

Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)  
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais  
(PPGCEM)

**Desenvolvimento de Nanopartículas de Sílica Mesoporosas com  
Composto Natural ou Sintético: Uma Estratégia para o Controle de  
Infecções Microbianas**

**GRAZIELLE APARECIDA DOS SANTOS**

Itajubá  
2026

**GRAZIELLE APARECIDA DOS SANTOS**

**Desenvolvimento de Nanopartículas de Sílica Mesoporosas com  
Composto Natural ou Sintético: Uma Estratégia para o Controle de  
Infecções Microbianas**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências e Engenharia de Materiais.

**Linha de pesquisa:** Biomateriais

**Orientadora:** Dr.<sup>a</sup> Daniela Sachs

**Coorientador:** Dr. Daniel Cristian  
Ferreira Soares

Itajubá

2026

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela força, bênçãos e por ter me sustentado em cada etapa desta jornada.

À minha família, pelo amor, apoio e compreensão diante das minhas ausências. Tudo é por vocês, meus maiores exemplos de perseverança e cuidado, que, mesmo nas dificuldades, nunca deixaram de me apoiar e de me incentivar a seguir o meu caminho.

À minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Daniela Sachs, pelo conhecimento compartilhado, pela atenção, suporte e carinho diários, que foram fundamentais para a execução deste trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Daniel Cristian Ferreira Soares, pelos ensinamentos, dedicação e disponibilidade, auxiliando-me a enfrentar os desafios impostos pela distância de seu laboratório e equipamentos.

Aos membros da banca, Dr.<sup>a</sup> Mirian de Lourdes Noronha Motta Melo e Dr.<sup>a</sup> Larissa Mayra Silva Ribeiro, pela disponibilidade em avaliar este trabalho e agregar contribuições valiosas para o seu aprimoramento.

Agradeço às amigas do LAMICRO, Paula, Maria Eduarda e Tainara, pelo suporte, incentivo e companheirismo, além da ajuda prática que tanto colaborou para o desenvolvimento desta pesquisa. Gratidão especial à Tainara, que não me deixou desistir dos meus sonhos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais e à Universidade Federal de Itajubá, os quais agradeço pela oportunidade de formação, pela estrutura e pelo ambiente de aprendizado.

Por fim, agradeço à FAPEMIG pela concessão da bolsa, que possibilitou minha dedicação exclusiva ao desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

Diante dos crescentes desafios clínicos associados à resistência antimicrobiana e à formação de biofilmes, torna-se urgente o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Nesse contexto, a incorporação de fármacos sintéticos e fitocompostos em nanopartículas de sílica mesoporosas surge como uma alternativa para superar limitações físico-químicas dessas moléculas, uma vez que esses nanomateriais apresentam propriedades estruturais únicas que favorecem seu uso como carreadores de moléculas bioativas. Assim, o presente estudo teve como objetivo preparar e avaliar diferentes nanosistemas de nanopartículas de sílica mesoporosa do tipo SBA16, incorporando o (*E,E*)-Farnesol (SBA16-APTES-FAR) ou a Ciprofloxacina (SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO). As nanopartículas obtidas foram caracterizadas por técnicas físico-químicas e morfológicas, que confirmaram a formação da estrutura mesoporosa. A atividade antimicrobiana foi investigada por ensaios de microdiluição e por testes de inibição da formação de biofilmes. Os resultados evidenciaram diferenças no desempenho dos nanosistemas em função da molécula carreada, com maior atividade associada aos sistemas contendo Ciprofloxacina. O sistema SBA16-APTES-FAR não apresentou superioridade em relação ao terpeno livre. Em contrapartida, os sistemas SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO promoveram redução da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e exibiram efeito antibiofilme mais expressivo quando comparados ao antibiótico livre, evidenciando seu potencial como plataformas promissoras de *drug delivery* para o tratamento de infecções associadas à formação de biofilmes.

Palavras-chave: Ciprofloxacina, Farnesol, nanopartículas de sílica mesoporosas, atividade antibiofilme.

## ABSTRACT

In light of the growing clinical challenges posed by antimicrobial resistance and biofilm formation, the development of novel therapeutic strategies has become imperative. In this context, the incorporation of synthetic drugs and phytocompounds into mesoporous silica nanoparticles emerges as a promising approach to overcome the physicochemical limitations of these molecules, as such nanomaterials exhibit unique structural features that support their application as carriers for bioactive compounds. Accordingly, this study aimed to prepare and evaluate different nanosystems based on SBA16-type mesoporous silica nanoparticles loaded with either (*E,E*)-farnesol (SBA16-APTES-FAR) or ciprofloxacin (SBA16-CIPRO and SBA16-APTES-CIPRO). The obtained nanoparticles were characterized using physicochemical and morphological techniques, which confirmed the formation of the mesoporous structure. Antimicrobial activity was assessed through microdilution assays, as well as biofilm formation inhibition tests. The results revealed differences in nanosystem performance depending on the loaded molecule, with higher activity associated with ciprofloxacin-containing systems. The SBA16-APTES-FAR system did not demonstrate superior performance compared to the free terpene. In contrast, SBA16-CIPRO and SBA16-APTES-CIPRO systems promoted a reduction in the minimum inhibitory concentration (MIC) and exhibited a more pronounced antibiofilm effect when compared to the free antibiotic, highlighting their potential as promising drug delivery platforms for the treatment of biofilm-associated infections.

Keywords: Ciprofloxacin, Farnesol, mesoporous silica nanoparticles, antibiofilm activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas.....	17
Figura 2 - Parede celular fúngica .....	18
Figura 3 - Prevalência de microrganismos resistentes em uma população .....	20
Figura 4 - Formação de biofilme microbiano .....	23
Figura 5 - Possíveis mecanismos de ação dos óleos essenciais .....	28
Figura 6 - Estrutura molecular dos estereoisômeros do Farnesol .....	29
Figura 7 - Vantagens dos sistemas de entrega de fármacos .....	33
Figura 8 - Estrutura das nanopartículas SBA16 .....	36
Figura 9 - Singularidades das MSNs .....	36
Figura 10 - Esquema de funcionalização de superfície de MSNs .....	37
Figura 11 - Fluxograma de síntese de MSNs do tipo SBA16 .....	43
Figura 12 - Fluxograma da funcionalização das SBA16 com APTES .....	44
Figura 13 - Esquema da placa no teste de CMI .....	48
Figura 14 - Esquema da placa no teste de CMB/CFM .....	49
Figura 15 - Esquema da placa 24 poços .....	49
Figura 16 - Procedimento de diluição seriada e gota escorrida no ensaio de formação de biofilme microbiano .....	51
Figura 17- Cromatograma do ( <i>E,E</i> )-Farnesol.....	52
Figura 18 - Cromatograma espectral 3D da amostra <b>(A)</b> ( <i>E,E</i> )-Farnesol e <b>(B)</b> branco (ACT).....	53
Figura 19 - Cromatograma da Ciprofloxacina.....	55
Figura 20 - SBA16.....	56
Figura 21 - Bureta automática utilizada na síntese do SBA16 .....	57
Figura 22 - SBA16-APTES-FAR.....	59
Figura 23 - Distribuição de tamanho de partícula de <b>(A)</b> SBA16 e <b>(B)</b> SBA16-APTES .....	61
Figura 24 - Análise de adsorção pelo método BET das amostras de SBA16 e SBA16-APTES .....	64
Figura 25 - Espectros de FTIR de amostras de SBA16 e SBA16-APTES .....	65
Figura 26 – Microscopia Eletrônica de Transmissão de SBA16 em diferentes ampliações .....	66
Figura 27 – Microscopia Eletrônica de Varredura de SBA16 .....	67
Figura 28 - Conversão da resazurina em resorufina .....	68
Figura 29 - Micrografias do biofilme formado por <i>S. aureus</i> ATCC 25923, HU25 e SM090, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 5.000x .....	78
Figura 30 - Micrografias do biofilme formado por <i>E. coli</i> ATCC 25922 e <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 5.000x .....	79
Figura 31 - Micrografias do biofilme formado por <i>C. albicans</i> ATCC 10231, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 10.000x .....	80
Figura 32 - Micrografias do biofilme formado por <i>E. coli</i> ATCC 25922, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, Ciprofloxacina, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO, com ampliação de 10.000x.....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições de estudo para curva de calibração .....	42
Tabela 2 - CMI do Farnesol livre .....	69
Tabela 3 - CMI da Ciprofloxacina livre e incorporada.....	72
Tabela 4 - CMB da Ciprofloxacina livre e incorporada .....	74

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva de calibração do ( <i>E,E</i> )-Farnesol.....	54
Gráfico 2 - Curva de calibração da Ciprofloxacina .....	55
Gráfico 3 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilmes de <i>S. aureus</i> ATCC 25923, HU25 e SM090 tratados com SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de ½ CMI durante sua formação .....	76
Gráfico 4 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilmes de <i>E. coli</i> ATCC 25922 e <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 tratados com SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de ½ CMI durante sua formação.....	78
Gráfico 5 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilme de <i>C. albicans</i> ATCC 10231 tratados com SBA16-APTES, ( <i>E,E</i> )-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de ½ CMI durante sua formação.....	80
Gráfico 6 - Quantificação de unidades formadoras de colônias nos biofilmes de <i>S. aureus</i> ATCC 25923, HU25 e <i>E. coli</i> ATCC 25922 tratados com SBA16-APTES, Ciprofloxacina, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO na concentração de ½ CMI durante sua formação .....	81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT	Acetonitrila
ANOVA	Análise de variância unidirecional
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APTES	3-aminopropil-trietoxisilano
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BET	Método Brunauer-Emmett-Teller
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BJH	Método Barrett-Joyner-Halenda
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
Covid-19	Doença por coronavírus
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPS	Matriz extracelular de polissacarídeos
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ESKAPE	Grupo de seis bactérias multirresistentes e altamente virulentas
FDA	<i>Food and Drug Administrations</i>
FDU	Série <i>Fudan University</i>
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GRAS	Geralmente considerado seguro
HCl	Ácido clorídrico
HMS	Série <i>Hollow Mesoporous Silica</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
KIT	Série <i>Korea Institute of Technology</i>
LAMICRO	Laboratório de Microbiologia
LPS	Lipopolissacarídeo
MCM	Série <i>Mobil Composition of Matter</i>
MCM-41	<i>Mobil Composition of Matter N°.41</i>
MDR	Cepas resistentes a múltiplos medicamentos

MecA	Gene bacteriano que confere resistência a antibióticos
MEP	Rota do metileritritol fosfato
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
MSN EPL-Cin	Nanopartículas de sílica mesoporosa carregada com Cinamaldeído e funcionalizadas com $\epsilon$ -poli-L-lisina
MSNs	Nanopartículas de sílica mesoporosas
MVA	Rota ácido mevalônico
OEes	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBP2a	Proteína de ligação à penicilina 2a
PDI	Índice de polidispersibilidade
pH	Potencial hidrogeniônico
Pluronic F-127	Surfactante não-iônico
Pt1110NPs	Nanopartículas de metalacido de platina incorporadas em lipossomas ativadas por laser 980 nm
PTFE	Polímero de politetrafluoretileno
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
rpm	Rotação por minuto
SBA	Série <i>Santa Barbara Amorphous</i>
SBA16	Nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16 puras
SBA16-APTES	Nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16 funcionalizadas com 3-aminopropil-trietoxisilano
SBA16-APTES-FAR	Nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16 funcionalizadas com 3-aminopropil-trietoxisilano e carregadas com ( <i>E,E</i> )-Farnesol
SBA16-APTES-CIPRO	Nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16 funcionalizadas com 3-aminopropil-trietoxisilano e carregadas com Ciprofloxacina.
SBA16-CIPRO	Nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16

	carregadas com Ciprofloxacina.
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
SDB	<i>Sabouraud Dextrose Broth</i>
<i>spp.</i>	Espécie
TEOS	Tetraetila ortossilicato
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i>
TUD	Série <i>Technische Universiteit Delft</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNIFEI	Universidade Federal de Itajubá
3D	Estrutura tridimensional

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
<b>2.1 Microrganismos e Infecções Microbianas</b> .....	16
<b>2.2 Resistência Antimicrobiana</b> .....	19
<b>2.3 Biofilmes Microbianos</b> .....	22
<b>2.4 Produtos Naturais</b> .....	25
2.4.1 Óleos Essenciais (OEs).....	26
2.4.2 Farnesol .....	29
<b>2.5 Nanotecnologia e Sistema de Entrega de Fármacos</b> .....	32
2.5.1 Nanopartículas de Sílica Mesoporosas .....	35
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	41
<b>3.1 Objetivo Geral</b> .....	41
<b>3.2 Objetivos Específicos</b> .....	41
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	42
<b>4.1 Curva de Calibração do Farnesol e Ciprofloxacina</b> .....	42
<b>4.2 Síntese das Nanopartículas SBA16-APTES e SBA16-APTES-FAR</b> .....	42
4.2.1 Síntese das Nanopartículas de Sílica Mesoporosas .....	42
4.2.2 Funcionalização com 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES).....	44
4.2.3 Incorporação e Avaliação da Taxa de Incorporação .....	44
<b>4.3 Caracterizações Físico-Químicas e Morfológicas</b> .....	45
4.3.1 Tamanho de Partícula, Índice de Polidispersibilidade e Potencial Zeta .....	45
4.3.2 Análise de Adsorção e Dessorção Gasosa (BET e BJH) .....	45
4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	45
4.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	45
4.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	46
<b>4.4 Estudo Microbiológico</b> .....	46
4.4.1 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).....	46
4.4.2 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) e Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	48
4.4.3 Influência na Formação de Biofilme .....	49
4.4.4 Análise Estatística .....	51
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	52
<b>5.1 Curva de Calibração</b> .....	52
<b>5.2 Síntese e Caracterizações Físico-químicas e Morfológicas</b> .....	55
5.2.1 Taxa de Incorporação.....	58
5.2.2 Potencial Zeta, Tamanho Médio e Índice de Polidispersibilidade (PDI) .....	60
5.2.3 Análise de Adsorção e Dessorção Gasosa (BET e BJH) .....	63

5.2.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	64
5.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	66
5.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	67
<b>5.3 Estudo Microbiológico</b> .....	<b>68</b>
5.3.1 Concentração Mínima Inibitória .....	68
5.3.1.1 CMI do Farnesol livre e incorporado.....	69
5.3.1.2 CMI da Ciprofloxacina livre e incorporada.....	71
5.3.2 Concentração Mínima Bactericida e Concentração Fungicida Mínima .....	74
5.3.2.1 CMB/CFM do Farnesol livre e incorporado .....	74
5.3.2.2 CMB da Ciprofloxacina livre e incorporada .....	74
5.3.3 Influência na Formação de Biofilme .....	75
5.3.3.1 Atividade antibiofilme do Farnesol livre e incorporado .....	75
5.3.3.2 Atividade antibiofilme da Ciprofloxacina livre e incorporada.....	81
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>85</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>86</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana emergiu como um dos maiores desafios para a saúde global, representando uma ameaça significativa ao tratamento eficaz de infecções (Li *et al.*, 2023; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024; Aparício-Blanco *et al.*, 2024). O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos tem intensificado esse problema, ao exercer pressão seletiva e favorecer a prevalência de cepas portadoras de genes de resistência (Otri *et al.*, 2024). Como consequência, as infecções causadas por microrganismos resistentes tornam-se mais difíceis de tratar, resultando em taxas elevadas de letalidade e morbidade, além de custos mais altos para os sistemas de saúde (Ribeiro *et al.*, 2024).

Nos Estados Unidos, estima-se que infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) resultem em aproximadamente 10.600 mortes anuais e gerem custos superiores a US\$ 1,7 bilhão (CDC, 2019; Miller; Arias, 2024). A situação se agrava devido à capacidade dos microrganismos de formarem biofilmes, estruturas que proporcionam proteção contra agentes antimicrobianos e os mecanismos imunológicos do hospedeiro, resultando em infecções persistentes e recorrentes (Ribeiro *et al.*, 2024; Lange *et al.*, 2024). Dentre os microrganismos frequentemente associados às infecções por biofilme, destacam-se bactérias como *S. aureus* e *Escherichia coli*, além de fungos como *Candida albicans* (Balaure *et al.*, 2017; Chow; Pang; Wang, 2021).

Diante deste cenário, novas pesquisas são urgentes para explorar o desenvolvimento de agentes antimicrobianos capazes de contornar os problemas clínicos inegavelmente graves da resistência antimicrobiana e formação de biofilmes (Rananaware *et al.*, 2023; Campos *et al.*, 2024). Nesta perspectiva, os óleos essenciais (OEs) surgem como candidatos potenciais na redução da disseminação da resistência, com atividade reconhecida contra inúmeros patógenos em razão de sua natureza multicomponente (Balaure *et al.*, 2017; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

Um constituinte de OE promissor é o Farnesol, um álcool sesquiterpênico que apresenta atividade antibacteriana, bem como propriedades antifúngicas, antiprotozoárias e anti-inflamatórias (Youssefi *et al.*, 2020; Lopes *et al.*, 2021). Este terpeno demonstrou eficácia antimicrobiana tanto contra células microbianas planctônicas quanto contra seus biofilmes (Tan *et al.*, 2024). Apesar dessas vantagens, a baixa retenção, a hidrofobicidade e a volatilidade limitam seu uso

prático (Costa *et al.*, 2023; Lange *et al.*, 2024). Para contornar essas desvantagens, a abordagem de incorporação em nanomateriais têm sido amplamente exploradas (Balaure *et al.*, 2017; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

A nanotecnologia também pode ser aplicada a antibióticos convencionais, favorecendo seu direcionamento ao local da infecção (Li *et al.*, 2023). Um fármaco que enfrenta problemas com falhas terapêuticas e resistência é a Ciprofloxacina, uma quinolona de segunda geração amplamente utilizada, cuja administração é dificultada pela necessidade de atravessar as barreiras das membranas bacterianas (Nwabuiife; Omolo; Thirumala, 2022; Yayehrad; Wondie; Marew, 2022). Nessa perspectiva, o uso de nanotecnologias para a entrega de substâncias bioativas pode ajudar a superar interações indesejadas, aumentar a biodisponibilidade, reduzir efeitos adversos e otimizar os efeitos dos compostos (Ivanova *et al.*, 2022; Campos *et al.*, 2024; Aparício-Blanco *et al.*, 2024).

Dentro dos diferentes dispositivos nanotecnológicos, as nanopartículas de sílica mesoporosas têm sido comumente usadas como adequados carreadores de moléculas biologicamente ativas (Manzano; Vallet-regí, 2020; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024). Esses nanomateriais são candidatos preferenciais devido às suas propriedades incomparáveis de alta área superficial, grande volume de poros ordenados, fácil funcionalização de superfície, boa biocompatibilidade e fabricação escalonável e simples (Trzeciak *et al.*, 2021; Zhong *et al.*, 2021; Otri *et al.*, 2024). Essas características permitem a incorporação e liberação de altas cargas de fármacos (Sil *et al.*, 2024; Dereje *et al.*, 2024).

Na literatura, a combinação do Farnesol com nanopartículas de sílica mesoporosas ainda não foi explorada. Alguns estudos, como os de Balaure *et al.* (2017), Zhong *et al.* (2021) e Morellá-Aucejo *et al.* (2024), investigaram o uso dessas nanopartículas com outros diferentes componentes de óleos essenciais. Enquanto que demais trabalhos associaram essa molécula com outros nanodispositivos (Ivanova *et al.*, 2022; Costa *et al.*, 2023; Lange *et al.*, 2024). A aplicação específica destas nanopartículas carregadas com Farnesol representa uma lacuna significativa, de modo que pode oferecer alternativas inovadoras no combate à resistência antimicrobiana e biofilmes.

Da mesma forma, a Ciprofloxacina já foi encapsulada em diversos nanodispositivos, apresentando aumento da atividade antibacteriana e menor toxicidade em relação à forma livre (Nwabuiife; Omolo; Thirumala, 2022; Yayehrad;

Wondie; Marew, 2022). Inclusive, Mora *et al.* (2021) carregaram esse antibiótico em nanopartículas de sílica mesoporosa, porém utilizando outras modificações de superfície e um tipo distinto de ordenação estrutural. Assim, permanece em aberto a investigação do sistema SBA16 como plataforma promissora para o carregamento de Ciprofloxacina, uma vez que sua rede tridimensional de poros interconectados proporciona volumes internos superiores, favorecendo maior incorporação e difusão controlada do fármaco (Xu *et al.*, 2023).

Assim, tendo em vista as singularidades das nanopartículas de sílica mesoporosas para aplicações biomédicas, relata-se a preparação de sistemas nanoestruturados do tipo SBA16 com diferentes princípios ativos, visando à obtenção de materiais com potencial atividade antimicrobiana e antibiofilme. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi sintetizar nanopartículas de sílica, funcionalizá-las com o grupo 3-aminopropil-trietoxissilano e carregá-las com (*E,E*)-Farnesol (SBA16-APTES-FAR) ou com Ciprofloxacina (SBA16-APTES-CIPRO e SBA16-CIPRO), além de avaliar suas eficácias terapêuticas frente a células microbianas e na inibição da formação de biofilmes de estirpes clinicamente relevantes.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Microrganismos e Infecções Microbianas

O desenvolvimento do microscópio permitiu a exploração do mundo invisível ao olho nú, desempenhando um papel fundamental para o avanço do conhecimento humano sobre os microrganismos (Wang *et al.*, 2022). Compreender esses seres é crucial, visto que estão amplamente distribuídos no planeta (Tortora, Funke e Case, 2017). Além disso, uma parcela é patogênica, resultando em altas taxas de morbidade e mortalidade e impactos econômicos significativos (Campos *et al.*, 2024; Sony; Sinha; Pandey, 2024).

Entre os microrganismos elucidados pela Ciência, destacam-se bactérias e fungos, os quais são responsáveis por 80 a 87% das infecções relacionadas à saúde humana (Lopes *et al.*, 2021). Essas infecções microbianas representam um grande desafio devido à sua persistência e à ineficácia dos tratamentos, sobrecarregando o sistema de saúde pública. Quanto a isso, estima-se que aproximadamente 14% das hospitalizações sejam decorrentes de infecções bacterianas (Campos *et al.*, 2024).

Bactérias gram-negativas, como a *Escherichia coli*, contribuem para esse problema, consistindo no principal patógeno envolvido nas infecções sistêmicas, infecções do trato urinário e doenças gastrointestinais (Campos *et al.*, 2024). Demais estirpes da família *Enterobacteriaceae*, bacilos não fastidiosos presentes no intestino de aves e mamíferos, como *Salmonella spp.*, *Proteus spp.* e *Serratia spp.*, também podem resultar em infecções oportunistas quando invadem outras regiões do corpo, principalmente de pacientes imunocomprometidos (Li *et al.*, 2023).

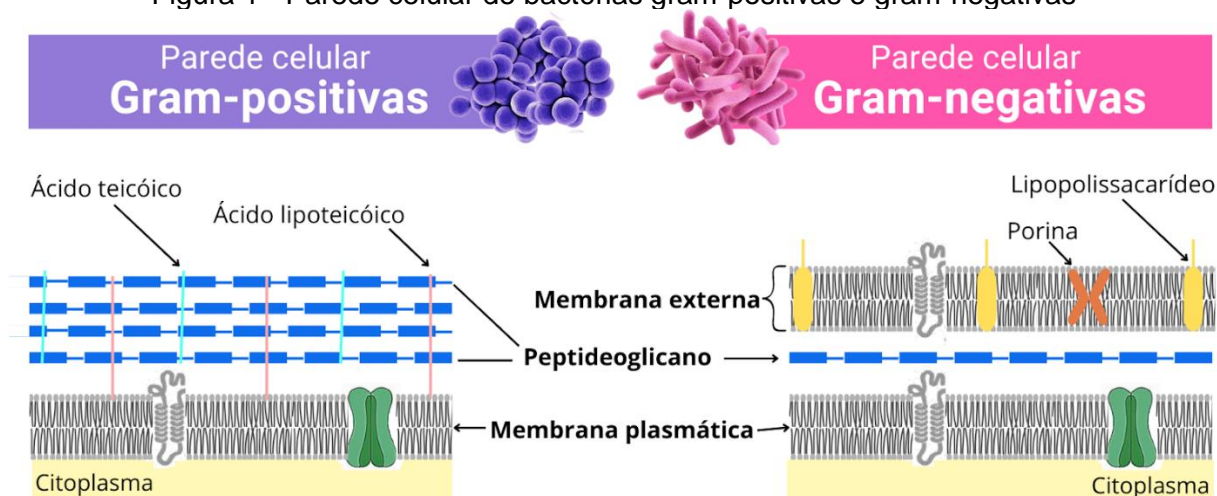
Outra bactéria patogênica, a *Staphylococcus aureus*, uma gram-positiva presente na microbiota da pele e trato respiratório superior, está frequentemente relacionada às infecções de tecidos moles e pele (Li *et al.*, 2023). Para além das infecções moderadamente graves na pele e mucosas, as infecções estafilocócicas podem levar a doenças fatais, como bacteremia, síndrome do choque tóxico e sepse. Nos Estados Unidos, dados epidemiológicos revelam cerca de 20 mil mortes anuais decorrentes de bacteremia por *S. aureus* (Wojcik-Bojek; Rozalska; Sadowska, 2022; Ivanova *et al.*, 2022).

Além disso, no ambiente hospitalar a *S. aureus* está associada frequentemente a infecções de sítio cirúrgico e biomateriais, como cateteres e próteses ósseas. Tais cocos também são os principais agentes de intoxicação alimentar (Wojcik-Bojek;

Rozalska; Sadowska, 2022). Esta espécie bacteriana produz uma gama de fatores de virulência para provocar doenças, incluindo produção de endotoxinas e fatores de evasão imune. Ademais, destaca-se que a *S. aureus* é reconhecida clinicamente devido à notória presença de cepas isoladas com genes de resistência a múltiplos antimicrobianos (Cheung; Bae; Otto, 2021).

A parede celular das bactérias gram-positivas possui uma camada mais espessa de peptidoglicano em comparação às gram-negativas (conforme mostra a Figura 1), de modo que pode consistir em uma barreira de proteção adicional (Lange *et al.*, 2024). Por outro lado, as bactérias gram-negativas são mais resistentes aos antibióticos, em razão de possuírem uma membrana externa de lipopolissacarídeo (LPS), a qual possui carga negativa e alta hidrofobicidade. Essas propriedades reduzem a sensibilidade e fornecem proteção contra vários antibióticos (Otri *et al.*, 2024; Lange *et al.*, 2024).

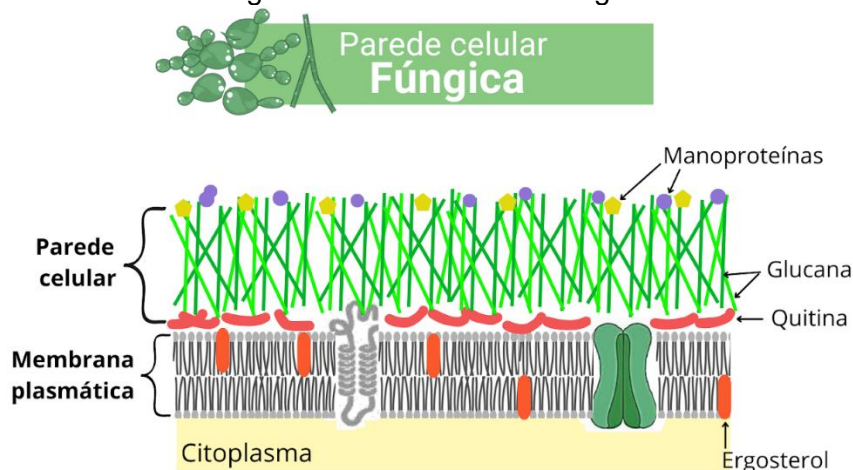
Figura 1 - Parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas



Fonte: Autoria própria.

Além das bactérias no Domínio Bacteria, os fungos (pertencentes ao Domínio Eukarya) também podem causar diversas infecções em humanos e apresentar genes de resistência aos antifúngicos disponíveis no mercado (Tortora; Funke; Case, 2017). Apesar de ambos os microrganismos possuírem parede celular, a estrutura da parede fúngica (Figura 2) difere da encontrada nas células procarióticas das bactérias, sendo constituída por substâncias como quitina e glucana, que conferem boa rigidez (Lange *et al.*, 2024).

Figura 2 - Parede celular fúngica



Fonte: Autoria própria.

Um exemplo de fungo é a levedura *Candida albicans*, comensal presente na microflora do trato gastrointestinal e geniturinário de pessoas saudáveis (Chow; Pang; Wang, 2021). Apesar de ser um membro benigno em determinadas regiões corporais, essa espécie por vezes pode cruzar a fronteira e tornar-se um grande patógeno oportunista, de modo que é responsável por infecções fúngicas em todo o mundo (Ciesluk *et al.*, 2020). Este fungo é detectado em 44,9% a 51% dos casos de candidíase e pode regularmente causar candidemia em indivíduos imunodeficientes (Zheng *et al.*, 2024).

Uma característica marcante da *C. albicans*, que permite a invasão de tecidos e evasão da imunidade, é sua capacidade de transição reversível entre duas morfologias. A saber, esse fungo diplóide e dimórfico pode sobreviver em forma de levedura unicelular ou em forma filamentosa (hifas e pseudohifas), alternando tais morfologias em resposta a estímulos ambientais, como temperatura elevada (37°C), pH 7 e privação nutricional (Chow; Pang; Wang, 2021; Zheng *et al.*, 2024).

