UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E NANOBIOTECNOLOGIA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CARREGADOS COM CURCUMINA E QUERCETINA PARA APLICAÇÃO TÓPICA

BRASÍLIA
2026

WALBERSON DA SILVA REATGUI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CARREGADOS COM CURCUMINA E QUERCETINA PARA APLICAÇÃO TÓPICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília como requisito para obtenção do título de Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Luís Alexandre Muehlmann.

BRASÍLIA

2026

WALBERSON DA SILVA REATGUI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CARREGADOS COM CURCUMINA E QUERCETINA PARA APLICAÇÃO TÓPICA

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Luís Alexandre Muehlmann
(Orientador)

Prof. Dr. João Paulo Figueiró Longo

Dr.ª Rayane Ganassin

Dr. Bruno Iles

Dr. Alan Kelbis Oliveira Lima
(Suplente)

BRASÍLIA
2026

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus, ao universo e a todos os guias espirituais por terem me amparado e me dado a capacidade de vencer e continuar nos momentos de dificuldade ao longo do desenvolvimento deste doutorado. Aos meus pais e irmão, Jovenita da Silva, Waldson Reatgui e Willian Reatgui, por sempre acreditarem em minha capacidade e me auxiliarem em tudo que foi necessário para chegar até aqui. Isso só me fortaleceu nos dias bons e maus. Sou eternamente grato por tudo.

Um agradecimento muito especial ao meu marido, Luan Araujo, por todo o amor, paciência e apoio incondicional durante toda essa jornada. Sem você, esse caminho não teria sido o mesmo.

Aos amigos que a Universidade de Brasília me concedeu, especialmente: Bruno Iles (gratidão por todas as conversas e cafés que tivemos durante todo esse período), Gabriel Ribeiro e Isadora Florêncio, Albert Honorato, Tainá, Talita, Alan Kelbis, Joabe Araújo, Victória Paz e Viviana, que se tornaram verdadeiros amigos, fazendo com que o trabalho se tornasse mais leve e feliz. Foi bom poder contar com vocês.

Ao Prof. Dr. Ricardo Azevedo, aos colegas do laboratório de nanobiotecnologia e aos Professores do PPG-Nano, que contribuíram para a formação de meu conhecimento, pela disponibilidade, simpatia e gentileza nas aulas ministradas e pelas conversas nos corredores.

Ao Prof. Dr. Luís Muehlmann, meu orientador, que esteve comigo me incentivando a buscar e alcançar meus objetivos através do seu exemplo humano e profissional. Eu serei eternamente grato a vocês, pois são pessoas incríveis. A todos o meu sincero e profundo muito obrigado!

RESUMO

A demanda por produtos com bioativos, como a curcumina e a quercetina, tem crescido devido às suas propriedades farmacológicas, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena. No entanto, a insolubilidade destes compostos hidrofóbicos limita a sua veiculação em meios aquosos e a sua biodisponibilidade, gerando um gargalo a ser resolvido pela indústria biotecnológica. Nesse contexto, o desenvolvimento e a caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) surgem como uma alternativa para a encapsulação de curcumina e quercetina, com foco em aplicações cosméticas e nutracêuticas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar uma nanoformulação pelo método de temperatura de inversão de fases (PIT) com a capacidade de solubilizar e carrear compostos bioativos hidrofóbicos, visando aplicações em cosméticos. A metodologia incluiu o preparo de formulações otimizadas variando parâmetros como proporção lipídeo:tensoativo, volume de água e temperatura. Essas formulações foram caracterizadas por análises físico-químicas utilizando espalhamento dinâmico de luz (DLS), características organolépticas, estabilidade a longo prazo em diferentes condições de temperatura, microscopia eletrônica de transmissão (MET), análise de rastreamento de nanopartículas (ARN), FTIR, análises térmicas, ação antioxidante pelo método DPPH e ensaios de viabilidade celular. Os resultados mostraram que as formulações otimizadas apresentaram partículas com tamanhos médios inferiores a 100 nm, índice de polidispersidade (PDI) homogêneo ($\leq 0,2$) e potencial zeta negativo, indicando alta estabilidade coloidal. As análises espectroscópicas confirmaram a integridade química dos compostos após a encapsulação, enquanto os ensaios organolépticos evidenciaram formulações translúcidas e homogêneas. Em relação à estabilidade, as formulações demonstraram a manutenção das propriedades físico-químicas por até um ano, sem separação de fases ou sedimentação. A atividade antioxidante das nanopartículas foi superior à das formas livres de curcumina e quercetina, sugerindo potencial para aumento da biodisponibilidade e a proteção dos compostos promovida pela nanoencapsulação. Ensaios de viabilidade celular confirmaram a segurança das formulações para uso em produtos cosméticos e farmacêuticos. Conclui-se que os CLNs desenvolvidos representam uma solução eficaz e sustentável para a solubilização de compostos bioativos hidrofóbicos. A pesquisa destaca o potencial dessas nanoestruturas em valorizar recursos naturais da biodiversidade brasileira, como o Cerrado e a Amazônia, ao mesmo tempo em que contribui para o desenvolvimento de tecnologias inovadoras e ambientalmente responsáveis para as indústrias cosmética e nutracêutica.

Palavras-chave: Curcumina, Quercetina, Carreador Lipídico Nanoestruturado, Tucumã, Bacaba.

ABSTRACT

The demand for products containing bioactive compounds, such as curcumin and quercetin, has grown due to their pharmacological properties, which include antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities. However, the insolubility of these hydrophobic compounds limits their delivery in aqueous media and their overall bioavailability, creating a bottleneck that needs to be addressed by the biotechnology industry. In this context, the development and characterization of nanostructured lipid carriers (NLCs) emerge as a promising alternative for the encapsulation of curcumin and quercetin, with a focus on cosmetic and nutraceutical applications. The objective of this study was to develop and characterize a nanoformulation using the phase inversion temperature (PIT) method, capable of solubilizing and carrying hydrophobic bioactive compounds for cosmetic applications. The methodology included the preparation of optimized formulations by varying parameters such as the lipid-to-surfactant ratio, water volume, and temperature. These formulations were characterized through physicochemical analyses using dynamic light scattering (DLS), organoleptic characteristics, long-term stability under different temperature conditions, transmission electron microscopy (TEM), nanoparticle tracking analysis (NTA), FTIR, thermal analyses, DPPH antioxidant activity, and cell viability assays. The results demonstrated that the optimized formulations presented average particle sizes below 100 nm, a homogeneous polydispersity index (PDI $\leq$ 0.2), and a negative zeta potential, indicating high colloidal stability. Spectroscopic analyses confirmed the chemical integrity of the compounds after encapsulation, while organoleptic assays revealed translucent and homogeneous formulations. Regarding stability, the formulations maintained their physicochemical properties for up to one year without phase separation or sedimentation. The antioxidant activity of the nanoparticles was superior to that of the free forms of curcumin and quercetin, highlighting the enhanced bioavailability and the protective effect provided by nanoencapsulation. Cell viability assays confirmed the safety of the formulations for use in cosmetic and pharmaceutical products. In conclusion, the developed NLCs represent an effective and sustainable solution for the solubilization of hydrophobic bioactive compounds. This research highlights the potential of these nanostructures in adding value to natural resources from Brazilian biodiversity, such as the Cerrado and the Amazon, while simultaneously contributing to the development of innovative and environmentally responsible technologies for the cosmetic and nutraceutical industries.

Keywords: Curcumin, Quercetin, Nanostructured Lipid Carrier, Tucumã, Bacaba.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO *15*

2. REVISÃO DE LITERATURA *17*

2.1 Nanotecnologia **17**

2.2 Carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) **18**

2.3 Administração tópica **20**

2.4 Quercetina **22**

2.5 Curcumina **23**

3. OBJETIVOS *26*

3.1 Objetivo geral **26**

3.2 Objetivos específicos **26**

4. MATERIAL E MÉTODOS *27*

4.1 Material **27**

4.2 Métodos **27**

4.2.1 Preparo do CLN 27

4.2.2.1 Caracterização organoléptica dos CLN 29

4.2.2.2 Determinação de tamanho, índice de polidispersidade e carga de superfície (potencial zeta) 29

4.2.2.3 Análise de rastreamento de nanopartículas (ARN) 29

4.2.2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) 29

4.2.2.5 Estabilidade de armazenamento 30

4.2.2.6 Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR-ATR) 30

4.2.2.7 Análise térmica 30

4.2.2.8 Atividade antioxidante pelo DPPH 31

4.2.3 Ensaios biológicos 31

4.2.3.1 Cultura de células 31

4.2.3.2 Análise da viabilidade celular in vitro 31

4.2.3.3 Atividade antimicrobiana contra células planctônicas: determinação das concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) 32

4.2.3.4 Atividade antibiofilme em biofilmes pré-formados 33

4.2.4 Formulação da base cosmética de Carbopol 33

4.2.5 Análises estatísticas 34

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO *34*

5.1 Preparo do carreador lipídico nanoestruturado **34**

5.2 Caracterização físico-química dos CLNs **41**

5.2.1 Análise organoléptica e determinação de tamanho, índice de polidispersidade e carga de superfície (potencial zeta) **41**

5.2.2 Análise de rastreamento de nanopartículas (ARN) **43**

5.2.3 Estabilidade a longo prazo **46**

5.2.4 Microscopia eletrônica de transmissão **51**

5.2.5 Espectroscopia de infravermelho transformada de Fourier (FTIR-ATR) **52**

5.2.6 Análises térmicas 56
5.2.7 Análise da capacidade antioxidante dos CLNs pelo método do DPPH 59
5.2.8 Citotoxicidade dos CLNs em HaCaT 61
5.2.9 Atividade antimicrobiana contra células planctônicas 63
5.2.10 Atividade antibiofilme em biofilmes pré-formados 65
5.2.11 Formulação de base cosmética 68
6. CONCLUSÕES *70*
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *71*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática dos três arranjos estruturais dos CLNs. Em todas as representações, a coroa externa (esferas vermelhas com caudas azuis) indica a camada estabilizante de tensoativo, o fundo azul-claro ilustra a matriz lipídica sólida, e os pequenos pontos rosas representam as moléculas do fármaco encapsulado. À esquerda, no tipo cristal imperfeito, os hexágonos amarelos denotam as distorções e imperfeições formadas na rede cristalina da matriz, as quais proporcionam maior espaço para a acomodação do ativo. Ao centro, no tipo múltiplo, os círculos roxos evidenciam a formação de compartimentos isolados de lipídio líquido (óleo) no interior da matriz sólida (sistema óleo-em-lipídeo-em-água), o que facilita o controle da liberação do fármaco. À direita, no tipo amorfo, os retângulos laranjas indicam a inibição da cristalização, o que mantém a matriz em estado não cristalino e reduz significativamente a expulsão do fármaco ao longo do tempo de armazenamento.....19

Figura 2. Representação esquemática da estrutura tridimensional da pele humana: epiderme (superior) atua como barreira externa. A derme (intermediária) abriga os folículos pilosos (tubos marrons), glândulas sebáceas (aglomerados amarelos nos folículos), glândulas sudoríparas (tubos enovelados), músculos eretores do pelo (feixes vermelhos), rede vascular (artérias em vermelho e veias em azul) e terminações nervosas (fios amarelos). A hipoderme (inferior) é composta pelo tecido adiposo (células amareladas basais), atuando como isolante e reserva energética. 20

Figura 3. Estrutura química da quercetina.....23

Figura 4. Estrutura química dos curcuminoides encontrados em Curcuma longa L. sendo (I) curcumina; (II) demetoxicurcumina e (III) bis-emetoxicurcumina. 24

Figura 5. Representação esquemática do preparo dos carreadores lipídicos nanoestruturados utilizando manteiga de tucumã e óleo de bacaba como fase lipídica, associada ao surfactante Kolliphor HS15/BRIJ O10. O processo inicia-se à esquerda com a preparação e fusão da fase oleosa (manteiga de tucumã, óleo de bacaba e o tensoativo Kolliphor HS15/BRIJ) a 70 ºC. No centro, ilustra-se a etapa de homogeneização na chapa magnética, onde a fase aquosa pré-aquecida é vertida sobre a fase oleosa até o sistema atingir 80 ºC. O processo é concluído com o resfriamento brusco em banho de gelo até a temperatura ambiente (25 ºC). 28

Figura 6. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação A após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura. 35

Figura 7. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação B após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura. 36
Figura 8. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação C após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura. 37
Figura 9. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação D após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura. 38
Figura 10. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação E após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura. 39
Figura 11. Avaliação físico-química dos CLNs. À esquerda, os valores de diâmetro hidrodinâmico (círculos azuis, eixo esquerdo), índice de polidispersidade (PdI, quadrados vermelhos, eixo direito) e potencial zeta (triângulos verdes, eixo direito) são comparados entre as três formulações testadas. À direita, o gráfico ilustra o perfil de distribuição de tamanho de partículas por intensidade de espalhamento da luz, evidenciando a homogeneidade do carreador vazio (linha azul) em comparação aos sistemas encapsulados com quercetina (CLN-Quer, linha vermelha) e curcumina (CLN-Cur, linha verde). 42
Figura 12. Características organolépticas das nanoformulações. A) Carreador lipídico nanoestruturado vazio; B) Carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e C) Carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina. 43
Figura 13. Estudo de rastreamento de partículas das amostras: A) Carreador Lipídico Nanoestruturado vazio; B) Carreador Lipídico Nanoestruturado curcumina e C) Carreador Lipídico Nanoestruturado quercetina. 45
Figura 14. Captura de tela da análise de rastreamento de nanopartículas. 46
Figura 15. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado vazio pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias. 47
Figura 16. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado curcumina pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias. 48

Figura 17. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado quercetina pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias. 48
Figura 18. Fotos da análise macroscópica das formulações após um ano de estabilidade em diferentes condições. A) 5 ºC; B) 25 ºC e C) 37 ºC. 49
Figura 19. Estudo da característica morfológica dos nanocarreadores por MET. A) Carreador lipídico nanoestruturado vazio; B) Carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e C) Carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina. 52
Figura 20. FT-IR. Perfis espectrais dos nanocarreadores CLN-Branca, CLN-Cur e CLN-Quer (f, g, h), dos compostos lipídicos (a, b, c) e fármacos (d, e) envolvidos nas formulações. 53
Figura 21. Análise termogravimétrica dos compostos puros, e do carreador lipídico nanoestruturado vazio; carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina. 57
Figura 22. Termogramas dos compostos puros, e dos nanocarreadores CLN-Branca, CLN-Cur e CLN-Quer. 58
Figura 23. Avaliação da atividade antioxidante in vitro pelo ensaio de captura do radical livre DPPH. O gráfico ilustra o percentual de inibição em função da redução da concentração (de 125 a 1,95 µg/mL) para o controle positivo ácido ascórbico (AA, barras azuis), carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN vazia, barras vermelhas), nanocarreadores carregados (CLN-Cur em verde e CLN-Quer em roxo) e os respectivos compostos bioativos em sua forma não encapsulada (Curcumina livre em laranja e Quercetina livre em preto). Os dados representam a média ± desvio padrão de triplicatas independentes. 59
Figura 24. Luminescência em células HaCaT tratadas ao longo de 24 h. Os gráficos relacionam a luminescência observada, relativas à sua viabilidade, nos poços contendo células e seus respectivos tratamentos em diferentes concentrações: carreador lipídico nanoestruturado branco (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer), etanol, curcumina livre e quercetina livre (ambas diluídas em etanol) 62
Figura 25. Atividade antibiofilme dos tratamentos para S. aureus BEC 9393. Os gráficos relacionam a inibição percentual do biofilme dos tratamentos aplicados em diferentes concentrações: curcumina livre, quercetina livre, carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer). 66

Figura 26. Atividade antibiofilme dos tratamentos para S. epidermidis ATCC 35984. Os gráficos relacionam a inibição percentual do biofilme dos tratamentos aplicados em diferentes concentrações: curcumina livre, quercetina livre, carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer). 67
Figura 27. Aspecto macroscópico dos géis hidrofílicos à base de polímero Carbopol® após a incorporação dos CLNs. À esquerda, observa-se a formulação semissólida contendo os CLN-Cur), evidenciando a coloração amarelada intensa. À direita, a base cosmética contendo os CLN-Quer. 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Níveis das variáveis independentes avaliadas no delineamento experimental dos CLNs. A primeira coluna apresenta as cinco proporções base da mistura lipídica (óleo de bacaba e manteiga de tucumã), identificadas de A a E. As colunas subsequentes detalham os níveis testados para as variáveis de processo: razão lipídeo/tensoativo (quatro níveis), volume da fase aquosa (quatro níveis) e temperatura (três níveis). O símbolo de hífen ("-") indica apenas a ausência de níveis de teste adicionais para o respectivo parâmetro, ressaltando que todas as formulações lipídicas (A a E) foram submetidas às condições de processo descritas nas colunas. 27

Tabela 2. FT-IR de amostras com perfis espectrais típicos para compostos lipídicos. Modos vibracionais característicos prováveis dos nanocarreadores formulados com manteiga de tucumã, óleo de bacaba e brij o10; onde CLN-Branca, CLN-C e CLN-Q referem-se aos nanocarreadores sem a adição do fármaco (Branca), com curcumina (C) e com quercetina (Q). ν_s (symmetrical stretching); ν_{as} (asymmetrical stretching); δ (bending); ρ (rocking). 54

Tabela 3. FT-IR dos perfis espectrais dos fármacos utilizados nos nanocarreadores CLN-C e CLN-Q. Modos vibracionais característicos prováveis da curcumina e quercetina. νs (estiramento simétrico); νas (estiramento assimétrico); δ (flexão); ρ (oscilação). 54

Tabela 4. Características coloidais das nanopartículas. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida/fungicida mínima (CBM) dos tratamentos aplicados contra bactérias e fungos planctônicos: Curcumina livre, quercetina livre, CLN-vazio, CLN-Cur e CLN-Quer. 63

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ARN - Análise de rastreamento de nanopartículas

Cur – Curcumina

CLN-Cur – Carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina

CLN-Quer - Carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina

CLN-vazia - Carreador lipídico nanoestruturado sem composto

DDS - Drug Delivery Systems

DLS - Espalhamento dinâmico de luz

DSC - Calorimetria exploratória diferencial

EE: Eficiência de encapsulação

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

NaOH – Hidróxido de Sódio

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

PDI - Índice de polidispersidade

PIT - Temperatura inversão de fase

TGA - Análise termogravimétrica

1. INTRODUÇÃO

A Amazônia e o Cerrado desempenham papéis cruciais no desenvolvimento biotecnológico do Brasil, servindo como fontes ricas de biodiversidade que oferecem matérias-primas essenciais para a inovação científica e tecnológica do país. Essas regiões abrigam uma vasta gama de espécies vegetais e microbianas, cujos compostos bioativos podem ser utilizados no desenvolvimento de novos produtos e serviços (Ramos Da Silva et al., 2021).

Uma exploração sustentável desses recursos naturais, além de contribuir para a preservação da biodiversidade, possibilita a criação de tecnologias com propriedades terapêuticas e funcionais, atendendo à crescente demanda por soluções mais eficazes e seguras (Valli; Russo; Bolzani, 2018). Estudos recentes têm demonstrado que compostos bioativos quando associados a nanobiotecnologia apresentam propriedades muito distintas quando comparados a sua forma macroscópica, o que inclui uma melhoria da biodisponibilidade, além de reduzir efeitos colaterais indesejados (Silva et al., 2023).

A demanda por produtos com bioativos, como a curcumina e a quercetina, tem crescido devido às suas propriedades farmacológicas, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória e anticâncer. No entanto, a hidrofobicidade limita a sua veiculação em meios aquosos e sua biodisponibilidade, gerando um gargalo a ser resolvido pela indústria biotecnológica, que busca a incorporação desses agentes no desenvolvimento de produtos aquosos e tópicos que sejam mais eficazes comercialmente (Liu et al., 2024; Mahapatra; Patil; Patil, 2020).

A curcumina, um polifenol extraído da raiz de *Curcuma longa*, tem demonstrado potencial terapêutico em diversas condições patológicas, mas sua aplicação prática é restringida pela sua alta lipofilicidade e baixa solubilidade aquosa. De maneira similar, a quercetina, um flavonoide encontrado em várias frutas e vegetais, apresenta uma série de benefícios à saúde, mas também sofre com problemas de solubilidade que comprometem sua absorção e utilização em formulações cosméticas e nutracêuticas, por exemplo (Tripathi et al., 2022; Wang et al., 2018).

Recentemente, o uso de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) emergiu como uma estratégia promissora para superar as limitações de solubilidade desses compostos hidrofóbicos. Essas nanoestruturas, oferecem uma abordagem inovadora para melhorar a solubilidade, estabilidade e liberação controlada, além de serem obtidas por um método de baixa energia e escalonável, como o método *Inversão de Fases por Temperatura* (PIT) (Queiroz; Muehlmann, 2024). A encapsulação de curcumina e quercetina em CLN não apenas

pode aumentar a biodisponibilidade, mas também melhorar as propriedades funcionais destes compostos, expandindo suas possibilidades de aplicação na indústria (Silva et al., 2023).

Dessa forma, a pesquisa sobre a utilização de CLN baseados em lipídeos da biodiversidade brasileira para a entrega de curcumina e quercetina se torna essencial, visando não apenas a superação das barreiras de solubilidade, mas também a maximização dos benefícios terapêuticos desses compostos, além de valorizar o uso responsável da biodiversidade amazônica e do Cerrado. Este trabalho busca explorar as interações entre o sistema nanoestruturado e os compostos bioativos, bem como avaliar o impacto dessa tecnologia na formulação de produtos inovadores, que atendam às demandas do mercado e ofereçam benefícios reais aos consumidores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nanotecnologia

O desenvolvimento da nanotecnologia ganhou força a partir da década de 1980, impulsionado por inovações como a microscopia de varredura por tunelamento e, posteriormente, pela caracterização de novos arranjos estruturais, a exemplo do grafeno. De acordo com a norma técnica ISO/TS 80004-1, essa área é definida como a aplicação do conhecimento científico para manipular e controlar a matéria predominantemente na faixa de aproximadamente 1 a 100 nanômetros, na qual fenômenos dependentes do tamanho geralmente permitem novas aplicações. Quando estruturados na escala nanométrica — o nanômetro (nm) correspondente a um bilionésimo do metro (1×10^{-9} m) —, os materiais passam a exibir propriedades físico-químicas distintas do seu estado macroscópico. Uma dessas alterações é o aumento significativo da relação entre a área superficial e o volume, o que eleva substancialmente a reatividade das estruturas. Embora sua aplicação inicial tenha ganhado destaque na microeletrônica para a criação de processadores mais eficientes, a capacidade de controlar a matéria nesses níveis permitiu a expansão da área para setores estratégicos, como a saúde, o desenvolvimento de energias alternativas e a conservação do meio ambiente (Nanda et al., 2020; ISO/TS 80004-1).

Na saúde, a nanotecnologia redefine estratégias terapêuticas e diagnósticas. Materiais em escala nanométrica exibem propriedades físico-químicas distintas que os tornam ideais para sistemas de liberação controlada de fármacos (*Drug Delivery Systems* - DDS). Esses sistemas permitem que fármacos sejam entregues de forma mais seletiva, reduzindo os efeitos colaterais negativos e aumentando a eficácia terapêutica. Exemplos incluem nanopartículas metálicas, lipídicas, lipossomas e estruturas poliméricas que carregam compostos bioativos de baixa solubilidade, ampliando sua biodisponibilidade e estabilidade. Além disso, tecnologias como a *teranóstica* combinam diagnóstico e terapia, utilizando nanoestruturas funcionais para identificar doenças e administrar tratamentos simultaneamente, especialmente em oncologia (Patra et al., 2018; Wang et al., 2021).

