



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS
E SINTÉTICOS BIOATIVOS

ANA FLÁVIA CHAVES UCHÔA

**Hidrogel de *Aloe vera* contendo óleo de copaíba encapsulado
em carreadores lipídicos nanoestruturados para tratamento da
dermatite atópica**

João Pessoa - PB

2026

ANA FLÁVIA CHAVES UCHÔA

**Hidrogel de *Aloe vera* contendo óleo de copaíba encapsulado em
carreadores lipídicos nanoestruturados para tratamento da dermatite
atópica**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior

Coorientador: Profa. Dra. Renata Fonseca Vianna Lopez

João Pessoa – PB

2026

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

U17h Uchôa, Ana Flávia Chaves.

Hidrogel de Aloe vera contendo óleo de copaíba encapsulado em carreadores lipídicos nanoestruturados para tratamento da dermatite atópica / Ana Flávia Chaves Uchôa. - João Pessoa, 2026.

129 f. : il.

Orientação: Francisco Humberto Xavier Júnior.

Coorientação: Renata Fonseca Vianna Lopez.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Óleos essenciais. 2. Atividade antioxidante. 3. Atividade anti-inflamatória. 4. Nanotecnologia. I. Júnior, Francisco Humberto Xavier. II. Lopez, Renata Fonseca Vianna. III. Título.

UFPB/BC

CDU 665.52/.54(043)

ANA FLÁVIA CHAVES UCHÔA

Hidrogel de *Aloe vera* contendo óleo de copaíba encapsulado em carreadores lipídicos nanoestruturados para tratamento da dermatite atópica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JUNIOR

Data: 31/01/2026 19:57:02-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior
Orientador/Presidente – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



RENATA FONSECA VIANNA LOPEZ

Data: 31/01/2026 21:07:42-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Renata Fonseca Vianna Lopez
Coorientador – Universidade de São Paulo - Campus Ribeirão Preto (USP-RP)

Documento assinado digitalmente



YURI MANGUEIRA DO NASCIMENTO

Data: 31/01/2026 19:49:34-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Yuri Mangureira do Nascimento
Membro interno – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



MARIANE CAJUBA DE BRITTO LIRA NOGUEIRA

Data: 31/01/2026 20:27:39-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira
Membro externo – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus, por me guiar e me proporcionar tudo o que tenho hoje. À minha mãe, que sempre fez o possível e o impossível para garantir a melhor educação para mim. Sem seus esforços, seu amor e sua dedicação, eu jamais estaria aqui. Ao meu vózinho, que sempre sonhou em me ver “doutora”, e sei que lá de cima está acompanhando cada passo da minha trajetória. Ao meu pai, meus irmãos, avós, tios e primos, por sempre me apoiarem e se orgulharem das minhas escolhas.

Ao meu namorado, que esteve comigo em literalmente todos os momentos dessa caminhada e que acreditou em mim até mesmo quando eu não acreditei. Sua presença tornou tudo muito mais leve.

Aos meus amigos de sempre, Boli, Bia, Nina, Ana Emília, Carol e Mari, por todo apoio nos momentos bons e ruins, pelas saídas, pelas viagens, pelas conversas, por tudo. Tenho muita sorte de ter vocês comigo há tantos anos. A Hervilly (*in memoriam*), que esteve comigo em tantos momentos maravilhosos, que viveu e sonhou junto comigo e que foi uma das melhores pessoas que eu tive o prazer de conhecer nessa vida. Ainda não consigo acreditar que você se foi, amigo... mas sei que vamos nos reencontrar em outras vidas.

À minha segunda família, os integrantes do BioTecFarm, que enfrentaram comigo longos dias e noites de experimento, de organização de eventos, escrita de trabalhos científicos e participação de congressos... e que, além de tudo isso, se tornaram amigos que levarei para a vida inteira, que sei que estarão comigo em tudo que eu precisar. Sem vocês no meu dia a dia, sem nossas saídas para “faculdadar” ou nossas fofocas que duram horas, minha rotina não seria tão prazerosa. Em especial a Anderson, “meu IC”, que me ajudou incontáveis vezes nas coletas das mucilagens e nas produções das formulações; você foi essencial para esse projeto ter sido desenvolvido em tão pouco tempo!

Ao Oncofar, especialmente a Ramon e à Profa. Marianna Sobral, por terem cedido seu tempo e espaço e me permitido acompanhar e aprender a rotina de um laboratório de cultura de células.

Aos integrantes do Nanotop (USP-RP), que me receberam tão bem e fizeram meus dois meses em Ribeirão Preto serem muito proveitosos. Em especial a Bianca e Francisco, que me ensinaram milhares de técnicas em apenas algumas semanas, e foram essenciais para a finalização deste projeto.

A todos os docentes de excelência da Universidade Federal da Paraíba, que contribuíram para minha formação profissional e pessoal, desde a graduação até o mestrado. Tenho muito orgulho de fazer parte dessa instituição.

Ao meu orientador, Prof. Humberto, que viu potencial em mim desde muito cedo, e permanece acreditando e me incentivando sempre. Sou eternamente grata por tudo... por todas as conversas, sejam científicas ou não, confraternizações, viagens e, sobretudo pela orientação excepcional. Sempre fiz questão de dizer para todo mundo que Humberto, além de um profissional excepcional, é como um pai para mim, que levarei para a vida. Obrigada por tudo, prof!

À minha coorientadora, Profa. Renata, por abrir as portas do seu laboratório para que eu pudesse aprender tantas técnicas incríveis e por ter aceitado vivenciar esse processo, que, apesar de corrido, foi muito gratificante.

À banca de defesa de dissertação, composta pelos professores doutores Yuri Manguiera do Nascimento e Mariane Cajubá de Britto Lira Nogueira, assim como os suplentes, professores doutores Elquio Eleamen Oliveira e Éverton do Nascimento Alencar. Obrigada por aceitarem o convite para fazer parte desse momento tão importante para mim, e por contribuírem para minha formação continuada como profissional.

Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, por me proporcionar crescimento científico e maturidade para minha vida profissional. À Universidade Federal da Paraíba, que tem sido minha casa há quase 7 anos e que me proporcionou alçar voos que eu jamais achei possível. Aos servidores da UFPB, em especial Carlos e Anderson, que foram sempre muito solícitos às nossas necessidades e tornaram o dia a dia do laboratório mais tranquilo. Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e por tornar possível o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

RESUMO

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica da pele marcada por disfunção de barreira, prurido e inflamação recorrente. O óleo de copaíba (OC) apresenta atividade anti-inflamatória e cicatrizante, enquanto a hidratação e a reposição de emolientes são fundamentais no manejo da DA. Neste trabalho, foram desenvolvidos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) contendo OC e investigado o seu desempenho *in vitro*, visando seu uso tópico através da incorporação em hidrogéis à base de *Aloe vera*. CLNs dialisados foram produzidos pela técnica de emulsificação a quente seguida de ultrassonicação, contendo 6% de OC, e apresentaram tamanho de $192,7 \pm 2,2$ nm, Pdl $0,13 \pm 0,04$ e potencial zeta $-35,2 \pm 1,0$ mV. A citotoxicidade das formulações foi avaliada por ensaio de MTT em HaCaT, com IC₅₀ de $73,59 \pm 1,21$ µg/mL. A mucilagem de *Aloe Vera* foi extraída e caracterizada quanto à estrutura e presença de aloína, sendo confirmado perfil polissacarídico e presença de picos de baixa intensidade referentes à aloína. Foram produzidos hidrogéis contendo a mucilagem, que demonstraram comportamento reológico e de textura adequados para aplicação tópica, mesmo após associação aos CLNs. O estresse oxidativo foi avaliado em RAW 264.7, utilizando as formulações na concentração final equivalente a 25 µg/mL de OC, onde o hidrogel contendo CLNs (H-CLN) foi o único capaz de atenuar completamente o estado oxidante induzido por forbol 12-miristato 13-acetato (PMA, 200 ng/mL). Já a atividade anti-inflamatória foi investigada sob estímulo com lipopolissacarídeo (LPS, 1 µg/mL). Na quantificação de NO₂⁻, CLN reduziu significativamente o marcador em relação ao LPS. Através do ELISA, observou-se redução de IL-6 para CLN (-43,9%) e OC (-34,0%), enquanto, para TNF-α, CLN apresentou redução estatisticamente significativa (-23,2%). Portanto, conclui-se que a nanoencapsulação potencializou a ação antioxidante e anti-inflamatória do óleo de copaíba, destacando o potencial do sistema desenvolvido para tratamento de inflamações tópicas.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Óleos essenciais. Atividade antioxidante. Atividade anti-inflamatória.

ABSTRACT

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disease characterized by barrier dysfunction, pruritus, and recurrent inflammation. Copaiba oil (CO) exhibits anti-inflammatory and wound-healing activity, while hydration and emollient replenishment are fundamental in AD management. In this study, copaiba oil-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) were developed and their in vitro performance was investigated, aiming at topical use through incorporation into Aloe vera-based hydrogels. Dialyzed NLCs were produced by hot emulsification followed by ultrasonication, containing 6% CO, and showed a size of 192.7 ± 2.2 nm, Pdl 0.13 ± 0.04 , and zeta potential -35.2 ± 1.0 mV. The cytotoxicity of the formulations was assessed by the MTT assay in HaCaT cells, with an IC₅₀ of 73.59 ± 1.21 µg/mL. Aloe vera mucilage was extracted and structurally characterized, including the presence of aloin; a polysaccharide profile was confirmed, along with low-intensity peaks related to aloin. Hydrogels containing the mucilage were produced and demonstrated rheological and texture properties suitable for topical application, even after association with the NLCs. Oxidative stress was evaluated in RAW 264.7 cells using the formulations at a final concentration equivalent to 25 µg/mL of CO, in which the hydrogel containing NLCs (H-NLC) was the only one able to completely attenuate the oxidant state induced by PMA (200 ng/mL). Anti-inflammatory activity was investigated under stimulation with LPS (1 µg/mL). For NO₂⁻ quantification, NLC significantly reduced this marker compared with LPS. By ELISA, a reduction in IL-6 was observed for NLC (-43.9%) and CO (-34.0%), whereas for TNF-α, NLC showed a statistically significant reduction (-23.2%). Therefore, it is concluded that nanoencapsulation promoted superior antioxidant and anti-inflammatory effects compared with free copaiba oil, highlighting the potential of the developed system for the treatment of topical inflammation.

Keywords: Nanotechnology. Essential oils. Antioxidant activity. Anti-inflammatory activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização estrutural da epiderme humana	20
Figura 2. Moléculas envolvidas e fármacos disponíveis para o manejo da DA	28
Figura 3. Estrutura química do β -cariofileno.....	30
Figura 4. Estrutura química da acemanana, principal polissacarídeo da mucilagem de <i>Aloe vera</i>	32
Figura 5. Processo de coleta da mucilagem de <i>Aloe vera</i>	51
Figura 6. Comparação entre os parâmetros físico-químicos das formulações purificadas	63
Figura 7. Citotoxicidade na linhagem celular HaCaT após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio MTT	65
Figura 8. Distribuição de tamanho de partículas do sistema segundo NTA... 67	67
Figura 9. Análise comparativa dos espectros de FTIR dos CLNs e de seus componentes.....	69
Figura 10. TG (A) e DSC (B) dos CLNs produzidos e purificados	71
Figura 11. MET dos CLN na escala de 1 μ m (A) e 200 nm (B) e MEV dos CLN na escala de 1 μ m (C) e 200 nm (D)	72
Figura 12. Diferenças de tamanho de partículas (A) e potencial zeta (B) dos CLNs ao longo de 90 dias e 4, 25 e 37 °C	73
Figura 13. Cromatograma de íons totais (A), sinal referente a aloína (B) e íons relacionados (C).....	75
Figura 14. Espectros de RMN de ^1H (A) e ^{13}C (B) da mucilagem.....	77
Figura 15. Aspecto macroscópico do hidrogel sem CLNs (A) e com CLNs (B)	78
Figura 16. TG (A) e DSC (B) dos hidrogéis, com e sem CLNs.....	79
Figura 17. Reologia do hidrogel (A) e H-CLN (B)	80

Figura 18. Resultados obtidos através de texturômetro para Hidrogel e H-CLN	82
Figura 19. Parâmetros de bioadesão avaliados em pele suína	84
Figura 20. Ruptura da ligação bioadesiva entre o Hidrogel (A), o H-CLN (B) e a pele de orelha suína	86
Figura 21. Avaliação macroscópica dos hidrogéis ao longo de 90 dias	87
Figura 22. Citotoxicidade na linhagem celular NIH 3T3 após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio de MTT	91
Figura 23. Citotoxicidade na linhagem celular RAW 264.7 após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio de Resazurina	91
Figura 24. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser dos canais azul (Hoechst) e verde (vermelho de Nilo) em HaCaT após incubação com CLNs por 0,5, 1, 2, 3 e 5 h	95
Figura 25. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser dos canais azul (Hoechst) e verde (vermelho de Nilo) em RAW 264.7 após incubação com CLNs por 0,5, 1, 2, 3 e 5 h	96
Figura 26. Intensidade média de fluorescência da sonda DCFH-DA em RAW 264.7 sob tratamento com as diferentes formulações e PMA	99
Figura 27. Quantificação indireta da produção de NO em células RAW 264.7 tratadas com as diferentes formulações e o LPS	101
Figura 28. Quantificação por ELISA da produção de IL-6 (A) e TNF- α (B) por RAW 264.7 tratadas com as diferentes formulações, na presença ou não de LPS	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos experimentais de produção de nanossistemas aplicados à redução da inflamação associada à dermatite atópica	37
Tabela 2. Parâmetros físico-químicos das formulações purificadas	64
Tabela 3. Concentração que inibe 50% do crescimento celular (CI_{50}) em HaCaT após tratamento com as formulações por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT	66
Tabela 4. Estabilidade macroscópica dos hidrogéis armazenados	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACN – Acetonitrila
- AMP – Aminometilpropanol
- AP-1 – Proteína ativadora 1
- CB2 – Receptor canabinoide tipo 2
- CD4 – Grupamento de Diferenciação 4 (linfócito T CD4+)
- Cl₅₀ – Concentração inibitória de 50%
- CLN-C – CLNs purificados por centrifugação
- CLN-CF – CLNs purificados por centrifugação + filtração
- CLN-D – CLNs purificados por diálise
- CLN-F – CLNs purificados por filtração
- CLNs – carreadores lipídicos nanoestruturados
- CO₂ – dióxido de carbono
- COX-2 – Ciclo-oxigenase 2
- DA – Dermatite atópica
- DAG – Diacilglicerol
- DCFH-DA – 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato
- DLS – Espalhamento dinâmico de luz
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DP – Desvio padrão
- DSC – Calorimetria exploratória diferencial
- EC – Estrato córneo
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
- ELISA – Ensaio imunoenzimático
- EMA – Agência europeia de medicamentos
- ESI – Ionização por electrospray
- FBS – Soro fetal bovino
- FDA – *Food and Drug Administration* (EUA)
- FLG – Filagrina
- FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
- HaCaT – Linhagem de queratinócitos humanos imortalizados

H-CLN – Hidrogel contendo CLN

IASC – Conselho Internacional de Ciência da Aloe

ICAM – Molécula de adesão intercelular

IFN – Interferon

IgE – Imunoglobulina E

IL – Interleucina

iNOS – Óxido nítrico sintase induzível

ISO – International Organization for Standardization

JAK – Janus quinase

KIF3A – Membro 3A da família da cinesina

LC-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LMA – Leve modificação de aparência

LMC – Leve modificação de cor

LMO – Leve modificação de odor

LPS – Lipopolissacarídeo

MA – Modificação de aparência

MC – Modificação de cor

MCT – Triglicerídeos de cadeia média

MDA – Malondialdeído

MET – Microscopia eletrônica de transmissão

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MFI – Intensidade média de fluorescência

MO – Modificação de odor

MPO – Mieloperoxidase

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo

MWCO – Massa molecular de corte

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NF-κB – Fator nuclear kappa B

NIH/3T3 – Linhagem de fibroblastos murinos NIH/3T3

NO – Óxido nítrico

NO₂⁻ – Nitrito

NO₃⁻ – Nitrato
NOA – Analisador de óxido nítrico
NOS2 – Óxido nítrico sintase 2
NOX2 – NADPH oxidase 2
NTA – Análise de rastreamento de nanopartículas
OC – Óleo de copaíba
PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos
PBS – solução tampão fosfato
Pdl – índice de polidispersão
pH – Potencial hidrogeniônico
PKC – Proteína quinase C
PMA – Forbol 12-miristato 13-acetato
PVDF – Fluoreto de polivinilideno
RAW 264.7 – Linhagem de macrófagos murinos RAW 264.7
RMN – Ressonância magnética nuclear
ROS – Espécies reativas de oxigênio
SDS – Dodecil sulfato de sódio
SOD – Superóxido dismutase
STAT – Transdutor de sinal e ativador de transcrição
TG – Termogravimetria
TGF-β – Fator de crescimento transformador beta
Th1 – Linfócito T auxiliar tipo 1
Th17 – Linfócito T auxiliar tipo 17
Th2 – Linfócito T auxiliar tipo 2
TLR4 – Receptor Toll-like 4
TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa
TOF – Tempo de voo
TPA – Análise de perfil de textura
TSLP – Linopietina estromal tímica
VCAM-1 – Molécula de adesão vascular-1

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1. Fisiopatologia da dermatite atópica	20
2.2. Tratamentos para a dermatite atópica.....	24
2.2.1. <i>Terapias anti-inflamatórias convencionais</i>	25
2.2.2. <i>Terapias direcionadas</i>	26
2.3. Produtos naturais como potencial tratamento	29
2.3.1. <i>Óleo de copaíba</i>	29
2.3.2. <i>Hidrogéis poliméricos e o potencial da Aloe vera</i>	31
2.4. Nanotecnologia aplicada ao tratamento da dermatite atópica	34
3. OBJETIVOS	44
3.1. Objetivo geral.....	44
3.2. Objetivos específicos	44
4. MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1. Local da pesquisa.....	46
4.2. Material.....	46
4.3. Produção das nanopartículas.....	47
4.4. Caracterização físico-química das nanopartículas	48
4.4.1. <i>Tamanho de partícula e índice de polidispersão</i>	48
4.4.2. <i>Potencial zeta</i>	48
4.4.3. <i>Rastreamento de nanopartículas (NTA)</i>	48
4.4.4. <i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> 49	
4.4.5. <i>Análises térmicas</i>	49
4.5. Morfologia	49
4.5.1. <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	49
4.5.2. <i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</i>	50
4.6. Estabilidade das nanopartículas	50
4.7. Coleta da mucilagem de <i>Aloe vera</i>	50
4.8. Caracterização físico-química da mucilagem de <i>Aloe vera</i>	51
4.8.1. <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)</i>	51
4.8.2. <i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	52
4.9. Produção do hidrogel à base de <i>Aloe vera</i>	53
4.10. Caracterização físico-química dos hidrogéis	53
4.10.1. <i>Análises térmicas</i>	53
4.10.2. <i>Propriedades reológicas</i>	54

4.10.3. <i>Propriedades mecânicas e de bioadesão</i>	54
4.11. Estabilidade dos hidrogéis	55
4.12. Ensaios de citotoxicidade <i>in vitro</i>	55
4.13. Internalização das nanopartículas.....	57
4.14. Avaliação do estresse oxidativo.....	58
4.15. Avaliação da atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i>	59
4.15.1. <i>Produção de NO₂⁻</i>	59
4.15.2. <i>Produção de IL-6 e TNF-α</i>	60
4.16. Análises estatísticas	61
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1. Produção e purificação dos nanossistemas	63
5.2. Ensaio de citotoxicidade dos nanossistemas purificados	65
5.3. Rastreamento de nanopartículas	67
5.4. Espectroscopia no infravermelho	68
5.5. Análises térmicas	70
5.6. Morfologia	71
5.7. Estabilidade físico-química.....	72
5.8. Caracterização físico-química da mucilagem de Aloe vera	74
5.8.1. <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas</i>	74
5.8.2. <i>Ressonância magnética nuclear</i>	77
5.9. Produção e caracterização do hidrogel à base de Aloe vera	79
5.9.1. <i>Análises térmicas</i>	79
5.9.2. <i>Propriedades reológicas</i>	81
5.9.3. <i>Propriedades mecânicas e de bioadesão</i>	83
5.10. Estabilidade dos hidrogéis	87
5.11. Ensaios de citotoxicidade.....	91
5.12. Internalização das nanopartículas.....	95
5.13. Avaliação do estresse oxidativo.....	98
5.14. Avaliação da atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i>	100
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
7. REFERÊNCIAS	107
ANEXOS	125

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica da pele, caracterizada por prurido intenso e lesões eczematosas recorrentes (Langan *et al.*, 2020). Trata-se de uma das dermatoses mais comuns em todo o mundo, afetando significativamente a qualidade de vida dos pacientes e podendo ocorrer em qualquer idade, sendo que aproximadamente 60% dos pacientes desenvolvem a doença no primeiro ano de vida (Tian *et al.*, 2023). A DA pode acometer até cerca de 20% das crianças e até 10% dos adultos em todo o mundo, embora haja variações regionais (Ghazal *et al.*, 2022). Além das implicações físicas, ela impõe também considerável carga socioeconômica devido a custos de tratamento e perda de produtividade, sendo hoje reconhecida como uma das principais causas de anos vividos com incapacidade (Laughter *et al.*, 2021).

O tratamento convencional da dermatite atópica baseia-se no controle da inflamação e do prurido, bem como na restauração da barreira cutânea, sendo os corticosteroides tópicos os fármacos de primeira linha. Entretanto, seu uso prolongado pode causar efeitos adversos locais, como atrofia cutânea e estrias (Zhang *et al.*, 2025). Em casos moderados a graves, há necessidade de terapias sistêmicas imunomoduladoras, contudo, estas apresentam toxicidade importante com uso crônico, como nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, limitando sua utilização (Langan *et al.*, 2020). Assim, apesar das opções disponíveis, muitos pacientes com DA não alcançam o controle ideal da doença ou sofrem com efeitos adversos, ressaltando a necessidade de alternativas terapêuticas mais seguras, eficazes e acessíveis.

Diante disso, cresce a necessidade de abordagens inovadoras que combinem eficácia, segurança e entrega direcionada do ativo. Assim, os avanços em nanotecnologia têm aberto novas possibilidades para entrega mais precisa de agentes terapêuticos à pele inflamada, aumentando a biodisponibilidade e minimizando a exposição sistêmica e a toxicidade (Campos *et al.*, 2020). Essa abordagem se torna ainda mais promissora quando aliada ao uso de produtos naturais, como óleos essenciais, que apresentam propriedades farmacológicas

relevantes, ampla aceitação e menor custo (Achagar *et al.*, 2024). O óleo essencial de copaíba (OC), por exemplo, possui atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e cicatrizantes bem documentadas na literatura (Frazão *et al.*, 2023), o que o torna um candidato interessante para o tratamento da DA, uma doença que envolve disfunção de barreira, inflamação crônica e, frequentemente, colonização bacteriana por *Staphylococcus aureus* (Weidinger *et al.*, 2018).

Dentre os diversos tipos de nanopartículas (poliméricas, lipídicas, metálicas etc.) os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) se destacam, pois apresentam excelente tolerabilidade cutânea e capacidade de melhorar a permeação através da pele lesionada, ao mesmo tempo em que protegem o ativo encapsulado da degradação e prolongam sua ação local (Paiva-Santos *et al.*, 2022). Adicionalmente, permitem a liberação controlada do composto bioativo e podem minimizar efeitos adversos associados ao uso tópico de óleos essenciais, contribuindo para maior eficácia terapêutica e segurança (Khan; Sharma; Jain, 2023; Sindle; Martin, 2020).

Paralelamente, hidrogéis são polímeros tridimensionais caracterizados por seu elevado conteúdo aquoso, o que os torna veículos ideais para aplicações dermatológicas, contribuindo para um ambiente úmido favorável à cicatrização (Liu; Chen, 2024). Já a mucilagem da *Aloe vera* como matriz de um hidrogel é fundamentada em seu perfil fitoquímico diversificado, que inclui polissacarídeos, vitaminas, enzimas e minerais, conferindo-lhe propriedades anti-inflamatórias, hidratantes e cicatrizantes (Catalano *et al.*, 2024).

Assim, parte-se da hipótese de que formulações tópicas baseadas em carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo de copaíba, quando incorporadas em hidrogéis à base de *Aloe vera*, podem contribuir para o manejo da DA ao atuar simultaneamente sobre a inflamação, o estresse oxidativo e a disfunção da barreira cutânea, além de promover hidratação e emoliência da pele. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar CLNs contendo OC, incorporar esses sistemas em hidrogéis e avaliar, *in vitro*, o desempenho das formulações quanto à segurança, propriedades reológicas e efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios.

Fundamentação teórica

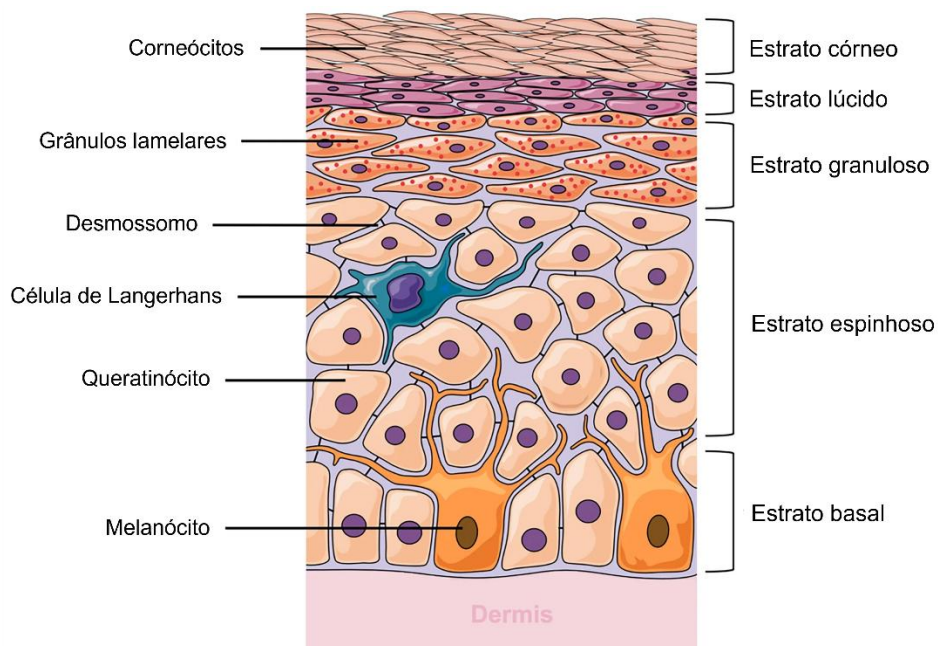
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Fisiopatologia da dermatite atópica

A dermatite atópica, também conhecida como eczema atópico, é uma desordem cutânea inflamatória crônica caracterizada por lesões pruriginosas, eritema, descamação, ressecamento e espessamento da pele (Afshari *et al.*, 2024). Essa condição está frequentemente associada a outras doenças atópicas, como asma e rinite alérgica, podendo desencadear efeitos sistêmicos nos indivíduos afetados (Smirnova *et al.*, 2020). Para além do impacto clínico, a DA compromete significativamente a qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares, aumentando o risco de desenvolvimento de comorbidades, incluindo distúrbios de saúde mental e outras condições dermatológicas (Tian *et al.*, 2023).

A DA tem origem em uma interação multifatorial que envolve predisposição genética, desregulação imunológica, disfunção da barreira epidérmica e fatores ambientais, os quais, em conjunto, comprometem a homeostase cutânea e promovem inflamação crônica. A barreira cutânea é composta por diferentes camadas de células epiteliais na epiderme (Figura 1), que passam por um processo de diferenciação para estabelecer e manter uma barreira funcional da pele (Kim, Kim, Leung, 2019).

Figura 1. Organização estrutural da epiderme humana.



Fonte: Adaptado de Ramadan *et al.*, 2022

A camada mais profunda, a camada basal, contém células-tronco que dão origem aos queratinócitos, o principal tipo celular da barreira epidérmica. À medida que os queratinócitos se diferenciam e migram em direção às camadas superiores, passam a expressar proteínas estruturais, como desmogleínas e desmocolinas, formando a camada espinhosa (Ishida-Yamamoto *et al.*, 2018). Na camada granulosa, essas células produzem grânulos de querato-hialina ricos em filagrina (FLG), uma proteína essencial para a compactação celular. Simultaneamente, os corpos lamelares secretam lipídios, incluindo ceramidas, colesterol e ácidos graxos, que se integram à FLG para iniciar o processo de cornificação (Ipponjima *et al.*, 2020).

A camada mais externa, o estrato córneo (EC), é constituída por corneócitos, células anucleadas derivadas da diferenciação dos queratinócitos, conectados por lipídios e produtos de degradação da filagrina. Essas estruturas organizam-se em formações lamelares, prevenindo a desidratação e atuando como a primeira linha de defesa da barreira cutânea. O processo de descamação, responsável pela eliminação dos corneócitos, depende de enzimas armazenadas e secretadas a partir dos corpos lamelares (Bouwstra *et al.*, 2023). Dessa forma, alterações na composição do EC, como a redução dos níveis de ceramidas e da filagrina, resultam em um aumento da perda de água transepidérmica, facilitam a permeabilidade a alérgenos e irritantes e favorecem a colonização bacteriana, desencadeando coletivamente o processo inflamatório associado à DA (Stefanovic, Irvine, 2024).

Do ponto de vista genético, diversos genes têm sido implicados na suscetibilidade à DA, incluindo aqueles envolvidos nas respostas imune inata (por exemplo, receptores do tipo toll e defensinas) e adaptativa (por exemplo, subunidades do receptor de imunoglobulina E) (Nedoszytko *et al.*, 2020). Destaca-se que mutações no gene da filagrina levam à redução da expressão dessa proteína, comprometendo a regulação do pH e a síntese lipídica no estrato córneo. O aumento do pH cutâneo resultante promove a ativação de enzimas proteolíticas, que degradam a estrutura do estrato córneo e desencadeiam a ativação imune. Além disso, polimorfismos em genes relacionados à resposta imune, como o KIF3A e aqueles que codificam a linfopoiétina estromal tímica

(TSLP), contribuem adicionalmente para a disfunção da barreira cutânea e para a desregulação imunológica (Kim, Kim, Leung, 2019; Nedoszytko *et al.*, 2020).

A TSLP, particularmente sua isoforma longa (TSLP-1), é uma alarmina epidérmica fundamental liberada em resposta a danos da barreira cutânea induzidos por trauma mecânico, irritantes químicos ou adesão microbiana (Furie *et al.*, 2017). Dessa forma, níveis elevados de TSLP-1 na pele lesionada de pacientes com dermatite atópica tornam essa citocina um potencial biomarcador precoce da doença (Adhikary *et al.*, 2021). A TSLP também promove a ativação das células de Langerhans na epiderme, as quais apresentam antígenos a linfócitos T CD4+ *naive* por meio de receptores do tipo Toll (TLRs), responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a dano e a patógenos (DAMPs e PAMPs). Esse processo favorece a diferenciação das células T auxiliares para o fenótipo Th2, caracterizado pela secreção das interleucinas IL-4, IL-13 e IL-31 (Kim, Kim, Leung, 2019).

Essas citocinas ligam-se a receptores de superfície celular e ativam a via de sinalização *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription* (JAK-STAT) (Huang *et al.*, 2022), levando à transcrição de genes pró-inflamatórios que comprometem o reparo da barreira cutânea e perpetuam o estado inflamatório. Como consequência, a ativação excessiva do eixo Th2 pode induzir autoimunidade mediada por linfócitos T e estimular a produção de imunoglobulina E (IgE) por células B, a qual, por sua vez, promove a ativação de mastócitos e eosinófilos. Essas células liberam histamina e outros mediadores pró-inflamatórios, intensificando o prurido, o dano tecidual e estabelecendo um ciclo inflamatório autoalimentado que agrava a inflamação associada à dermatite atópica (Czarnowicki *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2023). Paralelamente, a polarização do eixo Th2 e a disfunção dos queratinócitos levam à redução da produção de peptídeos antimicrobianos, especialmente catelicidinas e β -defensinas, o que favorece a colonização por *Staphylococcus aureus*, cujos PAMPs são reconhecidos pelo sistema imune inato, contribuindo para a perpetuação da inflamação cutânea (Czarnowicki *et al.*, 2019).

Embora o perfil Th2 seja predominante, a fisiopatologia da dermatite atópica envolve uma interação complexa de citocinas, especialmente em casos

moderados a grave, onde o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) e a Interleucina-6 (IL-6) desempenham papéis relevantes na inflamação e na alteração da barreira cutânea (Criado *et al.*, 2024). Estudos utilizando modelos de epiderme humana demonstraram que o TNF- α , isoladamente ou em combinação com citocinas Th2, induz alterações morfológicas e reduz significativamente a expressão de filagrina, comprometendo a função de barreira (Danso *et al.*, 2014). Além disso, o TNF- α ainda é um potente ativador da via do NF- κ B, um fator de transcrição que regula a expressão de genes pró-inflamatórios e moléculas de adesão, incluindo ICAM-1, E-selectina e VCAM-1, fundamentais para a adesão e recrutamento de leucócitos para o local da inflamação (Zelová; Hošek, 2013).

Concomitantemente, a IL-6 atua como um mediador pleiotrópico entre a imunidade inata e adaptativa. Em lesões crônicas relacionadas à DA, há produção de grandes quantidades desta citocina, e sua combinação com o TGF- β é indispensável para a diferenciação de células T CD4+ virgens em células Th17, ao mesmo tempo em que inibe a diferenciação de células T reguladoras, o que pode perpetuar o desequilíbrio imunológico (Tanaka *et al.*, 2014; Navarini *et al.*, 2011). Adicionalmente, evidências clínicas mostram que a IL-6 auxilia na proliferação excessiva de queratinócitos e que o bloqueio da sinalização do receptor de IL-6 resulta em melhora significativa dos sintomas relacionados à DA, reduzindo a inflamação cutânea (Navarini *et al.*, 2011).

Respostas mediadas por linfócitos Th17 e Th22 também são ativadas na dermatite atópica. Em condições normais, essas células produziram, respectivamente, as citocinas IL-17 e IL-22, que desempenham papéis essenciais na defesa contra patógenos fúngicos e bacterianos e na regulação da barreira epitelial após lesão tecidual (Furue *et al.*, 2017). Entretanto, níveis elevados delas podem agravar a disfunção da barreira cutânea, aumentar a suscetibilidade a infecções secundárias e interagir com a resposta Th2, intensificando ou modulando a inflamação associada à DA (Tokura, Hayano, 2022; Furue *et al.*, 2017).

Intrinsecamente associado a essa cascata de citocinas, o estresse oxidativo atua não apenas como uma consequência, mas como um fator

patogênico central na dermatite atópica. O infiltrado inflamatório na derme, composto majoritariamente por macrófagos, eosinófilos e neutrófilos, é responsável pela superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Bertino *et al.*, 2020). Em condições de homeostase, sistemas antioxidantes endógenos, tanto enzimáticos (como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) quanto não enzimáticos (como carotenoides, tocoferol e ácido ascórbico), neutralizariam essas espécies. Contudo, na pele de pacientes com DA, observa-se uma diminuição dessas defesas, resultando em um acúmulo de ROS (Alessandrello *et al.*, 2024).

