

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 21/03/2027.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – FCFAR
Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia



Bruna Almeida Furquim de Camargo

**Avaliação do potencial de carreadores lipídicos nanoestruturados funcionalizados com
CEACAM-1 para incorporação de curcumina no tratamento de infecções por
*Helicobacter pylori***

**Araraquara – SP
2025**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – FCFAR
Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia



Bruna Almeida Furquim de Camargo

**Avaliação do potencial de carreadores lipídicos nanoestruturados funcionalizados com
CEACAM-1 para incorporação de curcumina no tratamento de infecções por
*Helicobacter pylori***

Tese para obtenção do título de Doutora em Ciências
pelo Programa de Pós-Graduação em Biociências e
Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de
Concentração: Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Profa. Dra. Taís Maria Bauab

Araraquara – SP

2025

C172a Camargo, Bruna Almeida Furquim de.
Avaliação do potencial de carreadores lipídicos nanoestruturados funcionalizados com CEACAM-1 para incorporação de curcumina no tratamento de infecções por *Helicobacter pylori* / Bruna Almeida Furquim de Camargo. – Araraquara, 2025.
102 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de concentração: Biotecnologia.

Orientador: Marlus Chorilli.
Coorientadora: Taís Maria Bauab.

1. *Helicobacter pylori*. 2. Curcumina. 3. Quitosana. 4. CEACAM-1. 5. Carreador lipídico nanoestruturado. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Bauab, Taís Maria, coorient. III. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030081P7
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Avaliação do potencial de carreadores lipídicos nanoestruturados funcionalizados com CEACAM-1 para incorporação de curcumina no tratamento de infecções por *Helicobacter pylori*

AUTORA: BRUNA ALMEIDA FURQUIM DE CAMARGO

ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI

COORIENTADORA: TAIS MARIA BAUAB

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Presencial)

Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. MARIA CRISTINA TEIXEIRA LOPES DA COSTA PINTO LOPES MARTINS (Participação Virtual)
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar / Universidade do Porto

Prof. Dr. FREDERIC JEAN GEORGES FREZARD (Participação Virtual)

Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas / Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. VALQUÍRIA LINCK BASSANI (Participação Virtual)

Departamento de Produção e Controle de Medicamentos / Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Araraquara, 21 de março de 2025

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Antônio Carlos, Valdiza, Angelo e Ana Paula, pela confiança que sempre depositaram em mim, obrigada pelo carinho, pelo incentivo e força. Essa vitória é de vocês.

Às minhas irmãs, Ana Julia, Maria Luiza, Giovana, Flávia e Thais, pelo carinho e características de cada uma. Por me ajudarem e incentivarem sempre que preciso.

Às minhas sobrinhas Rafaela e Sofia, por trazem paz, alegria e carinho às minhas voltas para Rio Claro.

Aos meus gatos, Lazy e Liam, que foram meus companheiros durante maior parte dessa trajetória em Araraquara.

A toda minha família que acreditou e torceu por mim.

Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli, meu orientador e a pessoa responsável por tudo que aprendi e fiz durante o doutorado. Meus eternos agradecimentos, por ter me aceitado em seu grupo de pesquisa e por depositar confiança e me incentivar a buscar novos conhecimentos sempre. Obrigada pelo carinho e dedicação que o professor sempre teve. Sou imensamente grata por tudo que aprendi e espero aprender com o professor.

À minha coorientadora Profa. Dra. Taís Maria Bauab, pela confiança que sempre teve em mim. Sou eternamente grata pelos ensinamentos na área de Microbiologia.

À Profa. Dra. Cristina Martins, coordenadora do grupo de pesquisa *BioEngineered Surfaces* e supervisora do estágio no exterior (BEPE), por me receber em seu grupo de pesquisa e confiar em meu trabalho. Foi um ano de muito aprendizado, obrigada.

À Dra. Paula Parreira, pesquisadora júnior do grupo de pesquisa *BioEngineered Surfaces* e responsável pelas pesquisas com *Helicobacter pylori*, muito obrigada por toda paciência e ensinamentos.

À pós doutoranda Aline Martins dos Santos, do laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica, que sempre esteve prontamente disponível para me ajudar e tirar dúvidas, e que contribuiu muito para desenvolvimento dessa Tese.

Aos meus amigos do laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica, Jennifer, Alberto, Amanda, Suzana, Geanne, Vitória, Jéssyca, Jonatas, Felipe, Vinícius, Marcela, Giovanna, Mariana e Leonardo, por toda ajuda e convívio diário.

Aos amigos antigos do grupo, Victor e Bruno, que me ajudam no início do doutorado. E à Larissa, que me ajudou tanto no Brasil quanto em Portugal.

À minha aluna de iniciação científica Maíra Oliveira dos Santos, que me ajudou enquanto eu estava no exterior.

À todos os meus amigos de Rio Claro e Araraquara.

Aos meus amigos do grupo *BioEngineered Surfaces*, Natalia, Marcela, Inês, Carolina, Sofia, Rute, Felipa, Diana, Bruno, Bruna e Cláudia, por toda ajuda e convívio durante tempo que permaneci com vocês.

À todos os amigos que fiz durante meu período de estágio no exterior, vocês foram essenciais durante esse ano.

À todos os funcionários da FCFAr, que estão sempre presentes, deixando nosso ambiente de trabalho melhor.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação. Agradeço imensamente a disposição, atenção, cuidado e carinho que tive de todos durante esses anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2019/25056-5 e 2022/15987-4, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

À todos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara- UNESP/FCFAr.

RESUMO

Helicobacter pylori é uma bactéria Gram-negativa que coloniza o epitélio gástrico e é responsável por vários distúrbios gástricos. Suas altas taxas de resistência a antibióticos, juntamente com sua capacidade de penetrar no muco gástrico e formar biofilmes, dificultam seu tratamento. No presente trabalho, a curcumina (CUR) foi incorporada em transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC), revestidos com quitosana (CS) e funcionalizados com CEACAM-1 objetivando garantir uma mucoadesão e direcionamento da ação dos sistemas. NLC com CUR ou NLC branco, revestidos ou não com CS e funcionalizados ou não com CEACAM-1, apresentaram formato esférico, diâmetro hidrodinâmico médio entre 82 a 130 nm, com distribuição monodispersa. O potencial zeta foi de -22 mV, com inversão de carga para +30 mV após o revestimento de CS e com carga final de +16 mV após funcionalização. NLC_{CUR} e NLC-CS_{CUR} apresentaram eficiência de encapsulação de ~90%, enquanto NLC-CS-CAM_{CUR} apresentou 76%. A interação de CUR com o sistema foi analisada por análises de FTIR-ATR e Calorimetria diferencial de varredura (DSC). A integridade da proteína foi verificada por espectroscopia de fluorescência. A morfologia das NLCs foi verificada por microscopia eletrônica de transmissão (MET). NLCs mostraram taxa de liberação de CUR controlada por 48 horas, no ambiente gástrico. As concentrações inibitórias e bactericidas mínimas (MIC/MBC) contra *H. pylori* J99 foram 10¹⁰/10¹¹ partículas/mL (NLC_{CUR}/NLC) e 10⁹/10¹⁰ partículas/mL (NLC-CS_{CUR}/NLC-CS/ NLC-CS-CAM_{CUR}, NLC-CS-CAM), respectivamente. A erradicação bacteriana foi obtida após 12 h de incubação com todos os NLCs em meio de cultura, e foi possível verificar deformações de membrana após tratamento com NLCs em branco. Além disso, uma redução de >3 log foi obtida em ensaios de biofilme. Uma redução de 32%, 22% e 18% na adesão de *H. pylori* às células MKN-74 após contato com NLC, NLC-CS e NLC-CS-CAM, respectivamente, foi obtida em concentrações de MIC. Nenhuma das formulações foi citotóxica para as linhagens celulares GES-1, AGS e MKN-74 em concentrações bactericidas. Além disso, os NLCs em branco e revestidos com CS apresentaram atividade significativa de proteção gástrica contra úlceras induzidas por indometacina, sendo que o sistema foi importante para preservar a ação da CUR. Esses achados mostram que novos NLCs com atividade bactericida foram desenvolvidos com sucesso, sendo capazes de atuar em biofilmes de *H. pylori* e proteger contra a formação de úlcera induzida por indometacina.

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*; curcumina; quitosana; CEACAM-1; carreador lipídico nanoestruturado.

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a Gram-negative bacterium that colonizes the gastric epithelium and is responsible for several gastric disorders. Its high rates of antibiotic resistance, together with its ability to penetrate gastric mucus and form biofilms, make its treatment difficult. In the present study, curcumin (CUR) was incorporated into nanostructured lipid carriers (NLC), coated with chitosan (CS) and functionalized with CEACAM-1, aiming to ensure mucoadhesion and targeting of the action of the systems. NLC with CUR or white NLC, coated or not with CS and functionalized or not with CEACAM-1, presented a spherical shape, average hydrodynamic diameter between 82 and 130 nm, with monodisperse distribution. The zeta potential was -22 mV, with charge inversion to +30 mV after CS coating and with a final charge of +16 mV after functionalization. NLC_{CUR} and NLC-CS_{CUR} showed encapsulation efficiency of ~90%, while NLC-CS-CAM_{CUR} showed 76%. The interaction of CUR with the system was analyzed by FTIR-ATR and differential scanning calorimetry (DSC) analyses. Protein integrity was verified by fluorescence spectroscopy. The morphology of NLCs was verified by transmission electron microscopy (TEM). NLCs showed controlled CUR release rate of 48 h in the gastric environment. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC/MBC) against *H. pylori* J99 were 10¹⁰/10¹¹ particles/mL (NLC_{CUR}/NLC) and 10⁹/10¹⁰ particles/mL (NLC-CS_{CUR}/NLC-CS/ NLC-CS-CAM_{CUR}, NLC-CS-CAM), respectively. Bacterial eradication was achieved after 12 h of incubation with all NLCs in culture medium, and membrane deformations were observed after treatment with blank NLCs. Furthermore, a >3 log reduction was obtained in biofilm assays. A 32%, 22%, and 18% reduction in *H. pylori* adhesion to MKN-74 cells after contact with NLC, NLC-CS, and NLC-CS-CAM, respectively, was obtained at MIC concentrations. None of the formulations were cytotoxic to GES-1, AGS, and MKN-74 cell lines at bactericidal concentrations. Furthermore, blank and CS-coated NLCs showed significant gastric protective activity against indomethacin-induced ulcers, and the system was important for preserving the action of CUR. These findings demonstrate that novel NLCs with bactericidal activity were successfully developed, capable of acting on *H. pylori* biofilms and protecting against indomethacin-induced ulcer formation.