Os recentes avanços em nanotecnologia também incluem a síntese sustentável de nanomateriais. Métodos de química verde vêm sendo empregados para reduzir o impacto ambiental e os riscos de toxicidade associados a nanopartículas convencionais. Esse enfoque promove o uso de materiais biocompatíveis, como polímeros naturais, para desenvolver nanopartículas que minimizam reações adversas e oferecem soluções para problemas crônicos, como resistência a fármacos e biodistribuição limitada. Apesar de seus benefícios, questões

como segurança e regulamentação permanecem desafiadoras, exigindo mais pesquisas para garantir sua aplicação clínica e segura (Li; Chen; Fu, 2023; Nanda et al., 2020; Paul; Mazumder; Naidu, 2024).

Além disso, o uso de nanopartículas em aplicações diagnósticas tem revolucionado áreas como a imagem médica e a detecção precoce de doenças. Nanobiossensores altamente sensíveis são capazes de identificar biomarcadores em níveis moleculares, promovendo diagnósticos mais rápidos e precisos. Na área de terapia gênica, nanopartículas têm sido empregadas como vetores para a entrega de material genético em células-alvo, abrindo novas possibilidades para o tratamento de doenças genéticas. Esses avanços reforçam o papel da nanotecnologia como um campo multidisciplinar que conecta ciência fundamental e inovação tecnológica, oferecendo soluções integradas e personalizadas para os desafios da medicina moderna (Patra et al., 2018; Paul; Mazumder; Naidu, 2024).

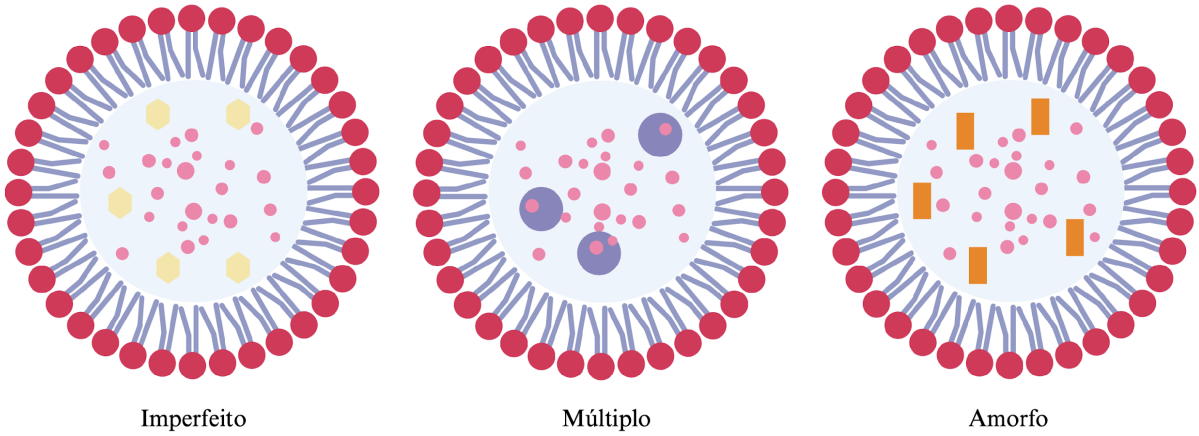
2.2 Carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)

A primeira geração de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) foi desenvolvida em 1991 pela Professora Maria Rosa Gasco em Turim e pelo Professor Rainer H. Müller em Berlim. Essas partículas foram criadas de forma experimental a partir de lipídeos que eram utilizados na produção de supositórios, no qual o óleo líquido de uma nanoemulsão era substituído por um único lipídeo sólido, surgindo o termo NLSs. Entretando, esse novo sistema apresentava uma baixa capacidade de carregamento devido à solubilidade reduzida dos ativos em lipídeos sólidos, quando comparada à dos lipídeos líquidos. A fim de resolver esse problema, foram então desenvolvidos CLNs em 1999, combinando lipídeos sólidos e líquidos. Essa combinação aumentava a capacidade de carregamento devido a maior solubilidade dos ativos em óleos (Pyo; Müller; Keck, 2017). Essas inovações fizeram com que os CLNs se tornassem a segunda geração das NLSs, uma ferramenta promissora na área de liberação de medicamentos e outras aplicações terapêuticas, oferecendo maior flexibilidade e eficiência na incorporação de fármacos (Haider et al., 2020).

Um dos principais benefícios atuais dos CLNs é a melhoria na solubilidade de fármacos hidrofóbicos. A encapsulação em CLNs pode aumentar significativamente sua solubilidade e, consequentemente, sua absorção no corpo. Além disso, os CLNs podem proporcionar uma liberação controlada, permitindo uma administração mais eficaz e reduzindo a frequência de dosagem (Gordillo-Galeano; Mora-Huertas, 2018).

A estrutura lipídica dos CLNs possui três características específicas baseadas na estrutura da sua matriz lipídica: tipo I (cristal imperfeito), tipo II (múltiplo) e tipo III (amorfo). O tipo I tem uma matriz sólida mal estruturada com muitas imperfeições, que aumentam a capacidade de carga do fármaco. O tipo II é uma emulsão óleo-em-lipídeo-em-água, onde a alta quantidade de óleo permite a formação de compartimentos oleosos dentro da matriz lipídica sólida, facilitando a liberação controlada do fármaco. O tipo III evita a cristalização, mantendo a matriz lipídica em estado amorfo, o que reduz a expulsão do fármaco. Esses tipos permitem uma maior flexibilidade na formulação do CLNs, melhorando a estabilidade e a eficiência na entrega de fármacos (**Figura 1**) (Sharma; Baldi, 2018).

Figura 1. Representação esquemática dos três arranjos estruturais dos CLNs. Em todas as representações, a coroa externa (esferas vermelhas com caudas azuis) indica a camada estabilizante de tensoativo, o fundo azul-claro ilustra a matriz lipídica sólida, e os pequenos pontos rosas representam as moléculas do fármaco encapsulado. À esquerda, no tipo cristal imperfeito, os hexágonos amarelos denotam as distorções e imperfeições formadas na rede cristalina da matriz, as quais proporcionam maior espaço para a acomodação do ativo. Ao centro, no tipo múltiplo, os círculos roxos evidenciam a formação de compartimentos isolados de lipídio líquido (óleo) no interior da matriz sólida (sistema óleo-em-lipídeo-em-água), o que facilita o controle da liberação do fármaco. À direita, no tipo amorfo, os retângulos laranjas indicam a inibição da cristalização, o que mantém a matriz em estado não cristalino e reduz significativamente a expulsão do fármaco ao longo do tempo de armazenamento.



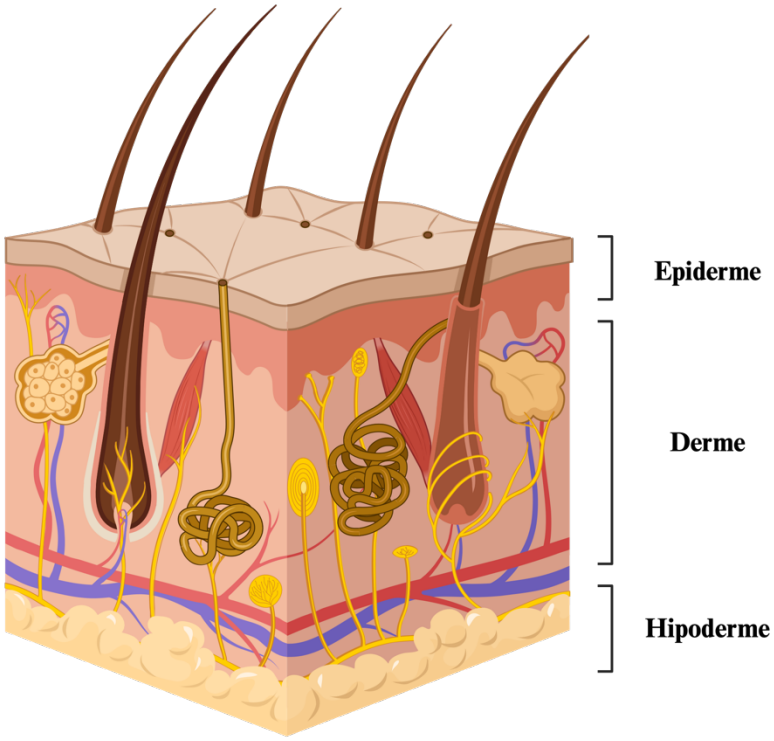
Estudos recentes têm explorado o uso de CLNs em diversas áreas da medicina, incluindo o tratamento de câncer**,** onde a entrega direcionada de fármacos citotóxicos pode aumentar a

eficácia do tratamento e reduzir os efeitos colaterais. Além disso, os CLNs têm sido investigados para o tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas, mostrando resultados promissores na melhoria da eficácia dos tratamentos existentes (Beloqui et al., 2016). Em resumo, os CLNs representam uma tecnologia promissora para o futuro da medicina, oferecendo uma nova abordagem para a entrega de fármacos que pode melhorar a eficácia terapêutica e reduzir os efeitos colaterais. A pesquisa contínua nessa área é essencial para desenvolver novas aplicações e otimizar os sistemas existentes.

2.3 Administração tópica

A pele é o maior órgão do corpo humano, atuando como principal barreira de defesa externa. Ela é composta por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme. Cada camada desempenha funções específicas de proteção. A epiderme, camada mais externa, age como a principal defesa contra o ambiente. A derme, situada abaixo da epiderme, fornece estrutura e força à pele. Já a hipoderme contém células adiposas que funcionam como reserva de energia (**Figura 2**) (Brito; Baek; Bin, 2024).

Figura 2. Representação esquemática da estrutura tridimensional da pele humana: epiderme (superior) atua como barreira externa. A derme (intermediária) abriga os folículos pilosos (tubos marrons), glândulas sebáceas (aglomerados amarelos nos folículos), glândulas sudoríparas (tubos enovelados), músculos eretores do pelo (feixes vermelhos), rede vascular (artérias em vermelho e veias em azul) e terminações nervosas (fios amarelos). A hipoderme (inferior) é composta pelo tecido adiposo (células amareladas basais), atuando como isolante e reserva energética.



A administração de medicamentos pela via tópica ou cutânea consiste na aplicação de substâncias na superfície da pele ou das mucosas. Esse método permite que os medicamentos sejam absorvidos pela epiderme e alcancem a derme através de duas vias principais: a via anexial e a via transepidérmica. Na via anexial, a penetração ocorre através de estruturas como glândulas sudoríparas, sebáceas e folículos pilosos. Na via transepidérmica, a passagem acontece pela camada córnea, seja através das células – via intracelular – ou pela matriz lipoproteica – via intercelular – (Zhao et al., 2023).

Embora a pele apresente barreiras naturais que dificultam a absorção rápida de fármacos, a administração tópica possui vantagens importantes. Este método é eficaz para tratar feridas ou lesões cutâneas, evita o metabolismo hepático de primeira passagem, permite o controle prolongado da liberação do medicamento, facilita a autoadministração e é bem aceito pelos pacientes devido à sua conveniência. Além disso, a administração tópica apresenta baixos níveis sistêmicos, reduzindo a possibilidade de toxicidade (Lee et al., 2024).

As formas farmacêuticas tópicas mais comuns incluem cremes, pomadas, géis, *sprays* e soluções líquidas, que são facilmente encontradas no mercado. No entanto, alguns fatores podem limitar a penetração de fármacos através da pele, como a presença de suor e lipídeos, que dificultam a penetração de fármacos hidrofílicos, podendo causar irritações e reações alérgicas. O avanço da nanotecnologia trouxe melhorias significativas para a entrega de

medicamentos, especialmente em sistemas biológicos de difícil acesso terapêutico. O uso de partículas nanométricas capazes de atravessar o estrato córneo ampliou as aplicações industriais, melhorando tanto a eficácia terapêutica quanto o diagnóstico (Petrilli; Lopez, 2018; Ruela et al., 2016).

2.4 Quercetina

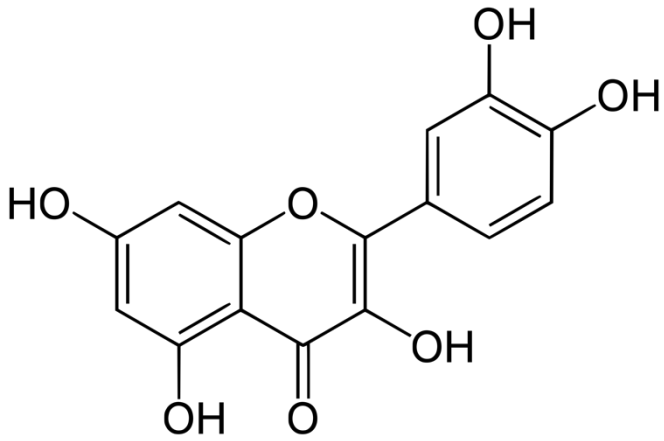
A quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona) é um flavonoide amplamente distribuído em frutas, vegetais e plantas medicinais, com destaque para cebola, maçã e brócolis como fontes alimentares principais. Esse composto é reconhecido por seu alto potencial antioxidante, derivado de sua capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROs) e inibir processos oxidativos em células e tecidos (Lotfi; Sheibani; Jafari-Sabet, 2024; Tilawat; Bonde, 2023). Além disso, estudos têm demonstrado que a quercetina possui atividades anti-inflamatórias, antivirais e cardioprotetoras, o que reforça seu papel como molécula bioativa promissora no combate a diversas doenças crônicas e infecciosas (Lin et al., 2025; Ye et al., 2023).

No entanto, apesar de seu amplo espectro de atividades farmacológicas, a aplicabilidade clínica da quercetina esbarra em limitações físico-químicas, notadamente a sua baixa solubilidade aquosa e o rápido metabolismo de primeira passagem, que reduzem drasticamente sua concentração plasmática efetiva após a administração oral. Para transpor essa barreira de biodisponibilidade, o desenvolvimento de sistemas nanotecnológicos de liberação controlada tem se mostrado uma estratégia decisiva. A superioridade farmacocinética dessas formulações é evidente em estudos pré-clínicos recentes: a veiculação da quercetina associada à cisplatina em nanopartículas de sílica, por exemplo, demonstrou alta eficácia terapêutica em modelos *in vivo* de câncer ovariano, sendo capaz de reverter completamente o avanço tumoral e normalizar marcadores críticos de dano sistêmico. Ademais, ao proteger a molécula da degradação e garantir que concentrações efetivas (como 50 a 100 mg/kg) alcancem o parênquima lesionado, os nanocarreadores permitem que a quercetina exerça suas vias intracelulares com precisão (Saeed et al., 2025; Ye et al., 2023).

Do ponto de vista físico-químico, a quercetina é um pó cristalino de coloração amarelo-esverdeada, com ponto de fusão entre 316 °C e 317 °C. Quimicamente, sua estrutura contém múltiplos grupos hidroxila fenólicos, que são responsáveis tanto por suas propriedades antioxidantes quanto por sua interação com proteínas e membranas celulares (**Figura 3**). Esses grupos, entretanto, também tornam a molécula sensível a condições ambientais, como pH

elevado e exposição prolongada à luz e ao calor, o que demanda cuidados rigorosos no desenvolvimento de formulações farmacêuticas e nutracêuticas baseadas nesse composto (Shi et al., 2023; Zhang et al., 2024).

Figura 3. Estrutura química da quercetina.



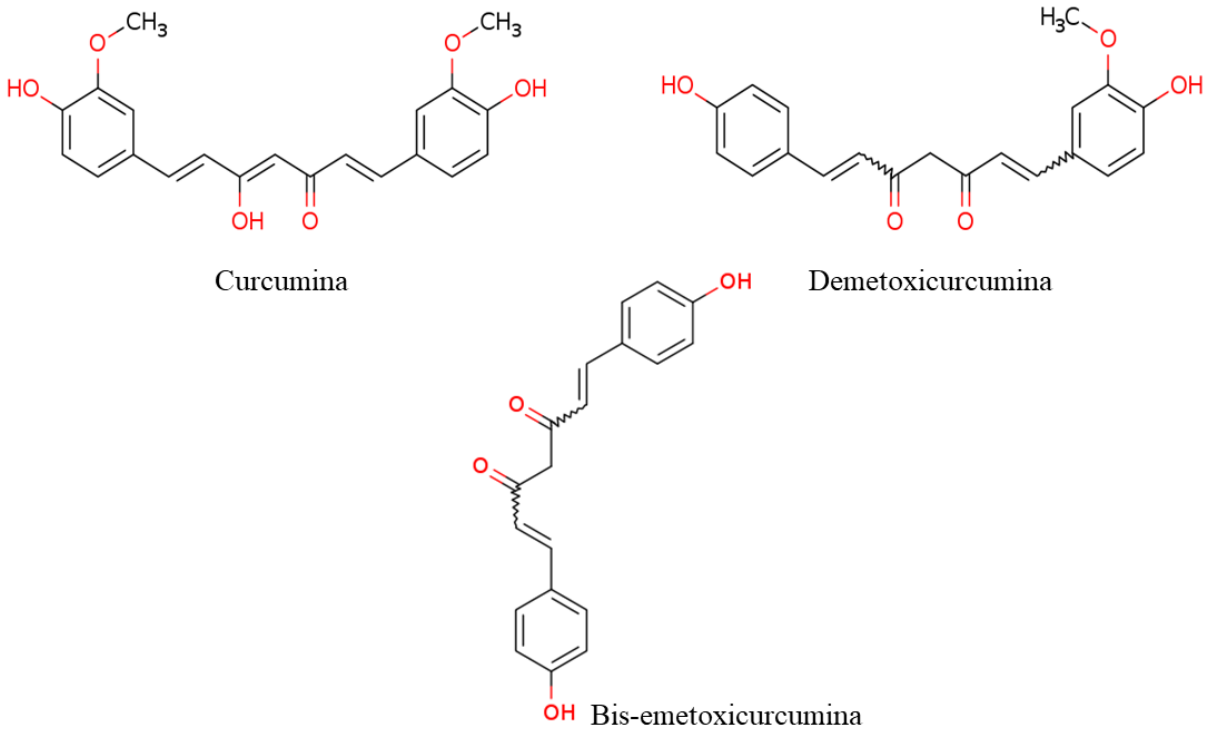
Além disso, a quercetina tem mostrado potencial terapêutico significativo em doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como diabetes, doenças neurodegenerativas e câncer. Estudos recentes indicam que o composto pode modular vias de sinalização celular envolvidas em processos inflamatórios e apoptóticos, contribuindo para a redução de danos celulares e o controle da progressão da doença. Apesar disso, a transição para aplicações clínicas em larga escala ainda enfrenta desafios relacionados à padronização de formulações e validação de eficácia em estudos clínicos (Hamed et al., 2023; Someya et al., 2024).

2.5 Curcumina

A curcumina ((1E,6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona), também conhecida como diferuloilmetano, é um polifenol natural extraído dos rizomas de *Curcuma longa* L., amplamente conhecido como açafrão-da-terra, pertencente à família Zingiberaceae. Além da curcumina, são identificados outros dois curcuminoides principais: a demetoxicurcumina e a bis-demetoxicurcumina (**Figura 4**). Dentre esses compostos, a curcumina é a mais abundante. Este composto majoritário tem atraído interesse crescente devido ao seu potencial terapêutico, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias,

antimicrobianas, anticancerígenas, e imunomoduladoras, sendo tradicionalmente utilizado na medicina asiática há mais de 4000 anos (Hewlings; Kalman, 2017; Mansouri et al., 2020).

Figura 4. Estrutura química dos curcuminoides encontrados em Curcuma longa L. sendo (I) curcumina; (II) demetoxicurcumina e (III) bis-emetoxicurcumina.



A curcumina é solúvel em solventes orgânicos, como etanol e DMSO. No entanto, é praticamente insolúvel em água, e apresenta instabilidade em pH neutro ou alcalino e baixa biodisponibilidade limitam sua aplicação direta. Sua estrutura química inclui dois grupos fenólicos hidroxila e uma cadeia de dicetona.

No seu mecanismo de ação, a curcumina é capaz de realizar transferências de átomos de hidrogênio e elétrons, que são cruciais para sua atividade antioxidante. Esses processos envolvem principalmente as duas hidroxilas fenólicas, que contribuem para suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Assim, a curcumina pode neutralizar radicais livres e modular diversas vias de sinalização celular, o que explica sua ampla gama de efeitos biológicos (Ahmed et al., 2025; Fuloria et al., 2022).

Na indústria farmacêutica, os desafios para o uso da curcumina incluem sua rápida e ampla degradação no organismo, reduzindo sua eficácia terapêutica. Essas propriedades dificultam o desenvolvimento de formas farmacêuticas eficientes e economicamente viáveis.

Para superar essas barreiras, esforços têm sido direcionados ao uso de tecnologias avançadas, como a nanoencapsulação para formulações de liberação controlada. Estudos recentes destacam o uso de nanopartículas lipídicas, micelas, lipossomas e polímeros para aumentar a solubilidade, estabilizar o composto e direcioná-lo especificamente a tecidos ou células-alvo, reduzindo efeitos colaterais negativos e melhorando sua eficácia terapêutica (Mansouri et al., 2020; Zheng et al., 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar CLN para incorporação e liberação de fármacos e bioativos de caráter hidrofóbico em meio aquoso, visando aplicações cosméticas.

3.2 Objetivos específicos

- Obter CLNs pelo método PIT;
- Encapsular curcumina e quercetina em CLNs pelo método PIT;
- Caracterizar os CLNs quanto a características organolépticas;
- Caracterizar os CLNs quanto ao tamanho, índice de polidispersidade (PDI) e carga de superfície (potencial Zeta);
- Analisar a morfologia dos CLNs por microscopia eletrônica de transmissão (MET);
- Avaliar a estabilidade dos CLNs durante o armazenamento em diferentes condições de temperatura;
- Realizar análises espectroscópicas para avaliar possíveis interações formadas;
- Avaliar o comportamento térmico das estruturas por meio de calorimetria diferencial exploratória (DSC);
- Avaliar a capacidade antioxidante dos CLNs pelo método de DPPH;
- Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana dos CLNs contendo curcumina e quercetina;
- Avaliar a viabilidade celular *in vitro* de células HaCaT expostas aos CLNs;
- Avaliar a capacidade de incorporação dos CLNs em uma base cosmética;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

BRIJ O10®; Quercetina; Curcumina foram adquiridos da Sigma-Aldrich, EUA; manteiga de tucumã (*Astrocaryum murumuru* Mart.), óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) foram comprados da Industria Amazon Oil (Pará, Brasil).

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo do CLN

Os CLNs foram preparados pela técnica de PIT, descrita por (Mello et al., 2022). Para o desenvolvimento dos carreadores lipídicos, foram pré-definidas cinco proporções em massa (m/m) da matriz lipídica base, composta por óleo de bacaba e manteiga de tucumã, denominadas de formulações A a E. A partir dessas composições, o delineamento experimental consistiu em submeter todas as cinco misturas lipídicas a diferentes condições de processo. Para isso, foram testadas as seguintes variáveis: (i) a razão entre a massa de lipídeos e a massa de tensoativo (avaliada em quatro proporções); (ii) o volume da fase aquosa (avaliado em quatro volumes distintos); e (iii) a temperatura do processo (avaliada em três faixas), conforme a **Tabela 1**.

