

DESENVOLVIMENTO DE CRISTAIS LÍQUIDOS UTILIZANDO DERIVADOS DA FOSFATIDILCOLINA, ÁCIDO OLEICO E ÓLEO DE GIRASSOL VISANDO A VEICULAÇÃO TÓPICA DE FOTOSSENSIBILIZANTE

Welton Felipe Nogueira Menezes¹,

Antonio Lucas Lima da Silva¹,

Jessica Roberta Pereira Martins²,

Vivianne Cortez Sombra Vandesmet³,

Raquel Petrilli Eloy¹

Resumo: Segundo os dados do INCA, dentre todas as neoplasias malignas, o câncer de pele não melanoma é a quinta mais frequente em todo o mundo e a mais frequente no Brasil, representando mais de 30% de todos os diagnósticos de câncer do país. A média de idade de pacientes acometidos é por volta de 40 anos, entretanto, essa faixa vem diminuindo devido à grande exposição ao sol por parte dos jovens. O tratamento para o câncer de pele é principalmente através de cirurgia, objetivando remover o tumor parcial ou completamente, resultando em cicatrização ou perda da função tecidual. Uma alternativa menos invasiva que vem sendo estudada na atualidade para tratamento de carcinoma basocelular (CBC) e carcinoma espinocelular (CEC) é a veiculação de fármacos através da pele utilizando nanopartículas. O desenvolvimento de sistemas nanocarreadores é uma alternativa bastante promissora e vantajosa. Dentre os diferentes sistemas de liberação disponíveis, os cristais líquidos e suas nanodispersões possuem destaque para a veiculação de fármacos devido a possibilidade de encapsular moléculas fotossensibilizantes, além do aspecto inovador e biocompatível destas formulações. Alguns componentes são já comumente utilizados na literatura, tais como os derivados da fosfatidilcolina, porém é de grande interesse obter formulações inéditas com potencial científico e tecnológico. A escolha dos componentes das formulações deve ser bastante criteriosa e considerar diversos aspectos da formulação e da incorporação do fármaco ao sistema. O objetivo geral do estudo foi desenvolver, caracterizar e avaliar cristais líquidos e suas nanodispersões com formulações inovadoras. Para isso foram utilizados diagramas ternários compostos por Phosal 53 MCT, ácido oleico, óleo de girassol, tampão PBS e poloxamer para avaliar o efeito da composição das formulações na formação de cristais líquidos. As formulações obtidas foram caracterizadas macroscopicamente e microscopicamente sob luz polarizada para visualização da anisotropia. As formulações que mostraram a birrefringência da luz foram nanodispersas e direcionadas as avaliações mais específicas como: tamanho de partícula, potencial zeta, condutividade e índice de polidispersividade (PdI). No protocolo executado com óleo de girassol os valores do tamanho de partícula variaram entre $92.87 \pm 1.70\text{nm}$ e $274.33 \pm 2.95\text{nm}$, os valores de PdI foram de 0.139 ± 0.016 a 0.311 ± 0.014 , e por fim o potencial zeta, que se apresentou com valores negativos de $-21.9 \pm 0.493\text{ mV}$ a $-35.7 \pm 1.365\text{ mV}$, entretanto, as amostras de ácido oleico demonstraram valores diferentes, no caso, $150,6 \pm 6,67$ a $361,26 \pm 10,93\text{nm}$, PdI de $0,278 \pm 0,049$ a $0,549 \pm 0,022$ e potencial zeta negativo de $-14,2 \pm 0,451$ a $-37,8 \pm 0,611\text{ mV}$. A porcentagem de encapsulação medida atingiu um percentual acima de 50% em ambas as formulações, mais especificamente, $58,89\% \pm 0,044$ na formulação B e $55,47\% \pm 0,093$ na formulação C.

Palavras-chaves: cristais líquidos, nanodispersões, câncer de pele, fosfatidilcolina.

