



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

ADENIA MIRELA ALVES NUNES

**DESENVOLVIMENTO DE FTALOCIANINA ENCAPSULADA EM
CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS**

CAMPINA GRANDE

2021

ADENIA MIRELA ALVES NUNES

**DESENVOLVIMENTO DE FTALOCIANINA ENCAPSULADA EM
CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Estadual
da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de graduada em
Farmácia.

Área de concentração: Farmácia

Orientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior

CAMPINA GRANDE

2021

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.

N972d Nunes, Adenia Mirela Alves.
Desenvolvimento de Ftalocianina encapsulada em
carreadores lipídicos nanoestruturados [manuscrito] / Adenia
Mirela Alves Nunes. - 2021.
55 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.
"Orientação : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Fotossensibilizadores. 2. Sistemas lipídicos
nanoestruturados. 3. Carreador lipídico nanoestruturado. I.
Título
21. ed. CDD 615.1

ADENIA MIRELA ALVES NUNES

DESENVOLVIMENTO DE FTALOCIANINA ENCAPSULADA EM
CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Estadual
da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de graduada em
Farmácia.

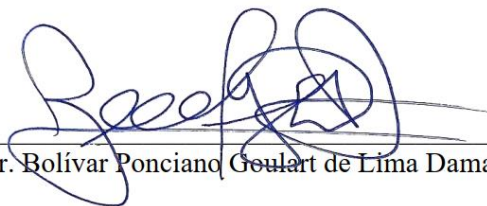
Área de concentração: Farmácia

Aprovada em: 13/03/2021.

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes
Faculdade de Ciências Médicas - Centro Universitário UNIFACISA

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Adélia e Carlos (*in memoriam*), ao meu esposo Bruno, e ao meu filho Davi.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por sempre me conceder saúde, força e coragem para seguir todas as etapas do curso até a conclusão desse trabalho e por me permitir alcançar essa conquista.

Aos meus pais, Adélia Maria Alves e Carlos Alberto Silva (*in memoriam*) que me trouxeram ao mundo, pela educação, apoio, incentivo e exemplos que me deram durante minha vida.

Ao meu esposo Bruno Rafael Pereira Nunes, por ser sempre presente em todos os momentos, fazendo com que eu alcançasse muitos objetivos, por ser amigo, companheiro, me ajudar, me dar força e apoio sempre que precisei, por compartilhar a vida e sonhos comigo.

Ao meu filho Davi Alves Nunes que, mesmo quando ainda nem nascido, me deu forças e incentivo para persistir no estudo e na busca pela profissão.

Aos meus irmãos Carlos Zanoni Alves e Silva e Luiz Pedro da Silva Neto pela felicidade e pelo orgulho que me proporcionam.

Ao meu orientador, João Augusto Oshiro Junior, pela oportunidade, por todos os conhecimentos passados, disponibilidade e incentivos dados durante o programa de iniciação científica.

A todos os professores do curso de Farmácia da UEPB, em especial à professora Vera Lúcia Meira de Moraes, ao professor Josimar dos Santos Medeiros e à professora Maria do Socorro Ramos Queiroz, pela oportunidade de trabalharmos juntos e de compartilharem seus conhecimentos.

Aos meus colegas de curso em especial as amigas Carolina Holanda Farias, Jéssica Albuquerque, Marília Gabrielly Pereira Maniçoba, por toda ajuda, apoio e por todos os momentos compartilhados.

Aos colegas de Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB que sempre se mostraram presentes e dispostos a me ajudar, à Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” (UNESP, Araraquara) e à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela colaboração nos experimentos, à UEPB, ao CNPq e a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram na realização desse trabalho de conclusão de curso.

RESUMO

Leveduras do gênero *Candida* são os agentes etiológicos da candidíase. Na microbiota bucal, a espécie *Candida albicans* é predominante. Para tratamento da patologia empregam-se formas farmacêuticas de aplicações tópicas ou sistêmicas. Para superar problemas relacionados a presença de biofilmes e resistência dessas espécies, a Terapia Fotodinâmica (TFD), baseada em reações fotoquímicas oxidativas, vem sendo muito empregada. A Ftalocianina (Fc), fotossensibilizador (FS) utilizado na TFD, apresenta natureza hidrofóbica, gerando limitações à terapia. Assim, carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) são alternativa para contornar essa desvantagem. O objetivo desse trabalho foi desenvolver e caracterizar CLN contendo Fc. Os CLN foram produzidos pelo método de fusão-emulsificação e a caracterização físico-química foi realizada por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), Microscopia eletrônica de transmissão (MET) e Eficiência de Encapsulação (EE). A análise dos resultados mostrou a efetividade do método de produção com a obtenção de CLN de tamanho médio variando entre $158,00 \pm 1,49$ nm e $188,50 \pm 0,71$ nm, baixa polidispersão, potencial zeta entre $-24,20 \pm 0,54$ mV e $-14,60 \pm 0,32$ mV e estáveis durante 90 dias. Com a MET verificou-se partículas esféricas e sem aglomerações. A EE revelou que $75,57 \pm 0,58\%$ do ativo (Fc) foi encapsulado no CLN. Sendo assim, essa pesquisa desenvolveu e caracterizou CLN capazes de incorporar o FS, classificado como insolúvel, e com tamanho e morfologia dentro dos limites adequados para nanocarreadores. A próxima etapa deverá conduzir os estudos de concentração inibitória mínima in vitro para avaliar a viabilidade do CLN desenvolvido.

Palavras-chave: Fotossensibilizadores. Sistemas lipídicos nanoestruturados.
Carreador lipídico nanoestruturado.

ABSTRACT

Yeasts of the genus *Candida* are the etiologic agents of candidiasis. In the oral microbiota, the species *Candida albicans* is predominant. For the treatment of pathology, pharmaceutical forms of topical or systemic applications are used. To overcome problems related to the presence of biofilms and resistance of these species, Photodynamic Therapy (PDT), based on oxidative photochemical reactions, has been widely used. Phthalocyanine (Fc), photosensitizer (FS) used in PDT, has a hydrophobic nature, generating limitations to therapy. Thus, nanostructured lipid carriers (NLC) are an alternative to circumvent this disadvantage. The objective of this work was to develop and characterize CLN containing Fc. The NLC were produced by the fusion-emulsification method and the physical-chemical characterization was performed by Dynamic Light Scattering (DLS), Transmission electron microscopy (TEM) and Encapsulation efficiency (EE). The analysis of the results showed the effectiveness of the production method with obtaining medium-sized NLC ranging between 158.00 ± 1.49 nm and 188.50 ± 0.71 nm, low polydispersity, zeta potential between -24.20 ± 0.54 mV and -14.60 ± 0.32 mV and stable for 90 days. With TEM there were spherical particles and no agglomerations. The EE revealed that $75.57 \pm 0.58\%$ of the asset (Fc) was encapsulated in the NLC. Therefore, this research has developed and characterized NLC capable of incorporating the FS, classified as insoluble, and with size and morphology within the limits suitable for nanocarriers. The next step is to conduct studies of minimum inhibitory concentration in vitro to assess the viability of the developed NLC.

Keywords: *Photosensitizers. Nanostructured lipid systems. Nanostructured lipid carrier.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura NLS e CLN	22
Figura 2 - NLS e CLN: sistemas nanoparticulados lipídicos que podem ser usados na administração transbucal de medicamentos	23
Figura 3 - Estrutura da ftalocianina base livre	27
Figura 4 - Estrutura da ftalocianina de flúor-zinco ($C_{32}F_{16}N_8ZN$)	28
Figura 5 - Características macroscópicas dos CLN (a) e CLN-FS (b)	34
Figura 6 - Média e desvio padrão (DP) do diâmetro médio (dm), índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta (PZ) dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) livres e carregados com FS (CLN-FS) - período de 90 dias	37
Figura 7 - Fotomicroscopia dos sistemas nanoestruturados, (a) CLN e (b) CLN-FS, aumento 50.000x e 370.000x, respectivamente. A seta indica um contraste escuro do CLN provavelmente referente ao FS nanoencapsulado	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação do diâmetro hidrodinâmico, do índice de polidispersão e do potencial zeta dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)	36
Tabela 2 - Determinação do diâmetro hidrodinâmico, do índice de plidispersão e do potencial zeta dos carreadores lipídicos nanoestruturados com fotossensibilizador (CLN-FS)	37
Tabela 3 - Resultado da eficiência de encapsulação (EE%) do CLN	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CLN	Carreador Lipídico Nanoestruturado
CLN-FS	Carreador lipídico nanoestruturado com fotossensibilizador
C ₃₂ F ₁₆ N ₈ Zn	Hexadeca flúor ftalocianina de flúor-zinco
DDS	Sistemas de Administração de Medicamentos
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
DMN	Diâmetro Hidrodinâmico Médio
DP	Desvio Padrão
EE%	Eficiência de encapsulação
EP	Estearato de polioxietileno 40
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
Fc	Ftalocianina
FS	Fotossensibilizador
H ₂ O ₂	Peroxido de hidrogênio
Hp	Hematoporfirina
IPD	Índice de polidispersão
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
NL	Nanopartículas lipídicas
NP	Nanopartículas
NLS	Nanopartículas Lipídicas Sólidas
PZ	Potencial Zeta
QDs	Pontos quânticos
rpm	Rotação por minuto
SNL	Sistemas nanoparticulados lipídicos
TFDa	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
TFD	Terapia fotodinâmica
¹ O ₂	Oxigênio <i>singlete</i>
·OH	Hidroxil
OR	Óleo de rícino
PNB	Nanopartículas de ouro
TGACC	Triglicérides do ácido cáprico/caprílico
ZnPc	Ftalocianina de zinco não substituída

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
µL	Microlitros
kV	Kilovolt
mV	Milivolt
nm	Nanômetro
v	Volume
°C	Graus celsius
π	Pi

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	Candidíase	17
3.2	Via bucal	19
3.3	Tratamento de candidíase	20
3.4	Nanopartícula (NP)	20
3.4.1	<i>Sistemas nanoparticulados lipídicos (SNL)</i>	21
3.4.1.1	<i>Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)</i>	23
3.4.1.2	<i>Carreador lipídico nanoestruturado (CLN)</i>	24
3.5	Terapia fotodinâmica (TFD)	24
3.6	Fotossensibilizadores (FS)	25
3.6.1	<i>Ftalocianina</i>	27
3.6.1.1	<i>Ftalocianina de flúor-zinco</i>	28
4	MATERIAIS E MÉTODO	30
4.1	Materiais	30
4.1.1	<i>Matérias primas</i>	30
4.1.2	<i>Equipamentos</i>	30
4.2	Método	31
4.2.1	<i>Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)</i>	31
4.2.1.1	<i>Incorporação do FS no CLN</i>	31
4.2.2	<i>Caracterização físico-química dos CLN com e sem FS</i>	32
4.2.2.1	<i>Determinação do tamanho médio e do potencial zeta (PZ)</i>	32
4.2.2.2	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i>	32
4.2.2.3	<i>Eficiência de encapsulação (EE%)</i>	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)	34
5.2	Caracterização físico-química das formulações	35

5.2.1	<i>Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio (DMN) das partículas, índice de polidispersão (IPD) e Potencial Zeta (PZ) ..</i>	35
5.2.2	<i>Microscopia eletrônica de transmissão (MET)</i>	40
5.2.3	<i>Eficiência de Encapsulação (EE%)</i>	41
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1 INTRODUÇÃO

As leveduras do gênero *Candida* são agentes etiológicos da candidíase, as quais podem estar presentes em diversas regiões do corpo humano. Na microbiota bucal, a espécie *C. albicans* é mais predominante correspondendo aproximadamente 80% de todos os microrganismos isolados. Entretanto, outras espécies, como *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. parapsolosis*, *C. stellatoidea* e *C. tropicalis* ocasionam virulência (VAN DER PLAS, 2016).

A *C. albicans* é um fungo dimórfico, possui morfologia extremamente versátil podendo existir em formas leveduriformes ou filamentosas. Além disso, são capazes de formar comunidades altamente organizados que podem colonizar uma superfície biótica ou abiótica, conhecido como biofilmes. As infecções microbianas de uma forma geral estão fortemente associadas a biofilmes, o que confere às células que os compõem interações benéficas mútuas, maior proteção contra as defesas do hospedeiro, além de propriedades fenotípicas distintas das células livres (planctônicas) e maior resistência aos agentes antimicrobianos (DABAS, 2013; HOJO *et al*, 2009; RAMOS *et al*, 2015; SANTANA *et al*, 2013).

