

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA – RENORBIO**  
**BIOTECNOLOGIA EM RECURSOS NATURAIS**

MICHAEL JACKSON FERREIRA DA SILVA

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÓLEO DE BABAÇU**  
**(*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) E COPAÍBA (*Copaifera multijuga* Hayne) E**  
**AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL PARA O CÂNCER DE PRÓSTATA**

SÃO LUÍS – MA

2024

MICHAEL JACKSON FERREIRA DA SILVA

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÓLEO DE BABAÇU  
(*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) E COPAÍBA (*Copaifera multijuga* Hayne) E  
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL PARA O CÂNCER DE PRÓSTATA**

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO como requisito para obtenção do Título Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Maranhão.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa

SÃO LUÍS – MA

2024

Ferreira da Silva, Michael Jackson.

Nanopartículas Lipídicas Sólidas Contendo Óleo de Babaçu *attalea Speciosa* Mart. Ex Spreng. e Copaíba *copaifera Multijuga* Hayne e Avaliação do Seu Potencial Para O Câncer de Próstata / Michael Jackson Ferreira da Silva. - 2024.

114 p.

Coorientador(a) 1: Maria Célia Pires Costa.

Orientador(a): Antonio Carlos Romão Borges.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2024.

1. Nanopartícula Lipídica Sólida. 2. Óleo de Babaçu. 3. Óleo-resina de Copaíba. 4. Sinergismo. 5. Câncer de Próstata. I. Pires Costa, Maria Célia. II. Romão Borges,

Universidade Federal do Maranhão  
Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA, 65080-805 Telefone: (98)  
3272-8000 E-mail: [renorbio@ufma.br](mailto:renorbio@ufma.br)  
Homepage: <http://www.renorbio.org.br>

### FOLHA DE APROVAÇÃO

**ALUNO:** Michael Jackson Ferreira da Silva

**TÍTULO DO PROJETO:** NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÓLEO DE BABAÇU (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) E COPAÍBA (*Copaifera multijuga* Hayne) E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL PARA O CÂNCER DE PRÓSTATA

**PROFESSOR ORIENTADOR:** Antonio Carlos Romão Borges

BANCA EXAMINADORA	CONCEITO	ASSINATURA
Profa. Dra. Karina Ckless <b>State University of New York at Plattsburgh - Titular</b>		
Profa. Dra. Audirene Amorim Santana <b>UFMA - Titular</b>		
Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro <b>UFMA - Titular</b>		
Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão <b>UFMA - Titular</b>		
Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo <b>UEMA-Sul - Suplente</b>		
Prof. Dr. Marcos Antonio Custódio Neto da Silva <b>UFMA - Suplente</b>		
Prof. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra <b>UFMA - Suplente</b>		
Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel <b>UFMA - Suplente</b>		

**DATA DA APROVAÇÃO:** 12/07/2024

**HORÁRIO:** 14:30h

**LOCAL:** SÃO LUÍS – MA

*Dedico primeiramente a Deus, e principalmente a minha família, base e apoio em todos os momentos da minha vida.*

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar meus agradecimentos vão ao meu Deus, por sua proteção, saúde e o dom da inteligência e da perseverança, no qual me concedes todos os dias e que são fundamentais para eu sempre atingir meus objetivos.

À minha mãe, Neusa do Nascimento Ferreira, meu pai, Bernardo Carvalho da Silva, meus irmãos, Nuno Ricardo Ferreira da Silva e Andressa Maria Ferreira da Silva, que são a base da minha vida, bem como, meus maiores apoiadores nessa incrível jornada que resolvi trilhar. Ao meu cunhado Hertonaldo Câmara pela hospedagem, e que com minha irmã, me mostram as belezas do Rio de Janeiro.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges, por ter me aceitado como orientando no Programa de Doutorado RENORBIO, e sempre quando necessário, estava disponível para solucionar minhas dúvidas.

À minha coorientadora, magnífica Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa, e Profa. Dra. Adriana Leandro Camara, ao qual as tenho como mães de pesquisa, um exemplo de pesquisadoras, mentes sempre pensantes, e que sempre procuro me espelhar.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), em nome da Profa. Dra. Elizabete Pereira dos Santos (Profa. Bete), Profa. Dr. Eduardo Ricci Júnior, responsáveis pelo Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG) e ao Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral, responsável pelo Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) Laboratório e Laboratório de Cultura Celular (LabCel).

À pesquisadora e amiga Dra. Ana Paula dos Santos Matos, e ao amigo e doutorando Daniel Figueiredo Vanzan, pois sempre que precisei, estavam ali, me auxiliando nas minhas atividades de bancada na UFRJ.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de auxílio financeiro, essencial para nós que nos dedicamos ao estudo e ao desenvolvimento da nossa pesquisa científica.

## Resumo

O câncer de próstata (CaP) apresenta muitas variações clínicas, genômicas e histomorfológicas, e geralmente cresce lentamente. Vários processos podem causar a transformação maligna das células prostáticas, podendo começar como uma neoplasia prostática intraepitelial, seguida por CaP localizado. Posteriormente, pode evoluir para adenocarcinoma localmente invasivo, com metástase em ossos ou linfonodos, e desenvolver um fenótipo independente de andrógeno, com prognóstico ruim. A vigilância, prostatectomia e radioterapia são tratamentos padrão para pacientes com CaP nos estágios I a III. A ablação androgênica, por castração cirúrgica ou farmacológica, é uma opção para pacientes nos estágios IV e III de alto risco. No estágio IV, há uma altíssima probabilidade de resistência à castração, caracterizada por mutações genômicas no receptor androgênico. Estudos têm evidenciado que o óleo de babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) (OB) associado à óleo-resina de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) (OC) pode ser uma excelente alternativa fitoterápica para condições patológicas da próstata, como a hiperplasia prostática benigna (HPB), embora não haja estudos publicados com a associação desses óleos no tratamento do CaP. Neste trabalho, propomos o desenvolvimento, caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas (NPLS) contendo OB e OC e avaliação do sinergismo dessa associação na atividade antineoplásica em modelo de neoplasia prostática maligna *in vitro*. Utilizando o método de emulsificação-ultrassonicação, desenvolvemos 19 NPLs (F1 a F19) em uma primeira etapa, variando as concentrações dos componentes e dos óleos. As NPLs foram submetidas a uma triagem, na qual observamos o tamanho hidrodinâmico (nm) e o índice de polidispersividade (PDI). Após essa triagem inicial, a F5 ou NPL-OB-OC (4g de ácido esteárico, 1g de OB, 1g de OC e 2,5g de Tween 80®) apresentou os melhores resultados de tamanho e PDI ( $177,9 \pm 1,70$  e  $0,245 \pm 0,016$ ), comparados com a F11 ou NPL-V (F5 sem os óleos) ( $448,4 \pm 9,75$  e  $0,238 \pm 0,052$ ), avaliados 50 minutos após a formulação. Para compreender a influência dos componentes na F5, um planejamento fatorial  $2^2$  com ponto central foi empregado para avaliar o impacto do ácido esteárico e do Tween 80 no tamanho hidrodinâmico e no índice de polidispersividade (PDI) das NPL. Além disso, foi investigado o efeito da temperatura ( $8 \pm 0,5$  °C e  $25 \pm 1,0$  °C) e do tempo (0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias) nos valores de tamanho e PDI. Medições do potencial Zeta (PZ) foram utilizadas para avaliar a estabilidade das nanopartículas, enquanto a microscopia eletrônica de transmissão forneceu informações sobre a morfologia e as dimensões nanométricas das NPL. Notavelmente, antes da síntese das NPLs, a identificação e quantificação de ésteres metílicos, como ácido láurico e  $\beta$ -cariofileno, foram realizadas por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Além disso, foi avaliada a eficiência de encapsulamento de OB e OC dentro das NPLs. A atividade citotóxica *in vitro* das NPLs (10  $\mu$ g/mL, 30  $\mu$ g/mL, 40  $\mu$ g/mL e 80  $\mu$ g/mL) foi avaliada utilizando o ensaio MTT com linhas celulares de câncer de próstata PC-3 e DU-145. Os resultados demonstraram que NPLs contendo OB e OC na proporção de 1:1 exibiram um efeito citotóxico promissor contra células de câncer de próstata, com uma porcentagem de células viáveis de 68,5% para PC-3 na concentração de 30  $\mu$ g/mL e 48% para DU-145 a uma concentração de 80  $\mu$ g/mL. Estas descobertas sublinham as potenciais aplicações terapêuticas dos NPLs carregados com OB e OC para o tratamento do câncer da próstata.

**Palavras-chave:** nanopartícula lipídica sólida; óleo de babaçu; óleo-resina de copaíba; sinergismo; câncer de próstata.

## Abstract

Prostate cancer (PCa) presents many clinical, genomic and histomorphological variations, and generally grows slowly. Several processes can cause malignant transformation of prostate cells, which may begin as prostatic intraepithelial neoplasia, followed by localized PCa. Subsequently, it can progress to locally invasive adenocarcinoma, with metastasis to bones or lymph nodes, and develop an androgen-independent phenotype, with a poor prognosis. Surveillance, prostatectomy, and radiotherapy are standard treatments for patients with stage I to III PCa. Androgen ablation, by surgical or pharmacological castration, is an option for high-risk stage IV and III patients. In stage IV, there is a very high probability of castration resistance, characterized by genomic mutations in the androgen receptor. Studies suggest that the combination of babassu oil (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) (BO) and copaiba oil-resin (*Copaifera multijuga* Hayne) (CO) holds promise as a phytotherapeutic alternative for prostate pathologies such as benign prostatic hyperplasia (BPH). Nonetheless, there is a lack of published research on the combined use of these oils in PCa treatment. In this study, we propose the development and characterization of solid lipid nanoparticles (SLNs) containing BO and CO, evaluating the synergistic impact on antineoplastic activity in an in vitro malignant prostate neoplasia model. Using the emulsification-ultrasonication method, we developed 19 SLNs (F1 to F19) in the initial phase, varying component and oil concentrations. SLNs underwent screening for hydrodynamic size (nm) and polydispersity index (PDI). Subsequently, F5 or SLN-BO-CO (4g stearic acid, 1g BO, 1g CO, and 2.5g Tween 80®) exhibited optimal size and PDI results ( $177.9 \pm 1.70$  and  $0.245 \pm 0.016$ , respectively), compared to F11 or SLNV (F5 without oils) ( $448.4 \pm 9.75$  and  $0.238 \pm 0.052$ ) assessed 50 minutes post-formulation. To understand the influence of components on F5, 2<sup>2</sup> factorial design with a center point was employed to assess the impact of stearic acid and Tween 80 on particle hydrodynamic diameter and polydispersity index (PDI). Additionally, the effect of temperature ( $8 \pm 0.5$  °C and  $25 \pm 1.0$  °C) and time (0, 7, 15, 30, 40, and 60 days) on HD and PDI values was investigated. Zeta potential (ZP) measurements were utilized to evaluate nanoparticle stability, while transmission electron microscopy provided insights into the morphology and nanometric dimensions of the SLN. Notably, before SLN synthesis, the identification and quantification of methyl esters, such as lauric acid and  $\beta$ -caryophyllene, were carried out using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Moreover, the encapsulation efficiency of BBS and COPA within the SLNs was assessed. The in vitro cytotoxic activity of the SLN (10  $\mu$ g/mL, 30  $\mu$ g/mL, 40  $\mu$ g/mL, and 80  $\mu$ g/mL) was evaluated using the MTT assay with PC-3 and DU-145 prostate cancer cell lines. Results demonstrated that SLNs containing BO and CO in a 1:1 ratio exhibited a promising cytotoxic effect against prostate cancer cells, with a percentage of viable cells of 68.5% for PC-3 at a concentration of 30  $\mu$ g/mL and 48% for DU-145 at a concentration of 80  $\mu$ g/mL. These findings underscore the potential therapeutic applications of SLNs loaded with BO and CO for prostate cancer treatment.

**Keywords:** solid lipid nanoparticle; babassu oil; copaiba oil-resin; synergy; prostate cancer.

## Lista de figuras

<b>Figura 1-</b> Classificação Nacional do Câncer como causa de morte em idades < 70 anos em 2019. O número de países representado em cada grupo de classificação está incluído na legenda. ....	22
<b>Figura 2</b> - Estrutura de uma nanopartícula lipídica sólida (NPLS) e carreador lipídico nanoestruturado (CLN), compostos por uma matriz lipídica sólida estabilizada por um invólucro externo de tensoativos. ....	27
<b>Figura 3</b> – (A) Palmeira do babaçu ( <i>Attalea speciosa</i> mart. Ex spreng); fruto (B); fruto cortado transversalmente (C); amêndoas (D) e óleo extraído das amêndoas (E). Localização: Penalva – MA, Brasil. ....	29
<b>Figura 4</b> - Árvores de copaíba ( <i>Copaifera</i> sp.) (A), extração da óleo-resina (B) e óleo-resina (C). ....	32
<b>Figura 5</b> - Bexiga urinária, ducto deferente, glândulas seminais, uretra e próstata. .	35
<b>Figura 6</b> - A: Estrutura anatômica da próstata humana evidenciando as zonas, dispostas concentricamente em torno da uretra. B: Modelo tridimensional da anatomia da próstata, vista lateral. Os cortes sagitais (áreas alinhadas) removeram o lado próximo do estroma fibromuscular (F), colo vesical (B), zona central (C), zona periférica (P), zona de transição (T), esfíncter (S) e uretra com verumontanum (V) vistos por completo. Os ductos periuretrais estão escondidos atrás da zona de transição. Os ductos ejaculatórios (área pontilhada) atravessam o centro da zona central. ....	36
<b>Figura 7-</b> Localização da cidade de Penalva, Estado do Maranhão, Brasil (Latitude: 03° 17' 39" S e Longitude: 45° 10' 25" W). ....	45
<b>Figura 8</b> - Localização do lago do Iripixi e seus principais igarapés no Município de Oriximiná, Estado do Pará, Brasil (coordenadas do centro administrativo: Latitude: 1°46'00"S; Longitude: 55°51'30"O) e o macrozoneamento local, presente no plano diretor municipal. ....	46
<b>Figura 9</b> - (A): Óleo de coco babaçu (OB). Local de coleta: Penalva-MA; (B): Óleo-resina de copaíba (OC). Local de coleta: povoado Alto Trombetas, cidade de Oriximiná - PA. ....	47
<b>Figura 10</b> - Cromatógrafo gasoso acoplada a espectrômetro de massa – CG-EM - QP2010SE (Shimadzu). ....	48
<b>Figura 11</b> - Fluxograma do preparo das nanopartículas lipídicas sólidas (NPLSs). .	51

<b>Figura 12</b> - Equipamento Zetasizer Nano <sup>®</sup> S90 (Malvern Instruments <sup>®</sup> ) para determinação do tamanho médio e o índice de polidispersividade (PDI).....	54
<b>Figura 13</b> - Cromatograma do ácido láurico, ácido graxo, marcador químico para a identificação do óleo de babaçu. Onde, 1 é o pico do ácido láurico (marcador químico externo) adquirido comercialmente; 2, pico do pentadecanoato de metila (padrão interno), usado para correção das áreas dos picos.....	61
<b>Figura 14</b> - Cromatograma do óleo de babaçu (OB). Onde, 1 é o pico do ácido láurico identificado na amostra de óleo de babaçu; 2, pico do pentadecanoato de metila (padrão interno), usado para correção das áreas dos picos. ....	61
<b>Figura 15</b> - Cromatograma do $\beta$ – cariofileno, sesquiterpeno, marcador químico para a identificação do óleo-resina de copaíba. Onde 3 é o pico do $\beta$ – cariofileno (marcador químico externo) usado comercialmente.....	62
<b>Figura 16</b> - Cromatograma do óleo-resina de copaíba. Onde 3 é o pico de $\beta$ – cariofileno, identificado na amostra óleo-resina de copaíba.....	62
<b>Figura 17</b> - Gráficos de superfície de resposta e suas projeções foram obtidos a partir do planejamento experimental para o tamanho hidrodinâmico das NPLSs. ....	69
<b>Figura 18</b> - Gráficos de superfície de resposta e suas projeções foram obtidos a partir do planejamento experimental para índice de polidispersividade (PDI) das NPLSs. ....	70
<b>Figura 19</b> - Avaliação do tamanho a partir do diâmetro (nm) durante o estudo de estabilidade durante 60 dias da NPL-OB-OC e NPL-V nas condições de temperatura ambiente ( $T_A$ ) ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) e refrigerado ( $T_G$ ) ( $\pm 8^\circ\text{C}$ ). ....	71
<b>Figura 20</b> - Avaliação da polidispersividade (PDI) durante o estudo de estabilidade durante 80 dias nas condições de temperatura ambiente ( $T_A$ ) ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) e refrigeração ( $T_G$ ) ( $\pm 8^\circ\text{C}$ ). ....	73
<b>Figura 21</b> - Medidas de PZ obtidas a partir de NPL-OB-OC obtidas imediatamente após a síntese ( $t_0$ ) e mantida sob $\pm 8^\circ\text{C}$ ( $T_G$ ) por 7 e 30 dias ( $t_7$ e $t_{30}$ , respectivamente). ....	75
<b>Figura 22</b> - Imagens de MET obtidas a partir de NPL-OB-OC (A) e a NPL-V (B).....	76
<b>Figura 23</b> - Curva de calibração do marcador ácido láurico, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de determinação de regressão ( $R^2$ ).....	78
<b>Figura 24</b> - Curva de calibração do marcador $\beta$ -cariofileno com sua respectiva equação da reta e coeficiente de determinação de regressão ( $R^2$ ).....	78

<b>Figura 25</b> - Perfil cromatográfico por CG-EM dos ativos presentes na NPL-OB-OC. Onde, $\beta$ C: $\beta$ -cariofileno; AL: ácido láurico e PI: padrão interno (pentadecanoato de metila). .....	79
<b>Figura 26</b> – Viabilidade celular da linhagem PC-3 em diferentes concentrações de NPL-OB-OC, NPL-OB, NPL-OC, NPL-V, OB, OC, OB + OC e droga livre (flutamida) após 24 h de exposição. A linha vermelha indica 70% de viabilidade celular de acordo com ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015). .....	81
<b>Figura 27</b> – Viabilidade celular da linhagem DU-145 em diferentes concentrações de NPL-OB-OC, NPL-OB, NPL-OC, NPL-V, OB, OC, OB + OC e droga livre (flutamida) após 24 h de exposição. A linha vermelha indica 70% de viabilidade celular de acordo com ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015). .....	83

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2023 a 2025 em homens, exceto pele não melanoma. ....	40
<b>Tabela 2</b> - Composição das nanopartículas lipídicas sólidas desenvolvidas. ....	51
<b>Tabela 3</b> - Nomenclatura das nanopartículas lipídicas sólidas quanto a presença dos óleos de babaçu e copaíba e a proporção de cada óleo nanoencapsulado.....	52
<b>Tabela 4</b> - Delineamento experimental $2^2$ com ponto central.....	53
<b>Tabela 5</b> - Nomenclatura, temperatura e tempo análise das nanopartículas lipídicas sólidas usadas durante o estudo de estabilidade.....	55
<b>Tabela 6</b> - Resultados do tamanho e PDI das nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e copaíba desenvolvidos. ....	63
<b>Tabela 7</b> - Resultados de tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI no dia D0 a partir do delineamento experimental. ....	66
<b>Tabela 8</b> - Valores de p valor, teste F e $R^2$ e valores de p obtidos do ajuste matemático dos modelos lineares e quadráticos para os dados experimentais da Tabela 5. ....	67
<b>Tabela 9</b> - Concentração média e individual do OB e OC na NPL.....	80

## Lista de abreviaturas

CaP - Câncer de próstata  
CG-MS - Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas  
COVID-19 - Corona virus disease  
CPmRC - Câncer de próstata metastático resistente à castração  
CPmSH - Câncer de próstata metastático sensível a hormônios  
CPRC - Próstata a resistente a castração  
DDSs - Drug Delivery Systems  
DHT - Di-hidrotestosterona  
DLS - Dynamic Light Scattering  
DMEM - Meio Dulbecco's Modified Eagle Medium  
DMSO - Dimetilsufóxido  
DoE - Design of Experiment  
EPR - Efeito de permeabilidade e retenção  
FDA - Food and Drug Administration  
GRAS - Generally Recognized as Safe  
HPB - Hiperplasia prostática benigna  
HPV - Papilomavírus humano  
MET - Microscopia eletrônica de transmitância  
NCI - National Cancer Institute  
NPL - Nanopartícula lipídica  
NPLS - Nanopartícula lipídica sólida  
PDI - Índice de polidispersividade  
PSA - Antígeno específico da próstata  
RPMI - Roswell Park Memorial Institute  
SRE - Sistema reticuloendotelial  
SFB - Soro fetal bovino  
TPA - Terapia de privação androgênica  
WHO - World Health Organization

## Sumário

1. Introdução .....	16
2. Objetivos .....	18
2.1. Geral .....	18
2.2. Específicos.....	18
3. Revisão bibliográfica .....	19
3.1. Nanotecnologia .....	19
3.2. Nanotecnologia no câncer .....	21
3.3. Nanossistemas de entrega de agentes terapêuticos .....	24
3.4. Nanopartículas lipídicas sólidas.....	26
3.5. Babaçu.....	28
3.6. Copaíba .....	31
3.7. Anatomia e fisiologia da próstata .....	34
3.8. Câncer de próstata.....	37
3.9. Farmacologia no câncer de próstata.....	40
3.10. Fitoterapia no câncer de próstata.....	41
4. Materiais e métodos.....	43
4.1. Materiais .....	43
4.2. Métodos .....	44
4.2.1. Descrição dos locais de coleta dos óleos de babaçu e óleo de copaíba	44
4.2.2. Identificação dos óleos de babaçu e óleo de copaíba.....	47
4.2.3. Desenvolvimento das nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba.....	50
4.2.4. Delineamento experimental.....	53
4.2.5. Caracterização das nanopartículas lipídicas.....	54
4.2.6. Eficiência de encapsulação.....	56
4.2.7. Cultivo celular.....	57

4.2.8.	Preparo da NPL-OB-OC para os estudos de citotoxicidade.....	57
4.2.8.1.	Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	58
4.2.9.	Avaliação Estatística .....	59
5.	Resultados e discussão .....	60
5.1.	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas dos óleos babaçu e copaíba .....	60
5.2.	Desenvolvimento das nanopartículas lipídica sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba .....	63
5.2.1.	Delineamento experimental.....	65
5.3.	Estudo de estabilidade .....	70
5.3.1.	Determinação do Tamanho da Partícula e Índice de Polidispersividade 70	
5.3.2.	Potencial zeta.....	74
5.3.3.	Morfologia das nanopartículas lipídicas sólidas .....	76
6.	Eficiência de encapsulação dos óleos de babaçu e copaíba.....	77
7.	Estudos de citotoxicidade .....	80
8.	Conclusão .....	83
	Referências .....	84
	Anexo A – produtos derivados da tese (artigo) .....	113
	Anexo B – produtos derivados da tese (patente) .....	114

## 1. Introdução

O óleo de coco babaçu contém uma variedade de ácidos graxos, incluindo ácido láurico (40–55%), mirístico (11–27%), oleico (ômega 9) (10–16%), esteárico (1,8–7,4%), ácido palmítico (5–11%), cáprico (1,2–8%) e caprílico (6%) (SILVA *et al.*, 2020, OLIVEIRA *et al.*, 2023). O ácido láurico é um ácido graxo de cadeia média com 12 átomos de carbono e possui muitas propriedades terapêuticas, incluindo propriedades antibacterianas, antiinflamatórias e antitumorais (LAPPANO *et al.*, 2017, PEREIRA *et al.*, 2020). O óleo tem sido usado como um fármaco por muitos autores, bem como como um excipiente em várias formulações farmacêuticas, como microemulsão (REIS *et al.*, 2017, SANTOS *et al.*, 2020). Nanossistemas contendo óleo de babaçu têm sido estudados como terapia para hiperplasia prostática benigna (DE SOUSA *et al.*, 2013, AMARAL *et al.*, 2014).

A óleo-resina da copaíba ou óleo de copaíba, é composta por uma parte volátil ou sesquiterpênica, que representa 10 a 15% ou até 80% do óleo-resina de copaíba (CARDINELLI *et al.*, 2023). A óleo-resina da copaíba apresenta os metabólitos  $\beta$ -cariofileno (hidrocarboneto bicíclico),  $\beta$ -bisaboleno,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -bisabolol,  $\beta$ -elemeno,  $\gamma$ -cadineno,  $\alpha$ -cadinol (DIAS *et al.*, 2012). Já os ácidos copálico, caurenóico, hardwickiico e poliáltico fazem parte dos metabólitos não volátil, resinosa ou diterpênica (CARDINELLI *et al.*, 2023). A óleo-resina de copaíba possui características anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngicas e antitumorais (ALMEIDA JÚNIOR *et al.*, 2021; ABRÃO *et al.*, 2021; VARGAS *et al.*, 2015). Mesmo que algumas bioatividades de sesquiterpenos isolados do óleo-resina tenham sido descritas, as diversas propriedades biológicas são exclusivas do óleo intacto, onde as substâncias funcionam juntas ou sinergicamente (CARDINELLI *et al.*, 2023).

Com a ascensão da nanotecnologia, as nanopartículas lipídicas (NPLs) passaram a ser sintetizadas, se tornando uma nova estratégia inovadora na busca por uma nova geração de nanotransportadores (MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022). Na síntese de NPLs, várias técnicas são usadas. Isso inclui evaporação de solvente, extração de fluido supercrítico de emulsões, emulsões múltiplas, homogeneização por pulverização, ultrassom e homogeneização de alta velocidade e ultrassom (SUBROTO; ANDOYO; INDIARTO, 2023). As partículas NPLs são

formadas por um núcleo sólido lipofílico, onde podem ser incorporados medicamentos ou outras moléculas, especialmente as que são lipofílicas, como os óleos (MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022). Além de sua biocompatibilidade, capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e variabilidade de tamanho, é um sistema de entrega lipídico atraente para a indústria farmacêutica (DUAN *et al.*, 2020).

O câncer de próstata (CaP) é o segunda causa mais comum de câncer masculino em todo o mundo, ficando atrás apenas do câncer de pele não melanoma (HARRISON *et al.*, 2020, SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2020). Entre os casos de câncer no mundo, o CaP é o quarto mais comum, resultando em mais de 1,4 milhão de casos novos estimados em 2020. Em 2020 ocorreram mais de 375.000 mortes por CaP no mundo (VIEIRA *et al.*, 2022). Em 2040 é estimado 2,43 milhões de casos novos (SUNG *et al.*, 2021, NIU *et al.*, 2022, INCA, 2022). Portanto, com as estimativas de aumento do número de mortes por CaP e a baixa resposta da quimioterapia e radioterapia nas formas mais agressivas, novas alternativas são necessárias para controlar o CaP (BASATI; GHANADI; ABBASZADEH, 2020). Devido aos seus compostos bioativos e à sua baixa toxicidade, a tendência de usar produtos naturais de fungos, plantas e animais em medicina aumentou nos últimos anos (THOMFORD *et al.*, 2018, CHEON; KO, 2022). Em todo o mundo, as terapias à base de plantas medicinais têm demonstrado grandes vantagens, principalmente por serem simples, acessíveis e eficazes (WAHAB *et al.*, 2020). Dessa forma, é essencial integrar a nanotecnologia para potencializar os benefícios dos recursos do nosso bioma, como o babaçu e a copaíba.

## 2. Objetivos

### 2.1. Geral

Desenvolver nanopartículas lipídicas sólidas com óleo de babaçu (*Attalea speciosa*) e óleo-resina de copaíba (*Copaifera multijuga*) e avaliar o sinergismo da associação dos óleos nanoencapsulados em linhagens neoplásicas *in vitro* de câncer de próstata.

### 2.2. Específicos

- Obter os óleos de babaçu e óleo de copaíba;
- Identificar os óleos de babaçu e óleo-resina de copaíba por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS);
- Desenvolver as nanopartículas lipídica sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba;
- Realizar o delineamento experimental;
- Caracterizar as nanopartículas lipídicas sólidas quanto ao tamanho, índice de polidispersividade e potencial zeta;
- Avaliar a estabilidade das nanopartículas lipídicas sólidas quanto ao tamanho, índice de polidispersividade e potencial zeta;
- Estudar a morfologia da nanopartícula contendo os dois óleos de babaçu e óleo-resina de copaíba por microscopia eletrônica de transmitância (MET);
- Determinar a eficiência de encapsulação (EE%) dos óleos;
- Avaliar da citotoxicidade *in vitro* das nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba.

### 3. Revisão bibliográfica

#### 3.1. Nanotecnologia

De acordo com o *Oxford English Dictionary* (OED), a forma linguística nano vem da palavra latina clássica nanus ou de seu antigo epônimo grego nanos (anão) e define um bilionésimo de metro  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$  (BOHOLM, 2016, NISKA *et al.*, 2018, KHAN *et al.*, 2022).

Em 1959, em sua palestra intitulada "*There's plenty of room at the bottom*" ("Há muito espaço na parte inferior"), o físico americano e ganhador do Prêmio Nobel Richard Feynman sugeriu que ainda há muitas oportunidades e descobertas a serem feitas em escalas menores ou em níveis mais fundamentais, sendo possível construir estruturas a níveis atômicos e moleculares, apontando essas escalas como prováveis campos essenciais para as futuras pesquisas científicas, não se limitando a engenharia, química, física, medicina e biologia, destacando-se como o primeiro a introduzir o conceito de nanotecnologia (TUNDISI *et al.*, 2023, HALEEM *et al.*, 2023). No entanto, foi em 1974 que o professor Norio Taniguchi cunhou o termo nanotecnologia, definindo-a como: "a nanotecnologia consiste principalmente no processamento de separação, consolidação e deformação de materiais por um átomo ou uma molécula" (TANIGUCHI; ARAKAWA; KOBAYASHI, 1974) em uma conferência de engenharia em Tóquio (BOHOLM, 2016, BARHOUM *et al.*, 2022).

No século XXI, a nanotecnologia destaca-se entre as tecnologias mais promissoras, pois é capaz de aplicar a teoria da nanociência em diversas aplicações práticas, como observação, medição, manipulação, montagem, controle e fabricação de materiais com dimensões nanométricas (BAYDA *et al.*, 2020). Portanto, a nanociência, focada em estruturas e moléculas na faixa de 1 a 100 nanômetros, estabelece conexões entre física, ciência dos materiais e biologia, possibilitando a manipulação precisa de materiais em níveis atômicos e moleculares (BAYDA *et al.*, 2020). Assim, a nanotecnologia é um campo multidisciplinar criado para projetar materiais biológicos, como átomos e moléculas em nanoescala, com a promessa de enfrentar os desafios existentes, destacando-se como a tecnologia mais dominante e inventada comercialmente nestas décadas (SICHERT *et al.*, 2015, SAHU *et al.*, 2021).

Os princípios e métodos em nanoescala utilizados pela nanotecnologia têm o propósito de compreender os biosistemas. Em conjunto com a biologia e a medicina moderna, podem gerar uma variedade de materiais nanométricos que são aplicáveis em sistemas biológicos (DESSALE *et al.*, 2022). Os nanomateriais diferem em suas dimensões, formas, tamanhos, composições, porosidade, fases e uniformidade. Portanto, diversas classificações têm sido utilizadas para categorizá-los, incluindo nanomateriais de ocorrência natural, incidentais, bioinspirados e de engenharia (MODI *et al.*, 2021, BARHOUM *et al.*, 2022, AHIRE *et al.*, 2022). Os nanomateriais chegaram para revolucionaram determinados seguimentos da sociedade e da tecnologia como computadores e eletrônicos, engenharia, aplicações militares e muitos outros (GEDARA *et al.*, 2021).

Do ponto de vista comercial e econômico o mercado global de nanomateriais foi estimado em 7,1 bilhões de dólares em 2020 (durante a epidemia de COVID-19), e poderá chegar a 12,1 bilhões de dólares até 2026, com uma taxa composta de crescimento anual de 9,7% (BARHOUM *et al.*, 2022). Dessa forma, vários estudiosos afirmam que a nanotecnologia sustentará a próxima onda de desenvolvimento econômico mundial (LINTON; WALSH, 2008; MANGEMATIN; WALSH, 2012; MASARA *et al.*, 2022).

No cenário atual, a nanomedicina se destaca como uma das principais aplicações da nanotecnologia, comprometendo-se em criar ferramentas medicinais em nanoescala para fornecer vários benefícios potenciais na área da saúde (SAHU *et al.*, 2021). Embora considerada uma área nova, a pesquisa em nanomedicina apresentou impactos significativos por meio de uma variedade de aplicações, trazendo benefícios importantes para a saúde, especialmente no que diz respeito à nanotecnologia voltada para o câncer (detecção, diagnóstico, imagem e terapia, reduzindo a toxicidade associada à terapia tradicional) (MEEL *et al.*, 2019, GEDARA *et al.*, 2021, QU *et al.*, 2023). Essas práticas também podem envolver opções de design eficientes, conjugação e entrega de medicamentos por meio de avanços em nanogenômica, engenharia de tecidos e terapia genética (MALIK *et al.*, 2023). Mas outras doenças também são extensivamente pesquisadas na nanomedicina, abrangendo desde doenças infecciosas até cardiológicas e ortopédicas,

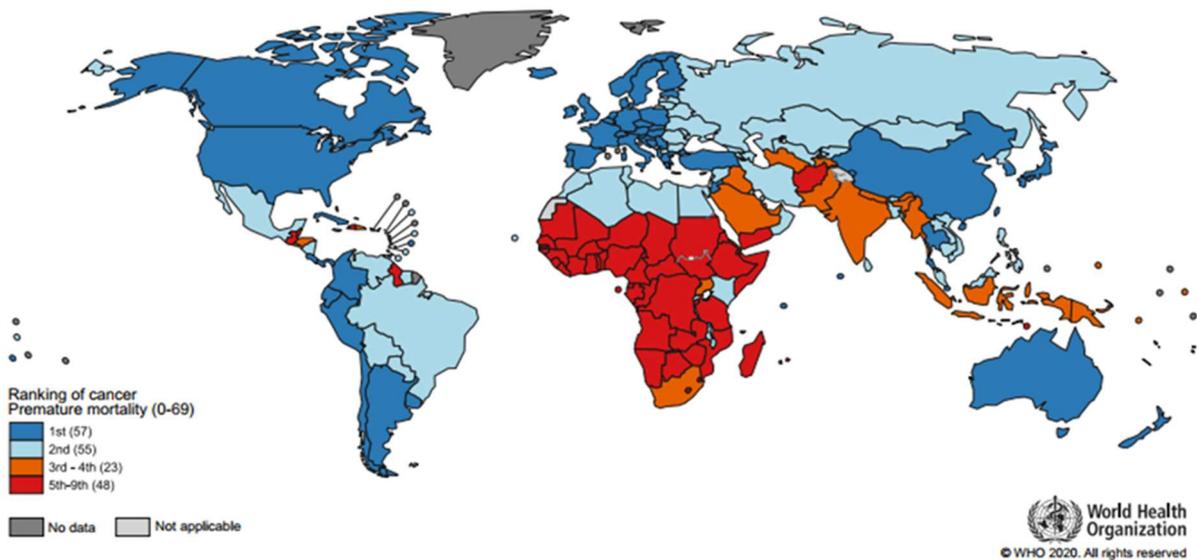
representando aproximadamente 40% dos produtos em ensaios clínicos de fase II (MORIGI *et al.*, 2012, NANCE, 2019).