¹Instituto de Ciências da Saúde, UNILAB- Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, R. José Franco de Oliveira, 62790-970, Redenção, CE, Brasil

²Departamento de Engenharia Química, UFC - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Avenida Mister Hull, s/n - Pici, 60455-760, Fortaleza, CE, Brasil

³Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Rua Pastor Samuel Munguba, 1210, 60430-380, Fortaleza, CE, Brasil.

1. Introdução

A expansão da indústria farmacêutica e o aumento do número de produtos disponíveis no mercado que são fabricados utilizando sistemas nanocarreadores, vêm colaborando com a crescente conscientização pública sobre os benefícios destes produtos para a saúde. Esses produtos são encontrados principalmente na área de produtos cosméticos, alimentícios, nutricionais, nutracêuticos e farmacêuticos. Os sistemas de encapsulamento à base de lipídios estão entre as tecnologias mais promissoras empregadas na distribuição de medicamentos e na liberação controlada de compostos bioativos (Danaei et al. 2018).

Os cristais líquidos fazem parte destes nanocarreadores, sendo considerado um estado especial ou intermediário da matéria que associa as propriedades dos estados líquido e sólido. Os cristais líquidos possuem a ordem cristalina dos sólidos e as características de fluxo dos líquidos, se comportando como materiais macios, funcionais, dinâmicos e auto-organizados, que possuem ordem e mobilidade nos níveis molecular, supramolecular e macroscópico (Formariz et al., 2005; Da Rocha Filho et al., 2016). Por esta razão, os cristais líquidos são chamados de fases intermediárias ou mesofases ou considerados como quarto estado da matéria. Estes podem contribuir para o aumento da biodisponibilidade, assim como a solubilidade de fármacos através da pele, devido a sua composição e sua capacidade de desarranjar o estrato córneo e alcançar as camadas mais profundas da pele (Teeranachaideekul et al., 2023).

Os sistemas nanoestruturados utilizando cristais líquidos possuem diferentes arquiteturas e podem ser formados usando surfactantes e/ou lipídios auto-organizados em meio aquoso como uma emulsão óleo em água (o/a). Os cristais líquidos estão atraindo a atenção de muitos pesquisadores devido às suas microestruturas e propriedades físico-químicas únicas (Teeranachaideekul et al., 2023). Cristais líquidos são sistemas

facilmente detectados por microscopia sob luz polarizada devido à sua propriedade de birrefringência (Da Rocha Filho et al., 2016). A formação de um sistema com cristais líquidos pode depender de vários fatores, como a composição e a temperatura. A alteração dos tipos e concentrações dos surfactantes pode ser outro fator que afeta os cristais líquidos (Teeranachaideekul et al., 2023).

O gradual aumento na incidência do câncer de pele não melanoma no Brasil e no mundo, associado à inclusão de pessoas cada vez mais jovens nos registros de diagnóstico de carcinoma basocelular, principalmente, e de carcinoma espinocelular, aponta para um cenário epidemiológico onde as opções terapêuticas ainda são escassas ou, muitas vezes, incapazes de promover a remissão total do câncer, ou ainda, que demandam acesso à investimentos técnicos e operacionais onerosos ou a consecução de tratamentos com efeitos colaterais indesejáveis (Brasil, 2022; Wild, Weiderpass, Stewart, 2020).

Nesse contexto, o método mais utilizado atualmente para o tratamento de câncer de pele não melanoma, é a excisão cirúrgica, que consiste na retirada total ou parcial do tumor, podendo resultar em cicatrizes e perda de função do tecido (Petrilli, 2018). Quando a cirurgia não pode ser feita, ou algumas vezes de forma preliminar ou adicional à esta, são acionadas outras formas de tratamento como a radioterapia, quimioterapia, imunoterapia e crioterapia (Petrilli, 2018; Amaral et al., 2022). Entretanto, estes tratamentos podem vir acompanhados de efeitos adversos e reações severamente incômodas, que afetam a qualidade de vida dos pacientes e até mesmo sua adesão à terapia (Kameo, 2008).