Keywords: *Helicobacter pylori*; curcumin; chitosan; CEACAM-1; nanostructured lipid carrier.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da patogênese e fatores de virulência do <i>H. pylori</i>	21
Figura 2 - Estrutura molecular da curcumina e seus tautômeros.....	24
Figura 3 - Representação esquemática dos tipos de NLC: i) Tipo imperfeito, ii) Tipo amorfo e iii) Tipo múltiplo.	26
Figura 4 - Representação esquemática da interação entre HopQ e CEACAM-1.....	29
Figura 5 - Representação esquemática do desenvolvimento dos carreadores lipídicos nanoestruturados.....	34
Figura 6 - Representação da química da carbodiimida.....	35
Figura 7 - Spots (A) e Spreads (B) de <i>H. pylori</i> em TSA + 5% de sangue de ovelha.....	39
Figura 8 - Solubilidade da CUR em diferentes lipídios líquidos.....	45
Figura 9 - Curva DSC da cera de abelha (a) e mistura binária de lipídios sólidos e líquidos, constituída de cera de abelha: óleo de rícino (b)	46
Figura 10 - Curva DSC do Compritol 888 ATO [®] (a) e mistura binária de lipídios sólidos e líquidos, constituída de Compritol 888 ATO [®] : óleo de rícino (b)	47
Figura 11 - Influência da combinação de diferentes surfactantes no diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersão e potencial zeta dos carreadores lipídicos nanoestruturados.	48
Figura 12 - Espectro de FTIR-ATR: a) Cera de abelha, b) Óleo de Rícino, c) Tween [®] 80, d) Span [®] 60 e e) Quitosana	53
Figura 13 - Espectro de FTIR-ATR: a) CUR, b) NLC, c) NLC _{CUR} , d) NLC-CS e e) NLC-CS _{CUR}	54
Figura 14 - Espectro de FTIR-ATR: a) CEACAM-1, b) NLC-CS-CAM e c) NLC-CS-CAM _{CUR}	55
Figura 15 - Termogramas calorimétricos de varredura diferencial (DSC): a) CUR, b) CS, c) NLC, d) NLC _{CUR} , e) NLC-CS e f) NLC-CS _{CUR}	56
Figura 16 - Espectros de emissão de fluorescência de NLC-CS-CAM _{CUR} e CEACAM-1 com excitação a 280 nm	57
Figura 17 - Espectros de emissão de fluorescência de NLC-CS-CAM _{CUR} e CEACAM-1 com excitação a 300 nm	58
Figura 18 - Fotomicrografias de (A) NLC, (B) NLC-CS, (C) NLC-CS-CAM, (D) NLC _{CUR} , (E) NLC-CS _{CUR} , (F) NLC-CS-CAM _{CUR} obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Ampliação 200.000 x, Barras de Escala = 50 nm.	59
Figura 19 - Perfis de liberação de CUR livre, NLC _{CUR} , NLC-CS _{CUR} e NLC-CS-CAM _{CUR} em tampão de ácido clorídrico 0,1 N, pH 1,2, contendo 10% (v/v) de etanol e 1% de Tween [®] 80, durante os diferentes pontos de tempo até 48 horas.	60
Figura 20 - Curva do tempo de morte do <i>H. pylori</i> após exposição aos diferentes tratamentos: A) NLC e NLC _{CUR} , B) NLC-CS e NLC-CS _{CUR} , C) NLC-CS-CAM e NLC-CS-CAM _{CUR} e D) CUR.....	64
Figura 21 - Imagens de SEM de <i>H. pylori</i> J99 após 12h de exposição aos diferentes tratamentos: A) <i>H. pylori</i> J99 em meio de cultura (controle); B) <i>H. pylori</i> J99 tratado com NLC; C) <i>H. pylori</i> J99 tratado com NLC-CS; D) <i>H. pylori</i> J99 tratado com NLC-CS-CAM.....	65
Figura 22 - Efeito do NLC (partículas/mL) e CUR (µg/mL) na biomassa total do biofilme de <i>H. pylori</i>	66
Figura 23 - Efeito das NLCs (partículas/mL) e CUR (µg/mL) em (A) bactérias planctônicas (B) bactérias viáveis em biofilme de <i>H. pylori</i>	67

Figura 24 - Porcentagem de bactérias aderindo às células MKN-74 após incubação com NLC, NLC-CS e NLC-CS-CAM.	68
Figura 25 - Viabilidade celular da linhagem celular GES-1 tratadas com NLC, NLC _{CUR} , NLC-CS, NLC-CS _{CUR} , NLC-CS-CAM, NLC-CS-CAM _{CUR} e CUR.....	70
Figura 26 - Viabilidade celular das linhagens celulares (A) AGS e (B) MKN-74 tratadas com NLC, NLC _{CUR} , NLC-CS, NLC-CS _{CUR} , NLC-CS-CAM, NLC-CS-CAM _{CUR} e CUR.....	70
Figura 27 - Área da lesão no ensaio de proteção gástrica em modelo animal de úlcera gástrica induzida por indometacina.....	72
Figura 28 - Aparência macroscópica dos estômagos dos ratos após os tratamentos. A) Controle negativo; B) Controle positivo; C) Omeprazol; D) CUR; (E) DMSO 4,5%; F) NLC; G) NLC _{CUR} ; H) NLC-CS; I) NLC-CS _{CUR}	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção de surfactantes na formulação em uma proporção de lipídios/surfactantes de 1:1.	33
Tabela 2 - DHM, PdI, PZ e EE dos carreadores sem e com o revestimento com CS pelos dois métodos.....	49
Tabela 3 - DHM, PdI, PZ, EE e EF dos carreadores funcionalizados com CEACAM-1	51
Tabela 4 - Análise do tamanho, distribuição e concentração das partículas.	52
Tabela 5 - Coeficientes de determinação (R^2) e valores de taxa de dissolução (k) obtidos a partir de modelos matemáticos para liberação de CUR de NLC, NLC-CS e NLC-CS-CAM...	61
Tabela 6 - Concentração mínima inibitória (MIC) e concentração mínima bactericida (MBC) das NLCs (partículas/mL) contra <i>H. pylori</i> J99.	62

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATCC – *American Type Culture Collection*

BB – *Brucella Broth* (Caldo Brucella)

CEACAMs – Moléculas de adesão relacionadas ao antígeno carcinoembrionário humano

CS – *Chitosan* (quitosana)

CO₂ – Dióxido de carbono

CUR – Curcumina

DMEM - *Dulbecco's Modified Eagle Medium*

DHM – Diâmetro hidrodinâmico médio

DLS – Espalhamento dinâmico de luz

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DRP – Desvio padrão relativo

DSC – *Differential scanning calorimetry* (Calorimetria exploratória diferencial)

DSS - Dodecil sulfato de sódio

EDC-HCl - Cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida

EHL – Equilíbrio hidrófilo-lipófilo

FBS – *Fetal Bovine Serum* (Soro Fetal Bovino)

FDA – *Food and Drug Administration*

IC – Índice de Cristalinidade

ICH – Conferência Internacional sobre Harmonização

LD – Limite de detecção

LL – Lipídio líquido

LQ – Limite de quantificação

LS – Lipídio sólido

MALT – Tecido linfóide associado à mucosa

NLC - *Nanostructured lipid carrier* (Carreadore lipídico nanoestruturado)

NLC-CS - Carreador lipídico nanoestruturado revestido com quitosana

NLC-CS-CAM - Carreador lipídico nanoestruturado revestido com quitosana e funcionalizado com CEACAM-1

NLC_{CUR} - Carreador lipídico nanoestruturado com curcumina

NLC-CS_{CUR} - Carreador lipídico nanoestruturado com curcumina revestido com quitosana e com curcumina

NLC-CS-CAM_{CUR} - Carreador lipídico nanoestruturado revestido com quitosana, funcionalizado e com curcumina

MBC - *Minimum bactericidal concentration* (Concentração mínima bactericida)

MIC - *Minimum inhibitory concentration* (Concentração mínima inibitória)

NLS - Nanopartículas lipídicas sólidas

OMPs - Proteínas membrana externa

PBS - *Phosphate Buffer Saline* (solução salina tamponada)

PG - Peptidoglicano

rpm - Rotações por minuto

R² - Coeficiente de determinação

SEM - *Scanning electron microscopy* (Microscopia eletrônica de varredura)

Span - Distribuição de tamanho das partículas

Sulfo-NHS - Sal de sódio de N-hidroxisulfossuccinimida

TEM - *Transmission electron microscopy* (Microscopia eletrônica de transmissão)

TGI - Trato gastrointestinal

T_m - *Ponto de fusão*

TSA - *Trypticase Soy Agar* (Ágar soja triptona)

UFC - Unidade formadora de colônia

λ_{max} - Comprimento de onda máximo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1. <i>Helicobacter pylori</i>	20
2.2. Curcumina.....	23
2.3. Carreadores lipídicos nanoestruturados.....	25
2.4. Quitosana	27
2.5. CEACAM-1	28
3. OBJETIVOS.....	30
3.1. Objetivo geral.....	30
3.2. Objetivos específicos.....	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1. Materiais.....	31
4.1.1. Principais Reagentes.....	31
4.1.2. Principais Equipamentos	31
4.2. Métodos.....	32
4.2.1. Seleção e Triagem dos Excipientes.....	32
4.2.1.1. Lipídios líquidos.....	32
4.2.1.2. Miscibilidade entre lipídios líquidos e lipídios sólidos.....	32
4.2.1.3. Surfactantes.....	33
4.2.2. Desenvolvimento dos carreadores lipídicos nanoestruturados.....	33
4.2.3. Revestimento da superfície dos carreadores lipídicos nanoestruturados com quitosana.....	34
4.2.4. Funcionalização dos carreadores lipídicos nanoestruturados revestidos com quitosana com CEACAM-1.....	35
4.2.5. Caracterização físico-química dos sistemas.....	35
4.2.5.1. Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersão e potencial zeta.....	35
4.2.5.2. Avaliação da eficiência de encapsulação.....	36
4.2.5.3. Avaliação da eficiência de funcionalização	36
4.2.5.4. Análise de rastreamento de nanopartículas (NTA).....	36
4.2.5.5. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR).....	37

4.2.5.6. Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	37
4.2.5.7. Espectroscopia de fluorescência.....	37
4.2.5.8. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	38
4.2.5.9. Perfil de liberação <i>in vitro</i>	38
4.2.5.9.1. Modelos de cinética de liberação.....	38
4.2.6. Atividade biológica <i>in vitro</i>	38
4.2.6.1. <i>Helicobacter pylori</i>	38
4.2.6.1.1. Concentração mínima inibitória (MIC).....	39
4.2.6.1.2. Concentração mínima bactericida (MBC).....	40
4.2.6.1.3. Tempo de morte.....	40
4.2.6.1.4. Interação com a membrana de <i>H. pylori</i>	40
4.2.6.1.5. Crescimento do biofilme.....	41
4.2.6.1.5.1. Quantificação da biomassa.....	41
4.2.6.1.5.2. Viabilidade bacteriana.....	41
4.2.6.1.6. Adesão de <i>H. pylori</i> às células MKN-74.....	42
4.2.6.2. Viabilidade celular	42
4.2.6.2.1. GES-1.....	42
4.2.6.2.2. AGS e MKN-74.....	43
4.2.7. Avaliação do potencial gastroprotetor dos carreadores em modelo de úlcera gástrica induzida por indometacina em ratos Wistar.....	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1. Seleção e Triagem dos Excipientes.....	45
5.1.1. Lipídios líquidos.....	45
5.1.2. Miscibilidade entre lipídios líquidos e lipídios sólidos.....	46
5.1.3. Surfactantes.....	47
5.2. Revestimento da superfície dos carreadores lipídicos nanoestruturados com quitosana e caracterização.....	49
5.3. Funcionalização dos carreadores lipídicos nanoestruturados revestidos com quitosana com CEACAM-1 e caracterização.....	50
5.4. Análise de rastreamento de nanopartículas (NTA).....	52
5.5. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR).....	53
5.6. Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	55
5.7. Espectroscopia de fluorescência.....	57

5.8. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	58
5.9. Perfil de liberação.....	59
5.10. Atividade biológica <i>in vitro</i>	62
5.10.1. <i>Helicobacter pylori</i>	62
5.10.1.1. Concentração mínima inibitória (MIC) e concentração mínima bactericida (MBC).....	62
5.10.1.2. Tempo de morte.....	63
5.10.1.3. Interação com a membrana de <i>H. pylori</i>	65
5.10.1.4. Biofilmes.....	66
5.10.1.5. Adesão de <i>H. pylori</i> às células MKN-74.....	68
5.10.1.6. Viabilidade celular (GES-1, AGS e MKN-74)	69
5.11. Avaliação do potencial gastroprotetor dos carreadores em modelo de úlcera gástrica induzida por indometacina em ratos Wistar.....	71
6. CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
APÊNDICE A - Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para quantificação de curcumina por espectrofotometria na região do UV-Vis.....	96

1. INTRODUÇÃO

Helicobacter pylori é uma bactéria Gram negativa microaerófila, identificada pela primeira vez por Barry Marshall e J. Robin Warren, em 1982 em amostras gástricas de pacientes com gastrite crônica e úlceras. *H. pylori* coloniza o epitélio gástrico, sendo frequentemente associada a infecções como distúrbios gástricos, gastrite, úlceras, tecido linfoide associado à mucosa (Linfoma de MALT) e até adenocarcinomas gástricos (Bonifácio *et al.*, 2014; Hathroubi *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019; Wessler *et al.*, 2017).

