



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**VINICIUS BISPO DA SILVA**

**PRODUÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO DE COPAÍBA:**  
**ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

**JOÃO PESSOA**

**2026**

**VINICIUS BISPO DA SILVA**

**PRODUÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO DE COPAÍBA:  
ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal da  
Paraíba como requisito para obtenção de  
título de Bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Dr. Francisco Humberto  
Xavier Júnior

**Coorientadora:** M.<sup>a</sup> Allessya Lara  
Dantas Formiga

**JOÃO PESSOA**

**2026**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

S586p Silva, Vinícius Bispo da.

Produção de nanocápsulas poliméricas de óleo de copaíba : aspectos físico-químicos e atividade antimicrobiana / Vinícius Bispo da Silva. - João Pessoa, 2026.

79 f. : il.

Orientação : Francisco Humberto Xavier Júnior.

Coorientação : Allessya Lara Dantas Formiga.

TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Sistemas nanotecnológicos de entrega. 2. Produtos naturais. 3. Microrganismos patogênicos. I. Xavier Júnior, Francisco Humberto. II. Formiga, Allessya Lara Dantas. III. Título.

UFPB/CCS

CDU 620.3

**VINICIUS BISPO DA SILVA**

**PRODUÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO DE COPAÍBA:  
ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade Federal da  
Paraíba como requisito para obtenção de  
título de Bacharel em Biomedicina.

**Aprovado em: 03/03/2026**

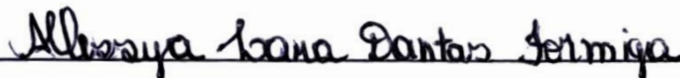
**BANCA EXAMINADORA**



---

**Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior**

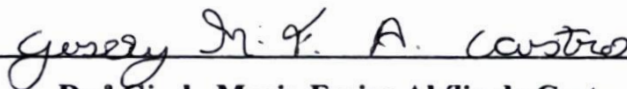
Orientador/ – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

**M.ª Allessya Lara Dantas Formiga**

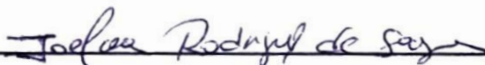
Coorientadora – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

**Dr.ª Gisely Maria Freire Abílio de Castro**

Membra interna – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



---

**Dr.ª Joelma Rodrigues de Souza**

Membra interna – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

**JOÃO PESSOA**

**2026**

A Luan Kaio Almeida Roque e a Ivanildo Pereira da Silva, cujas vidas se foram enquanto este texto ainda estava sendo escrito.

## AGRADECIMENTOS

A Alcione, Josinaldo e Maria José, por estarem comigo desde o início da minha vida, me nutrirem, me moldarem e serem responsáveis por tudo que tenho; e à minha família, que sempre quis meu bem.

A Arangio, N.; Mota, S.; Nascimento, E.; Nascimento, L.; Silva, G. e outros colegas, por estes 5 anos no curso, companhia e conversas antes, durante e depois de tantas aulas e tantas refeições no RU.

A todos os amigos que, por algum motivo que não consigo entender, ainda continuam comigo.

Ao professor Francisco Humberto, por ter visto aquele e-mail de agosto de 2024, me deixado entrar no mundo da nanotecnologia e do BioTecFarm, pela minha curta carreira de pesquisador e por ser orientador deste trabalho.

Aos professores Christina Pacheco, Cristine Hirsch, Temilce Simões e Vinicius Pietta, por terem me aceitado nos seus projetos de pesquisa e extensão, bem como a todos os outros professores que estiveram comigo nesta formação.

A minha doutoranda, e coorientadora, Allessya Lara, por me ensinar como se fazem nanocápsulas poliméricas, a mexer nos equipamentos do laboratório e a me conduzir nos experimentos e na escrita dos textos.

Ao pessoal do BioTecFarm, pela convivência nesses últimos dois anos e por tentarem me enturmar mais, mesmo eu sendo uma péssima pessoa para isso.

Ao LMCA, pelas cromatografias deste trabalho. Ao LNNano, pelas micrografias eletrônicas. Ao LAMA, pelo teste antimicrobiano e antibiofilme.

À humanidade, que, por todas as suas contradições, conhecimentos e cultura acumulados, de alguma forma, permitiu que eu estivesse aqui, escrevendo isto.

Às Políticas de Permanência Estudantil, por tornarem esta jornada menos difícil.

Às Políticas Públicas de Saúde, por salvarem meu pai e me manterem vivo.

Mas, não se esqueça:

levante a cabeça, aconteça o que  
aconteça.

Continue a navegar.

Continue a travecar.

Continue a atravessar.

*(Seria A/Pajubá – Linn da Quebrada)*

## RESUMO

Infecções cutâneas são uma condição comum na humanidade e que podem evoluir para quadros de resistência se não tratadas corretamente. Os metabólitos presentes nos óleos essenciais (OEC) e fixos (OFC) de copaíba são uma alternativa, uma vez que já demonstram inibir microrganismos. Porém, seu uso terapêutico, principalmente se associado a nanossistemas de entrega, potencializa sua ação, favorecendo a passagem pelos mecanismos de defesa dos microrganismos. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos físico-químicos e antimicrobianos de nanocápsulas poliméricas (NCPs) carreando óleos fixos e essenciais de copaíba. Para tal, os óleos foram caracterizados a partir de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas e sua ação antioxidante foi avaliada por métodos de redução de radicais de DPPH e ABTS. As NCPs foram desenvolvidas, variando os polímeros policaprolactona de 10 kDa (PCL-10) e 80 kDa (PCL-80) (25–200 mg), os óleos (OEC, OFC, 15–200 mg) e os tensoativos Span<sup>®</sup>60, Lipoid<sup>®</sup>s100, Tween<sup>®</sup>20, Tween<sup>®</sup>80 e Kolliphor<sup>®</sup>ELP (20–100 mg). As NCPs foram caracterizadas em tamanho médio, índice de polidispersão (PdI), potencial Zeta, espectro de infravermelho (FTIR), microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV), doseamento e eficiência de encapsulação (EE%). Foram analisadas complexação com colágeno e estabilidade em 4 e 25 °C por 90 dias das nanocápsulas finais de OEC (NcOEsC) e de OFC (NcOFiC). Além disso, foram avaliadas as atividades antimicrobianas e antibiofilme dos óleos, NcOEsC e NcOFiC contra *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150) e *Candida albicans* (ATCC 76645). OEC teve como composto majoritário β-cariofileno (44,30%), enquanto o OFC teve perfil cromatográfico indicativo de presença de diterpenos. OEC apresentou atividade antioxidante em DPPH, com CE<sub>50</sub> de 45,76 mg/mL; já OFC reduziu 9,44% independente da concentração utilizada. OEC não apresentou atividade no teste com ABTS. PCL-10 e PCL-80 tiveram uma saturação em 150 e 40 mg nos nanossistemas, respectivamente, com quantidades superiores influenciando negativamente o tamanho médio e PdI. A concentração limite estável de óleo foi de 100 mg, com concentrações superiores interferindo negativamente em tamanho médio e PdI e levando à externalização de óleo, como observado em microscopia óptica e transmitâncias de infravermelho. As NCPs estudadas tiveram um comportamento complexo na variação de tensoativos, o que levou a resultados diferentes a depender das concentrações e tipos de tensoativos utilizados. O tamanho, PdI e potencial Zeta de NcOEsC foram de 216,03±1,63 nm, 0,22±0,01 e -29,65±0,68 mV, já NcOFiC foram de 243,37±2,89 nm, 0,14±0,05 -24,26±0,44 mV. Essas nanocápsulas tiveram espectros de FTIR semelhantes ao PCL-80 e Kolliphor<sup>®</sup>ELP e formatos esféricos no MEV. NcOEsC apresentou um doseamento de 20,02±0,25 mg/ml e uma EE% de 99,99%, não sendo possível realizar estes testes com NcOFiC. Elas tiveram uma baixa interação com incubações de 1 a 40 mg de colágeno/ml e baixa interação com incubação de 5 mg de colágeno/ml em 24 horas. NCPs foram estáveis nas temperaturas de 4 e 25°C observadas, com exceção de NcOFiC que desestabilizou em 60 dias à 25°C. OEC apresentou uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 1024 µg/ml contra os microrganismos estudados, mas nenhuma atividade antibiofilme. OFC não apresentou nenhuma atividade biológica. NcOEsC não apresentou atividade contra *C. albicans*, mas teve uma CIM contra *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus* de 0,5, 128 e 128 µg/ml e um poder inibitório de biofilme em 64, 128 e 128 µg/ml, respectivamente. NcOFiC teve CIM contra *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* de 0,5, 16, 32 e 16 µg/ml e um poder inibitório de biofilme em 16, 16, 32 e 16 µg/ml, respectivamente. Em conclusão, NCPs auxiliaram no melhor desempenho dos óleos de copaíba contra patógenos cutâneos.

**Palavras-chave:** sistemas nanotecnológicos de entrega; produtos naturais; microrganismos patogênicos.

## ABSTRACT

Skin infections are a common condition in humanity and can evolve into resistance if not treated correctly. The metabolites present in copaiba essential (CEO) and fixed (CFO) oils are an alternative, since they have already been shown to inhibit microorganisms. However, their therapeutic use, especially if associated with delivery nanosystems, enhances their action, favoring passage through the defense mechanisms of microorganisms. Therefore, this study aimed to evaluate the physicochemical and antimicrobial aspects of polymeric nanocapsules (PNCs) carrying copaiba fixed and essential oils. To this end, the oils were characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry, and their antioxidant action was evaluated by DPPH and ABTS radical reduction methods. The PNCs were developed, varying the polymers polycaprolactone 10 kDa (PCL-10) and 80 kDa (PCL-80) (25–200 mg), the oils (CEO, CFO, 15–200 mg) and the surfactants Span<sup>®</sup>60, Lipoid<sup>®</sup>s100, Tween<sup>®</sup>20, Tween<sup>®</sup>80 and Kolliphor<sup>®</sup>ELP (20–100 mg). The PNCs were characterized by mean size, polydispersity index (PdI), Zeta potential, infrared spectroscopy (FTIR), optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM), drug loading and encapsulation efficiency (EE%). Complexation with collagen and stability at 4 and 25 °C for 90 days of the final CEO (NcOEsC) and CFO (NcOFiC) nanocapsules were analyzed. Furthermore, the antimicrobial and antibiofilm activities of the oils, NcOEsC and NcOFiC were evaluated against *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150) and *Candida albicans* (ATCC 76645). CEO had  $\beta$ -caryophyllene (44.30%) as its major compound, while CFO had a chromatographic profile indicative of the presence of diterpenes. CEO showed antioxidant activity in DPPH, with an EC<sub>50</sub> of 45.76 mg/mL; CFO reduced 9.44% regardless of the concentration used. CEO showed no activity in the ABTS test. PCL-10 and PCL-80 had saturation at 150 and 40 mg in the nanosystems, respectively, with higher amounts negatively influencing mean size and PdI. The stable oil limit concentration was 100 mg, with higher concentrations negatively interfering with mean size and PdI and leading to oil externalization, as observed by optical microscopy and infrared transmittances. The studied PNCs showed complex behavior in surfactant variation, which led to different results depending on the concentrations and types of surfactants used. The size, PdI and Zeta potential of NcOEsC were 216.03±1.63 nm, 0.22±0.01 and -29.65±0.68 mV, while NcOFiC were 243.37±2.89 nm, 0.14±0.05 and -24.26±0.44 mV. These nanocapsules had FTIR spectra similar to PCL-80 and Kolliphor<sup>®</sup>ELP and spherical shapes in SEM. NcOEsC showed a drug loading of 20.02±0.25 mg/ml and an EE% of 99.99%, and it was not possible to perform these tests with NcOFiC. They had low interaction with incubations from 1 to 40 mg collagen/ml and low interaction with incubation of 5 mg collagen/ml over 24 hours. PNCs were stable at the observed temperatures of 4 and 25°C, except for NcOFiC which destabilized within 60 days at 25°C. CEO showed a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 1024  $\mu$ g/ml against the studied microorganisms, but no antibiofilm activity. CFO showed no biological activity. NcOEsC showed no activity against *C. albicans*, but had an MIC against *P. aeruginosa*, *E. coli* and *S. aureus* of 0.5, 128 and 128  $\mu$ g/ml and a biofilm inhibitory activity at 64, 128 and 128  $\mu$ g/ml, respectively. NcOFiC had an MIC against *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* of 0.5, 16, 32 and 16  $\mu$ g/ml and a biofilm inhibitory activity at 16, 16, 32 and 16  $\mu$ g/ml, respectively. In conclusion, PNCs helped improve the performance of copaiba oils against skin pathogens.

**Keywords:** delivery nanosystems; natural products; pathogenic microorganisms.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Esquema de uma nanocápsula polimérica.....	<b>23</b>
<b>Figura 2</b> – Cromatograma do OEC .....	<b>39</b>
<b>Figura 3</b> - Cromatograma do OFC.....	<b>40</b>
<b>Figura 4</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas no estudo do polímero de formulações utilizando PCL-10 (a, b) e PCL-80 (c, d).....	<b>43</b>
<b>Figura 5</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas do estudo dos óleos vegetais de formulações utilizando PCL-10 (a, b) e PCL-80 (c, d).....	<b>45</b>
<b>Figura 6</b> - Microscopia óptica em um aumento de 400x de formulações de PCL-10 carreando diferentes concentrações de OEC, sendo 15 mg (a), 50 mg (b), 100 mg (c), 150 mg (d) e 200 mg (e).....	<b>47</b>
<b>Figura 7</b> - Gráfico de transmitância de Tween <sup>®</sup> 80, Span <sup>®</sup> 60, PCL-10 e PCL-80 .....	<b>48</b>
<b>Figura 8</b> - Gráfico de transmitância de OEC e OFC.....	<b>49</b>
<b>Figura 9</b> - Gráficos de transmitância dos nanossistemas de OEC com PCL-10 (a) e PCL-80 (b) e de OFC com PCL-10 (c) e PCL-80 (d) .....	<b>50</b>
<b>Figura 10</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-10 e Span <sup>®</sup> 60 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos .....	<b>52</b>
<b>Figura 11</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-10 e Lipoid <sup>®</sup> s100 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos .....	<b>53</b>
<b>Figura 12</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-80 e Span <sup>®</sup> 60 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos .....	<b>54</b>
<b>Figura 13</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-80 e Lipoid <sup>®</sup> s100 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos .....	<b>55</b>
<b>Figura 14</b> - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas, variando-se Kolliphor <sup>®</sup> ELP.....	<b>56</b>
<b>Figura 15</b> - Espectros dos componentes das nanocápsulas finais.....	<b>58</b>
<b>Figura 16</b> - Espectros das nanocápsulas finais.....	<b>58</b>

**Figura 17** - Micrografias eletrônica de varredura de NcOEsC (a, b) e de NcOFiC (c, d) .....**60**

**Figura 18** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas incubadas sob diferentes concentrações de colágeno a 30 minutos (a, b) e sob 5 mg/ml em diferentes períodos de tempo (c, d) .....**62**

**Figura 19** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas finais ao longo de 90 dias em 4°C (a, c) e 25°C (b, d) .....**64**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Componentes utilizados na confecção das NCP.....	<b>29</b>
<b>Tabela 2</b> - Componentes e volume do sistema no estudo de polímeros .....	<b>30</b>
<b>Tabela 3</b> - Componentes e volume do sistema no estudo dos óleos vegetais .....	<b>31</b>
<b>Tabela 4</b> - Componentes e volume do sistema no estudo dos tensoativos.....	<b>32</b>
<b>Tabela 5</b> - Componentes e volume do sistema das nanocápsulas finais .....	<b>32</b>
<b>Tabela 6</b> - Capacidade de sequestro de radicais de DPPH dos óleos essencial e fixo de copaíba sob diferentes concentrações.....	<b>41</b>
<b>Tabela 7</b> - Doseamento e EE% de NcOEsC .....	<b>59</b>
<b>Tabela 8</b> - CIM de OEC, OFC, NcOEsC e NcOFiC.....	<b>66</b>
<b>Tabela 9</b> - Poder de inibição de biofilme das nanocápsulas finais.....	<b>68</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
3.1 INFECÇÕES CUTÂNEAS .....	17
3.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E SEU POTENCIAL TERAPÊUTICO .....	18
3.3 ÓLEOS VEGETAIS E SEUS POTENCIAIS TERAPÊUTICOS.....	19
3.4 O GÊNERO <i>Copaifera</i> E OS SEUS ÓLEOS.....	19
3.5 NANOTECNOLOGIA COMO NOVA FRONTEIRA TERAPÊUTICA .....	21
3.6 NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS .....	22
3.7 ÓLEO DE COPAÍBA INTEGRADO A NANOTECNOLOGIAS .....	24
<b>4. MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
4.1 LOCAL DA PESQUISA.....	26
4.2 MATERIAIS .....	26
4.3 ANÁLISE DE COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS .....	26
4.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS .....	27
<b>4.4.1 Capacidade de Sequestro de Radicais DPPH .....</b>	<b>27</b>
<b>4.4.2 Capacidade de Descoloração de Radicais ABTS.....</b>	<b>28</b>
4.5 DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS .....	28
<b>4.5.1 Variação dos Polímeros .....</b>	<b>29</b>
<b>4.5.2 Variação dos Óleos Vegetais .....</b>	<b>30</b>
<b>4.5.3 Variação dos Tensoativos .....</b>	<b>31</b>
<b>4.5.4 Composição das Nanocápsulas Finais .....</b>	<b>32</b>
4.6 CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS.....	33
<b>4.6.1 Análise de Tamanho de Partícula.....</b>	<b>33</b>
<b>4.6.2 Análise do Potencial Zeta .....</b>	<b>33</b>
<b>4.6.3 Microscopia Óptica .....</b>	<b>33</b>
<b>4.6.4 Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>33</b>
<b>4.6.5 Doseamento e Eficiência de Encapsulação.....</b>	<b>34</b>
<b>4.6.6 Microscopia Eletrônica de Varredura .....</b>	<b>34</b>
4.7 ANÁLISE DE COMPLEXAÇÃO COM COLÁGENO .....	34
4.8 ESTABILIDADE DAS NANOCÁPSULAS .....	35

4.9 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA .....	35
<b>4.9.1 Atividade Antimicrobiana .....</b>	<b>35</b>
<b>4.9.2 Atividade Antibiofilme .....</b>	<b>36</b>
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
5.1 ANÁLISE DE COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS .....	39
<b>5.1.1 Óleo Essencial de Copaíba .....</b>	<b>39</b>
<b>5.1.2 Óleo Fixo de Copaíba.....</b>	<b>39</b>
5.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	41
5.3 DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS .....	42
<b>5.3.1 Variação de Polímero.....</b>	<b>42</b>
<b>5.3.2 Variação na Concentração de Óleos.....</b>	<b>44</b>
5.3.2.1 Análise Microscópica .....	46
5.3.2.2 Espectro de Infravermelho.....	47
<b>5.3.3 Variação de Tenssoativos.....</b>	<b>51</b>
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS FINAIS .....	57
<b>5.4.1 Espectro de Infravermelho.....</b>	<b>57</b>
<b>5.4.2 Doseamento e Eficiência de Encapsulação.....</b>	<b>59</b>
<b>5.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura .....</b>	<b>59</b>
5.5 COMPLEXAÇÃO COM PROTEÍNAS.....	60
5.6 ESTABILIDADE DOS NANOSSISTEMAS .....	63
5.7 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA .....	65
<b>5.7.1 Atividade Antimicrobiana .....</b>	<b>65</b>
<b>5.7.2 Atividade Antibiofilme .....</b>	<b>67</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>70</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Infecções cutâneas são problemas bastante comuns em humanos nos dias atuais, as quais ocorrem devido a um desequilíbrio entre as defesas corporais e os microrganismos, fazendo com que, ou um membro da microbiota natural da pele se desenvolva de forma desarmônica, ou um invasor a atinja. Essas infecções vão desde uma ferida simples até um abscesso, podendo ir à corrente sanguínea e gerar um quadro sistêmico. Com isso, um tratamento precoce e efetivo é importante para evitar gerar complicações maiores aos infectados, contudo, a terapêutica atual enfrenta dificuldades em controlar estes problemas com o surgimento de resistência microbiana (Watkins; David, 2021).

Devido a isso, o estudo das plantas e seus derivados ainda hoje se faz necessário para o aperfeiçoamento das formas de tratamento atuais. Isso ocorre porque plantas são os organismos vivos que possuem a maior diversidade de metabólitos secundários, os quais são moléculas com ampla ação terapêutica, com ação, por exemplo, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, entre outras (Li *et al.*, 2020). Dentre os metabólitos secundários existentes, os terpenos são um grupo bastante heterogêneo, tanto em relação ao seu comprimento, como em sua atividade farmacológica. Essas moléculas são encontradas principalmente em óleos vegetais, os quais são matrizes formadas por um conjunto destas e outras substâncias, tendo um significativo potencial terapêutico agregado (Ramsey *et al.*, 2020; Sousa *et al.*, 2023).

Dito isso, as copaibeiras, ou *Copaifera* spp., são plantas de grande porte que possuem um caule produtor de oleorresina, ou óleo fixo de copaíba, que é formado por diterpenos e sesquiterpenos, como ácido caurenóico. Esse óleo fixo pode passar por um processo de refinamento, dando origem ao óleo essencial, o qual é rico em sesquiterpenos, principalmente  $\beta$ -cariofileno. Os compostos majoritários desses óleos já foram correlacionados com variadas ações farmacológicas, como atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes e cicatrizantes (Ibiapina *et al.*, 2022; Cardinelli *et al.*, 2023).

No entanto, existem alguns obstáculos que limitam o uso desse derivado da planta, como uma extração pouco significativa do material de interesse, a existência de poucas vias de administração possíveis, limitando seu uso, e uma farmacocinética desfavorável, uma vez que possuem baixa solubilidade em fluidos biológicos (Christensen, 2021; Sattayakhom; Wichit; Koomhin, 2023; Tenchov *et al.*, 2025).

Todavia, a integração de produtos naturais em modalidades nanotecnológicas vem se mostrando uma alternativa viável para contornar essas limitações. Nanotecnologia é uma área

da ciência que estuda elementos que estão na escala de 1 a 1000 nm. A integração de óleos vegetais a nanotecnologias já foi associada ao aperfeiçoamento do desempenho destes produtos, devido ao aprimoramento de características farmacocinéticas e bioatividade (Ma *et al.*, 2024; Omidian; Cubeddu; Gill, 2025).

Um tipo de nanossistema de entrega existente são as nanocápsulas poliméricas (NCPs), as quais têm como conformação básica uma camada polimérica externa que encapsula um interior que pode conter uma variedade de substâncias, como óleos vegetais. Devido a essa disposição, a cápsula polimérica é capaz de levar a uma liberação controlada e a uma maior proteção contra degradação (Zielińska *et al.*, 2020). Contudo, a escolha e a concentração de componentes, como tensoativos e polímeros, podem alterar características importantes, como tamanho, estabilidade e adaptação do substrato no sistema, o que faz com que o estudo da composição de NCPs seja necessário para um melhor desempenho (Liu *et al.*, 2022).