Uma alternativa à quimioterapia sistêmica, que possui pouca seletividade quanto ao alvo terapêutico, seria o desenvolvimento de sistemas carreadores para a aplicação de terapias tópicas visando o tratamento de carcinomas basocelulares e

espinocelulares, com capacidade de penetração até as camadas afetadas. Neste contexto os cristais líquidos se mostram como uma alternativa promissora, tendo em vista que possuem composição anfifílicas capazes de encapsular fármacos lipossolúveis e susceptíveis a degradação, assim como, controlar sua liberação a fim de garantir sua efetividade e consequentemente diminuindo a toxicidade devido a sua aplicação localizada (Vallamkondu, et al., 2018; Silva et al., 2021).

O planejamento da composição que será utilizada na formulação exige a avaliação de muitos aspectos como: a ausência de toxicidade, de irritabilidade e potencial de solubilização do fármaco que será incorporado ao sistema. Estes componentes devem ser capazes de formar as estruturas de cristais líquidos, sendo representados principalmente pelos tensoativos e os lipídeos (Formariz et al., 2005; Moraes; Oliveira; Da Rocha Filho, 2014; Moraes et al., 2018).

O óleo de girassol é amplamente utilizado em emulsões cosméticas como sabonetes, cremes, hidratantes e produtos de limpeza de pele devido à presença de polifenóis e seu alto teor de vitamina E, que é muito importante em produtos cosméticos devido às suas propriedades antioxidantes. O óleo de girassol contém vários tipos de ácidos graxos: saturados (lauril, mirístico; palmítico e esteárico), monoinsaturados (ácido oleico) e poliinsaturados (ácido linoléico, n-6 e α -linolênico) (Pedersen, 2000 apud Da Rocha Filho et al., 2016).

O ácido oleico, ácido graxo monoinsaturado, é o componente majoritário presente no óleo de oliva e no óleo de canola, podendo chegar até cerca de 70% de toda a massa dos lipídeos extraídos da oliva, se fazendo presente em grande parte dos alimentos que nós consumimos. O ácido oleico pode ser extraído induzindo a hidrólise de gorduras animais e óleos vegetais, sendo insumo bastante utilizado na indústria cosmética em sabões, sabonetes e cremes, agregando propriedades emolientes e

lubrificantes. Outros aspectos interessantes que são válidos destacar é que o mesmo possui alta viscosidade, ausência de toxicidade, baixa volatilidade e biodegradabilidade (NICOLAU, 2009).

A terapia fotodinâmica também é uma alternativa bastante associada ao tratamento do câncer de pele, devido esta técnica promover a criação de agentes citotóxicos por meio da interação dinâmica entre um fármaco fotossensibilizante estimulado através da luz em comprimentos de onda específicos. Consequentemente, esse estímulo acarretará a geração de espécies reativas de oxigênio que irão promover a destruição tumoral por diversos mecanismos biológicos (Longo, Lozzi e Azevedo, 2011). A cloro-alumínio ftalocianina (AlClPc) é um fármaco com ação fotossensibilizante de segunda geração com aplicação na terapia fotodinâmica que se caracteriza como altamente hidrofóbico e propensão a auto-agregação em meio aquoso, o que pode prejudicar diretamente sua capacidade terapêutica. Buscando a obtenção de condições mais favoráveis para incorporação da AlClPc ao sistema carreador devem ser determinadas as melhores quantidades dos componentes das formulações a serem estudadas (Jayme, 2018).

2. Materiais

Os materiais utilizados neste estudo foram dimetil sulfóxido - DMSO, da marca ACS reagente - CAS 67-68-5, Phosal 53(MCT) da marca Lipoid, poloxamer P407, ácido oleico obtido da Synth e óleo de girassol comercial da marca Soya.