Essas espécies promovem peroxidação lipídica, um processo que é facilitado pelo fato de a pele ser um alvo preferencial devido ao seu alto teor de lipídios, incluindo ácidos graxos poli-insaturados. O ataque oxidativo a esses lipídios gera produtos como óxido nítrico, malondialdeído e 4-hidroxinonenal, os quais podem alterar a estrutura e função da barreira cutânea, aumentando a perda de água transepidermica e facilitando a penetração de patógenos (Ji; Li, 2016; Bertino *et al.*, 2020). Adicionalmente, o estresse oxidativo causa danos a proteínas e ao DNA dos queratinócitos, contribuindo para a apoptose celular e disfunção da barreira, além de ativar rotas pró-inflamatórias, como a do NF- κ B (Raimondo *et al.*, 2023). Assim, estratégias que visem restaurar o equilíbrio redox e inibir essa retroalimentação inflamatória são consideradas promissoras para o controle da doença.

2.2. Tratamentos para a dermatite atópica

O tratamento farmacológico da dermatite atópica visa restaurar a barreira cutânea, reduzir a inflamação e controlar o prurido, com o objetivo mais amplo de alcançar o controle da doença a longo prazo, e não apenas o alívio dos sintomas agudos (Afshari *et al.*, 2024). As estratégias terapêuticas devem ser individualizadas para cada paciente, considerando a gravidade da doença, a idade e a localização anatômica das lesões. Em casos leves a moderados, tratamentos tópicos geralmente são suficientes para reverter os sintomas, enquanto formas mais graves podem exigir intervenções adicionais, como terapias imunomoduladoras sistêmicas (Langan; Irvine; Weidinger, 2020).

2.2.1. *Terapias anti-inflamatórias convencionais*

Antes do advento das terapias direcionadas, o manejo da dermatite atópica baseava-se quase exclusivamente em abordagens anti-inflamatórias inespecíficas, particularmente no uso de agentes tópicos. Essas terapias permanecem como componentes fundamentais da prática clínica, especialmente em pacientes com doença leve a moderada ou como adjuvantes ao tratamento sistêmico (Jeskey *et al.*, 2024). Dessa forma, as terapias convencionais englobam corticosteroides tópicos e inibidores tópicos da calcineurina, além de estratégias de suporte destinadas a restaurar a barreira cutânea e prevenir exacerbações (Zhang *et al.*, 2025).

Os corticosteroides tópicos têm sido o pilar do tratamento da DA por mais de seis décadas, já que exercem efeitos imunossupressores e anti-inflamatórios amplos por meio da modulação da transcrição gênica após ligação ao receptor de glicocorticoides. Esse mecanismo resulta na diminuição da expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias envolvidas na inflamação cutânea (Chiricozzi *et al.*, 2020). Embora sejam eficazes e amplamente acessíveis, seu uso requer cuidadosa supervisão clínica devido ao risco de efeitos adversos locais e sistêmicos, especialmente quando aplicados em áreas cutâneas sensíveis ou por períodos prolongados (Barnes; Kaya; Rollason, 2015).

Eles estão disponíveis em diversas formas farmacêuticas, incluindo cremes, pomadas, loções, géis e espumas, as quais influenciam tanto a penetração do fármaco quanto a aceitabilidade pelo paciente (Jeskey *et al.*, 2024). As pomadas tendem a ser mais oclusivas e potentes, sendo mais indicadas para lesões secas e liquenificadas, enquanto os géis são preferidos para áreas cutâneas úmidas ou exsudativas. Apesar de sua eficácia, o uso prolongado ou excessivo dos corticosteroides tópicos está associado a efeitos adversos, dos quais destacam-se atrofia cutânea, estrias, telangiectasias, dermatite perioral e sensibilidade (Barnes; Kaya; Rollason, 2015). Os efeitos sistêmicos, embora raros com o uso tópico, podem ocorrer especialmente quando agentes de alta potência são aplicados em grandes áreas da superfície corporal, sob oclusão ou em populações pediátricas. Esses efeitos incluem

supressão do eixo hipotálamo–hipófise–adrenal, hiperglicemia e comprometimento do crescimento em crianças (Levin *et al.*, 2014).

Como citado anteriormente, os emolientes e as estratégias de suporte à barreira cutânea desempenham papel fundamental no manejo da doença, independentemente da gravidade. Essas intervenções não farmacológicas auxiliam na restauração da hidratação da pele, na redução da perda transepidermica de água e na prevenção de exacerbações, ao reforçar a integridade estrutural da barreira cutânea (Jeskey *et al.*, 2024). O uso regular de emolientes, por exemplo, tem sido associado à redução da necessidade de medicamentos anti-inflamatórios e à melhora dos desfechos clínicos tanto em populações pediátricas quanto adultas (Hon *et al.*, 2018).

2.2.2. *Terapias direcionadas*

Enquanto as terapias convencionais promovem uma supressão inflamatória ampla, elas carecem de especificidade e frequentemente estão associadas a efeitos adversos ou eficácia limitada em casos de doença moderada a grave. Em contraste, as terapias molecularmente direcionadas são desenvolvidas para interferir em componentes precisos da resposta imune, oferecendo perfis de segurança aprimorados e maior controle da doença a longo prazo. Essas intervenções direcionadas podem ser agrupadas em duas categorias principais: agentes biológicos, geralmente anticorpos monoclonais que bloqueiam citocinas extracelulares ou seus receptores, e pequenas moléculas, que modulam cascatas de sinalização intracelular (Bruin-Weller *et al.*, 2025).

Os biológicos, ou anticorpos monoclonais, são administrados por via subcutânea e promovem imunomodulação sistêmica com alta especificidade. O desenvolvimento dessas terapias foi amplamente impulsionado pelo reconhecimento do papel central das citocinas do tipo 2, particularmente IL-4, IL-13 e IL-31, na coordenação da desregulação imune e da disfunção da barreira cutânea. Diversos agentes biológicos já foram aprovados para uso clínico, como o Dupilumabe e Tralocinumabe, enquanto outros se encontram em estágios avançados de desenvolvimento, com alvo em citocinas menos exploradas, como TSLP e IL-33 (Zhao; Pan; Li, 2023).

Apesar de sua eficácia, os agentes biológicos não são atualmente considerados terapias de primeira linha para a DA, sendo seu uso geralmente reservado a pacientes com doença moderada a grave que não responderam adequadamente às terapias tópicas convencionais ou que apresentam contraindicações ao uso de imunossuppressores sistêmicos (Davis *et al.*, 2024). Primeiramente, esses tratamentos apresentam alto custo, o que restringe o acesso. Em segundo lugar, requerem administração parenteral, o que pode representar uma barreira à adesão e à preferência do paciente, particularmente em populações pediátricas. Por fim, embora a maioria dos agentes biológicos apresente um perfil de segurança favorável, as consequências imunológicas a longo prazo e riscos como conjuntivite, reações no local da injeção ou infecções raras permanecem sob vigilância contínua (Weiss *et al.*, 2021).

Já as terapias com pequenas moléculas constituem uma classe de tratamentos direcionados capazes de modular vias intracelulares ativadas por múltiplas citocinas. Diferentemente dos biológicos, que são administrados por via parenteral, esses agentes geralmente estão disponíveis em formulações orais ou tópicas, oferecendo maior flexibilidade nas vias de administração (Nitulescu *et al.*, 2025). As pequenas moléculas clinicamente mais avançadas no tratamento da DA são os inibidores da Janus quinase (JAK), como Upadacitinibe e Abrocitinibe, que bloqueiam a via de sinalização JAK-STAT envolvida na transmissão de sinais inflamatórios mediada por diversas citocinas (Freitas; Torres, 2023).

Apesar de sua eficácia clínica e do rápido controle sintomático, tanto os inibidores orais quanto os tópicos de JAK apresentam limitações importantes que devem ser consideradas na prática clínica. As formulações orais, embora eficazes na DA moderada a grave, estão associadas a aumento do risco de infecções graves, herpes-zoster, trombose, elevação dos níveis lipídicos, citopenias e, em casos raros, malignidades. Esses riscos motivaram a emissão de alertas por agências regulatórias, como a FDA e a EMA, que recomendam seleção cuidadosa dos pacientes, uso da menor dose eficaz e monitoramento laboratorial regular durante o tratamento (Hoisnard *et al.*, 2022). Os medicamentos tópicos são limitados ao uso de curto prazo e não contínuo devido ao potencial de absorção sistêmica, especialmente quando aplicados em

2.3. Produtos naturais como potencial tratamento

2.3.1. Óleo de copaíba

Diante das limitações das terapias convencionais, a busca por novos fármacos a partir da biodiversidade tem ganhado destaque. Uma estratégia promissora para o desenvolvimento de fármacos destinados ao tratamento de dermatoses inflamatórias, com potencial para maior eficácia e menor incidência de efeitos adversos, consiste no uso racional de produtos naturais. De modo geral, os efeitos terapêuticos dessas matrizes vegetais são atribuídos ao sinergismo entre seus metabólitos secundários, como os alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos e flavonoides, que evoluíram como mecanismos de defesa das plantas e apresentam diversas atividades biológicas bem descritas (Atanasov *et al.*, 2021).

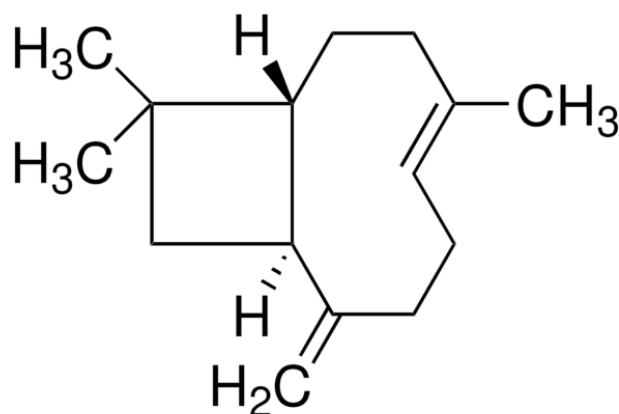
Nesse contexto, os óleos essenciais e oleorresinas destacam-se pela sua natureza lipofílica, característica físico-química esta que é particularmente vantajosa para aplicações dermatológicas, pois favorece a interação com os lipídios do estrato córneo, facilitando a permeação de compostos bioativos através da barreira cutânea (Kaspute *et al.*, 2025). Além disso, muitos desses óleos possuem atividades intrínsecas anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana, sendo possivelmente capazes de atuar diretamente sobre os pilares fisiopatológicos da dermatite atópica (Herman; Herman, 2015).

O óleo de copaíba, por exemplo, é um exsudado do tronco de árvores do gênero *Copaifera* L., amplamente distribuídas na região amazônica. Diferente dos óleos vegetais fixos, a oleorresina de copaíba é uma solução complexa constituída por duas frações principais: uma fração volátil (óleo essencial), composta majoritariamente por sesquiterpenos, e uma fração resinosa não volátil, constituída por ácidos diterpênicos (Trindade; Silva; Setzer, 2018). Essa complexidade química confere à copaíba uma gama de efeitos farmacológicos, tornando-a um candidato promissor para o tratamento multifatorial de diversas doenças, inclusive da DA.

O marcador químico majoritário da fração volátil é o β -cariofileno (Figura 3), um sesquiterpeno bicíclico que tem despertado interesse científico por atuar como um "canabinoide dietético", ou seja, um modulador do sistema canabinoide

advindo da dieta (Ricardi *et al.*, 2024). Estruturalmente, o β -cariofileno se distingue pela presença de um anel de ciclobutano, que confere a ele rigidez conformacional e alta lipofilicidade. Estudos de modelagem molecular e ensaios de ligação indicam que essa conformação lipofílica permite que o composto interaja diretamente com o sítio de ligação hidrofóbico dos receptores canabinoides do tipo 2 (CB2) (Ricardi *et al.*, 2024), cuja ativação em células imunes inibe vias de sinalização pró-inflamatórias, como a via do NF- κ B, resultando na redução da produção de citocinas cruciais na patogênese da DA, como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Zhong *et al.*, 2024). Essa atividade anti-inflamatória justifica a investigação do óleo de copaíba como uma alternativa não esteroideal para o controle do eczema.

Figura 3. Estrutura química do β -cariofileno



Fonte: Sigma Aldrich

Além da inflamação, o controle da colonização microbiana é um aspecto importante no manejo na DA, visto que a disbiose cutânea e a infecção por *Staphylococcus aureus* são gatilhos conhecidos para exacerbações da doença (Kim *et al.*, 2025). Óleos de copaíba de diversas espécies demonstram atividade *in vitro* contra bactérias Gram-positivas, incluindo cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (Santos *et al.*, 2008). Estudos com microscopia eletrônica indicam dano do envelope celular (disrupção de parede ou membrana e extravasamento de conteúdo), e há evidência de interferência na divisão celular em modelos específicos (Santos *et al.*, 2013; Morguette *et al.*, 2019).

Outro aspecto relevante é o potencial antioxidante do óleo de copaíba, atribuído principalmente ao β -cariofileno. Como discutido anteriormente, o

estresse oxidativo perpetua o dano à barreira cutânea. Nesse contexto, o β -cariofileno atua como um modulador endógeno das defesas antioxidantes, onde estudos *in vitro* demonstraram redução da produção de ROS, restauração da funcionalidade mitocondrial e elevação dos níveis de glutathione reduzida, efeitos dependentes da ativação dos receptores CB2 e da via de transcrição Nrf2/HO-1. Além disso, em modelos *in vivo*, observou-se restauração da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (Francomano *et al.*, 2019)

Em relação ao uso do óleo essencial de copaíba na dermatite atópica, os estudos especificamente voltados a isso ainda são escassos, mas as evidências sugerem que ele pode atuar simultaneamente em diversas frentes relevantes à fisiopatologia da DA, diminuindo a inflamação de base, auxiliando na recuperação da barreira cutânea lesada e combatendo infecções secundárias. Em um modelo animal de feridas cutâneas, por exemplo, a aplicação tópica do óleo de copaíba promoveu reparo tecidual mais rápido, com maior deposição de colágeno e redução de microrganismos locais, em comparação aos controles (Menezes *et al.*, 2022).

Apesar de todo esse potencial terapêutico, o uso tópico de óleos essenciais apresenta limitações farmacotécnicas importantes. Seus componentes são voláteis e fotossensíveis, o que pode alterar sua composição química e reduzir sua eficácia ao longo do tempo. Além disso, a alta lipofilicidade e viscosidade dificultam sua dispersão homogênea em veículos hidrofílicos (Turek; Stintzing, 2013). Para superar essas barreiras, a nanoencapsulação surge como uma estratégia tecnológica interessante, com diversas vantagens, como a proteção dos compostos voláteis, aumento da estabilidade físico-química da formulação, liberação controlada do ativo, melhora da sua dispersão em matrizes aquosas e penetração mais eficiente dos bioativos na epiderme, maximizando a eficácia terapêutica enquanto minimiza potenciais irritações cutâneas (Ziech *et al.*, 2025).

2.3.2. Hidrogéis poliméricos e o potencial da *Aloe vera*

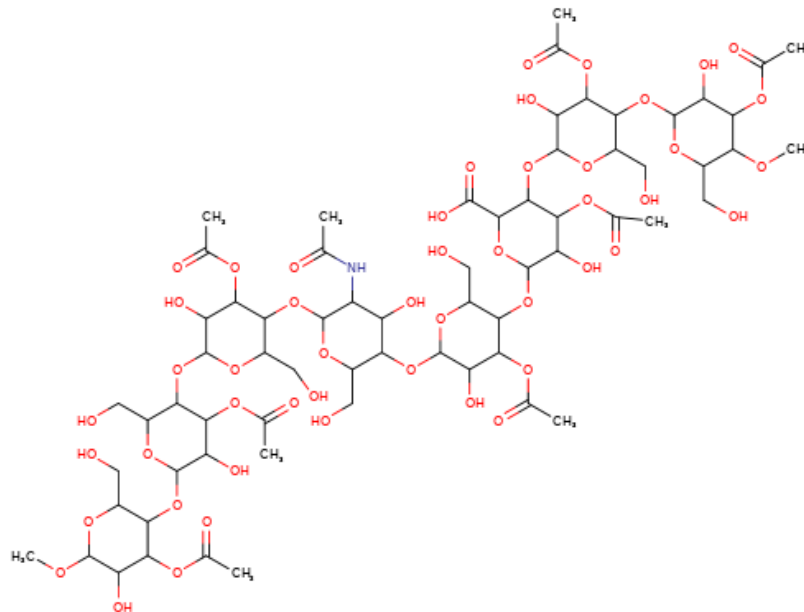
A escolha da forma farmacêutica é determinante para o sucesso da terapia tópica na dermatite atópica. Enquanto pomadas oleosas são emolientes

eficazes, sua textura gordurosa e oclusiva pode gerar desconforto, "abafamento" da pele e baixa adesão ao tratamento, especialmente em climas tropicais (Barnes *et al.*, 2021). Nesse contexto, os hidrogéis apresentam-se como veículos ideais. Definidos como redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas, capazes de absorver e reter grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, os hidrogéis mimetizam o conteúdo hídrico dos tecidos moles (Segneanu *et al.*, 2025).

Para a pele atópica, caracterizada pela xerose (ressecamento) severa e prurido intenso, os hidrogéis oferecem vantagens terapêuticas (Rao; Tan, 2025). A evaporação gradual da água contida na matriz polimérica promove um efeito de resfriamento, "*cooling effect*", na superfície cutânea, o que atua diretamente na redução da percepção do prurido, quebrando o ciclo "coceira-arranhadura" (Gounden; Varshan, 2024). Além disso, a estrutura porosa do gel permite a troca gasosa, facilitando a respiração cutânea enquanto mantém o ambiente úmido necessário para a reepitelização de lesões e fissuras (Arabpour *et al.*, 2024).

Além disso, há uma tendência crescente pelo uso de biopolímeros naturais que agreguem atividade biológica ao veículo. A mucilagem da *Aloe vera* (L.) Burm. f., por exemplo, destaca-se não apenas como excipiente, mas como um agente terapêutico bioativo. A composição fitoquímica do parênquima incolor das folhas de *Aloe vera* (o "gel" interno, ou "mucilagem") é constituída por mais de 99% de água, sendo o restante composto por uma mistura complexa de polissacarídeos, vitaminas, enzimas, aminoácidos e ácidos orgânicos (Catalano *et al.*, 2024). O componente sólido majoritário e principal responsável pelas propriedades biológicas é a acemanana (Figura 4), um polissacarídeo de cadeia longa composto por unidades de manose acetilada, glicose e galactose (Sanchez *et al.*, 2020).

Figura 4. Estrutura química da acemanana, principal polissacarídeo da mucilagem de *Aloe vera*



Fonte: BioSynth

Devido à sua natureza hidrofílica e alto peso molecular, este polímero pode ser capaz de formar uma rede reticulada sobre a pele que atua como um filme protetor umectante, reduzindo a perda de água transepidérmica e restaurando a hidratação do estrato córneo (Dal'Belo; Gaspar; Campos, 2006). Além da hidratação, a *Aloe vera* possui atividades anti-inflamatórias e cicatrizantes bem documentadas, que corroboram seu uso como coadjuvante na DA. Estudos demonstram que a acemanana e outros constituintes, como a aloesina e alprogen, são capazes de inibir a via da ciclooxigenase (COX-2) e reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias em macrófagos ativadas, atuando no mesmo eixo inflamatório exacerbado na pele atópica. Adicionalmente, a presença de enzimas como a bradicinase ajuda a degradar a bradicinina, um mediador de dor e inflamação, proporcionando alívio sintomático em peles irritadas (Hęś et al., 2019; Radha; Laxmipriya, 2015).

Por fim, durante a extração da mucilagem, é importante separá-la do exsudato amarelo (látex) da planta. Enquanto o látex é rico em antraquinonas livres, como a aloína, que possuem efeito laxativo e potencial irritante, o gel interno processado adequadamente contém baixos teores destes compostos, sendo seguro para aplicação em pele lesionada (Cordiano *et al.*, 2025). Estudos

recentes em modelos de cicatrização indicam que hidrogéis à base de acemanana aceleram o fechamento de feridas através do estímulo à proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno tipo I, características essenciais para reparar a barreira cutânea comprometida na dermatite atópica (Liu *et al.*, 2019; Sanchez *et al.*, 2020).

Portanto, o desenvolvimento de um hidrogel à base de *Aloe vera* visa, além de obter uma forma farmacêutica dermatologicamente adequada, também criar um sistema híbrido, onde o veículo atuaria em sinergismo com o ativo incorporado, neste caso, o óleo de copaíba encapsulado em CLNs, para promover hidratação, alívio do prurido, atividade antioxidante e anti-inflamatória.

2.4. Nanotecnologia aplicada ao tratamento da dermatite atópica

A nanotecnologia representa um grande avanço no tratamento de diversas doenças por meio do desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos. Esses sistemas integram técnicas de liberação controlada, tanto no que se refere ao tempo, quanto à dosagem, associadas à administração direcionada aos sítios-alvo, o que resulta na redução de efeitos adversos e na potencialização dos efeitos terapêuticos (Chiddarwar *et al.*, 2024; Zheng, 2025). Tais benefícios indicam uma perspectiva promissora de redução de custos e de tempo a longo prazo, com resultados potencialmente superiores aos observados em terapias convencionais previamente estabelecidas, as quais frequentemente apresentam baixa biodisponibilidade, distribuição não direcionada do fármaco, eliminação sistêmica rápida e toxicidade significativa (Chiddarwar *et al.*, 2024).

As nanopartículas podem ser produzidas a partir de uma ampla variedade de materiais, incluindo compostos inorgânicos, orgânicos e nanotubos de carbono, sendo empregadas na administração de agentes bioterapêuticos, quimioterápicos ou imunoterapêuticos. Esses sistemas permitem a liberação específica e direcionada no local de ação, além de protegerem os fármacos contra modificações metabólicas ou químicas, contribuindo, assim, para o aumento da biodisponibilidade (Khizar *et al.*, 2023). A classificação dessas nanopartículas, baseada em sua composição química, abrange diferentes categorias de materiais; entre eles, os sistemas baseados em polímeros, como nanopartículas poliméricas, micelas e dendrímeros, destacam-se como uma

estratégia não invasiva e inovadora para a administração de fármacos, oferecendo elevada estabilidade e controle da liberação do ativo, além de serem particularmente eficazes no aumento da solubilidade de compostos hidrofóbicos (Begines *et al.*, 2020).

Concomitantemente, os compostos lipídicos, incluindo lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas e carreadores lipídicos nanoestruturados, apresentam excelente biocompatibilidade, liberação gradual pronunciada em formulações tópicas e elevada capacidade de encapsulação de fármacos hidrofóbicos, além de conferirem proteção contra degradação enzimática (Mohapatra *et al.*, 2024). Os CLNs, especificamente, consistem em uma mistura de lipídios sólidos e líquidos em escala nanométrica, estabilizados por tensoativos, que forma partículas com núcleo lipídico parcialmente cristalino (Rajoriya *et al.*, 2024).

Essa estrutura com núcleo desorganizado confere a eles uma capacidade de incorporação de fármacos superior à das nanopartículas lipídicas sólidas tradicionais, devido à menor possibilidade de expulsão do ativo durante a solidificação, e uma maior estabilidade, em comparação aos produtos lipossomais, por exemplo, que podem se fundir ou oxidar com mais facilidade (Khan; Sharma; Jain, 2022). Outra vantagem é o uso de excipientes biocompatíveis, como por exemplo lipídios semelhantes aos da pele, o que pode minimizar irritações em comparação a veículos convencionais ou nanopartículas poliméricas sintéticas (Ghasemiyeh; Mohammadi-Samani, 2018).

Classicamente, a penetração de ativos e nanopartículas através da pele pode ocorrer por três vias principais: a via transcelular, na qual o fármaco atravessa diretamente os corneócitos e a matriz lipídica, embora seja dificultada pela barreira proteica das células queratinizadas; a via intercelular, onde a difusão ocorre tortuosamente através dos domínios lipídicos entre os corneócitos; e a via transfolicular (ou anexial), que utiliza os folículos pilosos e glândulas sebáceas como canais de entrada direta para a derme profunda (Gupta *et al.*, 2013; Paiva-Santos *et al.*, 2022).

Para os CLNs, a via intercelular e a transfolicular são as mais favorecidas, visto que, devido à sua natureza lipofílica e tamanho reduzido, são capazes de

interagir com os lipídios do estrato córneo, promovendo uma desorganização reversível que facilita a difusão do fármaco (via intercelular) (Khan; Sharma; Jain, 2023). Além disso, o tamanho nanométrico permite que essas partículas se acumulem no infundíbulo dos folículos pilosos (via transfolicular), criando um efeito de reservatório que libera o fármaco de forma sustentada e profunda, o que é particularmente vantajoso na DA, onde a inflamação muitas vezes se estende à derme e os folículos podem ser portas de entrada para colonização bacteriana (Yuan *et al.*, 2023).

Outro mecanismo atribuído aos CLNs é o efeito oclusivo. Após a aplicação tópica e a evaporação da água da formulação, as nanopartículas lipídicas formam um filme adesivo e contínuo sobre a superfície da pele. Esse filme reduz a perda de água transepidermica, aumentando a hidratação do estrato córneo. A hidratação, por sua vez, causa o inchaço dos corneócitos e o aumento do espaço intercelular, facilitando ainda mais a permeação do ativo e auxiliando na recuperação da barreira cutânea danificada na pele (Loo *et al.*, 2013).

No contexto da DA, o uso da nanotecnologia tem se mostrado promissor. A Tabela 1 reúne parte dos estudos existentes que associam nanopartículas ao tratamento da dermatite atópica.

Tabela 1. Estudos experimentais de produção de nanossistemas aplicados à redução da inflamação associada à dermatite atópica

Tipo de nanossistema	Composição	Características físico-químicas	Tipos de testes realizados	Resultados encontrados	Referência
Nanocápsulas poliméricas	PLGA, Pluronic F68, ácido oleico, Labrafil, MCT	Tamanho de 162,0 ± 0,75 nm, Pdl de 0,061 ± 0,02, zeta de -36,0 ± 0,6. Eficiência de encapsulação de 92,15%, morfologia esférica e homogênea.	<i>Ex vivo</i> , em difusão em pele de orelha de porco, organotipos de pele humana inflamados por LPS (redução de IL-6/IL-8). <i>In vivo</i> , em dois modelos murinos: DA induzida por ovalbumina (OVA) e por DNFB. Avaliação de perda de água transepidermica, espessura dérmica, contagem de mastócitos, IgE sérica, citocinas IL-4, IL-5 e IFN-γ, e escore clínico de lesões.	Redução da perda de água, do edema e do espessamento dérmico. Supressão da resposta Th2 sistêmica, com redução de IgE. Redução das citocinas avaliadas; escore de dermatite menor em comparação ao tacrolimo ou esteroide, permitindo eficácia semelhante com dose tópica menor e sem irritação aparente.	Badihi <i>et al.</i> , 2020
Gel contendo nanopartículas poliméricas	Copolímeros de PLGA-b-PEG funcionalizados com peptídeo arginil-glicil-aspártico (RGD); hidroxietilcelulose.	Tamanho de 317,9 nm, Pdl de 0,22, morfologia esférica.	<i>Ex vivo</i> , em modelo 3D de pele humana e imunohistoquímica para redução de fosfo-STAT3 inflamatório; <i>In vivo</i> , em modelo murino induzido por calcipotriol; espessura e edema de orelha, perda de água transepidermica, histologia, níveis de citocinas e IgE.	Redução da inflamação e melhora da função de barreira cutânea comparado ao controle e à hidrocortisona tópica. Diminuição do edema, prurido e espessura da orelha; redução da perda de água transepidermica, de fosfo-STAT3 e de IgE sérica.	Park <i>et al.</i> , 2025
Hidrogel contendo nanocápsulas poliméricas	Eudragit RS100, Span 80, Tween 80, bisabolol, acetona; Carbopol.	Tamanho de 133 ± 7 nm, Pdl de 0.12 ± 0.04, zeta de +51,4 ± 9,78 mV, eficiência de encapsulação de 93	<i>In vivo</i> em modelo murino de DA induzida por DNCB com avaliação clínica, histológica e de atividade da mieloperoxidase (MPO).	Redução significativa do eritema, edema e espessura da pele, com melhora da arquitetura epidérmica e menor inflamação, além de redução de MPO, quando comparadas ao fármaco livre.	Karami <i>et al.</i> , 2024

		± 1.4 % e morfologia esférica.			
Hidrogel contendo nanopartículas poliméricas	PLGA, quitosana, budesonida, Myritol 318, PVA, diclorometano, acetona; Polaxamer 407	Tamanho de 324 ± 4 nm, 0,12 ± 0,04, zeta de +20,7 ± 0,5 mV, eficiência de encapsulação de 98,7 ± 0,02%	<i>In vitro</i> , por avaliação de ROS. <i>Ex vivo</i> , por permeação cutânea em orelha de porco (modelo de DA por tape stripping).	Aumento de ROS, atribuído à carga positiva da quitosana; Não atravessaram o estrato córneo, mas a nanoencapsulação aumentou a absorção cutânea da budesonida. Na pele com DA as Nps reduziram o fluxo e a permeabilidade da budesonida em comparação ao fármaco livre, mantendo-o nas camadas superiores.	Campos <i>et al.</i> , 2021
Filme contendo nanocápsulas poliméricas	Óleo de semente de romã, Eudragit RS100, Span 80, pullulana, acetona, sorbitol, PEG 400	Tamanho de 181 ± 6 nm, Pdl de 0,13 ± 0,05, zeta de +43,13 ± 0,7 mV.	<i>In vivo</i> , em camundongos induzidos por DNCB, com avaliação do escore clínico, teste de Von Frey e Open Field Test. <i>Ex vivo</i> , com avaliação da atividade da MPO, ROS e SOD.	Redução do prurido, eritema, edema, descamação e hipernocicepção mecânica. Redução da atividade de MPO e de ROS. Restauração da atividade da SOD.	Cervi <i>et al.</i> , 2021
Nanoemulsão	Fosfatidilcolina, triglicérido de cadeia média e lipídio catiônico DOTAP, incorporando vitamina E e com poli(I:C) adsorvido na superfície.	Tamanho < 150 nm, zeta em torno de 30 mV, com morfologia esférica	<i>In vitro</i> , por ativação de células dendríticas, cocultura DCs-Linfócitos e avaliação de ROS. <i>In vivo</i> , em modelo murino de DA induzida por DNCB, com avaliação por escore clínico, histologia, IgE sérica, IL-4 e TSLP, além de imunohistoquímica (DCs, Th1/Th2).	Redução da liquenificação, espessamento, prurido e eritema, com restauração da barreira epidérmica e repilação, superando a eficácia do creme de dexametasona 0,1%. Estabelecimento do balanço Th1/Th2 e redução do estresse oxidativo; diminuição de IgE sérica, IL-4 e TSLP cutâneos, além da normalização da infiltração de DCs na pele.	Lu <i>et al.</i> , 2025

Gel contendo microemulsão	Miristato de isopropila, Tween 80, etanol, fluticasona ou levocetirizina; carbopol	Tamanho de 52,12 nm, zeta de -2,98 mV, morfologia esférica e monodispersa. Eficiência de encapsulação de 49% para fluticasona e 76% para levocetirizina.	<i>Ex vivo</i> , avaliação da retenção cutânea dos fármacos. <i>In vivo</i> , em modelo de DA induzida por H ₂ O ₂ , com avaliação clínica e histopatológica.	Aumento da permeação e retenção cutânea em comparação com os respectivos cremes comercializados. Redução significativa de eritema, descamação e excoriação, com reparo quase completo da epiderme no 7° dia, ausência de fluido intersticial e mínima inflamação histológica.	Almawash <i>et al.</i> , 2022
Gel contendo microemulsão	Óleo de patchouli, oleato de etila, éter etoxilado de óleo de rícino-40 e etanol anidro.	Tamanho de 24,83 ± 0,12 nm, Pdl de 0,174 ± 0,12, zeta de -33,5 ± 0,4 mV e morfologia esférica e homogênea	<i>Ex vivo</i> , por permeação cutânea em pele de rato. <i>In vivo</i> , em modelo murino de DA induzida por DNCB, com avaliação clínica das lesões, histologia, contagem de mastócitos, ELISA (IgE, IL-4, IFN γ)	Redução significativa do escore clínico das lesões cutâneas e da espessura epidérmica; redução do número de mastócitos e dos níveis cutâneos de IgE e IL-4; aumento significativo dos níveis de IFN- γ , indicando modulação do eixo Th1/Th2	Chen <i>et al.</i> , 2024
Lipossomas	Veneno de abelha	–	<i>In vivo</i> , em modelo de camundongos induzido por anidrido ftálico, com avaliação da espessura da orelha, peso de linfonodos auriculares, histologia, contagem de mastócitos, dosagem sérica de IgE, IL-1 β , IL-4 e IL-6 (ELISA), expressão gênica de IL-1 β , IL-4, IL-6, TSLP e CCL22 (RT-qPCR) e avaliação das vias MAPK (p-ERK, p-p38) e NF- κ B (p65, p50, I κ B, p-I κ B) por Western blot.	Redução da espessura epidérmica e das lesões cutâneas de forma dose-dependente, superior ao veneno livre. Redução do peso dos linfonodos, de IgE e do infiltrado de mastócitos na pele lesada. Redução de IL-1 β , IL-4 e IL-6 no soro, bem como da expressão gênica de IL-1 β , IL-4, IL-6, TSLP e CCL22. Inibição da ativação das vias MAPK e NF- κ B, evidenciando mecanismo anti-inflamatório molecular.	Kim; Song, 2022

Hidrogel contendo lipossomas	Tetrametilpirazina, lecitina de soja, colesterol; alginato de sódio, quitosana, cloreto de cálcio e cloreto de sódio.	Tamanho de $126 \pm 12,55$ nm, zeta de $-24,2 \pm 3,7$ mV, morfologia esférica e eficiência de encapsulação de $62,15 \pm 3,59$ %.	<i>In vitro</i> , por sequestro de DPPH e remoção de H_2O_2 . <i>In vivo</i> , em modelo murino de DA induzida por DNCB, com avaliação do escore clínico, histologia, índice esplênico, MDA, SOD e quantificação de TMP.	Redução das lesões cutâneas, com recuperação quase completa da pele, redução do prurido, normalização da arquitetura epidérmica. Redução do índice esplênico, maior inibição de MDA e aumento significativo da atividade da SOD. Maior retenção cutânea de TMP.	Xia <i>et al.</i> , 2024
Gel contendo Carreadores lipídicos nanoestruturados	DPK-060, Compritol 888 ATO, Miglyol 840, lecitina de ovo e Tween 80	Tamanho de $127,2 \pm 2,1$ nm, Pdl de 0,1 e zeta de $-22,5$ mV. Morfologia esférica e eficiência de encapsulação de $85,3 \pm 1$ %	<i>In vivo</i> em camundongos com lesões induzidas por ovalbumina, cortes histológicos e mensuração de IL-4, IL-6 e TNF- α .	Redução dos níveis de IL-4, IL-6 e TNF- α no soro dos animais tratados, redução do espessamento epidérmico e melhora na permeação cutânea.	Javia; Misra; Thakkar, 2022
Carreadores lipídicos nanoestruturados	Óleo de coco, monostearato de glicerila, Tween 80, Span 20	Tamanho de $207,1 \pm 0,9$ nm, Pdl de $0,27 \pm 0,005$ e zeta de $-30,22 \pm 0,78$ mV. Morfologia esférica e monodispersa, eficiência de encapsulação de 94,4%.	<i>In vivo</i> em modelo murino de DA induzida por calcipotriol, mensuração da espessura da orelha, análise histopatológica e quantificação de JNK e p-JNK1/2 por ELISA.	Redução da espessura da orelha, da hiperplasia epidérmica, da infiltração de mastócitos e de JNK total	Hayati <i>et al.</i> , 2025
Gel contendo Carreadores lipídicos nanoestruturados	Ciclosporina, Compritol ATO 888, Gelucire 44/14, Miglyol 812N e Solutol HS15	Tamanho de 265,6 nm, Pdl de 0,134 e zeta de $-29,9$ mV.	<i>In vivo</i> em modelo de ratos albinos de DA induzido por 2,4-Dinitroclorobenzeno, mensuração do eritema e espessura da orelha.	Redução do eritema e da espessura da orelha.	Wairkar; Patel; Singh, 2022

O estudo conduzido por Wairkar *et al.* (2022), por exemplo, visou o desenvolvimento de um gel dermatológico contendo ciclosporina encapsulada em CLNs. A associação demonstrou reduzir significativamente a inflamação e espessura de lesões eczematosas em um modelo animal de dermatite atópica, em comparação à formulação não nanoestruturada, evidenciando a eficácia superior proporcionada pela encapsulação. Hayati e colaboradores (2025) também viram que encapsular óleo de coco em CLN reduziu significativamente a espessura induzida da orelha de camundongos, a contagem de mastócitos e a atividade da c-Jun N-terminal quinases (JNK) em comparação com o ativo isolado, o que sugere uma atividade anti-inflamatória potencializada pela nanoencapsulação.

