade. O seu pH ligeiramente ácido, intimamente alinhado com o pH natural da pele, pode ajudar a melhorar a função de barreira da pele. A fórmula demonstrou notável estabilidade ao longo de 3 meses, mantendo consistência em cor, viscosidade, espalhabilidade e pH, juntamente com uma taxa de recuperação estável de CoQ10. Os resultados de não irritação dos testes em animais confirmaram sua segurança para uso na pele. Além disso, o soro apresentou excelentes propriedades de difusão, sugerindo melhor penetração na pele e entrega eficaz de ingredientes ativos.

Contribuições do autor

Todos os autores contribuíram significativamente para escrever, revisar e editar o manuscrito. Além disso, o conteúdo do manuscrito não foi publicado ou submetido para publicação em outro lugar. Conceituação e supervisão: Maha N. Abu Hajleh e Emad A. Al-Dujaili; metodologia: Hawazin Arkan Yousif, Israel Al-Ani; e redação e revisão: Maha N. Abu Hajleh, Sina Matalqah e Wael Abu Dayyih. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Centro de Pesquisa Farmacológica e Diagnóstica (PDR), à Faculdade de Farmácia e à Universidade Al-Ahliyya Amman por seu total apoio a este projeto de pesquisa. Agradecimentos especiais à Applied Science Private University pela permissão para realizar o estudo pré-clínico in vivo.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Declaração de disponibilidade de dados

Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis no autor correspondente mediante solicitação razoável.

Referências

- Google Scholar Crossref, CAS 1. S. Zhang e E. Duan. *Transplante Celular*27, não. 5 (2018): 729–738, <https://doi.org/10.1177/0963689717725755>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 2. MA Farage, KW Miller, P. Elsner e HI Maibach. *Jornal Internacional de Ciência Cosmética*30, não. 2 (2018): 87–95, <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2007.00415.x>.
- Google Scholar Crossref, CAS 3. KJ Gromkowska-Kępa, A. Puścion-Jakubik, R. Markiewicz-Żukowska e K. Socha. *Revista de Dermatologia Cosmética*20, não. 11 (2021): 3427–3431, <https://doi.org/10.1111/jocd.14033>.
4. VG Clatici, D. Racoceanu, C. Dalle, et al. As contribuições específicas de sete fatores envolvidos na saúde e na beleza”, *Médica*12, não. 3 (2017): 191–201.
- Google Scholar Crossref, CAS 5. M. Chaudhary, A. Khan e M. Gupta, “Envelhecimento da pele: fisiopatologia e abordagens atuais de tratamento do mercado”, *Ciência atual do envelhecimento*13, não. 1 (2020): 22–30, <https://doi.org/10.2174/1567205016666190809161115>.
- Google Scholar Crossref 6. A. Görög, A. Bánvölgyi e P. Holló. *Desenvolvimentos em Ciências da Saúde*4, não. 4 (2022): 77–80, <https://doi.org/10.1556/2066.2021.00051>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 7. JM Dyer e RA Miller, “Fragilidade Crônica da Pele no Envelhecimento: Conceitos Atuais na Patogênese, Reconhecimento e Tratamento da Dermatoporese”, JM Dyer e RA Miller. *Revista de Dermatologia Clínica e Estética*11, não. 1 (2018): 13–1
- [PubMed] 8. JC Kim, TJ Park e HY Kang. *Células*11, não. 16 (2022): 2541, <https://doi.org/10.3390/células11162541>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.198.111101>, Google Scholar Crossref, CAS 9. MN Abu Hajleh, R Abu-Huwaij, A AL-Samydai, LK Al-Halaseh e EA Al-Dujaili. *Revista de Dermatologia Cosmética*20, não. 12 (2021): 3818–3828, <https://doi.org/10.1111/jocd.14441>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.1101>, Google Scholar Crossref, CAS 10. MN Abu Hajleh, A. AL-Samydai e EA Al-Dujaili, “Sistemas de entrega de nano, micropartículas e cosméticos de ácido poliático: Uma Mini Revisão”, 2013-2014. *Revista de Dermatologia Cosmética*19, não. 11 (2020): 2805–2811, <https://doi.org/10.1111/jocd.13696>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 11. R. Saini, “Coenzima Q10: O Nutriente Essencial”, *Revista de Farmácia e Ciências Bioaliadas*3, não. 3 (2018): 466–467, <https://doi.org/10.4103/0975-7406.84471>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.1101>, Google Scholar Crossref, CAS 12. JD Hernandez-Camacho, M Bernier, G Lopez-Lluch e P Navas. *Fronteiras em Fisiologia*9 (2018): 44, <https://doi.org/10.3389/fphys>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.91.1101>, Google Scholar Crossref, CAS 13. F. Marcheggiani, S. Kordes, I. Cirilli, et al. *Biologia e Medicina dos Radicais Livres*165 (2021): 282–288, <https://doi.org/10.1016/j.freereadbiomed.2021.01.032>.
- Google Scholar Crossref, CAS 14. F. Al-Niaimi e NYZ Chiang, “Vitamina C tópica e a pele: mecanismos de ação e aplicações clínicas”, Google Scholar Crossref, CAS 14. *Revista de Dermatologia Clínica e Estética*10, não. 7 (2017): 14–17.
- [PubMed] [Ref. Cruzada] 15. JM Pullar, AC Carr e MCM Vissers. *Nutrientes*9, não. 8 (2017): 866, <https://doi.org/10.3390/nu9080866>.