Diante do que foi exposto, óleos de copaíba têm potencial de ser uma alternativa para o tratamento de infecções cutâneas por propriedades atreladas aos seus compostos. Contudo, características intrínsecas desses óleos impedem seu uso farmacológico, como uma baixa capacidade de extração, dificuldade de solubilização e de administração desses produtos. Entretanto, sistemas de entrega nanotecnológicos podem contornar esses problemas atrelados, tornando menos complexa sua utilização terapêutica. Devido a isso, este estudo teve como cerne principal o desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo óleo essencial e fixo de copaíba para aplicação antimicrobiana.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar aspectos físico-químicos e antimicrobianos de nanocápsulas poliméricas carreando óleos fixo e essencial de copaíba.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os compostos majoritários presentes nos óleos essencial e fixo de copaíba por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas;
- Aferir a propriedade antioxidante *in vitro* dos óleos essencial (OEC) e fixo (OFC) de copaíba;
- Desenvolver nanocápsulas poliméricas carreando OEC e OFC a partir do estudo de uma variação controlada de seus componentes;
- Caracterizar as nanocápsulas poliméricas por meio de parâmetros físico-químicos, como tamanho, índice de polidispersão, potencial Zeta, morfologia, espectroscopia de infravermelho, doseamento e eficiência de encapsulação;
- Observar a capacidade de nanocápsulas poliméricas finais de interagir com colágeno;
- Determinar a estabilidade de nanocápsulas poliméricas finais armazenadas a diferentes temperaturas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana e antibiofilme *in vitro* de nanocápsulas poliméricas finais contendo OEC e OFC.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 INFECÇÕES CUTÂNEAS

A pele é um órgão cuja principal função é proteger a parte interna do corpo contra diversos tipos de agentes. Dentre eles estão os microrganismos, em que a pele ampara o corpo como uma barreira física e produz defensinas (Dabrowska *et al.*, 2018). Apesar disso, o tecido cutâneo é normalmente colonizado em sua superfície externa por uma microbiota rica, composta principalmente por bactérias do gênero *Staphylococcus*, assim como também por outras bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos e vírus (Smythe; Wilkinson, 2023). Essa microbiota natural é importante para a saúde da pele, no entanto, o desequilíbrio neste ambiente faz com que microrganismos ataquem esse tecido, gerando uma infecção cutânea, seja por um comensal da microbiota, seja por um invasor patológico adquirido (Adib; Bensussan; Michel, 2022).

Essas infecções podem se manifestar na forma de simples feridas, como também na forma de abscessos, pústulas, celulites e outras condições mais complexas. As manifestações iniciais dessas condições são dor e inflamação local, com tratamentos iniciais podendo impedir a evolução para sintomas mais graves (Zhang; Lu, 2024). Quando um tratamento não é efetuado corretamente, ou é feito tardiamente, essas infecções locais podem virar sistêmicas, levando a quadros mais complexos e irreversíveis (Yu *et al.*, 2021).

Manifestações cutâneas podem ser mortais a depender das condições ou histórico da pessoa, dificultando a melhora do quadro. Entre esses fatores que diminuem a sobrevida estão, por exemplo, a idade, a presença de comorbidades e a presença de cicatrizes grandes cirúrgicas (Cedeno *et al.*, 2025). Esse quadro tende a piorar ainda mais com o uso indiscriminado de antimicrobianos, levando a quadros de resistência microbiana. As principais etiologias de infecções cutâneas são organismos com relatos de ganho de resistência a vários medicamentos, como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativa, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* spp. e *Escherichia coli* (Watkins; David, 2021). Além disso, a formação de biofilmes está sendo correlacionada com a predisposição de futuras infecções, bem como para a piora de infecções já formadas. Isso ocorre, pois, a concentração de medicamentos no interior destes biofilmes torna-se menor, dificultando o tratamento (Zhao; Sun; Liu, 2023).

A antibioticoterapia atual para as ditas infecções cutâneas complicadas é a administração invasiva de alta dose de um ou vários medicamentos (Golan, 2019). Esse tipo de solução é complexo por ser preditiva de quadros secundários, como problemas renais e hepáticos ou o surgimento de novas infecções por desequilíbrio na microbiota corporal (Li *et*

*al.*, 2025). Com isso, a busca de novas terapias para se contornar as infecções graves ou para se evitar o ganho de novas resistências é um dos principais objetivos da medicina atual (Wang *et al.*, 2020).

### 3.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E SEU POTENCIAL TERAPÊUTICO

Metabólitos secundários são moléculas biológicas produzidas por organismos como forma de garantir uma maior sobrevivência a partir de uma melhor interação com estímulos internos e ambientais (Forrister *et al.*, 2022). Essas moléculas são derivadas de metabólitos primários, como carboidratos e lipídios, mas sofrem diferentes mecanismos de geração que permitem a existência de um amplo leque de substâncias (Pramanik *et al.*, 2024).. Os seres que possuem a maior diversidade dessas moléculas são as plantas, as quais contam com pelo menos cerca de 100 mil metabólitos secundários (Li *et al.*, 2020).

Mesmo que sejam gerados para o benefício próprio, parte desses metabólitos possuem potencial medicinal, o qual é aproveitado pela humanidade desde os seus primórdios. A inicial manipulação rudimentar de plantas pelas pessoas permitiu o uso dessas substâncias com diferentes fins e esta prática ainda continua sendo realizada por grande parte da população mundial (Sen; Samanta, 2014). Com o advento de técnicas avançadas de manipulação química, foi possível realizar o isolamento e a modificação dessas biomoléculas, consolidando as plantas como uma matéria-prima importante para a indústria farmacêutica (Reshi *et al.*, 2023).

Com isso, produtos isolados de espécies vegetais são usados pelo seu potencial antiparasitário, antimicrobiano, antioxidante, anti-inflamatório e antitumoral para a fabricação de medicamentos (Elshafie; Camele; Mohamed *et al.*, 2023). No entanto, existem alguns obstáculos que bloqueiam o potencial de produtos naturais, como, por exemplo, a baixa quantidade dos metabólitos de interesse nos organismos, a dificuldade de isolamento destas substâncias e a dificuldade de produção em larga escala (Christensen, 2021).

Milhares de moléculas já foram associadas ao metabolismo secundário de plantas, contudo, a geração destas moléculas tende a partir de caminhos iniciais similares com posterior diversificação das vias metabólicas. Esse começo parecido permite com que essas várias moléculas possam ser classificadas em uma quantidade pequena de grupos abrangentes, sendo estes componentes contendo nitrogênio, componentes fenólicos e terpenoides (Li *et al.*, 2020).

A classe dos terpenoides tem como ponto em comum o isopreno como molécula precursora, podendo ser pequenos e voláteis, como os monoterpenos, até os maiores politerpenos (Bergman; Davis; Phillips, 2019). Essas moléculas são comumente usadas pelas plantas para dispersar predadores e atrair polinizadores. Entretanto, elas também já se

mostraram capazes de agir tanto contra microrganismos, impedindo o crescimento e a formação de biofilmes, como de agir contra organismos multicelulares, induzindo apoptose, inibição de mitose e ação no sistema nervoso central. Terpenos estão em maior concentração em óleos vegetais, o que faz com que estes sejam uma importante matriz terapêutica (Guo *et al.*, 2024).

### 3.3 ÓLEOS VEGETAIS E SEUS POTENCIAIS TERAPÊUTICOS

Óleos vegetais são produtos extraídos de diferentes tecidos de planta por variadas técnicas e que podem ser formados por um conjunto de metabólitos secundários, sendo chamados de óleos essenciais, ou por um conjunto de ésteres de ácidos graxos com glicerol, sendo chamados de óleos fixos (Sousa *et al.*, 2023).

Os óleos essenciais são conhecidos agentes terapêuticos devido a sua composição principal de terpenoides e, em menor escala, de outros componentes, como flavanoides, alcaloides, ácidos fenólicos, carotenoides e aldeídos (Nabi *et al.*, 2025). Seus componentes são em grande parte de baixo peso molecular, como monoterpenos e sesquiterpenos, e de fácil volatilização, o que faz com que cada óleo essencial tenha um forte cheiro característico (Ju *et al.*, 2019). Um óleo essencial corresponde geralmente a 5% da matéria seca vegetal e, apesar deste extrato poder conter mais de 300 tipos de substâncias, somente 2 a 3 metabólitos estão em quantidade significativa, sendo estes o que conferem as suas principais propriedades (Sousa *et al.*, 2023).

Com relação a sua aplicação, esses óleos já foram associados a interferir em estruturas virais, processos metabólitos, formação de parede e membranas celulares, organização citoplasmática, tecidos e órgãos, fazendo com que tenham um potencial antimicrobiano e inseticida amplo. Dentre os óleos que estão correlacionados com esses efeitos estão os óleos de menta, orégano, eucalipto e copaíba (Ishak *et al.*, 2021; Corrêa; Ferreira, 2023; Frazão *et al.*, 2023).

Contudo, mesmo que diferentes propriedades estejam sendo postuladas aos óleos essenciais, mais estudos devem ser realizados para investigar, além de potenciais benefícios, os efeitos adversos do uso destas substâncias (Ramsey *et al.*, 2020).

### 3.4 O GÊNERO *Copaifera* E OS SEUS ÓLEOS

Copaíba é um dos nomes populares dado a plantas do gênero *Copaifera*, sendo caracterizadas como árvores de grande porte que podem chegar a 40 metros de altura e conseguem viver por décadas. Além disso, copaibeiras possuem folhas alteradas, pecioladas e ovoides; flores não tão chamativas, sendo pequenas, hermafroditas e sem pétalas; e vagens

como frutos, o que é típico da sua família Leguminosae. Já o seu caule é de cor escura, podendo ir até 4 metros de diâmetro, e é a parte das copaíbas com maior interesse humano, visto que, além do uso da sua madeira, dele pode ser extraída a oleorresina de copaíba (Lameira; Oliveira, 2023).

Essa oleorresina pode variar do amarelo ao marrom cujo uso farmacológico foi praticado primeiramente por povos nativos da sua área de distribuição natural. Devido à diversidade de aplicação desse produto em regiões sul-americanas, como feridas, analgesia e efeitos anti-inflamatórios, as copaíbas foram umas das primeiras plantas a serem descritas por colonizadores das Américas (Oliveira *et al.*, 2019). Desde então, vários tipos foram descobertas e atualmente estão catalogadas 45 espécies e subespécies, as quais estão espalhadas ao longo do oeste africano e da América Latina. O Brasil é o país com a maior variedade dessas plantas, com 32 espécies de copaíba já encontradas em seu território, sendo a maioria pertencente à floresta amazônica (Arruda *et al.*, 2019).

As copaibeiras, devido à oleorresina extraída do seu tronco, são uma das várias plantas da biodiversidade brasileira que possuem um potencial biotecnológico na área cosmética, alimentícia e farmacêutica (Ibiapina *et al.*, 2022). Sua oleorresina também pode ser nomeada como óleo fixo de copaíba (OFC), o que faz com que este não seja um óleo fixo típico, já que ele não é composto principalmente por ácidos graxos. Na realidade, OFC é formado por componentes não voláteis e voláteis, podendo estes serem separados por meio de destilação a vapor, dando origem ao óleo essencial de copaíba (OEC) (Bonfim; Casabianca; Oliveira, 2025).

Em relação aos metabólitos secundários, OEC é formado por sesquiterpenos voláteis, como  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno. Já o óleo fixo, além de sesquiterpenos, possui diterpenos não voláteis, como os ácidos caurenóico, hardwiquiico e copálico. Apesar dos diterpenos produzidos por copaibeiras já terem sido associados com alguns efeitos vantajosos, óleos fixos com uma maior quantidade de componentes voláteis são mais quistos comercialmente para indústria farmacêutica e cosmética pela maior extração de óleo essencial (Cardinelli *et al.*, 2023).

Diversos estudos já correlacionaram os óleos de copaíba com atividades antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, cicatrizante, antilarval, antiparasitária, citotóxica e gastroprotetora (Frazão *et al.*, 2023). Além disso, baixos níveis de toxicidade foram encontrados em estudos *in vivo*, *in vitro* e *in silico* associados esses derivados, apesar de ainda haver necessidade de mais estudos relacionados a isto (Cardinelli *et al.*, 2023).

Apesar dos efeitos correlacionados com os óleos, alguns aspectos dessas matrizes impedem que o seu uso seja mais promissor. Copaiibeiras possuem um limite de extração viável para que continuem vivas, o que faz com que a extração da oleorresina seja limitada, o que leva a dificuldade de uma produção em larga escala. Além disso, copaiibeiras têm uma média primária de extração de cerca de 1 litro de óleo, com extrações subsequentes diminuindo significativamente a produtividade. Já a fabricação de seu óleo essencial pode ter pequena produtividade a depender da quantidade de sesquiterpenos presentes na resina (Medeiros; Vieira, 2008; Christensen, 2021; Lameira; Oliveira, 2023). Óleos vegetais, principalmente os essenciais, possuem poucas vias de administração possíveis, limitando seu uso (Sattayakhom; Wichit; Koomhin, 2023). Além disso, os terpenos possuem uma farmacocinética desfavorável, o que pode levar ao uso de uma concentração maior de óleo para se atingir o resultado esperado (Tenchov *et al.*, 2025).

### 3.5 NANOTECNOLOGIA COMO NOVA FRONTEIRA TERAPÊUTICA

A nanotecnologia pode ser entendida como a aplicação dos conhecimentos da nanociência para a criação e manipulação de materiais em nanoescala, ou seja, de 1 a 1000 nm. Essa área é considerada uma das mais promissoras tecnologias deste século por alguns fenômenos só poderem ser possíveis em nanomateriais (Wang *et al.*, 2023). Os estudos iniciais da nanotecnologia datam da segunda metade do século XX e estes se voltaram principalmente à formação de polímeros sintéticos e outros materiais que permitiram, por exemplo, a construção de computadores que, apesar de cada vez menores, vão se tornando mais potentes. Com o avanço das descobertas, o uso da nanotecnologia para a biomedicina se tornou uma das principais frentes deste campo (Bayda *et al.*, 2020).

Como uma parte considerável das substâncias pode ter sua atividade farmacológica limitada por questões intrínsecas, como baixa solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade, a construção de sistemas de entrega é uma das preocupações da nanomedicina atual (Tenchov *et al.*, 2025). Isso ocorre porque nanossistemas são capazes de promover melhora de aspectos farmacocinéticos, maior eficácia e redução de efeitos colaterais das substâncias (Prakash, 2023). Contudo, para que um nanopartículas se adequem ao objetivo desejado, deve-se levar em conta características como forma, tamanho, parâmetros biofísicos e químicos e, principalmente, sua superfície, a qual determinará os tipos de interação com o sistema (Ma *et al.*, 2024).

Nanossistemas vêm sendo utilizados não só para o carreamento de substratos simples como fármacos, mas também para elementos mais complexos como óleos vegetais. O uso de

nanocarreadores de óleos essenciais permite um aumento da estabilidade, prolongação de seu tempo de ação, aumento de sua bioatividade e ampliação de aplicação (Omidian; Cubeddu; Gill, 2025). Devido a isso, elas estão sendo convertidas em tecnologias para o mercado, com o aparecimento de produtos patenteados desde a década de 1990 que se utilizam de nanopartículas com óleos essenciais. Esses produtos não tiveram como alvo somente a indústria farmacêutica, mas também a alimentícia, agrícola e química (Oliveira *et al.*, 2022).

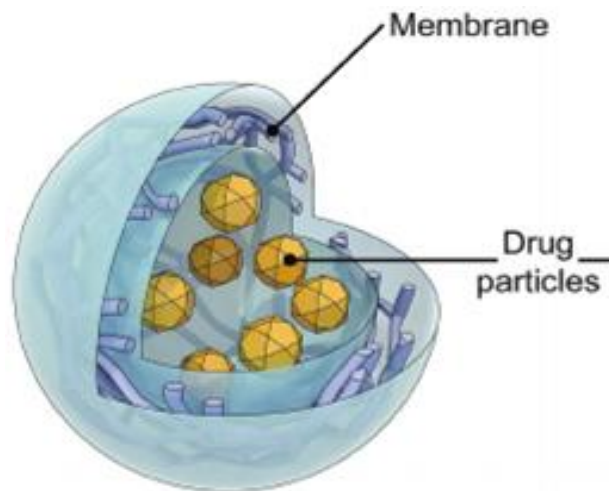
Quando fármacos isolados ou óleos vegetais são integrados nesses materiais, eles podem ser nomeados de nanossistemas de entrega, visto que essa junção permite que elementos sejam entregues de forma aprimorada para locais ou organismos desejados. Dentre os principais nanossistemas de entrega orgânicos estão os baseados em lipídios e poliméricos (Mitchell *et al.*, 2021).

As nanopartículas poliméricas podem se apresentar de duas formas: nanoesferas e nanocápsulas. Nas nanoesferas, o princípio ativo está exposto em uma superfície polimérica. Nanocápsulas têm um núcleo com o princípio ativo envolto por um exterior polimérico. A escolha de um determinado tipo de nanossistema deve ser realizada a partir das necessidades para se atingir o objeto requerido (Zielińska *et al.*, 2020).

### 3.6 NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS

A conformação núcleo-exterior de nanocápsulas poliméricas (NCPs), as quais podem ser observadas na Figura 1, permite uma maior versatilidade de produção, permitindo a encapsulação de moléculas com diferentes aspectos físico-químicos (Zielińska *et al.*, 2020). Esses nanossistemas são, na maior parte das vezes, formados a partir da integração de uma fase orgânica, que contém os seus componentes dissolvidos em um solvente orgânico, com uma fase aquosa. Essa integração propicia a precipitação do polímero, levando à formação de nanocápsulas, geralmente se usando de tensoativos para auxiliar na geração de nanopartículas menores e mais estáveis (Lima *et al.*, 2022).

**Figura 1** – Esquema de uma nanocápsula polimérica



**Fonte:** Naseef *et al.* (2021)

As NCPs possuem vantagens por levarem a uma liberação controlada, proteção do seu conteúdo interno contra o ambiente e aumento de biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Além dessas características, elas são recomendadas para óleos vegetais devido a boa capacidade de encapsulação de matrizes complexas (Mehandole *et al.*, 2023).

A técnica mais popular para a fabricação desses sistemas de entrega é a nanoprecipitação, visto que é uma metodologia rápida, custo-efetiva, aplicável a vários princípios ativos e que requer pouca quantidade de solvente (Lima *et al.*, 2022). Essa técnica consiste basicamente na adição da fase orgânica na fase aquosa, a qual pode ser realizada por seringas ou agulhas finas. Independentemente da forma de inserção, a interação entre as fases promove a deposição polimérica envolta dos componentes nucleares (Purohit *et al.*, 2023).

A composição e a quantidade de componentes utilizados na fabricação de NCPs são importantes fatores que afetam os parâmetros físico-químicos destas nanopartículas. Isso pode ser visto, por exemplo, na utilização de tensoativos, que garantem a produção de nanopartículas menores e mais estáveis (Ng; Rogers, 2019). Além disso, o tipo de polímero utilizado pode influenciar o perfil de liberação de moléculas, garantir estrutura interna e externa dos colóides e manter o equilíbrio de energias do sistema (Lima *et al.*, 2022). Por fim, as substâncias encapsuladas também afetam a qualidade das nanocápsulas, visto que elas podem não se adaptar ao sistema escolhido, aos outros materiais presentes no nanossistema ou a metodologia escolhida (Liu *et al.*, 2021).

### 3.7 ÓLEO DE COPAÍBA INTEGRADO A NANOTECNOLOGIAS

Diversos trabalhos já produziram diferentes modalidades de nanossistemas carreando óleos de copaíba que atingiram variados objetivos, como melhorar parâmetros farmacológicos de substâncias associadas e atividades antimicrobianas e antitumorais. Isso mostra que esse tipo de óleo é compatível e promissor em relação à nanotecnologia.

Já foram formulados, por exemplo, nanossistemas carreando esse óleo com materiais inorgânicos, como nanofibras de ácido polilático e polivinilpirrolidona, que tiveram ação *in vitro* antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Bonan *et al.*, 2015), e nanocarreadores de silicatos lamelares, que apresentaram *in vitro* ação citotóxica em células endometriais, mostrando um possível uso na endometriose (Borges *et al.*, 2016).

Contudo, a maioria dos estudos construiu nanopartículas de entrega de óleo de copaíba com materiais orgânicos. Dessas nanopartículas carreando óleo de copaíba, foram produzidos lipossomas contendo polietilenoglicol, que assumiram ação antitumoral contra células de glioma murino (Blanco *et al.*, 2023). Em relação a nanoemulsões óleo em água com óleo de copaíba, este sistema associado à coenzima 10 teve parâmetros *in vitro* superiores aos da molécula isolada (Nigro *et al.*, 2020). Já outro tipo de nanoemulsão óleo em água teve uma ação citotóxica contra células VERO consideravelmente inferior ao óleo livre, mas ainda conseguindo inibir a replicação de Zika vírus nestas células (Carvalho *et al.*, 2023).

Dois estudos produziram nanopartículas lipídicas sólidas com óleo de copaíba e cera de abelha associados a 4-nitrochalcona (Assolini *et al.*, 2020) e dietilditiocarbamato (Mazur *et al.*, 2019) para avaliação de atividade *in vitro* contra *Leishmania* sp. Em ambos foi observada a diminuição da citotoxicidade contra células peritoneais sem retirar o efeito contra o parasita dos fármacos. Além disso, foram observadas em nanopartículas lipídicas sólidas transportando óleo de copaíba ação larvicida contra *A. aegypti* (Rodrigues *et al.*, 2014) e ação antifúngica contra *Candida parapsilosis* principalmente quando associado a alantoína (Svetlichny *et al.*, 2017).

Por fim, um estudo demonstrou que o óleo de copaíba pode se adaptar bem a NCPs, tendo uma boa taxa de encapsulação (Xavier-Júnior *et al.*, 2018). Esse tipo de nanocarreador de óleo de copaíba também demonstrou, *in vitro*, hemocompatibilidade, baixa citotoxicidade e nenhuma genotoxicidade (Rodrigues *et al.*, 2023). Outro estudo associou esse nanossistema com imiquimode e observou ausência de toxicidade em linhagem celular de pele, além de retenção *in vitro* do fármaco em pele de porco (Venturini *et al.*, 2015). NCPs com óleo de copaíba também tiveram ação larvicida contra *Aedes aegypti* (Burin *et al.*, 2022). Nanocápsulas

carreando óleo de copaíba também demonstraram ação antibacteriana contra agentes comumente associados com infecções cutâneas (Pinto *et al.*, 2023a). Além disso, essas nanopartículas também foram associadas a ações anti-inflamatórias *in vitro* e *in vivo* (Pinto *et al.*, 2023b).

Como observado, os óleos de copaíba se adaptam a diferentes tipos de nanotecnologias e esta integração permite que estes produtos sejam utilizados em diferentes frentes. Dito isso, NCPs com óleo de copaíba foram apontados como agentes antimicrobianos pelo estudo de Pinto *et al.* (2023a). Contudo, esse estudo focou em duas bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, observando a capacidade bactericida. Com isso, ainda se fazem necessários estudos que investiguem a atividade dessa nanotecnologia em outras espécies, outros aspectos peculiares de microrganismos, como a formação de biofilmes, e comparem a ação do OEC com OFC.

## 4. MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DA PESQUISA

As nanocápsulas foram confeccionadas e caracterizadas em grande parte no Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BioTecFarm), presente no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM/UFPB). As micrografias das nanopartículas foram realizadas pelo Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) vinculado ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). As cromatografias dos óleos de copaíba foram realizadas pelo Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) presente no IPeFarM/UFPB. As análises de atividade antimicrobiana e antibiofilme foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA) também vinculado ao IPeFarM/UFPB.