Em 2019, foi realizada uma pesquisa sobre ensaios clínicos, constatando que mais de 250 ensaios clínicos em andamento estão utilizando nanopartículas para intervenção em doenças. Estima-se que até 2025, o mercado global de nanomedicina atingirá um montante de 351 bilhões de dólares (NANCE, 2019).

### 3.2. Nanotecnologia no câncer

O câncer é um grande grupo de doenças que podem começar em qualquer órgão ou tecido do corpo, quando as células anormais crescem descontroladamente, ultrapassando seus limites habituais e passando a invadir partes adjacentes do corpo e/ou se espalhando para outros órgãos (WHO, 2020). Portanto, o câncer é uma proliferação anormal e descontrolada de células, que invadem e matam o tecido circundante (NURMIK *et al.*, 2020, THAMBIRAJ, VIJAYALAKSHMI, RAVI SHANKARAN, 2021). Essa invasão se deve a metástase tumoral, onde uma célula cancerígena do tumor primário invade o tecido circundante e depois entra na microvasculatura da circulação sanguínea e nos sistemas linfáticos, seguido através da corrente sanguínea para outros microvasos de tecidos mais afastados, com subsequente saída da corrente sanguínea (extravasamento) e sobrevivência no microambiente dos tecidos afastados, que apresentam um microambiente adequado para o desenvolvimento de um tumor secundário (ZHANG *et al.*, 2019).

De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde em 2019 (WHO, 2020) o câncer é a segunda principal causa de mortes em idade inferior a 70 anos em 112 de 183 países (Figura 1). Espera-se que casos de câncer aumente nos próximos 50 anos, devido a influência das mudanças demográficas, como envelhecimento e crescimento populacional, fatores que estão relacionados as tendências que divergem na incidência de câncer entre diferentes regiões (SOERJOMATARAM; BRAY, 2021, LI *et al.*, 2023).



**Figura 1-** Classificação Nacional do Câncer como causa de morte em idades < 70 anos em 2019. O número de países representado em cada grupo de classificação está incluído na legenda.

**Fonte:** SUNG *et al.*, 2021.

De acordo com o *National Cancer Institute* (NCI), foram contabilizados cerca de 14 milhões de casos novos e 26 milhões de mortes, relacionadas ao câncer entre 1991 a 2016, portanto, potencialmente fatal em todo o mundo (LUO *et al.*, 2019, THAMBIRAJ, VIJAYALAKSHMI, RAVI SHANKARAN, 2021). Já as estatísticas da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, em 2020, quase 10 milhões de pessoas morreram por causa do câncer (quase uma em cada seis mortes). Estima-se que no mundo em 2040 teremos 28,4 milhões de casos de câncer, um aumento de 47% em relação a 2020, já a incidência de câncer prevista para 2070 dobrará em relação a 2020 com base na tendência atual (SOERJOMATARAM; BRAY, 2021, SUNG *et al.*, 2021, LI *et al.*, 2023). De acordo com SUNG *et al.*, 2021 os cânceres (casos novos / óbitos) que se destacam são os de seio (mulher) (2.261,419 (11,7%) / 684.996), pulmão (2.206,771 (11,4%) / 1.796.144), próstata (1.414,259 (7,3%) / 375.304) e pele não melanoma (1.198,073 (6,2%) / 63.731).

No contexto do Brasil, a estimativa para o triênio de 2023 a 2025 aponta que ocorrerão 704 mil casos novos de câncer, 483 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma. Este é estimado como o mais incidente, com 220 mil casos novos

(31,3%), seguido pelos cânceres de mama, com 74 mil (10,5%); próstata, com 72 mil (10,2%); cólon e reto, com 46 mil (6,5%); pulmão, com 32 mil (4,6%); e estômago, com 21 mil (3,1%) casos novos (INCA, 2022).

De acordo com Chen *et al.*, (2022) para retardar ou prevenir a progressão desses variados tipos de câncer, a medicina lança mão de várias estratégias de tratamento, como cirurgia, quimioterapia (DEMARIA *et al.*, 2017, SHEN *et al.*, 2019) radioterapia (KOPYRA; KELLER; BALD *et al.*, 2014, GHAHREMANI *et al.*, 2018) e imunoterapia (WANG *et al.*, 2015, SOCKOLOSKY *et al.*, 2018).

Apesar dos grandes avanços da medicina esses tratamentos para câncer são difíceis e onerosos financeiramente. Dessa forma, mesmo com décadas de pesquisa, a natureza sempre dinâmica da doença, os efeitos colaterais graves das quimioterapias persistem (SCHIRRMACHER, 2018). Os cânceres agressivos quando reaparecem, trazem sofrimento aos pacientes, pois é necessário terapias mais agressivas (KHOSRAVI-SHAHI; CABEZÓN-GUTIÉRREZ; CUSTODIO-CABELLO, 2017). Um dos maiores desafios está em encontrar um tratamento de câncer bem-sucedido, que fuja dos mecanismos de resistência (VASAN; BASELGA; HYMAN, 2019). A heterogeneidade de diferentes células tumorais limita as respostas à terapêutica, permitindo ainda mais resistência aos medicamentos (GUO *et al.*, 2019, HINOHARA; POLYAK, 2019). A heterogeneidade clonal afeta a biologia geral do tumor e é conhecida por conduzir a metástase e a progressão do câncer (JANISZEWSKA *et al.*, 2019). Embora novos alvos e terapias possam avançar no tratamento do câncer, a natureza dinâmica do câncer encontra uma maneira de sobreviver (KEMP; KWON, 2021).

A exploração da nanotecnologia como uma excepcional alternativa para a terapia do câncer cresceu exponencialmente nos últimos quarenta anos, e com o aumento do conhecimento, principalmente, do microambiente dos tumores aumentou os esforços dos pesquisadores para desenvolvimento de nanopartículas como uma nova estratégia terapêutica e diagnóstica contra o câncer (ASGHARI *et al.*, 2019, SONG; DAS; CHEN, 2020, MOSLEH-SHIRAZI *et al.*, 2022, BEHROOZ; TALAIE; SYAHIR, 2022, HEGDE *et al.*, 2023). Esses avanços fazem com que a nanomedicina tenha potencial para melhorar a terapia anticancerígena (MEEL *et al.*, 2019).

### 3.3. Nanossistemas de entrega de agentes terapêuticos

Os sistemas de entrega de drogas ou medicamentos (*Drug Delivery Systems (DDSs)*) surgem a partir da ascensão da nanotecnologia (WANG *et al.*, 2022), e estão fundamentados em abordagens interdisciplinares que mesclam ciência de polímeros, farmacêutica, química de bioconjugados e biologia molecular (DUAN *et al.*, 2020). Os DDSs estão sendo desenvolvidos com a finalidade de superar problemas relacionados aos medicamentos, por exemplo tentativas de reduzir os efeitos fora do alvo, maior eficácia do tratamento, melhor adesão do paciente, baixa solubilidade ou baixa biodisponibilidade (WANG *et al.*, 2022). Esses nanossistemas de entrega devem controlar a liberação do fármaco com precisão, além de limitar a interação do fármaco aos locais específicos, e dessa forma, reduzir os efeitos colaterais indesejáveis nos tecidos não-alvo (THORN *et al.*, 2021, WANG *et al.*, 2022, TUNDISI *et al.*, 2023).

Os nanocarreadores são nanopartículas desenvolvidas para realizar o reconhecimento das regiões tumorais, utilizando as diferenças físico-químicas entre células tumorais e normais para alcançar essas regiões (KENCHEGOWDA *et al.*, 2022). Atualmente, a maioria dos nanocarreadores depende de estratégias de direcionamento passivo, em que o acúmulo ocorre devido ao efeito de permeabilidade e retenção aumentada (efeito EPR). Isso ocorre porque as anormalidades estruturais e funcionais nos vasos sanguíneos tumorais são responsáveis pelo extravasamento de macromoléculas e nanopartículas no tecido tumoral sólido. Portanto, a neovascularização irregular em tumores sólidos, a expressão elevada de fatores inflamatórios e a drenagem ineficiente dos sistemas linfáticos no tecido tumoral resultam na retenção das macromoléculas extravasadas naquele tecido (YOSHIKAWA *et al.*, 2019, WU, 2021). Assim, as fenestras nos vasos sanguíneos tumorais permitem o uso de nanopartículas (10 - 400 nm), o que possibilita o transporte de grandes quantidades de fármacos (KENCHEGOWDA *et al.*, 2022).

O direcionamento ativo é uma outra estratégia para superar os casos em que o efeito EPR é insuficiente, essa estratégia tem como base na modificação da superfície de nanopartículas com peptídeos, polissacarídeos, hormônios ou proteínas para aumentar sua afinidade com o alvo (GESSNER, 2021). São moléculas ligadas covalentemente na superfície da nanopartícula, que são reconhecidas por receptores

ou transportadores expressos na membrana celular das células-alvo (tumor) (ROSENBLUM *et al.*, 2018, YEO *et al.*, 2022).

As plataformas de entrega de nanomedicamentos fornecem novas alternativas para a terapia anticancerígena com potencial de melhorias nas distribuições *in vivo*, comportamentos e desempenhos de agentes terapêuticos (MEE *et al.*, 2019, SINGLA *et al.*, 2021). Isso se deve a capacidade de direcionamento passivo de nanopartículas que está diretamente ligado às suas propriedades, como liberação dos agentes terapêuticos dependente de pH e biologia tumoral, por exemplo, efeito EPR, melhoraram o impacto das terapias anticancerígenas (SANATI *et al.*, 2023). Esses agentes terapêuticos ao serem incorporados em nanopartículas, tem a capacidade de alcançar uma liberação sustentada e altas concentrações de drogas no plasma (TIAN *et al.*, 2023). As características singulares das nanopartículas, como facilidade de manuseio, biocompatibilidade e grande área de superfície, as tornam transportadoras eficazes nas tecnologias voltadas a terapêutica contra o câncer (NARMANI; JAFARI 2021, TIAN *et al.*, 2023).

As nanopartículas com seus tamanhos nanométricos são excelentes como transportadoras de drogas, ou substâncias terapêuticas em compartimentos específicos do corpo. É importante destacar que seus tamanhos, que estão na faixa dos nanômetros, e sua forte afinidade com a membrana celular e o espaço intracelular, permitem que eles permeiem com sucesso as células, o que promove o avanço e a fortalecimento do campo da terapia gênica (POURMADADI *et al.*, 2023).

A classificação das nanopartículas usadas para transportar e entregar agentes terapêuticos podem ser divididas em duas categorias de nanopartículas, as orgânicas e as inorgânicas (SAHU *et al.*, 2021, POURMADADI *et al.*, 2023).

As nanopartículas orgânicas são compostas por uma variedade de classes, incluindo nanoesferas poliméricas (ZHANG *et al.*, 2018, YU *et al.*, 2021), nanocápsulas poliméricas (MASSOUMI *et al.*, 2020), nanocápsulas de hidrogel (BRYAN *et al.*, 2019), dendrímeros (ABBASI *et al.*, 2014), micelas de copolímeros (GASPAR *et al.*, 2015), lipossomas (ISTENIČ; KOROŁEC; ULRIH, 2016), nanopartículas lipídicas sólidas (GANESAN *et al.*, 2018, HANAFY *et al.*, 2021) e

nanocarreadores lipídicos (KRAMBECK *et al.*, 2021). Já o uso de diferentes tipos de nanopartículas inorgânicas ou a base carbono (JAGARAN; SINGH, 2022), como transportadores ou carreadores de fármacos tem sido bastante relatado na literatura. As nanopartículas inorgânicas mais frequentemente pesquisadas incluem: nanopartículas metálicas (SENGUL; ASMATULU, 2020), fulerenos (GAUR *et al.*, 2021), nanotubos de carbono (JAMPILEK; KRALOVA, 2021) e nanopartículas cerâmicas (SUBHAPRADHA *et al.*, 2018).

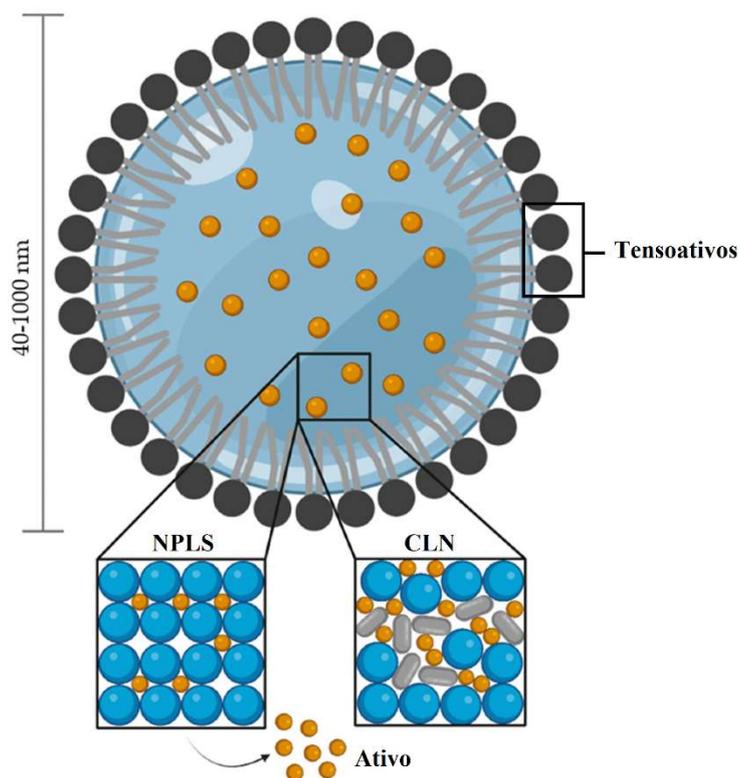
### 3.4. Nanopartículas lipídicas sólidas

Os lipossomas, considerados modelos clássicos de transportadores, utilizados desde a década de 1960, passarão a ser associados a falhas ligadas a degradação do polímero, falta de tecnologia de produção em larga escala, fusão e extravasamento da droga, degradação da matriz polimérica e citotoxicidade, degradação de fosfolipídeos, altos custos de produção e problemas de esterilização (MISHRA *et al.*, 2018, MADKHALI, 2022). Dessa forma, no início dos anos 90 (WESTESEN; SIEKMANN; KOCH, 1993) as nanopartículas lipídicas (NPLs) foram sintetizadas pela primeira vez, e sua síntese, considerada inovadora na busca por uma nova geração de nanotransportadores (MÜLLER; MÄDER; GOHLA, 2000, MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022). As NPLs são partículas coloidais constituídas por um núcleo lipofílico sólido, onde podem ser incorporados fármaco ou outras moléculas, particularmente de caráter lipofílicas, entre as cadeias de ácidos graxos (MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022).

Recentemente, com a pandemia COVID-19, as NPLs mostraram resultados promissores e ganharam mais popularidade, agora como veículo de entrega de mRNA na vacina COVID-19. Em estudos *in vivo* os lipídios foram capazes de proteger o mRNA, e mantendo sua estabilidade na corrente sanguínea antes de serem absorvidos pelas células fagocíticas via endocitose. Dessa forma, as NPLs funcionaram como um adjuvante imunológico para induzir respostas imunes contra as proteínas spike do vírus (GREGORIADIS, 2021, JAGARAN; SINGH, 2022).

O grupo de NPLs mais conhecido é o das nanopartículas lipídicas sólidas (NPLSs), sintetizado pela primeira vez em 1991, é a primeira geração de NPLs, com

seu tamanho variando de 40 nm a 1000 nm (Figura 2) (SHAZLY, 2017, MISHRA *et al.*, 2018, MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022). As NPLS ganharam atenção, por possuírem muitas propriedades como biocompatibilidade, capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, variabilidade de tamanho de partícula e, principalmente, custo-benefício, e tornando-se um sistema de entrega lipídico bastante atraente (DUAN *et al.*, 2020).



**Figura 2** - Estrutura de uma nanopartícula lipídica sólida (NPLS) e carreador lipídico nanoestruturado (CLN), compostos por uma matriz lipídica sólida estabilizada por um invólucro externo de tensoativos.

**Fonte:** Adaptado de Basso *et al.*, (2022).

Os lipídios que compreendem a matriz das NPLs estão na forma sólida à temperatura ambiente e corporal; são biodegradáveis e possuem alto ponto de fusão, por exemplo triglicerídeos, glicerídeos parciais, ácidos graxos, álcoois graxos e ceras (DUAN *et al.*, 2020, CHUTOPRAPAT; KOPONGPANICH; CHAN, 2022). A matriz sólida das NPLSs pode incorporar compostos ou substâncias bioativas, que tenham características lipofílicas ou hidrofílicas, e assim, oferecer proteção contra a degradação química e ambiental (MOHAMMADI-SAMANI; GHASEMIYEH, 2018,

PANDEY *et al.*, 2022). Já os tensoativos ou surfactantes atuam diminuindo a tensão superficial, aumento de estabilidade, redução do tamanho da NPLS e maior capacidade de transporte (MISHRA *et al.*, 2018, SMITH *et al.*, 2020). No entanto, concentrações de tensoativos superiores a 5% podem causar toxicidade; portanto, o ideal é manter-se em uma faixa de concentração entre 0,5% e 5% (SMITH *et al.*, 2020, CHUTOPRAPAT; KOPONGPANICH; CHAN, 2022). Dessa forma, o desenvolvimento (síntese/fabricação) das NPLs visa otimizar a mistura de lipídios com os tensoativos/surfactantes e outros materiais, de modo que a mistura resultante possa formar uma microemulsão termodinamicamente estável (DUONG *et al.*, 2020, MUSIELAK; FELICZAK-GUZIK; NOWAK, 2022).

Os métodos usados na síntese/fabricação das NPLs são variados, e podem ser homogeneização de alta velocidade e ultrassom, ultrassom, homogeneização de alta pressão em altas ou baixas temperaturas, evaporação de solvente, extração de fluido supercrítico de emulsões, emulsões múltiplas e secagem por pulverização (NASERI; VALIZADEH; ZAKERI-MILANI, 2015, SUBROTO; ANDOYO; INDIARTO, 2023). Assim, o método de produção das NPLSs deve ser adequado às características do princípio ativo a ser encapsulado, para que a utilização do método seja adequada aos objetivos a serem alcançados (DUONG *et al.*, 2020, ASSALI; ZAID, 2022, SUBROTO; ANDOYO; INDIARTO, 2023).

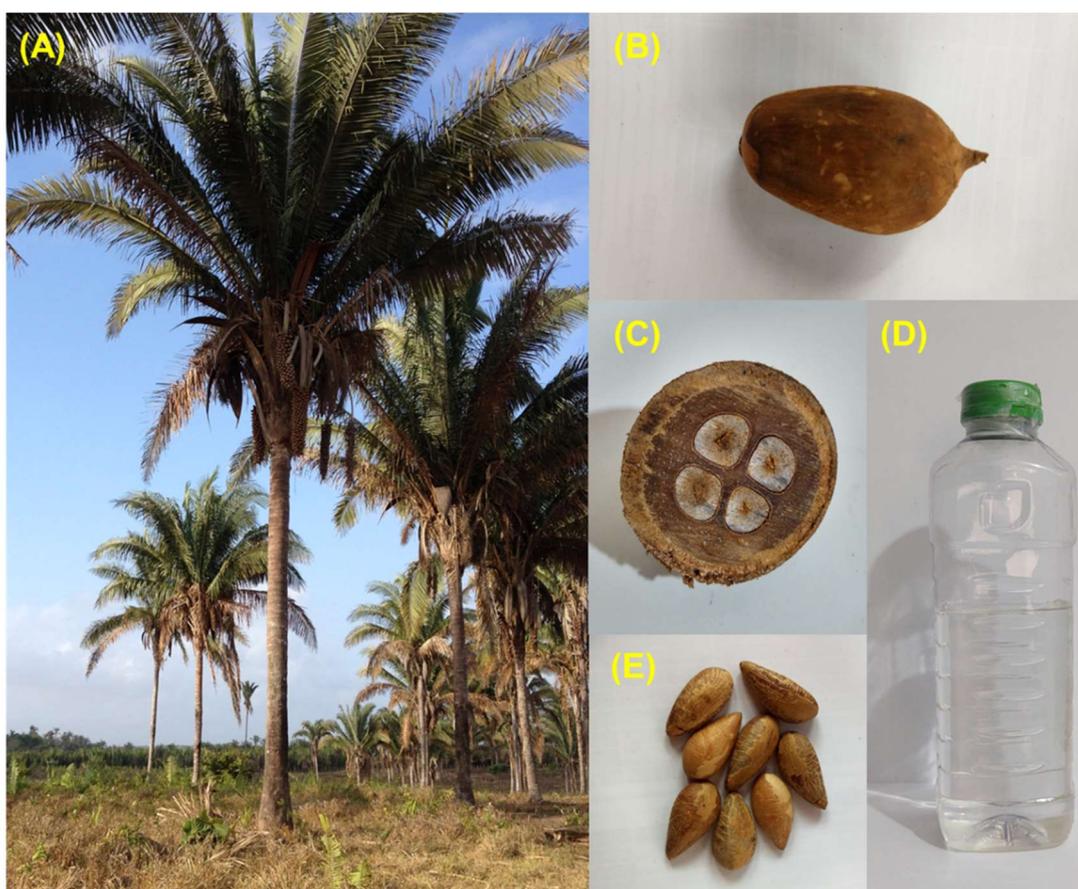
Portanto, NPLSs possuem excelentes vantagens. Os mais notáveis incluem seus materiais biocompatíveis, não imunogênicos, baratos e métodos de produção fáceis de escalar para a escala industrial. Devido a isso, o desenvolvimento de nanossistemas baseados em NPLSs que possam ser transferidos da bancada para a clínica é de extrema importância (GERMAN-CORTÉS *et al.*, 2023).

### 3.5. Babaçu

Babaçu (Figura 3) é o nome genérico dado às palmeiras oleaginosas pertencentes à família *Arecaceae* ou pelo nome obsoleto de *Palmae* e integrantes dos gêneros *Attalea*, cientificamente conhecida como *Attalea speciosa* mart. Ex spreng, sinônimo *Orbignya paleratha* e *Orbignya oleífera*, é uma das mais importantes

representantes das palmeiras brasileiras (ARARUNA *et al.*, 2020, TEIXEIRA; IBAÑEZ; BLOCK, 2022).

Os babaçuais crescem na porção ocidental da América do Sul, e se destaca como a espécie mais abundante e de maior importância econômica (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.*, 2012, MELO *et al.*, 2019). Possui mais 2.500 espécies distribuídas em 240 gêneros, 38 das quais ocorrem no Brasil (MATA *et al.*, 2022). A região amazônica se destaca por possuir a maior diversidade de palmeiras, conta com 195 espécies e 35 gêneros (SANTOS *et al.*, 2017a).



**Figura 3** – (A) Palmeira do babaçu (*Attalea speciosa* mart. Ex spreng); fruto (B); fruto cortado transversalmente (C); amêndoas (D) e óleo extraído das amêndoas (E). Localização: Penalva – MA, Brasil.

**Fonte:** Próprio autor.

O babaçu é uma espécie nativa de florestas densas e úmidas que se distribuem em aproximadamente 200.000 km<sup>2</sup> de florestas no Brasil (SANTOS *et al.*, 2017a), especialmente na parte leste da Amazônia, nas zonas de transição entre o bioma da

floresta tropical e o semi-árido do nordeste do Brasil (ARAÚJO *et al.*, 2016). É naturalmente abundante nos estados do norte e nordeste do Brasil, especialmente nos estados do Maranhão, Piauí e Tocantins (15 milhões de hectares), onde as florestas contêm cerca de 25 bilhões de árvores (ARARUNA *et al.*, 2020, MATA *et al.*, 2022).

A amêndoa do fruto da palmeira babaçu é um dos principais produtos extrativistas do Brasil, com uma produção que chegou há 32.074 toneladas em 2021 (CONAB, 2022). É um produto de grande relevância econômica do extrativismo vegetal no País, e social para as populações de algumas regiões do nordeste, principalmente o estado do Maranhão (GONZÁLEZ-PÉREZ *et al.*, 2012; ARAÚJO JUNIOR; DMITRUK; MOURA, 2014). A colheita dos frutos do babaçu é uma atividade predominantemente feminina, as quais são conhecidas como “*quebradeiras de coco*” (ALMEIDA *et al.*, 2016, REIS *et al.*, 2017). É a principal fonte de renda de mais de 300.000 pessoas no Nordeste do Brasil, principalmente no estado do Maranhão (REIS *et al.*, 2017, SANTOS *et al.*, 2020, GEHRING *et al.*, 2020).

A estrutura do fruto do babaçu é composta por quatro partes. As porcentagens médias de cada um de seus componentes são 11% epicarpo fibroso, 23% mesocarpo, 59% endocarpo, uma camada de madeira dura e amêndoa 7% (ARARUNA *et al.*, 2020). As amêndoas que são compostas por mais de 60% a 65% de óleo (VINHAL; LIMA; BARBOSA, 2014, DA PONTE *et al.*, 2017, OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Os estudos têm demonstrado que o babaçu apresenta ação antitumoral (NASCIMENTO *et al.*, 2006), propriedades anti-inflamatórias (SILVA; PARENTE, 2001, REIS *et al.*, 2017, BARBOSA *et al.*, 2012) e antimicrobiana (CANTARINI *et al.*, 2015, HOVORKOVÁ *et al.*, 2018, NOBRE *et al.*, 2018).

A extração do óleo das amêndoas de coco babaçu pode ser feita de forma artesanal, onde as amêndoas são trituradas e posteriormente cozidas. Além disso, a extração do óleo pode ocorrer por pressão mecânica ou por solvente. No entanto, a prensagem a frio se destaca como um método seguro para os consumidores, pois não envolve calor nem extração química, resultando em óleos de alta qualidade (MELO *et al.*, 2019).

O óleo de coco babaçu possui uma variedade de ácidos graxos, com destaque para o ácido láurico (40-55%), mirístico (11-27%), oleico (ômega 9) (10–16%), esteárico (1,8 –7,4%) ácidos palmítico (5–11%), cáprico (1,2–8%) e caprílico (6%) (URIOSTE *et al.*, 2008, SANTOS *et al.*, 2013, SANTOS *et al.*, 2017b, SILVA *et al.*, 2020, OLIVEIRA *et al.*, 2023). O ácido láurico é um ácido graxo de cadeia média com 12 átomos de carbono e possui várias propriedades terapêuticas, com destaque para as atividades antibacteriana, antiinflamatória e antitumoral (DAYRIT, 2014, LAPPANO *et al.*, 2017, PEREIRA *et al.*, 2020).

Muitos autores têm relatado o uso do óleo como fármaco, e o empregando como excipiente em diferentes formulações farmacêuticas como microemulsão (HONORIO-FRANÇA *et al.*, 2014, REIS *et al.*, 2017, SANTOS *et al.*, 2020). As microemulsões, mostram resultados na melhora a função do sistema imunológico (HONORIO-FRANÇA *et al.*, 2014, MELO *et al.*, 2019) e atividade anti-inflamatória (HONORIO-FRANÇA *et al.*, 2014). Sistemas nanoestruturados contendo óleo, também, têm sido estudados como terapia para hiperplasia prostática benigna (SOUZA *et al.*, 2011, DE SOUSA *et al.*, 2013, AMARAL *et al.*, 2014).

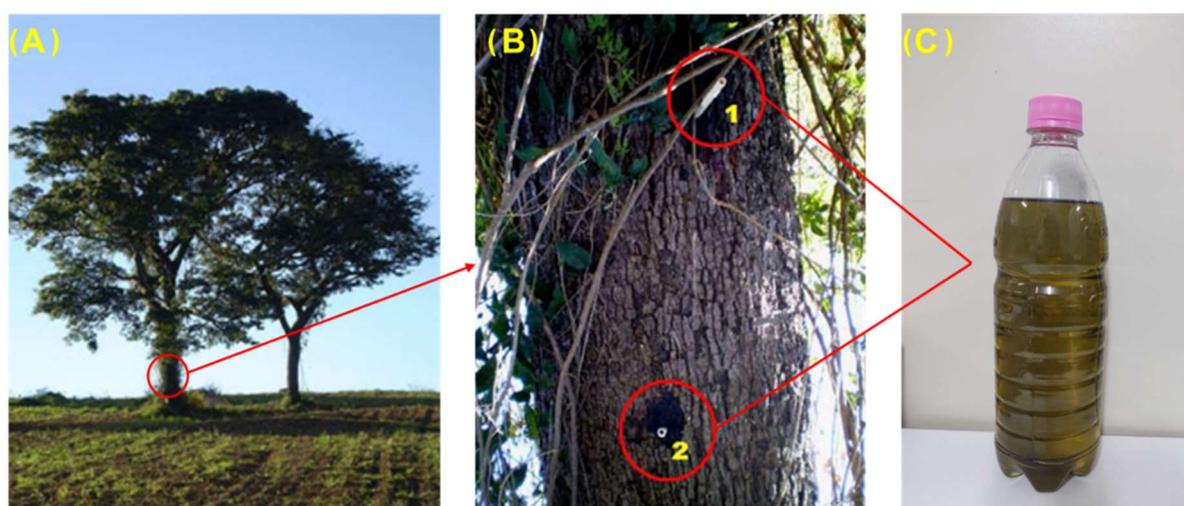
A utilização de extratos isolados ou combinações de extratos de duas ou mais plantas tem demonstrado uma melhora significativa nas propriedades do organismo. Além disso, essas combinações frequentemente apresentam efeitos sinérgicos, auxiliando no tratamento de algumas doenças, como a hiperplasia prostática benigna (HPB) (ABREU *et al.*, 2018, FURTADO *et al.*, 2021).

### 3.6. Copaíba

A publicação marcante sobre copaíba foi escrita 127 anos após o descobrimento do Brasil por Vicente Rodrigues Palha, conhecido como Bispo Frei Vicente do Salvador. Ele dedicou dois capítulos de seu livro “*História do Brasil*” para descrever as árvores e ervas medicinais encontradas no Brasil. Frei Vicente relatou inúmeras árvores maravilhosas e fortes que eram grossas, altas e retas e, quando golpeadas ou perfuradas, pingavam óleo precioso (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002, PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009, TOBOUTI *et al.*, 2017). A origem do nome dessas árvores veio da linguagem indígena “tupi”, que eram chamadas de “cupa-yba”, a

árvore de depósito, ou que tem jazidas, por causa da óleo-resina do seu tronco (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002, ARRUDA *et al.*, 2019).

As árvores de copaíba (Figura 4) pertencem ao gênero *Copaifera*, família *Fabaceae* e subfamília *Caesalpinioideae*. Esse gênero foi descrito pela primeira vez por Marcgraf e Piso em 1638, que empregaram o nome “Copaíba” sem designar a espécie (TOBOUTI *et al.*, 2017, TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018). Foi em 1760 que *Nicolaus Joseph Von Jacquin* descreveu a espécie *Copaiva officinalis* na obra *Enumeratio Systematica Plantarum* (JACQUIN, 1762). Mas foi no ano de 1764 que Carl von Linné fez um estudo mais detalhado do gênero na obra *Species Plantarum* (LINNÉ; WILLDENOW, 1797) na qual descreveu a espécie *Copaifera officinalis* (Jacq.) (TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018, MENEZES *et al.*, 2022).



**Figura 4** - Árvores de copaíba (*Copaifera sp.*) (A), extração da óleo-resina (B) e óleo-resina (C).

**Fonte:** PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009 (A e B); próprio autor (C).

Esta árvore é nativa da América Central e do Sul, Índia Ocidental e África Ocidental (LEANDRO *et al.*, 2012, ARRUDA *et al.*, 2019). No Brasil, as árvores são encontradas nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônia (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009, TOBOUTI *et al.*, 2017). São 72 espécies das quais 16 são encontradas exclusivamente no Brasil, onde existem mais de 20 espécies dessa planta. As mais comuns incluem *C. officinalis* L., *C. guyanensis* Desf., *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. langsdorffii* Desf., *C. coriácea* Mart. e *C. cearenses* Huber ex Ducke (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002, LEANDRO *et al.*, 2012, TOBOUTI *et*

*al.*, 2017, ARRUDA *et al.*, 2019). Algumas árvores podem chegar até 400 anos, com altura variando entre 25 e 40 m (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009, GEBARA *et al.*, 2016), madeira pesada, folhagem densa, flores pequenas, frutos secos e sementes pretas e ovoides. A casca é marrom-escura, com superfície rugosa e aromática, enquanto o tamanho do tronco pode chegar a 80 centímetros (TOBOUTI *et al.*, 2017).

A óleo-resina exsudada da copaíba, conhecida como óleo de copaíba, é constituída por uma parte volátil ou sesquiterpênica, que corresponde 10 -15% ou até 80% do óleo-resina de copaíba (CARDINELLI *et al.*, 2023), com destaque ao  $\beta$ -cariofileno (hidrocarboneto bicíclico),  $\beta$ -bisaboleno,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -bisabolol,  $\beta$ -elemeno,  $\gamma$ -cadineno,  $\alpha$ -cadinol (DIAS *et al.*, 2012). Já a parte não volátil, resinosa ou diterpênica, se destacam os ácidos caurenóico, hardwickiico, poliáltico e copálico (TOBOUTI *et al.*, 2017, CARDINELLI *et al.*, 2023).

O rendimento médio de óleo-resina é de 0,3 a 3 litros por árvore em cada coleta, no entanto, existem árvores que podem produzir ocasionalmente cerca de 30 litros em uma coleta (GEBARA *et al.*, 2016, EMBRAPA, 2023). A produção de óleo-resina de copaíba foi de 165 toneladas em 2018, o último ano da análise. Em 2018, a produção atingiu um valor de R\$ 3.876.000,00 (IBGE, 2018, STEVAUX; ALVES, 2020).

A óleo-resina é um líquido com viscosidade e cor variáveis, variando do amarelo ao marrom claro, e demonstrou ter propriedades anti-inflamatórias (GOMES *et al.*, 2010, LUCCA *et al.*, 2017, ALMEIDA JÚNIOR *et al.*, 2021), antibacteriano (BARDAJÍ *et al.*, 2016, DIEFENBACH *et al.*, 2018, ABRÃO *et al.*, 2021), antifúngico (DEUS; ALVES; ARRUDA, 2011, ZIMMERMAM-FRANCO *et al.*, 2013, SILVA *et al.*, 2019) e propriedades antitumorais (LEGAULT; PICHETTE, 2010, VARGAS *et al.*, 2015). Mesmo que tenham sido descritas bioatividades de alguns sesquiterpenos isolados dos óleos de copaíba, as várias propriedades biológicas são atribuídas apenas ao óleo intacto, onde as substâncias atuam sinergicamente (CARDINELLI *et al.*, 2023).

Desta forma, o óleo-resina de copaíba, assim como o óleo de babaçu em nanossistemas, como nanocompósitos de silicatos lamelares, evidenciaram um aumento da atividade farmacológica, com uma redução da distribuição em outros tecidos e aumento da eficácia da administração, visto que os nanossistemas também

são conhecidos por apresentarem uma capacidade de vetorização de fármacos (BORGES *et al.*, 2016).

