

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PHBV CARREGADAS COM EXTRATOS DE *Tabebuia roseoalba*

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PHBV NANOPARTICLES LOADED WITH *Tabebuia roseoalba* EXTRACTS

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PHBV CARGADAS CON EXTRACTOS DE *Tabebuia roseoalba*

Tatiane Batista dos Santos

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0000-0002-5807-4614

Kelisson Alves Sousa

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0009-0002-0705-5517

Marianne Celestino Andrade

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0009-0005-4069-040X

Enzo Henrike Bitencourt de Moraes

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0009-0001-2245-7947

Victória Garcia Peres

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0009-0009-9492-7360

Pedro Henrique da Silva Rodrigues

Universidade Tiradentes | Aracaju, Sergipe, Brasil
ORCID: 0009-0005-5492-713X



978-65-84528-60-4



10.53524/lit.edt.978-65-84528-60-4/10

Submissão 31/12/25

Publicação 12/01/26

Como citar SANTOS, T. B. *et al.* Atividade antimicrobiana de nanopartículas de PHBV carregadas com extratos de *Tabebuia roseoalba*. In: FONTES, F. L. L.; SILVA, J. S. (Org). **Ciência, Tecnologia, Inovação e Saberes Aplicados à Saúde**. Teresina: Literacia Científica Editora & Cursos, 2025, p. 99-109.

RESUMO

OBJETIVO: Desenvolver nanopartículas à base de PHBV contendo extratos de *T. roseoalba* e avaliá-las quanto à atividade antimicrobiana. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Trata-se de um estudo *in vitro*. Folhas de *T. roseoalba* foram coletadas em Goiânia–GO, identificadas botanicamente e submetidas à extração por maceração a frio utilizando etanol absoluto ou acetato de etila, seguida de tratamento por ultrassom e evaporação do solvente. A atividade antimicrobiana foi avaliada frente a *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa* e *E. coli*, por meio da CIM. As nanopartículas de PHBV purificadas foram obtidas pela técnica de miniemulsão/evaporação de solvente, com e sem incorporação dos extratos vegetais, e caracterizadas por DLS e AFM. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A extração etanólica apresentou melhor rendimento de compostos bioativos. A incorporação dos extratos resultou em nanopartículas estáveis e homogêneas, confirmando a adequação do PHBV como matriz biodegradável. As nanopartículas funcionalizadas com extrato etanólico exibiram maior atividade antimicrobiana, com valores de CIM de 39,06 µg/mL frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa* e 78,12 µg/mL frente a *E. coli*, sugerindo potencial terapêutico promissor. **CONCLUSÃO:** A incorporação de extratos de *T. roseoalba* em nanopartículas biodegradáveis de PHBV mostrou-se uma estratégia promissora em modelo *in vitro* para potencializar a atividade antimicrobiana. **PALAVRAS-CHAVE:** Nanopartículas poliméricas. *Tabebuia roseoalba*. Atividade antimicrobiana. Polímeros biodegradáveis. Concentração inibitória mínima.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To develop PHBV-based nanoparticles containing *T. roseoalba* extracts and evaluate their antimicrobial activity. **METHODS:** Leaves of *T. roseoalba* were collected in Goiânia–GO, botanically identified, and subjected to cold maceration extraction using absolute ethanol or ethyl acetate, followed by ultrasound treatment and solvent evaporation. Antimicrobial activity was evaluated against *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa*, and *E. coli* by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). Purified PHBV nanoparticles were obtained using the miniemulsion/solvent evaporation technique, with and without incorporation of plant extracts, and characterized by dynamic light scattering (DLS) and atomic force microscopy (AFM). **RESULTS AND DISCUSSION:** Ethanolic extraction showed a higher yield of bioactive compounds. Extract incorporation resulted in stable and homogeneous nanoparticles, confirming the suitability of PHBV as a biodegradable matrix. Nanoparticles functionalized with ethanolic extract exhibited enhanced antimicrobial activity, with MIC values of 39.06 µg/mL against *S. aureus* and *P. aeruginosa* and 78.12 µg/mL against *E. coli*, suggesting promising therapeutic potential. **CONCLUSION:** The incorporation of *T. roseoalba* extracts into biodegradable PHBV nanoparticles represents a promising *in vitro* strategy to enhance antimicrobial activity. **KEYWORDS:** Polymeric nanoparticles. *Tabebuia roseoalba*. Antimicrobial activity. Biodegradable polymers. Minimum inhibitory concentration.