Sua persistência no estômago depende de alguns fatores, sendo a neutralização do pH do suco gástrico, seguido da penetração na camada de muco, os eventos iniciais. A colonização da bactéria na mucosa é regida por esses fatores, chamados de fatores de virulência, os quais possibilitam e proporcionam essa colonização (Kumar; Dhiman, 2018).

H. pylori tem a capacidade de persistir como entidade infecciosa e resistir ao arsenal de agentes antimicrobianos. Seu artifício para sobreviver se dá pela capacidade de formação de biofilmes, considerado um dos fatores de virulência apresentado pela bactéria (Cellini *et al.*, 2008). Segundo Carron *et al.* (2006) as evidências fotográficas demonstraram a capacidade de *H. pylori* formar biofilme *in vivo*, através de biópsias gástricas de pacientes positivos para *H. pylori*.

A terapia padrão recomendada para tratamento de *H. pylori* consiste na administração de um inibidor da bomba de prótons com ou sem um produto contendo bismuto e 1 ou mais dos seguintes antibióticos: claritromicina, metronidazol, amoxicilina ou tetraciclina, administrados por 10 a 14 dias (Aldhalei *et al.*, 2024). O uso prolongado de antibióticos de amplo espectro é um dos fatores que levou ao surgimento de cepas resistentes (Pinho *et al.*, 2025).

Desta forma, devido ao predomínio de bactérias resistentes, é de extrema importância a pesquisa de novos compostos com atividade antimicrobiana e com novos mecanismos de ação (Salina; Ekins; Makarov, 2018). Adicionalmente, as dificuldades enfrentadas no tratamento de infecções causadas por *H. pylori* impulsiona a busca por novas alternativas que visam fornecer estratégias terapêuticas com menores efeitos colaterais, custo e maior eficácia.

Como alternativa encontram-se os produtos naturais, os quais vêm apresentando atividade antimicrobiana contra *H. pylori* (Al-Sayed; Gad; El-Kersh, 2021).

A curcumina (CUR) é um dos polifenólicos bioativos proveniente da cúrcuma (*Curcuma longa*), uma planta proveniente da Índia, porém, cultivada em várias regiões do mundo (Kotha; Luthria, 2019). A CUR vem sendo muito utilizada pela medicina, devido às suas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antivirais, anticancerígenas e antimicrobianas (Giordano; Tommorano, 2019). Há vários estudos clínicos que comprovam sua segurança e não

toxicidade em altas doses. Contudo, o grande problema enfrentado ao trabalhar com esse composto está relacionado a sua baixa solubilidade em água, além da sua baixa biodisponibilidade, o que ocorre devido sua má absorção e conseqüentemente sua rápida depuração, dificultando seu uso terapêutico (Araujo *et al.*, 2020; Gupta; Patchva; Aggarwal, 2013; Kotha; Luthria, 2019).

A nanotecnologia farmacêutica apresenta recursos para administração de fármacos e moléculas que possuem tais problemas, devido à baixa solubilidade em água ou instabilidades químicas, por exemplo (Araujo *et al.*, 2020a; Ramos *et al.*, 2020).

Assim, com a capacidade de apresentar consideráveis vantagens para a administração de fármacos, tem havido um aumento na utilização de sistemas nanoestruturados de liberação de fármacos, os quais podem melhorar a biodisponibilidade de substâncias lipofílicas e hidrofílicas, promover aumento na seletividade, como, também, redução da dose total necessária, minimizando os efeitos colaterais tóxicos, além de permitir o controle de liberação e a possibilidade de transportá-los para as regiões desejadas (Grill *et al.*, 2009; Venugopal *et al.*, 2009).

Dentre os diversos sistemas nanoestruturados, os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs, do inglês, *nanostructured lipid carriers*) são considerados nanopartículas inovadoras compostas por uma mistura binária de lipídio sólido e líquido, a qual leva a formação de estruturas desordenadas, gerando uma estrutura que proporciona espaços para a incorporação de fármacos (Kolenyak-Santos *et al.*, 2015; Sato *et al.*, 2017). Esse compartimento mostra um aumento na carga de incorporação de fármacos, comparado com as nanopartículas lipídicas sólidas, a primeira geração de nanopartículas lipídicas (Puglia *et al.*, 2017).

Os NLCs podem ser revestidos com quitosana (CS, do inglês, *Chitosan*). A CS é um biopolímero considerado não tóxico, que apresenta em sua estrutura uma unidade glucosamina e *N*-acetilglucosamina. Devido à sua estrutura química, a CS apresenta algumas propriedades muito atrativas, como a bio(muco)adesividade. Desta forma, sua utilização como revestimento de superfícies pode trazer algumas vantagens, tais como, melhorar a estabilidade físico-química, controlar a liberação, melhorar a biodisponibilidade, além de promover bio(muco)adesão (Frank *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2022).

Como aprimoramento para aumentar a seletividade dos NLCs, estudos têm realizado sua funcionalização com moléculas sinalizadoras. A funcionalização permite o acoplamento na superfície do sistema de algumas moléculas, como proteínas, peptídeos, dentre outras, que irão direcionar o fármaco ou composto analisado, e interagir com receptores na superfície no local alvo (Bahrami; Delshadi; Jafari, 2020; Nogueira *et al.*, 2016).

Classificadas como glicoproteínas relacionadas à superfamília de imunoglobulinas, as moléculas de adesão relacionadas ao antígeno carcinoembrionário humano (CEACAMs) podem ser expressas em leucócitos, tecido endotelial e epitelial (Javaheri *et al.*, 2016). Os CEACAMs, além de receptores extracelulares envolvidos na adesão celular, diferenciação, proliferação e sinalização, também são alvos de diversas bactérias patogênicas (Bonsor *et al.*, 2018).

Estudos têm demonstrado que o *H. pylori* possui receptores relacionados aos CEACAMs, localizados na sua membrana externa, identificados como HopQ. A ligação CEACAM-HopQ é maior com CEACAM-1, a qual se dá através de seu domínio *N*-terminal (Königer *et al.*, 2016; Tegtmeyer *et al.*, 2019).

Assim, o presente trabalho visa o desenvolvimento de NLC, revestidos com quitosana, funcionalizados com CEACAM-1 e incorporados com curcumina para tratamento de infecções causadas por *H. pylori*.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, preparamos com sucesso NLCs carregados com CUR revestidos com CS e funcionalizadas com CEACAM-1 para modular a atividade contra *H. pylori*. A determinação de LL, surfactante e miscibilidade entre LL e LS foram avaliadas como parâmetros críticos do processo para a obtenção de NLCs. NLCs foram otimizados consistindo de óleo de rícino, cera de abelha, Tween[®] 80 e Span[®] 60, apresentando tamanho monodisperso, carga superficial adequada e alta eficiência de encapsulamento. O revestimento da superfície de NLCs com CS não afetou as propriedades das partículas, mas sua carga superficial positiva favorece a mucoadesão no ambiente gástrico. A funcionalização com CEACAM-1 dos NLCs revestido com CS foi realizado com sucesso. Além disso, NLCs desenvolvidos mostraram uma liberação controlada de CUR no meio gástrico, o que pode prolongar seu efeito terapêutico no estômago.

Ensaio biológicos *in vitro* mostraram que NLCs sem CUR foram ativos contra a bactéria *H. pylori* e que essa atividade foi mantida após a incorporação de CUR. Além disso, as concentrações bactericidas não foram citotóxicas nas linhagens celulares GES-1, AGS e MKN-74. Esses dados são promissores porque os NLCs desenvolvidos neste trabalho foram capazes de eliminar *H. pylori*, com redução total de células planctônicas, usando apenas o NLC em branco e apresentaram atividade em biofilme maduro, um dos fatores de virulência conhecidos da bactéria que contribui para a resistência. Além disso, os NLCs em branco e revestidos com CS apresentaram atividade significativa de proteção gástrica contra úlceras induzidas por indometacina. Além disso, o sistema foi importante para preservar a ação da CUR. A capacidade de proteger contra úlceras gástricas, um dos problemas de saúde associado aos indivíduos que contém infecção por *H. pylori*, torna os NLCs, inéditos desenvolvidos nesse trabalho, promissores na pesquisa de novos tratamentos para *H. pylori*.

REFERÊNCIAS

- ABD EL-HACK, M. E. *et al.* Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 2726–2744, 2020.
- ABD EL-HACK, M E *et al.* Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 14, p. 5747–5762, 2021.
- ABDULLAH *et al.* Impact of cocoa butter and medium chain triglycerides ratios on processing stability, supersaturation, and digestive properties of curcumin-loaded nanostructured lipid carriers. **LWT**, v. 197, 1 abr. 2024.
- ABEDI, E. *et al.* Structure-based modifications of nano lipid carriers: Comparative review on release properties and anti-microbial activities of bioactive compounds. **Food Control**, v. 159, 2024.
- AGHBASHLO, M. *et al.* Tuning chitosan's chemical structure for enhanced biological functions. **Trends in Biotechnology**, v. 41, n. 6, p. 785–797, 2022
- AGRAWAL, M. *et al.* Design and optimization of curcumin loaded nano lipid carrier system using Box-Behnken design. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 141, 2021.
- ALAM, J. *et al.* Curcumin Encapsulated into Biocompatible Co-Polymer PLGA Nanoparticle Enhanced Anti-Gastric Cancer and Anti-*Helicobacter Pylori* Effect. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 23, n. 1, p. 61–70, 2022.
- ALDHALEEI, W. A.; WALLACE, B. B.; HARRIS, D. M.; BI, Y. *Helicobacter pylori*: A concise review of the latest treatments against an old foe. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 91, n. 8, p. 481-487, 2024.
- AL-SAYED, E.; GAD, H. A.; EL-KERSH, D. M. Characterization of Four Piper Essential Oils (GC/MS and ATR-IR) Coupled to Chemometrics and Their anti- *Helicobacter pylori* Activity. **ACS Omega**, v. 6, n. 39, p. 25652–25663, 2021.
- AL-SHEHRI, B. M. *et al.* Effect of Storage Time and Floral Origin on the Physicochemical Properties of Beeswax and the Possibility of Using It as a Phase Changing Material in the Thermal Storage Energy Technology. **Foods**, v. 11, n. 23, 2022.
- ALVES, A. C. S. DE *et al.* Chitosan-Coated Lipid-Core Nanocapsules Functionalized with Gold-III and Bevacizumab Induced *In Vitro* Cytotoxicity against C6 Cell Line and *In Vivo* Potent Antiangiogenic Activity. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 6, p. 91, 2020.
- ALVES, C. R. *et al.* A Critical Review of the Properties and Analytical Methods for the Determination of Curcumin in Biological and Pharmaceutical Matrices. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 138–149, 2019.

ANA, R. DA *et al.* Lipid-Based Nanoparticulate Systems for the Ocular Delivery of Bioactives with Anti-Inflammatory Properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 20, 2022.

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 166, De 25 De Julho De 2017**. RDC 166/2017: Dispõe Sobre A Validação De Métodos Analíticos E Dá Outras Providências. Brasília, DF. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pd. Acesso em: 20 de maio de 2022.

ARAÚJO, J. T. C. DE *et al.* Overview of chitosan-based nanosystems for prostate cancer therapy. **European Polymer Journal**, v. 160, 2021.