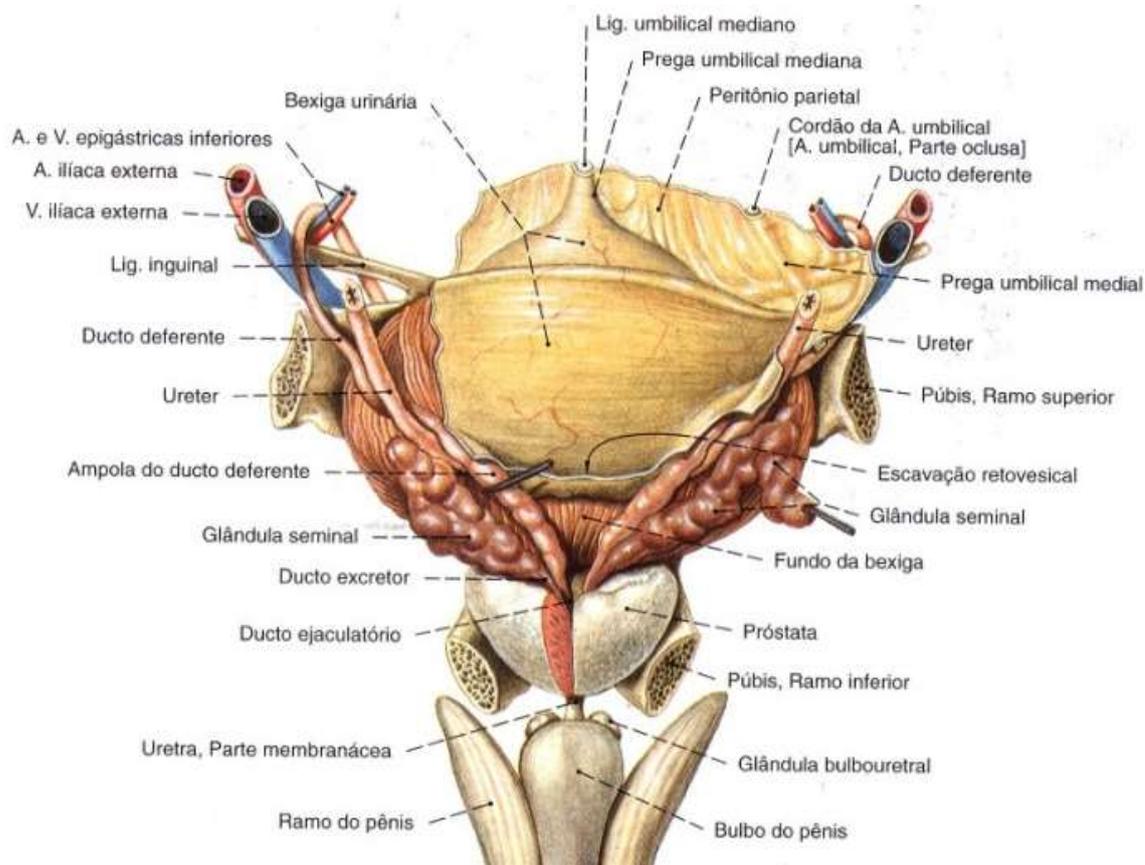
### 3.7. Anatomia e fisiologia da próstata

O termo “próstata” vem da palavra grega *prohistani*, que significa "glândula em frente à bexiga". Herófilus da Calcedônia, um anatomista grego considerado o pai da anatomia, usou este termo pela primeira vez em 335 a.C. (BAY; BAY, 2010). Já em 1543, Andreas Vesalius descreveu a próstata como um único órgão do sistema urogenital masculino (DAUGE *et al.*, 1999).

A próstata é um órgão exócrino do sistema reprodutor masculino localizado na cavidade pélvica (FRANZ *et al.*, 2013, FRANCIS; SWAIN, 2018). Os fluidos secretados pela próstata são ricos em proteínas, enzimas, lipídios, amilases, ácido cítrico, fosfatase ácida, fibrinolisina, zinco e antígeno específico da próstata (PSA) (KIERSZENBAUM, 2008, LEE; AKIN-OLUGBADE; KIRSCHENBAUM, 2011). O fluido prostático é levemente ácido (pH de ~ 6,4) e responsável por 15 e 30% do volume total do fluido seminal (FRANZ *et al.*, 2013, SAUER *et al.*, 2020). A próstata é um conjunto de 30 a 50 glândulas túbulo-alveolares ramificadas, sendo que os seus ductos desembocam na porção da uretra, denominada uretra prostática. As glândulas túbulo-alveolares ramificadas são compostas por epitélio cubóide ou pseudo-estratificado colunar e cercadas por estroma fibromuscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O desenvolvimento, crescimento, manutenção estrutural e funcional da próstata se dá em resposta aos hormônios androgênicos, estimuladores da diferenciação e do crescimento do epitélio e do estroma prostáticos (MARKER *et al.*, 2003; FUJIKAWA *et al.*, 2005; LEE; AKIN-OLUGBADE; KIRSCHENBAUM, 2011). Por volta da décima semana de gestação, dá início a seu desenvolvimento em resposta ao estímulo da di-hidrotestosterona (DHT), hormônio proveniente da conversão metabólica da testosterona através da ação da enzima 5 $\alpha$ -redutase, localizada no seio urogenital (BERMAN; RODRIGUEZ; VELTRI, 2012).

A próstata pesa cerca de 20 g no homem adulto, possui uma constituição fibromuscular de 30 a 50% e glandular de 50 a 70%, sendo localizada no interior da cavidade pélvica, logo abaixo do colo da bexiga e atravessada pela uretra (Figura 5) (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

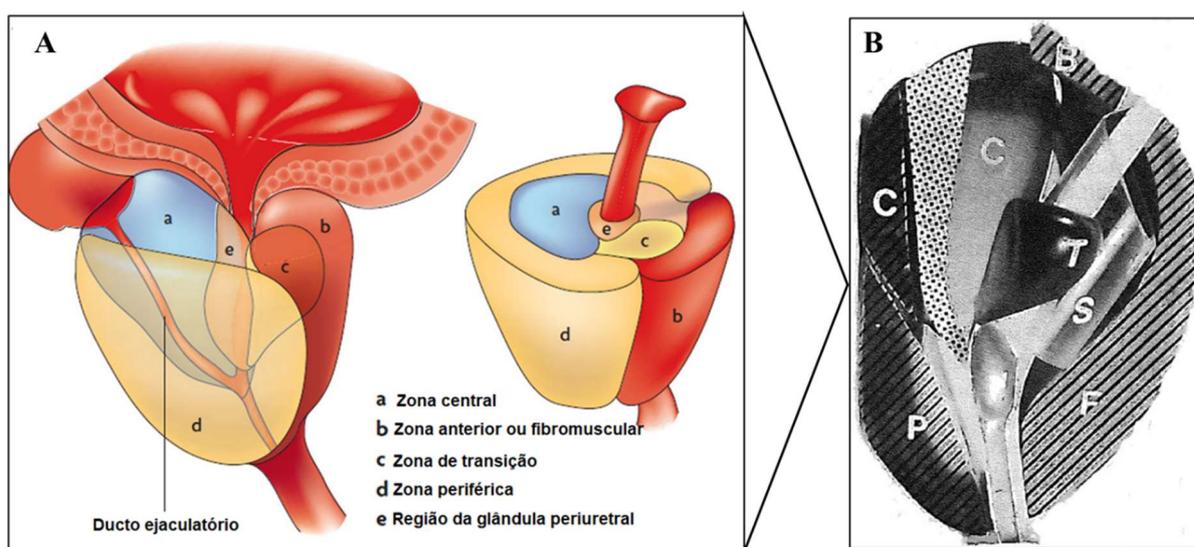


**Figura 5** - Bexiga urinária, ducto deferente, glândulas seminais, uretra e próstata.

**Fonte:** SOBOTTA, 2000.

De acordo com McNeal (1978) a próstata humana pode ser dividida em 4 regiões ou zonas anatômicas: periférica, transição, central e anterior que seriam diferentes biológica e histologicamente (Figura 6). A zona periférica compõe até 70% do volume normal da próstata e nessa região se origina cerca de 80% das neoplasias malignas da próstata (MCNEAL *et al.*, 1988, LEE; AKIN-OLUGBADE; KIRSCHENBAUM, 2011, PALMERI *et al.*, 2014, PENG *et al.*, 2015, SAUER *et al.*, 2020). A zona de transição representa de 5 a 10% do volume normal da próstata e envolve a uretra, sendo essa a região que ocorre a maior incidência de hiperplasia prostática benigna (HPB) (MCNEAL *et al.*, 1988, SROUGI; DALL’OGLIO; ANTUNES,

2010, YAN *et al.*, 2022). Em aproximadamente 70% das biópsias, aproximadamente 10 a 20% das neoplasias malignas da próstata podem ter origem na zona de transição (MCNEAL *et al.*, 1988, RO, GRIGNON; AYALA, 1997; SALDANHA, CAVALCANTI; ARAP, 2000, SROUGI; DALL'OGGIO; ANTUNES, 2010, NELLES; HU; PRINS, 2011). Quando isto ocorre, a zona de transição pode ocupar quase todo o volume da próstata (RO, GRIGNON; AYALA, 1997). A zona central foi descrita como uma cunha vertical de tecido glandular lateral a cada ducto ejaculatório com sua base cefálica na cápsula da glândula (SELMAN, 2011). Constitui de 20 a 25% do volume normal da próstata e é a região que envolve os ductos ejaculatórios, sendo o local de origem de cerca de 5% das neoplasias benignas da próstata (RO, GRIGNON; AYALA, 1997, VARGAS *et al.*, 2012). A zona anterior ou fibromuscular, representa 5% do volume normal da próstata e é composta apenas de tecido muscular e fibroso (SAMPAIO, 1992, LANG; HASHITAN, 2017).



**Figura 6** - A: Estrutura anatômica da próstata humana evidenciando as zonas, dispostas concentricamente em torno da uretra. B: Modelo tridimensional da anatomia da próstata, vista lateral. Os cortes sagitais (áreas alinhadas) removeram o lado próximo do estroma fibromuscular (F), colo vesical (B), zona central (C), zona periférica (P), zona de transição (T), esfíncter (S) e uretra com verumontanum (V) vistos por completo. Os ductos periuretrais estão escondidos atrás da zona de transição. Os ductos ejaculatórios (área pontilhada) atravessam o centro da zona central.

**Fonte:** Adaptado de MARZO *et al.*, (2007) (A); SELMAN (2011) (B).

### 3.8. Câncer de próstata

O câncer de próstata (CaP) é um tumor maligno e uma das principais causas de morte por câncer em homens em todo o mundo (SIEGEL *et al.*, 2020, REBELLO *et al.*, 2021). A incidência de CaP aumenta fortemente com a idade, a princípio, a partir dos 55 anos de idade, atingindo o pico aos 70 ou 74 anos de idade, após esse período o risco diminui ligeiramente (SUI *et al.*, 2021). Os fatores de risco relacionados ao câncer de próstata incluem fatores genéticos (herança familiar), etnia, idade, obesidade e outros fatores ambientais (NELLES; HU; PRINS, 2011, SEKHOACHA *et al.*, 2022). Há evidências do aumento incidência de CaP, também, em adolescentes mais velhos e homens adultos jovens (BLEYER; SPREAFICO; BARR, 2019). Segundo os autores a obesidade, sedentarismo, infecção por papilomavírus humano (HPV) e exposição a substâncias e agentes cancerígenos no ambiente podem ser as causas disso.

O CaP geralmente tem crescimento lento (HARRISON *et al.*, 2020), e possui uma natureza genômica, histomorfológica e clínica variada (HAFFNER *et al.*, 2020, GEORGE *et al.*, 2022, SEKHOACHA *et al.*, 2022). A transformação maligna das células prostáticas pode ocorrer por vários processos. Ela pode começar como uma neoplasia intraepitelial prostática, seguida de CaP localizado e, em seguida, progredir para adenocarcinoma localmente invasivo, metástase em locais distantes, principalmente em linfonodos ou ossos, e finalmente desenvolver um fenótipo independente de andrógeno (WAHAB *et al.*, 2020).

A maioria dos casos de CaP é classificada como adenocarcinoma com formação glandular e diferenciação luminal, incluindo expressão do receptor androgênico (RA) e do antígeno específico da próstata (PSA) (CHENG *et al.*, 2022). De forma geral CaP é classificado em CaP em estágio inicial, CaP familiar, CaP resistente à castração e CaP metastático resistente à castração (CENTENERA *et al.*, 2018, ALANAZI *et al.*, 2019). Embora a base para o tratamento CaP seja regulação hormonal, estudada por mais de 75 anos, com ênfase na ação androgênica (NELLES; HU; PRINS, 2011, HU *et al.*, 2012), novos estudos têm mostrado que além dos andrógenos, os estrogênios desempenham papel importante na etiologia e

progressão do CaP (NELLES; HU; PRINS, 2011, HU *et al.*, 2012, DOBBS *et al.*, 2018, ZAZZO *et al.*, 2019).

No cenário atual, as abordagens de tratamento do CaP evoluíram significativamente e os pacientes agora têm muitas opções de tratamento, como terapia hormonal, quimioterapia, imunoterapia e terapia direcionada (YAMADA; BELTRAN, 2021). Além de remoção cirúrgica, radiação e, nos últimos anos, a imunoterapia como método alternativo ganhou crescente interesse (SUI *et al.*, 2021). No entanto, a terapia de privação androgênica (TPA), que suprime farmacológica ou cirurgicamente a atividade androgênica (inibição da sinalização do receptor RA) permanece sendo o padrão ouro no tratamento do CaP (LIM *et al.*, 2020, GILBERT *et al.*, 2022, CHAN *et al.*, 2023).

Mesmo com uma resposta inicial favorável, com o tempo, a inibição do RA leva a resistência do CaP na maioria dos homens, e geralmente leva ao estágio de CaP resistente à castração (CPRC), também chamado de CaP independente de andrógenos (WATSON; ARORA; SAWYERS, 2015, LIM *et al.*, 2020). E com o aumento crescente do CPRC, a depleção hormonal não se faz mais necessária neste estágio, pois essas células cancerígenas passam a ser insensíveis a ação dos hormônios, e podem crescer independente de andrógenos, passando a ser agressivas e causando metástase (WAHAB *et al.*, 2020). O CaP metastático continua sendo associado a uma sobrevida global significativamente baixa, apesar dos avanços nas terapias (ACHARD *et al.*, 2021, LIU *et al.*, 2023).

Os estudos com linhagens celulares independem de andrógenos, como PC-3 e DU-145 são fundamentais para entender desenvolvimento e progressão dos CPRC (ALIMIRAH *et al.*, 2006, MATSUMURA *et al.*, 2008, LOMBARDI; VICENTE; PORTO, 2020). Assim, a melhora da qualidade da medicina voltada para o tratamento será possível, pois tem sido um desafio, principalmente devido ao conhecimento limitado da biologia do CaP em pacientes de diferentes populações (MIYAHIRA *et al.*, 2022). A exemplo as populações de ascendência africana, com taxas de incidência e mortalidade sendo as mais altas do mundo (NELLES; HU; PRINS, 2011, TAITT, 2018, MIYAHIRA *et al.*, 2022).

O PSA ou calicreína-3, é uma glicoproteína produzida pela próstata, descoberta na década de 1970 por Richard Ablin, tem a função de liquefazer o soro, promover a motilidade do espermatozoide e dissolver o muco cervical (PEZARO; WOO; DAVIS, 2014). No final dos anos 1980 e início dos anos 1990, a análise do PSA tem sido amplamente utilizada na detecção precoce do CaP (SHORE *et al.*, 2020, LUNDGREN *et al.*, 2021). Como a maioria dos homens CaP não apresenta sintomas ou sinais clínicos da doença, o PSA elevado é a anormalidade laboratorial inicial mais comum na detecção do CaP, sendo um exame de triagem que detecta os estágios iniciais de uma condição patológica e permite uma intervenção precoce (SHORE *et al.*, 2020). Embora o seu uso para o rastreamento do CaP é um tanto controverso (alta sensibilidade e baixa especificidade), não há dúvida quanto à sua utilidade no grande aumento no diagnóstico de CaP na maioria dos países industrializados, somado a um declínio na mortalidade, em parte devido à melhora no tratamento e provavelmente, a triagem generalizada do PSA (WAGASKAR *et al.*, 2021, OLA *et al.*, 2022). Vários estudos têm mostrado que a relação PSA livre/total (PSA L/T), principalmente na "zona cinza" do PSA-T (faixa de PSA-T sérico de 4,0 a 10,0 ng/mL) pode ser um marcador útil para o diagnóstico diferencial do CaP, pois apresenta boa acurácia e especificidade (FARIA *et al.*, 2012, CHANG *et al.*, 2015, SUN *et al.*, 2015, NIU *et al.*, 2022). Assim, quanto menor a relação PSA L/T, maior a probabilidade de ser diagnosticado com CaP.

O CaP é o segundo causa mais comum de câncer masculino em todo o mundo, ficando atrás apenas do câncer de pele não melanoma (HARRISON *et al.*, 2020, SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2020). Entre os casos de câncer no mundo, o CaP é o quarto mais comum, e responsável por aproximadamente 7,3% dos novos diagnósticos de câncer, resultando em mais de 1,4 milhão de casos novos estimados em 2020, o que representa 15,2% de todos os tipos de câncer entre homens. Esse valor corresponde a um risco estimado de 31,50 casos a cada 100 mil homens. Já para 2040 é esperado 2,43 milhões de casos novos (SUNG *et al.*, 2021, NIU *et al.*, 2022, INCA, 2022). Em 2020 ocorreram mais de 375.000 mortes por CaP no mundo (VIEIRA *et al.*, 2022). As maiores taxas de incidência de câncer de próstata foram observadas no Norte da Europa, na Europa Ocidental, no Caribe e na Oceania (INCA, 2022).

No Brasil, com exceção do câncer de pele não melanoma, o CaP ocupa a segunda posição entre os tipos mais frequentes (30%). Com uma mortalidade de 15.841 pessoas mortas de CaP em 2020, o que equivale a um risco de 15,30 mortes a cada 100 mil homens. O número estimado de casos novos de CaP no Brasil para o triênio de 2023 a 2025 é de 71.730, correspondendo a um risco de 67,86 casos novos a cada 100 mil homens (Tabela 1) (INCA, 2022, SANTOS *et al.*, 2023).

**Tabela 1** - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2023 a 2025 em homens, exceto pele não melanoma.

<b>Localização Primária</b>	<b>Casos</b>	<b>%</b>
Próstata	71.730	30
Cólon e reto	21.970	9,2
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5
Estômago	13.340	5,6
Cavidade oral	10.900	4,6
Esôfago	8.200	3,4
Bexiga	7.870	3,3
Laringe	6.570	2,7
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7
Fígado	6.390	2,7

**Fonte:** INCA, 2022.

### 3.9. Farmacologia no câncer de próstata

Como já contextualizado anteriormente, a maioria dos homens diagnosticados com CaP passa por uma terapia curativa, geralmente radiação ou cirurgia. Embora a taxa de sobrevida em 5 anos para o CaP localizado seja de 100%, cerca de 30% desses pacientes terão uma recorrência bioquímica (níveis altos de PSA sem sinais clínicos ou radiológicos de recidiva) (VAN DIE *et al.*, 2017, NAEEM *et al.*, 2020). A capacidade de estratificação dos pacientes por grupo de risco, permite aos médicos

proporem terapias com base no prognóstico, e na preferência do paciente, como vigilância, prostatectomia e radioterapia (tratamentos padrões para pacientes CaP em estágio I-III). A ablação androgênica por castração cirúrgica (orquiectomia, a retirada dos testículos) ou farmacológica pode trazer remissão duradoura em quase todos os pacientes em estágio IV e em estágio III de alto risco. Nesse caso, antiandrogênicos de primeira geração, como flutamida e bicalutamida, podem inibir seletivamente a atividade androgênica com menos efeitos adversos. No entanto, no estágio IV, há altíssima probabilidade de ocorrer CPRC, caracterizada por mutações genômicas no RA, com prognóstico ruim (LIMA *et al.*, 2019, SINGLA *et al.*, 2021, SEKHOACHA *et al.*, 2022).

O manejo do câncer de próstata metastático sensível a hormônios (CPmSH) mudou radicalmente nos últimos anos. Os dados apontam para um benefício de sobrevida, a partir da adição de quatro fármacos direcionados a privação de andrógenos em pacientes com CPmSH, o docetaxel, acetato de abiraterona, enzalutamida e apalutamida, não havendo diferença aparente quanto a eficácia dessas drogas, no entanto, com diferenças em seus perfis de toxicidade, além de diferenças notáveis no custo (CATTRINI *et al.*, 2019, HALL *et al.*, 2020, SUI *et al.*, 2021).

Os tratamentos disponíveis CPRC após TPA incluem quimioterapia com docetaxel, drogas bloqueadoras de andrógenos/receptores de andrógenos de última geração, sipuleucel-T (imunoterapia autóloga) e rádio-223 (NAEEM *et al.*, 2020). Para câncer de próstata metastático resistente à castração (CPmRC), os tratamentos aprovados são o inibidor do CYP17 abiraterona, o antagonista do receptor de androgênio (RA) enzalutamida, o taxano cabazitaxel, a imunoterapia sipuleucel-T, e o emissor alfa rádio-223 para homens com metástases ósseas. Até o início de 2010, o docetaxel (classe dos taxanos) era o único fármaco usado para prolongar a vida dos pacientes com CPmRC (NUHN *et al.*, 2019).

### 3.10. Fitoterapia no câncer de próstata

Com as estimativas de aumento da incidência de mortes por CaP e a baixa resposta da quimioterapia e radioterapia nas formas mais agressivas, novas

alternativas são necessárias para controlar o CaP (BASATI; GHANADI; ABBASZADEH, 2020). Ao longo dos últimos anos, há uma tendência emergente de usar produtos naturais de fungos, plantas e animais, na medicina, principalmente devido aos seus compostos bioativos, bem como à sua baixa toxicidade (THOMFORD *et al.*, 2018, CHEON; KO, 2022). Terapias à base de plantas medicinais têm demonstrado grandes vantagens, principalmente, por serem simples, de baixo custo e boa eficácia, e é uma tendência em todo mundo (WAHAB *et al.*, 2020). E como o desenvolvimento do uso de fármacos sintéticos é demorado, cresce ainda mais o interesse no uso de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2020, HUANG; LU; DING, 2021).

Fitoquímicos, vitaminas e alguns minerais que são encontrados em plantas comestíveis, como vitamina A, isoflavonas (por exemplo, genisteína e daidzeína), vitamina E, licopeno, selênio podem minimizar o risco de recorrência subsequente do câncer, progressão ou morte devido ao PCa (WAHAB *et al.*, 2020).

Uma das saponinas mais importantes encontradas nos tomates, a alfa-tomatina, mostrou efeitos antitumorais em células cancerígenas da próstata humana (LEE *et al.*, 2013). Um flavonoide encontrado em muitas plantas, como frutas, vegetais e grãos, chamado quercetina, demonstrou ser capaz de impedir o crescimento de vários tipos de câncer. Zhang *et al.*, (2020) estudaram se a quercetina melhora o efeito do paclitaxel nas células de câncer de próstata PC-3 e descobriram que a quercetina inibiu a proliferação celular, aumentou a apoptose, interrompeu o ciclo celular e inibiu a migração celular. Kai *et al.*, (2010) descobriram que o resveratrol e o ácido suberoilânida hidroxâmico (SAHA) atuaram sinergicamente na taxa de morte celular de células DU-145 e LNCaP. Já capsaicina, responsável pelo sabor picante das pimentas malaguetas, tem efeitos anticancerígenos. Sanchez *et al.*, (2019) estudaram se a capsaicina melhorou a ação do docetaxel nas células LNCaP e PC-3, e descobriram que a capsaicina impediu o crescimento e a viabilidade celular do tumor. Os fitoestrogênios é outro metabólito muito estudado na terapia do CaP. São metabólitos secundários de plantas, são semelhantes aos estrogênios de mamíferos em estrutura e função e têm demonstrado várias vantagens para a saúde humana. As três principais categorias dos bioativos dos fitoestrógenos são isoflavonas, coumestans e lignanas. Seu mecanismo mostra que interagem com as isoformas do

receptor de estrogênio nuclear RE $\alpha$  e RE $\beta$ , produzindo efeitos estrogênicos agonistas e antagonistas (PATRA *et al.*, 2023).

O ácido 3-acetoxicopálico presente no óleo-resina de copaíbamostrou atividade contra proteínas chaperonas  $\alpha$ -cristalina e inibidores de Hsp27 diminuindo o nível do transdutor de sinal da proteína Hsp27 e do ativador da transcrição 3 (Stat3) nas células PC-3 de CaP (LAMA *et al.*, 2014). Já Idippily *et al.*, (2017) mostrou que ácido copálico, um dos ácidos diterpenóides do óleo-resina de copaíba ao inibir a chaperona foi capaz de regular negativamente o receptor de andrógeno, responsável pelo desenvolvimento e progressão do câncer de próstata.

#### **4. Materiais e métodos**

##### **4.1. Materiais**

Seguem relacionados os principais materiais utilizados na elaboração desta Tese:

- Ácido Esteárico (Êxodo Científica®), como matriz lipídica;
- Tween 80 (TEDIA®), como tensoativo não-iônico;
- Óleo-resina de copaíbafoi adquirido da Cooperativa Mista dos Povos e Comunidades Tradicionais da Calha Norte (Coopaflora);
- Óleo de coco babaçu, foram adquiridos na Cooperativa Quilombola das Quebradeiras de Coco Babaçu (COOPERQUILOMBOLA) na cidade de Penalva-MA;
- Marcador  $\beta$ -cariofileno (80%) (Sigma Aldrich, EUA);
- Marcador ácido dodecanóico ou ácido láurico (Sigma Aldrich, EUA);
- Pentadecanoato de metila (Fluka®)

Principais equipamentos e acessórios utilizados na elaboração desta Tese:

- Cromatógrafo Gasoso Acoplada a Espectrômetro de Massa – CGEM - QP2010SE (Shimadzu). Equipamento localizado na Central Analítica, Centro de Ciências da Saúde da UFRJ;

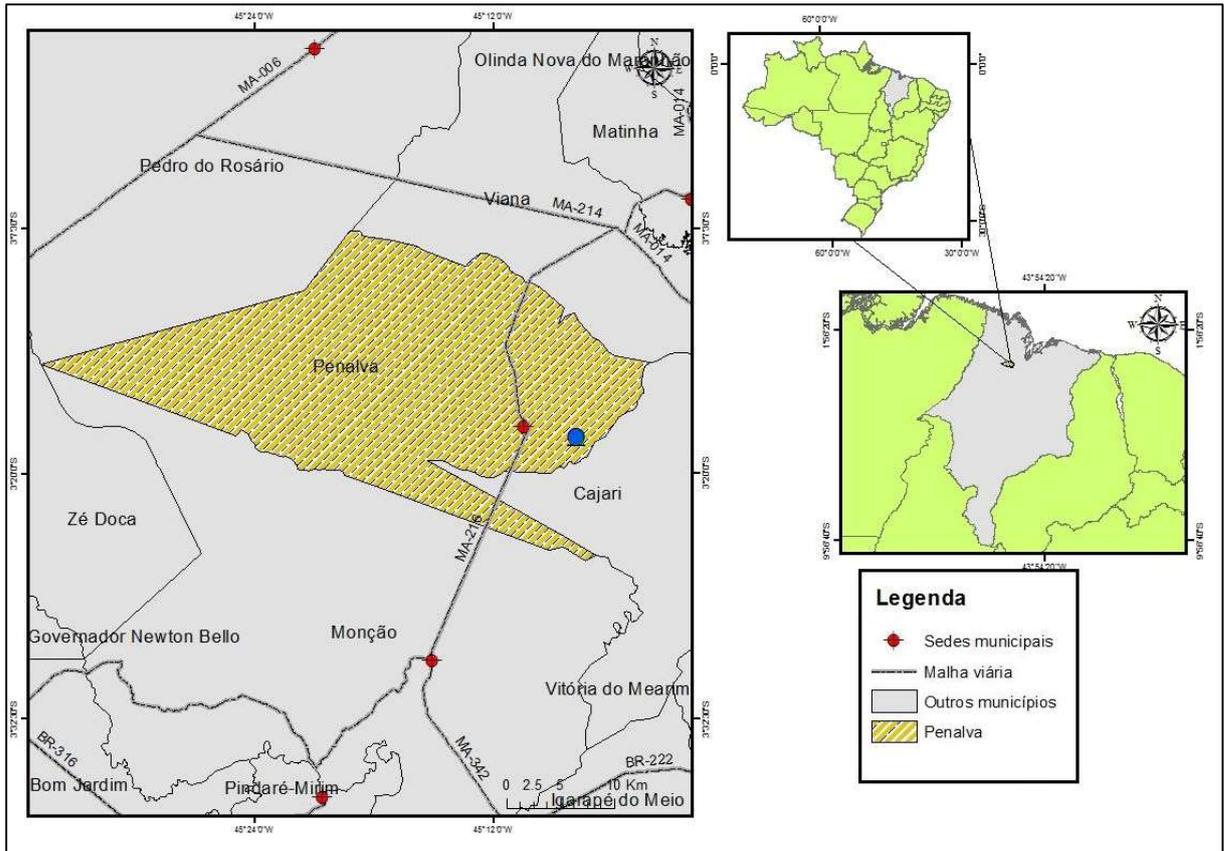
- Analisador de tamanho de partículas, Equipamento Zetasizer Nano® S90 (Malvern Instruments®, UK). Equipamentos localizados no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG), Faculdade de Farmácia da UFRJ;
- Balança digital, modelo PE 3600, Mettler. Equipamentos localizados no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG), Faculdade de Farmácia da UFRJ;
- Processador Ultrassônico UP100H (Hielscher). Equipamentos localizados no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG), Faculdade de Farmácia da UFRJ;
- Agitador magnético com aquecimento (IKA® C-MAG HS 7). Equipamentos localizados no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG), Faculdade de Farmácia da UFRJ.

## 4.2. Métodos

### 4.2.1. Descrição dos locais de coleta dos óleos de babaçu e óleo de copaíba

Os nanossistemas foram preparados utilizando-se óleo de babaçu (*Attalea speciosa*) (OB). O OB foi comprado a partir da Cooperativa Quilombola das Quebradeiras de Coco Babaçu (Cooperquilombola), situada na cidade de Penalva, Estado do Maranhão, Brasil (Figura 7). A técnica de prensagem a frio foi empregada para extrair o óleo a partir da amêndoa e um exemplar representativo do lote de amêndoas utilizadas foi catalogado e depositado no Herbário Ático Seabra da Universidade

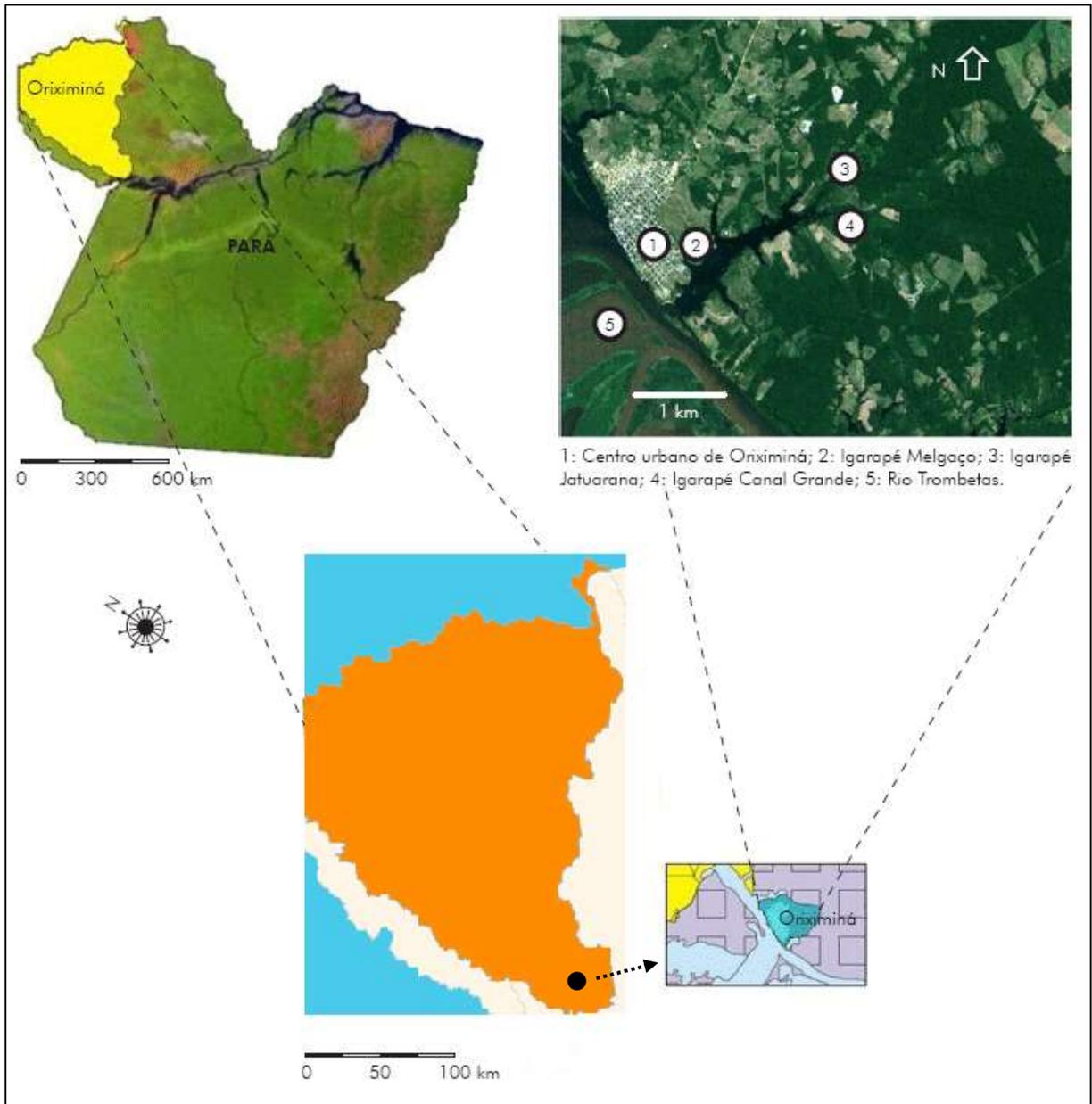
Federal do Maranhão (Brasil), identificado sob o número de registro 01371.



**Figura 7-** Localização da cidade de Penalva, Estado do Maranhão, Brasil (Latitude: 03° 17' 39" S e Longitude: 45° 10' 25" W).

Fonte: Silva *et al.*, (2021).

