



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO FARMÁCIA**

SARA EFIGÊNIA DANTAS DE MENDONÇA Y ARAÚJO

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CONTENDO
FTALOCIANINA DISPERSOS EM MATERIAIS HÍBRIDOS ASSOCIADOS A
TERAPIA FOTODINÂMICA PARA A CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

CAMPINA GRANDE-PB

2022

SARA EFIGÊNIA DANTAS DE MENDONÇA Y ARAÚJO

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CONTENDO
FTALOCIANINA DISPERSOS EM MATERIAIS HÍBRIDOS ASSOCIADOS A
TERAPIA FOTODINÂMICA PARA A CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior

CAMPINA GRANDE-PB

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A663c Araujo, Sara Efigenia Dantas de Mendonca Y.

Carreadores lipídicos nanoestruturados contendo ftalocianina dispersos em materiais híbridos associados a terapia fotodinâmica para a candidíase vulvovaginal [manuscrito] / Sara Efigenia Dantas de Mendonca Y Araujo. - 2022.

57 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior , Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Antifúngico. 2. Nanobiotecnologia. 3. Fotoquimioterapia.
4. Candidíase . I. Título

21. ed. CDD 616.831

SARA EFIGÊNIA DANTAS DE MENDONÇA Y ARAÚJO

**CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CONTENDO
FTALOCIANINA DISPERSOS EM MATERIAIS HÍBRIDOS ASSOCIADOS A
TERAPIA FOTODINÂMICA PARA A CANDIDÍASE VULVOVAGINAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Aprovada em: 25/07/2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Maricelma Ribeiro Moraes
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Dra. Mariana Rillo Sato
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

DEDICATÓRIA

À minha família que sempre me apoiou
nos meus sonhos e escolhas,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sebastião e Gilvanea que sempre investiram nos meus estudos, pelo conforto que me proporcionaram para seguir essa jornada de maneira mais leve e pela dedicação me ajudando a conhecer o meu potencial, toda minha conquista é também de vocês. Aos meus irmãos Caio e Igor que sempre me instigarem a dar o meu melhor. Caio me inspira a ser uma profissional comprometida e dedicada; e Igor que me ajuda a gostar do mundo maravilhoso da leitura.

Aos meus avós, Luzia *in memoriam*, João Barro *in memoriam*, que permitiram que o meu pai conquistasse tudo que tem hoje ensinando os valores e a dedicação no trabalho. Ao meu avó José Delzório *in memoriam*, minha avó Inácia Dalva e aos meus bisavôs Efigênia Rosa e Cirilo, que me ensinam com suas vidas, que a vitória se dá pelo amor e paciência.

Ao meu namorado e melhor amigo Gabriel Lima Duarte, que me incentiva a estudar e perseverar nos objetivos e conquistas, valorizando a minha luta por minha profissão e anseio de meus sonhos, nunca desistir de nada.

Ao meu orientador, professor Dr. João Augusto Oshiro Junior, minha grande gratidão pela ajuda implacável no discernimento de minha conduta profissional na área de pesquisa. Agradeço por demais por sua grande colaboração na orientação do presente trabalho.

Aos meus colegas de curso, principalmente João Victor, Kamilla Virginio, Natalia Barbosa, Renally Lucena e Sabrinna Almeida, por serem um incentivo no estudo em grupo e companheirismo dessa jornada. A Pedro que mesmo não concluindo conosco foi marcante proporcionando momentos de muita alegria e descontração. Juntos somos gigantes. A Diego, Brenda e Analara, que sempre estiveram comigo na caminhada e nas pesquisas, vocês me motivam a abraçar esta área.

Ao grupo I-NANO, aos laboratórios da UEPB Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Fármacos (LDCPF) e Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) onde os experimentos foram realizados, o CNPQ e a UEPB, pela bolsa, e aos professores que compartilharam seus conhecimentos durante o curso.

Às minhas amigas Carol, Lais, Mylena e Viviany que sempre estiveram do meu lado em todos os momentos e me ajudaram a enfrentar os desafios da graduação e da vida, nos momentos sérios e nos momentos de descontração.

RESUMO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma infecção fúngica causada principalmente pela *Candida albicans*. Essa infecção atinge cerca de 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida, os principais sintomas são pruridos, dor e desconforto na vulva e vagina. A Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) é uma estratégia de tratamento alternativa, baseada em reações fotoquímicas oxidativas. A hexadecafluórftalocianina (ZnPcF16) é uma ftalocianina (FC) capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (EROS), porém, possui baixa solubilidade em meio fisiológico. Com isso, os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), podem contornar essa problemática. Contudo, são fluidos, o que não é ideal para uma administração vulvovaginal, assim, a dispersão em materiais híbridos (U-PEO) pode ser uma alternativa para atuar na liberação sustentada *in situ* da FC. O objetivo do trabalho foi desenvolver CLN contendo FC dispersos em U-PEO associados com a aPDT para administração vulvovaginal capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* no tratamento da CVV. Os CLN foram obtidos por fusão-emulsificação. Os materiais híbridos foram produzidos por reação de alcoóxido modificado e polímeros modificados. A análise visual demonstrou que, o CLN e CLN-ZnPcF16 não apresentaram separação de fase ou precipitados, durante 90 dias. Os U-PEO obtidos se demonstraram macroscopicamente uniformes e sem a presença de trincas, fissuras, bolhas ou precipitados. A espectroscopia no infravermelho (FTIR) sugeriu que não ocorreu surgimento de novas ligações e nem supressão de grupamentos químicos quando disperso o CLN no U-PEO. A análise térmica diferencial (DTA) e termogravimetria (TG) demonstraram que houve maior estabilidade térmica do CLN-ZnPcF16 quando dispersos no material em relação aos seus isolados. Não foi observado incompatibilidade entre os excipientes ativos e inertes. O resultado *in vitro* contra *C. albicans*, na avaliação da atividade por difusão em ágar demonstrou uma atividade superior para o material híbrido contendo a ZnPcF16 incorporada no carreador (U-PEO+CLN-ZnPcF16) em relação ao controle positivo, azul de metileno (AM) quando aplicada a aPDT, com os halos de inibição de 15 mm e 10 mm, respectivamente. Ademais, quando isolados o CLN e U-PEO apresentaram halos de 8 mm e 9 mm, respectivamente, podendo ter manifestado sinergismo quando associado. Assim, esses resultados evidenciam o potencial da formulação para o tratamento de CVV ocasionada por *C. albicans*.

Palavras-chave: Antifúngico; Nanobiotecnologia; Material híbrido; Fotoquimioterapia.

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is a fungal infection caused mainly by *Candida albicans*. This infection affects about 75% of women at least once in their lives, the main symptoms are itching, pain and discomfort in the vulva and vagina. Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) is an alternative treatment strategy based on oxidative photochemical reactions. Hexadecafluorophthalocyanine (ZnPcF16) is a phthalocyanine (FC) capable of generating reactive oxygen species (ROS), however, it has low solubility in a physiological medium. Thus, nanostructured lipid carriers (NLC) can circumvent this problem. However, they are fluid, which is not ideal for vulvovaginal administration, so the dispersion in hybrid materials (U-PEO) may be an alternative to act in the sustained in situ release of CF. The objective of this work was to develop CLN containing FC dispersed in U-PEO associated with aPDT for vulvovaginal administration capable of inhibiting the growth of *C. albicans* in the treatment of VVC. NLCs were obtained by fusion-emulsification. Hybrid materials were produced by reaction of modified alkoxide and modified polymers. Visual analysis showed that CLN and CLN-ZnPcF16 did not show phase separation or precipitates during 90 days. The U-PEO obtained proved to be macroscopically uniform and without the presence of cracks, fissures, bubbles or precipitates. Infrared spectroscopy (FTIR) suggested that there was no emergence of new bonds and no suppression of chemical groups when CLN was dispersed in U-PEO. Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) showed that there was greater thermal stability of CLN-ZnPcF16 when dispersed in the material in relation to its isolates. No incompatibility between active and inert excipients was observed. The in vitro result against *C. albicans*, in the evaluation of the activity by diffusion in agar, showed a superior activity for the hybrid material containing the ZnPcF16 incorporated in the carrier (U-PEO+CLN-ZnPcF16) in relation to the positive control, methylene blue (AM) when applied to aPDT, with inhibition halos of 15 mm and 10 mm, respectively. Furthermore, when isolated, CLN and U-PEO presented halos of 8 mm and 9 mm, respectively, which may have shown synergism when associated. Thus, these results show the potential of the formulation for the treatment of VVC caused by *C. albicans*.

Keywords: Antifungal; Nanobiotechnology; Hybrid material; Photochemotherapy;

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura do CLN	21
Figura 2. Estrutura química da ftalocianina base livre	24
Figura 3. Distribuição dos grupos nas placas	32
Figura 4. Características macroscópicas dos CLN (a) e CLN-ZnPcF16 (b)	33
Figura 5. Aparência visual dos materiais híbridos U-PEO (a), U-PEO+CLN (b), U-PEO+CLN-ZnPcF16 (c) e U-PEO+ZnPcF16 (d).....	34
Figura 6. FTIR do CLN, U-PEO e U-PEO+CLN	36
Figura 7. Estrutura química do U-PEO, TGACC, OR, POE 40, PF 127	37
Figura 8. FTIR do U-PEO, ZnPcF16 e U-PEO-ZnPcF16.....	38
Figura 9. Estrutura química da ZnPcF16.....	38
Figura 10. FTIR do U-PEO, CLN-ZnPcF16 e do U-PEO+CLN-ZnPcF16	39
Figura 11. DTA da ZnPcF16, CLN, 1:1 CLN ZnPcF16, PEO e 1:1 PEO ZnPcF16	40
Figura 12. Parâmetros termogravimétricos das amostras.....	44
Figura 13. Diâmetro de halos de inibição contra <i>C. albicans</i> com grupos sem e com luz	45
Figura 14 Diâmetro de halo de inibição dos grupos sem aPDT	46
Figura 15. Diâmetro de halo de inibição dos grupos com aPDT.....	48
Figura 16. Diâmetros de halos de inibição contra <i>C. albicans</i> de grupos sem e com luz com a adição e 100 µl de PBS	49
Figura 17. Diâmetro de halo de inibição dos grupos, com 100 µl, com e sem aPDT ...	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção dos constituintes dos materiais.....	30
Tabela 2. Peso e dimensões dos materiais híbridos.....	35
Tabela 3. Temperatura de pico e variação de entalpia do CLN, 1:1 CLN ZnPcF16 e 1:1 U-PEO ZnPcF16.....	41
Tabela 4. Parâmetros termogravimétricos dos materiais híbridos, do CLN e seus constituintes, ZnPcF16 e CLN-ZnPcF16	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CVV	Candidíase vulvovaginal
aPDT	do inglês antimicrobial photodynamic therapy, Terapia fotodinâmica antimicrobiana
FS	Fotossensibilizador
FC	Ftalocianina
EROS	Espécies reativas de oxigênio
ZnPcF16	Hexadecaflúorftalocianina
CLN	Carreador lipídico nanoestruturado
PEO	Percussor de Ureasil-poliéter
NP	Nanopartículas
NLS	Nanopartícula lipídicas sólidas
PEO	Poli(óxido de etileno)
PPO	Poli(óxido de propileno)
Zn	Zinco
POE 40	Estearato de polioxietileno 40
TGACC	Triglicérides do ácido cáprico/caprilico
OR	Óleo de rícino hidrogenado e etoxilado
PF127	Pluronic F127
IsoTrEOS	Polímeros modificados
HCl	Ácido clorídrico
AM	Azul de metileno
Nis	Nistatina
DMSO	Dimetilsulfóxido
CLN-ZnPcF16	ZnPcF16 incorporada em CLN
U-PEO	Material híbrido
U-PEO + CLN	Material híbrido contendo CLN
U-PEO+ZnPcF16	Material híbrido contendo ZnPcF16
U-PEO+CLN-ZnPcF16	Material híbrido contendo CLN-ZnPcF16
Tpico	Temperatura do pico

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
TM	do inglês “Trade mark” que significa marca comercial
μL	Microlitros
nm	Nanômetro
°C	Graus celsius
J/g	Joule por grama
mg	Miligramas
g/mol	Gramas por mol
mL/min	Mililitros por minuto
°C/min	Graus celsius por minuto
UFC	Unidades formadoras de colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 Candidíase.....	16
2.2 Cavidade vulvovaginal.....	17
2.3 Tratamento da candidíase	18
2.4 Nanopartículas (NP).....	19
2.4.1 <i>Carreador lipídico nanoestruturado (CLN)</i>	20
2.5 Sistema híbrido	21
2.5.1 <i>U-PEO</i>	22
2.6 Terapia fotodinâmica (TFD)	22
2.7 Fotossensibilizadores (FS)	23
2.8 Ftalocianina.....	24
2.8.1 <i>Ftalocianina de flúor-zinco</i>	25
3. OBJETIVOS E METAS A SEREM ALCANÇADOS	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos Específicos.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Materiais.....	27
4.1.1 <i>Matérias Primas</i>	27
4.1.2 <i>Equipamentos</i>	28
4.2 Método	28
4.2.1 <i>Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)</i>	28
4.2.2 <i>Preparação dos materiais híbridos ureasil-poliéter (U-PEO)</i>	29
4.2.3 <i>Caracterização físico-química</i>	30
4.2.3.1 <i>FTIR</i>	30
4.2.3.2 <i>Análise térmica diferencial (DTA)</i>	30
4.2.3.3 <i>Termogravimetria (TG)</i>	31
4.2.4 <i>Avaliação in vitro da atividade antifúngica</i>	31

<i>4.2.5 Tratamento contra culturas planctônicas</i>	31
5.1 Carreador Lipídico Nanoestruturado (CLN)	33
5.2 Materiais híbridos ureasil-poliéter	34
5.3 Caracterização físico-química	35
<i>5.3.1 FTIR</i>	<i>35</i>
<i>5.3.2 Análise de Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	<i>40</i>
<i>5.3.3 Termogravimetria (TG)</i>	<i>41</i>
5.4 Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antifúngica	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

A candidíase é uma infecção fúngica causada pelo gênero *Candida*, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, destacando-se *Candida albicans*. Essa infecção pode acontecer nas mucosas, causando a candidíase oral e vulvovaginal (CVV). O espectro clínico dessa doença é variado, podendo ir desde de uma infecção mucocutânea superficial sem risco de vida até uma doença invasiva, que possui uma mortalidade entre 30 a 47% (RODRÍGUEZ-CERDEIRA *et al*, 2020; BHATTACHARYA; SAE-TIA; FRIES, 2020).