ARAUJO, V. H. S. *et al.* The influence of NLC composition on curcumin loading under a physicochemical perspective and *in vitro* evaluation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 602, 2020.

ARAUJO, V. H. S. *et al.* Exploiting solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for drug delivery against cutaneous fungal infections. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 1–12, 2020a.

ARAUJO, V. H. S. *et al.* Chitosan-based systems aimed at local application for vaginal infections. **Carbohydrate Polymers**, v. 261, 2021.

ARELLANO, H. *et al.* Influence of critical micelle concentration of choline-based long chain fatty acid soaps on their antibacterial activity against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 677, p. 314–323, 2025.

ARFAT, M. Y. *et al.* Fine characterization of glucosylated human IgG by biochemical and biophysical methods. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 408–415, 2014.

AZHAR, S. N. A. S. *et al.* Nanostructured Lipid Carriers-Hydrogels System for Drug Delivery: Nanohybrid Technology Perspective. **Molecules**, v. 27, n. 1, 2022.

BAHRAMI, A.; DELSHADI, R.; JAFARI, S. M. Active delivery of antimicrobial nanoparticles into microbial cells through surface functionalization strategies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 99, p. 217–228, 2020.

BAJ, J. *et al.* *Helicobacter pylori* virulence factors—mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. **Cells**, v. 10, n. 1, p. 1–37, 2021.

BANSIL, R. *et al.* Motility of Different Gastric *Helicobacter* spp. **Microorganisms**, v. 11, n. 3, p. 634, 2023.

- BARROS, D. P. C. DE *et al.* Design of Quercetin-Loaded Natural Oil-Based Nanostructured Lipid Carriers for the Treatment of Bacterial Skin Infections. **Molecules**, v. 27, n. 24, 2022.
- BARUA, N.; BURAGOHAİN, A. K. Therapeutic Potential of Curcumin as an Antimycobacterial Agent. **Biomolecules**, v. 11, n. 9, p. 1278, 2021.
- BASHIRI, S. *et al.* Preparation and characterization of chitosan-coated nanostructured lipid carriers (CH-NLC) containing cinnamon essential oil for enriching milk and anti-oxidant activity. **LWT**, v. 119, 2020.
- BASSO, J. *et al.* Old drugs, new tricks: Delivering pitavastatin-loaded nanostructured lipid carriers for glioblastoma treatment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 245, 2025.
- BEHRENS, I.-K. *et al.* The HopQ-CEACAM Interaction Controls CagA Translocation, Phosphorylation, and Phagocytosis of *Helicobacter pylori* in Neutrophils. **mBio**, v. 11, n. 1, p. 403–405, 2020.
- BHAIRY, S. *et al.* Development and validation of bivariate UV-visible spectroscopic method for simultaneous estimation of curcumin and piperine in their combined nanoparticulate system. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 11, n. 5, p. 64–70, 2021.
- BHATIA, N. K. *et al.* Effect of pH and temperature on conformational equilibria and aggregation behaviour of curcumin in aqueous binary mixtures of ethanol. **RSC Advances**, v. 6, n. 105, p. 103275–103288, 2016.
- BHOSALE, A. *et al.* Emu oil enriched nanostructured lipid carriers of lornoxicam burdened polymeric gel augmented drug delivery and assisted cartilage repairing in knee osteoarthritis: *In-vitro* and *in-vivo* studies. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 98, 2024.
- BHUTIA, G. T. *et al.* Shellac and locust bean gum coacervated curcumin, epigallocatechin gallate nanoparticle ameliorates diabetic nephropathy in a streptozotocin-induced mouse model. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 271, 2024.
- BONIFÁCIO, B. V. *et al.* Antimicrobial activity of natural products against *Helicobacter pylori*: A review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2014.
- BONILLA, L. *et al.* Lipid Nanoparticles for the Posterior Eye Segment. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 90, p. 1–30, 2022.
- BONSOR, D. A. *et al.* The *Helicobacter pylori* adhesin protein HopQ exploits the dimer interface of human CEACAMs to facilitate translocation of the oncoprotein CagA. **The EMBO Journal**, v. 37, n. 13, p. 1–17, 2018.
- CAMARGO, B. A. F. DE *et al.* General Characteristics, Main Virulence Markers and New Approaches in the Control of *Helicobacter pylori*. In: CURR, A. **Helicobacter pylori from diagnosis to treatment**. 1. ed. New York: Nova Medicine & Health, 2020. 1 cap, p. 1–83.

CAMARGO, B. A. F. DE *et al.* New Silver(I) Coordination Compound Loaded into Polymeric Nanoparticles as a Strategy to Improve *in Vitro* Anti- *Helicobacter pylori* Activity. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 7, p. 2287–2298, 2020a.

CAMARGO, B. A. F. DE. *et al.* Functionalized lipid-based drug delivery nanosystems for the treatment of human infectious diseases. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 214–230, 2023.

CÁNEPA, C. *et al.* Development of a Drug Delivery System Based on Chitosan Nanoparticles for Oral Administration of Interferon - α . **Biomacromolecules**, v. 18, p. 3302-3309, 2017.

CAO, A. *et al.* Curcumin induces apoptosis in human gastric carcinoma AGS cells and colon carcinoma HT-29 cells through mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. **Apoptosis**, v. 18, n. 11, p. 1391–1402, 2013.

CARRON, M. A. *et al.* Identification of *Helicobacter pylori* Biofilms in Human Gastric Mucosa. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 10, n. 5, p. 712–717, 2006.

CARVALHO, S. G. *et al.* Chitosan surface modification modulates the mucoadhesive, permeation and anti-angiogenic properties of gellan gum/bevacizumab nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, 2024.

CARVALHO, S. G. *et al.* New insights into physicochemical aspects involved in the formation of polyelectrolyte complexes based on chitosan and dextran sulfate. **Carbohydrate Polymers**, v. 271, 2021.

CASILLAS-VARGAS, G. *et al.* Antibacterial fatty acids: An update of possible mechanisms of action and implications in the development of the next-generation of antibacterial agents **Progress in Lipid Research**, v. 82, 2021

CELLINI, L. *et al.* Dynamic colonization of *Helicobacter pylori* in human gastric mucosa. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 43, n. 2, p. 178–185, 2008.

CERDA, O. A. *et al.* tlpA gene expression is required for arginine and bicarbonate chemotaxis in *Helicobacter pylori*. **Biological Research**, v. 44, n. 3, p. 277–282, 2011.

CHAKRABORTY, I.; CHATTERJEE, K. Polymers and Composites Derived from Castor Oil as Sustainable Materials and Degradable Biomaterials: Current Status and Emerging Trends. **Biomacromolecules**, v. 21, p. 4639-4662, 2020.

CHANDA, A. *et al.* Electrospun chitosan/polycaprolactone-hyaluronic acid bilayered scaffold for potential wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 774–785, 2018.

CHAUDHARI, V. S.; MURTY, U. S.; BANERJEE, S. Nanostructured lipid carriers as a strategy for encapsulation of active plant constituents: Formulation and *in vitro* physicochemical characterizations. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 235, 2021.

CHAUHAN, I. *et al.* Nanostructured Lipid Carriers: A Groundbreaking Approach for Transdermal Drug Delivery. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 10, n. 2, p. 150–165, 2020.

CHEN, X. *et al.* The role of nanotechnology-based approaches for clinical infectious diseases and public health. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1–13, 2023.

CHEN, Y. *et al.* Study on mechanism underlying effect of scanning paths on healing performances in dual-beam laser welding. **Optics and Laser Technology**, v. 182, 2025.

CHUTOPRAPAT, R.; KOPONGPANICH, P.; CHAN, L. W. A Mini-Review on Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: Topical Delivery of Phytochemicals for the Treatment of Acne Vulgaris. **Molecules**, v. 27, n. 11, 2022.

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 25th Informational Supplement. Wayne: CLSI, 2015. 184 p. (CLSI document M100-S25).

CORDEIRO, A. P. *et al.* Doxorubicin and 4-nitrochalcone loaded in beeswax-based nanostructured lipid carriers: *In vitro* antitumoral screening and evaluation of synergistic effect on HepG-2 cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 666, 2024.

DAI, C. *et al.* The natural Product Curcumin as an Antibacterial Agent: Current Achievements and Problems. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, 2022.

DARYASARI, M. P. *et al.* Chitosan-folate coated mesoporous silica nanoparticles as a smart and pH-sensitive system for curcumin delivery. **RSC Advances**, v. 6, n. 107, p. 105578–105588, 2016.

DHAS, N. L.; IGE, P. P.; KUDARHA, R. R. Design, optimization and in-vitro study of folic acid conjugated-chitosan functionalized PLGA nanoparticle for delivery of bicalutamide in prostate cancer. **Powder Technology**, v. 283, p. 234–245, 2015.

DE, R. *et al.* Antimicrobial activity of curcumin against *Helicobacter pylori* isolates from India and during infections in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 4, p. 1592–1597, 2009.

DEHZAD, M. J. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin/turmeric supplementation in adults: A GRADE-assessed systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. **Cytokine**, v. 164, 2023.

DI FILIPPO, L. D. *et al.* Glioblastoma multiforme targeted delivery of docetaxel using bevacizumab-modified nanostructured lipid carriers impair *in vitro* cell growth and *in vivo* tumor progression. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 618, 2022.

DIZAJ, S. *et al.* Curcumin nanoformulations: Beneficial nanomedicine against cancer. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 3, p. 1156–1181, 2022.

DOSOKY, N. S.; SETZER, W. N. Chemical composition and biological activities of essential oils of curcuma species. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 10–17, 2018.

ELETTO, D. *et al.* *Helicobacter pylori* Pathogen-Associated Molecular Patterns: Friends or Foes? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 7, 2022.

ELKHOLY, N. E. *et al.* Chitosan coated lipid carriers as nanopatform for repurposed anti-breast cancer activity of niclosamide. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 93, 2024.

ELSHENAWI, Y.; HU, S.; HATHROUBI, S. Biofilm of *Helicobacter pylori*: Life Cycle, Features, and Treatment Options. **Antibiotics**, v. 12, n. 8, 2023.

EMAM, A. N. *et al.* Cyto-toxicity, biocompatibility and cellular response of carbon dots-plasmonic based nano-hybrids for bioimaging. **RSC Advances**, v. 7, n. 38, p. 23502–23514, 2017.

ENSIGN, L. M.; CONE, R.; HANES, J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: The gastrointestinal mucus barriers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 6, p. 557–570, 2012.

FARMOUDEH, A. *et al.* Methylene blue-loaded niosome: preparation, physicochemical characterization, and *in vivo* wound healing assessment. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 10, n. 5, p. 1428–1441, 2020.

FERREIRA, L. M. B. *et al.* Design of chitosan-based particle systems: A review of the physicochemical foundations for tailored properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, 2020.

FILIPE, V.; HAWE, A.; JISKOOT, W. Critical evaluation of nanoparticle tracking analysis (NTA) by NanoSight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates. **Pharmaceutical Research**, v. 27, n. 5, p. 796–810, 2010.

FITZGERALD, R., SMITH, S.M. An Overview of *Helicobacter pylori* Infection. In: Smith, S.M. **Helicobacter Pylori: Methods in Molecular Biology**, vol 2283. New York: Humana, 2021.

FONSECA, D. R. *et al.* Grafting MSI-78A onto chitosan microspheres enhances its antimicrobial activity. **Acta Biomaterialia**, v. 137, p. 186–198, 2022.

FONSECA, D. R. *et al.* How to manage *Helicobacter pylori* infection beyond antibiotics: The bioengineering quest. **Applied Materials Today**, v. 37, 2024.

FONSECA-SANTOS, B.; CHORILLI, M. An overview of carboxymethyl derivatives of chitosan: Their use as biomaterials and drug delivery systems. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1349–1362, 2017.

FRANK, L. A. *et al.* Chitosan as a coating material for nanoparticles intended for biomedical applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 147, 2020.