RESUMEN

OBJETIVO: Desarrollar nanopartículas a base de PHBV que contengan extractos de *T. roseoalba* y evaluar su actividad antimicrobiana. **MÉTODOS:** Las hojas de *T. roseoalba* fueron recolectadas en Goiânia–GO, identificadas botánicamente y sometidas a extracción por maceración en frío utilizando etanol absoluto o acetato de etilo, seguida de tratamiento por ultrasonido y evaporación del solvente. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa* y *E. coli* mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM). Las nanopartículas de PHBV purificadas se obtuvieron mediante la técnica de miniemulsión/evaporación del solvente, con y sin incorporación de extractos vegetales, y se caracterizaron por dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía de fuerza atómica (AFM). **RESULTADOS Y DISCUSIÓN:** La extracción etanólica presentó mayor rendimiento de compuestos bioactivos. La incorporación de los extractos dio lugar a nanopartículas estables y homogéneas, confirmando la idoneidad del PHBV como matriz biodegradable. Las nanopartículas funcionalizadas con extracto etanólico mostraron mayor actividad antimicrobiana, con valores de CIM de 39,06 µg/mL frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa* y de 78,12 µg/mL frente a *E. coli*, lo que sugiere un potencial terapéutico prometedor. **CONCLUSIÓN:** La incorporación de extractos de *T. roseoalba* en nanopartículas biodegradables de PHBV se presenta como una estrategia prometedora en modelo *in vitro* para potenciar la actividad antimicrobiana. **PALABRAS CLAVE:** Nanopartículas poliméricas. *Tabebuia roseoalba*. Actividad antimicrobiana. Polímeros biodegradables. Concentración inhibitoria mínima.

1. INTRODUÇÃO

O uso excessivo e inadequado de antibióticos tem contribuído para o surgimento e a disseminação global de microrganismos multirresistentes. Diversos grupos microbianos, incluindo bactérias, fungos, vírus, parasitas e protozoários, desenvolveram mecanismos de resistência, configurando um dos principais desafios contemporâneos à saúde pública em escala mundial (RAI et al., 2017). A presença de bactérias multirresistentes compromete a eficácia da antibioticoterapia disponível, resultando em buscas por novos agentes antimicrobianos capazes de superar a resistência a múltiplos fármacos (ROCA et al., 2015). Nesse cenário, a associação de extratos vegetais com nanopartículas desponta como uma estratégia promissora, uma vez que pode proporcionar atividade antimicrobiana mais direcionada e eficaz, contribuindo para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas no enfrentamento de patógenos multirresistentes (ALWAN et al., 2016).

Nesse contexto, as nanopartículas são caracterizadas por estruturas em escala nanométrica, com dimensões compreendidas entre 1 e 100 nm, cuja aplicação tecnológica se estende a diversas áreas do conhecimento, especialmente à área médica, com ênfase no desenvolvimento de sistemas para diagnóstico e fins terapêuticos (SULTANA et al., 2022; MITRAGOTRI; LAHERI, 2009). Formulações micro e nanométricas têm sido empregadas como sistemas de liberação controlada, permitindo a proteção e a preservação de princípios ativos por meio de diferentes agentes encapsulantes, os quais contribuem para o aumento da estabilidade físico-química e da eficácia biológica dessas moléculas. Assim, observa-se um crescente interesse no uso de agentes encapsulantes a base de polímeros biodegradáveis de origem natural que apresentam menor impacto ambiental, redução da geração de resíduos e maior biocompatibilidade, demonstrando como alternativas promissoras para aplicações biomédicas (KUROWIAK, J.; KLEKIEL, T.; BĘDZINSKI, R, 2023).

Nesse cenário, dentre os materiais comumente empregados como agentes encapsulantes tais como ácido polilático, policaprolactona, polietilenoglicol e poli-hidroxibutirato, destaca-se o poli(3-hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), um copolímero pertencente à classe dos poliésteres, produzido por fermentação bacteriana. O PHBV apresenta ampla versatilidade de aplicação, sendo utilizado na fabricação de embalagens para defensivos e insumos agrícolas, sistemas de liberação controlada de fármacos e filmes destinados à embalagem de alimentos (POSADOWSKA; BRZYCHCZY-WŁOCH; PAMUŁA, 2016; VENKATESH et al., 2015; HØIBY, 2017; RAO et al., 2018). Com o objetivo de proteger e estabilizar princípios ativos, bem como otimizar sua biodisponibilidade, diversas técnicas de encapsulamento vêm sendo desenvolvidas, possibilitando a modulação do perfil de liberação e a melhoria do desempenho terapêutico dos sistemas poliméricos.

A associação entre extratos vegetais e nanopartículas configura um importante sistema de liberação controlada de substâncias com potencial atividade biológica. Por meio desses nanocarreadores, os compostos bioativos podem ser direcionados e liberados em alvos específicos, como tumores ou focos infecciosos, com a vantagem de reduzir ou eliminar efeitos colaterais da terapêutica sistêmica que atuam sobre as células-alvo e não permanecem livres na circulação (SHOUSHARI; POORMOGHADAM; FARBOD, 2017). A busca por novos agentes farmacologicamente ativos provenientes de fontes naturais, como fermentações microbianas e extratos de plantas, tem levado à descoberta de diversos fármacos clinicamente úteis, que desempenham papel fundamental no tratamento de diferentes patologias (SULTANA et al., 2022).

O uso de produtos naturais na terapêutica remonta a milhares de anos, quando extratos vegetais eram empregados por civilizações antigas no tratamento de diversas doenças (OLMSTEAD et al., 2009). Fatores como o alto custo de medicamentos industrializados, o acesso limitado à assistência médica e a percepção de menor agressividade dos produtos naturais contribuem para o uso frequente desses recursos na área da saúde (SANTOS, 2014).