Javia, Misra e Thakkar (2022) relataram avanços relevantes no desenvolvimento de um gel contendo CLNs carregados com DPK-060, um peptídeo com propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, direcionado ao tratamento da DA. Ensaios *in vitro* e pré-clínicos demonstraram que os CLNs apresentaram elevada eficiência de encapsulação (85,34%) e tamanho nanométrico médio de 127,2 nm, características que garantiram liberação sustentada do peptídeo e proteção contra degradação proteolítica, com apenas 40% de degradação após 4 horas de incubação com tripsina, em contraste com a degradação completa observada na formulação livre. Além disso, em modelos murinos de DA induzida por ovalbumina, o gel contendo CLNs promoveu permeação cutânea aproximadamente três vezes maior em comparação às formulações convencionais, bem como redução significativa da espessura epidérmica e dos níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-4, TNF- α e IL-6, em cerca de 85%, superando o desempenho de um gel e de uma loção contendo DPK-060 livre. Cabe destacar que ensaios clínicos de Fase II previamente conduzidos (NCT01522391) já haviam indicado a eficácia do DPK-060 em pacientes com DA, embora limitados pela instabilidade do peptídeo, limitação essa que foi efetivamente contornada pela nanoencapsulação, a qual demonstrou melhora significativa na estabilidade e no perfil farmacocinético do fármaco.

Em resumo, a análise da literatura evidencia que, embora existam tratamentos para a dermatite atópica, estes ainda possuem limitações importantes relacionadas à segurança a longo prazo, efeitos adversos, custos, biodisponibilidade e estabilidade. Assim, associação de produtos naturais bioativos, como o óleo essencial de copaíba, com a encapsulação através de nanopartículas lipídicas, apresenta-se como uma estratégia racional para superar a baixa solubilidade e volatilidade desses compostos. Adicionalmente, a incorporação desses carreadores em uma base hidrofílica funcional, como o hidrogel de *Aloe vera*, visa não apenas solucionar a questão da viscosidade para aplicação tópica, mas também agregar propriedades anti-inflamatórias, hidratantes e de reparo tecidual no veículo. Essa abordagem sinérgica fundamenta a hipótese deste trabalho de que tal sistema pode oferecer eficácia e segurança superior no manejo da dermatite atópica.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um hidrogel à base de *Aloe vera* contendo carreadores lipídicos nanoestruturados de óleo de copaíba para avaliação *in vitro* do potencial anti-inflamatório e antioxidante.

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) contendo óleo de copaíba;
- Purificar os CLNs a fim de obter uma formulação menos tóxica;
- Caracterizar as formulações quanto ao tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta, rastreamento de nanopartículas e morfologia;
- Determinar a estabilidade do CLN sob diferentes temperaturas;
- Extrair a mucilagem e produzir hidrogéis à base de *Aloe vera*;
- Caracterizar a mucilagem de *Aloe vera* quanto à ressonância magnética nuclear e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas;
- Incorporar os CLNs nos hidrogéis;
- Caracterizar as formulações quanto a espectroscopia no infravermelho, termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial;
- Avaliar as propriedades reológicas, mecânicas e de bioadesão dos hidrogéis;
- Avaliar a citotoxicidade em linhagens celulares de queratinócitos humanos, fibroblastos e macrófagos murinos;
- Avaliar *in vitro* a internalização celular dos CLNs
- Avaliar a expressão de espécies reativas de oxigênio *in vitro*;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vitro*.

Material e métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local da pesquisa

A produção do hidrogel à base de *Aloe vera* e das nanopartículas contendo óleo de copaíba, assim como as análises de tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta e infravermelho, foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BioTecFarm), localizado no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM/UFPB). As análises dos espectros de RMN e de LC-MS foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB. As análises térmicas foram conduzidas no Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas (LPN), localizado no Departamento de Engenharia Química (DEQ) da Universidade Federal de Pernambuco. A microscopia eletrônica de varredura foi analisada no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano), do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). A avaliação da citotoxicidade em queratinócitos humanos foi realizada no Laboratório de Oncofarmacologia (Oncofar/UFPB). Por fim, a microscopia eletrônica de transmissão e o rastreamento de nanopartículas, bem como as caracterizações físico-químicas do hidrogel e os testes *in vitro* de atividade anti-inflamatória e antioxidante foram realizados no Centro de Inovação em Sistemas Nanoestruturados e Administração Tópica (NanoTop), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-Ribeirão Preto.

4.2. Material

Os materiais utilizados neste estudo incluíram óleo essencial de copaíba (Ferquima Indústria e Comércio, São Paulo, Brasil), Distearato de Glicerila (Precirol® ATO 5, Gattefossé, Nova Jersey, Estados Unidos), Polissorbato 80, Tween® 80, Sigma-Aldrich®, São Paulo, Brasil), Fosfatidilcolina (Lipoid® S-100, Lipoid GmbH, Alemanha) e triglicerídeo de cadeia média (BASF Pharma, Califórnia, Estados Unidos). Foram empregadas membranas hidrofílicas de PVDF Millex™ 0,22 µm e unidades de ultrafiltração Amicon® Ultra com MWCO de 15 kDa (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), bem como membrana de diálise de celulose Spectra/Por® Biotech CE Tubing com MWCO de 100 kDa (USA).

Também foram utilizados Carbopol (Dinâmica Química, São Paulo, Brasil), metilparabeno e aminometilpropanol (Mix das Essências, São Paulo, Brasil), propilenoglicol (Casa dos Químicos, São Paulo, Brasil), EDTA (Neon, São Paulo, Brasil) e metabissulfito de sódio (Dinâmica Química, São Paulo, Brasil). Ácido fórmico e acetonitrila foram adquiridos da Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, EUA), e água deuterada da Cambridge Isotope Laboratories®. Para os ensaios de cultura celular e análises biológicas, foram utilizados Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Procell Biotechnology, China), solução salina tampão fosfato (Sigma-Aldrich®, São Paulo, Brasil), brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, dodecil sulfato de sódio, Hoechst 33342, vermelho de Nilo, acetato de forbol miristato e lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* O127:B8 (Sigma-Aldrich®, EUA), além de resazurina e 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA). Kits ELISA DuoSet® para IL-6 e TNF- α foram adquiridos da R&D Systems (Minneapolis, EUA).

4.3. Produção das nanopartículas

Carreadores lipídicos nanoestruturados foram preparados a partir de uma formulação previamente otimizada por nosso grupo de pesquisa (Uchôa *et al.*, 2025), utilizando óleo de copaíba (6%) como lipídio líquido, Precirol® ATO 5 (1%) como lipídio sólido, Tween® 80 (0,9%) como surfactante hidrofílico e Lipoid® S-100 (0,5%) como surfactante lipofílico. Para tanto, foi utilizado o método de emulsificação a quente seguida de sonicação ultrassônica (EQS) (Venkateswarlu; Manjunath, 2004), sendo os componentes pesados diretamente em um único frasco, e o volume final ajustado com água ultrapura para 1 mL. As amostras foram, então, submetidas à agitação magnética (1.000 rpm) enquanto aquecidas em banho-maria (65 ± 5 °C) e, subsequentemente, submetidas à sonda ultrassônica (60 W, 90 s) (Disruptor, Ultronique®, Indaiatuba, São Paulo).

Após a produção dos CLNs, diferentes métodos de purificação foram testados, com o objetivo de remover compostos não encapsulados e potenciais impurezas, que poderiam interferir nas análises posteriores ou exercer efeitos tóxicos. Foram avaliadas quatro estratégias distintas: (i) filtração por membrana hidrofílica de PVDF (Millex™) com poro de 0,22 μ m (CLN-F); (ii) centrifugação convencional a 5.000 rpm por 10 minutos (CLN-C); (iii) ultrafiltração por

centrífuga acoplada a filtros de corte por peso molecular (CLN-CF) (MWCO 15 kDa, Amicon® Ultra, Merck Millipore), na qual a formulação é diluída com água ultrapura (1:1), centrifugada nas mesmas condições, seguida de nova lavagem com água e nova centrifugação, sendo coletada apenas a fração retida no filtro; e (iv) diálise por 24 horas utilizando membrana de celulose MWCO 100 kD (CLN-D), com trocas de água nos tempos de 1, 3, 6 e 24 h.

Após as purificações, os nanossistemas resultantes foram reanalisados quanto ao diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão e potencial zeta, a fim de avaliar possíveis alterações físico-químicas. Para determinar a purificação mais eficaz, foi conduzido um ensaio de citotoxicidade *in vitro* em células saudáveis de queratinócitos humanos, considerando como critério de escolha o método que apresentar a menor toxicidade celular, refletindo, assim, maior remoção de resíduos não encapsulados e melhor biocompatibilidade da formulação final.

4.4. Caracterização físico-química das nanopartículas

4.4.1. Tamanho de partícula e índice de polidispersão

O diâmetro hidrodinâmico e a distribuição de tamanho dos nanossistemas foram determinados por espalhamento dinâmico de luz (DLS) usando o Zetasizer Lab (Malvern® Instruments Ltd, Worcestershire, UK) a 25°C. O ângulo de espalhamento foi fixado em 90 graus, e as amostras foram diluídas na proporção de 1:100 com água ultrapura antes da análise. Os resultados analisados em triplicata foram expressos como diâmetro hidrodinâmico médio (distribuição de tamanho) e índice de polidispersão (Pdl).

4.4.2. Potencial zeta

O potencial zeta (ζ) foi medido no Zetasizer Lab (Malvern® Instruments Ltd, Worcestershire, UK) a 25°C, com as amostras diluídas (1:100) em solução salina (NaCl, 1 mM) para manter uma força iônica constante. Todos os resultados correspondem à média de três determinações.

4.4.3. Rastreamento de nanopartículas (NTA)

A análise do tamanho médio e da distribuição das nanopartículas foi realizada por meio da técnica de rastreamento de nanopartículas (*Nanoparticle*

Tracking Analysis, NTA), utilizando o equipamento NanoSight NS300 (Malvern Panalytical®, Reino Unido), com laser de 405 nm. Os CLNs foram previamente diluídos em água ultrapura estéril até atingirem uma concentração adequada para análise, evitando sobreposição ou baixa contagem de partículas no campo de visualização. As medições foram realizadas a temperatura controlada (20-25 °C), com registro de cinco vídeos de 60 segundos por amostra, em triplicata. A amostra foi introduzida em câmara de fluxo estático com bomba de seringa para garantir fluxo constante durante a captura dos vídeos. Foram obtidos os parâmetros de diâmetro médio hidrodinâmico, distribuição de tamanho, índice de polidispersão e concentração de partículas (partículas/mL).

4.4.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As análises por infravermelho para detecção dos grupos funcionais foram conduzidas em todos os componentes individualmente e nos CLNs utilizando um espectrofotômetro (FTIR-ATR, Shimadzu® Cary 630). As amostras foram adicionadas diretamente ao cristal e os dados foram coletados na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 128 varreduras a 25 °C.

4.4.5. Análises térmicas

A fim de avaliar a estabilidade térmica das formulações e possíveis interações entre seus componentes, os CLNs foram submetidos às análises térmicas de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), realizadas em equipamento DTG-60H (Shimadzu®). Para cada ensaio, cerca de 15 mg de amostra foram pesados e acondicionados em cadinhos de alumínio selados. As análises foram conduzidas em atmosfera controlada, com aquecimento de 25 a 500 °C, utilizando uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.5. Morfologia

4.5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise da morfologia superficial dos CLNs foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (FEI Inspect® F50), operado a uma tensão de aceleração de 10 a 15 kV. Para o preparo das amostras, placas de silício, previamente funcionalizadas por tratamento de descarga de plasma (EasyGlow®) para aumento da hidrofiliabilidade, foram fixadas sobre lâminas de

microscopia. A dispersão de CLN foi diluída em água ultrapura (Milli-Q®) na proporção de 1:100 (v/v) e depositada sobre as placas de silício, sendo mantida à temperatura ambiente até a completa secagem. Após isso, as placas foram fixadas em *stubs* de alumínio utilizando adesivo condutivo à base de carbono. Em seguida, os *stubs* foram submetidos a recobrimento condutor por *sputtering* com carbono, formando uma camada de aproximadamente 5 nm de espessura, a fim de minimizar o acúmulo de carga durante a análise.

4.5.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A análise morfológica foi conduzida utilizando microscópio eletrônico de transmissão (MET) (JEOL JEM-100CX2, Tóquio, Japão). As amostras diluídas 20 vezes em água ultrapura foram depositadas em grades de cobre recobertas com filme de carbono e coradas com acetato de uranila a 2% como contraste negativo. Após a secagem das grades, aproximadamente 24 horas a 25 °C, elas foram observadas no MET a 100 kV.

4.6. Estabilidade das nanopartículas

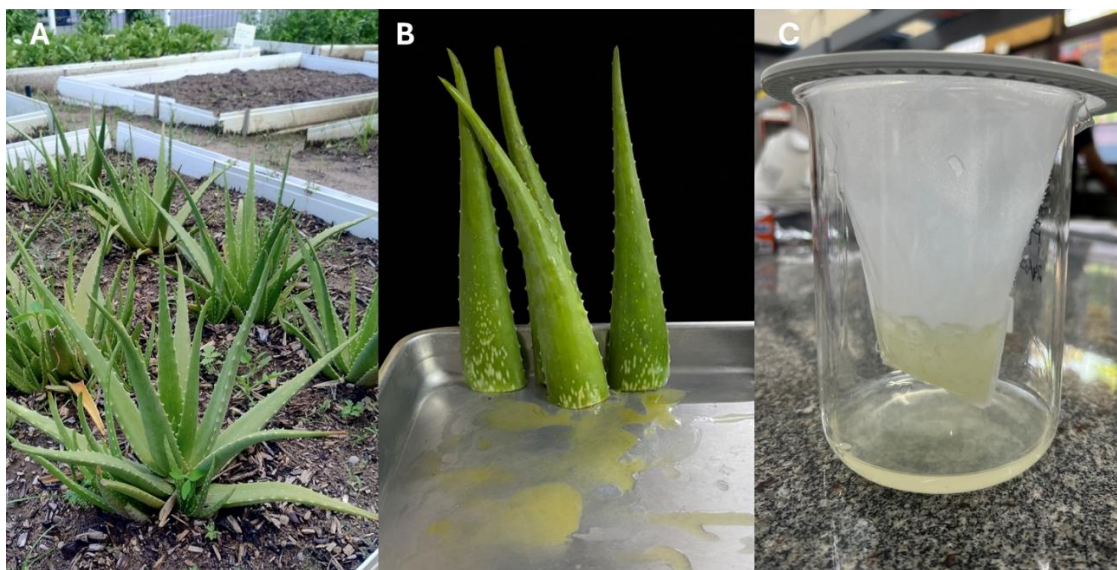
Os CLNs foram submetidos a análises de estabilidade a longo prazo sob temperatura controlada. Para tanto, 2 mL de formulação foi armazenado em frasco de vidro de 5 mL e avaliado por 90 dias a 4 (geladeira), 25 (bancada) e 37 °C (estufa), em termos de tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta.

4.7. Coleta da mucilagem de *Aloe vera*

As folhas de *Aloe vera* (L.) Burman f. (Figura 5A) utilizadas neste estudo foram obtidas do horto do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A espécie foi corretamente identificada, e uma amostra botânica foi incluída na coleção do Herbário Laura Pires Xavier (JPB/UFPB) sob o número de voucher JPB0063909, com coordenadas geográficas aproximadas de latitude 7,115°S e longitude 34,863°W (WGS84). A coleta vegetal já foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número ACE0BCC, em conformidade com a legislação vigente (Jales, 2018).

As folhas selecionadas pertenciam a plantas com idade estimada de um ano e foram colhidas sempre no início da manhã. Após a colheita, as folhas foram higienizadas e suas extremidades basais seccionadas, posicionando-as verticalmente por 30 minutos, a fim de permitir o escoamento do exsudato amarelado do parênquima clorofiliano, rico em antraquinonas, como a aloína (Figura 5B). Posteriormente, foi feita a lavagem com água destilada, seguida da remoção manual da epiderme externa (casca verde). A mucilagem (Figura 5C) foi então retirada com auxílio de uma espátula de plástico e submetida a processamento por trituração mecânica em mixer até obtenção de um gel homogêneo, que foi posteriormente submetido à filtração a vácuo utilizando membrana de poliéster 100%. Para as análises de caracterização físico-química, a mucilagem foi congelada, liofilizada e armazenada em dessecador contendo sílica gel, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo utilizada na forma de pó seco para as análises subsequentes.

Figura 5. Processo de coleta da mucilagem de *Aloe vera*



Fonte: Autoria própria, 2025

4.8. Caracterização físico-química da mucilagem de *Aloe vera*

4.8.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)

A mucilagem foi submetida à análise por LC-MS para verificar a presença da antraquinona aloína. Para tanto, a mucilagem previamente liofilizada foi

submetida a uma extração sólido-líquido com o objetivo de solubilizar compostos fenólicos e antraquinonas, onde 10 mg foram diluídos em 2 mL de uma mistura etanol:água (80:20, v/v), seguida de filtração em membrana hidrofílica de PVDF (Millex®) com poro de 0,22 µm (Añibarro-Ortega *et al.*, 2019).

Para análise, 1 µL dessa amostra foi solubilizado em 1 mL de uma solução 1:1 de ACN:água, e foi adicionado 1 µL de solução de ácido fórmico 0,1% em água (v/v). Após isso, 200 µL desta foram diluídos em 800 µL de uma solução de ACN:água 1:1. Em seguida, foram filtrados em um filtro PVDF de poro 0,22 µm. Assim, 1 µL da solução filtrada foi injetado no cromatógrafo (LC-40D X3, Shimadzu®) equipado com os módulos CBM-40, DGU-40S, LC 40D X3, SIL-40C X3 e CTD-40S, acoplado a um espectrômetro de massas (LCMS-9050, Shimadzu®) com uma fonte de ionização Electrospray (ESI) e um analisador *Quadrupole Time-of-Flight* (Q-TOF).

Foi utilizada uma coluna C18 (Ascents 150 mm x 4,6 mm x 2,7 µm), e a fase móvel consistiu em uma solução ácido fórmico/água 0,1% v/v (Solvente A) e acetonitrila (Solvente B). Um gradiente linear (15-50% B) foi realizado para eluição em 37 min, com um fluxo de 0,3 mL/min e temperatura de 40 °C. Os parâmetros das análises para espectrômetros de massas foram os seguintes: voltagem do capilar: -3,5 kV, fluxo do gás nebulizador de 3,0 L/min, gás de secagem com fluxo de 10 ml/min e temperatura da interface de 300 °C. As substâncias foram analisadas no modo de ionização negativo (m/z 100-1000). Os dados de MS/MS foram obtidos por aquisição dependente de dados (DIA) com uma rampa de energia de colisão de 5-55 V. O TOF-MS observou íons produtos de 50-1000 m/z.

4.8.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A fim de confirmar sua composição estrutural predominante e verificar a integridade dos polissacarídeos, foram realizadas análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. Os espectros foram obtidos em espectrômetro Avance NEO 500 MHz (Bruker®), operando a 500 MHz para RMN de ¹H e 125 MHz para RMN de ¹³C. As amostras foram solubilizadas em água deuterada (Cambridge Isotope Laboratories®). Os deslocamentos químicos (δ)

foram expressos em partes por milhão (ppm), utilizando como referência interna o próprio solvente.

4.9. Produção do hidrogel à base de *Aloe vera*

O hidrogel foi preparado com os seguintes componentes: mucilagem de *Aloe vera* (80%), carbopol (1%) como espessante e agente gelificante, metilparabeno (0,2%) como conservante antimicrobiano, propilenoglicol (5%) como umectante e co-solubilizante, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (0,1%) como quelante de íons metálicos, metabissulfito de sódio (0,05%) como antioxidante e água purificada (13,65%). Por fim, aminometilpropanol (AMP) foi utilizado como agente neutralizante para ajuste do pH da formulação até 7 e ionização dos grupos carboxílicos do polímero carbopol (Jales *et al.*, 2022), conferindo aumento da viscosidade à formulação.

Para o preparo, a mucilagem e o carbopol foram misturados e mantidos sob agitação em um agitador mecânico de paletas (350 rpm por ao menos 4 horas) para permitir o intumescimento completo do polímero. O metilparabeno foi dissolvido no propilenoglicol sob brando aquecimento (30 °C), e, em paralelo, EDTA, metabissulfito e água foram misturados à parte, em temperatura ambiente. As fases preparadas foram, então, adicionadas à mistura de mucilagem com carbopol, sob agitação constante. Por fim, o pH foi ajustado com AMP até pH=7 e a consequente formação de um gel espesso e homogêneo. Os CLN foram dispersos com auxílio de uma espátula, em uma proporção de 1:10 de CLN:hidrogel.

4.10. Caracterização físico-química dos hidrogéis

4.10.1. Análises térmicas

Os hidrogéis desenvolvidos, com e sem CLNs, foram submetidos às análises térmicas de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial, realizadas em equipamento DTG-60H (Shimadzu®). Para cada ensaio, cerca de 15 mg de amostra foram pesados e acondicionados em cadinhos de alumínio selados. As análises foram conduzidas em atmosfera controlada, com aquecimento de 25 °C a 500 °C, utilizando uma taxa de aquecimento de

10 °C/min. Essas análises tiveram como objetivo avaliar a estabilidade térmica e possíveis interações entre os componentes das formulações.

4.10.2. *Propriedades reológicas*

As propriedades reológicas dos hidrogéis, na ausência e na presença dos CLNs, foram avaliadas por meio da obtenção de curvas de fluxo e de viscosidade, utilizando um reômetro (Discovery HR-2, TA Instruments®, Delaware, EUA), operado em modo de fluxo com taxa de cisalhamento controlada. O sistema de medição empregado consistiu em geometria de cone e placa de aço, com diâmetro de 40 mm, ângulo de 2° e gap fixado em 59 µm.

As análises foram conduzidas à temperatura de 25 °C e realizadas em triplicata. 3 g de cada hidrogel foram cuidadosamente aplicados sobre a placa inferior do reômetro e mantidos em repouso por 60 s antes do início da análise, a fim de minimizar efeitos de cisalhamento. As curvas de fluxo, ascendentes e descendentes, foram obtidas mediante taxa de cisalhamento crescente, de 1 a 100 s⁻¹, com intervalo de estabilização de 30 s.

4.10.3. *Propriedades mecânicas e de bioadesão*

As propriedades mecânicas dos hidrogéis foram determinadas por meio da análise do perfil de textura (*Texture Profile Analysis*, TPA), utilizando um analisador de textura (TA-XT Texture Analyser, Stable Micro Systems®, Surrey, Reino Unido). 10 g de cada hidrogel foram acondicionados em béqueres e mantidos a 25 °C por 24 h antes da realização dos ensaios.

Os testes consistiram em duas compressões sucessivas das amostras, empregando uma sonda analítica de policarbonato com 10 mm de diâmetro, velocidade de compressão de 2 mm·s⁻¹, profundidade de penetração de 5 mm e intervalo de 15 s entre a primeira e a segunda compressão. A partir das curvas de força em função do tempo, foram determinados os parâmetros de dureza (força máxima necessária para promover a deformação), compressibilidade (trabalho requerido durante a primeira compressão), coesividade (capacidade de reestruturação da formulação após a remoção da força aplicada) e elasticidade (recuperação da deformação), com auxílio do software Exponent (Stable Micro Systems®, UK).

Já a bioadesão dos hidrogéis foi avaliada por ensaio de tensão utilizando o mesmo analisador de textura, em módulo de tensão, conforme metodologia descrita por Heck *et al.* (2016). Amostras de pele foram obtidas a partir de orelhas de suínos coletadas imediatamente após o abate (Frigorífico Olhos D'Água, Ipuã, SP, Brasil). Durante o transporte até o laboratório, as orelhas foram mantidas sob refrigeração a aproximadamente 4 °C, sendo posteriormente dissecadas para obtenção das amostras de pele.

As amostras de pele foram fixadas no suporte inferior do equipamento, enquanto o hidrogel foi acoplado ao acessório superior. O sistema foi então deslocado verticalmente até o contato entre o hidrogel e a superfície da pele, mantendo-se uma força constante de 0,5 N por 60 s. Após esse período, o acessório superior foi deslocado para cima, em módulo de tensão, à velocidade constante de 1 mm·s⁻¹, até o completo destacamento do hidrogel da pele (Martin *et al.*, 2021). Foram determinados a força máxima de destacamento e o trabalho de bioadesão, correspondente à área sob a curva de força versus distância, utilizando o software Exponent. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.11. Estabilidade dos hidrogéis

A fim de avaliar sua estabilidade sob diferentes temperaturas, os hidrogéis, com e sem CLNs, foram armazenados sob 4, 25 e 37 °C, em frascos fechados, por um período de até 90 dias. As amostras foram analisadas após 1, 15, 30, 60 e 90 dias quanto às características organolépticas e macroscópicas, sendo elas cor, odor, aparência e separação de fases. As alterações observadas foram classificadas como: normal, sem alteração (N); leve modificação da aparência (LMA), da cor (LMC) ou do odor (LMO); modificação da aparência (MA), da cor (MC) ou do odor (MO); e intensa modificação da aparência (IMA), da cor (IMC) ou do odor (IMO), conforme metodologia descrita por Bühler e Ferreira (2008).

4.12. Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* foram conduzidos de acordo com as diretrizes estabelecidas pela norma ISO 10993-5, que descreve os métodos e critérios para avaliação da citotoxicidade de materiais por meio de ensaios

celulares. Inicialmente, foram testados todos os CLNs purificados pelos diferentes métodos descritos anteriormente, além de um CLN “vazio”, contendo MCT no lugar do óleo de copaíba. Dentre as formulações purificadas, a que apresentou menor citotoxicidade foi selecionada e incorporada ao hidrogel de *Aloe vera*, sendo esta nova formulação também posteriormente submetida ao ensaio. Um hidrogel controle, sem incorporação de CLNs, e o OC livre, também foram analisados para fins comparativos.

A citotoxicidade dos CLNs, hidrogéis e óleo livre foi avaliada de duas formas: (i) para as linhagens aderentes, HaCaT e NIH/3T3, por meio do ensaio de viabilidade celular baseado na redução do sal de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), o qual permite inferir a atividade metabólica mitocondrial e citoplasmática de células viáveis; (ii) para a linhagem semi-aderente, RAW 264.7, por meio do ensaio de viabilidade celular AlamarBlue®, baseado na conversão de resazurina em resorufina. Todas as células foram cultivadas em *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) contendo Soro Fetal Bovino a 10% e Estreptomicina Penicilina a 1%, e mantidas em incubadora a 37 °C.

Para as linhagens aderentes, as células foram semeadas em placas de 96 poços (1×10^5 células/poço), em um volume final de 100 µL por poço. Após um período de 24 horas de incubação para aderência, o meio foi retirado e foram adicionadas as formulações em diferentes concentrações do óleo de copaíba (6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 µg/mL). Após mais 24 horas de tratamento, o meio de cultura foi removido e substituído por meio fresco contendo MTT (5 mg/mL). As placas foram, então, incubadas por mais 4 horas para formação dos cristais de formazan, os quais indicam a viabilidade celular. Em seguida, foi adicionada uma solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) em HCl a 10% (100 µL/poço) para solubilização dos cristais. A absorbância foi medida em espectrofotômetro de microplacas (Synergy HT, BioTek Instruments®, Winooski, VT, EUA) com comprimento de onda fixado em 570 nm. Cada experimento foi realizado em três ensaios independentes, com quadruplicatas cada. Os resultados foram expressos como curvas de viabilidade celular e pela concentração necessária para inibir 50% da viabilidade celular (CI_{50}), determinada por ajuste de curva de regressão não linear.

Para a linhagem semiaderente, a viabilidade celular foi avaliada de forma semelhante, mas pelo ensaio AlamarBlue®, baseado na redução da resazurina a resorufina por células metabolicamente ativas. Diferentemente do ensaio de MTT, o meio de cultura não foi removido durante o procedimento para minimizar perdas celulares. Após 24 h de tratamento com os grupos selecionados, foi adicionado AlamarBlue® aos poços na proporção de 10% (v/v) em relação ao volume final, seguido de incubação a 37 °C, em atmosfera umidificada com 5% de CO₂, por 3 h, protegido da luz. A fluorescência da resorufina foi então quantificada em leitor de microplacas (λ de excitação de 560 nm e λ de emissão de 590 nm). Como o produto reduzido é solúvel no meio, não foi necessária etapa de solubilização, permitindo a leitura direta.

4.13. Internalização das nanopartículas

A internalização celular dos CLNs foi avaliada nas linhagens HaCaT e RAW 264.7 por microscopia confocal. Para esse ensaio, os CLNs foram previamente marcados com vermelho de Nilo (0,1 mg/mL, incorporado com os demais componentes durante a produção), um corante lipofílico amplamente utilizado para rastreamento intracelular de sistemas lipídicos. As células foram plaqueadas em placas de Petri com fundo de vidro para microscopia confocal, contendo quatro compartimentos independentes, na densidade de 3×10^4 células por compartimento, em meio DMEM. Cada compartimento recebeu um volume final de 500 μ L de meio de cultura. As células foram mantidas em incubadora a 37 °C, atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂, por 24 h para permitir adesão celular.

Após esse período, o meio de cultura foi removido e substituído por meio fresco contendo os CLNs marcados com vermelho de Nilo, na concentração final de 25 μ g/mL em relação ao óleo encapsulado. Para possibilitar a análise da internalização em diferentes tempos mantendo condições experimentais idênticas, os CLNs foram adicionados em tempos escalonados nos diferentes compartimentos da placa, de modo que todas as amostras fossem analisadas simultaneamente ao final do experimento. Os tempos de incubação avaliados foram de 0,25, 0,75, 1, 2, 3 e 5 h.

Ao término dos tempos de incubação, o meio contendo as nanopartículas foi removido, e as células foram lavadas cuidadosamente com PBS. Em seguida, as células foram incubadas com Hoechst 33342 (1 µg/mL em PBS) por 15 min, protegidas da luz, para marcação dos núcleos celulares. Após nova lavagem com PBS, foi adicionado meio DMEM sem fenol vermelho, a fim de evitar interferência na aquisição das imagens fluorescentes.

A aquisição das imagens foi realizada em microscópio confocal (TCS SP8, Leica Microsystems, Alemanha), utilizando objetiva de imersão em óleo HC PL APO CS2 63x/1,40 NA. As imagens foram adquiridas com resolução de 1024x1024 pixels, varredura bidirecional e velocidade de varredura de 400 Hz. O corante Hoechst foi excitado com laser de 405 nm, e a emissão foi coletada na faixa de 408-413 nm, sendo representado nas imagens pela cor azul, enquanto o vermelho de Nilo foi excitado com laser de 552 nm, com a emissão coletada entre 589-651 nm, sendo representado em verde. As imagens adquiridas foram processadas e analisadas utilizando o software Leica LAS X, permitindo a análise qualitativa da distribuição intracelular dos CLNs ao longo do tempo de incubação.

4.14. Avaliação do estresse oxidativo

A produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelulares foi avaliada por citometria de fluxo utilizando a sonda fluorescente 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA). Para isso, células da linhagem RAW 264.7 foram plaqueadas na densidade de $3,5 \times 10^5$ células por poço em placas de 6 poços, contendo meio DMEM de alta glicose, e incubadas por 24 h a 37 °C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂ para adesão celular.

Após esse período, o meio foi removido e as células foram tratadas com os hidrogéis com e sem CLNs, CLNs isolados ou óleo de copaíba livre, todos na concentração final equivalente a 25 µg/mL de óleo, permanecendo em incubação por 24 h. Ao término do tratamento, as formulações foram removidas e as células foram estimuladas com acetato de forbol miristato (PMA) na concentração de 200 ng/mL, sendo incubadas por 45 min a 37 °C, com o objetivo de induzir a produção de ROS intracelulares. Em seguida, as células foram lavadas com PBS e incubadas com DCFH-DA (5 µM) por 20 min, a 37 °C, protegidas da luz.

Após a incubação, o corante foi removido, as células foram novamente lavadas com PBS e destacadas mecanicamente por raspagem. As suspensões celulares foram transferidas para tubos Falcon de 15 mL e centrifugadas a 1.300 rpm por 5 min. O sobrenadante foi descartado, e os pellets celulares foram ressuspendidos em 100 µL de PBS. As amostras foram então transferidas para tubos apropriados para citometria de fluxo e mantidas em gelo e protegidas da luz até a análise. A fluorescência do DCF, correspondente à produção intracelular de ROS, foi determinada e os dados foram expressos como intensidade média de fluorescência (MFI) e analisados comparativamente entre os grupos experimentais, através do software GraphPad Prism.

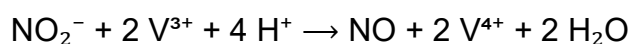
4.15. Avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro*

4.15.1. Produção de NO_2^-

A quantificação de nitrito (NO_2^-), produto de oxidação do óxido nítrico, foi realizada utilizando o princípio da redução química do nitrito a NO gasoso, seguido de detecção por quimiluminescência. A produção de NO é amplamente utilizada como marcador indireto da resposta inflamatória, especialmente em modelos associados à ativação de macrófagos (Malvicini *et al.*, 2022).

As células RAW 264.7 foram cultivadas em DMEM e mantidas em incubadora a 37 °C, sob atmosfera umidificada contendo 5% de CO_2 . Para os ensaios, as células foram plaqueadas em placas de 48 poços na densidade de 1×10^5 células/poço, utilizando volume final de 400 µL por poço, e incubadas por 24 h para permitir adesão celular. Após esse período, o meio de cultura foi removido e as células foram submetidas aos diferentes tratamentos por mais 24 h. As formulações foram adicionadas na concentração final de óleo de copaíba de 25 µg/mL, concomitantemente à estimulação inflamatória com lipopolissacarídeo (LPS) (1 µg/mL). Grupos controle incluíram: (i) células tratadas apenas com LPS (controle positivo de inflamação), (ii) células mantidas apenas em meio de cultura (controle negativo) e (iii) células tratadas apenas com as formulações, na ausência de LPS, a fim de verificar se os sistemas avaliados induziam resposta inflamatória basal. Ao final, os sobrenadantes foram coletados e armazenados a -20 °C até o momento das análises.