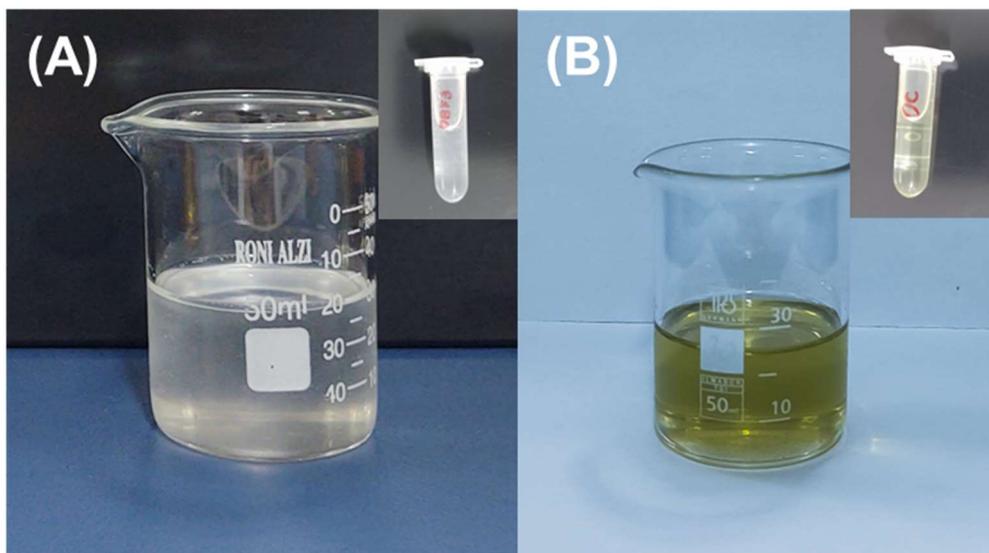
A óleo-resina de copaíba (OC), foi comprada a partir comunidade tradicional localizada no distrito de Alto Trombetas da cidade de Oriximiná, estado do Pará, Brasil (Figura 8). Um exemplar representativo da espécie de copaíba, também foi catalogado e encontra-se arquivado no Herbário Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Brasil), identificado sob o número de registro 10938.



**Figura 8** - Localização do lago do Iripixi e seus principais igarapés no Município de Oriximiná, Estado do Pará, Brasil (coordenadas do centro administrativo: Latitude:  $1^{\circ}46'00''S$ ; Longitude:  $55^{\circ}51'30''O$ ) e o macrozoneamento local, presente no plano diretor municipal.

**Fonte:** Adaptado de Silva *et al.*, (2014).

A Figura 9 (A) mostra o óleo de babaçu e a Figura 9 (B) o óleo-resina de copaíba.



**Figura 9** - (A): Óleo de coco babaçu (OB). Local de coleta: Penalva-MA; (B): Óleo-resina de copaíba (OC). Local de coleta: povoado Alto Trombetas, cidade de Oriximiná - PA.

Fonte: Próprio autor.

#### 4.2.2. Identificação dos óleos de babaçu e óleo de copaíba

A identificação do óleo de babaçu foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) QP2010 Ultra (Shimadzu) (Figura 10) equipado com detector quadrupolo e coluna capilar de 5% de difenil: 95% de dimetil polisiloxano (RXi - 5 ms; 30 m × 0,25 mm x 0,25 µm Df; Restek, Bellefonte, PA, EUA). Foi utilizado um modo de injeção sem divisão (1 µL), com hélio como gás de arraste a 1,8 mL/min. A programação da temperatura foi de 30 °C, mantendo por 1 minuto; 30 °C – 150 °C (20 °C/min), mantendo por 3 minutos; e 150 °C – 310 °C (25 °C/min), mantendo por 5 minutos. A temperatura da fonte de íons era de 230 °C. O detector quadrupolo foi operado em um modo de ionização de elétrons, com uma faixa de massa coletada de 30 a 300 m/z. As amostras foram dissolvidas em diclorometano (5 mg/mL), e 1 µL da amostra foi injetado com divisão de fluxo na razão de 1:200 (SPLIT).



**Figura 10** - Cromatógrafo gasoso acoplada a espectrômetro de massa – CG-EM - QP2010SE (Shimadzu).

**Fonte:** Próprio autor.

Os espectros de massas foram obtidos através da varredura linear e do monitoramento seletivo dos íons para determinação das amostras. A avaliação qualitativa dos picos foi realizada através da comparação entre a similaridade dos espectros de massa dos picos em relação ao banco de dados da biblioteca de espectros (NIST11).

Para a identificação dos ácidos graxos do óleo de babaçu, foi realizado o processo de derivatização, pois esses ácidos graxos presentes no óleo não são voláteis. Sendo assim, foi utilizada a técnica de esterificação para produzir ésteres metílicos a partir dos ácidos graxos, e assim ser possível realizar as análise por CG-EM (FERREIRA; FAZA; HYARIC, 2012, ABREU *et al.*, 2018).

Para o preparo a derivatização, foi utilizado reagente de saponificação, preparado a partir de 2,8 g de hidróxido de potássio (KOH) em 100 mL de metanol (CH<sub>3</sub>OH) e agitados até completa solubilização do KOH. O reagente de esterificação foi preparado pesando 5 g de cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl) em 150 mL de CH<sub>3</sub>OH e 7,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e adicionado lentamente enquanto o reagente estava

agitando. Solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e éter de petróleo também foram utilizados na técnica de derivatização das amostras.

As amostras de óleo de babaçu (50 mg) foram transferidas para balões vazios previamente pesados e identificados e depois foram secas em rotaevaporador (100 rpm a 50°C), sendo anotado o peso do balão. A seguir adicionou-se 4 mL do reagente de saponificação e barra magnética (peixinho) no balão com a amostra acoplado-o em um condensador de refluxo e deixou-se em refluxo por 5 minutos. Removeu-se o aquecimento e o condensador e adicionou-se, 5 mL do reagente de esterificação e deixou-se o balão em refluxo por 5 minutos. Retirou-se o aquecimento e o condensador e adicionou-se 4 mL da solução saturada de NaCl (reagente Brine) e 5 mL de éter de petróleo. Transferiu-se a amostra do balão para um funil de separação, no qual foi adicionado diclorometano; esta etapa foi repetida mais duas vezes. A fase orgânica foi transferida para um erlenmeyer e adicionou-se sulfato de sódio anidro com posterior filtração da amostra em papel de filtro; essa amostra volta para um balão identificado seu peso. O balão com a amostra derivatizada foi rota evaporado e depois pesado para descontar o peso do balão. Após derivatização, a amostra foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e completada com acetato de etila (diluição de 10000 vezes). E por fim, 1 mL da amostra diluída foi adicionado 25 µL de pentadecanoato de metila. O pentadecanoato de metila foi utilizado como padrão interno e o ácido láurico como marcador do óleo de babaçu (ABREU et al., 2018).

A identificação da amostra de óleo de copaíba, também foi realizado em CG-EM, de acordo com os parâmetros já descritos. Para o preparo da amostra, 50 mg de óleo-resina de copaíba foi transferido para um balão de 10 mL e completado com diclorometano. Essa solução 5mg/mL foi então diluída 50 vezes com diclorometano, passando para uma concentração de 1mg/mL. Uma alíquota, foi injetada no CG-MS. O  $\beta$ -cariofileno foi usado como marcador do óleo de copaíba. Os picos cromatográficos correspondentes ao marcador  $\beta$ -cariofileno nas amostras foram identificados por comparação dos tempos de retenção com o marcador de referência ( $\beta$ -cariofileno) e através da verificação de pico.

Os parâmetros usados no equipamento GC-MS para análise, foram: temperatura do injetor: 290°C; modo de injeção: split; modo de controle do fluxo:

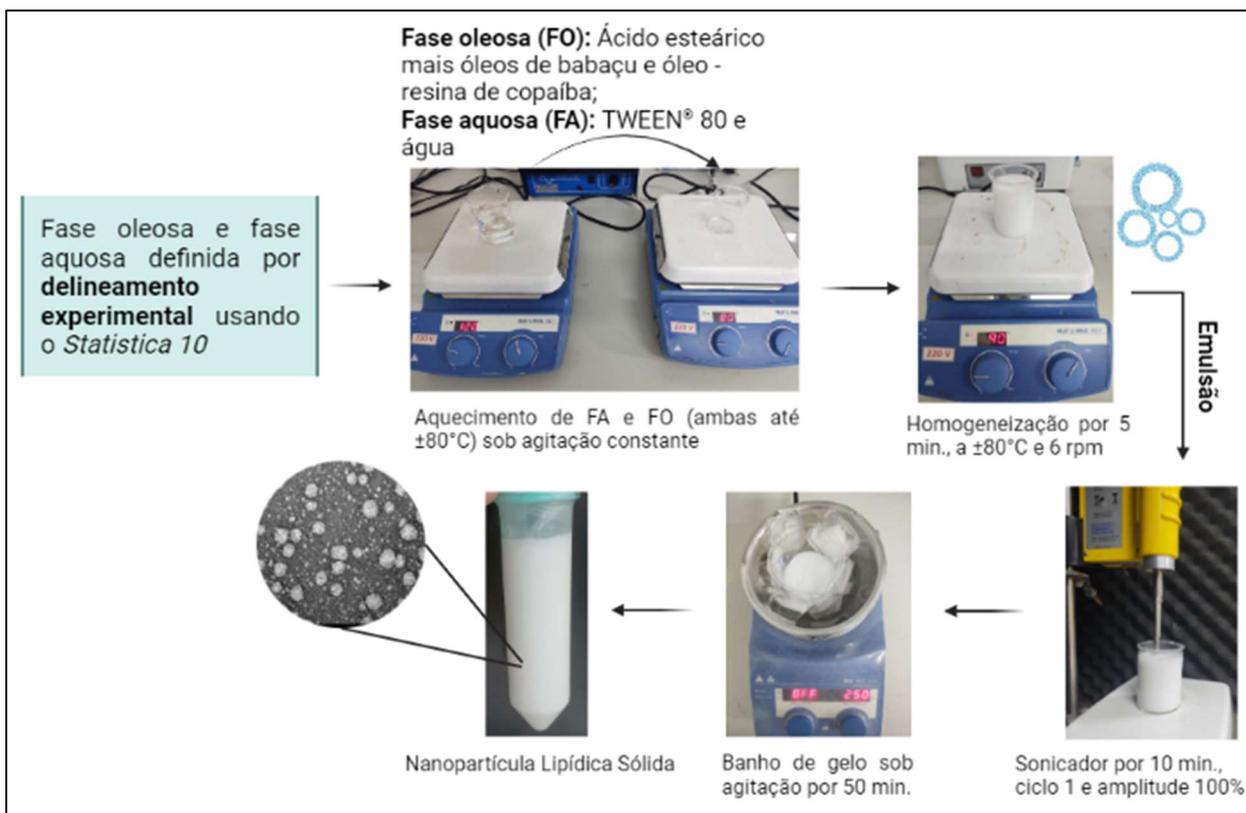
Pressão; fluxo da coluna: 1,83 mL/min; razão de split: 1:200. Já o gradiente de temperatura foram: 30°C por 1 minuto (0 a 1 minuto de análise); aquecimento de 30 a 150°C a uma taxa de 20°C por minuto (1 a 7 minutos de análise); mantido 150°C por 3 minutos (7 a 10 minutos de análise); aquecimento de 150 a 300°C a uma taxa de 25°C por minuto (10 a 16 minutos de análise); mantido a 300°C por 5 minutos (16 a 21 minutos de análise); tempo total de análise: 21 minutos.

Os parâmetros Massas (MS) foram: temperatura da fonte (240 °C); temperatura da interface (250 °C); período de análise (3 a 21 min.). Modo de aquisição: scan; tempo do evento em segundos (0,3). O detector quadrupolo foi operado em um modo de ionização de elétrons com uma faixa de massa analisada de 50–300 m/z.

#### **4.2.3. Desenvolvimento das nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba**

As nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba, denominada NPL-OB-OC, foram produzidas usando o método de emulsificação-ultrasonicação (YAGOUBI *et al.*, 2017, PRADO *et al.*, 2020, SANTOS *et al.*, 2022, FILIPPO *et al.*, 2022) com algumas modificações.

Na fase oleosa (FO), ácido esteárico (4 mg) foi aquecido e fundido a  $\pm 80$  °C usando um agitador magnético com aquecimento (IKA® C-MAG HS 7). Separadamente, preparou-se a fase aquosa (FA), onde uma solução de polissorbato 80 (Tween 80®) (2,5 g) em água foi aquecida a  $\pm 80$  °C. Momentos antes de verter a FA sobre FO, os ativos óleo de babaçu (OB) (1 g) e óleo-resina de copaíba (OC) (1g) foram dissolvidos no ácido esteárico fundido para formar o complexo ácido esteárico – óleos (babaçu e copaíba). Após verter FA sobre FO, a solução foi mantida a uma temperatura de  $\pm 80$  °C por 5 min sob agitação magnética. A mistura resultante foi levada ao Processador ultrassônico (UP100H, Hielscher®) de 100 W e 30 kHz com amplitude 100% e ciclo 1 por 10 min, seguido por resfriamento em banho de gelo por 50 min. A Figura 11 ilustra o procedimento usado para desenvolver as nanopartículas lipídicas sólidas.



**Figura 11** - Fluxograma do preparo das nanopartículas lipídicas sólidas (NPLSs).

**Fonte:** Próprio autor.

Para o desenvolvimento das NPL-OB-OC, foram conduzidas tentativas iniciais (forma aleatória), onde foram testadas variadas proporções dos componentes (lipídeo, tensoativos e co-tensoativos). Todos os ingredientes utilizados foram adquiridos comercialmente e atendem aos padrões farmacêuticos de segurança. Lipídios e tensoativos empregados no desenvolvimento dos NPLs devem estar de acordo com as diretrizes da GRAS (*Generally Recognized as Safe*), além de serem reconhecidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) (CHAUDHURI *et al.*, 2022). A composição detalhada das NPLSs estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Composição das nanopartículas lipídicas sólidas desenvolvidas.

NPLS	LIPÍDIO ATIVO			TENSOATIVOS			Co-Tensoativo		Água (qsp)
	AE	OB	OC	T80	T20	S80	DMAB	QTZ 1%	
F1	4	2		5					100

F2	4	1	1	1,25	1,25			100
F3	4			1,25	1,25			100
F4	8	1	1	1,25	1,25			100
F5	4	1	1	2,50				100
F6	4	1	1	1,23	1,27			100
F7	4	1	1	2,23		0,3		100
F8	4	1	1	5				100
F9	2	1	1	2,10		0,4		100
F10	2			2,10		0,4		100
<sup>1</sup> F11	4			2,50				100
F12	4	1	1			0,8	1,7	100
F13	4	1	1	2,50			0,1	100
F14	4	1	1			2,5		100
F15	4	1	1	2,50			0,02	100
F16	4	1	1	2,50			1	100
F17	4	1	1	2,50			1	100
F18	4	1	1	2,5			10	100
F19	4	1	1	2,5			3	100

NPLS – Nanopartícula Lipídica Sólida; DMAB - Didodecyldimethylammonium Bromide; QTZ – Quitosana; qsp – quantidade suficiente para; AE: Ácido esteárico; T20:Tween 20<sup>®</sup>; T80: Tween 80<sup>®</sup>; S80: Span 80<sup>®</sup>; <sup>1</sup>NPL vazia da F5; F15 e F16 = F5 + DMAB; F17, F18 e F19 = F5 + QTZ.

**Fonte:** Próprio autor.

O preparo de NPL-OB, NPL-OC e NPL-V seguiram o mesmo procedimento utilizado para preparar NPL-OB-OC, levando em consideração a proporção de OB e OC mostrada na Tabela 3. As NPL-OB e NPL-OC foram destinadas exclusivamente aos estudos da avaliação do referido efeito sinérgico da associação OB e OC. NPL-V foi empregada como controle nos estudos de caracterização e citotoxicidade.

**Tabela 3** - Nomenclatura das nanopartículas lipídicas sólidas quanto a presença dos óleos de babaçu e copaíba e a proporção de cada óleo nanoencapsulado.

Tipos de NPL	Óleos	Massa (g)
NPL-OB-OC	Babaçu + copaíba	1:1
NPL-OB	Babaçu	1:0

NPL-OC	Copaíba	0:1
NPL-V	Sem óleos	0:0

#### 4.2.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental ou *Design of Experiment* (DoE), é uma técnica estatística usada na triagem e otimização de variáveis (RAMPADO; PEER, 2023), e tem como finalidade obter conhecimento suficiente sobre o processo de produção de nanossistemas de entrega e, assim, conceber produtos de alta qualidade (LUIZ *et al.*, 2021).

A partir da melhor nanopartícula (Tabela 2) na fase de triagem, foi realizado o planejamento fatorial do tipo  $2^2$  com ponto central foi elaborado para estudar o efeito da concentração de ácido esteárico e Tween 80<sup>®</sup> no tamanho hidrodinâmico e no índice de polidispersão (PDI) das NPLs. As variáveis independentes foram a concentração de ácido esteárico (%) e a concentração de Tween 80<sup>®</sup> (%) enquanto os valores experimentais de tamanho e PDI das NPLs no dia zero foram as variáveis resposta. A análise de variância (ANOVA) foi usada para determinar a significância estatística das variáveis independentes em relação a tamanho e PDI, com um nível de confiança de 95%. Os modelos matemáticos linear e quadrático foram ajustados aos dados experimentais para verificar qual deles é mais representativo e preditivo. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e análise foi realizada no software Statistica 10. Tabela 4 mostra os valores decodificados das variáveis independentes.

**Tabela 4** - Delineamento experimental  $2^2$  com ponto central.

Fatores independentes	Nível mínimo	Ponto central	Nível máximo
Ácido esteárico (% em peso)	2	4	6
Tween 80 <sup>®</sup> (% em peso)	0	2,5	5

Fonte: Próprio autor.

#### 4.2.5. Caracterização das nanopartículas partículas lipídicas

Os valores de tamanho de partícula e PDI foram medidos com auxílio da técnica de espalhamento de luz dinâmico (Malvern Instruments®, Zetasizer Nano® S90) (Figura 12). Para isto, a melhor NPL do delineamento experimental foi selecionada para os estudos de caracterização. Assim, NPL-OB-OC e NPL-V foram diluídas em uma proporção de 1:100 em água destilada. As medições foram conduzidas em um intervalo de 1h durante 0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias sob duas condições de temperaturas: temperatura ambiente ( $25 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ) e temperatura de geladeira ( $8 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), TA e TG, respectivamente. A nomenclatura utilizada para todas as nanopartículas investigadas neste trabalho estão listadas na Tabela 5.



**Figura 12** - Equipamento Zetasizer Nano® S90 (Malvern Instruments®) para determinação do tamanho médio e o índice de polidispersividade (PDI).

**Fonte:** Próprio autor.

**Tabela 5** - Nomenclatura, temperatura e tempo análise das nanopartículas lipídicas sólidas usadas durante o estudo de estabilidade.

<b>Nanopartículas</b>	<b>Temperatura</b>	<b>TEMPO</b>
NPL-OB-OC-T <sub>A</sub>	± 25 °C	
NPL-OB-OC-T <sub>G</sub>	± 8 °C	60 dias
NPL-V-T <sub>A</sub>	± 25 °C	
NPL-V-T <sub>G</sub>	± 8 °C	

O potencial zeta (PZ) das NPLs foi avaliado por meio do equipamento ZetaPALS® da Brookhaven. Antes da análise, as formulações foram devidamente diluídas na proporção de 1:16 (ou seja, 100 µL da formulação para 1.5 mL de água destilada) com o objetivo de minimizar a opacidade das amostras. Utilizou-se 1.5 mL da solução diluída, que foi inserida em cubetas de poliestireno com quatro faces polidas e lidas.

#### **4.2.5.1. Microscopia Eletrônica de Transmitância**

As características morfológicas da NPLs foram avaliadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) na Unidade de Microscopia Avançada do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO/UFRJ). Para o preparo das amostras, um volume de 330µl (1:30) de formulação foi colocado em uma grade de cobre com malha 300 e coberta com Formvar/filme de carbono (região fosca) por 2 min. Em seguida, o excesso de formulação foi removido com auxílio de um papel de filtro. Para o contraste de fundo, 10µl de uma solução de acetato de uranila na concentração de 5% (p/v) foi colocada nessa grade por 2 min. Em seguida, o excesso dessa solução foi removido com auxílio de um papel de filtro. Após o preparo, a grade foi observada em MET pelo equipamento FeiTecnaí® Spirit.

## 4.2.6. Eficiência de encapsulação

### 4.2.6.1. Curva Padrão

As NPLs contendo a associação de OB e OC foram desintegradas em metanol de pureza analítica (PA), permitindo a exposição de OB e OC. Este procedimento envolveu a dissolução de 2.5 mL de NPLs em 30 mL de metanol, seguida pela aplicação de rotaevaporador para a remoção do metanol. Após a completa evaporação do metanol, deu-se início à etapa de derivatização da amostra resultante, contendo OB e OC seguindo o preconizado por Abreu *et al.*, (2018).

Posteriormente, a amostra foi diluída em acetato de etila em uma razão de 10.000 vezes e adicionada de pentadecanoato de metila (Sigma Aldrich, EUA) como padrão interno, conforme descrito por Ribani *et al.*, (2004). Duas curvas de calibração foram geradas a partir da solução com a mistura de marcadores, ácido láurico (Sigma Aldrich, EUA) foi utilizado para OB e  $\beta$ -cariofileno (Sigma Aldrich, EUA) para OC com concentração de 4509  $\mu\text{g/mL}$ , diluída em 7 concentrações (50, 150, 200, 300, 400, 500 e 650  $\mu\text{g/mL}$ ), todas preparadas em triplicata.

Com base nas áreas dos picos obtidas das concentrações mencionadas, foram desenvolvidas duas curvas de calibração, cada uma com sua equação linear correspondente. A primeira equação (Equação 1) refere-se ao ácido láurico, enquanto a segunda equação (Equação 2) está associada ao  $\beta$ -cariofileno. A obtenção dessas equações foi realizada por meio de uma regressão linear, estabelecendo a relação entre as áreas dos picos e as concentrações dos marcadores dos óleos.

$$Y_1 = 0.0011x + 0.0061, \text{ onde } R^2 = 0.9919 \quad \text{Equação 1}$$

$$Y_2 = 0.00003x + 0.0007, \text{ onde } R^2 = 0.9947 \quad \text{Equação 2}$$

Onde,  $Y_1$  é concentração de ácido láurico; e  $Y_2$  é a concentração de  $\beta$ -cariofileno.

Para determinar a EE% dos óleos de OB e OC com base em seus respectivos marcadores, foi utilizada a Equação 3:

$$EE (\%) = [CDM/CTM] \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde EE representa a eficiência de encapsulação dos óleos, CDM é a concentração determinada do marcador encontrado na nanopartícula lipídica, e CTM é a concentração teórica do marcador na nanopartícula lipídica.

#### **4.2.7. Cultivo celular**

As linhagens celulares DU-145 (BCRJ-0078) e PC-3 (BCRJ-0269) foram empregadas no teste *in vitro*. Ambas as linhagens DU-145 e PC-3 foram adquiridas do banco de células do Rio de Janeiro (Brazil). As células de câncer de próstata humano DU-145 foram cultivadas em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 1% de estreptomicina e anfotericina. Por sua vez, as células PC-3 foram mantidas em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) suplementado com 10% de SFB. As culturas foram incubadas em estufa umidificada com uma atmosfera de 95% de ar e 5% de CO<sub>2</sub>. A escolha dessas linhagens se baseou em sua representatividade dos principais aspectos do câncer de próstata humano independente de androgênio e sua progressão (CEVIK *et al.*, 2019).

Os ensaios envolvendo as células da linhagem DU-145 e PC-3 foram realizados no Laboratório de Cultura Celular (LabCel) vinculado ao Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) do Departamento de Fármacos e Medicamentos (Faculdade de Farmácia - UFRJ).

#### **4.2.8. Preparo da NPL-OB-OC para os estudos de citotoxicidade**

A NPL que se destacou nos estudos de caracterização, foi preparado um lote para os estudos de citotoxicidade. Assim, preparou-se NPL com óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba (NPL-OB-OC), nanopartícula lipídica sólida de óleo de babaçu (NPL-OB), nanopartícula lipídica sólida de óleo-resina de copaíba (NPL-OC) e nanopartícula lipídica sólida vazia (NPL-V).

#### 4.2.8.1. Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

A determinação da citotoxicidade foi realizada pela avaliação da viabilidade celular pelo ensaio de redução de brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazólio] (MTT). Nesse método, a viabilidade celular foi determinada pela capacidade da enzima succinato desidrogenase mitocondrial reduzir o MTT, formando cristais insolúveis de formazan em mitocôndrias de células viáveis (RISS *et al.*, 2016).

Um volume de 200  $\mu$ L de meio de cultivo de células DU-145 ou PC-3 foram transferidas para uma placa de 96 poços, na densidade de  $3,0 \times 10^4$  células/poço. As culturas foram mantidas em estufa umidificada, 95% ar atmosférico e 5% de CO<sub>2</sub>. Na etapa seguinte, o meio de cultura de cada linhagem celular foi removido. As células foram incubadas com as NPL-OB-OC, NPL-OB, NPL-OC, NPL-V e óleos (solubilizados em DMEM ou RPMI com 0,5% de Tween 80<sup>®</sup>, respectivamente), nas concentrações de 10, 30, 40, 80  $\mu$ g/mL (n = 3).

A droga livre flutamida (FTM) foi preparada a partir de uma solução de DMSO PA, em seguida foram realizadas diluições dessa solução em meio de cultivo para obtenção de uma solução de FTM 25  $\mu$ M com uma concentração de DMSO 1%. Essa solução foi utilizada como controle de ação antineoplásica, pois FTM é um fármaco usado no tratamento de câncer de próstata (MIRSAFAEI; VARSHOSAZ, 2020).

Após 24h de incubação, o meio foi substituído por 100  $\mu$ L de MTT em PBS pH = 7,4 na concentração de 0,5 mg/mL por poço. A placa foi coberta com papel alumínio e encaminhadas novamente a estufa por um período de 3 h. Em seguida, a solução de MTT foi removida e então adicionou-se 100  $\mu$ L de dimetilsufóxido (DMSO) para romper a membrana celular e solubilizar os cristais de formazan formados, gerando uma coloração violeta com alta ou baixa intensidade conforme o grau de viabilidade celular. A leitura dos poços foi realizada na Microplate Absorbance Reader iMARK, a 570 nm após agitação vigorosa durante 30 segundos.

Com os valores de absorbância obtidos, calculou-se a porcentagem de viabilidade celular para cada amostra. Os dados foram apresentados como média  $\pm$  DM.

#### **4.2.9. Avaliação Estatística**

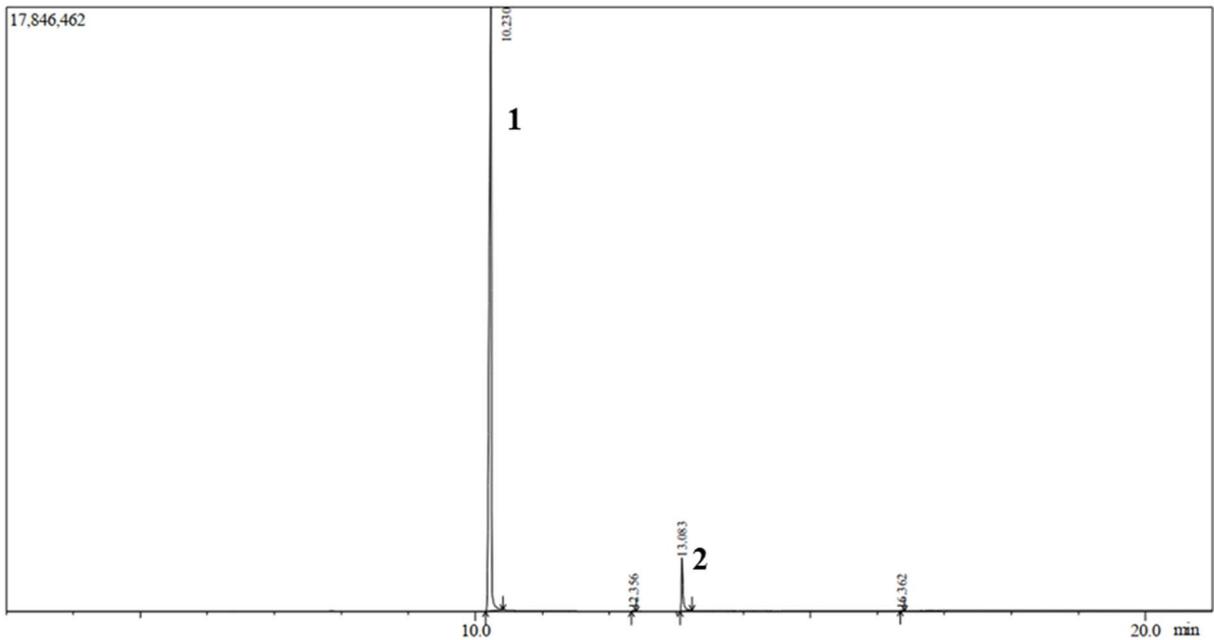
Para a comparação entre grupos, foram realizadas análises de variância de uma via (one-way ANOVA) e de duas vias (two-way ANOVA), seguidas pelo teste pós-Tukey para avaliações envolvendo 3 ou mais grupos experimentais. Valores de  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  e  $p < 0.0001$  foram considerados estatisticamente significativos e foram representados nas figuras por \*, \*\*, \*\*\* e \*\*\*\*, respectivamente. Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism® 9 (GraphPad Software, Version 9.0.0 (121), Califórnia).

## 5. Resultados e discussão

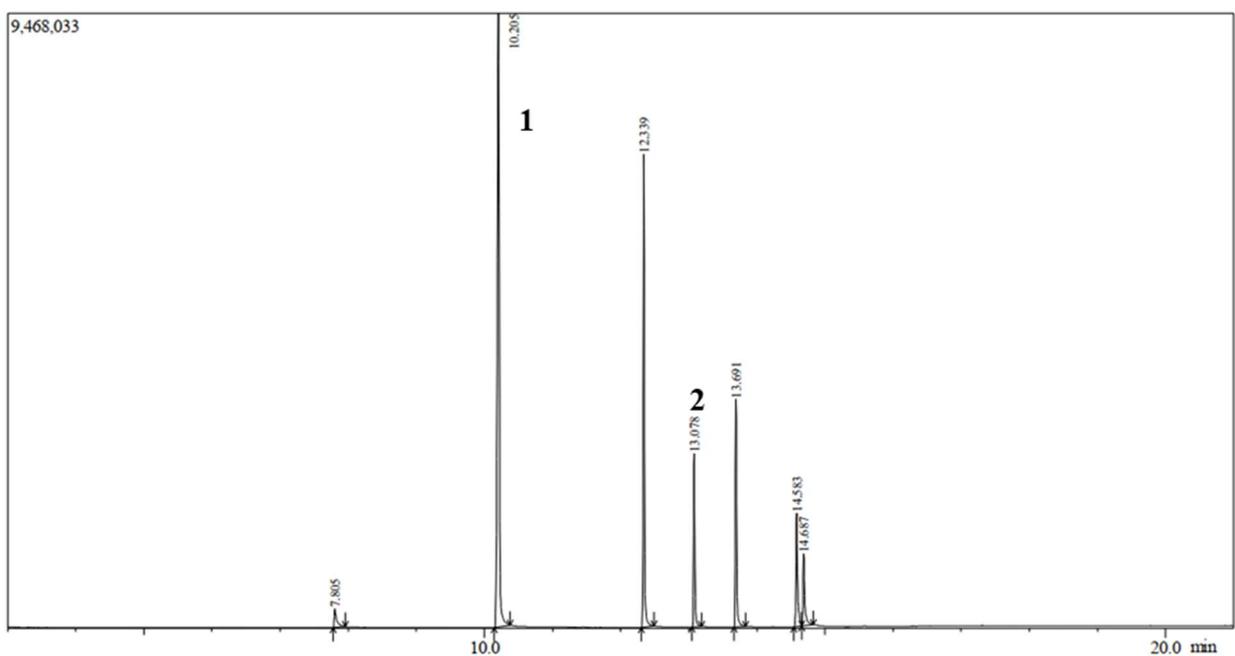
### 5.1. Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas dos óleos babaçu e copaíba

A triagem dos compostos majoritários dos óleos de copaíba e babaçu foi realizado por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Assim a partir dos tempos de retenção (TR) identificados nos cromatogramas realizou-se a confirmação dos óleos. De acordo com a Figura 13 é possível observar o cromatograma do marcador ácido láurico (TR = 10.23 min), ácido graxo majoritário presente no óleo de babaçu, e na Figura 14, o cromatograma do óleo de babaçu, mostrando a presença do ácido láurico (10.21 min). O uso do ácido láurico como marcador para a triagem do óleo de babaçu já está bem descrito (SANTOS *et al.*, 2013, REIS *et al.*, 2017, MELO *et al.*, 2019, SILVA *et al.*, 2020).

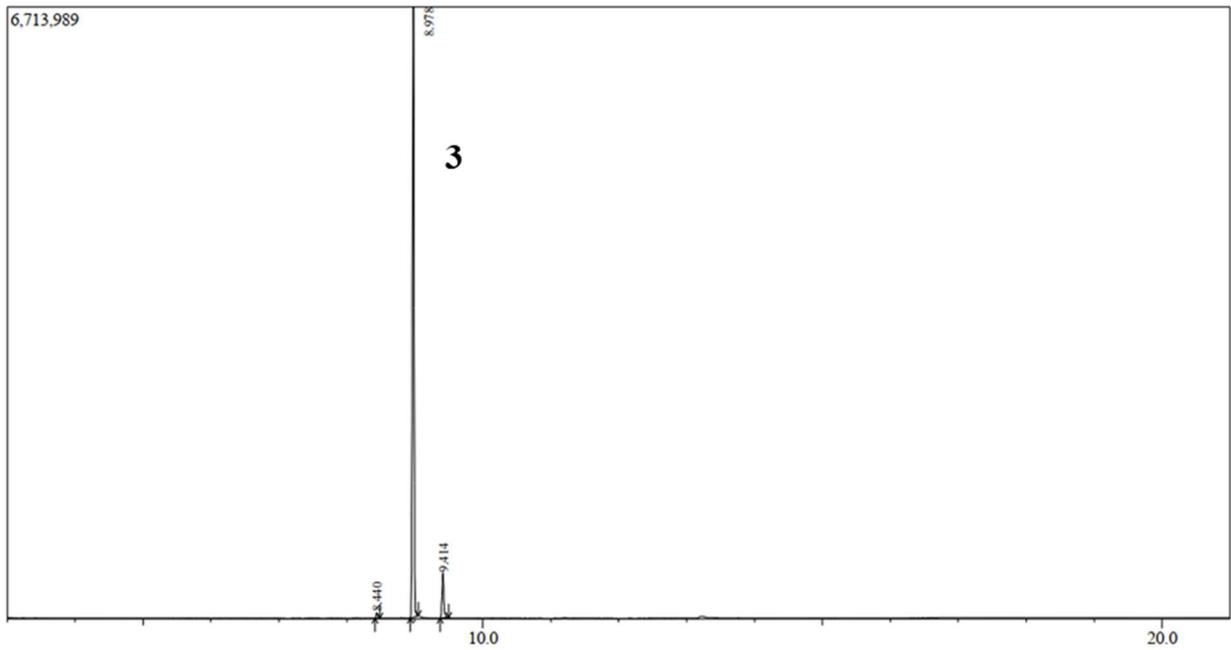
A Figura 15 mostra o cromatograma do marcador  $\beta$ -cariofileno (TR = 8.98 min), sesquiterpeno presente no óleo-resina de copaíba (BORGES *et al.*, 2013, LIMA *et al.*, 2020). Já a Figura 16, apresenta o cromatograma da amostra do óleo-resina de copaíba com a presença do  $\beta$ -cariofileno (TR = 8.97 min), componente majoritário do óleo (AMES-SIBIN *et al.*, 2018, URASAKI *et al.*, 2020). O trabalho conduzido por Abreu *et al.*, (2018), emprega CG-EM para avaliar os teores de ácido graxos e sesquiterpenos em um nanossistema contendo óleo de babaçu e copaíba. Essa pesquisa corrobora com nossos achados, uma vez que identifica um TR semelhante ao observado em nosso próprio estudo. Dessa forma, os resultados da triagem reforçam a idoneidade dos óleos.



