



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ANANINDEUA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS



DEBORA FREITAS SILVA

**NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE BREU BRANCO:
síntese e caracterização por nanoprecipitação e microfluídica**

ANANINDEUA

2025

DEBORA FREITAS SILVA

**NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE BREU BRANCO:
síntese e caracterização por nanoprecipitação e microfluídica**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), do *Campus* Universitário de Ananindeua (CANAN), da Universidade Federal do Pará (UFPA), como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre(a) em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador(a): Dra. Marcele Fonseca Passos
Coorientador(a): Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior

Área de concentração: Caracterização, Desenvolvimento e Aplicação de Materiais.

Linha de pesquisa: Tecnologia de Materiais

ANANINDEUA

2025

DEBORA FREITAS SILVA

**NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE BREU BRANCO:
síntese e caracterização por nanoprecipitação e microfluídica**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), do *Campus* Universitário de Ananindeua (CANAN), da Universidade Federal do Pará (UFPA), como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre(a) em Ciência e Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Caracterização, Desenvolvimento e Aplicação de Materiais
Linha de pesquisa: Tecnologia de Materiais

Data de aprovação: 26/02/2025.

Banca examinadora

Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa
Examinador interno – (PPGCEM/UFPA)

Prof. Dr. Viktor Oswaldo Cárdenas Concha
Examinador externo – (UNIFESP)

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

A jornada que levou a esta dissertação não foi realizada em solidão. Cada passo foi sustentado por forças visíveis e invisíveis, por mãos que me ampararam nos momentos de dúvida e por vozes que me guiaram quando o caminho parecia incerto.

A Deus, minha eterna gratidão. Pela fé que me manteve firme, pela Sua graça e misericórdia que me sustentaram e pelo propósito que guiou meus dias. Sem Ele, nada seria possível.

Aos meus pais e à minha família, meu alicerce inabalável. Pelo amor incondicional, pelo incentivo constante e por cada sacrifício feito para que eu pudesse estar aqui. Suas palavras de apoio e sua confiança em mim foram forças ensurdecadoras, imensuráveis. Agradeço por acreditarem em mim mais do que eu mesma.

À minha orientadora, profa. Dra. Marcele Passos, pelo conhecimento compartilhado, pela paciência e pela confiança depositada em mim em todos esses anos. Suas orientações foram faróis que iluminaram este percurso. Ao meu co-orientador, prof. Dr. Humberto Xavier-Júnior, e ao grupo de pesquisa GDTEC-UFGA, pelo suporte acadêmico e pelas trocas enriquecedoras que moldaram este trabalho. Aos colegas de jornada, que tornaram os desafios mais leves e os aprendizados mais ricos.

Ao meu supervisor prof. Dr. Emmanuel Ho e ao seu grupo de pesquisa no Canadá, por me receberem, me ensinarem e ampliarem meus horizontes. A experiência além-fronteiras transformou não apenas minha visão acadêmica, mas também minha percepção do mundo e de mim mesma.

Aos amigos que estiveram ao meu lado nos momentos de escuridão, minha mais sincera gratidão. Suas palavras, gestos e presenças me ajudaram a seguir em frente quando a exaustão tomava conta. Sem vocês, esta jornada teria sido infinitamente mais árdua. E, especialmente, ao meu companheiro “da graduação pra vida” e melhor amigo, Mauricio, seu apoio torna todo o fardo mais leve.

E, por fim, ao próprio caminho. Pelas dificuldades que me fortaleceram, pelas conquistas que me moldaram e pelas lições que me capacitaram. Cada página escrita nesta dissertação carrega fragmentos de quem fui, de quem sou e de quem ainda me tornarei.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória: obrigada.

“Inovação nasce da curiosidade e perseverança. Sempre parece impossível, até ser feito.” – Nelson Mandela, adaptado.

RESUMO

O óleo essencial de breu branco se destaca na área biomédica por suas propriedades terapêuticas, como ação anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante. No entanto, sua volatilidade e dificuldade de obtenção são fatores limitantes na sua aplicação, tornando a nanotecnologia uma estratégia promissora para sua encapsulação e uso em sistemas terapêuticos. Este estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanocápsulas poliméricas contendo óleo essencial de breu branco, através de duas metodologias: a técnica de nanoprecipitação (NP) e microfluídica (MF). Ambas as abordagens foram avaliadas quanto à sua eficiência na produção de nanocápsulas, buscando estudar a estabilidade e viabilidade celular do óleo essencial encapsulado. Na técnica de nanoprecipitação, nanocápsulas foram produzidas utilizando policaprolactona (PCL) como matriz encapsulante. Um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, com três fatores e três níveis, foi aplicado para otimizar as condições de produção, considerando parâmetros como concentrações de PCL, óleo essencial e surfactante. Posteriormente, as condições otimizadas da nanoprecipitação foram adaptadas para um sistema microfluídico, onde as fases aquosa e orgânica foram injetadas simultaneamente em um chip com geometria em espinha de peixe. As nanocápsulas foram caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz (DLS), estudo de estabilidade térmica (feito por armazenamento em diferentes tempos e temperaturas), ensaio de viabilidade celular (MTS) e migração celular em queratinócitos. As nanocápsulas por NP apresentaram um tamanho hidrodinâmico médio de $172,07\text{nm} \pm 2,9$, índice de polidispersidade de $0,14 \pm 0,04$ e potencial Zeta (ζ) de $-25,49 \pm 1,08\text{mV}$, enquanto as nanocápsulas por MF mediram $191,25\text{nm} \pm 4,51$, PDI de $0,2 \pm 0,1$ e ζ de $-20,56\text{mV} \pm 0,48$. As nanocápsulas obtidas por microfluídica demonstraram maior estabilidade física e viabilidade celular em queratinócitos superior a 80% a partir da diluição 1:2, enquanto as nanocápsulas obtidas por nanoprecipitação obtiveram viabilidade >80% em diluições de 1:8. No ensaio de migração celular, as células tratadas com nanocápsulas apresentaram fechamento de ferida (ranhura) semelhante ao controle positivo ($31,78 \pm 5,39\%$), sugerindo que as nanocápsulas criam um ambiente favorável ao crescimento celular. Dessa forma, ambas as técnicas estudadas, permitiram obter nanocápsulas estáveis, biocompatíveis e potencialmente úteis para aplicações biomédicas, destacando-se como uma alternativa promissora para a liberação sustentada de compostos bioativos da Amazônia.

Palavras-chave: Policaprolactona; Biodiversidade; Amazônia; Nanotecnologia; Nanopartículas.

ABSTRACT

In the biomedical field, white breu essential oil stands out due to its therapeutic properties, such as anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant effects. However, its volatility and difficulty of extraction limit its application, making nanotechnology a promising strategy for encapsulation and use in therapeutic systems. This study aimed to develop and characterize polymeric nanocapsules containing white breu essential oil using nanoprecipitation (NP) and microfluidics (MF). Both approaches were evaluated for their efficiency in producing nanocapsules, focusing on investigating the stability and cellular viability of the encapsulated essential oil. The nanoprecipitation technique produced nanocapsules using polycaprolactone (PCL) as the encapsulating matrix. A Box-Behnken experimental design with three factors and three levels was employed to optimize the production conditions, considering parameters such as the concentrations of PCL, essential oil, and surfactant. Subsequently, the optimized nanoprecipitation conditions were adapted to a microfluidic system, in which the aqueous and organic phases were simultaneously injected into a chip with a fishbone geometry. The nanocapsules were characterized by dynamic light scattering (DLS), thermal stability studies (performed by storage at different times and temperatures), cellular viability assay (MTS), and cell migration in keratinocytes. The NP-derived nanocapsules exhibited an average hydrodynamic size of $172.07 \text{ nm} \pm 2.9$, a polydispersity index of 0.14 ± 0.04 , and a Zeta potential (ζ) of $-25.49 \pm 1.08 \text{ mV}$, while the MF-derived nanocapsules measured $191.25 \text{ nm} \pm 4.51$, with a PDI of 0.2 ± 0.1 and a ζ of $-20.56 \text{ mV} \pm 0.48$. The microfluidics-produced nanocapsules demonstrated greater physical stability and cellular viability in keratinocytes—exceeding 80% at a 1:2 dilution—whereas the nanoprecipitation-derived nanocapsules achieved >80% viability at a 1:8 dilution. In the cell migration assay, cells treated with the nanocapsules showed wound closure (scratch) comparable to the positive control ($31.78 \pm 5.39\%$), suggesting that the nanocapsules create an environment conducive to cell growth. Consequently, both techniques yielded stable, biocompatible nanocapsules that are potentially useful for biomedical applications, emerging as a promising alternative for the sustained release of bioactive compounds from the Amazon.

Keywords: Polycaprolactone; Biodiversity; Amazon; Nanotechnology; Nanoparticles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura de a) nanocápsulas e b) nanoesferas poliméricas	23
Figura 2 - Esquema do processo de nanoprecipitação.....	26
Figura 3 - Esquema do sistema microfluídico	27
Figura 4 - Gráficos de Pareto para cada variável dependente. A) resposta para Dh; B) resposta para PDI e C) resposta para ζ . Conforme legenda: para os fatores A, B e C, temos as respostas PCL, óleo e Polisorbato, respectivamente.	40
Figura 5 - Gráficos de superfície para tamanho de partícula para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato.....	41
Figura 6 - Gráficos de superfície para índice de polidispersão para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato.....	43
Figura 7 - Gráficos de superfície para potencial Zeta para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato.....	44
Figura 8- Estabilidade física das suspensões poliméricas com relação ao: a) e b) Dh e c) e d) PDI. Temperaturas de armazenamento de: a) e c) 4°C e b) e d) 37°C. Foram feitas varias medições em diferentes pontos ao longo de 30 dias onde timepoint, onde *p<0.05. Os valores representam média \pm DP (n=3).....	46
Figura 9 – Ensaio de viabilidade celular (MTS). Amostras NCMF0 e NCNP0, correspondem as nanocápsulas sintetizadas por sistema microfluídico e por nanoprecipitação, respectivamente, sem adição do óleo. Amostras NCMFBB e NCNPBB correspondem as nanocápsulas contendo óleo essencial por microfluídica e nanoprecipitação, respectivamente. As amostras foram comparadas com o controle negativo sem adição de tratamento. *p<0,05. Os valores representam média \pm DP (n=3).....	47
Figura 10 - Microscopia com fluorescência do ensaio de migração celular após 0h e 12h, para os grupos controle positivo e negativo e tratamentos.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nanocarreadores com produtos naturais	24
Tabela 2 - Variáveis e seus níveis para o desenvolvimento de Box-Behnken	31
Tabela 3 - Planejamento experimental aleatorizado tipo Box-Behnken	31
Tabela 4 - Composição química do óleo essencial de breu branco	37
Tabela 5 - Análise ANOVA e coeficientes de regressão (s: termos significantes)	39
Tabela 6 - Relação de resposta entre variáveis independentes e dependentes. Os resultados das respostas correspondem a média do número de replicadas (n=3), incluindo desvio padrão (DP).	41
Tabela 7 - Resultados de DLS para nanocápsulas obtidas por sistema microfluídico. A média e o desvio padrão foram feitos a partir da triplicata.	45
Tabela 8 - Fechamento de ranhura após 12h para controle positivo (meio com FBS), controle negativo (meio sem FBS), e tratamentos com nanocápsulas com óleo essencial de breu branco por microfluídica e por nanoprecipitação nas diluições de 1:8. Os valores correspondem a média \pm DP (n=3).	47

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A/O	Sistema Água/Óleo
A/O/A	Sistema Água/Óleo/Água
CG/EM	Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massas
CO ₂	Dióxido de Carbono
D _h	Diâmetro Hidrodinâmico de Partícula
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio-padrão
EE%	Eficiência de Encapsulamento (%)
FBS	Soro Bovino Fetal
FDA	Food and Drug Administration
HaCaT	Linha celular de queratinócitos humanos
IBM	International Business Machines
IR	Índice de Retenção
m/v	Relação Massa:Volume
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MF	Sistema microfluídico
mg	Miligrama
MTS	Ensaio de Viabilidade Celular
mV	Milivolt
NC	Nanocápsulas
NCMF	Nanocápsulas produzidas por Microfluídica
NCMF0	Nanocápsulas produzidas por Microfluídica sem óleo
NCNP	Nanocápsulas produzidas por Nanoprecipitação
NCNP0	Nanocápsulas produzidas por Nanoprecipitação sem óleo
NLCs	Carregadores Lipídicos Nanoestruturados
nm	Nanômetro
NP	Nanoprecipitação
O/A	Sistema Óleo/Água
O/A/O	Sistema Óleo/Água/Óleo

PBS	Solução Tampão Fosfato
PCL	Policaprolactona
PDI	Índice de Polidispersão
PKH26	Corante fluorescente para marcação celular
R ²	Coefficiente de Determinação
RPM	Rotações por minuto
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
μL	Microlitro
xg	Multiplicador da aceleração gravitacional (força g)
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
ζ	Potencial Zeta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Objetivos	15
1.1.1 Objetivo geral	15
1.1.2 Objetivos específicos	15
2 CONTRIBUIÇÃO DA PESQUISA	16
3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	16
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1 Ativos Amazônicos	15
4.1.1 Breu Branco	16
4.2 Nanotecnologia	18
4.2.1 Histórico e aplicações	18
4.2.2 Conceitos e definições	20
4.2.3 Nanossistemas	22
4.2.3.3 Nanocápsulas e Nanoesferas poliméricas	22
4.2.4 Nanocarreadores usando produtos naturais	23
4.2.4 Síntese de nanocápsulas	25
4.2.4.1 Nanoprecipitação	25
4.2.4.2 Sistema microfluídico	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Materiais	30
3.2 Composição do óleo essencial de breu branco	30
3.3 Síntese de nanocápsulas por nanoprecipitação empregando planejamento experimental	30
3.4 Planejamento experimental e condições ótimas para obtenção de nanocápsulas	32
3.5 Síntese de nanocápsulas por sistema microfluídico	32
3.6 Comparação entre nanoprecipitação e chip microfluídico	32
3.6.1 Análise do diâmetro de partícula, índice de polidispersão e potencial Zeta	33
3.6.2 Estabilidade térmica das nanocápsulas	33
3.6.3 Ensaio de viabilidade celular	33
3.6.4 Ensaio de migração celular	34
3.7 Análises estatísticas	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Composição química do óleo essencial de breu branco	37
4.2 Planejamento fatorial – Síntese por Nanoprecipitação	38

4.3 Tamanho hidrodinâmico de partícula	40
4.4 Índice de Polidispersão	42
4.5 Potencial Zeta	43
4.6 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial Zeta de nanocápsulas por sistema microfluídico	44
4.7 Estabilidade térmica das Nanocápsulas	45
4.8 Viabilidade celular das nanocápsulas.....	46
4.9 Migração celular das nanocápsulas	47
5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	51

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história, compostos ativos derivados de plantas, como os extraídos de raízes, caules e folhas, desempenharam um papel essencial no tratamento de várias condições, com aplicações nas áreas de farmacologia, cosmetologia e agricultura, entre outras (Bolouri *et al.*, 2022). Atualmente, observa-se um aumento na popularidade de produtos baseados em matérias-primas naturais, impulsionado pela validação clínica de suas propriedades terapêuticas, como segurança toxicológica (Maurya *et al.*, 2021; Vostinaru, Heghes e Filip, 2020). Nesse contexto, os óleos essenciais, predominantemente compostos por terpenoides e ácidos fenólicos, destacam-se como agentes promissores para aplicações diversas (Kaurinovic e Vastag, 2019; Srivastava e Singh, 2019).

Entre os óleos essenciais de plantas da região amazônica, o óleo essencial de breu branco se sobressai pela riqueza de compostos bioativos, como o α -pineno (Zoghbi *et al.*, 2005). Além de suas propriedades antimicrobianas, esse óleo apresenta atividades cicatrizantes e anti-inflamatórias, consolidando-se como uma substância bioativa de elevado potencial terapêutico (Miranda, 2019). No entanto, a aplicação eficaz desses óleos como compostos bioativos enfrenta desafios, exigindo sistemas de liberação inovadores que possam melhorar sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade. Assim, a nanotecnologia oferece uma solução promissora, possibilitando o encapsulamento de ingredientes ativos.

A nanotecnologia permite proteger e liberar de forma controlada substâncias ativas benéficas ao organismo, como vitaminas, antioxidantes e compostos antienvhecimento (Mallakpour *et al.*, 2021; Tiwari e Talreja, 2020). As nanocápsulas formam uma barreira protetora ao redor dos ingredientes, aumentando sua estabilidade, prolongando a vida útil e melhorando a penetração (Elkalla *et al.*, 2023; Oh *et al.*, 2023). Nesse contexto, a nanoencapsulação de óleos essenciais surge como uma estratégia vantajosa, melhorando a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade desses compostos (Xavier-Junior *et al.*, 2018). Além disso, a redução no tamanho das partículas possibilita a criação de formulações com texturas mais agradáveis, o que aprimora a absorção cutânea e garante uma distribuição uniforme dos ingredientes ativos em produtos cosméticos (Casarini *et al.*, 2021; Vauthier e Bouchemal, 2009).

A poli- ϵ -caprolactona (PCL) destaca-se como um polímero de preparação de nanossistemas amplamente utilizado, devido às suas propriedades, como estabilidade térmica, degradabilidade controlada e biocompatibilidade (Malikmammadov *et al.*, 2018). As micro e nanopartículas de PCL apresentam vantagens importantes, como facilidade de aplicação e

liberação gradual e direcionada dos compostos (Kapoor *et al.*, 2023). O controle preciso do tamanho das partículas é fundamental para otimizar a eficácia biológica (Couvreur *et al.*, 2002). Dessa forma, a PCL é frequentemente usada para obtenção de nanocápsulas carregadas com compostos bioativos, uma vez que proporciona uma matriz que protege contra a degradação dos compostos, controla a liberação sustentada e melhora a eficácia terapêutica, permitindo o transporte eficiente de compostos lipofílicos pelo organismo (Kapoor *et al.*, 2023).