Antes da análise, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e, quando necessário, diluídas em água ultrapura livre de nitrito, de acordo com a faixa linear de detecção do equipamento. A quantificação de nitrito foi realizada utilizando um analisador de óxido nítrico (NOA) (280i, Sievers, GE Analytical Instruments, Boulder, CO, EUA). O sistema foi calibrado com 8 pontos utilizando soluções padrão de nitrito de sódio (NaNO₂) em concentrações conhecidas, preparadas em água ultrapura, para construção da curva de calibração. Para a análise, 10 µL das amostras ou dos padrões foram injetados em um frasco de reação contendo solução redutora de vanádio(III) cloreto (VCl₃) em ácido clorídrico aquecido a 95 °C. Nesta solução, o nitrito presente foi quantitativamente reduzido a NO gasoso, seguindo a reação abaixo:



O NO liberado foi transportado pelo fluxo de gás inerte até a câmara de detecção do NOA, onde reagiu com ozônio (O₃), gerando um sinal de quimiluminescência proporcional à concentração de NO presente na amostra. O sinal foi registrado e integrado pelo software do equipamento.

As concentrações de nitrito nas amostras foram determinadas por interpolação a partir da curva padrão de nitrito de sódio e expressas em µM. Os resultados foram utilizados como indicador indireto da produção de óxido nítrico. A atividade anti-inflamatória dos tratamentos foi avaliada pela redução dos níveis de nitrito em comparação ao grupo controle inflamatório (LPS), sendo os dados apresentados como média ± erro padrão.

4.15.2. Produção de IL-6 e TNF-α

A atividade anti-inflamatória dos CLNs, dos hidrogéis e do óleo de copaíba também foi avaliada *in vitro* por meio da quantificação da produção de citocinas pró-inflamatórias, sendo estas a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), em macrófagos murinos da linhagem RAW 264.7 estimulados com lipopolissacarídeo.

As células RAW 264.7 foram cultivadas conforme descrito no subtópico anterior, e as concentrações de IL-6 e TNF-α nos sobrenadantes foram determinadas por ensaio imunoenzimático do tipo ELISA sanduíche, utilizando

kits comerciais DuoSet® para camundongo (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante. As curvas padrão foram preparadas conforme recomendado nos kits, e a leitura da densidade óptica foi realizada a 450 nm em leitor de microplacas. Os níveis de citocinas foram expressos em pg/mL, calculados a partir das curvas padrão.

4.16. Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em triplicata ou quadruplicata, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Para comparação entre dois grupos, foi aplicado o teste t de *Student* não pareado. Em análises envolvendo três ou mais grupos, foi utilizada análise de variância unidirecional (ANOVA oneway), seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism® (San Diego, EUA).

Resultados e discussão

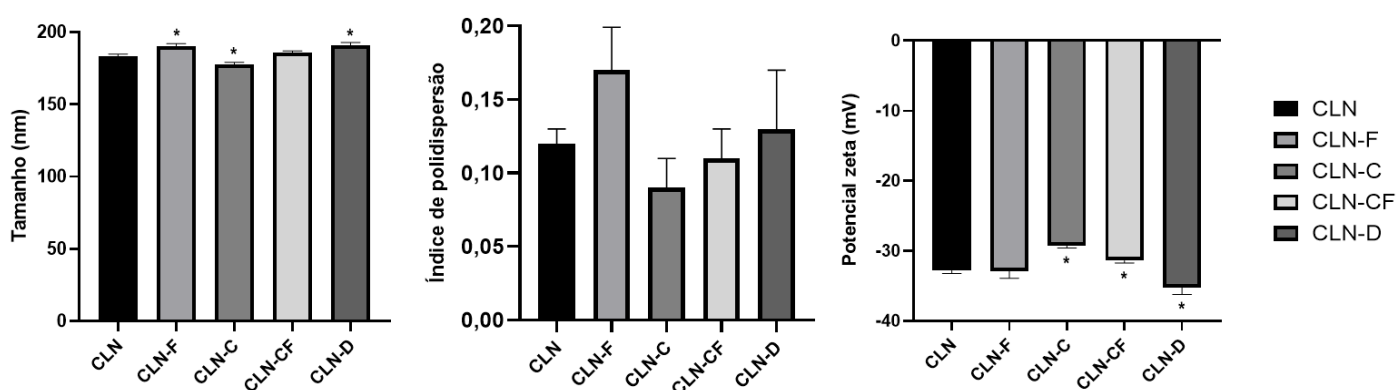
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção e purificação dos nanossistemas

O nanossistema produzido corresponde à formulação previamente otimizada e parcialmente caracterizada pelo grupo de pesquisa, como descrito por Uchôa *et al.* (2025), e manteve características físico-químicas compatíveis com aquelas reportadas no referido estudo. A formulação apresentou aparência físico-química adequada, com cor branca e reflexo azulado, característico de formulações na escala nanométrica. Apresentou também diâmetro hidrodinâmico médio de $183,0 \pm 1,8$ nm, estando em consonância com a literatura científica no que tange a CLN e aplicações tópicas, pois partículas abaixo de 200 nm tendem a apresentar maior internalização celular e melhor estabilidade em suspensão (Yusuf *et al.*, 2023). Além disso, seu Pdl foi de $0,12 \pm 0,01$ e potencial zeta foi de $-32,8 \pm 0,4$ mV, denotando distribuição estreita e estabilidade eletrostática adequada para a maioria das aplicações biológicas, visto que valores de potencial zeta em módulo ≥ 30 mV são frequentemente usados como indicador de maior estabilidade eletrostática em suspensões (Rodriguez-Loya; Lerma; Gardea-Torresdey, 2023).

Com o intuito de remover possíveis resíduos não encapsulados e avaliar o impacto dos diferentes processos de purificação sobre as propriedades coloidais, quatro estratégias foram testadas, como exposto na Figura 6. De maneira geral, todas as abordagens preservaram o caráter nanométrico das formulações, com tamanhos médios variando entre 177,3 e 192,7 nm e potenciais zeta entre $-29,2$ e $-35,2$ mV (Tabela 2).

Figura 6. Comparação entre os parâmetros físico-químicos das formulações purificadas e não purificada.



CLN: não purificado; **CLN-F:** filtrado; **CLN-C:** centrifugado; **CLN-CF:** centrifugado com filtro; **CLN-D:** dialisado. Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA *one-way* seguida de teste de Tukey. Asteriscos indicam $p < 0,05$ em relação ao grupo CLN.

Fonte: Autoria própria, 2025

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos das formulações purificadas em comparação com o CLN não purificado.

Formulação	Tamanho (nm)	Pdl	Zeta (mV)
CLN	183 \pm 1,8	0,12 \pm 0,01	-32,8 \pm 0,4
CLN-F	190,1 \pm 2,0	0,17 \pm 0,07	-32,9 \pm 1,0
CLN-C	177,3 \pm 1,8	0,09 \pm 0,02	-29,2 \pm 0,4
CLN-C+F	185,5 \pm 1,5	0,11 \pm 0,02	-31,4 \pm 0,32
CLN-D	192,7 \pm 2,2	0,13 \pm 0,04	-35,2 \pm 1,0

Fonte: Autoria própria, 2025

A análise estatística revelou diferenças significativas no tamanho de partícula para alguns grupos em relação ao CLN não purificado (Figura 6, $p < 0,05$). Entretanto, do ponto de vista prático, todas as formulações permaneceram dentro da mesma faixa de tamanho considerada adequada para aplicação tópica, não sendo observadas alterações que comprometessem a aplicabilidade do sistema. Em relação ao Pdl, apesar da centrifugação convencional (CLN-C) ter resultado em menores valores (0,09 \pm 0,02), sugerindo aumento da monodispersidade após sedimentação do material livre, estatisticamente, essa diferença não foi significativa.

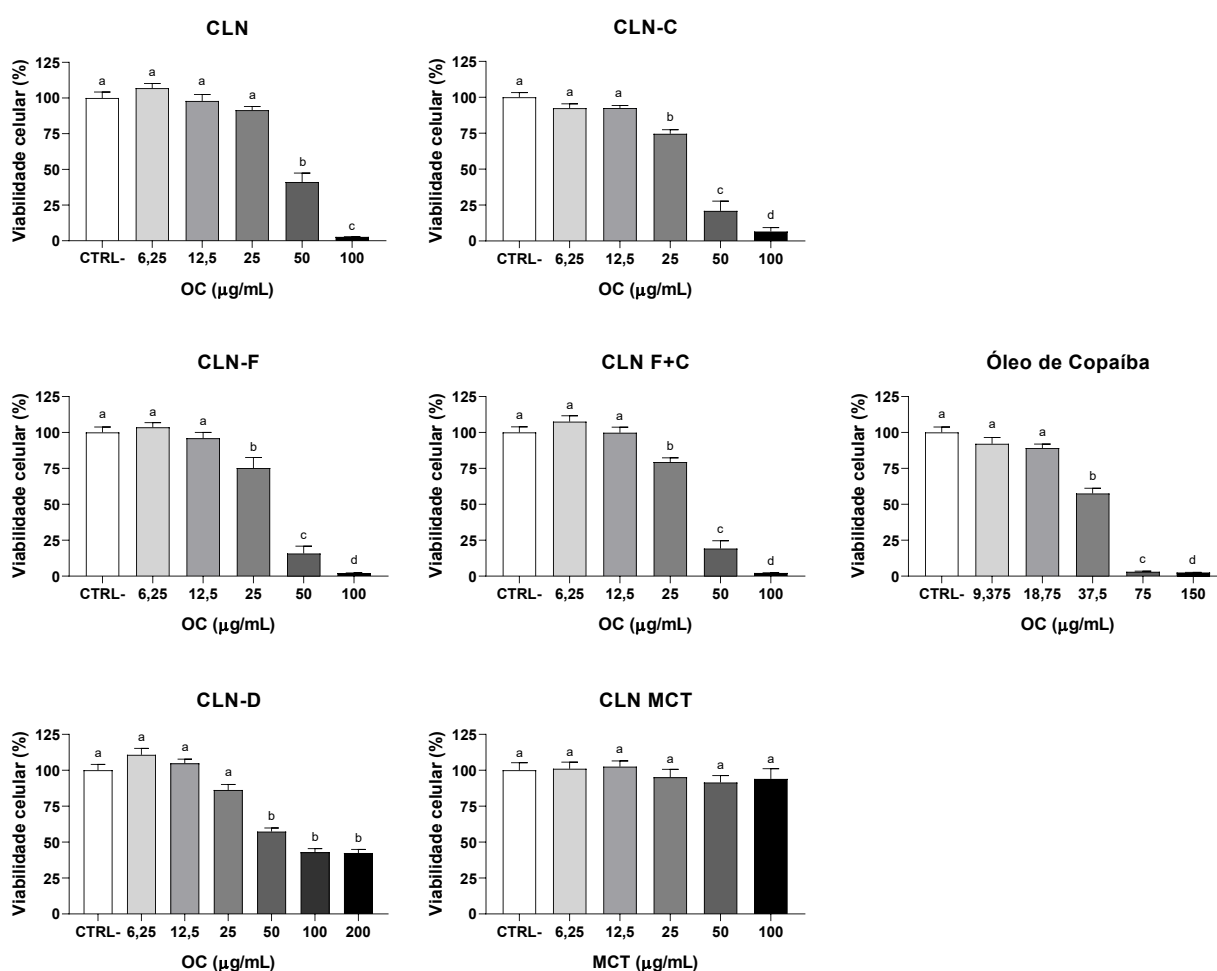
Quanto ao potencial zeta, observou-se que a diálise resultou em aumento significativo (-35,2 \pm 1,0 mV) em comparação ao CLN não purificado, sugerindo uma remoção eficiente de impurezas de baixo peso molecular. Ainda assim, todas as formulações apresentaram valores de potencial zeta em módulo próximos ou superiores a 30 mV, indicando estabilidade eletrostática adequada

e ausência de tendência à agregação, independentemente da estratégia de purificação utilizada.

5.2. Ensaio de citotoxicidade dos nanossistemas purificados

A análise da citotoxicidade em células HaCaT demonstrou diferenças significativas entre as formulações avaliadas, revelando perfis dose-dependentes distintos entre elas (Figura 7).

Figura 7. Citotoxicidade na linhagem celular HaCaT após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio MTT



Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA *One-way* seguido de teste de Tukey. Letras diferentes indicam $p < 0.05$.

CLN: CLN não purificado; CLN-C: CLN centrifugado; CLN-F: CLN filtrado; CLN F+C: CLN centrifugado com filtro; CLN-D: CLN dialisado; CLN MCT: CLN vazio, sem OC.

Fonte: Autoria própria, 2025

Os resultados mostraram que a nanoencapsulação do óleo de copaíba em CLNs dialisados (CLN-D) reduziu significativamente sua toxicidade em relação ao óleo livre, conforme evidenciado pelo aumento do valor de IC₅₀ (73,59 ± 1,21 µg/mL) (Tabela 3). Observou-se que a formulação dialisada também apresentou o maior valor de CI₅₀ (73,59 ± 1,21 µg/mL), sendo significativamente superior a do CLN não purificado e a dos demais CLNs, o que indica menor citotoxicidade e sugere que a etapa de diálise contribuiu para ampliar a janela de segurança *in vitro* do óleo de copaíba.

Tabela 3. Concentração que inibe 50% do crescimento celular (CI₅₀) em HaCaT após tratamento com as formulações por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT.

Formulação	CI₅₀ (µg/mL)
OC	39,50 ± 1,97 ^a
CLN	45,64 ± 1,63 ^a
CLN MCT	> 100 ^a
CLN-F	32,97 ± 0,78 ^a
CLN-C	34,04 ± 2,16 ^a
CLN-C+F	35,06 ± 1,49 ^a
CLN-D	73,59 ± 1,21 ^b

Valores expressos como média ± DP. ANOVA *One-way* seguida de teste de Tukey. Letras diferentes indicam diferença estatística (p<0,05).

Fonte: Autoria própria, 2025

A filtração e a centrifugação removem predominantemente partículas de maior tamanho ou agregados eventualmente formados durante o preparo, enquanto a ultrafiltração promove a retenção do nanossistema com remoção parcial da fase aquosa. Esses processos podem, portanto, resultar em modificações na concentração efetiva do CLN ou na proporção entre frações livres e associadas, o que pode explicar o discreto aumento da citotoxicidade observado, em relação ao CLN-D.

A diálise mostrou-se mais eficiente na remoção de constituintes de baixa massa molecular não encapsulados ou fracamente associados às nanopartículas, reduzindo a fração prontamente biodisponível do óleo. A

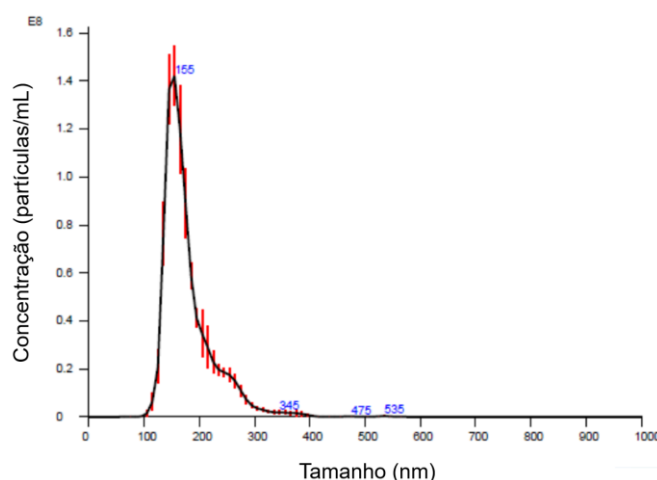
diminuição significativa da citotoxicidade observada após esse processo sugere menor exposição celular imediata aos componentes livres, favorecendo um perfil de liberação mais controlado e dependente da fração efetivamente retida na matriz lipídica.

Assim, para as etapas subsequentes deste estudo, optou-se por utilizar o CLN-D (daqui em diante chamado apenas de “CLN”), uma vez que essa abordagem apresentou o perfil de citotoxicidade mais favorável. A escolha da formulação dialisada visa garantir maior consistência experimental, reduzindo a influência de frações livres ou fracamente associadas do óleo de copaíba que poderiam trazer variabilidade nos ensaios biológicos. Além disso, a diálise permite trabalhar com um CLN no qual a resposta celular está predominantemente relacionada à fração efetivamente encapsulada, favorecendo a interpretação dos resultados e a comparação entre diferentes experimentos.

5.3. Rastreo de nanopartículas

O rastreo dos CLNs revelou uma distribuição de tamanhos unimodal e centrada na faixa nanométrica, com média ponderada de $178,9 \pm 1,7$ nm (Figura 8), modo de $153,5 \pm 3,0$ nm, D50 de $165,3 \pm 0,9$ nm e D90 de $243,3 \pm 4,4$ nm.

Figura 8. Distribuição de tamanho de partículas do sistema



Fonte: Autoria própria, 2025

Em NTA, esses parâmetros descrevem a distribuição por número de partículas rastreadas individualmente a partir do seu movimento Browniano,

onde o modo representa o tamanho mais frequente (pico da distribuição), indicando onde se concentra a maior parte da população; D50 a mediana da distribuição, ou seja, 50% das partículas têm diâmetro igual ou menor a esse valor, fornecendo uma medida do centro sem ser influenciada por caudas; e D90 delimita a cauda superior (indica que 90% das partículas têm tamanho igual ou menor a esse valor), útil para detectar a presença de subpopulações maiores. Assim, estes parâmetros indicam uma população compacta, sem agregados relevantes, corroborando também com o Pdl baixo observado na análise por DLS. Ressalte-se, ainda, que a pequena diferença entre os resultados do NTA (número-ponderado) e do DLS (intensidade-ponderado) é esperada, pois, devido à contagem individual, o NTA fornece resultados levemente menores do que os diâmetros médios por intensidade do DLS, que são mais sensíveis a frações maiores (Maguire *et al.*, 2018).

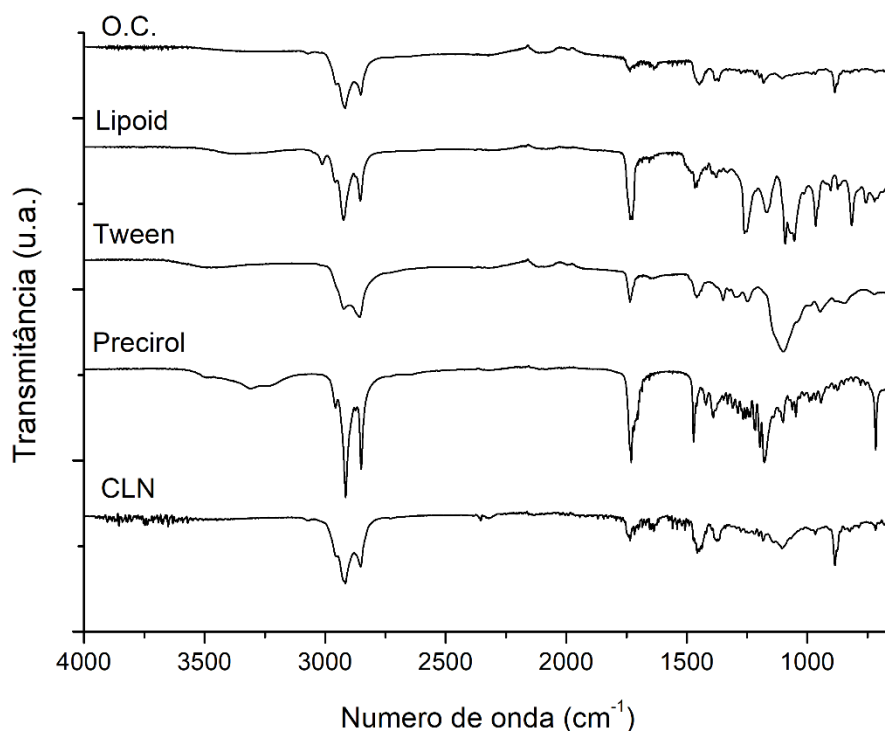
No que se refere à concentração, o NTA indicou que a formulação apresentou aproximadamente $8,9 \times 10^{12}$ partículas/mL, considerando a diluição de 1:10000 utilizada para a análise. Esse valor elevado confirma a eficiência do processo de produção e representa um dado relevante na prática, uma vez que a caracterização de nanopartículas é geralmente restrita a parâmetros como diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta, que não refletem diretamente a densidade populacional de partículas disponíveis para interação biológica. A determinação da concentração em partículas/mL é, portanto, um parâmetro complementar ao teor de ativo encapsulado, que permite que a dose seja definida não apenas em termos de massa de OC, mas também em função do número absoluto de CLNs administrados. Essa informação é particularmente importante em formulações de aplicação tópica, nas quais o efeito farmacológico pode depender não apenas da quantidade de óleo liberado, mas também do número de partículas efetivamente capazes de aderir, interagir e liberar o fármaco na superfície cutânea (Chaiprateep *et al.*, 2023).

5.4. Espectroscopia no infravermelho

Para confirmar a composição química das amostras com base em seus grupos funcionais, as nanopartículas foram analisadas por Espectroscopia no

infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e os espectros foram dispostos na Figura 9.

Figura 9. Análise comparativa dos espectros de FTIR dos CLNs e de seus componentes.



Fonte: Autoria própria, 2025

Nos espectros individuais, observam-se as bandas típicas esperadas para os excipientes lipídicos e tensoativos. O Precirol® ATO 5, rico em glicerídeos, apresentou bandas intensas associadas ao estiramento C–H de cadeias alifáticas (~ 2914 e ~ 2850 cm^{-1}) e uma banda marcante de estiramento C=O de éster (~ 1730 cm^{-1}), além de bandas na região de ~ 1470 cm^{-1} (vibrações da cadeia alifática), que são típicas de materiais lipídicos ricos em ésteres (Teixeira *et al.*, 2022). Para o Tween 80, a presença de banda na região de carbonila (~ 1733 cm^{-1}) e contribuições na região de C–H (~ 2858 cm^{-1}) também é compatível com sua estrutura (éster e cadeias alifáticas), favorecendo sobreposição com as bandas dos lipídios (Ali *et al.*, 2023). Já o espectro do OC apresentou predominância de bandas associadas a grupos hidrocarbonetos (C–H alifático na região de ~ 2900 cm^{-1}), além de bandas de estiramento C=O (~ 1700 cm^{-1}) e sinais em 886, 1500 e 1644 cm^{-1} , característicos de óleos essenciais (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2020).

Ao analisar o espectro do CLN, nota-se que ele é majoritariamente parecido com o do lipídio sólido, com manutenção das bandas alifáticas (~ 2914 e $\sim 2850 \text{ cm}^{-1}$) e da carbonila de éster ($\sim 1730 \text{ cm}^{-1}$), além de bandas na região de $\sim 1470 \text{ cm}^{-1}$. Esse comportamento é esperado, já que a fração lipídica constitui a maior parte da composição da partícula (Teixeira *et al.*, 2022). Um ponto importante é que, no espectro do CLN, não houve formação de novas bandas correspondentes a ligações covalentes com o óleo de copaíba, e as bandas que seriam mais atribuíveis ao OC também aparecem atenuadas, possivelmente mascaradas pela matriz lipídica e pelos tensoativos. Esses aspectos são frequentemente interpretados como indicativo de que o composto se encontra bem internalizado na matriz, e não livre na amostra (Hema *et al.*, 2022).

5.5. Análises térmicas

A fim de avaliar o comportamento térmico dos CLNs frente a altas temperaturas, foram realizados os ensaios de Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

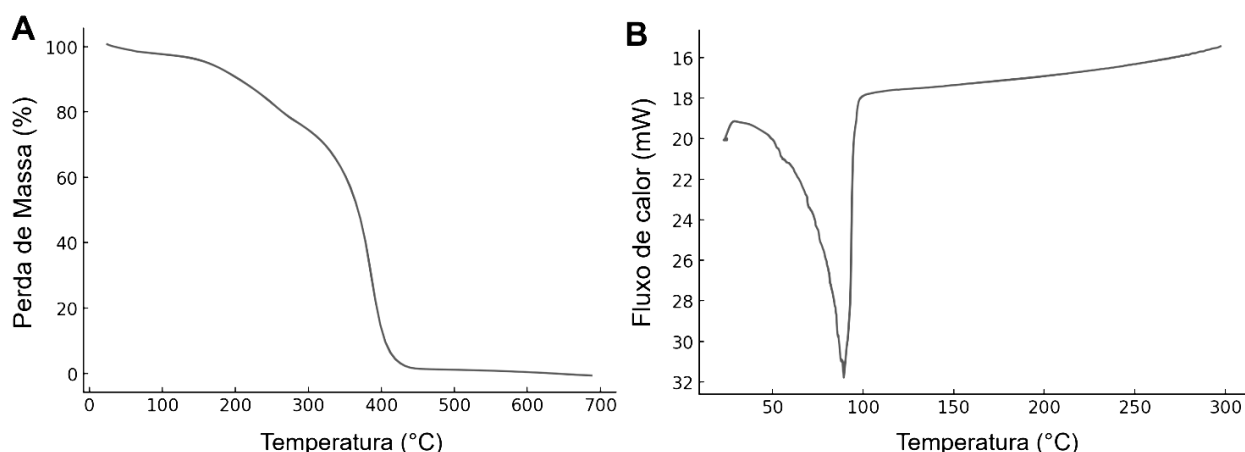
O termograma (Figura 10A) evidencia uma perda de massa gradual, com a primeira redução mais perceptível ocorrendo apenas por volta de $280 \text{ }^\circ\text{C}$, representando cerca de 20% de perda, seguida por uma etapa mais intensa entre 300 e $400 \text{ }^\circ\text{C}$ e culminando em resíduo final mínimo acima de $450 \text{ }^\circ\text{C}$. A ausência de eventos de perda de massa em baixas temperaturas sugere que o óleo de copaíba, mesmo possuindo frações voláteis, não se encontra adsorvido na superfície, mas sim retido no núcleo das nanopartículas (Múnera-Echeverri; Múnera-Echeverri; Segura-Sánchez, 2024). A degradação mais acentuada observada posteriormente corresponde possivelmente à decomposição térmica e carbonização da matriz lipídica e dos surfactantes, resultando em um resíduo final mínimo, característico de materiais orgânicos biocompatíveis.

Já a curva de DSC (Figura 10B) destaca um evento endotérmico bem definido antes de $100 \text{ }^\circ\text{C}$, possivelmente associado a fusão do lipídio sólido utilizado nas nanoformulações e sua interação com os componentes líquidos, assim como observado por Huguet-Casquero e colaboradores (2020). A ausência de um segundo pico endotérmico, por outro lado, também pode estar

relacionada à boa dispersão do composto encapsulado, neste caso o óleo de copaíba, e dos tensoativos utilizados, na matriz lipídica (Muraca *et al.*, 2023).

O perfil adequado de estabilidade térmica dos CLNs se dá provavelmente devido à formação de uma matriz estruturalmente desordenada induzida pela presença do óleo no núcleo lipídico das partículas.

Figura 10. TG (A) e DSC (B) dos CLNs produzidos e purificados.



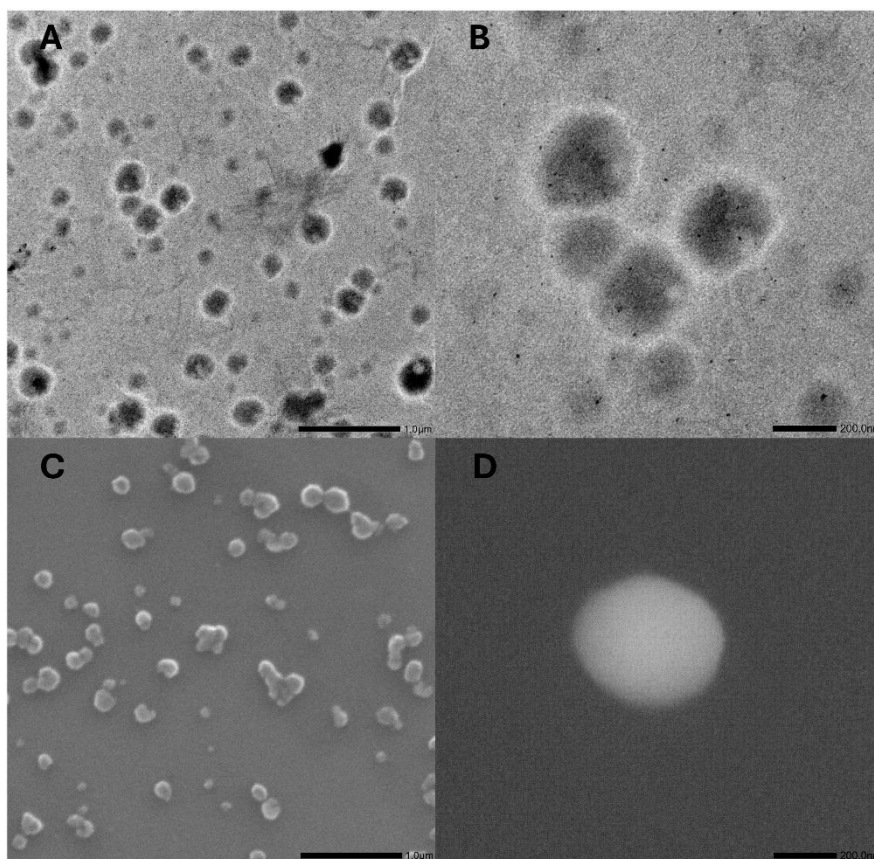
5.6. Morfologia

A avaliação morfológica dos CLN por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão evidenciou partículas de formato predominantemente esférico, com contornos regulares e distribuição relativamente homogênea (Figura 11). Na escala de 1 μm observa-se uma boa dispersão das partículas no campo, sem formação de agregados grandes, o que corrobora a estabilidade coloidal previamente indicada pelas análises de DLS e NTA. Já em 200 nm, as imagens mostram partículas de superfície definida e núcleo de maior contraste, o que pode estar associado à heterogeneidade da matriz lipídica, composta por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos. Essa forma de organização é característica de carreadores lipídicos nanoestruturados, onde a combinação dos lipídios favorece a formação de regiões menos organizadas dentro da matriz, conferindo maior capacidade de encapsulação e retenção do ativo, neste caso, o óleo de copaíba.

Resultados semelhantes têm sido amplamente reportados na literatura. Uchôa *et al.* (2025) e Prasertpol; Tiyaboonchai (2020), por exemplo, demonstraram que CLN apresentam, em geral, morfologia esférica e superfície

uniforme, indicando boa integridade das partículas após a produção. Além disso, a forma esférica e a homogeneidade são características diretamente ligadas à estabilidade físico-química, à eficiência de encapsulação, a uma melhor internalização celular e a um perfil de liberação controlada desses sistemas.

Figura 11. MET dos CLN na escala de 1 μm (A) e 200 nm (B) e MEV dos CLN na escala de 1 μm (C) e 200 nm (D)

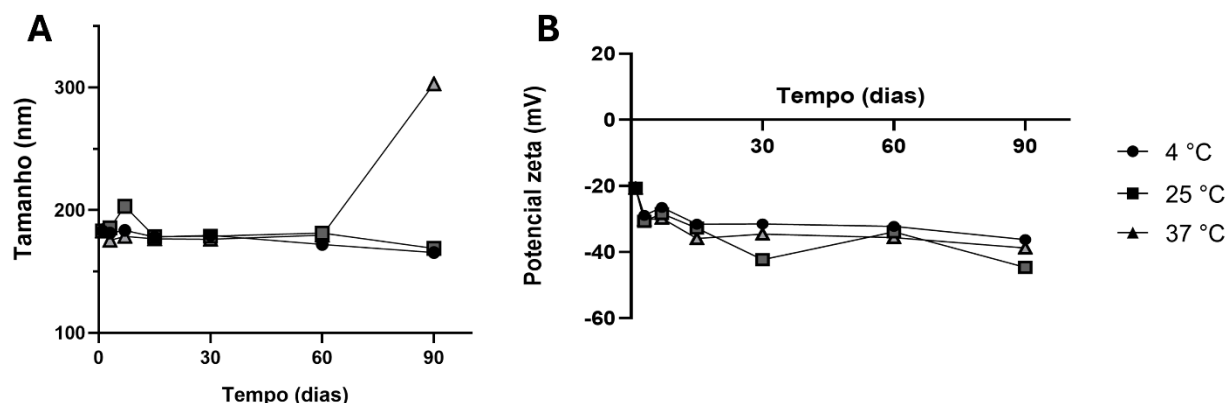


Fonte: Autoria própria, 2025

5.7. Estabilidade físico-química

Formulações farmacêuticas são suscetíveis a processos de degradação química e física ao longo do seu tempo de armazenamento, o que pode comprometer a qualidade do produto e, conseqüentemente, reduzir sua eficácia terapêutica (Perrigue *et al.*, 2021). Neste estudo, os CLNs foram monitorados por 90 dias quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta, e os resultados estão apresentados na Figura 12.

Figura 12. Diferenças de tamanho de partículas (A) e potencial zeta (B) dos CLNs ao longo de 90 dias e 4, 25 e 37 °C.



Fonte: Autoria própria, 2025

Os CLNs mantiveram aspecto macroscópico e tamanho relativamente constantes sob armazenamento a 4 °C e 25 °C ao longo dos 90 dias, com apenas variações discretas (165,4 e 168,9 nm, respectivamente.). Em relação ao potencial zeta, houve um aumento significativo em módulo, de -20,7 para -36,2 mV (4 °C) e -44,6 mV (25 °C). Esse comportamento sugere boa estabilidade coloidal nessas condições, compatível com o uso de lipídios e surfactantes capazes de manter uma barreira interfacial íntegra e reduzir a tendência à agregação, mesmo em diferentes condições de armazenamento.

Por outro lado, alterações no potencial zeta nem sempre se traduzem linearmente em ganho ou perda de estabilidade coloidal, principalmente em casos como este, onde formulações lipídicas estabilizadas por tensoativos não iônicos, como os polissorbatos, tendem a apresentar contribuição relevante de estabilização estérica (Dhiman *et al.*, 2021). Assim, sob armazenamento a 37 °C, apesar de um aumento do potencial zeta no dia 90 (-38,8 mV), observou-se aumento acentuado do tamanho (602,9 nm), acompanhado por evidente separação de fases, indicando instabilidade física tardia, possivelmente estérica, sob temperaturas elevadas.

Do ponto de vista físico-químico, é esperado que temperaturas mais elevadas reduzam a estabilidade coloidal de dispersões nanoestruturadas, pois o aumento da energia cinética intensifica o movimento browniano das partículas, elevando a frequência de colisões entre elas, o que leva a formação de

agregados e o aumento da polidispersão do sistema (Hutin *et al.*, 2022). Além disso, em nanopartículas lipídicas, variações térmicas podem influenciar eventos de fusão e recristalização da matriz e acelerar transições polimórficas, processos dependentes de temperatura e tempo de armazenamento, alterando a área superficial das partículas, o que impacta a eficiência da camada de tensoativo e, conseqüentemente, a tendência à agregação (Yang *et al.*, 2014).

Em suma, os resultados indicam que os CLNs são físico-quimicamente estáveis em 4 °C e 25 °C por pelo menos 90 dias, enquanto a condição de 37 °C atua como uma espécie de estresse térmico que, ao longo do tempo, pode comprometer a estabilidade coloidal e a homogeneidade do sistema.

5.8. Caracterização físico-química da mucilagem de Aloe vera

5.8.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas

A garantia da segurança dermatológica da mucilagem de *Aloe vera* recomenda a remoção eficiente da maior parte das antraquinonas presentes no látex, substâncias reconhecidas pelo seu potencial citotóxico se presentes em altas quantidades (Ahlawat; Khatkar, 2011). Para investigar a presença destes contaminantes, especificamente a aloína, empregou-se uma extração sólido-líquido seguida de análise por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas.