A CVV atinge cerca de 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida, é caracterizada pela presença de sintomas inflamatórios na vulva e na mucosa vaginal, causado pelo crescimento exacerbado de *Candida*, os principais sintomas são pruridos, dor e desconforto na região afetada. Além disso, entre as mulheres afetadas uma parte considerável desenvolve a CVV recorrente, que é quando a mulher apresenta quatro ou mais episódios por ano (DENNING *et al*, 2018; RODRÍGUEZ-CERDEIRA *et al*, 2020).

A *C. albicans* tem como um dos seus principais fatores de virulência ser um fungo dimorfo, pois pode se apresentar nas formas leveduriformes e filamentosas. A filamentosa pode se manifestar como pseudo-hifas ou hifas verdadeiras, a formação de hifas se relaciona com a capacidade de invasão tecidual do hospedeiro e a forma leveduriforme com a capacidade de adesão a célula. Outro importante fator de virulência é a formação de biofilme que são altamente estruturados que se ligam a superfície dos tecidos a partir de uma matriz extracelular forte que mantém uma barreira mecânica estável e protege o fungo de antifúngicos (DA ROCHA *et al*, 2021).

O tratamento de escolha para a CVV engloba o uso de vários antifúngicos como os polienos, no qual pertencem a nistatina e a anfotericina B, as equinocandinas e os azóis, que é a classe com maior número de fármacos, representado pelo fluconazol, cetoconazol, butaconazol, miconazol e itraconazol (LEE *et al*, 2020).

A Nistatina é o fármaco mais utilizado para aliviar os sinais e sintomas clínicos dessa patologia, sendo assim, seu uso é comum no tratamento inicial, porém por vezes não é capaz de eliminar a infecção completamente. Nos indivíduos que possuem deficiência de imunidade ou uma saúde geral comprometida e em eventos de infecções recorrentes é utilizado um tratamento sistêmico com azóis e anfotericina B (RIMACHI HIDALGO *et al*, 2018).

O uso indiscriminado dos antifúngicos gerou o desenvolvimento de resistência nas espécies de *Candida*, inúmeros mecanismos de resistência a essas drogas foram identificados

como, alteração ou superexpressão do alvo da droga. Outro fator que tem importância na resistência aos antifúngicos é a formação de biofilmes que são capazes de proteger o microrganismo mesmo em condições hostis e dificulta a ação dos fármacos (LEE *et al*, 2020; DA ROCHA *et al*, 2021).

A Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (do inglês antimicrobial photodynamic Therapy, aPDT) surge como uma estratégia de tratamento alternativa, a aPDT pode atuar como um inviabilizador de microrganismos. Essa técnica consiste na aplicação de um fotossensibilizador (FS), uma fonte de luz que abranja a banda de absorção do FS e presença de oxigênio, gerando espécies reativas de oxigênio (EROS) que são capazes de lesar constituintes celulares dos fungos (SANTANA, 2020).

As Ftalocianinas (FC) é um FS de segunda geração que se assemelha às porfirinas, entre elas está a hexadecafluórftalocianina (ZnPcF16). As propriedades que mais se destacam, em relação a outros FS, são as propriedades físicas de sua estrutura aromática, possui uma absorção de luz, entre os comprimentos de onda de 600-750 nm, além de apresentar uma maior estabilidade física e química e efeitos colaterais reduzidos (SILVA, 2018; AROSO, 2017).

A ZnPcF16 tem sido alvo de estudos relacionados a aplicações terapêuticas, pela capacidade dessa FC gerar EROS citotóxicos, que é aumentada pela presença de Zn central, permitindo a sua aplicação em aPDT, que pode ser conduzido a ação antimicrobiana, por inativação fotodinâmica (NYAMU *et al*, 2018).

No entanto, as FC possuem baixa solubilidade em meio fisiológico, devido a seu comportamento hidrofóbico que causa a tendência de empilhamento e conseqüentemente estruturas de difícil solubilização. Esse empilhamento afeta diretamente as propriedades fotoquímicas, prejudicando a eficácia do FS (SANTOS, 2020; SILVA, 2018).

Entre as soluções para a aplicação de FS hidrofóbicos estão os sistemas nanoestruturados, entre os quais se encontra os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), que são nanopartículas lipídicas de segunda geração. A matriz do CLN é desordenada de maneira que apresenta espaços vazios que podem acomodar altas concentrações de moléculas de fármacos hidrofóbicos em aglomerados amorfos (GHASEMIYEH *et al*, 2018; CHAUHAN *et al*, 2020).

Porém, os CLN se apresentam como fluidos de caráter líquido, o que não é ideal para uma administração na vagina, por ocasionar uma dispersão rápida. Com isso, os materiais híbridos orgânico-inorgânicos do tipo ureasil-poliéter (U-PEO) pode ser uma alternativa para atuar na liberação sustentada da FC incorporada nos CLN.

Esses materiais híbridos não interferem nas características físico-químicas dos seus componentes, o que permite o uso no desenvolvimento de novos sistemas com vasta aplicação, incluindo entrega controlada de fármacos. Enquanto a fase orgânica fornece propriedades físico-químicas como óptica, elétrica e de reatividade, a fase inorgânica melhora as propriedades térmicas, resistência mecânica, entre outras. Além da flexibilidade na variação de forma e tamanho da apresentação final (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2016; OSHIRO JUNIOR *et al*, 2021).

Além disso, essas propriedades são atraentes para uma aplicação em mucosas, como a vulvovaginal, por otimizar o tempo de contato da formulação com a região e a capacidade de liberação sustentada da droga (ALMEIDA *et al*, 2019). Portanto, sugere-se que ZnPcF16 incorporada em CLN dispersos em materiais híbridos do tipo U-PEO associados a aPDT, podem oferecer uma promissora e inédita ferramenta nanobiotecnológica visando o tratamento da CVV.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Candidíase

A *Candida* é um fungo oportunista, no qual, em um determinado estudo, a infecção causada pelos fungos desse gênero, chegou a obter uma prevalência de 45,9% em pacientes com comorbidades. A candidíase é uma das principais infecções causadas por fungos, por possuir uma das maiores incidências em humanos e ser responsável por cerca de 70% das infecções fúngicas em todo o mundo (DE JESUS *et al*, 2021; RODRIGUES *et al*, 2022; TALAPKO *et al*, 2021).

O espectro clínico da candidíase é bastante diversificado, por poder se manifestar tanto como uma infecção superficial mucocutânea, como uma candidemia com risco de vida mais elevado. As espécies patogênicas de *Candida* incluem, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, dentre essas a mais comumente relatada é a *C. albicans*, que chega a ter uma incidência de aproximadamente 37% nos casos (BHATTACHARYA; SAE-TIA; FRIES, 2020).

Entre as manifestações clínicas da candidíase estão a oral, que é a mais comum, no qual estima-se que a *C. albicans* pode ser encontrada em mais de 80% dos isolados dos fungos orais, tanto entre indivíduos saudáveis como em infectados. A gastroenterologia é outra manifestação, onde a infecção ocorre na flora gastrointestinal (TALAPKO *et al*, 2021). A candidíase vulvovaginal (CVV) é considerada a segunda infecção vaginal mais comum, que chega a afetar 75-80% das mulheres pelo menos uma vez na vida, no qual a *C. albicans* é responsável por cerca de 90% dos casos (ROSATI, 2020; WILLEMS *et al*, 2020).

Os principais fatores relacionados a CVV que estão associados ao hospedeiro são gravidez, desequilíbrio hormonal, diabetes desregulada, imunossupressão, uso de antibióticos de amplo espectro, glicocorticoides e predisposições genéticas (RODRÍGUEZ-CERDEIRA *et al*, 2020). Alguns estudos tentam relacionar a desregulação imunológica causada pela infecção por coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), especialmente àqueles com comorbidades predisponentes (RIAD, 2020). Esses fatores demonstram a relação oportunistas das infecções ocasionadas por *C. albicans*.

A *C. albicans*, na verdade tem uma relação de comensalismo com o humano, ou seja, não traz benefício ou malefício ao hospedeiro, com isso faz parte da flora humana, porém fatores como a baixa da imunidade do hospedeiro pode acarretar na transição para uma relação

patológica. Outros fatores, relacionados ao microrganismo, que possuem grande relevância para essa transição são as enzimas proteolíticas, mudanças morfológicas e desenvolvimento de resistência a drogas (VILA *et al*, 2020).

Um dos principais fatores de virulência é a transição para a forma patogênica da *C. albicans*, relacionada ao polimorfismo do fungo, que configura a transição morfológica do fungo entre levedura e hifa. Entre as duas formas, a hifa é a invasiva e responsável pela patogenicidade e a leveduriforme está presente na microbiota humana. (TALAPKO *et al*, 2021; WILLEMS *et al*, 2020).

Outro fator importante é a formação de biofilmes, que comunidades microbianas complexa, bastante heterogêneas, possui diferentes formas morfológicas pelo polimorfismo do microrganismo. Além disso, os biofilmes possuem uma grande importância clínica por tornar os microrganismos resistentes a ação de antifúngicos e pela sua capacidade de aderência a equipamentos como cateteres, formando reservatório de *C. albicans* e trazendo maiores riscos de infecções hospitalares (CIUREA *et al*, 2020).

A CVV tem entre suas principais problemáticas o tempo de retenção da substância ativa, que por ser baixo, nos tratamentos convencionais, leva a subdoses e uso prolongado de antifúngicos, que conseqüentemente podem resultar em resistência. A resistência aos antifúngicos é um dos maiores desafios no tratamento da candidíase, podendo ocorrer por alterações na composição do material, mutações, entre outros. Um exemplo são casos de pacientes portadores de HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) que fizeram terapia utilizando azóis, em baixa dose a longo prazo e acabaram selecionando a *Candida spp* resistente a essa classe (BHATTACHARYA; SAE-TIA; FRIES, 2020; BIANCHIN *et al*, 2019).

2.2 Cavidade vulvovaginal

A extensão do útero e colo do útero até a vulva é chamada de cavidade vulvovaginal, que pertence ao sistema reprodutor feminino. As condições dessa região são muito instáveis, há a acidez, temperatura, produção de fluido vaginal, alterações causadas pelo ciclo menstrual, como a espessura do epitélio, atividades sexuais, entre outras. Além disso, possui a sua própria microbiota, onde podem estar presentes *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Staphylococcus*, que possuem funções como moduladores de respostas inflamatórias e alguns *Lactobacillus* promovem o ambiente mais ácido, com pH de 3,5 a 4,5, capaz de evitar patógenos como *E. coli* (LEYVA-GÓMEZ *et al*, 2019; OSMALEK *et al*, 2021)

As infecções que ocorrem nessa região, como a CVV podem causar sinais e sintomas inflamatórios desde a vulva até a mucosa vaginal. O tratamento normalmente escolhido para essas infecções é tópico, que tem como maior vantagem a redução da exposição sistêmica aos antimicrobianos, reduzindo o desenvolvimento de resistência e efeitos colaterais. (CERDEIRA *et al*, 2020; VANIC *et al*, 2021).

Quando se trata da administração de drogas por essa via, ela tem como principais vantagens a alta vascularização e não ocorrer o metabolismo de primeira passagem, além disso, permite a autoaplicação, menor chances de eventos adversos e evita interações medicamentosa ou alimentar. Porém, tem como alguns dos principais desafios o tempo de permanência do fármaco no local, considerando a depuração e corrimento vaginal, a barreira mucosa, que possui permeabilidade seletiva dificultando o transporte molecular das partículas e o pH levemente ácido, que dificulta a liberação dos fármacos (LEYVA-GÓMEZ *et al*, 2019; VANIC *et al*, 2021).

Entre as formas farmacêuticas convencionais para administração na cavidade vulvovaginal estão os géis, pomadas, anel vaginal, óvulos, comprimidos vaginais, cápsulas vaginais. Porém essas formulações apresentam geralmente, desconforto, falta de uniformidade de dose, baixa biodisponibilidade, extravasamento quando em cremes e géis pelo canal vaginal, aumento da frequência de administração, e grande parte desses problemas é causado pelo baixo tempo de retenção na mucosa vaginal (CONTE, 2021).

2.3 Tratamento da candidíase

Os antifúngicos atuam em dois alvos principais, aproveitando das diferenças entre as células humanas e fúngicas, a matéria celular e a parede celular. Três classes são responsáveis pelo tratamento convencional contra a candidíase, os polienos, azólicos e equinocandinas (MARQUEZ, 2020; BEN-AMI, 2018).

O grande desafio da atualidade no tratamento das micoses é a resistência dos patógenos, que se tornou uma séria ameaça à saúde global. O uso indiscriminado de antifúngicos, é o ponto chave dessa problemática, tanto pela população para tratamento ou profilaxia de doenças, quanto na agricultura, como é o caso dos azóis que são utilizados desde a década de 1960, dessa forma os patógenos fúngicos podem ser expostos e desenvolverem resistência (MARQUEZ, 2020).

Quanto ao tratamento convencional, as equinocandinas são fungicidas, notavelmente seguras e possuem poucas interações medicamentosas, porém possuem baixa biodisponibilidade oral e alta ligação às proteínas o que limita a sua administração. Entre os azóis, o fluconazol é o mais utilizado em tratamentos de candidíase, no entanto, o seu principal efeito adverso é a hepatotoxicidade e pode interagir com medicamentos que sofrem metabolismo pelo citocromo P450, o que restringi seu uso. A anfotericina B faz parte da classe dos polienos, porém é utilizada somente na segunda linha de tratamento da candidíase invasiva pela sua toxicidade (BEN-AMI, 2018; MOREIRA, 2021).