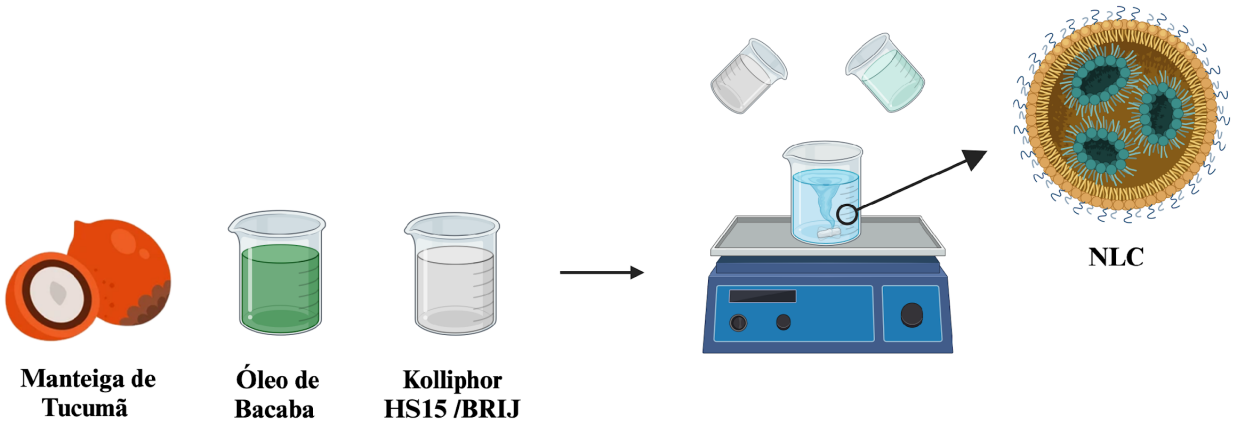
Tabela 1. Níveis das variáveis independentes avaliadas no delineamento experimental dos CLNs. A primeira coluna apresenta as cinco proporções base da mistura lipídica (óleo de bacaba e manteiga de tucumã), identificadas de A a E. As colunas subsequentes detalham os níveis testados para as variáveis de processo: razão lipídeo/tensoativo (quatro níveis), volume da fase aquosa (quatro níveis) e temperatura (três níveis). O símbolo de hífen ("-") indica apenas a ausência de níveis de teste adicionais para o respectivo parâmetro, ressaltando que todas as formulações lipídicas (A a E) foram submetidas às condições de processo descritas nas colunas.

Composição de lipídeos (Bacaba:Tucumã)	Massa lipídeos/massa do tensoativo	Volume da fase aquosa (mL)	Temperatura (ºC)
Formulação A (0,3 g: 1,7 g)	1:2	20	70
Formulação B 0,8 g: 1,2 g	1:1	30	80
Formulação C 1 g: 1 g	2:1	40	90
Formulação D 1,2 g: 0,8 g	3:1	50	-

Formulação E 1,7 g: 0,3 g	-	-	-

Inicialmente, o método de homogeneização consistiu em fundir a fase oleosa (lipídeo e tensoativo) a 70 ºC mantendo uma agitação constante de 300 rpm por 2 minutos para completa mistura dos componentes. Em sequência, a fase aquosa pré-aquecida foi vertida sobre a fase oleosa, e mantida sob agitação até que a temperatura do sistema atingisse 80 ºC. Imediatamente, o sistema foi transferido para um recipiente resfriado e agitado manualmente em banho de gelo até alcançar a temperatura de 25 ºC (**Figura 5**).

Figura 5. Representação esquemática do preparo dos carreadores lipídicos nanoestruturados utilizando manteiga de tucumã e óleo de bacaba como fase lipídica, associada ao surfactante Kolliphor HS15/BRIJ O10. O processo inicia-se à esquerda com a preparação e fusão da fase oleosa (manteiga de tucumã, óleo de bacaba e o tensoativo BRIJ) a 70 ºC. No centro, ilustra-se a etapa de homogeneização na chapa magnética, onde a fase aquosa pré-aquecida é vertida sobre a fase oleosa até o sistema atingir 80 ºC. O processo é concluído com o resfriamento brusco em banho de gelo até a temperatura ambiente (25 ºC).



Os compostos bioativos curcumina e quercetina foram incorporados na fase oleosa das formulações, na concentração de 1 mg/mL. As formulações foram nomeadas como Carreador Lipídico Nanoestruturado vazio (CLN vazio); Carreador Lipídico Nanoestruturado Curcumina (CLN-Cur) e Carreador Lipídico Nanoestruturado Quercetina (CLN-Quer).

4.2.2 Caracterização físico-química dos CLN

4.2.2.1 Caracterização organoléptica dos CLN

As características organolépticas foram avaliadas pela observação da presença de grumos, separação de fases, solidificação, alteração da cor e fluidez; logo após a preparação de cada formulação e a longo prazo (ANVISA, 2017).

4.2.2.2 Determinação de tamanho, índice de polidispersidade e carga de superfície (potencial zeta)

As formulações foram avaliadas em um equipamento ZetaSizer SZ90 (Malven, EUA) e determinados o tamanho das partículas e índice de polidispersidade (PDI) por espalhamento dinâmico de luz (DLS); e a carga de superfície (potencial Zeta) por mobilidade eletroforética utilizando cubetas de poliestireno (1 cm^2), com ângulo fixo de 90 graus. Para a análise, cada formulação foi diluída 1:10 com água ultrapura (v/v) e realizadas análises em triplicata.

4.2.2.3 Análise de rastreamento de nanopartículas (ARN)

O ensaio de ARN foi realizado no Instituto Carlos Chagas (ICC) – Fiocruz Paraná, utilizando o equipamento Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) modelo Nanosight. O equipamento Nanosight permite a análise rápida e automatizada da distribuição de tamanho e concentração de partículas, com diâmetro entre 10 nm e 2 mm. O ensaio de rastreamento de partículas foi realizado utilizando duas diluições – 1:50 e 1:100. Após diluídas, 1 mL de cada amostra foi injetada em velocidade constante e pré-determinada pelo aparelho. É importante ressaltar que todas a análises foram realizadas em triplicatas – o tempo de cada leitura teve duração de 1 minuto.

4.2.2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A MET é utilizada para obtenção do tamanho médio e morfologia de nanopartículas. Para isso, alíquotas de cada amostra foram diluídas em água destilada (1:2 v/v). Posteriormente, 5 µL das formulações foram aplicadas no suporte de cobre (grid) de 400 mesh, revestido com Formvar 0,4% (m:v em clorofórmio), as amostras foram secas a temperatura ambiente. Após secagem, as amostras foram expostas a vapor de tetróxido de ósmio por 3 minutos. As micrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1011, operando a

100 kV, do Laboratório de Microscopia e Microanálise do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (IB-UnB).

4.2.2.5 Estabilidade de armazenamento

As características coloidais dos CLNs escolhidos foram analisadas por 365 dias em três condições diferentes, a 5 ºC, 25 ºC e a 37 ºC, utilizando um equipamento (ZetaSizer, Malvern - EUA) de DLS, no qual foram determinados os parâmetros de diâmetro hidrodinâmico (média z), PdIe potencial Zeta (ZP). O pH das amostras foi mensurado em pHâmetro, em uma leitura única.

4.2.2.6 Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Os espectros foram adquiridos em modo de refletância total atenuada (ATR) utilizando o espectrofotômetro Vertex 70 (Bruker Corporation, EUA) e processados pelo software OPUS 7.2 (Bruker Corporation, EUA). A faixa espectral analisada foi de 4000 a 500 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 96 scans. As amostras foram depositadas sobre o cristal de diamante em diferentes estados físicos: curcumina e quercetina em pó, enquanto CLN vazio, CLN-Cur, CLN-Quer e o BRIJ O10 em estado líquido, manteiga de murumuru em estado pastoso, e óleo de bacaba em estado oleoso. A análise e o tratamento dos dados foram conduzidos no software OriginPro 2015 (OriginLab Corporation, EUA).

4.2.2.7 Análise térmica

A análise térmica foi realizada utilizando calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). Primeiro, amostras de CLN e excipientes foram congeladas e liofilizadas utilizando o equipamento Liofilizador L101® para obter um pó, facilitando a análise do material. Os compostos foram analisados na forma em que foram fornecidos.

A DSC foi utilizada para avaliar a cristalinidade do fármaco nas formulações. A análise foi conduzida utilizando um DSC-60 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japão), com aproximadamente 5 mg de amostra colocada em porta amostra de alumínio. O equipamento foi operado a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1}, de 25 a 200 °C. A TGA foi empregada para avaliar o perfil de degradação dos fármacos nas formulações. O ensaio foi realizado utilizando um DTG-60H

(Shimadzu, Kyoto, Japão), com aproximadamente 5 mg de amostra colocada em porta amostra de platina. A análise foi realizada a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1}, de 25 °C a 500 °C. Todos os testes foram realizados em atmosfera de nitrogênio com uma taxa de fluxo de 50 mL min^{-1}.

4.2.2.8 Atividade antioxidante pelo DPPH

O ensaio antioxidante baseado na eliminação de radicais livres foi realizado utilizando o reagente DPPH, com base nos estudos de (Hemlata et al., 2020; Patra; Das; Shin, 2019), com modificações. O teste DPPH foi conduzido em microplacas de 96 poços, onde 150 µL de uma solução de DPPH recém-preparada (0,1 mM) em metanol foram distribuídos nos poços. Em seguida, 150 µL de CLN vazio, CLN-Cur, CLN-Quer, curcumina e quercetina livres (12,5, 25, 50, 75, 100 e 150 µg/mL) e ácido ascórbico (controle positivo) nas mesmas concentrações foram adicionados aos poços.

As microplacas foram então cobertas com papel alumínio, incubadas no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente (22-25 °C) e, após esse período, a absorbância foi lida a 517 nm usando um espectrofotômetro acoplado a um leitor de microplacas (M3, Molecular Devices). O controle negativo consistiu em 150 µL da solução metanólica de DPPH (0,1 mM) misturados com 150 µL de metanol, e 300 µL de metanol foram usados como branco experimental.

4.2.3 Ensaios biológicos

4.2.3.1 Cultura de células

Células HaCaT foram cultivadas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 1% (v:v) de solução de antibiótico e 10% (v:v) de soro fetal bovino e soro de bezerro, respectivamente. As culturas foram mantidas em incubadora, com 5% de CO_2, a 37 ºC.

4.2.3.2 Análise da viabilidade celular in vitro

O ensaio RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay (Promega) foi empregado para avaliar a viabilidade das células HaCaT expostas aos CLNs. Para este estudo, estabeleceu-se que os reagentes do ensaio seriam adicionados concomitantemente à aplicação dos tratamentos. As células foram semeadas em placas de 96 poços, na densidade de 1.500 células por poço, 24 horas antes do início dos tratamentos. Em seguida, as culturas foram tratadas por 24 horas com CLN-vazia, CLN-Cur, CLN-Quer, curcumina livre, quercetina livre, etanol (controle do veículo) ou mantidas sem tratamento (controle negativo). Cada condição foi avaliada em triplicata em cinco concentrações diferentes (0,5; 0,25; 0,12; 0,06 e 0,03 μg/mL), perfazendo um volume final de 200 μL por poço. Esse volume foi composto por 100 μL da solução de tratamento e 100 μL dos reagentes do kit (enzima e pró-substrato), previamente preparados em uma concentração de 2X. As leituras de luminescência foram realizadas em intervalos de uma hora em um leitor de microplacas Varioskan. Durante todo o período de análise (24 h), as placas permaneceram incubadas no próprio equipamento a 37 ºC, sob atmosfera contendo 5% de CO_2.

4.2.3.3 Atividade antimicrobiana contra células planctônicas: determinação das concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM)

Realizado em parceria com o laboratório de microbiologia, o método de microdiluição em caldo foi empregado para avaliar in vitro a atividade antimicrobiana e antifúngica dos CLNs em células planctônicas e biofilmes do gênero *Staphylococcus, Candida, Cryptococcus* e *Enterococcus*. As Concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos compostos foram determinadas por meio do ensaio de microdiluição em caldo, conduzido em microplacas de 96 poços com fundo em U (Techno Plastic Products, Trasadingen, Suíça), em conformidade com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024). As soluções-estoque dos compostos foram submetidas a diluições seriadas em caldo Mueller-Hinton ajustado com cátions (CaMHB), obtendo-se concentrações na faixa de 1,95 a 1000 μg/mL para a curcumina e a quercetina na forma livre, e de 0,49 a 250 μg/mL para a curcumina e a quercetina nanoencapsuladas. Em cada microplaca, poços contendo meio de cultura acrescido de inóculo bacteriano e poços contendo apenas o meio de cultura foram empregados como controles de crescimento e de esterilidade, respectivamente. A CIM foi definida como a menor concentração do tratamento capaz de inibir o crescimento bacteriano visual após um período de incubação de 24 horas a 37 °C, em comparação ao controle de crescimento. Para a determinação da Concentração bactericida mínima (CBM), o conteúdo dos poços que não apresentaram

crescimento visual foi homogeneizado e alíquotas de 10 µL foram semeadas em placas de Ágar Mueller-Hinton (MHA). Após incubação a 37 °C por 24 horas, a CBM foi estabelecida como a menor concentração capaz de inibir 99,9% (equivalente a uma redução de 3 $\log_{10}$) da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) (Levison; Levison, 2009).

4.2.3.4 Atividade antibiofilme em biofilmes pré-formados

Os biofilmes das cepas bacterianas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 e *Staphylococcus aureus* BEC 9393 foram formados em microplacas de 96 poços com fundo chato (Techno Plastic Products, Trasadingen, Suíça) por um período de 24 horas, conforme a metodologia descrita por (Otaguiri et al., 2017), com pequenas modificações. Uma alíquota de 20 µL da suspensão bacteriana (1×10^6 células) foi inoculada em cada poço contendo 180 µL de Caldo Triptona de Soja (TSB) suplementado com 1% de glicose (TSB + G), e as microplacas foram incubadas em condição estática a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, o meio de cultura foi aspirado, e as células não aderentes foram removidas por meio de lavagem com solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em seguida, adicionaram-se 100 µL de meio fresco contendo diferentes concentrações dos compostos testes, e os biofilmes foram incubados a 37 °C por mais 24 horas. Decorrido o período de exposição, os biofilmes foram lavados com PBS, e a atividade metabólica das células sésseis foi estimada por meio do ensaio de redução do MTT. Para isso, uma alíquota de 100 µL de solução de MTT (0,5 mg/mL) associada à menadiona (0,5%) foi adicionada a cada poço, e as microplacas foram incubadas ao abrigo da luz, a 37 °C, por 2 horas. Os cristais de formazan resultantes foram dissolvidos mediante a adição de 100 µL de solução solubilizante (Triton X-100 a 10% e HCl 0,1 N em isopropanol). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 550 nm utilizando um leitor de microplacas Bio-Tek Synergy™ HT. A porcentagem de redução da atividade metabólica dos biofilmes foi calculada em comparação ao grupo controle não tratado.

4.2.4 Formulação da base cosmética de Carbopol

A formulação da base cosmética, estruturada sob a forma de um hidrogel, foi conduzida em conformidade com as diretrizes da Farmacopeia Brasileira. A matriz polimérica foi preparada mediante a dispersão de 0,5 g de polímero carboxivinílico (Carbopol) em 37,1 mL de água ultrapura (q.s.p.). A esta fase aquosa foram acrescidos 5 g de propilenoglicol, atuando como agente umectante, 0,1 g de agente quelante (EDTA dissódico) e 0,2 g de um complexo

conservante à base de metilparabeno e propilparabeno (Nipagin e Nipazol). Para assegurar a completa solvatação e o intumescimento adequado das cadeias do polímero, a dispersão foi mantida sob agitação magnética contínua por um período de 18 horas à temperatura ambiente. Após a hidratação total do polímero, procedeu-se à etapa de gelificação. A solução foi neutralizada mediante a adição controlada de hidróxido de sódio (NaOH) até a estabilização em pH 6,0, culminando na expansão da rede tridimensional do gel e na obtenção do aspecto e da consistência reológica desejados.

Na etapa de incorporação, a base gelificada foi fracionada em alíquotas simétricas. A cada fração, foram adicionados 5 mL das dispersões coloidais dos CLNs. Por fim, os hidrogéis resultantes foram submetidos a uma avaliação macroscópica para a caracterização de seus parâmetros organolépticos, incluindo aspecto visual, integridade física e coloração.

4.2.5 Análises estatísticas

O pacote estatístico Sigma Plot 12.5 foi utilizado para análises estatísticas. As concentrações efetivas (CE_{50}) foram calculadas usando uma função de decaimento alostérico não linear em uma planilha construída sobre o Microsoft Excel. A ANOVA unidirecional foi utilizada para detectar as diferenças entre os grupos para os conjuntos de dados normalmente distribuídos. Quando os dados não passaram no teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov* e o teste de homogeneidade de variância de *Levene*, o teste de *Kruskal-Wallis* foi utilizado. O teste de *Dunnett* ou *Dunn* (para testes paramétricos ou não paramétricos, respectivamente) foi utilizado para detectar diferenças significativas entre as concentrações testadas e o controle ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Preparo do carreador lipídico nanoestruturado

Para o desenvolvimento dos CLNs, foram avaliadas diferentes formulações contendo manteiga de tucumã e óleo de bacaba, com o objetivo de determinar a melhor compatibilidade entre as diferentes proporções, e garantir as melhores propriedades coloidais. As formulações, nomeadas de A a E, foram desenvolvidas com variações nas proporções dos lipídeos mencionados. Em cada formulação, além da variação da proporção entre os lipídeos, também

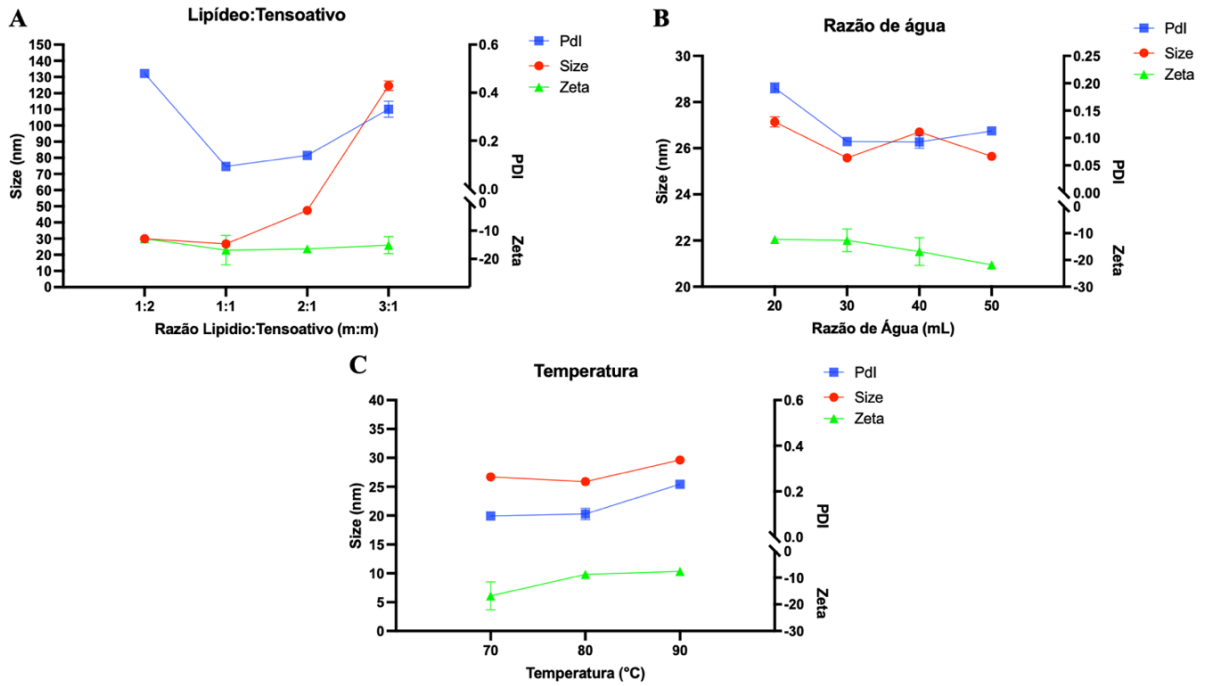
foram ajustados parâmetros como a razão lipídeo:tensoativo, a quantidade de água utilizada e a temperatura (**Tabela 1**).

A **Figura 6 (A)** exibe o efeito da variação da razão lipídeo:tensoativo (1:2, 1:1, 2:1 e 3:1) sobre o tamanho das partículas, o PdI e o potencial Zeta. Observou-se que, à medida que a proporção de lipídeo aumenta em relação à do tensoativo, o diâmetro hidrodinâmico das partículas segue uma tendência crescente, variando de aproximadamente 30 nm a 130 nm. As menores partículas (cerca de 30 nm) foram obtidas na razão 1:2. No entanto, a partir da razão 2:1, o tamanho das partículas aumentou significativamente, atingindo cerca de 130 nm na razão 3:1. O PdI seguiu um comportamento não linear, inicialmente em torno de 0,48 na razão 1:2, apresentando uma queda na razão 1:1 e voltando a aumentar com valores próximos de 0,3 na razão 3:1. Já o potencial Zeta permaneceu relativamente estável e negativo em todas as condições, com variação mínima entre -10 mV e -20 mV, indicando uma boa estabilidade coloidal das formulações.

A **Figura 6 (B)** mostra o efeito da variação da quantidade de água (20 mL, 30 mL, 40 mL e 50 mL) na formulação sobre o tamanho das partículas, PdI e potencial Zeta. O tamanho das partículas permaneceu relativamente estável, variando entre 25 nm e 27 nm, sugerindo uma baixa influência da quantidade de água sobre o tamanho das partículas nas condições testadas. O PdI apresentou uma leve variação em torno de 0,12, sendo maior no volume de 20 mL de água. O potencial Zeta também apresentou uma pequena variação, com valores oscilando entre -12 mV e -22 mV, o que sugere que a estabilidade coloidal não é influenciada pela quantidade de água nas formulações.

A **Figura 6 (C)** explora o efeito da variação de temperatura (70 °C, 80 °C e 90 °C) sobre as mesmas variáveis. O tamanho das partículas variou de aproximadamente 26 nm a 30 nm, com um leve aumento em temperaturas mais elevadas. O PdI segue uma tendência crescente com o aumento da temperatura, variando de 0,1 a 0,2. O potencial Zeta, por sua vez, teve um aumento de sua carga, com valores entre -16 mV e -7 mV. Estes dados mostram que o aumento da temperatura pode ter um efeito no aumento do tamanho de partículas e na dispersão das mesmas, com uma maior variação do PdI em temperaturas mais elevadas.

Figura 6. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação A após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura.

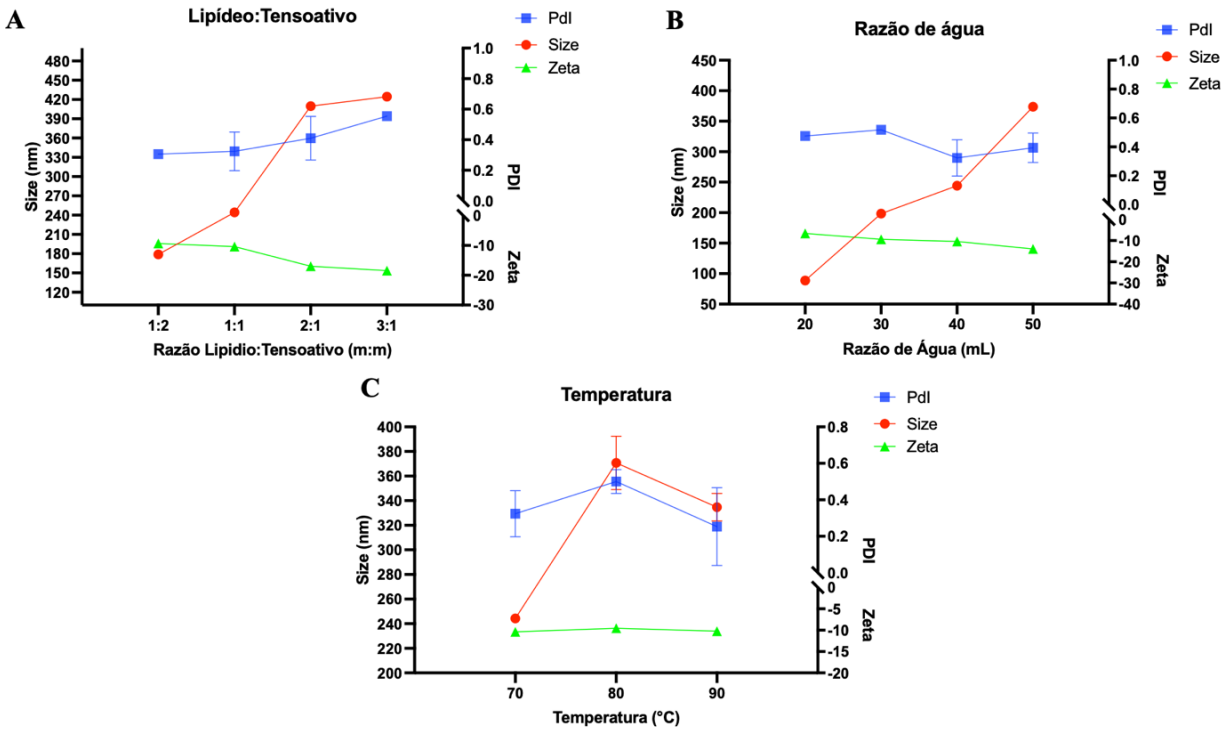


Na **Figura 7 (A)**, o tamanho das partículas aumentou gradualmente, começando com cerca de 178 nm na razão 1:2 até aproximadamente 424 nm na razão 3:1. O PdI também aumentou significativamente, alcançando 0,5 na razão 3:1, sugerindo uma maior heterogeneidade na distribuição do tamanho das partículas. Já o potencial Zeta apresentou variação em torno de -18 mV a -9 mV.