A escolha de um tratamento, ou a associação deles, deve ser definida em virtude da severidade da infecção, condições de saúde geral e bucal, idade e gênero do paciente. Atualmente, a Nistatina (suspensão oral) é o medicamento mais utilizado para tratamento inicial, com finalidade de aliviar os sinais e sintomas clínicos da doença. Apesar disso, em muitos casos esse antifúngico não é capaz de eliminar completamente as espécies de *Candida* (FERREIRA *et al*, 2015). Desta forma, medicamentos sistêmicos têm sido instituídos em indivíduos com saúde comprometida e nos episódios de infecções recorrentes. Neste caso, fluconazol, itraconazol e anfontericina B podem ser utilizados (LEROY *et al*, 2016).

A utilização indiscriminada de antifúngicos tópicos ou sistêmicos acarreta o desenvolvimento de resistência das espécies de *Candida* (CIEPLIK *et al*, 2014). Nesse contexto, para superar os problemas associados ao aumento de incidências de patógenos resistentes aos antifúngicos, novas estratégias terapêuticas que abordam uma inviabilização dos microrganismos, como a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa), vêm sendo estudadas. A TFDa consiste em uma modalidade terapêutica que envolve a utilização de substâncias fotossensíveis

(fotossensibilizador - FS), que são submetidos a irradiação de luz visível e que, na presença de oxigênio, produzem espécies reativas que causam danos celulares levando a inativação de microrganismos (SARDI *et al*, 2013; TIAN *et al*, 2014).

Alguns FS têm sido alvo de estudos de muitos pesquisadores para a fotoinativação de microrganismo (CHABRIER-ROSELLO *et al*, 2005; JABRA-RIZK *et al*, 2004). A ftalocianina, um FS de segunda geração que possui pigmentos tetraazoindólicos análogos às porfirinas, cuja estrutura molecular pode ser modificada inserindo-se ligantes periféricos e/ou axiais, bem como metais entre nitrogênio centrais, atualmente é o FS mais desejados devido à sua forte absorção na região do vermelho do espectro eletromagnético (670 nm – 780 nm) (FADEL *et al*, 2010).

Entretanto, as ftalocianinas possuem baixa solubilidade em meio fisiológico tornando-se sua administração direta inviável, pois, em meio aquoso, as moléculas hidrofóbicas tendem a forma agregados por associação intermolecular. A agregação das moléculas implica diretamente nas suas propriedades fotoquímicas, diminuindo seu rendimento quântico de fluorescência e afetando, conseqüentemente, sua eficácia fotossensibilizante (FARIA *et al*, 2014; ROSSETTI *et al*, 2011).

A entrega de FS hidrofóbicos é bastante desafiadora. Neste sentido, alguns sistemas nanoestruturados vem sendo desenvolvidos com essa finalidade (FADEL *et al*, 2010). Dentre estes, encontram-se os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), que são caracterizados por possuírem uma matriz composta de cristais lipídicos imperfeitos, o que proporciona espaços para a incorporação de altas concentrações de substâncias ativas de origens hidrofóbicas (SATO *et al*, 2017).

Formulações baseadas em CLN podem ser administrados por via intravenosa, pulmonar, oral, transdérmica e tópica. Além disso, pelo tamanho reduzido das partículas e sua forte aderência ao estrato córneo, o que leva a formação de um filme lipídico flexível sobre a camada de células queratinizadas, CLN de uso tópico (pele ou mucosas) tem atraído bastante atenção nos últimos 10 anos, fazendo com que a quantidade de estudos utilizando CLN aumentasse consideravelmente (BELOQUI *et al*, 2016; GARCÊS *et al*, 2018).

Tendo como base o panorama exposto, o uso de CLN com a incorporação do FS, associados à TFD, oferece uma promissora e inédita ferramenta

nanobiotecnológica visando o tratamento de biofilmes orais ocasionados pela *C. albicans*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) contendo ftalocianina.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar os CLN contendo ftalocianina;
- Caracterizar físico-quimicamente e morfologicamente os sistemas obtidos, contemplando as análises de: tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão, potencial zeta e microscopia eletrônica de transmissão;
- Avaliar a quantidade máxima da ftalocianina incorporado no CLN.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Candidíase

As infecções do tipo fúngicas são chamadas de micoses, sendo a candidíase a patologia fúngica de maior incidência em humanos, já que os fungos do gênero *Candida* fazem parte da microbiota normal desses indivíduos e colonizam suas mucosas durante ou após o nascimento, o que torna um risco constante de infecção endógena (BROOKS *et al*, 2014).

A candidíase, é uma infecção ocasionada por qualquer espécie do gênero e sua abrangência varia de superfícies corporais, podendo ser uma infecção local ou até mesmo sistêmica (EBABHI *et al.*, 2019). *Candida* spp. pode causar micoses de pele, de unhas ou de mucosas, como as do trato gastrointestinal e genital (BROOKS *et al*, 2014).

As leveduras que fazem parte do gênero *Candida* são microrganismos simbióticos, ou seja, que vivem e permanecem em um organismo de forma equilibrada. Entretanto, em certos indivíduos e em situações específicas, pode haver o desenvolvimento da forma parasitária (DIAS *et al*, 2018), principalmente quando há uma baixa da imunidade do hospedeiro por uma infecção viral ou por um tratamento quimioterápico, por exemplo.

Dentre os locais do corpo humano, a cavidade bucal é um dos sítios que apresenta as maiores diversidades de microrganismos. Das infecções fúngicas que afetam a boca, as candidíases são as patologias oportunistas mais comuns nesse hospedeiro (PEREIRA, 2017; DIAS *et al*, 2018). Os fatores de risco para essa patologia incluem o uso de próteses dentárias, antibióticos, medicamentos imunossupressores, além de condições sistêmicas como diabetes, deficiências nutricionais e câncer (DIMOPOULOS *et al*, 2007).

As candidíases orais são classificadas em candidíase oral primária (aguda ou crônica), como no caso da pseudomembranosa, eritematosa, em placas, nodular ou hiperplásica, e candidíase oral secundária, que são as manifestações orais de candidose mucocutânea sistêmica. Além disso, ainda existem as lesões associadas à *Candida*, como a Estomatite Protética, Queílite Angular, Glossite Romboide Mediana (SIMÕES *et al*, 2013).

As espécies patogênicas causadoras dessa infecção em humanos, e que estão associadas a candidíase oral, são *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *Candida krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*. Dentre estas, a *C. albicans* é o agente etiológico mais prevalente, representando mais de 80% dos casos (EBABHI *et al*, 2019; DIAS *et al*, 2018).

Candida albicans é um microrganismo comensal, que não causa benefício ou malefício detectáveis ao hospedeiro, encontrada nos tratos gastrointestinal e reprodutivo de cerca de 34% a 68% da população saudável. Geralmente o epitélio oral é uma barreira física contra a infecção por *Candida*. Quando a defesa do hospedeiro é enfraquecida, ocorre uma colonização por esse fungo na cavidade oral. Esse irá se aderir, invadir e danificar o revestimento das células epiteliais, ocasionando a candidíase (VAN DER WAL, 2017).

Devido à forte ligação da infecção fúngica com o estado imunológico do paciente, a candidíase foi considerada um indicador do desenvolvimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) antes do surgimento dos antirretrovirais. Em pacientes imunocomprometidos, a infecção pode se espalhar do local original e atingir a corrente sanguínea, promovendo uma infecção sistêmica conhecida como candidemia, sendo 90% dos casos atribuídos às espécies de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *Candida krusei*. O número de mortes varia entre 40 e 80% nesses pacientes (SARDI *et al*, 2013).

Além de maior representatividade em patologias orais, ensaios realizados por Martins *et al.* (2016) mostram que *C. albicans* possui uma capacidade de formação de biofilmes significativamente maior quando comparada a outras espécies do mesmo gênero.

A organização dos microrganismos em biofilmes é um mecanismo de resistência e representa um reservatório protetor do próprio microrganismo. Isso possibilita a sobrevivência desses patógenos mesmo em condições desfavoráveis e proporcionando elevada resistência aos agentes antifúngicos (CIEPLIK *et al*, 2014).

A resistência de *Candida* spp. aos antifúngicos está relacionado principalmente ao uso prolongado e indiscriminado desse tipo de medicamento e quando se faz uso de tratamentos profiláticos e de subdoses (DIAS *et al*, 2018; PEREIRA, 2017).

3.2 Via bucal

A cavidade oral é revestida por uma membrana mucosa úmida com função principal a proteção. Essa umidade é devido a constante produção de saliva pelas glândulas salivares. A saliva é constituída por água (95% a 99%), proteínas, enzimas, eletrólitos e ácidos nucleicos. Essa possui como principal função, além da limpeza, reduzir suscetibilidade da mucosa oral à abrasão. Contudo, dentre outros fatores, a presença constante de saliva na cavidade oral é uma influência negativa para administração de medicamentos devido a frequentemente lavagem da mucosa bucal, diluindo a droga administrada, reduzindo o contato e, conseqüentemente, a biodisponibilidade das formulações aplicadas topicamente (FRANZ-MONTAN *et al*, 2017).

Além disso, quantidades de fármaco absorvida na mucosa bucal é frequentemente baixa para a obtenção dos efeitos terapêuticos devido aos movimentos mastigatórios, fonação, degradação enzimática e falta de permeação do epitélio (MACEDO *et al*, 2020). Para superar essas e outras limitações, nanocarreadores à base de lipídios vêm sendo utilizados na administração de medicamentos, melhorando eficientemente a biodisponibilidade do fármaco (AGRAWAL *et al*, 2016).

O encapsulamento de medicamentos em nanopartículas é uma estratégia para contornar problemas citados e melhorar a distribuição bucal do fármaco já que possibilitam uma administração sustentada, controlada, direcionada, melhorando a captação pela mucosa bucal, e conseqüentemente sua biodisponibilidade e resultado terapêutico (MACEDOO *et al*, 2020).

Por exemplo, em um estudo realizado por Mendes *et al* (2013), carreadores lipídicos nanoestruturados carregados com miconazol foram preparados, caracterizados e testados para administração na mucosa oral com o objetivo de fornecer um efeito antifúngico local contra *C. albicans*. Os resultados indicaram que, quando comparados ao medicamento puro, a droga encapsulada nos CLN, além de ser eficaz para inibir o microrganismo, necessitou de uma quantidade menor de ativo.

3.3 Tratamento de candidíase

Por serem seres eucariotos, os fungos partilham inúmeros genes homólogos, produtos gênicos e vias metabólicas com seus hospedeiros humanos. Consequentemente, os alvos específicos para quimioterapia de antibióticos efetivos se tornam limitados. Esse é um dos motivos pelo qual é difícil tratar a maioria das micoses (BROOKS *et al*, 2014).

Outro problema encontrado no tratamento convencional dessa infecção é o uso indiscriminado dos antifúngicos, principalmente quando se faz o uso em baixas doses para tratamentos profiláticos prolongados, o que pode gerar resistência do microrganismo ao medicamento, além de aumentar o risco de toxicidade da terapia tanto pelo aumento de dose quanto pela necessidade de associação de agentes (PEREIRA, 2017).

Para o tratamento convencional de candidíase, atualmente os principais grupos de agentes antifúngicos utilizados são os antibióticos poliênicos (anfotericina B e nistatina), que possuem amplo espectro de ação e os derivados azólicos sintéticos como os imidazólicos (cetoconazol, miconazol e fenticonazol) e triazólicos (itraconazol, fluconazol e voriconazol) (PEREIRA, 2017).

Em geral, para o tratamento do sapinho, e de outras formas mucocutâneas de candidíase, a nistatina tópica, cetoconazol ou fluconazol orais são empregados (BROOKS *et al*, 2014). Nos casos em que o tratamento tópico não apresenta resultados, o tratamento sistêmico é iniciado (DIAS *et al*, 2018).