A forma de levedura da *C. albicans* é requerida para a adesão às células endoteliais e, assim, a sua disseminação na corrente sanguínea. Já a estrutura de hifa é necessária nos estágios iniciais da infecção, para possibilitar a penetração no tecido. A morfogênese, para além do ajuste às mudanças ambientais, também pode ser regulada por diversas moléculas de detecção de quórum, tanto endógenas quanto exógenas (Chow; Pang; Wang, 2021).

Como exemplo de moléculas de *quorum sensing* produzidas pela *C. albicans*, têm-se o farnesol e o tirasol, os quais, de maneira correspondente, inibem e aceleram a transição de levedura para hifa através de genes reguladores

transcricionais negativos ou positivos. Estas moléculas são usadas como um mecanismo de comunicação entre microrganismos para o sucesso do patógeno, principalmente quando estão em comunidades. Em relação a isso, a *C. albicans* é formadora de biofilme e comumente encontrada em biofilmes mistos (Chow; Pang; Wang, 2021; Zheng *et al.*, 2024).

Diante da problemática das infecções microbianas, sem dúvidas a descoberta e o uso de antibióticos, desde sua primeira aplicação na década de 1940, foi um grande feito na medicina. Os pacientes com infecções microbianas têm sido continuamente tratados com esses agentes antimicrobianos que podem inibir (atividade bacteriostática) ou matar (efeito bactericida) os microrganismos por diferentes mecanismos de ação (Ciesluk *et al.*, 2020).

Uma classe de antibiótico essencial na assistência médica é as fluoquinolonas, as quais têm sido apontadas como agentes potencialmente eficazes no tratamento de infecções causadas por MRSA, destacando-se a ciprofloxacina como alternativa à vancomicina (Li *et al.*, 2025). A ciprofloxacina é um antibiótico de amplo espectro que inibe a replicação do DNA bacteriano ao se ligar a DNA-girase e topoisomerase IV (Nwabuike; Omolo; Thirumala, 2022).

Além de intervir na replicação do DNA, os principais alvos típicos dos antibióticos incluem interferir na síntese protéica (aminoglicosídeos), na síntese de parede celular ( $\beta$ -lactâmicos) e em vias metabólicas microbianas (como as sulfonamidas) (Aparício-Blanco *et al.*, 2024). Contudo, as bactérias e os fungos adquiriram estratégias inerentes para resistir a estes ataques direcionados. Consequentemente, a disseminação dessa resistência antimicrobiana a múltiplos medicamentos diminuiu gradativamente as opções de tratamento das infecções (Wojcik-Bojek *et al.*, 2022).

## **2.2 Resistência Antimicrobiana**

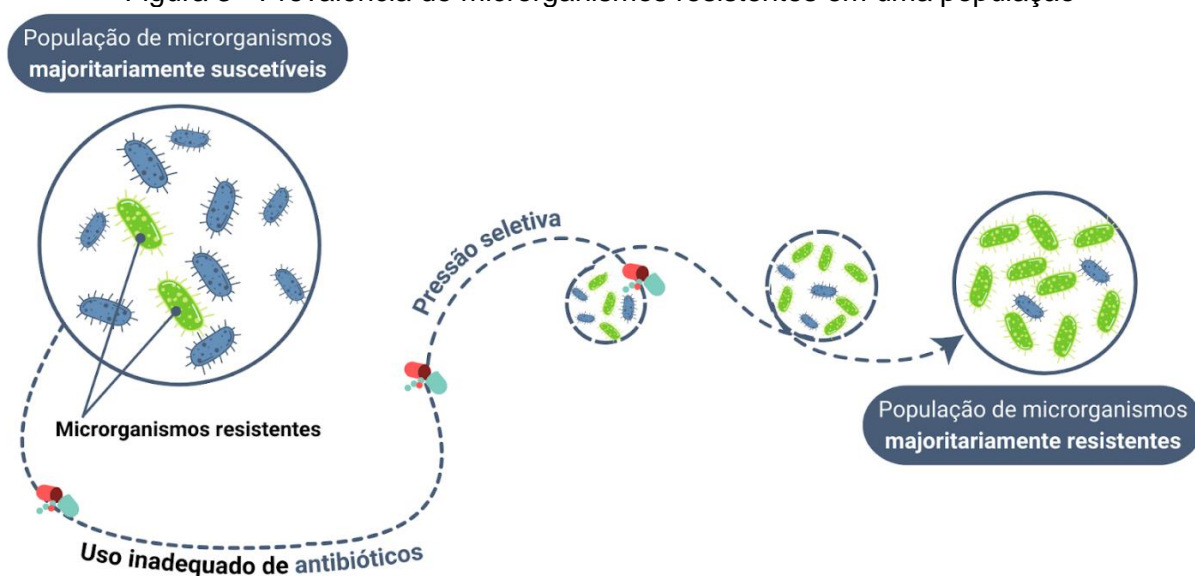
A resistência antimicrobiana ocorre quando microrganismos adquirem mecanismos para escapar do efeito dos agentes antimicrobianos destinados ao tratamento das infecções que provocam (Aparício-Blanco *et al.*, 2024). Nos últimos anos, houve um crescente aumento de bactérias e fungos patogênicos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, representando uma séria ameaça à saúde pública global (Ciesluk *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2023; Dereje *et al.*, 2024).

Em tal cenário, a resistência dos microrganismos aos antibióticos é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma pandemia iminente (Otri *et al.*, 2024). Trata-se de uma situação alarmante, em que cerca de 1,27 milhão de pessoas morreram em todo o mundo em 2019 por infecções causadas por bactérias resistentes a antimicrobianos, das quais 700 mil estavam relacionadas com infecções nosocomiais graves (Murray *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023).

Além disso, estima-se que ocorram 10 milhões de mortes todos os anos até 2050 por resistência antimicrobiana, com um custo de recursos de 100 trilhões de dólares (Murray *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023). Assim, a ausência de abordagem terapêutica resulta em internações hospitalares mais longas, taxas alarmantes de mortalidades e altos custos médicos (Li *et al.*, 2023). Com isso, atualmente combater a resistência antimicrobiana é um dos maiores e mais urgentes desafios da saúde (Morellá-Aucejo *et al.* 2024).

O uso inadequado e indiscriminado de substâncias antimicrobianas estimulou o aumento da frequência dos microrganismos resistentes no mundo, desencadeando a crise global de resistência antimicrobiana. Isso ocorre porque os compostos biocidas atuam como agentes seletivos, de maneira que exercem alta pressão seletiva no ambiente e, conseqüentemente, favorecem a seleção de cepas microbianas com genes de resistência (Figura 3) (Otri *et al.*, 2024; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

Figura 3 - Prevalência de microrganismos resistentes em uma população



Fonte: Autoria própria.

O desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos surge quase ao mesmo tempo que a resistência bacteriana a essas novas opções. Por exemplo, a Penicilina foi implementada em 1940 e, três anos depois, já se tinha bactérias resistentes a esse fármaco (Li *et al.*, 2023). No momento atual, a maioria dos antibióticos em linha comercial estão perdendo sua eficiência terapêutica. Para agravar a situação, a descoberta de novas moléculas alternativas é um processo lento e caro (Otri *et al.*, 2024).

A aquisição de genes de resistência antimicrobiana ocorre em decorrência de mutações aleatórias e recombinação de genes (Tortora; Funke; Case, 2017). Esses genes de resistência podem ser propagados através de transferência vertical durante replicação do genoma e divisão celular (isso é, descendência) ou por transferência horizontal em eventos de transformação, conjugação e transdução. A transferência horizontal de genes de resistência a antibióticos é a responsável pelo espalhamento de genes de resistência entre diferentes espécies de microorganismos (Álvarez-Martínez; Barrajón-Catalán; Micol, 2020; Li *et al.*, 2023).

A expressão gênica dessas sequências genéticas mutantes determinam o funcionamento de diferentes mecanismos responsáveis pelo impedimento da ação antibiótica. As estratégias para insensibilidade aos antibióticos variam desde diminuição da permeabilidade da membrana, bombas de efluxos e alteração do sítio-alvo até a degradação/modificação da estrutura dos fármacos. Como caso em questão, em que bactérias produzem a enzima  $\beta$ -lactamase, que cliva o anel dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (Li *et al.*, 2023; Aparício-Blanco *et al.*, 2024).

Além disso, há cepas de microorganismos que podem mobilizar distintos mecanismos de resistência de modo simultâneo contra a ação de um fármaco (Aparício-Blanco *et al.*, 2024). Assim como, ser resistentes a múltiplos medicamentos (MDR), como as espécies do grupo chamado de ESKAPE. A sigla remete às estirpes ameaçadoras de *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.* (Yu *et al.*, 2020).

Em particular, cepas resistentes de *S. aureus*, entre os quais a *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), são as mais importantes clinicamente por serem as principais causas de infecções persistentes. Todos os isolados de MRSA compartilham o gene *mecA*, que codifica a proteína PBP2a, essencial na biossíntese da parede celular. A MRSA está disseminada pelo mundo e os pacientes infectados

têm 64% mais probabilidade de morrer. Sua patogenicidade e difusão são, em grande parte, atribuídas à capacidade de formar biofilmes em superfícies (Cascioferro *et al.*, 2021; Cheung; Bae; Otto, 2021; Otri *et al.*, 2024).

Posto isto, fica evidente a necessidade de novas terapias antimicrobianas eficazes para contornar o desafio urgente da resistência antimicrobiana e biofilmes. Neste cenário, investigações direcionadas à descobertas de novos produtos antimicrobianos destacam os compostos naturais, dentre eles os óleos essenciais, como excelentes agentes alternativos (Yu *et al.*, 2020; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024). Para além disso, a integração da nanotecnologia também representa um passo fundamental no enfrentamento da resistência antimicrobiana (Campos *et al.*, 2024).

### **2.3 Biofilmes Microbianos**

Os microrganismos têm capacidade e tendência de formarem biofilmes sob superfícies abióticas e bióticas (Nowacka; Kowalewska; Kregiel, 2020). Referente a isso, aproximadamente 99% da população bacteriana no mundo existe em biofilmes, nos seus diferentes estágios de formação. Precisamente, biofilmes são microcomunidades complexas de uma ou mais espécies de microrganismos que aderem à superfície e autoproduzem uma matriz extracelular de polissacarídeos (EPS) (Rananaware *et al.*, 2023; Lange *et al.*, 2024; Ribeiro *et al.*, 2024).

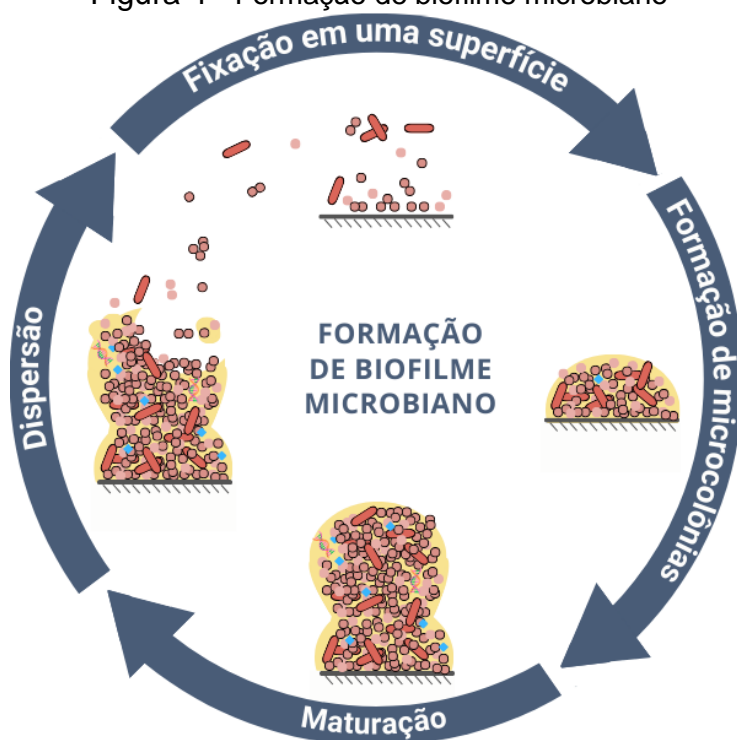
O biofilme refere-se a um problema clínico grave devido à matriz de EPS que protege as células bacterianas e/ou fúngicas no seu interior (Rananaware *et al.*, 2023). Assim, as células microbianas dentro da estrutura tridimensional do biofilme são mais resistentes aos agentes antimicrobianos e à resposta do sistema imune do hospedeiro do que a forma de vida planctônica. Inclusive, bactérias incorporadas em biofilmes requerem doses de bactericidas de 100 a 1000 vezes maiores do que as necessárias para erradicar as células livres (Cascioferro *et al.*, 2021; Aparício-Blanco *et al.*, 2024; Lange *et al.*, 2024).

A formação do biofilme compreende vários estágios sequenciais, esquematizados na Figura 4. Inicialmente, as células planctônicas microbianas entram em contato e se fixam em uma superfície, com auxílio, por exemplo, de apêndices bacterianos (como cílios e flagelos) e fragmentos de hifas e esporos fúngicos. Em seguida, ocorre a formação de microcolônias a partir da agregação

célula-célula, da multiplicação celular e do início da produção de EPS (Harding *et al.*, 2009; Sil *et al.*, 2023; Lange *et al.*, 2024).

Posteriormente, após a formação desse agregado multicamadas, ocorre a maturação do biofilme, que atinge sua máxima espessura e cobertura de EPS. Os biofilmes maduros contêm canais de água que permitem a circulação de nutrientes. Finalmente, quando o biofilme se aproxima de um nível crítico, ocorre o desprendimento e a dispersão de células e fragmentos do biofilme no ambiente para colonizar novas superfícies (Harding *et al.*, 2009; Sil *et al.*, 2023; Lange *et al.*, 2024).

Figura 4 - Formação de biofilme microbiano



Fonte: Autoria própria.

Devido à sua inerente disseminação, a formação de biofilmes provoca infecções persistentes em feridas crônicas e implantes médicos. Ademais, o estabelecimento dos biofilmes está associado a 80% das infecções fúngicas e bacterianas de tecidos vivos. Sob essas condições, a frequentemente recorrência das infecções induzidas pela presença de biofilmes são bastantes desafiadoras, o que dificulta o tratamento e prolonga o sofrimento do paciente (Lopes *et al.*, 2021; Lange *et al.*, 2024, Ribeiro *et al.*, 2024).

No interior da matriz do biofilme, as células microbianas se comunicam por meio de um processo sofisticado, denominado como *quorum sensing* (Sil *et al.*,

2023). Esse sistema de comunicação é extremamente importante para os microrganismos, visto que coordena todo seu sistema de patogenicidade. Pelo mecanismo de detecção de quórum, os microrganismos conseguem modular a secreção de fatores de virulência, desencadear a produção de biofilme e controlar a expressão gênica em resposta à densidade populacional (Yu *et al.*, 2020; Lange *et al.*, 2024).

Nos biofilmes, a transferência horizontal de genes é aumentada. O microambiente estabelecido pela matriz EPS também possibilita maior absorção de recursos, compartilhamento de nutrientes e proteção contra fatores externos. Para mais, há áreas dos biofilmes em que se encontram células persistentes, que possuem atividade metabólica reduzida e são altamente resistentes aos tradicionais antibióticos (Lange *et al.*, 2024).

Dessa forma, como os biofilmes limitam de maneira significativa a disponibilidade de agentes anti-infecciosos frente aos microrganismos, a sua entrega ao local do biofilme deve ser maximizada (Aparício-Blanco *et al.*, 2024). Na busca de novas estratégias para o tratamento antibiofilme, uma opção promissora é a utilização de agentes naturais, como as abundantes moléculas extraídas da flora (Lange *et al.*, 2024).

Por exemplo, no estudo de El-Far *et al.* (2021), foi observado que o eugenol, um componente presente essencialmente nos OEs de cravo e canela, erradicou de forma eficaz biofilmes estabelecidos por diversas cepas de MRSA. Desfecho semelhante foi revelado pela pesquisa de Lahiri *et al.* (2021), em que tanto o eugenol quanto o linalol apresentaram promissora atividade antibiofilme contra *P. aeruginosa*, reduzindo significativamente a adesão das bactérias ao vidro.

Esses resultados experimentais relatados são particularmente significativos, considerando que indivíduos do gênero *Staphylococcus spp.* e *Pseudomonas spp.* são frequentemente responsáveis pela formação de biofilmes em feridas crônicas. Tais infecções em feridas crônicas podem causar graves danos à saúde, incluindo amputações (Cavallo *et al.*, 2024). Dessa forma, buscar novas abordagens terapêuticas são necessárias para tratar infecções com biofilmes (Lange *et al.*, 2024).

## 2.4 Produtos Naturais

Na medicina, os produtos naturais têm sido extensivamente estudados como uma fonte de novos compostos bioativos (Siddiqui *et al.*, 2024). Apesar disso, grande parte da vasta diversidade da natureza ainda permanece amplamente inexplorada (Oliveira *et al.*, 2022). Essas substâncias de origem natural podem ser obtidas a partir de microrganismos, animais e plantas (Álvarez-Martínez; Barrajón-Catalán; Micol, 2020). Exemplos notáveis desses recursos naturais que apresentam atividade antimicrobiana incluem bacteriocinas, peptídeos antimicrobianos e componentes de extratos vegetais (Barros *et al.*, 2020; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024).

As plantas, em particular, fornecem uma variedade de compostos complexos, que são estruturalmente diversos e com distintos efeitos terapêuticos, de modo que podem ser empregados como agentes alternativos na preservação de alimentos e no tratamento de doenças infecciosas (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Cáceres *et al.*, 2020; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024). Esses compostos orgânicos, denominados como metabólitos secundários, desempenham funções importantes na defesa da planta contra herbívoros e patógenos, não possuindo missão direta no crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Taiz; Zeiger, 2017; Álvarez-Martínez; Barrajón-Catalán; Micol, 2020; Siddiqui *et al.*, 2024).

Ao longo dos anos, os fitoterápicos naturais foram usados como agentes antibacterianos. Nesta linha, estudos buscam avaliar todo seu potencial, até mesmo, contra cepas multirresistentes. Por exemplo, pomadas com extratos de folhas de chá têm sido avaliadas para tratar *S. aureus* MDR (Li *et al.*, 2023; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024). Outro experimento demonstrou que o óleo de *Melaleuca alternifolia* foi eficaz contra inúmeras cepas de bactérias resistentes à antibióticos (Visan; Negut, 2024).

Na área de Fisiologia Vegetal, os metabólitos secundários são divididos em três grupos quimicamente diferentes, sendo os compostos nitrogenados, fenólicos e, o maior grupo, terpenos. Os terpenos são hidrocarbonetos que derivam da união de múltiplas unidades de isopreno (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) e sua classificação é dada pelo número de unidades isoprênicas. A mistura desses isoprenóides, como monoterpenos (com dois isoprenos) e sesquiterpenos (com três isoprenos), em combinação com outras moléculas formam os OEs (Taiz; Zeiger, 2017; Siddiqui *et al.*, 2024; Visan; Negut, 2024).

### 2.4.1 Óleos Essenciais (OEs)

Óleos essenciais são misturas complexas de diversas moléculas, cujos principais componentes são os terpenos e os fenilpropanóides. Os fenilpropanóides pertencem à classe dos compostos fenólicos e possuem um anel benzênico com uma cadeia lateral de três carbonos. A combinação destes componentes é responsável pelo seu aroma único e pela sua ação biológica. Assim, cada composto contribui para o perfil químico geral destes diferentes líquidos oleosos, aromáticos e voláteis (Taiz; Zeiger, 2017; Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Siddiqui *et al.*, 2024; Visan; Negut, 2024).

Os OEs são obtidos de várias partes de materiais vegetais, como folhas, frutos, flores, raízes, caules, cascas, brotos e sementes (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Siddiqui *et al.*, 2024; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024). Esses são sintetizados no citoplasma e plastídios das células vegetais a partir de diferentes vias, incluindo a rota ácido mevalônico (MVA) e rota do metileritritol fosfato (MEP). Após sua produção, os EOs são armazenados em células epidérmicas e secretadas por tricomas glandulares, fissuras ou canais de resina (Taiz; Zeiger, 2017; Mohamed; Alotaibi, 2022).

Mais de 3.000 EOs já foram identificados, dos quais 300 possuem grande relevância comercial e são amplamente utilizados em setores como o médico, cosmético, alimentício e agrícola (Su *et al.*, 2024). Do ponto de vista econômico, o mercado global desses compostos é projetado em aproximadamente 13,94 bilhões de dólares, com uma demanda superior a 370.000 toneladas prevista até o ano de 2024 (Cadena *et al.*, 2018).

Os componentes dos OEs podem variar significativamente entre os distintos óleos. Em geral, eles contêm de 20 a 60 moléculas orgânicas com baixos pesos moleculares e presentes em pequenas quantidades. No entanto, todos os óleos essenciais são caracterizados por dois ou três constituintes predominantes, cujas concentrações variam aproximadamente de 20% a 70% (Siddiqui *et al.*, 2024; Visan; Negut, 2024). Por exemplo, no estudo de Zhao *et al.* (2023) foram identificados maiores teores de carvacrol (30,54%), 2,4-diisopropil-5-metilfenol (28,22%) e timol (17,12%) no óleo de orégano.

Já no óleo de *Pinus Sylvestris* (conhecido popularmente como pinheiro-de-casquinha), os principais compostos detectados foram  $\alpha$ -pineno (29%),  $\beta$ -pineno

(17,2%) e 3-careno (13,1%). No EO de *Ocimum Basilicum* (o manjeriço), os constituintes em maior concentração foram o estragol (73%) e o  $\beta$ -linalol (17%). O último exemplo diz respeito ao EO de gengibre (*Zingiber Officinalis Rosc*), no qual identificou-se 38 componentes, sendo o zingibereno o composto predominante (Galgano *et al.*, 2022).

Além disso, a composição química do OE pode variar entre diferentes amostras do mesmo tipo de óleo. Os fatores que influenciam nessa variação de percentual incluem a localização geográfica, níveis de umidade, temperatura, exposição à luz solar, composição do solo, estação da colheita, estágio de maturidade (como floração) e a espécie da planta. Um caso evidente dessa variação é a quantidade de carvacrol no óleo de tomilho, em que na espécie *Thymus capitatus* a concentração chega a 79,9%, enquanto na *Thymus vulgaris* é de apenas 2,9% (Gonçalves *et al.*, 2017; Pandur *et al.*, 2022; Vassiliou *et al.*, 2023; Etri; Pluhár, 2024).

São conhecidos diversos outros componentes de OE, como farnesol, geraniol, p-cimeno, limoneno, mentol citronelal, neral,  $\gamma$ -terpineno, linalol, canfeno, pulegona, nerolidol, piperitenona, tujona, carvona, mircenol, safrol e  $\beta$ -cariofileno. Essas moléculas são produzidas por uma gama diversificada de plantas aromáticas, como as popularmente nomeadas capim-limão, hortelã, louro, citronela, gerânio, cravo-da-índia, lavanda, bergamota, sálvia, laranja-doce, cardamomo, erva-cidreira e alecrim (Cáceres *et al.*, 2020; Visan; Negut, 2024; Li *et al.*, 2024; Shetta *et al.*, 2024).

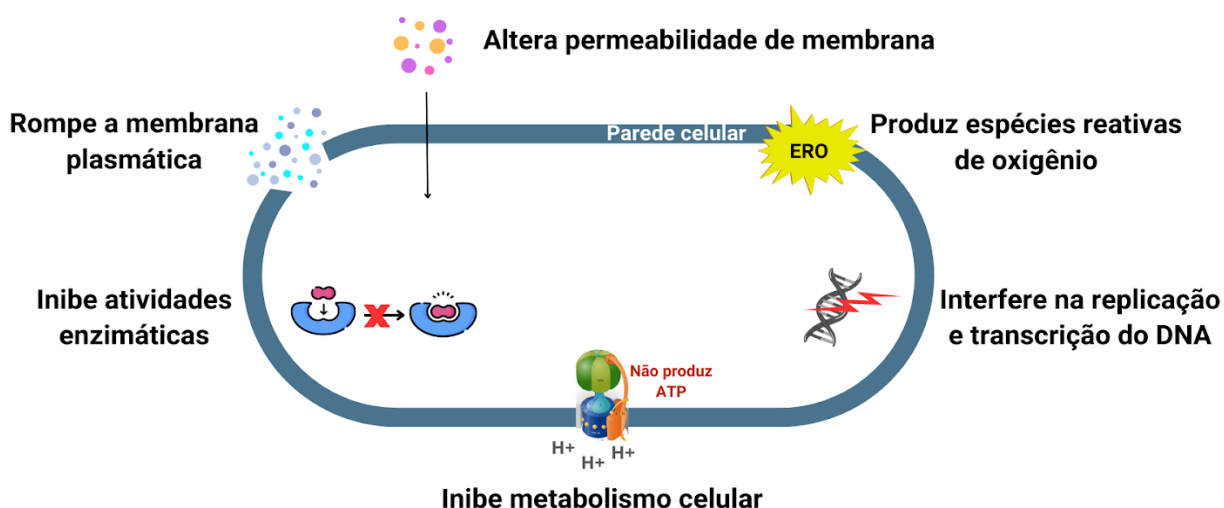
A diversidade e complexidade de compostos orgânicos nos EOs torna-os versáteis e com uma infinidade de possibilidades contra diversos patógenos (Visan; Negut, 2024). Assim, com reconhecidas propriedades inseticidas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, anticâncer e outras atividades biológicas, os EOs são considerados ferramentas potentes na preservação de alimentos e para aplicações cosméticas e farmacêuticas, em que podem ser úteis no combate à resistência bacteriana (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024; Siddiqui *et al.*, 2024).

Os EOs são promissores no combate de bactérias com genes de resistência devido a sua natureza multicomponente e multialvos. Diferentemente de outros agentes antimicrobianos, os EOs podem afetar as células microbianas de numerosas maneiras, de modo que aumenta sua eficiência no tratamento de infecções. Quando em contato com os microrganismos, esses criam uma série de reações em cascatas que, em última instância, bloqueiam processos fisiológicos

importantes do patógeno (Zhao *et al.*, 2023; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024; Visan; Negut, 2024).

É relatado que essas misturas complexas podem inibir atividades enzimáticas, romper a integridade de paredes e membranas celulares, alterar a permeabilidade e fluidez da membrana e gerar espécies reativas de oxigênio (ERO). Em adição, podem inibir o metabolismo microbiano e interferir na replicação e transcrição do material genético, inibindo a expressão gênica e a biossíntese de proteínas. Esses possíveis mecanismos de ação (ilustrados na Figura 5) resultam em efeitos bacteriostáticos e bactericidas (Barros *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024; Shetta *et al.*, 2024).

Figura 5 - Possíveis mecanismos de ação dos óleos essenciais



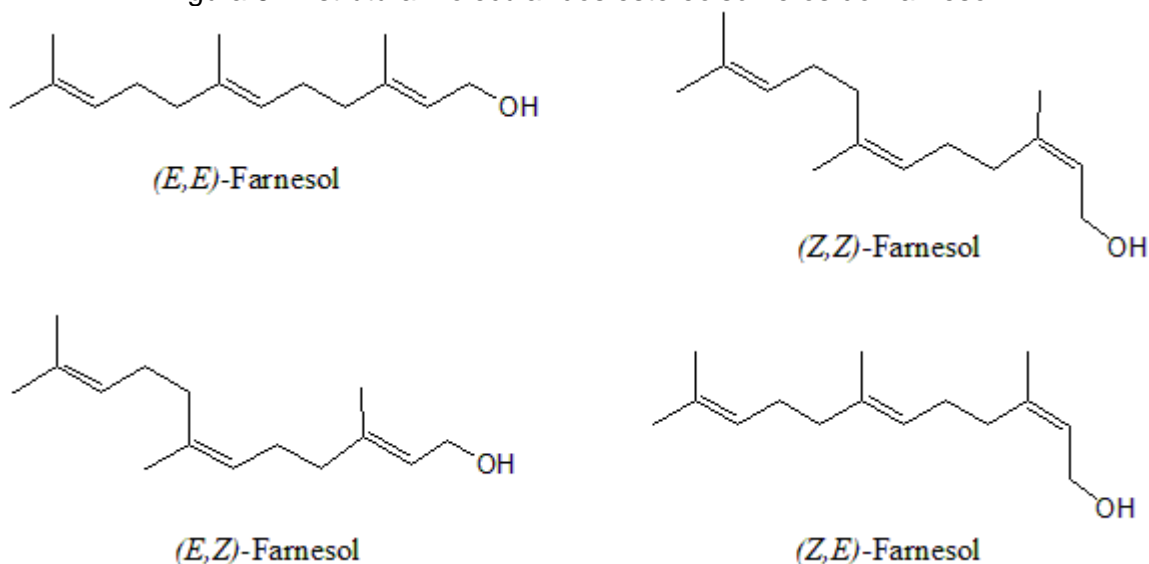
Fonte: Autoria própria.

No entanto, o uso dos EOs enfrenta várias limitações tecnológicas. A hidrofobicidade, volatilidade e rápida liberação restringem sua aplicação. Eles podem evaporar à temperatura ambiente, além de serem suscetíveis à degradação sob condições climáticas adversas, como exposição à luz e ao calor. Ademais, sua aplicação direta pode provocar reações alérgicas e toxicidade significativa. Para mitigar essas limitações, pesquisas têm focado em tecnologias como nanoencapsulação, visando melhorar a sua estabilidade, solubilidade e eficácia em formulações antimicrobianas (Yu *et al.*, 2020; Shetta *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

### 2.4.2 Farnesol

Farnesol (Fórmula molecular:  $C_{15}H_{26}O$ ; IUPAC: 3,7,11-Trimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol; Massa molar: 222,37 g/mol) é um álcool sesquiterpênico acíclico encontrado na natureza com quatro formas estereoisoméricas distintas, correspondendo ao (*E,E*)-Farnesol, (*Z,Z*)-Farnesol, (*E,Z*)-Farnesol e (*Z,E*)-Farnesol (Figura 6). Esse composto natural é constituinte de EOs de várias espécies da flora, como capim-limão, citronela, rosa e almíscar. A molécula foi isolada pela primeira vez da *Vachellia farnesiana* (a acácia-amarela), planta da qual originou seu nome (Delmondes *et al.*, 2019; Youssefi *et al.*, 2020; Lopes *et al.*, 2021; Lange *et al.*, 2024).