3. Métodos

3.1 Quantificação de AlClPc

A quantificação de AlClPc foi realizada seguindo estudos prévios (Siqueira-

Moura et al., 2013) e estudos em andamento do grupo. Curvas analíticas foram preparadas em DMSO na faixa de 0,25 a 3 µg/mL para quantificação por espectrofotometria usando $\lambda_{\text{abs}} = 674 \text{ nm}$, seguindo as especificações da RDC 166/2017 (Brasil, 2017). Para a avaliação da linearidade, foram produzidas três séries de soluções padrões de AlClPc (0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 µg/mL) preparadas por diluição da solução estoque em DMSO. A precisão intra-ensaio e a exatidão foram determinadas pela análise de replicatas de diferentes concentrações, preparadas e analisadas no mesmo dia. A precisão intra-ensaio (repetibilidade) e a exatidão (E) intra-ensaio foram avaliadas pela medida da absorvância de 3 diferentes concentrações (0,5; 2; 6 µg/mL), n=6, avaliadas no mesmo dia sob as mesmas condições experimentais. Os resultados de precisão foram calculados usando o coeficiente de variação (CV) obtido pela razão entre o desvio padrão e a média (Equação I). A E foi obtida levando-se em consideração a diferença entre a concentração obtida experimentalmente (C_{medida}) e a concentração teórica (C_{esperada}) (Equação II) (Figura 1). A precisão inter-ensaio (precisão intermediária) e a E inter-ensaio foram calculadas usando os resultados de absorvância de 5 concentrações em 3 dias consecutivos (n=6 para cada concentração por dia de análise).

Figura 1. Representação das equações I e II utilizadas.

$$CV (\%) = \frac{\text{Desvio padrão}}{\text{Média}} \times 100 \quad \text{Equação I}$$

$$E = \frac{C_{\text{medida}} - C_{\text{esperada}}}{C_{\text{esperada}}} \times 100 \quad \text{Equação II}$$

O limite de detecção (LOD) foi determinado com o auxílio da Equação III (Figura 2):

Figura 2. Representação da equação III.

$$LOD = DP_a \times \frac{3}{S} \quad \text{Equação III}$$

Na qual DP_a representa o desvio padrão do intercepto com o eixo y de, 3 curvas de calibração construídas contendo diferentes concentrações do fármaco (faixa de 0,25 a 3 µg/mL). S é a inclinação da curva de calibração. O limite de quantificação (LOQ) foi considerado a menor concentração obtida com precisão e exatidão adequadas de acordo às diretrizes da ANVISA.

3.2 Estudo de composição de formulação utilizando diagrama de fases ternário

A composição dos cristais líquidos foi estudada de acordo com estudos prévios, entretanto, efetuando modificações, visando a obtenção de formulações inovadoras (Herai et al., 2007; Praca et al., 2012; Petrilli et al., 2013a; Moraes; Oliveira; Da Rocha-Filho, 2014; Petrilli et al., 2016a; Moraes et al., 2018). Para isso, foram utilizados fase oleosa, contendo Phosal 53 MCT e ácido oleico (AO) ou óleo de girassol (OG) e fase aquosa contendo tensoativo hidrofílico como vértices de um diagrama ternário com excesso de fase aquosa (Figura 3) (Ilhan- Aysigi et al., 2021). As composições detalhadas estão descritas na Tabela 1. Na fase de manipulação, é realizado a pesagem da fase oleosa, aquecida por 10 minutos em banho térmico a 75° C para que seja homogeneizado os lipídeos, submetido a um vórtex por 1 minuto e em seguida é adicionada a fase aquosa e aguardado por 24 horas em repouso e ao abrigo da luz para que sejam formadas as fases-liquidocristalinas.

Figura 3. Diagrama ternário com as formulações selecionadas utilizando óleo de girassol e ácido oleico respectivamente.