Com o surgimento de mecanismos de resistência aos tratamentos convencionais para a candidíase e, portanto, não oferecimento de resultados satisfatórios, aliados ao número reduzido de agentes antifúngicos disponíveis, a busca de novas substâncias para uso no tratamento de infecções fúngicas vem sendo impulsionadas (DIAS *et al*, 2018).

3.4 Nanopartícula (NP)

A aplicação da nanotecnologia no desenvolvimento de fármacos possui como principais objetivos otimizar a administração de medicamentos já que os sistemas de formulação nanométricos, sejam eles conjugados a substâncias

hidrossolúveis, formulados como partículas de fármacos nanodimensionados ou incorporados a nanopartículas, são bastante eficientes na melhoria da potência e eficácia do fármaco, aumentando a solubilidade e taxa de dissolução, modificando a distribuição, protegendo contra a degradação pós administração, além de poder serem direcionados para órgãos específicos, tecidos ou células (MANAIA *et al*, 2017; AULTON; TAYLOR, 2016).

Nas últimas décadas, inúmeras sistemas nanoestruturados que utilizam nanopartículas (NP) foram sendo desenvolvidas e avaliadas como potencial aplicação de agentes terapêuticos (INOUE, 2015; BAETKE *et al*, 2015). NP são hidrossolúveis, possuem tamanhos que variam de 1-1000 nm e são classificados em NP orgânicas e NP inorgânicas. As NP orgânicas englobam as micelas, lipossomas, nanogéis e dendrímeros. Já as inorgânicas compreendem as nanopartículas de ouro (PNB), nanomateriais superparamagnéticos de óxido de ferro (SPIONs), pontos quânticos (QDs) e íons lantanídeos paramagnéticos (RAJABI; MOUSSA, 2016).

A utilização de nanopartículas pode aumentar o efeito de uma droga (mesmo em dosagens menores), possibilitando assim maiores intervalos de administração (DE SOUZA, 2019). Além disso, sistemas nanoestruturados podem modificar os perfis de permeação, liberação e podem ser utilizados como carreadores para a liberação de ativos (INOUE, 2015). Com isso, tornam-se promissoras para o tratamento de doenças, pois permite melhor biodisponibilidade e redução dos efeitos adversos da droga (DE SOUZA, 2019).

A capacidade de inibir uma forma de resistência de microrganismos demonstra vantagem na utilização de nanopartículas para o tratamento de patologias infecciosas. Por exemplo, estudos realizados por Costa (2015), constatou que o uso de nanopartículas conseguiu inibir a formação de biofilmes, demonstrando que essas são capazes de permear o seu interior e exercer ação de inativação.

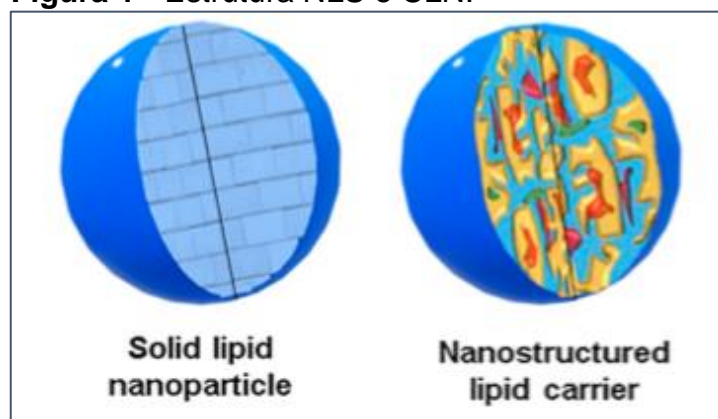
3.4.1 Sistemas nanoparticulados lipídicos (SNL)

Ao falar em nanopartículas do tipo lipídicas, pode-se entender como dispersões aquosas de partículas com tamanhos que variam de 50 a 1000 nm, formadas por lipídeos sólidos, que são estabilizados por um ou mais tipos de

tensoativo, e que modificam a polaridade da superfície com o objetivo de melhorar a sua penetração, sendo assim ideal para incorporação em sistema de administração tópico, nasal, oftálmico ou sistêmico e por via oral. Esse tipo de nanopartículas é considerado uma alternativa ao uso de emulsões lipídicas, lipossomas e nanopartículas poliméricas (ANTUNES, 2016).

As nanopartículas lipídicas são divididas em dois grupos, também chamados de sistemas nanoparticulados lipídicos: as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) e os carreador lipídico nanoestruturado (CLN).

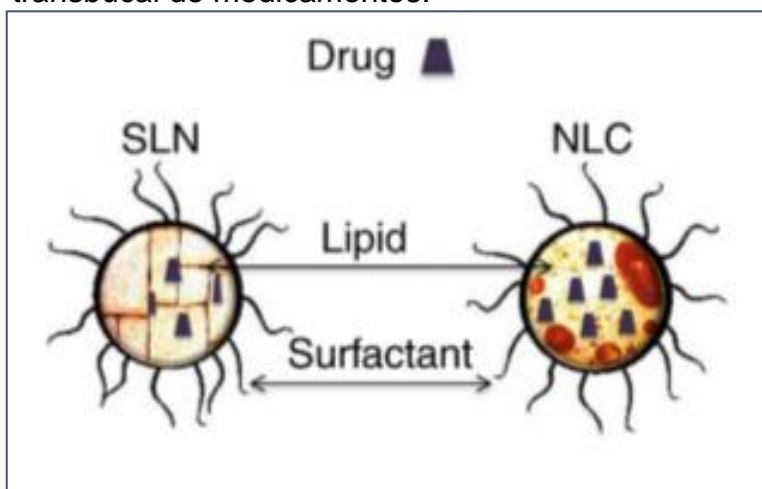
Figura 1 - Estrutura NLS e CLN.



Fonte: Adaptado de Macedo *et al* (2020).

Para aplicação tópica em mucosas, formulações tradicionais como cremes, géis e pomadas apresentam limitações em termos tanto de eficácia como de segurança para serem administradas. Para contornar isso, a nanotecnologia é utilizada no campo da farmácia para desenvolver produtos mais eficazes e menos tóxicos para os pacientes e meio ambiente, através da fabricação de produtos biocompatíveis e biodegradáveis e ainda podendo ser economicamente viáveis na produção ampliada, vem sendo empregada (FRANZ-MONTAN *et al*, 2017).

Figura 2 - NLS e CLN: sistemas nanoparticulados lipídicos que podem ser usados na administração transbucal de medicamentos.



Fonte: Adaptado de Franz-Montan *et al* (2017).

3.4.1.1 Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)

São estruturas de tamanho superior a 50 nm que apresentam matriz contendo um núcleo lipídico sólido (altos pontos de fusão) dispersos numa fase aquosa (AULTON; TAYLOR, 2016) e a substância ativa e que possuem um elevado grau de cristalinidade. Esta característica proporciona uma reduzida eficácia de encapsulação dentro da matriz lipídica, já que o espaço destinado aos ativos se torna bastante pequeno, além de gerar problemas de estabilidade do sistema, como por exemplo, a redução da libertação do fármaco, crescimento das partículas e gelificação (ANTUNES, 2016). Além da incorporação para a libertação de fármacos, NLS podem ser formadas por ligação do fármaco à sua superfície (AULTON; TAYLOR, 2016).

As dispersões de nanopartículas sólido-lipídio têm sido amplamente empregados para a melhora na biodisponibilidade de diversos medicamentos de uso parenteral, oral, ocular, cutânea e aplicações cosméticas (AULTON; TAYLOR, 2016), pois são extensivamente benéficos na melhora da administração, além de serem seguros e eficazes.

Elas oferecem um substituto para os sistemas coloidais convencionais (emulsões, lipossomas e micro e nanopartículas poliméricas) por possuírem estabilidade em virtude de sua matriz/nanoarquitetura composta por lipídios sólidos à temperatura ambiente. A matriz do núcleo lipídico pode ser composta por

monoglicerídeos, diglicerídeos, triglicerídeos, esteróides, ceras e ácidos graxos, que são estabilizados na presença de um surfactante, como por exemplo o polímero poloxâmero, (AGRAWAL *et al*, 2016).

3.4.1.2 Carreador lipídico nanoestruturado (CLN)

Os carreadores lipídicos nanoestruturados representam a segunda geração de sistemas nanoparticulados lipídicos. Eles são constituídos por uma matriz formada por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos, mas que, à temperatura ambiente e temperatura corporal, se apresenta sólida, minimizando assim a baixa eficácia de encapsulação que as NLS exibem (ANTUNES, 2016).

Sua matriz lipídica é formada por cristais imperfeitos que são estabilizados por surfactantes. Essa característica proporciona aos CLN espaços para a incorporação de grandes concentrações de princípios ativos hidrofóbicas, além liberação mais lenta e maior estabilidade do medicamento durante o armazenamento (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020).

Os CLN são obtidos através de componentes biodegradáveis e biocompatíveis, e não necessitam de utilização de solventes orgânicos durante a produção. Além disso, após o processo de encapsulação do ativo, ainda se observar o tamanho da partícula na escala nanométrica. Com isso, se tornam sistemas de liberação de fármacos bastante atraente para uso como carreadores de diversos ativos (INOUE, 2015).

A vantagem dos CLN sobre os NLS é relacionada à melhora na solubilidade do medicamento em lipídios líquidos em comparação com lipídios sólidos. Esse fator proporciona maior quantidade de incorporação do ativo já que os lipídios líquidos presentes produzem uma matriz porosa e resulta no aumento da eficiência na carga de medicamentos (AGRAWAL *et al*, 2016).

3.5 Terapia fotodinâmica (TFD)

A TFD é uma terapia altamente seletiva baseada em reações fotoquímicas oxidativas. Para que isso ocorra, há necessidade se utilizar um composto fotoativo, fotossensibilizador (FS), além de uma luz em um comprimento de onda adequado.

Normalmente, os FS são farmacologicamente inativos quando se encontram no escuro (ZHEN *et al*, 2013).

A associação entre o FS e a luz, juntamente com a presença de oxigênio no estado fundamental, gera quantidades de espécies reativas de oxigênio (ERO) (oxigênio *singlete*, hidrogênio radicais peróxido (H₂O₂) e hidroxil (\bullet OH)), citotóxicos capazes de matar células próximas por induzir dano celular e tecidual, levando à apoptose ou necrose da célula. Desta forma, os FS irão agir somente no local em que a luz é utilizada, o que a torna uma terapia seletiva e minimamente invasiva (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020).

A combinação entre FS e luz visível para tratar patologia é uma prática bastante antiga, com início descritos há mais de 3500 anos. No entanto, foi no início do século XX que essa terapia se consolidou como um método de combate a algumas doenças (CALORI, 2016), com relatos de aplicação clínica em 1903 para tratar lúpus, sífilis, psoríase e câncer de pele superficial (ALMEIDA, 2014). Além das doenças oncológicas, a TFD vem se mostrando eficaz como método de inativação de microrganismos patogênicos, como vírus, bactérias, fungos e infecções localizadas (GARCIA *et al*, 2011; MORESCHI *et al*, 2018).

A eficácia dessa terapia leva em conta os FS, como um dos elementos essenciais, a forma farmacêutica utilizada, a exposição adequada de irradiação/penetração de luz, tempo de exposição para ativação do FS, quantidade de oxigênio envolvida e o tipo de célula (ALMEIDA, 2014; TIAN *et al*, 2020).

3.6 Fotossensibilizadores (FS)

Os FS são classificados como os primeira geração, representados pelos derivados da hematoporfirina (Hp), os segunda geração, que têm como exemplo os derivados da ftalocianina (Pc) e os de terceira geração ou os fotossensibilizadores dentro de sistemas biológico (DA SILVA, 2007; ALMEIDA, 2014).

Derivados a Hp foi o primeiro grupo de FS desenvolvidos para à TFD. Eles são produzidos a partir de tecnologia original de desfibrilação e acidificação sanguínea através da hematoporfirina IX presente na circulação (DA SILVA, 2007).

Porfirinas são macrociclos aromáticos, planares, rígidas e com simetria que favorece a formação de estruturas cristalinas com grandes cavidades, mas que

pode ser contornada com ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo ou de van der Waals com outras moléculas (NOGUEIRA, 2011). Além disso, apresentam baixa solubilidade em solução fisiológica necessitando de estratégias que melhorem sua biocompatibilidade (GIANSANTE *et al*, 2014; ALMEIDA, 2014).