Na **Figura 7 (B)**, o aumento no tamanho das partículas ocorre progressivamente, de 88 nm para quase 400 nm à medida que o volume de água é maior. O PdI também cresceu, alcançando aproximadamente 0,5 com 30 mL de água. O potencial Zeta ficou com valores em torno de -13 mV e -6mV.

Na variação da temperatura na **Figura 7 (C)**, o tamanho das partículas atingiu um pico de aproximadamente 380 nm a 80 °C, diminuindo para cerca de 240 nm a 70 °C. O PdI seguiu uma tendência similar, com um valor máximo em torno de 0,5 a 80 °C. O potencial Zeta, entretanto, permaneceu relativamente constante e negativo.

Figura 7. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação B após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura.

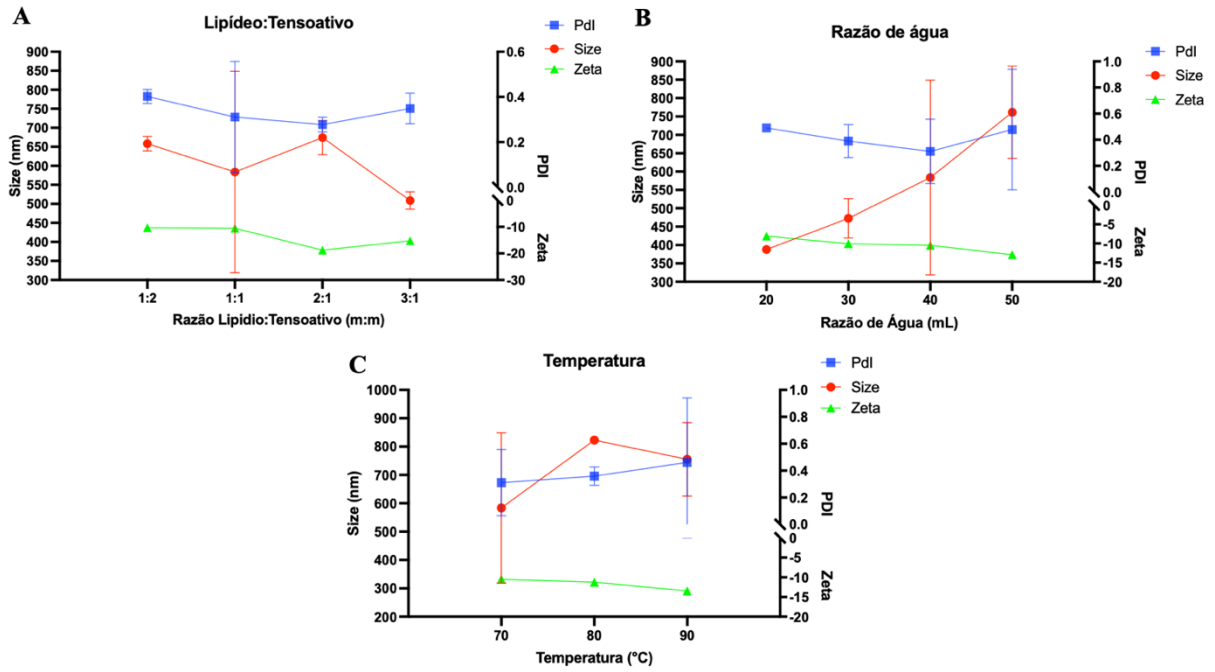


A **Figura 8 (A)** demonstra que o tamanho das partículas se mantém em torno de 500 nm a 670 nm para todas as proporções. O PdI apresenta variações entre de 0,2 e 0,4. O potencial Zeta permanece negativo, com variações entre -18 mV e -10 mV.

Na **Figura 8 (B)** observa-se um aumento considerável no tamanho das partículas de aproximadamente 387 nm para quase 800 nm quando a quantidade de água aumenta de 20 mL para 50 mL. O PdI atingiu valores próximos de 0,3 e 0,5, indicando maior dispersão no tamanho das partículas. O potencial Zeta se manteve negativo.

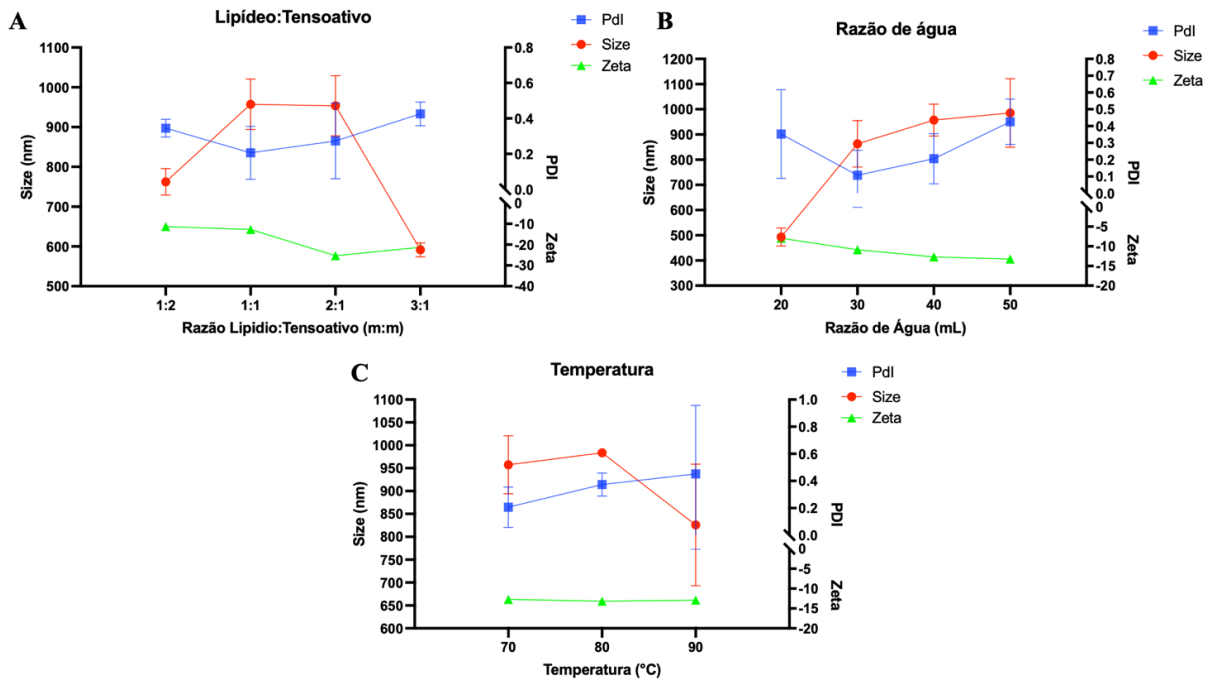
A variação da temperatura (**Figura 8 (C)**) também afeta significativamente o tamanho das partículas. O tamanho atingiu um pico de aproximadamente 820 nm a 80 °C, enquanto nas outras temperaturas o tamanho se manteve entre 500 nm e 700 nm. O PdI mostrou uma tendência crescente, atingindo valores de até 0,4 a 90 °C, o que indica uma maior polidispersidade a essa temperatura. O potencial Zeta, por outro lado, permaneceu praticamente constante e negativo.

Figura 8. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação C após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura.



Na **Figura 9 (A)** o tamanho das partículas varia entre 591e 957 nm, atingindo o maior valor na razão 1:1. O PdI mais baixo foi de 0,2. O potencial zeta alcançou uma carga em torno de -25 mV, com grandes variações. A variação na razão de água (**Figura 9 (B)**) aumentou aproximadamente 493 nm para 985 nm à medida que a quantidade de água aumenta de 20 mL para 50 mL. O PdI também cresceu, a partir de 30 mL, alcançando valores próximos de 0,4 em 50 mL. No potencial Zeta houve pequenas variações. A mudança da temperatura (**Figura 9 (C)**) mostrou um impacto no tamanho das partículas, que atingiu um pico de aproximadamente 983 nm a 80 °C, enquanto se mantém entre 825 e 957 nm em outras temperaturas. O PdI também atingiu seu valor máximo em 90 °C, próximo a 0,5. O potencial Zeta, no entanto, permaneceu estável em torno de -10 mV.

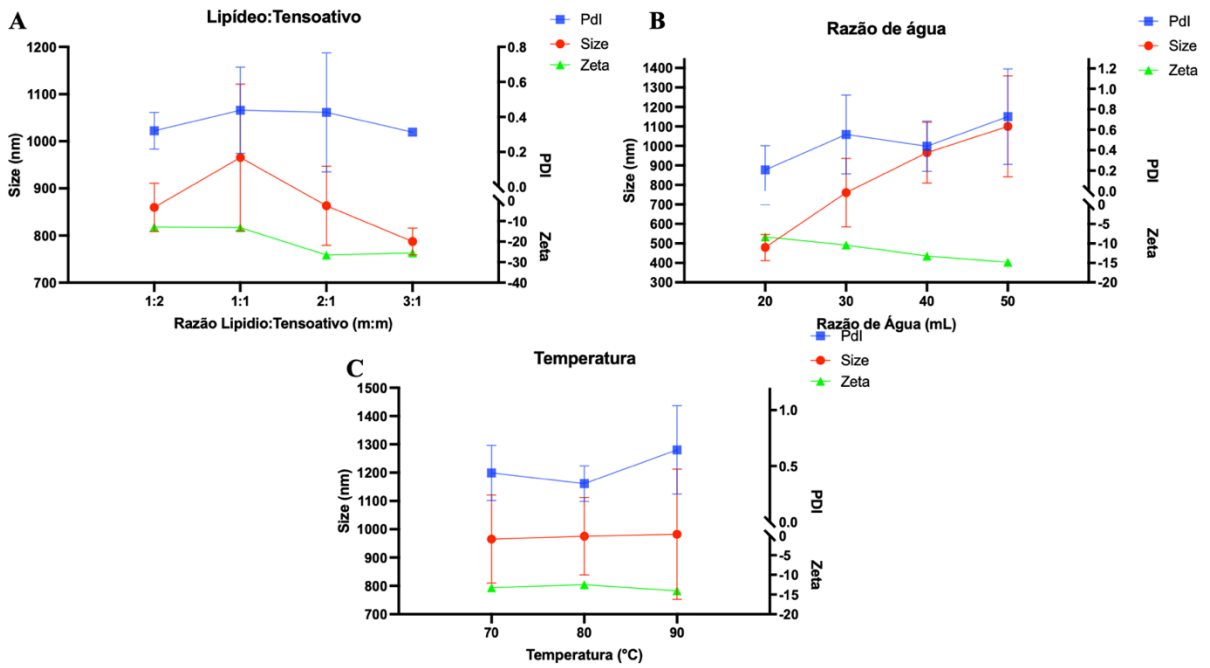
Figura 9. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação D após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura.



O tamanho das partículas no gráfico (**Figura 10 (A)**) se manteve em torno de 787 nm a 965 nm. O PdI apresentou uma leve variação, mantendo-se abaixo de 0,4. O potencial Zeta permaneceu negativo, com maior variação entre -25 mV e -12 mV. A quantidade de água teve um efeito significativo sobre o tamanho das partículas (**Figura 10 (B)**). Observa-se um aumento considerável no tamanho das partículas de aproximadamente 479 nm para 1100 nm quando a quantidade de água aumenta de 20 mL para 50 mL. O PdI também aumenta progressivamente, atingindo valores próximos de 0,7 com 50 mL de água, indicando maior dispersão no tamanho das partículas. O potencial Zeta se mantém negativo, em torno de -10 mV.

A variação da temperatura afetou o tamanho das partículas (**Figura 10 (C)**). O tamanho atingiu um pico de aproximadamente 980 nm a 90 °C. O PdI apresentou valores de até 0,6 a 90 °C. O potencial Zeta, por outro lado, permaneceu praticamente constante e negativo.

Figura 10. Parâmetros físico-químicos (diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta) da Formulação E após a variação das condições de processo: (A) razão lipídeo:tensoativo; (B) volume da fase aquosa; e (C) temperatura.



Esses resultados indicam que os três parâmetros (razão lipídeo:tensoativo, quantidade de água e temperatura) têm um impacto significativo nas propriedades coloidais. Esses achados são cruciais para determinar as melhores condições de formulação, especialmente na obtenção de partículas menores, PdI reduzido e carga de superfície adequada para a solubilização de compostos bioativos hidrofóbicos com potencial aplicação cosmética e nutracêutica.

Diante dos resultados, e considerando os critérios de exclusão, os CLNs que apresentaram menores tamanhos, PdI e potencial Zeta satisfatório foram utilizados para os futuros testes. Com isso, a melhor formulação obtida foi a formulação A (FA), com razão lipídeo:tensoativo 1:1, 30 mL de água e temperatura de 80 ºC.

Com o intuito de diminuir ainda mais a quantidade de tensoativo na formulação, foi realizada mais uma modificação na composição da razão lipídeo:tensoativo, ficando a formulação final (agora chamada de CLN vazio): 2,125 g de manteiga de tucumã; 0,375 g de óleo de bacaba; 1,5 g de BRIJ O10; 30 mL de água e 80 ºC de temperatura. Considerando os resultados iniciais de CLN vazio como satisfatória para o sistema proposto neste estudo, as formulações de CLNs contendo curcumina (CLN-Cur) e quercetina (CLN-Quer) foram preparadas de forma análoga à formulação sem estes compostos (CLN vazio) incorporando-os na fase oleosa na concentração de 1 mg/mL.

5.2 Caracterização físico-química dos CLNs

5.2.1 Análise organoléptica e determinação de tamanho, índice de polidispersidade e carga de superfície (potencial zeta)

As características físico-químicas das formulações CLN vazio; CLN-Cur e CLN-Quer foram avaliadas em termos de tamanho de partícula, PDI e potencial Zeta, além das características organolépticas.

Os resultados obtidos demonstraram que as formulações apresentaram diâmetros hidrodinâmicos médios de partículas em torno de 40 nm. O tamanho reduzido das partículas é crucial para a biodisponibilidade dos compostos bioativos, como a curcumina e a quercetina, que são conhecidos por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. A literatura sugere que nanopartículas com dimensões na faixa de 10-100 nm podem facilitar a absorção celular e melhorar a eficácia terapêutica **(Figura 11)** (Vaz et al., 2022).

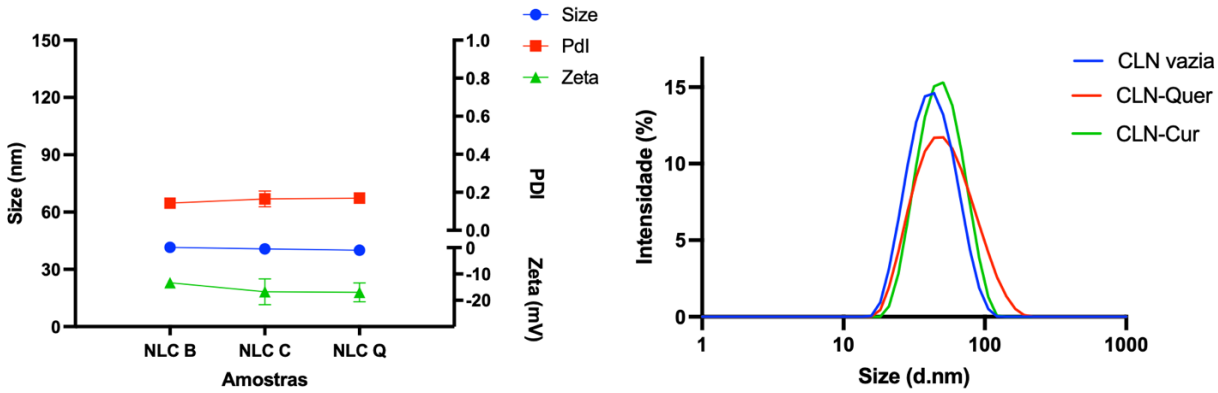
O PDI de 0,1 indica que a distribuição no tamanho de partículas é bastante homogênea, o que é desejável para garantir a uniformidade da formulação e a previsibilidade do comportamento farmacocinético. Segundo a literatura, um PDI inferior a 0,2 é frequentemente considerado ideal para sistemas coloidais, pois sugere baixa variabilidade no tamanho das partículas, minimizando o risco de agregação e sedimentação (Filippov et al., 2023) **(Figura 11)**.

O potencial Zeta medido em -14 mV sugere que as formulações possuem uma carga negativa, o que pode contribuir para a estabilidade eletrostática das nanopartículas. A carga superficial negativa é benéfica para evitar a aglomeração das partículas, aumentando assim a estabilidade da formulação ao longo do tempo. Estudos anteriores indicam que um potencial Zeta superior a ±30 mV é ideal para garantir a estabilidade de dispersões coloidais (Lunardi et al., 2021). A estabilização de coloides, independente da carga, por exemplo, pode ser alcançada por meio de diferentes mecanismos, como a camada de solvatação, que em coloides aquosos com partículas hidrofílicas, envolve a formação de ligações de hidrogênio com a água, o que estabiliza o sistema. O impedimento estérico, utiliza polímeros adsorvidos na superfície das partículas coloidais, onde as alças e caudas poliméricas podem repelir outras partículas, impedindo a aglomeração. Além disso, a modificação do controle coloidal pode ser a solução para o bom controle de partículas em líquidos, aumentando a vida útil e a eficácia do produto (Van Der Sman; Meinders, 2014).

Embora valores de potencial zeta entre ±10 e ±30 mV sejam associados a uma menor repulsão eletrostática, esse parâmetro não define, de forma isolada, a estabilidade de sistemas

nanoestruturados compostos por tensoativos não iônicos. O agente estabilizante utilizado Brij O10, se caracteriza por possuir uma volumosa cabeça hidrofílica composta por cadeias de polioxietileno. Em uma dispersão aquosa, essa porção hidrofílica projeta-se a partir da matriz lipídica e interage fortemente com o solvente, formando uma densa camada de solvatação (ou camada de hidratação) ao redor de cada nanopartícula. Consequentemente, a estabilidade coloidal da formulação mantida pelo impedimento estérico, e não apenas pela repulsão de cargas, onde a coroa hidratada atua como uma barreira física robusta que impede a aproximação, a agregação e a coalescência das partículas. Além disso, as cadeias de polioxietileno tendem a mascarar as cargas superficiais intrínsecas da matriz lipídica, o que explica a obtenção de um sistema altamente estável durante o armazenamento, mesmo exibindo valores absolutos de potencial zeta reduzidos (**Figura 11**) (Florêncio et al., 2025; Matarazzo et al., 2024).

Figura 11. Avaliação físico-química dos CLNs. À esquerda, os valores de diâmetro hidrodinâmico (círculos azuis, eixo esquerdo), índice de polidispersidade (PdI, quadrados vermelhos, eixo direito) e potencial zeta (triângulos verdes, eixo direito) são comparados entre as três formulações testadas. À direita, o gráfico ilustra o perfil de distribuição de tamanho de partículas por intensidade de espalhamento da luz, evidenciando a homogeneidade do carreador vazio (linha azul) em comparação aos sistemas encapsulados com quercetina (CLN-Quer, linha vermelha) e curcumina (CLN-Cur, linha verde).

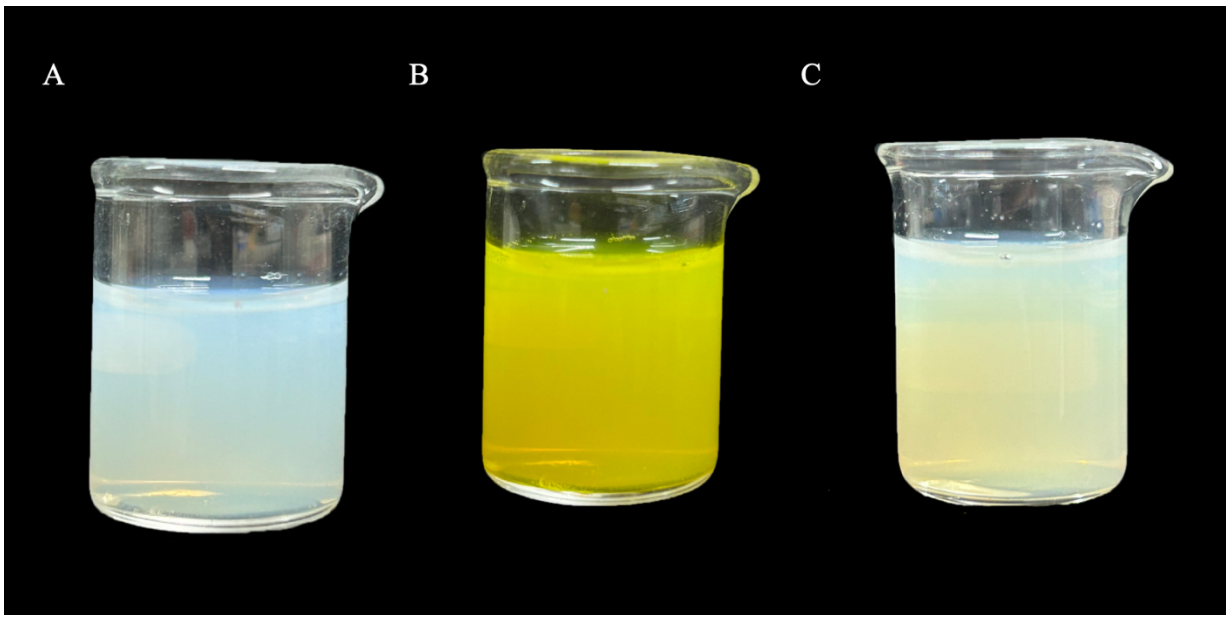


As características organolépticas das formulações foram avaliadas qualitativamente, baseada nos aspectos visuais (macroscópicos). Todas as formulações apresentaram-se translúcidas e homogêneas, indicando uma boa dispersão dos componentes e ausência de

separação de fases. A translucidez é um indicativo de que as partículas estão suficientemente pequenas para não interferir na passagem da luz, o que é um aspecto desejável em formulações cosméticas e farmacêuticas (Gupta et al., 2022). Além disso, a homogeneidade observada nas formulações sugere que o método de preparação utilizado foi eficaz em garantir a incorporação uniforme dos compostos bioativos.

A presença de curcumina e quercetina nas formulações também foi avaliada quanto à sua dispersibilidade e estabilidade baseada em aspectos visuais pela presença de precipitação/ sedimentação dos compostos. Ambos os compostos são conhecidos por sua baixa solubilidade em água, mas a incorporação delas nesta formulação melhorou a dispersão desses compostos como mostrado na **Figura 12**, onde observa-se um sistema coloidal homogêneo.

Figura 12. Características organolépticas das nanoformulações. A) Carreador lipídico nanoestruturado vazio; B) Carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e C) Carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina.



5.2.2 Análise de rastreamento de nanopartículas (ARN)

A análise do tamanho de nanopartículas é crucial na caracterização de sistemas nanométricos, uma vez que o tamanho influencia diretamente a biodisponibilidade, a

distribuição e a eficácia dos compostos bioativos. Além da análise pelo DLS, outra técnica complementar (ARN) foi empregada para a determinação do tamanho dos nanocarreadores.