Nesse contexto, espécies da família *Bignoniaceae* destacam-se por sua rica composição química, incluindo lapachol, naftoquinonas, mangiferina e flavonoides (SIDJUI et al., 2014). Esses metabólitos secundários estão associados a diversas atividades biológicas, como ações antimalárica, anti-inflamatória, antiviral, antifúngica, antimicrobiana e antitumoral (JAIN et al., 2012). A família compreende cerca de 120 gêneros e aproximadamente 840 espécies, distribuídas na América do Sul e na África, sendo o Brasil um importante centro de diversidade, com cerca de 32 gêneros e 350 espécies registradas (PEREYRA et al., 2021).

Entre essas espécies, destaca-se *Tabebuia roseoalba*, conhecida como ipê-branco, nativa do Cerrado e do Pantanal brasileiros. Estudos relatam atividade antinociceptiva associada ao isolamento de icariside 4 da casca da planta (FERREIRA-JUNIOR et al., 2015), além de atividade antimicrobiana de extratos da casca, folhas e caule (SILVA et al., 2014). Desta forma, foram descritas atividades citotóxicas e antimicrobianas de microrganismos endofíticos isolados da espécie, além do potencial uso como alternativa no tratamento da gota, com efeitos anti-inflamatórios e anti-hiperuricêmicos (BARBOSA FILHO et al., 2004).

Entretanto, apesar dos avanços no uso de extratos vegetais e nanossistemas poliméricos com atividade antimicrobiana, ainda permanecem lacunas quanto ao desenvolvimento de nanopartículas biodegradáveis livres de metais, sobretudo no que se refere à eficiência antimicrobiana, à estabilidade dos sistemas e ao potencial de redução de toxicidade. Nesse contexto, o PHBV justifica-se por sua versatilidade, compatibilidade e capacidade de modulação da liberação de princípios ativos, enquanto a seleção de *T. roseoalba* destaca-se por ser rica devido a sua composição fitoquímica e atividades biológicas já descritas, configurando um sistema inovador e sustentável frente à resistência microbiana.

Desta forma, o uso de nanopartículas poliméricas à base de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBV), destaca-se como estratégia promissora para a veiculação de extratos vegetais na área de *drug delivery*. Esses sistemas podem melhorar o desempenho de substâncias bioativas e contribuir para a superação das limitações dos antibióticos disponíveis, reduzindo efeitos adversos e aumentando a eficácia terapêutica frente a microrganismos multirresistentes.

Assim, este estudo teve por objetivo desenvolver nanopartículas à base de PHBV contendo extratos de *T. roseoalba* e avaliá-las quanto à atividade antimicrobiana *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental *in vitro*, de caráter exploratório, voltado ao desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de PHBV contendo extratos de *Tabebuia roseoalba* e à avaliação da sua atividade antimicrobiana.

2.1 Obtenção do material vegetal

As amostras de folhas de *Tabebuia roseoalba* foram coletadas em Goiânia, GO (S 16°41'32"; O 49°18'48"), em dezembro de 2016, e identificadas por especialista, com exsicata depositada no herbário da Universidade Tiradentes (MAC: 0840). Os extratos etanólico e de acetato de etila foram obtidos conforme SILVA et al. (2014), com modificações. As folhas secas (50 °C) e pulverizadas (16–32 mesh) foram submetidas à maceração a frio (1 g/10 mL) por sete dias, seguida de extração assistida por ultrassom (2 h, 25 °C). Após centrifugação e filtração, os solventes foram evaporados, e os extratos secos foram armazenados sob refrigeração. O rendimento foi calculado com base na massa seca obtida em relação à massa inicial do material vegetal.

2.2 Amostras bacterianas

A atividade antimicrobiana dos extratos e das nanopartículas foi avaliada frente as linhagens clínicas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (*S. aureus* ATCC 43300 e ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (INCQS/FIOCRUZ). As bactérias foram reativadas em caldo BHI, cultivadas em ágar Mueller-Hinton e incubadas a 35 °C por 18–24 h, sendo estocadas a -20 °C em leite desnatado a 10% acrescido de glicerol a 10%.

2.3 Teste de concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 poços, conforme CLSI (2017) e SILVA et al. (2014). As suspensões bacterianas foram ajustadas a 0,5 McFarland e diluídas para $\sim 10^4$ UFC/mL. A gentamicina foi utilizada como controle positivo. Após incubação a 35 °C por 24 h, a viabilidade bacteriana foi avaliada pela adição de 2,3,5-trifeniltetrazólio cloreto (TTC) a 0,5%, considerando-se crescimento pela mudança de coloração.

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, em placas de 96 poços, utilizando TTC (2,3,5-trifeniltetrazólio cloreto) a 0,5% como indicador de viabilidade metabólica, conforme protocolos adaptados de ensaios colorimétricos para extratos e nanopartículas. Foram incluídos controles de crescimento (bactéria + meio sem amostra), controles de solvente (meio + solvente na mesma concentração final empregada nas formulações, sem bactérias) e controles de nanopartículas (meio + nanopartículas + TTC sem inoculação bacteriana), a fim de verificar possível interferência óptica ou de cor inerente às formulações na leitura do ensaio.

2.4 Desenvolvimento e rendimento das nanopartículas poliméricas

2.4.1 Purificação do PHBV

O PHBV foi purificado segundo protocolo adaptado de GILFRIDA (2013). O polímero foi dissolvido em clorofórmio, filtrado e precipitado em heptano, seguido de evaporação do solvente residual. O procedimento foi repetido até obtenção do polímero purificado.