Como desvantagens, as Hp se acumulam nas células epiteliais necessitando de abstenção de exposição a luz por longos períodos, o que pode causar reação adversa de fotosensibilidade da pele, e baixa absorção no comprimento de onda de luz vermelha utilizados na terapia (600-850 nm) (DA SILVA, 2007; OSHIRO JUNIOR *et al*, 2019).

Apesar disso, os FS de primeira geração não deixam de ser utilizados na TFD, sobretudo para o tratamento do câncer (ALMEIDA, 2014), pois possuem grande afinidade pelos tecidos tumorais e toxicidade relativamente baixa (NOGUEIRA, 2011).

A segunda geração de fotossensibilizadores supera as desvantagens dos fotossensibilizadores anteriormente citados já que permitem o aumento da absorção em região vermelha do espectro eletromagnético, dosagem muito baixa de exposição a drogas e à luz durante a ação da TFD (SWAMY *et al*, 2020).

Além disso, esses PS permitem que a luz penetre mais profundamente no tecido alvo, possuem alta pureza e baixa toxicidade. Entretanto, por serem compostos lipofílicos, apresentam dificuldade de solubilidade em meio fisiológico como resultado de suas interações π - π . Nesse sentido, a incorporação de ftalocianina em CLN trona-se uma estratégia para contornar essa desvantagem (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2019; BAYAT *et al*, 2020).

Os FS de terceira geração são associações terapêuticas aos fármacos fotossensibilizadores, como imunoterapia ou radiofototerapia (LONGO *et al*, 2011). Eles podem ser acoplados a biomoléculas e permitir captação seletiva em tecidos, além de poder se associarem à anticorpos monoclonais específicos ou serem encapsulados em lipossomas. Essas propriedades os tornam viáveis tanto para utilização com fins diagnósticos como para a terapêutica (DE ALBUQUERQUE, 2008).

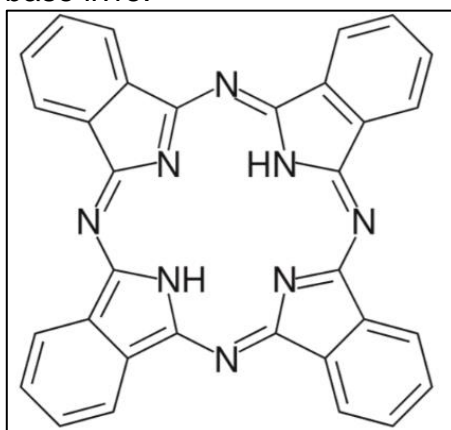
3.6.1 Ftalocianina

As ftalocianinas (Fc) são um grupo de compostos macrocíclicos sintéticos de cor verde/azul, com estrutura semelhante as porfirinas e com diversas propriedades que as permitem serem utilizadas e aplicadas em vários setores. Além de serem utilizadas como FS na TFD, Fc possuem aplicações como sensores químicos, cristais líquidos, catalisadores e ópticas não lineares (KÖKSOYA *et al*, 2019).

A sua alta versatilidade de síntese permite a obtenção de uma grande variedade de moléculas. Elas têm elevada estabilidade térmica, foto e semicondutividade elétrica, baixa solubilidade em diversos solventes orgânicos, além de uma estrutura eletrônica altamente conjugada, o que as conferem alta densidade eletrônica (DA COSTA JUNIOR, 2017).

Além disso, sua estrutura é composta por quatro anéis pirrólicos, cada um ligado a um anel benzênico, onde átomos de nitrogênio unem toda a estrutura (Figura 3). Os átomos de hidrogênio ligados aos nitrogênios pirrólicos das Fc dão a ela a capacidade de interação com diversos semimetals e metais, formando as chamadas metaloftalocianinas. Essa propriedade as confere inúmeras propriedades fotofísicas e fotoquímicas, além de maior estabilidade (CALORI, 2016).

Figura 3 - Estrutura da ftalocianina base livre.



Fonte: Calori, 2016.

Pc possuem inúmeras vantagens em relação aos PS de primeira geração, dentre as quais alta absorção de luz nos comprimentos de onda entre 650-800 nm, faixa ideal para a terapêutica, baixa toxicidade *in vitro* além de serem eliminados

rapidamente do organismo quando administrada por via tópica, aproximadamente 24 horas, e isso as confere uma boa segurança de uso (SANTOS *et al*, 2020; GOTO, 2016).

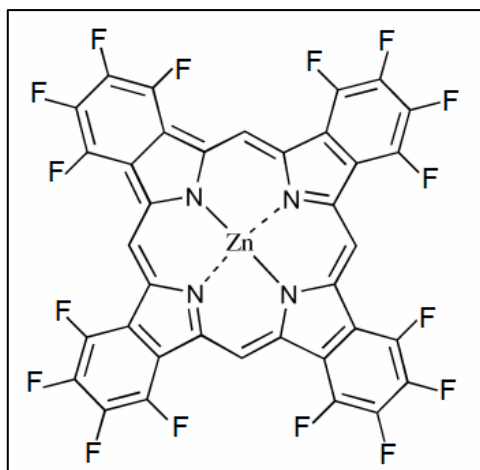
Apesar das vantagens apresentadas pela Pc, o seu principal problema é baixa solubilidade em solventes orgânicos comuns, água e ambiente fisiológico, (KÖKSOYA *et al*, 2019) o que inviabiliza a sua administração direta. Entretanto, como lipossomas, micelas, nanopartículas poliméricas, partículas lipídicas sólidas e outros sistemas de administração de medicamentos (DDS) podem ser administrados em ambientes fisiológicos (SANTOS *et al*, 2020).

3.6.1.1 Ftalocianina de flúor-zinco

As ftalocianinas metálicas possuem potencial para utilização na TFD pois têm intensa absorção na janela fotodinâmica, ou seja, na região vermelha (600-800 nm), além de quantidades significativas de oxigênio *singlete*. A $ZnF_{16}Pc$ - hexadecafluoro ftalocianina de zinco - ($C_{32}F_{16}N_8Zn$) é um FS potente e bastante hidrofóbico (ZHEN *et al*, 2013).

Seu peso molecular é de 865.76 g/mol e possui um ponto de fusão > 300 °C. Essa Fc metálica é proveniente da ftalocianina de zinco não substituída ($ZnPc$), onde os átomos de hidrogênio foram todos substituído por flúor objetivando o aumento da hidrofobicidade e garantindo a sua incorporação total em domínios lipídicos (SIGMA-ALDRICH; GARCIA *et al*, 2011).

Figura 4 - Estrutura da ftalocianina de flúor-ZINCO ($C_{32}F_{16}N_8ZN$).



Fonte: A autora (2020).

As propriedades fotofísicas das ftalocianinas são determinadas pela presença de íons metálicos já que, quando complexadas com zinco ou outro metal, estas apresentam grande fotoestabilidade e boa atividade fotoquímica e fotodinâmica, devido ao alto rendimento quântico de estado *singlete* excitado e estado *triple* com longo tempo de vida (GOTO, 2016).

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Materiais

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 (Via Farma, São Paulo, SP, Brasil);
- Pluronic® F127 (Lote: SLBS1853V - SIGMA-ALDRICH, SP, Brasil);
- Zinc1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18,22,23,24,25-hexadecafluoro-29H,31H-phthalocyanine (SIGMA-ALDRICH, SP, Brasil).

4.1.2 *Equipamentos*

- Balança semi-analítica AW220 – Shimadzu (Quioto, Honshu, Japão);
- Banho ultrassônico – Ultrasonic Cleaner Unique (Indaiatuba, SP, Brasil);
- Centrífuga Spin Coater KW-4A – SPI Supplies (West Chester, Pensilvânia, EUA);
- Destilador de água Pilsen SP5L – SPLABOR (Vila Formosa, Prudente, Brasil);
- Espectrofotômetro UV-Vis UV-1900 – Shimadzu (Quioto, Honshu, Japão);
- Microscópio eletrônico de transmissão JEM-100CX2 – JEOL (Peabody, Massachusetts, EUA);
- Sonicador de Ponteira/ Desruptor de Célula Ultrassônico DES500 500 W Unique (Indaiatuba, SP, Brasil);
- Zetasizer Nano NS – Malvern Instruments (Malvern, Worcestershire, Inglaterra).

4.2 Método

4.2.1 Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)

O desenvolvimento dos CLN foi baseado no trabalho conduzido por Sato e colaboradores (2017), com modificações, pelo método de fusão-emulsificação.

Neste método, inicialmente, a formulação contendo como fase lipídica foi composta de 2,0% de estearato de polioxietileno 40 (EP), 2,0% de triglicérides do ácido cáprico/caprílico (TGACC) e 0,9% de óleo de rícino (OR). Como fase aquosa, utilizou-se o Pluronic® PF-127 na concentração de 3,5% e água destilada.

Os componentes da fase aquosa e da fase lipídica foram pesados em béqueres separados, de modo que a fase aquosa foi aquecida a 60 °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 fundida sob constante agitação, dando origem a uma pré-emulsão

A dispersão da pré-emulsão foi realizada por sonicador com amplitude de 35%, em modo descontínuo por 4 minutos com intervalo de 30 segundos a cada 60 segundos. Durante todo o processo de sonicação, as formulações foram resfriadas em banho de gelo para que ocorra a cristalização lipídica e a formação dos CLN. A fim de eliminar o titânio desprendido da haste durante o processo de sonicação, as formulações foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos. Em seguida, foram acondicionadas em frascos âmbar e mantidas em geladeira.

Os CLN foram preparados no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB - Campina Grande, Paraíba, Brasil).

4.2.1.1 Incorporação do FS no CLN

O fotossensibilizador (zinco 1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18,22,23,24,25-hexadecafluoro 29H, 31H-ftalocianina) foi utilizado para este estudo, e adquirido comercialmente pela SIGMA-ALDRICH.

Na preparação de CLN acrescidos de ftalocianina, a técnica de preparação foi a mesma, sendo que a ftalocianina foi dispersa na fase lipídica fundida na concentração de 1% em relação a massa lipídica.

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB - Campina Grande, Paraíba, Brasil).

4.2.2 Caracterização físico-química dos CLN com e sem FS

4.2.2.1 Determinação do tamanho médio e do potencial zeta (PZ)

O diâmetro das gotículas e a análise do PZ dos CLN foram determinados pela técnica de correlação de fótons (conhecida como Dynamic light scattering-DLS) e mobilidade eletroforética das nanopartículas, respectivamente, utilizando o equipamento Zetasizer Nano NS (Malvern Instruments). Ambas as medidas foram realizadas com temperatura constante de 25 °C. As amostras foram diluídas em água ultra-purificada (1:100), mantidas em frascos fechado, vertidas em uma cubeta e colocadas na célula eletroforética em um ângulo de dispersão de 90°. Para cada amostra foram realizadas 3 determinações foram analisadas nos tempos de 24 horas, 15,30, 45, 60 e 90 dias. O estudo foi realizado no Departamento de Farmacotécnica da Universidade Estadual Paulista (UNESP, Araraquara, São Paulo, Brasil).

4.2.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A análise morfológica das CLN sem e com FS foi realizada por microscopia eletrônica de transmissão. O tamanho e morfologia dos CLN foram caracterizados através de microscopia eletrônica de transmissão JEM-100CX2 (JEOL). Este equipamento pertence a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Para o preparo das amostras consiste em adicionar uma pequena alíquota na grade de níquel, seguido da remoção do excesso de amostra por um papel filtro. A contração negativa então foi realizada pela adição de uma gota de solução de

acetato de uranila a 1% (m/v), foi adicionado sobre as amostras no intuito de melhorar o contraste das imagens. Após 10 minutos, o excesso de líquido foi removido, e a amostra secada à temperatura ambiente. As imagens foram adquiridas no microscópio a uma voltagem de 100 kV.

4.2.2.3 Eficiência de encapsulação (EE%)

Para avaliar a eficiência de encapsulamento (EE%), as amostras de CLN-FS foram centrifugadas a 10.000 rpm durante 30 minutos. Após este procedimento, os sobrenadantes foram filtrados usando filtros de Minisart® NML de acetato de celulose, visando separar a FS precipitada da encapsulada. A quantidade do FS encapsulada no CLN foi baseada no seu espectro de absorção ($\lambda = 677$ nm). Assim, a EE foi estimada de acordo com a Equação 1.