### 4.2 MATERIAIS

Para os estudos descritos neste trabalho, foram utilizados: 2,2'-Azino-bis(ácido 3 etilbenzotiazolona-6- sulfônico) (ABTS), ácido ascórbico, 2,2- difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e Trolox<sup>®</sup>, todos estes obtidos da Sigma-Aldrich, Estados Unidos; acetona (ACS Científica, São Paulo); acetonitrila (LiChrosolv, MERCK, Alemanha); Colágeno (Farmafórmula, João Pessoa); Kolliphor<sup>®</sup>ELP (BASF, Alemanha); Lipoid<sup>®</sup>s100 (Lipoid GmbH, Alemanha); Triglicerídeos de Cadeia Média (Miglyol<sup>®</sup>810N IOI OLEOCHEMICAL, Alemanha); policaprolactonas de 10 e 80 kDa, Span<sup>®</sup>60, Tween<sup>®</sup>20 e Tween<sup>®</sup>80 foram obtidos de Sigma-Aldrich, São Paulo.

Em relação aos óleos de copaíba, o óleo essencial foi obtido de Ferquima (São Paulo); enquanto o óleo fixo de AmazonOil (Pará).

### 4.3 ANÁLISE DE COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS

OEC e OFC foram caracterizados a partir de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS), com uma metodologia adaptada de Suppajariyawat *et al.* (2019), a fim de verificar o conjunto de compostos presentes nestes óleos. Com isso, foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas da marca Shimadzu<sup>®</sup>, modelo GCMS-QP2010 Ultra, com uma coluna RTX-5MS (5% difenil/95% dimetil polissiloxano), a qual possui 30 m por 0,25 mm por 0,25 µm.

Cerca de 1 µl de óleo foi analisado em CG-MS, cuja injeção foi realizada com razão de *split* de 50. A temperatura de entrada no cromatógrafo foi de 180°C, com o injetor tendo

260°C. Em relação ao forno, este esteve a 40°C por 2 minutos e sua temperatura foi aumentada por 10°C/min até 100°C. Após isso, no caso do OEC, a temperatura foi aumentada em 20°C/min até 280°C, sendo esta temperatura mantida por 10 minutos; enquanto com OFC, o aumento foi de 20°C/min até 250°C, com esta temperatura perdurando até 12 minutos. Para as análises, o gás hélio foi utilizado como meio de arraste com uma taxa de 1 ml/min, no caso de OEC, e de 2,11 ml/min em OFC. Para a provocação de ionização, foi utilizado um impacto eletrônico de 70 V, sendo realizada uma varredura completa em uma faixa de massa de 35–400 m/z em OEC e de 35–800 m/z em OFC.

Os resultados das análises dos óleos foram computados pelo *software* GCMSolution® e OpenChrom®. A partir dos compostos majoritários identificados por CG-MS, foi realizada busca em literatura, a fim de verificar relato de correlações com atividades biológicas.

#### 4.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS

##### 4.4.1 Capacidade de Sequestro de Radicais DPPH

Para este teste foram testados os óleos essencial e fixo de copaíba isolados. Foram utilizadas microplacas de 96 poços. Em cada poço foram aplicados 100 µl de solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) a 0,3 mM em metanol. Foram adicionados 100 µl de solução de OEC em metanol com concentrações de 20, 30, 40, 50 e 60 mg/ml de forma crescente a cada coluna. No caso do OFC, as concentrações foram de 5, 10, 15, 20 e 25 mg/ml, devido à dificuldade de solubilização em concentrações superiores. No controle positivo do sistema foi introduzido ácido ascórbico, em vez dos óleos, e o controle negativo continha somente o DPPH.

Após a inserção dos componentes nos poços, a placa foi mantida em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente e protegida da luz. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância em leitor de microplacas, em um comprimento de onda de 517 nm. A partir de valores obtidos, foi calculada a porcentagem da atividade sequestradora (%AS) de DPPH, como exposto na Equação (Eq.) 1 (sendo ABS - absorbância). Esses resultados foram utilizados para construção de curvas de calibração de cada amostra, o que permitiu a determinação da concentração 50% efetiva (CE<sub>50</sub>) para a redução de DPPH.

$$\text{(Eq. 1) \%AS de DPPH} = \frac{ABS_{\text{controle negativo}} - ABS_{\text{amostra}}}{ABS_{\text{controle negativo}}} \times 100$$

#### 4.4.2 Capacidade de Descoloração de Radicais ABTS

Para este teste foi testado unicamente o OEC. 5,05 µl de persulfato de amônio (APS) a 245 mM foram adicionados a 500 µl de ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) a 7 mM. Essa solução foi posta em ambiente escuro, à temperatura ambiente, por 16 horas, para que fosse gerado o radical ABTS<sup>+</sup>. Após isso, 10 µl da solução foram diluídos em 1 ml de água ultrapura para garantir que o radical absorvesse de 0,700 a 734 nm quando fosse realizada a leitura de microplacas.

O componente Trolox<sup>®</sup> foi utilizado como padrão de referência antioxidante, ou seja, como controle positivo, sendo este solubilizado em metanol nas concentrações de 12,5, 25, 50, 100 e 200 µg/ml. O OEC foi solubilizado em metanol nas concentrações de 20, 30, 40, 50 e 60 mg/ml. Para o ensaio foi utilizada placa de 96 poços. 10 µl das soluções da amostra ou do padrão foram depositados nos poços, em ordem crescente de concentração em relação às linhas, seguidos da adição de 190 µl da solução de ABTS<sup>+</sup>. No branco do sistema foram introduzidos 10 µl de metanol e 190 µl de água ultrapura; no controle negativo, 10 µl da solução de ABTS<sup>+</sup> e 190 µl de metanol.

Logo após a inserção de ABTS<sup>+</sup>, as placas foram postas em leitor configurado ao comprimento de onda de 734 nm. Pela absorbância resultante, foi calculada a porcentagem de descoloração do radical, conforme exposto em Eq. 2. Os valores obtidos pela concentração foram utilizados para construção de curvas de calibração, sendo determinada a CE<sub>50</sub> para redução de ABTS<sup>+</sup>.

$$\text{(Eq. 2) \%Descoloração de ABTS}^+ = \frac{ABS_{\text{controle negativo}} - ABS_{\text{amostra}}}{ABS_{\text{controle negativo}}} \times 100$$

#### 4.5 DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS

As NCP foram fabricadas a partir da adaptação do método de polimerização interfacial de Xavier-Júnior *et al.* (2018). Dessa forma, para a produção desses nanossistemas, foram realizadas uma fase orgânica e uma fase aquosa. As fases orgânicas foram formadas por um polímero, um tensoativo lipofílico e uma matriz oleosa dispersos em acetona; enquanto que as fases aquosas foram formadas por um tensoativo hidrofílico disperso em água ultrapura. Os tipos de componentes que foram utilizados estão listados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Componentes utilizados na confecção das NCP

<b>Polímeros</b>	Policaprolactona de 10 kDa Policaprolactona de 80 kDa
<b>Tensoativos lipofílicos</b>	Span <sup>®</sup> 60 Lipoid <sup>®</sup> s100
<b>Matrizes oleosas</b>	OEC OFC Triglicerídeos de Cadeia Média
<b>Tensoativos hidrofílicos</b>	Tween <sup>®</sup> 80 Tween <sup>®</sup> 20 Kolliphor <sup>®</sup> ELP

**Fonte:** autoria própria (2026)

Uma vez prontas, as fases orgânicas foram levadas ao agitador magnético sob 700 rpm em um banho-maria de 45 °C até se tornarem uma mistura homogênea. As fases aquosas também foram levadas ao agitador magnético sob 700 rpm, mas à temperatura ambiente. Para a formação dos nanossistemas, as fases orgânicas homogeneizadas foram vertidas por gota a gota por seringa adaptada nas fases aquosas sob agitação magnética. Após isso, a acetona foi retirada das formulações por meio de rotaevaporação (modelo R-250 acoplado à bomba de vácuo V-855 e resfriador Chiller F-105 Buchi<sup>®</sup>), realizando a concentração dos nanossistemas em 5 ml.

#### 4.5.1 Variação dos Polímeros

Para a variação das concentrações dos polímeros, foram utilizadas as policaprolactonas (PCLs) de 10 kDa e 80 kDa. Os outros componentes das NCPs foram fixados, sendo utilizados Span<sup>®</sup>60 como tensoativo lipofílico, triglicerídeos de cadeia média (MCT) como matriz oleosa e Tween<sup>®</sup>80 como tensoativo hidrofílico. As concentrações dos componentes e volume final após rotaevaporação estão dispostos na Tabela 2.

**Tabela 2** - Componentes e volume do sistema no estudo de polímeros

<b>Fase orgânica</b>	
	25 mg
	30 mg
PCL-10	PCL-80 35 mg
	40 mg
	45 mg
	50 mg
<hr/>	
Span <sup>®</sup> 60	20 mg
<hr/>	
Triglicerídeos de Cadeia Média	100 mg
<hr/>	
Acetona	6 ml
<hr/>	
<b>Fase aquosa</b>	
<hr/>	
Tween <sup>®</sup> 80	40 mg
<hr/>	
Água MilliQ <sup>®</sup>	12 ml
<hr/>	
<b>Volume pós-secagem</b>	5 ml

**Fonte:** autoria própria (2026)

#### 4.5.2 Variação dos Óleos Vegetais

Os óleos essencial e fixo de copaíba tiveram as concentrações variadas em uma faixa de 15 a 200 mg. Nesse estudo, foram realizadas formulações tanto com o PCL-10 quanto com o PCL-80. Os outros componentes utilizados foram Span<sup>®</sup>60 como tensoativo lipofílico e Tween<sup>®</sup>80 como tensoativo hidrofílico. A quantidade dos componentes e o volume do sistema pós-rotavevoração estão presentes na Tabela 3.

**Tabela 3** - Componentes e volume do sistema no estudo dos óleos vegetais

<b>Fase orgânica</b>	
PCL-10 150 mg	PCL-80 40 mg
Span <sup>®</sup> 60	20 mg
Óleos Vegetais	15 mg
Essencial de Copaíba	50 mg
Fixo de Copaíba	100 mg
	150 mg
	200 mg
Acetona	6 ml
<b>Fase aquosa</b>	
Tween <sup>®</sup> 80	40 mg
Água MilliQ <sup>®</sup>	12 ml
<b>Volume pós-secagem</b>	5 ml

Fonte: autoria própria (2026)

#### 4.5.3 Variação dos Tensoativos

Foram variadas as concentrações de tensoativos a partir de um ponto mínimo em que é observada sua ação, um ponto máximo para evitar toxicidade e um ponto mediano entre estes dois limiares (Ng; Rogers, 2019). Dessa forma, foram estudadas as modificações geradas pela concentração dos tensoativos lipofílicos Span<sup>®</sup>60 e Lipoid<sup>®</sup>s100 e dos tensoativos hidrofílicos Tween<sup>®</sup>80, Tween<sup>®</sup>20 e Kolliphor<sup>®</sup>ELP. Nesse caso, foram realizadas formulações de PCL-10 e PCL-80 com somente OEC, visto que, devido a baixo estoque do outro óleo, não foi possível a realização com o fixo de copaíba. Os valores dos componentes e volume dos sistemas após rotaevaporação estão dispostos na Tabela 4.

**Tabela 4** - Componentes e volume do sistema no estudo dos tensoativos

<b>Fase orgânica</b>	
PCL-10	150 mg
PCL-80	40 mg
Tensoativos lipofílicos	20 mg 60 mg 100 mg
OEC	100 mg
Acetona	6 ml
<b>Fase aquosa</b>	
Tensoativos hidrofílicos	20 mg 40 mg 60 mg 100 mg
Água MilliQ®	12 ml
<b>Volume pós-secagem</b>	5 ml

**Fonte:** autoria própria (2026)

#### 4.5.4 Composição das Nanocápsulas Finais

As nanocápsulas finais consistiram na junção dos melhores achados nos estudos de variação dos componentes, com isso, os tipos e concentrações dos componentes podem ser visualizados na Tabela 5. O referenciamento à nanocápsula final de OEC ao longo do texto será de NcOEsC, já à nanocápsula final de OFC será de NcOFiC.

**Tabela 5** - Componentes e volume do sistema das nanocápsulas finais

<b>Fase orgânica</b>	
PCL-80	40 mg
Lipoid®s100	20 mg
OEC	100 mg
OFC	
Acetona	6 ml
<b>Fase aquosa</b>	
Tensoativos hidrofílicos	60 mg
Água Ultrapura	12 ml
<b>Volume pós-secagem</b>	5 ml

**Fonte:** autoria própria (2026)

## 4.6 CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS

### 4.6.1 Análise de Tamanho de Partícula

O tamanho das nanopartículas foi determinado por meio da dispersão dinâmica de luz, a partir do aparelho Zetasizer Lab (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido), à 25°C e com ângulo disperso fixado a 90°. Os sistemas produzidos foram diluídos em razão de 1:100 em água ultrapura para serem analisados. O aparelho deu os resultados em relação ao diâmetro médio das nanopartículas, em tamanho médio, e à variação deste diâmetro, em índice de polidispersão (PdI).

### 4.6.2 Análise do Potencial Zeta

O potencial Zeta dos sistemas foi determinado pela técnica de mobilidade eletroforética, por meio do aparelho Zetasizer<sup>®</sup> Lab (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). Os sistemas foram diluídos na proporção de 1:100 em água ultrapura e analisados à 25°C.

### 4.6.3 Microscopia Óptica

10 µl das formulações foram inseridos em uma lâmina de vidro com posterior introdução de uma lamínula. As lâminas foram analisadas em um aumento de 400x e 1.000x em microscópio óptico.

### 4.6.4 Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR)

A análise do espectro de infravermelho foi realizada pelo espectrômetro Agilent<sup>®</sup> Cary 630 transformada de Fourier nos comprimentos de onda de 400-4000 cm<sup>-1</sup>, dando um resultado qualitativo da encapsulação dos óleos utilizados. Como a técnica de FTIR necessita de comparação, foram realizadas análises do espectro de infravermelho dos nanossistemas e dos seus componentes isolados. Nas análises, no caso dos nanossistemas, foram introduzidos 2 µl no aparelho, sendo posteriormente esperada a evaporação da água do material para que o espectro fosse computado pelo *software* OriginLab<sup>®</sup>. No caso dos componentes isolados, foi introduzida quantidade mínima no aparelho e o registro logo foi computado pelo mesmo programa.

#### 4.6.5 Doseamento e Eficiência de Encapsulação

Para uma análise quantitativa de óleo encapsulado nas nanopartículas, bem como a quantidade de óleo presente no sistema, foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Esses testes foram feitos somente para o óleo essencial de copaíba.

Dito isso, para a quantificação do óleo essencial de copaíba foram preparadas curvas de calibração utilizando o óleo essencial de copaíba nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 µg/ml para injeção no sistema. A fase móvel consistiu de acetonitrila (ACN) e água na proporção 95:5 (v/v), com detector UV ajustado para 207 nm, fluxo mantido em 1,7 ml/min e o volume de injeção de 20 µl. Os cromatogramas foram registrados em triplicata e as áreas dos picos foram analisadas para análise. A determinação do doseamento da formulação foi realizada por meio de 10 µl das nanopartículas em 990 µL de ACN, agitadas em banho ultrassônico e centrifugadas a 14.000 rpm por 5 min.

Posteriormente, uma diluição utilizando do sobrenadante para uma concentração no intervalo da curva de calibração foi realizada e em seguida analisada por HPLC. A eficiência de encapsulação (EE%) foi determinada pela ultrafiltração da formulação, utilizando-se filtro Amicon® Ultra 0,5 ml submetido à centrifugação (5.000 rpm/15 minutos). O filtrado foi diluído na fase móvel e analisado no HPLC. A EE% foi calculada pela Eq. 3 descrita abaixo.

$$\text{(Eq. 3) EE (\%)} = \frac{\text{Quantidade total do composto} - \text{Quantidade do composto não encapsulado}}{\text{Quantidade total do composto}} \times 100$$

#### 4.6.6 Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise morfológica das nanopartículas foi realizada utilizando um microscópio eletrônico de varredura ZEISS EVO® LS15 (Carl Zeiss Microscopy – Jena, Alemanha) acoplado a uma câmera digital Gatan de alta resolução (Orius® SC1000) e operado com tensão de aceleração de 10 kV. Para tanto, as nanopartículas foram diluídas em água ultrapura (1:10), aplicadas em lamínulas de vidro, secas em temperatura ambiente e fixadas em hastes de alumínio. O nanossistema foi então metalizado com ouro coloidal (QUORUM® Q150T ES – Quorum Technologies Ltda., Reino Unido) para análise por microscopia eletrônica de varredura.

#### 4.7 ANÁLISE DE COMPLEXAÇÃO COM COLÁGENO

As nanocápsulas de óleo essencial e fixo de copaíba foram avaliadas em sua capacidade de interagir com colágeno a partir da concentração e do tempo de exposição.

Para avaliar a influência da concentração, foram realizadas soluções de colágeno e água ultrapura de 1 a 40 mg/ml e, a partir destas, foram realizadas incubações com os nanossistemas em uma proporção de 1:10. As incubações foram agitadas por 30 minutos e posteriormente analisadas em relação ao tamanho, PdI e potencial Zeta.

Para avaliar a influência do tempo de exposição, foi realizada uma solução de colágeno e água ultrapura em 5 mg/ml e, a partir desta, uma nova incubação com os nanossistemas em uma proporção de 1:10. Essas incubações foram agitadas por 24 horas, sendo analisadas em relação ao tamanho e potencial Zeta logo após a formação da incubação e em 0,25, 0,50, 1, 2, 4 e 8 e 24 horas.

#### 4.8 ESTABILIDADE DAS NANOCÁPSULAS

A estabilidade das nanocápsulas foi medida por um período de 3 meses, em que elas foram expostas a temperaturas de 4 e 25 °C, a fim de observar os parâmetros de tamanho médio, PdI e potencial Zeta ao longo deste tempo.

#### 4.9 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

##### 4.9.1 Atividade Antimicrobiana

O teste de atividade antibiofilme foi baseado no protocolo desenvolvido por Freire *et al* (2014).

As linhagens de microrganismos a serem utilizadas no experimento foram *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150) e *Candida albicans* (ATCC 76645). Essas linhagens pertencem ao LAMA, onde são mantidas em meio de cultura nutritivo inclinado a 4°C e submetidas a repiques a cada mês. Para a realização dos experimentos, alíquotas das cepas foram inoculadas em meio Mueller-Hinton e incubadas a 37 °C por 24 horas para se obter uma cultura fresca em fase exponencial de crescimento.

Foram produzidas formulações concentradas de 5 ml de óleos essencial e fixo de copaíba, com 20 mg/ml, para a avaliação de atividade antimicrobiana. Para os testes, as formulações passaram por diluição seriada até a solução chegar a uma concentração de 2048 µg/ml. Em relação às suspensões microbianas, as linhagens microbianas em culturas frescas foram diluídas em solução de NaCl 0,9% estéril à  $3.10^8$  UFC/ml, ou no 1º tubo de escala de McFarland.

O experimento foi conduzido em placas de 96 poços para os nanossistemas carregando óleos essencial e fixo de copaíba, dispostos em 12 colunas (1 até 12) e 8 linhas (A até H). Primeiramente, foram aplicados 100 µl de caldo Mueller-Hinton (infusão de carne de boi - 300 g/l; caseína ácida hidrolisada - 17,5 g/l; e amido - 1,5 g/l; pH - 7,4±0,2). Após isso, foram adicionados 100 µl dos nanossistemas com 2048 µg/ml na coluna 1, sendo realizada uma diluição seriada com um fator de 1:2 até a coluna 12.

Com isso, foram transferidos, pós-homogeneização, 100 µl dos poços de uma coluna para a posterior. Transferindo o conteúdo da coluna 11 à 12, foram descartados 100 µl dos poços da última coluna. Isso fez com que houvesse uma diminuição gradual da concentração de nanopartículas nos poços, indo de 1024 a 0,5 µg de óleo/ml da coluna 1 a 12. No caso da inoculação de bactérias, foram adicionados 10 µl da suspensão microbiana com 3.10<sup>8</sup> UFC/ml preparada anteriormente nos poços. O controle negativo do sistema possuía somente o meio de cultura, enquanto que no controle positivo foi adicionado somente o inoculado de bactérias no meio.

Após a preparação das placas, estas foram mantidas em estufa a 37±2°C por 48 horas. Em 24 horas, foi utilizado o corante rezazurina nas placas para que fossem lidas por leitor de microplacas a 630 nm. Após a análise, elas foram postas novamente na estufa e lidas ainda em 48 horas de preparação.

#### **4.9.2 Atividade Antibiofilme**

O teste de atividade antibiofilme foi baseado no protocolo desenvolvido por Segev-Zarko; Shai (2017).

Nessa metodologia também foram usadas as linhagens de microrganismos do LAMA: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150) e *Candida albicans* (ATCC 76645). Para a realização dos experimentos, alíquotas das cepas, que ficam sob refrigeração e repiques constantes, foram inoculadas em caldo Mueller-Hinton e incubadas a 37 °C por 24 horas para se obter uma cultura fresca em fase exponencial de crescimento.

Após esse período, as culturas foram diluídas até chegarem a uma concentração de 3.10<sup>8</sup> UFC/ml, ou no 1º tubo da escala de McFarland. Em seguida, essas suspensões foram novamente diluídas em caldo Mueller-Hinton fresco, na proporção de 1:100, obtendo-se no final uma concentração de cerca de 10<sup>6</sup> UFC/ml.

Nesse teste foram utilizados óleos essencial e fixo de copaíba isolados e associados a NCPs e nanocápsulas carregando MCT, as quais possuíam a mesma composição que as

nanocápsulas finais (PCL-80: 40 mg; MCT: 100 mg; Lipoid®s100: 20 mg; Kolliphor®ELP: 60 mg). Os óleos foram diluídos em DMSO e os nanossistemas em água destilada.

Foram utilizadas microplacas de 96 poços. Em cada poço foram aplicados 100 µl de caldo Mueller-Hinton. Foram testadas diferentes concentrações das substâncias analisadas, sendo utilizado como ponto de referência a CIM apresentada no teste de atividade antimicrobiana, um ponto acima dele e outro ponto inferior, considerando uma diluição seriada com fator 2. Naquelas substâncias que não apresentaram atividade antimicrobiana ou em que não foi realizado o teste anterior, como no caso da nanocápsula de MCT, foram utilizadas as concentrações de 1024, 512 e 206 µg de óleo/ml. O controle negativo do sistema possuía somente o meio de cultura, enquanto que no controle positivo foi adicionado somente o inoculado de bactérias no meio.

As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C por 48 horas sem agitação, permitindo a sedimentação e adesão das células nas superfícies dos poços, favorecendo a formação de biofilme. Após esse período de incubação, o conteúdo líquido dos poços foi descartado por inversão de placa e estes foram submetidos a três lavagens sucessivas em água corrente, a fim de remover células planctônicas não aderidas, preservando apenas o biofilme.

Após a lavagem, as placas foram secas em temperatura ambiente para que fossem realizadas a fixação e a quantificação do biofilme com adição de µl de solução de cristal violeta a 0,5% (m/v) em cada poço. Passados 20 minutos, o excesso de corante foi retirado por inversão da placa e lavagens por água corrente, com a microplaca secada a temperatura ambiente após retirada.