A nanoprecipitação é um processo simples e escalável, baseado na formação espontânea de nanopartículas quando uma fase orgânica contendo o polímero e o composto ativo é adicionada a uma fase aquosa sob agitação controlada, resultando na formação de nanocápsulas estáveis (Taylor *et al.*, 2024). Já a microfluídica utiliza canais micrométricos para promover a mistura controlada das fases, proporcionando maior reprodutibilidade e precisão na obtenção de nanopartículas com distribuição homogênea de tamanho (Pattanayak *et al.*, 2021). Essas técnicas desempenham um papel fundamental na obtenção de sistemas eficientes de liberação controlada, permitindo otimizar propriedades como estabilidade física, taxa de liberação e biodisponibilidade dos compostos encapsulados.

Assim, a proposta central desta pesquisa foi otimizar a produção de nanocápsulas poliméricas de policaprolactona contendo óleo essencial de breu branco, visando aplicações terapêuticas e cosméticas mais eficazes.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Obter nanocápsulas poliméricas de PCL contendo óleo essencial de breu branco por diferentes abordagens metodológicas.

1.1.2 Objetivos específicos

- Analisar a composição química do óleo essencial de breu branco;
- Obter nanocápsulas poliméricas contendo o óleo por meio da técnica de nanoprecipitação (NP);
- Otimizar o processo de obtenção das nanocápsulas por NP, utilizando um planejamento de experimentos do tipo Box-Behnken;

- Obter nanocápsulas incorporando o óleo por meio da técnica de sistema microfluídico (MF);
- Caracterizar as nanocápsulas por tamanho hidrodinâmico da partícula, índice de polidispersão e potencial Zeta;
- Verificar a estabilidade das nanocápsulas em diferentes temperaturas de armazenamento;
- Realizar estudos de viabilidade celular em queratinócitos das nanocápsulas obtidas por nanoprecipitação e sistema microfluídico e;
- Avaliar a migração celular de células epiteliais do tipo queratinócitos para nanocápsulas obtidas a partir de nanoprecipitação e sistema microfluídico.

2 CONTRIBUIÇÃO DA PESQUISA

A principal contribuição desta pesquisa reside no desenvolvimento e comparação de duas abordagens distintas para a encapsulação do óleo essencial de breu branco utilizando nanocápsulas poliméricas: a técnica de nanoprecipitação e o sistema microfluídico. Essa estratégia não apenas explora os parâmetros críticos de cada metodologia, mas também busca identificar as melhores condições de reprodutibilidade, estabilidade e viabilidade celular, visando aprimorar o processo de obtenção do composto encapsulado. Ao integrar essas técnicas no campo dos biomateriais e da nanobiotecnologia, a pesquisa proporcionou uma base sólida para a aplicação do óleo essencial de breu branco em formulações terapêuticas, cosméticas e médicas. Essa estratégia oferece um modo de identificar os pontos positivos e negativos de diferentes métodos para a obtenção de compostos mais seguros, eficientes e escalonáveis, contribuindo para superar desafios como a instabilidade natural do óleo e a limitação de sua aplicação em larga escala. Assim, a pesquisa promove o avanço no uso de óleos essenciais em sistemas de liberação controlada, abrindo caminho para sua adoção em contextos clínicos e industriais, além de fortalecer sua viabilidade comercial e impacto no setor da saúde.

3 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho está organizado em cinco capítulos: Introdução, Referencial Teórico, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão, e Conclusão.

O Capítulo I é dedicado à introdução do trabalho, fornecendo uma visão geral da pesquisa, bem como as principais motivações para a escolha deste tema em específico. Além disso, este capítulo delinea os objetivos, as contribuições e a estrutura organizacional da pesquisa.

O Capítulo II apresenta o referencial teórico que embasa a pesquisa, explorando os conceitos-chave, teorias e estudos previamente realizados relacionados ao tema em investigação. Este capítulo oferece uma análise crítica da literatura existente, situando o problema de pesquisa em um contexto mais amplo e estabelecendo uma fundação robusta para o desenvolvimento do estudo. Foram examinados aspectos pertinentes da literatura acadêmica e científica, enfatizando contribuições significativas e identificando lacunas no conhecimento que fundamentaram a realização desta pesquisa.

O Capítulo III detalha os materiais e métodos utilizados na condução da pesquisa, descrevendo as técnicas analíticas aplicadas e os desenhos experimentais adotados.

O Capítulo IV relata os resultados obtidos por meio das análises conduzidas ao longo da pesquisa. Os principais achados são detalhados e interpretados com base no referencial teórico. Neste capítulo, realizou-se uma discussão com base nos resultados obtidos, abordando temas como os desempenhos mais notáveis identificados por meio de estudos preliminares e planejamento experimental, além da influência das variáveis estudadas.

O Capítulo V traz a conclusão do trabalho, destacando os principais resultados e contribuições da pesquisa. São oferecidas reflexões finais sobre o tema investigado, realçando as descobertas chave, as limitações do estudo e sugerindo direções para pesquisas futuras.

CAPÍTULO II

REFERENCIAL TEÓRICO

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Ativos Amazônicos

A Floresta Amazônica, conhecida por sua biodiversidade excepcional, representa um dos ecossistemas mais ricos da Terra. Esta vasta região abriga uma incrível variedade de espécies de plantas e animais, muitas das quais não são encontradas em nenhum outro lugar do mundo (Coradin, Camillo e Vieira, 2022). Assim, nos últimos anos, cientistas e pesquisadores vêm reconhecendo o valor dos recursos naturais da Amazônia no avanço do conhecimento científico e, conseqüentemente, na promoção de práticas sustentáveis (Campanholi *et al.*, 2022; Moreira e Manzatto, 2023). Nesse contexto, a utilização de insumos naturais derivados da biodiversidade amazônica tem ganhado destaque como uma abordagem promissora em diversas áreas científicas.

Os insumos naturais da Amazônia, como os óleos essenciais, demonstram grande potencial na descoberta de medicamentos, na agricultura, na biotecnologia e na conservação ambiental (Alves *et al.*, 2024; Medeiros, 2022; Picanço e Sobrinho, 2024). Segundo o Ministério do Meio Ambiente, a região amazônica detém 2.500 espécies de árvores e 30 mil espécies de plantas (Souza Moura, de, Monteiro e Pontes Filho, 2023). Muitas dessas espécies foram catalogadas como funcionais para as indústrias médica, farmacêutica, alimentícia e cosmética. Outras são amplamente utilizadas pelas populações ribeirinhas, devido ao conhecimento empírico acumulado há décadas. Matérias-primas como óleos, ceras, sementes, cascas, frutos e polpas, com aromas e propriedades físico-químicas e biológicas específicas, são exemplos de insumos utilizados (Ahmed *et al.*, 2020; Alves *et al.*, 2024; Januário e Iulianelli, 2023; Santos, dos e Marchi, 2022).

Os óleos essenciais, extraídos de plantas por meio de processos de destilação a vapor, hidrodestilação ou prensagem a frio, capturam os compostos voláteis que conferem a essência e os benefícios terapêuticos de cada planta (Corrêa, Melo e Marques, 2023). Tanto os óleos essenciais quanto os óleos vegetais fixos possuem uma ampla gama de propriedades benéficas para a pele e os cabelos (Castilho, Silva Felisbino, da e Rodrigues, 2021; SANTOS *et al.*, 2022). O óleo essencial de lavanda, por exemplo, é conhecido por suas propriedades calmantes e cicatrizantes, sendo amplamente utilizado no tratamento de queimaduras e irritações cutâneas (Souza, 2024). Da mesma forma, o óleo essencial de *tea tree* (melaleuca) possui propriedades antissépticas e anti-inflamatórias, sendo eficaz no combate à acne e outras condições da pele (Silva, da *et al.*, 2020; Youn *et al.*, 2021). O óleo essencial de hortelã-pimenta é refrescante e

estimulante, podendo ser utilizado para aliviar dores musculares e tensões (Zhao *et al.*, 2022). Assim, com a crescente demanda por produtos naturais e sustentáveis, os óleos essenciais têm sido cada vez mais valorizados na indústria cosmética e farmacêutica, atendendo às necessidades de consumidores que buscam alternativas mais naturais e eficazes para o cuidado pessoal.

Os óleos essenciais são frequentemente utilizados em nanotecnologia devido às suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias. Eles podem melhorar o desempenho de materiais em uma variedade de aplicações, incluindo a criação de revestimentos antimicrobianos por meio da incorporação em matrizes (Azevedo, 2021). Esses revestimentos podem ser aplicados em superfícies como dispositivos médicos e embalagens de alimentos para prevenir o crescimento de bactérias e melhorar a higiene (Andrade, 2020; Figueiredo, 2020). A aplicação de técnicas de nanoencapsulação pode ser utilizada para compostos de baixa estabilidade, como a vitamina C, como uma alternativa para melhorar o prolongamento do perfume, a experiência sensorial e até a eficácia bioativa em nanocosméticos (Baek *et al.*, 2021).

Portanto, a exploração sustentável dos ativos amazônicos, usando a nanotecnologia, não só apresenta oportunidades econômicas significativas, mas também desempenha um papel crucial na preservação ambiental e no desenvolvimento das comunidades locais (Arima Júnior, 2021). O desenvolvimento da bioeconomia da região Amazônia se apresenta como um artifício para frear o modelo econômico extrativista predatório, promovendo o uso responsável da biodiversidade (Ferreira, 2024). Por meio de parcerias público-privadas, programas de certificação e incentivos fiscais, é possível fomentar a criação de cadeias de valor baseadas em princípios de sustentabilidade e inclusão social (Spanevello e Patias, 2023).

4.1.1 Breu Branco

O óleo essencial de breu branco, oriundo do *Protium heptaphyllum* na região Amazônica, destaca-se por sua relevância aromática e terapêutica. A resina, extraída do caule das árvores ao longo do ano, especialmente no verão, é a base para a obtenção do óleo. O breu branco é comercializado em pequenas quantidades por extrativistas locais, em feiras e comércios populares. Em sua forma bruta, é utilizado na fabricação de incensos, velas, colônias e até no preparo de chás, evidenciando sua versatilidade e importância cultural e econômica na região (Lima, 2023).

Os principais métodos de extração do óleo essencial de breu branco incluem a hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor. Esses processos são fundamentais para manter

a integridade dos constituintes voláteis, fenilpropanoides e terpenoides, presentes na resina (Costa *et al.*, 2024). A hidrodestilação envolve a imersão da resina em água quente, permitindo que os óleos voláteis sejam extraídos pelo vapor gerado. Este método é eficiente e mantém a integridade dos compostos terpenoides e fenilpropanoides (Costa *et al.*, 2024). Por outro lado, a destilação por arraste a vapor utiliza vapor de água para arrastar os óleos essenciais diretamente da resina, sem contato direto com a água. Este método também é eficaz na preservação dos constituintes voláteis e é frequentemente utilizado devido à sua simplicidade de reprodução e baixo custo (Cristine Maria Carrafa, Aparecida Guginski Piva e Carolina Corrêa, 2017).

O óleo essencial de breu branco, com composição química variável influenciada pelo método de extração, idade da árvore e região de origem, apresenta uma natureza amorfa e altamente hidrofóbica. Seus compostos fenólicos são responsáveis por um aroma característico, enquanto os terpenos, como α -pineno e α -felandreno, destacam-se por suas propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes (Cabral *et al.*, 2021; Silva, 2021; Sobral-Souza *et al.*, 2014). Durante o processo de secagem, a resina pode liberar compostos como α -terpineol, p-cimeno, α -pineno, limoneno e α -felandreno (Bandeira *et al.*, 2001; Citó *et al.*, 2006), os quais possuem propriedades calmantes e anti-inflamatórias, tornando-se úteis no tratamento de acnes e inflamações cutâneas (Palermo *et al.*, 2018).

Esse óleo essencial pode desempenhar funções expectorantes e terapêuticas (Boreski *et al.*, 2023). Além disso, o breu branco possui propriedades antimicrobianas, fungicidas, inseticidas e analgésicas, sendo comumente aplicado na área medicinal para tratar doenças respiratórias, dores musculares e reumáticas, além de problemas gastrointestinais (Carvalho *et al.*, 2017; Sincurá, 2018). O trabalho de Melo, et al. (2023) explora a composição química e as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (PHEO) em relação a isolados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a polimixinas. Os resultados indicaram que o óleo essencial de breu branco como uma estratégia promissora para aumentar a eficácia de antibióticos e reduzir a resistência bacteriana.

A importância de encapsular o óleo essencial de breu branco em nanocápsulas reside no potencial de ampliar suas propriedades terapêuticas e melhorar sua aplicação em cosméticos e na medicina. O processo de nanoencapsulação permite a incorporação do óleo essencial em nanocápsulas para uma liberação controlada no organismo, oferecendo vantagens na entrega de compostos lipofílicos (Canevarolo Jr., 2002). Pesquisas como a de Antonioli (2020), que encapsulou óleo essencial de capim-limão, demonstraram que as propriedades em nanoescala podem ser superiores em comparação ao óleo não encapsulado. Silva, et al. (2022) desenvolveu

micropartículas poliméricas para veicular α e β -amirina, identificando a presença desses compostos ativos por meio de cromatografia, embora sem atividade bioativa observada na mistura. Em contraste, um estudo de Florentino Neto (2018) sobre a nanoencapsulação do mesmo composto revelou inibição enzimática, possivelmente devido à maior área superficial e ao menor tamanho das partículas.

Faustino et al. (2020) evidenciaram o efeito larvicida de nanoemulsões do óleo essencial de breu branco, proporcionando uma liberação controlada efetiva para o controle de larvas de *Aedes aegypti*. Na medicina, a entrega controlada de compostos terapêuticos em nanocápsulas permite manter concentrações terapêuticas por períodos prolongados (Andrade, 2020). Em nanocosméticos, as nanocápsulas facilitam a absorção dos ingredientes na pele devido ao seu tamanho reduzido (Kopp, 2020). Embora estudos específicos sobre a aplicação cosmética de nanocápsulas poliméricas de óleo essencial de breu branco sejam escassos, pesquisas indicam a viabilidade de nanossistemas para essa finalidade. Wattanasatcha, Rengpipat e Wanichwecharungruang (2012) desenvolveram nanoesferas de celulose para carregar timol, um composto antibacteriano do óleo essencial de orégano, aumentando significativamente a supressão do crescimento de microrganismos em *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 Nanotecnologia

4.2.1 Histórico e aplicações

O termo "nanotecnologia" foi introduzido pela primeira vez pelo físico Richard Feynman em 1959, que antecipou a possibilidade de manipular e controlar átomos e moléculas individualmente (Tonet e Leonel, 2019). Contudo, até o século XX, evidências diretas de sua aplicação eram inexistentes. Entretanto, existem referências a civilizações antigas utilizando materiais com características em nanoescala, apesar da ausência de ferramentas ou conhecimento para manipular a matéria nessa escala. Um exemplo notável é a Taça Lycurgus, uma peça de vidro romana do século IV, que exibe propriedades ópticas únicas: parece verde sob luz refletida, mas muda para vermelho quando iluminada por trás. Esse fenômeno é resultado da presença de nanopartículas de prata e ouro no vidro, que interagem com a luz, criando o efeito de mudança de cor. Apesar de os romanos não terem intencionalmente criado as nanopartículas, conseguiram produzir um material com características nanoestruturais, aproveitando suas propriedades únicas (Drozdov *et al.*, 2021). Outro exemplo é o aço Damasco,

utilizado no Oriente Médio e na Índia desde o século III até o XVIII, conhecido por seu padrão ondulado distintivo e excepcional resistência e afiação. Acredita-se que esse padrão resulta da presença de carbono em nanoescala no aço, formado durante o processo de forjamento (Kürnsteiner *et al.*, 2020).

Nas décadas de 1980 e 1990, a nanotecnologia começou a ganhar impulso com o desenvolvimento de novas ferramentas e técnicas, permitindo aos cientistas estudarem e manipular a matéria em nanoescala (Ramsden, 1990). Um marco significativo ocorreu em 1986, quando pesquisadores da IBM manipularam átomos individuais usando um microscópio de tunelamento por varredura (STM), demonstrando pela primeira vez a capacidade de manipular a matéria no nível atômico e abrindo um novo campo de possibilidades para a pesquisa em nanotecnologia (Anzar *et al.*, 2020).

Durante os anos 1990 e início dos 2000, a pesquisa em nanotecnologia expandiu rapidamente, com cientistas explorando novas formas de criar e manipular materiais e dispositivos em nanoescala. Um dos desenvolvimentos mais importantes foi a descoberta dos nanotubos de carbono, materiais fortes, leves e altamente condutores, com vastas aplicações potenciais em eletrônica (Zhang *et al.*, 2020), medicina (Teixeira-Santos *et al.*, 2021) e outros campos (Zhang *et al.*, 2022).

Atualmente, a nanotecnologia é uma área desafiadora e em rápida expansão, com aplicações em diversos segmentos. Suas aplicações mais visíveis incluem o desenvolvimento de produtos de consumo, como roupas e cosméticos, que incorporam materiais nanoestruturados para oferecer propriedades aprimoradas, como resistência a manchas e proteção UV (Effiong *et al.*, 2019; Miteva, 2021). No setor energético, a nanotecnologia contribuiu para o avanço de células solares) (Kremer *et al.*, 2020), células de combustível (Burhan *et al.*, 2023) e baterias mais eficientes (Zhang *et al.*, 2020). Em eletrônicos, dispositivos nanoestruturados possibilitaram sistemas mais rápidos, potentes e eficientes (Jesus Leopoldo, de e Vechio, Del, 2020). A nanotecnologia também promoveu avanços em purificação de água (Fu *et al.*, 2022) e remediação ambiental (Aadil *et al.*, 2022).

Na medicina, a nanotecnologia vem possibilitando o desenvolvimento de novas estratégias para liberação controlada de fármacos (Khan *et al.*, 2020), novos implantes e avanços significativos em engenharia de tecidos e medicina regenerativa (Odatsu *et al.*, 2020; Zeng *et al.*, 2019), além de permitir o uso de sensores e sondas nanoestruturados para imagens *in vivo* e monitoramento de doenças (Buchman *et al.*, 2019). Um marco importante é o uso de nanopartículas para entrega direcionada de medicamentos, especialmente em tratamentos de câncer. Essas nanopartículas permitem a administração direta de quimioterápicos nas células

cancerígenas, minimizando os efeitos colaterais no tecido saudável. Recentemente, pesquisas têm aprimorado essa abordagem, utilizando nanopartículas de ouro e lipossomos que aumentam a precisão na liberação de medicamentos, além de melhorar a eficácia terapêutica e reduzir a toxicidade dos tratamentos convencionais (Malik, Muhammad e Waheed, 2023; Pramanik *et al.*, 2020).