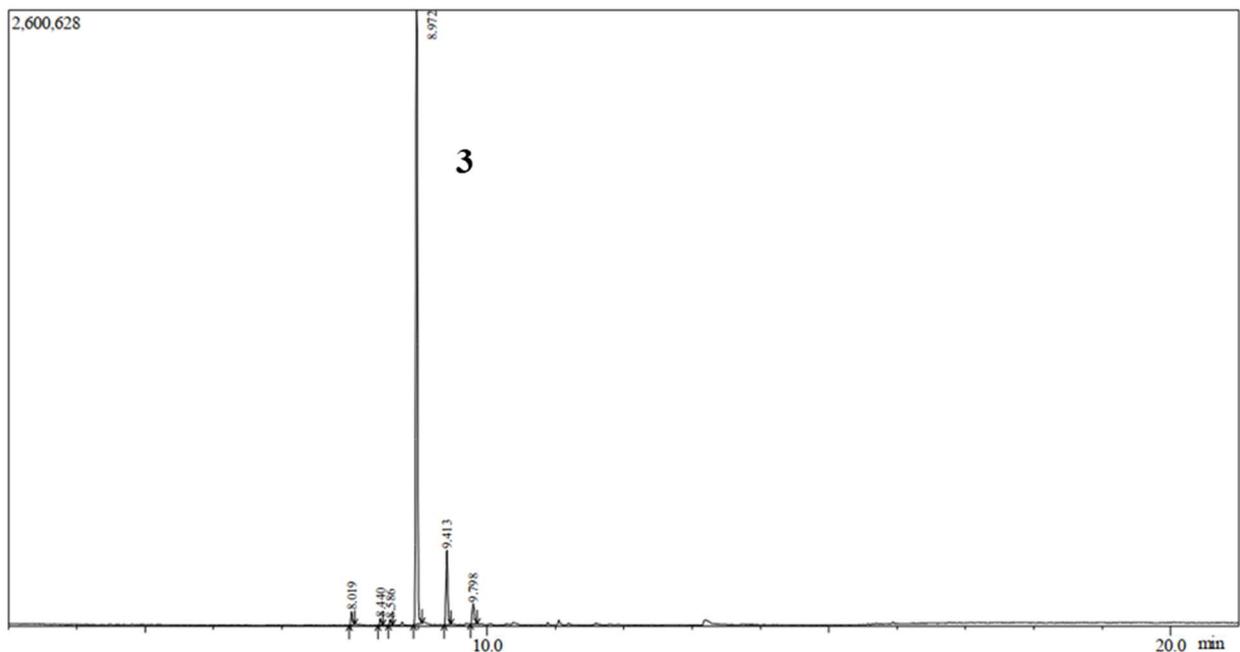
**Figura 13** - Cromatograma do ácido láurico, ácido graxo, marcador químico para a identificação do óleo de babaçu. Onde, 1 é o pico do ácido láurico (marcador químico externo) adquirido comercialmente; 2, pico do pentadecanoato de metila (padrão interno), usado para correção das áreas dos picos.



**Figura 14** - Cromatograma do óleo de babaçu (OB). Onde, 1 é o pico do ácido láurico identificado na amostra de óleo de babaçu; 2, pico do pentadecanoato de metila (padrão interno), usado para correção das áreas dos picos.



**Figura 15** - Cromatograma do  $\beta$  – cariofileno, sesquiterpeno, marcador químico para a identificação do óleo-resina de copaíba. Onde 3 é o pico do  $\beta$  – cariofileno (marcador químico externo) usado comercialmente.



**Figura 16** - Cromatograma do óleo-resina de copaíba. Onde 3 é o pico de  $\beta$  – cariofileno, identificado na amostra óleo-resina de copaíba.

5.2. Desenvolvimento das nanopartículas lipídica sólidas de óleo de babaçu e óleo-resina de copaíba

Os resultados das desenvolvidos 19 nanopartículas lipídicas sólidas (F1 a F19) desenvolvidas de forma aleatória durante a fase de triagem estão descritas na Tabela 4.

**Tabela 6** - Resultados do tamanho e PDI das nanopartículas lipídicas sólidas de óleo de babaçu e copaíba desenvolvidos.

NPLS	Tamanho (média ± DP) (nm)	PDI (média ± DP)
F1	314,8 ± 13,66	0,261 ± 0,038
F2	253,2 ± 9,35	0,340 ± 0,027
F3	504,3 ± 37,11	0,924 ± 0,089
F4	957,5 ± 56,56	0,456 ± 0,083
F5	196,40 ± 1,15	0,265 ± 0,016
F6	251,1 ± 1,06	0,242 ± 0,022
F7	267,2 ± 5,30	0,295 ± 0,022
F8	277,2 ± 1,18	0,317 ± 0,040
F9	157,9 ± 2,88	0,242 ± 0,010
F10	153,5 ± 3,18	0,241 ± 0,013
<sup>1</sup> F11	448,4 ± 9,75	0,238 ± 0,052
F12	187,0 ± 2,17	0,366 ± 0,034
F13	422,6 ± 5,61	0,522 ± 0,051
F14	218,7 ± 9,14	0,415 ± 0,011
F15	308,0 ± 25,01	0,230 ± 0,003
F16	304,9 ± 6,8	0,233 ± 0,018
F17	272,8 ± 2,08	0,210 ± 0,043
F18	1722,0 ± 648,4	0,985 ± 0,026
F19	298,2 ± 3,96	0,406 ± 0,013

NPLS: Nanopartícula Lipídica Sólida; <sup>1</sup>NPL vazia da F5; Resultados são expressos em média ± desvio médio (±DM).

**Fonte:** Próprio autor.

O ácido esteárico foi estrategicamente escolhido como lipídeo sólido da matriz lipídica para a confecção de todas as NPLSs. Reconhecido por suas propriedades antioxidantes, o ácido esteárico é um excelente material para uso em NPLSs. E por possuir ponto de fusão de 69,6 °C, é uma característica particularmente relevante, uma vez que o ponto de fusão superior à temperatura do corpo humano é uma propriedade essencial dos lipídeos sólidos empregados no desenvolvimento das NPLSs (KUMAR; RANDHAWA 2015, KHATAMIAN *et al.*, 2023).

Os ácidos graxos saturados de cadeia de 14, 16 e 18 carbonos se destacam pelo uso farmacêutico, a exemplo o ácido esteárico, que compreende a maior parte dos ácidos graxos nos tecidos animais e na maioria das dietas animais (XIE *et al.*, 2011, SOHAIB *et al.*, 2022). Dessa forma, a utilização de lipídios sólidos proporciona uma vantagem adicional no tamanho uniforme da partícula, maior área de superfície e carga de droga (SOHAIB *et al.*, 2022).

O emprego de um ou mais tensoativos no desenvolvimento NPLs teve a finalidade de reduzir a tensão superficial e estabilizar a fase gotícula durante o processo de emulsificação (SHARMA *et al.*, 2016). Assim, os tensoativos tem a função de reduzir a tensão interfacial entre as fases oleosa e aquosa no sistema nano, facilitando a formação de NPLs estáveis (DUAN *et al.*, 2020), como por exemplo Tween 80®, tensoativo não iônico que tem sua segurança bem estabelecida na literatura (DOKTOROVOVÁ *et al.*, 2016, BASSO *et al.*, 2022). Normalmente as NPLs são compostos por 0,1 a 30% de lipídeos sólidos e 0,5 a 30% de tensoativos ou mistura de tensoativos (PURI *et al.*, 2009). Segundo Samimi *et al.*, (2019) na estabilização das NPLs, a quantidade de tensoativo utilizada pode variar de 0,5 a 5% (p/p). Essas informações corroboram com as quantidades utilizada nesse trabalho, durante o método de preparo.

Já a utilização de co-tensoativos no estudo teve a finalidade de melhorar as propriedades (tamanho e PDI) da NPL. A inclusão de co-tensoativos, pode reduzir a quantidade de tensoativo individual, o que minimiza potenciais problemas de toxicidade. Outro motivo é que podem reduzir ainda mais a tensão interfacial e aumentar a estabilidade dos nanossistemas (GERMAN-CORTÉS *et al.*, 2023). A combinação do efeito de uma mistura de tensoativos e co-tensoativos pode ser

benéfica, pois pode alterar as propriedades físico-químicas das nanopartículas (SHARMA *et al.*, 2016).

Após essa triagem inicial, F5 obteve os melhores resultados para tamanho e PDI (196,40 nm  $\pm$  1,15 e 0,265  $\pm$  0,016), com F11 (vazia da F5) (448,4 nm  $\pm$  9,75 e 0,238  $\pm$  0,052), avaliados 50 min depois de formuladas. No entanto, mesmo F9 apresentando tamanho e PDI dentro de uma faixa pretendida (157,9 nm  $\pm$  2,88 e 0,242  $\pm$  0,010) e F10 (vazia da F9) (153,5 nm  $\pm$  3,18 e 0,241  $\pm$  0,013), 50 min depois de formulada. Após 7 (sete) dias, as NPLs não se mantiveram estáveis, provavelmente, pela ocorrência de agregação, verificado por um aumento do tamanho e PDI em F9 (552,2 nm  $\pm$  51,24; 0,721  $\pm$  0,018 à  $\pm$  25°C e 393,5 nm  $\pm$  17,39; 0,456  $\pm$  0,044 à  $\pm$  8 °C). A partir dos resultados excelentes da F5 durante a triagem, foi realizado o DoE, estratégia que visa melhorar e otimizar com maior eficiência o desenvolvimento de NPLs como sistemas de liberação de fármacos (LUIZ *et al.*, 2021).

### **5.2.1. Delineamento experimental**

O controle dos valores de tamanho hidrodinâmico e PDI pode evitar que as NPLSs fiquem retidas no baço, cujas aberturas entre as células variam entre 200 e 500 nm (BLANCO; SHEN; FERRARI, 2015). Ademais, a busca pela otimização desses parâmetros objetiva explorar as propriedades da angiogênese manifestadas nas células neoplásicas, as quais promovem a formação de vasos sanguíneos dotados de aberturas com dimensões compreendidas entre 300 e 900 nm (JAGDALE *et al.*, 2023).

Os valores de PDI, por sua vez, constituem uma métrica que quantifica a distribuição de tamanhos. Uma baixa dispersão (PDI próximo de 0) indica que as partículas exibem tamanhos mais uniformes, enquanto um valor de PDI mais elevado sugere uma variabilidade na distribuição de tamanhos (TAKECHI-HARAYA *et al.*, 2022). A manutenção de um baixo valor de PDI é imperativo para assegurar a estabilidade das propriedades das nanopartículas lipídicas sólidas (DANAEI *et al.*, 2018). Desta forma, o efeito do ácido esteárico (matriz lipídica) e do Tween® 80 (tensoativo não iônico) nos valores de tamanho hidrodinâmico e PDI foram

investigados a partir de NPLSs contendo OB e OC na proporção 1:1, como sugerido pelo delineamento experimental (2<sup>2</sup> com ponto central), ver Tabela 3.

Com base nesses resultados, ao analisar as NPLS 1 e 2, torna-se claro que o ácido esteárico exerce um impacto substancial nos valores de tamanho hidrodinâmico das NPLSs. Isso é evidenciado pelo aumento de sua concentração, que também resultou em aumentos nos valores de tamanho hidrodinâmico (242,8 ± 3,20 e 389,2 ± 64,70 para as NPLS 1 e 2, respectivamente). Por outro lado, também ficou evidente que a adição do Tween 80<sup>®</sup> acarretou uma diminuição dos valores de tamanho hidrodinâmico. Por exemplo, a NPLS 1 (sem Tween 80<sup>®</sup>) apresentou tamanho de partículas maior que a NPLS 3, na qual foi adicionado 5% de Tween 80<sup>®</sup> (%). O mesmo comportamento foi observado para as NPLS 2 e 4. Postula-se que o aumento na quantidade do tensoativo, reduz a tensão superficial na interface da fase aquosa e oleosa. Assim, a homogeneização das duas fases (ou seja, fase aquosa e oleosa) poderia facilitar a diminuição do tamanho das nanopartículas (DARABI *et al.*, 2022).

**Tabela 7** - Resultados de tamanho hidrodinâmico (nm) e PDI no dia D0 a partir do delineamento experimental.

NPLS	Ácido esteárico (%)	Tween 80 <sup>®</sup> (%)	Tamanho (nm)	PDI
1	2	0	242,8 ± 3,20	0,168 ± 0,010
2	6	0	389,2 ± 64,70	0,522 ± 0,139
3	2	5	98,0 ± 1,20	0,393 ± 0,026
4	6	5	259,7 ± 4,40	0,285 ± 0,008
5C	4	2,5	281,0 ± 3,63	0,251 ± 0,049
6C	4	2,5	331,9 ± 5,61	0,272 ± 0,026
7C	4	2,5	283,9 ± 4,42	0,251 ± 0,032

NPL: Nanopartícula Lipídica Sólida; C: Ponto central; Tween 80<sup>®</sup>: Polissorbato 80 e PDI: índice de polidispersividade

**Fonte:** Próprio autor.

Os modelos matemáticos linear e quadrático foram ajustados aos dados experimentais mostrados na Tabela 4. Os resultados destes ajustes estão mostrados na Tabela 8 e os ajustes mais representativos e preditivos foram escolhidos com base em três critérios: *i*) apresentar valor de p inferior a 0,05, *ii*) apresentar  $F_{\text{test}}$  superior a 5 ( $F_{\text{test}} > 5$ ) e *iii*) maiores valores de  $R^2$ . Portanto, a partir destes critérios, foi considerando que os modelos quadráticos e linear foram os mais representativos e preditivos para o tamanho hidrodinâmico e o PDI, respectivamente. As equações 1 e 2 representam a dependência dos valores de tamanho hidrodinâmico e PDI em função da quantidade de ácido esteárico e Tween 80<sup>®</sup>. Nestas equações, os coeficientes x e y correspondem as quantidades de ácido esteárico e Tween 80<sup>®</sup>, respectivamente. Todos os coeficientes foram estatisticamente significativos ao nível de confiança de 95%.

**Tabela 8** - Valores de p valor, teste F e  $R^2$  e valores de p obtidos do ajuste matemático dos modelos lineares e quadráticos para os dados experimentais da Tabela 5.

Variáveis resposta	Modelo Matemático	p valor	F teste	$R^2$
Tamanho	Linear	< 0,001	60,52	0,919
	Quadrático	< 0,001	63,14	0,922
PDI	Linear	0,002	16,72	0,800
	Quadrático	0,012	7,08	0,630

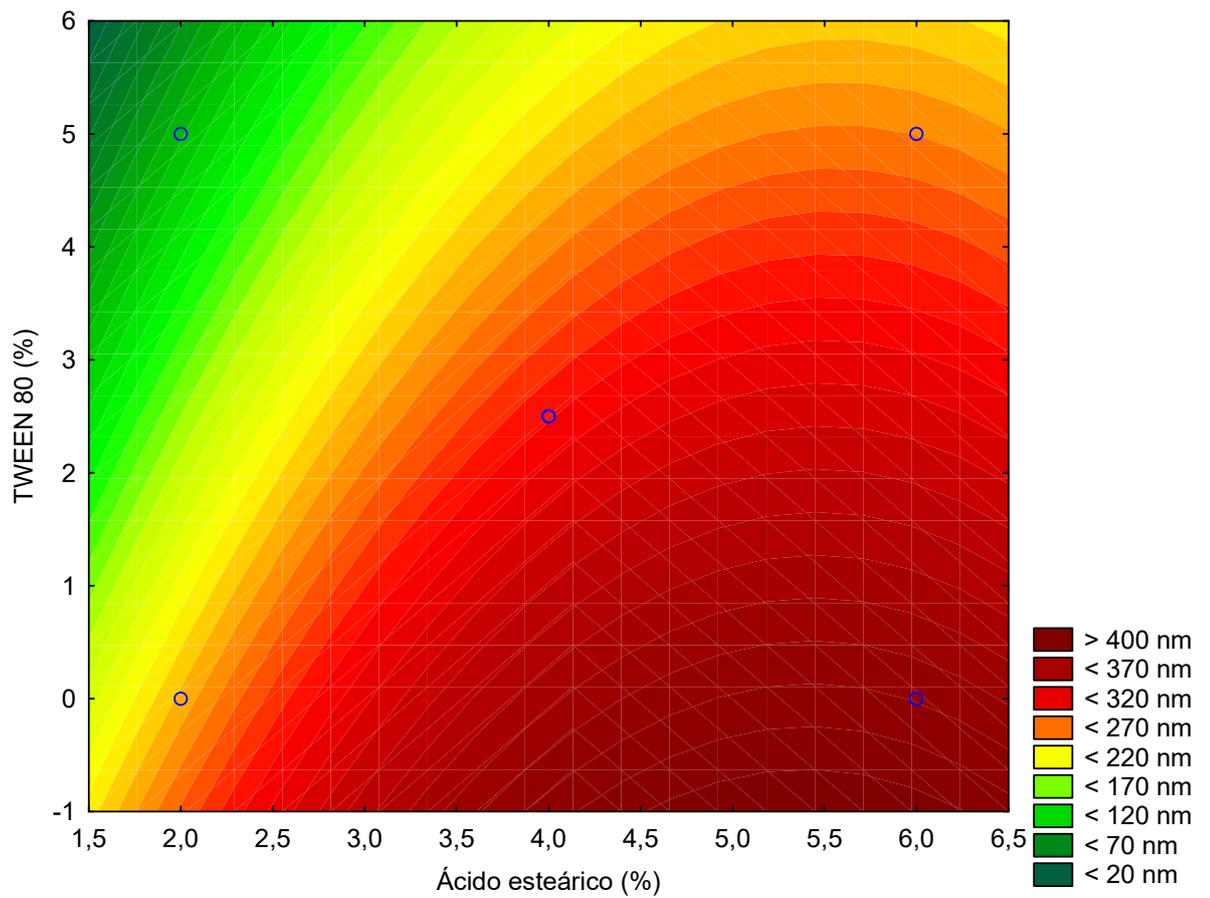
$$\text{Tamanho } (x, y) = 15,075 + 139,617 * x - 12,877 * x^2 - 30,49 * y + 0,765 * x * y + 0 \quad \text{Equação 1}$$

$$\text{PDI } (x, y) = 0,243 - 0,0795 * x + 0,021 * x^2 + 0,091 * y - 0,0231 * x * y + 0 \quad \text{Equação 2}$$

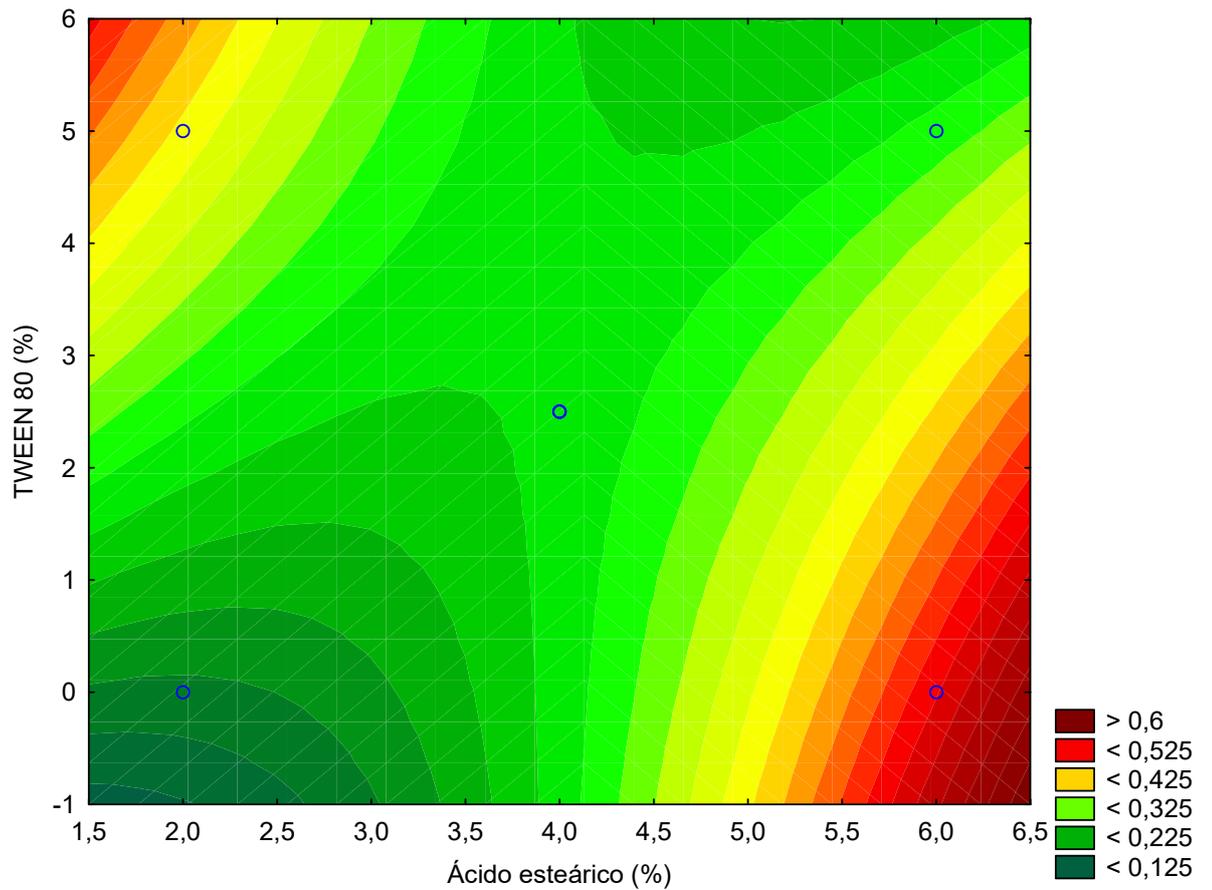
As Figuras 17 e 18 mostram gráficos de superfície de resposta 2D obtidos a partir das equações 1 e 2, respectivamente. Na Figura 17 é possível ver que os maiores valores de tamanho hidrodinâmico (> 400 nm) foi observado para NPLSs com maiores concentrações de ácido esteárico e com concentrações de Tween 80<sup>®</sup> iguais ou tendendo a zero. Por outro lado, os menores valores de PDI (< 0,125) foram

observados para nanosistemas com baixas concentrações de ácido esteárico (< 3.5%) e com concentrações de Tween 80® iguais ou tendendo a zero, ver Figura 18.

Portanto, a escolha específica dos NPLS 5C, 6C e 7C respaldada pelo planejamento experimental, onde a variação das quantidades de ácido esteárico e Tween 80® permitiu identificar padrões significativos em relação ao tamanho hidrodinâmico e PDI, no que desrespeita à estabilidade das NPLSs. A análise dos modelos matemáticos revelou insights cruciais, indicando que essas NPLs apresentam condições ideais para alcançar o tamanho desejado das partículas, ao mesmo tempo em que mantêm uma distribuição estável. A combinação específica de ácido esteárico e Tween 80® nestas NPLs destacam-se como a mais promissora para a continuação dos estudos, considerando a otimização conjunta do tamanho e do PDI. Assim, a seleção do 5C, 6C e 7C não é apenas uma escolha arbitrária, mas sim o resultado de uma análise criteriosa dos dados obtidos através do planejamento experimental.



**Figura 17** - Gráficos de superfície de resposta e suas projeções foram obtidos a partir do planejamento experimental para o tamanho hidrodinâmico das NPLSs.

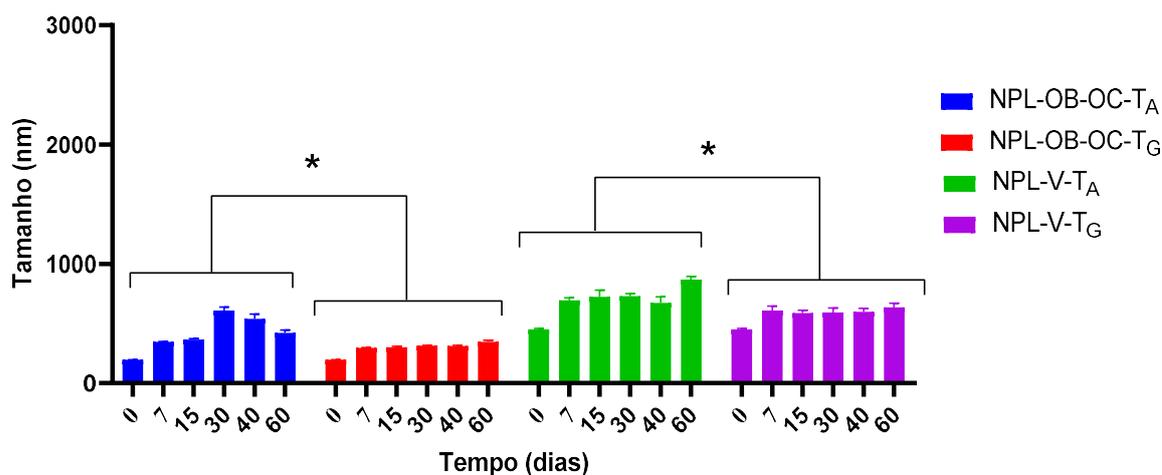


**Figura 18** - Gráficos de superfície de resposta e suas projeções foram obtidos a partir do planejamento experimental para índice de polidispersividade (PDI) das NPLSs.

### 5.3. Estudo de estabilidade

#### 5.3.1. Determinação do Tamanho da Partícula e Índice de Polidispersividade

Os valores de tamanho hidrodinâmico foram investigados em diferentes tempos (0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias nomeados como  $t_7$ ,  $t_{15}$ ,  $t_{30}$ ,  $t_{40}$  e  $t_{60}$ , respectivamente) e temperaturas ( $T_G = \pm 8^\circ\text{C}$  e  $T_A = \pm 25^\circ\text{C}$ ) para as NPL-OB-OC e NPL-V, ver Figura 19.



**Figura 19** - Avaliação do tamanho a partir do diâmetro (nm) durante o estudo de estabilidade durante 60 dias da NPL-OB-OC e NPL-V nas condições de temperatura ambiente (T<sub>A</sub>) (± 25°C) e refrigerado (T<sub>G</sub>) (± 8°C)).

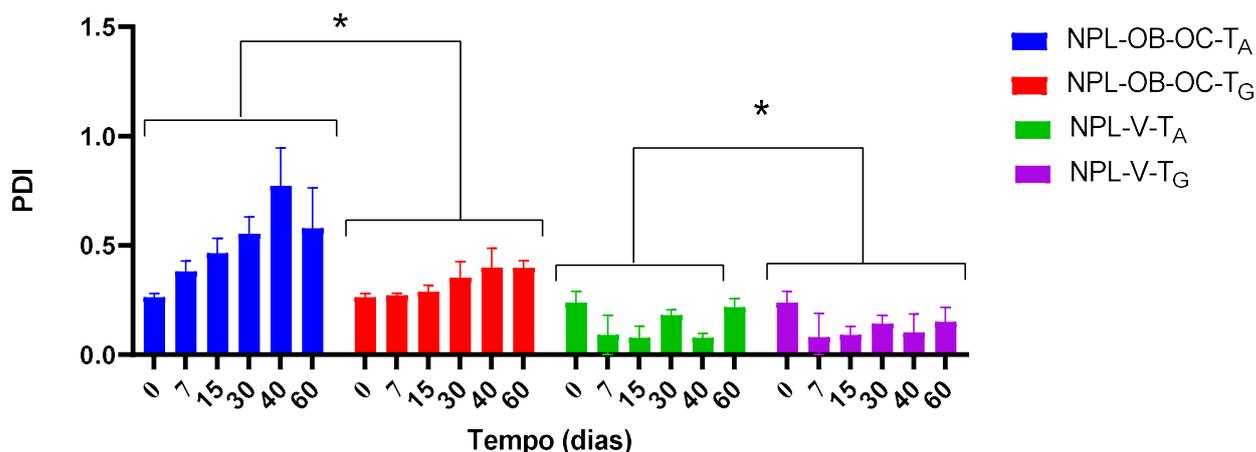
Ainda na Figura 19, foi observado uma variação significativa ( $p < 0,05$ ) no tamanho de NPL-OB-OC-T<sub>G</sub>-t<sub>7</sub> (295,93 nm ± 2,42) e NPL-OB-OC-T<sub>A</sub>-t<sub>7</sub> (345,5 nm ± 3,38) em relação a dia zero (t<sub>0</sub>) (196,4 nm ± 1,15). Provavelmente esse aumento se deva a reorganização dos componentes no núcleo lipídico (matriz lipídica). Já a partir dos dias subsequentes (t<sub>15</sub>, t<sub>30</sub>, t<sub>40</sub> e t<sub>60</sub>) o tamanho manteve um valor entre 301,47 ± 7,71 nm (t<sub>15</sub>) a 347,60 nm ± 9,51 (t<sub>60</sub>) em ambiente refrigerado (± 8°C). De forma geral, o tamanho da NPL-OB-OC-T<sub>G</sub> foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que NPL-OB-OC-T<sub>A</sub>. Nossos achados mostram que em ambiente refrigerado as NPLs foram mais estáveis, e corroboram com os estudos de Chaves *et al.*, (2018) e Nardi *et al.*, (2023). E NPLs com tamanho >400 nm não seria adequado para serem direcionadas para câncer, pois as fenestrações na vasculatura tumoral variam em tamanho de 380-780 nm (BLANCO; SHEN; FERRARI, 2015), impossibilitando a entrada dessas NPLs.

O tamanho das nanopartículas desenvolvidas em nosso estudo, também, favorecem que não sejam retidas pelo baço, que possui fendas intercelulares que variam de 200-500 nm (BLANCO; SHEN; FERRARI, 2015), e dificulta que partículas maiores não consigam passar por essas fendas e, portanto, são retidas, tornando-se uma das principais barreiras para a nanoterapêutica. Já NPL-OB-OC-T<sub>A</sub> mostrou uma faixa de tamanho adequado em t<sub>7</sub> (345,5 nm ± 3,38) e t<sub>15</sub> (364,60 nm ± 8,32), com

posterior aumento de tamanho nas análises subsequentes:  $t_{30}$  (609,07 nm  $\pm$  26,40),  $t_{40}$  (537,90 nm  $\pm$  40,84) e  $t_{60}$  (421,87 nm  $\pm$  22,30). A recristalização da fase lipídica é um fator que contribui para a diminuição da estabilidade das dispersões aquosas das NPLSs a longo prazo (DUAN *et al.*, 2020). Como resultado, o tensoativo não consegue reduzir a tensão interfacial entre a fase lipídica (oleosa) e aquosa a partir de  $t_{15}$  dias à  $\pm 25$  °C, provavelmente, resultando na aglomeração e aumento do tamanho das NPLSs. Portanto, os resultados para NPL-OB-OC- $T_G$  corroboram com os estudos de Peira *et al.*, (2016) que mostram que NPLSs com tamanho de 200 a 300 nm possuem ótima capacidade para retenção de compostos lipofílicos.

Uma variação significativa ( $p < 0,05$ ) no tamanho foi observado na NPL-OB-OC- $T_A$  em relação a NPL-V- $T_A$  e NPL-OB-OC- $T_G$  em relação a NPL-V- $T_G$ . Essa diminuição da NPL-OB-OC em relação a NPL-V, mostra que a incorporação dos óleos de babaçu e copaíba na matriz lipídica da F5 exerceu influência na diminuição do tamanho. A explicação se deve a influência da viscosidade da fase contínua (água) na NPL, que está reduzida em NPL-OB-OC. Dessa forma, o Tween 80<sup>®</sup> passa atuar no aumento da viscosidade da fase contínua. Esses achados estão de acordo com o preconizado no trabalho Steiner; Bunjes (2021), ao afirmar que a viscosidade ou densidade da fase contínua tem um efeito significativo no tamanho resultante das partículas que constituem as nanopartículas. De acordo com esses autores, o tamanho da partícula é inversamente proporcional à viscosidade ou densidade da fase contínua. Assim, o aumento da viscosidade da fase contínua e, com maior tensão de cisalhamento da nanopartícula, menores tamanhos de nanopartículas serão alcançados.

Os parâmetros de PDI foram analisados em diversos intervalos de tempo (0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias) e condições de temperatura ( $T_A = \pm 8$  °C e  $T_G = \pm 25$  °C) para as formulações NPL-OB-OC e NPL-V, ver Figura 20.



**Figura 20** - Avaliação da polidispersividade (PDI) durante o estudo de estabilidade durante 80 dias nas condições de temperatura ambiente ( $T_A$ ) ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ) e refrigeração ( $T_G$ ) ( $\pm 8^\circ\text{C}$ ).

Os movimento browniano das NPLs lipídicas em meio aquoso (SANTOS *et al.*, 2021) são captados pela técnica *Dynamic Light Scattering* (DLS). Assim, amostra é monodispersa (partículas com mesmo tamanho) se seu índice de polidispersividade (PDI) for menor que 0,1, moderadamente polidispersa se seu PDI for de 0,1 a 0,4 e polidispersa se seu PDI for maior que 0,4 (TAKECHI-HARAYA *et al.*, 2022).