Para quantificar o biofilme formado, o corante foi liberado do contato com o biofilme a partir da inserção de 125 µl de ácido acético a 30% (v/v) por 20 minutos. Com isso, a placa passou por leitor de microplacas no comprimento de onda de 590 nm. Os valores de absorbância obtidos foram utilizados para calcular a porcentagem de inibição de formação de biofilme, de acordo com a Eq. 4 descrita abaixo (sendo, Abs. - absorbância; ctrl. - controle; neg. - negativo; pos. - positivo).

$$\text{(Eq. 4) Inibição (\%)} = 100 - \left( \frac{Abs_{poço} - Abs_{ctrl\ neg}}{Abs_{ctrl\ pos} - Abs_{ctrl\ neg}} \times 100 \right)$$

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos com média ± desvio padrão. Para a construção das tabelas foi utilizado como base o Excel®,

para os gráficos de tamanho e potencial Zeta foi utilizado o *software* GraphPad® Prism 8.0.2 (Califórnia, EUA) e os gráficos de transmitância foram realizados pelo *software* OriginLab®.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

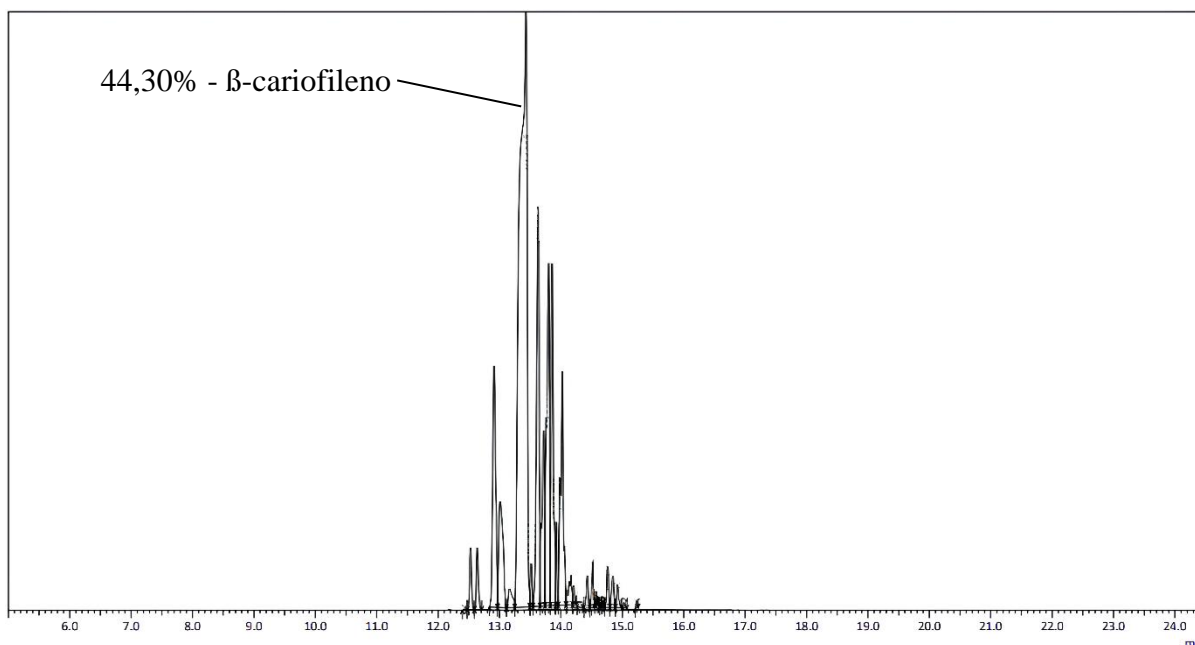
### 5.1 ANÁLISE DE COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS

#### 5.1.1 Óleo Essencial de Copaíba

A cromatografia do OEC pode ser observada na Figura 2. A análise do cromatógrafo demonstrou que grande parte do óleo era composta por sesquiterpenos, tendo como composto majoritário o  $\beta$ -cariofileno (44,30%). Os sesquiterpenos  $\alpha$ -humuleno (10,71%), germacreno D (10,26%),  $\alpha$ -copaeno (7,56%),  $\delta$ -cadineno (6,84%),  $\gamma$ -muuroleno (5,09%) e  $\beta$ -elemeno (4,59%) foram outros compostos químicos com teor significativo encontrados.

O composto majoritário encontrado nesse óleo, o  $\beta$ -cariofileno, é conhecido por ação agonista em receptores CB<sub>2</sub>, sendo correlacionado principalmente com a modulação de dor e inflamação. Contudo, apesar de menos explorado, esse composto também possui potencial antimicrobiano, por diminuir a multiplicação de bactérias em modelos *in vivo* e por inibir a formação de biofilmes (Fidy *et al.*, 2016; Yoo; Jwa, 2018; Dickson *et al.*, 2023).

Figura 2 – Cromatograma do OEC



Fonte: autoria própria (2026)

#### 5.1.2 Óleo Fixo de Copaíba

A cromatografia do OFC pode ser observada na Figura 3. O principal composto identificado pela espectrometria de massas foi o germacreno D (9,99%). Essa molécula estava

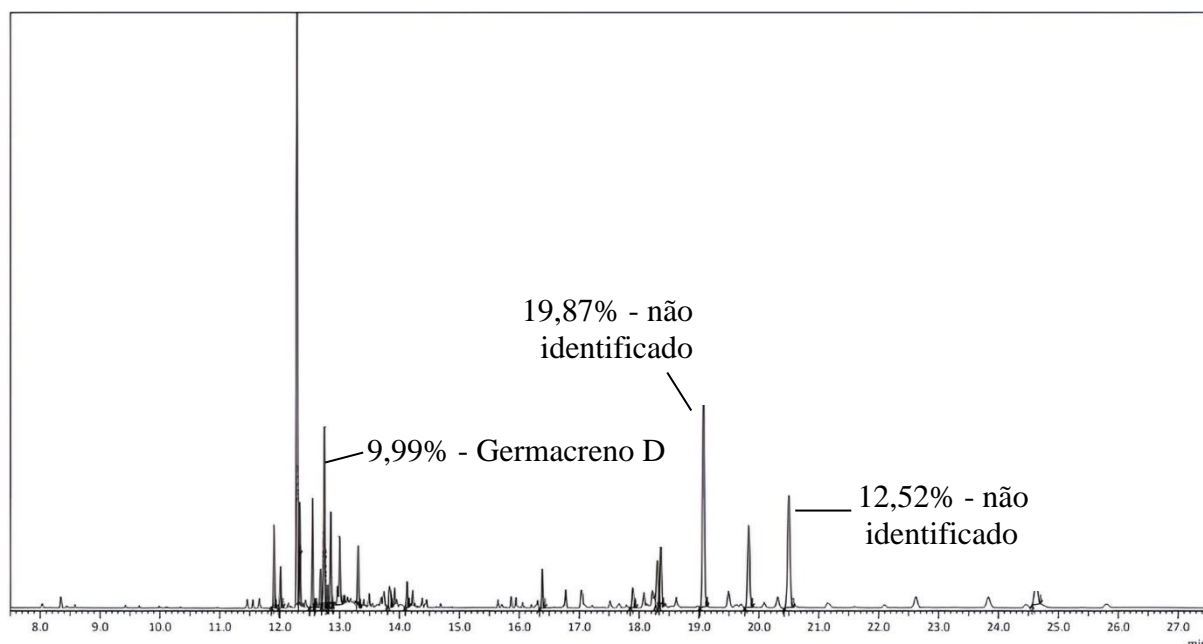
junta de outros sesquiterpenos com concentração relevante no óleo, como  $\alpha$ -humuleno (5,61%),  $\delta$ -bisaboleno (5,28%),  $\delta$ -cadineno (4,77%) e  $\alpha$ -copaeno (3,95%).

O composto majoritário identificado pelo equipamento, germacreno D, é uma molécula intermediária de outros sesquiterpenos e possui função de repelir insetos maléficos para plantas, enquanto é um atrativo para polinizadores. Germacreno D é uma substância odorífera e, por isso, é bastante apreciado na indústria cosmética, no entanto, ainda não foi explorado algum potencial farmacológico desta substância isolada (Sharma *et al.*, 2024).

Vale ressaltar que uma parte significativa dos compostos, inclusive alguns com uma área mais significativa do que a do germacreno D, não tiveram semelhanças com o banco de dados utilizado, fazendo com que 55,27% da composição química do óleo não tenha sido revelada.

No entanto, grande parte dos compostos não identificados foram os últimos a serem eluídos pelo cromatógrafo. Isso indica que as moléculas não encontradas pelo sistema tinham uma massa molecular maior, já que quanto maior a massa de um composto, mais demorada é sua passagem pela coluna (Khalifea; Ali, 2025). Devido a isso, é provável que os componentes não identificados sejam diterpenoides, visto que o OFC é rico nestes metabólitos (Cardinelli *et al.*, 2023). Além disso, diterpenos possuem uma estrutura química maior do que a de sesquiterpenos, o que pode explicar o fato de que sesquiterpenos foram eluídos primeiro do que os compostos incógnitos (Bergman; Davis; Phillips, 2019).

**Figura 3 - Cromatograma do OFC**



**Fonte:** autoria própria (2026)

## 5.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Em relação à capacidade de sequestro de radicais DPPH, os dados dos óleos de copaíba podem ser observados na Tabela 6.

**Tabela 6** - Capacidade de sequestro de radicais de DPPH dos óleos essencial e fixo de copaíba sob diferentes concentrações

OEC					
	20 mg/ml	30 mg/ml	40 mg/ml	50 mg/ml	60 mg/ml
<b>Redução de DPPH (%)</b>	10,89±0,98	25,57±1,85	41,43±2,70	57,00±0,67	70,97±1,58
OFC					
	5 mg/ml	10 mg/ml	15 mg/ml	20 mg/ml	25 mg/ml
<b>Redução de DPPH (%)</b>	10,22±0,30	9,96±1,01	10,16±1,90	7,42±0,73	9,46±1,45

Fonte: autoria própria (2026)

OEC apresentou uma considerável atividade redutora, a qual foi concentração-dependente, permitindo a determinação de  $CE_{50}$ , que foi de  $45,76 \pm 0,53$  mg/ml. Em relação a capacidade de reduzir radicais de  $ABTS^+$ , o OEC não teve atividade antioxidante contra esta molécula. Alguns estudos já demonstraram que  $\beta$ -cariofileno possui uma considerável atividade antioxidante, sendo o principal responsável por este efeito em óleos de copaíba que o possuem como um dos compostos principais. Com isso, esse composto pode ser o responsável por essa atividade observada (Cardinelli *et al.*, 2023).

Não foi possível determinar  $CE_{50}$  do OFC pela capacidade de redução do radical DPPH não possuir grandes alterações com o aumento da concentração. Dito isso, o poder de redução de radicais DPPH desse óleo foi baixo, em torno de  $9,44\% \pm 1,44$ , não sendo concentração-dependente pela metodologia utilizada. Como o poder antioxidante do OFC foi baixo em relação ao DPPH, não foram feitos testes com ABTS.

Apesar do OFC utilizado não ter demonstrado possuir atividade antioxidante, um estudo realizado por Rodrigues (2023) encontrou que  $CE_{50}$  de um óleo fixo derivado de *Copaifera reticulata* foi de  $48,30 \pm 4,80$  e  $139,25 \pm 1,86$  mg/ml em relação a DPPH e ABTS, respectivamente. Além disso, diterpenos encontrados em óleos fixos de copaíba, como ácido copálico, caurenóico e hardwiquiico, já demonstraram possuir atividade antioxidante (Vargas *et al.*, 2015).

Testes que avaliam a atividade antioxidante de um composto geralmente se utilizam da capacidade de se doar um próton ou reduzir um radical em um sistema simplificado. Esses testes podem não inferir de forma precisa o que ocorre em um sistema biológico, mas eles são vastamente utilizados para análises preliminares de novos antioxidantes. Atualmente, existem

vários tipos de metodologias que se utilizam de princípios e radicais diferentes, entre os mais utilizados estão a redução dos radicais DPPH e ABTS (Munteanu; Apetrei, 2021).

Tanto o modelo DPPH quanto o ABTS medem a ação antioxidante a partir da colorimetria, sendo práticos e reproduzíveis, mas observam a capacidade de redução de modos diferentes. Isso porque o radical oxidante presente em DPPH possui um acesso mais fácil em relação ao do ABTS, o que explica a falta de ação do OEC neste composto, apesar de ele ter reduzido radicais de DPPH (Munteanu; Apetrei, 2021).

Mesmo que não seja sua ação primária, algumas linhas de pesquisa defendem que elementos antioxidantes são capazes de aumentar a permeabilidade membranar, inibir a formação de ácidos nucleicos e inibir vias metabólicas que necessitam de agentes oxidantes, como a produção aeróbica de energia. Com isso, agentes antioxidantes podem funcionar como antimicrobianos, uma vez que a interferência nesses processos essenciais pode desestabilizar o funcionamento celular dos microrganismos, limitando sua sobrevivência e capacidade de proliferação. Isso permite que a ação antioxidante seja preditiva de uma ação antimicrobiana correlacionada (Naqvi *et al.*, 2019).

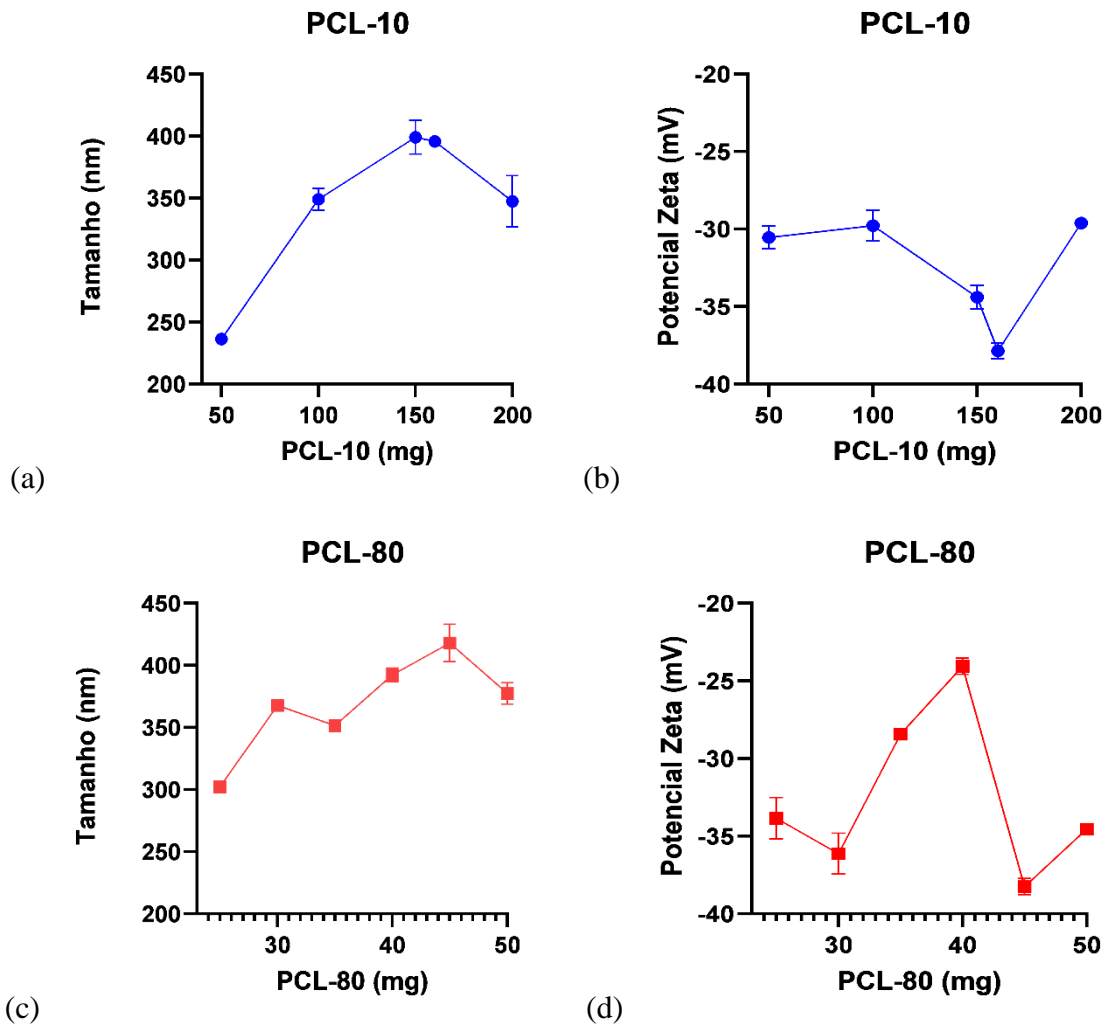
### 5.3 DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS

#### 5.3.1 Variação de Polímero

Foram fabricadas cinco formulações de PCL-10, cujas concentrações variaram de 50 a 200 mg. Esses nanossistemas tiveram tamanho de 236,27 – 399,13 nm, PdI de 0,08 – 0,46 e potencial Zeta de -37,86 – -29,61 mV, os quais podem ser observados na Figura 4. Entretanto, nem todas as formulações se mostraram estáveis em sua geração, já que as concentrações de 160 e 200 mg produziram precipitado visível na junção das fases orgânica e aquosa.

Em relação ao PCL-80, foram produzidas seis formulações com concentrações de 25 a 50 mg. Esses nanossistemas tiveram tamanho de 302,13 – 418,03 nm, PdI de 0,17 – 0,25 e potencial Zeta de -38,25 – -24,06 mV, os quais podem ser observados na Figura 4. Nesse caso, também foi possível observar a formação de precipitado nas formulações com 45 e 50 mg de PCL-80 a partir da integração das duas fases, o que indica que essas concentrações levam a instabilidade do nanossistema.

**Figura 4** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas no estudo do polímero de formulações utilizando PCL-10 (a, b) e PCL-80 (c, d)



Fonte: autoria própria (2026)

Os polímeros são os constituintes responsáveis pela geração do envoltório que protege o interior de nanocápsulas. Com isso, o tipo e a concentração do polímero utilizado podem influenciar a qualidade da formação, duração e atuação em organismos biológicos (Lima *et al.*, 2022).

Dentre os polímeros existentes, as policaprolactonas (PCL) demonstram possuir um bom nível de biocompatibilidade e conseguem garantir também partículas estáveis, se usadas corretamente. Elas se diferenciam pelo tamanho de suas cadeias poliméricas, com isso, a policaprolactona de 10 kDa possui ramificações menores do que 80 kDa, o que influencia na forma em que ambos os polímeros devem ser utilizados. Dito isso, quantidades menores de PCL-80 são necessárias para a formação de NCPs em comparação com PCL-10 (Ferreira; Mousavi *et al.*, 2018).

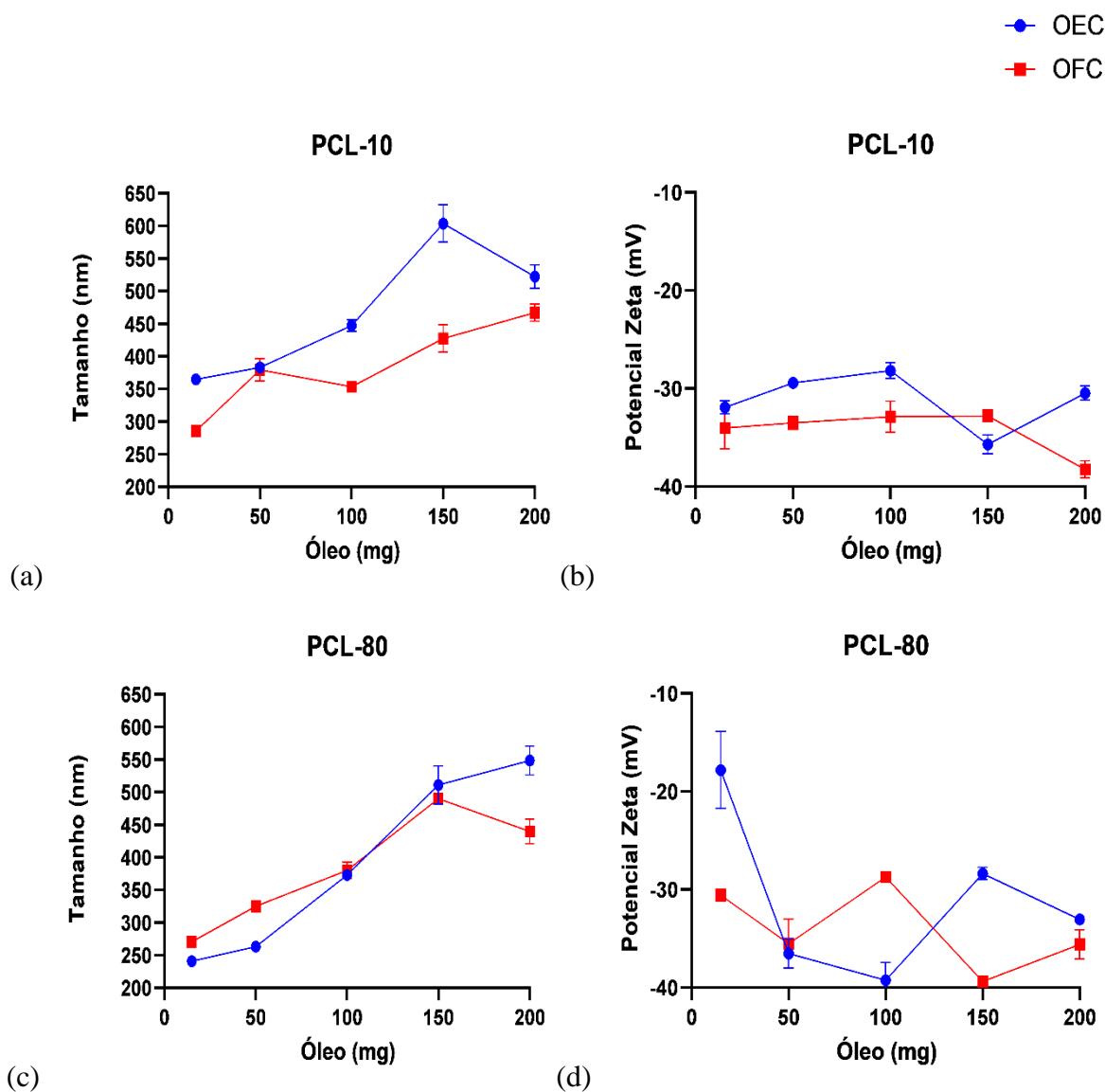
Foi possível observar que a variação nas concentrações de polímeros teve uma correlação considerável positiva com o tamanho das nanopartículas, ou seja, quanto maior a quantidade de polímero, maior o tamanho das nanocápsulas. Além disso, também foi possível correlacionar os valores de PdI com a variação dos polímeros. O PdI é um índice que mostra a coesão no tamanho de nanopartículas: valores mais próximos de 0 indicam uma maior homogeneidade em relação ao tamanho, enquanto valores próximos de 1, uma heterogeneidade de nanopartículas. Sistemas homogêneos possuem uma estabilidade maior e, por isso, PdI próximos de 0 são desejados (Lima *et al.*, 2022). Assim, foi percebida uma tendência de aumento associado ao aumento da concentração de polímero, principalmente em relação à PCL-10, o que indica que grandes quantidades deste polímero geram instabilidade no sistema com a formação de nanocápsulas de diferentes tamanhos.