FRATINI, F. *et al.* Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 9, p. 839–843, 2016.

GABAL, Y. M. *et al.* Effect of surface charge on the brain delivery of nanostructured lipid carriers in situ gels via the nasal route. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1–2, p. 442–457, 2014.

GHOBADI-OGHAZ, N.; ASOODEH, A.; MOHAMMADI, M. Fabrication, characterization and in vitro cell exposure study of zein-chitosan nanoparticles for co-delivery of curcumin and berberine. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 204, p. 576–586, 2022.

GIBSON, K. *et al.* A Tripartite Efflux System Affects Flagellum Stability in *Helicobacter pylori*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, 2022.

GIORDANO, A.; TOMMONARO, G. Curcumin and cancer. **Nutrients**, v. 11, n. 10, 2019.

GOODWIN, C. S. *et al.* Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 39, n. 4, p. 397–405, 1989.

GORDILLO-GALEANO, A.; MORA-HUERTAS, C. E. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 133, p. 285–308, 2018.

GRAVÁN, P. *et al.* Lipid-core nanoparticles: Classification, preparation methods, routes of administration and recent advances in cancer treatment. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 314, 2023.

GRAVES, R. A. *et al.* Effect of squalane on mebendazole-loaded Compritol® nanoparticles. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 26, n. 13, p. 868–880, 2015.

GRILL, A. *et al.* A Review of Select Recent Patents on Novel Nanocarriers. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3, n. 2, p. 137–142, 2009.

GROSS, J. *et al.* Nanoparticle tracking analysis of particle size and concentration detection in suspensions of polymer and protein samples: Influence of experimental and data evaluation parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 104, p. 30–41, 2016.

GU, Y. FENG *et al.* Biological function of hpsH4590 localized in the plasticity zone of *Helicobacter pylori*. **Microbial Pathogenesis**, v. 93, p. 63–69, 2016.

GUERRA, A. M. S. *et al.* The nanotech potential of turmeric (*Curcuma longa* L.) in food technology: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 11, p. 1842–1854, 2020.

GUIMARÃES, A.; VENÂNCIO, A. The Potential of Fatty Acids and Their Derivatives as Antifungal Agents: A Review. **Toxins**, v. 14, 2022.

GUPTA, N.; KUMAR, A.; VERMA, V. K. Strategies adopted by gastric pathogen *Helicobacter pylori* for a mature biofilm formation: Antimicrobial peptides as a visionary treatment. **Microbiological Research**, v. 273, 2023.

GUPTA, S. C.; PATCHVA, S.; AGGARWAL, B. B. Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. **AAPS Journal**, v. 15, n. 1, p. 195–218, 2013.

HAMIMED, S.; JABBERI, M.; CHATTI, A. Nanotechnology in drug and gene delivery. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 395, n. 7, p. 769–787, 2022.

HAMWAY, Y. *et al.* Cysteine Residues in *Helicobacter pylori* Adhesin HopQ Are Required for CEACAM – HopQ Interaction and Subsequent CagA Translocation. **Microorganisms**, v. 8, n. 465, p. 1–11, 2020.

HAN, Z. *et al.* The old CEACAMs find their new role in tumor immunotherapy. **Investigational New Drugs**, v. 38, p. 1888–1898, 2020.

HARRON, D. W. G. Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process. **The Textbook of Pharmaceutical Medicine**, v. 1994, p. 447–460, 2013.

HATHROUBI, S. *et al.* *Helicobacter pylori* Biofilm Formation and Its Potential Role in Pathogenesis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 82, n. 2, p. 1–15, 2018.

HU, Q.; LUO, Y. Chitosan-based nanocarriers for encapsulation and delivery of curcumin: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 125–135, 2021.

HU, Y. M. *et al.* Uptake characteristics of levofloxacin for the eradication of *Helicobacter pylori* by GES-1 and MGC80-3 cells. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 3, p. 486–490, 2016.

HUANG, P. *et al.* Photosensitizer-conjugated silica-coated gold nanoclusters for fluorescence imaging-guided photodynamic therapy. **Biomaterials**, v. 34, n. 19, p. 4643–4654, 2013.

HUSSAIN, Y. *et al.* Antimicrobial Potential of Curcumin: Therapeutic Potential and Challenges to Clinical Applications. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, 2022.

HUQ, M. A. *et al.* Chitosan-Coated Polymeric Silver and Gold Nanoparticles: Biosynthesis, Characterization and Potential Antibacterial Applications: A Review. **Polymers**, v. 14, 2022.

HYUN, J. E. *et al.* Digestion stability of curcumin-loaded nanostructured lipid carrier. **LWT**, v. 162, 2022.

IGNJATOVIĆ, J. *et al.* Development of solid lipid microparticles by melt-emulsification/spray-drying processes as carriers for pulmonary drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 156, 2021.

INNGJERDINGEN, K. T. *et al.* Inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric adenocarcinoma epithelial cells by aqueous extracts and pectic polysaccharides from the roots of *Cochlospermum tinctorium* A. Rich. and *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. **Fitoterapia**, v. 95, p. 127–132, 2014.

JAVAHERI, A. *et al.* *Helicobacter pylori* adhesin HopQ engages in a virulence-enhancing interaction with human CEACAMs. **Nature Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 1–12, 2016.

Jl, X. *et al.* Injectable immunomodulation-based porous chitosan microspheres / HPCH hydrogel composites as a controlled drug delivery system for osteochondral regeneration. **Biomaterials**, v. 285, 2022.

JOSHI, P. *et al.* Ameliorating potential of curcumin and its analogue in central nervous system disorders and related conditions: A review of molecular pathways. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 8, p. 3143–3180, 2022.

JUNG, S. W. *et al.* Mechanism of antibacterial activity of liposomal linolenic acid against *Helicobacter pylori*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–13, 2015.

KELLEHER, M. *et al.* Cytokine and Growth Factor Reviews Carcinoembryonic antigen (CEACAM) family members and Inflammatory Bowel Disease. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 47, p. 21–31, 2019.

KESHARWANI, P. *et al.* Systematic optimization, characterization of Mycophenolic acid loaded nanostructured lipid carrier embedded nanogel for improved permeation and in vivo antipsoriatic activity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 89, 1 nov. 2023.

KHOSA, A.; REDDI, S.; SAHA, R. N. Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 103, p. 598–613, 2018.

- KIM, E. J. *et al.* Comparison of high and low molecular weight chitosan as *in-vitro* boosting agent for photodynamic therapy against *Helicobacter pylori* using methylene blue and endoscopic light. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 26, p. 111–115, 2019.
- KISS, E. L. *et al.* Design and optimization of nanostructured lipid carrier containing dexamethasone for ophthalmic use. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 12, 2019.
- KOLENYAK-SANTOS, F. *et al.* Nanostructured lipid carriers as a strategy to improve the *in vitro* schistosomiasis activity of Praziquantel. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p. 761–772, 2015.
- KOLEV, T. M. *et al.* DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, n. 6, p. 1069–1079, 2005.
- KÖNIGER, V. *et al.* *Helicobacter pylori* exploits human CEACAMs via HopQ for adherence and translocation of CagA. **Nature Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 1–11, 2016.
- KOTHA, R. R.; LUTHRIA, D. L. Curcumin: Biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 1–27, 2019.
- KUMAR, S.; DHIMAN, M. Inflammasome activation and regulation during *Helicobacter pylori* pathogenesis. **Microbial Pathogenesis**, v. 125, p. 468–474, 2018.
- LINDA, L. Reviewer Guidance - Validation of chromatographic methods. **CDER. Center for Drug Evaluation and Research**, v. 22, n. 3, p. 1–30, 1998.
- LAI, Y. *et al.* Biomaterials for *Helicobacter pylori* therapy: therapeutic potential and future perspectives. **Gut Microbes**, v. 14, n. 1, p. 1–22, 2022.
- LAKHANI, P. *et al.* Optimization, stabilization, and characterization of amphotericin B loaded nanostructured lipid carriers for ocular drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 572, 2019.
- LAURA, V. *et al.* Potential of Curcumin in Skin Disorders. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2169, 2019.
- LEE, N. K. *et al.* Impact of the conjugation of antibodies to the surfaces of polymer nanoparticles on the immune cell targeting abilities. **Nano Convergence**, v. 8, n. 1, 2021.
- LEITÃO, J. H. Microbial virulence factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 1–6, 2020.
- LERTSETHTAKARN, P.; OTTEMANN, K. M.; HENDRIXSON, D. R. Motility and chemotaxis in *Campylobacter* and *Helicobacter*. **Annual Review of Microbiology**, v. 65, p. 389–410, 2011.

LI, L. *et al.* AIEgen-self-assembled nanoparticles with anti-PD-L1 antibody functionalization realize enhanced synergistic photodynamic therapy and immunotherapy against malignant melanoma. **Materials Today Bio**, v. 30, 2025.

LI, P. *et al.* Mucus penetration enhanced lipid polymer nanoparticles improve the eradication rate of *Helicobacter pylori* biofilm. **Journal of Controlled Release**, v. 300, n. 132, p. 52–63, 2019.

LI, Y. *et al.* Interaction of soybean protein isolate and phosphatidylcholine in nanoemulsions: A fluorescence analysis. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 814–829, 2019.

LI, Y. *et al.* Curcumin: A review of experimental studies and mechanisms related to periodontitis treatment. **Journal of Periodontal Research**, v. 56, n. 5, p. 837–847, 2021.

LONDHE, V. Y.; KHOGTA, S. M.; BARVE, K. H. Improved anti-arthritic activity of ginger extract, a traditional medicine, using novel drug delivery approach. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 18, n. 2, p. 439–443, 2021.

LOPES-DE-CAMPOS, D. *et al.* Targeting and killing the Ever-Challenging ulcer bug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 617, 2022.

LÜDTKE, F. L. *et al.* Characterization of lipid systems based on fully hydrogenated soybean and high oleic sunflower oils to obtain nanostructured lipid carriers. **Food Bioscience**, v. 53, 2023.

LUO, Q. *et al.* Nanostructured lipid carrier (NLC) coated with Chitosan Oligosaccharides and its potential use in ocular drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 403, n. 1–2, p. 185–191, 2011.

MA, Y. *et al.* Castor oil-based adhesives: A comprehensive review. **Industrial Crops and Products**, v. 209, 2024.

MA, Z. *et al.* Pharmaceutical strategies of improving oral systemic bioavailability of curcumin for clinical application. **Journal of Controlled Release**, v. 316, p. 359–380, 2019.

MADANE, R. G.; MAHAJAN, H. S. Curcumin-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) for nasal administration: design, characterization, and *in vivo* study. **Drug Delivery**, v. 23, n. 4, p. 1326–1334, 2016.

MAJUMDER, K. K. *et al.* Pages:115-121 To Cite This Article. **Pharmacophore**, v. 11, n. 1, p. 115–121, 2020.

MALAIYA, A. *et al.* QbD-based optimization and evaluation of chitosan-adorned nanostructured lipid carriers for nose-to-brain delivery of 17 β -Estradiol in rat model of Alzheimer's disease. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 96, 2024.

MANHAS, A. A. *et al.* Mixed surfactants as emulsifiers for interfacial modification of o/w emulsions: A case study of TBHQ partitioning and oxidative stability of castor oil using interfacial chemical kinetic method. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 718, 2025.

MANIVASAGAN, P. *et al.* Anti-EGFR antibody conjugated thiol chitosan-layered gold nanoshells for dual-modal imaging-guided cancer combination therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 311–312, p. 26–42, 2019.

MARENA, G. D. *et al.* Natural product-based nanomedicine applied to fungal infection treatment: A review of the last 4 years. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 7, p. 2710–2745, 2022.

MARKOVA, E. *et al.* Design and evaluation of nanostructured lipid carriers loaded with *Salvia officinalis* extract for Alzheimer's disease treatment. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, n. 6, p. 1368–1390, 2022.