2.4.2 Nanopartículas de PHBV

As nanopartículas de PHBV foram preparadas pelo método de miniemulsão, conforme MUSYANOVYCH et al. (2008), com adaptações. O polímero foi dissolvido em clorofórmio (fase orgânica) e emulsificado em fase aquosa contendo SDS e hexadecano, seguida de homogeneização por Turrax e ultrassom. A remoção do solvente ocorreu por evaporação sob agitação. As partículas foram purificadas por centrifugação em duas etapas, conforme descrito por TADA et al. (2010). O mesmo procedimento foi aplicado para as nanopartículas contendo os extratos vegetais.

2.4.3 Caracterização das nanopartículas

O tamanho das partículas das formulações obtidas (PHBV puro, PHBV-extrato etanólico e PHBV-extrato em acetato de etila) foi determinado por espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia de força atômica (AFM).

2.4.4 DLS

A distribuição de tamanho das nanopartículas foi analisada em equipamento Zetasizer Nanoseries (Malvern). As amostras foram ressuspensas em água ultrapura (1 gota da suspensão para 1 mL de água) e analisadas em cubetas de vidro, com três leituras a intervalos de 1 min, a 25 °C. O espalhamento de luz foi detectado em ângulo de 90°. Para o tratamento dos dados, considerou-se a viscosidade da água igual a 0,8872 cP e índice de refração do PHBV igual a 1,50.

2.4.5 Avaliação das Nanopartículas Poliméricas (NP's) por Microscopia de Força Atômica (AFM)

Para AFM, as nanopartículas foram diluídas na proporção de 1:100 em água Milli-Q. Alíquotas de 5 µL de cada suspensão foram depositadas sobre lamínulas de vidro (1 × 1 cm), previamente desengorduradas e sonicadas em dois ciclos de 15 min em água ultrapura, e secas à temperatura ambiente (25 °C) (GEORGIEV et al., 2013). As medidas topográficas foram realizadas em AFM SPM-9700 (Shimadzu, Kyoto, Japão), no modo dinâmico, utilizando cantilever com raio de curvatura inferior a 10 nm, frequência de varredura de 150 Hz e constante de mola de 5 N/m. As distribuições de diâmetro foram obtidas com base no raio médio e as imagens processadas no software do equipamento (SPM-9700 Shimadzu).

2.5 Análise estatística

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão (SD) e submetidos à análise de normalidade e homocedasticidade pelo teste de Shapiro–Wilk. Para variáveis com distribuição normal (gaussiana), utilizou-se análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. Para dados com distribuição não gaussiana, empregou-se o teste de Kruskal–Wallis, seguido do teste de Dunn. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., versão 5.0, La Jolla, CA, EUA).

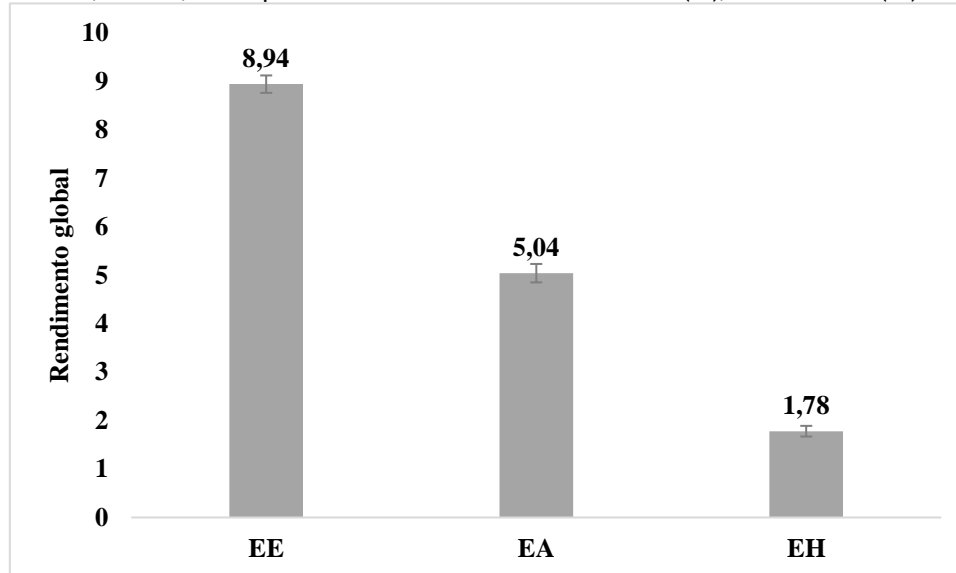
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento global dos extratos

As nanopartículas de PHBV funcionalizadas com extrato etanólico de *T. roseoalba* apresentaram maior atividade antimicrobiana, com valores de CIM de 39,06 µg/mL frente a *S. aureus* (MRSA) e *P. aeruginosa* e de 78,12 µg/mL frente a *E. Coli* (TABELA 2). Esses resultados corroboram o maior rendimento de compostos bioativos observado para o extrato etanólico, sugerindo que a maior carga de metabólitos incorporados à matriz de PHBV contribuiu para a potência antimicrobiana das nanopartículas.

Na Figura 1, destaca-se maior rendimento médio do extrato etanólico 8,94 ± 0,18, seguido de acetato de etila 5,04 ± 0,19 e hexânico com 1,78 ± 0,11.