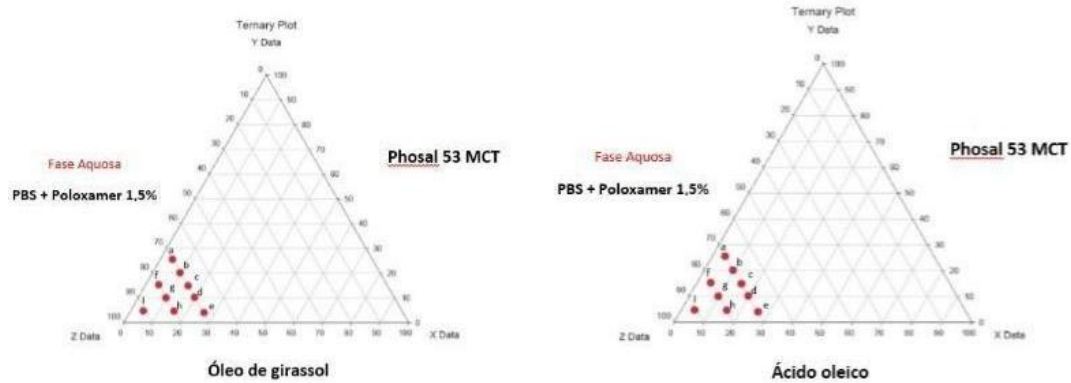


Tabela 1. Concentrações definidas para formulações de cristais líquidos.

Diagrama de Fases			
Formulações	Fase Aquosa	Fase Oleosa	
	PBS + Poloxamer 1,5%	LIPÍDEO (AO/OG)	Phosal 53 MCT
A	70% (2,1g)	5% (0,15g)	25% (0,75g)
B	70% (2,1g)	10% (0,30g)	20% (0,60g)
C	70% (2,1g)	15% (0,45g)	15% (0,45g)
D	70% (2,1g)	20% (0,60g)	10% (0,30g)
E	70% (2,1g)	25% (0,75g)	5% (0,15g)
F	80% (2,4g)	5% (0,15g)	15% (0,45g)
G	80% (2,4g)	10% (0,30g)	10% (0,30g)
H	80% (2,4g)	15% (0,45g)	5% (0,15g)
I	90% (2,7g)	5% (0,15g)	5% (0,15g)

3.3 Caracterização dos sistemas obtidos

3.3.1 Avaliação macroscópica

A análise macroscópica foi realizada em temperatura ambiente controlada (25°C) 24 horas após a preparação, visando caracterizar as formulações e identificar floculação, formação de gel ou separação de fase.

3.3.2 Microscopia de luz polarizada

A anisotropia que indica a presença das diferentes fases líquido-cristalinas foi

analisada por microscópio óptico contendo um filtro polarizador, juntamente com uma câmera digital acoplada para capturar as imagens. As amostras foram preparadas utilizando uma lâmina de vidro com uma gota da formulação a ser analisada e recoberta com uma lamínula. Todas as formulações foram avaliadas em microscópio de luz polarizada lente com aumento de 10x/visando a identificação de fases líquido cristalinas anisotrópicas (Praça et al., 2012; Petrilli et al., 2013b, 2016b).

3.3.3 Obtenção de nanodispersões de cristais líquidos

As nanodispersões de cristais líquidos foram obtidas através de sonicação em ultrassom de haste, marca QSonica 500 W, 20 kHz, por 3 min e amplitude de 20%, baseado em estudos prévios (Petrilli et al., 2013b, 2016b).

3.3.4 Tamanho de partícula, PDI, Potencial zeta e Condutividade

O tamanho de partícula, polidispersividade (PDI) e o potencial zeta das nanodispersões de cristais líquido selecionadas foram avaliados usando-se a técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS) em um aparelho Zetasizer NS 90 (Malvern Instruments) usando-se laser 10-mW HeNe operando em 633 nm com um ângulo de incidência de 90° e temperatura a 25°C. As análises foram realizadas no modo automático, com amostras diluídas 10 vezes em água e os resultados (n=3) expressos em média $\pm$ desvio padrão (SD).

3.3.5 Incorporação de AlClPc em cristais líquidos bulk-phase

A incorporação de AlClPc foi realizada nas formulações selecionadas, que apresentaram estruturas semelhantes a cristais líquidos de fase hexagonal ou lamelar, estáveis por 30 dias macroscopicamente e por microscopia de luz polarizada e que ao

serem dispersos por ultrassom de haste foram capazes de gerar nanopartículas com tamanho de partícula adequado à veiculação tópica (120 a 377 nm) (Verma et al., 2003) e com baixa polidispersividade, no caso, $PdI < 0,3$ (Danaei et al., 2018). O fotossensibilizante foi incorporado à fase oleosa dos cristais líquidos no momento do preparo (1mg AlClPc). As formulações foram então caracterizadas por todas as técnicas descritas neste artigo: avaliação macroscópica, avaliação por microscopia de luz polarizada, estabilidade preliminar, condutividade, tamanho de partícula e potencial zeta. Por fim, foi avaliada a porcentagem de encapsulação de AlClPc.