Figura 6 - Estrutura molecular dos estereoisômeros do Farnesol



Fonte: Autoria própria.

O Farnesol é produzido em células vegetais por desfosforilação do farnesil pirofosfato, na rota do mevalonato (Delmondes *et al.*, 2019; Lopes *et al.*, 2021; Lange *et al.*, 2024). Além de sua origem vegetal, trata-se de uma molécula *quorum-sensing* endógena produzida por *C. albicans* quando as densidades celulares são altas, conforme anteriormente citado (Chow; Pang; Wang, 2021). Esse óleo com odor doce é empregado na área cosmética, perfumaria e como agente aromatizante na indústria de alimentos (Youssefi *et al.*, 2020).

O Farnesol possui ações antiprotozoárias, antitumoral, antioxidantes, anti-inflamatórias, antifúngicas e antibacterianas (Delmondes *et al.*, 2019; Youssefi *et al.*, 2020; Lopes *et al.*, 2021). No entanto, muitos dos estudos sobre essas atividades

biológicas não especificam qual isômero do Farnesol foi utilizado. Dado que o isomerismo molecular afeta as propriedades farmacológicas das moléculas, a falta de clareza sobre o isômero em questão dificulta a avaliação do seu potencial (Lopes *et al.*, 2021).

Este composto químico possui capacidade de impedir o crescimento de patógenos clinicamente importantes (Lange *et al.*, 2024). O isômero (*E,E*)-Farnesol demonstrou atividade antibacteriana e antibiofilme contra diferentes cepas padrão de *Streptococcus spp.* e também isolado clínico de *S. aureus*, com CMI variando de 8 a 128 µg/mL (Lopes *et al.*, 2021). Em outro estudo, com cepas de *S. aureus* portadoras de genes plasmidiais codificadores de bombas de efluxo (cepas 1199B, IS-58 e RN4220), observou-se que a CMI do Farnesol (isômero não indicado) variou de 16 a 32 µg/mL (Santana *et al.*, 2023).

O Farnesol também demonstrou elevado potencial antimicrobiano contra biofilmes, incluindo os de patógenos ESKAPE. Uma concentração de 0,5 mg/mL inibiu efetivamente a formação de biofilmes de *Enterococcus faecium*, *K. pneumoniae* e *Enterobacter cloacae*. Nesta concentração, foi observada redução de mais de 20.000 mil vezes nas unidades formadoras de colônia. Além disso, biofilmes já estabelecidos foram significativamente reduzidos, reforçando seu potencial no combate a infecções associadas a biofilmes (Tan *et al.*, 2024).

No que tange a atividade fúngica, o Farnesol prejudica a formação de hifas de *C. albicans*, causando alterações morfológicas na parede celular e supressão de enzimas como a aspartil proteinase, um clássico fator de virulência em fungos patogênicos (Décanis *et al.*, 2011; Lange *et al.*, 2024). Esse álcool sesquiterpênico pode afetar o crescimento fúngico por várias vias, como a indução de ERO e apoptose, levando à disfunção e falha na síntese proteica. Sua ação multidirecional, assim como em bactérias, confere uma potente atividade antifúngica, reduzindo o risco de desenvolvimento de resistência (Zheng *et al.*, 2024).

O Farnesol também é capaz de intensificar o efeito de agentes antimicrobianos, atuando de forma sinérgica no combate de microrganismos. Foi demonstrado que o Farnesol aumentou a ação dos antibióticos ampicilina, oxacilina, cefoxitina, ciprofloxacina e bacitracina em cepas padrão de *S. aureus* e MRSA ao inibir a biossíntese da parede celular (Kuroda; Nagasaki; Ohta, 2007). De forma semelhante, Oliveira *et al.* (2022) observaram efeito sinérgico entre o Farnesol e a

gentamicina contra todos isolados clínicos e cepas conhecidas de *S. aureus* em estudo, além de potencializar o efeito de outros fármacos em algumas cepas.

Também foi notado sinergismo do Farnesol com os fármacos antifúngicos fluconazol e micafungina frente às cepas de *C. albicans* SC5314, em que o uso dessa terapia combinada também possibilitou a distorção estrutural dos biofilmes (Katragkou *et al.*, 2015). Em outro trabalho, a combinação do Farnesol com antifúngicos da classe das equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina) resultou em atividade sinérgica contra cepas isoladas de *Candida auris*, exceto para combinação com anidulafungina, cujo resultado chegou próximo ao limiar de sinergia (Nagy *et al.*, 2020).

O Farnesol tem designação de segurança da *Food and Drug Administration* (FDA, dos Estados Unidos) e da Agência Europeia de Produtos Químicos como um composto geralmente considerado seguro (“GRAS” - *Generally Recognized as Safe*). Apesar de ser considerado seguro, os danos às células e tecidos dependem da sua concentração (Lange *et al.*, 2024). No estudo com camundongos realizado por Júnior *et al.* (2023), doses de 50 e 100 mg/kg dessa substância não mostraram toxicidade às regiões nervosas estudadas, ao passo que 200 mg/kg causou lesão cerebral (em 12% da área do hipocampo) sobre 16% dos animais tratados.

Portanto, devido às limitações (como alta volatilidade, hidrofobicidade e, a depender da dose, toxicidade), a encapsulação do farnesol em nanopartículas pode ser uma solução eficaz para protegê-lo de fatores ambientais degradantes e aumentar sua absorção e bioeficácia (Costa *et al.*, 2023). Nesta linha, Ivanova *et al.* (2022) desenvolveram nanopartículas de polímero poli (éter metilvinílico/ácido maleico) com Farnesol. Essa nanoformulação mostrou-se eficaz em inibir a formação de biofilmes e reduzir biofilmes maduros de *S. aureus* ATCC 25923, além de não causar irritação cutânea em um modelo de tecido de pele 3D.

Em outra pesquisa, Costa *et al.* (2023) sintetizaram nanopartículas de quitosana com Farnesol e testaram sua eficácia contra *C. albicans* ATCC 90028 em um modelo murino de candidíase oral. As análises histológicas mostraram que as nanopartículas inibiram a presença de hifas, além de reduzir a carga fúngica e a inflamação. Na avaliação de toxicidade com larvas de *Galleria mellonella*, essas nanopartículas garantiram 100% de sobrevivência em todas as doses testadas, enquanto o Farnesol isolado reduziu a sobrevivência para 90% na dose de 710 mg/kg.

## 2.5 Nanotecnologia e Sistema de Entrega de Fármacos

A nanotecnologia é uma ciência inovadora que manipula materiais e sistemas em escala nanométrica, com amplas aplicações nas ciências da vida (Yayehrad; Wondie; Marew, 2022). Como campo interdisciplinar, está no cerne de diversas áreas do conhecimento, incluindo física, química, biologia, engenharia, eletrônica e ciência dos materiais. As estruturas em nanoescala estudadas pela nanotecnologia são conhecidas como nanopartículas, cujas medidas variam de 1 a 100 nm em todas as suas três dimensões (Tewabe *et al.*, 2021; Afzal *et al.*, 2022; Lange *et al.*, 2024).

Em razão de seu tamanho submicroscópico, as nanopartículas possuem propriedades materiais diferentes daqueles objetos macroscópicos. Desse modo, essas podem ser implementadas em uma gama de práticas, como cobertura de alimentos e dispositivos hospitalares, descontaminação ambiental e uso biomédico (Yayehrad; Wondie; Marew, 2022; Afzal *et al.*, 2022; Lange *et al.*, 2024). Na área biomédica, podem ser empregadas no diagnóstico de doenças, em técnicas de imagem e no desenvolvimento de tratamentos de doenças, com destaque na administração de fármacos (Tewabe *et al.*, 2021; Afzal *et al.*, 2022).

Nas últimas décadas, o uso de nanopartículas como sistema de entrega de fármacos atraiu a atenção de pesquisadores em todo o mundo, devido às suas amplas vantagens (evidenciadas na Figura 7). Esses sistemas podem ser usados no tratamento de inúmeras patologias, como câncer e doenças cerebrais, infecciosas e cardiovasculares (Afzal *et al.*, 2022). Em suma, o principal objetivo é dos sistemas é aumentar a eficácia terapêutica dos agentes ativos enquanto reduz seus efeitos colaterais (Tewabe *et al.*, 2021).

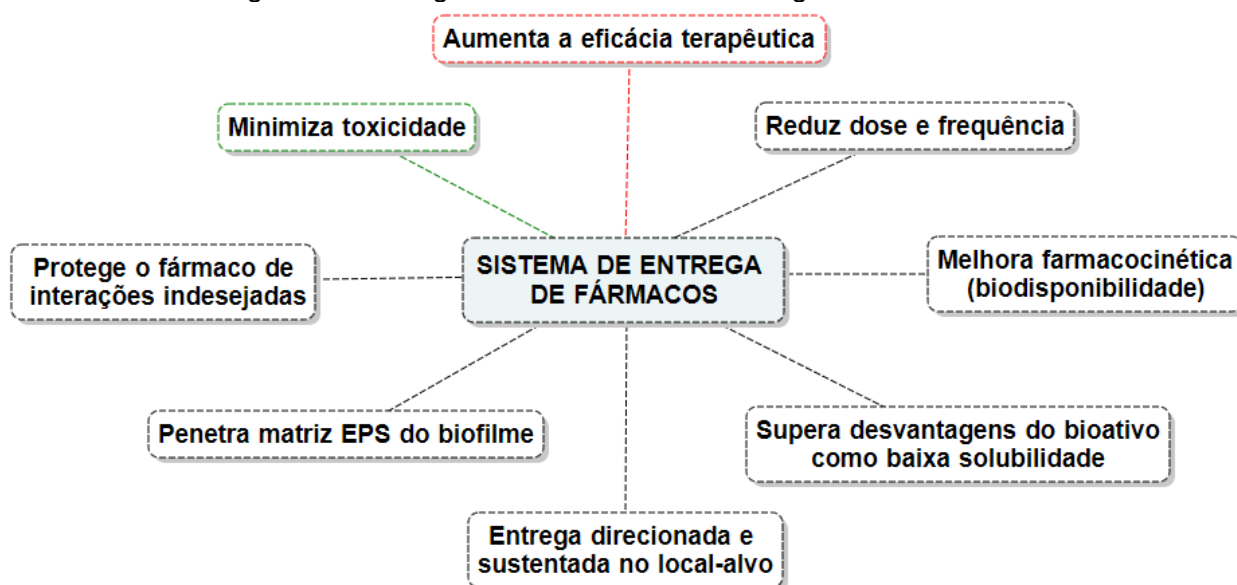
Os carreadores de fármacos realizam a entrega direcionada e sustentada no local-alvo, resultando em melhorias nos índices terapêuticos em comparação às administrações convencionais (Ivanova *et al.*, 2022; Campos *et al.*, 2024; Aparício-Blanco *et al.*, 2024). Além disso, os sistemas “*drug delivery*” aperfeiçoam a farmacodinâmica e farmacocinética dos compostos bioativos encapsulados, aprimorando a biodisponibilidade e prolongando o tempo de circulação no corpo (Tewabe *et al.*, 2021; Ivanova *et al.*, 2022; Aparício-Blanco *et al.*, 2024).

A incorporação de moléculas bioativas em nanopartículas também ajuda na superação das suas desvantagens, como baixa solubilidade e estabilidade físico-química (Ivanova *et al.*, 2022; Campos *et al.*, 2024). Somado a isso, o

direcionamento dos medicamentos resulta em doses e frequência reduzida, o que minimiza a toxicidade sistêmica (Campos *et al.*, 2024; Aparício-Blanco *et al.*, 2024) e também culmina na melhor adesão do paciente (Tewabe *et al.*, 2021).

No âmbito do tratamento de infecções microbianas, a entrega de fármacos possibilita maior eficiência antimicrobiana e permite que antibióticos hidrofóbicos permaneçam por mais tempo na circulação (Sil *et al.*, 2024). Outra vantagem é que as nanoformulações também apresentam maior capacidade de penetrar o EPS dos biofilmes, o que requer menores concentrações para atingir diretamente aquelas células microbianas internas (Ivanova *et al.*, 2022).

Figura 7 - Vantagens dos sistemas de entrega de fármacos



Fonte: Autoria própria.

Uma estratégia eficaz para potencializar ainda mais o desempenho das nanopartículas é a funcionalização de sua superfície com moléculas específicas, o que permite direcioná-las com precisão aos focos infecciosos (Otri *et al.*, 2024). Quanto a isso, a adição de determinadas substâncias aumenta a especificidade ao local desejado, visto que o nanodispositivo pode liberar sua carga sob comando de determinados estímulos, como pH, temperatura, enzima e compostos secretados por bactérias (Nowacka; Kowalewska; Kregiel, 2020; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

A fim de alcançar tantos benefícios, é ideal que o carreador seja atóxico, biocompatível, estável, de fácil eliminação do corpo e possuir uma preparação razoavelmente simples e econômica (Tewabe *et al.*, 2021). Atualmente, existem uma

ampla variedade de nanoplateformas, que podem ter aspectos diferentes, tal qual tamanho, formato e natureza orgânica ou inorgânica (Morellá-Aucejo *et al.*, 2024).

Dentre as nanopartículas usadas como transportadoras de fármacos, têm-se as micelas, lipossomas, niossomas, nanoemulsões, hidrogéis, ciclodextrinas, microesferas, poli (D,L-lactídeo-co-glicolídeo), dendrímeros, nanotubos de carbono, alumina, pontos quânticos e nanopartículas de ouro, prata e sílica. Para mais, há inúmeros outros sistemas transportadores baseados em peptídeos, metais e polímeros naturais ou sintéticos (Tewabe *et al.*, 2021; Afzal *et al.*, 2022; Campos *et al.*, 2024; Aparício-Blanco *et al.*, 2024).

Para exemplificar pesquisas com nanocarreadores potencialmente antibacterianos, o estudo de Marei *et al.* (2019) indicou que nanopartículas à base de quitosana carregadas com Ciprofloxacina reduziram significativamente a CMI em 85,6% em comparação ao fármaco livre contra *E. coli* e cepas de MRSA. Segundo os autores, esses resultados indicam uma administração aprimorada, liberação controlada e uma maior penetração do fármaco.

Outro estudo interessante utilizou nanopartículas de metalociclo de platina incorporadas em lipossomas e ativadas por laser de 980 nm (denominadas Pt1110NPs) para promover a cicatrização de feridas infectadas. Os experimentos foram conduzidos em modelos de feridas infectadas e ceratite em camundongos. Observou-se que o tratamento combinado de Pt1110NPs e laser foi eficaz na cicatrização e na redução da infecção bacteriana nas feridas. No modelo de córnea infectada, também houve uma redução significativa do biofilme (Xu *et al.*, 2023).

Diante disso, fica evidente que a nanotecnologia é a versão avançada do postulado de “bala mágica” de Paul Ehrlich, visto que remonta o conceito de atingir seletivamente um patógeno sem causar efeitos prejudiciais ao organismo hospedeiro. Embora promissora, implementar essa “bala mágica” enfrenta desafios, essencialmente na prática clínica. Isso decorre principalmente da dificuldade de encontrar o alvo correto para cada doença específica, questões de escalabilidade e exigências regulatórias de controle de qualidade (Tewabe *et al.*, 2021; Afzal *et al.*, 2022).

Outra grande barreira para a translocação clínica de nanoformulações consiste em obter nanoplateformas que encapsule de modo suficiente as moléculas bioativas e garanta sua entrega controlada. São poucas nanoformulações que superaram todas essas barreiras e estão disponíveis para aplicações clínicas. Por exemplo, no

mercado existe o Doxil (lipossoma PEGuilado com doxorubicina) e Abraxane (paclitazael ligado à albumina) para tratar determinados cânceres (Tang; Li; Chen, 2012; Xu *et al.*, 2023).

### 2.5.1 Nanopartículas de Sílica Mesoporosas

As nanopartículas de sílica mesoporosas (MSNs, sigla do inglês *Mesoporous Silica Nanoparticles*) são nanoestruturas porosas, com tamanho de poro variando de 2 a 50 nm, composta por dióxido de silício (SiO<sub>2</sub>), material abundante na crosta terrestre (Dereje *et al.*, 2024). O primeiro material mesoporoso foi sintetizado em 1992 por cientistas da Mobil Research and Development Corporation e foi denominado como Mobil Composition of Matter N°. 41 (MCM-41) (Trzeciak *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2023).

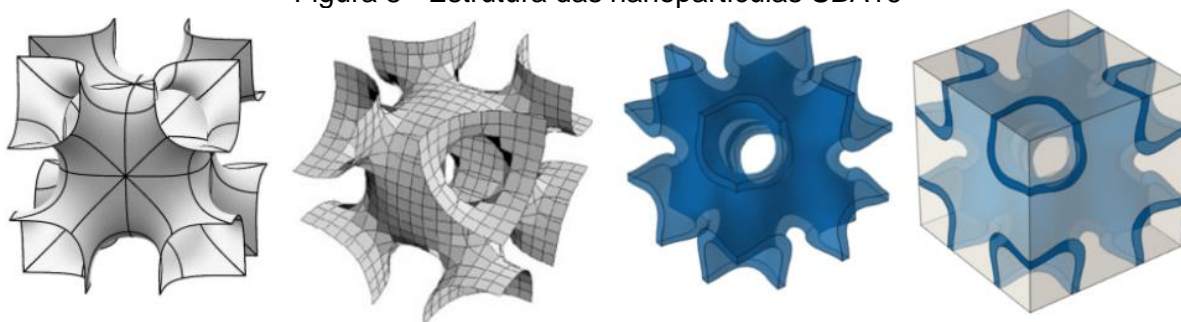
As MSNs são utilizadas nas indústrias e em muitos campos da Ciência, em especial em pesquisas focadas na sua aplicação como sistema de administração de fármacos (Trzeciak *et al.*, 2021). A sua primeira aplicação farmacológica remonta a 2001, quando o grupo de estudo de Vallet-Regi usou da sílica MCM-41 como nanoplataforma de liberação do ibuprofeno, uma molécula anti-inflamatória. A partir deste trabalho seminal, testemunhou-se uma produção exponencial de outros tipos de sílica mesoporosas carregadas com vários agentes biocidas (Tang; Li; Chen, 2012; Sil *et al.*, 2024).

Inclusive, durante a pandemia de Covid-19, a versatilidade das MSNs foi explorada na encapsulação de niclosamida, um fármaco antiviral com baixa solubilidade. Piao *et al.* (2021) demonstraram que o uso de diferentes tipos de sílica mesoporosa, como MCM-41 e SBA-15, melhorou significativamente a liberação e a biodisponibilidade da niclosamida. Os resultados reforçam a relevância das MSNs como sistemas promissores para o desenvolvimento de terapias antivirais eficazes no enfrentamento de doenças emergentes.

Em linhas gerais, as MSNs podem ser divididas em sistemas, como a série *Fudan University* (FDU), *Korea Institute of Technology* (KIT), *Mobil Composition of Matter* (MCM), *Technische Universiteit Delft* (TUD), família M41S, sistema COK, sistema *Hollow Mesoporous Sílica* (HMS) e a família *Santa Barbara Amorphous* (SBA). A família SBA foi relatada por cientistas em 1998 na Universidade da Califórnia, em Santa Bárbara (Xu *et al.*, 2023; Su *et al.*, 2024).

A família SBA é composta por muitos nanomateriais, incluindo SBA-1, SBA-2, SBA-3, SBA-6, SBA-7, SBA-8, SBA-11, SBA-12, SBA-14, SBA-15 e SBA-16, com estruturas distintas a partir do seu método de síntese. As MSNs do tipo SBA-16 podem ser obtidas em condições ácidas usando tetraetoxisilano (TEOS) como fonte de sílica e o copolímero tribloco Pluronic F127 como agente direcionador de estrutura. Esse processo resulta em estrutura cúbica de corpo centrado, com mesoporos em arranjo cúbico 3D com grupo espacial  $Im\bar{3}m$ , conforme Figura 8 (Xu *et al.*, 2023).

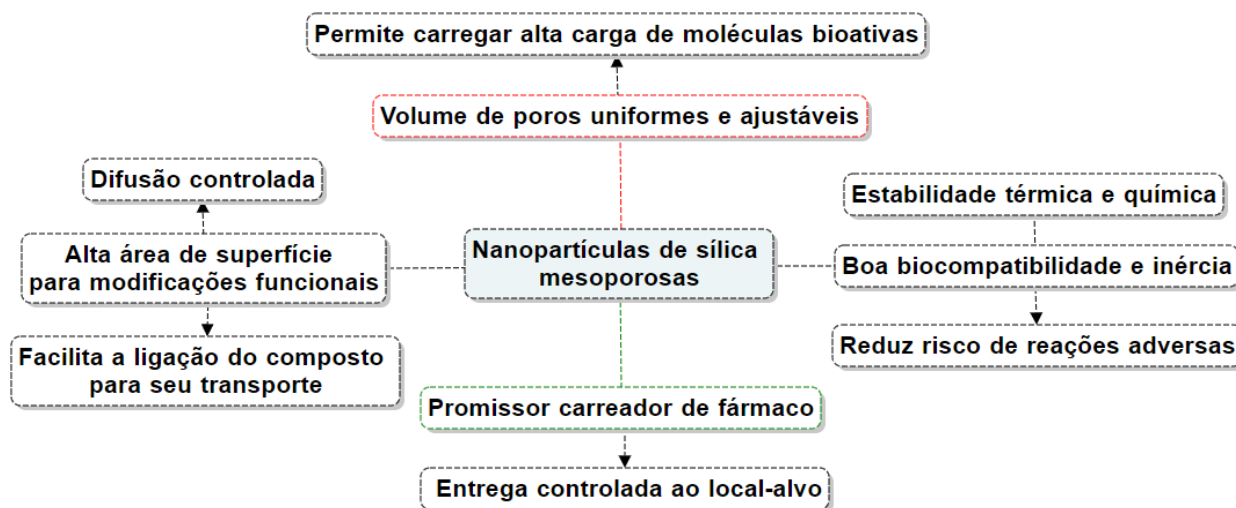
Figura 8 - Estrutura das nanopartículas SBA16



Fonte: Adaptado de Gobin (2006); Sakamoto *et al.* (2000) e Singh *et al.* (2023).

Esses nanomateriais mostram-se promissores no campo biomédico devido à sua versatilidade e propriedades únicas, o que os tornam adequados para atuar como carreadores de diversos tipos de moléculas, tanto naturais quanto sintéticas (Manzano; Vallet-regí, 2020; Xu *et al.*, 2023; Morellá-Aucejo *et al.*, 2024). As singularidades das MSNs podem ser visualizadas na Figura 9.

Figura 9 - Singularidades das MSNs

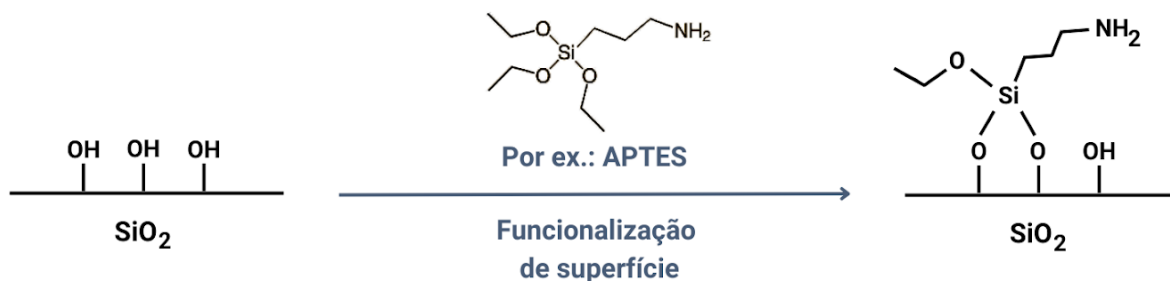


Fonte: Autoria própria.

A porosidade ordenada desses materiais é uma das características fundamentais que possibilita a alta capacidade de carregar fármacos e liberá-los de forma controlada (Dereje *et al.*, 2024). Além dos poros uniformes e ajustáveis, às MSNs se enquadram como excelentes candidatas a sistemas “*drug delivery*” em razão de sua boa biocompatibilidade, inércia e estabilidade térmica e química, que reduzem o risco de reações adversas e contribuem para sua tradução clínica (Sil *et al.*, 2024; Otri *et al.*, 2024).

Outras propriedades importantes referem-se à alta área de superfície e à facilidade de síntese e funcionalização, que pode ser realizada com uma ampla gama de grupos orgânicos, graças à presença de grupo silanol Si-OH (Figura 10). Essas modificações funcionais de superfície facilitam a ligação de compostos, especialmente de moléculas pouco solúveis, à nanoestrutura. Além disso, a funcionalização retarda a liberação da carga, visto que promove variadas interações inorgânicas-orgânicas entre o carreador e a molécula (Dereje *et al.*, 2024; Sil *et al.*, 2024; Otri *et al.*, 2024).

Figura 10 - Esquema de funcionalização de superfície de MSNs



Fonte: Autoria própria.

Ademais, as MSNs são indicadas para uso biomédico por não apresentarem toxicidade, visto que a sílica é geralmente reconhecida como segura pela FDA. Esses nanomateriais podem se degradar e serem excretados após diferentes vias de administração (Tang; Li; Chen, 2012; Zhou *et al.*, 2018; Trzeciak *et al.*, 2021). Em geral, as MSNs possuem boa biocompatibilidade tecidual para administração oral e intravenosa, porém enfrentam dificuldades de absorção pelas vias intramuscular e subcutânea (Trzeciak *et al.*, 2021).

Essas nanopartículas se acumulam principalmente no fígado, onde são removidas em cerca de quatro semanas (Trzeciak *et al.*, 2021). Os estudos de Li, Zhang e Feng (2019) revelam que, após administração por via injetável, cerca de

95% da sílica foi eliminada pela urina e fezes. Na administração oral, após 24 horas, a maior parte do nanomaterial foi detectada nas fezes, sugerindo que as MSNs podem ser facilmente eliminadas pelo organismo.

As MSNs possuem excelente orientação estrutural e capacidade superior de administração de fármacos, superando outros sistemas. Sua estabilidade química a difere de nanoestruturas orgânicas, que tendem a ser mais instáveis em certas condições (Sil *et al.*, 2024). Por exemplo, as MSNs são estáveis em ambientes biológicos, como no espaço ácido do estômago, diferentemente dos lipossomas, que se degradam nesse local, limitando sua aplicabilidade na administração oral (Janjua *et al.*, 2021).

Dessa forma, essas nanoplataformas versáteis podem ser utilizadas para tratar diversas patologias, como por exemplo o câncer, em conjunto com terapias fotodinâmicas, magnéticas e fototérmicas (Zhou *et al.*, 2018; Dereje *et al.*, 2024). Além disso, frente ao cenário desafiador da resistência aos antimicrobianos e formação de biofilmes, as MSNs são potenciais nanocarreadores para administração de moléculas bioativas (Dereje *et al.*, 2024). Aliás, são eficientes na terapia antibiofilme, visto que fazem a liberação sustentada dentro do biofilme, superando esse mecanismo de resistência dos microrganismos (Sil *et al.*, 2024).

Como exemplo de ação antitumoral, Leão *et al.* (2021) prepararam MSNs do tipo SBA16 carregadas com alamandina e avaliaram sua eficácia contra células cancerígenas. O estudo mostrou que, embora a alamandina livre tenha atividade anticâncer modesta, sua formulação nas MSNs reduziu significativamente a concentração necessária para induzir a morte de células tumorais, tornando-a mais eficaz. Esses dados evidenciam o potencial do peptídeo combinado ao nanocarreador contra o câncer.

Outro trabalho avaliou MSNs funcionalizadas com ácido fólico e carregadas com quercetina como estratégia terapêutica contra o câncer de mama. Essa abordagem aumentou significativamente a biodisponibilidade do composto, além de superar problemas de solubilidade aquosa da quercetina. Como resultado, as nanopartículas demonstraram maior eficácia antitumoral, induzindo apoptose e restringindo a migração celular, sem apresentar toxicidade relevante para células normais. Esses achados reforçam o potencial das MSNs como carreadores nanométricos eficientes e direcionados (Sarkar *et al.*, 2016).

Já no contexto de entrega de antibacterianos, a pesquisa de Morellá-Aucejo *et al.* (2024) revelou que MSNs carregadas com Cinamaldeído e funcionalizadas com  $\epsilon$ -poli-L-lisina (MSN EPL-Cin) tiveram excelente atividade antimicrobiana contra *E. coli* (CECT 433), *S. aureus* (ATCC 25923) e *C. albicans* (CECT 1002T). O complexo MSN EPL-Cin aumentou as propriedades inibitórias comparado ao Cinamaldeído livre, essencialmente sob estímulo de enzimas proteolíticas. Os autores relacionam essa atividade à redução da volatilidade devido ao encapsulamento na matriz de sílica mesoporosa.