Figura 1. Solvente, média %, desvio-padrão em extratos com solventes de etanol (EE), acetato de etila (EA) e hexano (EH).



Fonte: dados da pesquisa.

Ao comparar os resultados obtidos, observa-se que solventes de baixa polaridade tendem a apresentar rendimentos de extração reduzidos em função da composição química da matriz vegetal. Nesse contexto, os estudos de TERVER et al., (2020) destacaram que para extratos de *Sasa quelpaertensis Nakai*, rendimentos de aproximadamente 0,6 ± 0,1% para o acetato de etila, valores inferiores aos observados no presente estudo, evidenciando a forte dependência do rendimento em

relação à polaridade do solvente e às características da espécie vegetal. Outro estudo feito por NAKAMURA et al., (2017), destacou-se que o extrato de *Senna occidentalis* com acetato de etila apresentou o menor rendimento da extração sequencial (2,98%), reforçando que o rendimento de $5,04 \pm 0,19\%$ obtido neste trabalho com o mesmo solvente encontra-se acima das faixas ao se utilizar solventes menos polares. Esses resultados destacam a eficiência da extração dos compostos bioativos de *Tabebuia roseoalba* destacando-se a relevância do seu uso na incorporação em nanopartículas poliméricas de PHBV.

A caracterização das nanopartículas foi realizada quanto ao tamanho médio e à dispersão. O diâmetro hidrodinâmico e o índice de polidispersividade (PDI) das nanopartículas (NPs) em suspensão foram determinados por espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering - DLS) (Tabela 1). As formulações PHBV, PHBV-ACT e PHBV-ETA foram analisadas com o objetivo de avaliar a influência da composição polimérica sobre a viscosidade, a polidispersividade e o tamanho das nanopartículas.

Tabela 1. Valores médios do diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) e índice de polidispersividade das NPs de PHBV, PHBV-ACT e PHBV-ETA após análise por espalhamento de luz dinâmico (DLS).

NPs	DHM (nm)	PDI
PHBV	$172 \pm 2,6$	$0,132 \pm 0,002$
PHBV- ACT	$118,8 \pm 15,2$	$0,087 \pm 0,006$
PHBV- ETA	$175,4 \pm 8,9$	$0,109 \pm 0,006$

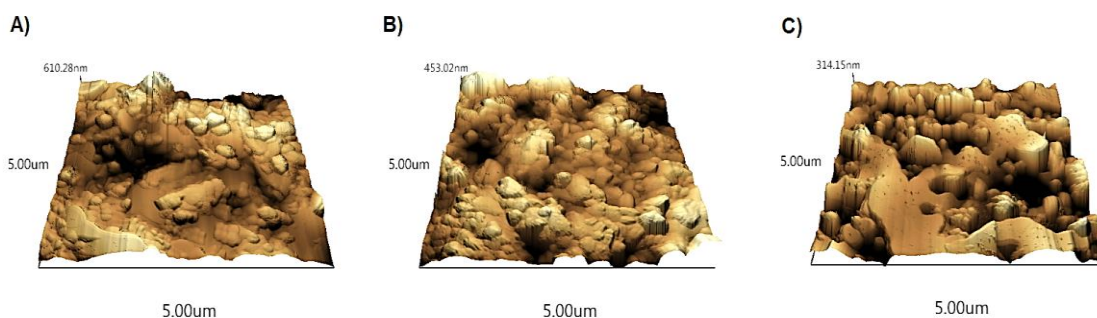
Legenda: NPs: Nanopartículas; DHM: Diâmetro hidrodinâmico médio; PDI: índice de polidispersividade.

A caracterização das nanopartículas por espalhamento de luz dinâmico (DLS) demonstrou que as formulações apresentaram diâmetros hidrodinâmicos médios inferiores a 200 nm e baixos índices de polidispersividade, indicando sistemas coloidais bem definidos e homogêneos (BHATTACHARJEE, 2016; DANAIE et al., 2018). As NPs de PHBV puro apresentaram DHM de $172 \pm 2,6$ nm e PDI de $0,132 \pm 0,002$, enquanto as nanopartículas contendo extrato obtidas com acetato de etila (PHBV-ACT) exibiram menor tamanho médio ($118,8 \pm 15,2$ nm) e PDI de $0,087 \pm 0,006$, evidenciando elevada monodispersividade. Já as NPs PHBV-ETA apresentaram DHM de $175,4 \pm 8,9$ nm e PDI de $0,109 \pm 0,006$, mantendo-se dentro de uma faixa considerada adequada para aplicações biológicas como sistemas de liberação controlada de fármacos (MOZAFARI, 2006), veiculação de compostos naturais (MARTINS et al., 2014), aplicações antimicrobianas e antibiofilme (NASKAR, 2019; HU et al., 2018) e engenharia de tecidos (SHRIVASTAV et al., 2013).