Estudos recentes exploram *scaffolds* nanoestruturados para auxiliar no crescimento celular e na cicatrização de tecidos, com aplicações potenciais em traumas ósseos e até mesmo na regeneração de nervos e cartilagens, demonstrando o impacto contínuo da nanotecnologia na medicina personalizada e nas terapias regenerativas (Malik, Muhammad e Waheed, 2023). Outro progresso recente é na utilização de nanomateriais como o grafeno para amplificar a detecção de biomarcadores de doenças em níveis muito baixos. Esses biossensores são integrados a redes de monitoramento contínuo da saúde em tempo real permitindo acompanhamento remoto detalhado de pacientes crônicos (Malik, Muhammad e Waheed, 2023; Pramanik *et al.*, 2020).

Contudo, existem preocupações relacionadas à segurança e ao impacto ambiental dessa tecnologia (Rezvani *et al.*, 2019), pois os efeitos das nanopartículas na saúde humana e no meio ambiente ainda não são totalmente compreendidos. Portanto, é crucial que o desenvolvimento e uso de nanotecnologia sejam acompanhados de práticas responsáveis, incluindo testes rigorosos de segurança e avaliações ambientais.

4.2.2 Conceitos e definições

A nanotecnologia, enquanto campo multidisciplinar, envolve o design e a manipulação de materiais e dispositivos que possuam, pelo menos, uma dimensão em escala nanométrica. Essa escala, de maneira geral, abrange de 1 a 100 nanômetros (nm). Contudo, o FDA (Food and Drug Administration) sugere que, mesmo sem uma definição regulatória oficial para "nanomaterial", certos critérios sejam levados em consideração para identificar a aplicação de nanotecnologia em produtos. Dessa forma, o conceito de nanomaterial se aplica para materiais que exibem propriedades ou fenômenos atribuíveis às suas dimensões específicas, mesmo fora da faixa nanométrica, até cerca de 1000nm (Biotechnol. Law Rep, 2011) . Nessa escala, os materiais manifestam propriedades físicas, químicas e biológicas distintas daquelas observadas em suas formas macroscópicas (Asha e Narain, 2020). Assim, a nanotecnologia abrange uma vasta gama de nanomateriais com potenciais aplicações em diversas áreas da ciência e

tecnologia. Conceitos chave como nanopartículas, automontagem, abordagens *bottom-up* e *top-down*, além de produtos nano-habilitados, são fundamentais nesse campo.

As nanopartículas, possuem uma área superficial relativamente grande em comparação ao seu volume, conferindo-lhes propriedades notáveis, como alta reatividade, aprimoramento das propriedades ópticas e magnéticas, e maior energia de superfície (Khan, Saeed e Khan, 2019). Essas partículas podem ser personalizadas com grupos funcionais e revestimentos específicos na superfície, permitindo aplicações como o carregamento de fármacos e imagens de rastreamento na medicina (Silva, da *et al.*, 2021), além de atuarem como catalisadores para aumentar a eficiência de reações químicas em processos de conversão e armazenamento de energia. Na medicina, elas podem ser projetadas para atingir seletivamente células cancerígenas, entregando fármacos ou agentes de imagem diretamente aos locais-alvo no corpo (Raj *et al.*, 2021).

A automontagem refere-se à formação espontânea de estruturas ordenadas a partir de moléculas ou nanopartículas através de interações não covalentes, como forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Este processo é uma estratégia chave para o design e síntese de materiais e dispositivos em nanoescala, permitindo a formação de estruturas complexas e funcionais sem necessidade de equipamentos complexos (Levin *et al.*, 2020).

A abordagem *bottom-up* envolve a construção de materiais e dispositivos a partir de blocos de construção atômicos ou moleculares, visando criar estruturas em nanoescala precisas e altamente funcionais. Essa técnica tem sido empregada na criação de materiais com propriedades ópticas e magnéticas singulares, assim como dispositivos, como nanosensores e nanorrobôs (Nocerino *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2021). Uma aplicação notável dessa abordagem é a nanotecnologia de DNA (Rubio-Sánchez *et al.*, 2021), que utiliza moléculas de DNA para construir estruturas em nanoescala com controle preciso de forma e tamanho.

A abordagem *top-down* cria nanoestruturas a partir de materiais maiores, reduzindo-os à nanoescala usando diversas técnicas de fabricação. Esta abordagem utiliza ferramentas e equipamentos para esculpir o material até alcançar a nanoestrutura desejada. A litografia, por exemplo, é empregada para criar estruturas em nanoescala em pastilhas de silício para a fabricação de *chips* de computador (Oh *et al.*, 2020). Apesar de útil, essa técnica tem limitações, incluindo desafios no controle preciso do tamanho e forma das nanoestruturas e o potencial de introdução de defeitos e impurezas durante o processo (Abid *et al.*, 2022).

A abordagem *bottom-up* oferece vantagens sobre a *top-down*, como maior controle sobre o tamanho e forma das nanoestruturas e a capacidade de criar materiais com propriedades

inovadoras. No entanto, a abordagem *bottom-up* pode ser mais complexa e demorada, exigindo um design e síntese meticolosos de moléculas e nanopartículas (Abid *et al.*, 2022).

Produtos nano-habilitados são aqueles que incorporam nanotecnologia para oferecer propriedades únicas e melhoradas, como maior resistência, durabilidade, condutividade e reatividade, além de funcionalidades especiais, como autolimpeza e propriedades antimicrobianas. Exemplos incluem vidros autolimpantes, uso de nanopartículas em produtos de consumo por suas propriedades antimicrobianas, baterias de alta capacidade e sistemas de liberação de fármacos em nanoescala (Garlisi *et al.*, 2020; Hicks e Temizel-Sekeryan, 2019; Vega-Vásquez, Mosier e Irudayaraj, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

4.2.3 Nanossistemas

Os nanossistemas são estruturas inovadoras amplamente exploradas para aplicações terapêuticas, cosméticas e industriais devido às suas propriedades únicas de encapsulamento, proteção e liberação controlada de compostos ativos. Dentre os principais tipos de nanossistemas, destacam-se os lipossomas, os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs), as nanoemulsões e as nanopartículas core-shell, cada um apresentando características específicas que os tornam adequados para diferentes finalidades.

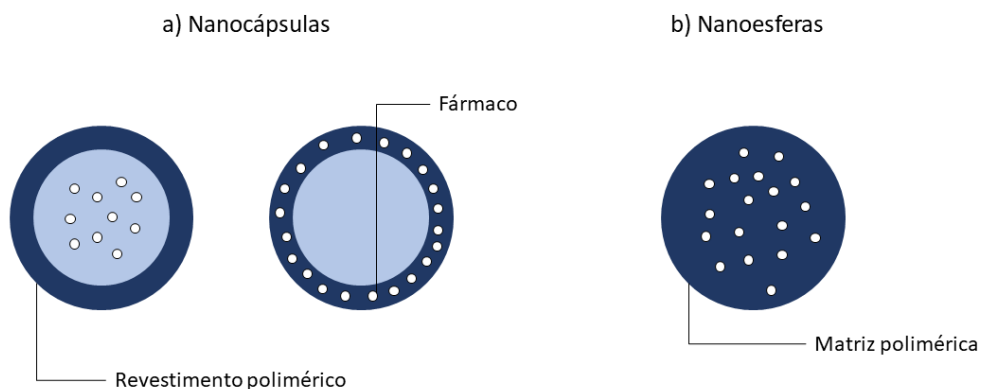
Os lipossomas são vesículas esféricas compostas por uma bicamada lipídica, capazes de encapsular substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas. Devido à sua semelhança estrutural com as membranas celulares, apresentam alta biocompatibilidade e eficiência na entrega de fármacos (Trucillo, Campardelli e Reverchon, 2020). Os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs) surgiram como uma alternativa aprimorada aos lipossomas, combinando lipídios sólidos e líquidos para formar uma matriz que proporciona maior estabilidade e capacidade de carga de fármacos (Viegas *et al.*, 2023). As nanoemulsões são dispersões coloidais de líquidos imiscíveis, como óleo e água, estabilizadas por emulsificantes. Essas estruturas podem ser classificadas como óleo em água (O/A), água em óleo (A/O) e combinações mais complexas, como O/A/O e A/O/A (Guo *et al.*, 2023; Sattorov *et al.*, 2021). Por fim, as nanopartículas core-shell são estruturas compostas por um núcleo funcional revestido por uma casca protetora ou modificável.

4.2.3.3 Nanocápsulas e Nanoesferas poliméricas

As nanocápsulas poliméricas e as nanoesferas poliméricas são duas categorias de nanopartículas que têm gerado grande interesse em vários campos de pesquisa e aplicações. Essas estruturas projetadas são compostas por polímeros biodegradáveis ou biocompatíveis, conferindo-lhes propriedades e funcionalidades únicas (**Figura 1**). As nanocápsulas poliméricas são partículas esféricas que apresentam uma estrutura de Núcleo-Coroa. O núcleo comumente abriga um ingrediente ativo, como fármacos, enquanto a coroa é formada por uma matriz polimérica (Peh e Loh, 2019). O encapsulamento do agente ativo dentro das nanocápsulas oferece diversas vantagens, como proteção contra degradação, liberação controlada e direcionamento a locais específicos do corpo (Siddiqui *et al.*, 2022).

Por outro lado, as nanoesferas poliméricas são nanopartículas sólidas que não apresentam uma estrutura de núcleo-coroa. Elas são homogêneas e, geralmente, formadas por um único polímero. Durante o processo de fabricação, é possível controlar de forma precisa o tamanho, a composição e as propriedades de superfície das nanoesferas (Uson *et al.*, 2022). Essas nanoesferas são empregadas para o encapsulamento e a liberação controlada de uma ampla variedade de ingredientes ativos, incluindo fármacos, proteínas e ácidos nucleicos, além de outras aplicações, como em imagiologia médica e engenharia de tecidos (Peh e Loh, 2019). Os polímeros empregados podem ser personalizados para atingir propriedades específicas desejadas, como biodegradabilidade ou sensibilidade a estímulos externos. É possível realizar modificações na superfície desses nanomateriais, incorporando ligantes ou moléculas de direcionamento, para facilitar interações específicas com células ou tecidos alvo, aumentando, assim, a seletividade e eficiência (Cheng *et al.*, 2019).

Figura 1 - Estrutura de a) nanocápsulas e b) nanoesferas poliméricas



Baseado e adaptado de (Aita, 2021; Apolinário *et al.*, 2020). Criado com BioRender.com (2024).

4.2.4 Nanocarreadores usando produtos naturais

A incorporação de produtos naturais em nanocápsulas tem se mostrado uma estratégia promissora para melhorar a biodisponibilidade, estabilidade e eficácia terapêutica de diversos ativos. Diversos estudos têm explorado a nanoencapsulação de óleos essenciais e extratos vegetais, utilizando matrizes poliméricas que variam de gelatina e PCL a sistemas lipossomais e nanopartículas baseadas em PLGA ou PLA, conforme **Tabela 1**.

Por exemplo, no estudo que investigou nanopartículas poliméricas preenchidas com óleo essencial de *Piper nigrum*, observou-se que o óleo essencial de pimenta preta encapsulado em uma matriz de gelatina e poli- ϵ -caprolactona resultou em nanocápsulas com diâmetros médios de aproximadamente 194 nm sem óleo, aumentando para cerca de 296 nm com a inclusão do óleo, e apresentando uma eficiência de encapsulamento elevada (98,5%) (Costa *et al.*, 2021). Esses resultados evidenciam que a adição do óleo não só incrementa o tamanho das partículas – possivelmente devido à inclusão do ingrediente ativo no núcleo –, mas também aumenta a rugosidade da superfície, o que pode afetar a liberação e a estabilidade do sistema.

Tabela 1 - Nanocarreadores com produtos naturais

Artigo	Produto Natural	Composição dos Materiais	Características das NC	Principais Achados
Caracterização de nanopartículas poliméricas preenchidas com óleo essencial de <i>Piper nigrum</i> por microscopia de força atômica (Costa <i>et al.</i> , 2021).	Óleo essencial de <i>Piper nigrum</i> (pimenta preta)	Gelatina, poli- ϵ -caprolactona (PCL)	Diâmetro: 193,52 \pm 40,14 nm (sem óleo) e 295,54 \pm 53,50 nm (com óleo); Eficiência de encapsulamento: 98,50%	Alta eficiência de encapsulamento; aumento no tamanho e rugosidade das NC com óleo.
Eugenol and its liposome-based nano carrier reduce anxiety by inhibiting glyoxylase-1 expression in mice (Siyal <i>et al.</i> , 2023).	Eugenol (óleo de cravo)	Lipossomas	-	Redução da ansiedade em camundongos; maior eficácia com lipossomas revestidos com quitosana.
Growth-Inhibitory Effect of Chitosan-Coated Liposomes Encapsulating Curcumin on MCF-7 Breast Cancer Cells (Hasan <i>et al.</i> , 2020).	Curcumina (açafraão)	Lecitina de salmão, soja e canola; Quitosana	Tamanho: ~120 nm; Eficiência de encapsulamento: 88% (com quitosana)	Inibição do crescimento de células MCF-7; maior eficácia com quitosana.

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo óleos vegetais (Morais, de <i>et al.</i> , 2018).	Óleo de Copaifera officinalis e Melaleuca alternifolia	Poli-ε-caprolactona (PCL)	Diâmetro: 209,77 nm a 259,97 nm; Potencial Zeta: -31,38 a -32,42 mV; pH: 4,78 a 5,39	NC adequadas para encapsulação de óleos essenciais; tamanho estreito e estável.
Design and Development of Nanostructured Co Delivery of Artemisinin and Chrysin for Targeting hTERT Gene Expression in Breast Cancer Cell Line: Possible Clinical Application in Cancer Treatment (Azar <i>et al.</i> , 2022).	Artemisina e Crisina	PLGA-PEG (poli(ácido láctico-co-glicólico) - polietilenoglicol, PVA (álcool polivinílico)	Tamanho: 80-110 nm; Eficiência de encapsulamento: 78,16% (Art) e 85,3% (Cri)	Sinergia entre Art e Chr; maior inibição do crescimento de células T47D; redução da expressão do gene hTERT.
Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata (Luzenti, 2022)	Própolis verde própolis vermelha brasileira	Poli(ácido láctico)(PLA)	diâmetro médio de 201nm para PV e 183 nm para PVB	Eficiência de encapsulação superior a 98% para maioria dos compostos com estabilidade física por 120 dias.

Em síntese, os estudos apresentados demonstram que a nanoencapsulação de produtos naturais, utilizando diferentes materiais poliméricos e metodologias de síntese, pode melhorar significativamente as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos ativos naturais. As características dos sistemas nanoestruturados, como o tamanho da partícula, eficiência de encapsulamento, potencial Zeta e estabilidade física, são fundamentais para a eficácia dos tratamentos e permitem a aplicação de formulações inovadoras para diversas doenças. Esses avanços abrem caminho para o desenvolvimento de novas terapias com maior especificidade e menor toxicidade, representando uma importante evolução no campo da farmacologia e da biotecnologia.

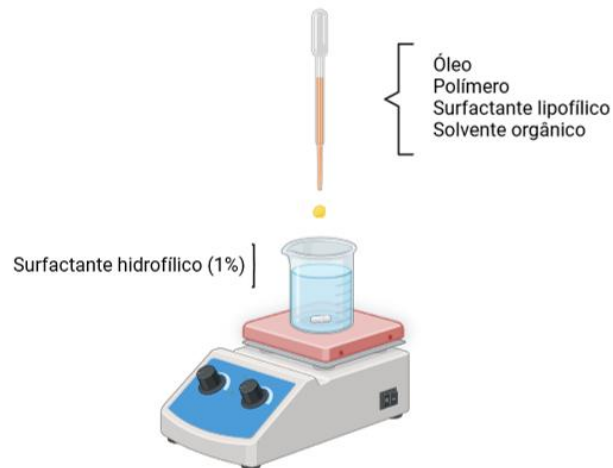
4.2.4 Síntese de nanocápsulas

4.2.4.1 Nanoprecipitação

A nanoprecipitação (**Figura 2**), também conhecida como método de deposição interfacial ou método de deslocamento de solvente, destaca-se na produção de nanopartículas

poliméricas devido à sua eficiência e versatilidade. Durante o processo, um polímero é precipitado de uma solução orgânica para uma solução aquosa contendo um agente surfactante, levando à formação de nanopartículas com tamanhos na escala nanométrica através de um rápido processo de difusão (Huang *et al.*, 2021).

Figura 2 - Esquema do processo de nanoprecipitação



Fonte: Autor próprio (2024).

Essa técnica é valorizada por sua simplicidade e facilidade de implementação, além de requerer quantidades reduzidas de solvente orgânico, tornando o processo econômico e ambientalmente amigável (Yang *et al.*, 2019). Sua adaptabilidade permite a aplicação em uma ampla gama de fármacos e polímeros. Por exemplo, Souza, et al. (2023) desenvolveram nanocápsulas de policaprolactona com ivermectina, apresentando atividade anti-*Strongyloides* superior à do medicamento não encapsulado. A técnica também possibilita a produção de nanopartículas com tamanho uniforme e distribuição controlada (Lammari *et al.*, 2020), o que é crucial para a estabilidade e eficácia das formulações, especialmente para compostos bioativos como óleos essenciais. Além disso, facilita a encapsulação eficiente, melhorando a solubilidade e estabilidade desses compostos e permitindo sua liberação controlada (Asemani *et al.*, 2024; Lammari *et al.*, 2020).