Na **Figura 13 (A)** (CLN vazio), observamos um tamanho médio de 97,1 nm. A distribuição mostra que 50% das partículas (D50) estão com diâmetro hidrodinâmico em torno de 93,0 nm, enquanto D10 e D90 são 46,2 nm e 151,5 nm, respectivamente. A concentração total é de aproximadamente 8,23 $\times 10^8$ partículas/mL. Para a formulação CLN-Cur (**Figura 13 (B)**), a média do tamanho das partículas é de 114,4 nm. A concentração total é consideravelmente alta, 1,57 $\times 10^9$ partículas/mL. Os resultados indicam que metade das partículas estão em torno de 103 nm (D50), enquanto D10 e D90 são 78,9 nm e 155,9 nm, respectivamente.

Na **Figura 13 (C)** (CLN-Quer), a média das partículas é ligeiramente maior, 114,6 nm, e a concentração de partículas é de 1,11 $\times 10^9$ partículas/mL. Observa-se um D50 de 100,0 nm, com D10 e D90 de 70,1 nm e 173,7 nm, respectivamente.

O DLS mede a intensidade da luz dispersa por partículas em movimento Browniano, permitindo calcular o tamanho médio das partículas com base na difusão. Essa técnica é altamente sensível e pode detectar partículas em concentrações muito baixas, mas é mais suscetível a artefatos relacionados à polidispersidade e à presença de agregados. A ARN, por outro lado, rastreia individualmente as partículas em suspensão **(Figura 14)**, fornecendo informações sobre o tamanho e a concentração em tempo real. Essa técnica permite uma visualização direta das partículas, o que pode ser vantajoso para identificar aglomerados ou partículas não desejadas (Hristov et al., 2017).

O resultado de 40 nm obtido pelo DLS sugere que a maioria das partículas está em uma faixa de tamanho ideal para aplicações terapêuticas, onde tamanhos menores são frequentemente associados a uma melhor penetração celular e biodisponibilidade. No entanto, esse valor pode ser influenciado pela presença de partículas menores ou pela forma como as partículas interagem com o solvente. Em contraste, o tamanho médio acima de 100 nm observado pelo ARN indica uma população de partículas maior, possivelmente refletindo a presença de agregados ou a formação de estruturas mais complexas ao longo do tempo. Esse aumento no tamanho pode ser atribuído à aglomeração das nanopartículas, que pode ocorrer devido a interações intermoleculares ou à instabilidade da formulação.

A discrepância entre os resultados do DLS e do ARN levanta questões importantes sobre a homogeneidade e a estabilidade das nanopartículas. Enquanto o DLS pode subestimar o tamanho em amostras polidispersas, a ARN fornece uma visão mais precisa da distribuição de tamanhos, especialmente em casos em que há aglomeração (Hristov et al., 2017). A diferença

nos tamanhos médios também pode ter implicações significativas na aplicação clínica. Tamanhos maiores podem resultar em uma menor taxa de absorção celular e, consequentemente, em uma eficácia reduzida dos compostos bioativos. Portanto, é essencial considerar essas diferenças ao interpretar os dados e ao planejar futuras investigações (Vaz et al., 2022).

A comparação entre DLS e ARN destaca a importância de utilizar múltiplas técnicas de caracterização para obter uma compreensão abrangente das propriedades das nanopartículas. Embora o DLS tenha fornecido um tamanho médio aparentemente favorável, os resultados do ARN sugerem a necessidade de uma avaliação mais cuidadosa da estabilidade e da homogeneidade das formulações.

Figura 13. Estudo de rastreamento de partículas das amostras: A) Carreador Lipídico Nanoestruturado vazio; B) Carreador Lipídico Nanoestruturado curcumina e C) Carreador Lipídico Nanoestruturado quercetina.

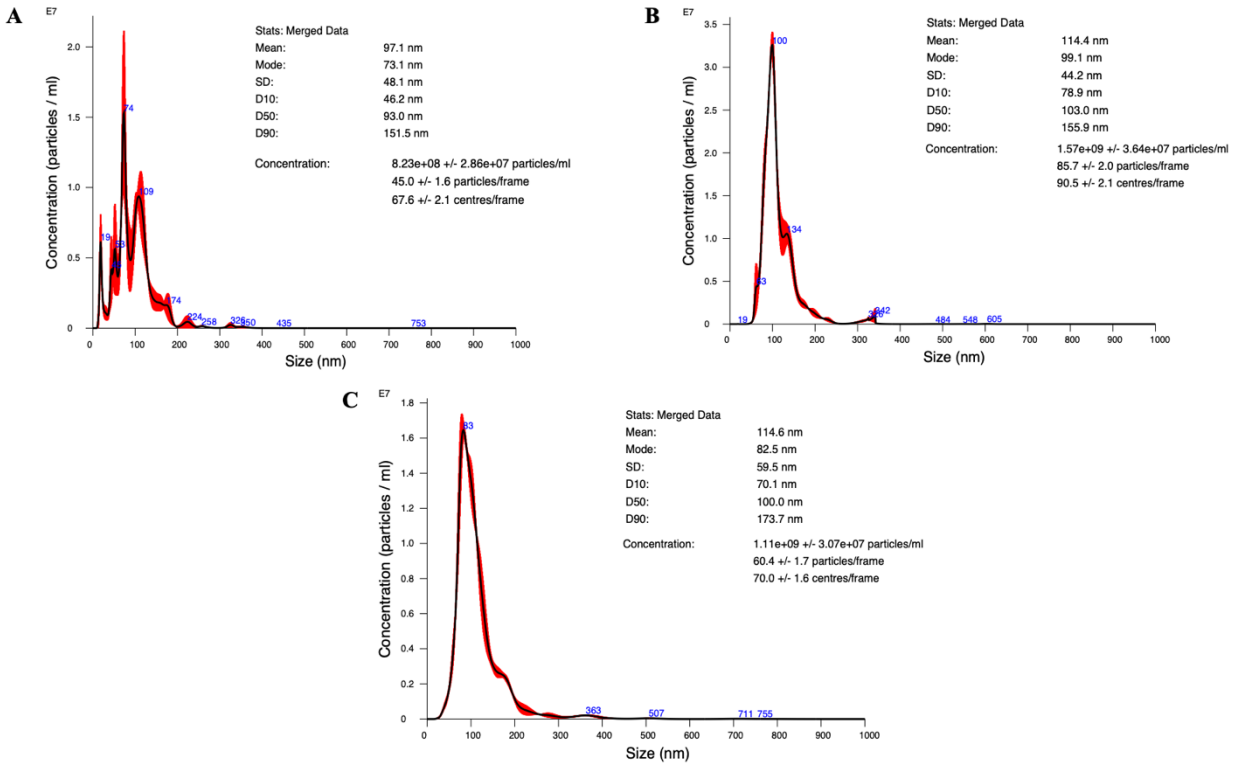
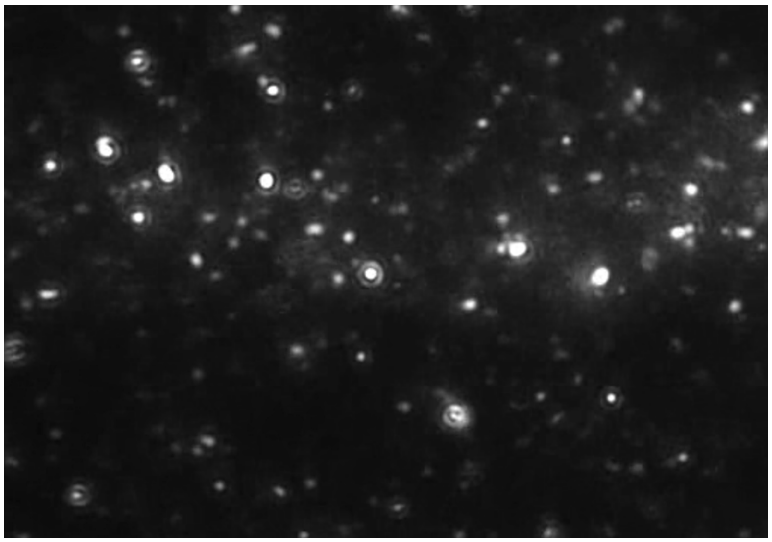


Figura 14. Captura de tela da análise de rastreamento de nanopartículas.



5.2.3 Estabilidade a longo prazo

Posteriormente ao desenvolvimento e obtenção, as formulações foram submetidas ao estudo de estabilidade ao longo do tempo, armazenadas em diferentes condições de temperaturas. Os parâmetros avaliados foram o tamanho das partículas, o PDI e potencial zeta, os quais são indicadores críticos para a estabilidade físico-química de formulações nanoestruturadas (Ravi et al., 2014).

Como pode ser observado na **Figura 15**, **Figura 16** e **Figura 17**, os resultados da estabilidade dos CLNs armazenados na temperatura de 5 ºC durante 365 dias, apresentaram um tamanho médio das partículas relativamente estável ao longo do tempo, com variações pouco significativas entre 40 e 70 nm. O PDI, embora tenha apresentado pequenas oscilações, permaneceu abaixo de 0,3 durante o período de estudo, indicando uma distribuição moderadamente homogênea de tamanho de partículas. O potencial zeta apresentou variações, com valores negativos entre -10 e -20 mV, sugerindo uma possível influencia do tensoativo utilizado nas formulações.

A estabilidade das formulações a 25 °C ao longo de 365 dias, assim como na condição de 5 °C, as partículas mantiveram-se com tamanho relativamente constante, com uma leve tendência de aumento a partir dos 240 dias, chegando próximo de 57 nm para a CLN vazio. O PDI apresentou um comportamento semelhante em 5 °C, permanecendo abaixo de 0,3 durante

a maior parte do estudo. O potencial zeta permaneceu com valores negativos entre -10 e -20 mV, o que indica que as formulações apresentaram uma estabilidade coloidal a 25 °C.

Os resultados mostram maior variação nos parâmetros avaliados a 37 °C ao longo do período de 365 dias. Nesta condição, tamanho das partículas aumentou significativamente após 120 dias, alcançando picos com mais de 1000 nm, o que indica uma instabilidade das formulações a essa temperatura de armazenamento. O PDI também apresentou um comportamento irregular, com um aumento em torno de 180 dias, superando 1,0 em alguns pontos, sugerindo uma distribuição heterogênea das partículas e possível agregação. O potencial zeta manteve-se com valores negativos entre -10 e -20 mV, similar às outras temperaturas, porém, essa estabilidade de carga superficial não foi suficiente para evitar a instabilidade física.

Figura 15. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado vazio pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias.

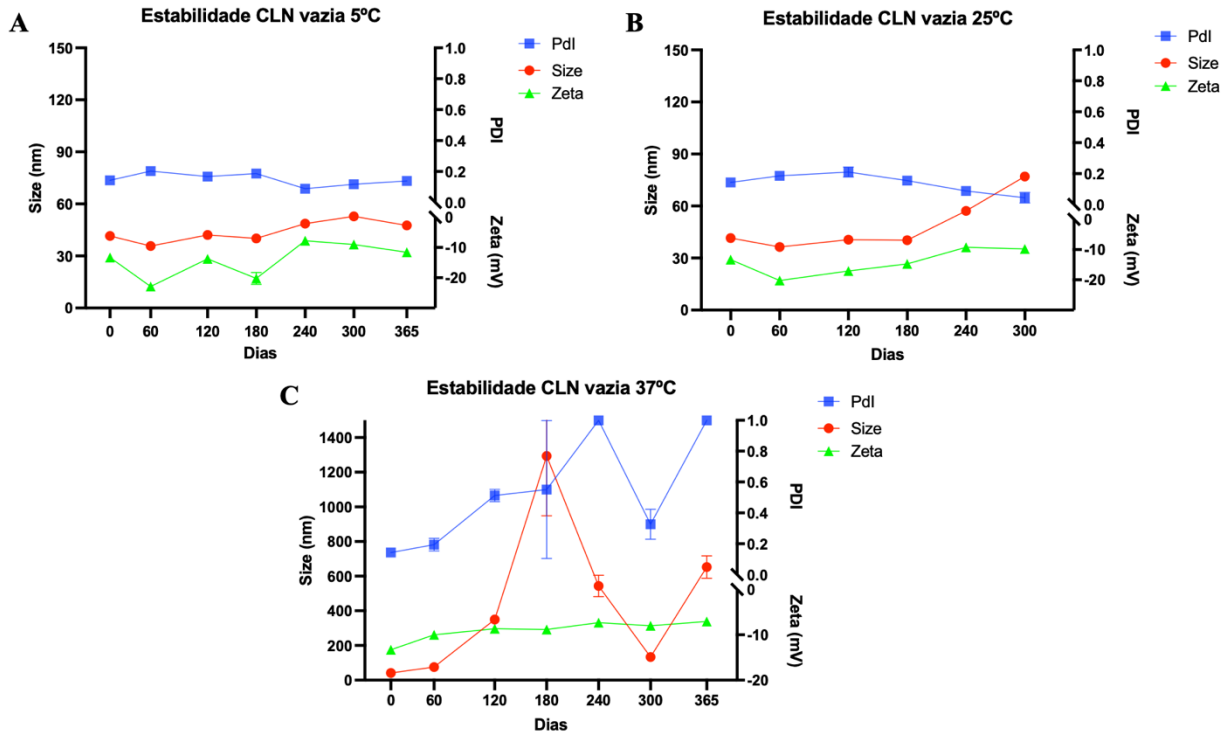


Figura 16. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado curcumina pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias.

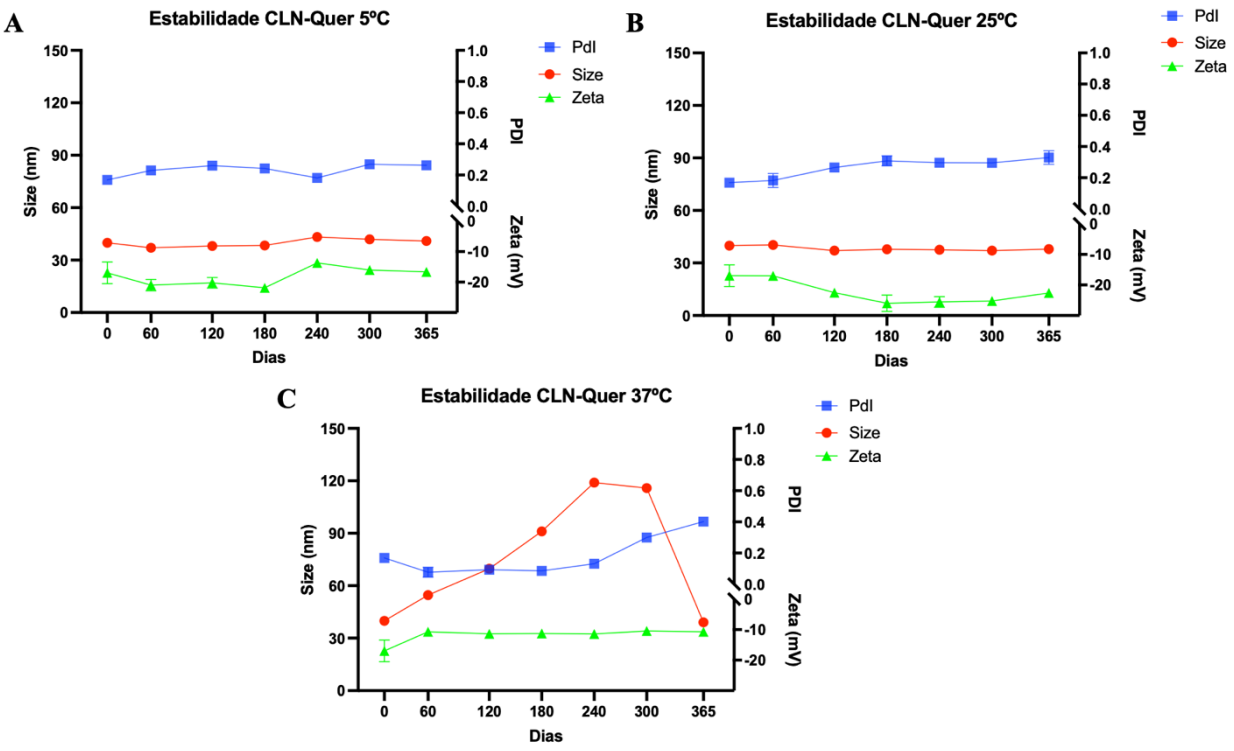
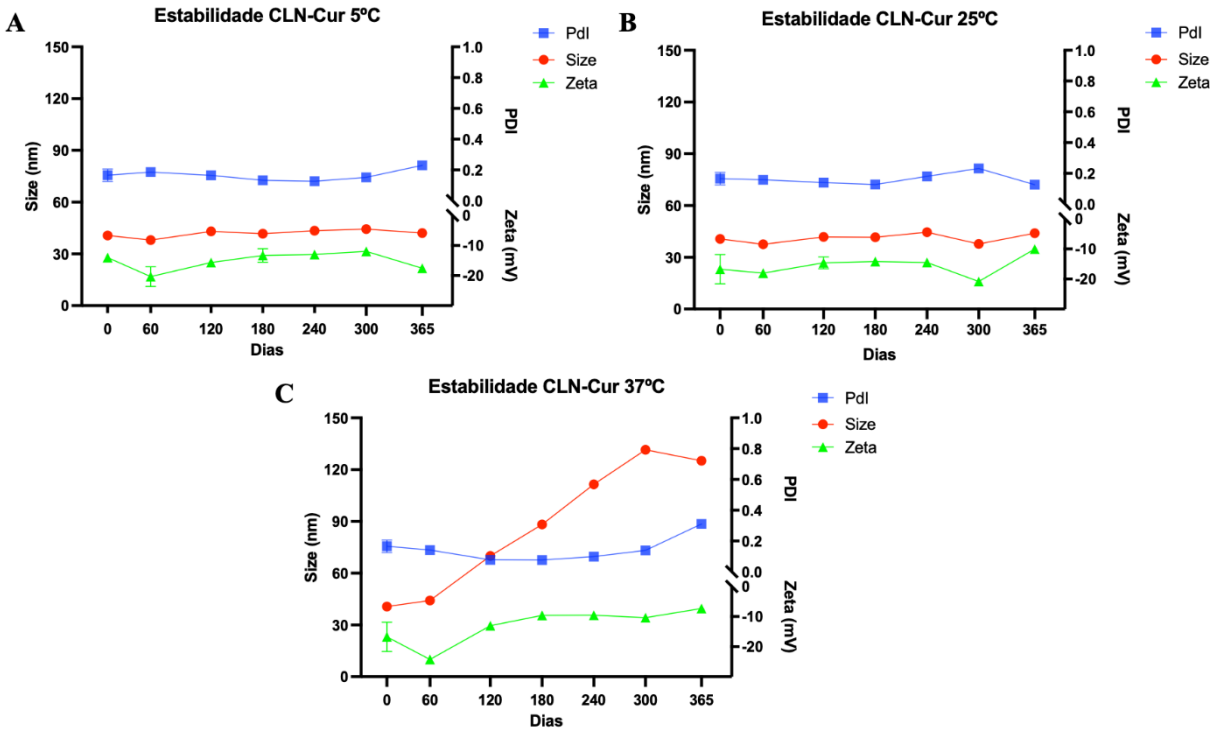
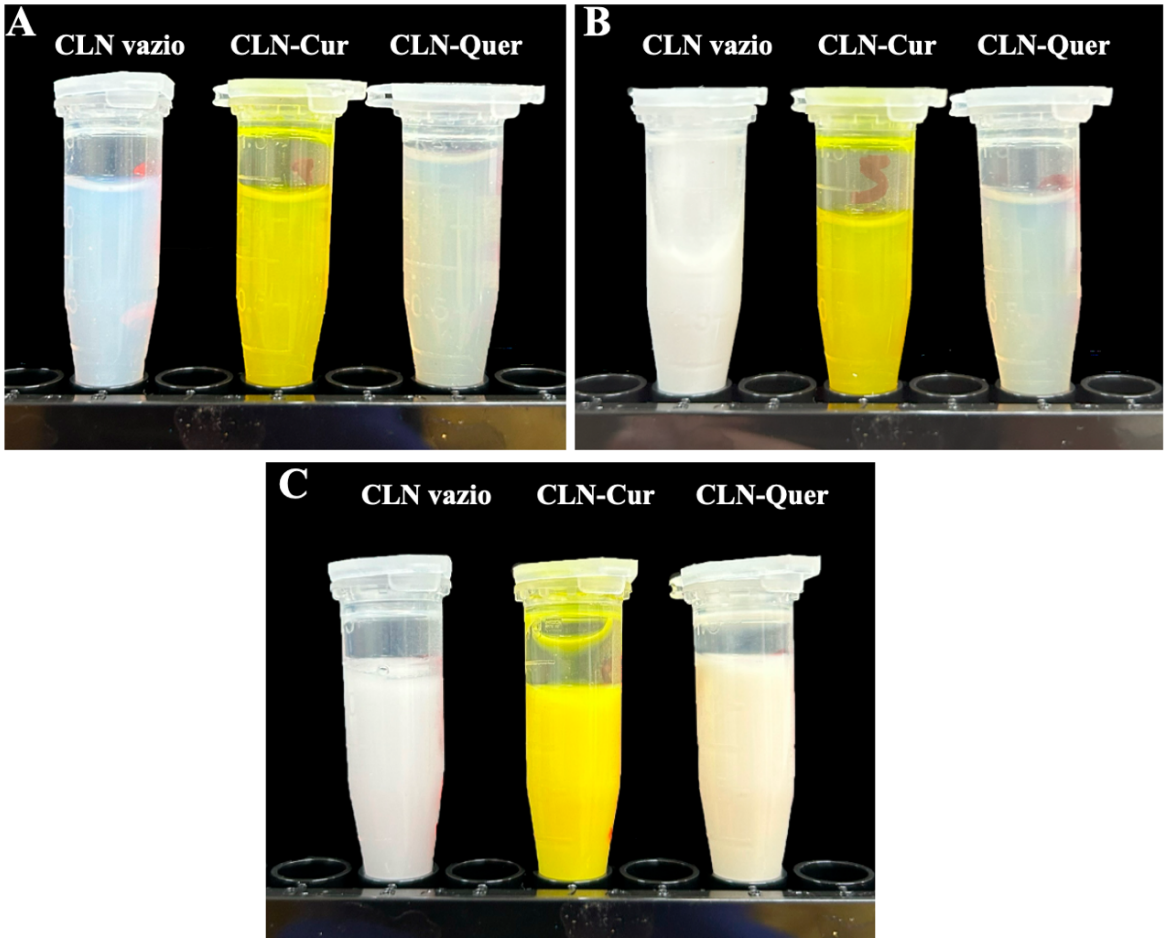


Figura 17. Gráficos representando a estabilidade de armazenamento em diferentes temperaturas do Carreador Lipídico Nanoestruturado quercetina pelos parâmetros de tamanho, índice de polidispersidade e potencial Zeta ao longo de 365 dias.



Durante os experimentos realizados a 25 ºC, observou-se um fenômeno inesperado relacionado ao CLN vazio. A partir de 300 dias, essa formulação apresentou um processo de gelificação, enquanto as formulações que continham curcumina e quercetina mantiveram-se em sistema coloidal. Essa diferença no comportamento físico da formulação é digna de análise, pois pode ter implicações significativas na sua aplicabilidade e eficácia. Na **Figura 18**, pode-se observar as características macroscópicas das formulações após um ano de estabilidade.

Figura 18. Fotos da análise macroscópica das formulações após um ano de estabilidade em diferentes condições. A) 5 ºC; B) 25 ºC e C) 37 ºC.



A gelificação do CLN vazio pode ser atribuída a vários fatores, incluindo a interação entre os componentes lipídicos e a formação de redes tridimensionais que ocorrem ao longo do tempo. A ausência de compostos bioativos pode ter permitido uma maior mobilidade dos lipídeos, resultando em uma reorganização que favoreceu a formação de uma estrutura gelificada. Em contraste, a presença de curcumina e quercetina nas outras duas formulações pode ter contribuído para a manutenção da fluidez, possivelmente devido à interação dessas moléculas com os lipídeos, que poderia inibir a formação de estruturas mais rígidas (Freitas; Müller, 1999).