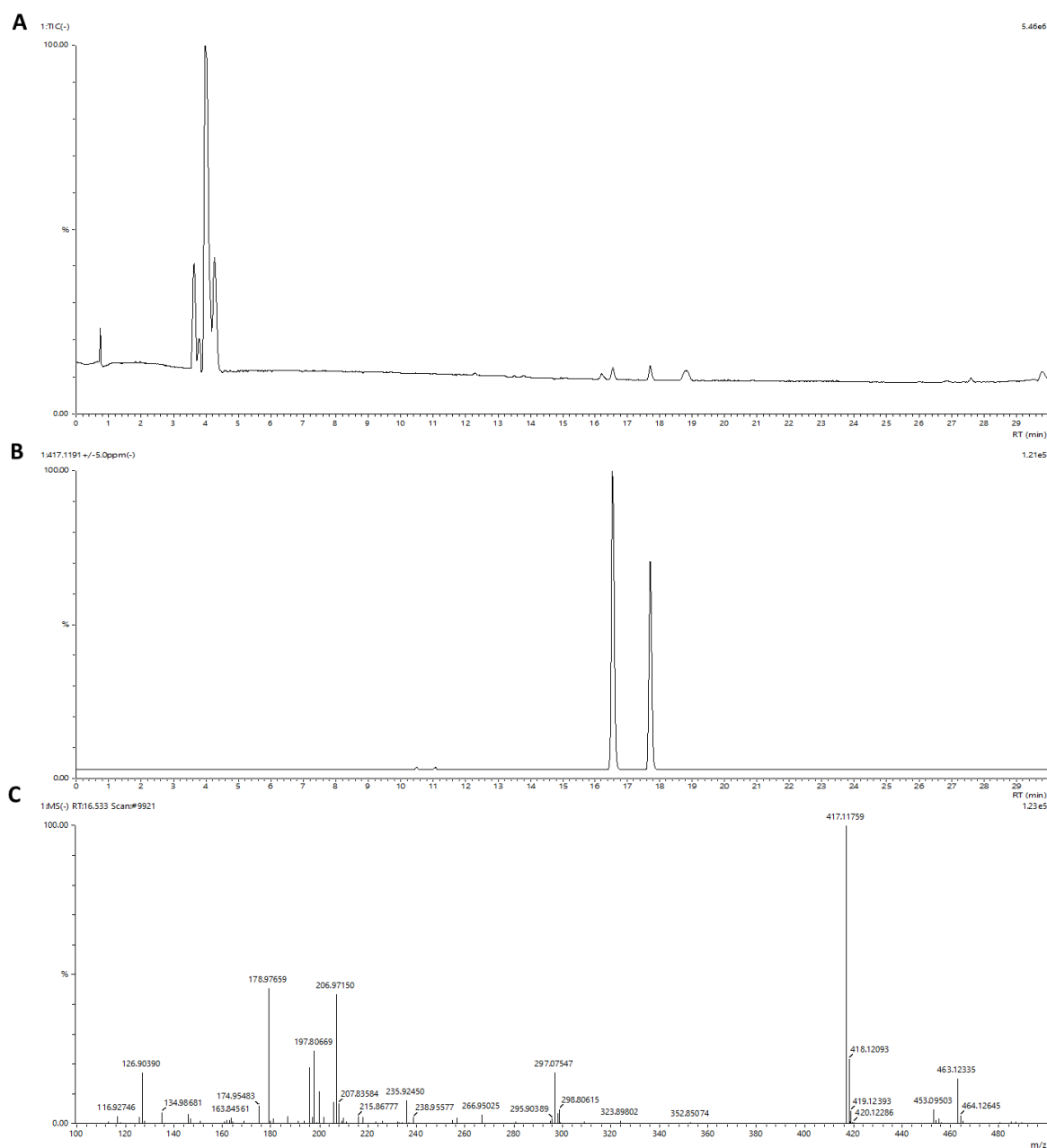
A análise do Cromatograma de Íons Totais (Figura 13A), revelou elevada pureza para a fração isolada. Foram observados apenas dois sinais residuais de baixa intensidade relativa, nos tempos de retenção de 16,53 e 17,53 min, atribuídos à presença de aloína. A identificação desses sinais foi confirmada por meio do cromatograma de íons extraídos e do espectro de massas correspondente (Figuras 13B e 13C), os quais evidenciaram o íon desprotonado com razão massa/carga $[M-H]^-$ de m/z 417,1176.

A aloína ocorre naturalmente como uma mistura de dois diastereoisômeros, aloína A (barbaloina) e aloína B (isobarbaloina), os quais apresentam a mesma razão massa/carga em espectrometria de massas, porém diferem em sua interação com a fase estacionária cromatográfica. Como

consequência, esses isômeros eluem em tempos de retenção próximos, porém distintos, resultando na observação de dois picos cromatográficos associados ao mesmo íon molecular, assim como observado previamente por Loschi *et al.* (2022).

Adicionalmente, o perfil de fragmentação corroborou a estrutura de uma C-glicosil-antraquinona, que evidenciou a presença do íon fragmentário majoritário de m/z 297,0755, correspondente à aloe-emodina antrona, resultante da clivagem da porção glicosídica da aloína (Wang *et al.*, 2012) (Figura 13C).

Figura 13. Cromatograma de íons totais (A), sinal referente a aloína (B) e íons relacionados (C)



Fonte: Autoria própria, 2025

Embora detectável pela alta sensibilidade do sistema utilizado, a baixa intensidade do sinal em comparação a dos demais sinais encontrados entre 3 e 5 minutos, sugere a baixa concentração da aloína na amostra. Tal fato corrobora a ausência de citotoxicidade observada nos ensaios biológicos com macrófagos e fibroblastos realizados neste estudo, discutido no tópico 5.11. posterior. Em conjunto, esses resultados validam a mucilagem coletada como um insumo

seguro e adequado para o tratamento transdérmico, onde a presença destes traços não compromete sua aplicabilidade clínica, visto que o *International Aloe Science Council* (IASC) preconiza que pode haver baixo teor de aloína em produtos tópicos, geralmente abaixo de 50 ppm, sem riscos de irritação (IASC, 2013).

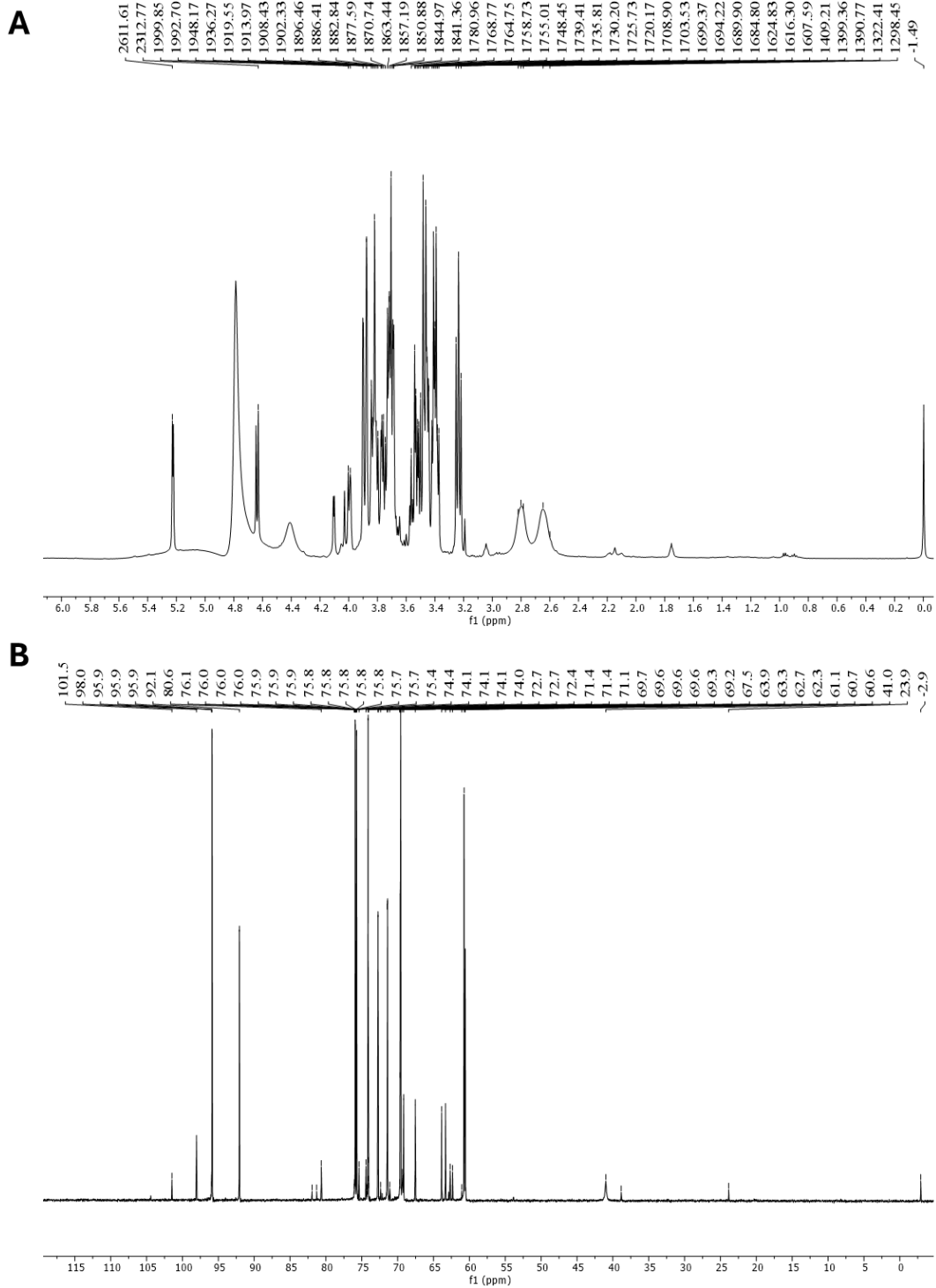
5.8.2. Ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é amplamente empregada como uma ferramenta de identificação, garantia da integridade e controle de qualidade para preparações de diversos produtos, inclusive da *Aloe vera*. Isso se dá, sobretudo, porque ela permite reconhecer uma área de impressão digital de polissacarídeos acetilados do gel e detectar marcadores de degradação/adulteração em uma mesma aquisição de RMN (Jiao *et al.*, 2010).

No espectro de ^1H RMN (Figura 14A), observa-se predominância de sinais na região 3,0-4,5 ppm, característica de prótons ligados a carbonos oxigenados em anéis de carboidratos, como glicose e manose, padrão esperado para matrizes polissacarídicas (Kiran *et al.*, 2017). O sinal diagnóstico da acemanana, descrita na literatura como um manano β -(1 \rightarrow 4) com acetilação parcial, geralmente se apresenta no espectro com sinais na faixa de 2-2,5 ppm, associados aos prótons do grupo metílico dos grupos acetil. Ademais, o sinal em torno de 4,45 ppm, atribuído ao ácido málico natural da planta, também costuma estar presente (Jales *et al.*, 2022; Minjares-Fuentes *et al.*, 2017).

Corroborando esses dados, observa-se no espectro de ^{13}C RMN (Figura 14B) um perfil rico em carboidratos, sugestivo da presença de glucomanana, com predominância de sinais na região de 60-85 ppm, atribuída aos carbonos do esqueleto do anel de unidades sacarídicas, e sinais na faixa de 95-105 ppm, compatíveis com carbonos anoméricos (C-1) de ligações β -glicosídicas. Por fim, a presença de picos em 20-25 ppm sugerem presença de frações típicas de acemanana (Venegas-Garcia; Wilson; Cruz-Guzmán, 2024).

Figura 14. Espectros de RMN de ^1H (A) e ^{13}C (B) da mucilagem

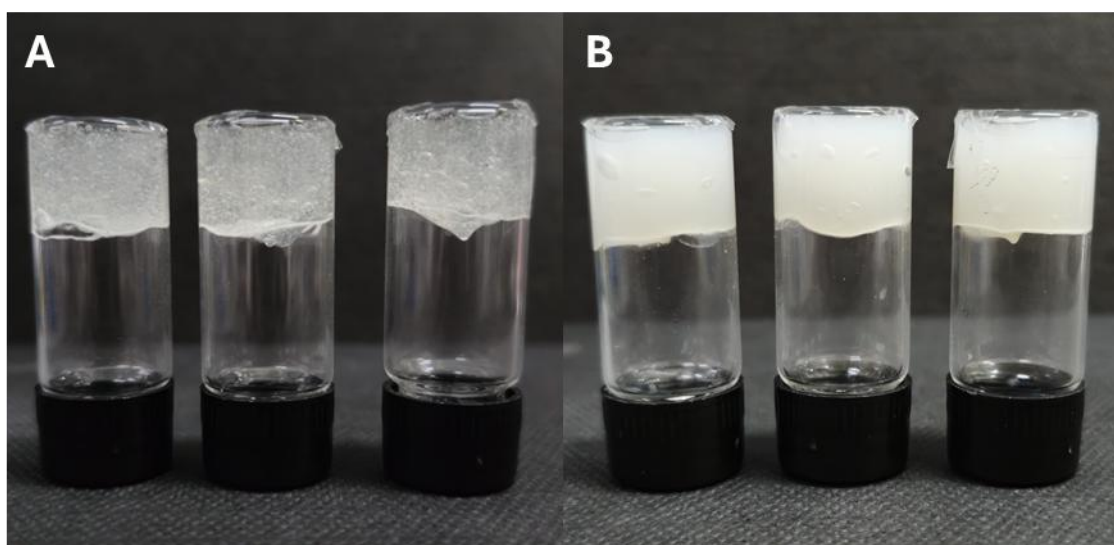


Fonte: Autoria própria, 2025

5.9. Produção e caracterização do hidrogel à base de *Aloe vera*

As formulações semissólidas foram preparadas com êxito, resultando em hidrogéis de aspecto homogêneo, brilhante e consistência viscosa adequada para aplicação tópica. O hidrogel contendo apenas a mucilagem de *Aloe vera* apresentou coloração levemente amarelada e translúcida (Figura 15A), característica do polímero natural, enquanto a formulação contendo as nanopartículas exibiu aspecto branco leitoso e opaco (Figura 15B), devido à dispersão coloidal dos lipídios (Efeito *Tyndall*).

Figura 15. Aspecto macroscópico do hidrogel sem CLNs (A) e com CLNs (B)



Fonte: Autoria própria, 2025

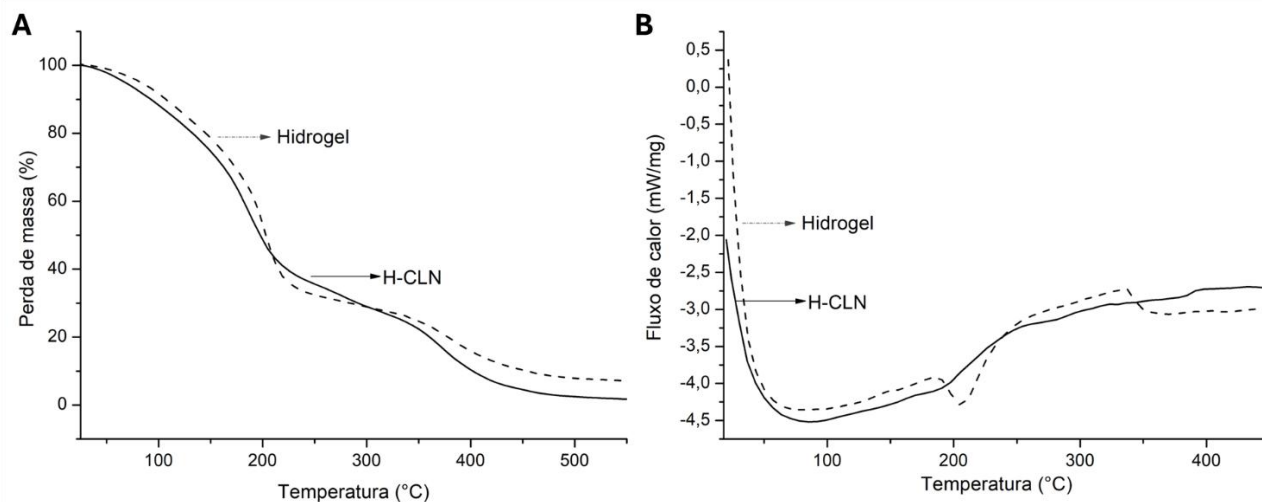
Após a produção, as amostras foram acondicionadas em recipientes herméticos e armazenadas sob refrigeração (4 ± 2 °C) até o momento das análises. Para períodos de espera superiores a 7 dias, optou-se pelo armazenamento a -20 °C, a fim de preservar a integridade dos bioativos e prevenir contaminação microbiana. Para fins de discussão subsequente, a formulação contendo apenas a base polimérica será denominada "Hidrogel" (ou "Hidro"), enquanto a base polimérica contendo os Carreadores Lipídicos Nanoestruturados de óleo de copaíba será denominada "H-CLN".

5.9.1. Análises térmicas

A estabilidade térmica e as possíveis interações físico-químicas entre a matriz do hidrogel e os nanocarreadores foram avaliadas por Termogravimetria

(TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), cujas curvas estão dispostas na Figura 16.

Figura 16. TG (A) e DSC (B) dos hidrogéis, com e sem CLNs



Fonte: Autoria própria, 2025

A curva termogravimétrica (Figura 16A) de ambas as formulações apresentou degradação térmica semelhante, caracterizada majoritariamente por três estágios de perda de massa. O primeiro evento, ocorrendo na faixa de temperatura entre 30 e 180 °C, corresponde à perda de massa mais expressiva, cerca de 60%, atribuída à evaporação da água livre e ligada presente na rede polimérica tridimensional. Este comportamento é esperado para formas farmacêuticas hidrofílicas, onde a água atua como solvente e plastificante da matriz, principalmente no caso de formulações à base de *Aloe vera*, onde mais de 90% da mucilagem da planta corresponde a água (Martínez-Burgos *et al.*, 2022).

Corroborando os achados de Chelu e colaboradores (2023), as etapas seguintes de degradação são provavelmente relacionadas aos compostos poliméricos utilizados, que geralmente são degradados em mais altas temperaturas, com maior perda ocorrendo frequentemente entre 200-300 °C. Etapas adicionais, acima de 400 °C, geralmente estão relacionadas à degradação extensa/carbonização e formação de resíduo. É importante notar que a incorporação dos CLNs não pareceu alterar significativamente o perfil de

degradação da matriz, sugerindo que as nanopartículas estão fisicamente dispersas no gel sem comprometer a estabilidade térmica global do sistema.

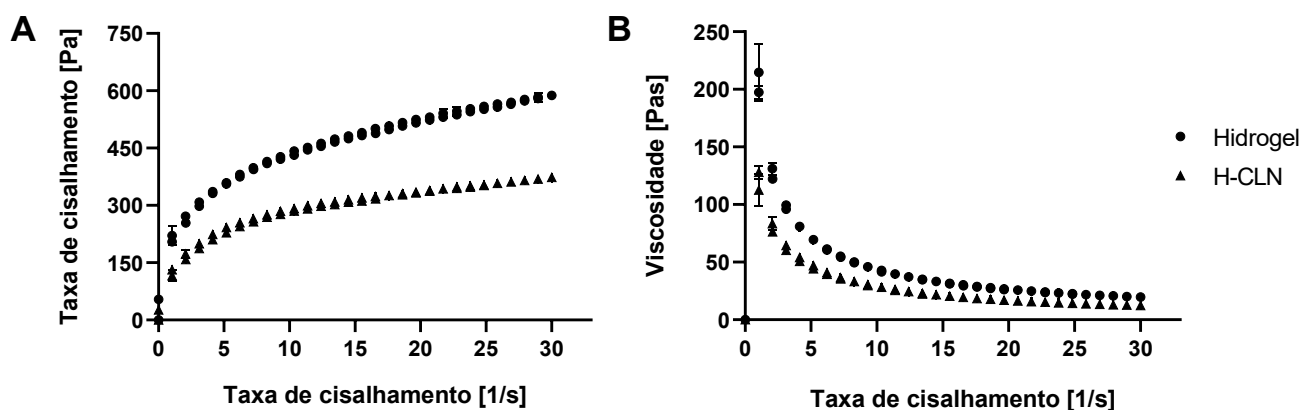
As curvas de DSC (Figura 16B) exibiram um evento endotérmico amplo e proeminente, com pico centrado em aproximadamente 80 °C. Esse evento é mais provavelmente atribuído à remoção de umidade residual e água ligada à rede polimérica do hidrogel, semelhante aos achados de Yoshida *et al.* (2021), possivelmente mascarando outras transições térmicas sutis, como a fusão de lipídios vista no DSC dos CLNs isolados, que poderiam ocorrer nesta faixa. Assim, a ausência desses picos de fusão isolados referentes aos componentes lipídicos pode sugerir que as nanopartículas foram eficientemente incorporadas na matriz polimérica sem comprometer sua estabilidade.

Resumidamente, as análises térmicas indicaram que a incorporação de CLNs não promoveu alterações relevantes nos perfis de degradação principais do hidrogel, sugerindo manutenção da estabilidade térmica geral, com curvas dominadas principalmente pela perda de água.

5.9.2. Propriedades reológicas

O comportamento reológico das formulações semissólidas desempenha um papel crucial na aceitabilidade do paciente e, conseqüentemente, na eficácia terapêutica, influenciando diretamente a facilidade de espalhamento e a retenção do produto no local de aplicação. As curvas de fluxo (A) e de viscosidade (B) para o Hidrogel e para H-CLN são apresentadas na Figura 17.

Figura 17. Reologia do hidrogel e H-CLN



Fonte: Autoria própria, 2025

A análise dos reogramas demonstra que ambas as formulações exibem um comportamento de fluxo não-newtoniano, com caráter pseudoplástico (*shear-thinning*). Este é caracterizado pela não-linearidade da relação entre tensão e taxa de cisalhamento e, mais notavelmente, pelo decaimento acentuado da viscosidade aparente conforme a taxa de cisalhamento aumenta (Calienni *et al.*, 2023).

Este comportamento é altamente desejável para o tratamento de dermatoses. Em repouso, dentro do frasco ou recipiente, a alta viscosidade assegura a estabilidade física da formulação, prevenindo a sedimentação das nanopartículas e o vazamento do conteúdo ao abrir. Porém, sob tensão de cisalhamento aplicada, por exemplo, durante a abertura do recipiente e durante o espalhamento manual na pele, a estrutura polimérica da mucilagem de *Aloe vera* e do carbopol utilizados se alinha na direção do fluxo, reduzindo a viscosidade (Sonawane *et al.*, 2021). Isso permite uma aplicação suave e indolor sobre a pele lesionada e xerótica, minimizando o atrito mecânico que poderia exacerbar a irritação cutânea (Barbosa *et al.*, 2025).

Comparativamente, observou-se que a incorporação dos CLNs no hidrogel resultou em uma redução da consistência do sistema, o que era esperado, visto que as partículas estão dispersas em meio majoritariamente aquoso. Enquanto o Hidrogel puro (A) atingiu tensões de cisalhamento próximas a 700 Pa na taxa de 30 s⁻¹, H-CLN (B) alcançou valores inferiores, em torno de 500 Pa, sob as mesmas condições. Essa diminuição da viscosidade aparente no H-CLN pode ser atribuída não apenas ao efeito de diluição do sistema, mas também à interposição das nanopartículas lipídicas entre as cadeias poliméricas do gel, promovendo uma leve disrupção das interações intermoleculares, como as pontes de hidrogênio que sustentam a rede tridimensional, facilitando o fluxo (Joukhadar *et al.*, 2024). Adicionalmente, o potencial zeta negativo dos CLNs pode gerar repulsão eletrostática com os grupos ionizados do carbopol, reduzindo o grau de entrelaçamento efetivo das cadeias e facilitando sua reorganização e alinhamento na direção do fluxo durante o cisalhamento.

Do ponto de vista farmacêutico, essa redução pode ser vantajosa, uma vez que melhoraria a espalhabilidade ao reduzir a força necessária para

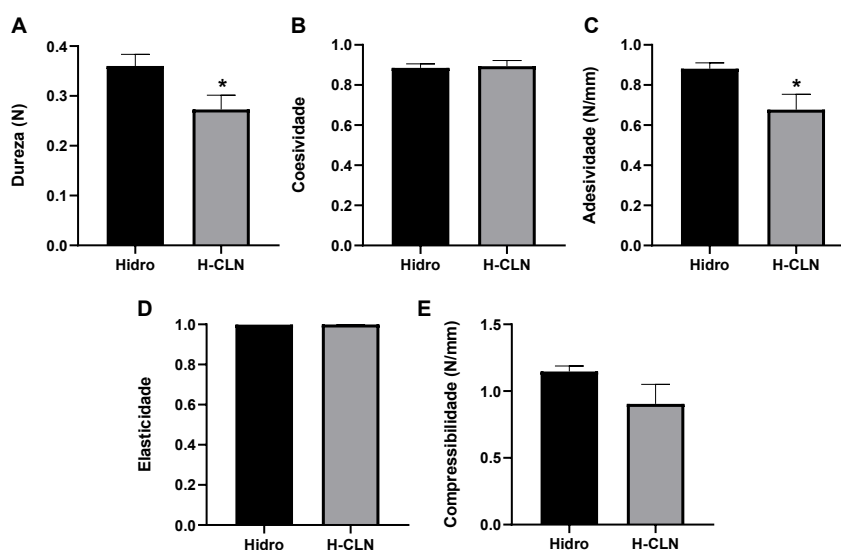
aplicação em áreas extensas ou sensíveis da pele. Além disso, a presença das nanopartículas pode intensificar o comportamento pseudoplástico do sistema, facilitando o alinhamento das cadeias poliméricas sob cisalhamento, sem comprometer a integridade da estrutura do gel em repouso. Assim, mesmo com menor viscosidade aparente durante a aplicação, o sistema mantém características adequadas para uso tópico, com tendência à recuperação da estrutura após a remoção da força aplicada (Calienni *et al.*, 2023).

Adicionalmente, as curvas de fluxo (ida e volta) apresentaram-se praticamente sobrepostas em ambas as amostras, indicando uma recuperação estrutural quase instantânea, ou seja, baixa tixotropia, após o cessar do cisalhamento. Esta característica sugere que, após a aplicação, o hidrogel recupera rapidamente sua viscosidade inicial, garantindo que o produto permaneça fixado sobre a lesão, sem escorrer, promovendo uma hidratação necessária para a reparação da barreira cutânea.

5.9.3. Propriedades mecânicas e de bioadesão

A caracterização por Análise de Perfil de Textura fornece dados complementares à análise reológica, medindo a resposta mecânica sob compressão, simulando a aplicação do produto. Enquanto a reologia avalia a viscosidade sob fluxo, o TPA permite quantificar outros atributos sensoriais, como a firmeza e a adesividade. Os resultados obtidos para o Hidrogel e para o H-CLN estão apresentados na Figura 18.

Figura 18. Análise do perfil de textura do Hidrogel (Hidro) e H-CLN.



(A) Dureza, expressa como a força máxima necessária para promover a deformação da amostra durante a primeira compressão; (B) Coesividade, relacionada ao grau de resistência interna da formulação à deformação e à sua capacidade de manter a integridade estrutural após sucessivas compressões; (C) Adesividade, correspondente ao trabalho necessário para superar as forças de adesão entre a formulação e a superfície da sonda, refletindo sua tendência de aderência; (D) Elasticidade, que indica a capacidade da formulação de recuperar sua forma original após a remoção da força aplicada; e (E) Compressibilidade, associada ao trabalho total requerido para deformar a amostra sob compressão, refletindo sua resistência global ao esforço mecânico. Resultados expressos como média \pm DP. Teste T de *Student*.

Asteriscos (*) indicam $p < 0.05$.

Fonte: Autoria própria, 2025

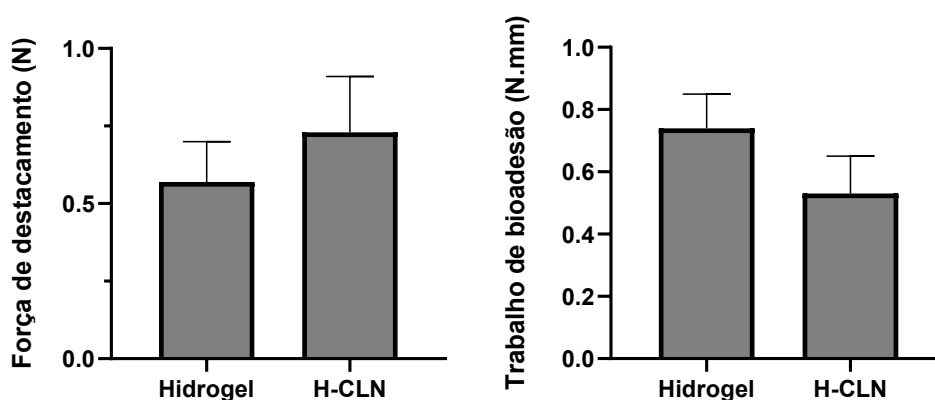
Em consonância com a reologia, que demonstrou uma redução na viscosidade aparente com a incorporação das nanopartículas, a análise de textura revelou uma alteração significativa na dureza da formulação (Figura 18A). Definida como a força máxima necessária para promover a deformação da amostra, a dureza reduzida no H-CLN ($p < 0,05$) em comparação ao hidrogel puro indica uma menor resistência mecânica inicial à compressão, refletindo uma estrutura mais facilmente deformável (Al-Barghouthy *et al.*, 2025). Esse comportamento está diretamente relacionado à presença das nanopartículas lipídicas, que podem interferir no grau de entrelaçamento das cadeias poliméricas, enfraquecendo parcialmente as interações intermoleculares responsáveis pela rigidez do sistema. De forma complementar, a tendência de redução da compressibilidade (Figura 18E) reforça a interpretação de uma formulação mais facilmente espalhável, característica particularmente desejável para aplicação em peles sensíveis e lesionadas, nas quais o esforço mecânico durante a aplicação deve ser minimizado para evitar desconforto.

Os parâmetros de Coesividade (Figura 18B), que representam a integridade estrutural pós-deformação do gel, e Elasticidade (Figura 18D), que é a capacidade de recuperar a forma ou altura após a compressão, não apresentaram diferenças estatísticas entre as formulações (Estanqueiro; Amaral; Lobo, 2016). Assim, a manutenção desses parâmetros indica que, apesar da redução na viscosidade e na dureza causada pela presença dos CLNs, a rede polimérica tridimensional do hidrogel permaneceu estruturalmente íntegra e funcional, garantindo recuperação rápida da consistência após a aplicação e evitando escoamento indesejado no local de uso.

Paralelamente, observou-se uma redução significativa na adesividade instrumental (Figura 18C) do H-CLN (>0,6 N.mm) em relação ao controle (>0,8 N.mm). Diferentemente da bioadesão, a adesividade no TPA reflete a força necessária para separar a sonda da amostra e está relacionada à percepção sensorial de pegajosidade (Vieira *et al.*, 2021). A redução deste parâmetro sugere que a presença dos CLNs, compostos por uma matriz lipídica associada a tensoativos, modificou as interações interfaciais do sistema, reduzindo a disponibilidade de grupos hidrofílicos livres e atenuando a pegajosidade excessiva característica das mucilagens de *Aloe vera*. Esse efeito resulta em um toque mais agradável ao paciente, sem comprometer a permanência da formulação sobre a pele, aspecto essencial para garantir a formação de um filme hidratante e a liberação sustentada do ativo.

A Figura 19 mostra os resultados obtidos do ensaio de bioadesão *ex vivo* em pele suína.

Figura 19. Parâmetros de bioadesão avaliados em pele suína



Resultados expressos como média \pm DP. Teste T de *Student*. Asteriscos (*) indicam $p < 0,05$

Fonte: Autoria própria, 2025

Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa entre o hidrogel puro e H-CLN, tanto para a Força de Destacamento quanto para o Trabalho de Bioadesão. Este achado indica que a incorporação do CLN não comprometeu a capacidade global de adesão do hidrogel ao tecido cutâneo, propriedade essencial para formulações tópicas destinadas a permanecer no local de aplicação. No entanto, as tendências observadas,

aumento da força máxima de destacamento e redução do trabalho total de bioadesão, sugerem modificações sutis, porém relevantes, no modo como a formulação interage com a superfície da pele.

O aumento tendencial da força de destacamento pode estar relacionado à maior capacidade de ancoragem inicial do hidrogel contendo CLNs à superfície cutânea. A presença das nanopartículas lipídicas pode reduzir a tensão interfacial entre a formulação e a pele, favorecendo o espalhamento e promovendo um contato mais íntimo com a superfície do estrato córneo, que é naturalmente rica em lipídeos. Além disso, a afinidade dos constituintes lipídicos dos CLNs com os lipídeos epidérmicos e sua capacidade de preencher os micro relevos da pele podem aumentar a área efetiva de contato, resultando em maior força necessária para iniciar o processo de separação. Esses efeitos ocorrem predominantemente em nível interfacial, o que explica a alteração do comportamento bioadesivo mesmo na ausência de mudanças expressivas na matriz polimérica do hidrogel.

Por outro lado, a redução do trabalho de bioadesão indica que, embora seja necessária uma força maior para iniciar o destacamento, o processo de separação ocorre de forma mais rápida ou menos resistente ao longo do deslocamento. Esse comportamento pode ser explicado pela diminuição da coesão interfacial ao longo da área de contato, possivelmente decorrente da reorganização dos constituintes lipídicos e dos tensoativos associados aos CLNs na interface gel-pele. Esses componentes podem atuar como agentes lubrificantes durante o deslocamento, reduzindo a resistência contínua à separação sem eliminar a adesão inicial.

Adicionalmente, a diferença entre os resultados de bioadesão em pele e os obtidos na adesividade instrumental reforça que esses ensaios avaliam fenômenos distintos. Enquanto a adesividade por TPA é sensível à composição da superfície da formulação e às interações com a sonda, a bioadesão envolve interações complexas com a pele, incluindo hidratação do estrato córneo, interpenetração polimérica e afinidade com os lipídios cutâneos. Assim, a incorporação dos CLNs pode modular o perfil de adesão da formulação,

tornando-a menos pegajosa ao toque, mas mantendo, ou até melhorando, a adesão funcional à pele.

O comportamento bioadesivo pode ser visualizado macroscopicamente na Figura 20, onde se nota que a maior parte do hidrogel (A) e do H-CLN (B) se mantiveram na pele, mesmo após o destacamento da sonda utilizada, confirmando a forte interação interfacial e a adesividade do sistema frente ao tecido cutâneo.

Figura 20. Ruptura da ligação bioadesiva entre o Hidrogel (A), o H-CLN (B) e a pele de orelha suína.



Fonte: Autoria própria, 2025.