A flexibilidade da técnica em acomodar uma diversidade de polímeros e compostos ativos amplia sua aplicabilidade em sistemas terapêuticos e cosméticos, permitindo o desenvolvimento de formulações personalizadas. Pinto et al. (2023) demonstraram isso ao utilizar óleo de copaíba encapsulado para reduzir a resposta inflamatória em ratos, com as nanocápsulas de PCL caracterizadas por distribuição de tamanho de partícula e potencial Zeta por espalhamento de luz dinâmico (DLS), eficiência de encapsulamento por ultrafiltração, e morfologia de partícula por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A simplicidade e o

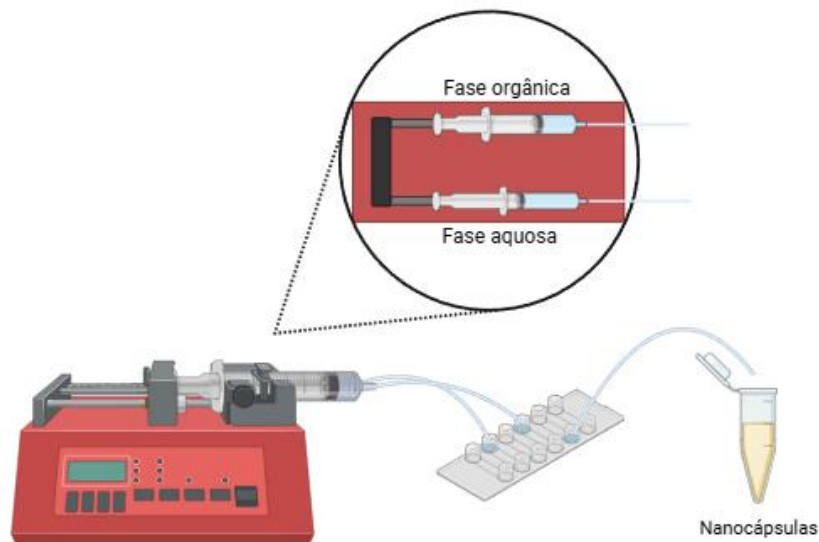
baixo custo do processo tornam a nanoprecipitação acessível para produção em escala industrial (Jummes *et al.*, 2020).

Ademais, a nanoprecipitação facilita o controle sobre propriedades críticas das nanopartículas, como tamanho, distribuição, carga superficial e morfologia, essencial para a otimização de formulações. Nos estudos de (Tiburcio *et al.*, 2024), foi demonstrado que a adição de óleo essencial não afetou significativamente a repulsão eletrostática e a distribuição de tamanho das partículas, evidenciando a capacidade da técnica de produzir partículas monodispersas.

4.2.4.2 Sistema microfluídico

O sistema microfluídico (**Figura 3**) destaca-se como uma técnica de ponta para a obtenção de nanocápsulas, permitindo a produção controlada e eficiente de partículas em escala nanométrica. Esse método utiliza dispositivos microfluídicos com canais microscópicos projetados para promover a mistura precisa de fluidos, o que resulta na formação de nanocápsulas com parâmetros bem calculados (Mehraji e DeVoe, 2024). A técnica se baseia na injeção simultânea de uma fase aquosa e uma fase orgânica, contendo o polímero e o composto ativo, em canais com geometrias específicas, como espinha de peixe ou cruzamentos, que induzem o contato interfacial entre os fluidos (Pattanayak *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2022).

Figura 3 - Esquema do sistema microfluídico



Fonte: Autor próprio (2025)

Durante o processo, a difusão e o cisalhamento controlados nos canais microfluídicos favorecem a nucleação e o crescimento de partículas homogêneas, possibilitando a obtenção de

nanocápsulas com tamanhos uniformes (Jang *et al.*, 2024). Essa precisão é fundamental para melhorar a estabilidade e a eficiência das formulações, além de reduzir o desperdício de materiais. O sistema também permite ajustar parâmetros como velocidade de fluxo e proporção de volume entre as fases, o que confere uma grande flexibilidade na personalização das características finais das nanocápsulas (Asadi-Saghandi *et al.*, 2022). A principal vantagem do sistema microfluídico está na escalabilidade e reprodutibilidade do processo. Por operar em regime contínuo, é possível produzir grandes volumes de nanocápsulas com consistência, tornando a técnica altamente promissora para aplicações industriais, especialmente em cosméticos e fármacos. Além disso, a técnica consome menores volumes de reagentes e solventes, reduzindo custos e impactos ambientais (Niculescu *et al.*, 2021).

Outro benefício relevante é o controle sobre propriedades críticas das nanocápsulas, como carga superficial, morfologia e eficiência de encapsulamento (Liu *et al.*, 2022), apresentando vantagens em termos de escalabilidade, eficiência energética e produção consistente, com potencial para aplicações em larga escala. O trabalho de Kaewchada *et al.* (2023) demonstrou que o sistema microfluídico permitiu encapsular alfa-tocoferol em nanocápsulas poliméricas de PCL com eficiência de encapsulação de 92,48% com acompanhado por uma produtividade significativa de 73,99 mg/mL.min.

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

O óleo essencial de breu branco foi obtido da doTerra do Brasil Ltda (Brasil). A Policaprolactona (Mw ~14,000, CAS 24980-41-4) e Span® 80, filtros centrífugos (Amicon® Ultra-15, corte molecular de 100kDa) e acetona ($\geq 99.9\%$, CAS 67-64-1) de Millipore foram obtidos da Sigma (Canadá), enquanto o Tween® 80 (CAS 9005-65-6) foi comprado de Medisca (Canadá). Filtros de polietersulfona 0,22 μ m foram obtidos de Montreal Biotech (Canadá).

3.2 Composição do óleo essencial de breu branco

A identificação dos constituintes voláteis foi baseada na determinação do índice de retenção linear (IR), calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos injetados sob as mesmas condições, além da análise dos padrões de fragmentação observados nos espectros de massas, comparando-os com dados de amostras de referência disponíveis em bibliotecas do sistema e na literatura.

A composição química dos compostos voláteis do óleo essencial de breu branco foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) utilizando um sistema Shimadzu QP Plus-2010. O equipamento contava com uma coluna capilar de sílica DB-5MS (30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura de filme). Foram empregadas as seguintes condições operacionais: gás de arraste de hélio com velocidade linear de 36,5 cm/s; injeção sem divisão de fluxo (2 μ L de óleo diluído em 1 mL de hexano); temperatura do injetor de 250°C; e um programa de aquecimento que variou de 60°C a 250°C, a uma taxa de 3°C/min. A fonte de íons e demais componentes foram mantidos a 220°C, e o quadrupolo realizou varreduras de 39 a 500 daltons a cada segundo, utilizando ionização por impacto eletrônico a 70 eV.

A análise foi feita no Museu Paraense Emílio Goeldi – Belém, Pará, Brasil.

3.3 Síntese de nanocápsulas por nanoprecipitação empregando planejamento experimental

O projeto foi cadastrado no SISGEN, número A4D47E3.

Para a formulação e otimização de nanocápsulas contendo óleo essencial de breu branco, foi adotado um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, com três fatores e três níveis (**Tabela 2**), de acordo com (Andrade, 2020). As variáveis independentes avaliadas foram as concentrações de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (20 a 100 mg), óleo essencial (50 a 150 mg) e polisorbato 80 (20 a 60 mg) e codificadas em 15 experimentos com repetição do ponto central (**Tabela 3**). Como variáveis dependentes, foram analisados o diâmetro hidrodinâmico médio das partículas (D_h), o índice de polidispersão (PDI) e o potencial Zeta (ζ).

Tabela 2 - Variáveis e seus níveis para o desenvolvimento de Box-Behnken

Variável	Nível		
	-1	0	1
PCL (mg)	20	60	100
Óleo (uL)	50	175	300
Polisorbato 80 (mg)	20	60	100

Tabela 3 - Planejamento experimental aleatorizado tipo Box-Behnken

Experimento	Variável codificada		
	PCL	Óleo	Polisorbato 80
2	+1	-1	0
10	0	+1	-1
11	0	-1	+1
15	0	0	0
3	-1	+1	0
12	0	+1	+1
5	-1	0	-1
9	0	-1	-1
14	0	0	0
13	0	0	0
4	+1	+1	0
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
6	+1	0	-1
1	-1	-1	0

A fase orgânica foi composta por óleo essencial de breu branco, PCL e Span 80 (20 mg), solubilizado em 6 mL de acetona. Paralelamente, a fase aquosa foi preparada com 12 mL de solução de polisorbato 80 a 1% (m/v). Durante o processo de preparo, a fase orgânica foi adicionada com auxílio de uma seringa à fase aquosa sob agitação magnética, realizada à temperatura ambiente. Em seguida, a dispersão foi concentrada em um evaporador rotativo a 40°C, com uma rotação constante de 100 rpm por 45 minutos para remoção do solvente. As

nanocápsulas reduzidas foram lavadas com água Milli-Q e centrifugadas em filtros centrífugos a 3000xg, por 10 minutos, à 4°C, e então filtradas com filtros de polietersulfona de 0,22nm (Watt, Andriescu e Ho, 2024).

3.4 Planejamento experimental e condições ótimas para obtenção de nanocápsulas

O tratamento dos dados e otimização das condições do planejamento foram realizados com base em gráficos tridimensionais de superfície de resposta e gráficos de contorno, construídos por meio do software Minitab Statistical 21.4. O teste ANOVA ($p \leq 0,05$) foi realizado para avaliar a interação entre as variáveis independentes e o experimento foi realizado em ordem aleatória (Esmaeili e Gholami, 2015). Os parâmetros ótimos foram definidos com base nas nanocápsulas que apresentaram o menor tamanho hidrodinâmico e índice de polidispersão, aliados ao maior módulo de carga de superfície.

3.5 Síntese de nanocápsulas por sistema microfluídico

As condições experimentais para formulação, foram baseadas no planejamento previamente otimizado para nanocápsulas obtidas pela técnica de nanoprecipitação, utilizando as mesmas composições para as fases aquosa e orgânica do melhor experimento. O desenvolvimento dos nanossistemas pela técnica de microfluídica seguiu a metodologia proposta por Watt, Andriescu e Ho (2024). Assim, para a produção das nanocápsulas, foram utilizando uma bomba de seringa de canal duplo (modelo NE-4000, New Era Pump Systems), que injetaram simultaneamente as fases aquosa e orgânica em um chip microfluídico com design interno em espinha de peixe. Os parâmetros de fluxo foram ajustados para atingir uma vazão total de 6 mL/min, com proporção de 3:1 entre as fases aquosa e orgânica, e um volume total de formulação de 1,5 mL. O processo foi iniciado com a injeção simultânea das duas fases, e as nanocápsulas formadas foram coletadas diretamente na saída do chip microfluídico em um recipiente com tampa. A dispersão foi diluída em 3 mL de água Milli-Q e submetida a um processo de centrifugação utilizando filtros centrífugos a 3000xg, por 10 minutos, a uma temperatura de 4°C. Este procedimento de lavagem foi repetido três vezes para remover resíduos de acetona da fase orgânica e o óleo não encapsulado. Após as lavagens, a dispersão foi filtrada com uma seringa equipada com filtro de polietersulfona.

3.6 Comparação entre nanoprecipitação e chip microfluídico

Para fins de comparação entre as técnicas de síntese, as nanocápsulas obtidas por ambas as abordagens foram caracterizadas e comparadas em relação ao tamanho de partícula hidrodinâmico, índice de polidispersidade, potencial Zeta, estabilidade, e ensaios de viabilidade e migração celular.

3.6.1 Análise do diâmetro de partícula, índice de polidispersão e potencial Zeta

Previamente à análise, as amostras foram diluídas em uma proporção de 1:100 com água *Milli-Q*®. O tamanho médio do diâmetro hidrodinâmico, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial Zeta dos nanossistemas foram determinados por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), utilizando o *Zetasizer Ultra Red* da Malvern, localizado na *School of Pharmacy*, na Universidade de *Waterloo* em Ontário/CA, a uma temperatura de 25°C. Os resultados obtidos foram apresentados em termos do tamanho médio do diâmetro hidrodinâmico (D_h), do desvio-padrão na distribuição de tamanho (DP), do índice de polidispersão (PDI) e potencial Zeta (ζ) (Tiburcio *et al.*, 2024). As análises foram realizadas em triplicata.

3.6.2 Estabilidade térmica das nanocápsulas

Para determinar a estabilidade térmica das nanocápsulas, partículas sintetizadas foram armazenadas a 4°C e 37°C, em triplicata. Os parâmetros de diâmetro de partícula e índice de polidispersão foram avaliados com auxílio do DLS nos intervalos de 0, 1, 7, 14 e 30 dias (Watt, Andriescu e Ho, 2024).

3.6.3 Ensaio de viabilidade celular

Células epiteliais humanas da linhagem HaCaT foram cultivadas em placas de microtitulação de 96 poços contendo meio de cultura DMEM completo. Cada poço foi semeado com uma densidade celular de 5×10^4 células em 100µL de volume total e incubado em condições controladas de 37°C e 5% de CO₂ por 24 horas. Após esse período, o meio de cultura foi substituído por 200µL das soluções correspondentes aos grupos experimental, positivo e negativo. Os grupos de tratamento foram as nanocápsulas sintetizadas por nanoprecipitação sem óleo essencial de breu branco (NCNP0) e com o óleo (NCNP), e nanocápsulas sintetizadas

por microfluídica sem o óleo essencial (NCMF0) e com o óleo (NCMF). O grupo de tratamento foi preparado com nanocápsulas diluídas em DMEM (Wisent, 320-030-CL), utilizando diferentes diluições (1:1 a 1:16) para alcançar um volume final de 200µL por poço. O controle negativo consistiu em células mantidas exclusivamente em DMEM, enquanto o controle positivo foi composto por células tratadas com 10% (v/v) de DMSO. Em seguida, as placas foram incubadas novamente por 24 horas nas mesmas condições controladas (37°C, 5% de CO₂). A viabilidade celular foi avaliada utilizando o ensaio MTS (CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay, Promega), conforme as instruções do fabricante. Para cada poço, 20 µL da solução MTS foram adicionados a 200 µL de DMEM isento de vermelho de fenol (Wisent, 320-030-CL). As placas foram incubadas por 3 horas a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO₂. Em seguida, a absorbância foi medida em 490 nm usando um leitor de microplacas (Varioskan LUX, Thermo Fisher Scientific). A absorbância registrada em 490 nm foi considerada diretamente proporcional ao número de células viáveis na cultura.

A viabilidade celular relativa foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$\text{Viabilidade Celular Relativa (\%)} = \frac{\text{Absorbância do Tratamento}}{\text{Absorbância do Controle Negativo}} \times 100$$

3.6.4 Ensaio de migração celular

Células epiteliais HaCaT foram cultivadas em placas de 24 poços contendo DMEM completo, com densidade inicial de 50.000 células por poço. As células foram incubadas a 37°C até atingirem cerca de 90% de confluência. Antes do tratamento, as células foram mantidas em meio livre de soro fetal bovino (FBS) por 12 horas, a fim de induzir um estado de privação de nutrientes. Para o ensaio de migração celular, uma lacuna artificial (ranhura) foi criada na monocamada celular utilizando uma ponteira de pipeta estéril de 10 µL. Os detritos celulares resultantes foram removidos por lavagem com solução tampão PBS, realizada duas vezes. Após a limpeza, o meio de cultura foi substituído por 1000 µL das soluções correspondentes aos grupos experimental, positivo e negativo. As células mantidas em meio livre de FBS foram usadas como controle negativo, enquanto aquelas cultivadas em meio suplementado com soro serviram como controle positivo. Após 24 horas de tratamento, as células foram marcadas com o corante fluorescente PKH26 (16µM) e incubadas por 45 minutos. O excesso de corante foi removido com PBS, e as células aderentes foram mantidas para análise. A migração celular foi avaliada por imagens fluorescentes capturadas em três intervalos de tempo: 0h e 12h, utilizando

o microscópio fluorescente EVOS FL Auto Imaging System (Thermo Fisher Scientific). A taxa de fechamento da lacuna foi analisada pela medição da área inicial e final da "ferida" com o software ImageJ. A porcentagem de fechamento da lacuna foi calculada pela fórmula:

$$\text{Fechamento de ranhura (\%)} = \frac{\text{Área Inicial} - \text{Área Final}}{\text{Área Inicial}} \times 100$$

3.7 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto a diferenças estatísticas por meio de análise de variância e teste de Tukey. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição química do óleo essencial de breu branco

O perfil cromatográfico do óleo essencial de breu branco apresentou trinta e um (31) constituintes em sua composição química, conforme **Tabela 4**.

Tabela 4 - Composição química do óleo essencial de breu branco

Constituinte	(%)
α -Thujene	0.67
α -Pinene	7.54
Camphene	1.02
Sabinene	0.41
3-p-Menthene	6.44
Menthomenthene	5.0
cis-Linalool	1.3
para-Mentha-1(7),8-diene	9.54
α -Terpinene	2.2
para-Cymene	56.7
g-Terpinene	1.86
Terpinolene	0.52
para-Cymenene	0.8
trans-dihydro- β -Terpineol	0.11
Camphor	0.11
trans-dihydro- α -Terpineol	1.21
Terpinen-4-ol	1.55
para-Cymen-8-ol	0.24
α -Terpineol	0.25
Cuminaldehyde	0.08
Phellandral	0.05
Thymol	0.05
α -Cubebene	0.17
α -Copaene	0.38
(E)-Caryophyllene	0.2
β -Humulene	0.06
Germacrene D	0.02
g-Cadinene	0.07
δ -Cadinene	0.17
trans-Calamenene	0.04
Junenol	0.08

A análise cromatográfica do óleo essencial de breu branco revelou a predominância de compostos da classe dos monoterpenos (92,08%), com destaque para o p-cimeno (56,7%), identificado como o constituinte majoritário. Esse monoterpeno é reconhecido por suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antimicrobianas, além de apresentar ação antioxidante, protegendo as células contra danos oxidativos (Balahbib *et al.*, 2021; Uchôa *et al.*, 2024). Santos (2018) demonstrou que o p-cimeno é eficaz na inibição da dor associada ao desenvolvimento tumoral atuando através da modulação da via descendente da dor, interagindo com receptores opioides e inibindo canais de cálcio. Tian *et al.* (2018) mostrou que esse monoterpeno é capaz de bloquear o crescimento de *Aspergillus flavus* completamente em concentrações de 80mg/L, demonstrando a capacidade antimicrobiana do composto.

Outros monoterpenos identificados em concentrações significativas incluem o para-Menta-1(7),8-dieno (9,54%), que se destaca por suas propriedades repelentes (Khedhri *et al.*, 2022). O α -Pino (7,54%) também foi identificado e é amplamente conhecido por suas propriedades broncodilatadoras, auxiliando na expansão das vias respiratórias (Limeira Tolentino *et al.*, 2024; Vieira Antunes, 2019).