3.3.6 Determinação da porcentagem de encapsulação de AlClPc

A determinação da porcentagem de encapsulação (EE%) foi feita utilizando o método proposto por Siqueira-Moura et al (2010) e Eloy et al (2016b) com modificações. O FS encapsulado foi separado do FS livre por filtração em membrana PVDF de porosidade 0,45 μm , Alíquotas do cristal líquido total (obtido previamente a separação) e o FS encapsulado (obtido após filtração) foram solubilizados em DMSO (1:1 v/v) e submetidos a agitação em vórtex por 5 min para ruptura das nanopartículas e solubilização do fármaco. As amostras foram então diluídas e filtradas em membranas com porosidade de 0,45 μm para a quantificação pelo método analítico validado. A porcentagem de FS encapsulada foi calculada de acordo com a Equação IV (Figura 4).

Figura 4 – Fórmula para determinação da eficiência de encapsulação. Fonte: Autoria própria.

$$EE \% = \frac{\text{quantidade de fotossensibilizante encapsulada } (\mu\text{g})}{\text{quantidade de fotossensibilizante no cristal líquido total } (\mu\text{g})} \times 100 \quad \text{Equação IV}$$

4. Resultados e Discussão

Os protocolos permitiram inicialmente a produção de 18 formulações onde foram utilizados dois lipídeos, 9 formulações continham ácido oleico e 9 formulações continham óleo de girassol comercial. Após obtenção das formulações foram avaliadas as características macroscópicas e em seguida a microscopia de luz polarizada para verificação da formação da anisotropia.

4.1. Análise macroscópica e microscópica das formulações

Ácido Oleico

Após vinte e quatro horas do preparo das amostras foi verificada a homogeneidade das formulações e observado se houve a formação do gel anfifílico que é indicativo de formulações com cristal líquido. Nas formulações utilizando o ácido oleico foi possível perceber a anisotropia em apenas duas das amostras, no caso, as formulações A e I, as demais amostras não demonstraram a formação de nenhuma fase líquido cristalina, apenas gotículas que são indicativos da presença de emulsão (Figura 5). Na formulação A é possível notar que as estruturas se formaram em toda a lâmina demonstrando estriações que são características semelhantes às que ocorrem em fase hexagonal. Já na formulação I foi possível observar que as estruturas formadas foram diferentes, se apresentando de formas alongadas e tubulares em formato de agulhas que se assemelham às estruturas de cristais líquidos com fase esméctica (NAGARAJ, 2020).