- Google Scholar Crossref, CAS 16. F. Huang, Y. Zhang, J. Guo, et al. *Dermatologia Clínica, Cosmética e Investigativa*16 (2023): 3193–3200, <https://doi.org/10.2147/CCID.S426209>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.199.111100>, Google Scholar Crossref, CAS 17. M. Dovedytis, ZJ Liu e S. Bartlett. *Regeneração projetada*1 (2020): 102–113, <https://doi.org/10.1016/j.engorg.2020.10.001>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 18. LK Al-Halaseh, NA Al-Jawabri, SK Tarawneh, et al. *Revista de Ciência Farmacêutica Aplicada*12, não. 7 (2022): 34–41, <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.120703>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 19. ST Wang, BH Neo e RJ Betts, “Glicosaminoglicanos: doces como alvos de açúcar para antienvhecimento tópico da pele”, 1999; *Dermatologia Clínica, Cosmética e Investigativa*14 (2021): 1227–1246, <https://doi.org/10.2147/CCID.S328671>.
- Google Scholar Crossref, CAS 20. FS Brandt e A. Cazzaniga, “Preenchimentos de gel de ácido hialurônico no tratamento do envelhecimento facial”, Google Scholar Crossref, CAS 20. *Intervenções Clínicas no Envelhecimento*3, não. 1 (2008): 153–159, <https://doi.org/10.2147/cia.s2135.2120>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 21. M. Alkhadhrh, R. Issa, LK Al-Halaseh, et al. *Hélice aspérsilime* no estresse oxidativo, atividades enzimáticas de collagenase e tirosinase”, *Revista de Dermatologia Cosmética*23, não. 11 (2024): 3757–3766, <https://doi.org/10.1111/jocd.16455>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.108.2012>, Google Scholar Crossref, CAS 22. Dantas MG, Reis SA, Damasceno CM, et al. *Revista Mundial Científica*2016 (2016): 7394685, <https://doi.org/10.1155/2016/7394685>.
- Google Scholar Crossref, CAS 23. C. Nagelreiter, E. Kratochvilova e C. Valenta, “Diluição de cremes semissólidos: influência de vários parâmetros de produção nas propriedades reológicas e penetração na pele”, Google Scholar Crossref, CAS 23. *Revista Internacional de Farmacêutica*478, não. 2 (2015): 429–438, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.11.069>.
- Google Scholar Crossref, CAS 24. V. Sabale, H. Kunjwani e P. Sabale, “Formulação e avaliação in vitro da preparação tópica antienvhecimento do fruto de *Hispidia Benincasa*”, *Jornal de Ayurveda e Ciências Médicas Integradas*2, não. 3 (2011): 124–128, <https://doi.org/10.4103/0975-9476.85550>.
- Google Scholar Crossref, CAS 25. Z. Ismaeel, I. Al-Ani, M. Abu Hajleh e E. Al-Dujaili, “Formulação e avaliação de palmitato de retinila e nanoemulsão de vitamina E para cuidados com a pele”, Google Scholar Crossref, CAS 25. *Farmácia*70, não. 3 (2023): 475–483, <https://doi.org/10.3897/farmácia.70.e98085>.
26. Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico, *Teste n.º 404: Irritação/corrosão dérmica aguda* (Paris: Paris: OCDE Publishing, 2015), <https://doi.org/10.1787/9789264070622-en>.