MARQUES, A. C. *et al.* Functionalizing nanoparticles with cancer-targeting antibodies: A comparison of strategies. **Journal of Controlled Release**, v. 320, p. 180–200, 2020.

MATICA, M. A. *et al.* Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 1–33, 2019.

MATSUO, Y.; KIDO, Y.; YAMAOKA, Y. *Helicobacter pylori* outer membrane protein-related pathogenesis. **Toxins**, v. 9, n. 3, p. 1–9, 2017.

MEMARZIA, A. *et al.* Curcuma longa and curcumin affect respiratory and allergic disorders, experimental and clinical evidence: A comprehensive and updated. **Biofactors Wiley**, v. 48, p. 221–551, 2022.

MING, T. *et al.* Curcumin: An epigenetic regulator and its application in cancer. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 156, 2022.

MOHAMADIAN, M. *et al.* Protective effects of curcumin on ischemia/reperfusion injury. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 12, p. 4299–4324, 2022.

MOHAMMADI, F. S.; ARAGHI, M.; NADRI, S. Core-shell (polyethylene glycol/silk) scaffold containing microfluidic synthesis of curcumin loaded chitosan nanoparticles as a wound healing agent in animal full-thickness injuries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 278, 2024.

MOHAMMADI, Z. *et al.* Chitosan as a machine for biomolecule delivery: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 256, 2021.

- MOHAN, P. R. K. *et al.* Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 62, p. 77–84, 2012.
- MOONENS, K. *et al.* *Helicobacter pylori* adhesin HopQ disrupts trans dimerization in human CEACAMs. **The EMBO Journal**, v. 37, n. 13, p. 1–17, 2018.
- MOSALLAM, F. M. *et al.* Curcumin clarithromycin nano-form a promising agent to fight *Helicobacter pylori* infections. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 12, 2023.
- MOUKHTARI, S. H. E; RODRÍGUEZ-NOGALES, C.; BLANCO-PRIETO, M. J. Oral lipid nanomedicines: Current status and future perspectives in cancer treatment. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 173, p. 238–251, 2021.
- MULLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, 2002.
- MURA, P. *et al.* Evaluation and comparison of solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carriers (NLCs) as vectors to develop hydrochlorothiazide effective and safe pediatric oral liquid formulations. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 4, 2021.
- NADAF, S. J.; KILLEDAR, S. G. Method Development and Validation for Estimation of Curcumin in Fabricated Nano-Sized Formulation: Inter-Laboratory Comparison, Capability and Statistical Analysis. **Pharmaceutical Methods**, v. 9, n. 2, p. 56–63, 2018.
- NASCIMENTO, A. L. C. S. *et al.* Indomethacin-omeprazole as therapeutic hybrids? Salt and co-amorphous systems enhancing physicochemical and pharmacological properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 653, 2024.
- NASERY, M. M. *et al.* Curcumin Delivery Mediated by Bio-Based Nanoparticles: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 689, 2020.
- NEGRI ATANASIO, G. DE *et al.* Bevacizumab encapsulation into PLGA nanoparticles functionalized with immunoglobulin-1 as an innovative delivery system for atherosclerosis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 221, p. 1618–1630 2022.
- NEJADMANSOURI, M. *et al.* Physicochemical properties and oxidative stability of fish oil nanoemulsions as affected by hydrophilic lipophilic balance, surfactant to oil ratio and storage temperature. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 506, p. 821–832, 2016.
- NGUYEN, Q. A. *et al.* Effects of *Helicobacter pylori* adhesin HopQ binding to CEACAM receptors in the human stomach. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1–11, 2023.

- NOGUEIRA, E. *et al.* Folate-targeted nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 12, p. 1113 – 1126, 2016.
- NOGUEIRA, N. C.; SÁ, L. L. F. DE; CARVALHO, A. L. M. DE. Nanostructured Lipid Carriers as a Novel Strategy for Topical Antifungal Therapy. **AAPS PharmSciTech**, v. 23, n. 1, p. 32, 2021.
- NOORULLA, K. M. *et al.* Intranasal delivery of chitosan decorated nanostructured lipid carriers of Bupirone for brain targeting: Formulation development, optimization and *In-Vivo* preclinical evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 67, 2022.
- OBUKHOVA, E. S.; MURZINA, S. A. Mechanisms of the Antimicrobial Action of Fatty Acids: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 60, n. 6, p. 1035–1043, 2024.
- OFORI, E. G. *et al.* *Helicobacter pylori* Infection, Virulence Genes' Distribution and Accompanying Clinical Outcomes: The West Africa Situation. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.
- OLIVEIRA, M. B. S. C.; RIBEIRO, F. C.; VIZZONI, A. G. Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia. **Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ**, p. 1–156, 2013.
- OSMAN, N.; FASIKU, V. Surface modification of nano-drug delivery systems for enhancing antibiotic delivery and activity. **WIREs Nanomed Nanobiotechnol**, v. 14, p. 1–24, 2022.
- PALANISAMY, A.; RAO, B. S. Photo-DSC and dynamic mechanical studies on UV curable compositions containing diacrylate of ricinoleic acid amide derived from castor oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 60, n. 3, p. 161–169, 2007.
- PAPADOPOULOU, V. *et al.* On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1–2, p. 44–50, 2006.
- PARREIRA, P. *et al.* Eucalyptus spp. outer bark extracts inhibit *Helicobacter pylori* growth: in vitro studies. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 207–214, 2017.
- PATIL, T. S. *et al.* Recent Advancements in Topical Anti-Psoriatic Nanostructured Lipid Carrier-Based Drug Delivery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, 2023.
- PERERA, K. D. C. *et al.* Study of concentration dependent curcumin interaction with serum biomolecules using ATR-FTIR spectroscopy combined with Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Square Regression (PLS-R). **Vibrational Spectroscopy**, v. 116, 2021.
- PINHO, A. S. *et al.* Cholesterol Functionalized Nanoparticles Are Effective against *Helicobacter pylori*, the Gastric Bug: A Proof-of-Concept Study. **Advanced Healthcare Materials**, v. 14, n. 10, 2025.

PINHO, A. S. *et al.* *Helicobacter pylori* biofilms are disrupted by nanostructured lipid carriers: A path to eradication? **Journal of Controlled Release**, v. 348, p. 489–498, 2022.

PINILLA, C. M. B.; LOPES, N. A.; BRANDELLI, A. Lipid-based nanostructures for the delivery of natural antimicrobials. **Molecules**, v. 26, n. 12, p. 1–22, 2021.

PUGLIA, C. *et al.* Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: An *in vitro* and *in vivo* investigation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 357, n. 1–2, p. 295–304, 2008.

PUGLIA, C. *et al.* Nanostructured Lipid Carriers (NLC) as Vehicles for Topical Administration of Sesamol: *In Vitro* Percutaneous Absorption Study and Evaluation of Antioxidant Activity. **Planta Medica**, v. 83, n. 05, p. 398–404, 2017.

PYO, Y. C. *et al.* Chitosan-coated nanostructured lipid carriers of fenofibrate with enhanced oral bioavailability and efficacy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, 2020.

QIAO, Y. *et al.* Phototherapy and Mechanism Exploration of Biofilm and Multidrug-Resistant *Helicobacter pylori* by Bacteria-Targeted NIR Photosensitizer. **Small**, v. 19, n. 4, p. 1–10, 2023.

RABELO, R. S. *et al.* Chitosan coated nanostructured lipid carriers (NLCs) for loading Vitamin D: A physical stability study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 902–912, 2018.

RAMOS, M. A. S. *et al.* Nanotechnological strategies for systemic microbial infections treatment: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 589, 2020.

RAPALLI, V. K. *et al.* UV Spectrophotometric method for characterization of curcumin loaded nanostructured lipid nanocarriers in simulated conditions: Method development, *in-vitro* and *ex-vivo* applications in topical delivery. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 224, 2020.

RAZAVI, B. M.; RAHBARDAR, M. G.; HOSSEINZADEH, H. A review of therapeutic potentials of turmeric (*Curcuma longa*) and its active constituent, curcumin, on inflammatory disorders, pain, and their related patents. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 12, p. 6489–6513, 2021.

REQUENA, R.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Study of the potential synergistic antibacterial activity of essential oil components using the thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) assay. **Lwt**, v. 101, p. 183–190, 2019.

RIBEIRO, L. N. D. M. *et al.* Use of nanoparticle concentration as a tool to understand the structural properties of colloids. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 982, 2018.

RIBEIRO, L. N. M. *et al.* Natural lipids-based NLC containing lidocaine: from pre-formulation to in vivo studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, p. 102–112, 2017.

ROBIN WARREN, J.; MARSHALL, B. Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis. **The Lancet**, v. 321, n. 8336, p. 1273–1275, 1983.

RODRIGUEZ, A. M.; URREA, D. A.; PRADA, C. F. *Helicobacter pylori* virulence factors: Relationship between genetic variability and phylogeographic origin. **PeerJ**, v. 9, p. 1–25, 2021.

RUBAB, S. *et al.* Enhanced neuroprotective and antidepressant activity of curcumin-loaded nanostructured lipid carriers in lipopolysaccharide-induced depression and anxiety rat model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 603, 2021.

RUGUO, Z. *et al.* Thermal Analysis of Four Insect Waxes Based on Differential Scanning Calorimetry (DSC). **Procedia Engineering**, v. 18, p. 101–106, 2011.

SADEGHI, M. *et al.* Curcumin and chemokines: mechanism of action and therapeutic potential in inflammatory diseases. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 1069-1093, 2023.

SALINA, E. G.; EKINS, S.; MAKAROV, V. A. A rapid method for estimation of the efficacy of potential antimicrobials in humans and animals by agar diffusion assay. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 93, n. 6, p. 1021–1025, 2018.

SANTOS, A. M. DOS *et al.* Understanding the role of electrostatic interactions on the association of 5-fluorouracil to chitosan-TPP nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 640, 2022.

SANTOS, J. S. *et al.* Encapsulation of Citrus sinensis essential oil and R-limonene in lipid nanocarriers: A potential strategy for the treatment of leishmaniasis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 662, 2024.

SATHIANARAYANAN, S. *et al.* A new approach against *Helicobacter pylori* using plants and its constituents: A review study. **Microbial Pathogenesis**, v. 168, 2022.

SATO, M. R. *et al.* Nanostructured lipid carriers for incorporation of copper(II) complexes to be used against *Mycobacterium tuberculosis*. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 11, p. 909–921, 2017.

SCIOLI-MONTOTO, S. *et al.* Novel Phenobarbital-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Epilepsy Treatment: From QbD to *In Vivo* Evaluation. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, 2022.

SEABRA, C. L. *et al.* Docosahexaenoic acid loaded lipid nanoparticles with bactericidal activity against *Helicobacter pylori*. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 128–137, 2017.