3.2 Desenvolvimento e rendimento das nanopartículas poliméricas

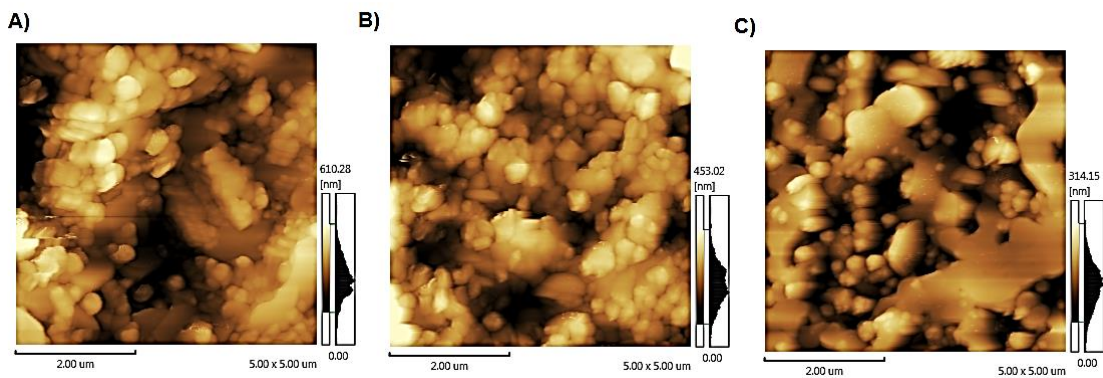
Após purificação e obtenção das nanopartículas, foi feita a avaliação morfológica das nanopartículas que foi realizada por microscopia de força atômica (AFM) para as três formulações estudadas: NPs PHBV (A), NPs PHBV-ACT (B) e NPs PHBV-ETA (C). As imagens obtidas foram analisadas em modo tridimensional (3D) (Figura 2) e por meio de mapas de topografia superficial (Figura 3).

Figura 2. Imagem tridimensional (3D) das NPs-PHBV (A), NPs PHBV-ACE (B) e NPs PHBV-ETA em escala 5x5 µm obtidas por Microscopia de força atômica.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 3. Topografia das NPs-PHBV (A), NPs PHBV-ACE (B) e NPs PHBV-ETA (C) em escala 5x5 obtidas por Microscopia de força atômica.



Fonte: dados da pesquisa.

O perfil morfológico com distribuição homogênea, elevada uniformidade morfológica e geometria predominantemente esferoidal indicam possivelmente a formação de sistemas nanoparticulados bem definidos, sugerindo que os métodos de preparo empregados foram eficientes e reprodutíveis para nanopartículas poliméricas biodegradáveis obtidas a partir de PHB e PHBV, nos quais a cristalização parcial do polímero e a rápida remoção do solvente levam à formação de aglomerados nanométricos com relevo irregular (KILIÇAY et al., 2011; MASOOD et al., 2013).

As análises por AFM revelaram diferenças morfológicas claras entre as formulações, com as NPs-PHBV (A) apresentando maior rugosidade superficial e picos topográficos mais elevados (~610 nm), indicativos de distribuição menos homogênea e maior tendência à agregação, comportamento típico de nanopartículas de PHBV não funcionalizadas e associado à hidrofobicidade e à elevada cristalinidade do polímero (KILIÇAY et al., 2011). A incorporação do ACE resultou em NPs-PHBV-ACE (B) com topografia mais compacta e redução da altura máxima (~453 nm), sugerindo melhor organização estrutural, em concordância com estudos que relatam diminuição da rugosidade superficial devido à interferência de compostos bioativos no empacotamento das cadeias poliméricas (SANTOS et al., 2014; MARTINS et al., 2018). As NPs-PHBV-ETA (C) apresentaram a superfície mais regular, com menores alturas (~314 nm) e menor grau de agregação, compatível com a literatura que descreve maior estabilidade e homogeneidade morfológica em nanopartículas poliméricas funcionalizadas (REIS et al., 2017; NASKAR et al., 2020).

Assim, os valores observados estão dentro da faixa reportada para nanopartículas de PHBV (200–700 nm) em análises de AFM, e a redução progressiva da irregularidade superficial indica que a modificação da matriz polimérica favoreceu uma morfologia mais organizada e adequada para aplicações biológicas (KILIÇAY et al., 2011; MASOOD et al., 2013).

A análise por DLS indicou diâmetros hidrodinâmicos inferiores a 200 nm, enquanto as alturas observadas por AFM ultrapassaram 300 nm para partículas isoladas. Essa diferença é esperada, pois as técnicas medem parâmetros distintos: o DLS fornece um diâmetro hidrodinâmico médio em suspensão, enquanto o AFM registra a altura de partículas imobilizadas sobre a superfície, podendo superestimar as dimensões em função da conformação e do estado de agregação local.

3.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs (MIC e Biofilme) - MIC- Nanopartículas

A avaliação da atividade antimicrobiana das nanopartículas foi realizada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente às cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli*, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs (MIC e Biofilme) - MIC- Nanopartículas.

NPs	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E.coli</i>	Atb (µg/ml)	Atb(µg/ml)	Atb(µg/ml)
	25923	43300			Gen	Gen	Gen
					<i>S.aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>
	CIM	CIM	CIM	CIM	CIM	CIM	CIM
PHBV	156,25	156,25	1250	312,5	1,52	6,08	3,04
PHBV+ ETA	39,06	78,12	39,06	78,12	1,52	6,08	3,04
PHBV+ ACE	156,25	312,5	2500	39,06	1,52	6,08	3,04

Fonte: dados da pesquisa.