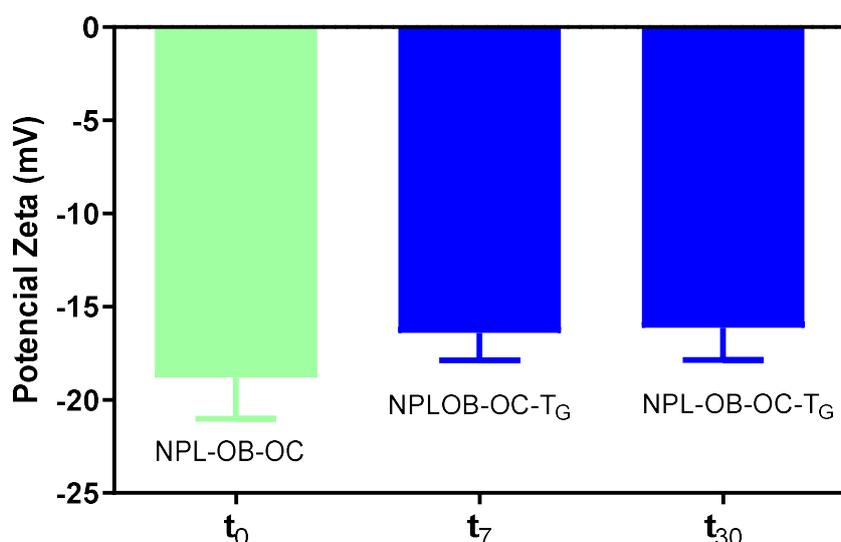
Para as NPL-OB-OC-T<sub>G</sub>, o PDI variou de  $0.265 \pm 0,015$  no  $t_0$  a  $0.398 \pm 0,033$  no  $t_{60}$ , mas sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Já NPL-OB-OC-T<sub>A</sub> mostra a partir do  $t_{15}$  um aumento significativo ( $p < 0,05$ ), característico de sistema polidisperso ( $> 0,4$ ). Esse resultado está em acordo com os valores de tamanho hidrodinâmico, que aumentou a partir de  $t_{15}$ . É possível observar diferença estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) do PDI entre os grupos NPL-OB-OC-T<sub>G</sub> e NPL-OB-OC-T<sub>A</sub> ao longo do tempo. Um valor de PDI aceitável deve ser igual ou inferior a 0,3, pois garante a homogênea e a distribuição de tamanhos das NPLs (DANAEI *et al.*, 2018).

Ainda na Figura 20, é possível observar NPL-V-T<sub>A</sub> e NPL-V-T<sub>G</sub> em uma faixa de PDI inferior a  $< 0,1$ . No entanto, esses resultados de PDI não se correlacionaram com os valores de tamanhos medidos a partir das NPL-V-T<sub>A</sub> e NPL-V-T<sub>G</sub>, com destaque para o tamanho de NPL-V-T<sub>A</sub> que supera 400 nm. É provável que o maior tamanho das NPL-V-T<sub>A</sub> e NPL-V-T<sub>G</sub> tenham influenciado o sinal do equipamento, resultando em uma superestimação do tamanho hidrodinâmico médio e,

consequentemente, na diminuição do PDI das NPLs (TAKECHI-HARAYA *et al.*, 2022; CAPUTO *et al.*, 2019). A correlação entre os valores de tamanho hidrodinâmico e PDI (abaixo de 0,4) são relevantes para estratégias farmacêuticas direcionadas ao tratamento do câncer, que exploram o efeito de permeabilidade e retenção aumentada em tecidos tumorais sólidos neovascularizados (GESSNER, 2021; YEO *et al.*, 2022). Cujo a angiogênese das células cancerígenas forma vasos sanguíneos com fenestras (300 – 900 nm), que permitem facilmente que as NPLs penetrem o tecido neoplásico, e consequentemente estejam em contato com células cancerígenas (JAGDALE *et al.*, 2023, GERMAN-CORTÉS *et al.*, 2023).

### **5.3.2. Potencial zeta**

Medidas de potencial zeta (PZ) foram apenas para as NPL-OB-OC-T<sub>G</sub> nos tempos  $t_0$ ,  $t_7$  e  $t_{30}$ , ver Figura 21. Isto ocorreu porque nestes tempos, estas NPLs apresentaram valores de tamanho e PDI recomendados para tratamentos de células tumorais, ou seja, menores que 400 nm e 0.4 respectivamente. PZ é uma medida que caracteriza a carga de superfície das nanopartículas e, portanto, é crítica na predição da estabilidade de longo prazo de uma dispersão (CHAVES *et al.*, 2018; DOLATABADI *et al.*, 2021).



**Figura 21** - Medidas de PZ obtidas a partir de NPL-OB-OC obtidas imediatamente após a síntese ( $t_0$ ) e mantida sob  $\pm 8^\circ\text{C}$  ( $T_G$ ) por 7 e 30 dias ( $t_7$  e  $t_{30}$ , respectivamente).

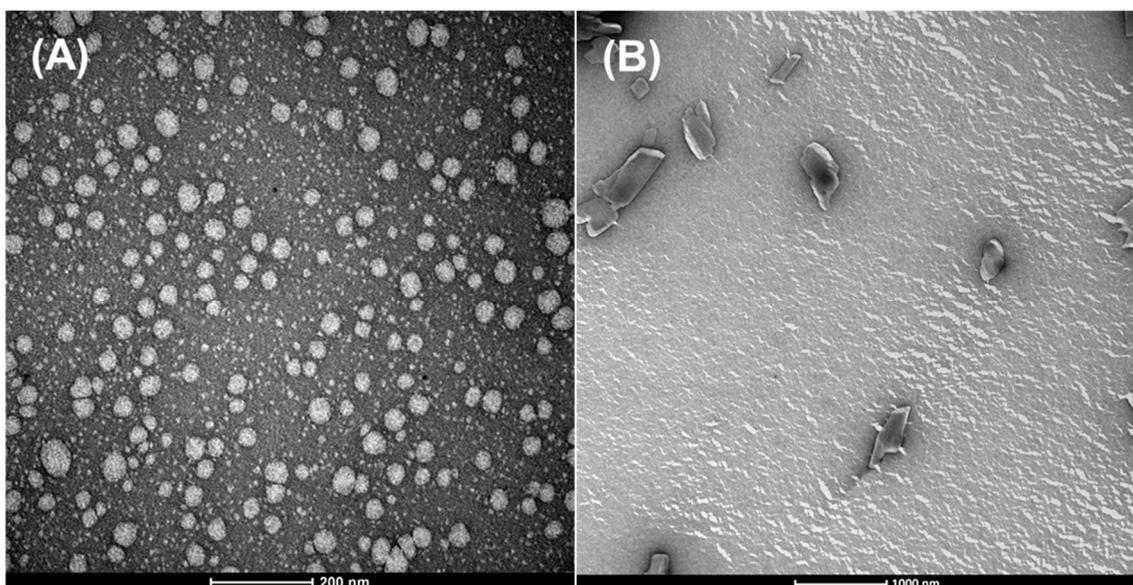
Os valores de PZ da NPL-OB-OC- $T_G$  (Figura 21) demonstra que a superfície das nanopartículas é carregada negativamente,  $-18,82 \pm 1,96$  mV no dia zero ( $t_0$ ),  $-16,40 \pm 1,49$  mV no dia sete ( $t_7$ ) e  $-16,14 \pm 1,72$  mV no dia trinta ( $t_{30}$ ). De acordo com os resultados NPL-OB-OC- $T_G$ - $t_7$  e NPL-OB-OC- $T_G$ - $t_{30}$  tiveram um aumento significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao NPL-OB-OC- $T_G$ - $t_0$ . Esse valor ligeiramente negativo das partículas, mostrando que não é a carga elétrica da superfície que contribuiu para a estabilidade física das partículas, mas sim o impedimento estereoquímico promovido pelo tensoativo que envolve as partículas. Esse impedimento estereoquímico, também é observado no trabalho de Li *et al.*, (2016). De acordo com Zielińska *et al.*, (2023), a linha divisória geral entre suspensões estáveis e instáveis é geralmente descrita em  $+30$  ou  $-30$  mV. Partículas com PZ positivos ( $+30$  mV) ou negativos ( $-30$  mV) são consideradas estáveis. Para esse autor valores de PZ, igual ao que encontramos em nossos estudos, estão relacionados com a natureza não iônica do tensoativo que forma uma camada em torno da partícula, estabilizando a superfície das nanopartículas. Os estudos de Musielak *et al.*, (2022) corroboram com os achados do nosso estudo, ao afirmar que uma redução lenta do PZ ao longo do tempo, pode sim, indicar que o tensoativo não iônico é responsável por formar uma camada estável na superfície das nanopartículas.

Nanopartículas carregadas negativamente têm baixa captação fagocitária, o que aumenta o tempo de circulação sanguínea. Assim, as nanopartículas carregadas negativamente são capazes de reduzir a depuração indesejada do sistema reticuloendotelial (SRE), como o fígado, melhorando a compatibilidade com o sangue, o que garante a administração de drogas anticâncer direcionadas ao local do tumor (XIAO *et al.*, 2011, ZAHIN *et al.*, 2019).

Os resultados de tamanho, PDI e PZ justificam o armazenamento NPL-OB-OC em ambiente refrigerado ( $\pm 8^{\circ}\text{C}$ ) por um período de 60 dias.

### 5.3.3. Morfologia das nanopartículas lipídicas sólidas

A morfologia das NPL-OB-OC e NPL-V foi avaliada via imagens de Microscopia Eletrônica de Transmitância (MET), ver Figura 22A-B. MET é uma técnica bem estabelecida, e capaz de gerar imagens de amostras com base na absorção de um feixe de elétrons que passa por amostras de tamanhos e formas variadas ( $\sim <100\text{ nm}$ ) (ANDERSON *et al.*, 2013, MELNYK *et al.*, 2020). O feixe de elétrons é transmitido e projetado em uma tela ou detector fosforescente, permitindo que objetos de tamanho micro e nanômetro sejam visualizados (ROBSON *et al.*, 2018).



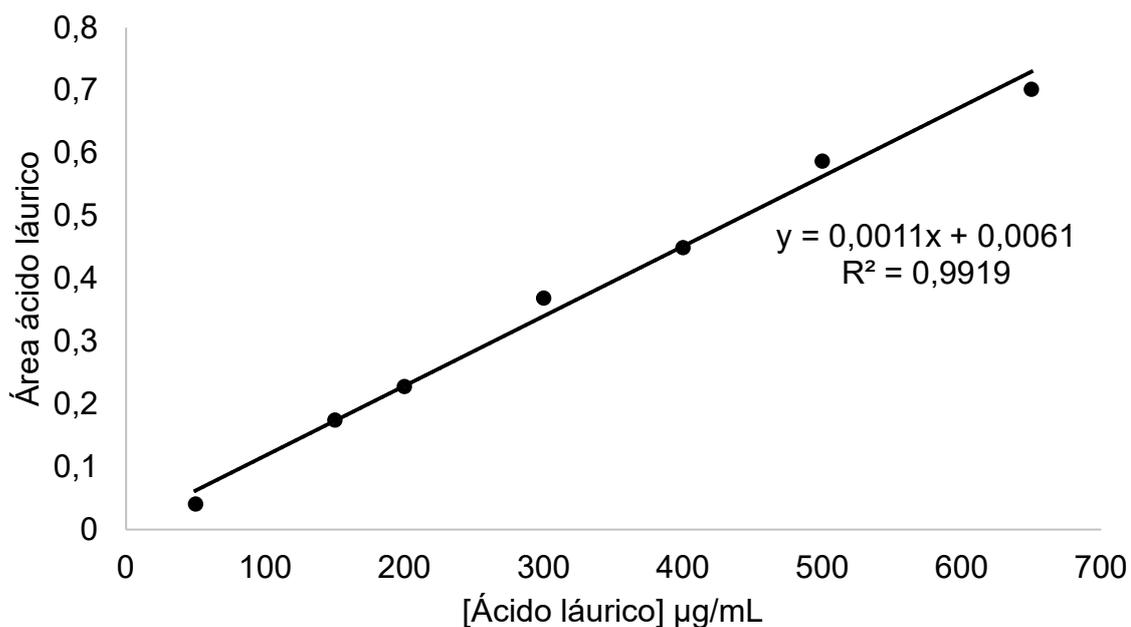
**Figura 22** - Imagens de MET obtidas a partir de NPL-OB-OC (A) e a NPL-V (B).

Como esperado, esta análise ratificou que ambas NPLs apresentaram dimensões nanométricas (Figuras 22A e 22B), entretanto, o tamanho médio das NPL-

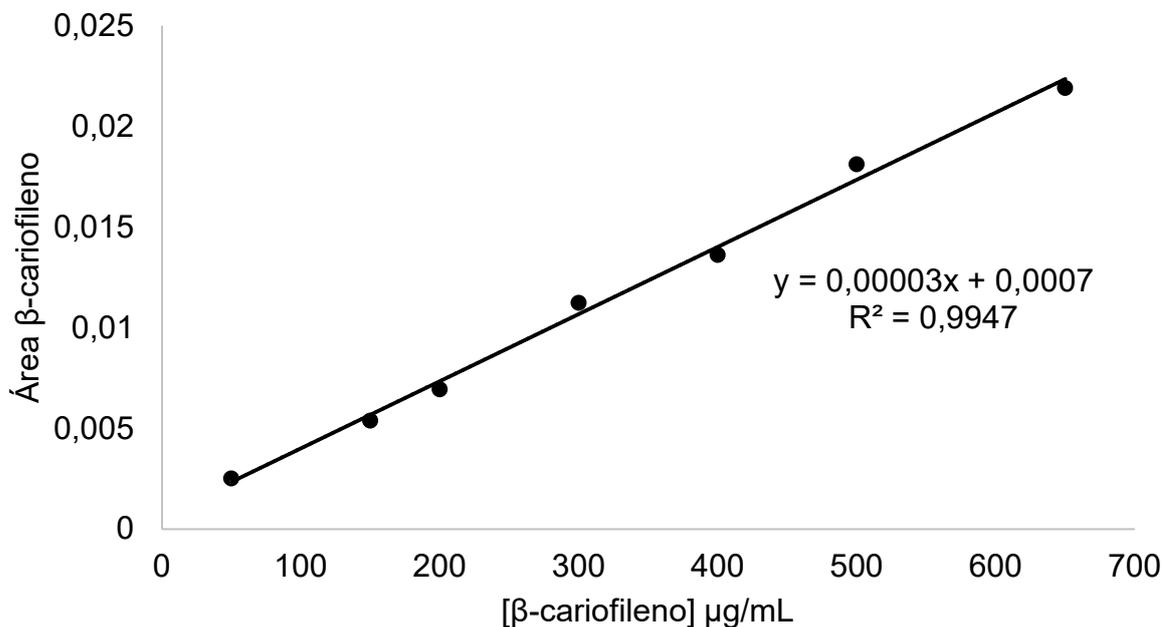
OB-OC (~75 nm) foi seis vezes menor do que as NPL-V (~500 nm). Isso ocorre provavelmente porque as nanopartículas encolheram durante os processos de secagem necessários para a preparação da amostra MET (FAN *et al.*, 2015, LIAO *et al.*, 2021). A NPL-OB-OC apresentou forma esférica. Já a NPL-V apresentou maior tamanho, com formato variado (ovalado ou bastão). Independentemente das diferentes vias de administração, a morfologia individual de cada partícula afetará significativamente o transporte e a difusão das nanopartículas. Chenthamara *et al.*, (2019), foi demonstrou que as partículas esféricas se movem facilmente devido à sua simetria, enquanto as não esféricas caem com o fluxo. Isso será mais proeminente na filtragem de órgãos como o baço e o fígado. Portanto, a forma e a morfologia das NPLs influenciam sua circulação sanguínea e as interações com as células em comparação com contrapartes esféricas (COTY; VAUTHIER, 2018).

#### 6. Eficiência de encapsulação dos óleos de babaçu e copaíba

Para avaliar a EE dos OB e OC nas NPL conduziu-se uma análise de linearidade para quantificação de seus principais marcadores químicos majoritários ácido láurico e  $\beta$ -cariofileno, respectivamente por CG-EM. A Figura 23 e Figura 24 mostra a curva de calibração do marcador químico ácido láurico e  $\beta$ -cariofileno, respectivamente. Essas curvas foram preparadas a partir da área do pico versus a concentração do marcador na mistura de marcadores químicos (ácido láurico e  $\beta$ -cariofileno).



**Figura 23** - Curva de calibração do marcador ácido láurico, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de determinação de regressão ( $R^2$ ).

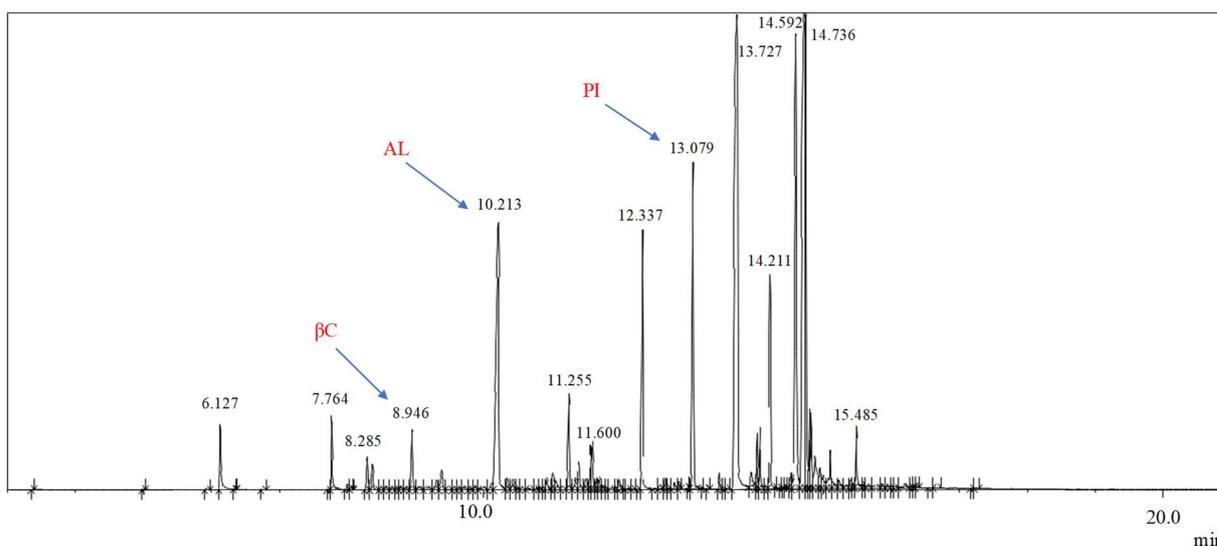


**Figura 24** - Curva de calibração do marcador β-cariofileno com sua respectiva equação da reta e coeficiente de determinação de regressão ( $R^2$ ).

As curvas analíticas obtidas a partir da mistura de padrões foram obtidas das triplicatas das injeções das soluções da mistura, sendo sete concentrações (50, 150,

200, 300, 400, 500 e 600 µg/mL). Assim, foi construído uma curva para o ácido láurico (Figura 23) e outra para o β-cariofileno (Figura 24). Os valores do coeficiente de determinação da regressão ( $R^2$ ) obtidos, foram maiores que 99% (99,19% e 99,47% para ácido láurico e β-cariofileno, respectivamente), o que mostra a qualidade das curvas analíticas, e, portanto, mais precisa será a representação da equação da reta, obtida na regressão linear da variação da resposta analítica em função da concentração do marcador químico. Dessa forma, a variação na concentração ácido láurico e β-cariofileno é suficiente para explicar a variação na concentração desses ativos nos óleos de babaçu e copaíba nanoencapsulados.

A Figura 25 mostra o cromatograma da NPL-OB-OC e os picos bem definidos de ácido láurico (AL) e β-cariofileno (BC) presentes nos óleos de babaçu e copaíba, respectivamente. Os tempos de retenção para o ácido láurico e β-cariofileno estavam de acordo com o que encontramos para os padrões na fase de triagem.



**Figura 25** - Perfil cromatográfico por CG-EM dos ativos presentes na NPL-OB-OC. Onde, βC: β-cariofileno; AL: ácido láurico e PI: padrão interno (pentadecanoato de metila).

Os resultados proporcionaram a obtenção de uma curva específica para o ácido láurico e outra para o β-cariofileno. As curvas são indicativas da linearidade do método de quantificação por GC-EM, fornecendo informações cruciais sobre a EE dos óleos em questão.

Os coeficientes de determinação da regressão ( $R^2$ ) alcançaram valores superiores a 99% (99,19% para o ácido láurico e 99,47% para o  $\beta$ -cariofileno), indicando a alta qualidade das curvas analíticas. Isso demonstra que as curvas são altamente precisas na representação das relações lineares entre a resposta analítica e a concentração dos marcadores químicos. Portanto, a variação na concentração do ácido láurico e  $\beta$ -cariofileno é capaz de explicar a variação na concentração dos ácidos graxos presentes no OB e dos sesquiterpenos em OC, quando nanoencapsulados.

A determinação da EE do óleos OB e OC na NPL foi realizada utilizando o método direto descrito por (AMINI *et al.*, 2017). Os resultados demonstraram que a eficiência de encapsulação para OB e OC na formulação NPL-OB-OC foi de 69,96% e 92,87%, respectivamente. Esses resultados indicam a excelente capacidade da NPL reter na matriz lipídica OB e OC. A natureza lipofílica de OB e OC os torna facilmente miscíveis com a matriz lipídica, levando a uma retenção significativa dos mesmos. Além disso, os sistemas de liberação baseados em lipídios proporcionam proteção aos componentes sensíveis dos óleos, evitando sua degradação química, fotoquímica ou oxidativa, graças à sua imobilização no interior dos lipídios sólidos (LAMMARI *et al.*, 2021).

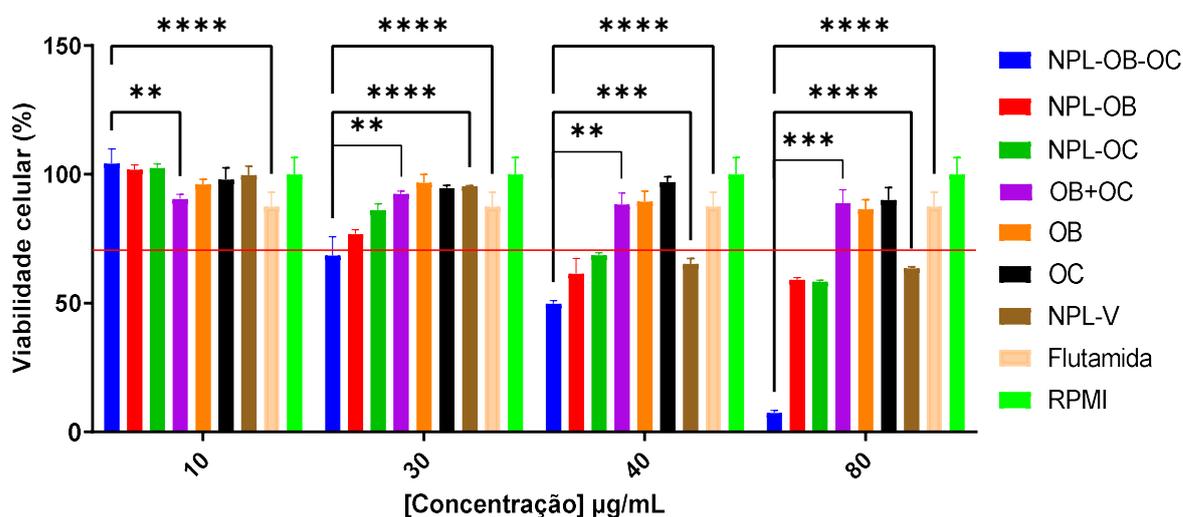
## 7. Estudos de citotoxicidade

As Figuras 26 e 27 apresentam a viabilidade das células PC-3 e DU-145 quando expostas separadamente a NPL contendo diferentes proporções de OB e OC (1:1, 1:0, 0:1 e 0:0), apenas o natural bioativo (OB+OC, OB e OC), flutamida (controle positivo), RPMI (negativo) e DMEM (negativo). As concentrações utilizadas foram 10  $\mu\text{g/mL}$ , 30  $\mu\text{g/mL}$ , 40  $\mu\text{g/mL}$  e 80  $\mu\text{g/mL}$  obtidas a partir da eficiência de encapsulamento (Tabela 9).

**Tabela 9** - Concentração média e individual do OB e OC na NPL.

NPL	[ ] média	[ ] OB	[ ] oc
OB - OC	10 $\mu\text{g/mL}$	8,53 $\mu\text{g/mL}$	11,47 $\mu\text{g/mL}$
	30 $\mu\text{g/mL}$	25,58 $\mu\text{g/mL}$	34,42 $\mu\text{g/mL}$
	40 $\mu\text{g/mL}$	34,11 $\mu\text{g/mL}$	45,89 $\mu\text{g/mL}$
	80 $\mu\text{g/mL}$	68,21 $\mu\text{g/mL}$	91,79 $\mu\text{g/mL}$

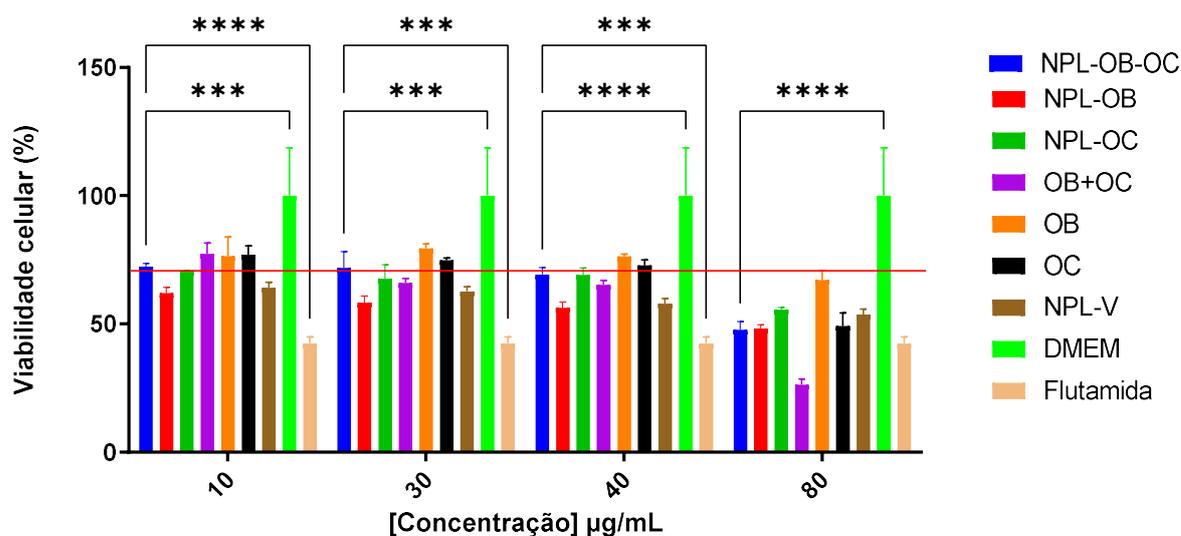
A Figura 26 mostra que a concentração de NPL foi decisiva na redução da porcentagem de células viáveis da linhagem PC-3. NPL-OB-OC mostrou porcentagem de células viáveis de 68,5% a 30 µg/mL em contraste com NPL-OB, NPL-OC, NPL-V, OB, OC e OB + OC que mostraram porcentagem de células viáveis de 76.9%, 86.1%, 95.4%, 96.7%, 94.7% e 92.4% respectivamente. Nesta concentração, flutamida mostrou redução na porcentagem de células viáveis da linhagem PC-3 de 87,4%. Os resultados obtidos para NPL-OB-OC atendem aos critérios estabelecidos pela ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015) que considera material citotóxico quando a porcentagem de células viáveis é inferior a 70%. A NPL na concentração de 80µg/mL apresentou porcentagem de células viáveis (<15%), mostrando o excelente comportamento dos bioativos naturais na atividade citotóxica da linhagem PC-3. A porcentagem de células viáveis na concentração 40 µg/mL e 80 µg/mL para NPL-V (sem bioativos naturais) foram de 65.3% e 63.61%, respectivamente. Esse comportamento é devido, provavelmente a composição da NPL, pois sabe-se que a composição da matriz lipídica, o tipo e concentração do surfactante e a carga elétrica da superfície também são fatores determinantes para a citotoxicidade do NLS (AZARNEZHAD *et al.*, 2020).



**Figura 26** – Viabilidade celular da linhagem PC-3 em diferentes concentrações de NPL-OB-OC, NPL-OB, NPL-OC, NPL-V, OB, OC, OB + OC e droga livre (flutamida) após 24 h de exposição. A linha vermelha indica 70% de viabilidade celular de acordo com ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015).

Da mesma forma, a linhagem DU-145 apresentou redução na porcentagem de células viáveis com o aumento da concentração dos bioativos naturais incorporados na SLN ou não incorporados (Figura 27). A flutamida apresentou porcentagem de células viáveis inferiores aos bioativos naturais incorporados em NPL (NPL-OB-OC, NPL-OB e NPL-OC) ou não incorporados (OB, OC, OB + OC). No entanto, OB+OC na concentração de 80 µg/mL mostrou melhor atividade citotóxica (26.2%) em relação a flu-tamida (42.4%). NPL-OB-OC apresentou porcentagem de células viáveis de 48% para a linhagem DU-145 a 80 µg/mL. Além disso, em todas as concentrações, NPL-V apresentou porcentagem de células viáveis abaixo de 70% (10 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL e 80 µg/mL foram 64%, 63%, 58% e 54%, respectivamente). Estes valores estão abaixo dos recomendados pela ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015). Porém, estudos anteriores mostram que surfactantes não iônicos, como o Tween 80, podem apresentar algum grau de citotoxicidade, que depende da concentração do surfactante na formulação (CHUTOPRAPAT; KOPONGPANICH; CHAN, 2022; SMITH *et al.*, 2020).

Porém, é importante ressaltar que o NPL-OB apresentou resultados satisfatórios, no percentual de células viáveis (< 70%) em todas as concentrações testadas (10 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL e 80 µg/mL foram 61,9 %, 58,3%, 56,2% e 48,2%, respectivamente), indicando que o OB, também, apresenta atividade citotóxica quando utilizado isoladamente. Por outro lado, este efeito não foi observado para o NLS contendo apenas OC (NPL-OC). Os resultados experimentais indicam que as linhagens celulares PC-3 e DU-145 apresentam diferentes sensibilidades ao NPL investigado (AZARNEZHAD *et al.*, 2020).



**Figura 27** – Viabilidade celular da linhagem DU-145 em diferentes concentrações de NPL-OB-OC, NPL-OB, NPL-OC, NPL-V, OB, OC, OB + OC e droga livre (flutamida) após 24 h de exposição. A linha vermelha indica 70% de viabilidade celular de acordo com ISO:10993-5 (LI; ZHOU; XU, 2015).

## 8. Conclusão

Nanopartículas lipídicas sólidas à base de óleo de babaçu e oleorresina de copaíba foram preparadas com sucesso pela técnica de emulsificação-ultrassônica. Observou-se que o tamanho e o índice de polidispersidade dos NPL foram sensíveis às concentrações de ácido esteárico e Tween 80, tempo (0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias) e temperatura ( $\pm 8$  °C e  $\pm 25$  °C). Esta análise teve como objetivo obter NPL com valores de tamanho e PDI inferiores a 400 nm e  $\leq 0,3$ , respectivamente. NPL contendo OB e OC (proporção 1:1) e mantido a  $\pm 8$  °C por 0, 7, 15, 30, 40 e 60 dias atenderam a todos esses critérios. Além disso, as imagens MET identificaram uma morfologia esférica do NPL essencial durante a circulação sanguínea e as interações celulares. A viabilidade das linhagens celulares de câncer de próstata PC-3 e DU-145 foi investigada quando mantidas em contato com NPL desenvolvido neste trabalho. A formulação NPL-OB-OC apresentou porcentagem de células viáveis ( $\leq 70\%$  de acordo com ISO:10993-5) para células PC-3 e DU-145 nas concentrações de 30 µg/mL e 80 µg/mL, respectivamente. Estes resultados indicam que NPL contendo OB e OC apresentou atividade citotóxica satisfatória ( $< 70\%$ ) em relação às linhas celulares de câncer de próstata PC-3 e DU-145.

## Referências

ABBASI, Elham *et al.* Dendrimers: synthesis, applications, and properties. *Nanoscale Research Letters*, [S.L.], n. 247, p. 1 -10, 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1556-276x-9-247>.

ABRÃO, Fariza *et al.* Oleoresins and naturally occurring compounds of *Copaifera* genus as antibacterial and antivirulence agents against periodontal pathogens. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 4953, 2 mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-84480-7>.

ABREU, Letícia Coli Louvise de *et al.* A synergistic nanoformulation of babassu and copaiba oils as natural alternative for prevention of benign prostatic hyperplasia. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, [S.L.], v. 47, p. 167-175, out. 2018.. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2018.07.013>.

ACHARD, Vérane *et al.* Metastatic Prostate Cancer: treatment options. *Oncology*, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 48-59, 15 nov. 2021. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000519861>.

AHIRE, Satish Arvind *et al.* The Augmentation of nanotechnology era: a concise review on fundamental concepts of nanotechnology and applications in material science and technology. *Results In Chemistry*, [S.L.], v. 4, p. 100633, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100633>.

ALANAZI, Ibrahim O *et al.* Non-coding and coding genomic variants distinguish prostate cancer, castration-resistant prostate cancer, familial prostate cancer, and metastatic castration-resistant prostate cancer from each other. *Molecular Carcinogenesis*, [S.L.], v. 58, n. 6, p. 862-874, 31 jan. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.22975>.

ALIMIRAH, Fatouma *et al.* DU-145 and PC-3 human prostate cancer cell lines express androgen receptor: implications for the androgen receptor functions and regulation. *Febs Letters*, [S.L.], v. 580, n. 9, p. 2294-2300, 24 mar. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2006.03.041>.

ALMEIDA Júnior *et al.* Anti-Inflammatory Potential of the Oil-resin from the Amazonian Tree *Copaifera reticulata* with an Unusual Chemical Composition in Rats. *Veterinary Sciences*, [S.L.], v. 8, n. 12, p. 320, 10 dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/vetsci8120320>.

ALMEIDA, Gabriela M. A. de *et al.* Human perceptions of landscape change: the case of a monodominant forest of *Attalea speciosa* Mart. ex. Spreng (northeast Brazil). *Ambio*, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 458-467, 7 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13280-015-0761-6>.

AMARAL, Lilian *et al.* Development of New Babassu Oil Lipidic Nanostructured Systems; Potential Alternative for Benign Prostatic Hyperplasia Therapy. *Current*

Nanoscience, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 786-795, 13 out. 2014. <http://dx.doi.org/10.2174/1573413710666140806005930>.

AMES-SIBIN, Ana P. *et al.*  $\beta$ -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. *Journal Of Cellular Biochemistry*, [S.L.], v. 119, n. 12, p. 10262-10277, 21 ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.27369>.

AMINI, Yousef *et al.* Different methods to determine the encapsulation efficiency of protein in PLGA nanoparticles. *Bio-Medical Materials And Engineering*, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 613-620, 22 nov. 2017. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/bme-171705>.

ANDERSON, Willet *et al.* A comparative study of submicron particle sizing platforms: accuracy, precision and resolution analysis of polydisperse particle size distributions. *Journal Of Colloid And Interface Science*, [S.L.], v. 405, p. 322-330, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.02.030>.

ARARUNA, Felipe Bastos *et al.* Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, [S.L.], v. 13, p. 100281, maio 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100281>.

ARAÚJO JÚNIOR, Miguel Etinguer de *et al.* A Lei do Babaçu Livre: uma estratégia para a regulamentação e proteção da atividade das quebradeiras de coco no estado do maranhão. *Seqüência: Estudos Jurídicos e Políticos*, [S.L.], v. 35, n. 68, p. 129, 20 jun. 2014. <http://dx.doi.org/10.5007/2177-7055.2013v35n68p129>.

ARAÚJO, Fábio Ribeiro *et al.* Ethnobotany of babassu palm (*Attalea speciosa* Mart.) in the Tucuruí Lake Protected Areas Mosaic - eastern Amazon. *Acta Botanica Brasilica*, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 193-204, 1 abr. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-33062015abb0290>.