As MSNs também são bastante utilizadas para carrear antibióticos consolidados no mercado, a fim de otimizar sua atividade e reduzir desvantagens (Li *et al.*, 2023). Por exemplo, Gounani *et al.* (2019) investigaram o uso de MSNs como transportadoras para diversos antibióticos, como Polimixina B e Vancomicina. Os pesquisadores obtiveram boa atividade antibacteriana contra indivíduos gram-positivos e gram-negativos, tanto de MSNs carregadas sem funcionalização quanto das modificadas com carboxila. Também foi notado que o nanossistema contribuiu para a redução da citotoxicidade dos medicamentos.

Em linha similar, Mora *et al.* (2021) exploraram a atividade antimicrobiana de MSNs carregadas com Ciprofloxacina, tanto como íon contrapositivo de um derivado de colina (MSN-[Ch][Cip]) quanto ancorada na superfície de MSNs modificadas com grupos amino (MSN-Cip). Ambas nanosistemas mostraram atividade significativa contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis* e *K. pneumoniae*, apresentando ainda baixa citotoxicidade em fibroblastos murinos, o que indica eficácia antimicrobiana com boa biocompatibilidade.

Além dessas, outras pesquisas têm demonstrado que as MSNs são promissoras para o tratamento de infecções e biofilmes bacterianos quando combinadas com agentes farmacêuticos (Mora *et al.*, 2021). No estudo de Memar *et al.* (2021), MSNs carregadas com Meropenem foram testadas contra *P. aeruginosa* resistente a carbapenem. Essas nanoplateformas superaram a eficácia do fármaco livre e inibiram a aderência bacteriana às superfícies, restringindo a formação de biofilme.

De fato, Rananaware *et al.* (2023) e Mora *et al.* (2021) mencionam que as MSNs estão sendo utilizadas para administrar muitos outros antibióticos, como amoxicilina, eritromicina, gentamicina, levofloxacina, ampicilina, moxifloxacino, tetraciclina e a rifampicina. Na maioria dos trabalhos, as moléculas com ações

farmacêuticas são adicionadas nos canais dos mesoporos, enquanto que a superfície da sílica é revestida com outras moléculas e agentes de direcionamento (Otri *et al.*, 2024).

Diante do exposto, fica evidente que as MSNs são dispositivos promissores para a administração direcionada de fármacos, com alto potencial terapêutico no tratamento de infecções bacterianas e na prevenção da formação de biofilmes (Sil *et al.*, 2024). Portanto, avanços contínuos no campo da nanotecnologia oferecem soluções para superar as limitações associadas a fármacos convencionais e novas moléculas naturais, viabilizando o desenvolvimento de terapias inovadoras voltadas à preservação da saúde humana (Ivanova *et al.*, 2022).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Sintetizar nanopartículas de sílica mesoporosa do tipo SBA16, funcionalizá-las com 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES), incorporar o Farnesol ou a Ciprofloxacina e avaliar sua atividade antimicrobiana e antibiofilme como um potencial sistema terapêutico contra infecções microbianas.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar e silanizar nanopartículas de sílica mesoporosas SBA16 com o 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES);
- Caracterizar físico-química e morfológicamente as nanopartículas SBA16, por análises de potencial zeta, índice de polidispersibilidade (PDI) e tamanho; análise de Adsorção/Dessorção de Nitrogênio (BET e BJH); Espectroscopia na região do infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR); Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Carrear o (*E,E*)-Farnesol na nanopartícula funcionalizada (a fim de obter o SBA16-APTES-FAR);
- Carrear a Ciprofloxacina na sílica branco (para obter o SBA16-CIPRO) e funcionalizada (SBA16-APTES-CIPRO);
- Verificar a taxa de incorporação dos compostos natural e sintético na matriz de sílica;
- Avaliar a atividade antimicrobiana e antibiofilme das nanopartículas obtidas, a partir de ensaios que determinam a Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Mínima Bactericida (CMB), ou a Concentração Fungicida Mínima (CFM), e a influência na formação de biofilme. Os ensaios foram conduzidos frente às cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 e HU25) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) para os sistemas contendo o composto sintético, e frente às mesmas cepas, além de *S. aureus* SM090, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Candida albicans* (ATCC 10231), para os sistemas obtidos com o composto natural.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Curva de Calibração do Farnesol e Ciprofloxacina

A curva de calibração para o (*E,E*)-Farnesol e para a Ciprofloxacina foi feita por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, sigla do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) em um equipamento HITACHI Chromaster 5310 Column Oven, baseando-se no trabalho de Moinuddin *et al.* (2022) e Lage *et al.* (2021), com otimizações. Utilizou-se uma coluna C<sub>18</sub> (Shim-pack, VP-ODS, 150 mm x 4,6 mm), adquirida da Shimadzu, Japão. Foram feitas soluções de (*E,E*)-Farnesol de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 e 180 µg/mL. Para a Ciprofloxacina, foram feitas soluções de 4, 8, 12, 16, 20 e 24 µg/mL. Essas soluções foram filtradas usando filtro de seringa de PVDF 0,2 mm. Além disso, a fase móvel foi filtrada em membrana de PTFE hidrofílicas. As condições estabelecidas no estudo estão apresentadas na tabela a seguir:

Tabela 1 - Condições de estudo para curva de calibração

Condições	( <i>E,E</i> )-Farnesol	Ciprofloxacina
Método de eluição	Isocrático	Isocrático
Fase móvel	100% acetonitrila	80% água e 20% acetonitrila
Volume de injeção	80 µL	20 µL
Tempo de execução	4 min	6 min
Comprimento de onda	215 nm	279 nm
Fluxo	1 mL.min <sup>-1</sup>	1 mL.min <sup>-1</sup>
Temperatura	24 °C	24 °C

Fonte: Autoria própria.

Com base nos dados obtidos, foi construída a curva de calibração, a partir da qual foram determinados a equação da reta e o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>).

### 4.2 Síntese das Nanopartículas SBA16-APTES e SBA16-APTES-FAR

#### 4.2.1 Síntese das Nanopartículas de Sílica Mesoporosas

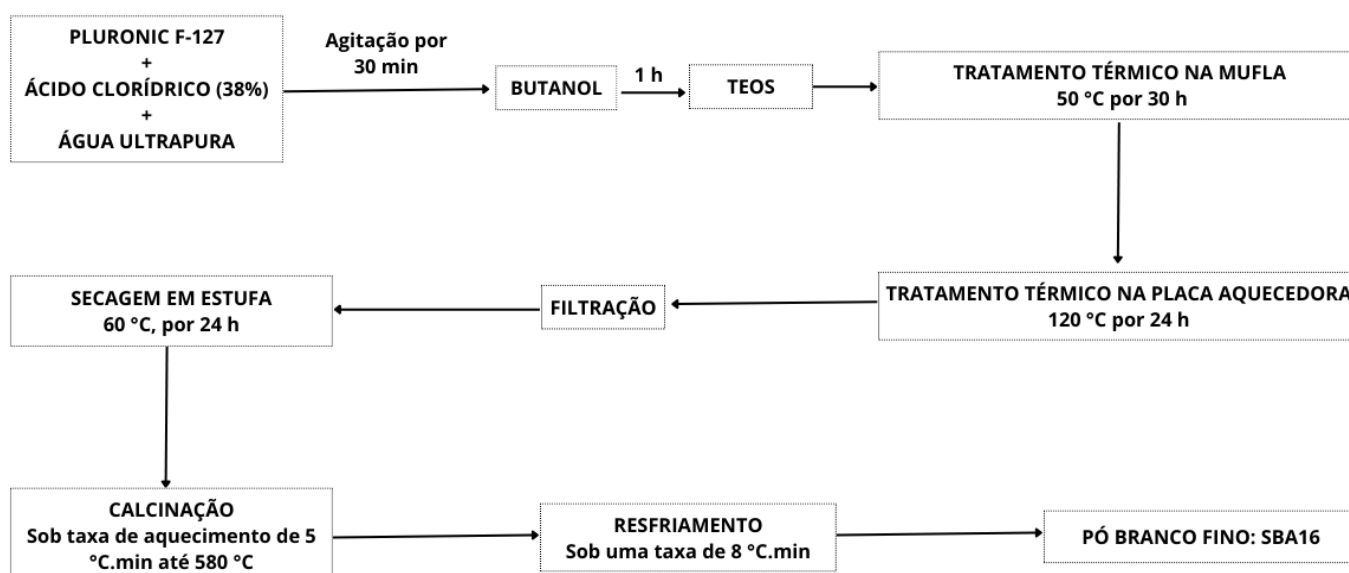
A síntese do SBA16 foi realizada conforme a metodologia do trabalho de Leão *et al.* (2021). As etapas experimentais realizadas estão apresentadas na Figura 11. Inicialmente, pesou-se 3,0 g do surfactante não iônico F-127 (poli [(óxido de etileno)-bloco-poli (óxido de propileno) bloco-poli (óxido de etileno)]), da empresa Sigma-Aldrich para ser o agente direcionador de estrutura. Depois, mediu-se 190 mL

de água ultrapura, 16 mL de ácido clorídrico (HCl, Alphatec, 38%), 12 mL de butanol (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH, Sigma-Aldrich, usado como agente co-direcionador de estrutura) e 15 mL de tetraetila ortossilicato (TEOS, Sigma-Aldrich, usado como fonte de sílica).

Na primeira etapa dos procedimentos, dissolveu-se o Pluronic<sup>®</sup> F-127 no volume de água ultrapura e adicionou-se o ácido clorídrico. Essa mistura foi agitada por 30 min em uma placa agitadora. Em seguida, o butanol foi adicionado à solução. Após aguardar 1 h, adicionou-se lentamente os 15 mL de TEOS com auxílio de uma bureta automática (modelo 848 Titrimo Plus da Metrohm). A bureta foi programada para colocar 0,075 mL por minuto, o que demandou 12 h. A adição lenta e controlada é importante dado que interfere no tamanho das partículas formadas.

Passado esse período, a solução foi colocada em um recipiente de teflon e mantida na mufla a 50 °C por 30 h. Em outra etapa, a mistura foi mantida por mais 24 h sobre uma placa quente a 120 °C. Posteriormente, a mistura quente foi filtrada e o material sólido resultante foi seco em uma estufa a 60 °C, por 24 h. O tratamento térmico foi conduzido onde o material foi mantido em um forno tubular sob atmosfera de nitrogênio com taxa de aquecimento de 5 °C.min<sup>-1</sup> até 580 °C. Finalmente, a amostra foi resfriada sob uma taxa de 8 °C.min<sup>-1</sup> e um pó branco fino e homogêneo foi obtido.

Figura 11 - Fluxograma de síntese de MSNs do tipo SBA16

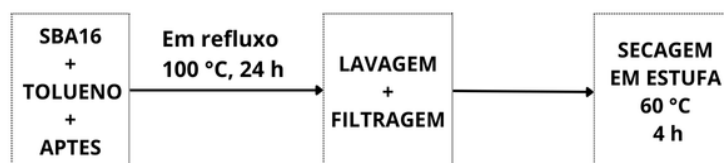


Fonte: Autoria própria.

#### 4.2.2 Funcionalização com 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES)

A funcionalização das nanopartículas SBA16 com APTES (Sigma Aldrich, 97%) foi realizada conforme Leão *et al.* (2021), com poucas alterações. Esse processo (Figura 12) foi realizado através de uma reação química sob refluxo, utilizando tolueno (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>). Após pesagem, 0,2 g de SBA16 foram dispersos em uma solução constituída por 30 mL de tolueno e 1 mL (condição 1) ou 0,5 mL (condição 2) de APTES. O sistema foi deixado em refluxo por 24 h a 100 °C. Em seguida, o material obtido foi lavado, filtrado e os sólidos resultantes foram secos em uma estufa por 4 h a 60 °C.

Figura 12 - Fluxograma da funcionalização das SBA16 com APTES



Fonte: Autoria própria.

#### 4.2.3 Incorporação e Avaliação da Taxa de Incorporação

Para incorporar o Farnesol nas nanopartículas de sílica, colocou-se 300 mg de SBA16-APTES, 6 mL de acetonitrila e 60 mg de Farnesol (condição 1) ou 120 mg de Farnesol (condição 2) em um tubo falcon de 15 mL, totalizando em uma solução com concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> (condição 1) ou 20 mg.mL<sup>-1</sup> (condição 2) do terpeno. O tubo falcon foi colocado sob agitação constante no agitador orbital (Nova Ética, modelo 109) por 48 h, a 105 rotações por minuto (rpm). No caso da Ciprofloxacina, 50 mg dos materiais SBA16 e SBA16-APTES foram colocados sob agitação com 150 µg.mL<sup>-1</sup> do antibiótico e o procedimento foi repetido.

Após esse período, a fim de quantificar a concentração dos compostos incorporado nas nanoestruturas, fez-se a centrifugação para remover o sólido e o sobrenadante foi quantificado por HPLC. Na condição 2 de incorporação do Farnesol foi preciso aplicar fator de diluição de 10 vezes. A eficiência de incorporação de cada molécula foi calculada usando a Equação 3.

$$\% \text{ de incorporação} = \frac{C_i - C_r}{C_i} \cdot 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:  $C_i$  = concentração inicial da substância colocada para incorporar e  $C_r$  = concentração residual da substância no sobrenadante após incorporação de 48 h.

### 4.3 Caracterizações Físico-Químicas e Morfológicas

#### 4.3.1 Tamanho de Partícula, Índice de Polidispersibilidade e Potencial Zeta

As análises do tamanho de partícula, índice de polidispersibilidade e potencial zeta foram realizadas em um equipamento Zetasizer - Malvern. As amostras foram diluídas na proporção de 1:20 em solução salina (NaCl – 0,9%).

#### 4.3.2 Análise de Adsorção e Dessorção Gasosa (BET e BJH)

A área superficial e tamanho médio dos poros das amostras das nanopartículas foram determinados por meio da técnica de adsorção e dessorção de nitrogênio, utilizando o método Brunauer-Emmett-Teller (BET) e o método Barrett-Joyner-Halenda (BJH). Para as análises, foi utilizado um analisador de área de superfície e porosidade Quantachrome NOVA (modelo 1000e), com aproximadamente 100 mg de amostra. As amostras foram desoxigenadas a 110 °C por 24 h, com fluxo contínuo de nitrogênio, e o processo de adsorção/dessorção foi conduzido a -196 °C.

#### 4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupos funcionais típicos da rede de sílica, bem como as modificações na superfície dos materiais, foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando o modo de refletância total atenuada (ATR). As análises foram conduzidas em um espectrômetro *Spectrum 100* (PerkinElmer), equipado com cristal de diamante-ZnSe. Os espectros foram obtidos com 16 varreduras, resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , à temperatura ambiente, no Laboratório de Espectroscopia da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI).

#### 4.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi utilizada para avaliar a morfologia das amostras de SBA16. As análises foram realizadas no Centro de

Microscopia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), utilizando o microscópio eletrônico Tecnai G2-20 SuperTwin (FEI) com potencial de aceleração de 200 kV. Para a preparação das amostras, aproximadamente 5 mg de SBA16 foram dispersos em água deionizada e submetidos à sonificação em banho ultrassônico por 5 minutos. A dispersão resultante foi depositada em grades de cobre revestidas com carbono de 200 malhas. Os ensaios foram realizados 24 h após a preparação das amostras, garantindo sua completa secagem.

#### 4.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para obtenção de imagens tridimensional das nanopartículas utilizou-se a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), marca Tescan, modelo VEGA 3 LMU. O equipamento usado pertence ao Instituto de Engenharias Integradas da UNIFEI em Itabira. As imagens foram coletadas com MEV operando a 5.0 e 15.0 kV e Det: SE e ETD. Foi utilizado aproximadamente 5 mg de amostra de SBA16.

### 4.4 Estudo Microbiológico

No estudo microbiológico, utilizou-se as cepas referências [American Type Culture Collection (ATCC)] das bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e do fungo *Candida albicans* (ATCC 10231). Além disso, fez-se estudo também com as bactérias *S. aureus* HU25 e *S. aureus* SM090 referente a cepas isoladas do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), no Rio de Janeiro.

#### 4.4.1 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Os ensaios de CMI foram realizados em placas de 96 poços de acordo com a metodologia citada por Pinheiro *et al.* (2020). Nos testes, utilizou-se como meio de cultivo o caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) ou *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) e placas de petri contendo ágar *Tryptic Soy Agar* (TSA) e ágar *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), para bactéria e fungo, respectivamente. Os ensaios foram em triplicata. O controle positivo empregado para bactérias gram-positivas foi a Vancomicina. Já para a bactéria gram-negativa usou-se Ciprofloxacina e, para a cepa fúngica, empregou-se o Fluconazol.

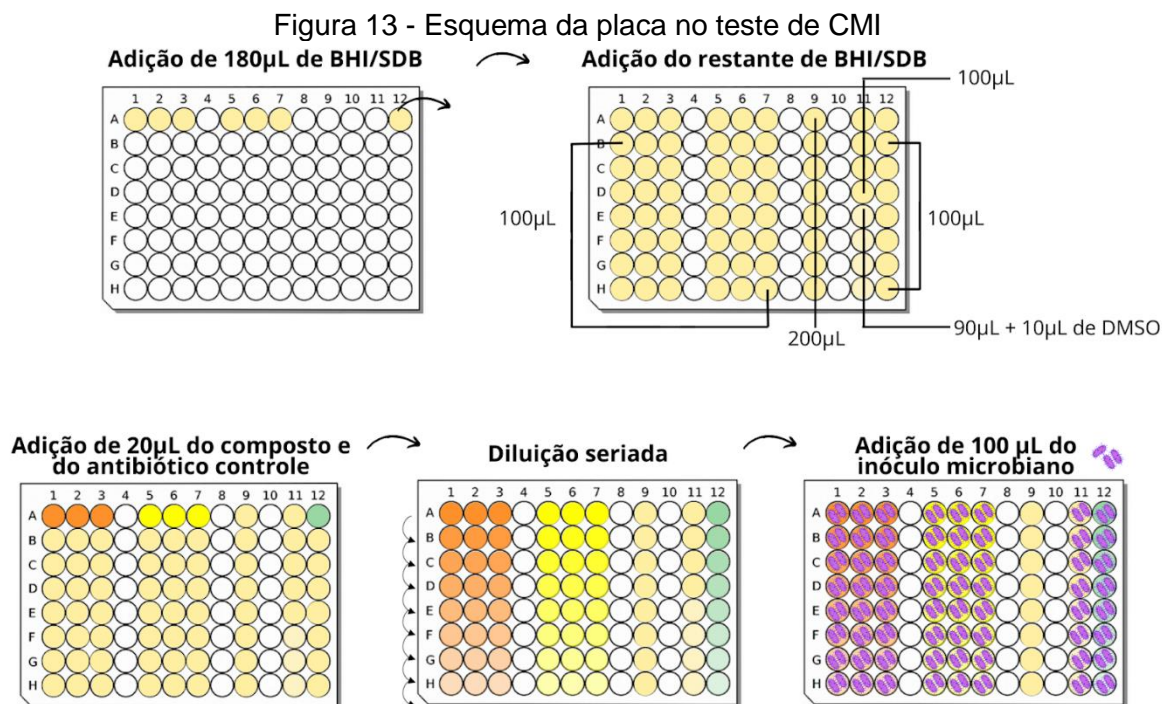
As cepas microbianas foram semeadas em placas de TSA (bactéria) e SDB (fungo) e incubadas por 24 h a 37 °C. Após esse período de tempo, as colônias isoladas foram repicadas em 5 mL de solução salina estéril a 0,9% até a turbidez de 0,5 McFarland. Esse procedimento foi realizado para se obter uma turvação padronizada dos inóculos, com aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> de microrganismos nesta suspensão.

Em uma placa estéril de 96 poços, adicionou-se 180 µL de BHI (para bactéria) ou SDB (fungo) nos poços 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 12 da linha A e, em seguida, completou-se as respectivas colunas com 100 µL do meio. Na coluna 11, colocou-se uma alíquota de 100 µL de BHI/SDB nos poços A, B, C e D, bem como aplicou-se 90 µL de BHI/SDB e 10 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) nos poços E, F, G e H. Além disso, em toda a coluna 9 adicionou-se 200 µL de BHI/SDB, correspondendo ao controle negativo, o qual atesta a esterilidade do meio de cultura.

Em sequência, 20 µL do nanomaterial/composto é adicionado nos poços 1A, 2A e 3A. Em uma etapa de diluição seriada, realizou-se a transferência de 100 µL dos poços da linha A para os poços 1B, 2B e 3B, repetindo o procedimento sucessivamente até a linha H, descartando os últimos 100 µL. Para o outro composto a ser testado, também adicionou-se 20 µL nos poços 5A, 6A e 7A e procedeu-se com a diluição seriada nessas colunas.

No poço 12A, adicionou-se 20 µL do antibiótico controle, preparado previamente partindo-se de uma solução estoque, denominada cipro/vanco ou fluconazol A (onde tem-se 1 mg do fármaco em 1000 µL de DMSO), retirando desta uma alíquota de 80 µL, a qual foi colocada em um tubo contendo 420 µL de DMSO, de forma a obter a cipro/vanco ou fluconazol B, a qual foi então adicionada ao poço. Após este procedimento, pode-se realizar uma diluição seriada, transferindo 100 µL do poço 12A para o poço 12B e assim sucessivamente para os poços de 12 C-H, descartando os últimos 100 µL.

Em todas as colunas 1, 2, 3, 5, 6, 7, 11 e 12 aplicou-se 100 µL do inóculo microbiano. Para ilustrar, o esquema da placa destes procedimentos pode ser conferido na Figura 13.



Fonte: Autoria própria.

Por fim, aplicou-se 10 µL de resazurina diluída em cada poço e levou-se novamente à estufa por 1h. Com a aplicação do referido corante, teve-se a leitura visual, em que a coloração rosa indica crescimento bacteriano e a coloração azul indica ausência de crescimento. O CMI é definido como a menor concentração do fármaco capaz de inibir o crescimento visível da cultura bacteriana (Morellá-Aucejo *et al.* 2024).

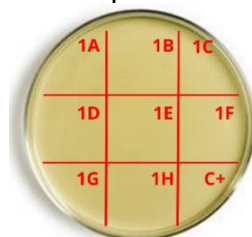
#### 4.4.2 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para a avaliação da CMB e CFM, utilizou-se as diluições obtidas no ensaio de CMI e placas de Petri contendo ágar TSA ou SDA. A placa foi dividida em 9 partes (Figura 14), de modo que em 8 partes anota-se as diluições seriadas obtidas no teste CMI e um campo fica destinado ao controle positivo (antibiótico Vancomicina, Ciprofloxacina ou Fluconazol). Com as demarcações já desenhadas, aplicou-se 10 µL de cada diluição no campo referente e a placa pode ser levada à estufa, à 37 °C, por 24h.

Após esse intervalo, observou-se se houve ou não crescimento microbiano e qual a concentração correspondente. O campo sem crescimento bacteriano é considerado o valor de CMB (eliminação de 99,9% das bactérias). No caso da CFM,

o campo sem colônias fúngicas corresponde a concentração que mata 99,9% dos fungos (Morellá-Aucejo *et al.* 2024).

Figura 14 - Esquema da placa no teste de CMB/CFM



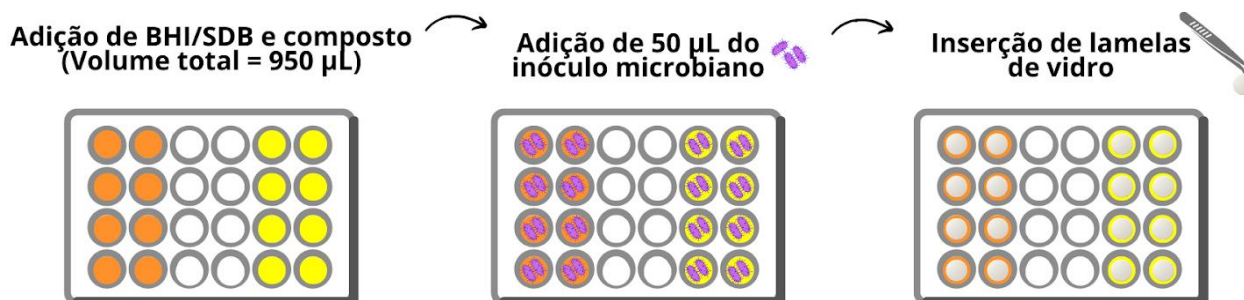
Fonte: Autoria própria.

#### 4.4.3 Influência na Formação de Biofilme

O protocolo utilizado é descrito por Pereira *et al.* (2021), com modificações. Nesta pesquisa, os tratamentos com Farnesol livre, Ciprofloxacina livre, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO foram realizados utilizando a concentração subinibitória correspondente a  $\frac{1}{2}$  CMI. Para o nanomaterial funcionalizado com Farnesol (SBA16-APTES-FAR obtido na condição 2), utilizou-se uma proporção de massa que continha a mesma concentração de Farnesol equivalente a  $\frac{1}{2}$  MIC. Nos casos em que a MIC não foi determinada, como o Farnesol frente a bactérias gram-negativas e o SBA16-APTES frente a todos os microrganismos testados, foi adotada a maior concentração utilizada nos ensaios.

Após incubar os microrganismos a 37 °C por 24 h, as colônias isoladas de cada cepa foram repicadas em 3 mL de solução salina estéril até a turbidez de 0,5 na escala McFarland. Em uma placa de 24 poços, colocou-se em 8 poços 950  $\mu$ L de caldo BHI/SDB e o composto/nanomaterial a ser testado. Depois, adicionou-se nos poços 50  $\mu$ L do inóculo bacteriano previamente preparado. A seguir, foi colocado em cada poço uma lamela de vidro (limpa e estéril), conforme apresenta a Figura 15.

Figura 15 - Esquema da placa 24 poços



Fonte: Autoria própria.

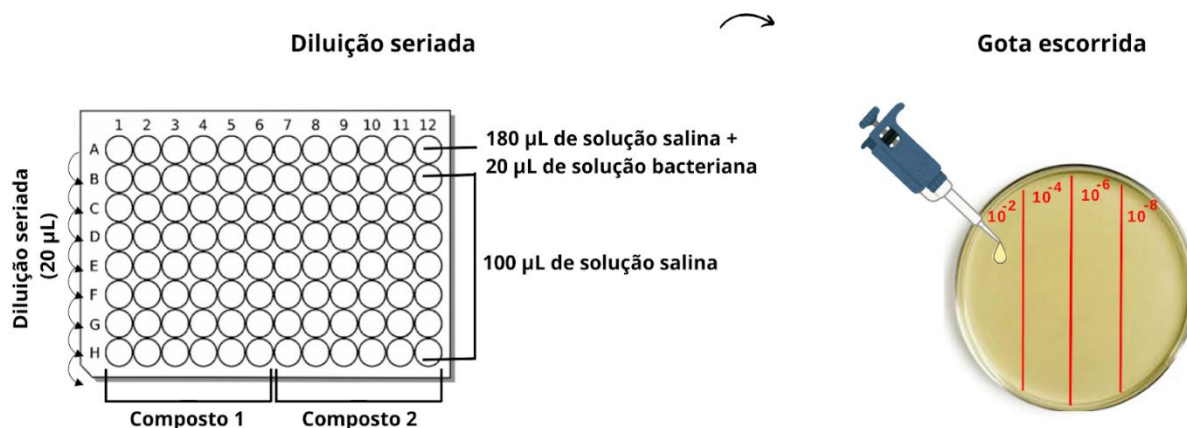
A placa de 24 poços com as amostras seguiu para a estufa bacteriológica e foi incubada por 24 h a uma temperatura de 37 °C. Após esse período de incubação, separou-se duas amostras para a visualização no microscópio eletrônico de varredura (MEV). Para preparação das amostras do MEV, seguiu-se os seguintes passos: as lamelas de vidro forma fixadas por 1h em glutaraldeído a 2% e, depois, desidratadas em etanol com lavagens a 10%, 25%, 50%, 75% e 90%, respectivamente, durante 20 minutos em cada concentração. Em seguida, as amostras foram colocadas em etanol 99,5% por 1 h. Posteriormente, as amostras foram secas em incubadora bacteriológica a 37 °C e metalizadas, possibilitando que as topografias superficiais dos biofilmes pudessem ser vistas e fotografadas.

Diferentemente, as lamelas de vidro restantes (n=6) foram colocadas cada uma em tubos falcon separados com 3 mL de solução salina para serem levadas ao vórtex por 3 minutos e ao ultrassom por 10 minutos. Imediatamente, em uma placa de 96 poços foi acionado 20 µL desta solução dos seis diferentes tubos falcon na linha 1A, 2A, 3A, 4A, 5A e 6A, respectivamente. Essas linhas foram completadas com 180 µL de solução salina. Nos demais poços de tais colunas foi adicionado 100 µL de solução salina.

Com isso, fez-se uma diluição seriada, transferindo 100 µL de um poço para o seguinte da mesma fileira, sucessivamente até a linha H, descartando os últimos 100 µL. Depois, em uma placa de petri com ágar foram feitas quatro divisórias verticais. Em cada partição foi colocada uma gota de 10 µL da diluição da linha B, D, F, H da placa de 96 poços (que corresponde a concentrações de  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-8}$ ) e foram escorridas em linha reta. Ao fim, foram feitas 6 placas de petri para as 6 colunas de diluição preparadas na placa de 96 poços. A Figura 16 ilustra essa etapa do procedimento de diluição seriada e gota escorrida.

Por último, as placas foram incubadas por 24 h, a 37 °C. Após tal período, procedeu-se à contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC), e esses valores foram transformados logaritmicamente e expressos como  $\log_{10}$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Assim, o resultado do protocolo de avaliação do potencial de inibição da formação de biofilme é estudado através da análise gráfica das UFC.mL<sup>-1</sup> e da visualização no MEV.