Quando não é possível tratar a candidíase por meio do tratamento convencional, se vê a necessidade de modificar a farmacoterapia, aumentando a dosagem e fazendo associação múltipla de medicamentos. Porém, essas ações podem acarretar em problemas ao paciente, como a ocorrência de efeitos colaterais e a prevalência da infecção, o que ressalta a importância da busca de novas estratégias terapêuticas (BIANCHIN *et al*, 2019).

As nanopartículas na administração vulvovaginal podem ser uma solução, em relação aos problemas citados anteriormente, pois o encapsulamento de drogas pode fornecer uma entrega controlada, prolongada e direcionada, porém formam um material de característica fluida o que dificulta a sua administração. Com isso, a incorporação em materiais híbridos pode facilitar na administração nesta via unindo-se os benefícios das nanopartículas (OSMALEK *et al*, 2021; NICOLAU COSTA *et al*, 2021).

2.4 Nanopartículas (NP)

O aprimoramento de alguns aspectos como a estabilidade, direcionamento, curto período de produção, produção em larga escala e biodisponibilidade dos fármacos tem sido um dos focos da indústria farmacêutica, com isso, as nanopartículas (NP), como nanocarreadores, surgiram como uma solução. As vantagens alcançadas com as NP são o direcionamento das drogas, entrega controlada e sustentada, proteção do fármaco encapsulado, entre outros que otimizam a administração medicamentosa (ALSHAWWA *et al*, 2022; PATEL *et al*, 2019)

O uso de NP no tratamento de doenças fúngicas pode levar ao aumento do efeito das drogas, permitir uma menor dosagem, otimizar os intervalos entre as administrações, garantir uma melhor biodisponibilidade, além de reduzir efeitos adversos. Podem apresentar diferentes tamanhos, entre 50 a 1000 nm e morfologias, como amorfas, esféricas e cristalinas, o principal

papel é o transporte de partículas, podendo encapsular tanto hidrofílicas quanto lipofílicas (SOUZA, 2019; NAFARI *et al*, 2020)

As NP podem ser classificadas quanto a geração, existem duas gerações de nanopartículas lipídicas, que foram desenvolvidas como um sistema alternativo para encapsulação de fármacos em relação aos sistemas coloidais convencionais. As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), e os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN). Também podem ser classificadas quanto entre NP orgânicas, que incluem lipossomas, NP poliméricas, micelas poliméricas e NP sólidas, e as NP inorgânicas, que incluem NP metálicas, como as de ouro e prata, entre outras (SAEZ & SOUZA & MANSUR, 2018; DE SOUZA, 2019).

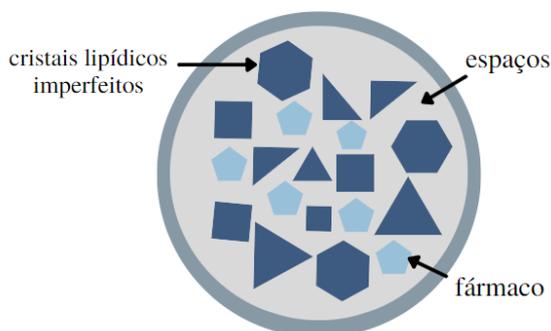
A primeira geração é composta pelas nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), que são produzidas por misturas sólidas e líquidas por homogeneização de pressão mais alta. Essa geração pode ser classificada de acordo com a natureza do fármaco e o lipídio incorporado. As principais desvantagens são a capacidade de carga baixa, baixa eficiência de encapsulação e a recristalização (PATEL *et al*, 2019).

A segunda geração surgiu como um aprimoramento da primeira, solucionando problemas como uma baixa eficiência de encapsulamento e a expulsão das substâncias encapsuladas. Os CLN promovem o aumento da viscosidade da fase lipofílica interna, como por exemplo as que são desenvolvidas pela presença de um tensoativo biocompatível, além de possuir uma matriz menos organizada, pela cristalização lipídica (SAEZ & SOUZA & MANSUR, 2018; BIANCHIN *et al*, 2019).

2.4.1 Carreador lipídico nanoestruturado (CLN)

Os CLN variam entre 200-300 nm. Alguns estudos relatam que essas NP apresentam uma maior penetração nas camadas profundas da pele, por dispor de tamanho menor fornece uma maior área de contato, favorecendo o aumento da penetração do fármaco (GARG *et al*, 2020). A organização do CLN pode ser observada na figura 1.

Figura 1. Estrutura do CLN



CLN, carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora, 2022.

Essas NP possuem uma matriz de cristais lipídicos imperfeitos, promovendo espaços que tornam possível a incorporação de moléculas de fármacos hidrofóbicas, como é o caso do ZnPcF16. Pela presença de lipídios líquidos no CLN problemas como expulsão do fármaco são menos recorrentes do que em outras gerações de NP, outra vantagem é a capacidade de carregar uma maior quantidade de substâncias (SATO *et al*, 2017; CHAUHAN *et al*, 2018)

Um dos maiores problemas na administração na via tópica é a baixa eficácia por problemas na penetração e permeação na pele, tendo como principal barreira o estrato córneo. O CLN aumenta a permeação ou penetração na pele pela capacidade de rearranjar e fluidizar o empacotamento lipídico do estrato córneo e assim intensificando a permeação (GHASEMIYEH *et al*, 2018; KADRENGULA *et al*, 2022). Com isso, para uma melhor administração do CLN na cavidade vulvovaginal ele pode ser disperso em um material híbrido.

2.5 Material híbrido do tipo orgânico-inorgânico

Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos são multifuncionais. Suas propriedades são resultado da combinação sinérgica de uma vasta interface híbrida. Permitem uma ampla possibilidade pelo acoplamento de estado coloidal, que compreende uma solução onde as partículas dispersas de dimensões nanométricas, além de manter as propriedades físico-químicas dos materiais dispersos são mantidas. Ademais os materiais híbridos podem ser moldados em diversos formatos o que facilita a sua aplicação em múltiplas áreas (FAUSTINI *et al*, 2018).

Com isso, esses materiais tem atraído a atenção no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de drogas, entre eles os materiais poliméricos à base de poli(óxido de

etileno) (PEO) é o mais utilizado para essa prática. O PEO apresenta diversas vantagens no campo farmacêutico por apresentar baixa toxicidade, alta capacidade de intumescimento, devido ao seu caráter hidrofílico e pela estabilidade no pH do meio biológico. A combinação do PEO com o poli(óxido de propileno) (PPO), que tem caráter mais hidrofóbico traz um caráter interessante para o sistema de liberação de drogas (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2016).

2.5.1 U-PEO

O U-PEO são materiais híbridos do tipo orgânico-inorgânico, que tem base de polímeros e são muito versáteis. Suas propriedades podem ser controladas com precisão no tempo e no espaço (SAVELEVA *et al*, 2019). O U-PEO possui em sua superfície grandes poros dispersos, o que favorece a maiores taxas de liberação de um fármaco quando comparado a outros materiais híbridos semelhantes (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2021).

Alguns estudos avaliaram a aplicação de filmes híbridos de U-PEO como dispositivo de liberação transdérmica de uma substância ativa. O estudo provou que os materiais híbridos U-PEO apresentaram biocompatibilidade, alta força de adesão e propriedades semi-oclusivas, mantendo a região hidratada, o que é ideal para tratamento de feridas podendo acelerar o processo de cicatrização (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2016).

Além disso, os materiais híbridos são capazes de aumentar o tempo de contato da substância ativa, dispersa nele, com tecidos epidérmicos, orais e mucosas (DE ARAÚJO *et al*, 2019). Essa otimização do contato traz uma vantagem para a aplicação de moléculas hidrofóbicas incorporadas em CLN na cavidade vulvovaginal.

2.6 Terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT)

A terapia fotodinâmica foi utilizada inicialmente contra alguns tipos de câncer. Inicialmente foi administrado a hematoporfirina em camundongos com a aplicação de luz vermelha, a qual foi capaz de erradicar o crescimento de um tumor mamário. Em seguida foi descoberta sua capacidade de combater doenças virais, bacterianas e parasitárias (CORREIA *et al*, 2021).

A aPDT se baseia na interação entre um FS, aplicação de luz de comprimento de onda específico e a presença de oxigênio, gerando EROS citotóxicos que são capazes de lesar constituintes dos microrganismos, promovendo a apoptose ou necrose celular. Essa terapia é

seletiva por poder ser direcionada pela aplicação de luz, sendo menos invasiva (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020; SANTANA, 2020).

A aPDT apresenta diversas vantagens em relação a terapia convencional com antibióticos entre elas estão, amplo espectro de ação, por poderem atuar em diversos organismos, efeitos adversos e danos ao tecido do hospedeiro mais limitado (GHORBANI *et al*, 2018).

Os FS são parte essencial para a eficácia da aPDT, assim para melhor eficácia do FS é necessário que alguns fatores sejam aplicados corretamente como, uma forma farmacêutica ideal e o tempo de irradiação de luz do FS (PHAM *et al*, 2021).

2.7 Fotossensibilizadores (FS)

Os FS podem ser classificados em três gerações. Na primeira se encontram a porfirina e seus derivados (Hp), na segunda geração estão os derivados de FC, que se assemelham as porfirinas e na terceira geração estão os fotossensibilizadores dentro de sistemas biológicos (GHORBANI *et al*, 2018). Sendo as duas primeiras as principais.

A hematoporfirina foi a pioneira entre os FS, sendo citada pela primeira vez em meados do século 18. Os Hp são obtidos pela tecnologia de desfibrilação e acidificação sanguínea através da hematoporfirina IX, que está presente na circulação sanguínea (CORREIA *et al*, 2021).

As porfirinas são macrociclos aromáticos, rígidos, planares e simétricos, com tendência a formação de estruturas cristalinas. Além disso, outro dos maiores problemas dessa classe é que a forma livre prontamente forma agregados no meio aquoso, reduzindo o rendimento da formação de EROS (KINGSBURRY & SENGE, 2021; DHARMARATNE *et al*, 2020).

Apesar disso, os FS de primeira geração possuem baixa toxicidade no escuro, boas propriedades fotofísicas e fototérmicas, já que os EROS são gerados de maneira muito direcionada, além de alta captação tumoral, por essas razões ainda são utilizadas para o tratamento de câncer. Porém, possuem baixa absorção no comprimento de onda de 600 a 800 nm e necessita ser protegida da luz por períodos longos após a aplicação por apresentar fotossensibilidade na pele (DEDA *et al*, 2020).

As FS de segunda geração necessitam de quelação com um átomo ou íon metálico para exibir propriedades de aPDT. Porém, conseguem superar os principais problemas da geração

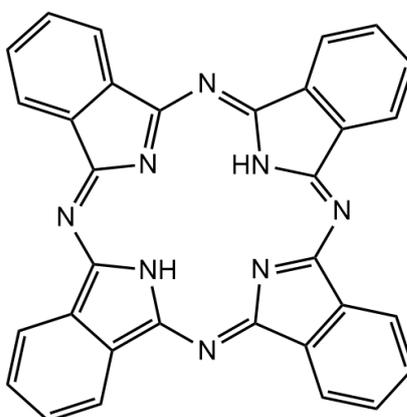
anterior, por apresentarem uma absorção aumentada no comprimento de onda, menor exposição à droga e à luz para a aPDT, maior rendimento na geração de EROS (SWAMY *et al*, 2020).

Além disso, as FS de segunda geração apresentam ação prolongada nas células-alvo, redução dos efeitos colaterais e maior estabilidade química e física. Ademais, as FC são muito lipofílicas, o que facilita a ligação com constituintes celulares, porém esse caráter mais hidrofóbico prejudica a administração desses FS, para solucionar isso a incorporação da FC em CLN para a administração em meio fisiológico se torna coerente (SILVA, 2018; BAYAT; KARIMI; ADIMI, 2020).

2.8 Ftalocianina

As FC são macromoléculas sintéticas, possui um pigmento de azul intenso, as propriedades físicas e ópticas tornam essa molécula um forte candidato para amplas aplicações, como a aPDT (URBANI *et al*, 2019). A estrutura da FC se assemelha a das porfirinas, a estrutura química da FC pode ser observada na figura 2.

Figura 2. Estrutura química da ftalocianina base livre



Fonte: Adaptação de Calori, 2016.

A FC possui um anel benzênico acoplado a cada uma das subunidades pirrólílicas, que se ligam por átomos de nitrogênio. As propriedades fotofísicas são influenciadas pelos íons metálicos centrais que podem ser adicionados a estrutura como, zinco e alumínio, que resultam em metaloftalocianinas que possuem alto rendimento na formação de EROS (CAROBELI *et al*, 2021).

A capacidade de obter uma variedade de derivados, se dá pela versatilidade de síntese da FC, sua estrutura pode ser modificada pela inserção de metais centrais, substituintes axiais e periféricos, entre outros, o que modifica suas propriedades. Ademais possui elevada semicondutividade elétrica, fotoquímica e fotofísica, baixa solubilidade em solventes orgânicos, estabilidade térmica e densidade eletrônica, que ocorre pela estrutura eletrônica muito conjugada (DE SIQUEIRA *et al*, 2022).

Quando comparadas as FS de primeira geração, as FC apresentam diversas vantagens como alta absorção de luz nos comprimentos de onda entre 600 a 750 nm, maior pureza química, uma faixa terapêutica ideal, baixa toxicidade, reduzidos efeitos colaterais e menor tempo de incubação, entre outros (SANTOS, 2020; DHARMARANTHE *et al*, 2020).

A principal desvantagem da FC é a baixa solubilidade em água e meio fisiológico, o que impossibilita a sua administração direta (SANTOS *et al*, 2022). No entanto, a FC pode ser incorporada em sistemas de liberação de drogas como lipossomos, nanoemulsões, nanopartículas poliméricas (SILVA, 2018).

2.8.1 Ftalocianina de flúor-zinco

As metaloftalocianinas, que são as FC com a adição de um átomo metálico central, apresentam um maior potencial de formação de EROS, o que melhora a aPDT, além de possuírem maior tempo de vida e maior retenção tumoral, quando comparadas as outras moléculas de FC (CAROBELI *et al*, 2021; TUNÇEL *et al*, 2019).