Equação 1 – Cálculo para a eficiência de encapsulação (%).

$$EE (\%) = M_1 / MT \times 100$$

Onde EE é a eficiência de encapsulação do FS em %, M_1 é a absorbância do FS encapsulado no CLN e MT é a absorbância teórica de FS usada no CLN (FADEL *et al*, 2010).

A EE foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB - Campina Grande, Paraíba, Brasil).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

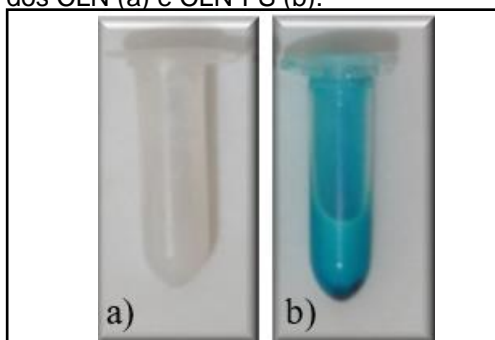
5.1 Preparação dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN)

A preparação dos sistemas nanoestruturados ocorreu como descrito no item 4.2.1, de acordo com os métodos utilizados por Sato *et al* (2017), no entanto, com algumas modificações. A estrutura lipídica foi constituída por TGACC, EP, OR, contudo o Pluronic® PF-127 foi selecionado como tensoativo devido ao seu efeito de estabilização estérica, evitando a agregação de partículas. O trabalho foi realizado utilizando o método de fusão seguida de emulsificação por sonicação, a partir dos parâmetros estudados de acordo com velocidade e tempo. Ele foi utilizado principalmente por reduzir o tamanho das partículas para escala nanométrica, além de ser uma técnica segura, bem estabelecida e que pode ser facilmente reproduzida em larga escala (GANESAN; NARAYANASAMY, 2017).

De modo a promover a incorporação do FS, este foi adicionado na fase lipídica durante a etapa da preparação de produção para CLN. Esse método é capaz de incorporar fármaco hidrofóbico, como no caso da Fc, permitindo que o mesmo fique retido e disperso dentro da fase lipídica (OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020).

Os CLN sem o FS se apresentaram como um sistema homogêneo, opaco e sem processos de instabilidade como floculação, cremação ou coalescência (Figura 5a). A Fc, por ser um pó sólido com coloração azul escura, quando incorporada nos CLN, revelou uma alteração em relação ao aspecto visual, se apresentando opalescente e levemente azulado (Figura 5b).

Figura 5 – Características macroscópicas dos CLN (a) e CLN-FS (b).



Fonte: Dados da pesquisa

5.2 Caracterização físico-química das formulações

5.2.1 Determinação do diâmetro hidrodinâmico médio (DMN) das partículas, índice de polidispersão (IPD) e Potencial Zeta (PZ)

Algumas características como os tipos de lipídios e tensoativos utilizados na composição dos CLN, assim como suas concentrações, podem influenciar no tamanho das partículas, viscosidade e estabilidade do sistema (KUMAR; RANDHAWA, 2013). Conforme descrito por Danaei *et al* (2018), o uso de óleo de rícino hidrogenado etoxilado 40-OE na matriz lipídica e Pluronic® F-127 como tensoativo possibilitam a incorporação de substâncias ativas lipofílicas, prevenindo o aumento do tamanho das partículas e possíveis instabilidade durante o seu período de armazenamento.

Os CLN desenvolvidos nesse estudo (com e sem o FS) foram avaliados durante um período de 90 dias por meio da Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico (DMN), Índice de Polidispersão (IPD) e Potencial Zeta (PZ) a partir da técnica de espectroscopia de correlação de fótons (BELOQUI *et al*, 2016; BUNJES, 2011; DE PAULA *et al*, 2013). Estes parâmetros estão diretamente associados com o início da perda de estabilidade dos sistemas (KOVALCHUK *et al*, 2009; MITRI *et al*, 2011).

Os dados foram expressos com a análise estatística ANOVA, seguida do pós-teste de *Tukey* ($p < 0,05$), e com média \pm desvio padrão (DP), estando descritos nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Determinação do diâmetro hidrodinâmico, do índice de polidispersão e do potencial zeta dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN).

Dias	Diâmetro médio (nm)	IPD	PZ (mV)
1	162,6 (\pm 1,82) ^a	0,23 (\pm 0,01) ^a	-15,30 (\pm 0,18) ^{a,b}
7	159,3 (\pm 1,81) ^b	0,21 (\pm 0,01) ^b	-15,80 (\pm 0,43) ^b
15	164,2 (\pm 1,61) ^c	0,19 (\pm 0,01) ^{c,b}	-17,79 (\pm 0,29) ^c
21	164,6 (\pm 1,95) ^c	0,20 (\pm 0,01) ^{c,b}	-25,10 (\pm 0,52) ^d
28	163,3 (\pm 1,90) ^c	0,18 (\pm 0,02) ^{d,c}	-15,60 (\pm 0,41) ^b
45	151,6 (\pm 1,00) ^d	0,17 (\pm 0,01) ^{e,d}	-13,50 (\pm 0,48) ^{e,g}
60	160,1 (\pm 1,37) ^e	0,16 (\pm 0,2) ^{f,e,d,g}	-17,60 (\pm 0,15) ^{f,c}
90	154,4 (\pm 1,07) ^{f,d}	0,15 (\pm 0,02) ^{g,e,f}	-12,20 (\pm 0,70) ^g

Símbolos iguais indicam valores sem diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, pode ser observado que os CLN sem FS apresentam durante os dias 1 e 90, tamanho médio entre $151,6 \pm 1,00$ nm a $164,6 \pm 1,95$ nm, confirmando que as partículas se mantiveram na faixa nanométrica. Nota-se pequena diferença no tamanho das partículas entre os dias 45 ($151,6 \pm 1,00$ nm) e 90 ($154,4 \pm 1,07$ nm) (ANOVA, one way, $p < 0,05$). No entanto, as suspensões coloidais que sofrem pouca ou nenhuma variação no tamanho de suas partículas durante o processo de estocagem são classificadas como sistemas estáveis (KOVALCHUK *et al*, 2009; VAGHASIYA *et al*, 2013).

Em estudos utilizando sistemas compostos por TGACC, Poloxamer 407, Jansook *et al* (2019) obtiveram resultados de partículas de NLS com tamanho médio de $127,6 \pm 3,7$ nm e $203,4 \pm 6,4$ nm para CLN. Da mesma forma, Sato *et al* (2017), desenvolveram CLN a partir de TGACC, OR hidrogenado e Poloxamer 407, obtendo valores de diâmetro médio que variaram de $111,7 \pm 21,86$ nm a $122,00 \pm 8,70$ nm, durante 60 dias de estudo. Portanto, os resultados de diâmetro médio encontrados no presente trabalho mostram concordância com os obtidos na literatura para sistemas nanoestuturados.

Com a incorporação do FS no CLN, leves alterações nos tamanhos de partículas foram observadas, no qual resultou no aumento do diâmetro médio de $158,00 \pm 1,49$ nm a $188,50 \pm 0,71$ nm, durante os 90 dias de estudo (Tabela 2), entretanto essa diferença não se mostrou significativa. Meerovich *et al* (2019) e Rodrigues *et al* (2019), incorporaram ftalocianina em nanopartículas e obtiveram resultados semelhantes, sendo este aumento explicado pela ligação

intermoleculares das moléculas do ativo na matriz lipídica (ALMEIDA *et al*, 2012; KUMAR; RANDHAWA, 2013; PATRA *et al*, 2018).

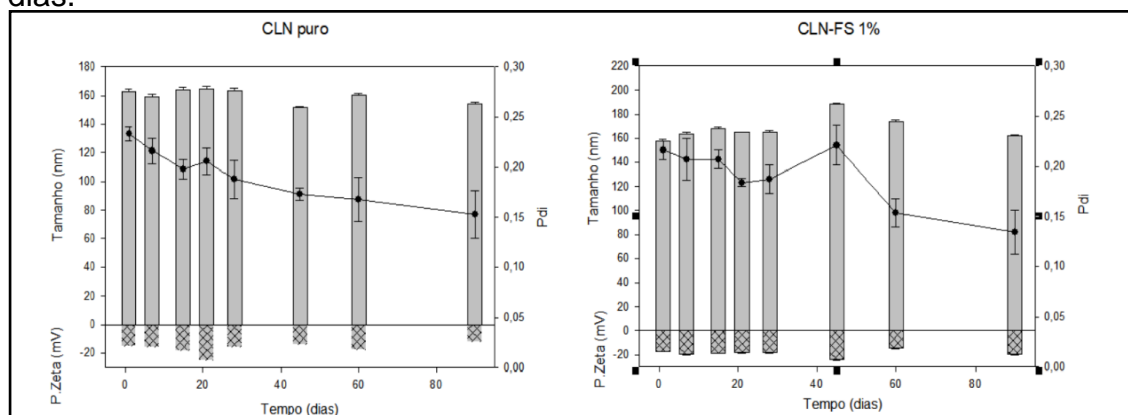
Tabela 2 – Determinação do diâmetro hidrodinâmico, do índice de plidispersão e do potencial zeta dos carreadores lipídicos nanoestruturados com fotossensibilizador (CLN-FS).

Dias	Diâmetro médio (nm)	IPD	PZ (mV)
1	158,00 ($\pm 1,49$) ^a	0,21 ($\pm 0,02$) ^a	-17,70 ($\pm 0,54$) ^{a,c}
7	163,60 ($\pm 1,51$) ^b	0,20 ($\pm 0,02$) ^a	-19,90 ($\pm 0,57$) ^b
15	167,80 ($\pm 1,86$) ^c	0,20 ($\pm 0,01$) ^a	-18,63 ($\pm 0,35$) ^c
21	164,70 ($\pm 0,58$) ^{d,b}	0,18 ($\pm 0,01$) ^{b,a}	-18,20 ($\pm 0,66$) ^c
28	165,00 ($\pm 1,49$) ^{d,b}	0,19 ($\pm 0,01$) ^{b,a}	-17,80 ($\pm 0,78$) ^a
45	188,50 ($\pm 0,71$) ^e	0,22 ($\pm 0,02$) ^{c,a}	-24,20 ($\pm 0,54$) ^d
60	174,00 ($\pm 1,65$) ^f	0,15 ($\pm 0,01$) ^{d,b}	-14,60 ($\pm 0,32$) ^e
90	161,80 ($\pm 0,70$) ^{g,b}	0,13 ($\pm 0,02$) ^{e,d}	-19,90 ($\pm 0,50$) ^{f,b}

Símbolos iguais indicam valores sem diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

A comparação estatística pelo teste de *Tukey* para os valores de diâmetro médio identificou que os CLN com e sem incorporação do FS apresentaram diferença de tamanho ($p < 0,05$), porém sem alterações significativas nos dias 21 ($164,6 \pm 1,95$ nm e $164,70 \pm 0,58$ nm). É importante destacar que o tamanho médio maior das nanopartículas contendo o ativo em relação as que não continham a Fc propõe que as moléculas do ativo estão inseridas na matriz lipídica (ALMEIDA *et al*, 2012; GOTO *et al*, 2017; KUMAR; RANDHAWA, 2013; PATRA *et al*, 2018).

Figura 6 – Média e desvio padrão (DP) do diâmetro médio (DM), índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta (PZ) dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) livres e carregados com FS (CLN-FS) - período de 90 dias.



Fonte: Dados da pesquisa

Além do diâmetro médio das partículas, também foi obtido o IPD, considerado um importante parâmetro para avaliar a homogeneidade de uma amostra e que se baseia na distribuição do tamanho das nanopartículas (CHU; LIU, 2000). A obtenção do IPD das formulações de CLN pode ser influenciado por parâmetros como composição de matriz lipídica, proporção de fase aquosa e oleosa e pelo método utilizado na preparação (DAS *et al*, 2011; GOTO *et al*, 2017). São considerados valores ótimos de IPD aqueles que encontram-se abaixo de 0,35, indicando partículas mais homogêneas (DAS NEVES; SARMENTO, 2015; MÜLLER *et al*, 2002a).