- Google Scholar Crossref, CAS 27. HK Mukattash, R. Issa, MN Hajleh e H. Al-Daghistani, “Efeitos inibitórios de polifenóis de *Ramos de Equisetum Moringa peregrina* Extratos em *Staphylococcus aureus*, Enzimas Colagenase e Tirosinase: Estudos In Vitro”, *Jornal Jordan de Ciência Farmacêutica*17, não. 3 (2024): 530–548, <https://doi.org/10.35516/jps.v17i3.2164>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 28. D. Orozco, J. Skamarack, K. Reins, et al., *Jornal da AOAC Internacional*90, não. 5 (2007): 1227–1236, <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.5.1227>.
- Google Scholar Crossref, CAS 29. AI Segall, “Pré-formulação: O uso de FTIR em estudos de compatibilidade”, Google Scholar Crossref, CAS 29. AI Segall. *Revista de Ciência Farmacêutica Aplicada*4, não. 3 (2019): 1–6
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.198.111101>, Google Scholar Crossref, CAS 30. ES El-Leithy e RS Abdel-Rashid, “Validação e aplicação do método espectrofotométrico de Vierordt para estimativa simultânea de tamoxifeno/coenzima Q10 em seu binário Misturas e formas farmacêuticas”, *Jornal Asiático de Ciências Farmacêuticas*11, não. 2 (2016): 318–325, <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.02.005>.
- <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.198.111101>, Google Scholar Crossref, CAS 31. B. Liu, J. Zeng, C. Chen, et al. *Química Alimentar*194 (2016): 1156–1163, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.001>.
- [PubMed] 32. YL Wu, JC Chang, HL Sun, et al., “A suplementação de coenzima Q10 aumenta a remoção da repetição de poliglutamina ATXN3, reduz a degeneração cerebelar e melhora a disfunção motora na ataxia espinocerebelar murina tipo 3”, *Nutrientes*14, não. 17 (2022): 3593, <https://doi.org/10.3390/nu14173593>.
- Google Scholar Crossref, CAS 33. GA Davies e JR Stokes, “Filme fino e reologia de alto cisalhamento de fluidos complexos multifásicos”, Google Scholar *Jornal de Mecânica dos Fluidos Não-Newtoniana*148, não. 1–3 (2008): 73–87, <https://doi.org/10.1016/j.jnnfm.2007.04.013>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 34. S. Rani, KB Banik e S. Rath, “Formulação e avaliação de produto dermatológico contendo niacinamida”, Google Scholar Crossref *InGenDis Geriatria*1337 (2021): 331–337, https://doi.org/10.1007/978-3-030-78771-4_3.
- “Coenzima Q10 e imunidade: um relato de caso e novas implicações para o tratamento de infecções recorrentes”, 35. S. Farough, A. Kara, MA Walker, et al. *Biofatores*43, não. 6 (2017): 850–855, <https://doi.org/10.12345/bf98765>.
- [Artigo gratuito do PMC] [PubMed] 36. Leong MY, Kong YL, Burgess K, Wong WF, Sethi G, et al. Y. Looi, “Desenvolvimento recente de nanomateriais para administração transdérmica de medicamentos”, *Biomedicina*11, não. 4 (2023): 1124, <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041124>.