As Ftalocianinas de zinco (ZnFC) são fotossensibilizadores fortes na absorção na região do infravermelho rápido, possui baixa toxicidade no escuro, alta fotoestabilidade e geração de EROS otimizada. A ZnFC já demonstrou ser um agente promissor no tratamento de vários tipos de câncer, o que a torna interessante para a aplicação na aPDT (TUNÇEL *et al*, 2019).

O Zn central presente na ZnPcF16 necessita de um curto tempo de pré irradiação, entre 1-5 minutos, para atingir a redução de UFC ideal para uso clínico, em outros FS o tempo de incubação pode chegar a 60 minutos (DHARMARATNE *et al*, 2020). Esse fator é uma grande vantagem na aplicação terapêutica de uma formulação contendo essa substância ativa, promovendo uma aplicação mais rápida e prática.

3. OBJETIVOS E METAS A SEREM ALCANÇADOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver carreadores lipídicos nanoestruturados contendo ftalocianina dispersos em materiais híbridos do tipo ureasil-poliéter associado a terapia fotodinâmica para o tratamento da candidíase vulvovaginal.

3.2 Objetivos Específicos

- Preparar e caracterizar dos CLN dispersas nos sistemas híbridos;
- Analisar a compatibilidade entre os compostos, pelos grupos funcionais presentes por FTIR e do comportamento térmico por TG e DTA;
- Avaliar o efeito da inativação fotodinâmica antimicrobiana da FS incorporada ou não nos CLN dispersas nos sistemas híbridos sobre *Candida albicans* por meio de medição dos halos de inibição;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os experimentos foram desenvolvidos no período entre dezembro de 2021 e março de 2022 nos Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização (LDCPF) e Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos (LABDEM), na UEPB e Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

4.1.1 *Matérias primas*

- Água destilada;
- Estearato de polioxietileno 40 (SIGMA-ALDRICH, SP, Brasil);
- Óleo de rícino (Mapric, Ipiranga, SP, Brasil);
- Triglicérides do ácido cáprico/caprílico (Lote: 1M0917J – Via Farma, São Paulo, SP, Brasil);
- Pluronic[®] F127 (Lote: SLBS1853V – SDAM, SIGMA-ALDRICH, SP, Brasil);
- Zinc1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18,22,23,24,25-hexadecafluoro-29H,31H-phthalocyanine (Lote: MKBK0616V – SIGMA-ALDRICH, SP, Brasil);
- Alcoóxido modificado 3-isocianatopropiltriétoxisilano (IsoTrEOS) (Lote: BCBZ6236 – DAS, SIGMA, ALDRICH[®], EUA);
- 2-aminopropil propilenoglicol (Lote: BCBH5375V – SDA, SIGMA ALDRICH[®], SP, Brasil);
- Etanol (Lote: 106720, Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Solução de HCl 2M;
- Meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar (Lote: 012519506 – SDA, SIGMA ALDRICH[®], SP, Brasil);
- PBS (Lote: 1315622 - OXOID, Hampshire, England);
- Nistatina (Lote: S06312, Pharmácia Geranium, Barretos, SP, Brasil);

4.1.2 Equipamentos

- Balança semi-analítica AW220 – Shimadzu (Número de série: B129171113 – Quioto, Honshu, Japão);
- Banho ultrassônico – Ultrasonic Cleaner Unique (Número de série: 100411 – Indaiatuba, SP, Brasil);
- Destilador de água Pilsen SP5L – SPLABOR (Número de série: 03616/116 – Vila Formosa, Prudente, Brasil);
- Sonicador de Ponteira/ Desruptor de Célula Ultrassônico DES500 500 W Unique (Número de série: 102411 – Indaiatuba, SP, Brasil);
- Espectrômetro Spectrum (400 Perkin Elmer, EUA);
- Software Origin® (versão 8.5);
- Termobalança Shimadzu™ – TGA-50 (Número de série: C305651 – Barueri, SP, Brasil);
- Analisador térmico Shimadzu™ – DTA-60 (Número de série: C305651 – Barueri, SP, Brasil);

4.2 Método

4.2.1 Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)

A formulação foi desenvolvida pelo método de fusão-emulsificação, no qual a fase lipídica foi composta de 2% de estearato de polioxietileno 40 (POE 40), 2% de triglicérides do ácido cáprico/caprilico (TGACC) e 1% de óleo de rícino hidrogenado e etoxilado 40 (OR). A fase aquosa foi composta de 3,5% de Pluronic™ F-127 (PF 127) e água (Mili-Q).

Os componentes da fase aquosa e da fase lipídica foram pesados em béqueres separados, em sequência a fase aquosa foi aquecida à 70 °C e a fase lipídica a aproximadamente 5–10 °C acima do ponto de fusão do lipídio. A fase aquosa, contendo o tensoativo, foi vertida sobre a fase lipídica, fundindo sob constante agitação, dando origem a uma pré-emulsão. Por meio de um sonicador, que age como um homogeneizador de alta pressão, a pré-emulsão foi dispersa, com amplitude de 35%, em modo descontínuo por 5 ciclos de 1 minuto, com intervalo de 30 segundos entre, por fim, foram acondicionadas em frascos com proteção fotossensível. Na

preparação de CLNs acrescidos da ZnPcF16, a técnica de preparação foi a mesma, no qual o ativo foi disperso na fase lipídica na concentração de 1% em relação a massa lipídica.

4.2.2 Preparação dos materiais híbridos ureasil-poliéter (U-PEO)

Os percussores híbridos foram sintetizados por uma reação de um alcoóxido modificado 3-isocianatopropiltrietoxissilano (IsoTrEOS) e polímeros modificados (NH₂-POE-NH₂) com massas moleculares de 500 g/mol e (NH₂-POP-NH₂) com massa molecular de 400 g/mol. A mistura, alcoóxido e polímero modificado, foi mantida sob refluxo em Etanol absoluto à temperatura de 80 °C por 24 horas. Posteriormente o solvente de síntese foi eliminado por aquecimento e pressão reduzida. Em seguida, as reações de hidrólise e condensação, promovidas pela adição controlada de água, etanol e um agente catalisador de caráter ácido (HCl) levaram à formação de um gel. Por fim, o U-PEO foi mantido em dessecador para secagem à temperatura ambiente (± 30 °C) por 72 h.

Para o preparo dos materiais híbridos, o percussor (PEO), foi dissolvido em etanol em um béquer, como catalisador para as reações de hidrólise e condensação foi adicionado HCl, as proporções dos constituintes dos *materiais* híbridos estão descritas na tabela 1.

Tabela 1 - Proporção dos constituintes dos materiais híbridos

	U-PEO	U-PEO+CLN	U-PEO+CLN- ZnPcF16	U-PEO+ZnPcF16
PEO	0,750 mg	0,750 mg	0,750 mg	0,750 mg
ÁGUA	-	-	-	750 µL
ETANOL	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
HCl	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
CLN	-	750 µL	-	-
CLN-ZnPcF16	-	-	750 µL	-
ZnPcF16	-	-	-	750 µL

PEO 500, percussor Ureasil-Poliéter 500; HCl, ácido clorídrico; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOCLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborado pela autora, 2022.

4.2.3 Caracterização físico-química

4.2.3.1 FTIR

A partir do espectrômetro Spectrum, de varredura na faixa de 4000-650 cm^{-1} e 4 cm^{-1} de resolução, foram obtidos os espectros de FTIR das amostras. Os dados adquiridos foram analisados pelo software Origin®.

4.2.3.2 Análise térmica diferencial (DTA)

As diferenças térmicas das substâncias, presentes nos sistemas, foram analisadas por Análise Térmica Diferencial (DTA), num intervalo de temperatura de 40 a 300 °C, com velocidade de aquecimento de 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio a um fluxo de 100 mL/min. Como padrão de calibração do equipamento foi utilizado o índio, que apresenta ponto

de fusão 156,6 °C, por meio do software da TASYs da Shimadzu™. Para analisar as amostras, foram utilizados cerca de 2 mg de cada em um porta amostra de alumínio selado.

4.2.3.3 Termogravimetria (TG)

A técnica de TG foi utilizada para determinar a avaliação da estabilidade térmica do material. As amostras foram acondicionadas em cadinho de platina e aquecidas num intervalo de 40 a 900 °C com uma taxa de 10 °C/min sob fluxo de nitrogênio de 100 mL/min. O padrão de calibração do equipamento utilizado foi o oxalato de cálcio monoidratado, para a calibração da massa.

4.2.4 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica

Foi utilizada uma cepa ATCC (90028) de *C. albicans* obtida da American Type Culture Collection (ATCC). *C. albicans* foi mantida em caldo de levedura com base de nitrogênio (YNB, Sigma Aldrich®, EUA) suplementado com D - (+) - glicose 100 mM (Sigma Aldrich®, EUA). A levedura foi subcultivada em placas Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Sigma Aldrich®, EUA) e incubada a 37 °C por 48 h para crescimento de colônias.

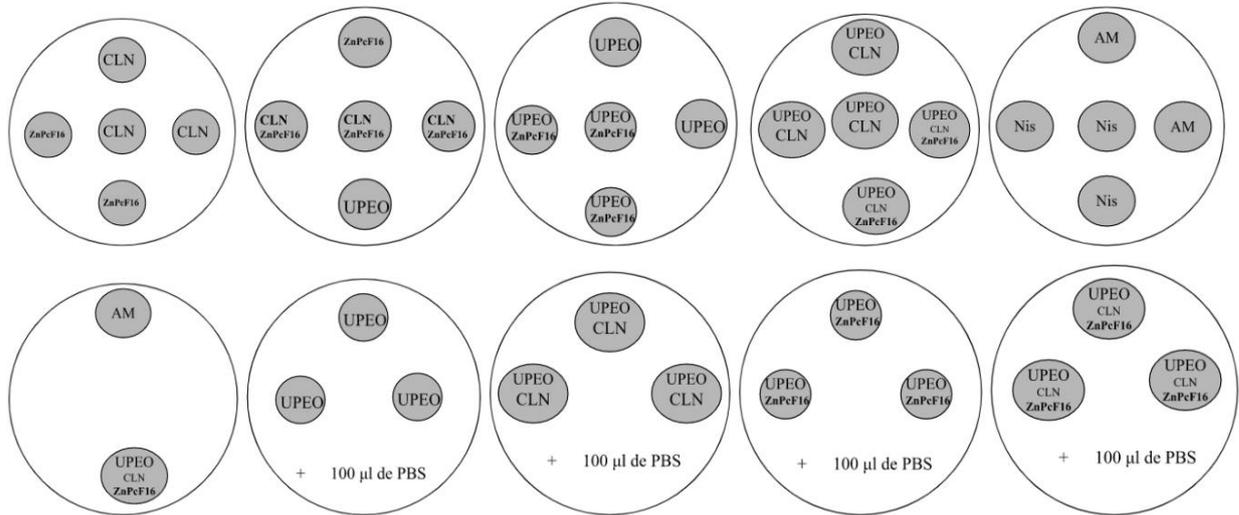
4.2.5 Tratamento contra culturas planctônicas

O azul de metileno (AM) foi utilizado em uma concentração de 3%, esse corante é utilizado na aPDT por ser um FS da classe das fenotiazinas, tendo uma absorção da luz entre 630 e 660 nm, utilizado em estudos de atividade aPDT como CARDOZO, 2021. A Nistatina (Nis) em uma concentração de 5% e 4,95 mg de ZnPcF16 foi diluída para 10 mL de DMSO 20%. O ágar utilizado foi o Sabouraud Dextrose Agar, sendo preparado conforme indicado pelo fabricante. Com o auxílio de um perfurador cilíndrico os materiais híbridos foram cortados nas dimensões de 6x6 cm e as soluções líquidas foram colocadas em cilindros de aço inoxidável com as mesmas dimensões.

O inóculo de levedura foi preparado com colônias da cultura estoque, foram transferidas para 10 mL de YNB suplementado com 100 mM de D - (+) - glicose e incubadas a 37 °C durante a 18 horas para obtenção da cultura planctônica de *C. albicans* em fases estacionárias. O espectrofotômetro de absorvância de 530 nm, permitiu a padronização, garantindo uma

concentração do inóculo de 5×10^6 UFC. A distribuição dos grupos nas placas pode ser observada na figura 3.

Figura 3. Distribuição dos grupos nas placas



Nis, nistatina; AM, azul de metileno; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina.

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

O teste microbiológico foi realizado pelo método de Difusão em ágar, para isso as placas foram divididas conforme a figura 3, onde foi realizado um primeiro grupo corresponde sem a aplicação de luz e um segundo grupo com a aplicação de luz. Os materiais híbridos foram colocados novamente em placas separadas, nas quais foi aplicado 100 µL de PBS (Tampão Fosfato Salina) sobre sua superfície. No grupo que foi aplicado a aPDT, esperou-se o tempo de pré-incubação de 5 minutos, após isso, foi utilizada uma luz LED branca (Feniz™, LD01, 113 J. cm⁻²) por 5 minutos, para ativar as substâncias fotossensíveis.

Por fim, as placas foram levadas a estufa, em uma temperatura de 37 °C por 48 h. Após esse tempo os halos de inibição do crescimento fúngico foram medidos em meio, a fim de se correlacionar o tamanho destes com o potencial antifúngico das amostras testadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

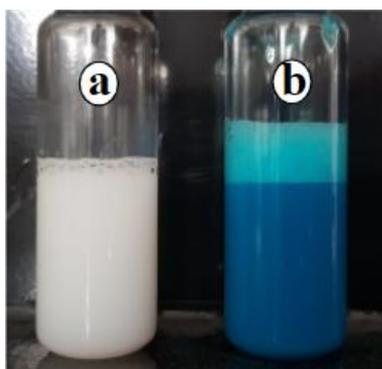
5.1 Carreador Lipídico Nanoestruturado (CLN)

Os sistemas nanoestruturados foram preparados como descrito no item 4.2.1, como em Sato *et al*, 2017, com modificações na aplicação do sonicador, no qual no presente estudo foi utilizado o tempo total de 5 minutos. A sonicação no preparo de nanopartículas, além de reduzir o tamanho das partículas, facilita a micromistura e auxilia na prevenção de precipitação e cristalização do material, a microturbulência causada pelo aparelho é capaz de quebrar agregados de partículas. O método de fusão seguida por emulsificação foi utilizado pela capacidade de reduzir o tamanho das partículas, utilizando parâmetros de velocidade e tempos ideais (BEHBAHANI *et al*, 2019; MCDONEL; HICKEY; PALMER, 2020).