Além dos monoterpenos, a análise revelou a presença de sesquiterpenos, como α -Cubebeno (0,17%), α -Copaeno (0,38%), (E)-Cariofileno (0,2%) e δ -Cadineno (0,17%). Em menores concentrações, foram detectados compostos oxigenados, cetonas e aldeídos.

4.2 Planejamento fatorial – Síntese por Nanoprecipitação

Os parâmetros ótimos foram definidos com base nas nanocápsulas que apresentaram o menor diâmetro hidrodinâmico de partícula (D_h) e índice de polidispersão (PDI), aliados ao maior módulo de carga de superfície (ζ). A **Tabela 5** resume os resultados da ANOVA e coeficiente de correlação (nível de confiança de 95%) para as variáveis resposta, assim como a interação e influência das variáveis independentes. Para cada variável dependente (D_h , PDI e ζ), observou-se diferentes níveis de influência das variáveis independentes.

O tamanho das nanopartículas é um dos parâmetros mais cruciais, pois pode influenciar suas propriedades, comportamento e interações biológicas. O pequeno tamanho das nanopartículas confere-lhes propriedades físico-químicas únicas, distintas de suas contrapartes em maior escala. Essas propriedades podem afetar significativamente a interação das nanopartículas com sistemas biológicos e, conseqüentemente, sua resposta biológica (Rushton *et al.*, 2010). A carga superficial é outra característica fundamental, afetando a interação das nanopartículas com células e proteínas, além de sua estabilidade em fluidos biológicos (Pereira

e Zucolotto, 2023). O índice de polidispersão (PDI) é um parâmetro fundamental na caracterização de nanocápsulas, pois indica a uniformidade da distribuição de tamanho das partículas em uma suspensão. Esse valor varia entre 0 e 1, onde valores próximos de 0,1 indicam uma distribuição homogênea (monodispersa), enquanto valores acima de 0,3 sugerem uma dispersão mais heterogênea e menos estável (Liu *et al.*, 2022).

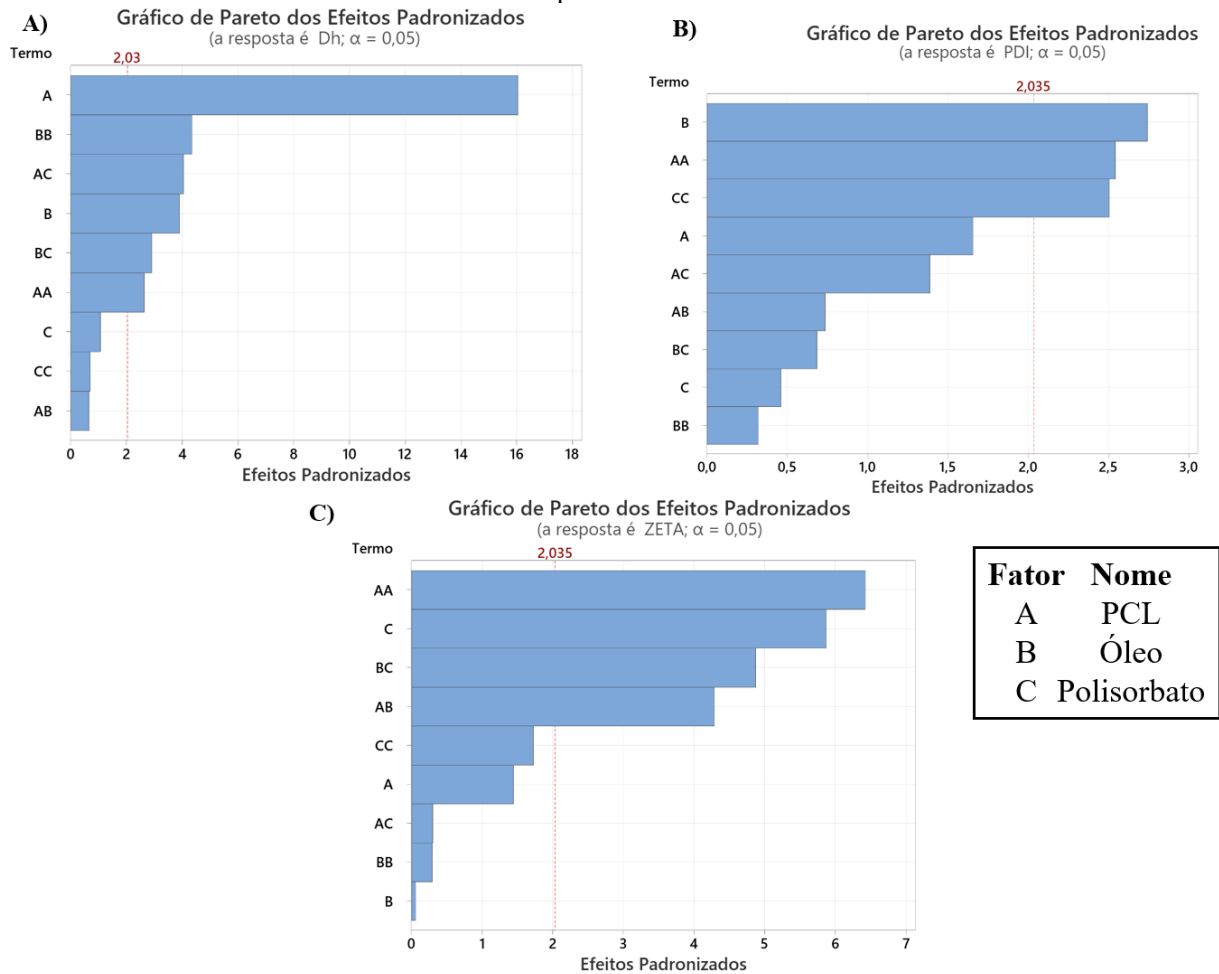
A concentração de PCL foi significativa como termo linear apenas para a resposta de tamanho de partícula, enquanto a concentração de óleo se apresenta como termo linear para diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão. O polisorbato foi o único termo linear para o potencial Zeta e não apresentou influência nas outras respostas. O termo quadrático da PCL apresentou significância em todas as respostas, indicando a concentração do polímero como um dos fatores principais na síntese de nanocápsulas. O quadrático do óleo também se apresentou como um fator significativo para o tamanho. Além disso, foi possível observar a interação entre as variáveis, como óleo*polisorbato, sendo significantes no tamanho e potencial Zeta. Esses resultados corroboram com a literatura (Andrade, 2020; Galindo-Pérez *et al.*, 2018; Souza, de *et al.*, 2023).

A partir dos gráficos de Pareto (**Figura 4**) fica evidente o efeito padronizado das variáveis independentes e sua interação com cada variável de resposta.

Tabela 5 - Análise ANOVA e coeficientes de regressão (s: termos significantes)

Termo	Diâmetro de partícula		Índice de Polidispersão		Potencial Zeta	
	Coef	Valor-P	Coef	Valor-P	Coef	Valor-P
Constante	264 _s	0	0,1322 _s	0	-25,049 _s	0
PCL	100,63 _s	0	-0,01506	0,107	-0,606	0,157
Óleo	24,49 _s	0	0,02496 _s	0,01	-0,024	0,955
Polisorbato	6,67	0,295	-0,00419	0,648	2,457 _s	0
PCL*PCL	24,33 _s	0,013	-0,0341 _s	0,016	-3,958 _s	0
Óleo*Óleo	40,1 _s	0	0,0042	0,753	-0,181	0,771
Polisorbato*Polisorbato	-6,45	0,49	0,0335 _s	0,017	-1,064	0,094
PCL*Óleo	-5,83	0,515	0,0095	0,467	2,539 _s	0
PCL*Polisorbato	35,92 _s	0	0,0179	0,174	0,179	0,764
Óleo*Polisorbato	25,86 _s	0,006	0,0088	0,498	2,885 _s	0

Figura 4 - Gráficos de Pareto para cada variável dependente. A) resposta para Dh; B) resposta para PDI e C) resposta para ζ . Conforme legenda: para os fatores A, B e C, temos as respostas PCL, óleo e Polisorbato, respectivamente.



4.3 Tamanho hidrodinâmico de partícula

O tamanho das partículas no planejamento experimental variou entre 170 e 474nm (**Tabela 6**). A elevação da concentração de PCL resultou em um aumento expressivo no tamanho das partículas, como pode ser observado nos gráficos de superfície. Por exemplo, em formulações com 50 mg de óleo e 40 mg de surfactante, ao aumentar a concentração de PCL de 20 mg para 100 mg, o tamanho médio das partículas aumentou de 172,97nm para 440,97nm. Esse comportamento pode ser explicado pelo aumento da viscosidade da fase orgânica, que reduz a eficiência da difusão do solvente na fase aquosa e promove à formação de gotículas maiores antes da precipitação completa do polímero (Alberto *et al.*, 2023). Além disso, elevadas concentrações de polímero favorecem a agregação intermolecular, dificultando a fragmentação da fase orgânica durante a emulsificação e resultando em nanopartículas maiores. Esse fenômeno é consistente com estudos que relatam o mesmo padrão em nanocápsulas de

policaprolactona encapsulando compostos lipofílicos. Alberto et al. (2023) investigou como a concentração de PCL e o tipo de solvente afetam as dimensões e a morfologia das partículas utilizando diferentes concentrações de PCL. Houve um aumento significativo no tamanho das partículas com o aumento da concentração polimérica.

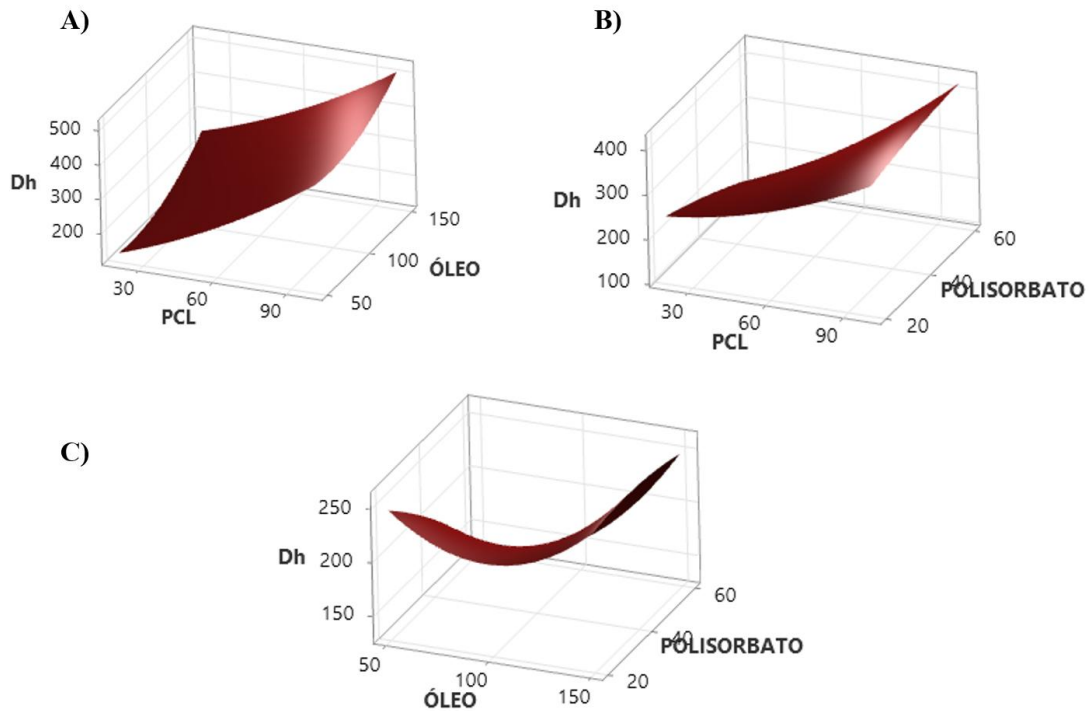
Tabela 6 - Relação de resposta entre variáveis independentes e dependentes. Os resultados das respostas correspondem a média do número de replicadas (n=3), incluindo desvio padrão (DP).

EXPERIMENTO	PCL	ÓLEO	POLISORBATO 80	D _h (nm)	DP	PDI	DP	ZETA (mV)	DP
2	1	-1	0	447,87	6,42	0,05	0,06	-30,94	0,62
10	0	1	-1	298,34	8,28	0,20	0,03	-31,89	0,72
11	0	-1	1	245,20	4,55	0,12	0,03	-26,47	0,36
15	0	0	0	266,14	0,71	0,11	0,02	-24,99	0,20
3	-1	1	0	220,60	4,55	0,13	0,03	-32,52	0,76
12	0	1	1	358,00	3,76	0,23	0,01	-18,84	0,47
5	-1	0	-1	239,20	6,02	0,16	0,06	-30,14	0,18
9	0	-1	-1	288,97	2,79	0,13	0,01	-27,97	1,05
14	0	0	0	264,87	4,24	0,13	0,03	-24,81	1,31
13	0	0	0	260,90	3,54	0,15	0,04	-25,35	1,68
4	1	1	0	473,07	10,95	0,08	0,10	-27,81	0,82
7	-1	0	1	186,10	2,97	0,09	0,01	-27,95	5,34
8	1	0	1	396,34	10,89	0,14	0,02	-29,64	0,86
6	1	0	-1	305,77	13,76	0,13	0,04	-32,55	1,86
1	-1	-1	0	172,07	2,90	0,14	0,04	-25,49	1,08

O aumento na concentração de óleo também foi acompanhado por um incremento no tamanho das partículas. Comparando as formulações com 60mg de PCL e 20mg de polisorbato 80, observa-se que ao elevar a quantidade de óleo de 50mg para 150mg, o tamanho médio das nanocápsulas aumentou de 286,67nm para 307,87nm. Esse efeito pode ser atribuído à necessidade de maior espaço dentro da matriz polimérica para acomodar o óleo, tornando as partículas mais volumosas (Dalle mole *et al.*, 2023). Além disso, concentrações mais elevadas de óleo essencial podem afetar a interação entre o polímero e o surfactante, influenciando o equilíbrio entre emulsificação e precipitação das nanocápsulas (Laranjeira, 2016).

Figura 5 - Gráficos de superfície para tamanho de partícula para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato

Gráficos de Superfície de Dh



Sparemberger et al. (2013), observou que concentrações mais elevadas de surfactante levaram à diminuição do tamanho de nanocápsulas poliméricas carregadas com compostos lipofílicos, devido à estabilização aprimorada da interface. Esse comportamento ocorre porque maiores concentrações de surfactante reduzem a tensão interfacial, promovendo a formação de gotículas menores durante a emulsificação e favorecendo a obtenção de partículas nanométricas (Souto, Severino e Santana, 2012). Este efeito foi visualizado ao comparar as formulações com 60mg de PCL e 100mg de óleo, onde o aumento de polisorbato 80 de 20mg para 60mg levou a uma redução do tamanho médio das partículas de 292,97nm para 243,47nm. No entanto, é possível observar a partir dos gráficos de Pareto (**Figura 4A**) que o surfactante não foi uma variável significativa para o tamanho, mas sim a interação entre esse componente em conjunto com o polímero e o óleo, conforme gráficos de superfície (**Figura 5**).

4.4 Índice de Polidispersão

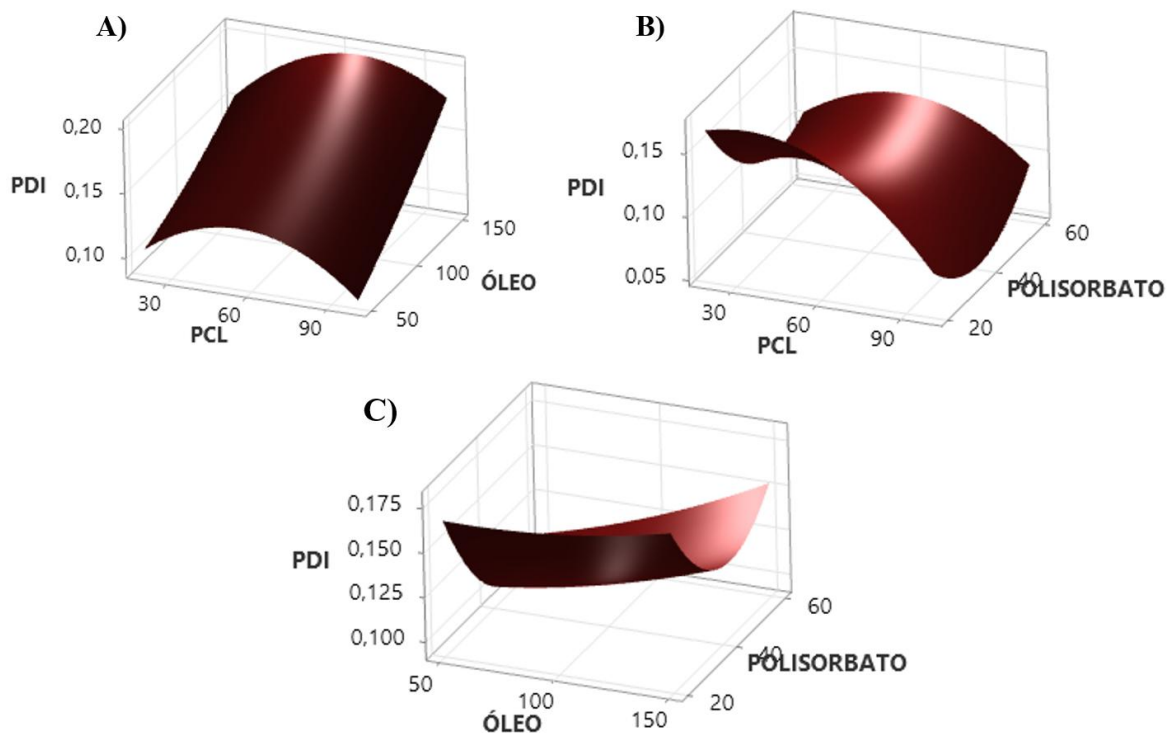
A análise estatística realizada por meio da regressão de superfície de resposta permitiu avaliar a influência das variáveis independentes – PCL, óleo e polisorbato – na resposta do PDI. Os resultados indicam que o modelo ajustado possui um coeficiente de determinação (R^2) de

47,91%, o que sugere limitações significativas na explicação da variação no PDI pelos fatores estudados.