As nanopartículas de PHBV, PHBV + ETA e PHBV + ACE foram analisadas com o objetivo de investigar a influência da funcionalização da matriz polimérica sobre a eficácia antimicrobiana. Os resultados demonstraram que a formulação PHBV + ETA apresentou os menores valores de CIM para todas as cepas avaliadas, destacando-se frente às demais formulações, com valores de 39,06 µg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, e 78,12 µg/mL para *S. aureus* ATCC 43300 e *E. coli*. Nesse contexto, as nanopartículas de PHBV não funcionalizadas e aquelas associadas ao ACE apresentaram valores de CIM mais elevados, indicando menor atividade antimicrobiana. Esses resultados evidenciam que a incorporação do ETA à matriz de PHBV potencializa a atividade antimicrobiana das nanopartículas, sugerindo uma maior interação com as células bacterianas e maior eficiência na inibição do crescimento microbiano, conforme descrito para nanopartículas poliméricas funcionalizadas (HAJIPOUR et al., 2012).

Embora nanomateriais com componentes metálicos, como nanocompósitos de PHBV contendo Ag-ZnO, possam atingir valores de concentração inibitória mínima (MIC) inferiores aos obtidos neste estudo (10 µg/mL para *Staphylococcus aureus* e 15 µg/mL para *Escherichia coli*), esses sistemas dependem do uso de metais com elevada atividade antimicrobiana, os quais podem estar associados a efeitos citotóxicos e maior impacto ambiental (IBRAHIM et al., 2023). Assim, os sistemas de nanopartículas de PHBV funcionalizadas com ETA desenvolvidos neste trabalho apresentaram atividade antimicrobiana expressiva sem a necessidade de componentes metálicos, com valores de CIM de 39,06 µg/mL frente a *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e 78,12 µg/mL frente a *E. coli*, demonstrando desempenho relevante em um sistema biodegradável e mais seguro, conforme descrito para nanopartículas poliméricas funcionalizadas que apresentam maior interação com a membrana bacteriana (HAJIPOUR et al., 2012).

Os achados deste estudo evidenciam que a eficiência da extração de compostos bioativos de *Tabebuia roseoalba* está relacionada à polaridade do solvente que destacam maior extração de metabólitos bioativos em solventes de polaridade intermediária a elevada (NAKAMURA et al., 2017; TERVER et al., 2020). A incorporação desses extratos em nanopartículas de PHBV resultou em sistemas coloidais estáveis, homogêneos e morfológicamente bem definidos, corroborando estudos que descreveram a adequação do PHBV como matriz polimérica biodegradável para veiculação de compostos naturais (MOZAFARI, 2006; MARTINS et al., 2014).

A funcionalização da matriz polimérica influenciou nas propriedades físico-químicas e morfológicas das nanopartículas, destacando maior organização estrutural e redução da rugosidade superficial nas formulações contendo extrato etanólico. Esse comportamento está de acordo com relatos de que compostos bioativos podem interferir no empacotamento das cadeias poliméricas, favorecendo maior estabilidade e homogeneidade do sistema (SANTOS et al., 2014; REIS et al., 2017).

Além disso, a atividade antimicrobiana das nanopartículas funcionalizadas com extrato etanólico reforça a hipótese de maior interação com a membrana bacteriana, conforme descrito para nanopartículas poliméricas funcionalizadas livres de metais (HAJIPOUR et al., 2012). Embora sistemas nanoparticulados contendo metais apresentem maior potência antimicrobiana, os resultados obtidos neste estudo demonstram que sistemas biodegradáveis e livres de componentes metálicos podem alcançar desempenho relevante, reduzindo potenciais efeitos citotóxicos e impactos ambientais, conforme discutido na literatura recente (IBRAHIM et al., 2023).

Cabe ressaltar que os valores de CIM obtidos neste estudo referem-se exclusivamente a um modelo *in vitro* e não podem ser diretamente extrapolados para eficácia clínica, devendo ser considerados como etapa preliminar de triagem de atividade antimicrobiana.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A incorporação de extratos de *Tabebuia roseoalba* em nanopartículas biodegradáveis de PHBV mostrou-se uma estratégia promissora em modelo *in vitro* para potencializar a atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. As nanopartículas funcionalizadas com extrato etanólico apresentaram os menores valores de CIM, sugerindo que a combinação entre maior rendimento de compostos bioativos e veiculação em matriz polimérica contribuiu para o efeito observado.

Contudo, trata-se de um estudo exploratório *in vitro*, e os resultados não permitem inferir eficácia ou segurança em contexto clínico. A ausência de dados de citotoxicidade, de perfil de liberação controlada, de eficiência de encapsulação e de zeta potencial constitui limitação importante, assim como a falta de avaliação em modelos biológicos mais complexos. Investigações futuras deverão contemplar esses aspectos, bem como ensaios *in vitro* adicionais e estudos *in vivo*, a fim de confirmar o potencial dessas formulações como candidatas a novas abordagens terapêuticas no controle de infecções nosocomiais.