Visando a incorporação da ZnPcF16 nos CLN, a mesma foi adicionada no preparo da fase lipídica. Essa FC possui caráter hidrofóbico, baixa solubilidade aquosa, por essa razão foi aplicada essa metodologia que tem a capacidade de incorporar fármacos com esse caráter, promovendo a retenção e dispersão na fase lipídica (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020).

A figura 4 apresenta as características macroscópicas dos CNL com e sem ZnPcF16.

Figura 4. Características macroscópicas dos CLN (a) e CLN-ZnPcF16 (b)



CLN, carreador lipídico nanoestruturado (a); CLN-ZnPcF16, carreador lipídico nanoestruturado contendo hexadecaflúorftalocianina (b). **Fonte:** Elaborado pela autora, 2022.

Foi analisado que ambas formulações, sendo armazenadas em geladeira, não apresentaram, por 90 dias, eventos de instabilidades como floculação, que é o processo de agregação de partículas, cremação, que é quando a fase dispersa tem menor densidade que a fase contínua, ocorrendo uma elevação da fase dispersiva, ou coalescência, ocorre quando há o

aumento do tamanho global das partículas de maneira irreversível. Os sistemas macroscopicamente se apresentaram homogêneos, com coloração branca para o CLN e azulada para CLN-ZnPcF16, que é justificada pela coloração da ZnPcF16.

5.2 Materiais híbridos ureasil-poliéter

As formulações finais resultante da dispersão dos CLN nos materiais híbridos podem ser observados na figura 5.

Figura 5. Aparência visual dos materiais híbridos U-PEO (a), U-PEO+CLN (b), U-PEO+CLN-ZnPcF16 (c) e U-PEO+ZnPcF16 (d)



U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter (a); U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado (b); U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado (c); U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina (d). **Fonte:** Elaborado pela autora, 2022.

O material híbrido U-PEO (a) apresentou aspecto transparente, enquanto que, a U-PEO+CLN apresentou opacidade, que se deve a dispersão de CLN adicionado na proporção 1:1 do material híbrido. Os materiais híbridos U-PEO+CLN-ZnPcF16 e U-PEO+ZnPcF16 apresentaram colorações azuladas e azul intenso, respectivamente. A diferença na tonalidade é em virtude da presença do CLN, que possui um núcleo lipídico capaz melhorar a solubilidade da ftalocianina.

De forma geral, independente do grupo, podemos observar que, não foi apresentado trincas, fissuras, bolhas, nem precipitados na superfície e constaram em uniformidade macroestrutural, o que comprova a efetividade de incorporação nos materiais híbridos.

Ademais, as dimensões e o peso dos materiais híbridos estão dispostos na tabela 2.

Tabela 2. Peso e dimensões dos materiais híbridos

Formulação	Peso (g)	Diâmetro (cm)	Espessura (cm)
U-PEO	0,608	1,6	0,2
U-PEO+CLN	0,700 ± 0,01	1,6	0,2
U-PEO+CLN- ZnPcF16	0,712 ± 0,01	1,6	0,2
U-PEO+ZnPcF16	0,669 ± 0,01	1,6	0,2

U-PEO, Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina. Os valores estão expressos em média e desvio padrão (n=3). **Fonte:** Elaborado pela autora, 2022.

Os pesos e dimensões foram analisados após a secagem do material. O aumento do peso apresentado no U-PEO+ZnPcF16 em relação ao U-PEO pode ser justificado pela adição de ZnPcF16 e água, isso também justifica porque o U-PEO+CLN-ZnPcF16 não teve uma elevação maior de massa. Os diâmetros e espessuras foram mantidos em todas as formulações, o que indica que houve uma boa dispersão dos carreadores nos materiais híbridos. Os resultados na tabela corroboram com as características macroscópicas, onde pode ser analisado que o diâmetro, espessura e pesos obtidos são aproximados e reprodutíveis devido ao baixo desvio padrão.

Além disso, os aplicadores disponíveis no mercado possuem diâmetro entre 1, 1,2 cm e capacidade de aproximadamente 5 g gel e creme. O que demonstra que os materiais híbridos apresentam um diâmetro relativamente próximo ao encontrado no mercado. E por possibilitar um maior tempo de retenção evita o desconforto das várias aplicações, como ocorre nos tratamentos convencionais.

5.3 Caracterização físico-química

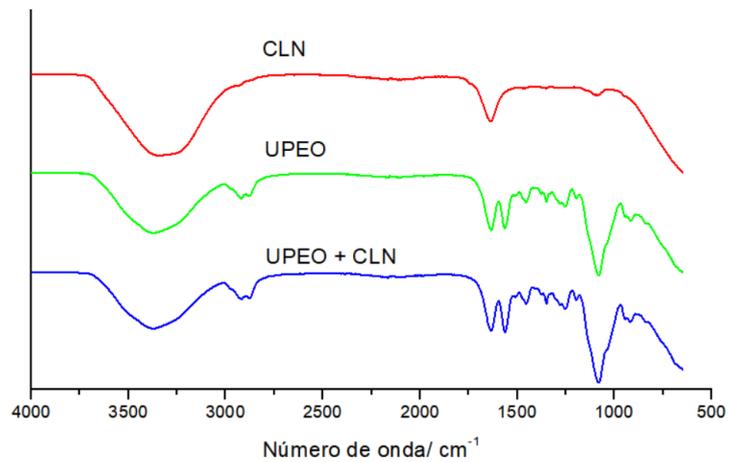
5.3.1 FTIR

O FTIR é um espectro de infravermelho capaz de separar as frequências das absorções individuais aplicando a operação matemática transformada de Fourier. O FTIR demonstra

evidências de grupos funcionais presentes em uma substância, assim auxilia na identificação de compostos ou na investigação da composição química deles. Esse espectro tem alta sensibilidade aos grupos funcionais e por essa razão é um dos métodos de referência para caracterização de substâncias (PAVIA *et al*, 2010; PETIT&PUSKAR, 2018).

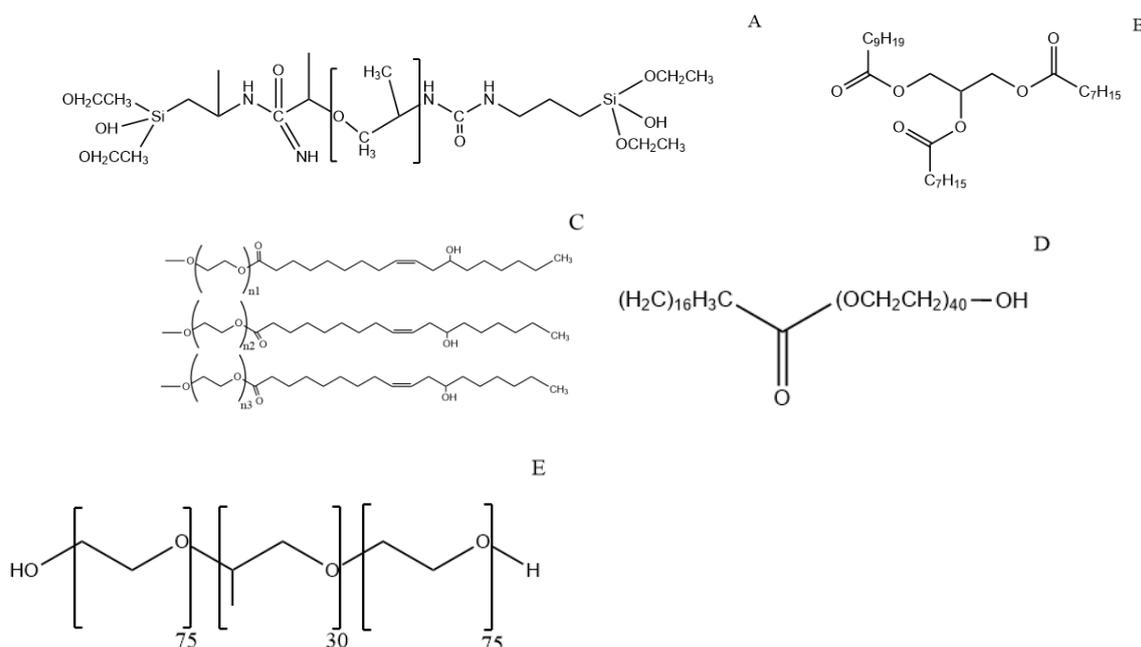
Os FTIR do CLN, U-PEO e do U-PEO-CLN podem ser observados na figura 6.

Figura 6. FTIR do CLN, U-PEO e U-PEO+CLN



FTIR, Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora.

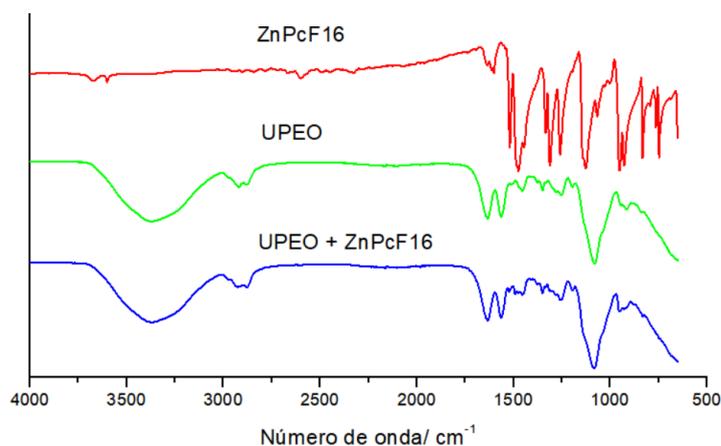
A estrutura química do U-PEO e dos constituintes do CLN podem ser observadas na figura 7.

Figura 7. Estrutura química do U-PEO, TGACC, OR, POE 40, PF 127

U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter (a); TGACC, triglicérides do ácido cáprico/caprilico (b); OR, óleo de rícino hidrogenado e etoxilado 40 (c); POE 40, estearato de polioxiétileno 40 (d); PF 127, PluronicTM F-127 (e). **Fonte:** Elaborado pela autora.

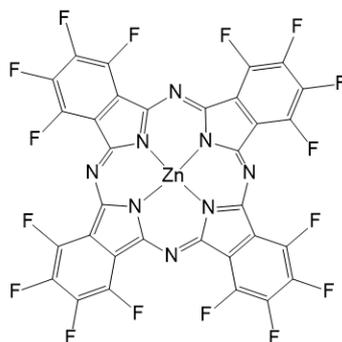
O espectro do U-PEO e CLN preservaram suas bandas em U-PEO+CLN. A banda em 1083 cm^{-1} presente no espectro do U-PEO e U-PEO+CLN pode corresponder a presença de ligações C-O ou C-N. Os espectros de CLN e U-PEO demonstram banda em comum em aproximadamente 1570 cm^{-1} e 1642 cm^{-1} , que podem ocorrer pela presença de ligações C=O, presentes na estrutura do U-PEO e em alguns constituintes do CLN como pode ser observado na figura 7, como, POE 40, TGACC e OR. A banda larga em 3356 cm^{-1} , pode indicar a presença de ligação N-H e O-H, esta banda está presente nos três espectros, onde em U-PEO+CLN ocorre um aumento de intensidade em relação a U-PEO, que pode ser causado pelas ligações presentes em PF 127, OR e POE 40 constituintes do CLN. Em 1655 cm^{-1} indica a presença de amida secundária. As bandas encontradas correspondem corroboram com a estrutura do U-PEO, como é visto na figura 7 e pode ser observado que as bandas do CLN também foram preservadas.

O FTIR do U-PEO, ZnPcF16 e U-PEO-ZnPcF16 pode ser analisado na figura 8.

Figura 8. FTIR do U-PEO, ZnPcF16 e U-PEO-ZnPcF16

FTIR, Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+ZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborado pela autora.

A estrutura química da ZnPcF16 pode ser vista na figura 9.

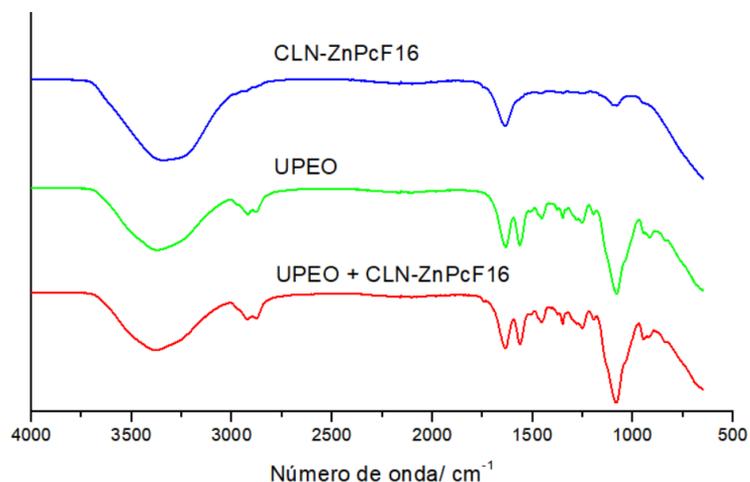
Figura 9. Estrutura química da ZnPcF16

ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Pode ser observado que a banda, em 1130 cm^{-1} , no espectro de U-PEO+ZnPcF16 tem maior intensidade que em U-PEO, isso pode ser devido a presença de diversas ligações C-N que ocorre na ZnPcF16. As bandas da ZnPcF16, podem ter ficado sobrepostas em U-PEO+ZnPcF16 pela diminuição da proporção de FC presente no material híbrido quando comparado ao isolado, porém o aumento de intensidade da banda, próximo a região de 1130 cm^{-1} , comprova a integridade do composto.

O FTIR do CLN-ZnPcF16 e U-PEO+CLN-ZnPcF16 podem ser analisados na figura 10.

Figura 10. FTIR do U-PEO, CLN-ZnPcF16 e do U-PEO+CLN-ZnPcF16



FTIR, Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier; CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN-ZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora.