Os CLN e os CLN-FS apresentaram valores médios de IPD menores que $0,23 \pm 0,01$, caracterizando homogeneidade do sistema. Contudo, as formulações de CLN-FS apresentaram variações ao longo dos 90 dias (PDI= $0,21 \pm 0,02$ a $0,13 \pm 0,02$) com diferenças estatísticas significativas (ANOVA, com pós-teste de Turkey $p < 0,05$ (TABELA 1 e 2). Desse modo, pode-se afirmar que, mesmo apresentando variações, os valores de IPD permaneceram inferiores a 0,3, configurando um sistema homogêneo, estável e sem alterações que prejudiquem sua estabilidade física (BHATTACHARJEE, 2016; DAS *et al*, 2012).

O potencial zeta (PZ) avaliado indicou a média geral das cargas que são adquiridas pelas partículas a partir de um determinado meio. Esse parâmetro pode ser considerado uma referência para controlar a estabilidade de sistemas coloidais, uma vez que indica a intensidade de repulsão entre as partículas na dispersão (BHATTACHARJEE, 2016; CALIXTO *et al*, 2016; KOTAL; BHOWMICK, 2015).

Ainda observando as Tabelas 1 e 2, o PZ das formulações de CLN e CLN-FS demonstraram valores médios entre $-25,10 \pm 0,52$ e $-12,20 \pm 0,70$ e entre $-24,20 \pm 0,54$ e $-14,60 \pm 0,32$, respectivamente, ao longo de 90 dias. Os resultados do PZ obtidos nesse trabalho mostraram concordância com os estudos desenvolvidos por Garg e Singh (2011) e por Oshiro Junior *et al* (2020).

De acordo com a literatura, partículas com valores de PZ entre 30 a 50 mV (valor em módulo) são considerados altamente estáveis, porém partículas com valores entre $\pm 10-20$ mV e $\pm 20-30$ mV são relativamente estável e moderadamente estáveis, respectivamente (BHATTACHARJEE, 2016; MITRI *et al*, 2011). Esse fato atribui para que as partículas nos valores próximos de -20 mV permaneçam com estabilização eletrostática (SOUTO; MÜLLER, 2005). A

presença do Pluronic® F127 (tensoativo não-iônico) nas formulações permite que ocorra um impedimento estérico, o que garante estabilidade nos sistemas nanoestruturados a longo prazo e impede a agregação das partículas. Já os valores negativos obtidos neste trabalho podem ser explicados pelas carga negativas dos grupamentos hidroxilas presente no tensoativo (GARG; SINGH, 2011; SAWANT; KHAN, 2017; VAGHASIYA *et al*, 2013).

Diante disso, a veiculação de ativos em sistemas nanoestruturados destinados a via tópica tem se tornado cada vez mais frequente para administração de agentes antifúngicos (CARBONE *et al*, 2020; DIOGO *et al*, 2017). Além disso, nanopartículas que aderem a mucosa bucal e que permanecem no local por um período prolongado são considerados ótimos candidatos para tratamento de biofilmes de *C. albicans*, visto que a mucosa apresenta algumas desvantagens como a renovação da saliva, degradação enzimática e a falta de permeação do epitélio (GARCÊS *et al*, 2018; GUPTA; VYAS, 2012; MITRI *et al*, 2011; ZHOU *et al*, 2017).

De acordo com Rençber *et al* (2016) a aplicação do CLN apresenta uma alta capacidade de adesão na mucosa oral, devido à sua possibilidade de interagir com a superfície da cavidade bucal, além de aumentar o tempo de retenção e assim, possibilita o acesso direto do fármaco ao local de ação.

Algumas funções das nanopartículas estão diretamente relacionadas com seu tamanho. Ling *et al* (2018) desenvolveram e caracterizaram carreadores lipídicos nanoestruturados com objetivo de obter um mucoadesivo com propriedades antifúngicas. Neste caso, o tamanho de partícula das formulações de CNL estavam abaixo 200 nm, PDI de 0,21 e PZ= -31,7 mV, demonstrando que o tamanho das partículas foram estáveis para a realização do presente estudo. Em pesquisa realizada por Moazeni *et al* (2016), revelou que a administração *in vitro* de nanopartículas lipídica carregados com fluconazol resultou em um diâmetro médio de 122,60 nm, PDI de 0,291 e PZ de 25 mV, para tratamento de espécies de *Candida*.

O encapsulamento de fármaco no núcleo lipídico do CLN permite a solubilização de fármacos pouco solúveis em água, como o caso da Fc (TRIGO-GUTIERREZ *et al*, 2018). Estudos realizados por Hsieh *et al* (2019) demonstraram propriedades do tamanho das partículas no qual foi inferior a 325,2 nm, IPD de 0,43

e PZ de $26,4 \pm 3,2$ mV, fornecendo evidências de estabilidade *in vitro* de *C. tropicalis* com a aplicação de TFD. Essas características puderam ser corroboradas nos ensaios de estabilidade realizados no presente trabalho.

A partir disso, pode-se identificar que as formulações apresentaram estabilidade física quando avaliadas ao longo dos 90 dias, independentemente se as CLN envolviam ou não o FS (Fc), visto que não houve aumento ou diminuição excessiva no tamanho das nanopartículas. Os valores de PZ demonstraram estabilidade das formulações. Entretanto, para melhor avaliar a estabilidade é necessário observar outros fatores como a composição da formulação, as propriedades físico-químicas e a composição química. Apesar disso, parâmetros como tamanho, polidispersão e PZ fornecem bons indícios a respeito do estado físico-químico da formulação (ALVAREZ-LORENZO *et al*, 2017; MARÍN *et al*, 2017).

5.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma técnica que vem sendo empregada para caracterizar o tamanho e morfologia das nanopartículas.

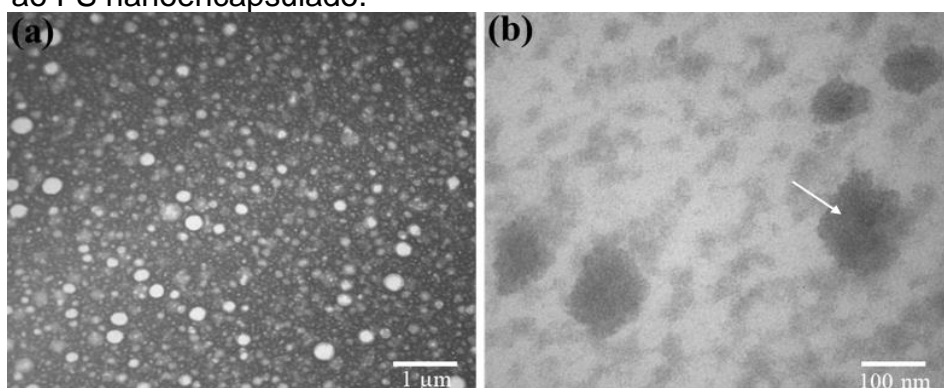
As fotomicrografias obtidas por MET das amostras de CLN e CLN-FS são mostradas na Figura 7 (a) e (b). Os sistemas nanoestruturados apresentaram estruturas predominantemente esféricas, com bordas bem delimitadas. Morfologias semelhantes as desse estudo foram observadas na produção de CLN de outros pesquisadores (EL-SHERIDY *et al*, 2019; JAIN *et al*, 2010). O tamanho das partículas variou entre 30 a 300 nm. Além disso, a adição do Pluronic® F127 para prevenir a aglomeração das nanopartículas, aumentou a estabilidade, corroboram com os dados obtidos do DLS.

Houve aumento do tamanho das CLN com a incorporação do FS na formulação quando comparando as que não tinham FS. Também foi possível observar um contraste escuro do CLN com a incorporação do ativo. Isso ocorre pela presença dos metais presentes no FS e devido a sua hidrofobicidade que gera cristais imperfeitos da matriz lipídica (Figura 7b).

Os resultados encontrados, mostraram-se semelhantes aos do trabalho realizado por Mo *et al*, (2018), no qual analisaram e verificaram que a morfologia

das partículas dos CLN se apresentaram de forma esférica e regular, com dimensões nanométricas próximas de 150 nm. Em outro estudo, Almeida *et al*, (2018), demonstraram que as imagens das partículas de CLN com o FS, obtidas por MET, foram relativamente esféricas, de tamanho nanométrico e sem sinais evidentes de agregação. Comparando esses resultados com os obtidos nesse trabalho, é possível confirmar que os dados estão de acordo com os sistemas nanoestruturados preparados.

Figura 7 – Fotomicroscopia dos sistemas nanoestruturados, (a) CLN e (b) CLN-FS, aumento 50.000x e 370.000x, respectivamente. a seta indica um contraste escuro do CLN provavelmente referente ao FS nanoencapsulado.



Fonte: Dados da pesquisa (2020).

5.2.3 Eficiência de Encapsulação (EE%)

A eficiência de encapsulação (EE%) é uma medida usada para caracterização de nanopartículas e está relacionada com a capacidade que o sistema possui em reter ou não o composto ativo encapsulado. Esse parâmetro é dependente da composição das nanopartículas e pode ser influenciada por variações na viscosidade da fase contínua e a solubilidade do composto ativo na fase lipídica (DAS *et al*, 2011; MITRI *et al*, 2011; MÜLLER *et al*, 2007).

Através da EE% foi possível verificar a porcentagem do FS que ficou inserido no CLN. O valor obtido foi de 75,57% ± 0,58 (Tabela 3) é considerado alto (ALMEIDA *et al*, 2018; OSHIRO JUNIOR *et al*, 2020) e reflete que grande parte do FS está incorporado nas nanopartículas, o que evita agregações.

Tabela 3 – Resultado da eficiência de encapsulação (EE%) do CLN.

Formulação	EE%
CLN-FS	75,57% ± 0,58

Valor expresso em média e desvio padrão (n=3).

Esse resultado pode ser explicado devido as próprias vantagens encontradas em CLN. Devido a presença de cristais imperfeitos, ocasionados pelo existência do lipídio líquido, espaço para acomodar moléculas de fármaco são formados gerando uma melhor capacidade de eficiência de encapsulamento e consequentemente redução no tempo de expulsão do ativo (SHARMA; BALDI, 2018). O resultado da EE% foi corroborado com os dados obtidos por Almeida *et al* (2018), onde a eficiência de encapsulação máxima para CLN-FS foi de 85%. Comparando esse valor com outros sistema nanoestruturados desenvolvidos com FS, observou-se que a eficiência de encapsulação do CLN foi maior do que quando encapsulado em lipossomas, este com EE% máxima de 45% (FADEEL *et al*, 2018).

Um dos pré-requisito para obtenção de uma alta capacidade encapsulação é alta solubilidade do ativo no lipídio fundido (MÜLLER *et al*, 2002b). Além disso, estudos de revisão realizados por Bunjes (2011), mostraram que a capacidade de incorporação também depende das propriedades físico-químicas do fármaco, bem como da composição da matriz lipídica do estado cristalino.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Foi possível produzir carreadores lipídicos nanoestruturados de tamanho nanométrico, morfologia esférica e bordas delimitadas;
2. A caracterização físico-química revelou valores de potencial zeta negativos característico dos grupamentos predominantes nos excipientes utilizados no desenvolvimento do CLN;
3. Os resultados de IPD indicam que o sistema possui baixa polidispersão;
4. A EE do CLN-FS indicou alta porcentagem de encapsulação de um ativo lipossolúvel.

Perspectivas futuras:

- Realizar estudos para avaliação da atividade e determinação do potencial *in vitro* contra a culturas planctônicas e biofilmes de *C. albicans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, Udit *et al.* Improved oral bioavailability of bioactives through lipid based nanoarchitectures. In. GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. **Surface Chemistry of Nanobiomaterials**. Elsevier, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-42861-3.00014-5>. Acesso em: 05 ago 2020.

ALMEIDA Ellen Denise Prado *et al.* Preparation and characterization of chloroaluminum phthalocyanine-loaded solid lipid nanoparticles by thermal analysis and powder X-ray diffraction techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 108, n. 1, pp. 191–196, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1868-z>. Acesso em: 10 ago 2020.

ALMEIDA, Ellen Denise Prado *et al.* Skin permeation, biocompatibility and antitumor effect of chloroaluminum phthalocyanine associated to oleic acid in lipid nanoparticles. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 24, pp. 262–273, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.10.002>. Acesso em: 10 ago 2020.