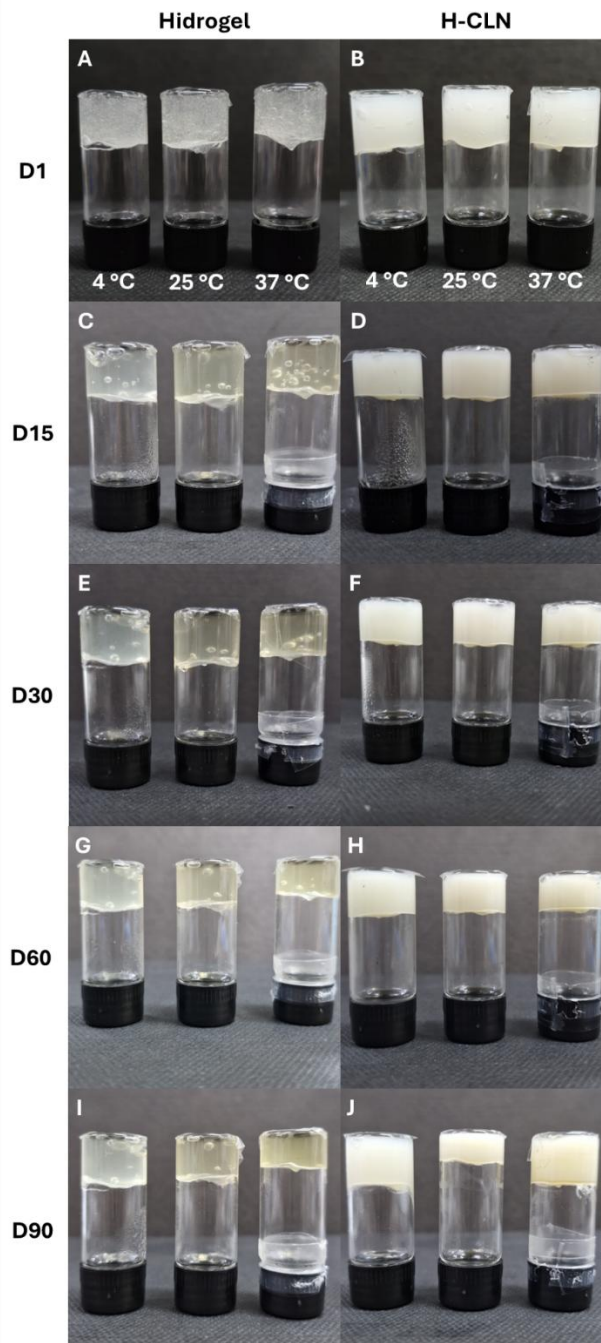
5.10. Estabilidade dos hidrogéis

A avaliação de estabilidade de formulações semissólidas é um passo crítico no desenvolvimento farmacotécnico, pois alterações em cor, odor, aparência e separação de fases podem sinalizar instabilidades físico-químicas (p.ex., oxidação, reorganização da rede polimérica, sinérese) e/ou alterações físicas relevantes para a performance, aceitabilidade e segurança do produto. Em produtos destinados ao uso tópico, a triagem organoléptica seriada é amplamente empregada como ferramenta inicial para detectar mudanças macroscópicas ao longo do tempo, especialmente quando combinada a

condições de armazenamento em diferentes temperaturas para evidenciar tendências de degradação e instabilidade (Batista *et al.*, 2022; Ijaz *et al.*, 2025).

Os resultados da avaliação organoléptica e macroscópica dos hidrogéis, armazenados sob diferentes condições de temperatura (4, 25 e 37 °C) por um período de 90 dias, estão ilustrados na Figura 21 e na Tabela 4.

Figura 21. Avaliação macroscópica dos hidrogéis ao longo de 90 dias.



A, C, E, G, I: Hidrogel; **B, D, F, H, J:** H-CLN.

Fonte: Autoria própria, 2025

Tabela 4. Estabilidade macroscópica dos hidrogéis armazenados

Hidrogéis armazenados a 4 °C						
Tempo (dias)	Hidrogel			H-CLN		
	Cor	Odor	Aparência	Cor	Odor	Aparência
1	N	N	N	N	N	N
15	N	N	N	N	N	N
30	N	N	N	N	N	N
60	N	N	N	N	N	N
90	N	LMO	N	N	N	N

Hidrogéis armazenados a 25 °C						
	Hidrogel			H-CLN		
	Cor	Odor	Aparência	Cor	Odor	Aparência
1	N	N	N	N	N	N
15	LMC	N	N	N	N	N
30	LMC	N	N	N	N	N
60	LMC	N	N	N	N	N
90	LMC	LMO	N	LMC	LMO	LMA

Hidrogéis armazenados a 37 °C

	Hidrogel			H-CLN		
	Cor	Odor	Aparência	Cor	Odor	Aparência
1	N	N	N	LMC	N	N
15	LMC	N	N	LMC	N	N
30	LMC	N	N	LMC	N	N
60	LMC	LMO	N	LMC	N	N
90	MC	LMO	N	MC	LMO	N

N: Normal; **LMC:** Leve Modificação de Cor; **LMO:** Leve Modificação de Odor; **LMA:** Leve Modificação de Aparência; **MC:** Mudança de cor.

Fonte: Autoria própria, 2025

De maneira geral, os sistemas mostraram boa estabilidade macroscópica, uma vez que não foi registrada separação de fases ao longo dos 90 dias, o que foi representado pela ausência de alterações relevantes de “aparência” na maior parte das condições. Esse achado é importante porque a separação em hidrogéis costuma ser associada a enfraquecimento da rede polimérica, gerando mudanças nas propriedades reológicas, mecânicas e de bioadesão (Larrea-Wachtendorff; Del Grosso; Ferrari, 2022).

Sob refrigeração, ambas as formulações permaneceram com cor, odor e aparência normais ao longo de praticamente todo o período, com exceção de leve modificação de odor no hidrogel no dia 90. O comportamento é consistente com o fato de que temperaturas mais baixas tendem a reduzir a velocidade de processos oxidativos e reações químicas, além de diminuir a volatilização de componentes aromáticos, preservando características sensoriais por mais tempo (Bajaj; Singla; Sakhuja, 2012). Assim, a temperatura de 4 °C se mostrou a condição mais adequada para armazenamento dos hidrogéis, especialmente aqueles sem CLNs.

Em temperatura ambiente, observou-se leve modificação de cor no hidrogel a partir de 15 dias, persistindo até 90 dias (Tabela 4), enquanto o H-CLN permaneceu sem alteração de cor até 60 dias e apresentou LMC apenas no dia 90, acompanhada de LMO e leve LMA. Alterações graduais de cor em matrizes hidrofílicas e ricas em constituintes vegetais podem ocorrer por mecanismos como oxidação e reações de escurecimento, que são mais prováveis em condições que não sejam de refrigeração. Nesse cenário, o fato de o H-CLN atrasar a mudança de cor em relação ao hidrogel sugere um melhor desempenho organoléptico da formulação nanoestruturada.

A 37 °C, as alterações foram mais pronunciadas, evidenciando o papel da temperatura como fator acelerador. O hidrogel apresentou LMC desde os 15 dias e evoluiu para MC no dia 90, além de LMO a partir de 60 dias. No H-CLN, verificou-se LMC já no dia 15, mantendo-se até 60 dias e evoluindo para MC no dia 90, porém sem alteração de aparência. Esses acontecimentos são compatíveis com a expectativa de que temperaturas mais elevadas acelerem transformações químicas relacionadas à cor e ao odor. Em alguns estudos de sistemas híbridos de hidrogéis e nanopartículas, como o realizado por Sevinç-Özakar *et al.* (2022), foi comum observar maior propensão a mudanças físico-químicas sob temperaturas mais altas e ao longo do tempo, ainda que o sistema se mantenha estruturalmente coeso.

Um ponto relevante é que as modificações observadas foram predominantemente organolépticas, e não associadas a falhas estruturais importantes do gel, como colapso, sinérese, ruptura ou mesmo liquefação. Para fins de desenvolvimento, esses resultados sustentam o armazenamento preferencial sob refrigeração para máxima preservação organoléptica e, ao mesmo tempo, demonstram que a incorporação de CLNs não induziu instabilidade macroscópica relevante.

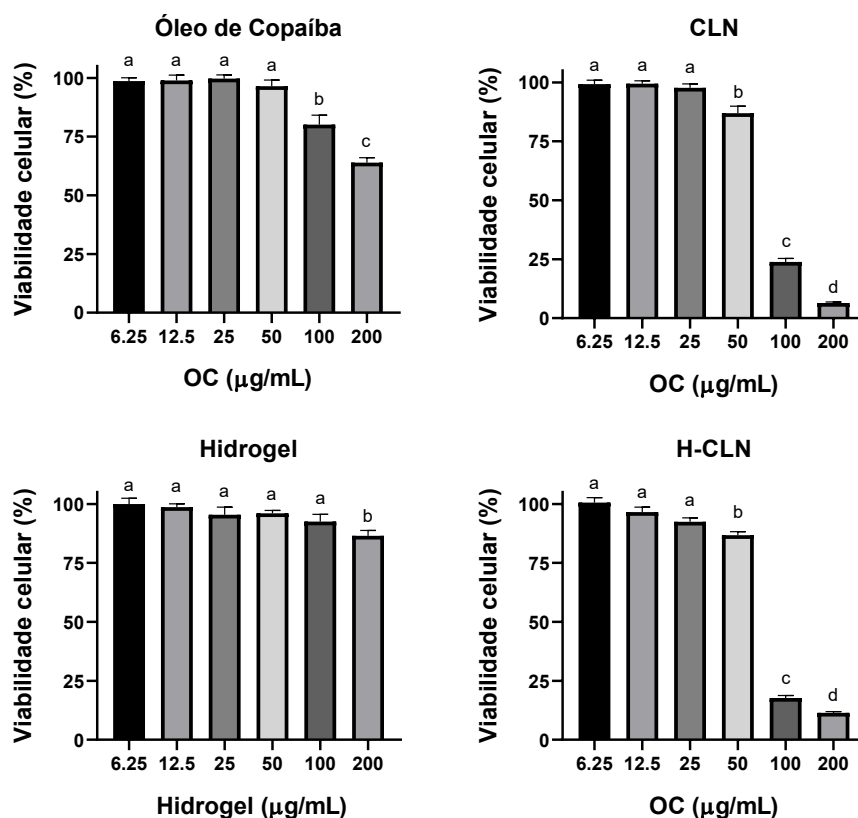
5.11. Ensaio de citotoxicidade

A avaliação da segurança biológica é um pré-requisito fundamental para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, inclusive para garantir que os demais ensaios *in vitro* sejam conduzidos em uma concentração não-tóxica. Nesses estudos, é comum empregar ensaios metabólicos como

indicadores indiretos da viabilidade celular, como, por exemplo, o ensaio de MTT e de Resazurina/AlamarBlue®, e interpretar viabilidades $\geq 70\%$ como indicativas de baixa citotoxicidade, conforme a ISO 10993-5 (Maldonado *et al.*, 2025).

Os perfis de viabilidade celular da linhagem NIH/3T3 (fibroblastos murinos) frente ao óleo de copaíba livre (OC), CLN, Hidrogel e H-CLN estão apresentados nas Figuras 22 e 23.

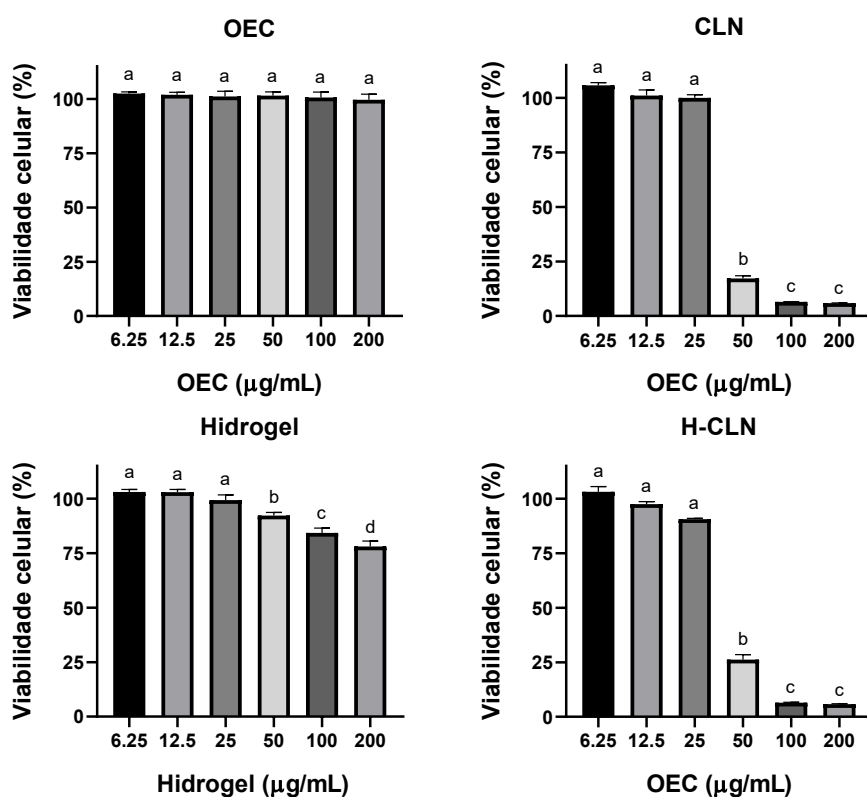
Figura 22. Citotoxicidade na linhagem celular NIH 3T3 após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio de MTT.



Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA *One-way* seguido de teste de Tukey. Letras diferentes indicam $p < 0.05$.

Fonte: Autoria própria, 2025

Figura 23. Citotoxicidade na linhagem celular RAW 264.7 após tratamento com as formulações por 24 horas, usando o ensaio de Resazurina.



Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA *One-way* seguido de teste de Tukey. Letras diferentes indicam $p < 0.05$.

Fonte: Autoria própria, 2025

De modo geral, observou-se um perfil de segurança do óleo de copaíba livre distinto do observado anteriormente na linhagem de queratinócitos humanos (HaCaT, tópico 5.2.). Enquanto em HaCaT o OC reduzia 50% da viabilidade em 39,50 µg/mL, nas linhagens NIH/3T3 e RAW 264.7 o ativo demonstrou-se consideravelmente mais seguro. Mesmo na concentração máxima de 200 µg/mL, o OC livre reduziu apenas 40% da viabilidade dos fibroblastos e não apresentou toxicidade significativa contra os macrófagos, mantendo a viabilidade próxima a 100%.

Para os CLNs, os resultados foram mais próximos aos vistos anteriormente nos queratinócitos humanos. Em fibroblastos murinos, os CLNs apresentaram redução significativa da viabilidade celular apenas acima de 50 µg/mL, sendo ainda mais seguros de que em HaCaT. Em contraponto, em 100

$\mu\text{g/mL}$ já houve redução de 75% da viabilidade, em comparação a 50% em HaCaT. Esse comportamento foi ainda mais acentuado em macrófagos, onde a redução de 75% aconteceu antes, em torno de 50 $\mu\text{g/mL}$.

Essa discrepância entre as linhagens pode ser explicada pelas diferentes rotas e eficiência de internalização das células. Queratinócitos são células epiteliais estruturadas para formar uma barreira, possuindo uma taxa de endocitose menor e mais lenta. Possivelmente, o óleo livre causou toxicidade direta na membrana plasmática, enquanto os CLNs protegeram as células desse contato direto, sendo endocitadas mais lentamente. Diferentemente delas, os macrófagos são considerados “fagócitos profissionais”, devido à presença de receptores especializados para o reconhecimento e rápida endocitose de partículas exógenas (Chasse *et al.*, 2024). Isso pode ter promovido uma internalização massiva dos CLNs, o que levou a uma concentração intracelular do ativo e dos componentes lipídicos muito superior à observada em células não-fagocíticas.

Quanto ao hidrogel de *Aloe vera* puro, observou-se falta de citotoxicidade geral, com redução significativa da viabilidade apenas em concentrações elevadas (200 $\mu\text{g/mL}$ para 3T3 e acima de 50 $\mu\text{g/mL}$ para RAW). Além disso, a redução máxima de viabilidade em RAW foi de apenas 30%. Esse perfil de segurança reforça a eficácia, discutida anteriormente, do método de coleta e processamento da mucilagem de *Aloe vera*, que exibiu presença apenas de traços residuais de aloína, evitando a alta toxicidade associada a este contaminante.

Em suma, a maior toxicidade relativa dos CLNs em relação ao óleo livre nestas linhagens específicas não indica insegurança do sistema. É importante ressaltar, inclusive, que a janela terapêutica foi ampliada quando os CLNs foram dispersos na base de hidrogel (H-CLN). Essa proteção ocorreu, possivelmente, porque a rede polimérica tridimensional do hidrogel atuou como uma barreira física que controlou a taxa de difusão das nanopartículas e promoveu uma liberação sustentada, evitando a exposição aguda da monocamada celular a uma carga grande de lipídios de uma só vez (Kianfar *et al.*, 2025). Com base nestes resultados, definiu-se a concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ para os experimentos

subsequentes, por situar-se na zona de segurança para todas as linhagens testadas.

5.12. Internalização das nanopartículas

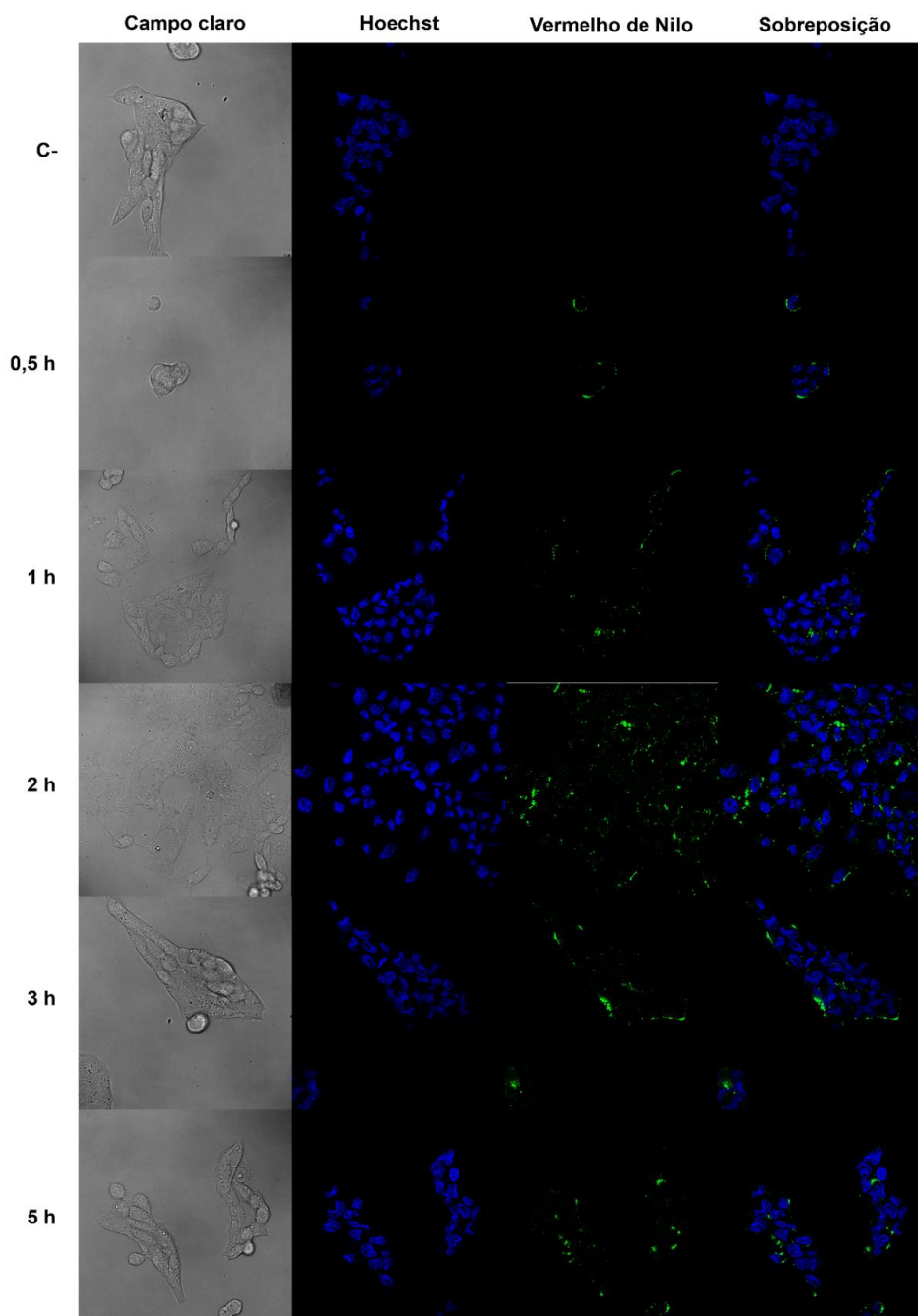
A análise da internalização celular dos CLNs é um passo importante para avaliar, mesmo que qualitativamente, a cinética de entrada e o provável tráfego intracelular, fatores que influenciam tanto a eficácia quanto a segurança de sistemas nanoestruturados. Em termos gerais, a entrada de nanopartículas pode ocorrer por diferentes vias endocíticas, e, dependendo do tipo celular, pode culminar em compartimentos endossomais ou lisossomais com alta capacidade degradativa. Dentre as principais vias endocíticas estão: (i) a fagocitose, mediada principalmente pelos macrófagos, onde há o englobamento de partículas grandes e sólidas; e (ii) a pinocitose, que é a internalização de fluidos e solutos que ocorre em todas as células nucleadas, e pode ser subdividida em endocitose mediada por clatrina ou caveolina e macropinocitose (Rennick; Johnston; Parton, 2021).

Queratinócitos são células epiteliais com função de barreira e, por isso, tendem a internalizar nanoestruturas predominantemente por vias endocíticas não fagocíticas, com cinética dependente de energia e modulada por propriedades físico-químicas do sistema administrado, como tamanho, carga e composição (Silva *et al.*, 2017). Já macrófagos são “fagócitos profissionais”, altamente especializados para captura de partículas, o que em muitos casos acelera o processo e favorece o tráfego para compartimentos de degradação (Chasse *et al.*, 2024). Portanto, do ponto de vista fisiológico, é esperado que HaCaT e RAW 264.7 apresentem dinâmicas distintas de captura e tráfego intracelular.

Nas imagens de microscopia confocal da linhagem de queratinócitos humanos (Figura 24), observa-se um aumento progressivo do sinal verde (vermelho de Nilo associado aos CLNs) ao longo do tempo, com maior acúmulo aparente por volta de 2 h, e sinal ainda presente mesmo em 5 h. O padrão observado é compatível com uma cinética em que a interação inicial evolui para internalização e acúmulo em compartimentos intracelulares ao longo de horas, o que é coerente com os achados de Silva *et al.* (2017), em que a internalização

de CLNs por queratinócitos foi tempo-dependente, atingindo um platô apenas após 10 h de incubação, e as vias mais envolvidas foram macropinocitose e endocitose mediada por clatrina.

Figura 24. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser dos canais azul (Hoechst) e verde (vermelho de Nilo) em HaCaT após incubação com CLNs por 0,5, 1, 2, 3 e 5 h

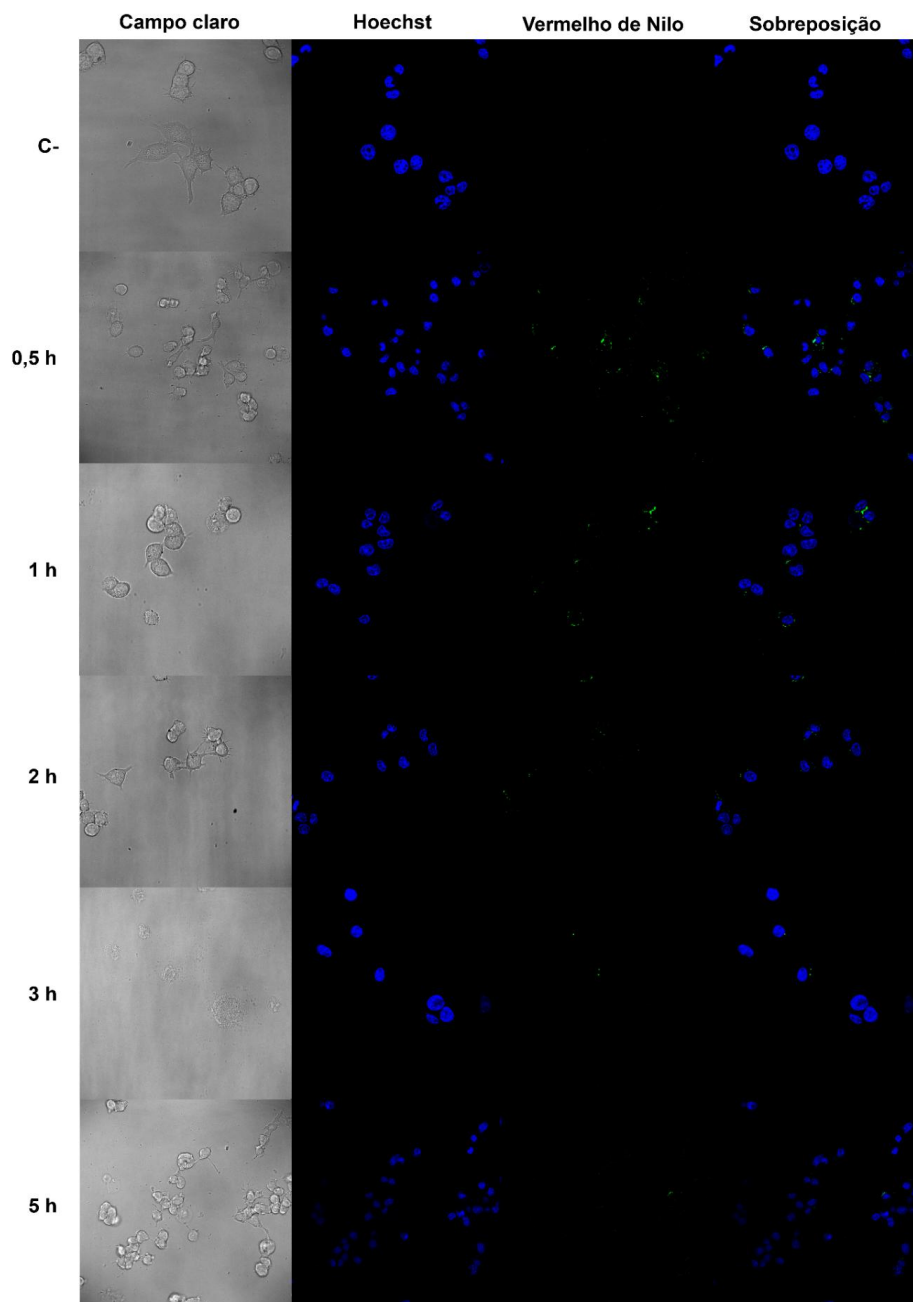


Fonte: Autoria própria, 2025

Por outro lado, nas imagens referentes a linhagem de macrófagos murinos (Figura 25), o sinal verde aparenta ser globalmente menor do que nos queratinócitos, porém com pico mais precoce, em torno de 0,5 a 1 h. Isso pode

ser explicado justamente pelos aspectos discutidos anteriormente, em que nanopartículas internalizadas podem sofrer rápido processamento intracelular, dissociação de componentes, digestão ou exocitose, alterando a intensidade e o padrão do sinal ao longo do tempo, assim como observado no estudo conduzido por Jiang *et al.* (2017).

Figura 25. Imagens de microscopia confocal de varredura a laser dos canais azul (Hoechst) e verde (vermelho de Nilo) em RAW 264.7 após incubação com CLNs por 0,5, 1, 2, 3 e 5 h



Fonte: Autoria própria, 2025

Além disso, do ponto de vista do racional da formulação desenvolvida neste projeto, é favorável que a internalização dos CLNs seja superior em queratinócitos, já que a proposta do sistema é atuar predominantemente no microambiente cutâneo, e não promover distribuição sistêmica. Assim, sua associação com o hidrogel visa também aumentar essa retenção na epiderme, visto que diversos estudos, como o realizado por Ijaz *et al.* (2025), reportaram retenção superior na pele com permeação transdérmica mínima, reforçando o potencial desses sistemas híbridos como plataformas de entrega local.

5.13. Avaliação do estresse oxidativo

O estresse oxidativo é um componente importante da resposta inflamatória e do dano tecidual, podendo modular vias de sinalização redox-sensíveis e amplificar processos de inflamação. Como discutido anteriormente, ele é reconhecido como um componente central na dermatite atópica, não apenas como consequência da inflamação, mas como perpetuação do dano na barreira cutânea e retroalimentação inflamatória.

A indução de ROS neste ensaio foi realizada com acetato de forbol miristato (PMA), um éster de forbol que mimetiza o diacilglicerol (DAG) e promove ativação intensa de isoformas de proteína cinase C (PKC) em células fagocíticas. A ativação da PKC desencadeia, então, um “burst” oxidativo principalmente pela fosforilação de subunidades citosólicas do complexo NADPH oxidase (NOX2), com destaque para p47phox, favorecendo sua mudança conformacional, translocação e montagem do complexo ativo na membrana, o que culmina na transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular e geração de ânion superóxido (O_2^-) e derivados oxidantes subsequentes, incluindo H_2O_2 por dismutação (Gamble *et al.*, 2025).

A quantificação de ROS foi realizada utilizando a sonda 2',7'-diclorodihidrofluoresceína-diacetato (DCFH-DA), amplamente utilizada em citometria de fluxo para estimar um estado oxidante geral intracelular. A DCFH-DA é permeável à membrana e, após desacetilação por esterases intracelulares, gera DCFH (não fluorescente), que pode ser oxidada a DCF (fluorescente). Entretanto, é importante ressaltar que a DCFH não reage diretamente com H_2O_2 para formar DCF sem a presença de catalisadores, como heme-proteínas ou

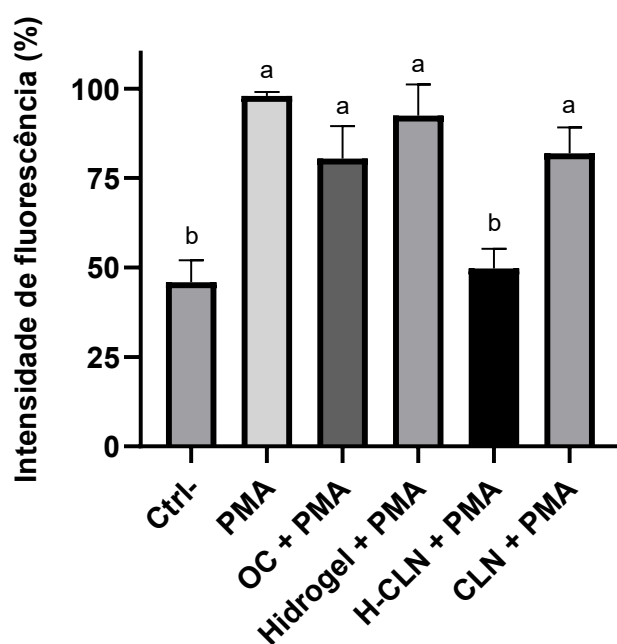
peroxidases, que precisam estar presentes. Além disso, pode responder a múltiplos oxidantes/espécies, de modo que o sinal não deve ser interpretado como medida específica de uma única espécie reativa. Assim, os dados de média de fluorescência de DCF refletem condições oxidantes intracelulares e atividade oxidativa geral, não específica (Kalyanaraman *et al.*, 2012; Murphy *et al.*, 2022).

No presente protocolo, as células foram pré-tratadas por 24 h com as formulações (equivalentes a 25 µg/mL de óleo), seguidas de remoção das amostras e posterior estímulo com PMA por 45 min, antes da incubação com DCFH-DA. Dessa forma, o ensaio avalia principalmente como o pré-tratamento altera a capacidade celular de montar o *burst* oxidativo após um estímulo PKC/NOX2-dependente, e não apenas um eventual sequestro químico imediato de ROS pela presença extracelular contínua da formulação durante a indução com PMA.

De acordo com os resultados expostos na Figura 26, observou-se que a formulação H-CLN foi a única condição capaz de atenuar completamente o estado oxidante intracelular induzido por PMA, mantendo-o no estado basal, assim como o controle negativo (Ctrl-). Considerando que a adição do PMA ocorreu após remoção das amostras, esse efeito pode ser compatível com uma reprogramação funcional antioxidante das células, induzida pelo pré-tratamento, e/ou com uma retenção intracelular suficiente dos componentes bioativos ou seus efeitos downstream capazes de reduzir a eficiência do eixo PKC/NOX2.

A literatura mostra que sesquiterpenos, incluindo o β-cariofileno, podem modular respostas oxidativas em células imunológicas, associando-se à redução de ROS e à modulação de vias relacionadas a NADPH oxidases (Hashiesh *et al.*, 2020). Além disso, sistemas híbridos nanopartícula-hidrogel são classicamente descritos como plataformas capazes de alterar a cinética de liberação e aumentar a retenção local de ativos, o que pode explicar por que a associação se comportou de maneira distinta do CLN isolado e do óleo livre no modelo de pré-tratamento (Gao *et al.*, 2016).

Figura 26. Intensidade média de fluorescência da sonda DCFH-DA em RAW 264.7 sob tratamento com as diferentes formulações e PMA.



Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA *One-way* seguido de teste de Tukey. Letras diferentes indicam $p < 0.05$

Fonte: Autoria própria, 2025

5.14. Avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro*

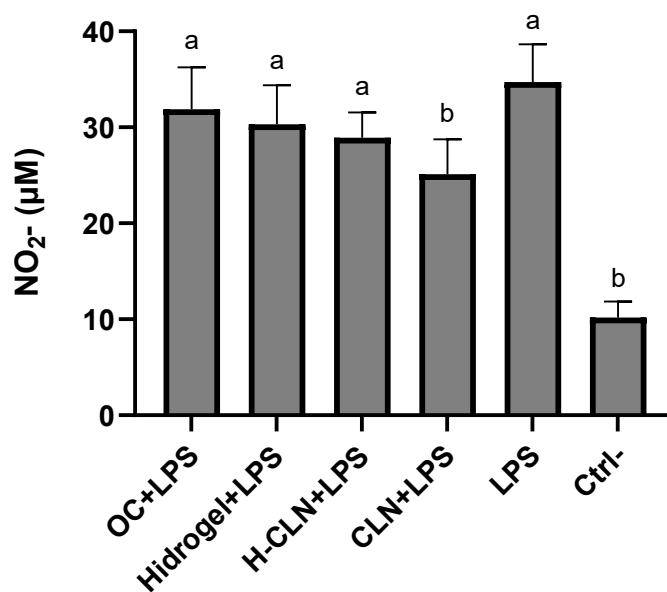
A ativação inflamatória de macrófagos por lipopolissacarídeo é um modelo clássico para investigar mecanismos pró-inflamatórios dependentes da ativação de receptores do tipo Toll, especialmente o complexo CD14/MD-2/TLR4 (Dauphinee; Karsan, 2006). Após o reconhecimento do LPS, o TLR4 aciona cascatas de sinalização intracelular convergentes para fatores de transcrição como NF- κ B e AP-1, culminando na transcrição de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-6, além da indução de genes efetores associados à resposta inflamatória, como a óxido nítrico sintase induzível (iNOS/NOS2), que sustenta a produção de óxido nítrico por períodos mais prolongados (Park; Lee, 2013; Ohno *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o óxido nítrico produzido pela iNOS atua como mediador reativo associado à defesa do hospedeiro, mas também contribui para a amplificação do microambiente inflamatório quando produzido em excesso (Lundberg; Weitzberg, 2022). Em meio aquoso e na presença de oxidantes, o

NO é rapidamente convertido em derivados mais estáveis, como nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), motivo pelo qual a quantificação de nitrito no sobrenadante é amplamente empregada como marcador indireto da produção de NO em culturas celulares (Bryan; Grisham, 2007).

Nos ensaios realizados em RAW 264.7 (Figura 27), a estimulação com LPS elevou significativamente a produção de nitrito em comparação ao controle negativo, confirmando a ativação inflamatória do modelo. Porém, entre os tratamentos avaliados, apenas o grupo CLN+LPS apresentou redução estatisticamente significativa de NO_2^- em relação ao LPS ($25,1 \pm 4,9$ vs $34,7 \pm 3,9$ μM , $p=0,0498$), correspondendo a uma diminuição aproximada de 27,7%. OC+LPS, Hidrogel+LPS e H-CLN+LPS não reduziram significativamente o nitrito frente ao LPS. Esses dados sugerem uma modulação do eixo iNOS/NO especificamente associada aos CLNs, enquanto a presença do hidrogel, H-CLN ou óleo livre não foi suficiente para atenuar esse desfecho sob as condições empregadas.