Figura 16 - Procedimento de diluição seriada e gota escorrida no ensaio de formação de biofilme microbiano



Fonte: Autoria própria.

#### 4.4.4 Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância unidirecional (ANOVA). As diferenças significativas entre as amostras foram avaliadas pelo teste de Tukey, onde os valores de  $p < 0,05$  (95%) foram considerados significativamente diferentes.

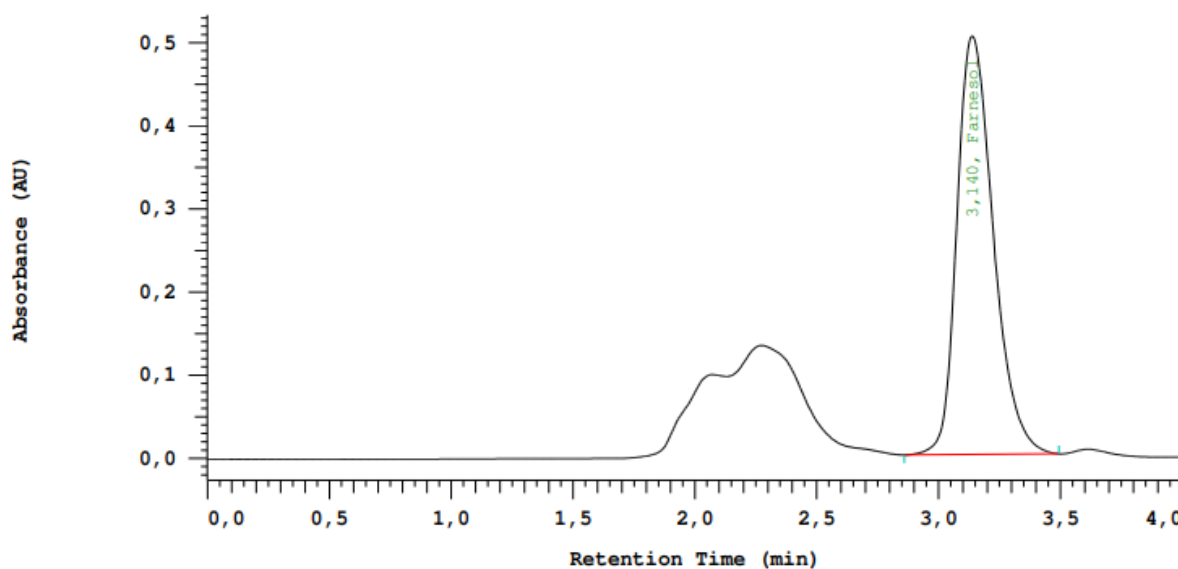
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Curva de Calibração

A aplicação da técnica HPLC e o uso de curva de calibração externa permitem quantificar o analito encapsulado em sistemas de entrega de fármacos, além de viabilizar estudos como o perfil de liberação (Trzeciak *et al.*, 2021; Enggi *et al.*, 2022). No presente estudo, foi utilizado o método de eluição isocrático, no qual a composição da fase móvel permanece constante durante toda a separação cromatográfica, proporcionando simplicidade e boa reprodutibilidade (Collins, Braga e Bonato, 2006), adequado para finalidade de detectar apenas um eluente.

Inicialmente, a partir da otimização do método analítico descrito por de Moinuddin *et al.* (2022) foi possível detectar o sinal correspondente ao (*E,E*)-Farnesol em um tempo de retenção de 3,140 minutos. Em todas as concentrações analisadas do terpeno pode-se notar um pico simétrico bem definido com linha de base plana. O cromatograma para o Farnesol está representado na Figura 17.

Figura 17- Cromatograma do (*E,E*)-Farnesol

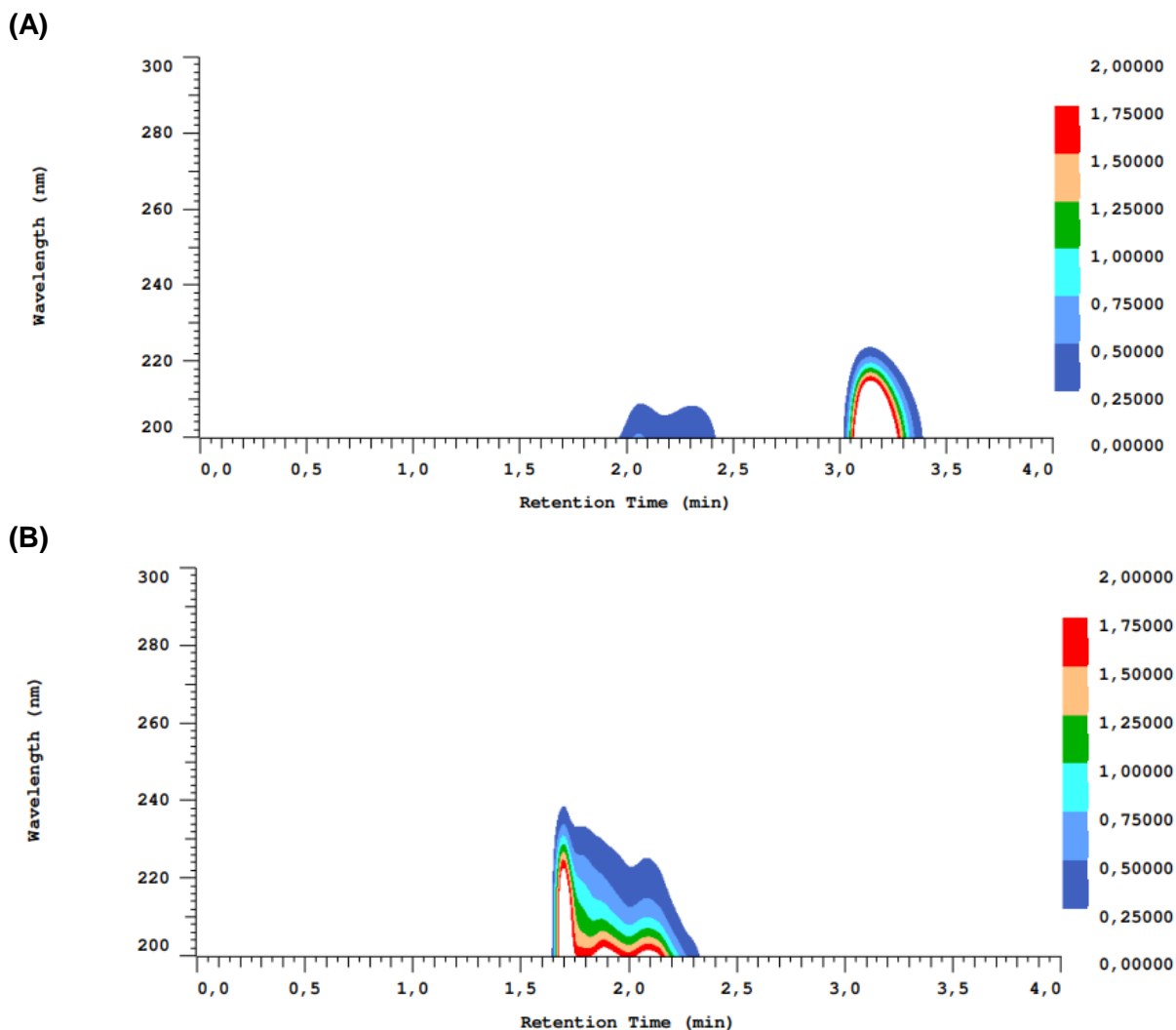


Fonte: Autoria própria.

Antes do pico principal, observa-se um pequeno pico em torno de 1,8 minutos, que pode ser atribuído a resposta do solvente ou outras impurezas presentes na coluna, uma vez que esse mesmo sinal foi detectado no cromatograma do branco contendo apenas acetonitrila. Apesar disso, a clara separação e definição do pico principal indica a eficiência do método analítico para a detecção do Farnesol.

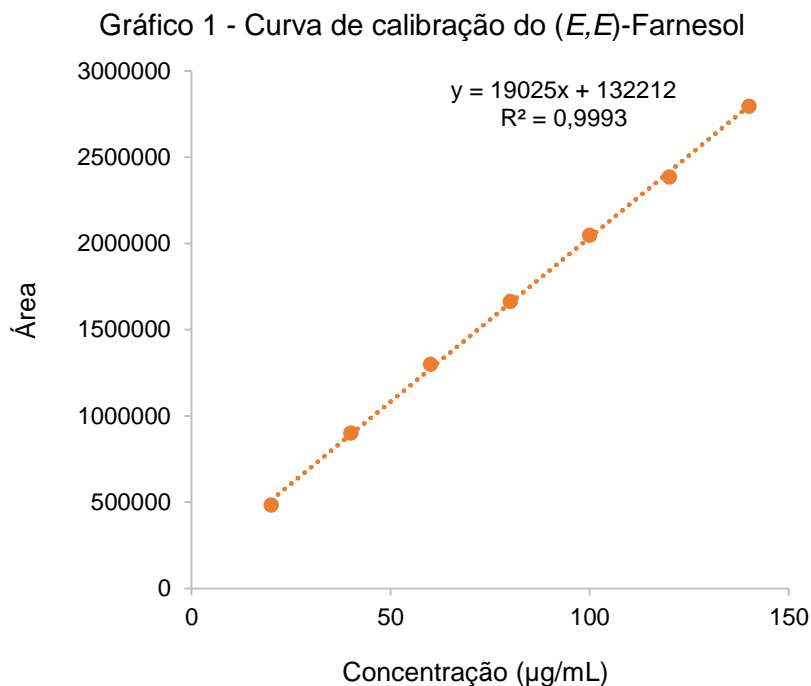
Os cromatogramas na Figura 18 evidenciam esse pico pequeno e constante em 1,8 min em todas as análises, incluindo o branco.

Figura 18 - Cromatograma espectral 3D da amostra **(A)** (*E,E*-Farnesol e **(B)** branco (ACT)



Fonte: Autoria própria.

Posteriormente, obteve-se a curva de calibração para essa molécula, apresentada no Gráfico 1, na qual pode-se observar que o método demonstrou linearidade na faixa de concentração estuda (20 - 180  $\mu\text{g/mL}$ ). Conforme pode ser verificado, obteve-se coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9993. Esse valor é considerado adequado para estudo analítico e está em conformidade com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 166/2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece critérios para a validação de métodos analíticos de fármacos e produtos biológicos.



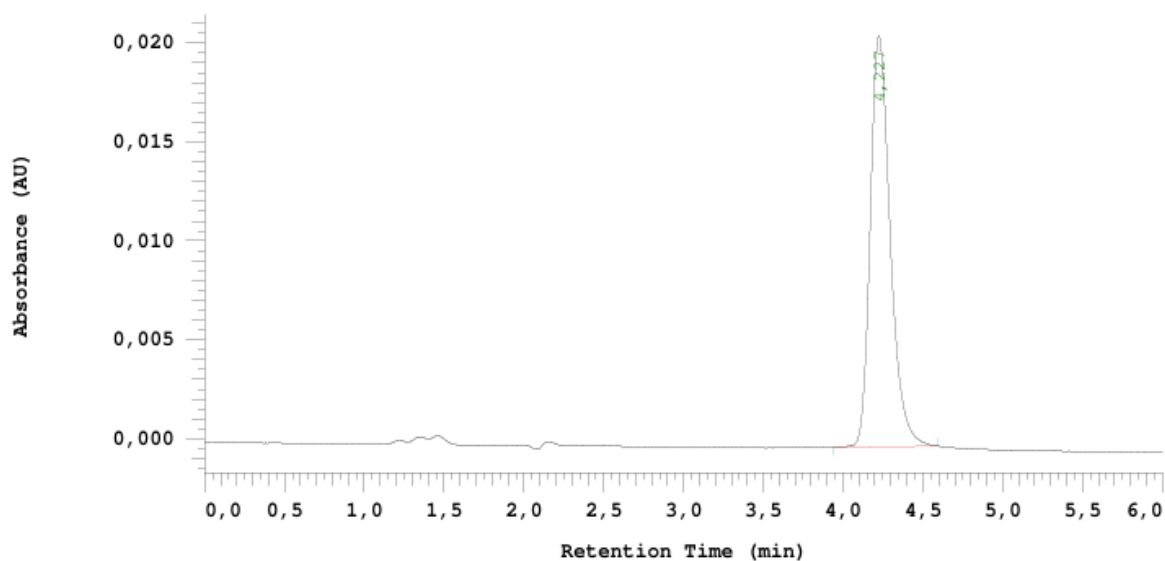
Fonte: Autoria própria.

A RDC da Anvisa, publicada em 25 de julho de 2017, recomenda que curvas de calibração apresentem valores de  $R^2$  de no mínimo 0,990 e sejam compostas por, no mínimo, cinco padrões de concentrações distintas (Brasil, 2017), critérios atendidos neste estudo. Ademais, a metodologia empregada foi escolhida por se tratar de um método previamente validado por Moinuddin *et al.* (2022).

No caso do antibiótico sintético, a partir do desenvolvimento do método analítico publicado por Lage *et al.* (2021) foi possível detectar o sinal correspondente a Ciprofloxacina em um tempo de retenção de 4,227 minutos, também com um pico simétrico bem definido com linha de base plana. O cromatograma para a Ciprofloxacina está representado na Figura 19 e a curva de calibração obtida no Gráfico 2.

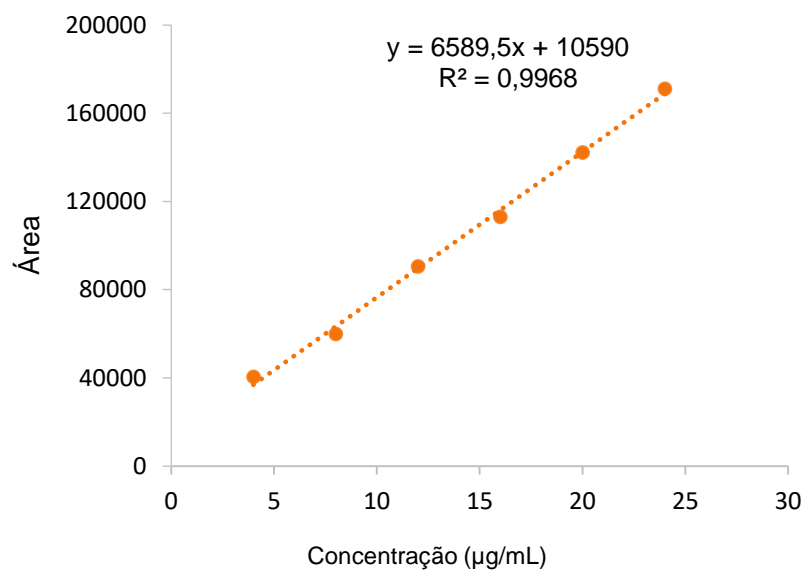
Assim como na curva do terpeno, obteve-se um valor de  $R^2$  considerado adequado. Ambas pesquisas seguiram as diretrizes da Farmacopéia Brasileira, que descreve: “para uma análise quantitativa precisa, reagentes de elevado grau de pureza ou solventes orgânicos de pureza cromatográfica devem ser utilizados” (Brasil, 2019, p. 155).

Figura 19 - Cromatograma da Ciprofloxacina



Fonte: Autoria própria.

Gráfico 2 - Curva de calibração da Ciprofloxacina



Fonte: Autoria própria.

## 5.2 Síntese e Caracterizações Físico-químicas e Morfológicas

As nanopartículas do tipo SBA16 foram preparadas baseando-se na síntese sol-gel. Este método, também denominado como modelagem de surfactante, é amplamente utilizado para sintetizar diferentes tipos de MSNs. Para a síntese de SBA16, o surfactante não-iônico Pluronic® F-127 desempenha papel fundamental na determinação das arquiteturas mesoporosas, visto que induz a micelização da

espuma gerada pela agitação vigorosa (Zhao *et al.*, 1998; Rastegari *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2023).

A adição do precursor de sílica TEOS desencadeia reações de hidrólise e condensação, resultando na formação de uma rede de sílica em torno das micelas de surfactante. Finalmente, após seguidos tratamentos térmicos em temperatura elevada e calcinação, tem-se a eliminação do surfactante e a abertura da porosidade, produzindo o material mesoporoso (Björk *et al.*, 2018; Rastegari *et al.*, 2021). O material sólido obtido pode ser visualizado na Figura 20.

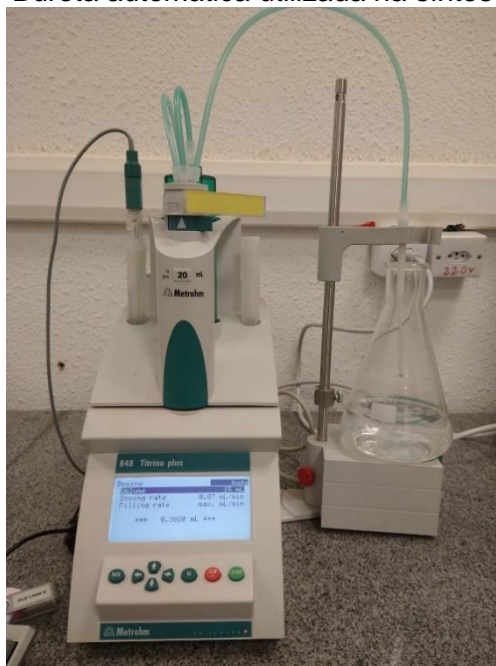
Figura 20 - SBA16



Fonte: Autoria própria.

Para controlar a montagem surfactante-sílica e produzir MSNs com morfologias e dimensões desejadas, ajustes na cinética da reação podem ser realizados. Por exemplo, o uso de ácido clorídrico faz o controle do pH, o que favorece a formação uniforme das micelas (Rastegari *et al.*, 2021). Além disso, a adição controlada e lenta do TEOS possibilita maior controle no tamanho das partículas, que crescem mais uniforme e com menos ponto de nucleação (Castillo *et al.*, 2020). Assim, utilizou-se uma bureta automática (Figura 21) para controlar a velocidade de adição do precursor e, desse modo, tentar garantir melhor qualidade da sílica produzida.

Figura 21 - Bureta automática utilizada na síntese do SBA16



Fonte: Autoria própria.

Uma vez obtido o material SBA16, realizou-se a modificação de superfície com 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES). A funcionalização é necessária para viabilizar a ligação do (*E,E*)-Farnesol na nanoestrutura, visto que essa molécula apolar apresenta limitações em interagir com os grupos hidroxila livres presentes na superfície da sílica pura (Li B. *et al.*, 2023). Sem a funcionalização, não se obteve êxito na incorporação do Farnesol em uma tentativa experimental prévia. Dessa forma, a introdução de APTES na estrutura dos MSNs configura-se como uma estratégia eficaz para promover a interação e incorporação do composto. No caso da Ciprofloxacina, tanto a sílica branco quanto a funcionalizada conseguiram carrear.

A título de exemplo, no estudo de She *et al.* (2015), a funcionalização de MSNs com APTES resultou na maior capacidade de incorporação do fármaco anticancerígeno 5-fluorouracil, atingindo 28,89%, comparada a 18,34% na sílica não funcionalizada. Foram também testados outros grupos funcionais, como carboxila (20,73%) e metila (12,73%). A superioridade dos grupos amins foi atribuída à afinidade hidrofílica e à interação eletrostática favorável com o fármaco, destacando a relevância do APTES como uma estratégia eficaz para otimizar a funcionalização da sílica mesoporosa.

Neste estudo, foram realizadas duas condições de ensaio relacionadas à funcionalização e à carga de Farnesol nas nanopartículas. Na condição 1, utilizou-se 1 mL de APTES para funcionalização e 60 mg de Farnesol a ser incorporado nas

nanopartículas. Por outro lado, na condição 2, a funcionalização foi realizada com 0,5 mL de APTES (metade da quantidade da condição 1) e a incorporação partiu de 120 mg de Farnesol (o dobro da condição 1).

A variação aplicada na condição 2 teve como objetivo avaliar se a quantidade reduzida de APTES também seria suficiente para favorecer a incorporação do Farnesol, além de possibilitar a diminuição das interações químicas na superfície da sílica. Simultaneamente, o aumento da quantidade de Farnesol buscou verificar a capacidade de carregamento maior da matriz, com a finalidade de reduzir o volume de espaço livre nos poros.

### 5.2.1 Taxa de Incorporação

A incorporação de fármacos em nanopartículas de sílica mesoporosas ocorre majoritariamente por adsorção, processo no qual as moléculas do composto se aderem às superfícies interna e externa dos poros da matriz. Essa interação pode envolver forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas ou, em menor frequência, ligações covalentes (Trzeciak *et al.*, 2021). Para isso, as MSNs são imersas em uma solução orgânica contendo o componente ativo, permitindo sua difusão e fixação nos poros. Após o carregamento, o material é separado da solução residual por técnicas como filtração ou centrifugação (Aulifa *et al.*, 2024).

Com base nesse procedimento, o material SBA16-APTES-FAR foi obtido pelo carregamento das nanopartículas SBA16-APTES com o composto (*E,E*)-Farnesol. Para avaliar a eficiência do processo de incorporação e a quantidade de molécula retida, o sobrenadante resultante foi analisado por HPLC. Na condição experimental 1, não foi detectada a presença de Farnesol na amostra, como indicado pela inexistência de sinal na região correspondente ao seu tempo de retenção (3,140 minutos).

A ausência de Farnesol no sobrenadante sugere que houve incorporação completa do composto na matriz de sílica, indicando teoricamente uma eficiência de incorporação de 100%. No entanto, essa eficiência pode também indicar a existência de espaços vazios na matriz, o que sugere a possibilidade de que uma quantidade ainda maior de moléculas poderia ter sido incorporada.

Na condição experimental 2, foi observado um sinal correspondente ao Farnesol no tempo de retenção de 3,140 minutos. Para essa análise, o sobrenadante foi diluído 10 vezes, fator devidamente considerado no cálculo do percentual de incorporação. A partir das análises em duplicata, foi quantificada uma concentração média de 4731,08  $\mu\text{g/mL}$  de Farnesol no sobrenadante. Com base nesses dados, a eficiência de incorporação nesta condição de ensaio foi de 76,34%.

Esses resultados indicam que, mesmo com a redução na quantidade de APTES utilizada na funcionalização, a incorporação do componente permaneceu elevada. Além disso, a maior quantidade de moléculas incorporadas em comparação à condição 1 sugere uma maior capacidade de carregamento da matriz, possivelmente com o preenchimento da maioria dos poros disponíveis.

A Figura 22 apresenta as nanopartículas de sílica após o processo de incorporação do Farnesol. Inicialmente branca, a sílica adquiriu uma coloração amarelada, característica do terpeno incorporado. Essa alteração de cor foi observada após o processo de incorporação em ambas as condições de ensaio.

Figura 22 - SBA16-APTES-FAR



Fonte: Autoria própria.

Na literatura, observa-se que as taxas de incorporação podem ser bastante variáveis. Por exemplo, a encapsulação de citral em MSNs apresentou uma eficiência de  $16,58 \pm 0,17\%$  (Ding *et al.*, 2024). Em contrapartida, um estudo com distintos OE em nanocápsulas de sílicas mesoporosas reportaram eficiências de carregamento mais elevadas, como 98% para óleo de hortelã-pimenta, 93% para óleo de cravo e 89% para óleo de canela (Jobdeedamrong; Jenjob; Crespy, 2018). Essas diferenças na extensão do carregamento do fármaco podem ser atribuídas a

variações nos parâmetros de síntese, como surfactante utilizado, afinidade dos compostos ativos com o substrato e área de superfície do material (Jobdeedamrong; Jenjob; Crespy, 2018; Trzeciak *et al.*, 2021).

Neste cenário, quando se fez a incorporação da molécula de Ciprofloxacina, com caracter químico mais polar, também pode-se obter uma alta taxa de incorporação. Foi quantificada uma concentração de 15,11 µg/mL do antibiótico no sobrenadante resultante da produção do SBA16-CIPRO, o que indica uma eficiência de incorporação de 89,93%. Já no sobrenadante do material SBA16-APTES-CIPRO, detectou-se 32,99 µg/mL, o que corresponde a uma taxa de incorporação de 78,01%.

Como previsto, a matriz sem funcionalização apresentou a maior eficiência de incorporação do fármaco. Esse resultado pode estar relacionado à diminuição da área superficial após o processo de silanização, durante o qual os grupos APTES tendem a interagir entre si ou com a própria superfície da sílica por meio de ligações de hidrogênio. Essas interações favorecem a formação de uma rede organosiloxânica que pode obstruir parcialmente os poros do material, tornando-os inacessíveis, inclusive para moléculas de pequeno tamanho (Lage *et al.*, 2021).

### 5.2.2 Potencial Zeta, Tamanho Médio e Índice de Polidispersibilidade (PDI)

As propriedades das nanopartículas, derivadas de sua estrutura e processamento, são determinantes para suas potenciais aplicações (Joudeh, Linke, 2022; He *et al.*, 2022). Nesse contexto, a caracterização físico-química e morfológica dos nanomateriais é essencial para avaliar sua aplicabilidade, envolvendo a análise de diversos parâmetros por meio de variadas técnicas e métodos (Joudeh, Linke, 2022).

Um desses parâmetros é o potencial zeta, que mede a magnitude da repulsão ou atração eletrostática entre nanopartículas e pode ser usado para estudo de estabilidade e carga de superfície (Trzeciak *et al.*, 2021; Bezerra *et al.*, 2020). Altos valores de potencial zeta são desejáveis, pois a alta carga das partículas pode melhorar a estabilidade e evitar agregação devido a repulsões elétricas entre as nanopartículas (Costa *et al.*, 2023).

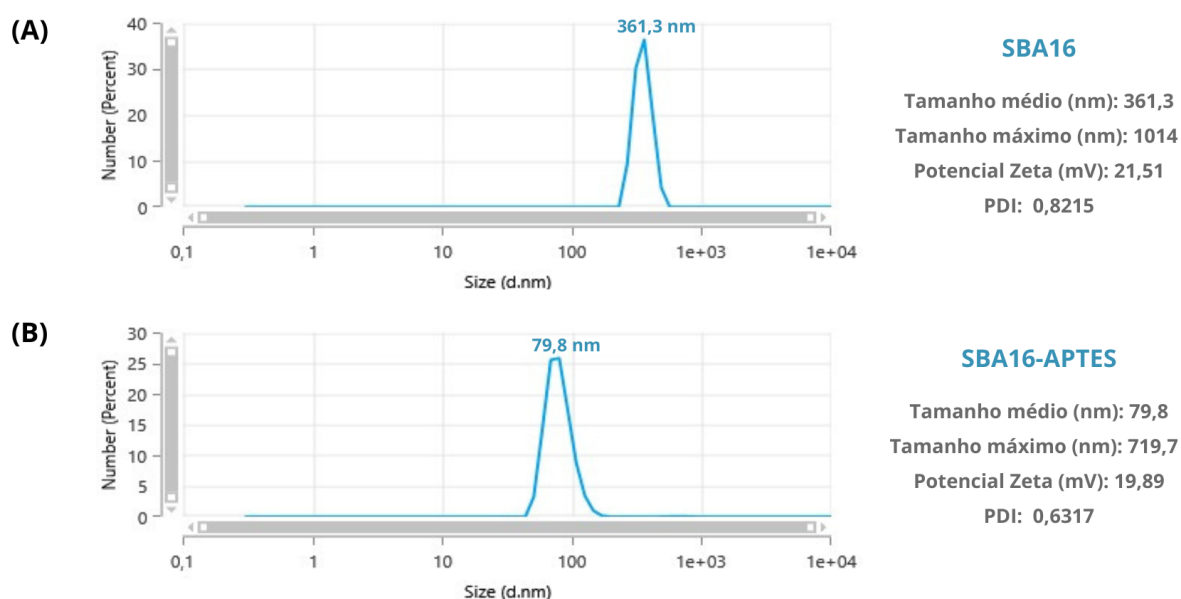
De modo geral, nanopartículas com potenciais zeta superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV são consideradas altamente estáveis. Enquanto isso, valores

entre  $\pm 0-10$  mV,  $\pm 10-20$  mV e  $\pm 20-30$  mV indicam sistemas altamente instáveis, relativamente estáveis e moderadamente estáveis, respectivamente (Trzeciak *et al.*, 2021; Joudeh, Linke, 2022).

A estabilidade das nanopartículas também está relacionada ao seu tamanho e ao índice de polidispersibilidade (PDI). Valores de PDI inferiores a 0,5 são considerados satisfatórios, visto que indicam monodispersão e homogeneidade no diâmetro médio das amostras. Acima desse valor, pode haver indícios de agregação no sistema. Já o tamanho das nanopartículas também vai influenciar diretamente sua difusão, absorção celular, área de superfície e toxicidade (Costa *et al.*, 2023).

Neste âmbito, o conjunto de dados de potencial zeta, PDI e tamanho contribui para a elucidação da carga superficial, uniformidade e estabilidade das nanopartículas (Joudeh, Linke, 2022). A nanopartícula SBA16 apresentou potencial zeta de +21,51 mV e PDI de 0,8215, indicando estabilidade moderada, mas com tendência significativa à agregação em função do PDI elevado. O tamanho das partículas apresentou distribuição heterogênea, com média de 361,3 nm e presença de partículas maiores, alcançando até 1014 nm (Figura 23A). Este comportamento pode ser atribuído à instabilidade e à formação de aglomerados, comprometendo a uniformidade do sistema.

Figura 23 - Distribuição de tamanho de partícula de **(A)** SBA16 e **(B)** SBA16-APTES



Fonte: Autoria própria.