ARRUDA, Caroline *et al.* Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus—A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [S.L.], v. 109, p. 1-20, jan. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.030>.

ASGHARI, Fatemeh *et al.* Application of Nanotechnology in Targeting of Cancer Stem Cells: a review. *International Journal Of Stem Cells*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 227-239, 30 jul. 2019. Korean Society for Stem Cell Research. <http://dx.doi.org/10.15283/ijsc19006>.

ASSALI, Mohyeddin; ZAID, Abdel-Naser. Features, applications, and sustainability of lipid nanoparticles in cosmeceuticals. *Saudi Pharmaceutical Journal*, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 53-65, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2021.12.018>.

AZARNEZHAD, Asaad; Features, applications, and sustainability of lipid nanoparticles in cosmeceuticals. *et al.* Toxicological profile of lipid-based nanostructures: are they considered as completely safe nanocarriers?. *Critical Reviews In Toxicology*, [S.L.], v.

50, n. 2, p. 148-176, 7 fev. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408444.2020.1719974>.

BARBOSA, Maria do Carmo L *et al.* Effects of babassu nut oil on ischemia/reperfusion-induced leukocyte adhesion and macromolecular leakage in the microcirculation: observation in the hamster cheek pouch. *Lipids In Health And Disease*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 158, 16 nov. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-511x-11-158>.

BARDAJÍ, Danae Kala Rodríguez *et al.* Copaifera reticulata oil-resin : chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. *Anaerobe*, [S.L.], v. 40, p. 18-27, ago. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.04.017>.

BARHOUM, Ahmed *et al.* Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: history, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. *Nanomaterials*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 177, 6 jan. 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/nano12020177>.

BASATI, Gholam; GHANADI, Pardis; ABBASZADEH, Saber. A review of the most important natural antioxidants and effective medicinal plants in traditional medicine on prostate cancer and its disorders. *Journal Of Herbmed Pharmacology*, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 112-120, 14 fev. 2020. Maad Rayan Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.34172/jhp.2020.15>.

BASSO, João *et al.* A Stepwise Framework for the Systematic Development of Lipid Nanoparticles. *Biomolecules*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 223, 27 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom12020223>.

BAY, Noel Si-Yang; BAY, Boon-Huat. Greek anatomist herophilus: the father of anatomy. *Anatomy & Cell Biology*, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 280, 2010. Korean Association of Anatomists. <http://dx.doi.org/10.5115/acb.2010.43.4.280>.

BAYDA, Samer *et al.* The History of Nanoscience and Nanotechnology: from Chemical physical applications to nanomedicine. *Molecules*, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 112, 27 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010112>.

BEHROOZ, Amir Barzegar; TALAIE, Zahra; SYAHIR, Amir. Nanotechnology-Based Combinatorial Anti-Glioblastoma Therapies: moving from terminal to treatable. *Pharmaceutics*, [S.L.], v. 14, n. 8, p. 1697, 15 ago. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14081697>.

BERMAN, D. M.; RODRIGUEZ, R.; VELTRI, R. W. Development, molecular biology, and physiology of the prostate. In: Wein AJ, editor-in-chief; Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell-Walsh Urology*. 10 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012. p. 2533-69.

BLANCO, Elvin; SHEN, Haifa; FERRARI, Mauro. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nature Biotechnology*, [S.L.], v. 33, n. 9, p. 941-951, set. 2015. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.3330>.

BLEYER, Archie; SPREAFICO, Filippo; BARR, Ronald. Prostate cancer in young men: an emerging young adult and older adolescent challenge. *Cancer*, [S.L.], v. 126, n. 1, p. 46-57, 25 set. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.32498>.

BOHOLM, Max. The use and meaning of nano in American English: towards a systematic description. *Ampersand*, [S.L.], v. 3, p. 163-173, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amper.2016.10.001>.

BORGES, Vinícius Raphael de Almeida *et al.* Development of a high performance liquid chromatography method for quantification of isomers  $\beta$ -caryophyllene and  $\alpha$ -humulene in copaiba oil-resin using the Box-Behnken design. *Journal Of Chromatography B*, [S.L.], v. 940, p. 35-41, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.09.024>.

BORGES, Vinícius Raphael de Almeida *et al.* Development and pharmacological evaluation of in vitro nanocarriers composed of lamellar silicates containing copaiba oil-resin for treatment of endometriosis. *Materials Science And Engineering: C*, [S.L.], v. 64, p. 310-317, jul. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.094>.

BRYAN, William W. *et al.* Porous silver-coated pNIPAM-co-AAc hydrogel nanocapsules. *Beilstein Journal Of Nanotechnology*, [S.L.], v. 10, p. 1973-1982, 4 out. 2019. Beilstein Institut. <http://dx.doi.org/10.3762/bjnano.10.194>.

CANTARINI, D. *et al.* Immunomodulation of Human Blood Phagocytes by *Orbignya phalerata* Mart. Plus IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  Cytokines. *European Journal Of Medicinal Plants*, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 167-174, 10 jan. 2015. Sciencedomain International. <http://dx.doi.org/10.9734/ejmp/2015/14760>.

CAPUTO, F. *et al.* Measuring particle size distribution of nanoparticle enabled medicinal products, the joint view of EUNCL and NCI-NCL. A step by step approach combining orthogonal measurements with increasing complexity. *Journal Of Controlled Release*, [S.L.], v. 299, p. 31-43, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.02.030>.

CARDINELLI, Camila Castanho *et al.* Toxicological Effects of Copaiba Oil (*Copaifera* spp.) and Its Active Components. *Plants*, [S.L.], v. 12, n. 5, p. 1054, 27 fev. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/plants12051054>.

CATTRINI, Carlo *et al.* Current Treatment Options for Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *Cancers*, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 1355, 12 set. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers11091355>.

CENTENERA, Margaret M. *et al.* New Opportunities for Targeting the Androgen Receptor in Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine*, [S.L.], v. 8, n. 12, p. a030478, 12 mar. 2018. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a030478>.

CEVIK, Ozge *et al.* Cyclosporine-A induces apoptosis in human prostate cancer cells PC-3 and DU-145 via downregulation of COX-2 and upregulation of TGF $\beta$ . *Turkish*

Journal Of Biochemistry, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 47-54, 6 set. 2018. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/tjb-2017-0355>.

CHAN, Jeffrey Shi Kai *et al.* Long-term cardiovascular burden in prostate cancer patients receiving androgen deprivation therapy. *European Journal Of Clinical Investigation*, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 1-2, 12 dez. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/eci.13932>.

CHANG, Chih-Chun *et al.* Diagnostic Role of Serum Free-to-Total Prostate Specific Antigen (PSA) Ratio in Prostate Cancer with Serum Total Concentration of PSA below 4 ng/mL. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, [S.L.], v. 16, n. 13, p. 5261-5264, 3 ago. 2015. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. <http://dx.doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.13.5261>.

CHAUDHURI, Aiswarya *et al.* Lipid-Based Nanoparticles as a Pivotal Delivery Approach in Triple Negative Breast Cancer (TNBC) Therapy. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 23, n. 17, p. 10068, 3 set. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms231710068>.

CHAVES, Luíse L. *et al.* Overcoming clofazimine intrinsic toxicity: statistical modelling and characterization of solid lipid nanoparticles. *Journal Of The Royal Society Interface*, [S.L.], v. 15, n. 139, p. 20170932, fev. 2018. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2017.0932>.

CHEN, Han *et al.* Nanotechnology-based combinatorial phototherapy for enhanced cancer treatment. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 12, n. 16, p. 9725-9737, 2022. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d1ra09067d>.

CHENG, Qing *et al.* Pre-existing Castration-resistant Prostate Cancer-like Cells in Primary Prostate Cancer Promote Resistance to Hormonal Therapy. *European Urology*, [S.L.], v. 81, n. 5, p. 446-455, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2021.12.039>.

CHENTHAMARA, Dhrisya *et al.* Therapeutic efficacy of nanoparticles and routes of administration. *Biomaterials Research*, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 20 nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1186/s40824-019-0166-x>.

CHEON, Chunhoo; KO, Seong-Gyu. Synergistic effects of natural products in combination with anticancer agents in prostate cancer: a scoping review. *Frontiers In Pharmacology*, [S.L.], v. 13, 12 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.963317>.

CHUTOPRAPAT, Romchat; KOPONGPANICH, Peerawas; CHAN, Lai Wah. A Mini-Review on Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: topical delivery of phytochemicals for the treatment of acne vulgaris. *Molecules*, [S.L.], v. 27, n. 11, p. 3460, 27 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27113460>.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Boletim da Sociobiodiversidade, Brasília, DF, v. 6, n.3, dezembro de 2022.

COTY, Jean-Baptiste; VAUTHIER, Christine. Characterization of nanomedicines: a reflection on a field under construction needed for clinical translation success. *Journal Of Controlled Release*, [S.L.], v. 275, p. 254-268, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.02.013>.

DA PONTE, Flávio Albuquerque Ferreira *et al.* Avaliação físico-química dos óleos de babaçu (*Orbignya speciosa*) e coco (*Cocos nucifera*) com elevado índice de acidez e dos ácidos graxos (C6 a C16). *Scientia Plena*, [S.L.], v. 13, n. 8, p. 1-8, 25 set. 2017. Associação Sergipana de Ciência. <http://dx.doi.org/10.14808/sci.plena.2017.085301>.

DANAEI, M. *et al.* Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*. 2018;10(2):57. Published 2018 May 18. doi:10.3390/pharmaceutics10020057.

DARABI, Farnosh *et al.* Anti-CD44 and EGFR Dual-Targeted Solid Lipid Nanoparticles for Delivery of Doxorubicin to Triple-Negative Breast Cancer Cell Line: preparation, statistical optimization, and in vitro characterization. *Biomed Research International*, [S.L.], v. 2022, p. 1-13, 6 jul. 2022. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/6253978>.

DAS, Surajit; NG, Wai Kiong; TAN, Reginald B.H. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded slns and nlcs?. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 139-151, ago. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.05.010>.

DAUGE, M. C., DELMAS, V., POTIER, M. La lobulation anatomique de la prostate, une description controversée [The anatomic lobulation of the prostate, a controversial description]. *Morphologie: bulletin de l'Association des anatomistes*, 1999,83(260), p. 5-14.

DAYRIT, Fabian M.. The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. *Journal Of The American Oil Chemists' Society*, [S.L.], v. 92, n. 1, p. 1-15, 15 nov. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7>.

DE SOUSA, Valeria *et al.* Nanostructured systems containing babassu (*Orbignya speciosa*) oil as a potential alternative therapy for benign prostatic hyperplasia. *International Journal Of Nanomedicine*, [S.L.], p. 3129, ago. 2013. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s47731>.

DEMARIA, Marco *et al.* Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discovery*, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 165-176, 1 fev. 2017. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/2159-8290.cd-16-0241>.

DESSALE, Mesfin; MENGISTU, Getachew; MENGIST, Hylemariam Mihiretie. Nanotechnology: a promising approach for cancer diagnosis, therapeutics and theragnosis. *International Journal Of Nanomedicine*, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 3735-3749, ago. 2022. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s378074>.

DEUS, R.J.A; ALVES, C.N; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 01-07, 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722011000100001>.

DIAS, Daiane de O. *et al.* Optimization of headspace solid-phase microextraction for analysis of  $\beta$ -caryophyllene in a nanoemulsion dosage form prepared with copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oil. Analytica Chimica Acta, [S.L.], v. 721, p. 79-84, abr. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.055>.

DIEFENBACH, Ana Lúcia *et al.* Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* spp.) on oral pathogens: systematic review. Phytotherapy Research, [S.L.], v. 32, n. 4, p. 586-596, 29 nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5992>.

DOBBS, Ryan W. *et al.* Estrogens and prostate cancer. Prostate Cancer And Prostatic Diseases, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 185-194, 21 ago. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41391-018-0081-6>.

DOKTOROVOVÁ, Slavomira *et al.* Preclinical safety of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: current evidence from in vitro and in vivo evaluation. European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics, [S.L.], v. 108, p. 235-252, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.08.001>.

DOLATABADI, Shabnam *et al.* Preparation, characterization and in vivo pharmacokinetic evaluation of curcuminoids-loaded solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carriers (NLCs). Journal Of Drug Delivery Science And Technology, [S.L.], v. 62, p. 102352, abr. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102352>.

DUAN, Yongtao *et al.* A brief review on solid lipid nanoparticles: part and parcel of contemporary drug delivery systems. Rsc Advances, [S.L.], v. 10, n. 45, p. 26777-26791, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0ra03491f>.

DUONG, Van-An; NGUYEN, Thi-Thao-Linh; MAENG, Han-Joo. Preparation of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers for Drug Delivery and the Effects of Preparation Parameters of Solvent Injection Method. Molecules, [S.L.], v. 25, n. 20, p. 4781, 18 out. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25204781>.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Copaíba - Portal Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/manejo-florestal/manejo-florestal-nao-madeireiro/copaiba>. Acesso em: 09.06.2023.

FAN, Mingliang *et al.* Chlorambucil gemcitabine conjugate nanomedicine for cancer therapy. European Journal Of Pharmaceutical Sciences, [S.L.], v. 79, p. 20-26, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.08.013>.

FARIA, Eliney Ferreira *et al.* Use of low free to total PSA ratio in prostate cancer screening: detection rates, clinical and pathological findings in brazilian men with

serum psa levels. *Bju International*, [S.L.], v. 110, n. 11, p. E653-E657, 14 ago. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-410x.2012.11398.x>.

FERREIRA, Bianca Silva; FAZA, Lara Pereira; HYARIC, Mireille Le. A Comparison of the Physicochemical Properties and Fatty Acid Composition of Indaiá (*Attalea dubia*) and Babassu (*Orbignya phalerata*) Oils. *The Scientific World Journal*, [S.L.], v. 2012, p. 1-4, 2012. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1100/2012/532374>.

FILIPPO, Leonardo Delello di *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*, [S.L.], v. 618, p. 121682, abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121682>.

FRANCIS, J. C. SWAIN, A. Prostate Organogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2018, v. 8, n. 7, p. a030353. <https://doi.org.ez14.periodicos.capes.gov.br/10.1101/cshperspect.a030353>.

FRANZ, M. C. *et al.* Zinc transporters in prostate cancer. *Molecular Aspects Of Medicine*, [S.L.], v. 34, n. 2-3, p. 735-741, abr. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2012.11.007>.

FUJIKAWA, Shinji *et al.* Natural history of human prostate gland: morphometric and histopathological analysis of japanese men. *The Prostate*, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 355-364, 1 dez. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.20208>.

FURTADO, Priscila de Souza *et al.* Benign prostatic hyperplasia therapy through liquid-solid technology composed of polymer-layered nanocomposites based on silicate that contain babassu oil and copaiba oil-resin. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, [S.L.], v. 64, p. 102586, ago. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102586>.

GANESAN, Palanivel *et al.* Recent developments in solid lipid nanoparticle and surface-modified solid lipid nanoparticle delivery systems for oral delivery of phyto-bioactive compounds in various chronic diseases. *International Journal Of Nanomedicine*, [S.L.], v. 13, p. 1569-1583, mar. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s155593>.

GASPAR, Vítor M. *et al.* Bioreducible poly(2-ethyl-2-oxazoline)-PLA-PEI-SS triblock copolymer micelles for co-delivery of DNA minicircles and Doxorubicin. *Journal Of Controlled Release*, [S.L.], v. 213, p. 175-191, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.07.011>.

GAUR, Manish *et al.* Biomedical Applications of Carbon Nanomaterials: fullerenes, quantum dots, nanotubes, nanofibers, and graphene. *Materials*, [S.L.], v. 14, n. 20, p. 5978, 11 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma14205978>.

GEBARA, Jonas *et al.* Population structure and production of copaiba oil-resin between valleys and hillsides of the mining area of Trombetas river – Pará. *Revista Árvore*, 2016, 40 (1), 51–60. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100006>.

GEDARA, Nuwan Indika Millagaha *et al.* Global Trends in Cancer Nanotechnology: a qualitative scientific mapping using content-based and bibliometric features for machine learning text classification. *Cancers*, [S.L.], v. 13, n. 17, p. 4417, 1 set. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers13174417>.

GEHRING, Christoph *et al.* Babassu palm (*Attalea speciosa* Mart.) super-dominance shapes its surroundings via multiple biotic, soil chemical, and physical interactions and accumulates soil carbon: a case study in eastern Amazonia. *Plant and Soil*, [S.L.], v. 454, n. 1-2, p. 447-460, 10 ago. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-020-04580-7>.

GEORGE, Rose S. *et al.* Artificial intelligence in prostate cancer: definitions, current research, and future directions. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, [S.L.], v. 40, n. 6, p. 262-270, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2022.03.003>.

GERMAN-CORTÉS, Júlia *et al.* Solid Lipid Nanoparticles: multitasking nano-carriers for cancer treatment. *Pharmaceutics*, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 831, 3 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15030831>.

GESSNER, Isabel. Optimizing nanoparticle design and surface modification toward clinical translation. *Mrs Bulletin*, [S.L.], v. 46, n. 7, p. 643-649, jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1557/s43577-021-00132-1>.

GHAHREMANI, Fatemeh *et al.* AS1411 aptamer conjugated gold nanoclusters as a targeted radiosensitizer for megavoltage radiation therapy of 4T1 breast cancer cells. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 8, n. 8, p. 4249-4258, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7ra11116a>.

GILBERT, Sophie *et al.* Targeting IKK $\epsilon$  in Androgen-Independent Prostate Cancer Causes Phenotypic Senescence and Genomic Instability. *Molecular Cancer Therapeutics*, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 407-418, 1 mar. 2022. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1535-7163.mct-21-0519>.

GOMES, Niele de Matos *et al.* Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of fractions obtained from *Copaifera multijuga* Hayne. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 177–183, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.005>.

GONZÁLEZ-PÉREZ, Sol Elizabeth *et al.* Conhecimento e usos do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. e *Attalea eichleri* (Drude) A. J. Hend.) entre os Mebêngôkre-Kayapó da Terra Indígena Las Casas, estado do Pará, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, [S.L.], v. 26, n. 2, p. 295-308, jun. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-33062012000200007>.

GREGORIADIS, Gregory. Liposomes and mRNA: two technologies together create a covid-19 vaccine. *Medicine In Drug Discovery*, [S.L.], v. 12, p. 100104, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medidd.2021.100104>.

GUO, Mingzhou *et al.* Epigenetic heterogeneity in cancer. *Biomarker Research*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 327, 31 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40364-019-0174-y>.

HABEEB, Mohammad *et al.* Strategies of nanomedicine for targeting the signaling pathways of Colorectal cancer. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, [S.L.], v. 84, p. 104487, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104487>.

HAFFNER, Michael C. *et al.* Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 79-92, 16 dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41585-020-00400-w>.

HALEEM, Abid *et al.* Applications of nanotechnology in medical field: a brief review. *Global Health Journal*. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.glohj.2023.02.008>.

HALL, Mary e *et al.* Metastatic Hormone-sensitive Prostate Cancer: current perspective on the evolving therapeutic landscape. *Oncotargets And Therapy*, [S.L.], v. 13, p. 3571-3581, abr. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ott.s228355>.

HANAFY, Mahmoud S. *et al.* PD-1 siRNA-Encapsulated Solid Lipid Nanoparticles Downregulate PD-1 Expression by Macrophages and Inhibit Tumor Growth. *Aaps Pharmscitech*, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 1-10, 31 jan. 2021. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-021-01933-y>.

HARRISON, Sean *et al.* Systematic review and meta-analysis of the associations between body mass index, prostate cancer, advanced prostate cancer, and prostate-specific antigen. *Cancer Causes & Control*, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 431-449, 11 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-020-01291-3>.

HEGDE, Mangala *et al.* Nanoparticles in the diagnosis and treatment of cancer metastases: current and future perspectives. *Cancer Letters*, [S.L.], v. 556, p. 216066, mar. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216066>.

HINOHARA, Kunihiko; POLYAK, Kornelia. Intratumoral Heterogeneity: more than just mutations. *Trends In Cell Biology*, [S.L.], v. 29, n. 7, p. 569-579, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2019.03.003>.

HONORIO-FRANÇA, Adenilda *et al.* Microemulsion of babassu oil as a natural product to improve human immune system function. *Drug Design, Development And Therapy*, [S.L.], p. 21, dez. 2014. <http://dx.doi.org/10.2147/dddt.s73756>.

HOVORKOVÁ, Petra; LALOUČKOVÁ, Klára; SKŘIVANOVÁ, Eva. Determination of in vitro antibacterial activity of plant oils containing medium-chain fatty acids against Gram-positive pathogenic and gut commensal bacteria. *Czech Journal Of Animal Science*, [S.L.], v. 63, n. 3, p. 119-125, 31 mar. 2018. Czech Academy of Agricultural Sciences. <http://dx.doi.org/10.17221/70/2017-cjas>.

HU, Wen-Yang *et al.* Actions of estrogens and endocrine disrupting chemicals on human prostate stem/progenitor cells and prostate cancer risk. *Molecular And Cellular Endocrinology*, [S.L.], v. 354, n. 1-2, p. 63-73, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.08.032>.

HUANG, Min; LU, Jin-Jian; DING, Jian. Natural Products in Cancer Therapy: past, present and future. *Natural Products And Bioprospecting*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 5-13, 3 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13659-020-00293-7>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de Extração Vegetal e da Silvicultura - PEVS, 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2018>>. Acesso em: 15 de junho de 2023.

IDIPPILY, Nethrie D. *et al.* Copallic acid analogs down-regulate androgen receptor and inhibit small chaperone protein. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, [S.L.], v. 27, n. 11, p. 2292-2295, jun. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.046>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (BRASIL). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/introducao>. Acesso em: 22 de maio de 2023.

ISTENIČ, Katja; KOROŁEC, Romana Cerc; ULRIH, Nataša Poklar. Encapsulation of (-)-epigallocatechin gallate into liposomes and into alginate or chitosan microparticles reinforced with liposomes. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, [S.L.], v. 96, n. 13, p. 4623-4632, 8 abr. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7691>.

JACQUIN, Nikolaus Joseph. "Enumeratio systematica plantarum: quas in insulis Caribaeis vicinaque Americes continente detexit novas, aut iam cognitatas emendavit." (1762).

JAGARAN, Keelan; SINGH, Moganavelli. Lipid Nanoparticles: promising treatment approach for Parkinson's disease. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 23, n. 16, p. 9361, 19 ago. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23169361>.

JAGDALE, Saili *et al.* GLUT1 transporter-facilitated solid lipid nanoparticles loaded with anti-cancer therapeutics for ovarian cancer targeting. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 637, p. 122894, abr. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122894>.

JAMPILEK, Josef; KRALOVA, Katarina. Advances in Drug Delivery Nanosystems Using Graphene-Based Materials and Carbon Nanotubes. *Materials*, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 1059, 24 fev. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma14051059>.

JANISZEWSKA, Michalina *et al.* Subclonal cooperation drives metastasis by modulating local and systemic immune microenvironments. *Nature Cell Biology*, [S.L.], v. 21, n. 7, p. 879-888, jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41556-019-0346-x>.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. *Histologia Básica*, 13ª edição. São Paulo, ed: Guanabara Koogan, Aparelho Reprodutor Masculino, cap. 21, p. 428-429, 2017.

KAI, Li; SAMUEL, Shirley K.; LEVENSON, Anait S. Resveratrol enhances p53 acetylation and apoptosis in prostate cancer by inhibiting MTA1/NuRD complex. *International Journal Of Cancer*, v. 126, n. 7, p. 1538–1548, 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.24928>.

KEMP, Jessica A.; KWON, Young Jik. Cancer nanotechnology: current status and perspectives. *Nano Convergence*, [S.L.], v. 8, n. 1, 2 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40580-021-00282-7>.

KENCHEGOWDA, Madhuchandra *et al.* Smart Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy: a review. *Molecules*, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 146, 27 dez. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27010146>.

KHAN, Salman *et al.* A review on nanotechnology: properties, applications, and mechanistic insights of cellular uptake mechanisms. *Journal Of Molecular Liquids*, [S.L.], v. 348, p. 118008, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118008>.

KHATAMIAN, Niloufar *et al.* Preparation and characterization of the myricetin-loaded solid lipid nanoparticles decorated with folic acid-bound chitosan and evaluation of its antitumor and anti-angiogenic activities in vitro and in vivo in mice bearing tumor models. *Cancer Nano* 14, 9 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12645-023-00160-3>.

KHOSRAVI-SHAHI, Parham; CABEZÓN-GUTIÉRREZ, Luis; CUSTODIO-CABELLO, Sara. Metastatic triple negative breast cancer: optimizing treatment options, new and emerging targeted therapies. *Asia-Pacific Journal Of Clinical Oncology*, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 32-39, 16 ago. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ajco.12748>.

KIERSZENBAUM, A. L. Transporte e Maturação de Espermatozóides. In: Kierszenbaum AL, editor. *Histologia e Biologia Celular - Uma Introdução à Patologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008. p. 601-16.

KOPYRA, Jania; KELLER, Adrian; BALD, Ilko. On the role of fluoro-substituted nucleosides in DNA radiosensitization for tumor radiation therapy. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 4, n. 13, p. 6825, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3ra46735j>.

KRAMBECK, Karolline *et al.* Design and characterization of Nanostructured lipid carriers (NLC) and Nanostructured lipid carrier-based hydrogels containing *Passiflora edulis* seeds oil. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 600, p. 120444, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120444>.

KUMAR, Sacheen; RANDHAWA, Jaspreet Kaur. Solid lipid nanoparticles of stearic acid for the drug delivery of paliperidone. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 5, n. 84, p. 68743-68750, 2015. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5ra10642g>.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. Robbins & Cotran patologia: bases patológicas das doenças, 9ª edição. Rio de Janeiro, ed: Elsevier, 2016

LAMA, Rati *et al.* Bioassay guided identification of small chaperone proteins  $\alpha$ -crystallin and Hsp27 inhibitors from Copaiba oil. *Phytochemistry Letters*, [S.L.], v. 10, p. 65-75, dez. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2014.08.006>.

LAMMARI, Narimane *et al.* Plant oils: from chemical composition to encapsulated form use. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 601, p. 120538, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120538>.

LANG, Richard J; HASHITANI, Hikaru. Role of prostatic interstitial cells in prostate motility. *Journal Of Smooth Muscle Research*, [S.L.], v. 53, p. 57-72, 2017. Japan Society of Smooth Muscle Research. <http://dx.doi.org/10.1540/jsmr.53.57>.

LAPPANO, Rosamaria *et al.* The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discovery*, [S.L.], v. 17063, n. 1, p. 1-9, 18 set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.63>.

LEANDRO, Lidiam Maia *et al.* Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) Oil-resin s. *Molecules*, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 30 mar. 2012.. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules17043866>.

LEE, Christine H. *et al.* Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America*, [S.L.], v. 40, n. 3, p. 565-575, set. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2011.05.012>.

LEE, Sui-Ting *et al.* Alpha-tomatine synergises with paclitaxel to enhance apoptosis of androgen-independent human prostate cancer PC-3 cells in vitro and in vivo. *Phytomedicine*, [S.L.], v. 20, n. 14, p. 1297-1305, nov. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2013.07.002>.

LEGAULT, Jean; PICHETTE, André. Potentiating effect of  $\beta$ -caryophyllene on anticancer activity of  $\alpha$ -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, [S.L.], v. 59, n. 12, p. 1643-1647, dez. 2007. <http://dx.doi.org/10.1211/jpp.59.12.0005>.

LI, Jiachen *et al.* Nanoparticles-based phototherapy systems for cancer treatment: current status and clinical potential. *Bioactive Materials*, [S.L.], v. 23, p. 471-507, maio 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.11.013>.

LI, Weijia; ZHOU, Jing; XU, Yuyin. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomedical Reports*, [S.L.], v. 3, n. 5, p. 617-620, 19 jun. 2015. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2015.481>.

LI, Xiaojing *et al.* Size-controlled starch nanoparticles prepared by self-assembly with different green surfactant: the effect of electrostatic repulsion or steric hindrance. *Food Chemistry*, [S.L.], v. 199, p. 356-363, maio 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.037>.

LIAO, Ai-Mei *et al.* Preparation, characterization, and cytotoxicity evaluation of self-assembled nanoparticles of diosgenin-cytarabine conjugate. *Food And Chemical Toxicology*, [S.L.], v. 151, p. 112101, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2021.112101>.

LIM, Syer C. *et al.* Unique targeting of androgen-dependent and -independent AR signaling in prostate cancer to overcome androgen resistance. *The Faseb Journal*, [S.L.], v. 34, n. 9, p. 11511-11528, 26 jul. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.201903167r>.

LIMA, Milena *et al.* Caracterização e controle de qualidade de óleos de copaíba (*Copaifera sp.*) utilizando detecção de marcadores por fator de retenção relativa em HPTLC. *Química Nova*, [S.L.], v. 43, n. 7, p. 878-883, 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170563>.

LIMA, Zeinab Safarpour *et al.* Recent advances of therapeutic targets based on the molecular signature in breast cancer: genetic mutations and implications for current treatment paradigms. *Journal Of Hematology & Oncology*, [S.L.], v. 12, n. 1, 11 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-019-0725-6>.

LINNÉ, CARL VON; WILLDENOW, KARL LUDWIG. "Species plantarum." (1797).

LINTON, Jonathan D.; WALSH, Steven T. A theory of innovation for process-based innovations such as nanotechnology. *Technological Forecasting And Social Change*, [S.L.], v. 75, n. 5, p. 583-594, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.techfore.2007.02.005>.

LIU, Xukai *et al.* Cancer-associated fibroblasts promote malignant phenotypes of prostate cancer cells via autophagy. *Apoptosis*, [S.L.], v. 28, n. 5-6, p. 881-891, 31 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10495-023-01828-2>.

LOMBARDI, Ana Paola G.; VICENTE, Carolina M.; PORTO, Catarina S. Estrogen Receptors Promote Migration, Invasion and Colony Formation of the Androgen-Independent Prostate Cancer Cells PC-3 Through  $\beta$ -Catenin Pathway. *Frontiers In*

Endocrinology, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-2, 9 abr. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2020.00184>.

LUCCA, Letícia G. *et al.* Anti-inflammatory Effect from a Hydrogel Containing Nanoemulsified Copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne). *Aaps Pharmscitech*, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 522-530, 21 ago. 2017. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-017-0862-6>.

LUIZ, Marcela Tavares *et al.* Design of experiments (DoE) to develop and to optimize nanoparticles as drug delivery systems. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, [S.L.], v. 165, p. 127-148, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.05.011>.

LUNDGREN, Per-Olof *et al.* Association between one-time prostate-specific antigen (PSA) test with free/total PSA ratio and prostate cancer mortality: a 30 :year prospective cohort study. *Bju International*, [S.L.], v. 128, n. 4, p. 490-496, 6 maio 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bju.15417>.

LUO, Dong *et al.* Prostate-specific membrane antigen targeted gold nanoparticles for prostate cancer radiotherapy: does size matter for targeted particles?. *Chemical Science*, [S.L.], v. 10, n. 35, p. 8119-8128, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9sc02290b>.

MADKHALI, Osama A. Perspectives and Prospective on Solid Lipid Nanoparticles as Drug Delivery Systems. *Molecules*, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 1543, 24 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27051543>.

MALIK, Shiza; MUHAMMAD, Khalid; WAHEED, Yasir. Nanotechnology: a revolution in modern industry. *Molecules*, [S.L.], v. 28, n. 2, p. 661, 9 jan. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28020661>.

MANGEMATIN, Vincent; WALSH, Steve. The future of nanotechnologies. *Technovation*, [S.L.], v. 32, n. 3-4, p. 157-160, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.technovation.2012.01.003>.

MARKER, Paul C; A DONJACOUR, Annemarie; DAHIYA, Rajvir; CUNHA, Gerald R. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Developmental Biology*, [S.L.], v. 253, n. 2, p. 165-174, jan. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0012-1606\(02\)00031-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0012-1606(02)00031-3).

MARZO, Angelo M. de *et al.* Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 256-269, abr. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2090>.

MASARA, Brian; POLL, John Andrew van Der; MAAZA, Malik. A nanotechnology-foresight perspective of South Africa. *Journal Of Nanoparticle Research*, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 0-92, abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-021-05193-6>.

MASSOUMI, Bakhshali *et al.* PEGylated hollow pH-responsive polymeric nanocapsules for controlled drug delivery. *Polymer International*, [S.L.], v. 69, n. 5, p. 519-527, 12 mar. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pi.5987>.

MATA, Lorena R. *et al.* Leaf anatomy as an aid to the taxonomy of the 'babassu' complex (*Attalea* species). *Flora*, [S.L.], v. 293, p. 152092, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2022.152092>.

MATSUMURA, Matsumura *et al.* Involvement of the estrogen receptor beta in genistein-induced expression of p21(waf1/cip1) in PC-3 prostate cancer cells. *Anticancer Res.* 2008;28(2A):709-714.

MCNEAL, John E. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Investigative Urological*, 1978, v. 15, p. 340-345.

MCNEAL, John E. *et al.* Zonal Distribution of Prostatic Adenocarcinoma. *The American Journal Of Surgical Pathology*, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 897-906, dez. 1988. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/00000478-198812000-00001>.

MEEL, Roy van Der *et al.* Smart cancer nanomedicine. *Nature Nanotechnology*, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 1007-1017, nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41565-019-0567-y>.

MELNYK, Tetiana *et al.* Therapeutic potential of polypeptide-based conjugates: rational design and analytical tools that can boost clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, [S.L.], v. 160, p. 136-169, 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2020.10.007>.

MELO, Elaine *et al.* First Study on the Oxidative Stability and Elemental Analysis of Babassu (*Attalea speciosa*) Edible Oil Produced in Brazil Using a Domestic Extraction Machine. *Molecules*, [S.L.], v. 24, n. 23, p. 4235, 21 nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24234235>.

MENEZES, Ana Carolina dos Santos *et al.* Anti-inflammatory and wound healing effect of Copaiba oil-resin on the oral cavity: a systematic review. *Heliyon*, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 1-10, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08993>.

MIRSAFAEI, Razieh; VARSHOSAZ, Jaleh. Polyacrylamide–punicic acid conjugate-based micelles for flutamide delivery in PC-3 cells of prostate cancer: synthesis, characterisation and cytotoxicity studies. *IET Nanobiotechnology*, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 417-422, 5 jun. 2020. <http://dx.doi.org/10.1049/iet-nbt.2020.0014>.

MISHRA, Vijay *et al.* Solid Lipid Nanoparticles: emerging colloidal nano drug delivery systems. *Pharmaceutics*, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 191, 18 out. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics10040191>.

MIYAHIRA, Andrea K. *et al.* Exploring new frontiers in prostate cancer research: report from the 2022 coffeyxholden prostate cancer academy meeting. *The Prostate*, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 207-226, 28 nov. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.24461>.

MODI, Shreya *et al.* Recent Trends in Fascinating Applications of Nanotechnology in Allied Health Sciences. *Crystals*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 39, 27 dez. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cryst12010039>.

MOHAMMADI-SAMANI, Soliman; GHASEMIYEH, Parisa. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: applications, advantages and disadvantages. *Research In Pharmaceutical Sciences*, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 288, 2018. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1735-5362.235156>.