REFERÊNCIAS

- ALWAN, S. *et al.* Evaluation of the antibacterial activity of *Micromeria barbata* in Lebanon. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 2, p. 321–327, 2016.
- BARBOSA FILHO, J. M. *et al.* Botanical study, phytochemistry and antimicrobial activity of *Tabebuia aurea*. **Phyton – International Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 221–228, 2004.
- BEACH, M. A. *et al.* Polymeric nanoparticles for drug delivery. **Chemical Reviews**, v. 124, n. 3, p. 1800–1902, 2024.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016.
- DANAEI, M. *et al.* Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 2018.
- OLMSTEAD, R. G. *et al.* A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany**, v. 96, n. 9, p. 1731–1743, 2009.
- FERREIRA-JÚNIOR, J. C. *et al.* Isolation of a dihydrobenzofuran lignan, icariside E4, with an antinociceptive effect from *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae) bark. **Archives of Pharmacal Research**, v. 38, p. 157–163, 2015.
- HAJIPOUR, M. J. *et al.* Antibacterial properties of nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 10, p. 499–511, 2012.
- HØIBY, N. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. **APMIS**, v. 125, n. 4, p. 272–275, 2017.
- HU, D. *et al.* Polymeric nanoparticles for combating bacterial biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 873, 2018.
- IBRAHIM, M. I. *et al.* A promising antimicrobial bionanocomposite based on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) reinforced silver-doped zinc oxide nanoparticles. **Scientific Reports**, v. 13, p. 1734, 2023.
- JAIN, M. *et al.* Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Tecomella undulata*: a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, supl., p. S1918–S1923, 2012.
- KILIÇAY, E. *et al.* Preparation and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) nanoparticles for drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, n. 1, p. 110–116, 2011.
- KUROWIAK, J.; KLEKIEL, T.; BĘDZIŃSKI, R. Polímeros biodegradáveis em aplicações biomédicas: uma revisão – desenvolvimentos, perspectivas e desafios futuros. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 1–28, 2023.
- MARTINS, A. *et al.* Natural origin materials for biomedical applications: extraction, modification and characterization. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 4, p. 689–709, 2014.
- MARTINS, A. F. *et al.* Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: characterization and AFM analysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 418–427, 2018.
- MASOOD, F. *et al.* Polyhydroxyalkanoates – What are the uses? Current challenges and perspectives. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 35, n. 4, p. 514–521, 2013.
- MOZAFARI, M. R.; FLANAGAN, J.; MATTHEWS, S. E. Nanocarrier technologies: frontiers of nanotherapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, n. 14, p. 1459–1461, 2006.
- NAKAMURA, M. *et al.* Impact of different partitioned solvents on chemical composition and bioavailability of *Sasa quelpaertensis* Nakai leaf extract. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, p. 316–326, 2017.
- NASKAR, A.; KIM, K. S. Nanomaterials as delivery vehicles and components of new strategies to combat bacterial infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1813, 2019.

- NASKAR, S. *et al.* Surface and morphological characterization of polymeric nanoparticles: an AFM approach. **Applied Surface Science**, v. 509, p. 145351, 2020.
- PEREYRA, B. B. S. *et al.* Prospecção científica e tecnológica de *Tabebuia roseoalba* (ipê-branco). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, e167101119266, 2021.
- POSADOWSKA, U.; BRZYCHCZY-WLOCH, M.; PAMULA, E. Injectable gellan gum-based nanoparticles-loaded system for the local delivery of vancomycin in osteomyelitis treatment. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n. 1, p. 9, 2016.
- RAI, M. *et al.* Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: emerging trends and future perspectives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 67–78, 2017.
- REIS, K. C. *et al.* Development of polyhydroxyalkanoate-based nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 17, n. 6, p. 3985–3996, 2017.
- ROCA, I. *et al.* The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. **New Microbes and New Infections**, v. 6, p. 22–29, 2015.
- SANTOS, D. M. *et al.* Surface modification of PHBV films by incorporation of bioactive compounds. **Polymer Engineering & Science**, v. 54, n. 5, p. 1139–1146, 2014.
- SHOUSHTARI, M. Z.; POORMOGHADAM, A.; FARBOD, M. The size dependence of the magnetic properties of ZnO and Zn_{1-x}Ni_xO nanoparticles. **Materials Research Bulletin**, v. 88, p. 315–319, 2017.
- SHRIVASTAV, A.; KIM, H. Y.; KIM, Y. R. Advances in the applications of polyhydroxyalkanoates in biomedicine. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 3, p. 447–459, 2013.
- SIDJUI, L. S. *et al.* Secondary metabolites from *Jacaranda mimosifolia* and *Kigelia africana* (Bignoniaceae) and their anticandidal activity. **Records of Natural Products**, v. 8, n. 3, p. 307–311, 2014.
- SULTANA, A. *et al.* Nano-based drug delivery systems: conventional drug delivery routes, recent developments and future prospects. **Medicine in Drug Discovery**, v. 15, p. 100134, 2022.
- SILVA, I. S. de M. *et al.* In vitro biological potential of Guanxuma-of-Horn [*Sebastiania corniculata* (Vahl) Müll. Arg.] in infection control. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 4, p. 663–669, 2014.
- TERVER, S. J.; GUNGSAT, N. J.; EDWARD, B. Y. Phytochemical screening and TLC profile of the stem bark extract of *Senna occidentalis* (coffee senna). **International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology**, v. 4, n. 11, p. 608–617, 2020.
- VENKATESH, D. N. *et al.* Fabrication and in vivo evaluation of nelfinavir loaded PLGA nanoparticles for enhancing oral bioavailability and therapeutic effect. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, n. 6, p. 667–674, 2015.