Tamanhos elevados podem dificultar a internalização pelas células microbianas, sendo descrito, por exemplo, que a faixa ideal para controle de biofilmes situa-se entre 5 e 200 nm, preferencialmente abaixo de 500 nm (He *et al.*, 2022). Assim, o tamanho heterogêneo e elevado da SBA16 devido à presença de material agrupado pode limitar sua eficiência antimicrobianas, uma vez que a internalização celular pode ser dificultada para frações maiores.

No caso das nanopartículas SBA16-APTES, obtido na condição 2, obteve-se potencial zeta de +19,89 mV, indicando uma leve redução na estabilidade em comparação à SBA16. O PDI foi de 0,6317, ainda elevado e indicativo de polidispersão e agregação, porém inferior ao observado para a sílica pura. O tamanho das partículas variou de 79,8 nm até 719,7 nm, indicando que a funcionalização contribuiu parcialmente para a redução do tamanho médio e diminuição da agregação (Figura 23B). Apesar dessa redução, a amostra ainda apresentou heterogeneidade e presença de aglomerados.

Ruiz-Rico *et al.* (2017) estudaram a incorporação de componentes de óleos essenciais em nanopartículas de sílica amorfa, pirogênica e do tipo MCM-41. Foram utilizados vanilina, carvacrol, eugenol e timol, sendo que os três últimos foram previamente modificados quimicamente por introdução de grupos aldeído antes da incorporação. Na caracterização, os sistemas apresentaram potenciais zeta variando de  $-8,45 \pm 0,7$  mV a  $-15,8 \pm 1,3$  mV, indicando condições de alta a relativa instabilidade. Além disso, foram observados tamanhos de partícula superiores a 2  $\mu$ m, dimensão consideravelmente elevada que pode dificultar a internalização pelos microrganismos.

A tendência de agregação de nanopartículas, associada aos baixos valores de potencial zeta, pode ser intensificada pela interação com componentes do meio de cultivo, levando à formação de aglomerados que limitam a endocitose bacteriana e restringem a atividade antimicrobiana ao contato superficial (Ruiz-Rico *et al.*, 2017). Nesse contexto, os resultados obtidos neste trabalho demonstram que, apesar da funcionalização com APTES ter contribuído para a redução parcial do tamanho médio e do grau de agregação, as nanopartículas ainda apresentaram valores elevados de PDI e heterogeneidade, características que podem impactar seu desempenho biológico.

### 5.2.3 Análise de Adsorção e Dessorção Gasosa (BET e BJH)

O método BET (Brunauer–Emmett–Teller) é amplamente utilizado para determinar a área de superfície de nanopartículas. Baseia-se na criação de um vácuo parcial para promover a adsorção de gás nitrogênio ( $N_2$ ) na superfície do material. Para garantir uma interação eficaz entre o gás e a superfície, a amostra é resfriada com nitrogênio líquido. Após as camadas de adsorção serem formadas, a amostra é retirada da atmosfera de  $N_2$  e aquecida, liberando o gás adsorvido, que é então quantificado. Os dados obtidos são representados por isotermas de adsorção, classificadas em quatro tipos principais (I, II, III e IV), fornecendo informações sobre as características do material (Khan; Saeed; Khan, 2019; Joudeh, Linke, 2022).

Para complementar a análise, o método BJH (Barrett–Joyner–Halenda) é amplamente utilizado para investigar a porosidade das nanopartículas. Esse método estende o processo de adsorção de  $N_2$  até o ponto de saturação, no qual os poros são completamente preenchidos. Após atingir a saturação, o gás é liberado e os dados obtidos são utilizados para calcular o tamanho dos poros e outras características estruturais do material (Joudeh, Linke, 2022).

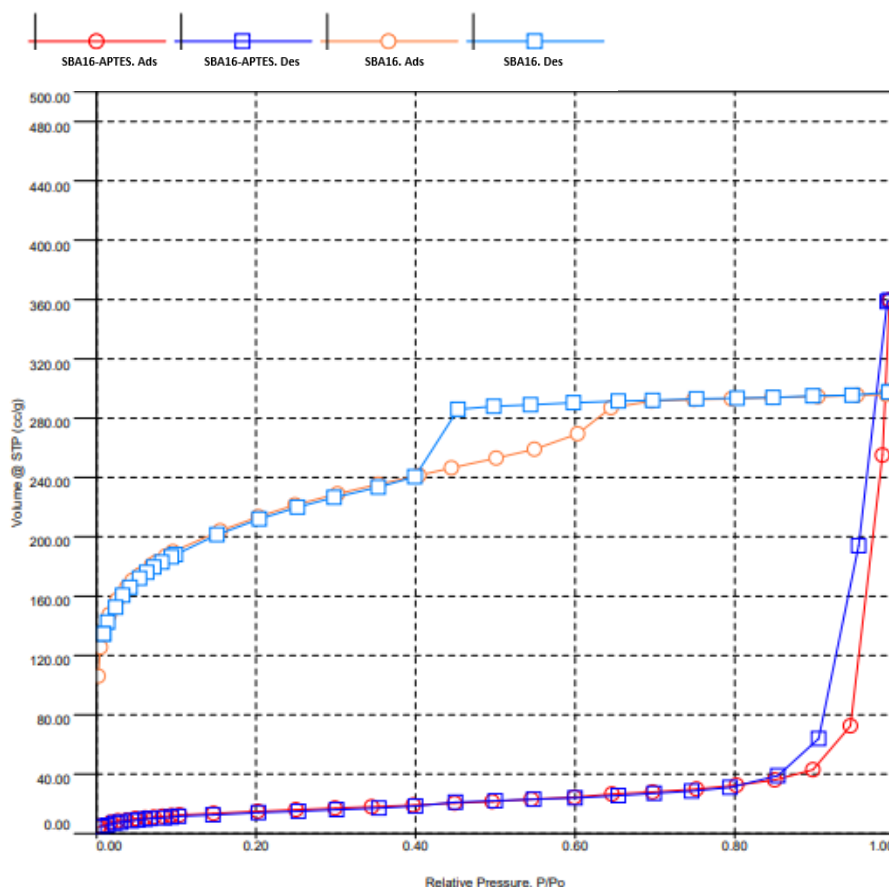
Os dados obtidos revelam que a amostra SBA16 apresentou área superficial de 680,522  $m^2/g$  e diâmetro médio de poros de aproximadamente 5,60 nm. Por sua vez, a matriz SBA16-APTES exibiu área de 54,175  $m^2/g$  e diâmetro médio de poros em torno de 4,87 nm. Nota-se que a funcionalização da matriz SBA16 resultou em uma redução significativa da área superficial, da ordem de 92%. O decréscimo expressivo é normal e pode ser atribuído à ocupação dos poros pelos grupos orgânicos do APTES, que bloqueiam parcialmente os canais mesoporosos, dificultando o acesso do gás adsorvente durante a análise (Goscianska *et al.*, 2017).

Assim, embora acentuada, essa redução da área superficial está em consonância com dados da literatura, como observado por Goscianska *et al.* (2017), que relataram queda de aproximadamente 70% na área superficial após funcionalização com APTES (de 740 para 220  $m^2/g$ ). Além disso, ressalta-se ainda que os valores de diâmetro médio dos poros revelam que ambos os materiais se enquadram na faixa mesoporosa, com poros entre 2 e 50 nm, mesmo após as modificações.

A histerese gerada entre a curva de adsorção e dessorção da amostra SBA16 e SBA16-APTES (condição 1) é mostrada na Figura 24. As curvas obtidas exibem

uma característica típica das isotermas dos tipos IV, característica de materiais mesoporos (Bansal; Sharma; Mohanty, 2020).

Figura 24 - Análise de adsorção pelo método BET das amostras de SBA16 e SBA16-APTES



Fonte: Autoria própria.

#### 5.2.4 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

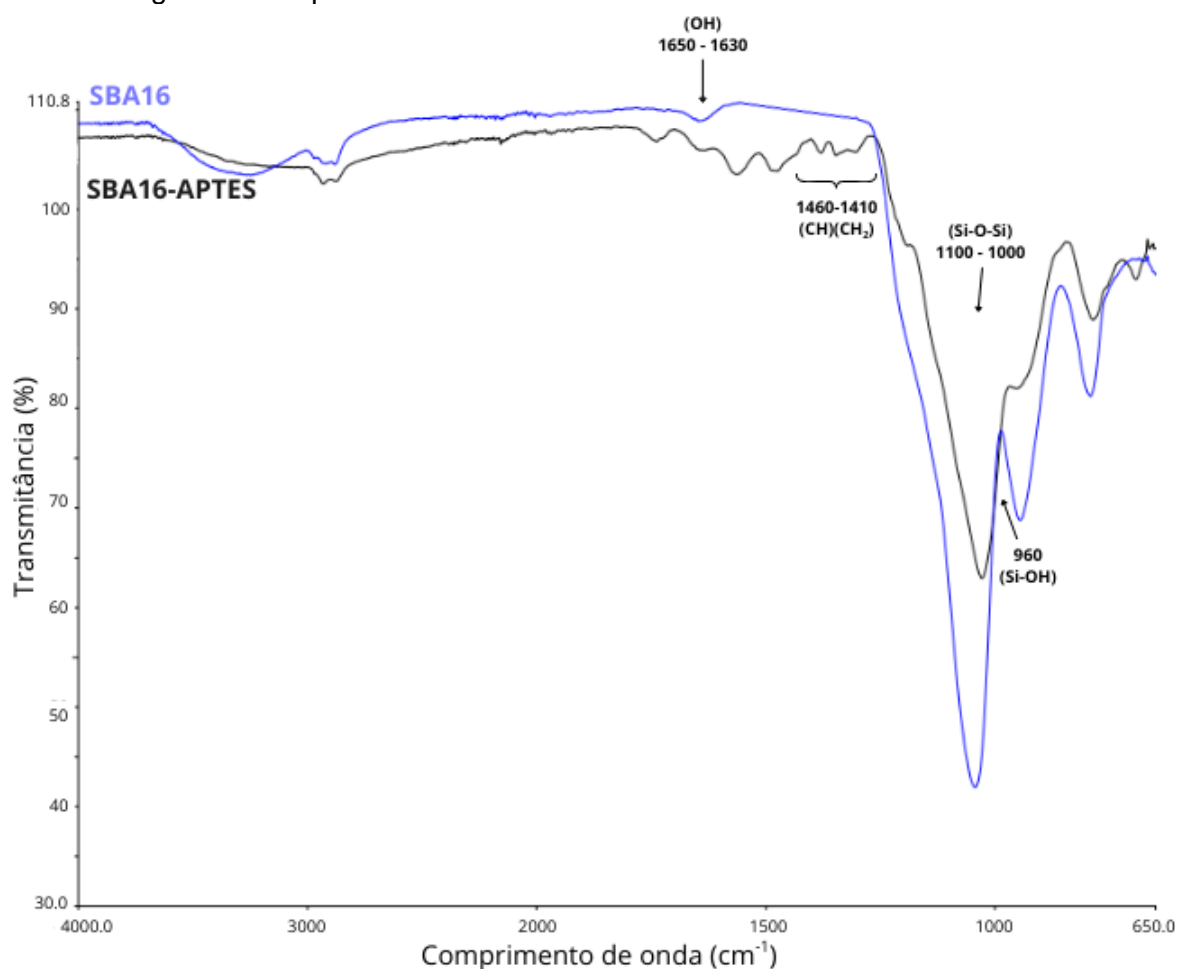
Para determinar a composição química das matrizes SBA16 e SBA16-APTES (condição 2), utilizou-se a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. Essa técnica baseia-se na absorção da radiação infravermelha pelas amostras, cujo comprimento de onda da luz absorvida é específico para cada tipo de ligação química existente no material, possibilitando a identificação dos grupamentos funcionais presentes (Aulifa *et al.*, 2024).

Os espectros FTIR das amostras estão apresentados na Figura 25. Conforme observa-se, em todas as amostras foi possível notar uma banda estreita com comprimento de onda entre  $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao estiramento vibracional dos grupos silano (Si-O-Si). Em ambos materiais também se localiza uma banda vibracional em  $960\text{ cm}^{-1}$ , correspondente aos grupos silanol (Si-OH), embora com

menor intensidade no SBA16-APTES, devido à sua parcial eliminação durante o processo de funcionalização.

Além disso, ao comparar os espectros, nota-se no SBA16 uma banda entre 1650–1630  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao grupo hidroxila, cuja intensidade é reduzida no SBA16-APTES, resultado da adsorção de grupos orgânicos na superfície da sílica. Outro indicativo da funcionalização é a presença de uma banda entre 1460–1410  $\text{cm}^{-1}$ , relacionada às ligações C–C do grupo etílico ( $\text{CH}-\text{CH}_2$ ), ausente no material não funcionalizado.

Figura 25 - Espectros de FTIR de amostras de SBA16 e SBA16-APTES



Fonte: Autoria própria.

As bandas identificadas nos espectros estão em consonância com os dados reportados por Andrade *et al.* (2013), Soares *et al.* (2021) e Leão *et al.* (2021). Diante da concordância entre os resultados obtidos e os descritos na literatura,

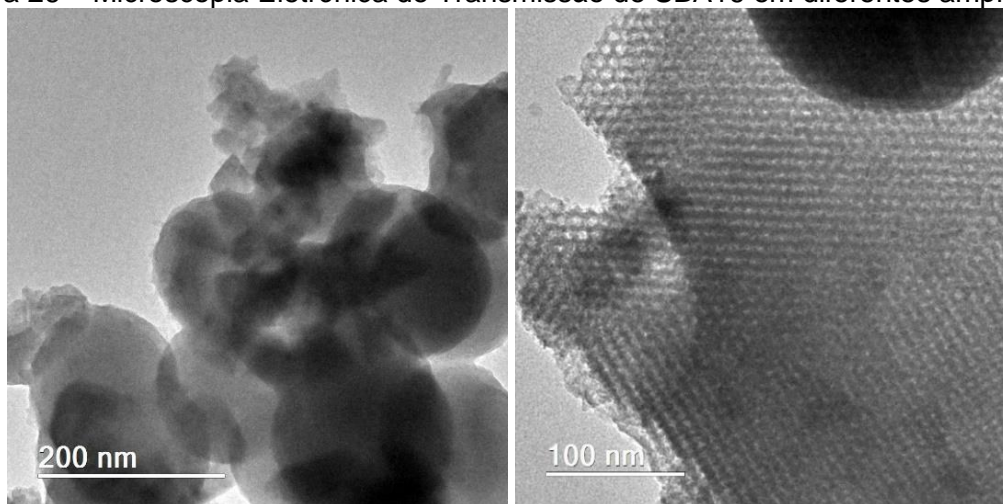
infere-se que a ancoragem do APTES ocorreu de forma eficaz, resultando na formação de grupos Si–O–Si–R na estrutura do material funcionalizado.

### 5.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) é uma técnica amplamente utilizada para caracterizar nanomateriais, fornecendo informações detalhadas sobre sua estrutura e arquitetura de poros. Ela opera transmitindo um feixe de elétrons através de amostras extremamente finas, permitindo a obtenção de imagens com alta resolução. Essa capacidade torna a MET uma ferramenta essencial para a análise precisa da morfologia e organização de materiais em escala nanométrica, incluindo MSNs (Trzeciak *et al.*, 2021; Joudeh, Linke, 2022).

A Figura 26 apresenta micrografias obtidas pela técnica MET para amostra de SBA16.

Figura 26 – Microscopia Eletrônica de Transmissão de SBA16 em diferentes ampliações



Fonte: Autoria própria.

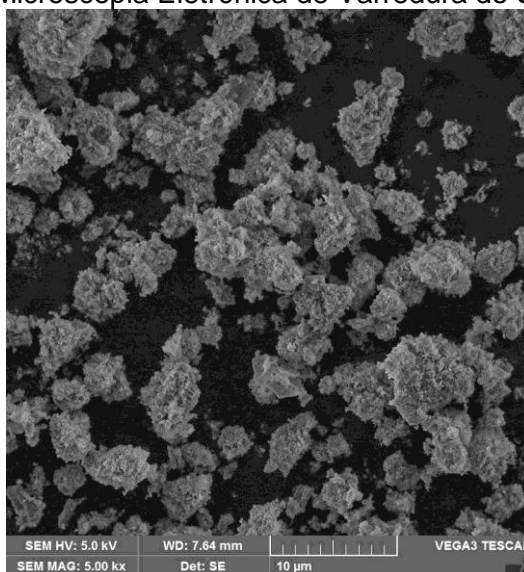
As micrografias evidenciam uma ordenação bem definida de poros na matriz de sílica, característica típica de materiais mesoporosos, sugerindo a obtenção de uma estrutura compatível com o SBA16. A organização uniforme e o tamanho homogêneo dos poros indicam um material potencialmente adequado para a incorporação de diversas moléculas bioativas.

### 5.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), um feixe de elétrons gerado por um canhão eletrônico é direcionado verticalmente por um sistema de lentes até atingir a amostra. A interação do feixe com a superfície provoca a emissão de elétrons e raios X, que são coletados por detectores e utilizados para formar imagens tridimensionais de alta resolução. A técnica permite obter informações sobre as nanopartículas, como forma, agregação e dispersão (Joudeh, Linke, 2022).

Na Figura 27, está disponível uma imagem obtida pelo MEV para amostra de SBA16, com ampliação de 5.000x. Observa-se uma tendência à aglomeração do material, com partículas de morfologias e dimensões variadas. Os aglomerados, com tamanho de poucos micrômetros, dificultam a visualização individual e identificação do tamanho das nanopartículas constituintes.

Figura 27 – Microscopia Eletrônica de Varredura de SBA16



Fonte: Autoria própria.

A presença desses aglomerados está em concordância com as análises físico-químicas anteriormente detalhadas, no qual o PDI de SBA16 se mostrou superior ao valor considerado adequado para amostras monodispersas. No entanto, apesar da limitação pelo MEV quanto à distinção individual das partículas devido à aglomeração do material, informações mais detalhadas sobre a morfologia já haviam sido previamente obtidas por meio de MET, conforme apresentado anteriormente.

## 5.3 Estudo Microbiológico

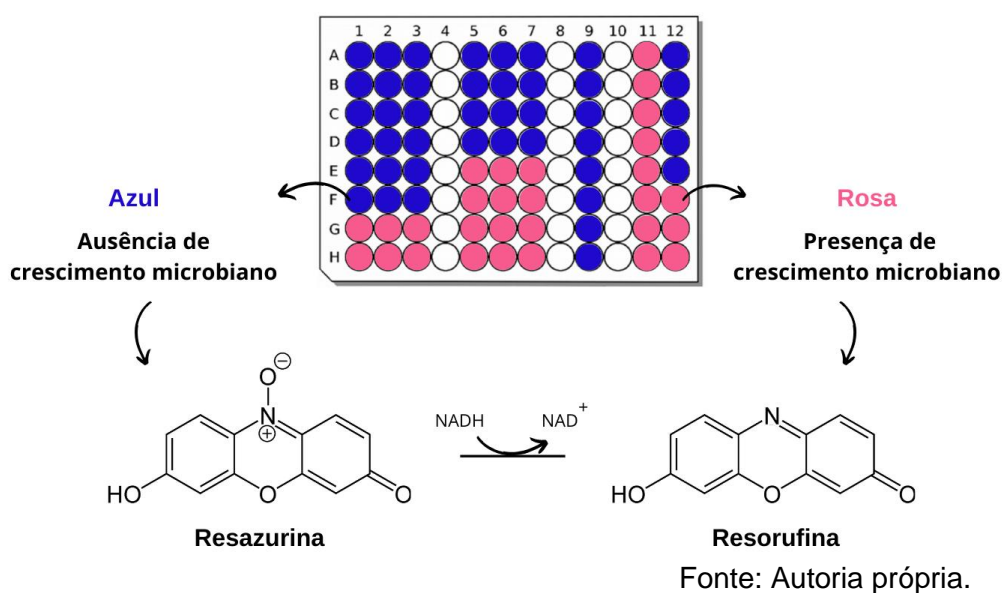
### 5.3.1 Concentração Mínima Inibitória

Para determinar a menor concentração dos compostos livres e incorporados nos nanomateriais que é capaz de inibir o crescimento microbiano detectado a olho nú, utilizou-se o método de microdiluição (Tariq *et al.*, 2019). Esse método é padronizado, preciso e de fácil execução, sendo ainda aprimorado pela adição de corantes indicadores redox, os quais ajudam a superar desafios relacionados à baixa solubilidade de certas substâncias (Elshikh *et al.*, 2016).

Entre esses corantes, destaca-se a resazurina, amplamente empregada em ensaios de triagem antibacteriana, incluindo aqueles com fitoquímicos, devido à sua função como indicador de crescimento microbiano. Inicialmente azul, esse corante é irreversivelmente reduzido por oxirredutases presentes em células viáveis, formando resorufina fluorescente, de coloração rosa. Essa mudança de cor fornece uma medida quantificável e direta da atividade metabólica microbiana (Elshikh *et al.*, 2016; Teh *et al.*, 2017; Morellá-Aucejo *et al.* 2024).

A Figura 28 ilustra esse processo de redução e, conseqüentemente, mudança de cor na placa de microdiluição.

Figura 28 - Conversão da resazurina em resorufina



### 5.3.1.1 CMI do Farnesol livre e incorporado

Os ensaios demonstraram que o (*E,E*)-Farnesol possui uma atividade antibacteriana significativa frente às cepas gram-positivas analisadas, apresentando valores de CMI entre 32 e 64 µg/mL. Inclusive, verificou-se que essa molécula foi mais eficaz contra aquelas bactérias que apresentam genes de resistência (Tabela 2). Achados semelhantes já foram reportados na literatura, destacando a sua ação superior frente a diversas cepas resistentes em comparação a cepas sensíveis de *S. aureus* (Lopes *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022).

Tabela 2 - CMI do Farnesol livre

	CMI (µg/mL)	
	( <i>E,E</i> )-FARNESOL	CONTROLE POSITIVO
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	64	Vanco: 4
HU25	32	Vanco: 2
SM090	32	Vanco: 2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	> 512	Cipro: 0,031
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	> 512	Cipro: 1
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	512	Fluconazol: 4

Fonte: Autoria própria.

Por outro lado, o (*E,E*)-Farnesol não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento das cepas bacterianas gram-negativas testadas. Esses achados estão em concordância com outros estudos da literatura, que também indicam a ineficácia desta molécula frente a diferentes cepas de espécies gram-negativas, como *Acinetobacter baumannii* e *K. pneumoniae* (Delmondes *et al.*, 2019; Lopes *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2023). Outros componentes de OE, como o timol, também parecem ter maior atividade contra gram-positivas do que gram-negativas (Cáceres *et al.*, 2020). Esse mesmo dado também foi observado com os óleos de vetiver e de sândalo (Nowacka, Kowalewska, Kręgiel, 2020).

De forma geral, esse comportamento tem sido parcialmente associado à capacidade desses fitocompostos de desestabilizar a membrana plasmática, efeito que tende a ser menos eficaz em bactérias gram-negativas devido à presença de uma membrana externa, que representa uma barreira extra para passagem (Ruiz-

Rico *et al.*, 2017; Cáceres *et al.*, 2020). Outro pressuposto, por outro ângulo, é que a membrana de bactérias gram-positivas contém ácido lipoteicóico, cujas porções lipofílicas poderiam facilitar a incorporação de compostos hidrofóbicos naturais ao interior celular (Ivanova *et al.*, 2022).

No caso da cepa fúngica, o terpeno em estudo apresentou CMI de 512 µg/mL, valor superior ao reportado por Costa *et al.* (2025), que encontrou CMI de 73,25 µg/mL frente à mesma estirpe. Essa discrepância pode estar associada a diferentes fatores experimentais, como variações na pureza do composto, diferenças metodológicas, condições de cultivo e variabilidade da cepa utilizada (Mouton *et al.*, 2018).

Na continuidade da investigação da atividade antimicrobiana, foram avaliadas as nanopartículas nas formas pura e somente funcionalizada, SBA16 e SBA16-APTES, respectivamente. Nenhuma delas apresentou atividade contra as cepas bacterianas testadas. Resultados semelhantes foram reportados por Mora *et al.* (2021), corroborando a ausência de efeito inibitório dessas estruturas na ausência de agentes bioativos incorporados.

As nanopartículas funcionalizadas e carregadas com Farnesol (SBA16-APTES-FAR), obtidas nas condições experimentais 1 e 2, também não apresentaram CMI detectável frente às cepas bacterianas avaliadas. A ausência de atividade antimicrobiana mensurável pode estar associada, principalmente, à baixa solubilidade do Farnesol no meio aquoso utilizado nos ensaios microbiológicos, o que compromete sua liberação a partir da matriz de sílica mesoporosa.

A liberação de moléculas incorporadas em nanopartículas de sílica depende fortemente de fatores como a afinidade do fármaco pela matriz e, sobretudo, a solubilidade do composto no meio de liberação (McCarthy *et al.*, 2016). Nesse contexto, compostos hidrofóbicos tendem a apresentar interações mais fortes com as paredes dos poros e com grupos orgânicos introduzidos por funcionalização, o que pode resultar em um perfil de liberação lento ou mesmo incompleto em meios aquosos (Benkő; Kristó; Sovány, 2025).

Corroborando essa hipótese, Zaharudin *et al.* (2020) compararam a liberação de um fármaco hidrofílico (gencitabina) e de um fármaco hidrofóbico (quercetina) a partir de MSNs não modificadas e funcionalizadas. Os autores observaram que a quercetina apresentou uma taxa de liberação significativamente mais lenta em comparação à gencitabina, inclusive em MSNs funcionalizadas com APTES, mesmo

após 48 horas de incubação em pH 7,4. Esses resultados indicam que moléculas apolares podem encontrar maior dificuldade para se desprender da matriz mesoporosa e se difundir no meio de cultura, mesmo na presença de proteínas.

Adicionalmente, estudos indicam que altas cargas de moléculas hidrofóbicas podem intensificar esse efeito, uma vez que o preenchimento excessivo dos poros pode reduzir a molhabilidade da matriz e dificultar o contato do sistema com o meio aquoso, resultando em liberação limitada ou inexistente (Maleki *et al.*, 2017). Dessa forma, a ausência de CMI detectável para o sistema SBA16-APTES-FAR não necessariamente reflete a ineficácia intrínseca do Farnesol, mas sim uma limitação físico-química do sistema de liberação nas condições experimentais empregadas.

Além disso, também se supõe que a ausência de atividade esteja relacionada à limitação experimental causada pela rápida precipitação do material durante o ensaio. Observou-se que, logo após a homogeneização em vortex, a suspensão decantava rapidamente, dificultando a transferência da amostra da pipeta para os poços da placa de microdiluição, o que pode ter interferido na precisão dos resultados obtidos.

Diante dessa limitação, optou-se por avaliar a atividade antibacteriana da nanopartícula SBA16-APTES-FAR por meio de ensaio de formação de biofilme, não utilizando o material em suspensão, mas sim considerando seu peso. Dessa forma, a dosagem foi calculada com base na proporção de Farnesol presente na nanopartícula, de modo que fosse pesada uma massa de SBA16-APTES-FAR correspondente à quantidade equivalente a  $\frac{1}{2}$  da CMI do terpeno frente ao microrganismo em estudo. Para esse ensaio, utilizou-se o material obtido na condição 2 de síntese, na qual se obteve 0,3058  $\mu\text{g}$  de Farnesol por micrograma de sílica funcionalizada.

#### 5.3.1.2 CMI da Ciprofloxacina livre e incorporada

No estudo do efeito bacteriostático da Ciprofloxacina, selecionaram-se duas cepas de referência, sendo uma gram-positiva (*S. aureus* ATCC 25923) e uma gram-negativa (*E. coli* ATCC 25922), além de uma cepa clínica resistente, a HU25. Diferentemente do ensaio realizado com o composto natural Farnesol, não foi incluída a avaliação frente à *C. albicans*, uma vez que o composto sintético em questão apresenta atividade reconhecida e direcionada principalmente contra

bactérias. A Tabela 3 apresenta os valores de CMI da Ciprofloxacina livre e dos nanomateriais SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO.

Tabela 3 - CMI da Ciprofloxacina livre e incorporada

	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )			CONTROLE POSITIVO
	CIPROFLOXACINA LIVRE	SBA16-CIPRO	SBA16-APTES-CIPRO	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1,563	0,1664	0,1446	Vanco: 4
HU25	100	0,6655	0,2892	Vanco: 2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,031	0,0052	0,0045	Cipro: 0,031

Fonte: Autoria própria.

Como observado na Tabela 3, a Ciprofloxacina livre apresentou desempenho mais favorável frente à bactéria gram-negativa testada, alcançando uma CMI de 0,031  $\mu\text{g/mL}$ . Esse valor está próximo ao encontrado em investigações anteriores, como no trabalho de Aziz *et al.* (2022) e Dong *et al.* (2019) com CMI detectado de 0,013  $\mu\text{g/mL}$  e 0,015  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, para a mesma cepa deste estudo. Além disso, Jakobsen, Lundberg e Frimodt-Møller (2020) avaliaram a cepa *E. coli* UVI-86, um isolado desprovido de mecanismos de resistência, e observaram uma CMI de 0,032  $\mu\text{g/mL}$ .

Em relação à *S. aureus*, a Ciprofloxacina apresentou CMI de 1,563  $\mu\text{g/mL}$ , valor próximo ao reportado em estudos prévios para a cepa *S. aureus* ATCC 6538, indicando uma atividade inibitória moderada (Aziz *et al.*, 2022). Adicionalmente, observou-se uma atividade consideravelmente reduzida contra a cepa clínica HU25, que, embora não seja resistente propriamente à Ciprofloxacina, apresenta um perfil de maior tolerância ao fármaco quando comparada às demais cepas. Esse comportamento evidencia a limitação desse fármaco em sua forma livre frente a isolados clínicos de *S. aureus* e reforça a necessidade de explorar novas estratégias capazes de ampliar sua eficácia contra esse grupo de bactérias resistentes.