Figura 27. Quantificação indireta da produção de NO em células RAW 264.7 tratadas com as diferentes formulações e o LPS.

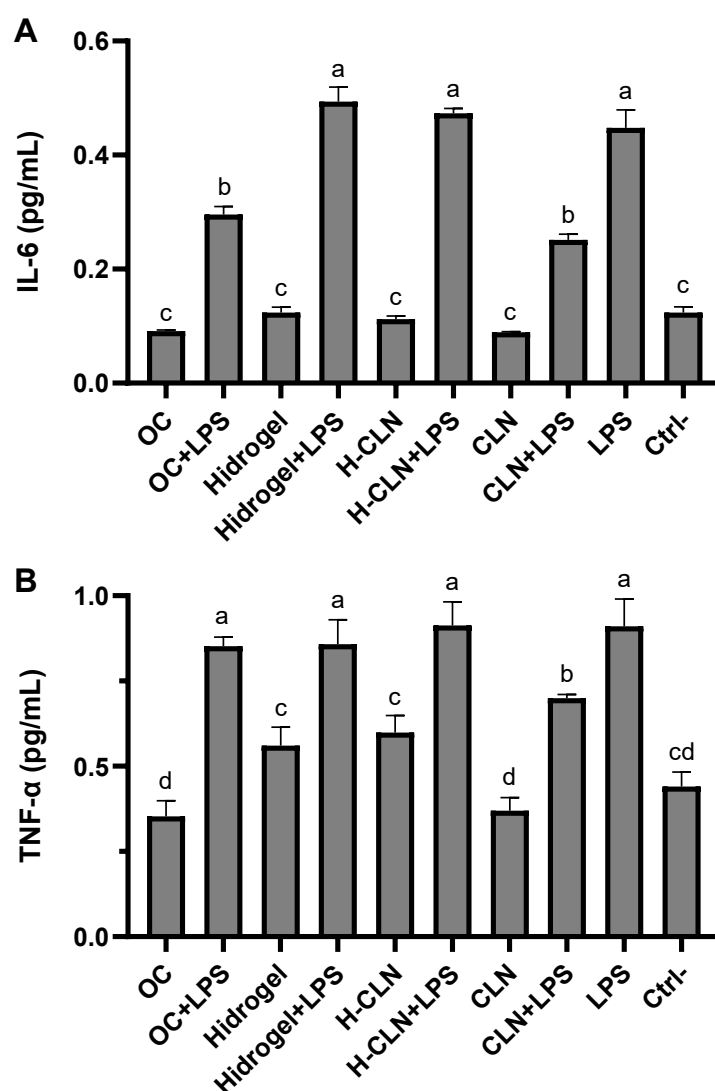


Resultados expressos como média \pm DP. ANOVA One-way seguido de teste de Tukey. Letras diferentes indicam $p<0.05$

Fonte: Autoria própria, 2025

A fim de avaliar se as demais formulações estavam causando o aumento dos mediadores inflamatórios ou apenas não estavam sendo capazes de reduzi-los, para o ELISA (Figura 28) foi avaliada também a produção das citocinas nas células tratadas apenas com as formulações, sem a presença do LPS como estímulo inflamatório.

Figura 28. Quantificação por ELISA da produção de IL-6 (A) e TNF- α (B) por RAW 264.7 tratadas com as diferentes formulações, na presença ou não de LPS.



Fonte: Autoria própria, 2025

Conforme exposto, houve aumento de IL-6 e TNF- α após estímulo com LPS, novamente validando a responsividade inflamatória da RAW 264.7. Observou-se que as formulações sozinhas (sem LPS) mantiveram semelhança estatística com o controle negativo, não induzindo nenhuma via de produção das

citocinas. Para IL-6, houve reduções significativas nos grupos CLN+LPS ($p=0,0003$; $-43,9\%$) e OC+LPS ($p=0,0012$; $-34,0\%$) em comparação ao LPS, evidenciando que tanto o óleo livre quanto, de forma mais pronunciada, o CLN, foram capazes de atenuar esse marcador sob co-tratamento. Em contraste, H-CLN+LPS não diferiu do LPS, enquanto Hidrogel+LPS apresentou aumento de IL-6 ($p = 0,032$). Já para TNF- α , apenas CLN+LPS reduziu significativamente os níveis em relação ao LPS ($p = 0,0061$; $-23,2\%$), enquanto OC+LPS, Hidrogel+LPS e H-CLN+LPS não apresentaram redução estatística.

A atividade anti-inflamatória associada ao CLN é biologicamente plausível considerando a composição típica do óleo de copaíba, rico em sesquiterpenos como β -cariofileno, um composto com evidências de ação anti-inflamatória em diferentes modelos, incluindo modulação de vias associadas a NF- κ B e mediadores pró-inflamatórios. Sua encapsulação em CLNs pode ter aumentado a estabilidade química de seus constituintes mais voláteis e oxidáveis e favorecido sua interação com as células, o que ajudaria a explicar por que o CLN apresentou efeito mais consistente sobre IL-6 e TNF- α do que o óleo livre na mesma concentração.

Por outro lado, a ausência de supressão de citocinas observada para H-CLN sob co-tratamento com LPS não deve ser interpretada como uma falta total de potencial do sistema, que, inclusive, apresentou efeito antioxidante notável, mas como um reflexo do modelo e do desenho temporal do ensaio. Por exemplo, é importante avaliar sua atividade contra outros mediadores inflamatórios, principalmente contra os principais alvos da fisiopatologia da dermatite atópica (filagrina, TSLP, IL-4, IL-13, dentre outros do perfil Th2); em uma linhagem celular diferente e mais envolvida na realidade da doença, como os queratinócitos humanos; em mais de um tempo de tratamento (6, 12, 24, 48 h) ou, ainda, sob um estímulo mais brando (diversos artigos relatam uso de 100 ng/mL de LPS), condições nas quais pode-se avaliar com maior segurança a eficácia anti-inflamatória do hidrogel.

Em conjunto, os resultados indicam que, nas condições avaliadas, o CLN exibiu atividade anti-inflamatória mais consistente, com redução significativa de IL-6 e TNF- α , além de queda discreta, porém significativa de NO $_2^-$. O óleo livre

demonstrou capacidade de reduzir IL-6, mas não impactou TNF- α e NO₂⁻ de forma estatística. O hidrogel, isolado ou associado ao CLN, não apresentou comportamento anti-inflamatório frente ao LPS. Considerando que estresse oxidativo e disfunção de barreira são componentes importantes na DA, esses achados sustentam a continuidade da investigação em modelos cutâneos mais apropriados, especialmente queratinócitos, e utilizando estímulos alinhados à imunidade do tipo 2 e a alarminas epiteliais, além de desenhos com pós-tratamento para diferenciar efeito preventivo de efeito terapêutico.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo deste trabalho, foram desenvolvidos e caracterizados carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo de copaíba, com o objetivo da construção de uma formulação tópica aplicável ao contexto da dermatite atópica. A formulação nanoestruturada foi obtida por método reprodutível e submetida a etapas de purificação para remoção de componentes não encapsulados. A caracterização físico-química e morfológica indicou um sistema em escala nanométrica, ideal para aplicações transdérmicas, monodisperso e estável por 90 dias a 4 e 25 °C.

A incorporação dos CLNs em uma matriz semissólida à base de *Aloe vera* foi realizada com o objetivo da formulação de um produto farmacêutico final próprio para aplicação tópica, ou seja, com maior tempo de residência sobre a pele, facilidade de aplicação e sensação sensorial adequada, além de uma potencial contribuição anti-inflamatória da própria mucilagem. A mucilagem foi extraída com sucesso e observaram-se apenas traços de aloína, se mostrando segura nos ensaios *in vitro* em linhagem de queratinócitos humanos.

Por fim, os resultados de citotoxicidade mostraram que os perfis de segurança variam conforme a linhagem celular e a formulação, reforçando que a interpretação deve sempre considerar diferenças fisiológicas e de internalização entre células epiteliais e fagocíticas. A partir disso, foi possível estabelecer uma concentração não citotóxica para os testes subsequentes. Em macrófagos estimulados por LPS, os CLNs apresentaram efeito mais consistente sobre mediadores pró-inflamatórios quando comparados ao óleo livre. Em contrapartida, a ausência de efeito anti-inflamatório do H-CLN nas condições

avaliadas sugere que a matriz hidrogel pode ter reduzido a fração efetivamente disponível do óleo. Ainda assim, o comportamento antioxidante observado para H-CLN demonstra um potencial relevante, uma vez que o estresse oxidativo participa da amplificação e manutenção de processos inflamatórios em dermatoses crônicas.

Assim, os resultados obtidos mostram que CLN e H-CLN possuem promissora atividade para uso tópico, com características físico-químicas adequadas e evidências de atividade biológica *in vitro* dependentes do modelo utilizado. Como perspectivas futuras, recomendam-se avaliações adicionais em modelos mais específicos de dermatite atópica (por exemplo, queratinócitos estimulados por citocinas do eixo Th2 e marcadores de barreira epidérmica), experimentos com pós-tratamento e ensaios de retenção e permeação cutânea. Esses estudos serão essenciais para consolidar a eficácia promissora das formulações e otimizá-las.

Referências

7. REFERÊNCIAS

- ACHAGAR, Redouane *et al.* A comprehensive review of essential oil–nanotechnology synergy for advanced dermocosmetic delivery. **Cosmetics**, v. 11, n. 2, p. 48, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-9284/11/2/48>>. Acesso em: 8 jan. 2026.
- ADHIKARY, Partho Protim *et al.* TSLP as druggable target – a silver-lining for atopic diseases? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 217, p. 107648, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725820301789>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- AFSHARI, Moeina *et al.* Unraveling the skin; a comprehensive review of atopic dermatitis, current understanding, and approaches. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1361005, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2024.1361005/full>. Acesso em: 6 Mar. 2025.
- AGATONOVIC-KUSTRIN, Snezana *et al.* Essential oil quality and purity evaluation via ft-ir spectroscopy and pattern recognition techniques. **Applied Sciences**, v. 10, n. 20, p. 7294, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3417/10/20/7294>>. Acesso em: 21 dez. 2025.
- AHLAWAT, Kulveer Singh; KHATKAR, Bhupender Singh. Processing, food applications and safety of *aloe vera* products: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 525–533, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551117/>>. Acesso em: 19 dez. 2025.
- AL-BARGHOUTHY, Elham Y. *et al.* Comparative evaluation of spreadability measurement methods for topical semisolid formulations/a scoping review. **Gels**, v. 11, n. 12, p. 1006, 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2310-2861/11/12/1006>>. Acesso em: 19 dez. 2025.
- ALESSANDRELLO, Clara *et al.* An overview on atopic dermatitis, oxidative stress, and psychological stress: Possible role of nutraceuticals as an additional therapeutic strategy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 9, p. 5020, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/9/5020>>. Acesso em: 16 dez. 2025.
- ALI, Ahsan *et al.* Solid lipid-based nanoparticulate system for sustained release and enhanced in-vitro cytotoxic effect of 5-fluorouracil on skin Melanoma and squamous cell carcinoma. **Plos One**, v. 18, n. 2, p. e0281004, 2023. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0281004>>. Acesso em: 21 dez. 2025.
- ALMAWASH, Saud *et al.* Dual delivery of fluticasone propionate and levocetirizine dihydrochloride for the management of atopic dermatitis using a microemulsion-based topical gel. **ACS Omega**, v. 7, n. 9, p. 7696–7705, 2022.

Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.1c06393>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

AÑIBARRO-ORTEGA, Mikel *et al.* Compositional features and bioactive properties of *Aloe vera* leaf (Fillet, Mucilage, and Rind) and Flower. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 444, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6826699/>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

ARABPOUR, Zohreh *et al.* Hydrogel-based skin regeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4, p. 1982, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10888449/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

ATANASOV, Atanas G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200–216, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7841765/>>. Acesso em: 17 dez. 2025.

BADIHI, Amit *et al.* Topical nano-encapsulated cyclosporine formulation for atopic dermatitis treatment. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 24, p. 102140, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963419302242>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

BAJAJ, Sanjay; SINGLA, Dinesh; SAKHUJA, Neha. Stability testing of pharmaceutical products. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, p. 129–138, 2012. Disponível em: <https://japsonline.com/abstract.php?article_id=409&sts=2>. Acesso em: 19 dez. 2025.

BARBOSA, Ana Isabel *et al.* Design and characterization of κ -Carrageenan:PVA hydrogels to repurpose the topical delivery of betamethasone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 671, p. 125305, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517325001413>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

BARNES, Laurent; KAYA, Gurkan; ROLLASON, Victoria. Topical corticosteroid-induced skin atrophy: A comprehensive review. **Drug Safety**, v. 38, n. 5, p. 493–509, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s40264-015-0287-7>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

BARNES, Tanya M. *et al.* Vehicles for drug delivery and cosmetic moisturizers: review and comparison. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2012, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8703425/>>. Acesso em: 12 jan. 2026.

BATISTA, Cinthia M. *et al.* Photoprotection and skin irritation effect of hydrogels containing hydroalcoholic extract of red propolis: A natural pathway against skin cancer. **Heliyon**, v. 8, n. 2, p. e08893, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844022001815>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

- BEGINES, Belén *et al.* Polymeric nanoparticles for drug delivery: recent developments and future prospects. **Nanomaterials**, v. 10, n. 7, p. 1403, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-4991/10/7/1403>>. Acesso em: 21 dez. 2025.
- BERTINO, Lucrezia *et al.* Oxidative stress and atopic dermatitis. **Antioxidants**, v. 9, n. 3, p. 196, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/9/3/196>>. Acesso em: 16 dez. 2025.
- BRUIN-WELLER, Marjolein S. *et al.* Biologics to Treat Atopic Dermatitis: Effectiveness, Safety, and Future Directions. **Allergy**, p. all.70061, 2025. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.70061>>. Acesso em: 12 jan. 2026.
- BRYAN, Nathan S.; GRISHAM, Matthew B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 5, p. 645–657, 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584907002936>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St.Hil. a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, v.32, p.47-55, 2008.
- CALIENNI, Maria Natalia *et al.* Rheological and viscoelastic analysis of hybrid formulations for topical application. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 10, p. 2392, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10610526/>>. Acesso em: 19 dez. 2025.
- CAMPOS, Estefânia V. R. *et al.* Hydrogels containing budesonide-loaded nanoparticles to facilitate percutaneous absorption for atopic dermatitis treatment applications. **ACS Applied Polymer Materials**, v. 3, n. 9, p. 4436–4449, 2021. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsapm.1c00021>>. Acesso em: 10 jan. 2026.
- CAMPOS, Estefânia Vangelie Ramos *et al.* Trends in nanoformulations for atopic dermatitis treatment. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 17, n. 11, p. 1615–1630, 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17425247.2020.1813107>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- CATALANO, Alessia *et al.* *Aloe vera*—An extensive review focused on recent studies. **Foods**, v. 13, n. 13, p. 2155, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/13/13/2155>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- CERVI, Verônica Ferrari *et al.* Pullulan film incorporated with nanocapsules improves pomegranate seed oil anti-inflammatory and antioxidant effects in the treatment of atopic dermatitis in mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 609, p. 121144, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517321009509>>. Acesso em: 10 jan. 2026
- CHAIPRATEEP, Em-on *et al.* Influence of dose, particle size and concentration on dermal penetration efficacy of curcumin. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 11, p.

2645, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/15/11/2645>>. Acesso em: 23 ago. 2025.

CHASSE, Alexandra Y. *et al.* Professional phagocytes are recruited for the clearance of obsolete nonprofessional phagocytes in the *Drosophila* ovary. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 2024. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1389674/full>>. Acesso em: 20 dez. 2025.

CHELU, Mariana *et al.* High-content aloe vera based hydrogels: physicochemical and pharmaceutical properties. **Polymers**, v. 15, n. 5, p. 1312, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10007233/>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

CHEN, Tingting *et al.* Preparation of patchouli oil microemulsion gel and its topical application to ameliorate atopic dermatitis in mice. **Gels**, v. 10, n. 12, p. 796, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2310-2861/10/12/796>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

CHIDDARWAR, Om Uday *et al.* Nanoparticle-based drug delivery systems: An efficient system for the treatment of chronic diseases. **World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences**, v. 20, n. 3, p. 358–374, 2024. Disponível em: <<https://wjbphs.com/node/3795>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

CHIRICOZZI, Andrea *et al.* Topical corticosteroids for pediatric atopic dermatitis: Thoughtful tips for practice. **Pharmacological Research**, v. 158, p. 104878, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661820311865>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

CHOVATIYA, R.; PALLER, A.S. JAK Inhibitors in the treatment of atopic dermatitis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 148, n. 4, p. 927–940, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10166130/>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

CORDIANO, Raffaele *et al.* Anthraquinones and *Aloe Vera* extracts as potential modulators of inflammaging mechanisms: A translational approach from autoimmune to onco-hematological diseases. **Molecules**, v. 30, n. 6, p. 1251, 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/30/6/1251>>. Acesso em: 12 jan. 2026.

CRIADO, Paulo Ricardo *et al.* Update on the pathogenesis of atopic dermatitis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 99, n. 6, p. 895–915, 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0365059624001764>>. Acesso em: 9 jan. 2026.

CZARNOWICKI, Tali *et al.* Atopic dermatitis endotypes and implications for targeted therapeutics. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 143, n. 1, p. 1–11, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674918315720>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

DAL'BELO, Susi Elaine; GASPAR, Lorena Rigo; MAIA-CAMPOS, Patrícia Maria Berardo G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. **Skin Research and Technology**, v. 12, p. 241–246, 2006. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/001590066>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

DANSO, Mogbekeloluwa O. *et al.* TNF- α and Th2 cytokines induce atopic dermatitis-like features on epidermal differentiation proteins and stratum corneum lipids in human skin equivalents. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, n. 7, p. 1941–1950, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15368731>>. Acesso em: 16 dez. 2025.

DAUPHINEE, Shauna M.; KARSAN, Aly. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. **Laboratory Investigation**, v. 86, n. 1, p. 9–22, 2006. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/3700366>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

DAVIS, Dawn M.R. *et al.* Guidelines of care for the management of atopic dermatitis in adults with phototherapy and systemic therapies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 90, n. 2, p. e43–e56, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962223028785>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

DHIMAN, Neerupma *et al.* Lipid nanoparticles as carriers for bioactive delivery. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 580118, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8107723/>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

ESTANQUEIRO, M.; AMARAL, M. H.; SOUSA LOBO, J. M. Comparison between sensory and instrumental characterization of topical formulations: impact of thickening agents. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, n. 4, p. 389–398, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ics.12302>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

FRANCOMANO, Fabrizio *et al.* β -caryophyllene: A sesquiterpene with countless biological properties. **Applied Sciences**, v. 9, n. 24, p. 5420, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3417/9/24/5420>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

FREITAS, Egídio; TORRES, Tiago. New molecules for atopic dermatitis treatment beyond biological therapy. **Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology**, v. 23, n. 3, p. 210–215, 2023. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1097/ACI.0000000000000910>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

FURUE, Masutaka *et al.* Atopic dermatitis: immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and new therapies. **Allergology International**, v. 66, n. 3, p. 398–403, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S132389301630171X>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

GAMBLE, Madison E. *et al.* p47phox: A central regulator of NADPH oxidase function and a promising therapeutic target in redox-related diseases. **Cells**, v.

14, n. 14, p. 1043, 2025. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12293349/>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

GAO, Weiwei *et al.* Nanoparticle-hydrogel: a hybrid biomaterial system for localized drug delivery. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 44, n. 6, p. 2049–2061, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880511/>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

GHASEMIYEH, Parisa; MOHAMMADI-SAMANI, Soliman. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: applications, advantages and disadvantages. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 4, p. 288–303, 2018.

GHAZAL, Stephanie *et al.* Treatment guidelines for atopic dermatitis since the approval of dupilumab: a systematic review and quality appraisal using agree-ii. **Frontiers in Medicine**, v. 9, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2022.821871/full>>. Acesso em: 6 mar. 2025.

GOUNDEN, Varshan; SINGH, Moganavelli. Hydrogels and wound healing: current and future prospects. **Gels**, v. 10, n. 1, p. 43, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10815795/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

GUPTA, Vivek *et al.* A permeation enhancer for increasing transport of therapeutic macromolecules across the intestine. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 2, p. 541–549, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365913002484>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

HASHIESH, Hebaallah Mamdouh *et al.* Therapeutic potential of β -caryophyllene: a dietary cannabinoid in diabetes and associated complications. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 2963, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6643/12/10/2963>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

HAYATI, Rima *et al.* Optimized nanostructured lipid carriers from aceh traditional coconut (Pliek) oil: a promising topical formulation for atopic dermatitis. **Archives of Dermatological Research**, v. 317, n. 1, p. 313, 2025. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00403-025-03824-9>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

HEMA, S. K. *et al.* Simple formulation and characterization of double emulsion variant designed to carry three bioactive agents. **Heliyon**, v. 8, n. 9, p. e10397, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844022016851>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

HERMAN, Anna; HERMAN, Andrzej P. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: a review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 4, p. 473–485, 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jpp/article/67/4/473/6128119>>. Acesso em: 17 dez. 2025.

HEŚ, Marzanna *et al.* *Aloe vera* (L.) Webb.: Natural Sources of Antioxidants - A Review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 3, p. 255–265, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31209704/>>. Acesso em: 13 dez. 2025.

HOISNARD, Léa *et al.* Adverse events associated with JAK inhibitors in 126,815 reports from the WHO pharmacovigilance database. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 7140, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-022-10777-w>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

HON, Kam Lun *et al.* Emollient treatment of atopic dermatitis: latest evidence and clinical considerations. **Drugs in Context**, v. 7, p. 1–14, 2018. Disponível em: <<http://www.drugsincontext.com/emollient-treatment-of-atopic-dermatitis-latest-evidence-and-clinical-considerations>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

HUANG, I-Hsin *et al.* JAK–STAT signaling pathway in the pathogenesis of atopic dermatitis: An updated review. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1068260, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1068260/full>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

HUGUET-CASQUERO, Amaia *et al.* Encapsulation of oleuropein in nanostructured lipid carriers: biocompatibility and antioxidant efficacy in lung epithelial cells. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 5, p. 429, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/12/5/429>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

HUTIN, Anthony *et al.* Stability of silica nanofluids at high salinity and high temperature. **Powders**, v. 2, n. 1, p. 1–20, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2674-0516/2/1/1>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

IJAZ, Musarrat *et al.* Nanostructured lipid carrier based gel containing α -tocopherol and α -tocopheryl acetate for synergistic cutaneous antiaging efficacy. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 42360, 2025. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-025-26277-6>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

IPPONJIMA, Sari *et al.* Live imaging of alterations in cellular morphology and organelles during cornification using an epidermal equivalent model. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 5515, 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-62240-3>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

ISHIDA-YAMAMOTO, Akemi *et al.* Clinical and molecular implications of structural changes to desmosomes and corneodesmosomes. **The Journal of Dermatology**, v. 45, n. 4, p. 385–389, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1346-8138.14202>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

J. VENEGAS-GARCÍA, Deysi; D. WILSON, Lee; CRUZ-GUZMÁN, Mayela De la. Aloe vera mucilage as a sustainable biopolymer flocculant for efficient arsenate anion removal from water. **RSC Sustainability**, v. 2, n. 9, p. 2632–2643, 2024. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2024/su/d4su00170b>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

JALES, Silvana T. L. *et al.* Development and characterization of *Aloe vera* mucilaginous-based hydrogels for psoriasis treatment. **Journal of Composites Science**, v. 6, n. 8, p. 231, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2504-477X/6/8/231>>. Acesso em: 18 dez. 2025.

JAVIA, Ankit; MISRA, Ambikanandan; THAKKAR, Hetal. Design and pharmacodynamic evaluation of DPK-060 loaded Nanostructured lipid carrier embedded gel for dermal delivery: A novel approach in the treatment of atopic dermatitis. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, v. 217, p. 112658, 2022.

JESKEY, Jack *et al.* Atopic dermatitis: A review of diagnosis and treatment. **The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, n. 6, p. 587–603, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11627575/>>. Acesso em: 2 jan. 2026.

Jl, Hongxiu; LI, Xiao-Kang. Oxidative stress in atopic dermatitis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 1, p. 2721469, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2016/2721469>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

JIANG, Li Qun *et al.* Intracellular disposition of chitosan nanoparticles in macrophages: intracellular uptake, exocytosis, and intercellular transport. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 6383–6398, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5587219/>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

JIAO, Ping *et al.* Quantitative ¹H-NMR spectrometry method for quality control of *Aloe vera* products. **Journal of AOAC International**, v. 93, n. 3, p. 842–848, 2010.

JOUKHADAR, Radwan *et al.* Functional nanostructured lipid carrier-enriched hydrogels tailored to repair damaged epidermal barrier. **Gels**, v. 10, n. 7, p. 466, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11275585/>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

KALYANARAMAN, Balaraman *et al.* Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 52, n. 1, p. 1–6, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3911769/>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

KARAMI, Homa *et al.* Development of a hydrogel containing bisabolol-loaded nanocapsules for the treatment of atopic dermatitis in a Balb/c mice model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 656, p. 124029, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517324002631>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

KASPUTE, Greta *et al.* Terpenes and essential oils in pharmaceuticals: applications as therapeutic agents and penetration enhancers with advanced delivery systems for improved stability and bioavailability. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 6, p. 793, 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/17/6/793>>. Acesso em: 12 jan. 2026.

KHAN, Shadab; SHARMA, Ajay; JAIN, Vikas. An overview of nanostructured lipid carriers and its application in drug delivery through different routes. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 13, n. 3, p. 446–460, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10460807/>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

KHIZAR, Sumera. Nanocarriers based novel and effective drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 632, p. 122570, 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517322011255>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

KIANFAR, Ehsan; KADHUM, Wesam R.; MAHMOUD, Zaid H. Hydrogel Nanoparticles in Drug Delivery: A Review. **Intelligent Pharmacy**, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2949866X25000644>>. Acesso em: 20 dez. 2025.

KIM, Han Bi *et al.* Skin microbiome dynamics in atopic dermatitis: understanding host-microbiome interactions. **Allergy, Asthma & Immunology Research**, v. 17, n. 2, p. 165–180, 2025. Disponível em: <<https://doi.org/10.4168/aair.2025.17.2.165>>. Acesso em: 12 jan. 2026.

KIM, Jihyun; KIM, Byung Eui; LEUNG, Donald Y. M. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications. **Allergy and Asthma Proceedings**, v. 40, n. 2, p. 84–92, 2019. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/10.2500/aap.2019.40.4202>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

KIM, Joan; SONG, Ho Sueb. Bee venom within liposomes synergistically inhibit atopic dermatitis in mice. **Journal of Acupuncture Research**, v. 39, n. 1, p. 40–48, 2022. Disponível em: <<http://e-jar.org/journal/view.php?doi=10.13045/jar.2021.00318>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

KIRAN, Patruni; SWAMI HULLE, Nishant R.; RAO, P. Srinivasa. Viscoelastic behavior of reconstituted *Aloe vera* hydrogels as a function of concentration and temperature. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 2, p. 475–490, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2016.1168436>>. Acesso em: 18 dez. 2025.

LANGAN, Sinéad M; IRVINE, Alan D; WEIDINGER, Stephan. Atopic dermatitis. **The Lancet**, v. 396, n. 10247, p. 345–360, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620312861>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

LARREA-WACHTENDORFF, Dominique; DEL GROSSO, Vittoria; FERRARI, Giovanna. Evaluation of the Physical stability of starch-based hydrogels produced by high-pressure processing (HPP). **Gels**, v. 8, n. 3, p. 152, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2310-2861/8/3/152>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

LAUGHTER, M.R. *et al.* The global burden of atopic dermatitis: lessons from the Global Burden of Disease Study 1990–2017. **British Journal of Dermatology**,

- v. 184, n. 2, p. 304–309, 2021. Disponível em:
<<https://academic.oup.com/bjd/article/184/2/304/6599716>>. Acesso em: 6 mar. 2025.
- LEVIN, Ethan *et al.* Topical steroid risk analysis: Differentiating between physiologic and pathologic adrenal suppression. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 25, n. 6, p. 501–506, 2014. Disponível em:
<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09546634.2013.844314>>. Acesso em: 21 dez. 2025.
- LIU, Boya; CHEN, Kuo. Advances in hydrogel-based drug delivery systems. **Gels**, v. 10, n. 4, p. 262, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2310-2861/10/4/262>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- LIU, Chang *et al.* Extraction, purification, structural characteristics, biological activities and pharmacological applications of acemannan, a polysaccharide from *Aloe vera*: A Review. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1554, 2019.
- LOO, C. H. *et al.* Effect of compositions in nanostructured lipid carriers (NLC) on skin hydration and occlusion. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 13–22, 2013. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3534299/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- LOSCHI, Francesca *et al.* Development of an LC–DAD–MS-based method for the analysis of hydroxyanthracene derivatives in food supplements and plant materials. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1932, 2022. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8955537/>>. Acesso em: 10 jan. 2026.
- LU, Yichao *et al.* Reductive adjuvant nanosystem for alleviated atopic dermatitis syndromes. **ACS Nano**, v. 19, n. 4, p. 4195–4212, 2025. Disponível em:
<<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsnano.4c08767>>. Acesso em: 10 jan. 2026.
- LUNDBERG, Jon O.; WEITZBERG, Eddie. Nitric oxide signaling in health and disease. **Cell**, v. 185, n. 16, p. 2853–2878, 2022. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867422007152>>. Acesso em: 22 dez. 2025.
- MAGUIRE, Ciarán Manus *et al.* Characterisation of particles in solution – a perspective on light scattering and comparative technologies. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 732–745, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14686996.2018.1517587>>. Acesso em: 28 dez. 2025.
- MALDONADO, Fabiola Cardoso *et al.* *In Vitro* and *in vivo* evaluation of a new experimental polydimethylsiloxane-based endodontic sealer. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 16, n. 11, p. 402, 2025. Disponível em:
<<https://www.mdpi.com/2079-4983/16/11/402>>. Acesso em: 20 dez. 2025.
- MALVICINI, Ricardo *et al.* Macrophage bioassay standardization to assess the anti-inflammatory activity of mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles. **Cytotherapy**, v. 24, n. 10, p. 999–1012, 2022. Disponível

em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1465324922006788>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

MARTIN, Bianca Aparecida *et al.* A new approach to atopic dermatitis control with low-concentration propolis-loaded cold cream. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1346, 27 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/13/9/1346>>. Acesso em: 12 nov. 2025.

MARTÍNEZ-BURGOS, Walter Jose *et al.* *Aloe vera*: From ancient knowledge to the patent and innovation landscape – A review. **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 993–1006, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629922000813>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

MENEZES, Ana Carolina Dos Santos *et al.* Anti-inflammatory and wound healing effect of Copaiba oleoresin on the oral cavity: A systematic review. **Heliyon**, v. 8, n. 2, p. e08993, 2022.

MINJARES-FUENTES, Rafael *et al.* Effect of different drying procedures on the bioactive polysaccharide acemannan from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 327–336, 2017.

MOHAPATRA, Tapas Kumar *et al.* Nano based drug delivery systems: Emerging trends and future prospects. **International Journal of Pharmaceutical Research and Applications**, v. 09, n. 05, p. 1198–1213, 2024. Disponível em: <https://ijprajournal.com/issue_dcp/Nano%20based%20drug%20delivery%20systems%20%20Emerging%20trends%20and%20future%20prospects.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2025.

MORQUETTE, Ana Elisa Belotto. Hydrogel containing oleoresin from *Copaifera officinalis* presents antibacterial activity against *Streptococcus agalactiae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02806/full>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

MÚNERA-ECHEVERRI, Alejandro. Bio-pesticidal potential of nanostructured lipid carriers loaded with thyme and rosemary essential oils against common ornamental flower pests. **Colloids and Interfaces**, v. 8, n. 5, p. 55, 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2504-5377/8/5/55>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

MURACA, Giuliana *et al.* Nanostructured lipid carriers containing benzimidazole: physicochemical, biopharmaceutical and cellular *in vitro* studies. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 14, n. 1, p. 804–818, 2023. Disponível em: <<https://www.beilstein-journals.org/bjnano/articles/14/66>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

MURPHY, Michael P. *et al.* Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and *in vivo*. **Nature Metabolism**, v. 4, n. 6, p. 651–662, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s42255-022-00591-z>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

NAVARINI, Alexander A.; FRENCH, Lars E.; HOFBAUER, Günther F. L. Interrupting IL-6-receptor signaling improves atopic dermatitis but associates

with bacterial superinfection. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 128, n. 5, p. 1128–1130, 2011.

NEDOSZYTKO, Bogusław *et al.* Genetic and epigenetic aspects of atopic dermatitis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 6484, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/18/6484>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

NITULESCU, Georgiana *et al.* Targeting Intracellular Pathways in Atopic Dermatitis with Small Molecule Therapeutics. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 47, n. 8, p. 659, 2025. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12384770/>>. Acesso em: 12 jan. 2026.

OHNO, Osamu *et al.* Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory signaling by soft coral-derived prostaglandin a2 in raw264.7 cells. **Marine Drugs**, v. 20, n. 5, p. 316, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-3397/20/5/316>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

PAIVA-SANTOS, Ana Claudia *et al.* Nanocarrier-based dermatopharmaceutical formulations for the topical management of atopic dermatitis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 618, p. 121656, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517322002113>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

PARK, Beom Seok; LEE, Jie-Oh. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 45, n. 12, p. e66, 2013.

PARK, Eun Ju *et al.* Bioactive PLGA polymer nanoparticle loaded gels for atopic dermatitis treatment. **Discover Applied Sciences**, v. 7, n. 4, p. 304, 2025. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42452-025-06688-w>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

PERRIGUE, Patrick M. *et al.* Degradation of drug delivery nanocarriers and payload release: a review of physical methods for tracing nanocarrier biological fate. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 6, p. 770, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/13/6/770>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

PRASERTPOL, Tashatai; TIYABOONCHAI, Watee. Nanostructured lipid carriers: A novel hair protective product preventing hair damage and discoloration from UV radiation and thermal treatment. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 204, p. 111769, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113441930329X>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

RADHA, Maharjan H.; LAXMIPRIYA, Nampoothiri P. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 5, n. 1, p. 21–26, 2015. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4488101/>>. Acesso em 18 dez. 2025.

RAIMONDO, Annunziata; SERIO, Bianca; LEMBO, Serena. Oxidative stress in atopic dermatitis and possible biomarkers: present and future. **Indian Journal of Dermatology**, v. 68, n. 6, p. 657–660, 2023. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.4103/ijd.ijd_878_22>. Acesso em: 16 dez. 2025.

RAO, Harinash; TAN, Joash Ban Lee. Polysaccharide-based hydrogels for atopic dermatitis management: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 349, n. Pt B, p. 122966, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861724011925>>. Acesso em: 2 dez. 2025.

RENNICK, Joshua J.; JOHNSTON, Angus P. R.; PARTON, Robert G. Key principles and methods for studying the endocytosis of biological and nanoparticle therapeutics. **Nature Nanotechnology**, v. 16, n. 3, p. 266–276, 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41565-021-00858-8>>. Acesso em: 20 dez. 2025.

RICARDI, Caterina *et al.* Beta-caryophyllene, a cannabinoid receptor type 2 selective agonist, in emotional and cognitive disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 6, p. 3203, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10970213/>>. Acesso em: 17 dez. 2025.