- SEABRA, C. L. Lipid nanoparticles to counteract gastric infection without affecting gut microbiota. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 127, p. 378–386, 2018.
- SELVARAJ, K.; YOO, B. K. Curcumin-Loaded Nanostructured Lipid Carrier Modified with Partially Hydrolyzed Ginsenoside. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 6, 2019.
- SGUIZZATO, M.; ESPOSITO, E.; CORTESI, R. Lipid-Based Nanosystems as a Tool to Overcome Skin Barrier. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 15, p. 8319, 2021.
- SHARNDAMA, H. C.; MBA, I. E. *Helicobacter pylori*: an up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 33–50, 2022.
- SHOME, S.; TALUKDAR, A. DAS; UPADHYAYA, H. Antibacterial activity of curcumin and its essential nanoformulations against some clinically important bacterial pathogens: A comprehensive review. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 6, p. 2357–2386, 2022.
- SICHEL, S. R.; BRATTON, B. P.; SALAMA, N. R. Distinct regions of *H. pylori*'s bactofilin CcmA regulate protein–protein interactions to control helical cell shape. **eLife**, v. 11, p. 1–29, 2022.
- SIJMONS, D. *et al.* *Helicobacter pylori* and the Role of Lipopolysaccharide Variation in Innate Immune Evasion. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1–13, 2022.
- SILVESTRE, A, L. P. *et al.* Evaluation of photodynamic therapy on nanoparticles and films loaded-nanoparticles based on chitosan/alginate for curcumin delivery in oral biofilms. **International Journal of Biological Macromolecules** v. 240, 2023.
- SIVASANKAR, K.; PATHAK, A.; JAIN, K. Effect of Tween 80 and Pluronic 127 on the stabilization of zein nanocarriers for the delivery of piperine. **Food Research International**, v. 197, 2024.
- SOLEIMANIAN, Y. *et al.* Wax-based delivery systems: Preparation, characterization, and food applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 2994–3030, 2020.
- SORGE, N. M. V. *et al.* Bacterial protein domains with a novel Ig-like fold target human CEACAM receptors. **The EMBO journal**, v. 40, n. 7, 2021.
- SOUTO, E. B.; MEHNERT, W.; MÜLLER, R. H. Polymorphic behaviour of Compritol®888 ATO as bulk lipid and as SLN and NLC. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n. 4, p. 417–433, 2006.

SOUZA, M. L. DE *et al.* Nanostructured Lipid Carriers for oral treatment of leishmaniasis: Design and preclinical evaluation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 694, 2024.

SOUZA, M. P. C. De *et al.* Chitosan/hydroxypropylmethylcellulose based-mucoadhesive gastroretentive microparticles containing curcumin intended for the prevention of gastric ulcers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 674, 2025.

SOUZA, M. P. C. DE *et al.* Highlighting the impact of chitosan on the development of gastroretentive drug delivery systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 804–822, 2020.

SOUZA, M. P. C. DE *et al.* Highlighting the use of micro and nanoparticles based-drug delivery systems for the treatment of *Helicobacter pylori* infections. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 435–460, 2021.

SPÓSITO, L. *et al.* Nano-in-microparticles approach: Targeted gastric ulcer therapy using trans-resveratrol nanoparticles encapsulated in hyaluronic acid and alginate microparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 305, 2025.

SUN, C. Q.; O'CONNOR, C. J.; ROBERTON, A. M. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 36, n. 1–2, p. 9–17, 2003.

TAKAHASHI-KANEMITSU, A.; KNIGHT, C. T.; HATAKEYAMA, M. Molecular anatomy and pathogenic actions of *Helicobacter pylori* CagA that underpin gastric carcinogenesis. **Cellular and Molecular Immunology**, v. 17, n. 1, p. 50–63, 2020.

TAMJIDI, F. *et al.* Design and characterization of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 26, p. 366–374, 2014.

TANNER, N.; LICHTENBERG-KRAAG, B. Identification and Quantification of Single and Multi-Adulteration of Beeswax by FTIR-ATR Spectroscopy. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 121, n. 12, 2019.

TEGTMAYER, N. *et al.* Expression of CEACAM1 or CEACAM5 in AZ-521 cells restores the type IV secretion deficiency for translocation of CagA by *Helicobacter pylori*. **Cellular Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 1–14, 2019.

TERROSO, T. F. *et al.* *In vivo* prophylactic gastroprotection using α -bisabolol encapsulated in lipid-core nanocapsules and in cocoa-theospheres. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 36, p. 99–109, 2016.

TOMEH, M. A.; HADIANAMREI, R.; ZHAO, X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 5, 2019.

VARDANEGA, R. *et al.* Development and characterization of nanostructured lipid carriers for cannabidiol delivery. **Food Chemistry**, v. 441, 2024.

VASCONCELOS, A. G. *et al.* Cytotoxic activity of poly- ϵ -caprolactone lipid-core nanocapsules loaded with lycopene-rich extract from red guava (*Psidium guajava* L.) on breast cancer cells. **Food Research International**, v. 136, 2020.

VÁSQUEZ MARCANO, R. G. DEL J. *et al.* Chitosan functionalized poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles for amphotericin B delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 345–354, 2018.

VENUGOPAL, J. *et al.* Continuous Nanostructures for the Controlled Release of Drugs. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 15, p. 1799–1808, 2009.

VERAGTEN, A. *et al.* Chitosan-coated nanocapsules ameliorates the effect of olanzapine in prepulse inhibition of startle response (PPI) in rats following oral administration. **Reactive and Functional Polymers**, v. 148, 2020.

WAGHULE, T. *et al.* Voriconazole loaded nanostructured lipid carriers based topical delivery system: QbD based designing, characterization, in-vitro and *ex-vivo* evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 52, p. 303–315, 2019.

WALKER, B. C.; MITTAL, S. Antitumor activity of curcumin in glioblastoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 1–11, 2020.

WANG, G. *et al.* Daphnetin: A novel Anti-*Helicobacter pylori* agent. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, 2019.

WANG, L. *et al.* Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 330, n. 2, p. 443–448, 15 fev. 2009

WANG, T. *et al.* Journal of Colloid and Interface Science Preparation of lipid nanoparticles with high loading capacity and exceptional gastrointestinal stability for potential oral delivery applications. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 507, p. 119–130, 2017.

WESSLER, S. *et al.* From inflammation to gastric cancer - The importance of Hedgehog/GLI signaling in *Helicobacter pylori*-induced chronic inflammatory and neoplastic diseases. **Cell Communication and Signaling**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2017.

WU, Z. Y. Synthesis and Properties of Moisture-Cured Reactive Polyurethane Containing Castor Oil and Oxime Compounds. **Polymers**, v. 12, n. 8, 2020.

XIA, R. *et al.* Pathogenic interactions between *Helicobacter pylori* adhesion protein HopQ and human cell surface adhesion molecules CEACAMs in gastric epithelial cells. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 22, n. 7, p. 710-715, 2019.

XU, C. *et al.* Virulence of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins: an updated review. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, n. 10, p. 1821–1830, 17 out. 2020.

XU, Y. *et al.* Surface Modification of Lipid-Based Nanoparticles. **ACS Nano**, v. 16, p. 7168-7196, 2022.

YANG, Y.; SHU, X.; XIE, C. An Overview of Autophagy in *Helicobacter pylori* Infection and Related Gastric Cancer. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 1–13, 2022.

YANG, Z.-J. *et al.* Effects and Mechanisms of Curcumin for the Prevention and Management of Cancers: An Updated Review. **Antioxidants**, v. 11, n. 8, p. 1481, 2022.

YEUNG, A. W. K. *et al.* Curcumin: Total-scale analysis of the scientific literature. **Molecules**, v. 24, n. 7, 2019.

YOSTAWONKUL, J. *et al.* Surface modification of nanostructure lipid carrier (NLC) by oleoyl-quaternized-chitosan as a mucoadhesive nanocarrier. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 149, p. 301–311, 2017.

YOUNES, I.; RINAUDO, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine drugs**, v. 13, n. 3, p. 1133–1174, 2015.

ZENG, L. *et al.* Curcumin and Curcuma longa Extract in the Treatment of 10 Types of Autoimmune Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis of 31 Randomized Controlled Trials. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022.

ZHANG, Q. *et al.* Antimicrobial lipids in nano-carriers for antibacterial delivery. **Journal of Drug Targeting**, v. 28, 2020.

ZHAO, Q. *et al.* Integrin but not CEACAM receptors are dispensable for *Helicobacter pylori* CagA translocation. **Plos Pathog**, v. 14, n. 10, 2018.

ZHOU, B.; SZYMANSKI, C. M.; BAYLINK, A. Bacterial chemotaxis in human diseases. **Trends in Microbiology**, v. 31, n. 5, p. 453-467, 2023.

ZHU, L. *et al.* *Helicobacter pylori* promotes gastric cancer progression through the tumor microenvironment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 12, p. 4375–4385, 2022.

ZIA, A. *et al.* The role of curcumin in aging and senescence: Molecular mechanisms. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 134, 2021.

ZOU, Y. *et al.* Antibiotics-free nanoparticles eradicate *Helicobacter pylori* biofilms and intracellular bacteria. **Journal of Controlled Release**, v. 348, n. May, p. 370–385, 2022.

APÊNDICE A - Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para quantificação de curcumina por espectrofotometria na região do UV-Vis

METODOLOGIA

Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para quantificação de curcumina

A metodologia analítica para quantificação de CUR foi realizada utilizando um espectrofotômetro na região do ultravioleta (UV) (Agilent Technologies, Cary 60 UV-Vis) a 423 nm.

Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta

Para verificar o máximo de absorbância da CUR, realizou-se uma varredura em espectrofotômetro para determinar o comprimento de onda máximo (λ_{max}). O espectro na região UV foi obtido utilizando-se cubetas de quartzo de 3,5 mL (100 mm e 2 faces polidas). A varredura foi realizada entre 200 e 800 nm com uma solução de CUR em metanol na concentração de 1 mg/mL.

Preparo das soluções

A solução estoque de CUR a 1 mg/mL foi preparada em balão volumétrico de 10 mL utilizando metanol como solvente. A partir da solução estoque, uma solução de trabalho foi preparada a 50 μ g/mL em metanol. A curva de calibração foi preparada nas concentrações de 1,2; 2; 3; 4; 6 e 7 μ g/mL em balões volumétricos de 10 mL com metanol.

Validação do método analítico

Foram avaliados os parâmetros como linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), robustez e seletividade conforme preconizado na Farmacopéia Brasileira 6^o edição e na RDC n^o 166/2017, de acordo com a Conferência Internacional sobre Harmonização (ICH) de Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano - Q2 (R1) e Food and Drug Administration (FDA) - Orientação para Validação de Método (ANVISA, 2017; Harron, 2013; Linda, 1998).

Linearidade

A linearidade foi determinada no $\lambda=423$ nm, utilizando a média de três curvas analíticas contendo seis soluções de CUR nas concentrações de 1,2 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$ e 7 $\mu\text{g/mL}$ a partir da solução de trabalho de 50 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados foram expressos por meio da regressão linear, do coeficiente de relação (r) e do coeficiente de determinação (r^2), obtidos pelo método dos mínimos quadrados.

Precisão

A precisão foi avaliada através da repetibilidade e precisão intermediária. A determinação da repetibilidade avaliou três réplicas de três concentrações dentro da curva analítica, um ponto baixo (2,5 $\mu\text{g/mL}$), médio (4,5 $\mu\text{g/mL}$) e alto (6,5 $\mu\text{g/mL}$) sob a mesma condição de operação, mesmo operador e mesmo equipamento em um dia. Para precisão intermediária, a mesma condição de operação, mesmo equipamento foram realizados, contudo, por dois analistas diferentes em dias diferentes. O desvio padrão relativo (DPR) foi obtido através da equação 1:

$$DPR = \frac{\text{Desvio Padrão (DP)}}{\text{Concentração média determinada (CMD)}} \times 100 \quad (1)$$

Exatidão

A exatidão foi avaliada através da concordância entre os resultados individuais do método em relação a um valor aceito como verdadeiro. Foram avaliadas três concentrações: baixa (2,5 $\mu\text{g/mL}$), média (4,5 $\mu\text{g/mL}$) e alta (6,5 $\mu\text{g/mL}$), em triplicata. Foi calculado o DPR para cada concentração. O grau de concordância entre os resultados obtidos em relação aos valores teóricos foi avaliado por meio da equação 2:

$$\text{Exatidão (teor)} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

Limite de detecção e quantificação

O LD e LQ foram determinados através do desvio padrão da resposta e a inclinação da curva (IC) obtida através do modelo de regressão linear dos valores médios de três curvas analíticas, de acordo com as equações 3 e 4:

$$LD = \frac{33 \times \sigma}{IC} \quad (3)$$

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (4)$$

Onde σ representa o desvio padrão do intercepto obtido através da regressão linear e IC refere-se ao coeficiente angular.