A gelificação pode comprometer a biodisponibilidade e a liberação controlada de qualquer ativo que venha a ser incorporado posteriormente, tornando essa formulação menos desejável para aplicações farmacêuticas. A presença dos compostos bioativos pode ter um efeito estabilizador sobre a matriz lipídica, possivelmente por meio de interações intermoleculares que impedem a agregação dos lipídeos. A manutenção do estado líquido é crucial para a eficácia das formulações, pois garante uma melhor dispersão dos ativos e facilita a administração e permeação. Além disso, a estabilidade física é um fator determinante na aceitação do

consumidor e na viabilidade comercial das formulações. Os resultados obtidos indicam que a incorporação de compostos como a curcumina e quercetina pode desempenhar uma atividade fundamental na estabilidade física. Estudos adicionais são necessários para investigar as interações específicas entre os lipídeos e os compostos bioativos, bem como para explorar estratégias que possam prevenir a gelificação em formulações semelhantes (Bajaj; Sakhuja; Singla, *[S.d.]*; González-González et al., 2022; Rao; Goyal, 2016).

No geral, os resultados expostos indicam que a estabilidade é fortemente influenciada pela temperatura de armazenamento. As formulações mantiveram-se relativamente estáveis a 5 °C e 25 °C em 365 dias. No entanto, a 37 °C, a estabilidade foi comprometida, com aumentos no tamanho das partículas e no PDI, indicando desestabilização da formulação. Esses resultados sugerem que as formulações apresentam maior estabilidade em condições de armazenamento refrigeradas ou ambiente moderado, enquanto temperaturas elevadas aceleram processos de instabilidade coloidal.

5.2.4 Microscopia eletrônica de transmissão

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanoestruturas revelaram partículas predominantemente esféricas e homogêneas, com diâmetro médio de 200 nm, demonstrando uma distribuição de tamanho uniforme, o que pode indicar um preparo controlado e reprodutível. A superfície dos CLNs apresenta-se lisa e bem definida, e observa-se uma clara delimitação entre o núcleo lipídico e a camada externa no CLN vazio (**Figura 19 (A)**), diferente das demais (CLN-Cur e CLN-Quer), que se apresentam mais eletrodensas no núcleo quando comparadas **Figura 19 (B e C)**.

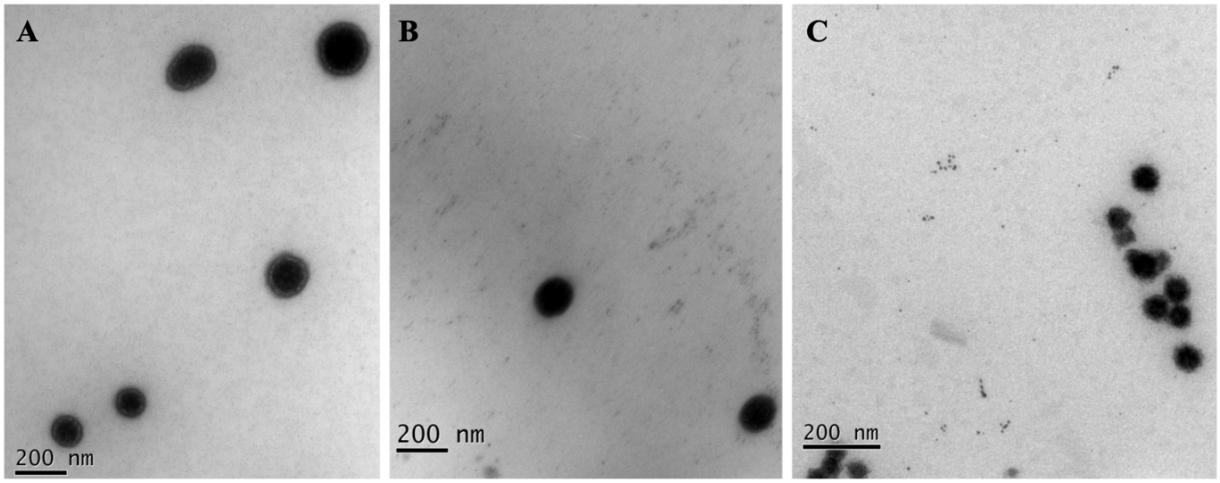
A análise morfológica das nanoestruturas por MET confirma a eficácia na obtenção de partículas pelo método PIT. A ausência de agregação nas micrografias sugere que as nanoestruturas possuem uma boa estabilidade coloidal, fator essencial para a viabilidade comercial das formulações. A estabilidade observada pode ser atribuída ao estudo de proporção adequada dos excipientes utilizados para obtenção da formulação final.

Comparando com estudos recentes, as características morfológicas das nanoestruturas desenvolvidas neste trabalho são consistentes com aquelas reportadas na literatura para nanocarreadores lipídicos destinados à entrega de bioativos hidrofóbicos. Por exemplo, Vaz et al., 2022) demonstraram que nanoestruturas lipídicas esféricas com tamanhos semelhantes apresentaram uma liberação controlada e prolongada de curcumina, podendo melhorar sua eficácia antioxidante em formulações cosméticas. Da mesma forma, (Caddeo et al., 2014)

evidenciaram que nanopartículas esféricas de quercetina apresentaram maior penetração dérmica e atividade anti-inflamatória em modelos *in vitro*.

Em síntese, a análise das micrografias atesta a uniformidade dimensional das nanoestruturas desenvolvidas. Aliada à comprovada estabilidade física do sistema, essa característica morfológica consolida o potencial desses carreadores em contornar as limitações de baixa solubilidade aquosa e biodisponibilidade reduzida, inerentes aos bioativos hidrofóbicos. Consequentemente, essas plataformas representam uma estratégia promissora para o desenvolvimento de formulações terapêuticas mais estáveis e com maior eficácia.

Figura 19. Eletromicrografia de transmissão dos nanocarreadores por MET. A) Carreador lipídico nanoestruturado vazio; B) Carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e C) Carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina.



5.2.5 Espectroscopia de infravermelho transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Os perfis espectrais dos nanocarreadores formulados, CLN-Branca, CLN-Cur e CLN-Quer, e dos compostos individuais/ fármacos envolvidos nas formulações (manteiga de tucumã, óleo de bacaba, BRIJ O10, curcumina e quercetina) foram investigados utilizando a técnica de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), conforme apresentado na **Figura 20**.

Observa-se, nos espectros referentes aos CLNs (**f, g e h**), assinaturas típicas de compostos com perfis lipídicos (hidroxilas, carbonilas, alquilas, entre outros), advindos da manteiga, do óleo e do tensoativo adotados, sendo este último proveniente de éteres graxos de origem vegetal (espectros **a, b e c**). Podem ser evidenciadas, especialmente, as regiões 1 (2921

e 2852 cm^{-1}) e 2 (1742 cm^{-1}) dos CLNs, apresentando o mesmo formato, posição e intensidade relativa dos picos referentes à manteiga, juntamente com a região 6 (1107 cm^{-1}) (todas destacadas em cinza claro), correspondentes, respectivamente, aos estiramentos $\nu_{as}(CH_2)$ e $\nu_s(CH_2)$, ν(C-O) e ν_s(C=O). Os modos vibracionais característicos para cada pico (1 a 9, **Figura 20**) podem ser consultados na **Tabela 2 e 3** e estão em consonância com a literatura de referência.

Notadamente picos característicos dos fármacos encapsulados, curcumina e quercetina (espectros **d** e **e**), estão ausentes ou suprimidos nos perfis espectrais dos CLNs correspondentes (CLN-Cur e CLN-Quer); contudo, observa-se na região 6, variações no pico duplo (situado em torno de 1107 cm^{-1}) dos CLNs (**f, g e h**) em relação à matriz lipídica, com formatos, deslocamentos e intensidades relativas distintas, indicando a interação fármaco-matriz.

Figura 20. FT-IR. Perfis espectrais dos nanocarreadores CLN-Branca, CLN-Cur e CLN-Quer (f, g, h), dos compostos lipídicos (a, b, c) e fármacos (d, e) envolvidos nas formulações.

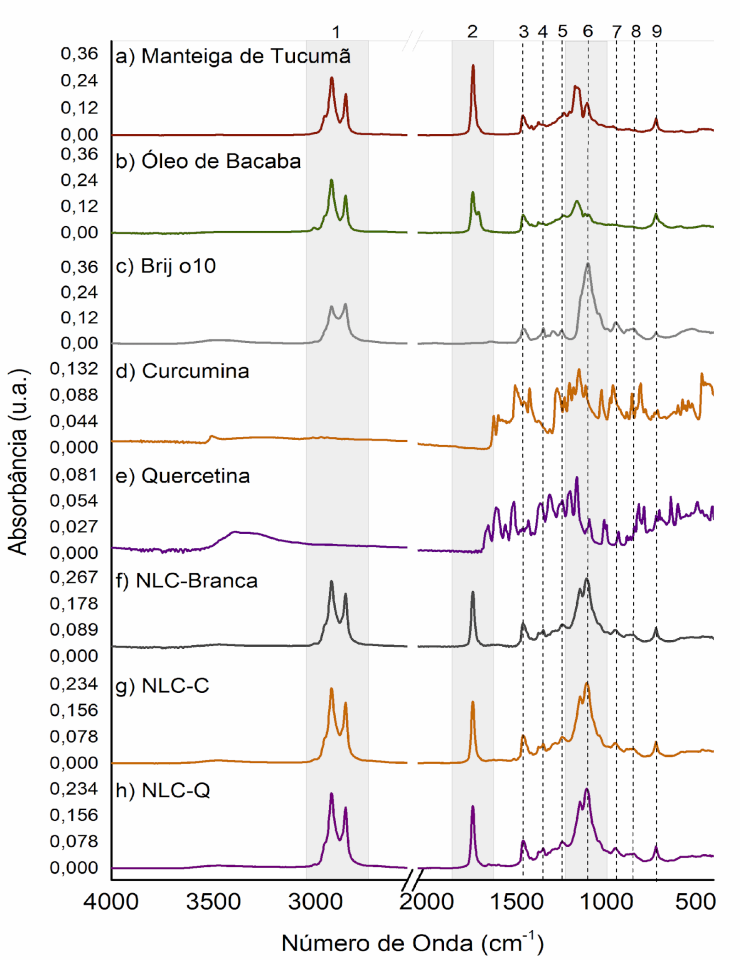


Tabela 2. FT-IR de amostras com perfis espectrais típicos para compostos lipídicos. Modos vibracionais característicos prováveis dos nanocarreadores formulados com manteiga de tucumã, óleo de bacaba e brij o10; onde CLN-Branca, CLN-C e CLN-Q referem-se aos nanocarreadores sem a adição do fármaco (Branca), com curcumina (C) e com quercetina (Q). ν_s (symmetrical stretching); ν_{as} (asymmetrical stretching); δ (bending); ρ (rocking).

Compostos lipídicos e nanocarreadores formulados						**Picos**	**Modos vibracionais característicos**
Manteiga de Tucumã	Óleo de Bacaba	Brij o10	CLN-Branca	CLN-C	CLN-Q		
2921	2921	2921	2921	2921	2921	1	$\nu_{as}(CH_2)$
2852	2852	2852	2852	2852	2852		$\nu_s(CH_2)$
1742	1742	1742	1742	1742	1742	2	$\nu_s(C=O)$
1460	1460	1460	1460	1460	1460	3	$\delta(CH_2)$/ $\delta(CH_3)$
1240	1240	1240	1240	1240	1240	4	ν(C–O)/ $\delta(CH_2)$
1162	*1162*	-	1145	1145	1145	5	ν(C–O)/ $\delta(CH_2)$
1105	*1116*	*1102*	1107	1107	1107	6	ν(C–O)
-	*1092*	-	-	-	-		
958	-	*945*	950	950	950	7	δ(CH)
-	-	*845*	850	850	850	8	
723	723	*720*	723	723	723	9	$\rho(CH_2)$

Tabela 3. FT-IR dos perfis espectrais dos fármacos utilizados nos nanocarreadores CLN-C e CLN-Q. Modos vibracionais característicos prováveis da curcumina e quercetina. νs (estiramento simétrico); νas (estiramento assimétrico); δ (flexão); ρ (oscilação).

Curcumina	Quercetina	**Modos vibracionais característicos**
3506	-	ν(OH)
-	3404	
-	3350	
	3284	

-	1657	ν(C=O)
1626	-	ν(C=C)
1601	1610	
-	1563	ν(C=O)
1508	1516	ν(C=C)/ ν(C=O)
-	1479	
1454	1467	
1426	1433	δ(C–H)/ ν(C=H)
-	1409	
-	1367	δ(C–H)/ ν(C=H)/ ν(C–O–C)
1315	1314	
1273	1261	ν(C–O)
1232	1244	ν(C–H)
1203	1203	ν(C–O)
1182	-	ν(C–O–C)
1151	1164	δ(C–O–C)/ ν(C–O)
1113	-	
-	1092	ν(C–O–C)
1024	1011	δ(C–C–O–C)
-	999	
977	-	δ(C–H)
961	-	
-	930	
884	883	ν(C–C)
856	865	δ(C–H)
833	841	
-	818	δ(C–H) fora-do-plano
809	809	
782	787	
744	756	δ(C–H) fora-do-plano
729	721	
712	702	
-	692	δ(C–H)
-	638	δ(C–O–H)
600	-	
-	599	
573	-	δ(C–H)/ δ(C–O–H)
560	554	
541	-	
520	524	

5.2.6 Análises térmicas

A análise de TGA apresentada na **Figura 21** compara a estabilidade térmica de fármacos puros, curcumina e quercetina, com seus respectivos sistemas encapsulados em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN-Cur e CLN -Quer), além de incluir o carreador sem os fármacos (CLN vazio). Os resultados revelam diferenças importantes entre os perfis térmicos das amostras, destacando o impacto positivo do encapsulamento.

Os compostos puros demonstraram estabilidade térmica, com a curcumina apresentando maior resistência à degradação em altas temperaturas, iniciando sua perda de massa significativa em torno de 300 °C. A quercetina, por outro lado, mostrou-se mais suscetível à degradação, com perda de massa em temperaturas inferiores às observadas para a curcumina. Esse comportamento reflete as diferenças estruturais entre os dois compostos, que influenciam diretamente a estabilidade de seus grupos funcionais em condições térmicas extremas.

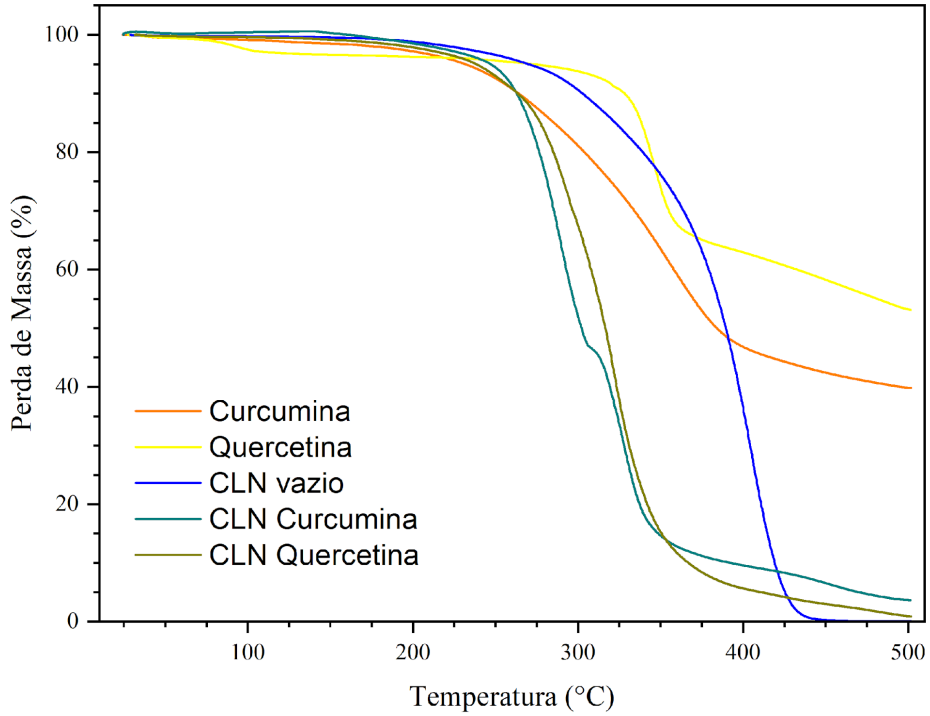
O CLN vazio, composto apenas pela matriz lipídica, evidenciou maior resistência térmica em comparação aos compostos puros, mantendo sua estabilidade até temperaturas próximas a 400 °C. Isso indica que os lipídeos utilizados na formulação do carreador possuem boa resistência ao calor, configurando uma estrutura robusta e estável. Essa característica é fundamental para proteger compostos bioativos sensíveis durante o armazenamento ou processamento em temperaturas elevadas.

O encapsulamento da curcumina e da quercetina nos CLNs resultou em melhorias notáveis na estabilidade térmica, especialmente da quercetina. As curvas de TGA demonstram que os sistemas encapsulados apresentam menor perda de massa inicial e maior resistência térmica até aproximadamente 300 °C, quando comparados aos compostos livres. Essa proteção térmica pode ser atribuída à capacidade dos lipídeos de formarem uma barreira física em torno dos compostos bioativos, minimizando a exposição direta ao calor e protegendo-os de reações de degradação (Ciuca; Racovita, 2023).

Além disso, o comportamento térmico do CLN-Cur e do CLN-Quer evidencia a interação e a compatibilidade físico-química entre a matriz lipídica e os compostos encapsulados, fatores que contribuem para a estabilidade geral do sistema. A análise demonstra que a curcumina e a quercetina encapsuladas apresentaram perfis de degradação térmica distintos entre si. Esse comportamento sugere que as propriedades químicas e estruturais específicas de cada bioativo influenciam de maneira particular o seu arranjo e a sua interação com as cadeias lipídicas do nanocarreador.

Esses resultados ressaltam o potencial dos CLNs como ferramentas para uma estratégia eficaz de proteção de compostos bioativos sensíveis, como curcumina e quercetina, ampliando suas possibilidades de aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. A maior estabilidade térmica proporcionada pelo encapsulamento permite o uso dessas formulações em condições mais desafiadoras, como durante o processamento ou armazenamento em temperaturas moderadamente elevadas, sem comprometer a eficácia terapêutica ou a integridade dos compostos.

Figura 21. Análise termogravimétrica dos compostos puros, e do carreador lipídico nanoestruturado vazio; carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina e carreador lipídico nanoestruturado contendo quercetina.



A análise por DSC ilustrada na **Figura 22** examina o perfil térmico dos bioativos puros, curcumina e quercetina, comparando-os com seus respectivos sistemas encapsulados em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN-Cur e CLN -Quer), além do carreador vazio CLN Branco). Os resultados fornecem informações cruciais sobre as mudanças no estado físico dos

compostos encapsulados, destacando o impacto da matriz lipídica na modificação de suas propriedades térmicas, cristalização, e na interação entre os componentes do sistema.

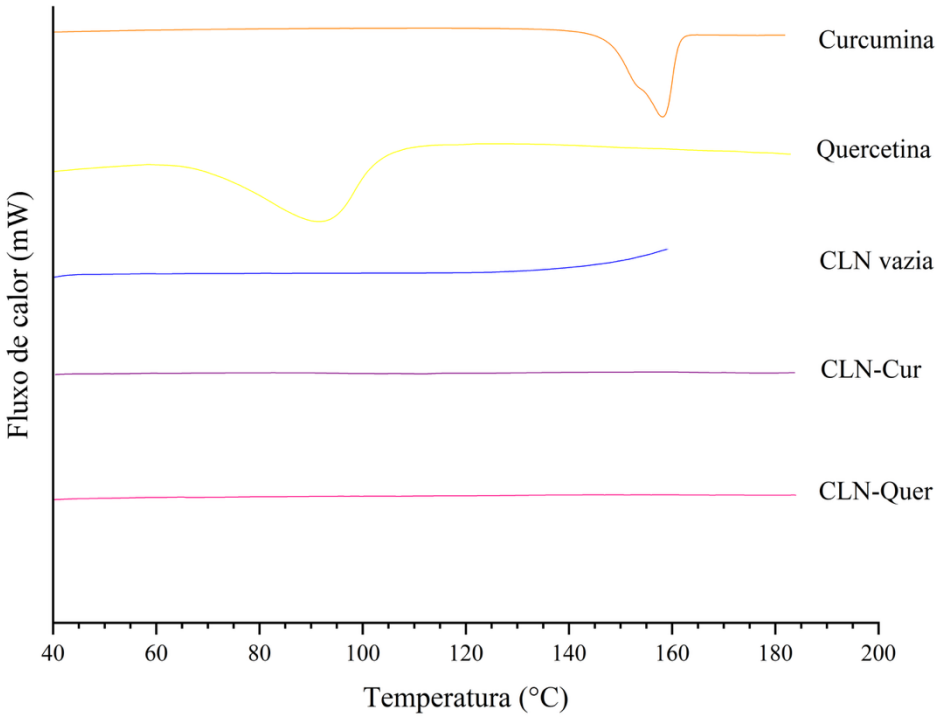
A curcumina livre apresenta um evento endotérmico em torno de 160 °C, provavelmente associado ao seu ponto de fusão. Esse comportamento evidencia a natureza cristalina do composto em sua forma pura. A quercetina, por outro lado, mostra uma transição endotérmica em uma temperatura inferior, aproximadamente 90 °C. Isso reflete uma alteração na organização do retículo cristalino dessas amostras, possivelmente relacionada às distinções estruturais e às interações intramoleculares específicas de cada composto.

Nos sistemas encapsulados (CLN-Cur e CLN-Quer), observa-se a ausência de picos de transição endotérmica característicos da curcumina e da quercetina livres. Esse comportamento indica que os compostos encapsulados deixaram de apresentar uma estrutura cristalina, estando possivelmente solubilizados e uniformemente dispersos na matriz lipídica. A interação com os lipídeos do CLN pode ter promovido uma transição para um estado amorfo ou semi-cristalino, dificultando a detecção de eventos de fusão específicos. Este fenômeno é comum em sistemas nanoestruturados e indica uma alteração significativa na organização estrutural dos compostos encapsulados. Além disso, o fármaco em sua forma amorfa apresenta maior solubilidade em água, o que potencialmente aumenta sua biodisponibilidade. Assim, a nanoencapsulação dos fármacos na matriz lipídica pode contribuir para aprimorar sua eficiência terapêutica.

Desta forma, a ausência de eventos endotérmicos para os CLNs encapsulando curcumina e quercetina pode ser interpretada como evidência de uma dispersão homogênea dos compostos bioativos na matriz lipídica. Estudos como os de Ganassin et al., (2022) e Vijayakumar et al., (2017) demonstram que o encapsulamento em nanoestruturas lipídicas pode interferir nas propriedades térmicas e de cristalização dos compostos encapsulados, promovendo maior estabilidade e eficiência no sistema. Ademais, o perfil térmico do CLN vazio também não apresenta picos endotérmicos evidentes, reforçando a hipótese de que a matriz lipídica possui uma estrutura predominantemente amorfa ou semicristalina.

Em síntese, a análise por DSC demonstra que o encapsulamento em carreadores lipídicos nanoestruturados não apenas modifica as propriedades térmicas dos compostos bioativos, mas também reforça a viabilidade desses sistemas como plataformas de entrega estáveis e funcionais para compostos sensíveis, como curcumina e quercetina.

Figura 22. Termogramas dos compostos puros, e dos nanocarreadores CLN-Branca, CLN-Cur e CLN-Quer.