Entre os efeitos individuais, observou-se que o óleo (B) teve um impacto significativo no PDI, com um coeficiente positivo (0,02496) e um valor-P de 0,010, confirmando sua influência estatisticamente relevante (**Tabela 5**). Esse achado corrobora a hipótese de que a presença de óleo pode alterar a estrutura das nanocápsulas, afetando diretamente a dispersão e estabilidade do sistema (Souto, Severino e Santana, 2012). O gráfico de Pareto dos efeitos padronizados (**Figura 4B**) reforçou a importância do óleo como o único fator linear de impacto no PDI, seguido pelos efeitos quadráticos de PCL e polisorbato. Os gráficos de superfície de resposta fornecem uma visualização tridimensional do impacto das variáveis independentes (PCL, óleo e polisorbato) sobre o PDI. Cada gráfico representa a interação entre dois fatores enquanto o terceiro é mantido fixo, permitindo uma análise mais detalhada das relações entre as variáveis. Na **Figura 6A** (PCL vs. óleo), observa-se que o PDI aumenta significativamente com o aumento da concentração de óleo, enquanto a PCL e o polisorbato apresentam um comportamento não linear.

Figura 6 - Gráficos de superfície para índice de polidispersão para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato

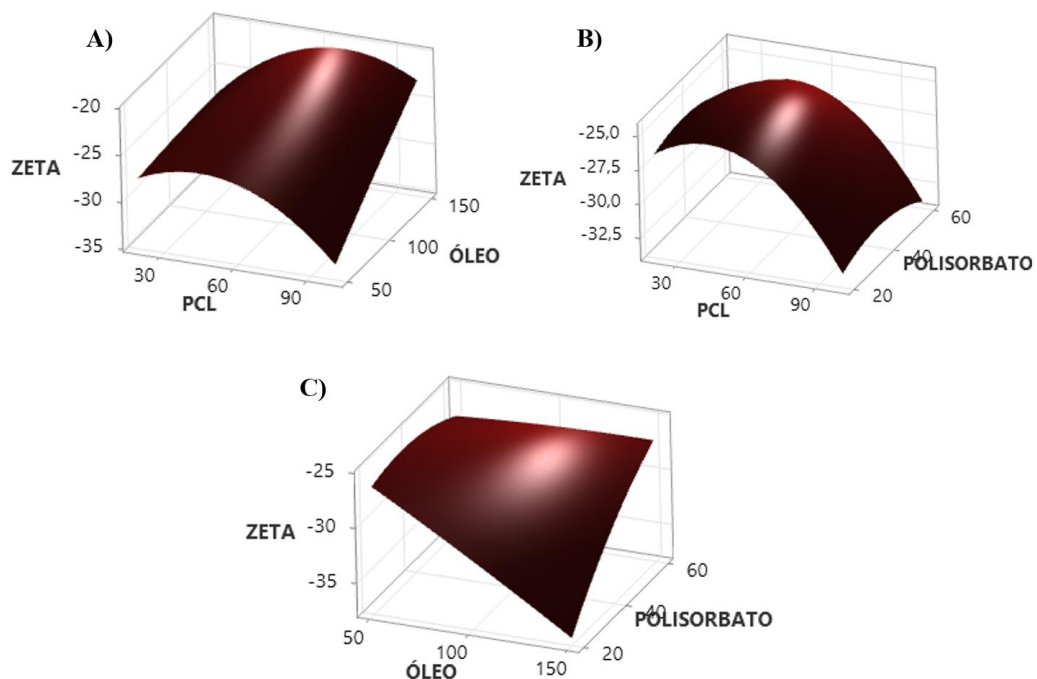
Gráficos de Superfície de PDI



4.5 Potencial Zeta

De acordo com o gráfico de Pareto (**Figura 4C**), a concentração de polisorbato foi a única variável linear significativa para a resposta de ζ . A interação linear entre o óleo*polisorbato e polímero*óleo também foram significantes para determinar o potencial final das nanocápsulas. A influência da concentração dessas variáveis pode ser mais bem visualizada nos gráficos de superfície na **Figura 7**. É possível observar que concentrações maiores de polisorbato podem melhorar a dispersividade do óleo e do polímero no sistema. Além disso os resultados dos experimentos apresentaram valores similares aos reportados anteriormente na literatura, variando entre $\sim -18\text{mV}$ à -33mV (Khatab, Zein El-Dein e El-Gizawy, 2021; Vieira *et al.*, 2020; Yingngam *et al.*, 2019). Baseado nos resultados obtidos para os quinze (15) experimentos realizados, a amostra que apresentou as melhores condições comparada aos parâmetros ótimos foi o experimento 1 (-1,-1,0) com valores de D_h , PDI e potencial Zeta iguais à $172,07\text{nm}$; $0,14$ e $-25,49\text{mV}$, respectivamente.

Figura 7 - Gráficos de superfície para potencial Zeta para interações entre variáveis independentes. A) PCL*Óleo; B) PCL*Polisorbato e C) Óleo*Polisorbato
Gráficos de Superfície de Potencial Zeta



4.6 Tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial Zeta de nanocápsulas por sistema microfluídico

A formulação utilizada para sintetizar as nanocápsulas utilizando o sistema microfluídico foi selecionada a partir do planejamento experimental da técnica de nanoprecipitação. As nanocápsulas por microfluidica apresentaram tamanho médio de $191,25\text{nm} \pm 4,51$, com índice de polidispersão de 0,2 e potencial Zeta de $-20,56\text{mV}$ (**Tabela 7**). Os resultados não apresentaram muita discrepância comparados aos resultados obtidos para nanoprecipitação. O leve aumento em relação ao diâmetro de partícula e PDI podem estar relacionados a otimização da formulação para o método convencional de deposição (NP), visto que esse pode proporcionar um tempo de mistura mais longo comparado ao chip microfluídico (Araújo, 2019; Gomez, 2016). Danaei et al. (2018) coloca valores abaixo de 0,3 para PDI como aceitáveis para aplicação de nanopartículas em sistema de entrega. O ζ também indica boa estabilidade e repulsão entre as partículas (Santos *et al.*, 2021), indicando as nanocápsulas por microfluídica também apresentam potencial para aplicação.

Tabela 7 - Resultados de DLS para nanocápsulas obtidas por sistema microfluídico. A média e o desvio padrão foram feitos a partir da triplicata.

Variáveis	Média \pm DP
Tamanho de partícula (nm)	$191,25 \pm 4,51$
Índice de polidispersão	$0,20 \pm 0,1$
Potencial Zeta (mV)	$-20,56 \pm 0,48$

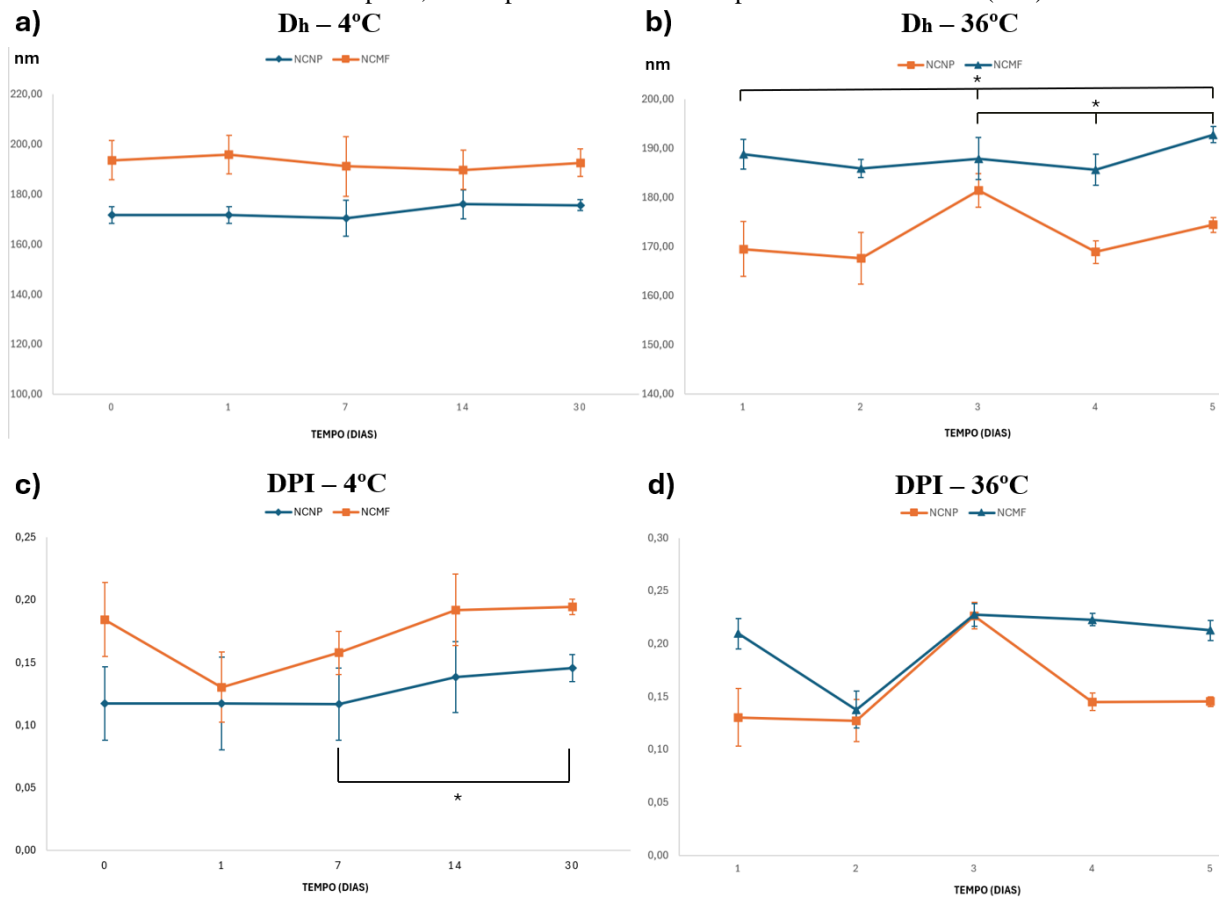
4.7 Estabilidade térmica das Nanocápsulas

No gráfico a) (**Figura 8**), que corresponde às amostras armazenadas a 4°C , observa-se que o diâmetro de partícula se manteve estável ao longo dos 30 dias para ambas as técnicas, sem variações estatisticamente significativas. Esse resultado sugere que a baixa temperatura favorece a estabilidade estrutural das nanocápsulas, minimizando processos de agregação e fusão de partículas (González-Reza *et al.*, 2021). No entanto, o PDI para técnica de nanoprecipitação (**Figura 8b**) apresentou um leve aumento ao comparar o dia sete (7) com o dia trinta (30), o que pode indicar uma pequena heterogeneidade na população de partículas com o passar dos dias. Abu Abed et al. (2021) também observou o mesmo desempenho. O PDI para o sistema microfluídico não apresentou variações significativas.

Já nos gráficos c) e d), referentes às amostras armazenadas a 37°C , verifica-se um comportamento distinto. O D_h das nanocápsulas sintetizadas por nanoprecipitação (NCNP) aumentou de 169,53 para 174,42, um aumento de 2,88%, sugerindo uma leve ocorrência de fusão ou agregação de partículas devido à instabilidade térmica. Esse efeito foi menos pronunciado para as amostras de nanocápsulas sintetizadas por microfluídica (NCMF),

indicando que a técnica de microfluídica proporcionou maior estabilidade dimensional. As variações no PDI para ambas as amostras não foram significativas. O comportamento mais estável observado nas amostras sintetizadas por microfluídica pode ser atribuído à maior reprodutibilidade e controle de tamanho oferecidos por essa técnica, como já demonstrado em estudos anteriores (Liu *et al.*, 2022; Watt, Andriescu e Ho, 2024).

Figura 8 - Estabilidade física das suspensões poliméricas com relação ao: a) e b) Dh e c) e d) PDI. Temperaturas de armazenamento de: a) e c) 4°C e b) e d) 37°C. Foram feitas varia medições em diferentes pontos ao longo de 30 dias onde timepoint, onde * $p < 0.05$. Os valores representam média \pm DP (n=3).

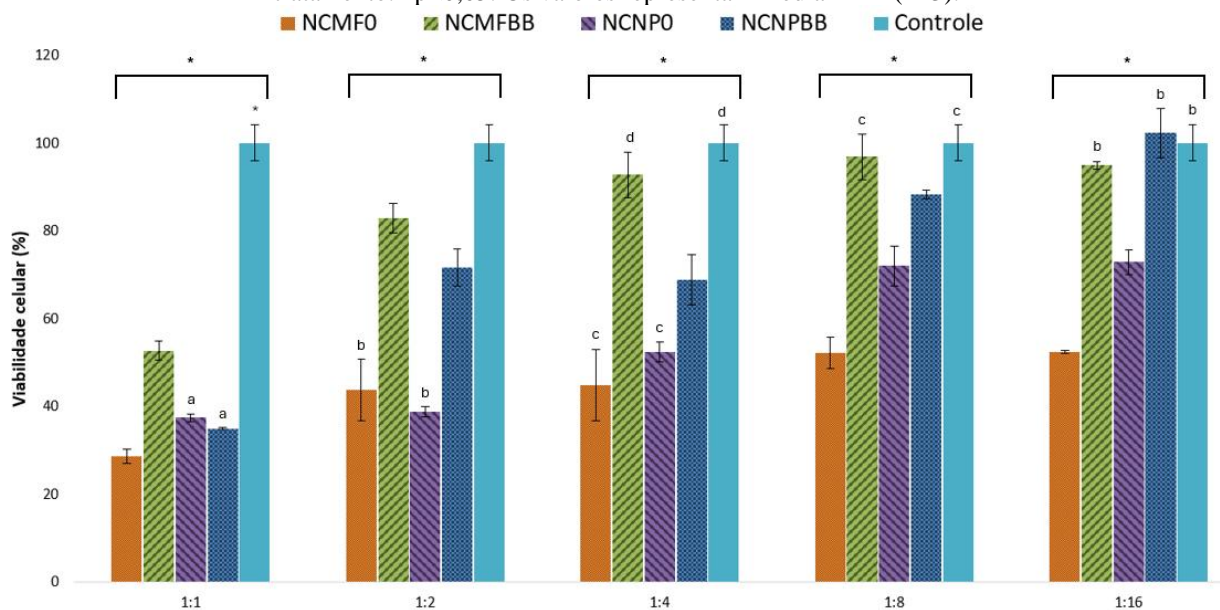


4.8 Viabilidade celular das nanocápsulas

Observou-se um padrão de aumento da viabilidade celular com a diluição das amostras (de 1:1 para 1:16), sugerindo um efeito dose-dependente (**Figura 9**). As nanocápsulas produzidas por sistema microfluídico contendo o óleo apresentaram viabilidade celular acima de 80% a partir da diluição 1:2. Um aumento de aproximadamente 39% comparado as nanocápsulas não carregadas, indicando que a presença do óleo essencial melhora a biocompatibilidade dessas partículas. Para as nanocápsulas feitas por nanoprecipitação, a viabilidade celular também se apresentou superior em comparação às nanocápsulas vazias,

alcançando 88% em diluições de 1:8. As nanocápsulas produzidas pelo sistema microfluídico apresentaram resultados de viabilidade celular superiores quando comparadas às produzidas por nanoprecipitação. Esse efeito pode estar relacionado ao maior controle no processo de formação das partículas, além da utilização de menos solvente, resultando em amostras menos tóxicas (Niculescu *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2022).

Figura 9 – Ensaio de viabilidade celular (MTS). Amostras NCMF0 e NCNP0, correspondem as nanocápsulas sintetizadas por sistema microfluídico e por nanoprecipitação, respectivamente, sem adição do óleo. Amostras NCMFBB e NCNPBB correspondem as nanocápsulas contendo óleo essencial por microfluídica e nanoprecipitação, respectivamente. As amostras foram comparadas com o controle negativo sem adição de tratamento. * $p < 0,05$. Os valores representam média \pm DP (n=3).



4.9 Migração celular das nanocápsulas

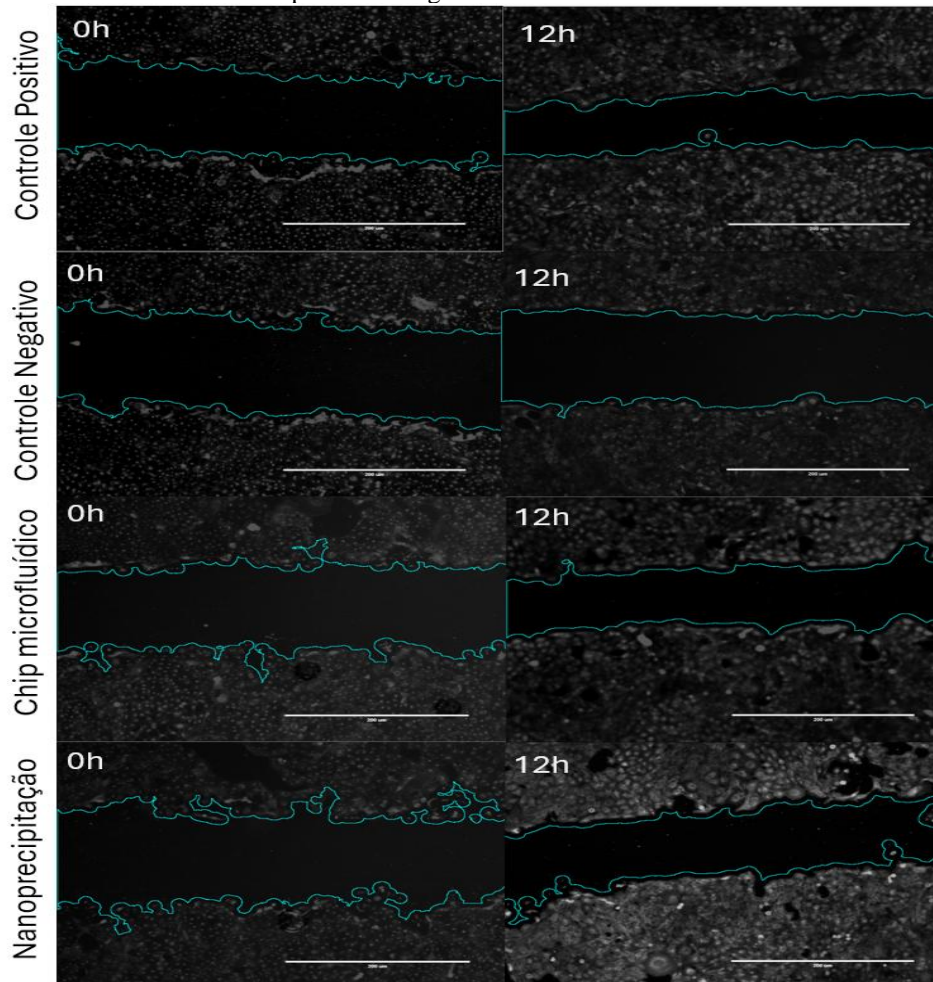
Tabela 8 - Fechamento de ranhura após 12h para controle positivo (meio com FBS), controle negativo (meio sem FBS), e tratamentos com nanocápsulas com óleo essencial de breu branco por microfluídica e por nanoprecipitação nas diluições de 1:8. Os valores correspondem a média \pm DP (n=3).