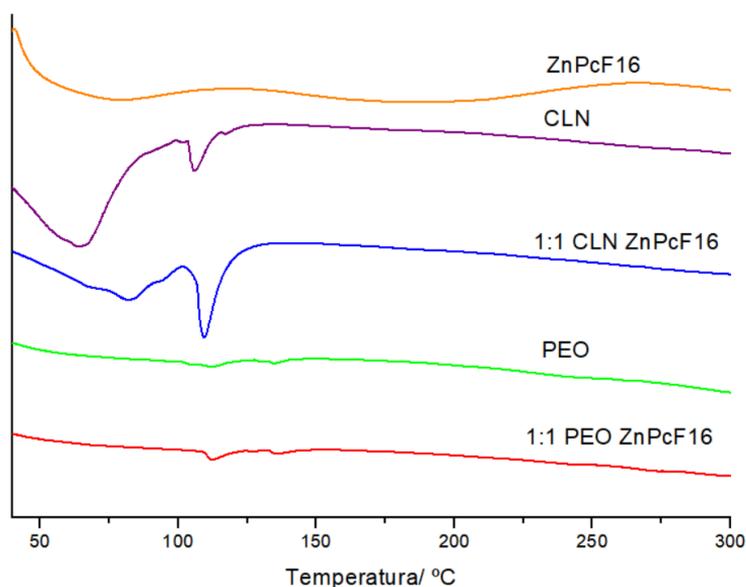
As bandas de CLN-ZnPcF16 podem ser sobrepostas pelas bandas presentes no U-PEO em U-PEO+CLN-ZnPcF16, pela diminuição de proporção em relação aos isolados. Ambos apresentam uma banda larga 3356 cm^{-1} , que é característica das ligações O-H e N-H, tendo um aumento de intensidade no espectro U-PEO+CLN-ZnPcF16 quando comparado ao U-PEO, podendo estar relacionado a maior presença de solventes, pela presença de CLN pela dispersão em meio aquoso. Além desta, outras bandas que foram analisadas anteriormente também foram observadas.

Foi possível observar nas figuras 4, 6 e 8, que as características espectrais do U-PEO foram mantidas nos híbridos U-PEO+CLN, U-PEO+ZnPcF16 e U-PEO+CLN-ZnPcF16, nas quais não houve supressão dos grupamentos característicos do híbrido. Ademais, não houve surgimento de novas bandas, ou seja, não ocorreu a formação de novas ligações, preservando as estruturas químicas dos compostos e pode sugerir dispersão dos CLNs e ZnPcF16 na matriz híbrida.

5.3.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Análise Térmica Diferencial (DTA) é uma técnica que analisa a diferença entre as temperaturas da amostra e de uma referência, que é termicamente inerte. A partir da curva obtida é possível observar se houve reação endotérmica, quando ocorre uma diminuição considerável na temperatura, ou exotérmica, quando ocorre um aumento na temperatura, essas alterações são observadas quando comparadas à referência (DOCTOR & FEINBERG, 2022). As curvas de DTA de ZnPcF16, CLN, 1:1 CLN ZnPcF16, U-PEO e 1:1 U-PEO ZnPcF16 pode ser observado na figura 11.

Figura 11. DTA da ZnPcF16, CLN, 1:1 CLN ZnPcF16, PEO e 1:1 PEO ZnPcF16



ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; 1:1 CLN ZnPcF16, proporção 1:1 de carreador lipídico nanoestruturado e hexadecaflúorftalocianina; PEO, percussor de Ureasil-Poliéter; 1:1 PEO ZnPcF16, proporção 1:1 de percussor de Ureasil-Poliéter e hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborado pela autora.

A ZnPcF16 não demonstrou nenhum evento considerável na faixa de temperatura utilizada, isso ocorreu por apresentar um ponto de fusão elevado, como é descrito pela ficha de informação do produto pela empresa Sigma Aldrich, sendo acima de 300 °C. O PEO é um material amorfo e por essa razão não apresenta temperatura de fusão definida, sendo assim, na faixa de temperatura analisada não foi possível observar eventos relevantes nos materiais contendo PEO.

A temperatura de pico (T_{pico}) e a variação de entalpia (ΔH) das amostras presentes na figura 11 são mostradas na tabela 3.

Tabela 3. Temperatura de pico e variação de entalpia do CLN, 1:1 CLN ZnPcF16 e 1:1 U-PEO ZnPcF16.

Amostras	Tpico (°C)	$\Delta H(J/g)$
CLN	64,10	- 318,62
	105,88	- 26,95
1:1 CLN ZnPcF16	81,97	- 28,84
	109,64	- 64,98
PEO	112,21	-5,57
1:1 PEO ZnPcF16	112,38	-6,63

Temperatura de pico (T_{pico}); variação de entalpia (ΔH); CLN, carreador lipídico nanoestruturado; 1:1 CLN ZnPcF16, proporção 1:1 de carreador lipídico nanoestruturado e hexadecaflúorftalocianina; PEO, percussor híbrido de Ureasil-Poliéter; 1:1 PEO ZnPcF16, proporção 1:1 de percussor de Ureasil-Poliéter e hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborado pela autora.

O primeiro evento do CLN e 1:1 CLN ZnPcF16, dos T_{pico} 64,10 °C (ΔH -318,62 J/g) e 81,97°C (ΔH -28,84 J/g), respectivamente, estão relacionados a temperatura de fusão de POE 40. Enquanto que o evento demonstrado pelo CLN e 1:1 CLN ZnPcF16 em T_{pico} 105,88°C (ΔH -26,95 J/g) e 109,64°C (ΔH -64,98 J/g), respectivamente se relaciona a evaporação de água que pertence a grande parte da composição do CLN (SATO, 2020).

O PEO e PEO ZnPcF16 (1:1) apresentaram T_{pico} de 112,21°C (ΔH -5,57 J/g) e 112,38°C (ΔH -6,63 J/g), respectivamente. Esse evento pode estar relacionado a evaporação de solventes presentes no PEO, é um fenômeno comum em materiais híbridos do tipo PEO pelo alto caráter hidrofílico, com isso, há uma retenção desses solventes nas redes tridimensionais da amostra (MENDES, 2012).

5.3.3 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica é uma técnica de análise térmica que mede a mudança da massa em função da temperatura, podendo ser causada por eventos como a decomposição,

oxidação e perda de compostos voláteis presente nas substâncias analisadas. Esses eventos são medidos em condições de temperatura e atmosfera específicas, fazendo com que seja possível observar a estabilidade das substâncias (GERASSIMIDOU *et al*, 2020). Para analisar a estabilidade das substâncias presentes nos materiais híbridos e dos materiais híbridos o TG foi realizado. Os parâmetros termogravimétricos das amostras podem ser observados na tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros termogravimétricos dos materiais híbridos, do CLN e seus constituintes, ZnPcF16 e CLN-ZnPcF16

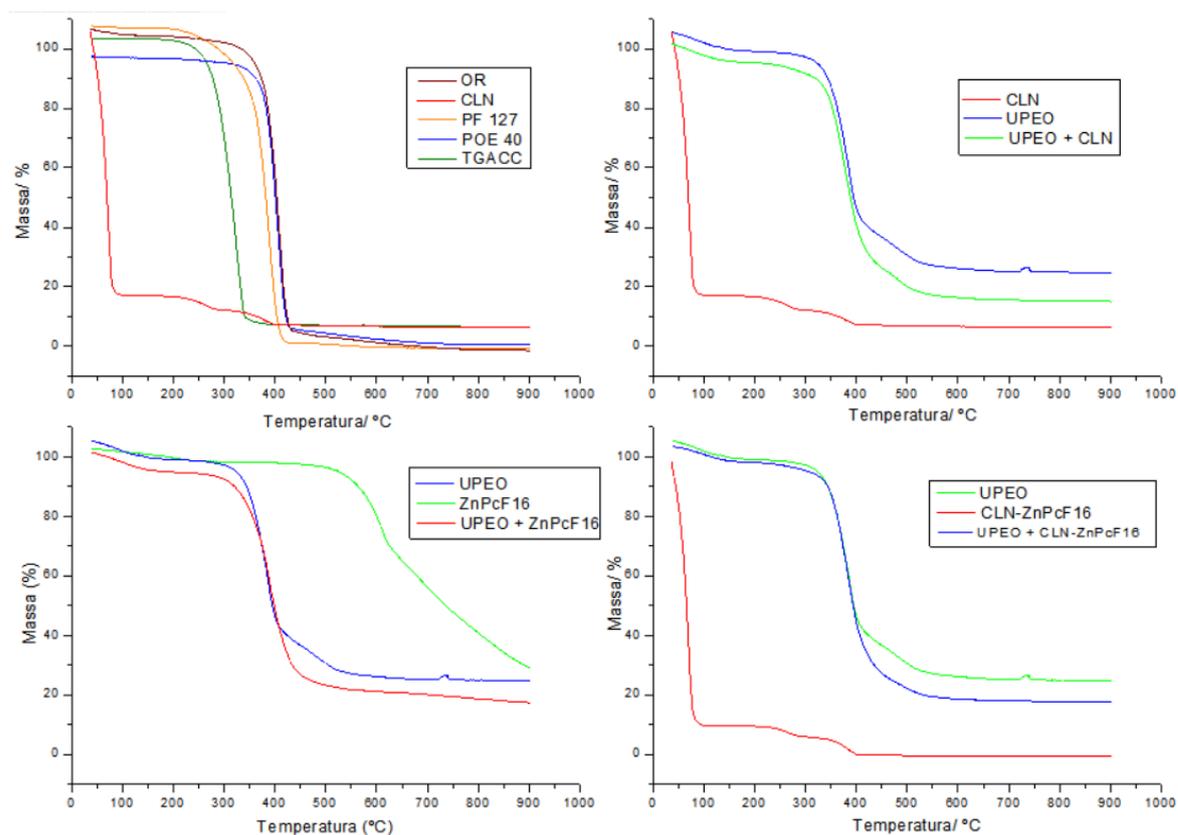
Amostra	Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
TGACC	188,75 – 378,07	92,30
POE 40	279,47 – 506,50	93,84
PF 127	177,93 – 442,29	98,36
OR	289,60 – 452,72	92,04
CLN	37,51 – 143,46	81,19
	184,35 – 278,43	3,87
	322,84 – 403,73	4,27
ZnPcF16	177,08 – 313,79	1,97
	467,59 – 616,13	23,68
	632,78 – 899,19	38,31
CLN-ZnPcF16	40,74 – 163,88	84,83
	287,90 – 211,38	3,28
	322,64 – 427,75	5,90
U-PEO	57,49 – 161,37	4,76
	268,33 – 431,39	56,46
	446,73 – 545,79	9,24
U-PEO + CLN	75,01 – 135,96	3,12
	232,44 – 449,09	67,26
	456,10 – 545,57	38,31
U-PEO + ZnPcF16	75,82 – 168,88	3,12
	273,80 – 510, 84	67,26
U-PEO + CLN-ZnPcF16	80,17 – 154,15	3,24
	276,28 – 460,58	68,11
	468,90 – 540,25	5,12

TGACC, triglicérides do ácido cáprico/caprilico; POE 40, estearato de polioxietileno 40; PF 127, Pluronic™ F-127; OR, óleo de rícino hidrogenado e etoxilado 40; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina; U-

PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora.

Assim, os eventos analisados na tabela 4 podem ser observados na figura 12.

Figura 12. Parâmetros termogravimétricos das amostras



TGACC, triglicérides do ácido cáprico/caprílico; POE 40, estearato de polioxietileno 40; PF 127, PluronicTM F-127; OR, óleo de rícino hidrogenado e etoxilado 40; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina; U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora.

Os eventos que ocorrem em uma temperatura de início próximo ou inferior a 100°C podem ser caracterizadas pela desidratação da amostra ou perda de compostos voláteis presentes, como em CLN e CLN-ZnPcF16. No entanto, vê-se que o CLN e CLN-ZnPcF16

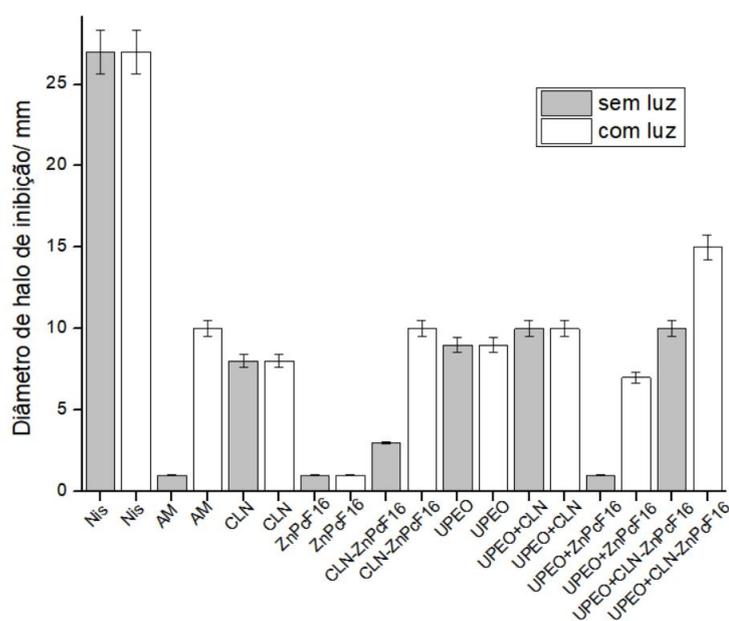
obtiveram uma melhora na estabilidade térmica quando dispersos em U-PEO, o que se deve a estabilidade térmica do material híbrido, as diferenças apresentadas também podem estar relacionadas aos carreadores estarem em proporção menor quando dispersos nos materiais híbridos.

Além disso, percebe-se que os perfis térmicos do CLN e CLN-ZnPcF16 também podem ser observados nos materiais híbridos nos quais foram dispersos. Os resultados do CLN, ZnPcF16 e U-PEO corroboram com aqueles apresentados pelo DTA.

5.4 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica

Os diâmetros de halos de inibição dos grupos com e sem luz contra *C. albicans*, podem ser observados na figura 13.