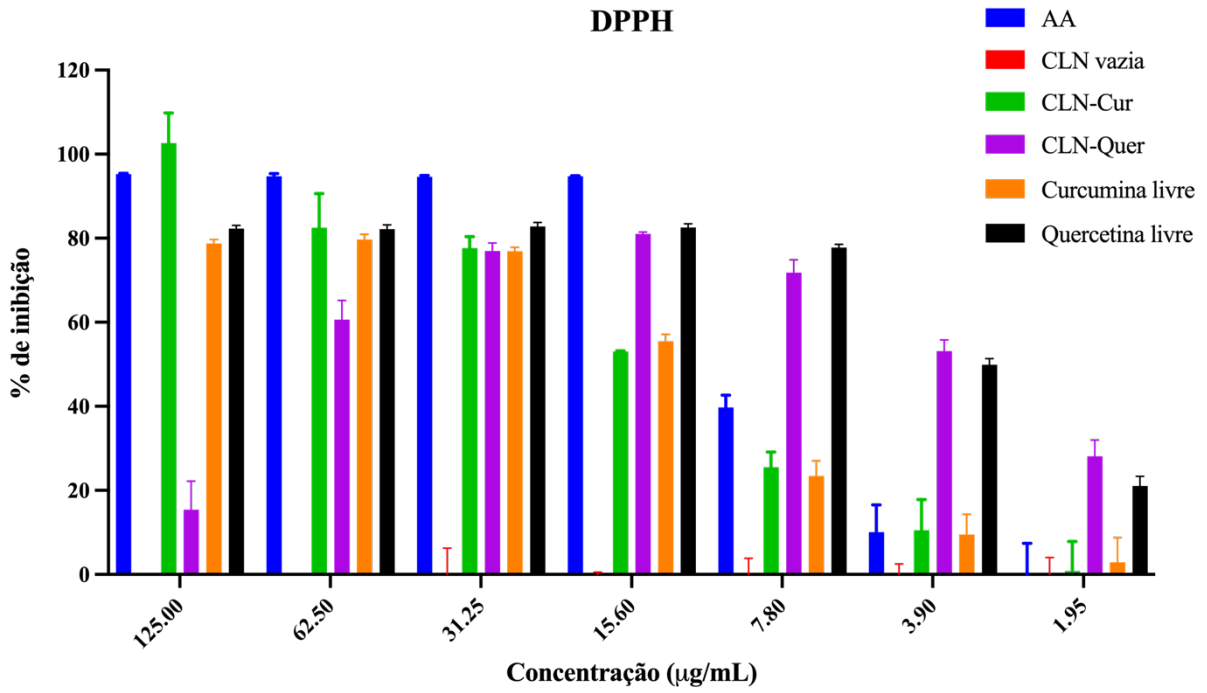
5.2.7 Análise da capacidade antioxidante dos CLNs pelo método do DPPH

O método do DPPH é amplamente utilizado para determinar a capacidade antioxidante de compostos, que se baseia na redução do radical DPPH, de coloração roxa, para uma forma reduzida amarelada. Essa transição de cor pode ser monitorada pela diminuição da absorbância indicando a capacidade de doação de elétrons das amostras testadas, ou seja, sua capacidade antioxidante. O ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle padrão, pois permite comparar a eficácia antioxidante dos nanocarreadores em diferentes concentrações, já que o AA é conhecido por sua forte capacidade de neutralizar radicais livres (Hemlata et al., 2020).

Nas concentrações mais altas testadas, o CLN-Cur apresentou atividade antioxidante superior, com valores próximos ou até maiores que o padrão de AA (**Figura 23**). Essa maior eficácia nas concentrações elevadas pode ser explicada pela alta capacidade da curcumina em doar elétrons quando encapsulada em nanoestruturas, devido a sua maior disponibilidade, o que possibilita uma interação mais efetiva com os radicais DPPH.

Figura 23. Avaliação da atividade antioxidante in vitro pelo ensaio de captura do radical livre DPPH. O gráfico ilustra o percentual de inibição em função da redução da concentração (de

125 a 1,95 µg/mL) para o controle positivo ácido ascórbico (AA, barras azuis), carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN vazia, barras vermelhas), nanocarreadores carregados (CLN-Cur em verde e CLN-Quer em roxo) e os respectivos compostos bioativos em sua forma não encapsulada (Curcumina livre em laranja e Quercetina livre em preto). Os dados representam a média ± desvio padrão de triplicatas independentes.



Em contrapartida, nas concentrações mais baixas, o CLN-Quer supera não apenas o CLN-Cur, mas também o controle de AA. Esse comportamento pode estar relacionado com a estrutura molecular da quercetina, que é altamente eficiente na doação de hidrogênios e pode interagir rapidamente com radicais livres em concentrações menores. A encapsulação em nanopartículas pode também facilitar a liberação gradual e estável da quercetina, potencializando sua atividade antioxidante em concentrações mais baixas. Isso é consistente com a literatura, que destaca a alta atividade antioxidante intrínseca da quercetina, especialmente quando encapsulada para aumentar sua solubilidade e estabilidade.

Os resultados demonstram que, embora o padrão de AA apresente atividade antioxidante consistente em dosagens maiores (≥ 31,25 µg/mL), a encapsulação modulou a capacidade de varredura do radical DPPH de maneira distinta e vantajosa para os bioativos. Na concentração máxima avaliada (125 µg/mL), o CLN-Cur alcançou uma inibição de 102,60 ± 7,20%, apresentando um desempenho estatisticamente equivalente ao do ácido ascórbico (95,16 ± 0,20%, $p>0,05$), mas sendo significativamente superior à curcumina em sua forma livre

(78,76 ± 0,90%, p<0,01). O maior destaque do sistema nanoestruturado, contudo, evidenciou-se nas faixas de menor concentração com a formulação CLN-Quer. Nas concentrações de 7,80 µg/mL e 3,90 µg/mL, o AA sofreu um declínio de eficácia (caindo para 39,73 ± 2,91% e 10,10 ± 6,44%, respectivamente). Nessas mesmas faixas, o CLN-Quer sustentou taxas de inibição expressivas e estatisticamente superiores, registrando 71,81 ± 3,06% (p<0,001) e 53,14 ± 2,66% (p<0,001). Esse comportamento quantitativo comprova que a matriz lipídica atua como um veículo eficaz para a proteção e liberação dos bioativos, permitindo que superem a eficácia de antioxidantes clássicos em janelas de concentrações reduzidas.

Estudos destacam o potencial que os nanocarreadores possuem em melhorar a ação antioxidante de compostos naturais. Morsy et al., (2023a) usou nanopartículas contendo curcumina tendo uma capacidade significativa de eliminar radicais livres, com um IC50 de 22,47 µg/mL, superior ao da curcumina em sua forma livre. Além disso, a quercetina quando nanoencapsulada, também demonstra atividade antioxidante, mesmo quando utilizada para aumento de sua solubilidade e estabilidade (Alavi et al., 2021). Esses achados são relevantes, pois indicam que a escolha da concentração ideal pode depender do tipo de composto e da aplicação desejada, seja para um efeito antioxidante intenso e imediato (CLN-Cur) ou sustentado e eficaz em baixas concentrações (CLN-Quer).

5.2.8 Citotoxicidade dos CLNs em HaCaT

Os resultados do ensaio de viabilidade celular em HaCaT por meio do RealTime-Glo™, demonstram que as formulações apresentam citotoxicidade de forma dependente da concentração e do tempo de exposição **(Figura 24)**. Em ambas, a concentração de 0,5 µg/mL, a maior testada neste estudo, promoveu queda expressiva da luminescência ao longo de 24 h, com evidência a partir do ponto de 12 h, indicando redução significativa da viabilidade celular. Em 0,25 µg/mL e 0,12 µg/mL, o efeito foi parcial, enquanto concentrações inferiores a 0,12 µg/mL apresentaram comportamento semelhante ao controle, sugerindo manutenção da viabilidade celular.

Os compostos bioativos não apresentaram alterações relevantes na luminescência em nenhuma das concentrações avaliadas, com curvas traçadas próximas ao controle durante o tempo, o que indica ausência de citotoxicidade significativa detectável nessas condições. Em conjunto, esses resultados sugerem que os CLNs possuem efeito citotóxico em concentrações mais elevadas e que a citotoxicidade da formulação é causada pela matriz lipídica, certamente

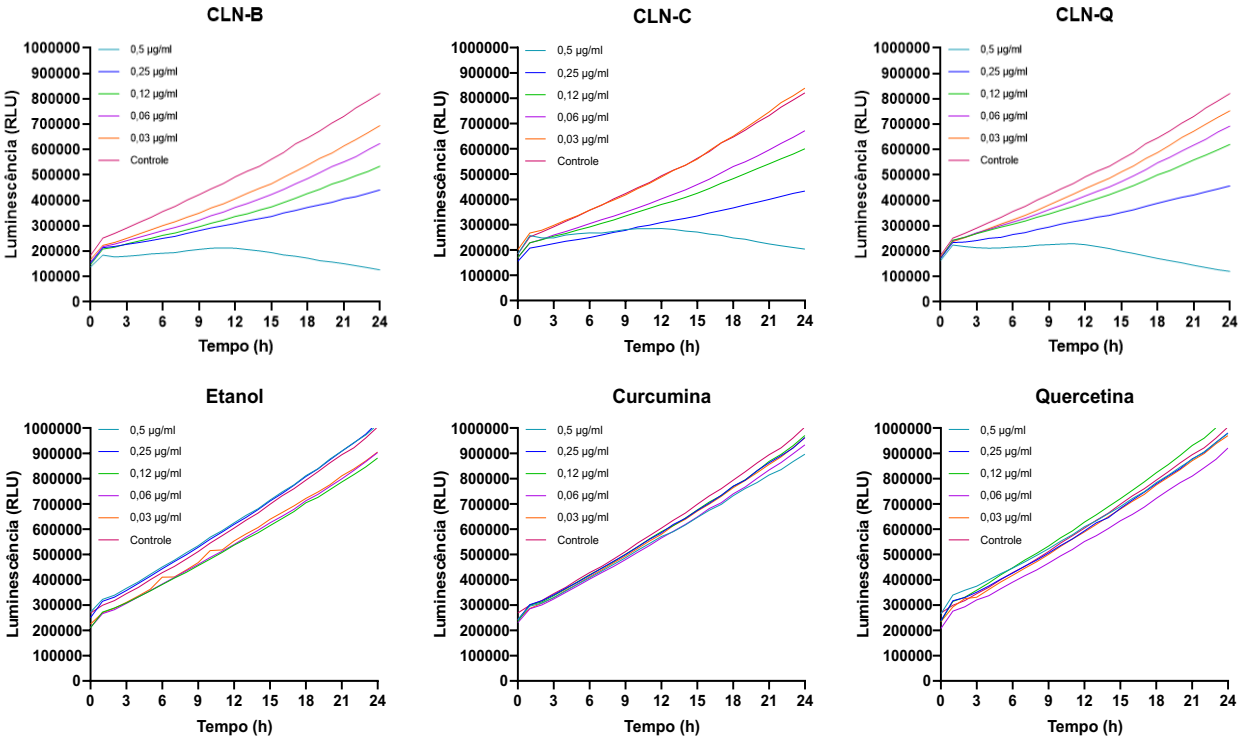
pelo surfactante utilizado. Essas observações notam-se, com maior evidência, no gráfico relativo ao perfil da viabilidade celular relativa no fim do experimento **(Figura 24)**.

A composição da matriz lipídica estrutural do núcleo do nanocarreador engloba a manteiga de tucumã e o óleo de bacaba, que são ricos em ácidos graxos, carotenoides e tocoferóis, amplamente descritos na literatura por sua elevada biocompatibilidade dérmica e ausência de toxicidade celular basal em fibroblastos e queratinócitos. Dessa forma, a redução de viabilidade nas maiores concentrações do estudo recai sobre o tensoativo não iônico Brij® O10, que é o componente anfipático utilizado na estabilização coloidal do nanocarreador.

O mecanismo relacionado à citotoxicidade induzida por tensoativos não iônicos em queratinócitos envolve um processo de partição dos monômeros do surfactante nas membranas, devido ao seu caráter anfifílico, moléculas de surfactante livre ou fracamente adsorvidas às nanopartículas interagem com a bicamada fosfolipídica plasmática, induzindo a desorganização do empacotamento lipídico e o aumento da fluidez da membrana. Embora o tensoativo faz com que ocorra perda de viabilidade celular *in vitro* em maiores concentrações, as implicações translacionais para uso tópico exigem cautela. Os modelos *in vitro* de cultivo 2D expõem as membranas basais das células HaCaT diretamente às micelas restantes do tensoativo. No contexto *in vivo* da aplicação tópica dérmica, o estrato córneo íntegro atua como a barreira física primária, onde tensoativos não iônicos perdem seu potencial lítico basal e funcionam vantajosamente como promotores de permeabilidade, a fim de facilitar a difusão de nanoestruturas contendo bioativos (De Souza Guedes et al., 2021).

Figura 24. Luminescência em células HaCaT tratadas ao longo de 24 h. Os gráficos relacionam a luminescência observada, relativas à sua viabilidade, nos poços contendo células e seus respectivos tratamentos em diferentes concentrações: carreador lipídico nanoestruturado branco (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico

nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer), etanol, curcumina livre e quercetina livre (ambas diluídas em etanol).



5.2.9 Atividade antimicrobiana contra células planctônicas

A avaliação da suscetibilidade microbiana aos compostos bioativos e aos carreadores lipídicos em estado planctônico foi realizada por meio de ensaios de microdiluição seriada em caldo. A determinação das concentrações inibitórias e microbicidas constitui a etapa primária para caracterizar o potencial farmacológico e o espectro de ação das formulações. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida/Fungicida Mínima (CBM) obtidos estão dispostos na **Tabela 4**.

Tabela 4. Características coloidais das nanopartículas. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida/fungicida mínima (CBM) dos tratamentos aplicados contra bactérias e fungos planctônicos: Curcumina livre, quercetina livre, CLN-vazio, CLN-Cur e CLN-Quer.

	Curcumina (µg/mL)		Quercetina (µg/mL)		CLN B (µg/mL)		CLN C (µg/mL)		CLN Q (µg/mL)	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Staphylococcus aureus BEC 9393	31,25	>1000	250	>1000	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Staphylococcus epidermidis ATCC 35984	31,25	>1000	125	>1000	>250	>250	>250	>250	7,81	>250
Enterococcus faecium ATCC 6569	500	>1000	500	>1000	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Candida albicans ATCC 10231	62,5	62,5	62,5	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Candida tropicalis ATCC 28707	62,5	125	62,5	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Candida auris CBS 12766	15,62	125	62,5	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Candida glabrata ATCC 2001	31,25	62,5	62,5	62,5	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Candida parapsilosis ATCC 22019	31,25	125	62,5	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Cryptococcus neoformans ATCC 34872	31,25	62,5	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Cryptococcus gattii ATCC 24065	15,62	31,25	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250

Os dados evidenciam que a curcumina em sua forma livre demonstrou um amplo espectro de ação antimicrobiana contra as linhagens bacterianas, inibindo o crescimento do de *Staphylococcus aureus* BEC 9393 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 em uma CIM de 31,25 µg/mL. Contudo, essa atividade mostrou-se primariamente bacteriostática na faixa avaliada, uma vez que as concentrações bactericidas (CBM) foram superiores a 1.000 µg/mL. O desempenho antifúngico da curcumina livre também apresentou relevância, com registro de baixas concentrações inibitórias (15,62 µg/mL) frente à levedura emergente *Candida auris* CBS 12766 e ao *Cryptococcus gattii* ATCC 24065. Para este último, a curcumina demonstrou ação fungicida direta, com CBM de 31,25 µg/mL.

A quercetina livre exibiu atividade inibitória dose-dependente, requerendo concentrações de 250 µg/mL e 125 µg/mL para inibir os estafilococos, respectivamente. Frente às cepas fúngicas, apresentou inibição padronizada em 62,5 µg/mL para a maioria das espécies do gênero *Candida*. A linhagem *Enterococcus faecium* ATCC 6569 apresentou a maior tolerância, com CIM de 500 µg/mL para ambos os compostos livres. Em relação aos CLNs, as formulações CLN vazia e CLN-Cur não demonstraram eficácia inibitória dentro do limite metodológico testável (CIM > 250 µg/mL) contra nenhum dos microrganismos avaliados em estado planctônico. A exceção notável entre as formulações lipídicas foi o CLN-Quer, que induziu a inibição do crescimento de *S. epidermidis* ATCC 35984 em uma concentração de apenas 7,81 µg/mL, representando a maior sensibilidade bacteriana observada no ensaio.

Os resultados evidenciam que, com exceção da atividade do CLN-Quer frente ao *S. epidermidis*, a incorporação da curcumina e da quercetina nos CLNs resultou em uma aparente diminuição da atividade antimicrobiana *in vitro* (representada por valores de CIM superiores a 250 µg/mL). Embora compostos livres possuam forte ação inibitória direta, a ausência dessa

letalidade aguda nas formulações nanoestruturadas é um fenômeno previsível e intrínseco aos sistemas de liberação controlada. O propósito central de associar moléculas bioativas de origem natural a matrizes lipídicas não é necessariamente elevar o dano celular imediato, mas sim alterar as suas propriedades farmacocinéticas para viabilizar a futura aplicação clínica (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008; Trigo-gutierrez et al., 2021).

Compostos fenólicos como a curcumina e a quercetina possuem perfil de alta lipofilicidade, resultando em baixíssima solubilidade aquosa, além de sofrerem instabilidade química e metabolização sistêmica acelerada no organismo. O encapsulamento reverte essas barreiras, tornando a molécula bioativa dispersível em meios aquosos fisiológicos e garantindo sua proteção estrutural. A redução da inibição observada ocorre porque, no curto período de incubação de um ensaio de microdiluição, os ativos encontram-se firmemente aprisionados na rede cristalina sólida da nanoestrutura. Esse fenômeno físico restringe o contato direto da molécula com o microrganismo, estabelecendo um perfil de liberação sustentada que não atinge os picos de concentração letal aguda exigidos *in vitro* (Lu et al., 2019; Morsy et al., 2023b).

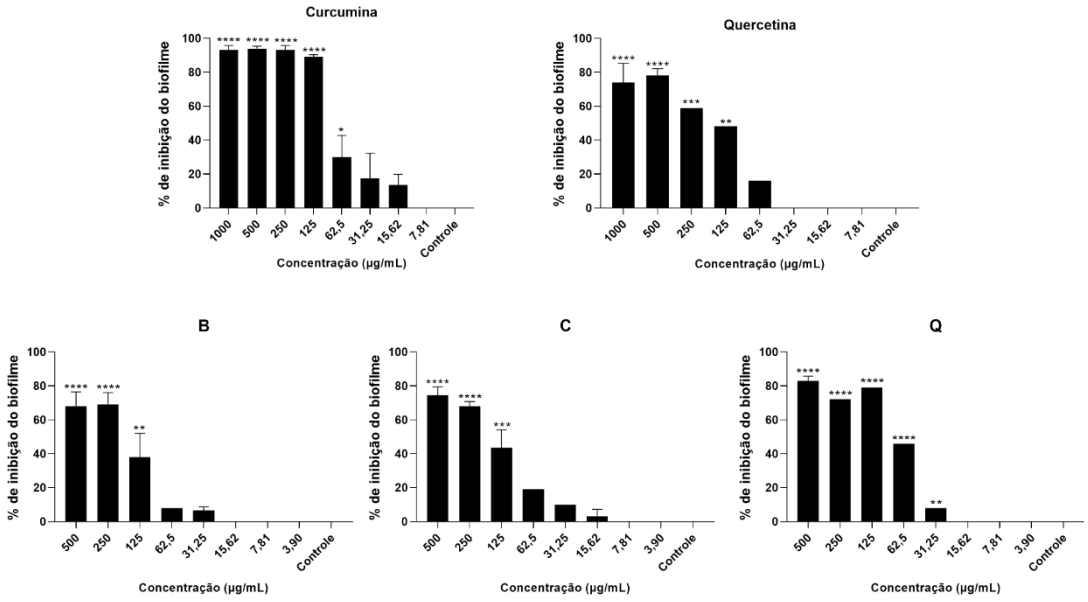
5.2.10 Atividade antibiofilme em biofilmes pré-formados

A capacidade de inibição celular em arquiteturas poliméricas maduras (formadas por 24 horas) do isolado clínico multirresistente *Staphylococcus aureus* BEC 9393 foi avaliada quantitativamente em concentrações seriadas dos compostos livres e nanoencapsulados. A curcumina livre demonstrou uma atividade antibiofilme inicial robusta, sustentando altas taxas de inibição nas concentrações superiores: aproximadamente 93% a 1.000, 500 e 250 µg/mL ($p < 0,0001$), e 89% a 125 µg/mL ($p < 0,0001$). Contudo, a eficácia do ativo livre sofreu um decaimento abrupto nas sucessivas diluições, registrando apenas cerca de 30% de inibição a 62,5 µg/mL ($p < 0,5$) e caindo em torno de 15% nas menores concentrações. A quercetina livre apresentou um comportamento inibitório dose-dependente, partindo de um pico de 78% ($p < 0,0001$) a 500 µg/mL, reduzindo para 48% ($p < 0,01$) a 125 µg/mL, e perdendo significância estatística nas dosagens abaixo de 62,5 µg/mL **(Figura 25)**.

A avaliação dos CLNs demonstrou que, na concentração máxima no modelo de teste para nanoformulações (500 µg/mL), o CLN-Quer obteve a maior atividade, inibindo 83% do biofilme ($p < 0,0001$). O CLN-Cur e o CLN-vazio também exibiram resultados significativos a 500 µg/mL, com 74,5% ($p < 0,0001$) e 68% ($p < 0,0001$) de inibição, respectivamente. O grande diferencial tecnológico manifestou-se na capacidade de sustentação da atividade nas diluições. Enquanto a quercetina livre perdeu mais da metade da sua potência a 125 µg/mL (48% de

inibição, $p < 0,01$), o CLN-Quer assegurou uma inibição estável de 79% ($p < 0,0001$) nessa mesma concentração. Notavelmente, a CLN-Quer ainda garantiu 46% de destruição da matriz de biofilme ($p < 0,0001$) a 62,5 µg/mL, demonstrando superioridade estatística e inibitória sobre o ativo não encapsulado perante a estrutura do biofilme.

Figura 25. Atividade antibiofilme dos tratamentos para *S. aureus* BEC 9393. Os gráficos relacionam a inibição percentual do biofilme dos tratamentos aplicados em diferentes concentrações: curcumina livre, quercetina livre, carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer).



A eficácia antibiofilme também foi avaliada frente à matriz da linhagem *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 **(Figura 26)**. A curcumina livre obteve uma inibição inicial de 85% a 1.000 µg/mL ($p < 0,0001$) e atingiu um pico de 87,5% a 500 µg/mL ($p < 0,0001$). No entanto, tal como observado contra o *S. aureus*, o ativo demonstrou rápida perda de funcionalidade, decaindo sua atividade antibiofilme para 38% a 125 µg/mL ($p < 0,001$) e 20% a 31,25 µg/mL ($p < 0,5$). A quercetina em sua forma livre iniciou com 79% de inibição a 1.000 µg/mL ($p < 0,0001$), sofrendo diluição em seu efeito terapêutico já a 250 µg/mL, onde apresentou apenas 35,5% de inibição ($p < 0,001$).