Devido à presença de precipitado nas formulações com concentrações acima de 150 e 40 mg em nanossistemas com PCL-10 e PCL-80, respectivamente, estas concentrações foram consideradas como limiar para a geração de nanopartículas estáveis, sendo assim optadas para formulações posteriores.

### **5.3.2 Variação na Concentração de Óleos**

As concentrações dos óleos variaram de 15 a 200 mg neste estudo. Em relação ao OEC, suas formulações com PCL-10 tiveram tamanho de 364,70 – 603,87 nm, PdI de 0,14 – 0,39 e potencial Zeta de -35,69 – -28,16 mV; já suas formulações com PCL-80 tiveram tamanho de 240,97 – 548,43, PdI de 0,04 – 0,16 e potencial Zeta de -39,23 – -17,81 mV. Em relação ao OFC, suas formulações com PCL-10 tiveram tamanho de 285,87 – 467,37 nm, PdI de 0,20 – 0,43 e potencial Zeta de -38,25 – -32,80 mV; já suas formulações com PCL-80 tiveram tamanho de 270,63 – 490,23, PdI de 0,15 – 0,53 e potencial Zeta de -35,58 – -28,72 mV. Esses parâmetros podem ser visualizados na Figura 5.

**Figura 5** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas do estudo dos óleos vegetais de formulações utilizando PCL-10 (a, b) e PCL-80 (c, d)



Fonte: autoria própria (2026)

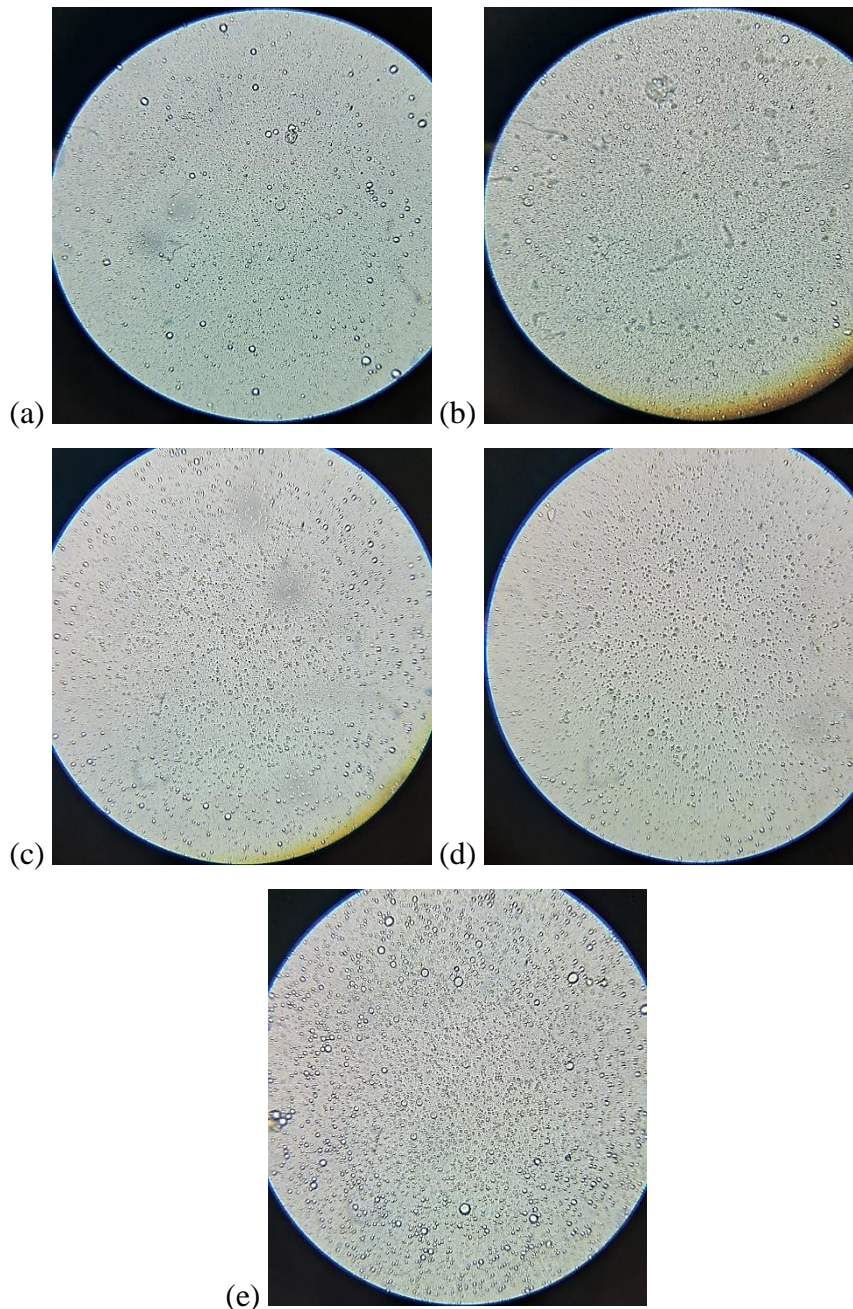
Foi observado que, em geral, o aumento na quantidade de óleo levou ao aumento do tamanho das nanopartículas. Isso pode ser explicado por maiores gotículas de óleo serem formadas na nanoprecipitação quanto mais óleo estiver presente na fase orgânica, o que leva à geração de núcleo de partículas maiores (Sakeena *et al.*, 2011; Almeida *et al.*, 2019). Além disso, o aumento na quantidade de óleo também, principalmente a partir de 150 mg de óleo, levou à formação irregular das nanocápsulas, visto que houve um aumento no desvio padrão do tamanho ou no PdI das formulações.

### 5.3.2.1 Análise Microscópica

Foi observado um aparecimento mais significativo de gotas refringentes com o aumento da concentração de óleo, principalmente quando utilizados 150 e 200 mg, independentemente do tipo de polímero ou óleo utilizado. Isso indica, de acordo com esse método, que o poder de encapsulação nessas formulações possuiu um máximo próximo de 100 mg de óleo, sendo externalizado o excedente. Pode-se tomar como exemplo na Figura 6, que mostra a microscopia das formulações de PCL-10 com OEC.

A análise microscópica é uma técnica grosseira usada para a visualização da externalização de óleo em um nanossistema. Isso se deve, pois, a óleos serem visualizados como gotas refringentes no microscópio, enquanto que nanocápsulas são visualizadas como esferas opacas (Shi *et al.*, 2021).

**Figura 6** - Microscopia óptica em um aumento de 400x de formulações de PCL-10 carreando diferentes concentrações de OEC, sendo 15 mg (a), 50 mg (b), 100 mg (c), 150 mg (d) e 200 mg (e)



**Fonte:** autoria própria (2026)

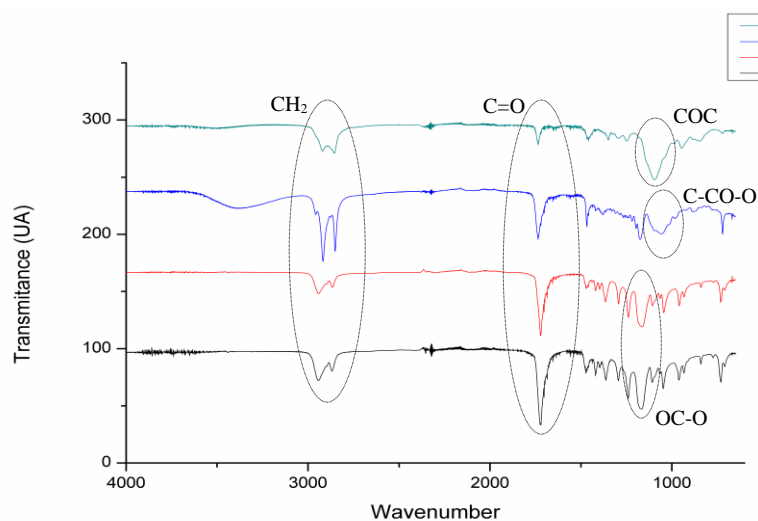
### 5.3.2.2 Espectro de Infravermelho

FTIR é uma técnica em que um material é exposto à radiação eletromagnética de 4000 a  $400\text{ cm}^{-1}$ , ou seja, à luz infravermelha, dando como resultado um espectro de transmitância da luz incidida. A transmissão de infravermelho de um material é influenciada pelo alongar e dobrar das ligações moleculares, já que essas vibrações absorvem este tipo de luz. Como diferentes ligações e moléculas absorvem infravermelho de formas diferentes, cada material

vai possuir um espectro de infravermelho único. Devido a isso, FTIR é utilizado para a caracterização de nanopartículas, sendo útil na avaliação da encapsulação de componentes. Assim, como esta técnica somente é capaz de observar moléculas externalizadas, a presença de padrões semelhantes ao componente indica uma falha na encapsulação (Shukla, 2025).

Os espectros de transmitância de Tween<sup>®</sup>80, Span<sup>®</sup>60, PCL-10 e PCL-80 podem ser observados na Figura 7; do óleo essencial e fixo de copaíba, na Figura 8; e dos nanossistemas, na Figura 9.

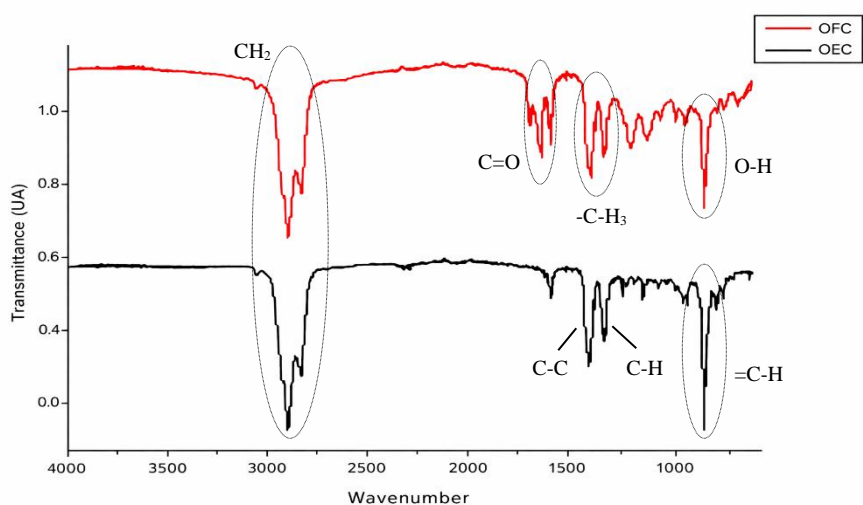
**Figura 7** - Gráfico de transmitância de Tween<sup>®</sup>80, Span<sup>®</sup>60, PCL-10 e PCL-80



**Fonte:** autoria própria (2026)

Nos espectros da Figura 7, as bandas mais características de Tween<sup>®</sup>80 foram as de alongamento assimétrico e simétrico de C-H<sub>2</sub> em 2949 e 2865 cm<sup>-1</sup>, respectivamente, de grupo carboxila em 1727 cm<sup>-1</sup> e de CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub> em 1095 cm<sup>-1</sup> (Ortiz-Tafoya; Tecante, 2018). De forma semelhante, Span<sup>®</sup>60 possuiu bandas características de alongamento de hidroxila entre 3100 e 3600 cm<sup>-1</sup>; assimétrico e simétrico de C-H<sub>2</sub>; de C-CO-O em 1171 cm<sup>-1</sup>; e oscilação de alifáticos C-H<sub>2</sub> (Farmoudeh *et al.*, 2020). Por fim, foi possível observar que as PCLs tiveram espectros semelhantes, apresentando um alongamento assimétrico e simétrico de C-H<sub>2</sub>, alongamento de grupo carboxila; e diferentes tipos de alongamento de C-C, C-O, O-C-O e C-O-C entre 1293 e 1170 cm<sup>-1</sup> (Elzein *et al.*, 2004).

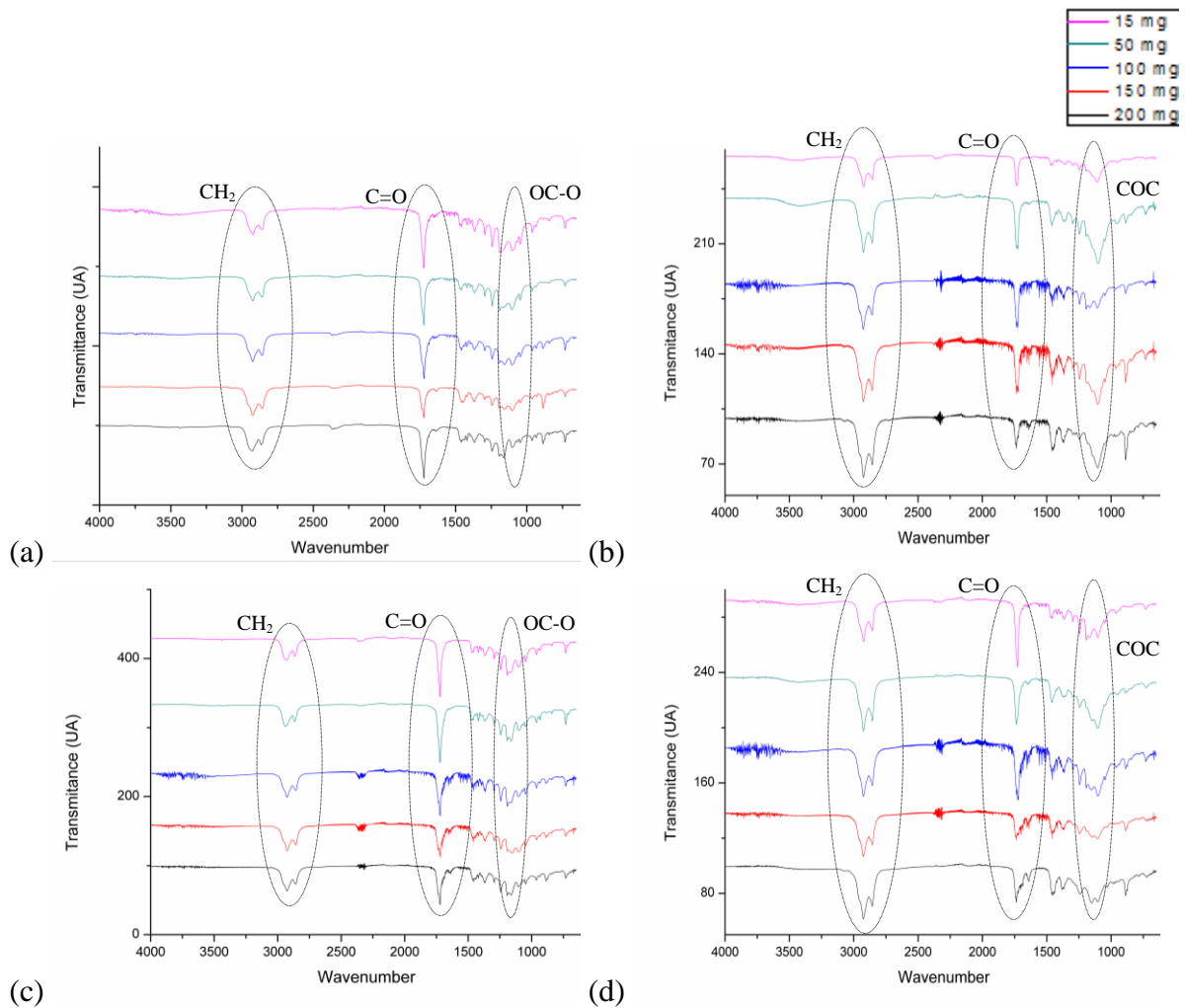
**Figura 8** - Gráfico de transmitância de OEC e OFC



**Fonte:** autoria própria (2026)

Na Figura 8 é possível observar que os óleos tiveram um declive menor que o dos polímeros e tensoativos na faixa de  $1800$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, o OEC teve um espectro de transmitância consideravelmente semelhante em relação ao seu composto majoritário isolado, o  $\beta$ -cariofileno, com alongamento assimétrico e simétrico de C-H<sub>2</sub> em  $2949$  e  $2865\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente; alongamento entre carbonos anelares em  $1448\text{ cm}^{-1}$ ; balanço C-H em  $1367$ ; e alongamento =C-H em  $878\text{ cm}^{-1}$  (Kamaraj *et al.*, 2017). O OFC apresentou bandas características de alongamento assimétrico e simétrico de C-H<sub>2</sub>; grupo carboxila entre  $1743$  a  $1640\text{ cm}^{-1}$ ; alongamento assimétrico e simétrico de -C-H<sub>3</sub> em  $1449$  e  $1384\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente; vibração de O-H em  $1370\text{ cm}^{-1}$ ; as bandas  $1242$  e  $1166\text{ cm}^{-1}$  podem estar relacionados ou com dobra de C-O ou dobra de C-C; vibração fora do plano de O-H em  $886$  e  $874\text{ cm}^{-1}$  (Pasieczna-Patkowska; Cichy; Flieger, 2025).

**Figura 9** - Gráficos de transmitância dos nanossistemas de OEC com PCL-10 (a) e PCL-80 (b) e de OFC com PCL-10 (c) e PCL-80 (d)



**Fonte:** autoria própria (2026)

Nos espectros das formulações é interessante notar que, apesar das PCLs terem espectros semelhantes, a escolha de um tipo de PCL influencia os espectros dos nanossistemas. Com isso, as formulações de PCL-10 têm bandas mais próximas do próprio PCL-10, enquanto que as de PCL-80 têm bandas mais semelhantes ao Tween<sup>®</sup>80. Ao contrário das PCLs, o tipo de óleo não influenciou de forma significativa os espectros. No entanto, é perceptível que com o aumento na concentração de óleo, em todos os quatro casos, houve uma diminuição do declive entre 1800 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , o que pode ser considerado uma externalização mais significativa de óleo, já que óleos possuem um declive menor em relação aos polímeros e tensoativos utilizados.

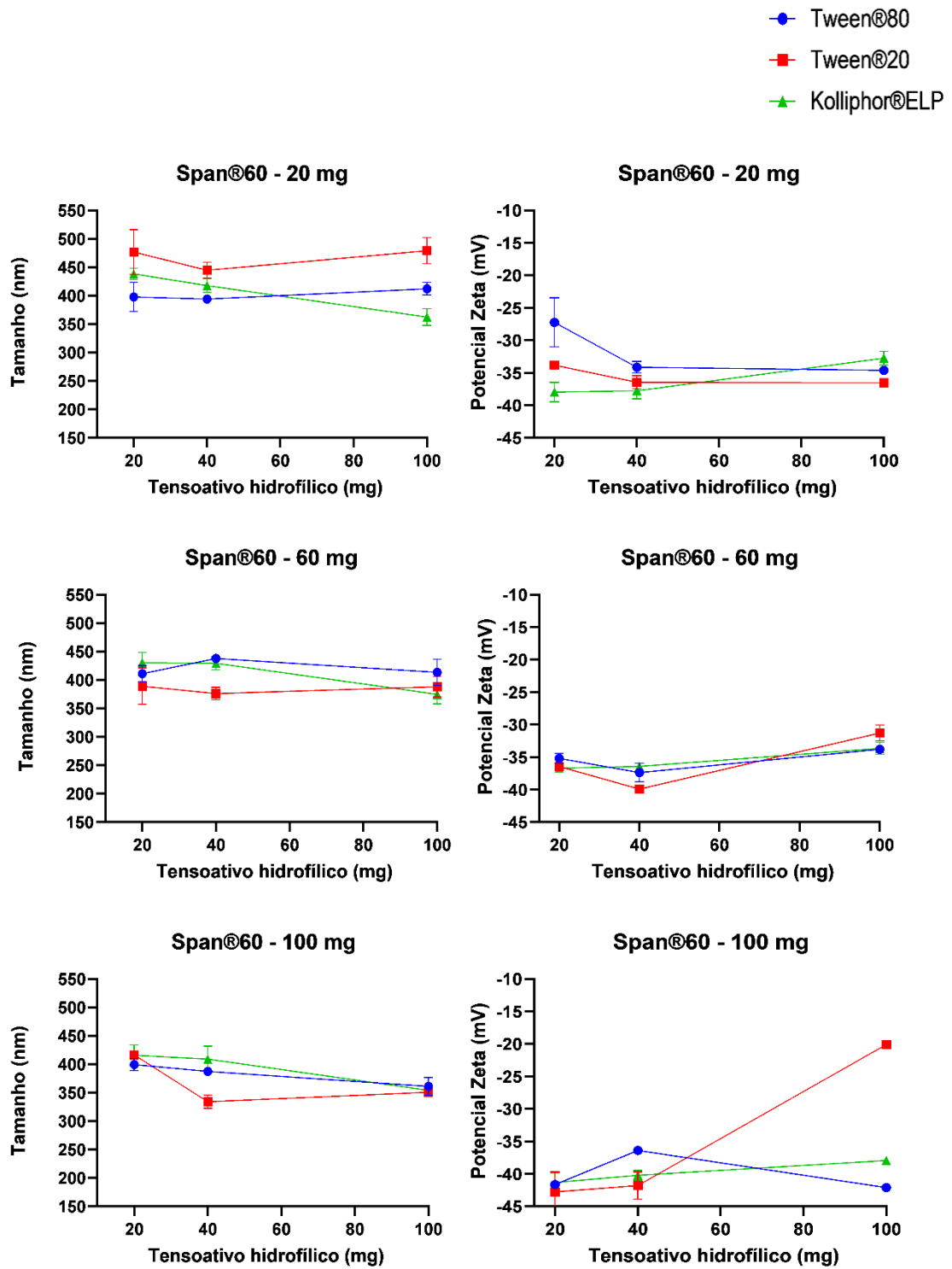
Devido ao aumento no tamanho médio, no desvio padrão do tamanho médio, no PDI, à maior presença de óleo externalizado em microscopia e à maior semelhança com bandas de

óleo nas formulações com 150 e 200 mg de óleo, optou-se por prosseguir os estudos com 100 mg de óleo essencial ou fixo de copaíba.