FECHAMENTO DE RANHURA (%)				
Tempo (h)	Meio com FBS	Meio sem FBS	Microfluidica	Nanoprecipitação
0	0	0	0	0
12	31,78 \pm 5,39a	7,116 \pm 4,2b	25,48 \pm 7,83a	16,81 \pm 8,8a

O ensaio de migração celular revelou as diferenças no fechamento da ferida entre os grupos analisados após 12 horas de incubação (**Figura 10**). O controle positivo e os grupos com tratamento não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si. O controle positivo, composto por meio de cultura suplementado com FBS, apresentou o maior percentual de fechamento da ferida (31,78 \pm 5,39%) (**Tabela 8**), confirmando a importância dos fatores de

crescimento presentes no soro para estimular a migração celular e promover a regeneração tecidual. Por outro lado, o controle negativo, que utilizou meio sem FBS, demonstrou um fechamento significativamente menor ($7,116 \pm 4,2\%$), evidenciando a limitação na capacidade migratória das células na ausência de estímulos adicionais.

Figura 10 - Microscopia com fluorescência do ensaio de migração celular após 0h e 12h, para os grupos controle positivo e negativo e tratamentos.



A composição do óleo essencial de breu branco pode variar significativamente dependendo da região de extração, das condições climáticas e do método de obtenção, resultando em diferentes componentes majoritários (Costa *et al.*, 2024; Lima, 2023; Miranda, 2019). No presente estudo, o principal constituinte identificado foi o para-cimeno (**Tabela 4**), um composto conhecido principalmente por suas propriedades antimicrobianas (Sousa *et al.*, 2018), e não por efeitos cicatrizantes diretos. No entanto, mesmo com essa característica, as células tratadas com as nanocápsulas apresentaram um fechamento de ferida semelhante ao grupo controle positivo, que continha FBS. Esse resultado sugere que as nanocápsulas fornecem um ambiente favorável ao crescimento celular, possivelmente por atuarem como um sistema de

liberação sustentada, protegendo as células de estresses ambientais e promovendo condições bioquimicamente adequadas para a migração celular.

CAPÍTULO V

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo demonstrou que a nanotecnologia é uma estratégia viável para a encapsulação do óleo essencial de breu branco. A comparação entre as metodologias de nanoprecipitação e microfluídica revelou que ambas as técnicas foram eficazes na obtenção de nanocápsulas poliméricas, com tamanhos homogêneos e cargas superficiais adequadas para aplicações biomédicas. As nanocápsulas sintetizadas por nanoprecipitação (NP) apresentaram um diâmetro médio de $172,07 \text{ nm} \pm 2,9$, com índice de polidispersão (PDI) de $0,14 \pm 0,04$ e potencial Zeta de $-25,49 \pm 1,08 \text{ mV}$. Por outro lado, aquelas produzidas via microfluídica (MF) mostraram tamanho médio de $191,25 \text{ nm} \pm 4,51$, PDI de $0,2 \pm 0,1$ e potencial Zeta de $-20,56 \text{ mV} \pm 0,48$. O box-Behnken permitiu obter um estudo detalhado sobre a influência das variáveis independentes na síntese de nanocápsulas por nanoprecipitação, mostrando a PCL como fator primordial para o tamanho de partícula. Todavia, as interações entre as variáveis independentes também estão ligadas às respostas. no entanto ainda são necessárias otimizações para o sistema microfluídico, principalmente em relação ao PDI.

As nanocápsulas por ambas as técnicas também apresentaram boa viabilidade celular (superior a 80%) a partir de diluições 1:2, especialmente para a técnica de microfluídica. Isso pode ser explicado pela quantidade volumétrica de solvente utilizada nesta técnica ser menor comparada a nanoprecipitação, tornando a purificação mais fácil. Ambas as nanocápsulas apresentaram viabilidade igual ao controle a partir da diluição 1:16. Enquanto para os ensaios de migração celular, apesar do p-cimeno ser o composto majoritário do óleo essencial utilizado, as nanocápsulas proporcionaram um ambiente favorável para a regeneração tecidual, exibindo desempenho semelhante ao controle positivo contendo FBS. Enquanto isso, o controle negativo, sem nenhum tratamento ou soro, apresentou um fechamento cerca de três (3) vezes inferior. Esse achado reforça a capacidade das nanocápsulas de fornecer suporte celular, possivelmente por meio de uma liberação sustentada dos compostos bioativos encapsulados.

Ambas as técnicas demonstraram estabilidade física semelhante em relação ao tamanho e ao índice de polidispersão (PDI). No entanto, as nanocápsulas produzidas por nanoprecipitação apresentaram um aumento de 2,88% no tamanho hidrodinâmico médio ao longo do período avaliado. Embora as nanocápsulas obtidas por microfluídica tenham mantido uma boa estabilidade, o PDI final foi superior ao das nanocápsulas por nanoprecipitação, atingindo 0,2 em comparação a 0,14, o que pode indicar uma distribuição de tamanhos ligeiramente menos homogênea.

Apesar dos resultados promissores, algumas avaliações complementares são necessárias para aprofundar o entendimento sobre o desempenho dessas nanocápsulas. Ensaios futuros devem incluir a determinação da eficiência de encapsulação do óleo essencial para verificar o percentual de composto realmente incorporado à matriz polimérica. Além disso, análises por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) poderão fornecer informações detalhadas sobre a morfologia das nanocápsulas. A atividade antimicrobiana também deve ser investigada, considerando o potencial do p-cimeno e dos demais componentes do óleo essencial em inibir o crescimento de microrganismos patogênicos. Por fim, estudos de captação celular serão fundamentais para compreender a internalização das nanocápsulas e sua interação com as células, fornecendo informações sobre seus mecanismos de ação e possível aplicação em terapias avançadas.

Dessa forma, a nanoencapsulação do óleo essencial de breu branco surge como uma abordagem promissora para aplicações biomédicas, podendo ser explorada em tratamentos terapêuticos. Estudos adicionais contribuirão para consolidar seu uso em formulações mais avançadas, ampliando suas possibilidades de aplicação na área da saúde.

REFERÊNCIAS

- AADIL, M. *et al.* Synergistic effect of doping and nanotechnology to fabricate highly efficient photocatalyst for environmental remediation. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 920, p. 165876, 2022.
- ABID, N. *et al.* Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 300, p. 102597, 2022.
- ABU ABED, O. S. *et al.* PEGylated polymeric nanocapsules for oral delivery of trypsin targeted to the small intestines. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 592, 5 jan. 2021.
- AHMED, I. A. *et al.* Natural anti-aging skincare: Role and potential. **Biogerontology**, v. 21, n. 3, p. 293–310, 2020.
- AITA, C. K. Sistemas nanoestruturados de liberação de ingredientes ativos responsivos à radiação. **dissertação de Doutorado. Universidade de São Paulo.**, 2021.
- ALBERTO, L. *et al.* Influence of polycaprolactone concentration and solvent type on the dimensions and morphology of Electrospayed particles. **Materials**, v. 16, n. 5, p. 2122, 2023.
- ALVES, W. F. *et al.* Controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. com óleo essencial de araticum (*Annona glabra* L.) da Amazonia Ocidental. **Scientia Naturalis**, v. 6, n. 2, 2024.
- ANDRADE, S. C. A. DE. Nanocápsulas quitosana-goma arábica contendo óleo essencial de *Origanum vulgare*: preparação, caracterização, estabilidade térmica e ação antimicrobiana em atum azul (*Thunnus thynnus*). 2020.
- ANTONIOLI, G. Desenvolvimento de nanocápsulas de poli (ácido láctico) contendo óleo essencial de capim-limão e avaliação contra fungos fitopatogênico. 2020.
- ANZAR, N. *et al.* Carbon nanotube-A review on Synthesis, Properties and plethora of applications in the field of biomedical science. **Sensors International**, v. 1, p. 100003, 2020.
- APOLINÁRIO, A. C. *et al.* Abrindo a caixa de pandora dos nanomedicamentos: há realmente muito mais ‘espaço lá embaixo’. **Química nova**, v. 43, p. 212–225, 2020.
- ARAÚJO, B. M. Novas formas farmacêuticas: uso de sistemas poliméricos nanoparticulados na vetorização de fármacos. *Em: Novas formas farmacêuticas: uso de sistemas poliméricos nanoparticulados na vetorização de fármacos.* [s.l: s.n.]. p. 29.
- ARIMA JÚNIOR, M. K. Observações sobre as prioridades da Cooperação Amazônica: um esboço de políticas orientadas à missão no desenvolvimento da bioeconomia regional. 2021.
- ASADI-SAGHANDI, H. *et al.* Dimensionless analysis on liquid–liquid two-phase flow patterns in a numbered-up microfluidic device. **Chemical Engineering Journal**, v. 429, 1 fev. 2022.

ASEMANI, M. *et al.* Effects of hydrophilic and lipophilic emulsifier concentrations on the characteristics of Germander essential oil nanoemulsions prepared using the nanoprecipitation technique. **Plant Science Today**, v. 11, n. 1, p. 500–512, 1 jan. 2024.

ASHA, A. B.; NARAIN, R. Nanomaterials properties. *Em: Polymer science and nanotechnology*. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 343–359.

AZAR, L. K. *et al.* Design and Development of Nanostructured Co Delivery of Artemisinin and Chrysin for Targeting hTERT Gene Expression in Breast Cancer Cell Line: Possible Clinical Application in Cancer Treatment. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 23, n. 3, p. 919–927, 1 mar. 2022.

AZEVEDO, S. G. Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de um sistema de nanopartículas bicamadas para liberação controlada do óleo essencial da Piper nigrum. 2021.

BAEK, J. *et al.* Encapsulation and controlled release of vitamin C in modified cellulose nanocrystal/chitosan nanocapsules. **Current Research in Food Science**, v. 4, p. 215–223, 1 jan. 2021.

BALAHBIB, A. *et al.* Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, 1 jul. 2021.

BANDEIRA, P. N. *et al.* Essential oil composition of leaves, fruits and resin of protium heptaphyllum (aubl.) march. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, n. 1, p. 33–34, 2001.

BIOTECHNOL. LAW REP. Guidance for industry considering whether an fda-regulated product involves the application of nanotechnology Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. 2011.

BOLOURI, P. *et al.* Applications of essential oils and plant extracts in different industries. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 8999, 2022.

BORESKI, D. *et al.* Aromaterapia: Efeito dos óleos essenciais em plásticos de polipropileno (P5) e poliestireno (PS). **ULAKES JOURNAL OF MEDICINE**, v. 3, n. 4, 28 dez. 2023.

BUCHMAN, J. T. *et al.* Chitosan-Coated mesoporous silica nanoparticle treatment of Citrullus lanatus (watermelon): Enhanced fungal disease suppression and modulated expression of stress-related genes. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 7, n. 24, p. 19649–19659, 2019.

BURHAN, H. *et al.* Highly efficient carbon hybrid supported catalysts using nano-architecture as anode catalysts for direct methanol fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 48, n. 17, p. 6657–6665, 2023.

CABRAL, R. S. C. *et al.* Essential oils from Protium heptaphyllum fresh young and adult leaves (Burseraceae): chemical composition, in vitro leishmanicidal and cytotoxic effects. **Journal of Essential Oil Research**, p. 1–7, 2021.

CAMPANHOLI, K. DA S. S. *et al.* Thermo and Photoresponsive Emulgel Loaded with Copaifera reticulata Ducke and Chlorophylls: Rheological, Mechanical, Photodynamic and Drug Delivery Properties in Human Skin. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 12, p. 2798, 2022.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros. Um Texto Básico para Tecnólogos e Engenheiros**. São Paulo: [s.n.].

CARVALHO, K. M. M. B. *et al.* Amyrins from *Protium heptaphyllum* reduce high-fat diet-induced obesity in mice via modulation of enzymatic, hormonal and inflammatory responses. **Planta medica**, v. 83, n. 03/04, p. 285–291, 2017.

CASARINI, T. P. A. *et al.* Innovative hydrogel containing polymeric nanocapsules loaded with phloretin: Enhanced skin penetration and adhesion. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111681, 2021.

CASTILHO, G. K.; SILVA FELISBINO, S. DA; RODRIGUES, N. M. Estudo sobre os tipos de extração para óleos essenciais e óleos vegetais. **RCMOS-Revista Científica Multidisciplinar O Saber**, v. 1, n. 10, p. 52–59, 2021.

CHENG, W. *et al.* Versatile polydopamine platforms: synthesis and promising applications for surface modification and advanced nanomedicine. **ACS nano**, v. 13, n. 8, p. 8537–8565, 2019.

CITÓ, A. *et al.* Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl (March). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 4–7, 2006.

CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro: Região norte**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2022.

CORRÊA, O. B.; MELO, A. R.; MARQUES, C. R. M. ANÁLISE DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*). **Revista Vincci-Periódico Científico do UniSATC**, v. 8, n. 2, p. 261–281, 2023.

COSTA, Í. C. *et al.* Characterization of polymeric nanoparticles filled with piper nigrum essential oil by atomic force microscopy. **Revista Materia**, v. 26, n. 2, 2021.

COSTA, J. C. S. C. *et al.* ANÁLISE EXPERIMENTAL DA HIDRODESTILAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE BREU BRANCO. *Em: Processamento Sustentável de Produtos Naturais Amazônicos: Transformação de matérias-primas e resíduos na economia circular*. [s.l.] Editora Científica Digital, 2024. p. 46–62.

COUVREUR, P. *et al.* Nanocapsule technology: a review. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 19, n. 2, 2002.

CRISTINE MARIA CARRAFA, A.; APARECIDA GUGINSKI PIVA, C.; CAROLINA CORRÊA, I. **Comparação dos diferentes métodos de extração: hidrodestilação e arraste a vapor, do óleo essencial do *Eucalyptus Dunni* Maiden**. [s.l: s.n.].

DALLEMOLE, D. R. *et al.* **LIPID-CORE NANOCAPSULES: PREPARATION CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL APPLICATIONS** *Quimica Nova* Sociedade Brasileira de Química, , 2023.

DANAEI, M. *et al.* **Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems** *Pharmaceutics* MDPI AG, , 18 maio 2018.

DROZDOV, A. *et al.* Lycurgus cup: the nature of dichroism in a replica glass having similar composition. **Journal of Cultural Heritage**, v. 51, p. 71–78, 2021.

EFFIONG, D. E. *et al.* Nanotechnology in cosmetics: basics, current trends and safety concerns—A review. **Advances in nanoparticles**, v. 9, n. 1, p. 1–22, 2019.

ELKALLA, E. *et al.* Core-shell micro/nanocapsules: from encapsulation to applications. **Journal of Microencapsulation**, v. 40, n. 3, p. 125–156, 3 abr. 2023.

ESMAEILI, A.; GHOLAMI, M. Optimization and preparation of nanocapsules for food applications using two methodologies. **Food chemistry**, v. 179, p. 26–34, 2015.

FAUSTINO, C. G. *et al.* Larvicide Activity on *Aedes aegypti* of Essential Oil Nanoemulsion from the *Protium heptaphyllum* Resin. **Molecules**, v. 25, n. 22, 1 nov. 2020.

FERREIRA, I. DA S. Bioeconomia: perspectiva de desenvolvimento de cadeias produtivas da biodiversidade do Amazonas. 2024.

FIGUEIREDO, V. M. DE A. Revestimentos de galactomananas e pectinas contendo óleo essencial de *Lippia grata* nanoencapsulado para a qualidade e controle de podridão peduncular em manga 'Palmer'. 2020.

FLORENTINO NETO, S. Desenvolvimento e caracterização físico, química e biológica in vitro de nanopartículas poliméricas contendo α - β Amirina. 2018.

FU, M. *et al.* Scalable robust nano-porous Zr-based MOF adsorbent with high-capacity for sustainable water purification. **Separation and Purification Technology**, v. 288, p. 120620, 2022.

GALINDO-PÉREZ, M. J. *et al.* Optimization of the emulsification-diffusion method using ultrasound to prepare nanocapsules of different food-core oils. **Lwt**, v. 87, p. 333–341, 2018.

GARLISI, C. *et al.* Multilayer thin film structures for multifunctional glass: Self-cleaning, antireflective and energy-saving properties. **Applied energy**, v. 264, p. 114697, 2020.

GOMEZ, H. C. **Sistemas microfluídicos cerâmicos para miniaturização de processos químicos aplicados à fabricação de nanopartículas**. [s.l.] USP, 2016.

GONZÁLEZ-REZA, R. M. *et al.* Synthesis, controlled release, and stability on storage of chitosan-thyme essential oil nanocapsules for food applications. **Gels**, v. 7, n. 4, 1 dez. 2021.

GUO, R. TANG *et al.* **Recent Advances and Perspectives of Core-Shell Nanostructured Materials for Photocatalytic CO₂ Reduction** Small John Wiley and Sons Inc, , 1 mar. 2023.

HASAN, M. *et al.* Growth-inhibitory effect of chitosan-coated liposomes encapsulating curcumin on MCF-7 breast cancer cells. **Marine Drugs**, v. 18, n. 4, 1 abr. 2020.

HICKS, A. L.; TEMIZEL-SEKERYAN, S. Understanding the potential environmental benefits of nanosilver enabled consumer products. **NanoImpact**, v. 16, p. 100183, 2019.