Já os sistemas nanoestruturados apresentaram uma expressiva melhora da atividade antimicrobiana quando comparados à Ciprofloxacina livre. Para *S. aureus* ATCC 25923, a redução da CMI foi de 89,36% para o sistema SBA16-CIPRO e de 90,74% para o SBA16-APTES-CIPRO. Frente à cepa clínica resistente HU25, o ganho de eficácia foi ainda mais pronunciado, com reduções de 99,33% e 99,71%,

respectivamente. Resultados semelhantes foram observados para *E. coli* ATCC 25922, cuja CMI foi reduzida em 83,23% no sistema SBA16-CIPRO e em 85,48% no SBA16-APTES-CIPRO.

Os resultados também revelam que o material SBA16-APTES-CIPRO apresentou melhor desempenho, uma vez que requer uma menor concentração de Ciprofloxacina para inibir o crescimento das cepas bacterianas quando comparado ao SBA16-CIPRO. Esse comportamento pode ser atribuído à funcionalização de superfície, a qual promove o aumento da hidrofiliabilidade do material, decorrente das interações específicas entre as moléculas de água e os grupos funcionais, favorecendo sua melhor dispersão e contato com o alvo (Ahmed *et al.*, 2022). Tal efeito é corroborado pelo menor PDI observado para o SBA16-APTES.

Além disso, a química da superfície é um fator que também pode influenciar na taxa de liberação de um fármaco e, conseqüentemente, no seu efeito (Zhou *et al.*, 2018). Muitos estudos observaram que materiais amino-funcionalizados apresentam taxa de liberação mais lenta que o material não funcionalizado, devido às interações do fármaco com os grupos modificados na superfície (Aulifa *et al.*, 2024). Isso contribui para uma atividade mais prolongada, mantendo a concentração de inibição por mais tempo (Zhou *et al.*, 2018; Niederquell; Vraníková; Kuentz, 2025).

Como exemplos, Ahmadi *et al.* (2014) e Martin *et al.* (2018) carregaram, respectivamente, ibuprofeno e succinato sódico de metilprednisolona em MSNs modificadas com grupo amino e observaram taxas de liberação notavelmente menores. Portanto, os resultados achados na presente investigação demonstram que a incorporação da Ciprofloxacina, especialmente quando associado à funcionalização com APTES, potencializa substancialmente a ação antibacteriana do fármaco em diferentes perfis de suscetibilidade.

Na literatura, outras pesquisas também exibem que o uso de sistemas MSNs levam a redução do CMI comparado ao fármaco livre, inclusive contra isolados clínicos (Gounani *et al.*, 2019; Li B. *et al.*, 2023). Esse caso, por exemplo, foi observado nos estudos de Memar *et al.* (2021), em que o CMI das nanopartículas mesoporosas carregadas com meropenem foram inferiores à CMI do meropenem livre contra 10 isolados clínicos de *P. aeruginosas*. Esses resultados são interessantes e revelam que as MSNs são bons sistemas *drug delivery*, com potencial de maximizar a atividade farmacológica de fármacos já consolidados.

### 5.3.2 Concentração Mínima Bactericida e Concentração Fungicida Mínima

#### 5.3.2.1 CMB/CFM do Farnesol livre e incorporado

O Farnesol livre, bem como as nanopartículas SBA16, SBA16-APTES e SBA16-APTES-FAR não apresentaram atividade bactericida ou fungicida frente a nenhuma das cepas testadas, indicam que, nas concentrações utilizadas, não foram capazes de matar os microrganismos. Assim, o Farnesol se mostrou com efeito exclusivo de inibitório da multiplicação. Essa ausência de atividade letal não deve ser interpretada como uma limitação terapêutica.

Estudos demonstram que, para diversas infecções (inclusive em quadros graves como pneumonia), a eficácia clínica de agentes bacteriostáticos é comparável à de bactericidas. Em muitos casos, o sucesso do tratamento depende mais da adequação da dose e da concentração no local da infecção do que da natureza bactericida do agente. Dessa forma, agentes bacteriostáticos permanecem como alternativas terapêuticas relevantes, sobretudo diante do aumento da resistência bacteriana aos fármacos de ação letal direta (Ishak *et al.*, 2024).

#### 5.3.2.2 CMB da Ciprofloxacina livre e incorporada

A Ciprofloxacina livre e os materiais SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO apresentaram atividade bactericida exclusivamente contra a cepa *E. coli* ATCC 25922. Os valores de CMB determinados contra essa cepa encontram-se dispostos na Tabela 4. Para as cepas gram-positivas avaliadas, nenhum dos tratamentos resultou na morte bacteriana. A ausência de efeito letal da Ciprofloxacina frente a *S. aureus* ATCC 25923 já foi previamente descrita na literatura (Kucukoglu *et al.*, 2019; Machado *et al.*, 2020).

Tabela 4 - CMB da Ciprofloxacina livre e incorporada

<b>CMB (<math>\mu\text{g/mL}</math>) contra <i>E. coli</i> ATCC 25922</b>		
<b>CIPROFLOXACINA LIVRE</b>	<b>SBA16-CIPRO</b>	<b>SBA16-APTES-CIPRO</b>
0,062	0,3327	0,0723

Fonte: Autoria própria.

Observou-se que a Ciprofloxacina livre apresentou CMB de 0,062 µg/mL frente à *E. coli*, valor correspondente ao dobro da CMI anteriormente determinado. Em estudos prévios, Espinoza *et al.* (2019) e Machado *et al.* (2020) relataram valores de CMB de 0,02 µg/mL e 2 µg/mL contra essa bactéria, respectivamente, indicando que o valor obtido no presente trabalho encontra-se dentro da faixa reportada na literatura.

A atividade bactericida dos sistemas nanoestruturados frente a *E. coli* evidencia que a incorporação do fármaco não compromete sua ação letal. Entretanto, diferentemente do observado nos ensaios de CMI, os nanomateriais não apresentaram melhora na atividade bactericida quando comparados à substância livre. De forma semelhante, Kucukoglu *et al.* (2019) relataram que um sistema baseado em quitosana e Ciprofloxacina não apresentou atividade bactericida superior à da Ciprofloxacina livre após 24h de ensaio.

Mesmo não tendo sido observado um incremento na eficiência bactericida do fármaco quando incorporada aos sistemas nanoestruturados, os resultados obtidos mostram-se promissores, com baixas concentrações. Além disso, a funcionalização com APTES voltou a se destacar como uma estratégia vantajosa, uma vez que o sistema SBA16-APTES-CIPRO apresentou uma CMB mais próxima à da Ciprofloxacina livre, conciliando elevada atividade inibitória com um efeito letal mais pronunciado.

### 5.3.3 Influência na Formação de Biofilme

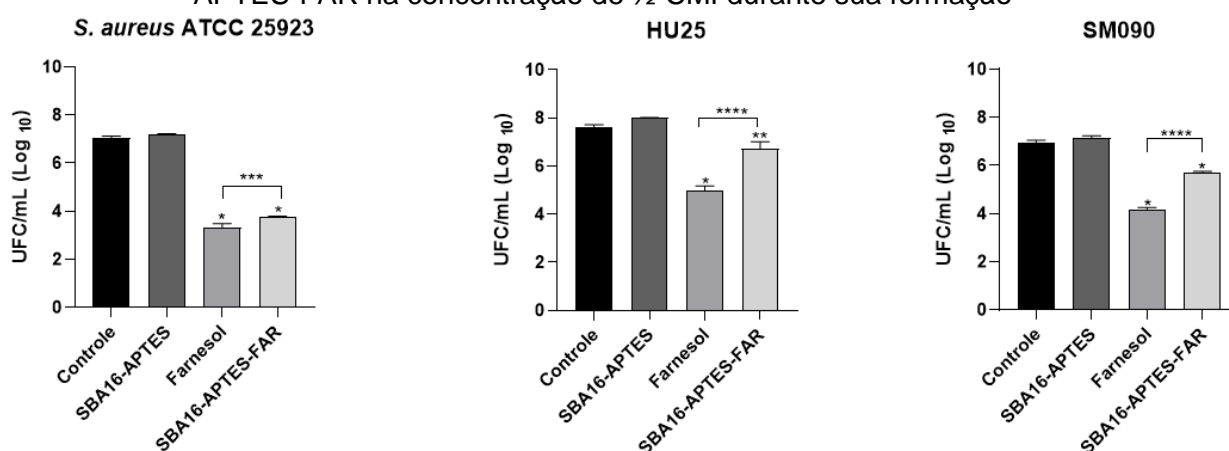
#### 5.3.3.1 Atividade antibiofilme do Farnesol livre e incorporado

A tendência natural das bactérias em formarem biofilmes refere-se a um fator importante para seu crescimento acelerado e de difícil controle (Rananaware *et al.*, 2023). Nessas estruturas organizadas, a ação dos antimicrobianos é bastante limitada, resultando em baixa biodisponibilidade e exigindo concentrações superiores para alcançar a eficácia terapêutica. Diante disso, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias que maximizem a entrega dos agentes antimicrobianos no biofilme, a fim de superar as barreiras impostas por sua matriz protetora de EPS (Aparicio-Blanco *et al.*, 2024).

Neste estudo, tanto o Farnesol livre quanto as nanopartículas SBA16-APTES-FAR, na concentração subinibitória de ½ CMI do terpeno, apresentaram potencial na

inibição dos biofilmes das bactérias gram-positivas analisadas. Além disso, observou-se que o SBA16-APTES não possui atividade antibiofilme contra nenhuma cepa estudada, resultado esperado após constatação da ausência de sua atividade antibacteriana também frente as formas planctônicas. Esses resultados estão dispostos no Gráfico 3, gerado pela contagem de unidade formadora de colônia por mililitro (UFC/mL) no ensaio de inibição de formação de biofilme.

Gráfico 3 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilmes de *S. aureus* ATCC 25923, HU25 e SM090 tratados com SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de  $\frac{1}{2}$  CMI durante sua formação



Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=6). \*  $p < 0,0001$  comparado ao controle. \*\*  $p < 0,05$  comparado ao controle. \*\*\*  $p < 0,05$  comparação entre SBA16-APTES-FAR e Farnesol. \*\*\*\*  $p < 0,0001$  comparação entre SBA16-APTES-FAR e Farnesol.

Fonte: Autoria própria.

Para as cepas *S. aureus* ATCC 25923 e SM090, os tratamentos com Farnesol e SBA16-APTES-FAR reduziram significativamente a carga bacteriana em comparação ao controle ( $p < 0,0001$ ). Frente à cepa HU25, o terpeno livre também promoveu uma redução significativa ( $p < 0,0001$ ), enquanto a nanopartícula funcionalizada e carregada apresentou uma diminuição com significância menos expressiva ( $p < 0,05$ ) quando contraposto ao grupo sem tratamento.

Na comparação direta entre os tratamentos com a molécula de interesse, o Farnesol livre foi significativamente mais eficaz que a formulação SBA16-APTES-FAR contra as cepas de HU25 e SM090 ( $p < 0,0001$ ) e contra a *S. aureus* ATCC 25923 ( $p < 0,05$ ). Assim, apesar do esperado potencial das nanopartículas para otimizar a liberação e a eficácia de compostos bioativos, esses resultados frente as cepas gram-positivas indicaram que o Farnesol livre apresentou desempenho superior ao da formulação SBA16-APTES-FAR na inibição da formação de biofilme.

Possíveis causas para menor atividade de SBA16-APTES-FAR, mesmo contendo a mesma concentração de Farnesol utilizada na forma livre, pode estar relacionada ao aprisionamento do terpeno na matriz da sílica mesoporosa, bem como à sua limitada liberação em meio aquoso. Em seu artigo, Cadena *et al.* (2018) observou que MSNs funcionalizadas com amina carreando cinemaldeído ou óleo de Ajwain não apresentaram melhor atividade que o controle sem tratamento e MSNs livres. Os autores sugerem que a limitada liberação dos compostos bioativos, possivelmente atribuída à sua menor volatilidade, comprometeu sua atividade.

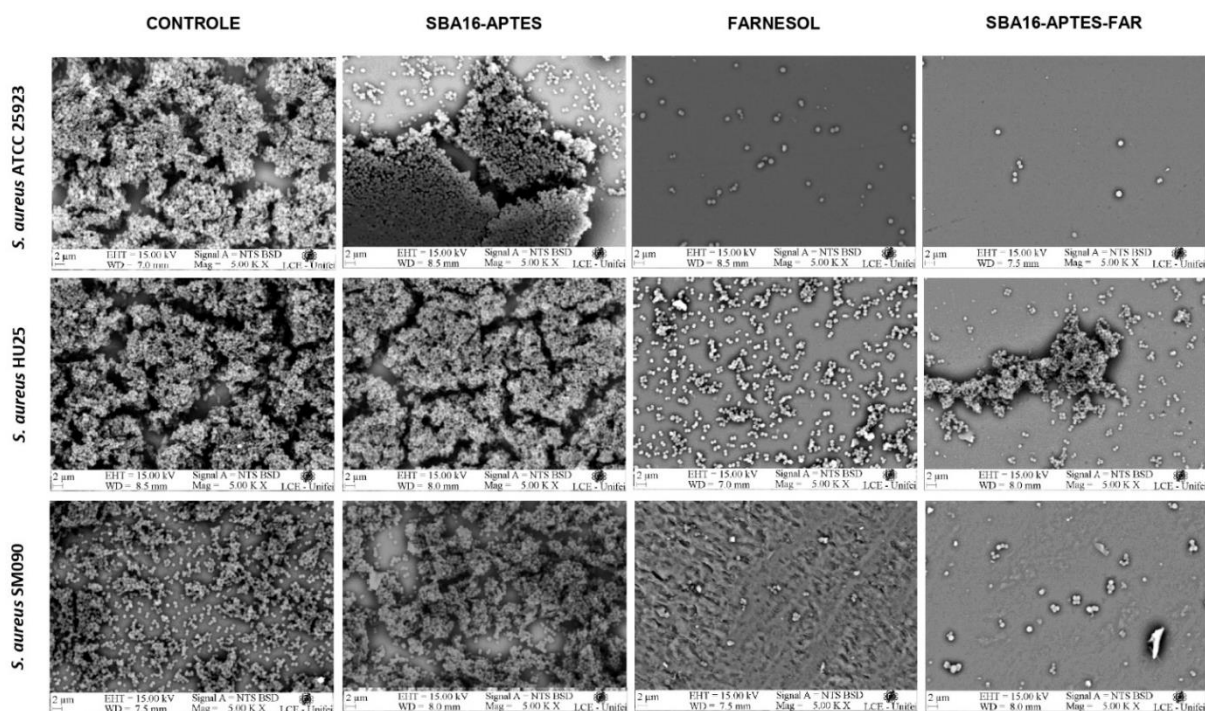
Curiosamente, esse artigo de Cadena *et al.* (2018), assim como o de Balaure *et al.* (2017), não realizou testes com as moléculas livres para fins comparativos, o que dificulta a discussão dos reais benefícios da nanoincorporação. Sem esse controle, não é possível afirmar se a atividade observada seria equivalente, inferior ou superior a ação do próprio composto. De modo que essa ausência compromete uma avaliação mais precisa da eficácia da estratégia proposta.

De modo geral, esses achados reforçam que a simples incorporação de agentes antimicrobianos em nanossistemas não garante superioridade terapêutica, sendo necessário considerar fatores como a cinética de liberação e afinidade com o meio de dissolução. No presente caso, é então plausível que o Farnesol esteja sendo liberado de forma lenta ou incompleta no intervalo de 24 horas do ensaio no meio aquoso do meio de cultura, o que poderia justificar sua atividade inferior.

Os resultados de contagem de UFC/mL e suas análises estatísticas estão em concordância com as micrografias obtidas pelas análises no MEV, disponibilizadas na Figura 29. Pode-se notar biofilme denso na amostra sem tratamento e naquelas tratadas com a sílica somente funcionalizada. Já nos tratamentos com o terpeno livre e encapsulado, nota-se visível redução na formação dos biofilmes de todas as cepas tratadas.

Ressalta-se, embora não seja o melhor cenário por conta da atividade inferior em comparação ao Farnesol livre, o desempenho do sistema SBA16-APTES-FAR não deve ser desconsiderado. A capacidade da nanopartícula em reduzir biofilmes de bactérias gram-positivas indica um potencial terapêutico relevante. Em contextos clínicos, a eficácia antimicrobiana não é o único parâmetro determinante, visto que aspectos como citotoxicidade e tempo de liberação também devem ser considerados. Assim, a nanoplataforma pode oferecer vantagens adicionais, como menor toxicidade, hipótese que poderia ser explorada em estudos futuros.

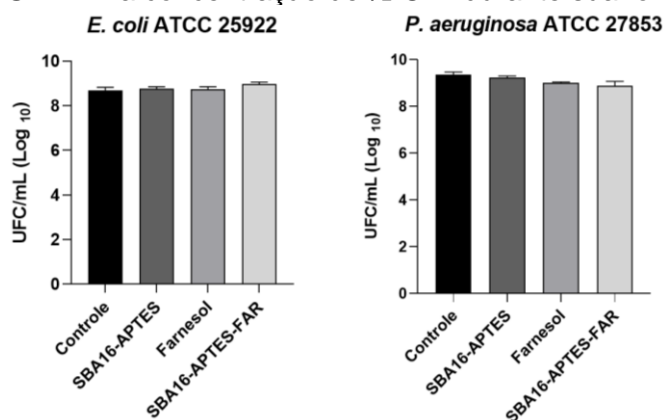
Figura 29 - Micrografias do biofilme formado por *S. aureus* ATCC 25923, HU25 e SM090, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 5.000x



Fonte: Autoria própria.

Contra as bactérias gram-negativas *E. coli* (ATCC 25923) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853) nenhum tratamento foi eficaz na redução do biofilme bacteriano, como dispõe o Gráfico 4.

Gráfico 4 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilmes de *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 tratados com SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de  $\frac{1}{2}$  CMI durante sua formação

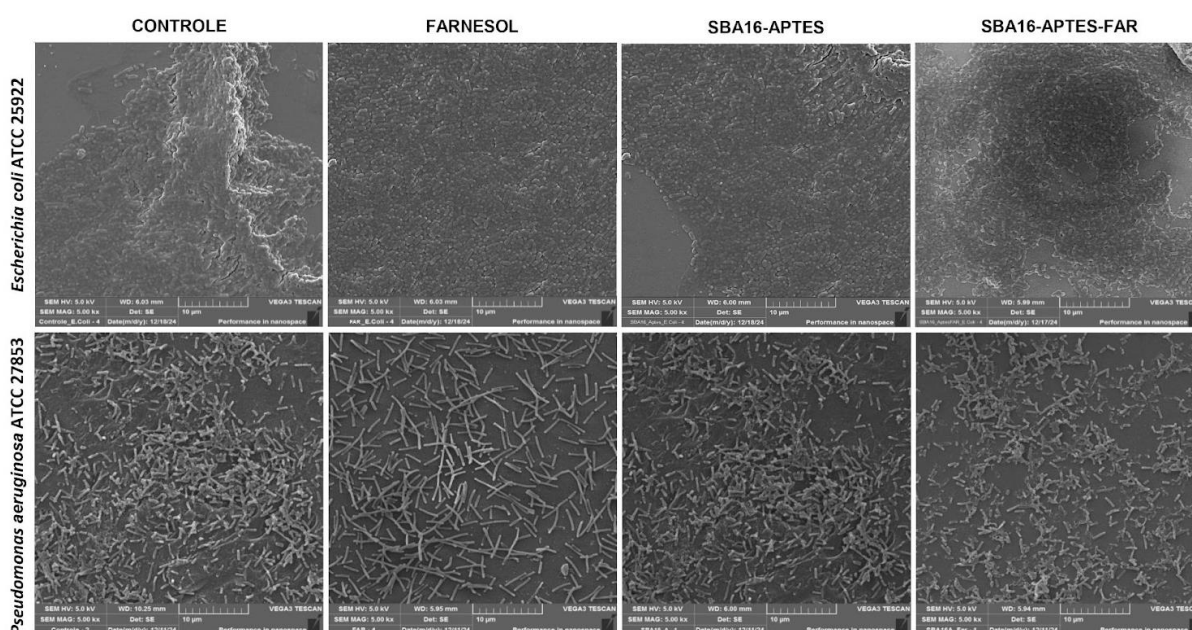


Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=6). Não houve diferença estatística significativa com  $p > 0,05$ .

Fonte: Autoria própria.

Complementando os dados de contagem, as micrografias obtidas por MEV corroboram os resultados, indicando que nenhum dos tratamentos foi eficaz na erradicação dos biofilmes formados por bactérias gram-negativas. Observa-se na Figura 30 uma densidade bacteriana semelhante entre os biofilmes tratados com SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, em comparação ao controle não tratado.

Figura 30 - Micrografias do biofilme formado por *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 5.000x



Fonte: Autoria própria.

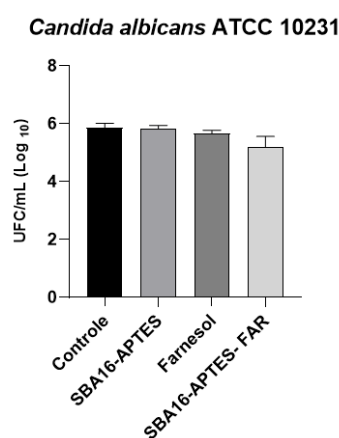
A ausência de atividade antibacteriana das nanopartículas SBA16-APTES-FAR frente às bactérias gram-negativas revela que o uso da sílica mesoporosa do tipo SBA16 com Farnesol não foi suficiente para superar os biofilmes e as barreiras estruturais dessas espécies. Assim, o uso do nanocarreador não potencializou a ação do Farnesol contra *E. coli* e *P. aeruginosa*, mantendo seu conhecido perfil de ineficácia frente a essas cepas.

Resultados semelhantes foram descritos por Lange *et al.* (2024), que avaliaram nanopartículas metálicas (Ag, Au, Cu e Zn) carregadas com Farnesol. Apesar da boa eficácia contra bactérias gram-positivas, esses nanocompósitos apresentaram resposta limitada frente às gram-negativas (mesmas cepas deste estudo). Em *E. coli*, por exemplo, o número de células viáveis foi similar ao do controle, embora ocorressem discretas alterações morfológicas. Para *P. aeruginosa*,

o tratamento com CuF e ZnOF resultou apenas em biofilme ligeiramente mais delgado, mas sem redução expressiva na viabilidade.

Por fim, contra a cepa fúngica também não foi observada atividade antibiofilme por nenhum tratamento, como disposto no Gráfico 5 e Figura 31, na qual tem-se micrografias com ampliação de 10.000x.

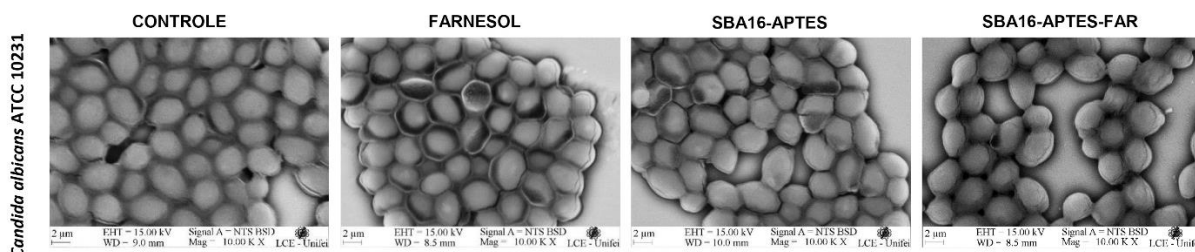
Gráfico 5 - Quantificação de unidades formadoras de colônias no biofilme de *C. albicans* ATCC 10231 tratados com SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR na concentração de  $\frac{1}{2}$  CMI durante sua formação



Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=6). Não houve diferença estatística significativa com  $p > 0,05$ .

Fonte: Autoria própria.

Figura 31 - Micrografias do biofilme formado por *C. albicans* ATCC 10231, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, (*E,E*)-Farnesol e SBA16-APTES-FAR, com ampliação de 10.000x



Fonte: Autoria própria.

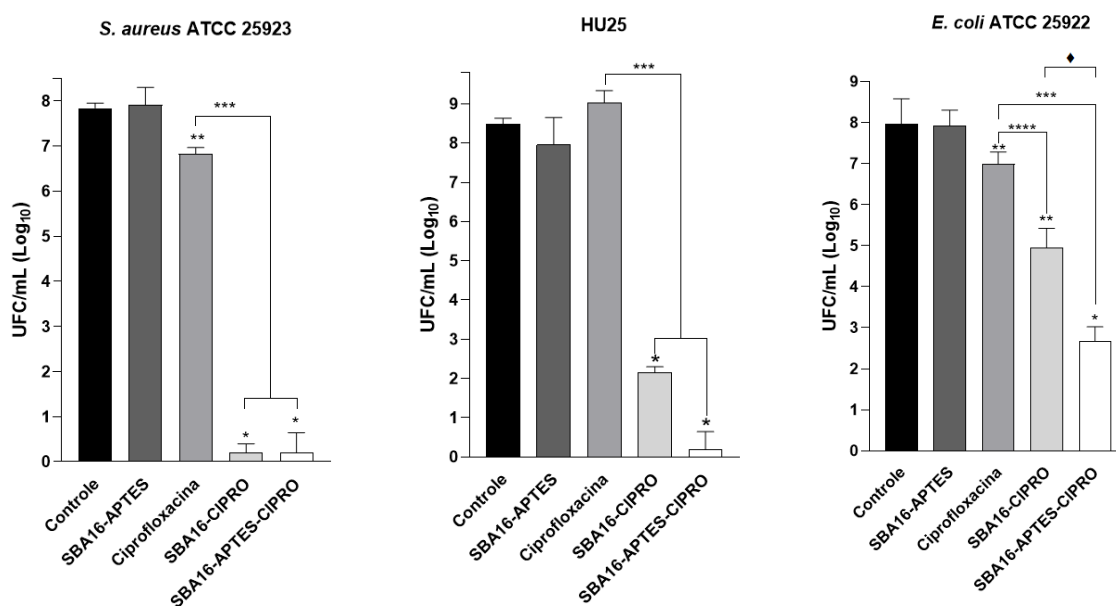
Apesar de existirem relatos na literatura descrevendo atividade antibiofilme do Farnesol frente a *C. albicans*, a ausência de efeito observada neste estudo pode estar relacionada às diferenças metodológicas adotadas, especialmente ao uso de uma concentração subinibitória equivalente ( $\frac{1}{2}$  CMI). Nessa condição, a quantidade

de composto disponível pode não ter sido suficiente para interferir de forma significativa na formação do biofilme. Como exemplo, Costa *et al.* (2025) relataram resultados expressivos de inibição de biofilme dessa cepa ao empregar esse terpeno tanto na forma livre quanto encapsulada em nanopartículas de quitosana, porém utilizando-o em sua CMI. Somado a isso, nota-se que uso do nanossistema de sílica não auxiliou na implementação de um efeito antibiofilme ao Farnesol frente a essa cepa.

### 5.3.3.2 Atividade antibiofilme da Ciprofloxacina livre e incorporada

O resultado da contagem de unidade formadora de colônia por mililitro (UFC/mL) da Ciprofloxacina livre e incorporada nas nanopartículas de sílica mesoporosas é apresentado no Gráfico 6. No geral, é possível observar que os nanomateriais SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO levaram a redução da formação de biofilme das três cepas estudadas, enquanto que o material sem a substância ativa (SBA16-APTES) não apresenta atividade.

Gráfico 6 - Quantificação de unidades formadoras de colônias nos biofilmes de *S. aureus* ATCC 25923, HU25 e *E. coli* ATCC 25922 tratados com SBA16-APTES, Ciprofloxacina, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO na concentração de ½ CMI durante sua formação



Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=6). \*  $p < 0,0001$  comparado ao controle. \*\*  $p < 0,05$  comparado ao controle. \*\*\*  $p < 0,0001$  comparado a Ciprofloxacina. \*\*\*\*  $p < 0,05$  comparado a Ciprofloxacina.  $\blacklozenge$   $p < 0,05$  comparação entre SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO.

Fonte: Autoria própria.

Contra a cepa *S. aureus* ATCC 25923, a Ciprofloxacina e os nanomateriais, ambos na concentração correspondente à  $\frac{1}{2}$  CMI, promoveram inibição significativa da formação do biofilme. Destaca-se, inclusive, que os sistemas nanoestruturados apresentaram efeito antibiofilme significativamente mais expressivo ( $p < 0,001$ ) quando comparados ao antibiótico livre. Além disso, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO nesse ensaio.

Resultados parecidos têm sido descritos para outros sistemas nanoestruturados, como nanopartículas de PLGA carregadas com Ciprofloxacina, que demonstraram maior eficácia antibiofilme em comparação ao fármaco livre (Yayehrad; Wondie; Marew, 2022). Esse comportamento sugere que a incorporação da Ciprofloxacina em nanocarreadores pode favorecer sua penetração na matriz extracelular do biofilme e aumentar sua biodisponibilidade nas microcolônias bacterianas, potencializando sua ação antimicrobiana (Memar *et al.*, 2018; Alandiyjany *et al.*, 2022; Sil *et al.*, 2024).

Em relação à cepa clínica resistente HU25, a Ciprofloxacina, na concentração testada, não foi capaz de interferir na consolidação da arquitetura do biofilme. Em contraste, ambos os sistemas nanoestruturados apresentaram atividade antibiofilme significativa, com redução expressiva em relação ao controle e ao antibiótico livre ( $p < 0,001$ ). Assim como observado para a cepa de referência gram-positiva, também não foi detectada diferença significativa entre SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO.