Figura 13. Diâmetro de halos de inibição contra *C. albicans* com grupos sem e com luz

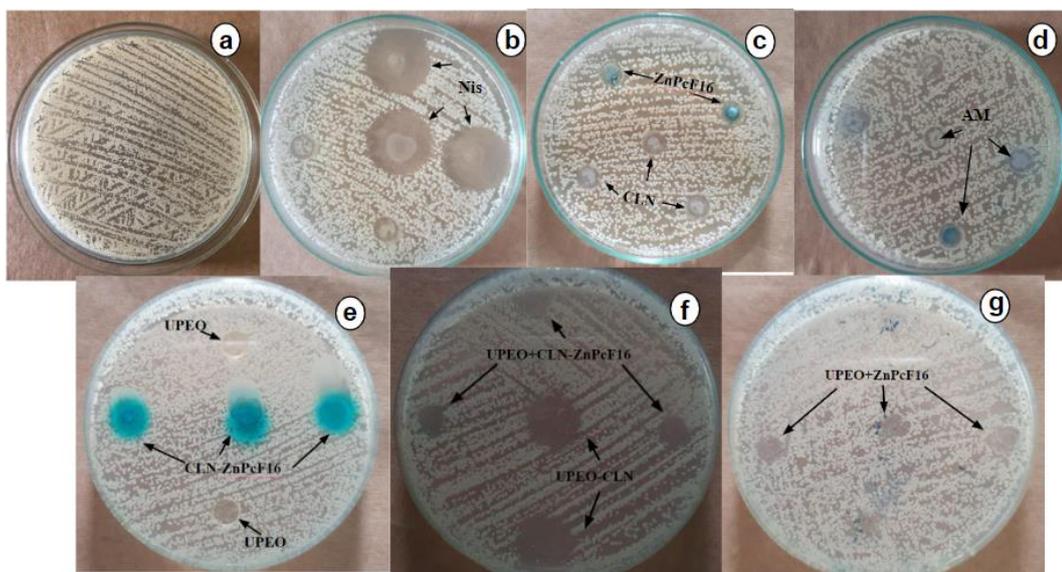


Os valores estão expressos em média e desvio padrão (n=3). Nis, nistatina; AM, azul de metileno; CLN, carreador lipídico nanoestruturado; ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina; CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO+ZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina; U-PEO+CLN-ZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo

hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado. **Fonte:** Elaborado pela autora.

Os grupos referentes a figura 13, sem a aPDT podem ser vistos na figura 14.

Figura 14. Controle negativo e halos de inibição dos grupos sem aPDT



Controle negativo (a); Nis, nistatina (b); CLN, carreador lipídico nanoestruturado (c); ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina (c); AM, azul de metileno (d); CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado (e); U-PEO, material híbrido de Ureasil-Poliéter (e); U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado (f); U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado (f); U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina (g). **Fonte:** Elaborado pela autora.

O controle negativo figura 14(a) demonstrou colônias de *C. albicans*, com tonalidade branco-amarelada, cremosa e úmida, em nenhuma das placas foi apresentado qualquer tipo de contaminação. A Nistatina figura 14(b) apresentou uma média de diâmetro de halo de inibição de 27 mm, tanto no grupo com luz quanto no sem luz, um valor aproximado foi encontrado em outros estudos na literatura, como em GHODS, 2021, onde o fármaco demonstrou um halo médio de 28,2 mm.

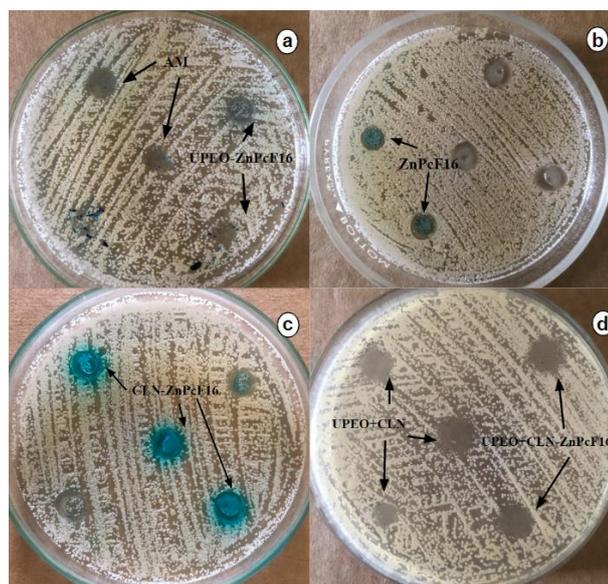
O CLN figura 14(c) apresentou um halo de inibição de 8 mm, o que não foi alterado quando no grupo com luz, o efeito antifúngico apresentado pelo carreador pode ser justificado pela presença de PF127, que é um polímero anfifílico. O surfactante já apresentou em outros estudos na literatura capacidade antifúngica, que está relacionada a sua capacidade de alterar a permeabilidade celular na *C. albicans*, reduzindo a formação de hifas que é um dos principais fatores de virulência do fungo, além de reduzir a adesão e aglomerados de células, reduzindo a formação de biofilme. (FENG *et al*, 2018; SANTOS *et al*, 2022). A ZnPcF16 figura 14(c) e o AM figura 14(d) dependem da aPDT para que haja ação antifúngica, por essa razão apresentaram um valor de inibição de halo reduzido nos grupos sem luz. A ação do PF 127 no CLN, também pode ser a responsável pelo halo de inibição de 3 mm do CLN-ZnPcF16 figura 13(e), já que a ZnPcF16, não demonstrou ação sem a aPDT, porém esse valor de halo de inibição não é relevante.

O U-PEO figura 14(e) apresentou um halo de inibição de 9 mm, que pode ser justificado pelo caráter anfifílico, que é observado também no PF 127 presente no CLN. Essa propriedade ocorre pela presença dos constituintes poli(óxido de etileno) que tem caráter hidrofílico e o poli(óxido de propileno) que possui um caráter mais hidrofóbico. Essa combinação é bastante favorável para sistemas de liberação de drogas e nesse caso pode ter sido responsável pela ação de inibição de crescimento do material híbrido (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2016).

Em U-PEO+CLN, figura 14(f), foi obtido um halo de inibição de 10 mm, que pode ser relacionada a ação do U-PEO a presença do CLN ou do U-PEO, ou até mesmo uma ação de sinergismo entre os dois compostos. O U-PEO+ZnPcF16, figura 14(g), não apresentou um halo de inibição considerável. Por essa razão o halo de 10 mm encontrado em U-PEO+CLN-ZnPcF16, figura 14(f) se relaciona a atividade do CLN.

Os grupos referentes ao gráfico 1, com a aPDT podem ser observados na figura 15.

Figura 15. Halos de inibição dos grupos com aPDT



AM, azul de metileno (a); U-PEO-ZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina (a); ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina (b); CLN-ZnPcF16, hexadecaflúorftalocianina incorporado em carreador lipídico nanoestruturado (c); U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado (d); U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado (d). **Fonte:** Elaborada pela autora.

O AM, figura 15(a), obteve um halo de inibição de 10 mm, o AM é um corante que produz EROs após aPDT, demonstrando em diversos estudos capacidade de reduzir as UFC de *C. albicans*, chegando a reduzir 62,18% UFC/mL, em Pupo, 2011. Este valor de inibição de halo também foi encontrado nos CLN-ZnPcF16, figura 15(c), e nos materiais híbridos sem aPDT U-PEO e U-PEO+CLN-ZnPcF16, o que demonstra um potencial destes compostos.

U-PEO+ZnPcF16, figura 15(a), manifestou um halo de inibição 7 mm, esse aumento em relação ao grupo sem aPDT se deve as propriedades da ZnPcF16, que possui em sua estrutura o íon metálico Zn, localizado no centro de sua estrutura, com isso ele consegue influenciar suas propriedades foto. Essa molécula ainda possui um caráter anfifílico que é afetado pela quantidade e a forma de distribuição das cargas catiônicas formando um complexo de elevado potencial em desenvolver EROs quando exposta a luz (SANTOS *et al*, 2022).

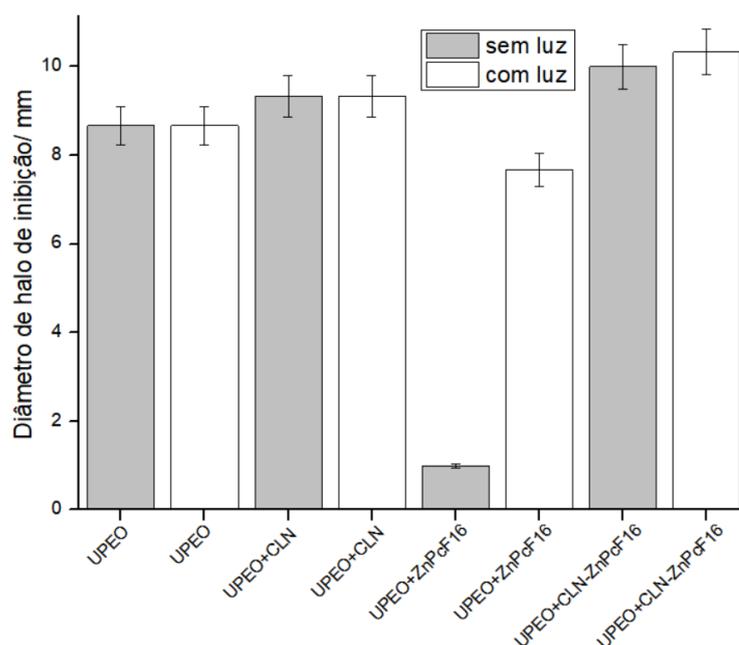
ZnPcF16, figura 15(b) não obteve um halo de inibição, isso se deve pela baixa solubilidade da ZnPcF16, que possui tendência de empilhamento formando estruturas de difícil

solubilização, o que pode ter afetado nas propriedades fotoquímicas e fotofísicas que são responsáveis pela formação de EROs (SANTOS, 2020).

Por essa razão houve um aumento de halo tanto nos materiais que possuíam a ZnPcF16, como também o U-PEO+CLN-ZnPcF16, figura 15(d), que obteve um halo de inibição 15 mm e sem a aPDT possuiu um halo de 10 mm, esse aumento de halo dos materiais híbridos U-PEO+ZnPcF16 e U-PEO+CLN-ZnPcF16 se deve a baixa solubilidade da ZnPcF16 que é melhorada com a incorporação no CLN. Além disso, ocorre um aumento de halo também quando se compara os isolados U-PEO+ZnPcF16 e U-PEO+CLN-ZnPcF16 para o U-PEO+CLN-ZnPcF16, que pode ser justificado por um sinergismo entre CLN e ZnPcF16.

Visando uma melhor solubilidade dos materiais híbridos no ágar foi realizado um teste com a adição de 100 μ l de PBS após a adição dos materiais. O resultado pode ser observado no figura 16.

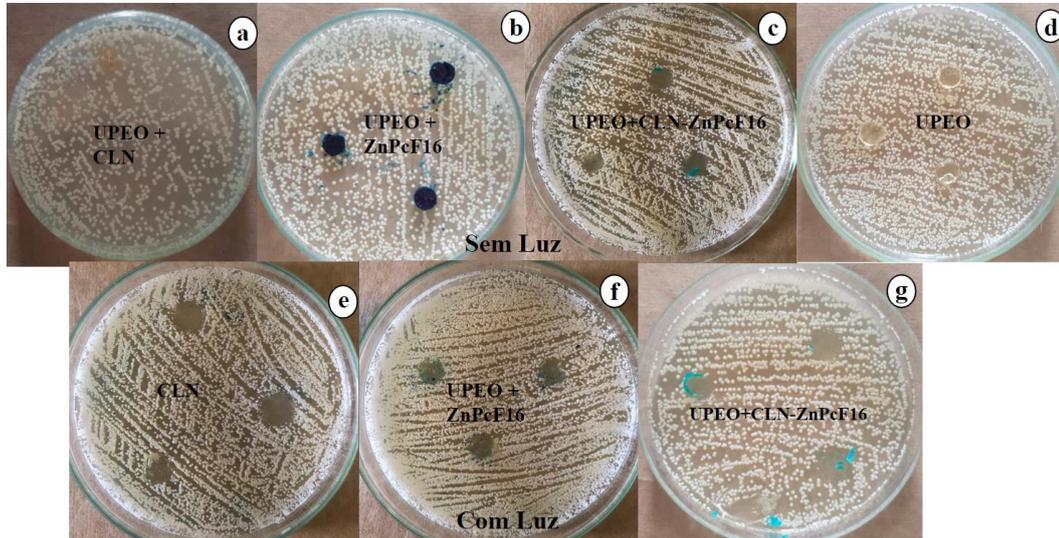
Figura 16. Diâmetros de halos de inibição contra *C. albicans* de grupos sem e com luz com a adição e 100 μ l de PBS



Os valores estão expressos em média e desvio padrão (n=3). U-PEO, Ureasil-Poliéter; U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado; U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado; U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina. **Fonte:** Elaborado pela autora.

Os grupos referentes ao gráfico 2, com e sem a aPDT podem ser observados na figura 17.

Figura 17. Diâmetro de halo de inibição dos grupos, com 100 μ l, com e sem aPDT



U-PEO+CLN, Ureasil-Poliéter contendo carreador lipídico nanoestruturado (a e e); U-PEOZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina (b e f); U-PEO+CLNZnPcF16, Ureasil-Poliéter contendo hexadecaflúorftalocianina incorporada em carreador lipídico nanoestruturado (c e g); U-PEO, Ureasil-Poliéter (d). **Fonte:** Elaborado pela autora.

Os resultados encontrados foram semelhantes aos encontrados nos grupos sem 100 μ l de PBS, não havendo interferência da adição do PBS na ação dos grupos testados.