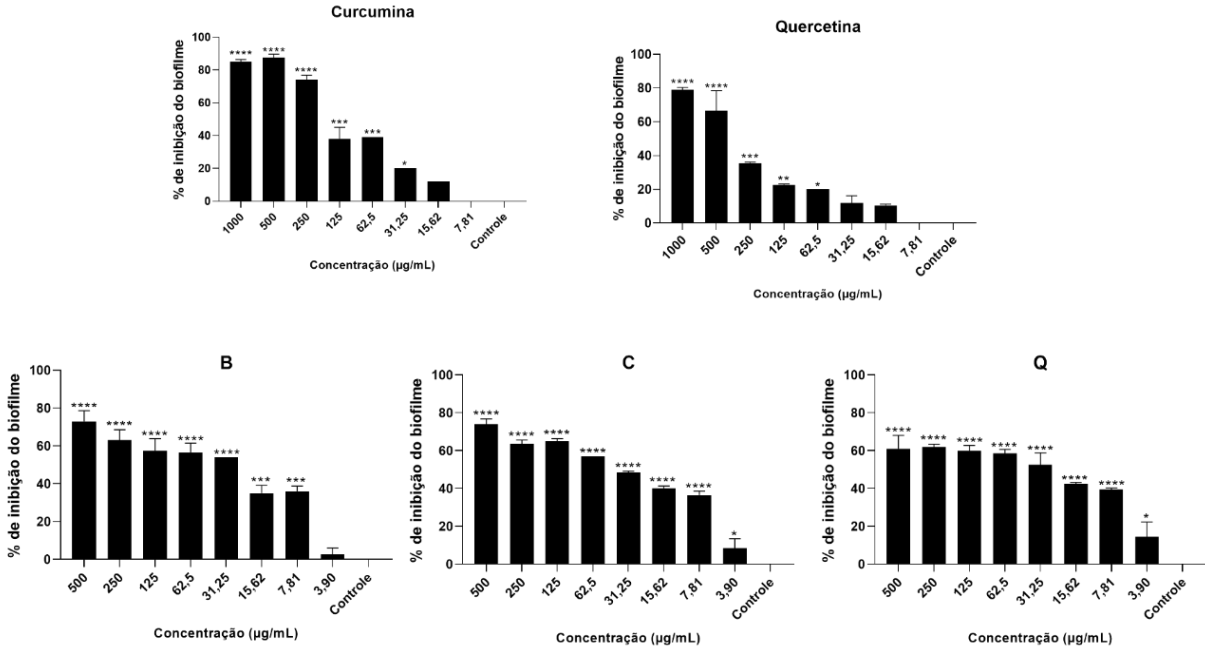
A incorporação destas moléculas nos sistemas CLNs demonstrou estabilidade perante o biofilme desta cepa. Na concentração de 500 µg/mL, o CLN-Cur, CLN-vazio e o CLN-Quer

apresentaram taxas de erradicação de 74%, 73% e 62% ($p < 0,0001$), respectivamente. A diferença farmacocinética mostrou-se no platô de eficácia contínua estabelecido pelas nanoformulações: o CLN-Quer manteve inibição inalterada em 62% desde 500 até 125 µg/mL ($p < 0,0001$). Na concentração de 7,81 µg/mL, os compostos livres não mantiveram eficácia antibiofilme, enquanto os CLNs demonstraram forte atividade. O CLN-Quer erradicou 39,5% do biofilme ($p < 0,0001$), o CLN-Cur atingiu 36,5% ($p < 0,0001$) e o próprio CLN-vazio sustentou 36% ($p < 0,001$) de inibição celular.

A matriz exopolimérica dos biofilmes estafilocócicos atua como uma barreira química que repele ou inativa moléculas hidrofóbicas livres antes que alcancem as células sésseis residentes nas camadas mais profundas. A curcumina, quando em contato direto e em altas concentrações, ataca os biofilmes inibindo enzimas transpeptidases de superfície, induzindo um estresse oxidativo intracelular e interferindo nas propriedades de ancoragem da bactéria. A quercetina, por sua vez, atua por vias semelhantes, reprimindo ativamente a secreção de fatores de virulência como toxinas estafilocócicas e mediadores inflamatórios. Contudo, a rápida queda de eficácia dos compostos em estado livre nas menores concentrações (como a quercetina atingindo apenas 22,5% de inibição a 125 µg/mL) expõe a dificuldade destas moléculas em seu estado livre em se difundirem através do biofilme polimérico maduro (Elkhayat et al., 2023; Kashi et al., 2024; Trigo-gutierrez et al., 2021).

O grande diferencial tecnológico CLNs concentra-se na manutenção prolongada e na penetrância da atividade. O CLN-Quer garantiu inibição extremamente significativa ($p < 0,0001$) mesmo em dosagens como 7,81 µg/mL, que ocorre pelo reduzido tamanho e a compatibilidade química do sistema carreador que favorece a sua difusão pelos finos canais aquosos estruturais da matriz exopolimérica sem que os bioativos sofram degradação precoce. A matriz lipídica garante que os bioativos sejam liberados diretamente no ambiente peribacteriano intracelular. Adicionalmente, os resultados do ensaio mostram que o CLN-vazio por si só apresentou uma supressão de inibição expressiva (73% a 500 µg/mL e 36% a 7,81 µg/mL no *S. epidermidis*) (Carrasco-Rojas et al., 2026; Guzzo et al., 2020; Joyce et al., 2014).

Figura 26. Atividade antibiofilme dos tratamentos para *S. epidermidis* ATCC 35984. Os gráficos relacionam a inibição percentual do biofilme dos tratamentos aplicados em diferentes concentrações: curcumina livre, quercetina livre, carreador lipídico nanoestruturado vazio (CLN-vazio), carreador lipídico nanoestruturado de curcumina (CLN-Cur), carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLN-Quer).



5.2.11 Formulação de base cosmética

A incorporação dos CLNs em uma base de gel de Carbopol resultou em formulações semissólidas com aspecto macroscópico homogêneo, sem indícios de separação de fases, quebra de viscosidade ou precipitação dos constituintes. Conforme a análise visual, a base cosmética contendo o CLN-Cur adquiriu uma coloração amarelada intensa e brilhante, característica da pigmentação natural do composto bioativo, enquanto o gel contendo o CLN-Quer apresentou um aspecto esbranquiçado e opalescente. A manutenção da consistência do gel é um indicativo de compatibilidade física, sugerindo que a adição nanocarreadores preservou a integridade da rede tridimensional formada pelo polímero **(Figura 27)**.

Figura 27. Aspecto macroscópico dos géis hidrofílicos à base de polímero Carbopol® após a incorporação dos CLNs. À esquerda, observa-se a formulação semissólida contendo os CLN-Cur), evidenciando a coloração amarelada intensa. À direita, a base cosmética contendo os CLN-Quer.



A transição das dispersões aquosas de CLNs para uma forma farmacêutica semissólida representa uma etapa tecnológica fundamental para viabilizar a administração tópica dos bioativos. Isoladamente, as dispersões de sistemas nanopartículados possuem baixa viscosidade, o que resulta em um tempo de residência muito curto sobre a pele, dificultando a absorção sustentada do fármaco. A utilização de polímeros hidrofílicos formadores de gel, como o Carbopol, atende à necessidade de conferir propriedades bioadesivas e reológicas ideais para a aplicação cutânea (Calderon-jacinto et al., 2022; Lúcio et al., 2023).

A literatura científica corrobora que a associação de CLNs a matrizes de hidrogel proporciona vantagens terapêuticas sinérgicas, pois o arcabouço do gel promove oclusão branda e hidratação do estrato córneo, assegurando a aderência e a retenção prolongada da formulação. Do ponto de vista farmacocinético, essa arquitetura dupla pode atuar como um sistema de liberação controlada em duas etapas: o ativo precisa se difundir primeiramente da matriz lipídica do CLN para o gel, e em seguida do gel para o tecido epitelial. Esse mecanismo de liberação sustentada mantém concentrações terapêuticas locais por períodos prolongados, minimiza a absorção sistêmica indesejada e maximiza os efeitos antimicrobianos e antioxidantes no tecido alvo (Alquraisy et al., 2026; Elkhateeb et al., 2023).

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que as formulações desenvolvidas apresentaram características físico-químicas favoráveis para a solubilização e estabilização da curcumina e quercetina. O tamanho médio das partículas em torno de 40 nm está dentro da faixa ideal para aumentar a biodisponibilidade desses compostos. A homogeneidade das formulações foi evidenciada pelo PDI com um valor considerado ideal para sistemas coloidais, garantindo a uniformidade da dispersão e reduzindo o risco de agregação e sedimentação. O potencial Zeta de indica que as formulações possuem carga superficial negativa, o que contribui para a estabilidade eletrostática dos CLNs. A estabilidade dos CLNs é influenciada pela temperatura de armazenamento, mantendo-se estáveis a 5 °C e 25 °C por 365 dias, mas apresentando desestabilização a 37 °C. As nanoestruturas possuem uma morfologia esférica com uniformidade no tamanho. As análises térmicas demonstraram que o encapsulamento em carreadores lipídicos nanoestruturados não apenas modifica as propriedades térmicas dos compostos bioativos, mas também reforça a viabilidade desses sistemas como plataformas de entrega estáveis e funcionais para compostos sensíveis, como curcumina e quercetina. Os CLNs apresentaram atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico, com desempenho superior dependendo da concentração. No ensaio de viabilidade celular, os resultados indicam que as nanoformulações são promissoras para uso em aplicações cosméticas ou nutracêuticas, mas precisam ser otimizadas para evitar efeitos adversos em concentrações elevadas. Os CLNs de curcumina e quercetina demonstraram atividade antifúngica promissora. A continuidade desse estudo pode incluir testes de liberação controlada e melhores avaliações da eficácia biológica *in vitro*, visando consolidar a aplicabilidade desses CLNs e ampliar seu potencial de uso no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, Mahmood *et al.* Structural development of curcumin: A natural product arsenal for diverse therapeutic targets- seizing opportunities through serendipity and rational design. Journal of Molecular StructureElsevier B.V., , 5 mar. 2025.

ALAVI, Mehran *et al.* Nanoformulations of curcumin and quercetin with silver nanoparticles for inactivation of bacteria. Cellular and Molecular Biology, v. 67, n. 5, p. 151–156, 2021.

ALQURAISY, Ayatulloh *et al.* Nanostructured Lipid Carrier-Gels for Wound Healing: A Narrative Review of Formulation Strategies, Mechanisms, and Translational Potential. Nanotechnology, Science and Applications Dove Medical Press Ltd, , 2026.

ANVISA, BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada-RDC Nº 166. 2017.

BAJAJ, Sanjay; SAKHUJA, Neha; SINGLA, Dinesh. Stability Testing of Pharmaceutical Products. Journal of Applied Pharmaceutical Science, v. 2012, n. 03, p. 129–138, *[S.d.]*.

BELOQUI, Ana *et al.* Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and MedicineElsevier Inc., , 1 jan. 2016.

BRITO, Sofia; BAEK, Moonki; BIN, Bum Ho. Skin Structure, Physiology, and Pathology in Topical and Transdermal Drug Delivery. PharmaceuticsMultidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 nov. 2024.

CADDEO, Carla *et al.* Topical anti-inflammatory potential of quercetin in lipid-based nanosystems: In vivo and in vitro evaluation. Pharmaceutical Research, v. 31, n. 4, p. 959–968, 2014.

CALDERON-JACINTO, Rosa *et al.* Dual Nanostructured Lipid Carriers/Hydrogel System for Delivery of Curcumin for Topical Skin Applications. Biomolecules, v. 12, n. 6, 1 jun. 2022.

CARRASCO-ROJAS, Javiera *et al.* Nanostructured Lipid Carriers Enhance Ciprofloxacin Antibacterial Activity Through Diffusion-Controlled Release and Modulation of Bacterial Growth Kinetics. Pharmaceutics, v. 18, n. 4, 1 abr. 2026.

CIUCA, Maria D.; RACOVITA, Radu C. Curcumin: Overview of Extraction Methods, Health Benefits, and Encapsulation and Delivery Using Microemulsions and Nanoemulsions. International Journal of Molecular SciencesMultidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 maio 2023.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition. *[S.l.: S.n.]*. Disponível em: <www.clsi.org.>.

CLSI Standard M07; Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: 12th Edition. CLSI: Wayne PA, USA, 2024.

DE SOUZA GUEDES, Luciana *et al.* An overview on topical administration of carotenoids and coenzyme q10 loaded in lipid nanoparticles. AntioxidantsMDPI, , 1 jul. 2021.

ELKHATEEB, Ola *et al.* Curcumin-infused nanostructured lipid carriers: a promising strategy for enhancing skin regeneration and combating microbial infection. BMC Veterinary Research, v. 19, n. 1, 1 dez. 2023.

ELKHAYAT, Dalia *et al.* Ezetimibe-Loaded Nanostructured Lipid Carrier for Oral Delivery: Response Surface Methodology; In Vitro Characterization and Assessing the Antihyperlipidemic Effect in Rats. ACS Omega, 2023.

FACTOR, Impact *et al.* The international international journal journal for timely for timely in-depth reviews in in-depth reviews in Pharmaceutical Pharmaceutical Biotechnology Biotechnology. 2017.

FILIPPOV, Sergey K. *et al.* Dynamic light scattering and transmission electron microscopy in drug delivery: a roadmap for correct characterization of nanoparticles and interpretation of results. Materials HorizonsRoyal Society of Chemistry, , 26 set. 2023.

FLORÊNCIO, Isadora *et al.* Incorporation of a Natural Deep Eutectic Solvent-Based System as a Cryoprotectant in Solid Lipid Nanoparticles: Advancing toward Industrial Scalability. ACS Nanoscience Au, v. 5, n. 6, p. 504–526, 17 dez. 2025.

FREITAS, C.; MÜLLER, R. H. Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase. *[S.l.: S.n.]*.

FULORIA, Shivkanya *et al.* A Comprehensive Review on the Therapeutic Potential of Curcuma longa Linn. in Relation to its Major Active Constituent Curcumin. Frontiers in PharmacologyFrontiers Media S.A., , 25 mar. 2022.

GANASSIN, Rayane *et al.* Solid lipid nanoparticles loaded with curcumin: Development and in vitro toxicity against CT26 cells. Nanomedicine, v. 17, n. 3, p. 167–179, 1 fev. 2022.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, Olga *et al.* Drug Stability: ICH versus Accelerated Predictive Stability Studies. PharmaceuticsMDPI, , 1 nov. 2022.

GORDILLO-GALEANO, Aldemar; MORA-HUERTAS, Claudia Elizabeth. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release. European Journal of Pharmaceutics and BiopharmaceuticsElsevier B.V., , 1 dez. 2018.

GUPTA, Vaibhav *et al.* Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals—A Review of Latest Advancements. GelsMDPI, , 1 mar. 2022.

GUZZO, Francesca *et al.* Plant Derived Natural Products against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. MoleculesMDPI, , 1 nov. 2020.

HAIDER, Mohamed *et al.* Nanostructured lipid carriers for delivery of chemotherapeutics: A review. PharmaceuticsMDPI AG, , 1 mar. 2020.

HAMED, Mahmoud *et al.* Sample preparation methods for determination of quercetin and quercetin glycosides in diverse matrices. Microchemical JournalElsevier Inc., , 1 nov. 2023.

HEMLATA *et al.* Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Cucumis prophetarum Aqueous Leaf Extract and Their Antibacterial and Antiproliferative Activity against Cancer Cell Lines. ACS Omega, v. 5, n. 10, p. 5520–5528, 17 mar. 2020.

HEWLINGS, Susan J.; KALMAN, Douglas S. Curcumin: A review of its effects on human health. FoodsMDPI AG, , 1 out. 2017.

HRISTOV, Delyan R. *et al.* Using single nanoparticle tracking obtained by nanophotonic force microscopy to simultaneously characterize nanoparticle size distribution and nanoparticle-surface interactions. Nanoscale, v. 9, n. 13, p. 4524–4535, 7 abr. 2017.

JOYCE, Paul *et al.* The role of porous nanostructure in controlling lipase-mediated digestion of lipid loaded into silica particles. Langmuir, v. 30, n. 10, p. 2779–2788, 18 mar. 2014.

KASHI, Milad *et al.* Natural compounds in the fight against Staphylococcus aureus biofilms: a review of antibiofilm strategies. Frontiers in PharmacologyFrontiers Media SA, , 2024.

LEE, Dong Ha *et al.* Advancements in Skin-Mediated Drug Delivery: Mechanisms, Techniques, and Applications. Advanced Healthcare MaterialsJohn Wiley and Sons Inc, , 13 mar. 2024.

Levison, M.E.; Levison, J.H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents. Infect. Dis. Clin. N. Am. 2009, 20, 791–815. https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.008.

LI, Shiding; CHEN, Liangbo; FU, Yao. Nanotechnology-based ocular drug delivery systems: recent advances and future prospects. Journal of Nanobiotechnology, v. 21, n. 1, p. 232, 2023.

LIN, Yingying *et al.* Quercetin supplementation improved the growth and health of juvenile Chinese mitten crabs (Eriocheir sinensis) fed low-fishmeal diets. Aquaculture, v. 596, 15 fev. 2025.

LIU, Yifan *et al.* Advances in Nanotechnology for Enhancing the Solubility and Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. Drug Design, Development and TherapyDove Medical Press Ltd, , 2024.

LOTFI, Mohammad Sadegh; SHEIBANI, Mohammad; JAFARI-SABET, Majid. Quercetin-based biomaterials for enhanced bone regeneration and tissue engineering. Tissue and CellElsevier Ltd, , 1 dez. 2024.

LU, Lan *et al.* Developing natural products as potential anti-biofilm agents. Chinese Medicine (United Kingdom)BioMed Central Ltd., , 20 mar. 2019.

LÚCIO, Marlene *et al.* Nanostructured Lipid Carriers Enriched Hydrogels for Skin Topical Administration of Quercetin and Omega-3 Fatty Acid. Pharmaceutics, v. 15, n. 8, 1 ago. 2023.

LUNARDI, Claure N. *et al.* Experimental methods in chemical engineering: Zeta potential. Canadian Journal of Chemical EngineeringWiley-Liss Inc., , 1 mar. 2021.

MAHAPATRA, Abikesh P. K.; PATIL, Vinod; PATIL, Ravindra. Solubility Enhancement of Poorly soluble Drugs by using Novel Techniques : A Comprehensive Review. International Journal of PharmTech Research, v. 13, n. 2, p. 80–93, 2020.

MANSOURI, Kamran *et al.* Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. BMC CancerBioMed Central Ltd, , 24 ago. 2020.

MATARAZZO, Ananda P. *et al.* Development of a Versatile Nanostructured Lipid Carrier (NLC) Using Design of Experiments (DoE)—Part II: Incorporation and Stability of Butamben with Different Surfactants. Pharmaceutics, v. 16, n. 7, 1 jul. 2024.

MELLO, Victor Carlos *et al.* Development of New Natural Lipid-Based Nanoparticles Loaded with Aluminum-Phthalocyanine for Photodynamic Therapy against Melanoma. Nanomaterials, v. 12, n. 20, 1 out. 2022.

MORSY, Mohamed K. *et al.* Curcumin nanoparticles as a natural antioxidant and antimicrobial preservative against foodborne pathogens in processed chicken fingers. Frontiers in Sustainable Food Systems, v. 7, 2023a.

MORSY, Mohamed K. *et al.* Curcumin nanoparticles as a natural antioxidant and antimicrobial preservative against foodborne pathogens in processed chicken fingers. Frontiers in Sustainable Food Systems, v. 7, 2023b.

NANDA, Arun *et al.* NANOCOSMETICS. *[S.l.: S.n.]*.

PATRA, Jayanta Kumar *et al.* Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. Journal of Nanobiotechnology, v. 16, n. 1, p. 71, 2018.

PATRA, Jayanta Kumar; DAS, Gitishree; SHIN, Han Seung. Facile green biosynthesis of silver nanoparticles using Pisum sativum L. outer peel aqueous extract and its antidiabetic, cytotoxicity, antioxidant, and antibacterial activity. International Journal of Nanomedicine, v. 14, p. 6679–6690, 2019.

PAUL, Santosh Kumar; MAZUMDER, Santa; NAIDU, Ravi. Herbicidal weed management practices: History and future prospects of nanotechnology in an eco-friendly crop production system. HeliyonElsevier Ltd, , 15 mar. 2024.

PETRILLI, Raquel; LOPEZ, Renata Fonseca Vianna. Physical methods for topical skin drug delivery: Concepts and applications. Brazilian Journal of Pharmaceutical SciencesFaculdade de Ciencias Farmaceuticas (Biblioteca), , 2018.

PYO, Sung-Min; MÜLLER, Rainer H.; KECK, Cornelia M. Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries Encapsulation by nanostructured lipid carriers. *[S.l.: S.n.]*.

QUEIROZ, Marjorie de Carvalho Vieira; MUEHLMANN, Luís Alexandre. Characteristics and Preparation of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers. Journal of Nanotheranostics, v. 5, n. 4, p. 188–211, 25 nov. 2024.

RAMOS DA SILVA, Luiz Renan *et al.* Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant, and Biological Activities. Evidence-based Complementary and Alternative MedicineHindawi Limited, , 2021.

RAO, Gunjan; GOYAL, Anju. Development of stability indicating studies for pharmaceutical products: an innovative step. International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis, v. 3, n. 3, p. 110, 2016.

RAVI, Punna Rao *et al.* Lipid nanoparticles for oral delivery of raloxifene: optimization, stability, in vivo evaluation and uptake mechanism. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 87, n. 1, p. 114–124, 2014.

RUELA, André Luís Morais *et al.* Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 52, n. 3, p. 527–544, 1 jul. 2016.

SAEED, Laiba *et al.* Therapeutic potential of silica nanoparticles, cisplatin, and quercetin on ovarian cancer: In vivo model. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 742, p. 151121, 1 jan. 2025.

SHARMA, Amit; BALDI, Ashish. Nanostructured Lipid Carriers: A Review. 2018.

SHI, Shengnan *et al.* Alleviative effects of quercetin of Botrytis cinerea-induced toxicity in zebrafish (Danio rerio) larvae. Fish and Shellfish Immunology, v. 142, 1 nov. 2023.

SILVA, Debora F. *et al.* Biomedical Approach of Nanotechnology and Biological Risks: A Mini-Review. International Journal of Molecular SciencesMultidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 dez. 2023.

SOMEYA, Yuduki *et al.* Quercetin exhibits cytotoxicity in cancer cells by inducing two-ended DNA double-strand breaks. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 739, 20 dez. 2024.

TILAWAT, Meena; BONDE, Smita. Curcumin and quercetin loaded nanocochleates gel formulation for localized application in breast cancer therapy. Heliyon, v. 9, n. 12, 1 dez. 2023.

TRIGO-GUTIERREZ, Jeffersson Krishan *et al.* Antimicrobial activity of curcumin in nanoformulations: A comprehensive review. International Journal of Molecular SciencesMDPI, , 1 jul. 2021.

TRIPATHI, Nancy *et al.* Nanoformulations of quercetin: a potential phytochemical for the treatment of uv radiation induced skin damages. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 58, 2022.

VALLI, Marilia; RUSSO, Helena M.; BOLZANI, Vanderlan da Silva. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. Anais da Academia Brasileira de CienciasAcademia Brasileira de Ciencias, , 2018.

VAN DER SMAN, R. G. M.; MEINDERS, M. B. J. Mesoscale models of dispersions stabilized by surfactants and colloids. Advances in Colloid and Interface ScienceElsevier B.V., , 2014.

VAZ, Gustavo Richter *et al.* Curcumin and Quercetin-Loaded Lipid Nanocarriers: Development of Omega-3 Mucoadhesive Nanoemulsions for Intranasal Administration. Nanomaterials, v. 12, n. 7, 1 abr. 2022.

VIJAYAKUMAR, Ajay *et al.* Quercetin-Loaded Solid Lipid Nanoparticle Dispersion with Improved Physicochemical Properties and Cellular Uptake. AAPS PharmSciTech, v. 18, n. 3, p. 875–883, 1 abr. 2017.

WANG, Jinjin *et al.* Nanoscale drug delivery systems for controllable drug behaviors by multi-stage barrier penetration. Journal of Controlled Release, v. 331, p. 282–295, 10 mar. 2021.

WANG, Wenrui *et al.* Curcumin-loaded solid lipid nanoparticles enhanced anticancer efficiency in breast cancer. Molecules, v. 23, n. 7, 2018.

YE, Qinying *et al.* Quercetin suppresses retinoblastoma cell proliferation and invasion and facilitates oxidative stress-induced apoptosis through the miR-137/FNDC5 axis. Environmental Research, v. 237, 15 nov. 2023.

ZHANG, Fei *et al.* Co-expression of α-L-rhamnosidase and β-glucosidase in Aspergillus Niger and its application in enzymatic production of quercetin. Food Chemistry, p. 142274, nov. 2024.

ZHAO, Lin *et al.* Topical drug delivery strategies for enhancing drug effectiveness by skin barriers, drug delivery systems and individualized dosing. Frontiers in PharmacologyFrontiers Media SA, , 2023.

ZHENG, Dantong *et al.* Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. Chemistry and BiodiversityWiley-VCH Verlag, , 1 ago. 2020.