ALMEIDA, Ellen Denise Prado. **Desenvolvimento de partículas lipídicas contendo alumínio-cloro ftalocianina para aplicação na terapia fotodinâmica do câncer de pele**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. Disponível em: <https://ri.ufs.br/handle/riufs/3933>. Acesso em: 05 ago 2020.

ALVAREZ-LORENZO, Carmen.; GARCÍA-GONZÁLEZ, Carlos; CONCEIRO, Angel. Cyclodextrins as versatile building blocks for regenerative medicine. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 268, pp. 269–281, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.10.038>. Acesso em: 10 ago 2020.

ANTUNES, Ana Filipa Valente. **Sistemas nanoparticulados aplicados à dermocosmética**. 2016. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa. Disponível em: <http://recil.grupolusofona.pt/handle/10437/6832>. Acesso em: 05 ago 2020.

AULTON, Michael E.; TAYLOR, Kevin M. G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

BAETKE, Sarah C.; LAMMERS, Twan; KIESSLING, Fabian. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of câncer. **British Institute of Radiology**, v. 88 (1054): 20150207, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1259/bjr.20150207>. Acesso em: 05 ago 2020.

BAYAT, Fahimeh, KARIMI, Ali Reza; ADIMI, Tara. Design of nanostructure chitosan hydrogels for carrying zincphthalocyanine as a photosensitizer and difloxacin as an antibacterial agente. **International Journal of Biological**

Macromolecules, v. 159, pp. 598–606, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.086>. Acesso em: 05 ago 2020.

BELOQUI, Ana. *et al.* Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, Amsterdam, v. 12, n. 1, pp. 143–161, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.09.004>. Acesso em: 10 ago 2020.

BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 235, pp. 337–351, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>. Acesso em: 10 ago 2020.

BROOKS, Geo F. *et al.* **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 26ª edição. Porto Alegre: Editora AMGH, 2014.

BUNJES, Heike. Structural properties of solid lipid based colloidal drug delivery systems. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 16, n. 5, pp. 405–411, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.06.007>. Acesso em: 10 ago 2020.

CALIXTO, Giovana Maria Fioramonti *et al.* Nanotechnology-based drug delivery systems for photodynamic therapy of cancer: A review. **Molecules**, New York, v. 21, n. 3, pp. 1–18, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21030342>. Acesso em: 10 ago 2020.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.59.2016.tde-25042016-150744>. Acesso em: 05 ago 2020.

CARBONE, C. *et al.* Dual-drugs delivery in solid lipid nanoparticles for the treatment of *Candida albicans* mycosis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 186, p. 1–7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110705>. Acesso em: 10 ago 2020.

CHABRIER-ROSELLO, Yeissa *et al.* Sensitivity of *Candida albicans* Germ Tubes and Biofilms to Phototoxicity. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 49, n. 10, pp. 4288–4295, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.49.10.4288-4295.2005>. Acesso em: 10 ago 2020.

CHU, Benjamin.; LIU, Tianbo. Characterization of nanoparticles by scattering techniques. **Journal of Nanoparticle Research**, Netherlands, v. 2, n. 1, p. 29–41,

2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1010001822699>. Acesso em: 10 ago 2020.

CIEPLIK, F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, pp. 1–17, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00405>. Acesso em: 05 ago 2020.

COSTA, Bruna Palmeira. **Síntese, caracterização e efeito inibitório da solução de nanopartículas de quitosana na aderência e no biofilme maduro de *Streptococcus mutans***. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/8864>. Acesso em: 05 ago 2020.

DA COSTA JÚNIOR, Antônio Eufrázio. **Nano-híbridos baseados em complexos de ftalocianina derivados do cardanol, óxido de grafeno e magnetita**. 2017. 93 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/26422>. Acesso em: 05 ago 2020.

DA SILVA, Renato Cavalcante. **Avaliação da eficiência fotodinâmica de fotossensibilizadores com aplicação em terapia fotodinâmica**. 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.75.2007.tde-27032008-092302>. Acesso em: 05 ago 2020.

DABAS, Parveen Surain. An approach to etiology, diagnosis and management of different types of candidiasis. **Journal of Yeast and Fungal Research**, v. 4, 63–74, 2013. Disponível em: https://academicjournals.org/article/article1380027192_Dabas.pdf. Acesso em: 10 ago 2020.

DANAEI, M. *et al.* Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, Lodon, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>. Acesso em: 10 ago 2020.

DAS NEVES, José.; SARMENTO, Bruno. Precise engineering of dapivirine-loaded nanoparticles for the development of anti-HIV vaginal microbicides. **Acta Biomaterialia**, Amsterdam, v. 18, n. February, p. 77–87, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2015.02.007>. Acesso em: 10 ago 2020.

DAS, S. *et al.* Formulation design, preparation and physicochemical characterizations of solid lipid nanoparticles containing a hydrophobic drug: Effects of process variables. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 88, n. 1, p. 483–489, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.07.036>. Acesso em: 10 ago 2020.

DAS, Surajit.; NG, Wai Kiong; TAN, Reginald B. H. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): Development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? **European Journal of Pharmaceutical Sciences, Haslemere**, v. 47, n. 1, p. 139–151, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.05.010>. Acesso em: 10 ago 2020.

DE ALBUQUERQUE, Itajaí Oliveira. **Citotoxicidade in vitro da terapia fotodinâmica com alumínio-cloro-ftalocianina lipossomal em melanoma murino (B16F10)**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/3564>. Acesso em: 05 ago 2020.

DE PAULA, Carina Silva *et al.* Chloroaluminium phthalocyanine polymeric nanoparticles as photosensitisers: Photophysical and physicochemical characterisation, release and phototoxicity in vitro. **European Journal of Pharmaceutical Sciences, Haslemere**, v. 49, n. 3, p. 371–381, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.011>. Acesso em: 10 ago 2020.

DE SOUZA, Regina Maia. **Utilização da nanoemulsão lipídica no tratamento experimental da leishmaniose cutânea**. 2019 129 f. Tese. (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.5.2019.tde-23082019-145227>. Acesso em: 05 ago 2020.

DIAS I. J. *et al.* Antifungal activity of linalool in cases of Candida spp. isolated from individuals with oral candidiasis. **Braz. J. Biol**, v. 78, n. 2, pp. 368-374, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.171054>. Acesso em: 05 ago 2020.

DIMOPOULOS, G. *et al.* Candidemia in immunocompromised and immunocompetent critically ill patients: A prospective comparative study. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 26, pp. 377–384, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0316-2>. Acesso em: 10 ago 2020.

DIOGO, Patrícia. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy against endodontic Enterococcus faecalis and *Candida albicans* mono and mixed biofilms in the presence of photosensitizers: A comparative study with classical endodontic irrigants. **Frontiers in Microbiology**, Dordrecht, v. 8, n. MAR, p. 1–11, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00498>. Acesso em: 10 ago 2020.

EBABHI, Abosede M.; ADEKUNLE, Adedotun A.; OGHENERHABOKE, Yoma I. *In-vitro* Control of Oral Thrush Causal Organisms Using Medicinal Plants Extracts. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 11, n. 3, pp. 376-382, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.15835/nsb11310443>. Acesso em: 05 ago 2020.

EL-SHERIDY, Nabila A. *et al.* Itraconazole lipid nanocapsules gel for dermatological applications: In vitro characteristics and treatment of induced cutaneous candidiasis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 181, n. March, p. 623–631, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.05.057>. Acesso em: 10 ago 2020.

FADEEL, Doaa Abdel *et al.* Improved photodynamic efficacy of thiophenyl sulfonated zinc phthalocyanine loaded in lipid nano-carriers for hepatocellular carcinoma cancer cells. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 23, pp. 25–31, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.06.003>. Acesso em: 10 ago 2020.

FADEL, Maha; KASSAB, Kawser; FADEEL, Doa Abdel. Zinc phthalocyanine-loaded PLGA biodegradable nanoparticles for photodynamic therapy in tumor-bearing mice. **Lasers in Medical Science**, Berlin, v. 25, n. 2, pp. 283–292, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-009-0740-x>. Acesso em: 05 ago 2020.

FARIA, Paulo Esteves Pinto *et al.* Effects of Photodynamic Process (PDP) in Implant Osseointegration: A Histologic and Histometric Study in Dogs. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v 17, pp. 879–890, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cid.12204>. Acesso em: 10 ago 2020.

FERREIRA, Gabriela Lacet Silva *et al.* Does scientific evidence for the use of natural products in the treatment of oral candidiasis exist? A systematic review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, pp. 1-8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/147804>. Acesso em: 10 ago 2020.

FRANZ-MONTAN, Michelle *et al.* Nanostructured systems for transbuccal drug delivery. In: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai; ANDRONESCU, Ecaterina. **Nanostructures for Oral Medicine**. Elsevier, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47720-8.00005-5>. Acesso em: 05 ago 2020.

GANESAN, Poovi; NARAYANASAMY, Damodharan. Lipid nanoparticles: Different preparation techniques, characterization, hurdles, and strategies for the production of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for oral drug delivery. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, Amsterdam, v. 6, n. July, p. 37–56, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2017.07.002>. Acesso em: 10 ago 2020.

GARCÊS, A. *et al.* Formulations based on solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for cutaneous use: A review. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 112, n. November 2017, p. 159–167, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.11.023>. Acesso em: 10 ago 2020.

GARCIA, Angelica M. *et al.* Photophysical behaviour and photodynamic activity of zinc phthalocyanines associated to liposomes. **Photochemical and**

Photobiological Sciences, London, v. 10, n. 4, p. 507–514, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c0pp00289e>. Acesso em: 10 ago 2020.

GARG, A.; SINGH, S. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 280–288, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.05.030> Acesso em: 10 ago 2020.

GIANSANTE, Stella. *et al.* Derivados porfirínicos ativos em terapia fotodinâmica. *In: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica*, pp. 2026-2028, Uberlândia, 2014 Anais [...]. Uberlândia. Disponível em: https://www.canal6.com.br/cbeb/2014/artigos/cbeb2014_submission_595.pdf Acesso em: 05 ago 2020.

GOTO, P. L.; SIQUEIRA-MOURA, M. P.; TEDESCO, A. C. Application of aluminum chloride phthalocyanine-loaded solid lipid nanoparticles for photodynamic inactivation of melanoma cells. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 518, n. 1–2, p. 228–241, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.004>. Acesso em: 10 ago 2020.

GOTO, Patrícia Leme. **Nanopartículas lipídicas sólidas e vesículas catiônicas contendo ftalocianina de cloro alumínio aplicadas nos processos fotodinâmicos**. 2016. 143 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.60.2016.tde-23052016-103136>. Acesso em: 05 ago 2020.

GUPTA, Madhu Gupta; VYAS, Suresh P. Development, characterization and in vivo assessment of effective lipidic nanoparticles for dermal delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis. **Chemistry and Physics of Lipids**, Amsterdam, v. 165, n. 4, p. 454–461, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2011.05.072>. Acesso em: 10 ago 2020.

HOJO, K *et al.* Critical Review in Oral Biology & Medicine: Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development. **Journal of Dental Research**, v. 88, pp. 982–990, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034509346811>. Acesso em: 10 ago 2020.

HSIEH, Yi-Hsuan *et al.* Sequential photodynamic therapy with phthalocyanine encapsulated chitosan-tripolyphosphate nanoparticles and flucytosine treatment against candida tropicalis. **Pharmaceutics**, London, v. 11, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11010016>. Acesso em: 10 ago 2020.

INOUE, Thamiris Yumi. **Carreadores lipídicos nanoestruturados contendo dihidrochalcona isolada de *Piper aduncum*: desenvolvimento e avaliação da atividade antitumoral in vitro**. 2015. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí. Disponível em: <http://siaibib01.univali.br/pdf/Thamiris%20Yumi%20Inoue.pdf>. Acesso em: 05 ago 2020.

JABRA-RIZK, Mary Ann; FALKLER, William A.; MEILLER, Timothy F. Fungal Biofilms and Drug Resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, pp. 14–19, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1001.030119>. Acesso em: 10 ago 2020.