### **5.3.3 Variação de Tensoativos**

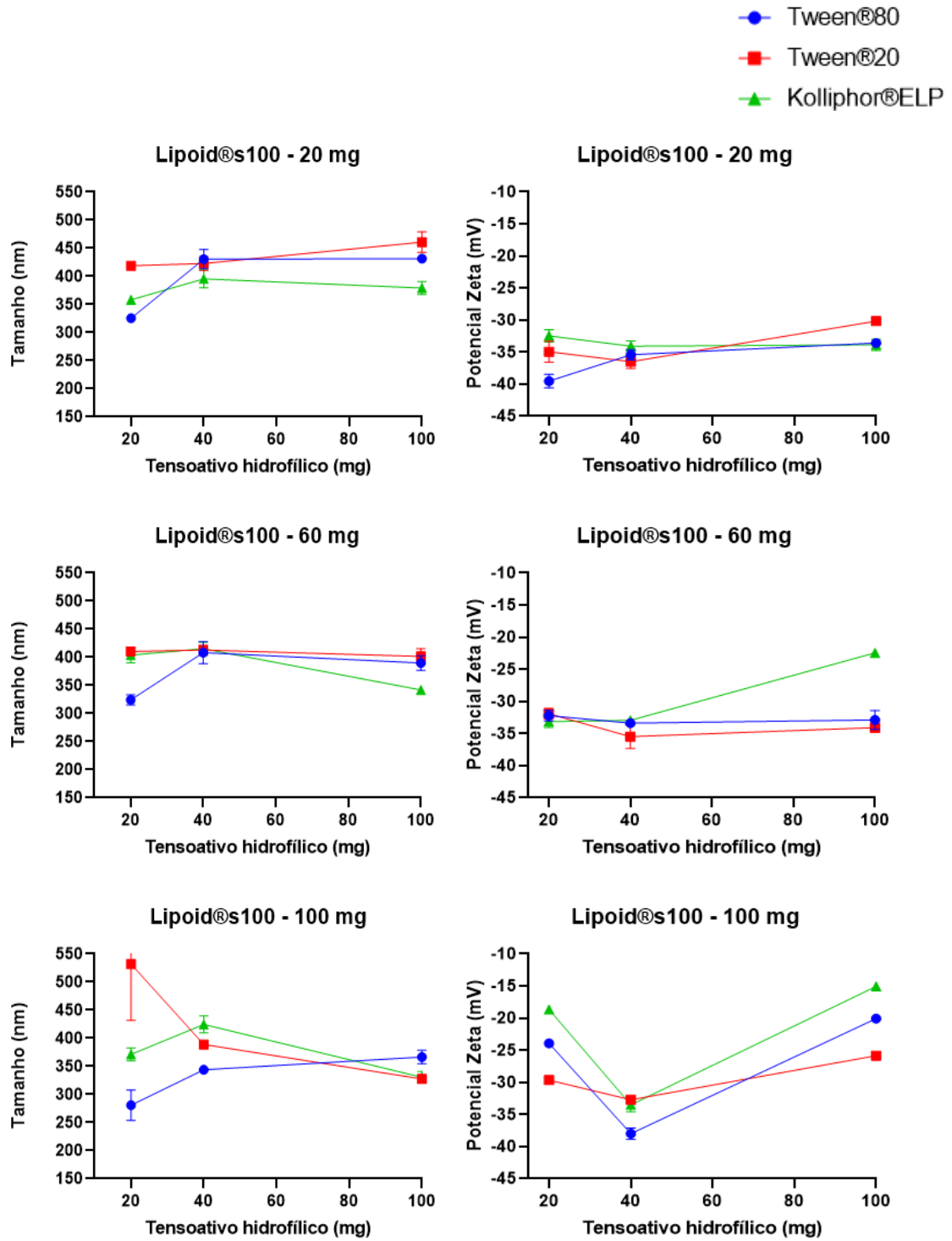
As formulações de PCL-10 carreando OEC tiveram tamanhos de 280,73 — 531,80 nm, PdI de 0,05 — 0,69 e potencial Zeta de -42,78 — -15,06 mV. Já as formulações de PCL-80 carreando OEC tiveram tamanhos de 205,43 — 472,93, PdI de 0,10 — 0,46 e potencial Zeta de -38,70 — -18,00 mV. Os valores de tamanho e potencial Zeta desses nanossistemas podem ser verificados nas Figuras 10 a 13.

**Figura 10** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-10 e Span®60 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos



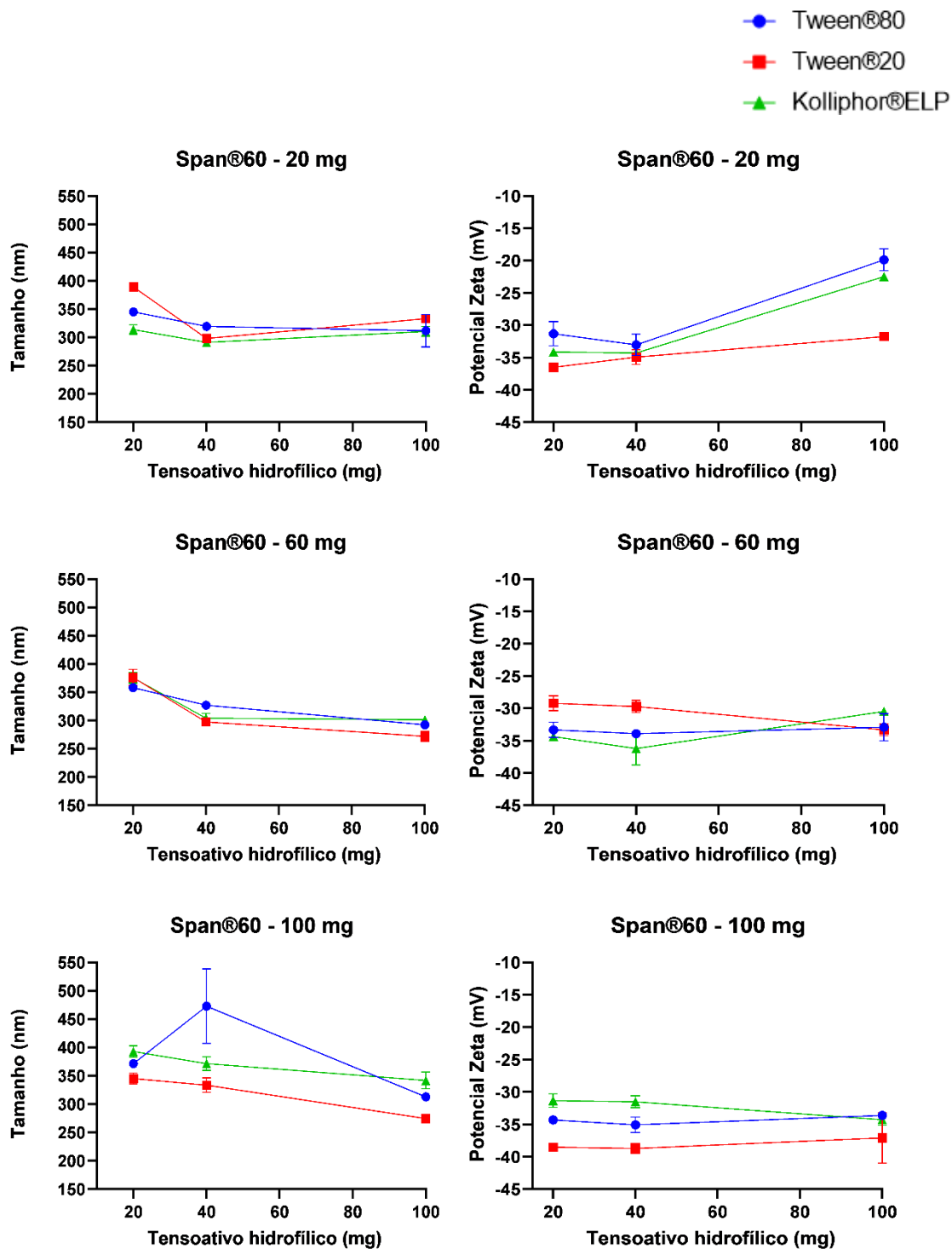
Fonte: autoria própria (2026)

**Figura 11** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-10 e Lipoid®s100 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos



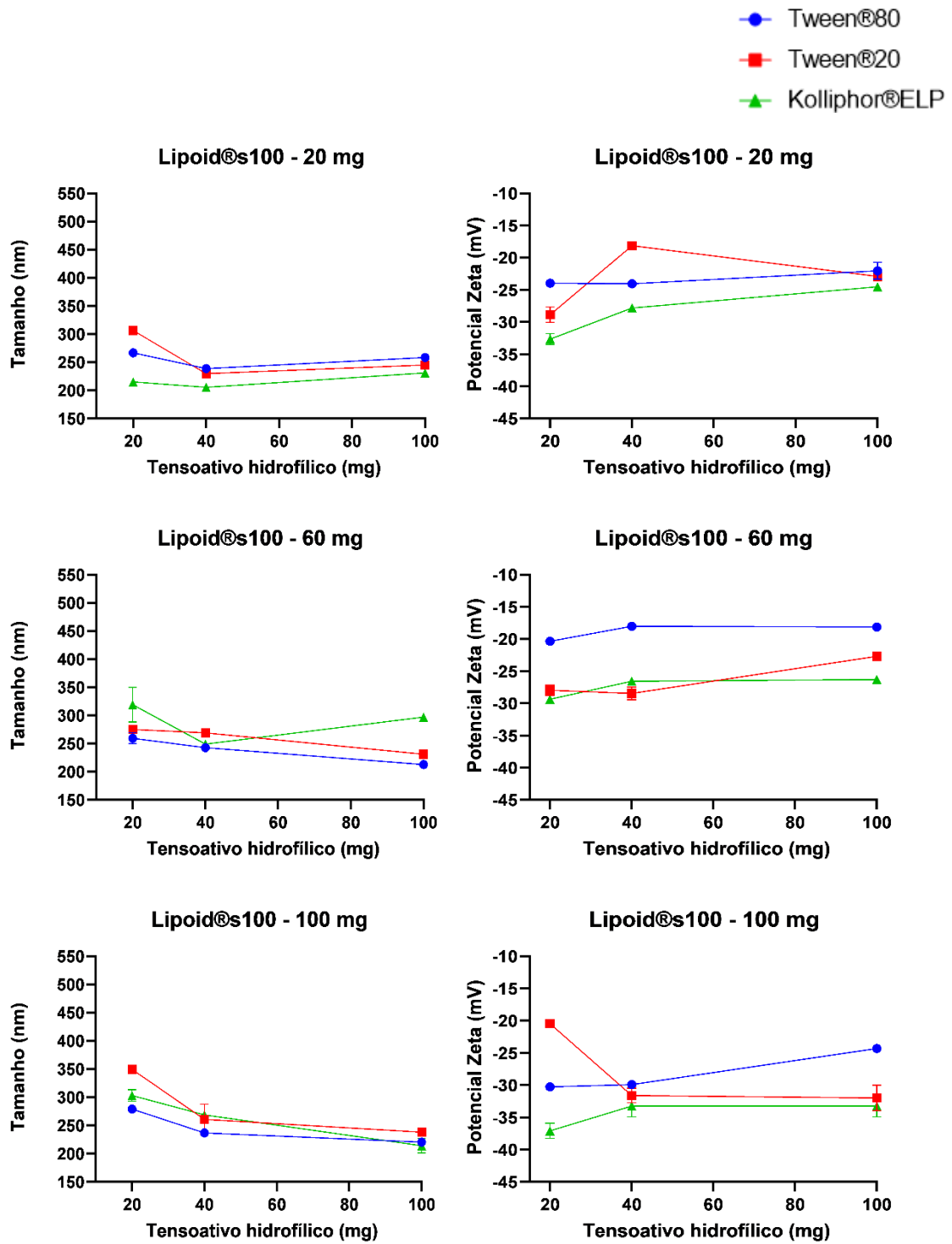
Fonte: autoria própria (2026)

**Figura 12** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-80 e Span®60 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos



Fonte: autoria própria (2026)

**Figura 13** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das formulações de PCL-80 e Lipoid®s100 carreando OEC sob diferentes concentrações e tipos de tensoativos



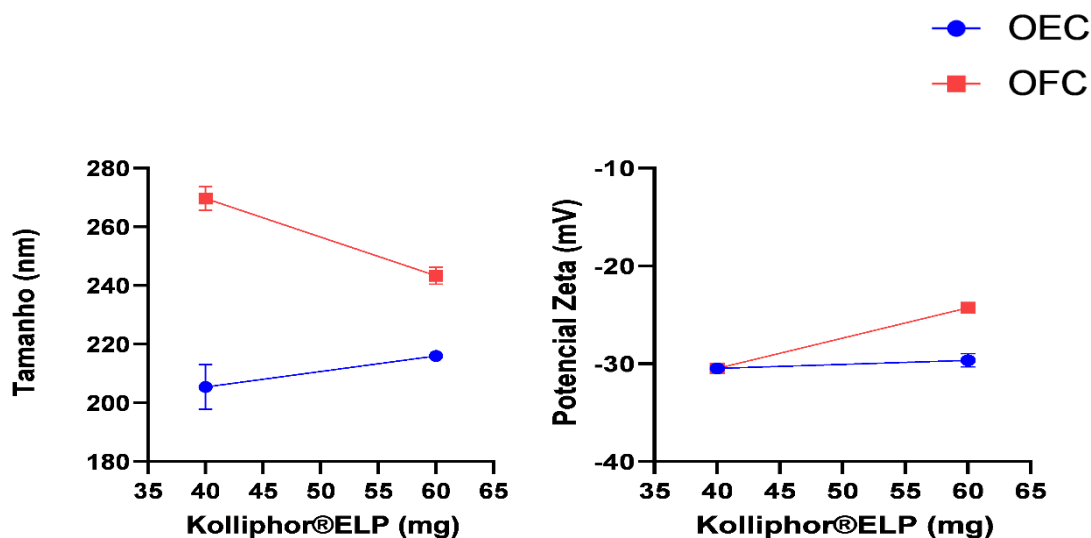
Fonte: autoria própria (2026)

O menor tamanho encontrado neste estudo foi de  $205,43 \pm 7,66$  nm, o qual corresponde à formulação de PCL-80 com 20 mg de Lipoid<sup>®</sup>s100 e 40 mg de Kolliphor<sup>®</sup>ELP. Com isso, foi realizada formulação carreando OFC com as mesmas concentrações de componentes (PCL-80 - 40 mg; óleo vegetal - 100 mg; Lipoid<sup>®</sup>s100 - 20 mg; Kolliphor<sup>®</sup>ELP - 40 mg) para observar como este sistema se comportaria. O tamanho do nanossistema do óleo fixo teve um tamanho de  $269,70 \pm 4,10$  nm.

A fim de comparar o tamanho dos nanossistemas com 40 e 60 mg de Kolliphor<sup>®</sup>ELP, para observar se, com uma concentração entre o ponto mínimo e máximo escolhidos de tensoativo hidrofílico, isto resultaria em um menor diâmetro das nanopartículas. Com isso, houve uma diminuição significativa no tamanho das nanopartículas de OFC, as quais tiveram um diâmetro de  $243,37 \pm 2,89$  nm; enquanto que as nanopartículas de OEC tiveram um ligeiro aumento, com  $216,03 \pm 1,63$  nm. Os dados de tamanho e potencial Zeta das formulações com 40 e 60 mg de Kolliphor<sup>®</sup>ELP estão presentes na Figura 14.

Devido aos menores tamanhos encontrados nesta formulação, foi optado por prosseguir os estudos com 40 mg de PCL-80, 20 mg de Lipoid<sup>®</sup>s100 e 60 mg de Kolliphor<sup>®</sup>ELP.

**Figura 14** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas, variando-se Kolliphor<sup>®</sup>ELP



Fonte: autoria própria (2026)

Os sistemas que continham 100 mg de tensoativo lipofílico formaram precipitado logo após a integração das fases orgânica e aquosa, principalmente quando associados a pequenas concentrações de tensoativo hidrofílico. Essa coalescência observada indica que grandes concentrações de tensoativo lipofílico prejudicaram a interação entre as fases, levando a uma instabilidade dos componentes das NCPs que tenderam a se agregar, em vez de formar

pequenas nanopartículas. Além disso, maiores concentrações de tensoativo hidrofílico diminuíram essa tendência, o que indica que estes elementos levaram a um balanceamento no equilíbrio hidrofílico-lipofílico (Ng; Rogers, 2019).

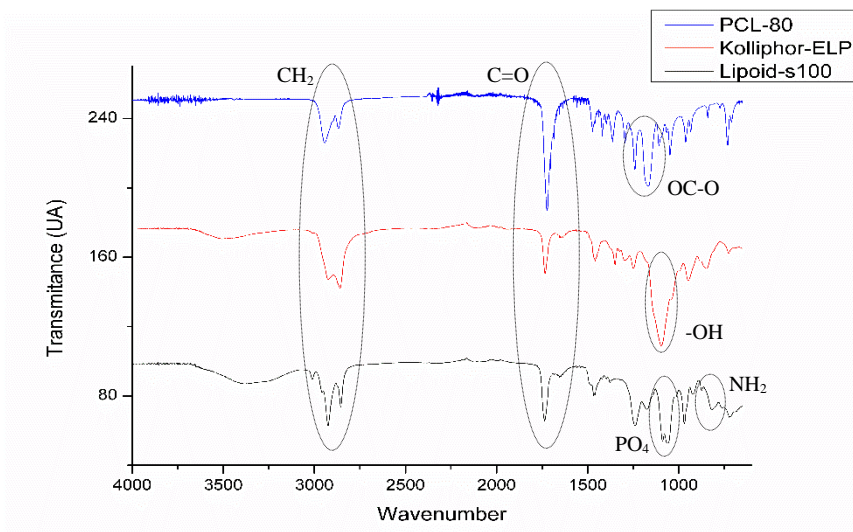
Outro aspecto interessante é que formulações com Lipoid<sup>®</sup>s100 tiveram tamanhos consideravelmente menores do que as com Span<sup>®</sup>60, tanto nas NCPs com PCL-10 ( $p < 0,05$ ), quanto nas com PCL-80 ( $p < 0,0001$ ). O tipo de tensoativo hidrofílico não foi uma variável relevante para o tamanho médio nas nanopartículas com PCL-80, mas Tween<sup>®</sup>20 levou a diâmetros maiores do que Tween<sup>®</sup>80 ( $p < 0,05$ ) e Kolliphor<sup>®</sup>ELP ( $p < 0,05$ ) naquelas com PCL-10. Isso indica que a escolha de tensoativos influencia em relação ao tamanho das nanopartículas e que os componentes tendem a interagir de diferentes formas a eles (Wu *et al.*, 2025).

## 5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS FINAIS

### 5.4.1 Espectro de Infravermelho

Para a avaliação da encapsulação qualitativa das nanocápsulas finais de OEC (NcOEsC) e OFC (NcOFiC), foi necessário a visualização dos espectros de outros componentes, os quais estão presentes na Figura 15. O PCL-80 já teve seu espectro discutido anteriormente. Kolliphor<sup>®</sup>ELP apresentou bandas características de alceno (2949 e 2865  $\text{cm}^{-1}$ ), alceno (1620  $\text{cm}^{-1}$ ), éster (1354, 1293 e 1243  $\text{cm}^{-1}$ ), carboxila (1726  $\text{cm}^{-1}$ ) e relacionadas à função álcool (1087, 943, 848 e 720  $\text{cm}^{-1}$ ). Lipoid<sup>®</sup>s100 teve bandas características de alceno (2949, 2865, 1470 e 1170  $\text{cm}^{-1}$ ), éster (1731  $\text{cm}^{-1}$ ), alceno (1642  $\text{cm}^{-1}$ ), fosfato (1243, 1082 e 1043  $\text{cm}^{-1}$ ) e amina (876 e 821  $\text{cm}^{-1}$ ) (Yeo *et al.*, 2020; Pasieczna-Patkowska; Cichy; Flieger, 2025).

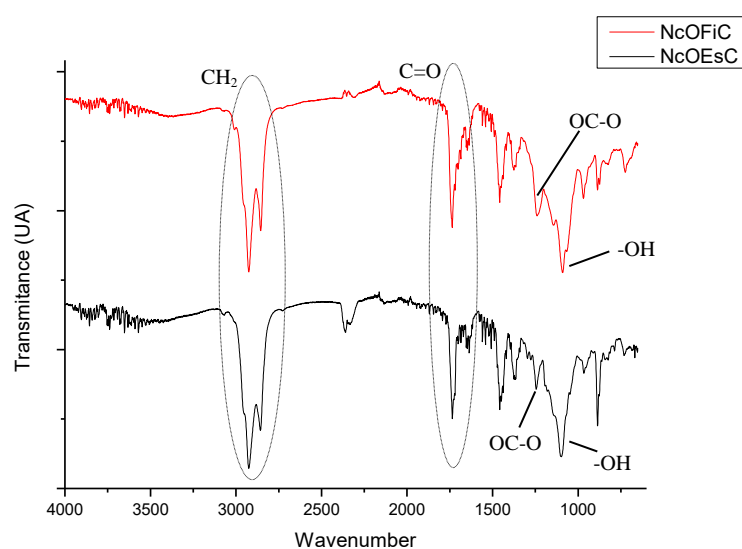
**Figura 15** - Espectros dos componentes das nanocápsulas finais



**Fonte:** autoria própria (2026)

Os espectros dos óleos isolados já foram discutidos e estão representados na Figura 8. As nanocápsulas finais, cujos espectros estão na Figura 16, tiveram transmitâncias de alta intensidade na faixa 1800 a 600 cm<sup>-1</sup>, o que representa maior semelhança com os espectros dos componentes do que com os dos óleos. Além disso, ambas tiveram bandas também observadas em PCL-80 e Kolliphor<sup>®</sup>ELP, como, por exemplo, bandas intensas em 1726 cm<sup>-1</sup>, que foi encontrada no polímero, e em 1087 cm<sup>-1</sup>, encontrada no tensoativo hidrofílico.

**Figura 16** - Espectros das nanocápsulas finais



**Fonte:** autoria própria (2026)

#### 5.4.2 Doseamento e Eficiência de Encapsulação

A equação da reta e coeficiente de determinação da regressão linear ( $R^2$ ) de OEC foram de  $y = 23041x + 30146$  e  $R^2 = 0,999$ . Dessa forma, o método foi fidedigno para realizar o doseamento e eficiência de encapsulação. Os dados de doseamento e eficiência de encapsulação podem ser observados na Tabela 7. O doseamento no sistema analisado esteve próximo do esperado, o que indica que houve nas formulações a introdução da quantidade prevista de óleo (Formiga, 2025).

Além disso, foi observada uma encapsulação total, com uma EE% de 99,99%. A capacidade de encapsulação de uma nanocápsula é fruto de seus componentes, já que as interações que ocorrem entre eles é que determinam a quantidade de substrato a ser encapsulado (Baek *et al.*, 2021).