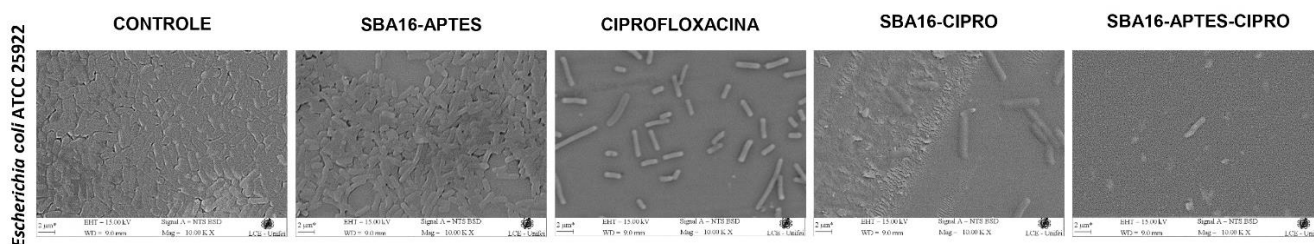
Achados semelhantes foram reportados por Alandiyjany *et al.* (2022), que avaliaram MSNs carregadas com Ciprofloxacina contra biofilmes de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, previamente caracterizada como multirresistente. Nesse estudo, a Ciprofloxacina livre também não promoveu redução significativa do biofilme, enquanto sua incorporação em MSN resultou em eliminação superior a 50%, corroborando o potencial desses sistemas frente a cepas resistentes.

Para a bactéria gram-negativa *E. coli*, o tratamento com SBA16-APTES-CIPRO promoveu a maior inibição da formação do biofilme, apresentando diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $p < 0,0001$ ). A Ciprofloxacina livre e o SBA16-CIPRO também interferiram na formação do biofilme, porém de forma menos pronunciada ( $p < 0,05$ ). Diferentemente do observado para as cepas gram-positivas, foi detectada diferença estatisticamente significativa entre os dois

sistemas nanoestruturados, com maior eficácia do SBA16-APTES-CIPRO em comparação ao SBA16-CIPRO ( $p < 0,05$ ).

Diante desse resultado diferencial, análises por MEV foram conduzidas para *E. coli*, com o objetivo de complementar os dados do ensaio de contagem de colônias. Essa escolha se justifica pelo fato de essa bactéria ter sido a única a apresentar diferença estatisticamente significativa entre SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO, além de apresentar menores valores de CMI em comparação às cepas gram-positivas avaliadas. As imagens representativas das topografias resultantes dos tratamentos encontram-se na Figura 32.

Figura 32 - Micrografias do biofilme formado por *E. coli* ATCC 25922, sem tratamento (controle) e na presença de SBA16-APTES, Ciprofloxacina, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO, com ampliação de 10.000x



Fonte: Autoria própria.

Observou-se que o biofilme não tratado (controle) e o tratado apenas com SBA16-APTES apresentaram estruturas densas e organizadas. Em contraste, o tratamento com Ciprofloxacina livre resultou em menor agregação celular. Resultados semelhantes foram descritos por Dong *et al.* (2019), que avaliaram o efeito de concentrações subinibitórias ( $\frac{1}{4}$  CMI) de Ciprofloxacina também contra a *E. coli*. Suas observações pelo MEV mostraram biofilmes mais esparsos e desorganizados comparado ao controle, indicando que concentrações subinibitórias do antibiótico podem interferir na estrutura do biofilme.

Em última análise, nos tratamentos com SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO evidencia-se visualmente a presença reduzida de bacilos, que encontram-se predominantemente isolados, sendo esse efeito mais pronunciado para o nanomaterial funcionalizado. Esses achados estão em concordância com os dados obtidos no ensaio de contagem de colônias. Nesse contexto, a modificação superficial das MSNs pode levar a uma liberação mais lenta e sustentada do

fármaco, em função das interações entre o carreador e a molécula, contribuindo também para o aumento da atividade antibiofilme (Sil *et al.*, 2024; Otri *et al.*, 2024).

Em conjunto, os resultados deste ensaio *in vitro* demonstram que nanopartículas de sílica mesoporosa carregadas com Ciprofloxacina apresentam efeito antibacteriano e antibiofilme superior ao antibiótico livre, sendo capazes de inibir biofilmes de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 e da cepa clínica resistente HU25. Assim, os sistemas SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO mostram-se promissores como plataformas de *drug delivery* para o tratamento de infecções bacterianas associadas à formação de biofilmes, inclusive aquelas causadas por cepas resistentes.

## 6 CONCLUSÃO

O presente trabalho possibilitou a síntese de nanopartículas de sílica mesoporosas do tipo SBA16, sua funcionalização com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) e a preparação de diferentes nanosistemas a partir do carregamento com moléculas bioativas de naturezas químicas distintas: o (*E,E*)-Farnesol, de caráter apolar, e a Ciprofloxacina, polar. As caracterizações físico-químicas confirmaram a formação da estrutura mesoporosa, embora alguns parâmetros relacionados ao tamanho de partícula e à dispersão tenham se apresentado fora da faixa considerada ideal na literatura.

O Farnesol livre apresentou atividade bacteriostática frente às cepas gram-positivas e à *C. albicans*, contudo, sem apresentar efeito bactericida. Para o nanosistema SBA16-APTES-FAR não foi possível determinar a CMI, possivelmente em decorrência de limitações na liberação do composto em meio aquoso, atribuídas à sua natureza hidrofóbica e ao aprisionamento na matriz de sílica. Nos ensaios de influência na formação de biofilme, o SBA16-APTES-FAR apresentou efeito significativo, no entanto não demonstrou superioridade em relação ao terpeno livre, reforçando a hipótese de sua liberação limitada para o meio de cultura.

Em contraste, a Ciprofloxacina livre e os sistemas SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas avaliadas, com redução dos valores de CMI do antibiótico quando veiculado aos nanomateriais. O SBA16-APTES-CIPRO apresentou o menor valor de CMI, possivelmente associado a uma liberação mais sustentada proporcionada pela funcionalização. Adicionalmente, os sistemas nanoestruturados demonstraram um efeito letal exclusivamente contra *E. coli*; mas sem redução da CMB, e um efeito antibiofilme significativamente superior ao da Ciprofloxacina livre.

Os resultados demonstraram que o desempenho dos nanosistemas foi dependente das propriedades químicas das moléculas carregadas, com melhor atividade observada para os sistemas contendo Ciprofloxacina em comparação aos contendo Farnesol. De modo geral, os sistemas SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO mostram-se promissores como plataformas de *drug delivery* para o tratamento de infecções associadas à formação de biofilmes, enquanto os resultados obtidos com o Farnesol destacam a necessidade de estratégias adicionais de otimização para a veiculação eficiente de compostos hidrofóbicos.

## REFERÊNCIAS

- AFZAL, O. *et al.* Nanoparticles in drug delivery: From history to therapeutic applications. **Nanomaterials**, v. 12, n. 24, p. 4494, 2022.
- AHMADI, E. *et al.* Synthesis and surface modification of mesoporous silica nanoparticles and its application as carriers for sustained drug delivery. **Drug delivery**, v. 21, n. 3, p. 164-172, 2014.
- AHMED, H. *et al.* Biomedical applications of mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery carrier. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 76, p. 103729, 2022.
- ALANDIYJANY, M. N. *et al.* Novel *in vivo* assessment of antimicrobial efficacy of ciprofloxacin loaded mesoporous silica nanoparticles against *Salmonella typhimurium* infection. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 3, p. 357, 2022.
- ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F. J.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; MICOL, V. Tackling antibiotic resistance with compounds of natural origin: A comprehensive review. **Biomedicines**, v. 8, n. 10, p. 405, 2020.
- ANDRADE, G. F. *et al.* Mesoporous silica SBA-16 nanoparticles: Synthesis, physicochemical characterization, release profile, and *in vitro* cytocompatibility studies. **Microporous and mesoporous materials**, v. 168, p. 102-110, 2013.
- APARICIO-BLANCO, J. *et al.* Antibiotic resistance and tolerance: What can drug delivery do against this global threat?. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 14, n. 6, p. 1725-1734, 2024.
- AULIFA, D. L. *et al.* A Comprehensive Review: Mesoporous Silica Nanoparticles Greatly Improve Pharmacological Effectiveness of Phytoconstituent in Plant Extracts. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 12, p. 1684, 2024.
- AZIZ, H. A. *et al.* Thiazolidine-2, 4-dione-linked ciprofloxacin derivatives with broad-spectrum antibacterial, MRSA and topoisomerase inhibitory activities. **Molecular Diversity**, v. 26, n. 3, p. 1743-1759, 2022.
- BANSAL, A.; SHARMA, R.; MOHANTY, P. Nanocasted polytriazine-SBA-16 mesoporous composite for the conversion of CO<sub>2</sub> to cyclic carbonates. **Journal of CO<sub>2</sub> Utilization**, v. 40, p. 101189, 2020.
- BALAURE, P. C. *et al.* Bioactive mesoporous silica nanostructures with anti-microbial and anti-biofilm properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 1, p. 35-46, 2017.
- BARROS, D. M. *et al.* Potencial Utilização de Sistemas Antimicrobianos Naturais como Conservantes Alimentares. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 40476-40491, 2020.

BENKŐ, F.; KRISTÓ, K.; SOVÁNY, T. Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Systems. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 9, p. 1392, 2025.

BEZERRA, C. F. *et al.* Antifungal activity of farnesol incorporated in liposomes and associated with fluconazole. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 233, p. 10498, 2020.

BRASIL. **Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017.** Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, Brasília, 2017.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira.** Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v.1, ed. 6, p.1-1504, 2019.

BJÖRK, E. M. *et al.* Formation of block-copolymer-templated mesoporous silica. **Journal of colloid and interface science**, v. 521, p. 183-189, 2018.

CÁCERES, M. *et al.* Essential oils of aromatic plants with antibacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities against pathogenic bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 147, 2020.

CADENA, M. B. *et al.* Species-specific antimicrobial activity of essential oils and enhancement by encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 582-590, 2018.

CAMPOS, L. A. A. *et al.* Synthesis of Polymeric Nanoparticles by Double Emulsion and pH-Driven: Encapsulation of Antibiotics and Natural Products for Combating *Escherichia coli* Infections. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, n. 1, p. 1-13, 2024.

CASCIOFERRO, S. *et al.* Therapeutic strategies to counteract antibiotic resistance in MRSA biofilm-associated infections. **ChemMedChem**, v. 16, n. 1, p. 65-80, 2021.

CASTILLO, R. R. *et al.* Production of MCM-41 nanoparticles with control of particle size and structural properties: optimizing operational conditions during scale-up. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 21, p. 7899, 2020.

CAVALLO, I. *et al.* Bacterial Biofilm in Chronic Wounds and Possible Therapeutic Approaches. **Biology**, v. 13, n. 2, p. 109, 2024.

CDC. **U.S. Centers for Disease Control and Prevention.** Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547-569, 2021.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils - present status and future perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 58, 2017.

CHOW, E. W. L.; PANG, L. M.; WANG, Y. From Jekyll to Hyde: the yeast–hyphal transition of *Candida albicans*. **Pathogens**, v. 10, n. 7, p. 859, 2021.

CIEŚLUK, M. *et al.* Physics Comes to the Aid of Medicine—Clinically-Relevant Microorganisms through the Eyes of Atomic Force Microscope. **Pathogens**, v. 9, n. 11, p. 969, 2020.

COLLINS, C.H.; BRAGA G. L.; BONATO P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

COSTA, A. F. *et al.* Chitosan nanoparticles encapsulating farnesol evaluated *in vivo* against *Candida albicans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 143-154, 2023.

COSTA, A. F. *et al.* Chitosan nanoparticles encapsulating farnesol show potent antifungal activity against *Candida albicans* biofilms. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-8, 2025.

DÉCANIS, N. *et al.* Farnesol, a fungal quorum-sensing molecule triggers *Candida albicans* morphological changes by downregulating the expression of different secreted aspartyl proteinase genes. **The open microbiology journal**, v. 5, p. 119, 2011.

DELMONDES, G. A. *et al.* Pharmacological applications of Farnesol (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O): a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 30, n. 3, p. 227-234, 2020.

DEREJE, D. M. *et al.* Squaraine-loaded Mesoporous Silica Nanoparticles for Antimicrobial Photodynamic Therapy against Bacterial Infection. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 372, p. 113096, 2024.

DING, Y. *et al.* pH/chitinase dual stimuli-responsive essential oil-delivery system based on mesoporous silica nanoparticles for control of rice blast. **Pest Management Science**, v. 80, n. 7, p. 3215-3226, 2024.

DONG, G. *et al.* Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of ciprofloxacin on biofilm formation and virulence factors of *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 23, p. 15-21, 2019.

EL-FAR, A. *et al.* Assessment of eugenol inhibitory effect on biofilm formation and biofilm gene expression in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Egypt. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 89, p. 104722, 2021.

ELSHIKH, M. *et al.* Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. **Biotechnology letters**, v. 38, p. 1015-1019, 2016.

ENGGI, C. K. *et al.* HPLC-UV method validation for quantification of β-carotene in the development of sustained release supplement formulation containing solid

dispersion-floating gel *in situ*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 221, p. 115041, 2022.

ESPINOZA, M. V. *et al.* Efecto del yogurt, leche y jugo de toronja sobre la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina frente a *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario. **Revista Científica**, v. 9, n. 1, 2019.

ETRI, K.; PLUHÁR, Z. Exploring Chemical Variability in the Essential Oils of the *Thymus* Genus. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1375, 2024.

GALGANO, M. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils evaluated *in vitro* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 11, n. 7, p. 979, 2022.

GOBIN, O. C. **SBA-16**: Synthesis, diffusion and sorption properties. Quebec: Laval University, 2006.

GONÇALVES, J. C. R. *et al.* Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 782-786, 2017.

GOUNANI, Z. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles carrying multiple antibiotics provide enhanced synergistic effect and improved biocompatibility. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 175, p. 498-508, 2019.

GOSCIANSK, J. *et al.* APTES-functionalized mesoporous silica as a vehicle for antipyrine – adsorption and release studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 533, p. 187-196, 2017.

HAN, Y. *et al.* Synergy with farnesol rejuvenates colistin activity against Colistin-resistant Gram-negative bacteria *in vitro* and *in vivo*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 62, n. 3, p. 106899, 2023.

HARDING, M. W. *et al.* Can filamentous fungi form biofilms?. **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 11, p. 475-480, 2009.

HE, J. *et al.* Progress and prospects of nanomaterials against resistant bacteria. **Journal of Controlled Release**, v. 351, p. 301-323, 2022.

ISHAK, A. *et al.* Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 80, n. 1, p. 1-17, 2024.

IVANOVA, A. *et al.* Antibacterial, antibiofilm, and antiviral farnesol-containing nanoparticles prevent *Staphylococcus aureus* from drug resistance development. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 14, p. 7527, 2022.

JAKOBSEN, L.; LUNDBERG, C. V.; FRIMODT-MØLLER, N. Ciprofloxacin pharmacokinetics/pharmacodynamics against susceptible and low-level resistant *Escherichia coli* isolates in an experimental ascending urinary tract infection model in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 1, p. 10.1128/aac.01804-20, 2020.

JANJUA, T. I. *et al.* Clinical translation of silica nanoparticles. **Nature Reviews Materials**, v. 6, n. 12, p. 1072-1074, 2021.

JOBDEEDAMRONG, A.; JENJOB, R.; CRESPIY, D. Encapsulation and release of essential oils in functional silica nanocontainers. **Langmuir**, v. 34, n. 44, p. 13235-13243, 2018.

JOUDEH, N.; LINKE, D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 20, n. 1, p. 1–29, 2022.

JÚNIOR, W. M. O. *et al.* Farnesol: antinociceptive effect and histopathological analysis of the striatum and hippocampus of mice. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 419-426, 2013.

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

KATRAGKOU, A. *et al.* In vitro interactions between farnesol and fluconazole, amphotericin B or micafungin against *Candida albicans* biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 2, p. 470-478, 2015.

KUCUKOGLU, V. *et al.* In vitro antibacterial activity of ciprofloxacin loaded chitosan microparticles and their effects on human lung epithelial cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 569, p. 118578, 2019.

KURODA, M.; NAGASAKI, S.; OHTA, T. Sesquiterpene farnesol inhibits recycling of the C55 lipid carrier of the murein monomer precursor contributing to increased susceptibility to  $\beta$ -lactams in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 59, n. 3, p. 425-432, 2007.

LAGE, W. C. *et al.* Mesoporous iron oxide nanoparticles loaded with ciprofloxacin as a potential biocompatible antibacterial system. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 321, p. 111127, 2021.

LAHIRI, D. *et al.* Antibiofilm and anti-quorum sensing activities of eugenol and linalool from *Ocimum tenuiflorum* against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 6, p. 2821-2837, 2021.

LANGE, A. *et al.* Farnesol and Selected Nanoparticles (Silver, Gold, Copper, and Zinc Oxide) as Effective Agents Against Biofilms Formed by Pathogenic Microorganisms. **Nanotechnology, Science and Applications**, p. 107-125, 2024.

LEÃO, N. M. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles loaded with alamandine as a potential new therapy against cancer. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102216, 2021.

- LI, B. *et al.* Powering mesoporous silica nanoparticles into bioactive nanoplatforms for antibacterial therapies: strategies and challenges. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 21, n. 1, p. 325, 2023.
- LI, M. *et al.* Mechanisms of mepA Overexpression and Membrane Potential Reduction Leading to Ciprofloxacin Heteroresistance in a *Staphylococcus aureus* Isolate. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 5, p. 2372, 2025.
- LI, S. *et al.* Natural antimicrobials from plants: Recent advances and future prospects. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137231, 2024.
- LI, T. *et al.* Bacterial Resistance to Antibacterial Agents: Mechanisms, Control Strategies, and Implications for Global Health. **Science of The Total Environment**, v. 860, p. 160461, 2023.
- LI, Z.; ZHANG, Y.; FENG, N. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, classification, drug loading, pharmacokinetics, biocompatibility, and application in drug delivery. **Expert opinion on drug delivery**, v. 16, n. 3, p. 219-237, 2019.
- LOPES, A. P. *et al.* Antimicrobial, Modulatory, and Antibiofilm Activity of tt-Farnesol on Bacterial and Fungal Strains of Importance to Human Health. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 47, p. 128192, 2021.
- MACHADO, C. S. *et al.* In vitro evaluation of the antibacterial activity of amitriptyline and its synergistic effect with ciprofloxacin, sulfamethoxazole–trimethoprim, and colistin as an alternative in drug repositioning. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 1, p. 166-177, 2020.
- MALEKI, A. *et al.* Mesoporous silica materials: From physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 262, p. 329-347, 2017.
- MANZANO, M.; VALLET-REGÍ, M. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. **Advanced functional materials**, v. 30, n. 2, p. 1902634, 2020.
- MAREI, N. *et al.* Enhanced antibacterial activity of Egyptian local insects' chitosan-based nanoparticles loaded with ciprofloxacin-HCl. **International Journal of Biological Macromolecules**, 126, 262-272, 2019.
- MARTÍN, A. *et al.* Modelling the adsorption and controlled release of drugs from the pure and amino surface-functionalized mesoporous silica hosts. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 262, p. 23-34, 2018.
- MCCARTHY, C. A. *et al.* Mesoporous silica formulation strategies for drug dissolution enhancement: a review. **Expert opinion on drug delivery**, v. 13, n. 1, p. 93-108, 2016.
- MEMAR, M. Y. *et al.* Antimicrobial and antibiofilm activities of meropenem loaded mesoporous silica nanoparticles against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 36, n. 4, p. 605-612, 2021.

MILLER, W. R.; ARIAS, C. A. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1-19, 2024.

MOHAMED, A. A.; ALOTAIBI, B. M. Essential oils of some medicinal plants and their biological activities: a mini review. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 40-49, 2022.

MOINUDDIN, S. K. *et al.* UHPLC-DAD Method Development and Validation: Degradation Kinetic, Stress Studies of Farnesol and Characterization of Degradation Products Using LC-QTOF-ESI-MS with in silico Pharmacokinetics and Toxicity Predictions. **Journal of Chromatographic Science**, v. 60, n. 9, 2022.

MORA, B. J. *et al.* Boosting antimicrobial activity of ciprofloxacin by functionalization of mesoporous silica nanoparticles. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 218, 2021.

MORELLÁ-AUCEJO, A. *et al.* Remarkable Enhancement of Cinnamaldehyde Antimicrobial Activity Encapsulated in Capped Mesoporous Nanoparticles: a New “Nanokiller” Approach in the Era of Antimicrobial Resistance. **Biomaterials Advances**, v. 160, p. 213840, 2024.

MOUTON, J. W. *et al.* Variation of MIC measurements: the contribution of strain and laboratory variability to measurement precision. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 9, p. 2374-2379, 2018.

MURRAY, C. J. L. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NAGY, F. *et al.* Farnesol increases the activity of echinocandins against *Candida auris* biofilms. **Medical mycology**, v. 58, n. 3, p. 404-407, 2020.

NIEDERQUELL, A.; VRANÍKOVÁ, B.; KUENTZ, M. Ranking of apparent drug affinity to mesoporous silica utilizing a chromatographic screening method and a tree-based prediction model. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 125918, 2025.

NOWACKA, M.; KOWALEWSKA, A.; KRĘGIEL, D. Farnesol-containing macromolecular systems for antibiofilm strategies. **Surfaces**, v. 3, n. 2, p. 197-210, 2020.

NWABUIFE, J. C.; OMOLO, C. A.; GOVENDER, T. Nano delivery systems to the rescue of ciprofloxacin against resistant bacteria “*E. coli*; *P. aeruginosa*; *S. aureus*; and *MRSA*” and their infections. **Journal of Controlled Release**, v. 349, p. 338-353, 2022

OLIVEIRA, D. *et al.* Screening of natural molecules as adjuvants to topical antibiotics to treat *Staphylococcus aureus* from diabetic foot ulcer infections. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 620, 2022.

OTRI, I. *et al.* Exploring the Synergy between Nano-Formulated Linezolid and Polymyxin B as a Gram-Negative Effective Antibiotic Delivery System Based on Mesoporous Silica Nanoparticles. **Nanomaterials**, v. 14, n. 2, p. 228, 2024.

PANDUR, E. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils prepared at different plant phenophases on *Pseudomonas aeruginosa* LPS-activated THP-1 macrophages. **Antioxidants**, v. 11, n. 7, p. 1330, 2022.

PEREIRA, R. F. A. *et al.* *Hypericum brasiliense*: bactericidal and antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* in vitro. **Natural Product Research**, v. 36, n. 10, p. 2643-2647, 2021.

PIAO, H. *et al.* Niclosamide encapsulated in mesoporous silica and geopolymer: A potential oral formulation for COVID-19. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 326, p. 111394, 2021.

PINHEIRO, L. C. S. *et al.* Synthesis of benzoylthiourea derivatives and analysis of their antibacterial performance against planktonic *Staphylococcus aureus* and its biofilms. **Letters Applied Microbiology**, v. 71, p. 645-651, 2020.

RANANAWARE, P. *et al.* Functionalized mesoporous silica for drug delivery of poorly soluble polyphenols: Synthesis, characterization, and antimicrobial action. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 326, p. 124214, 2023.

RASTEGARI, E. *et al.* An update on mesoporous silica nanoparticle applications in nanomedicine. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 1067, 2021.

RIBEIRO, T. A. N. *et al.* Eugenol as a promising antibiofilm and anti-quorum sensing agent: a systematic review. **Microbial Pathogenesis**, p. 106937, 2024.

RUIZ-RICO, M. *et al.* Enhanced antimicrobial activity of essential oil components immobilized on silica particles. **Food chemistry**, v. 233, p. 228-236, 2017.

SAKAMOTO, Y. *et al.* Direct imaging of the pores and cages of three-dimensional mesoporous materials. **Nature**, v. 408, n. 6811, p. 449-453, 2000.

SARKAR, A. *et al.* Targeted delivery of quercetin loaded mesoporous silica nanoparticles to the breast cancer cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1860, n. 10, p. 2065-2075, 2016.

SANTANA, J. E. G. *et al.* Comparative antibacterial and efflux pump inhibitory activity of isolated nerolidol, farnesol, and  $\alpha$ -bisabolol sesquiterpenes and their liposomal nanoformulations. **Molecules**, v. 28, n. 22, p. 7649, 2023.

SINGH, D. *et al.* Representative volume element model of triply periodic minimal surfaces (TPMS)-based electrostrictive composites for numerical evaluation of effective properties. **Acta Mechanica**, v. 234, n. 2, p. 355-375, 2023.

SHE, X. *et al.* Functionalization of Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles for Improved 5-FU Loading. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, n. 1, p. 872035, 2015.

SHETTA, A. *et al.* Review of strategic methods for encapsulating essential oils into chitosan nanosystems and their applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 259, p. 129212, 2024.

SIDDIQUI, T. *et al.* Terpenoids in Essential Oils: chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. **Phytomedicine plus**, p. 100549, 2024.

SIL, M. *et al.* Antibiofilm activity of mesoporous silica nanoparticles against the biofilm associated infections. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 397, n. 6, p. 3617-3633, 2024.

SOARES, D. C. F. *et al.* Mesoporous SBA-16 silica nanoparticles as a potential vaccine adjuvant against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 291, p. 109676, 2020.

SONI, J.; SINHA, S.; PANDEY, R. Understanding bacterial pathogenicity: a closer look at the journey of harmful microbes. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1370818, 2024.

SU, X. *et al.* Pore engineering of micro/mesoporous nanomaterials for encapsulation, controlled release and variegated applications of essential oils. **Journal of Controlled Release**, v. 367, p. 107-134, 2024.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAN, L. *et al.* Farnesol Emulsion as an Effective Broad-Spectrum Agent against ESKAPE Biofilms. **Antibiotics**, v. 13, n. 8, p. 778, 2024.

TANG, F.; LI, L.; CHEN, D. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery. **Advanced materials**, v. 24, n. 12, p. 1504-1534, 2012.

TARIQ, S. *et al.* A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019.

TEH, C. H. *et al.* Determination of antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of larval extract of fly via resazurin-based turbidometric assay. **BMC microbiology**, v. 17, p. 1-8, 2017.

TEWABE, A. *et al.* Targeted drug delivery—from magic bullet to nanomedicine: principles, challenges, and future perspectives. **Journal of Multidisciplinary Healthcare**, p. 1711-1724, 2021.

TORTORA, G. J. FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRZECIAK, K. *et al.* Mesoporous silica particles as drug delivery systems—the state of the art in loading methods and the recent progress in analytical techniques for monitoring these processes. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 950, 2021.

VASSILIOU, E. *et al.* Anti-Inflammatory and Antimicrobial Properties of Thyme Oil and its Main Constituents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, p. 6936, 2023.

VISAN, A. I.; NEGUT, I. Coatings Based on Essential Oils for Combating Antibiotic Resistance. **Antibiotics**, v. 13, n. 7, 2024.

WANG, Y. *et al.* The Development of Microscopic Imaging Technology and its Application in Micro- and Nanotechnology. **Frontiers Chemistry**, v. 10, 2022.

WÓJCIK-BOJEK, U.; RÓŻALSKA, B.; SADOWSKA, B. *Staphylococcus aureus* — A Known Opponent against Host Defense Mechanisms and Vaccine Development — Do We Still Have a Chance to Win?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 948, 2022.

XU, B. *et al.* Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for biomedical applications. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 435, 2023.

XU, Y. *et al.* Construction of a 980 nm laser-activated Pt (II) metallacycle nanosystem for efficient and safe photo-induced bacteria sterilization. **Science China Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 155-163, 2023.

YAYEHRAD, A. T.; WONDIE, G. B.; MAREW, T. Different nanotechnology approaches for ciprofloxacin delivery against multidrug-resistant microbes. **Infection and drug resistance**, p. 413-426, 2022.

YU, Z.; TANGB, J.; KHARE, T.; KUMAR, V. The alarming antimicrobial resistance in ESKAPEE pathogens: Can essential oils come to the rescue?. **Fitoterapia**, v. 140, p. 104433, 2020.

YOUSSEFI, M. R. *et al.* *In vitro* scolicidal activity of the sesquiterpenes isofuranodiene,  $\alpha$ -bisabolol and farnesol on *Echinococcus granulosus* protoscoleces. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3593, 2020.

ZAHARUDIN, N. S. *et al.* Functionalized mesoporous silica nanoparticles templated by pyridinium ionic liquid for hydrophilic and hydrophobic drug release application. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 24, n. 3, p. 289-302, 2020.

ZHAO, A. *et al.* Analysis of the antibacterial properties of compound essential oil and the main antibacterial components of unilateral essential oils. **Molecules**, v. 28, n. 17, p. 6304, 2023.

ZHAO, D. *et al.* Nonionic triblock and star diblock copolymer and oligomeric surfactant syntheses of highly ordered, hydrothermally stable, mesoporous silica

structures. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 24, p. 6024-6036, 1998.

ZHENG, D.; YANG, L.; BAI, Y.; YONG, J.; LI, Y. Exploring the Potential of Farnesol as a Novel Antifungal Drug and Related Challenges. **Current Infectious Disease Reports**, v. 26, n. 4, p. 123-135, 2024.

ZHONG, X. *et al.* Functionalization of mesoporous silica as an effective composite carrier for essential oils with improved sustained release behavior and long-term antibacterial performance. **Nanotechnology**, v. 33, n. 3, p. 035706, 2021.

ZHOU, Y. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. **Acta pharmaceutica sinica B**, v. 8, n. 2, p. 165-177, 2018.