RODRIGUEZ-LOYA, Jesus; LERMA, Maricarmen; GARDEA-TORRESDEY, Jorge L. Dynamic light scattering and its application to control nanoparticle aggregation in colloidal systems: a review. **Micromachines**, v. 15, n. 1, p. 24, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-666X/15/1/24>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

SÁNCHEZ, Marta *et al.* Pharmacological update properties of *Aloe vera* and its major active constituents. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1324, 2020. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7144722/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SANTOS, Adriana Oliveira Dos *et al.* Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277–281, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762008000300009&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SANTOS, Elizabeth Cristina Gomes *et al.* Effects of *Copaifera duckei* Dwyer oleoresin on the cell wall and cell division of *Bacillus cereus*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 7, p. 1032–1037, 2013. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.060046-0>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SEGNEANU, Adina-Elena *et al.* Advancements in hydrogels: a comprehensive review of natural and synthetic innovations for biomedical applications. **Polymers**, v. 17, n. 15, p. 2026, 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4360/17/15/2026>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SEVINÇ-ÖZAKAR, Rukiye *et al.* Nanoemulsion-based hydrogels and organogels containing propolis and dexpanthenol: preparation, characterization, and comparative evaluation of stability, antimicrobial, and cytotoxic properties. **Gels**, v. 8, n. 9, p. 578, 2022. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9498717/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SILVA, Elisabete *et al.* Cellular interactions of a lipid-based nanocarrier model with human keratinocytes: Unravelling transport mechanisms. **Acta Biomaterialia**, v. 53, p. 439–449, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706117300673>>. Acesso em: 20 dez. 2025.

SINDLE, Allison; MARTIN, Kari. Art of prevention: essential oils - natural products not necessarily safe. **International Journal of Women's Dermatology**, v. 7, n. 3, p. 304–308, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8243157/>>. Acesso em: 9 jan. 2026.

SMIRNOVA, J. *et al.* Associations of self-reported atopic dermatitis with comorbid conditions in adults: A population-based cross-sectional study. **BMC Dermatology**, v. 20, n. 1, p. 23, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12895-020-00117-8>.

SONAWANE, Sachin K. *et al.* A comprehensive overview of functional and rheological properties of aloe vera and its application in foods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 4, p. 1217–1226, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7925795/>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

STEFANOVIC, Nicholas; IRVINE, Alan D. Filaggrin and beyond. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 132, n. 2, p. 187–195, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1081120623012656>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

SUN, Pei-Yi *et al.* Lidocaine alleviates inflammation and pruritus in atopic dermatitis by blocking different population of sensory neurons. **British Journal of Pharmacology**, v. 180, n. 10, p. 1339–1361, 2023. Disponível em: <<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.16012>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, p. a016295–a016295, 2014. Disponível em: <<http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a016295>>. Acesso em: 16 dez. 2025.

TEIXEIRA, Maria Inês *et al.* Formulation, characterization, and cytotoxicity evaluation of lactoferrin functionalized lipid nanoparticles for riluzole delivery to the brain. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 185, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8778224/>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

TIAN, Jingru *et al.* Global epidemiology of atopic dermatitis: a comprehensive systematic analysis and modelling study. **British Journal of Dermatology**, v. 190, n. 1, p. 55–61, 2023. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bjd/article/190/1/55/7273471>>. Acesso em: 6 mar. 2025.

TOKURA, Yoshiki; HAYANO, Satoshi. Subtypes of atopic dermatitis: from phenotype to endotype. **Allergology International**, v. 71, n. 1, p. 14–24, 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1323893021000794>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

TRINDADE, Rafaela; DA SILVA, Joyce Kelly; SETZER, William N. *Copaifera* of the Neotropics: A Review of the Phytochemistry and Pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1511, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5983702/>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

TUREK, Claudia; STINTZING, Florian C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 40–53, 2013. Disponível em: <<https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12006>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

UCHÔA, Ana Flávia Chaves *et al.* Optimization and functionalization of copaiba oil-loaded nanostructured lipid carriers to improve cytotoxicity against breast cancer cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 105, p. 106575, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224724012449>>. Acesso em: 17 out. 2025.

VENKATESWARLU, Vobalaboina; MANJUNATH, Koppam. Preparation, characterization and *in vitro* release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. **Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society**, v. 95, n. 3, p. 627–638, 2004.

VIEIRA, Mariele Antunes *et al.* Optimization of texture profile analysis parameters for commercial guava preserve. **Revista Ceres**, v. 68, n. 6, p. 530–538, 2021. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2021000600530&tlng=en>. Acesso em: 19 dez. 2025.

WAIRKAR, Sarika; PATEL, Dhrumi; SINGH, Abhinav. Nanostructured lipid carrier based dermal gel of cyclosporine for atopic dermatitis-*in vitro* and *in vivo* evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 72, p. 103365, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224722002751>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

WANG, Perry G. *et al.* Simultaneous determination of aloin A and aloe emodin in products containing Aloe vera by ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 4, n. 11, p. 3612–3619, 2012. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/ay/c2ay25599e>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

WEIDINGER, S.; BAURECHT, H.; SCHMITT, J. A 5-year randomized trial on the safety and efficacy of pimecrolimus in atopic dermatitis: a critical appraisal. **British Journal of Dermatology**, v. 177, n. 4, p. 999–1003, 2017. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bjd/article/177/4/999/6674083>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

WEISS, Daniela *et al.* Prescription behaviour and barriers to prescription of biologicals for treatment of chronic inflammatory skin diseases in dermatological practice in two German federal states. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 101, n. 9, p. 273, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9425602/>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

XIA, Ying *et al.* Tetramethylpyrazine-loaded liposomes surrounded by hydrogel based on sodium alginate and chitosan as a multifunctional drug delivery system for treatment of atopic dermatitis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 193, p. 106680, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098723003081>>. Acesso em: 10 jan. 2026.

YANG, Yihui *et al.* The effect of oil type on the aggregation stability of nanostructured lipid carriers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 418, p. 261–272, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979713011016>>. Acesso em: 19 dez. 2025.

YUAN, Ming *et al.* Dipeptide-1 modified nanostructured lipid carrier-based hydrogel with enhanced skin retention and topical efficacy of curcumin. **RSC Advances**, v. 13, n. 42, p. 29152–29162, 2023. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/ra/d3ra04739c>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

YUSUF, Azeez *et al.* Nanoparticles as drug delivery systems: a review of the implication of nanoparticles' physicochemical properties on responses in biological systems. **Polymers**, v. 15, n. 7, p. 1596, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10096782/>>. Acesso em: 28 dez. 2025.

ZELOVÁ, Hana; HOŠEK, Jan. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. **Inflammation Research**, v. 62, n. 7, p. 641–651, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00011-013-0633-0>>. Acesso em: 16 dez. 2025.

ZHANG, Yan *et al.* Advancements in pharmacological interventions for atopic dermatitis current strategies and future directions. **Inflammopharmacology**, v. 33, n. 3, p. 1221–1236, 2025. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s10787-025-01659-4>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

ZHAO, Anqi; PAN, Chaolan; LI, Ming. Biologics and oral small-molecule inhibitors for treatment of pediatric atopic dermatitis: Opportunities and challenges. **Pediatric Investigation**, v. 7, n. 3, p. 177–190, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10509388/>>. Acesso em: 24 abr. 2025.

ZHENG, Zhi. The application of nanomaterials in drug delivery system. **Applied and Computational Engineering**, v. 126, n. 1, p. 162–168, 2025. Disponível em: <<https://www.ewadirect.com/proceedings/ace/article/view/20132>>. Acesso em: 21 dez. 2025.

ZHONG, Yanfen *et al.* NF- κ B affected the serum levels of TNF- α and IL-1 β via activation of the MAPK/NF- κ B signaling pathway in rat model of acute pulmonary microthromboembolism. **Pulmonary Circulation**, v. 14, n. 2, p. e12357, 2024. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pul2.12357>>. Acesso em: 17 dez. 2025.

ZIECH, Cynthia Camila; PORTO, Douglas dos Santos; CAON, Thiago. Lipid and polymeric nanocarriers as an approach to enhance the anti-inflammatory activity of essential oils. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 110, p. 107079, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224725004824>>. Acesso em: 22 dez. 2025.

Anexos

ANEXOS

O artigo intitulado “*Optimization and functionalization of copaiba oil-loaded nanostructured lipid carriers to improve cytotoxicity against breast cancer cells*”, em anexo a seguir, foi publicado em janeiro de 2025 no *Journal of Drug Delivery Science and Technology* e desenvolvido durante o Trabalho de Conclusão de Curso da aluna. Teve como objetivo a otimização, caracterização físico-química e funcionalização de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo de copaíba, visando a avaliação de sua atividade citotóxica frente a células de câncer de mama. Nesse estudo, foram investigados parâmetros de formulação com impacto direto no tamanho de partícula, Pdl, potencial zeta, eficiência de encapsulação e estabilidade coloidal do nanossistema, além de sua interação biológica em modelos celulares *in vitro*.

A contribuição desse trabalho para a presente dissertação e sua publicação durante o período de mestrado, que iniciou em 01/10/2024, foi fundamental, uma vez que o CLN de óleo de copaíba desenvolvido e otimizado nesse artigo serviu como base para os estudos realizados neste projeto. Além disso, os conhecimentos adquiridos possibilitaram sua transição para essa possível nova aplicação, direcionado à área dermatológica. Dessa forma, a dissertação dá continuidade e amplia os achados do artigo, explorando o potencial do CLN de óleo de copaíba em novos modelos.



Optimization and functionalization of copaiba oil-loaded nanostructured lipid carriers to improve cytotoxicity against breast cancer cells

Ana Flávia Chaves Uchôa^a, Allessya Lara Dantas Formiga^a,
Álison Emmanuel Franco Alves^a, Anny Letícia Marinho Ramos Cardoso^a,
Graziela Maria de Araujo Pereira^a, Lucas Medeiros Martins Carvalho^a,
Luís Felipe Alves da Silva^a, Paulo Sérgio da Silva Pereira^a,
Pedro Henricke Oliveira de Souza^a, Silvana Teresa Lacerda Jales^a,
Anauara Lima e Silva^b, Ramon Ramos Marques de Souza^c,
Marianna Vieira Sobral^c, Marcelo Sobral da Silva^b,
José Maria Barbosa Filho^b, Francisco Humberto Xavier-Júnior^{a,*}

^a Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III. Cidade Universitária, CEP: 58051-900, João Pessoa, PB, Brazil

^b Multiuser Characterisation and Analysis Laboratory (LMCA), Institute of Research in Drugs and Medicines, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III. Cidade Universitária, CEP: 58051-900, João Pessoa, PB, Brazil

^c Oncopharmacology Laboratory (ONCOFAR), Institute of Research in Drugs and Medicines (IPeFarm), Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III. Cidade Universitária, CEP: 58051-900, João Pessoa, PB, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Copaiba oil, biological products
Nanotechnology
Drug delivery
Nanoparticles
Breast cancer

ABSTRACT

Copaiba oil (CO) exhibits notable antineoplastic properties, that can be enhanced when encapsulated within nanosystems. Thus, this study focused on characterizing, optimizing, and functionalizing CO-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) and evaluating their interaction with albumin and MCF-7 breast cancer cells. NLCs were produced using solvent injection or hot emulsion with sonication (HES) methods, and optimized by Box-Behnken design, considering CO (1, 5, 9%), Precirol® (1, 4, 7%), and Tween® (0.1, 0.5, 0.9%) as variables. The optimized formulation, containing 6% CO, was produced by HES, showing a particle size of 183 ± 1.8 nm, Pdl of 0.17 ± 0.01 , and zeta potential of -20.7 ± 0.2 mV. Tween® 80 significantly reduced particle size ($R^2 = 0.999$). Optimized NLC (oNLC) was functionalized with Pluronic®, cholesterol, chitosan, and PEG, and characterized by infrared spectroscopy. oNLC-PEG1% and oNLC-Plu1% displayed promising particle sizes (161.1 ± 1.1 and 186.4 ± 1.6 nm). Infrared spectra confirmed CO encapsulation. Stability tests showed no significant changes in samples stored at 4 °C for 90 days, maintaining a spherical shape under electron microscopy. NLCs demonstrated great stability with albumin except for oNLC-Plu1% after 24h (434.3 ± 26.7 nm). oNLC-Chol exhibited the highest toxicity against MCF-7 cells (52.49% inhibition at 25 µg/mL). Thus, functionalized, stable NLCs were produced, displaying varied albumin interaction profiles and high anticancer efficacy, indicating their potential as a delivery system.

1. Introduction

The diversity of diseases requiring medication for treatment and health preservation is increasingly prominent in today's pharmaceutical market. However, there is still much to be discussed regarding their adverse effects [1]. Taking cancer as an example, the primary

medications used are antineoplastics. The major issue with these drugs lies in their high toxicity due to the low specificity for tumor cells, causing side effects in healthy cells as well [2]. Consequently, the utilization of natural products for the development of herbal medicines is a promising therapeutic alternative for numerous diseases [1].

Medicinal plants are mainly composed of a variety of secondary

* Corresponding author.

E-mail address: fhxj@academico.ufpb.br (F.H. Xavier-Júnior).

Demais artigos publicados na área de nanotecnologia gerados em colaboração durante o período do mestrado (outubro/2024 a janeiro/2026)



Article

Optimized and Functionalized Carvacrol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Enhanced Cytotoxicity in Breast Cancer Cells

Ana F. C. Uchôa ¹, Allessya L. D. Formiga ¹, Anny L. M. R. Cardoso ¹, Graziela M. A. Pereira ¹, Lucas M. M. Carvalho ¹, Pedro H. O. Souza ¹, Anauara L. Silva ², Ramon R. M. Souza ³, Marianna V. Sobral ³, Marcelo S. Silva ², José M. Barbosa-Filho ² and Francisco H. Xavier-Júnior ^{1,*}

¹ Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III-Cidade Universitária, João Pessoa 58051-900, PB, Brazil; anauchoa@lft.ufpb.br (A.F.C.U.); allessya.formiga@lft.ufpb.br (A.L.D.F.); annylecticiamarinho@lft.ufpb.br (A.L.M.R.C.); graziela.maria.araujo@academico.ufpb.br (G.M.A.P.); lucas.medeiros2@academico.ufpb.br (L.M.M.C.); phos@academico.ufpb.br (P.H.O.S.)
² Multiser Characterization and Analysis Laboratory (LMCA), Institute of Research in Drugs and Medicines, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III-Cidade Universitária, João Pessoa 58051-900, PB, Brazil; anauaralima@lft.ufpb.br (A.L.S.); marcelosobral@lft.ufpb.br (M.S.S.); jbarbosa@lft.ufpb.br (J.M.B.-F.)
³ Oncopharmacology Laboratory (ONCOFAR), Institute of Research in Drugs and Medicines (IBeFarM), Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III-Cidade Universitária, João Pessoa 58051-900, PB, Brazil; ramonsouza@lft.ufpb.br (R.R.M.S.); mariannavsb@gmail.com (M.V.S.)
* Correspondence: fhxj@academico.ufpb.br

Abstract: Background/Objectives: Carvacrol, a monoterpene phenol found in essential oils, exhibits many biological activities, including anticancer properties through mechanisms such as induction of apoptosis. These properties can be enhanced if encapsulated within nanoparticles. This study focuses on producing functionalized carvacrol-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) applied to the treatment of breast cancer. Methods: NLCs were produced by hot emulsification with the sonication method and optimized by the Box-Behnken design, considering Precirol® (1, 4, 7%), carvacrol (1, 5, 9%), and Tween® (0.1, 0.5, 0.9%) as independent variables. Results: The optimized NLC containing 2% carvacrol had a particle size of 111 ± 2 nm, PDI of 0.26 ± 0.01 , and zeta potential of -24 ± 0.8 mV. The solid lipid (Precirol®) was the variable that most influenced particle size. NLCs were functionalized with Pluronic® F68, cholesterol, chitosan, and polyethylene glycol (0.05–0.2%), with oNLC-Chol presenting the most promising results, with no significant increase in particle size (± 12 nm) and high encapsulation efficiency (98%). Infrared spectra confirm effective carvacrol encapsulation, and stability tests showed no significant physicochemical changes for 120 days of storage at 4 °C. When incubated with albumin (5 mg/mL), NLCs showed overall good stability over 24 h, except for oNLC-Chol, which increased slightly in size after 24 h. In addition, oNLC increased the cytotoxic effect of carvacrol by 12-fold, resulting in an IC₅₀ of 7 ± 1 µg/mL. Conclusions: Therefore, it was possible to produce stable, homogeneous NLCs with nanometric sizes containing 2% carvacrol that displayed improved anticancer efficacy, indicating their potential as a delivery system.

Keywords: carvacrol; nanotechnology; drug delivery; nanostructured lipid carriers; breast cancer



Received: 17 December 2024
Revised: 4 February 2025
Accepted: 13 February 2025
Published: 13 March 2025

Citation: Uchôa, A.F.C.; Formiga, A.L.D.; Cardoso, A.L.M.R.; Pereira, G.M.A.; Carvalho, L.M.M.; Souza, P.H.O.; Silva, A.L.; Souza, R.R.M.; Sobral, M.V.; Silva, M.S.; et al. Optimized and Functionalized Carvacrol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Enhanced Cytotoxicity in Breast Cancer Cells. *Pharmaceutics* 2025, 17, 363. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030363>

Copyright: © 2025 by the authors.



Review

Emerging Trends in Snake Venom-Loaded Nanobiosystems for Advanced Medical Applications: A Comprehensive Overview

Álison E. F. Alves ^{1,2}, Anne B. C. Barros ¹, Lindomara C. F. Silva ¹, Lucas M. M. Carvalho ¹, Graziela M. A. Pereira ¹, Ana F. C. Uchôa ¹, José M. Barbosa-Filho ², Marcelo S. Silva ², Karla P. O. Luna ³, Karla S. R. Soares ¹ and Francisco H. Xavier-Júnior ^{1,2,*}

¹ Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmacy, Federal University of Paraíba (UFPB), Campus I-Castelo Branco III, João Pessoa 58051-900, PB, Brazil; aef@lft.ufpb.br (A.E.F.A.); anebcbarros@gmail.com (A.B.C.B.); lindomara.cristina16@gmail.com (L.C.F.S.); lucas.medeiros2@academico.ufpb.br (L.M.M.C.); graziela.maria.dearaujo@gmail.com (G.M.A.P.); anaflaviauchoauf@gmail.com (A.F.C.U.); karllasamara@yahoo.com.br (K.S.R.S.)
² Post-Graduated Program in Natural and Synthetic Bioactive Products, Federal University of Paraíba (UFPB), Campus I-Castelo Branco III, João Pessoa 58051-900, PB, Brazil; jbarbosa@lft.ufpb.br (J.M.B.-F.); marcelosobral.ufpb@gmail.com (M.S.S.)
³ Venomics Laboratory (LabVenom), Center for Biological and Health Sciences, State University of Paraíba (UEPB), Campus I, Bodocóengo, Campina Grande 58429-600, PB, Brazil; karlaocat@yaho.com.br
* Correspondence: fhxj@academico.ufpb.br

Abstract: Advances in medical nanobiotechnology have notably enhanced the application of snake venom toxins, facilitating the development of new therapies with animal-derived toxins. The vast diversity of snake species and their venom complexities underline the need for ongoing research. This review is dedicated to exploring the integration of snake venom with nanoparticles to enable their use in human therapies aiming to develop treatments. The complex mixture of snake venom not only inflicts significant pathological effects but also offers valuable insights for the creation of innovative therapies, particularly in the realm of nanobiotechnology. Nanoscale encapsulation not only mitigates the inherent toxicity of snake venom but also amplifies their antitumoral, antimicrobial, and immunomodulatory properties. The synergy between venom-derived macromolecules and nanotechnology offers a novel pathway for augmenting the efficacy and safety of conventional antivenom therapies, extending their applicability beyond treating bites to potentially addressing a myriad of health issues. In conclusion, nanotechnology presents a compelling therapeutic frontier that promises to improve current treatment modalities and ameliorate the adverse effects associated with venomous snakebites.

Keywords: drug delivery; drug discovery; nanomedicine; nanoformulation; venom peptides



Academic Editor: Dong Kuan Han
Received: 12 December 2024
Revised: 24 December 2024
Accepted: 6 January 2025
Published: 6 February 2025

Citation: Alves, Á.E.F.; Barros, A.B.C.; Silva, L.C.F.; Carvalho, L.M.M.; Pereira, G.M.A.; Uchôa, A.F.C.; Barbosa-Filho, J.M.; Silva, M.S.; Luna, K.P.O.; Soares, K.S.R.; et al. Emerging



Optimized extraction, characterization, and cytotoxicity assessment of biodegradable *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck mucilage

Paulo Sérgio da Silva Pereira^a, Ana Maria Campelo de Araújo^a,
Ludmila Emily da Silva Gomes^a, Alisson Emmanuel Franco Alves^a,
Anny Letícia Marinho Ramos Cardoso^a, Ana Flávia Chaves Uchoa^a,
Graziela Maria de Araujo Pereira^a, Allessya Lara Dantas Formiga^a,
Karla Samara Rocha Soares^a, José Maria Barbosa-Filho^b,
Marcelo Sobral da Silva^b, Francisco Humberto Xavier-Júnior^{a,*}

^a Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III, Cidade Universitária, CEP: 58051-900 João Pessoa, PB, Brazil

^b Molecular Characterization and Analysis Laboratory (LMCA), Institute of Research in Drugs and Medicines, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III, Cidade Universitária, CEP: 58051-900 João Pessoa PB, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Cactaceae
Carbohydrates
Mucilage
Nopalea cochenillifera Salm-Dyck, biodegradable polymer

ABSTRACT

Mucilage is a plant-derived polysaccharide-rich complex with valuable physicochemical properties for food, cosmetic, and pharmaceutical applications. This study optimized the extraction of biodegradable mucilage from *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck and evaluated its physicochemical, thermal, technological, and cytotoxic characteristics. A full experimental design was employed using water ratio (1:2, 1:8, and 1:10), temperature (50, 70, and 90 °C), solvent (ethanol, isopropanol, and acetone), and solvent ratio (1:2, 1:8, and 1:10) as independent variables. The extracts were characterized using UV-Vis, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA), and differential scanning calorimetry (DSC), as well as molecular size and weight, X-ray diffraction (XRD), and rheology analyses. Cell viability was assessed using RAW 264.7 and HEK 293 cell lines. Optimization increased mucilage yield by 14.6%, with higher levels of soluble carbohydrates and reducing sugars, and reduced protein content. The mucilage remained stable at high temperatures, exhibited an amorphous structure, and was chemically rich in carbohydrates, displaying pseudoplastic behavior. Additionally, high cell viability (>100 µg/ml) was observed for both cell lines. In conclusion, the mucilage from *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck represents a promising material for applications across various industries as a substitute for non-biodegradable polymer.

1. Introduction

Cacti are considered the family with the largest number of genera, comprising approximately 127 species, found in a wide range of habitats (Horibe, 2021). These plants are abundantly distributed across the American continent and are often used as ornamental plants; however, their flowers, fruit, and stems are also used for human and animal

consumption (Horibe, 2021). Due to their unique physiology, resulting from adaptations to survive water stress, these plants are predominantly found in arid and dry regions, as they can store water in their tissues to prevent dehydration (Breslin et al., 2021).

Opuntia ficus-indica L. Miller, a species native to Mexico and widely distributed in countries like Brazil, is known for its highly nutritious and antioxidant-rich cladodes due to the presence of polyphenols,

* Corresponding author at: Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III, Cidade Universitária, CEP: 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil.

E-mail addresses: paulo.pereira.qli@gmail.com (P.S.d.S. Pereira), alissonemmanuel@gmail.com (A.M.C. Araújo), ludmilaesgomes@gmail.com (L.E.S. Gomes), annyleticiamarinhob@gmail.com (A.L.M.R. Cardoso), anafaviachaves@gmail.com (A.F.C. Uchoa), graziela.maria.de.araujo@gmail.com (G.M.A. Pereira), allessyalarad@gmail.com (A.L.D. Formiga), karlasamara@yahoo.com.br (K.S.R. Soares), jbarboas@ufpb.br (J.M. Barbosa-Filho), fhxj@academico.ufpb.br (F.H. Xavier-Júnior).

<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100980>

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Current Drug Targets, XXXX, XX, 1-16

1

REVIEW ARTICLE

Targets Involved in the Pharmacology of Bothrops Snakebite: *Statu Quo* and Future Perspectives

Alisson Emmanuel Franco Alves^{1,2}, Allessya Lara Dantas Formiga^{1,2}, Ana Flávia Chaves Uchoa^{1,2}, Anny Letícia Marinho Ramos Cardoso^{1,2}, Eduardo Oliveira Aquino Leal Rodrigues¹, Graziela Maria de Araujo Pereira¹, Julia de Pádua Farias Bezerra Leite¹, Luis Felipe Alves da Silva¹, Natália Ferreira de Sousa¹, Marcelo da Silva Sobral¹, Marcus Tullius Scotti², Luciana Scotti² and Francisco Humberto Xavier Júnior^{1,2,*}

¹Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Federal University of Paraíba (UFPB), Campus I- Castelo Branco III, 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil, ²Post-graduated Program in Natural and Synthetic Bioactive Products, Federal University of Paraíba (UFPB), Campus I- Castelo Branco III, 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil

Abstract: Introduction: Despite their hazardous nature, snake venoms hold immense potential for the development of novel therapies. This summary delves into the key aspects of snake venom research, focusing on their significance as targets for neutralization, their utility as novel drugs, the application of *in silico* studies, and future prospects with nanotechnology.

Significance of Snake Venom: Snake venom harbors a rich diversity of toxic proteins with a wide range of biological activities. Its importance lies in the possibility of neutralizing its detrimental effects and exploring its therapeutic potential for diverse ailments.

Venom Neutralization: The development of more effective and specific antivenoms is crucial for treating snakebites, particularly in regions with a high prevalence of accidents. Molecular-level venom studies are essential for identifying novel targets for the development of more efficacious antivenoms.

Venom as a Source of Novel Drugs: Proteins present in snake venom exhibit diverse pharmacological activities, including antithrombotic, anti-inflammatory, analgesic, and antimicrobial properties. Investigating these proteins can lead to the development of novel medications for various diseases.

In silico Studies: Bioinformatics tools and molecular modelling can aid in the discovery of novel molecular targets in snake venom, accelerating the process of developing new drugs and therapies.

Nanotechnology for Drug Delivery: Nanotechnology offers new possibilities for developing more efficient and targeted drug delivery systems, enhancing the safety and effectiveness of snake venom-based treatments.

Conclusion: Snake venom research represents a promising area of inquiry with immense potential for the development of novel drugs and therapies. The integration of traditional and innovative techniques, such as *in silico* studies and nanotechnology, can accelerate this process and contribute to the advancement of public health.

Keywords: Snake venom, bioprospecting, drug development, *in silico* studies, nanotechnology, drug delivery.

1. INTRODUCTION

Venomous animals are characterized by possessing specialized glands that produce venom and having distinctive

apparatus, such as fangs, to deliberately inject it into predators [1]. Within this group of animals, snakes stand out, as they harbor toxic proteins capable of causing significant harm when in contact with individuals [2]. The toxicity of snakebite varies widely, ranging from acute neuromuscular weakness with respiratory involvement to delayed neurotoxicity, hemorrhagic disorders, irreversible renal failure, and tissue damage that may result in limb amputation [3-5].

*Address correspondence to this author at the Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Federal University of Paraíba (UFPB), Campus I- Castelo Branco III, 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil. E-mail: fhxj@academico.ufpb.br



Review article

Beyond the peril of envenomation: A nanotechnology approach for therapeutic venom delivery

Karla Samara Rocha Soares ^{a,*}, AlleSSya Lara Dantas Formiga ^{a,b}, Ana Flávia Chaves Uchôa ^{a,c}, Anny Letícia Marinho Ramos Cardoso ^{a,b}, João Pedro Crispim Guerra Rodrigues ^a, Julia de Pádua Farias Bezerra Leite ^a, Luís Felipe Alves Silva ^{a,c}, Alisson Emmanuel Franco Alves ^{a,b}, José Maria Barbosa-Filho ^b, Francisco Humberto Xavier-Junior ^{a,b,c}

^a Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III, Cidade Universitária, CEP: 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil
^b Post-graduate Program in Bioactive Natural and Synthetic Products, UFPB, Campus I - Castelo Branco III, 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Venom peptides
Drug delivery
Nanopeptides

ABSTRACT

The considerable increase in cases of diseases that are difficult to treat, highlights the need to implement new therapeutic alternatives. Active components with high therapeutic potential were identified as snake venoms, with proven biological activity. In Brazil, a country known for its diverse fauna, there exists a wide range of venomous animals, including snakes, scorpions, and bees. The venom of these animals presents therapeutic potential due to the presence of biomolecules with properties such as antivenom, anticancer, and anti-inflammatory effects. However, these biomolecules are easily degraded when not adequately formulated. Nanocarrier formulations have been considered promising for the delivery of therapeutic bioactive molecules, particularly, genes and proteins. These nanosystems have been widely used in different areas like the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. In pharmacological therapy, the use of these nanosystems can provide stability, reduced toxicity, increased half-life, and protection from degradation or premature inactivation of the therapeutic agents enhancing the overall efficacy of the treatment. Different types of biodegradable delivery nanosystems, such as liposomes (LPS), polymeric nanoparticles (NP), and lipid nanoparticles (NL), have shown a high capacity for loading components present in animal venom, proving to be a useful tool for obtaining many new pharmacological applications. The objective of this review is to examine nanosystems effectively linked with crude venom or peptides isolated from various animals, elucidating their diverse pharmacological applications, especially, the production of serums and vaccines, as well as the development of anticancer and antimicrobial agents.

1. Introduction

Venomous animals are considered specialized predators capable of producing toxic secretions for both protection and predation, which contain peptides with chemical and neuropharmacological action with a wide structural and functional diversity [1–3]. Snakes and scorpions are mainly responsible for the most serious accidents with venomous animals since snake envenomation is considered a neglected tropical disease, which has been reported to kill between 81 000–130 000 people

every year, mostly in rural Africa, Asia, and South America [2,4].

Animal-derived venom are valuable natural resource for the development of drugs, such as snake venom, bee venom, and spider venom [5]. Venoms are complex bioactive compound cocktails, the main components of which are proteins, peptides, neurotransmitters, and other compounds [1,2,6], with high medicinal potential as they contain proteins and peptides in their composition that demonstrate broad pharmacological activities when applied to humans, acting as anti-venom, anticancer, anti-inflammatory, nociceptive, and antimicrobials

* Corresponding author. Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology (BioTecFarm), Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, Campus Universitário I, Castelo Branco III, Cidade Universitária. CEP: 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil.
 E-mail address: hxj@academico.ufpb.br (F.H. Xavier-Junior).

<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106652>
 Received 7 October 2024; Received in revised form 17 December 2024; Accepted 25 January 2025



<http://pubs.acs.org/journal/acsod>

This article is licensed under [CC-BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Article

Development of Optimized *Origanum vulgare* L. Essential Oil-Loaded Chitosan/Gum Arabic Nanocapsules by Complex Coacervation

Sonalle C. A. Andrade, Ana F. C. Uchôa, AlleSSya L. D. Formiga, Anny L. M. R. Cardoso, Nereide S. S. Magalhães, Rodrigo O. França, Sócrates G. dos Santos, Marciane Magnani, Francisco H. Xavier-Junior,* and Thayza C. M. Stamford

Cite This: ACS Omega 2025, 10, 50652–50665

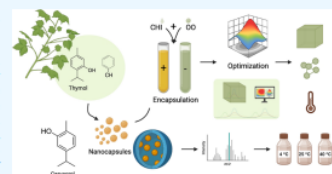
Read Online

ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

ABSTRACT: *Origanum vulgare* essential oil (OEO), rich in carvacrol and thymol, has bioactive properties but is prone to degradation due to its volatile nature. Nanoencapsulation by complex coacervation, using chitosan (CHI) and gum arabic acid (GA), emerges as an alternative to increase its stability in food matrices. This study investigated the influence of the CHI/GA mass ratio on the formation of OEO-containing nanocapsules and quantified the encapsulated carvacrol using validated GC–MS. A Box–Behnken experimental design optimized the OEO concentration, CHI/GA ratio, and amount of Tween 80. Physicochemical properties such as the diameter, PDI, and zeta potential were evaluated. Morphology was analyzed by SEM and AFM, and thermal stability by TGA and DSC. Stability was monitored for 120 days at 4 °C, 25 °C, and 40 °C. The optimized formulation (470 mg of OEO, 659 mg of CHI/GA 1:5, and 13 mg of Tween) resulted in nanocapsules with a diameter of 323 ± 22 nm, a PDI of 0.20 ± 0.02 , and a zeta potential of $+15.8 \pm 0.8$ mV. FTIR analysis confirmed electrostatic interactions between CHI and GA. GC–MS identified 24 constituents in the OEO, with carvacrol as the main compound (78.8%). The validated method showed an R^2 of 0.9976, proving to be specific, precise, and accurate. The encapsulation efficiency was $95\% \pm 0.7$, indicating that the technique preserved the oil's composition and concentration. The nanocapsules maintained stability under different temperatures with confirmed structural integrity. It is concluded that nanoencapsulation via complex coacervation, combined with experimental design, allows for the production of stable and effective nanocapsules for the delivery of lipophilic bioactive compounds. The validated analytical method reinforces the system's applicability in future research and the development of functional products.



1. INTRODUCTION

hydrolysis, and loss in industrial processes. To overcome

Artigo de revisão submetido durante o mestrado

Journal of Drug Delivery Science and Technology

Next-Generation Therapies for Atopic Dermatitis: Translational Insights from Targeted Pathways to Nanotechnology-Based Delivery

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JDDST-D-25-06271
Article Type:	Review Article
Keywords:	Skin inflammation; Targeted therapies; Biologics; JAK inhibitors; Marketed drugs; Nanotechnology
Corresponding Author:	Francisco Humberto Xavier-Junior Universidade Federal da Paraíba Joao Pessoa, PB BRAZIL
First Author:	Ana Flávia Chaves Uchôa
Order of Authors:	Ana Flávia Chaves Uchôa Allessya Lara Dantas Formiga Anderson de Oliveira Gomes Ferreira Anny Letícia Marinho Ramos Cardoso Beatriz Maurício Batista Albuquerque Mariana da Silva Medeiros Lacerda Bianca Aparecida Martin Renata Fonseca Vianna Lopez Francisco Humberto Xavier-Junior
Abstract:	<p>Atopic dermatitis (AD) is a chronic, relapsing inflammatory skin disorder resulting from a complex interaction of genetic, environmental, and immune factors. Recent advances have clarified the molecular mechanisms underlying the disease, highlighting the roles of epidermal barrier dysfunction and type 2 immune activation. In parallel, therapeutic progress has been marked by the introduction of biologics, small molecules, and innovative delivery platforms, signaling a new era in AD management. Despite these achievements, relevant clinical and translational gaps remain, particularly among non-responders and patients with mixed immunophenotypes. Nanotechnology-based systems, including tacrolimus-loaded polymeric nanoparticles and DPK-060 lipid carriers, have emerged as promising strategies capable of improving drug stability, local targeting, and safety. Additionally, new immune targets such as OX40/OX40L, IL-33, IL-22, and IL-1α are under investigation, expanding the therapeutic landscape toward more selective and durable control. In this context, the present review integrates mechanistic insights with clinical data on approved agents, such as dupilumab, tralokinumab, lebrikizumab, nemolizumab, and JAK inhibitors, while critically examining the contribution of nanocarriers to enhance efficacy and minimize systemic exposure. By bridging immunology, pharmacotherapy, and delivery innovation, this work identifies the current strengths and limitations of available treatments and outlines how emerging technologies can promote a more precise, patient-centered approach to AD therapy.</p>
Opposed Reviewers:	