**Tabela 7** - Doseamento e EE% de NcOEsC

	<b>Concentração do sistema (mg)</b>	<b>Concentração pós-diluição (µg/ml)</b>	<b>Doseamento (µg/ml)</b>	<b>EE (%)</b>
NcOEsC	100	20	20,02 ±0,25	99,99 ±0,001

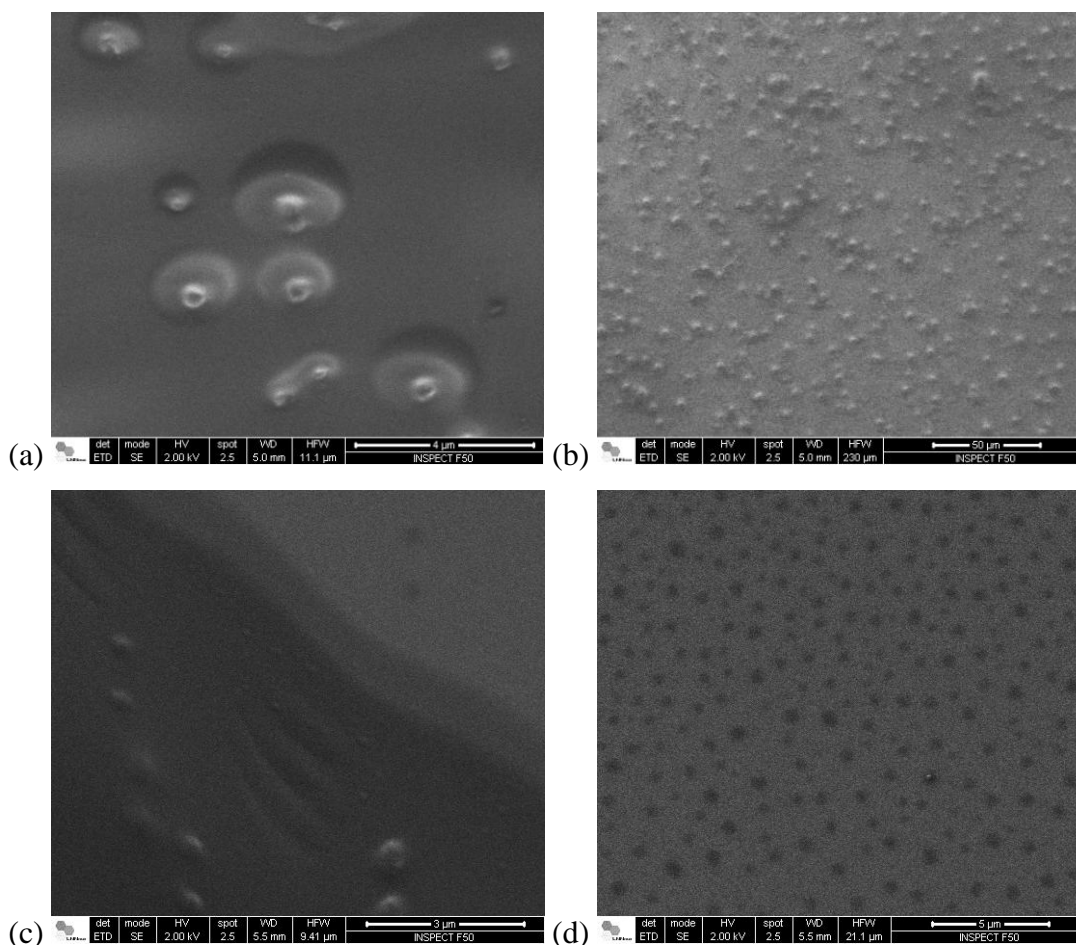
Fonte: autoria própria (2026)

#### 5.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Microscópios ópticos, apesar de serem capazes de mostrar conformações gerais dessas estruturas, não são adaptados para a análise de elementos na escala nanométrica por estarem abaixo de sua resolução. Devido a isso, existe a necessidade da utilização de outras metodologias para uma apreciação mais robusta de sua morfologia, dentre elas estão as microscopias de força atômica (MFA), eletrônica de transmissão (MET) e eletrônica de varredura (MEV). A MEV é uma ferramenta que permite a visualização da superfície de materiais em uma alta resolução e, desta forma, a observação da topografia, composição, morfologia e cristalografia dos componentes. Com isso, a análise morfológica de nanopartículas torna-se mais precisa com a presença de uma MEV, o que auxilia na identificação de suas propriedades e na avaliação de sua qualidade (Aziz *et al.*, 2025).

A Figura 17 mostra as imagens retiradas pelo microscópio eletrônico das nanocápsulas finais.

**Figura 17** - Micrografias eletrônica de varredura de NcOEsC (a, b) e de NcOFiC (c, d)



Fonte: autoria própria (2026)

As micrografias retiradas indicam que ambas as nanocápsulas apresentaram formato esférico, o que é esperado, por ser típico deste tipo de nanopartícula. A escala apresentada nas imagens foi de 3 a 50  $\mu\text{m}$ , os quais são resoluções superiores para uma boa observação de nanopartículas. A forma como o equipamento realiza a imagem depende de fatores como condutividade, poder de penetração e vácuo, os quais podem gerar uma deformação de nanopartículas. Esses fatores podem ter induzido aos maiores tamanhos das nanocápsulas observadas nas micrografias retiradas (Aziz *et al.*, 2025).

## 5.5 COMPLEXAÇÃO COM PROTEÍNAS

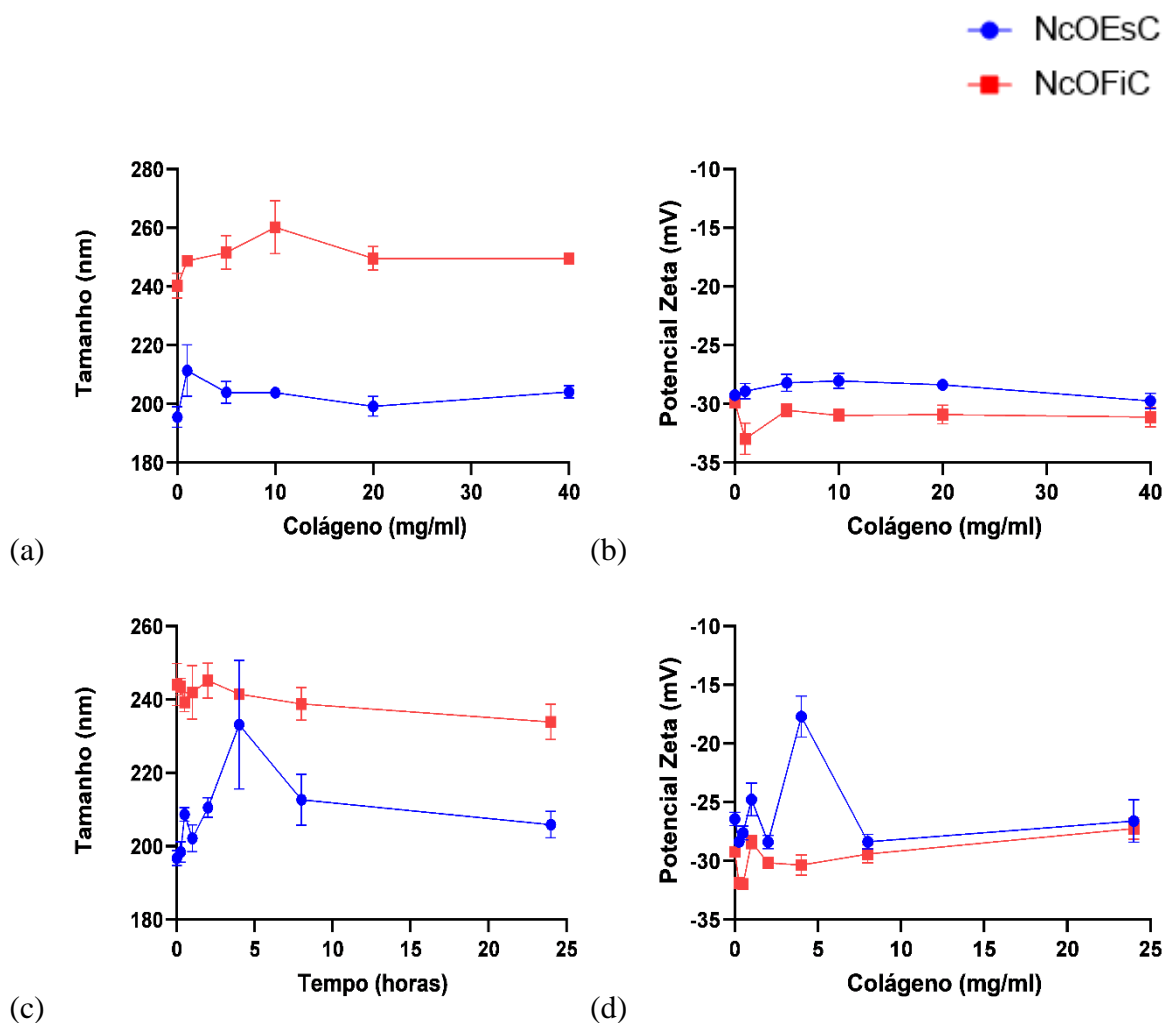
Quando presentes em um sistema biológico, nanopartículas acabam interagindo com diferentes elementos com o tempo, que fazem com que nanopartículas fiquem rodeadas de biomoléculas ou de outras nanopartículas. Essa circunvizinhança é nomeada de coroa e ela pode influenciar consideravelmente no desempenho delas no sistema, como, por exemplo, induzir a fagocitação por macrófagos ou facilitar sua entrada no alvo desejado. A coroa de uma

nanopartícula pode também levar a alterações no seu tamanho, visto que a coroa pode levar ao afrouxamento ou intensificação das interações dos seus componentes; ou no seu potencial Zeta, já que outras moléculas podem aumentar ou neutralizar suas cargas (Wietrzyk *et al.*, 2025).

Testes que têm como objetivo visualizar a interação de nanopartículas com biomoléculas servem para prever o comportamento do nanossistema em tecidos biológicos, sendo utilizadas frequentemente moléculas abundantes no corpo, como albuminas e lisozimas. Com isso, o colágeno é a principal proteína encontrada na maioria das matrizes extracelulares e observar como alguma nanopartícula interage com ele pode mostrar o comportamento deste nanossistema de entrega fora do sistema circulatório, como também em uma aplicação tópica, cujo desempenho em tecido cutâneo, o qual é rico em colágeno, é essencial (Sagawa; Terao, 2024).

Dito isso, os valores de tamanho e potencial Zeta gerados pela interação das NCPs produzidas em diferentes concentrações de colágeno e em diferentes tempos podem ser observados na Figura 18, respectivamente.

**Figura 18** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas incubadas sob diferentes concentrações de colágeno a 30 minutos (a, b) e sob 5 mg/ml em diferentes períodos de tempo (c, d)



Fonte: autoria própria (2026)

É perceptível que ambas as NCPs, na maioria das situações, não tiveram alterações significativas pela metodologia utilizada. Contudo, a menor concentração de colágeno apresentou a maior influência no tamanho de NcOEsC e na concentração de 10 mg/ml em relação ao NcOFiC. Quando submetidos a diferentes tempos de incubação, NcOFiC não apresentou nenhuma modificação considerável ao longo das 24 horas, mas NcOEsC teve um aumento significativo em 4 horas, havendo aumentos em tamanho e PDI e neutralização na sua carga.

As interações geradas com o colágeno podem levar à atração, fazendo com que nanopartículas sejam adsorvidas por ele, ou à repulsão, que faz com que elas o evitem e tendam a se agregar. Devido a isso, as interações com o colágeno podem afetar na distribuição do nanossistema de entrega no tecido, aumentando a permanência da nanopartícula íntegra no

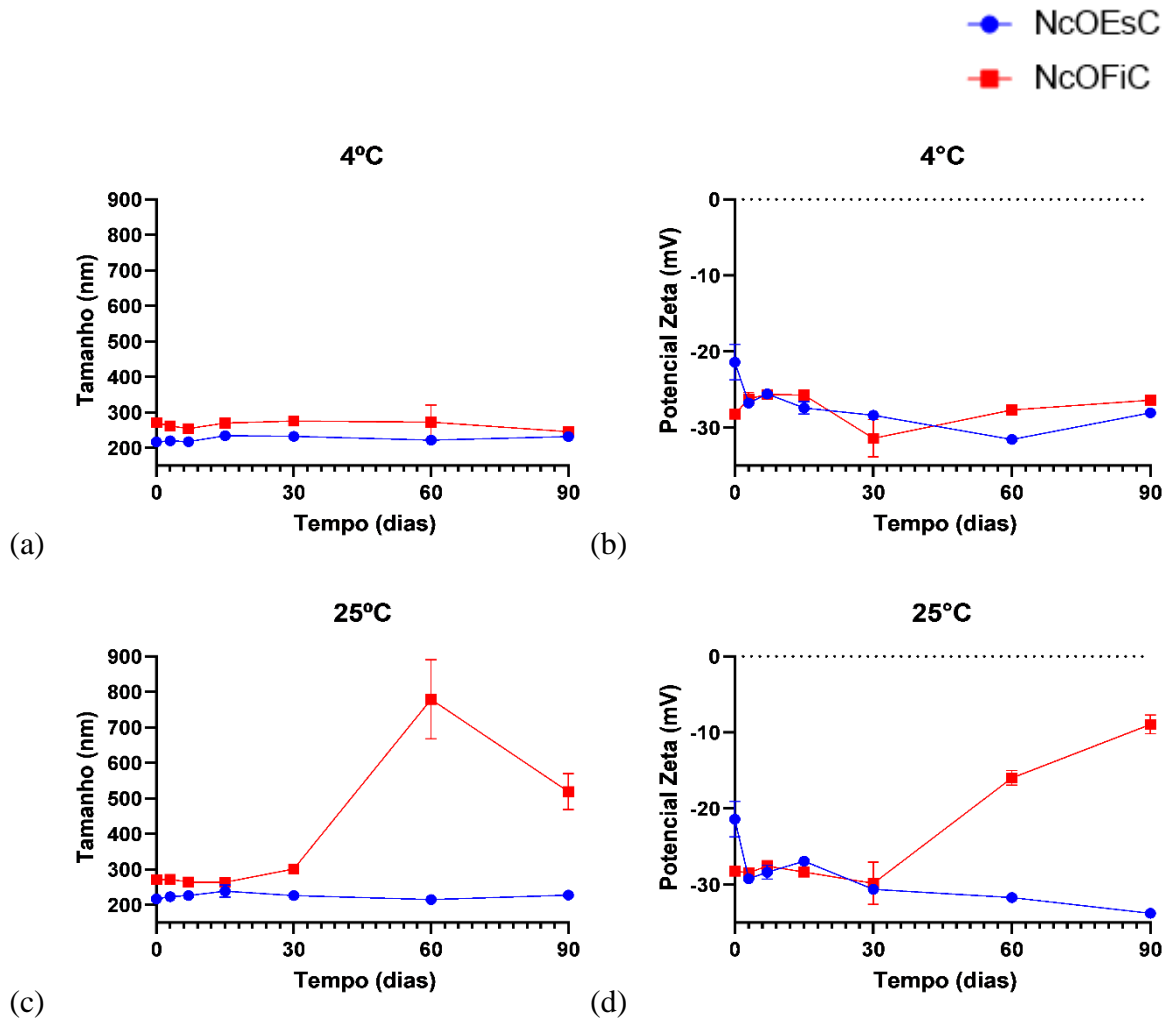
local ou impedindo sua ação, nos casos da adsorção e da agregação, respectivamente (Kumar *et al.*, 2018).

Como as nanocápsulas não apresentaram uma interação constante nas condições estudadas, isto indica que o colágeno não é um fator importante na sua distribuição. Isso pode ser um aspecto desfavorável para uma aplicação tópica, visto que a baixa interação pode levar a uma rápida depuração das nanocápsulas no tecido cutâneo para a corrente sistêmica, impedindo uma ação prolongada deste agente contra os microrganismos infectantes. Mas vale ressaltar que outros parâmetros como pH, temperatura e outras moléculas podem modificar as interações entre colágeno e nanopartículas (Terao; Otsubo; Abe, 2020).

## 5.6 ESTABILIDADE DOS NANOSSISTEMAS

Os nanossistemas foram postos por 3 meses a temperaturas de 4 e 25 °C com tamanho e potencial Zeta sendo vistos na Figura 19. Nesse período, as duas formulações permaneceram estáveis, com exceção de NcOFiC em 60 dias a 25 °C, a qual foi do tamanho de 271,67 nm, PdI de 0,19 e potencial Zeta de -28,23 para 519,37 nm, 0,71 e -8,94 mV.

**Figura 19** - Gráficos de tamanho e potencial Zeta das nanocápsulas finais ao longo de 90 dias em 4°C (a, c) e 25°C (b, d)



Fonte: autoria própria (2026)

As formulações realizadas podem ser consideradas como suspensões coloidais, em que os coloides, ou as NCPs, estão dispersos em uma suspensão aquosa. Devido a isso, as nanocápsulas estão em constante movimentação no sistema e elas acabam interagindo com outras nanocápsulas a partir de forças eletromagnéticas, interação entre componentes superficiais, pontes de hidrogênio e depleção. Essas interações fazem com que haja a coalisão de nanocápsulas, que se tornam mais densas, provocando a sedimentação destas nanopartículas. Esses processos de coalisão e sedimentação tornam inviável o uso desses materiais e, por isso, apesar de sempre ocorrerem, devem ocorrer tardiamente para prolongar sua vida útil (Kamiya *et al.*, 2008).

A estabilidade ao longo de um período de um nanossistema, ou seja, a ausência de agregações das nanopartículas, pode ser medida a partir dos parâmetros de tamanho, PDI e potencial Zeta. O tamanho deve continuar próximo ao observado na primeira análise para que

seja desconsiderada instabilidade do nanossistema, visto que o aumento do diâmetro médio das nanopartículas implica na presença de agregação ou na absorção de elementos com o tempo. O crescimento no valor de PDI implica que a uniformidade de tamanho presente em um período inicial foi perdida pelos processos de instabilidade. Já o potencial Zeta é uma medida de capacidade de interação entre nanopartículas, já que quanto mais distante for a voltagem da neutralidade, maior a força de repulsão e menor a possibilidade de agregação (Zielińska *et al.*, 2020).

NcOFiC apresentou um aumento considerável em seu tamanho médio a partir de 60 dias, o que indica que o processo de agregação de nanopartículas se tornou maior nesse período. O alto PDI a partir do segundo mês também indica a instabilidade do nanossistema e que a agregação não estava ocorrendo de maneira homogênea. O potencial Zeta próximo da neutralidade mostra como o poder de repulsão das nanopartículas diminuiu, provocando uma maior agregação. A instabilidade ocorrida a 25°C, mas não a 4°C, em NcOFiC pode ser atrelada à maior movimentação de partículas com o aumento da temperatura, gerando maior possibilidade de interação delas na suspensão (Zielińska *et al.*, 2020; Kamiya *et al.*, 2008).

## 5.7 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

### 5.7.1 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana das nanocápsulas finais e dos óleos isolados está presente a seguir na Tabela 8.

**Tabela 8** - CIM de OEC, OFC, NcOEsC e NcOFiC

Linhagens microbianas	CIM ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	OEC	NcOEsC	OFC	NcOFiC
<b>24 horas</b>				
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	1024	1024	N/A	1024
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	1024	1024	N/A	1024
<i>S. aureus</i> (ATCC 13150)	1024	512	N/A	128
<i>C. albicans</i> (ATCC 76645)	1024	N/A	N/A	16
<b>48 horas</b>				
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	N/A	0,5	N/A	0,5
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	N/A	128	N/A	16
<i>S. aureus</i> (ATCC 13150)	N/A	128	N/A	32
<i>C. albicans</i> (ATCC 76645)	N/A	N/A	N/A	16

N/A: nenhuma atividade

Fonte: autoria própria (2026)

Diante desses resultados, é possível observar que o poder de inibição das NCPs foi superior aos óleos isolados. O OEC foi o único óleo isolado que apresentou atividade antimicrobiana, com a maior concentração estudada sendo capaz de impedir o crescimento dos 4 microrganismos estudados no primeiro dia, no entanto, esse efeito não foi observado após 48 horas. Isso indica que a ação do primeiro dia não inibiu totalmente os microrganismos, com os sobreviventes conseguindo crescer posteriormente, seja por uma perda por volatilização ou por transformação química, típica de óleos essenciais (Mrás *et al.*, 2025).

Os óleos essencial e fixo de copaíba estudados demonstraram ter uma atividade antioxidante, o que pode ter contribuído com a ação antimicrobiana observada. Além disso, os sesquiterpenos e diterpenos presentes nesses óleos de copaíba já demonstraram possuir atividade contra microrganismos em diversos trabalhos (Jang; Rhee; Eom, 2020; Dickson *et al.*, 2023; Cardinelli *et al.*, 2023). Contudo, a atividade antimicrobiana dos óleos isolados foi baixa ou nula, o que indica que características destes óleos dificultaram a ação dos seus princípios ativos, o que pode ser atribuído a uma baixa solubilidade e baixa permeabilidade desses sistemas (Tenchov *et al.*, 2025).

As nanocápsulas com os óleos de copaíba foram efetivas em todos os casos, com o prolongamento da exposição aumentando consideravelmente o poder inibitório, tirando o caso da NcOEsC contra *C. albicans*, o qual não apresentou resultados mesmo após 48 horas.

As nanocápsulas tiveram uma atividade maior que os óleos isolados, o que pode ter sido gerado pela liberação controlada e estendida dos componentes propiciada por este tipo de encapsulação, como também pela internalização destes compostos nos microrganismos, (Kapustová *et al.*, 2021). Mas essa sinergia não foi visualizada com o NcOEsC contra *C. albicans*, podendo ter ocorrido por conta de dificuldade de penetração pela parede celular deste fungo. Apesar disso, esses resultados indicam que os compostos presentes nos óleos de copaíba têm potencial antimicrobiano, as características intrínsecas de suas matrizes impedem sua ação e a integração com nanocápsulas contorna esses obstáculos. Além disso, NcOFiC demonstrou ter uma maior atividade antimicrobiana por apresentar CIMs iguais ou inferiores aos NcOEsC, o que pode ser explicado pelas características dos componentes ou uma melhor adaptação do óleo fixo ao nanossistema.

### **5.7.2 Atividade Antibiofilme**

A atividade antibiofilme das nanocápsulas finais está presente a seguir na Tabela 9. Os óleos isolados e a nanocápsula de MCT não tiveram nenhuma ação contra os biofilmes dos organismos estudados.

**Tabela 9** - Poder de inibição de biofilme das nanocápsulas finais

Linhagens microbianas	Inibição de Biofilme (%)		
	NcOEsC		
	256 µg/ml	128 µg/ml	64 µg/ml
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	48,67	35,97	32,05
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	68,59	36,37	N/A
<i>S. aureus</i> (ATCC 13150)	73,95	42,50	N/A
<i>C. albicans</i> (ATCC 76645)	N/A	N/A	N/A
	NcOFiC		
	64 µg/ml	32 µg/ml	16 µg/ml
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	70,15	79,57	74,54
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	76,95	78,36	33,67
<i>S. aureus</i> (ATCC 13150)	76,39	31,94	N/A
<i>C. albicans</i> (ATCC 76645)	42,77	44,68	29,93

N/A: nenhuma atividade

Fonte: autoria própria (2026)

Os óleos de copaíba isolados não foram capazes de inibir os biofilmes mesmo nas maiores concentrações estudadas, tampouco a nanocápsula de MCT. Isso mostra que a inibição de biofilme vista nas nanocápsulas finais não pode ser atribuída à nanocápsula em si, sem considerar seus princípios ativos, visto que MCT é uma matriz oleosa sem atividade biológica vinculada.

As nanocápsulas carreando os óleos de copaíba demonstraram possuir atividade antibiofilme contra os microrganismos estudados, tirando o caso da NcOEsC contra *C. albicans*, a qual, da mesma forma que no estudo antimicrobiano, não se mostrou efetiva, o que indica que este sistema não está adaptado para combater esta levedura. O estudo feito por Kapustová *et al.* (2021) também observou que nanocápsulas carreando óleos vegetais tiveram ação antibiofilme superior aos óleos isolados.

Com isso, este teste também corroborou o fato de que os óleos de copaíba possuem princípios ativos com atividade biológica, mas que, por características destas matrizes, estes compostos não conseguem ser direcionados de maneira correta. A forma como os compostos são liberados é algo ainda mais importante na atividade contra biofilmes, já que as

concentrações dos componentes devem ser constantes para uma ação efetiva, o que é próprio de NCPs (Vuotto; Donelli, 2019; Kapustová *et al.*, 2021).