JAIN, Safal *et al.* Design and development of solid lipid nanoparticles for topical delivery of an anti-fungal agent. **Drug Delivery**, London, v. 17, n. 6, p. 443–451, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10717544.2010.483252>. Acesso em: 10 ago 2020.

JANSOOK, Phatsawee; FÜLÖP, Zoltán; RITTHIDEJ, Garnpimol C. Amphotericin B loaded solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carrier (NLCs): physicochemical and solid-solution state characterizations. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 45, n. 4, p. 560–567, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1569023>. Acesso em: 10 ago 2020.

KAUTZKA, Zofia *et al.* Light-triggered liposomal cargo delivery platform incorporating photosensitizers and gold nanoparticles for enhanced singlet oxygen generation and increased cytotoxicity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, pp. 969–977, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S126553>. Acesso em: 12 ago 2020.

KÖKSOYA, Baybars; DURMUŞ, Mahmut; BULUT, Mustafa. Potential photosensitizer candidates for PDT including 7-oxy-3-thiomethylphenyl coumarinophthalocyanines. **Inorganica Chimica Acta**, v. 498 pp. 119137, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.119137>. Acesso em: 05 ago 2020.

KOTAL, Moumita; BHOWMICK, Anil K. Polymer nanocomposites from modified clays: Recent advances and challenges. **Progress in Polymer Science**, Tokyo, v. 51, p. 127–187, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.10.001>. Acesso em: 10 ago 2020.

KOVALCHUK, Nina *et al.* Formation of stable clusters in colloidal suspensions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 147–148, n. C, p. 144–154, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.11.001>. Acesso em: 10 ago 2020.

KUMAR, Sacheen; RANDHAWA, Jaspreet Kaur. Preparation and characterization of Paliperidone loaded solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 102, p. 562–568, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.08.052>. Acesso em: 10 ago 2020.

LEROY, Olivier *et al.* Systemic antifungal therapy for proven or suspected invasive candidiasis: the AmarCAND 2 study. **Ann. Intensive Care**, v. 6, pp. 1–11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13613-015-0103-7>. Acesso em: 10 ago 2020.

- LIMA, Adriel M. *et al.* Hypericin encapsulated in solid lipid nanoparticles: Phototoxicity and photodynamic efficiency. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, New York, v. 125, p. 146–154, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.05.010>. Acesso em: 10 ago 2020.
- LING, Janet Tan Sui; BILLA, Nashiru; ROBERTS, Clive J. Mucoadhesive chitosan-coated nanostructured lipid carriers for oral delivery of amphotericin B. **Pharmaceutical Development and Technology**, New York, v. 24, n. 4, p. 504–512, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1515225>. Acesso em: 10 ago 2020.
- LONGO, João Paulo Figueiró; LOZZI, Silene Paulino; AZEVEDO, Ricardo Bentes. Câncer bucal e a terapia fotodinâmica como modalidade terapêutica. **RGO - Rev Gaúcha Odontol**, Porto Alegre, v. 59, suplemento 0, pp. 51-57, 2011.
- MACEDO, Ana S. *et al.* Novel and revisited approaches in nanoparticle systems for buccal drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 320, pp.125–141, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.006>. Acesso em: 05 ago 2020.
- MANAIA, Eloísa Berbel *et al.* Physicochemical characterization of drug Nanocarriers. *International Journal of Nanomedicine*, Vol. 12, pp. 4991–5011, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S133832>. Acesso em: 05 ago 2020.
- MARÍN, R. R. Retamal; BABICK, F.; HILLEMANN, L. Zeta potential measurements for non-spherical colloidal particles – Practical issues of characterisation of interfacial properties of nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 532, p. 516–521, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.010>. Acesso em: 10 ago 2020.
- MARTINS, Carlos Henrique Gomes *et al.* Candida/Candida biofilms. First description of dual-species *Candida albicans*/C. rugosa biofilm. **Fungal Biology**. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.013>. Acesso em: 05 ago 2020.
- MENDES, A. I. *et al.* Miconazole-loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for local delivery to the oral mucosa: Improving antifungal activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, pp. 755–763, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.05.041>. Acesso em: 05 ago 2020.
- MEEROVICH, Igor; NICHOLS, Michael G.; DASH, Alekha K. Low-intensity light-induced paclitaxel release from lipid-based nano-delivery systems. **Journal of Drug Targeting**, New York, v. 27, pp. 1-41, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1061186X.2019.1571066>. Acesso em: 14 ago 2020
- MITRI, Khalil *et al.* Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: Preparation, characterization, stability and performance. **International Journal of**

Pharmaceutics, Amsterdam, v. 414, n. 1–2, p. 267–275, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.008>. Acesso em: 10 ago 2020.

MOAZENI, Maryam *et al.* Time to overcome fluconazole resistant *Candida* isolates: Solid lipid nanoparticles as a novel antifungal drug delivery system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 142, pp. 400–407, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.colsurfb.2016.03.013>. Acesso em: 14 ago 2020.

MO, Zhenjie *et al.* Nanostructured lipid carriers-based thermosensitive eye drops for enhanced, sustained delivery of dexamethasone. **Nanomedicine**, Philadelphia, v. 13, n. 11, p. 1239–1253, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0318>. Acesso em: 10 ago 2020.

MORESCHI *et al.* ATIVIDADE FOTODINÂMICA DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS FRENTE *Candida albicans*. In: 54º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Olinda, 2018 Anais [...]. Olinda. Disponível em: <http://www.adaltech.com.br/anais/medtrop2018/resumos/PDF-eposter-trab-aceito-1979-1.pdf>. Acesso em: 05 ago 2020.

MÜLLER, R. H. *et al.* Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, New York, v. 59, n. 6, p. 522–530, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.012>. Acesso em: 10 ago 2020.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 242, n. 1–2, p. 121–128, 2002b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00180-1](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00180-1). Acesso em: 10 ago 2020.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, New York, v. 54, n. SUPPL., p. 131–155, 2002a. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00118-7). Acesso em: 10 ago 2020.

NOGUEIRA, Daiana Kotra Deda. **Derivados porfirínicos nanoencapsulados como fotossensibilizadores em terapia fotodinâmica**. 2011. 195 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.46.2011.tde-06122011-161715>. Acesso em: 05 ago 2020.

OSHIRO JUNIOR, J. A. *et al.* Phthalocyanine-loaded nanostructured lipid carriers functionalized with folic acid for photodynamic therapy. **Materials Science and Engineering C**, Washington, v. 108, p. 110462, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110462>. Acesso em: 10 ago 2020.

PATRA, J. K. *et al.* Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, Madison, v. 16, n. 1, p. 1–33,

2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>. Acesso em: 10 ago 2020.

PEREIRA, Lucas de Castro. **Candidíase oral: apresentações clínicas diversas e casos clínicos**. 2017. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/25008>. Acesso em: 05 ago 2020.

RAJABI, Mehdi; MOUSA, Shaker A. Lipid Nanoparticles and their App. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, vol. 17, n. 8, pp. 662-672, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1389201017666160415155457>. Acesso em: 05 ago 2020.

RAMOS, Matheus Aparecido dos Santos *et al.* Liquid crystal precursor mucoadhesive system as a strategy to improve the prophylactic action of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland against infection by *Candida krusei*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, pp. 7455–7466, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S92638>. Acesso em: 10 ago 2020.

RENÇBER, Seda *et al.* Development, characterization, and in vivo assessment of mucoadhesive nanoparticles containing fluconazole for the local treatment of oral candidiasis. **International Journal of Nanomedicine**, Madison, v. 11, p. 2641–2653, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/ijn.s103762>. Acesso em: 10 ago 2020.

RODRIGUES, Gabriela Braga *et al.* Photodynamic inactivation of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* with aluminum phthalocyanine chloride nanoemulsion. **Fungal Biology**, Somerset, n. xxxx, p. 4–10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.08.004>. Acesso em: 14 ago 2020.

ROSSETTI, Fábila Cristina *et al.* Analysis of liquid crystalline nanoparticles by small angle X-ray diffraction: Evaluation of drug and pharmaceutical additives influence on the internal structure. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 7, pp. 2849–2857, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jps.22522>. Acesso em: 10 ago 2020.

SANTANA, Diorgenes Pinto *et al.* Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.12, n.2, pp. 229-233, 2013. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/2788/695d313541c7d0f7d585459a238347ef7fc1.pdf>. Acesso em: 10 ago 2020.

SANTOS, Karen Loraine Macena *et al.* Prospective application of phthalocyanines in the photodynamic therapy against microorganisms and tumor cells: A mini-review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 32, 102032, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102032> Acesso em: 20 dez 2020.

SARDI, J. C. O *et al.* *Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **J. Med.**

Microbiol, v. 62, pp. 10–24, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0>. Acesso em: 10 ago 2020.

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>. Acesso em: 10 ago 2020.

SAWANT, Bhakti; KHAN, Tabassum. Recent advances in delivery of antifungal agents for therapeutic management of candidiasis. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, Paris, v. 96, pp. 1478–1490, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.127>. Acesso em: 10 ago 2020.

SHARMA, Amit; BALDI, Ashish. Nanostructured Lipid Carriers : A Review. **Journal of Developing Drugs**, Los Angeles, v. 7, n. 2, p. 12, 2018. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access/nanostructured-lipid-carriers-a-review.pdf>. Acesso em: 10 ago 2020.

SIGMA-ALDRICH. Ficha de informações de segurança de produtos químicos. 2013. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=444529&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=pt®ion=BR&focus=product>. Acesso em: 05 ago 2020.

SIMÕES, Ricardo Jorge; FONSECA, Patrícia; FIGUEIRAL, Maria Helena. Infecções por *Candida* spp na Cavidade. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 12, n. 1, pp. 19-22, 2013. Disponível em: <http://revodontobvsalud.org/pdf/occ/v12n1/a04v12n1.pdf>. Acesso em: 05 ago 2020.

SOUTO, E. B.; MÜLLER, R. H. SLN and NLC for topical delivery of ketoconazole. **Journal of Microencapsulation**, London, v. 22, n. 5, p. 501–510, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02652040500162436>. Acesso em: 10 ago 2020.

SWAMY, P. Chinna Ayya *et al.* Near Infrared (NIR) absorbing dyes as promising photosensitizer for photo dynamic therapy. **Coordination Chemistry Reviews** 411 213233, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213233>. Acesso em: 05 ago 2020.

TIAN, Jia *et al.* Recent advances of multi-dimensional porphyrin-based functional materials in photodynamic therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 420, pp. 213410-213429, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213410>. Acesso em: 05 ago 2020.

TIAN, Jiangwei *et al.* A multifunctional nanomicelle for real-time targeted imaging and precise near-infrared cancer therapy. **Angew. Chemie**, v. 53, pp. 9544–9549, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/anie.201405490>. Acesso em: 10 ago 2020.

TRIGO-GUTIERREZ, Jeffersson Krishan *et al.* Effect of Chloroaluminium phthalocyanine in cationic nanoemulsion on photoinactivation of multispecies biofilm. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 24, p. 212–219, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.10.005>. Acesso em: 10 ago 2020.

VAGHASIYA, Harshad; KUMAR, Abhinesh; SAWANT, Krutika. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 2, p. 311–322, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.013>. Acesso em: 10 ago 2020.

VAN DER PLAS, Rosana. **Candidíase oral: Manifestações clínicas e Tratamento**. 2016, 61 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) - Universidade Fernando Pessoa. Disponível em: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5783/1/PPG_26039.pdf. Acesso em: 10 ago 2020.

VAN DER WAL, Jaqueline E. Oropharyngeal Candidiasis. In: van Krieken, J. **Encyclopedia of Pathology. Encyclopedia of Pathology**. Springer, Cham, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/978-3-319-28845-1>. Acesso em: 05 ago 2020.

ZHEN, Z. *et al.* Ferritin nanocages to encapsulate and deliver photosensitizers for efficient photodynamic therapy against cancer. **ACS Nano**, Washington, vol. 7, n. 8, pp. 6988–6996, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/nn402199g>. Acesso em: 05 ago 2020.

ZHOU, Li *et al.* Preparation, characterization, and evaluation of amphotericin B-loaded MPEG-PCL-g-PEI micelles for local treatment of oral *Candida albicans*. **International Journal of Nanomedicine**, Madison, v. 12, p. 4269–4283, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S124264>. Acesso em: 10 ago 2020.