MORIGI, Valentina *et al.* Nanotechnology in Medicine: from inception to market domination. *Journal Of Drug Delivery*, [S.L.], v. 2012, p. 1-7, 7 mar. 2012. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/389485>.

MOSLEH-SHIRAZI, Sareh *et al.* Nanotechnology Advances in the Detection and Treatment of Cancer: an overview. *Nanotheranostics*, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 400-423, 2022. <http://dx.doi.org/10.7150/ntno.74613>.

MÜLLER, Rainer H.; MÄDER, Karsten; GOHLA, Sven. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics*, v. 50, n. 1, p. 161-177, 3 jul. 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/s0939-6411\(00\)00087-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0939-6411(00)00087-4).

MUSIELAK, Ewelina; FELICZAK-GUZIK, Agnieszka; NOWAK, Izabela. Optimization of the Conditions of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Synthesis. *Molecules*, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 2202, 28 mar. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27072202>.

NAEEM, Aisha *et al.* Predicting new drug indications for prostate cancer: the integration of an in silico proteochemometric network pharmacology platform with patient: derived primary prostate cells. *The Prostate*, [S.L.], v. 80, n. 14, p. 1233-1243, 6 ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.24050>.

NANCE, Elizabeth. Careers in nanomedicine and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, [S.L.], v. 144, p. 180-189, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2019.06.009>.

NARDI, Monica *et al.* Hydroxytyrosol oleate: a promising neuroprotective nanocarrier delivery system of oleuropein and derivatives. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 631, p. 122498, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122498>.

NARMANI, Asghar; JAFARI, Seid Mahdi. Chitosan-based nanodelivery systems for cancer therapy: recent advances. *Carbohydrate Polymers*, [S.L.], v. 272, p. 118464, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118464>.

NASCIMENTO, Flávia R.F. *et al.* Macrophage activation induced by *Orbignya phalerata* Mart. *Journal Of Ethnopharmacology*, [S.L.], v. 103, n. 1, p. 53-58, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.045>.

NASERI, Neda; VALIZADEH, Hadi; ZAKERI-MILANI, Parvin. Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: structure, preparation and application. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 305-313, 19 set. 2015. Maad Rayan Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.15171/apb.2015.043>.

NELLES, Jason L; HU, Wen-Yang; PRINS, Gail s. Estrogen action and prostate cancer. *Expert Review Of Endocrinology & Metabolism*, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 437-451, maio 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/eem.11.20>.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal Of Natural Products*, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 770-803, 12 mar. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

NISKA, Karolina *et al.* Metal nanoparticles in dermatology and cosmetology: interactions with human skin cells. *Chemico-Biological Interactions*, [S.L.], v. 295, p. 38-51, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.018>.

NIU, Qian *et al.* Clinical application of free/total PSA ratio in the diagnosis of prostate cancer in men over 50 years of age with total PSA levels of 2.0–25.0 ng ml<sup>-1</sup> in Western China. *Asian Journal Of Andrology*, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 195, 2022. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/aja202182>.

NOBRE, Camila Bezerra *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides. *European Journal Of Integrative Medicine*, [S.L.], v. 23, p. 84-89, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2018.09.009>.

NUHN, Philipp *et al.* Update on Systemic Prostate Cancer Therapies: management of metastatic castration-resistant prostate cancer in the era of precision oncology. *European Urology*, [S.L.], v. 75, n. 1, p. 88-99, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2018.03.028>.

NURMIK, Martin *et al.* In search of definitions: Cancer-associated fibroblasts and their markers. *Int. J. Cancer*, 2020, 146: 895-905. <https://doi-org.ez14.periodicos.capes.gov.br/10.1002/ijc.32193>.

OLA, Idris Olasunmbo *et al.* Prostate cancer incidence in men with prostate-specific antigen below 3 ng/ mL: the finnish randomized study of screening for prostate cancer. *International Journal Of Cancer*, [S.L.], v. 152, n. 4, p. 672-678, 15 set. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.34274>.

OLIVEIRA, João Vitor Raupp de *et al.* Polymeric nanoparticles containing babassu oil: a proposed drug delivery system for controlled release of hydrophilic compounds. *Chemistry And Physics Of Lipids*, [S.L.], v. 253, p. 105304, jul. 2023. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2023.105304>. Esse trabalho pode ser usado para justificar se chamar NPL e não CLP. Esse trabalho, também encapsula óleo de babaçu.

PALMERI, Mark L. *et al.* B-Mode and Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging of Prostate Zonal Anatomy. *Ultrasonic Imaging*, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 22-41, 23 jul. 2014. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0161734614542177>.

PANDEY, Sonia *et al.* A Recent Update: solid lipid nanoparticles for effective drug delivery. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, [S.L.], v. 1, n. 12, p. 17-33, 2022. <http://dx.doi.org/10.34172/apb.2022.007>.

PATRA, Surendra *et al.* A review on phytoestrogens: current status and future direction. *Phytotherapy Research*, [S.L.], p. 1-4, 29 maio 2023. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.7861>.

PEIRA, Elena *et al.* Solid lipid nanoparticles carrying lipophilic derivatives of doxorubicin: preparation, characterization, and in vitro cytotoxicity studies. *Journal Of Microencapsulation*, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 381-390, 18 maio 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/02652048.2016.1202342>.

PENG, Yubing *et al.* Human Stromal Cells in the Peripheral Zone of the Prostate Promote Tumorigenesis of Prostatic Cancer Stem Cells through Up-regulation of C-Kit Expression. *Journal Of Cancer*, [S.L.], v. 6, n. 8, p. 776-785, 2015. Ivyspring International Publisher. <http://dx.doi.org/10.7150/jca.9961>.

PEREIRA, Paula Tâmara Vieira Teixeira *et al.* Supplementation with babassu oil reduces fatigue and inflammation in breast cancer patients: a pilot randomized clinical trial. *Journal Of Functional Foods*, [S.L.], v. 73, p. 104105, out. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2020.104105>.

PEZARO, Carmel Jo; WOO, Henry H.; DAVIS, Ian. Prostate cancer: measuring psa. *Internal Medicine Journal*, [S.L.], v. 44, n. 5, p. 433-440, maio 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imj.12407>.

PIERI, Fábio Alessandro; MUSSI, Maria Colina Martins; MOREIRA, Maria Aparecida S. Óleo-resina de copaíba (*Copaifera sp.*): Histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2009, v. 11, n. 4, p. 465-472. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400016>.

POURMADADI, Mehrab *et al.* Innovative nanomaterials for cancer diagnosis, imaging, and therapy: drug delivery applications. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, [S.L.], v. 82, p. 104357, abr. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104357>.

PRADO, Alice Haddad do *et al.* Synthesis and Characterization of Nanostructured Lipid Nanocarriers for Enhanced Sun Protection Factor of Octyl p-methoxycinnamate. *Aaps Pharmscitech*, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 1-10, 29 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-019-1547-0>.

PURI, Anu *et al.* Lipid-Based Nanoparticles as Pharmaceutical Drug Carriers: from concepts to clinic. *Critical Reviews In Therapeutic Drug Carrier Systems*, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 523-580, 2009. <http://dx.doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v26.i6.10>.

QU, Xiaogang; ZHOU, Dong; LU, Jianpu; QIN, Duotian; ZHOU, Jun; LIU, Hai-Jun. Cancer nanomedicine in preoperative therapeutics: nanotechnology-enabled neoadjuvant chemotherapy, radiotherapy, immunotherapy, and phototherapy. *Bioactive Materials*, [S.L.], v. 24, p. 136-152, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.12.010>.

RAMPADO, Riccardo; PEER, Dan. Design of experiments in the optimization of nanoparticle-based drug delivery systems. *Journal Of Controlled Release*, [S.L.], v. 358, p. 398-419, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.05.001>.

REBELLO, Richard J. *et al.* Prostate cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-10, 4 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>.

REIS, Mysrayn Y. F. A. *et al.* Anti-Inflammatory Activity of Babassu Oil and Development of a Microemulsion System for Topical Delivery. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, [S.L.], v. 2017, p. 1-14, 2017. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/3647801>.

RIBANI, Marcelo *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 5, 771-780, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>.

RISS, T.L.; MORAVEC, R. A.; NILES, A. L. *et al.*, Cell Viability Assays. In: Markossian S, Grossman A, Brimacombe K, *et al.*, eds. *Assay Guidance Manual*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; May 1, 2013. Last Update: July 1, 2016.

RO, Jae. Y.; GRIGNON, David. J.; AYALA, Alberto G. *Atlas of Surgical Pathology of the Male Reproductive Tract*. Philadelphia, Saunders, 1997.

ROBSON, Annie-Louise *et al.* Advantages and Limitations of Current Imaging Techniques for Characterizing Liposome Morphology. *Frontiers In Pharmacology*, [S.L.], v. 9, p. 80, 6 fev. 2018. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2018.00080>.

ROSENBLUM, Daniel *et al.* Progresso e desafios para a entrega direcionada de terapias contra o câncer. *Nat Comun* 9, 1410 (2018). <https://doi.org.ez14.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41467-018-03705-y>.

SAHU, Tarun *et al.* Nanotechnology based drug delivery system: current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *Journal Of Drug Delivery Science And Technology*, [S.L.], v. 63, p. 102487, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102487>.

SALDANHA, Luís Baltazar.; CAVALCANTI, Fernanda de Barros Correia.; ARAP, Sami. Atlas de patologia da próstata. São Paulo, Sarvier, 2000.

SAMIMI, Shabnam *et al.* Chapter 3 - LipidBased Nanoparticles for Drug Delivery Systems. Characterization and Biology of Nanomaterials for Drug Delivery. Elsevier, p.47-76, 2019.

SAMPAIO, Francisco. J. B. Neoplasia prostática: conceitos anatômicos fundamentais para a compreensão da patologia benigna e maligna. Jornal Brasileiro de Urologia, v. 18, n. 3, p. 121-125, 1992.

SANATI, Mehdi *et al.* RGD-engineered nanoparticles as an innovative drug delivery system in cancer therapy. Journal Of Drug Delivery Science And Technology, [S.L.], v. 84, p. 104562, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104562>.

SÁNCHEZ, Belén G. *et al.* Combination of the natural product capsaicin and docetaxel synergistically kills human prostate cancer cells through the metabolic regulator AMP-activated kinase. Cancer Cell International, [S.L.], v. 19, n. 1, 8 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12935-019-0769-2>.

SANTOS, Alessio Moreira dos *et al.* Estimating babassu palm density using automatic palm tree detection with very high spatial resolution satellite images. Journal Of Environmental Management, [S.L.], v. 193, p. 40-51, maio 2017a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.004>.

SANTOS, Débora Silva *et al.* Nanoemulsion Improves Babassu Palm Oil (*Orbignya phalerata*) Antioxidant Properties. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2021, 64, e21190387. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190387>.

SANTOS, Débora Silva *et al.* Extraction and Evaluation of Fatty Acid Composition of *Orbignya phalerata* Martius Oils (Arecaceae) from Maranhão State, Brazil. Journal Of The Brazilian Chemical Society, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 355-362, 2013. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20130045>.

SANTOS, Débora Silva *et al.* Parâmetros de qualidade físico-química de óleos e análise morfológica de frutos e sementes da espécie *Orbignya phalerata* Martius por região ecológica. Eclética Química Journal, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 74, 5 out. 2017b. Eclética Química Journal. <http://dx.doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v41.1.2016.p74-84>.

SANTOS, José Alex A. *et al.* In Vitro and In Vivo Wound Healing and Anti-Inflammatory Activities of Babassu Oil (*Attalea speciosa* Mart. Ex Spreng., Arecaceae). Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine, [S.L.], v. 2020, p. 1-10, 24 set. 2020. <http://dx.doi.org/10.1155/2020/8858291>.

SANTOS, Karen Loraine Macena *et al.* Photodynamic potential of hexadecafluoro zinc phthalocyanine in nanostructured lipid carriers: physicochemical characterization, drug delivery and antimicrobial effect against *Candida albicans*. Lasers In Medical Science,

[S.L.], v. 37, n. 8, p. 3183-3191, 20 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-022-03594-0>.

SANTOS, Marcell de Oliveira *et al.* Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. Revista Brasileira de Cancerologia, [S.L.], v. 69, n. 1, p. e-213700, 6 fev. 2023. Revista Brasileira De Cancerologia (RBC). <http://dx.doi.org/10.32635/2176-9745.rbc.2023v69n1.3700>.

SAUER, Ann Katrin *et al.* Zinc Deficiency in Men Over 50 and Its Implications in Prostate Disorders. Frontiers in oncology, 2020, 10, 1293. <https://doi.org.ez14.periodicos.capes.gov.br/10.3389/fonc.2020.01293>.

SCHIRRMACHER, Volker. From chemotherapy to biological therapy: a review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (review). International Journal Of Oncology, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 407-419, 10 dez. 2018. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/ijo.2018.4661>.

SEKHOACHA, Mamello *et al.* Prostate Cancer Review: genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. Molecules, [S.L.], v. 27, n. 17, p. 5730, 5 set. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27175730>.

SELMAN, Steven H. The McNeal Prostate: a review. Urology, [S.L.], v. 78, n. 6, p. 1224-1228, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2011.07.1395>.

SENGUL, Ayse Busra; ASMATULU, Eylem. Toxicity of metal and metal oxide nanoparticles: a review. Environmental Chemistry Letters, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 1659-1683, 23 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-020-01033-6>.

SEZER, Ali Demir; CEVHER, Erdal. Topical drug delivery using chitosan nano- and microparticles. Expert Opinion On Drug Delivery, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 1129-1146, 9 jul. 2012. Informa Healthcare. <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2012.702752>.

SHARMA, Navneet; MADAN, Parshotam; LIN, Senshang. Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: a co-surfactant study. Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 404-416, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2015.09.004>.

SHAZLY, Gamal A. Ciprofloxacin Controlled-Solid Lipid Nanoparticles: characterization, in vitro release, and antibacterial activity assessment. Biomed Research International, [S.L.], v. 2017, p. 1-9, 2017. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/2120734>.

SHEN, Jie *et al.* Therapeutic polymeric nanomedicine: gsh-responsive release promotes drug release for cancer synergistic chemotherapy. Rsc Advances, [S.L.], v. 9, n. 64, p. 37232-37240, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9ra07051f>.

SHORE, Neal D. *et al.* A comparison of prostate health index, total PSA, %free PSA, and proPSA in a contemporary US population—The MiCheck-01 prospective trial. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 683.e1-683.e10, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2020.03.011>.

SICHERT, Jasmina A. *et al.* Quantum Size Effect in Organometal Halide Perovskite Nanoplatelets. *Nano Letters*, [S.L.], v. 15, n. 10, p. 6521-6527, 3 set. 2015. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b02985>.

SIEGEL, Rebecca L.; MILLER, Kimberly D.; JEMAL, Ahmedin. Cancer statistics, 2020. *Ca: A Cancer Journal for Clinicians*, [S.L.], v. 70, n. 1, p. 7-30, jan. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21590>.

SILVA, Bernadete Pereira da; PARENTE, José Paz. An anti-inflammatory and immunomodulatory polysaccharide from *Orbignya phalerata*. *Fitoterapia*, [S.L.], v. 72, n. 8, p. 887-893, dez. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x\(01\)00338-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x(01)00338-0).

SILVA, Livia do Carmo *et al.* Antifungal activity of Copaiba resin oil in solution and nanoemulsion against *Paracoccidioides* spp. *Brazilian Journal Of Microbiology*, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 125-134, 12 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-019-00201-3>.

SILVA, Lucilene Pinheiro *et al.* A prática da agricultura familiar: um estudo de caso no povoado flexal, município de penalva/ma / the practice of family farming. *Brazilian Journal Of Development*, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 96390-96410, 11 out. 2021. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n10-112>.

SILVA, Michael Jackson Ferreira da *et al.* Moisturizing emulsion with *Attalea speciosa* (babassu) oil as an alternative treatment for cutaneous xerosis in leprosy. *Brazilian Journal Of Health Review*, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 6285-6298, 27 mar. 2023. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv6n2-146>.

SILVA, Michael Jackson Ferreira da *et al.* Development and characterization of a babassu nut oil-based moisturizing cosmetic emulsion with a high sun protection factor. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 10, n. 44, p. 26268-26276, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0ra00647e>.

SILVA, Rodrigo Amaro da Fonseca e *et al.*, Metodologia de avaliação socioambiental participativa, integrando o saber acadêmico e o popular para um planejamento sustentável para o lago Iripixi, Oriximiná, Estado do Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude, Ananindeua*, v. 5, n. 3, p. 25-38, set. 2014. Disponível em <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2176-62232014000300025&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232014000300025&lng=pt&nrm=iso)>. acessos em 15 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232014000300004>.

SINGLA, Rajeev K. *et al.* Natural Products for the Management of Castration-Resistant Prostate Cancer: special focus on nanoparticles based studies. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, [S.L.], v. 9, n. 1, 5 nov. 2021. <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2021.745177>.

SMITH, Taylor *et al.* Application of smart solid lipid nanoparticles to enhance the efficacy of 5-fluorouracil in the treatment of colorectal cancer. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 16989, 12 out. 2020. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-73218-6>.

SOBOTTA, Johannes. *Atlas de anatomia Humana*. 21<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, v. 2. ISBN 3437419404.

SOCKOLOSKY, Jonathan T. *et al.* Selective targeting of engineered T cells using orthogonal IL-2 cytokine-receptor complexes. *Science*, [S.L.], v. 359, n. 6379, p. 1037-1042, 2 mar. 2018. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aar3246>.

SOERJOMATARAM, Isabelle; BRAY, Freddie. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020–2070. *Nat Rev Clin Oncol* 18, 663–672 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00514-z>.

SOHAIB, Muhammad *et al.* Physicochemical Characterization of Chitosan-Decorated Finasteride Solid Lipid Nanoparticles for Skin Drug Delivery. *Biomed Research International*, [S.L.], v. 2022, p. 1-10, 6 ago. 2022. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/7792180>.

SONG, Wantong; DAS, Manisit; CHEN, Xuesi. Nanotherapeutics for Immunology: a crossroad for new paradigms. *Trends In Cancer*, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 288-298, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trecan.2020.01.011>.

SOUZA, Pedro A.V. Reis de *et al.* Effects of a nanocomposite containing *Orbignya speciosa* lipophilic extract on Benign Prostatic Hyperplasia. *Journal Of Ethnopharmacology*, [S.L.], v. 135, n. 1, p. 135-146, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.03.003>.

SROUGI, Miguel; DALL'OGGIO, Marcos; ANTUNES, Alberto. Azoubel. Hiperplasia Prostática Benigna (HPB): Aspectos Morfológicos e Fisiopatológicos. In: Srougi M, Dall'Oglio M, Antunes AA, editors. *Hiperplasia Prostática Benigna*. São Paulo: Atheneu; 2010. p. 25-35

STEINER, Denise; BUNJES, Heike. Influence of process and formulation parameters on the preparation of solid lipid nanoparticles by dual centrifugation. *International Journal Of Pharmaceutics: X*, [S.L.], v. 3, p. 100085, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpx.2021.100085>.

STEVAUX, Rafael de Souza; ALVES, Alexandre Florindo. SUBSÍDIOS AO USO DE *Copaifera langsdorffii* Desf. PARA PRODUÇÃO DE ÓLEO. *Revista Brasileira de Agroecologia*, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 322-338, 21 dez. 2022 <http://dx.doi.org/10.33240/rba.v17i4.23558>.

SUBHAPRADHA, Namasivayam *et al.* Polymer coated mesoporous ceramic for drug delivery in bone tissue engineering. *International Journal Of Biological Macromolecules*, [S.L.], v. 110, p. 65-73, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.146>.

SUBROTO, Edy ; ANDOYO, Robi; INDIARTO, Rossi. Solid Lipid Nanoparticles: review of the current research on encapsulation and delivery systems for active and antioxidant compounds. *Antioxidants*, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 633, 3 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12030633>.

SUI, Yi *et al.* Phage display screening identifies a prostate specific antigen (PSA)-/lo prostate cancer cell specific peptide to retard castration resistance of prostate cancer. *Translational Oncology*, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 101020, mar. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101020>.

SUN, Ying-Hao; *et al.* Percent free prostate-specific antigen is effective to predict prostate biopsy outcome in Chinese men with prostate-specific antigen between 10.1 and 20.0 ng ml<sup>-1</sup>. *Asian Journal Of Andrology*, [S.L.], v. 17, n. 6, p. 1017, 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1008-682x.150846>.

SUNG, Hyuna *et al.* Global Cancer Statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Ca: A Cancer Journal for Clinicians*, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>.

TAITT, Harold Evelyn. Global Trends and Prostate Cancer: a review of incidence, detection, and mortality as influenced by race, ethnicity, and geographic location. *American Journal Of Men'S Health*, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 1807-1823, 11 set. 2018. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1557988318798279>.

TAKECHI-HARAYA, Yuki *et al.* Current Status and Challenges of Analytical Methods for Evaluation of Size and Surface Modification of Nanoparticle-Based Drug Formulations. *Aaps Pharmscitech*, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 150, 20 maio 2022. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-022-02303-y>.

TANIGUCHI Nori *et al.* On the basic concept of nano-technology; Proceedings of the International Conference on Production Engineering; Tokyo, Japan. 26–29 August 1974.

TEIXEIRA, Gerson Lopes; IBAÑEZ, Elena; BLOCK, Jane Mara. Emerging Lipids from Arecaceae Palm Fruits in Brazil. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2022, 27(13), 4188. <https://doi-org.ez14.periodicos.capes.gov.br/10.3390/molecules27134188>.

THAMBIRAJ, Selvarathinam; VIJAYALAKSHMI, R.; SHANKARAN, Ravi Dhesingh. An effective strategy for development of docetaxel encapsulated gold nanoformulations for treatment of prostate cancer. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-10, 2 fev. 2021. Springer <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-80529-1>.

THOMFORD, Nicholas *et al.* Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: innovations for novel drug discovery. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 1578, 25 maio 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19061578>.

THORN, Chelsea R. *et al.* Enhancing the therapeutic use of biofilm-dispersing enzymes with smart drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, [S.L.], v. 179, p. 113916, dez. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2021.113916>.

TIAN, Bingren; HUA, Shiyao; LIU, Jiayue. Multi-functional chitosan-based nanoparticles for drug delivery: recent advanced insight into cancer therapy. *Carbohydrate Polymers*, [S.L.], v. 315, p. 120972, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120972>.

TOBOUTI, Priscila Lie *et al.* Antimicrobial activity of copaiba oil: a review and a call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [S.L.], v. 94, p. 93-99, out. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.092>.

TRINDADE, Rafaela da; SILVA, Joyce da; SETZER, William. *Copaifera* of the Neotropics: a review of the phytochemistry and pharmacology. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 1511, 18 maio 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19051511>.

TUNDISI, Louise Lacalendola *et al.* Nanotechnology as a tool to overcome macromolecules delivery issues. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, [S.L.], v. 222, p. 113043, fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.113043>.

URASAKI, Yasuyo *et al.* Fast-Acting and Receptor-Mediated Regulation of Neuronal Signaling Pathways by Copaiba Essential Oil. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 21, n. 7, p. 2259, 25 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21072259>.

URIOSTE, Daniele *et al.* Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. *Química Nova*, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 407-412, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000200038>.

VAN DIE, M. Diana *et al.* A Placebo-Controlled Double-Blinded Randomized Pilot Study of Combination Phytotherapy in Biochemically Recurrent Prostate Cancer. *The Prostate*, [S.L.], v. 77, n. 7, p. 765-775, 9 fev. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pros.23317>.

VARGAS, Fabiano de S. *et al.* Biological Activities and Cytotoxicity of Diterpenes from *Copaifera* spp. Oil-resin s. *Molecules*, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 6194-6210, 9 abr. 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules20046194>.

VARGAS, Hebert Alberto *et al.* Normal Central Zone of the Prostate and Central Zone Involvement by Prostate Cancer: clinical and mr imaging implications. *Radiology*, [S.L.], v. 262, n. 3, p. 894-902, mar. 2012. Radiological Society of North America (RSNA). <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.11110663>.

VASAN, Neil; BASELGA, José; HYMAN, David M.. A view on drug resistance in cancer. *Nature*, [S.L.], v. 575, n. 7782, p. 299-309, 13 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-019-1730-1>.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C. O gênero copaifera L.. *Quím Nova* [Internet]. 2002, v. 25, n. 2, p. 273 - 86. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>.

VIEIRA, Giovana Miranda *et al.* Correlation between Genomic Variants and Worldwide Epidemiology of Prostate Cancer. *Genes*, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1039, 10 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/genes13061039>.

VIEIRA, Italo Rennan Sousa *et al.* Development and in vivo evaluation of the moisturising potential of cosmetic formulations containing Babassu (*Orbignya phalerata* Martius) oily extract. *Journal Biomedical And Biopharmaceutical Research*, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 204-219, dez. 2017. ALIES. <http://dx.doi.org/10.19277/bbr.14.2.163>.

VINHAL, Jonas O.; LIMA, Claudio F.; BARBOSA, Luiz C. A. Analytical pyrolysis of the kernel and oil of babassu palm (*Orbignya phalerata*). *Journal Of Analytical And Applied Pyrolysis*, [S.L.], v. 107, p. 73-81, maio 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2014.02.005>.

WAGASKAR, Vinayak G. *et al.* A 4K score/ MRI -based nomogram for predicting prostate cancer, clinically significant prostate cancer, and unfavorable prostate cancer. *Cancer Reports*, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 1-2, 4 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cnr2.1357>.

WAHAB, Nurul Azwa Abd *et al.* Mechanism of Anti-Cancer Activity of Curcumin on Androgen-Dependent and Androgen-Independent Prostate Cancer. *Nutrients*, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 679, 2 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu12030679>.

WANG, Xiaoyou *et al.* Smart drug delivery systems for precise cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 4098-4121, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2022.08.013>.

WANG, Xiupeng *et al.* Stimulation of In Vivo Antitumor Immunity with Hollow Mesoporous Silica Nanospheres. *Angewandte Chemie International Edition*, [S.L.], v. 55, n. 5, p. 1899-1903, 25 set. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201506179>.

WATSON, Philip A.; ARORA, Vivek K.; SAWYERS, Charles L. Emerging mechanisms of resistance to androgen receptor inhibitors in prostate cancer. *Nature Reviews Cancer*, [S.L.], v. 15, n. 12, p. 701-711, 13 nov. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc4016>.

WESTESEN, Kirsten; SIEKMANN, Britta; KOCH, Michel H. J. Investigations on the physical state of lipid nanoparticles by synchrotron radiation X-ray diffraction. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 93, n. 1-3, p. 189-199, maio 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(93\)90177-h](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(93)90177-h).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. WHO; 2020. Acesso em: 22 de maio de 2023. Disponível em: <http://who.int/data/gho/data/themes/mortality-andglobal-health-estimates/ghe-leadingcauses-of-death>.

WU, Jun. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: the significance of the concept and methods to enhance its application. *Journal Of Personalized Medicine*, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 771, 6 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jpm11080771>.

XIAO, Kai *et al.* The effect of surface charge on in vivo biodistribution of PEG-oligocholeic acid based micellar nanoparticles. *Biomaterials*, [S.L.], v. 32, n. 13, p. 3435-3446, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.021>.

XIE, Shuyu *et al.* Preparation, characterization and pharmacokinetics of enrofloxacin-loaded solid lipid nanoparticles: influences of fatty acids. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, [S.L.], v. 83, n. 2, p. 382-387, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.12.014>.

YAGOUBI, Amin Seyed *et al.* Preparation, characterization and evaluation of physicochemical properties of phycocyanin-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers. *Journal Of Food Measurement And Characterization*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 378-385, 11 out. 2017. <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-017-9650-y>.

YAMADA, Yasutaka; BELTRAN, Himisha. The treatment landscape of metastatic prostate cancer. *Cancer Letters*, [S.L.], v. 519, p. 20-29, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2021.06.010>.

YAN, Qiuxia *et al.* Single-cell RNA-sequencing technology demonstrates the heterogeneity between aged prostate peripheral and transitional zone. *Clinical And Translational Medicine*, [S.L.], v. 12, n. 10, 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ctm2.1084>.

YEGANEH, Ehsan Mehrabani; BAGHERI, Hossein; MAHJOUR, Reza. Preparation, Statistical Optimization and In-vitro Characterization of a Dry Powder Inhaler (DPI) Containing Solid Lipid Nanoparticles Encapsulating Amphotericin B: ion paired complexes with distearoyl phosphatidylglycerol. *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 1-10, set. 2020. <http://dx.doi.org/10.22037/ijpr.2019.15208.12963>.

YEO, Sooho *et al.* Solid Lipid Nanoparticles of Curcumin Designed for Enhanced Bioavailability and Anticancer Efficiency. *Acs Omega*, [S.L.], v. 7, n. 40, p. 35875-35884, 28 set. 2022. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.2c04407>.

YOSHIKAWA, Takuma *et al.* Rapid and continuous accumulation of nitric oxide-releasing liposomes in tumors to augment the enhanced permeability and retention

(EPR) effect. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 565, p. 481-487, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.043>.

YU, Haitao *et al.* Confined synthesis of homogeneous Tetrakis(triphenyl phosphine) palladium within hollow porous polymeric nanospheres for catalysis application. *Microporous And Mesoporous Materials*, [S.L.], v. 322, p. 111155, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.111155>.

ZAHIN, Nuzhat *et al.* Nanoparticles and its biomedical applications in health and diseases: special focus on drug delivery. *Environmental Science And Pollution Research*, [S.L.], v. 27, n. 16, p. 19151-19168, 11 maio 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-019-05211-0>.

ZAZZO, Di *et al.* Estrogen Receptors in Epithelial-Mesenchymal Transition of Prostate Cancer. *Cancers*, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1418, 23 set. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers11101418>.

ZHANG, Xiangyu *et al.* Quercetin Enhanced Paclitaxel Therapeutic Effects Towards PC-3 Prostate Cancer Through ER Stress Induction and ROS Production. *Oncotargets And Therapy*, [S.L.], v. 13, p. 513-523, jan. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ott.s228453>.

ZHANG, Ye *et al.* Nanotechnology in cancer diagnosis: progress, challenges and opportunities. *Journal Of Hematology & Oncology*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-10, dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-019-0833-3>.

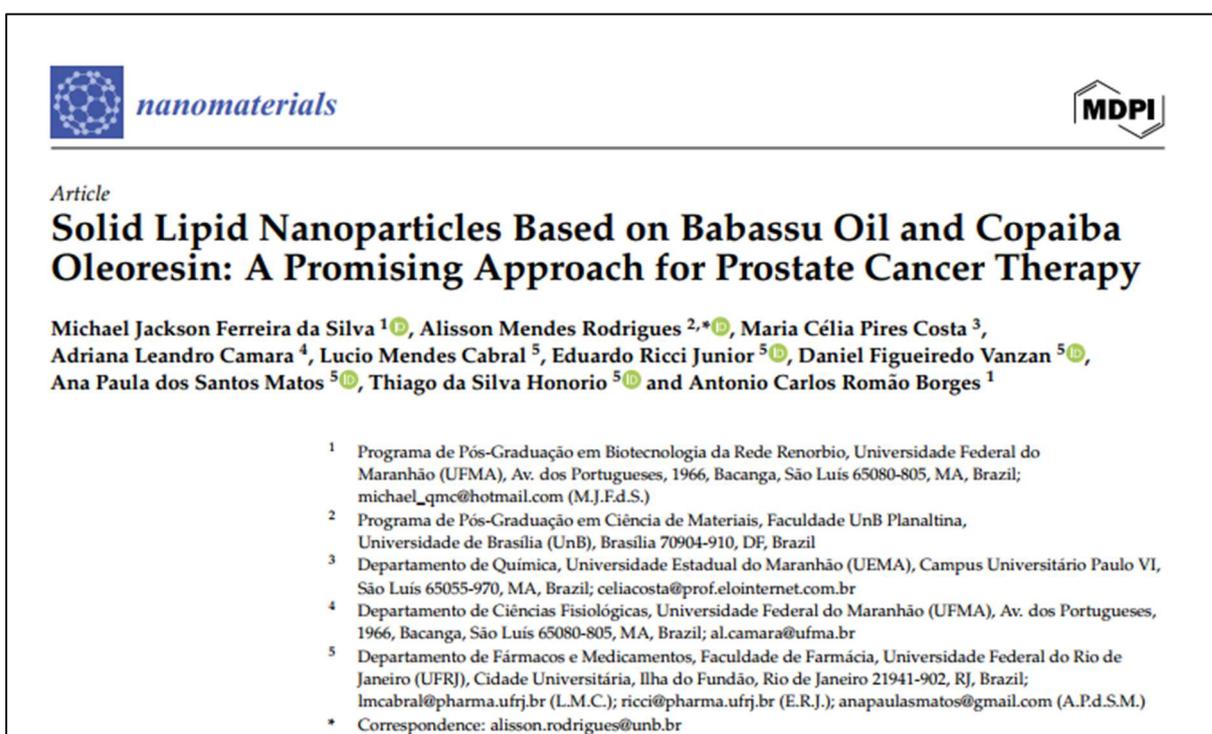
ZHANG, Zexian *et al.* Polymeric nanospheres with tunable sizes, water dispersibility, and thermostability from heating-enabled micellization of polysulfone-block-polyethylene glycol. *Journal Of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, [S.L.], v. 56, n. 10, p. 769-777, 12 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/polb.24596>.

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Phytocannabinoids: chromatographic screening of cannabinoids and loading into lipid nanoparticles. *Molecules*, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 2875, 22 mar. 2023. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28062875>.

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Anti-inflammatory and anti-cancer activity of citral: optimization of citral-loaded solid lipid nanoparticles (sln) using experimental factorial design and lumisizer®. *International Journal Of Pharmaceutics*, [S.L.], v. 553, n. 1-2, p. 428-440, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.10.065>.

ZIMMERMAM-FRANCO, Danielle *et al.* Antifungal Activity of *Copaifera langsdorffii* Desf Oil-resin against Dermatophytes. *Molecules*, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 12561-12570, 11 out. 2013. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules181012561>.

## Anexo A – produtos derivados da tese (artigo)



## Anexo B – produtos derivados da tese (patente)



870240011823  
09/02/2024 15:37  
  
29409162315673301

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 002781 7

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS

**Resumo:** A presente invenção trata de nanopartículas lipídicas sólidas contendo óleo de babaçu (*Attalea speciosa* sinonímia *Orbignya phalerata*) e óleo de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) com aplicação na área da saúde, mais especificamente na área de nanossistemas carreadores com fins terapêuticos. Os presentes óleos babaçu e copaíba por apresentar ação antitumoral, anti-inflamatórias e antimicrobiana, aliado ao potencial oferecido pelas nanopartículas lipídicas sólidas, como excelentes vantagens na entrega direcionada, materiais biocompatíveis, não imunogênicos, de baixo custo e métodos de produção facilmente escaláveis para escala industrial, podem ser usados como estratégia no tratamento do câncer de próstata. A presente invenção, também pode ser usada para incorporar em sua matriz lipídica e carrear outras moléculas ou biomoléculas e fármacos com finalidade terapêutica, tendo interesse nas áreas de biotecnologias, químicas e farmacêuticas.