A ação mais significativa foi da NcOFiC contra *P. aeruginosa*, cuja inibição foi semelhante nas concentrações de 16 a 64 µg/ml. Além disso, NcOFiC apresentou uma maior atividade antibiofilme, visto que concentrações menores dela provocaram inibições iguais ou superiores às observadas em NcOEsC. Essa maior atividade pode ser explicada por um maior potencial dos componentes presentes no óleo fixo ou uma adaptação mais favorável deste óleo no nanossistema.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cromatografia dos óleos estudados revelou que o composto majoritário do OEC foi  $\beta$ -cariofileno. Enquanto o OFC teve perfil cromatográfico indicativo de presença de diterpenos. O OEC apresentou um  $CE_{50}$  de  $45,76 \pm 0,53$  mg/ml em relação à capacidade de reduzir DPPH, mas não teve atividade antioxidante contra ABTS. Já o OFC apresentou uma baixa capacidade antioxidante contra DPPH, reduzindo somente  $9,44\% \pm 1,44$  desse radical. O desenvolvimento de NCPs mostrou que o ponto máximo de saturação dos polímeros PCL-10 e PCL-80 foi de 150 e 40 mg, respectivamente, com concentrações maiores influenciando negativamente o tamanho e PDI. A concentração máxima do óleo essencial e fixo de copaíba foi de 100 mg, com concentrações superiores gerando crescimento de tamanho e PDI e maior externalização de óleo visualizada por microscopia óptica e por aumento de padrões de transmitância nas nanopartículas semelhante aos óleos. A variação na concentração dos tensoativos demonstrou que as NCPs confeccionadas não se comportavam como uma emulsão o/a típica, com o aumento da concentração de tensoativos hidrofílicos e diminuição de tensoativos lipofílicos nem sempre levando a menores diâmetros delas. Com isso, 40 mg de PCL-80, 20 mg de Lipoid<sup>®</sup>s100, 100 mg de óleo e 60 mg de Kolliphor<sup>®</sup>ELP resultando em NCPs com óleo de copaíba menores. As nanocápsulas finais tiveram espectro de infravermelho semelhante ao Kolliphor<sup>®</sup>ELP e PCL-80, o que indica a ausência de externalização de óleo. NcOEsC apresentou um doseamento esperado e uma alta EE%. As micrografias de MEV das nanocápsulas finais demonstraram a presença de nanopartículas esféricas, mas com tamanhos maiores que o esperado, o que pode ser uma consequência do próprio método. As nanocápsulas finais não tiveram uma interação significativa com o colágeno, independentemente da concentração do colágeno ou tempo de interação na incubação. NCPs se mostraram estáveis em 4 e 25°C, menos NCP com OFC, a qual apresentou instabilidade em 60 dias a partir de 60 dias. A integração dos óleos de copaíba em NCPs demonstrou aprimorar a atividade antimicrobiana e antibiofilme destes óleos contra patógenos cutâneos, aumentando significativamente essas ações, a não ser em relação a NCP de OEC contra *Candida albicans*, não tendo nenhuma atividade observada.

## REFERÊNCIAS

ADIB, Y.; BENSUSSAN, A.; MICHEL, L. Cutaneous Wound Healing: a Review about Innate Immune Response and Current Therapeutic Applications. **Mediators Inflamm.**, 2022. DOI: 10.1155/2022/5344085.

ALMEIDA, K. B. *et al.* PLGA nanoparticles optimized by Box-Behnken for efficient encapsulation of therapeutic *Cymbopogon citratus* essential oil. **Colloids Surf.**, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.06.010.

ARRUDA, C. *et al.* Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera genus*: a review. **Biomed. Pharmacother.**, 2019. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.10.030.

ASSOLINI, J. P. *et al.* 4-nitrochalcone exerts leishmanicidal effect on *L. amazonensis* promastigotes and intracellular amastigotes, and the 4-nitrochalcone encapsulation in beeswax copaiba oil nanoparticles reduces macrophages cytotoxicity. **Eur. J. Pharmacol.**, 2020. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173392.

AZIZ, A. *et al.* Microscopic techniques for nanomaterials characterization: a concise review. **Microsc. Res. Tech.**, v. 88, n. 5, 2025. DOI: 10.1002/jemt.24799.

BAEK, J. *et al.* Encapsulation and controlled release of vitamin C in modified cellulose nanocrystal/chitosan nanocapsules. **Curr. Res. Food Sci.**, v. 4, 2021. DOI: 10.1016/j.crf.2021.03.010.

BAYDA, S. *et al.* The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, 2020. DOI: 10.3390/molecules25010112.

BERGMAN, M. E.; DAVIS, B.; PHILLIPS, M. A. Medically useful plant terpenoids: biosynthesis, occurrence and mechanism of action. **Molecules**, v. 24, n. 21, 2019. DOI: 10.3390/molecules24213961.

BLANCO, I. M. R. *et al.* Conventional and PEGylated liposomes as vehicles of *Copaifera sabulicola*. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020671.

BONAN, R. F. *et al.* In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera* sp.) oil. **Mater. Sci. Eng.**, 2015. DOI: 10.1016/j.msec.2014.12.021.

BONFIM, S. A.; CASABIANCA, H.; OLIVEIRA, A. H. Analysis of the composition and purity of essential oils and resins from copaiba (*Copaifera* spp). **Obs. Econ. Latinoam.**, v. 23, n. 7, 2025. DOI: 10.55905/oelv23n7-061.

BORGES, V. R. A. *et al.* Development and pharmacological evaluation of *in vitro* nanocarriers composed of lamellar silicates containing copaiba oil-resin for treatment of endometriosis. **Mater. Sci. Eng.**, v. 64, 2016. DOI: 10.1016/j.msec.2016.03.094.

BURIN, G. R. M *et al.* Innovative formulations of PCL: pluronic monoliths with copaiba oleoresin using supercritical CO<sub>2</sub> foaming/mixing to control *Aedes aegypti*. **J. Supercrit. Fluids**, v. 186, 2022. DOI: 10.1016/j.supflu.2022.105607.

CARDINELLI, C. C. *et al.* Toxicological effects of copaiba oil (*Copaifera* spp.) and its active components. **Plants**, v. 12, n. 5, 2023. DOI: 10.3390/plants12051054.

CARVALHO, T. *et al.* Synthesis of copaiba (*Copaifera officinalis*) oil nanoemulsion and the potential against Zika virus: an *in vitro* study. **PloS ONE**, v. 18, n. 9, 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0283817.

CEDENO, J. A. *et al.* Early prediction of 30-day mortality in patients with surgical wound infections following cardiothoracic surgery: development and validation of the SWICS-30 score utilizing conventional logistic regression and artificial neural network. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 29, n. 2, 2025. DOI: 10.1016/j.bjid.2025.104510.

CHRISTENSEN, S. B. Natural products that changed society. **Biomedicines**, v. 9, n. 472, 2021. DOI: 10.3390/biomedicines9050472.

CORRÊA, A. N. R.; FERREIRA, C. D. Essential oil for the control of fungi, bacteria, yeasts and viruses in food: an overview. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 63, n. 27, 2023. DOI: 10.1080/10408398.2022.2062588.

DABROWSKA, A. K. *et al.* The relationship between skin function, barrier properties and body-dependent factors. **Skin Res. Technol.**, v. 24, n. 2, 2018. DOI: 10.1111/srt.12424.

DICKSON, K. *et al.* Antibacterial and analgesic properties of beta-caryophyllene in a murine urinary tract infection model. **Molecules**, v. 28, n. 10, 2023. DOI: 10.3390/molecules28104144.

ELSHAFIE, H.; CAMELE, I.; MOHAMED, A. A. A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 24, n. 4, 2023. DOI: 10.3390/ijms24043266.

ELZEIN, T. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 273, n. 2, 2004. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.001.

FARMOUDEH, A. *et al.* Methylene blue-loaded niosome: preparation, physicochemical characterization, and in vivo wound healing assessment. **Drug Deliv. Transl. Res.**, v. 10, 2020. DOI: 10.1007/s13346-020-00715-6.

FERREIRA, M. S. V.; MOUSAVI, S. H. Nanofiber technology in the ex vivo expansion of cord blood-derived hematopoietic stem cells. **Nanomedicine**, v. 14, 2018. DOI: 10.1016/j.nano.2018.04.017.

FIDTY, K.  $\beta$ -caryophyllene and  $\beta$ -caryophyllene oxide: natural compounds of anticancer and analgesic properties. **Cancer Med.**, v. 5, n. 10, 2016. DOI: 10.1002/cam4.816.

FORMIGA, A. L. D. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da atividade antitumoral em células de adenocarcinoma mamário humano de nanocápsulas poliméricas contendo derivados de isatina.** 138 f. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2025.

FORRISTER, D. L. *et al.* Diversity and divergence: evolution of secondary metabolism in the tropical tree genus *Inga*. **New Phytol.**, v. 237, n. 2, 2023. DOI: 10.1111/nph.18554.

FRAZÃO, D. R. *et al.* Evaluation of the biological activities of Copaiba (*Copaifera* spp.): a comprehensive review based on scientometric analysis. **Front. Pharmacol.**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fphar.2023.1215437.

FREIRE, I. C. M. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 16, n. 2, 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/12\_053.

GOLAN, Y. Current treatment option for acute skin and skin-structure infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 68, 2019. DOI: 10.1093/cid/ciz004.

GUO, X. *et al.* Natural products from herbal medicine self-assemble into advanced bioactive materials. **Adv. Sci.**, v. 11, n. 35, 2024. DOI: 10.1002/advs.202403388.

IBIAPINA, A. *et al.* Essential and fixed oils from Amazonian fruits: properties and applications. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 62, n. 32, 2022. DOI: 10.1080/10408398.2021.1935702.

ISHAK, H. *et al.* Essential oil as a new tool for larvicidal *Aedes aegypti*: a systematic review. **Gac. Sanit.**, v. 35, n. S2, 2021. DOI: 10.1016/j.gaceta.2021.10.074.

JANG, H. I.; RHEE, K. J.; EOM, Y. B. Antibacterial and antibiofilm effects of  $\alpha$ -humulene against *Bacteroides fragilis*. **Can. J. Microbiol.**, v. 66, n. 6, 2020. DOI: 10.1139/cjm-2020-0004.

JU, J. *et al.* Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 92, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.08.005.

KAMARAJ, C. *et al.* Ag nanoparticles synthesized using  $\beta$ -caryophyllene isolated from *Murraya koenigii*: antimalarial (*Plasmodium falciparum* 3D7) and anticancer activity (549 and HeLa cell lines). **J. Clust. Sci.**, v. 28, 2017. DOI: 10.1007/s10876-017-1180-6.

KAMIYA, H. *et al.* Characteristics and behavior of nanoparticles and its dispersion systems. In: HOSAKAWA, M. *et al.* (ed.). **Nanoparticle Technology Handbook**. Elsevier: Londres, 2008. DOI: 10.1016/B978-044453122-3.50006-4.

KAPUSTOVÁ, M. *et al.* Biofilm inhibition by biocompatible poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules loaded with essential oils and their cyto/genotoxicity to human keratinocyte cell line. **Int. J. Phar.**, v. 606, 2021. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120846.

KHALIFEA, H. H.; ALI, N. M. Exploring the principles of GC-MS: techniques and applications. **Phys. Sci. Life Sci. Eng.**, v. 2, n. 3, 2025. DOI: 10.47134/pslse.v2i3.388.

KUMAR, S. *et al.* Structure and interaction of nanoparticle-protein complexes. **Langmuir**, v. 34, n. 20, 2018. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b00110.

LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA, E. C. P. Produção da oleorresina de copaíba em função da sazonalidade. *In*: LAMEIRA, O. A.. **Copaíba (Copaifera spp.)**. Piracanjuba: Editora Conhecimento Livre, 2023.

LI, S. *et al.* The potential impact of antibiotic exposure on the microbiome and human health. **Microorganisms**, v. 13, n. 3, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13030602.

LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiol. and Biochem.**, v. 148, n. 1, 2020. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.

LIMA, A. L. *et al.* Polymeric nanocapsules: a review on design and production methods for pharmaceutical purpose. **Methods**, v. 199, 2022. DOI: 10.1016/j.ymeth.2021.07.009.

LIU, J. X. *et al.* Evolution of polymer colloid structure during precipitation and phase separation. **JACS Au**, v. 1, n. 7, 2021. DOI: 10.1021/jacsau.1c00110.

MA, X. *et al.*, Nanotechnology in healthcare, and its safety and environmental risks. **J. Nanobiotechnology**, v. 22, n. 1, 2024. DOI: 10.1186/s12951-024-02901-x.

MAZUR, K. L. *et al.* Diethyldithiocarbamate loaded in beeswax-copaiba oil nanoparticles obtained by solventless double emulsion technique promote promastigote death *in vitro*. **Colloids Surf.**, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.12.048.

MEDEIROS, R. S.; VIEIRA, G. Sustainability of extraction and production of copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oleoresin in Manaus, AM, Brazil. **For. Ecol. Manag.**, v.256, n. 3, 2008. DOI: 10.1016/j.foreco.2008.04.041.

MEHANDOLE, A. *et al.* Core-shell type lipidic and polymeric nanocapsules: the transformative multifaceted delivery systems. **AAPS PharmSciTech.**, v. 24, n. 1, 2023. DOI: 10.1208/s12249-023-02504-z.

MIDIAN, H.; CUBEDDU, L. X.; GILL, E. J. Harnessing nanotechnology to enhance essential oil applications. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025. DOI: 10.3390/molecules30030520.

MITCHELL, M. J. *et al.* Engineering precision nanoparticles for drug delivery. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 20, n. 2, 2021.

MRÁZ, P. *et al.* Antibacterial activity and chemical composition of popular plant essential oils and their positive interactions in combination. **Molecules**, v. 30, n. 9, 2025. DOI: 10.3390/molecules30091864.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C.. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 22, n. 7, 2021. DOI: 10.3390/ijms22073380.

NABI, H. B. *et al.* Essential oils: advances in extraction techniques, chemical composition, bioactivities, and emerging applications. **Food. Chem. Adv.**, v. 8, 2025. DOI: 10.1016/j.focha.2025.101048.

NAQVI, S. A. R. *et al.* Antioxidants: natural antibiotics. *In*: SHALABY, E.; BRZOZOWSKI, T. **Antioxidants**. [s.l.]: IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.84864.

NASEEF, P. P. *et al.* Recent development in applications of nano-science in incurable diseases: a review. **J. Pharm. Biol. Sci.**, v. 9, n. 1, 2021. DOI: 10.18231/j.jpbs.2021.003.

NIGRO, F. *et al.* Development, characterization and *in vitro* toxicity evaluation of nanoemulsion-loaded hydrogel based on copaiba oil and coenzyme Q10. **Colloids Surf.**, 2020. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2019.124132.

NG, N.; ROGERS, M. A. Surfactants. *In*: MELTON, L.; SHAHIDI, F.; VARELIX, P. **Encyclopedia of Food Chemistry**. Oxford: Academic Press, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21598-9.

OLIVEIRA, R. L. C. *et al.* Conhecimento tradicional e usos de copaíba pela comunidade Makuxi Darora na savana de Roraima. **Gaia Sci.**, v. 13, n. 2, 2019. DOI: 10.22478/ufpb.1981-1268.2019v13n2.46242.

OLIVEIRA, T. S. *et al.* A patent data analysis in nanotechnology applied to essential oils. **Recent Pat. Nanotechnol.**, v. 16, n. 2, 2022. DOI: 10.2174/1872210515666210217090541.

OMIDIAN, H.; CUBEDDU, L. X.; GILL, E. J. Harnessing nanotechnology to enhance essential oil applications. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025. DOI: 10.3390/molecules30030520.

ORTIZ-TAFOYA, M. C.; TECANTE, A.. Physicochemical characterization of sodium stearoyl lactylate (SSL), polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20) and  $\kappa$ -carrageenan. **Data Brief**, v. 19, 2018. DOI: 10.1016/j.dib.2018.05.064.

PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J.. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy in characterization of green synthesized nanoparticles. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025. DOI: 10.3390/molecules30030684.

PINTO, E. P. *et al.* Copaiba essential oil loaded-nanocapsules film as a potential candidate for treating skin disorders: preparation, characterization, and antibacterial properties. **Int. J. Pharm.**, v. 633, 2023a. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.122608.

PINTO, E. P. *et al.* Poly- $\epsilon$ -caprolactone nanocapsules loaded with copaiba essential oil reduce inflammation and pain in mice. **Int. J. Pharm.**, v. 642, 2023b. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123147.

PRAKASH, S. Nano-based drug delivery system for therapeutics: a comprehensive review. **Biomed. Phys. Eng. Express**, v. 9, n. 5, 2023. DOI: 10.1088/2057-1976/acedb2.

PRAMANIK, J. *et al.* A perspective review on the biosynthesis of plant-based secondary metabolites and their application as potent drugs. **Biocell**, v. 48, n. 4, 2024. DOI: 10.32604/biocell.2023.029031.

PUROHIT, D. *et al.* Nanocapsules: an emerging drug delivery system. **Recent Pat. Nanotechnol.**, v. 17, n. 3, 2023. DOI: 10.2174/1872210516666220210113256.

RAMSEY, J. T. *et al.* Essential oils and health. **Yale J. Biol. Med.**, v. 93, n. 2, 2020.

RESHI, Z. A. *et al.* From nature to lab: a review of secondary metabolites biosynthetic pathways, environmental influences, and in vitro approaches. **Metabolites**, v. 13, n. 8, 2023. DOI: 10.3390/metabo13080895.

RODRIGUES, E. C. R. *et al.* Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 24, n. 6, 2014. DOI: 10.1016/j.bjp.2014.10.013.

RODRIGUES, P. F. A. **Citoxidade, capacidade antioxidante dos óleos vegetais de Carapa guianensis aubl (andiroba) e Copaifera reticulata benth (copaíba)**. 2023. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2023.

RODRIGUES, V. M. *et al.* Copaiba oil-loaded polymeric nanocapsules: production and in vitro biosafety evaluation on lung cells as a pre-formulation step to produce phytotherapeutic medicine. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15010161.

SAGAWA, K.; TERAOKA, K. Complex formation of gold nanoparticles with collagen in aqueous media studied by X-ray scattering and absorption spectroscopy. **Langmuir**, v. 40, n. 39, 2024. DOI: 10.1021/acs.langmuir.4c02903.

SAKEENA, M. H. F. *et al.* Effects of oil and drug concentrations on droplets size of palm oil esters (POEs) nanoemulsion. **J. Oleo Sci.**, v. 60, n. 4, 2011. DOI: 10.5650/jos.60.155.

SATTAYAKHOM, A.; WICHIT, S.; KOOMIHIN, P. The effects of essential oils on the nervous system: a scoping review. **Molecules**, v. 28, n. 9, 2023. DOI: 10.3390/molecules28093771.

SEGEV-ZARKO, L. A.; SHAI, Y.. Methods for investigating biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides. *In*: HANSEN, P. (ed.). **Antimicrobial Peptides**. Nova Iorque: Humana Press, 2017. DOI: 10.1007/978-1-4939-6737-7\_22.

SEN, T; SAMANTA S. K. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *In*: MUKHERJEE, J. **Biotechnological Applications of Biodiversity**. [s.l.]: Springer, 2014. DOI: 10.1007/10\_2014\_273.

SHARMA, S. *et al.* High-level biosynthesis of enantiopure germacrene D in yeast. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 108, n. 50, 2024. DOI: 10.1007/s00253-023-12885-7.

SHI, X. *et al.* Optical visualization and imaging of nanomaterials. **Nanoscale Adv.**, v. 3, n. 4, 2021. DOI: 10.1039/D0NA00945H.

SHUKLA, U. Fourier transform infrared spectroscopy: a powerful method for creating fingerprint of Molecules of nanomaterials. **J. Mol. Struct.**, v. 1322, n. 2, 2025. DOI: 10.1016/j.molstruc.2024.140454.

SMYTHE, P.; WILKINSON, H. N. The skin microbiome: current landscape and future opportunities. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 24, n. 4, 2023. DOI: 10.3390/ijms24043950.

SOUSA, D. P. de *et al.* Essential oils: chemistry and pharmacological activities. **Biomolecules**, v. 13, 2023. DOI: 10.3390/biom13071144.

SVETLICHNY, G. *et al.* Assessing the performance of copaiba oil and allantoin nanoparticles on multidrug-resistant *Candida parapsilosis*. **J. Drug Deliv. Sci. Technol.**, v. 40, 2017. DOI: 10.1016/j.jddst.2017.05.020.

SUPPAJARIYAWAT, P. *et al.* The use of chemical composition and additives to classify petrol and diesel using gas chromatography–mass spectrometry and chemometric analysis: a UK study. **Open Chem.**, v. 17, n. 1, 2019. DOI: 10.1515/chem-2019-0021.

TENCHOV, R. *et al.* Transforming medicine: cutting-edge applications of nanoscale materials in drug delivery. **ACS Nano**, v. 19, 2025. DOI: 10.1021/acsnano.4c09566.

TERAO, K.; OTSUBO, M.; ABE, M. Complex formation of silica nanoparticles with collagen: effects of the conformation of collagen. **Langmuir**, v. 36, n. 27, 2020. DOI: 10.1021/acs.langmuir.0c02867.

VARGAS, F. S. *et al.* Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. oleoresins. **Molecules**, v. 20, n. 4, 2015. DOI: 10.3390/molecules20046194.

VENTURINI, C. G. *et al.* Co-encapsulation of imiquimod and copaiba oil in novel nanostructured systems: promising formulations against skin carcinoma. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 79, 2015. DOI: 10.1016/j.ejps.2015.08.016.

VUOTTO, C.; DONELLI, G. Novel treatment strategies for biofilm-based infections. **Drugs**, v. 79, n. 15, 2019. DOI: 10.1007/s40265-019-01184-z.

WANG, C. H. *et al.* Defeating antibiotic-resistant bacteria: exploring alternative therapies for a post-antibiotic era. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 21, n. 3, 2020. DOI: 10.3390/ijms21031061.

WANG, X. *et al.* Nano-omics: frontier fields of fusion of nanotechnology. **Smart Med.**, v. 2, n. 4, 2023. DOI: 10.1002/SMMD.20230039.

WATKINS, R. R.; DAVID, M. Z. Approach to the patient with a skin and soft tissue infection. **Infect. Dis. Clin. N. Am.**, v. 35, n. 1, 2021. DOI: 10.1016/j.idc.2020.10.011.

WIETRZYK, A. *et al.* Protein-functionalized nanoparticles: emerging strategies in drug delivery. **Biomed. Pharmacother.**, v. 189, 2025. DOI: 10.1016/j.biopha.2025.118337.

WU, S. *et al.* Incorporating Span 80 surfactant into lipid nanocapsules improves their biocompatibility and cellular uptake in B16F10 melanoma cells. **Int. J. Phar.**, v. 672, 2025. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2025.125358.

XAVIER-JÚNIOR, F. H. *et al.* Experimental design approach applied to the development of chitosan coated poly(isobutylcyanoacrylate) nanocapsules encapsulating copaiba oil. **Colloids Surf.**, 2018. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2017.02.055.

YEO, S. *et al.* Design and characterization of phosphatidylcholine-based solid dispersions of aprepitant for enhanced solubility and dissolution. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 5, 2020. DOI: 10.3390/pharmaceutics12050407.

YOO, H. J.; JWA, S. K. Inhibitory effects of  $\beta$ -caryophyllene on *Streptococcus mutans* biofilm. **Arch. Oral. Biol.**, v. 88, 2018. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.01.009.

YU, B. *et al.* Trend analysis and cross nations inequality analysis of infectious skin diseases from 1990 to 2021. **Arch. Dermatol. Res.**, v. 317, n. 1, 2025. DOI: 10.1007/s00403-024-03757-9.

ZHANG, Y.; LU, Q. Immune cells in skin inflammation, wound healing, and skin cancer. **J. Leukoc. Bio.**, v. 115, n. 5, 2024. DOI: 10.1093/jleuko/qiad107.

ZHAO, A.; SUN, J.; LIU, Y. Understanding bacterial biofilms: from definition to treatment strategies. **Front. Cell Infect. Microbiol.**, 2023. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1137947.

ZIELIŃSKA, A. *et al.* Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. **Molecules**, v. 25, n. 16, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163731.