HUANG, L. *et al.* **Advances and perspectives in carrier-free nanodrugs for cancer chemotherapy and combination therapy** Biomaterials Elsevier Ltd, , 1 jan. 2021.

JANG, J. *et al.* **Over a decade of progress: Crystallization in microfluidic systems** *Chemical Engineering Journal* Elsevier B.V., , 1 set. 2024.

JANUÁRIO, A. C. C.; IULIANELLI, G. C. V. Nanoencapsulation of essential and vegetable oils to obtain polymeric nanoparticles for dermocosmetics application. **Seven Editora**, p. 703–723, 16 maio 2023.

JESUS LEOPOLDO, C. DE; VECHIO, G. H. DEL. NANOTECNOLOGIA E SUAS APLICAÇÕES: uma revisão quanto aos seus conceitos, potencial de uso, riscos e tendências. **Revista Interface Tecnológica**, v. 17, n. 2, p. 144–154, 2020.

JUMMES, B. *et al.* Antioxidant and antimicrobial poly- ϵ -caprolactone nanoparticles loaded with *Cymbopogon martinii* essential oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, 1 jan. 2020.

KAEWCHADA, A. *et al.* **Encapsulation of Alpha-Tocopherol Using Polycaprolactone and Tween 20: Formulation and a Perspective for Scaling up Using Micro-Channel** *J. Chem. Chem. Eng. Research Article*. [s.l.: s.n.].

KAPOOR, D. U. *et al.* Phosphatidylcholine (PCL) fortified nano-phytopharmaceuticals for improvement of therapeutic efficacy. **EXCLI Journal**, v. 22, p. 880–903, 2023.

KAURINOVIC, B.; VASTAG, D. **Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants**. [s.l.] IntechOpen London, UK, 2019.

KHAN, A. U. *et al.* Selected nanotechnologies and nanostructures for drug delivery, nanomedicine and cure. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 43, p. 1339–1357, 2020.

KHAN, IBRAHIM; SAEED, K.; KHAN, IDREES. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian journal of chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908–931, 2019.

KHATTAB, W. M.; ZEIN EL-DEIN, E. E.; EL-GIZAWY, S. A. Full Factorial Design and Optimization of Olmesartan Medoxomil–Loaded Oily-Core Polymeric Nanocapsules with Improved In-Vitro Stability. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 16, n. 4, p. 673–687, 1 dez. 2021.

KHEDHRI, S. *et al.* Chemical Composition, Phytotoxic and Antibiofilm Activity of Seven Eucalyptus Species from Tunisia. **Molecules**, v. 27, n. 23, 1 dez. 2022.

KOPP, V. V. Óleo essencial de cravo encapsulado como microbicida natural. 2020.

KREMER, I. DOS S. *et al.* A Synthesis of Applied Nanotechnology to Electronics. **Ciência e Natura**, v. 42, n. 0, p. e25, 7 fev. 2020.

KÜRNSTEINER, P. *et al.* High-strength Damascus steel by additive manufacturing. **Nature**, v. 582, n. 7813, p. 515–519, 2020.

LAMMARI, N. *et al.* **Encapsulation of essential oils via nanoprecipitation process: Overview, progress, challenges and prospects** *Pharmaceutics* MDPI AG, , 1 maio 2020.

LARANJEIRA, S. P. **Nanoencapsulamento de Óleo Essencial de Rosemarinus Officialis com PEG: Estudo do efeito das massas molares de PEG**. [s.l.] Universidade da Beira Interior, 2016.

- LEVIN, A. *et al.* Biomimetic peptide self-assembly for functional materials. **Nature Reviews Chemistry**, v. 4, n. 11, p. 615–634, 2020.
- LIMA, A. O. **Efeito da administração sistêmica do breu branco no trauma oclusal primário**. Araçatuba: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, 2023.
- LIMEIRA TOLENTINO, R. R. *et al.* AÇÕES FARMACOLÓGICAS DO α -PINENO E β -PINENO. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 22, n. 3, p. 373–388, 17 dez. 2024.
- LIU, Y. *et al.* **Microfluidic Nanoparticles for Drug Delivery** Small John Wiley and Sons Inc, , 1 set. 2022.
- MALIK, S.; MUHAMMAD, K.; WAHEED, Y. **Emerging Applications of Nanotechnology in Healthcare and Medicine** Molecules Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 set. 2023.
- MALIKMAMMADOV, E. *et al.* PCL and PCL-based materials in biomedical applications. **Journal of Biomaterials science, Polymer edition**, v. 29, n. 7–9, p. 863–893, 2018.
- MALLAKPOUR, S. *et al.* Nanocarriers for Antioxidant Cosmetic Products. **Handbook of Consumer Nanoproducts**, p. 1–24, 2021.
- MARINCEK LUZENTI, A. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas de câncer de próstata**. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 2022.
- MAURYA, A. *et al.* Essential oils and their application in food safety. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, p. 653420, 2021.
- MEDEIROS, M. I. T. Sistemas coloidais SNEDDS carreadores de Croton cajucara Benth aplicados em modelos experimentais in vivo de antinocicepção, inflamação e cicatrização dérmica. 2022.
- MEHRAJI, S.; DEVOE, D. L. **Microfluidic synthesis of lipid-based nanoparticles for drug delivery: recent advances and opportunities** Lab on a Chip Royal Society of Chemistry, , 2 jan. 2024.
- MELO, A. L. F. DE *et al.* Synergy between amikacin and Protium heptaphyllum essential oil against polymyxin resistance Klebsiella pneumoniae. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 9, 1 set. 2023.
- MIRANDA, B. N. Avaliação do potencial biológico in vitro dos extratos de breu branco. 2019.
- MITEVA, A. Nanotechnology in Sports and Security. **Стратегии на образователната и научната политика**, v. 29, n. 4s, p. 46–53, 2021.
- MORAIS, R. DE *et al.* Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo óleos vegetais. **Anais do 10º salão internacional de ensino, pesquisa e extensão-SIEPE Universidade Federal do Pampa ú Santana do Livramento**, 2018.
- MOREIRA, D. N.; MANZATTO, Â. G. As potencialidades que favorecem ao desenvolvimento sustentável na Amazônia. **Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento**, v. 12, n. 3, p. 751–777, 2023.

NICULESCU, A. G. *et al.* **Nanomaterials synthesis through microfluidic methods: An updated overview***Nanomaterials*MDPI AG, , 1 abr. 2021.

NOCERINO, V. *et al.* Plasmonic nanosensors: Design, fabrication, and applications in biomedicine. *Chemosensors*, v. 10, n. 5, p. 150, 2022.

ODATSU, T. *et al.* Antibacterial properties of nano-ag coating on healing abutment: An in vitro and clinical study. *Antibiotics*, v. 9, n. 6, p. 1–11, 1 jun. 2020.

OH, H. *et al.* Super-Antioxidant Vitamin A Derivatives with Improved Stability and Efficacy Using Skin-Permeable Chitosan Nanocapsules. *Antioxidants*, v. 12, n. 11, p. 1913, 2023.

OH, J. *et al.* Dissolvable template nanoimprint lithography: a facile and versatile nanoscale replication technique. *Nano letters*, v. 20, n. 10, p. 6989–6997, 2020.

PALERMO, F. H. *et al.* Resin secretory canals in *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand. (Burseraceae): a tridimensional branched and anastomosed system. *Protoplasma*, v. 255, n. 3, p. 899–910, 2018.

PATTANAYAK, P. *et al.* **Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives***Microfluidics and Nanofluidics*Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 dez. 2021.

PEH, J.; LOH, X. J. Improving Drug Biological Effects by Encapsulation into Polymeric Nanocapsules. *Em: Polymer Capsules*. [s.l.] Jenny Stanford Publishing, 2019. p. 172–201.

PEREIRA, M. V. S.; ZUCOLOTTI, V. Desenvolvimento de nanopartículas de PLGA encapsuladas com bevacizumabe na terapia do carcinoma pulmonar. *Resumos*, 2023.

PICANÇO, C. A. S.; SOBRINHO, M. V. BIOECONOMIA BIOTECNOLÓGICA NA AMAZÔNIA OCIDENTAL: uma análise dos projetos do Programa Prioritário de Bioeconomia. *P2P E INOVAÇÃO*, v. 10, n. 2, 2024.

PINTO, E. P. *et al.* Poly- ϵ -caprolactone nanocapsules loaded with copaiba essential oil reduce inflammation and pain in mice. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 642, 25 jul. 2023.

PRAMANIK, P. K. D. *et al.* Advancing Modern Healthcare with Nanotechnology, Nanobiosensors, and Internet of Nano Things: Taxonomies, Applications, Architecture, and Challenges. *IEEE Access*, v. 8, p. 65230–65266, 2020.

RAJ, S. *et al.* **Specific targeting cancer cells with nanoparticles and drug delivery in cancer therapy***Seminars in cancer biology*. *Anais...*Elsevier, 2021

RAMSDEN, J. J. What is nanotechnology? *Nature (Lond.)*, v. 344, p. 524–526, 1990.

REZVANI, E. *et al.* Adverse effects of nanosilver on human health and the environment. *Acta biomaterialia*, v. 94, p. 145–159, 2019.

RUBIO-SÁNCHEZ, R. *et al.* Amphiphilic DNA nanostructures for bottom-up synthetic biology. *Chemical Communications*, v. 57, n. 95, p. 12725–12740, 2021.

RUSHTON, E. K. *et al.* Concept of assessing nanoparticle hazards considering nanoparticle dose-metric and chemical/biological response metrics. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 5–6, p. 445–461, 2010.

SANTOS, A. H. S. DOS *et al.* Creme-gel reparador de cabelos cacheados à base de óleos essenciais de manjeriço e cenoura. 2022.

SANTOS, P. L. DOS; MARCHI, J. Development of chitosan containing vegetable oil scaffolds by 3D printing aiming chronic epithelial wound repair. **XII Latin-American Congress of Artificial Organs and Biomaterials**, 2022.

SANTOS, R. B. DOS *et al.* Curcumin-loaded nanocapsules: Influence of surface characteristics on technological parameters and potential antimalarial activity. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, 1 jan. 2021.

SANTOS, W. B. DA R. **p-Cimeno reduz dor oncológica através da modulação da via de analgesia endógena e correntes de cálcio**. [s.l.] Universidade Federal De Sergipe, 2018.

SATTOROV, M. *et al.* **Breakdown of local oil-water emulsions by binary systems of surface-active substances** IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **Anais...** IOP Publishing, 2021

SIDDIQI, S. A. *et al.* Bioactive-loaded nanodelivery systems for the feed and drugs of livestock; purposes, techniques and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 102772, 2022.

SILVA, B. D. DA *et al.* Essential oil nanoemulsions: Properties, development, and application in meat and meat products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 121, p. 1–13, 2022.

SILVA, G. T. A. DA. Estudo de processos convencionais de extração de óleos essenciais via revisão bibliográfica: uma base para um projeto industrial. 2021.

SILVA, N. P. DA *et al.* Improved anti-Cutibacterium acnes activity of tea tree oil-loaded chitosan-poly(ϵ -caprolactone) core-shell nanocapsules. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, 1 dez. 2020.

SILVA, V. M. DA *et al.* Nanotecnologia Aplicada ao Tratamento do Câncer. 2021.

SINCURÁ, Y. R. Ação inseticida de extratos de folhas e cascas de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). 2018.

SIYAL, F. J. *et al.* Eugenol and its liposome-based nano carrier reduce anxiety by inhibiting glyoxylase-1 expression in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2023.

SOBRAL-SOUZA, C. E. *et al.* Avaliação da atividade citotóxica e potencial antiparasitário in vitro do α -pineno e carvacrol. **Acta toxicológica argentina**, v. 22, n. 2, p. 76–81, 2014.

SOUSA, B. *et al.* Controle alternativo da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims.) com óleo essencial e hidrolato de breu branco (*Protium heptaphyllum* (Aubl.) March.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir de Polímeros Pré-formados - Parte II. **Polimeros**, v. 22, n. 1, p. 101–106, 2012.

SOUZA, L. DE L. Óleo de lavanda e seus benefícios para inflamação. 2024.

SOUZA MOURA, M. T. DE; MONTEIRO, J. R.; PONTES FILHO, R. P. BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA SOB OS IMPACTOS DA LOGOSPIRATARIA. **Revista Digital Constituição e Garantia de Direitos**, v. 16, n. 1, 2023.

SOUZA, Z. C. DE *et al.* Ameliorating the antiparasitic activity of the multifaceted drug ivermectin through a polymer nanocapsule formulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 639, 25 maio 2023.

SPANEVERELLO, R. M.; PATIAS, T. Z. AGRO NEGÓCIOS: Cadeias Produtivas, Desenvolvimento & Sustentabilidade. 2023.

SPAREMBERGER, R. M. *et al.* Análise físico-química de nanocápsulas contendo óleo de semente de uva em diferentes concentrações. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, v. 14, n. 1, p. 123–130, 2013.

SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, V. K. Biological action of essential oils (terpenes). **International Journal of Biological and Medical Research**, v. 10, n. 3, p. 6854–6859, 2019.

TAYLOR, S. *et al.* Liquid-core polymer nanocapsules prepared using flash nanoprecipitation. **Heliyon**, v. 10, n. 4, p. e25869, fev. 2024.

TEIXEIRA-SANTOS, R. *et al.* Antimicrobial and anti-adhesive properties of carbon nanotube-based surfaces for medical applications: A systematic review. **Iscience**, v. 24, n. 1, p. 102001, 2021.

TIAN, F. *et al.* p-Cymene and its derivatives exhibit antiaflatoxigenic activities against *Aspergillus flavus* through multiple modes of action. **Applied Biological Chemistry**, v. 61, n. 5, p. 489–497, 1 out. 2018.

TIBURCIO, B. V. *et al.* Encapsulation of orange oil by colloidal carriers based on PCL/Pluronic F68 nanoparticles for controlled delivery. **Polymer Bulletin**, v. 81, n. 4, p. 2889–2913, 1 fev. 2024.

TIWARI, S.; TALREJA, M. S. A concept of nanotechnology in cosmetics: a complete overview. **Adalya J**, v. 9, n. 11, p. 14–23, 2020.

TONET, M. D.; LEONEL, A. A. Nanociência e Nanotecnologia: uma revisão bibliográfica acerca das contribuições e desafios para o ensino de Física. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 36, n. 2, p. 431–456, 2019.

TRUCILLO, P.; CAMPARDELLI, R.; REVERCHON, E. Liposomes: From bangham to supercritical fluids. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1022, 2020.

UCHÔA, B. C. *et al.* Desenvolvimento e avaliação do controle de qualidade de um creme de uso tópico contendo o óleo essencial de Breu Branco (*Protium heptaphyllum*). **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 5, p. e4071, 2 maio 2024.

USON, L. *et al.* Nanoengineering palladium plasmonic nanosheets inside polymer nanospheres for photothermal therapy and targeted drug delivery. **Advanced Functional Materials**, v. 32, n. 9, p. 2106932, 2022.

VAUTHIER, C.; BOUCHEMAL, K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. **Pharmaceutical research**, v. 26, p. 1025–1058, 2009.

VEGA-VÁSQUEZ, P.; MOSIER, N. S.; IRUDAYARAJ, J. Nanoscale drug delivery systems: from medicine to agriculture. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 79, 2020.

VIEGAS, C. *et al.* **Solid Lipid Nanoparticles vs. Nanostructured Lipid Carriers: A Comparative Review** **Pharmaceutics** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jun. 2023.

VIEIRA ANTUNES, A. S. **Plantas e Produtos Vegetais com ação no Aparelho Respiratório**. [s.l.] Universidade de Lisboa, 2019.

VIEIRA, R. *et al.* Sucupira oil-loaded nanostructured lipid carriers (NLC): Lipid screening, factorial design, release profile, and cytotoxicity. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 685, 2020.

VOSTINARU, O.; HEGHES, S. C.; FILIP, L. Safety profile of essential oils. **Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications**, p. 1–13, 2020.

WATT, E.; ANDRIESCU, I.; HO, E. A. Pneumolysin-responsive liposomal platform for selective treatment of *Streptococcus pneumoniae*. **Drug Delivery and Translational Research**, 16 set. 2024.

WATTANASATCHA, A.; RENGPIPAT, S.; WANICHWECHARUNGRUANG, S. Thymol nanospheres as an effective anti-bacterial agent. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 434, n. 1, p. 360–365, 2012.

WU, K. *et al.* **Recent progress of microfluidic chips in immunoassay** **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology** Frontiers Media S.A., , 23 dez. 2022.

XAVIER-JUNIOR, F. H. *et al.* Experimental design approach applied to the development of chitosan coated poly (isobutylcyanoacrylate) nanocapsules encapsulating copaiba oil. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 536, p. 251–258, 2018.

YANG, M.-Y. *et al.* Carrier-free nanodrug: A novel strategy of cancer diagnosis and synergistic therapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 570, p. 118663, 2019.

YINGNGAM, B. *et al.* Optimization of menthol-loaded nanocapsules for skin application using the response surface methodology. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 53, p. 101138, 2019.

YOUN, B. *et al.* Antimicrobial and hand hygiene effects of Tea Tree Essential Oil disinfectant: A randomised control trial. **International Journal of Clinical Practice**, v. 75, n. 8, p. e14206, 2021.

ZENG, Q. *et al.* Micro/nano technologies for high-density retinal implant. **Micromachines**, v. 10, n. 6, p. 419, 2019.

ZHANG, B. *et al.* Encapsulation of Co/Co₃O₄ hetero-nanoparticles within the inner tips of N-doped carbon nanotubes: Engineering Mott-Schottky nanoreactors for efficient bifunctional oxygen

electrocalysis toward flexible zinc-air batteries. **Chemical Engineering Journal**, v. 448, p. 137709, 2022.

ZHANG, H. *et al.* Nano-size porous carbon spheres as a high-capacity anode with high initial coulombic efficiency for potassium-ion batteries. **Nanoscale horizons**, v. 5, n. 5, p. 895–903, 2020.

ZHAO, H. *et al.* Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, p. 113559, 2022.

ZHOU, H. *et al.* Magnetically driven micro and nanorobots. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 8, p. 4999–5041, 2021.

ZOGHBI, M. DAS G. B. *et al.* The essential oils of five species of Protium growing in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 8, n. 3, p. 312–317, 2005.