Robustez

A robustez foi avaliada através de pequenas variações em diferentes parâmetros obtidos através de três réplicas do ponto médio da curva (4 $\mu\text{g/mL}$), conforme demonstrado na **Tabela 1**. Foram obtidos o teor e o DPR.

Tabela 1 - Parâmetros variados no estudo de robustez

Parâmetros	Variações
Fabricante do metanol	Carlo erba Synth
Comprimento de onda	425 423
Cubeta	3,5 mL 1,0 mL

mL: mililitro

Fonte: Elaborada pela autora

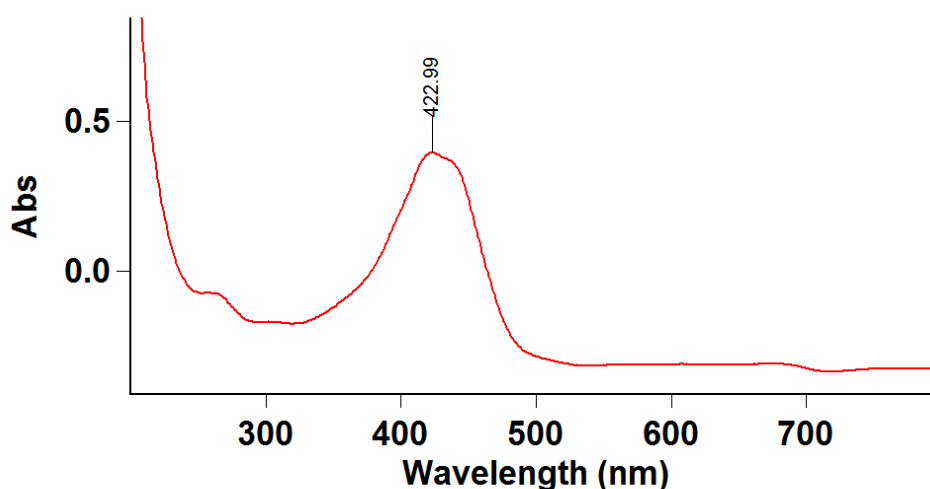
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para quantificação de curcumina

Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta

Uma solução de 1 mg/mL de CUR foi preparada em metanol e utilizou-se metanol como branco. A **Figura 1** indica o pico máximo da CUR, através da concentração versus absorbância, com $\lambda_{\text{máx}}$ em 423 nm, sendo definido esse comprimento de onda para as análises utilizando o espectrofotômetro UV-Vis.

Figura 1 - Espectro de absorção no UV-Vis de curcumina a 1mg/mL em metanol



Abs: Absorbância; Wavelength: comprimento de onda; nm: nanômetro

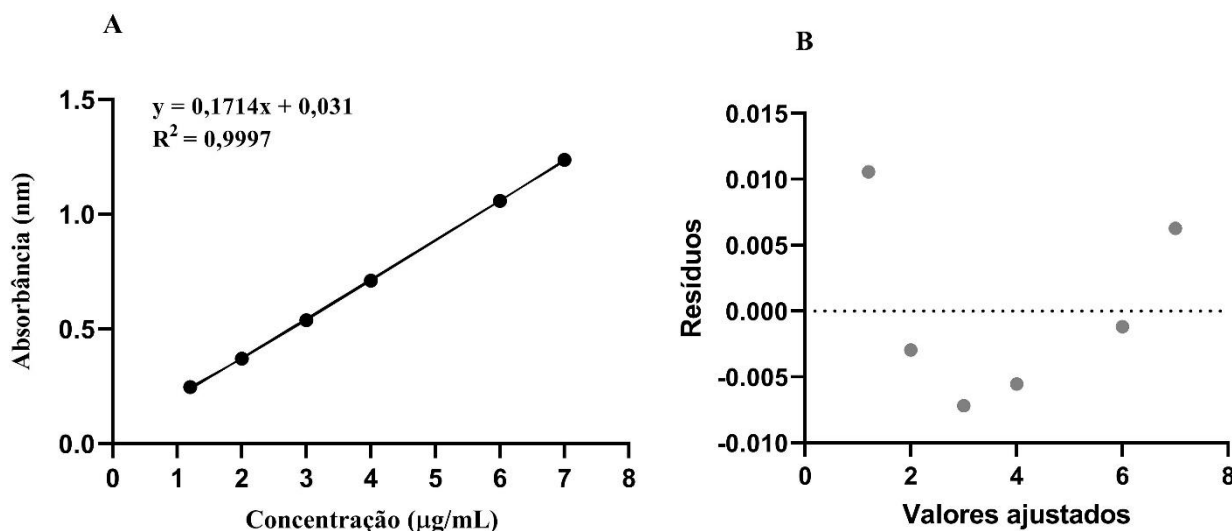
Fonte: Elaborada pela autora

O $\lambda_{\text{máx}}$ em 423 nm encontrado está de acordo com a literatura, a qual é descrita a absorção da CUR na região do visível entre uma faixa de 420 a 430 nm (Alves *et al.*, 2019). A utilização de espectrofotômetro UV-Vis é um dos métodos analíticos muito utilizados para identificação e quantificação de fármacos, devido sua simplicidade e praticidade comparado a outros métodos (Kotha; Luthria, 2019; Nadaf; Killedar, 2018). Um estudo que também desenvolveu CLN para encapsulação da CUR, nesse caso em associação a piperina, também utilizou esse método para quantificação e obtiveram $\lambda_{\text{máx}}$ em 423 nm (Bhairy *et al.*, 2021).

Linearidade

Seis concentrações (1,2, 2, 3, 4, 6 e 7 $\mu\text{g/mL}$) foram utilizadas como pontos da curva analítica de CUR e analisadas em três réplicas independentes. A **Figura 2A** demonstra a relação linear obtida entre a absorbância e a concentração de CUR, através da equação da reta $y = 0,1714x - 0,031$, com um valor de coeficiente de correlação (r) de 0,9997, obtido pelo método dos mínimos quadrados. A dispersão dos resíduos da regressão linear, apresentado na **Figura 2B**, demonstra distribuição normal, analisada pelo teste de Shapiro-Wilk com valor de W de 0,9509 e valor de p de 0,4395.

Figura 7 - Gráficos de avaliação da linearidade. (A) Curva analítica da absorbância versus concentração de curcumina a 423 nm em UV-Vis; (B) Dispersão de resíduos.



nm: Nanômetros; R^2 : coeficiente de correlação

Fonte: Elaborada pela autora

Precisão

A precisão é um parâmetro que avalia a relação entre os resultados obtidos de uma mesma amostra sob as mesmas condições de operação, mesma instrumentação, sendo analisada pelo mesmo analista (repetibilidade) ou por dois analistas distintos em dias alternados (intermediária). A **Tabela 3** apresenta dos dados obtidos pela repetibilidade e precisão intermediária com base nas concentrações teóricas e DPR.

Tabela 3 - Valores de concentração experimental e DPR obtidos pelo método de repetibilidade e precisão intermediária para as concentrações de CUR.

Concentração teórica (µg/mL)	Repetibilidade		Precisão intermediária	
	Concentração experimental (µg/mL)	DPR (%)	Concentração experimental (µg/mL)	DPR (%)
2,5	2,36	2,32	2,38	2,92
4,5	4,44	1,98	4,45	2,95
6,5	6,42	2,21	6,60	2,46

DPR: desvio padrão relativo; µg/mL: microgramas por mililitro.

Fonte: Elaborada pela autora

Conforme demonstrado os valores de DPR estão dentro do preconizado, estando abaixo de 5% (Linda, 1998). Com isso, é possível afirmar que o método apresenta boa repetibilidade, sendo preciso. Além disso, confirmando a ausência de variabilidade na precisão intermediária, visto que os DPR também estão dentro do preconizado, realizou-se a análise estatística do teste F, o que demonstrou que não houve diferença estatística entre os analistas. Pode-se verificar na **Tabela 4**, onde o $F_{\text{calculado}}$ (1,04) foi menor que o F_{tabelado} (19) e com valor de $p > 0,05$.

Tabela 4 -Teste F de precisão intermediária para solução de curcumina

	Analista 1	Analista 2
Média	0,804922222	0,790733333
Variância	0,133780374	0,128138141
Observações	3	3
Gl	2	2
F	1,044032421	
P(F<=f) uni-caudal	0,489229031	
F crítico uni-caudal	19	

Gl: graus de liberdade

Fonte: Elaborada pela autora

Exatidão

A exatidão avalia a proximidade dos resultados obtidos pelo método analítico utilizado em relação ao valor teórico real. A **Tabela 5** apresenta os valores de recuperação encontrados (exatidão) de três pontos da curva, analisados em triplicata. Segundo a RDC n° 166 de 2017 (ANVISA, 2017), os resultados são satisfatórios, pois mostraram a proximidade e o grau de concordância entre o valor obtido e o teórico.

Tabela 5 - Determinação da exatidão obtidos para soluções de curcumina.

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração experimental 1	Concentração experimental 2	Concentração experimental 3	DPR (%)	Exatidão (%)
2,5	2,40	2,39	2,29	2,63	94,40
4,5	4,29	4,43	4,48	2,33	97,80
6,5	6,53	6,41	6,68	2,06	100,56

DPR: desvio padrão relativo; µg/mL: microgramas por mililitro.

Fonte: Elaborada pela autora

Limite de detecção e quantificação

A determinação do LD e LQ é realizada para distinguir a menor concentração detectada e quantificada, perspectivamente, com um certo nível de confiança. O valor de LD foi de 0,112766 $\mu\text{g/mL}$ e de 0,341715 $\mu\text{g/mL}$ para LQ. Esses resultados mostram como o método consegue identificar e quantificar valores em concentrações baixas.

Um estudo utilizando espectrofotômetro UV-Vis para validação da CUR, utilizou uma faixa de concentração de 1,0 a 11 $\mu\text{g/mL}$ e os autores obtiveram LD (0,19 $\mu\text{g/mL}$) e LQ (0,57 $\mu\text{g/mL}$) superiores ao deste trabalho. O estudo também utilizou metanol como solvente, contudo foi avaliado em 425 nm (Rapalli *et al.*, 2020). Valores superiores também foram observados no estudo de Majumder e colaboradores (2020), os quais apresentaram LD de 0,861 $\mu\text{g/mL}$ e LQ de 2,872 $\mu\text{g/mL}$ em 429 nm. Vale ressaltar que o solvente utilizado nesse estudo foi uma mistura de etanol e PBS pH 7,4 (1:1). A variação de alguns parâmetros, como $\lambda_{\text{máx}}$, solvente utilizado, podem influenciar e alterar os valores de limites, desta forma, é importância a verificação de modificações no método para garantir sua eficiência.

Robustez

A robustez foi analisada, variando o fabricante do solvente (metanol), o comprimento de onda e a cubeta utilizada. Conforme demonstrado na **Tabela 6**, segundo as porcentagens de DPR e exatidão, apenas a variação do comprimento de onda apresentou valores de DPR superiores ao preconizado, segundo RDC 166/2017 (ANVISA, 2017). Diante dos resultados obtidos, pode-se verificar que a troca da marca do solvente, bem como utilizar cubetas com diferentes volumes, são alterações que não modificam a capacidade de análise do método.

Tabela 6 - Avaliação da robustez para quantificação de curcumina

Parâmetros	Variações	DPR (%)	X experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação (%)
Fabricante do metanol	Carlo erba	2,78	4,04	100,96
	Synth			
Comprimento de onda	423 nm	5,78	4,03	100,81
	425 nm			
Cubeta	3,5 mL	2,54	4,05	101,24
	1,0 mL			

DPR: desvio padrão relativo; mL: mililitro; nm: nanômetro; $\mu\text{g/mL}$: microgramas por mililitro.

Fonte: Elaborada pela autora