Dessa forma, apesar da nistatina apresentar vantagens como baixo valor comercial, aplicação prática e também ter apresentado o maior halo de inibição de crescimento neste estudo, possui um grande problema que são os casos de algumas cepas de *Candidas* que vem apresentando resistência a este fármaco (GHODS *et al*, 2021). Com isso, o halo de inibição apresentado por U-PEO+CLN-ZnPcF16 de 15 mm na aPDT, é um valor considerado promissor, considerando os halos ≥ 8 mm ativos contra leveduras (DA SILVA ALVES *et al*, 2016). Além disso, o U-PEO+CLN-ZnPcF16 por sua capacidade de gerar EROS impede a resistência de *C. albicans*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Foi possível produzir materiais híbridos contendo os carreadores lipídicos nanoestruturados, apresentando uniformidade macroscópica e incorporação efetiva de ZnPcF16;
2. A análise da compatibilidade entre os compostos por meio de avaliação dos grupos funcionais presentes por FTIR demonstrou que não houve formações de novas bandas e nem supressão entre as existentes, além disso, o comportamento térmico por TG e DTA comprovou que os compostos são compatíveis na faixa de temperatura analisada. Com isso, foi provado que não houve interferência entre os componentes presentes nos materiais híbridos;
3. A avaliação do efeito da inativação fotodinâmica antimicrobiana comprovou a efetividade dos materiais híbridos, obtendo resultados promissores contra *Candida albicans*, por meio de medição de halos;

Perspectivas futuras:

- Realizar estudos de liberação e avaliação da atividade *in vivo*, contra *C. albicans*, utilizando os materiais híbridos obtidos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Lucas *et al.* Tablet of Ximenia Americana L. developed from mucoadhesive polymers for future use in oral treatment of fungal infections. **Polymers**, v. 11, n. 2, p. 379, 2019.
- ALSHAWWA, Samar Zuhair *et al.* Nanocarrier Drug Delivery Systems: Characterization, Limitations, Future Perspectives and Implementation of Artificial Intelligence. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 4, p. 883, 2022.
- AROSO, Rafael Tiago Pereira Martins. Síntese e estudo de novos fotossensibilizadores com potencial para terapia antimicrobiana. 2017. **Tese de Doutorado**. Universidade de Coimbra.
- BALHADDAD, Abdulrahman A. *et al.* Prospects on nano-based platforms for antimicrobial photodynamic therapy against oral biofilms. Photobiomodulation, **Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 38, n. 8, p. 481-496, 2020.
- BAYAT, Fahimeh; KARIMI, Ali Reza; ADIMI, Tara. Design of nanostructure chitosan hydrogels for carrying zinc phthalocyanine as a photosensitizer and difloxacin as an antibacterial agent. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 598-606, 2020.
- BEHBAHANI, Elham Sadati *et al.* Curcumin loaded nanostructured lipid carriers: In vitro digestion and release studies. **Polyhedron**, v. 164, p. 113-122, 2019.
- BEN-AMI, Ronen. Treatment of invasive candidiasis: A narrative review. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 97, 2018.
- BHATTACHARYA, Somanon; SAE-TIA, Sutthichai; FRIES, Bettina C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312, 2020.
- BIANCHIN, Mariana Domingues *et al.* Lipid core nanoparticles as a broad strategy to reverse fluconazole resistance in multiple Candida species. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 175, p. 523-529, 2019.
- CALORI, Italo Rodrigo. Preparação, caracterização e propriedades de lipossomas contendo o ácido -ciano-4-hidroxicinâmico e o agente fotossensibilizador AICIPc: um novo sistema carreador específico com ação sinérgica aplicado a terapia fotodinâmica. 2016. 124 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências)** - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- CARDOZO, Ana Paula Martin. Uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) com azul de metileno em estudos de modelos animais: revisão sistemática. 2021. **Dissertação de mestrado**. Universidade Nove de Julho, São Paulo.
- CAROBELI, Lucimara R. *et al.* Phthalocyanine and Its Formulations: A Promising Photosensitizer for Cervical Cancer Phototherapy. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2057, 2021.

CHAUHAN, Iti *et al.* Nanostructured lipid carriers: A groundbreaking approach for transdermal drug delivery. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 10, n. 2, p. 150, 2020.

CIUREA, Cristina Nicoleta *et al.* *Candida* and candidiasis—opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 857, 2020.

CONTE, Júlia *et al.* Uma revisão das novas alternativas terapêuticas e principais formulações tópicas utilizadas no tratamento da candidíase vaginal. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Federal de Santa Catarina.

CORREIA, José H. *et al.* Photodynamic therapy review: Principles, photosensitizers, applications, and future directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 2021.

DA ROCHA, W. R. V. *et al.* *Candida* genus—virulence factors, epidemiology, candidiasis and resistance mechanisms. **Res Soc Dev** 10: e43910414283. 2021.

DA SILVA ALVES, Harley *et al.* Antimicrobial activity of products obtained from Piper species (Piperaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 2, p. 168-180, 2016.

DE ARAÚJO, Patricia Rocha *et al.* Mucoadhesive in situ gelling liquid crystalline precursor system to improve the vaginal administration of drugs. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 6, p. 1-12, 2019.

DE JESUS, Waylla Albuquerque *et al.* Estudo sobre a presença simultânea de dermatomicoses e diabetes em pacientes residentes em zona rural de um município do Estado do Paraná. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e14810917781-e14810917781, 2021.

DE SIQUEIRA, Luciana Betzler de Oliveira *et al.* Pharmaceutical Nanotechnology Applied to Phthalocyanines for the Promotion of the Antimicrobial Photodynamic Therapy: A Literature Review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, p. 102896, 2022.

DEDA, Daiana K. *et al.* Porphyrin derivative nanoformulations for therapy and antiparasitic agents. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2080, 2020.

DENNING, David W. *et al.* Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. **The Lancet infectious diseases**, v. 18, n. 11, p. e339-e347, 2018.

DHARMARATNE, Priyanga *et al.* Contemporary approaches and future perspectives of antibacterial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): A systematic review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 200, p. 112341, 2020.

DOCTOR, R.; FEINBERG, J. M. Differential thermal analysis using high temperature susceptibility instruments. **Journal of Geophysical Research: Solid Earth**, p. e2021JB023789, 2022.

- FAUSTINI, Marco *et al.* History of organic–inorganic hybrid materials: prehistory, art, science, and advanced applications. **Advanced Functional Materials**, v. 28, n. 27, p. 1704158, 2018.
- FENG, Runliang *et al.* Pluronic F127-cyclodextrin conjugate micelles for encapsulation of honokiol. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 20, n. 10, p. 1-11, 2018.
- GARG, Abhinava *et al.* Recent advances in topical carriers of anti-fungal agents. **Heliyon**, v. 6, n. 8, p. e04663, 2020.
- GERASSIMIDOU, Spyridoula *et al.* Characterisation and composition identification of waste-derived fuels obtained from municipal solid waste using thermogravimetry: A review. **Waste Management & Research**, v. 38, n. 9, p. 942-965, 2020.
- GHASEMIYEH, Parisa; MOHAMMADI-SAMANI, Soliman. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: Applications, advantages and disadvantages. **Research in pharmaceutical sciences**, v. 13, n. 4, p. 288, 2018.
- GHODS, K. *et al.* Comparison of the Effect of Ginger and Nystatin Mouthwash on the Growth of *Candida Albicans* under in Vitro Conditions. **Journal of Babol University of Medical Sciences**, v. 24, n. 1, p. 103-108, 2022.
- GHORBANI, Jaber *et al.* Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: An overview. **Laser therapy**, v. 27, n. 4, p. 293-302, 2018.
- KANDREGULA, Bhaskar *et al.* Exploration of Lipid-Based Nanocarriers as Drug Delivery Systems in Diabetic Foot Ulcer. **Molecular Pharmaceutics**, 2022.
- KINGSBURY, Christopher J.; SENGE, Mathias O. The shape of porphyrins. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 431, p. 213760, 2021.
- LEE, Yunjin *et al.* Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical reviews**, v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 2020.
- LEYVA-GÓMEZ, Gerardo *et al.* Modifications in vaginal microbiota and their influence on drug release: Challenges and opportunities. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 217, 2019.
- MCDONEL, Emily M.; HICKEY, Richard; PALMER, Andre F. A sonicação reduz efetivamente o tamanho das nanopartículas em transportadores de oxigênio à base de hemoglobina (HBOCs) produzidos por coprecipitação: implicações para substitutos de glóbulos vermelhos. **ACS Applied Nano Materials**, v. 3, n. 12, p. 11736-11742, 2020.
- MARQUEZ, Lewis; QUAVE, Cassandra L. Prevalence and therapeutic challenges of fungal drug resistance: role for plants in drug discovery. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 150, 2020.
- MENDES, Juliana Fernandes. Formadores de filmes híbridos orgânicos inorgânicos do tipo ureasil-poliéter para liberação controlada de fármacos. 2012. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

MOREIRA, Marta Alexandra Macedo. Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva. 2021. **Tese de Doutorado**.

NAFARI, Amir *et al.* Nanoparticles: New agents toward treatment of leishmaniasis. **Parasite epidemiology and control**, v. 10, p. e00156, 2020.

NICOLAU COSTA, Kammila Martins *et al.* Curcumin-loaded micelles dispersed in ureasil-polyether materials for a novel sustained-release formulation. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, p. 675, 2021.

NYAMU, Samuel N. *et al.* Antimicrobial photodynamic activity of phthalocyanine derivatives. **Advances in Chemistry**, v. 2018, 2018.

OSHIRO JUNIOR, João Augusto *et al.* Drug delivery systems obtained from silica based organic-inorganic hybrids. **Polymers**, v. 8, n. 4, p. 91, 2016.

OSHIRO-JUNIOR, João A. *et al.* Phthalocyanine-loaded nanostructured lipid carriers functionalized with folic acid for photodynamic therapy. **Materials Science and Engineering: C**, v. 108, p. 110462, 2020.

OSHIRO-JUNIOR, João Augusto *et al.* Nanostructural arrangements and surface morphology on ureasil-polyether films loaded with dexamethasone acetate. **Nanomaterials**, v. 11, n. 6, p. 1362, 2021.

OSMAŁEK, Tomasz *et al.* Recent advances in polymer-based vaginal drug delivery systems. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 6, p. 884, 2021.

PATEL, Dilip Kumar; KESHARWANI, Roohi; KUMAR, Vikas. Lipid nanoparticle topical and transdermal delivery: a review on production, penetration mechanism to skin. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 9, n. 4, p. 148-153, 2019.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R.. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. **Cengage Learning**, 2010.

PETIT, Tristan; PUSKAR, Ljiljana. FTIR spectroscopy of nanodiamonds: Methods and interpretation. **Diamond and Related Materials**, v. 89, p. 52-66, 2018.

PHAM, Thanh Chung *et al.* Recent strategies to develop innovative photosensitizers for enhanced photodynamic therapy. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 21, p. 13454-13619, 2021.

PUPO, Yasmine M. *et al.* Susceptibility of *Candida* to photodynamic therapy using methylene blue and toluidine blue as photosensitizing dyes. **Acta Odontológica Latinoamericana**, v. 24, n. 2, p. 188-192, 2011.

RIAD, Abanoub *et al.* Oral candidiasis of COVID-19 patients: Case report and review of evidence. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 6, p. 1580, 2021.

RIMACHI HIDALGO, Karem Janeth. Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana associada a nistatina no tratamento de candidose oral em camundongos infectados com *Candida albicans* resistente a fluconazol. 2018. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

RODRIGUES, Marcelo Costa *et al.* Resistance of filamental fungi in opportunistic mycoses: literature review. Research, **Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e2011426198-e2011426198, 2022.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, Carmen *et al.* Pathogenesis and clinical relevance of *Candida* biofilms in vulvovaginal candidiasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 544480, 2020.

ROSATI, Diletta *et al.* Recurrent vulvovaginal candidiasis: an immunological perspective. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 144, 2020.

SAEZ, V.; SOUZA, I. D. L.; MANSUR, C. R. E. Lipid nanoparticles (SLN & NLC) for delivery of vitamin E: A comprehensive review. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 40, n. 2, p. 103-116, 2018.

SANTANA, Luana Mendonça Dias. Potencial da terapia fotodinâmica antimicrobiana no desenvolvimento de resistência em *Candida*. 2020. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

SANTOS, Thiago Vieira Soares dos. Terapia Fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia. 2020. **Trabalho de conclusão de curso**. Universidade Federal de Uberlândia.

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*. **Lasers in Medical Science**, p. 1-9, 2022.

SATO, Mariana R. *et al.* Nanostructured lipid carriers for incorporation of copper(II) complexes to be used against *Mycobacterium tuberculosis*. **Drug Design, Development and Therapy**, Albany, v. 11, p. 909–921, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/dddt.s127048>.

SATO, Mariana Rillo. Carreadores lipídicos nanoestruturados dispersos em materiais de geleificação in situ para administração vaginal de hipericina associados à terapia fotodinâmica no tratamento da candidíase vulvovaginal. 2020. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

SAVELEVA, Mariia S. *et al.* Hierarchy of hybrid materials—The place of inorganics-inorganics in it, their composition and applications. **Frontiers in chemistry**, v. 7, p. 179, 2019.

SILVA, Davi Neto de Araújo. Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana com cloroalúminio ftalocianina nos parâmetros clínicos periodontais e níveis salivares de GSH e MDA em pacientes com periodontite crônica. 2018. **Dissertação de Mestrado**. Brasil.

SOUZA, Regina Maia de. Utilização da nanoemulsão lipídica no tratamento experimental da leishmaniose cutânea. 2019. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo.

SWAMY, P. Chinna Ayya *et al.* Near Infrared (NIR) absorbing dyes as promising photosensitizer for photo dynamic therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 411, p. 213233, 2020.

TALAPKO, Jasminka *et al.* *Candida*—the virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, 2021.

TUNÇEL, Ayça *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy against *Staphylococcus aureus* using zinc phthalocyanine and zinc phthalocyanine-integrated TiO₂ nanoparticles. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 23, n. 01n02, p. 206-212, 2019.

URBANI, Maxence *et al.* Phthalocyanines for dye-sensitized solar cells. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 381, p. 1-64, 2019.

VANIĆ, Željka; JØRAHOLMEN, May Wenche; ŠKALKO-BASNET, Nataša. Nanomedicines for the topical treatment of vulvovaginal infections: Addressing the challenges of antimicrobial resistance. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 178, p. 113855, 2021.

VILA, Taissa *et al.* Oral candidiasis: a disease of opportunity. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 15, 2020.

WILLEMS, Hubertine ME *et al.* Vulvovaginal candidiasis: a current understanding and burning questions. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 27, 2020.