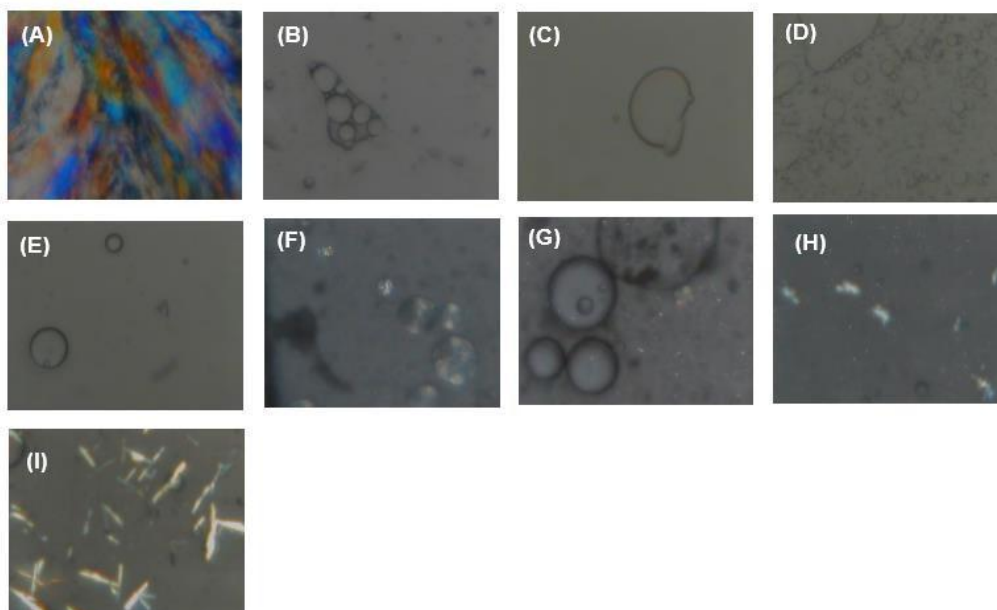


Figura 5 – Imagens obtidas na microscopia de luz polarizada das amostras contendo ácido oleico demonstrando características de cristais líquidos em fase hexagonal na formulação A, estruturas semelhantes a fase esméctica na formulação I e gotículas de emulsão nas demais formulações B, C, D, F, G e H. Fonte: Autoria própria.

Óleo de girassol

Os resultados obtidos com os protocolos utilizando o óleo de girassol demonstraram anisotropia. As amostras A, C, E, G, H e I apresentaram cruzeiros de malta de diferentes tamanhos e também gotículas indicando a presença de emulsão. As amostras B, D e F além das cruzeiros de malta apresentaram estruturas características de fases líquido cristalinas termotrópicas, no caso, estruturas tubulares com eixos alongados apontando para uma direção semelhante e específica que indicam a presença de fase nemática e estruturas cônicas com as bordas dobradas em forma de leque disposto em camadas que se assemelham a fase esméctica (Figura 6) (Nagaraj, 2020; Liarte et al., 2015).

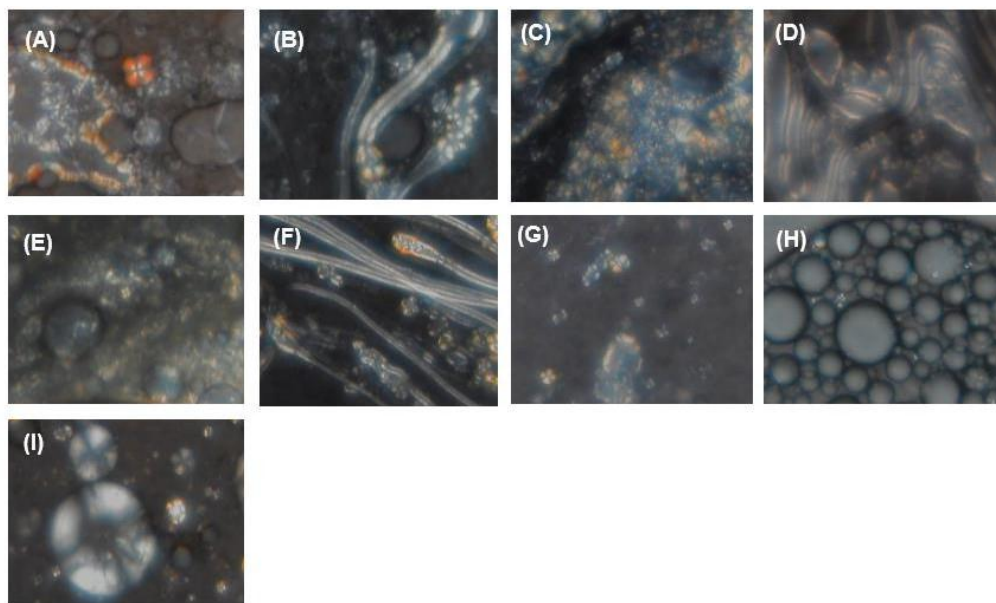


Figura 6 – Imagens obtidas em microscopia de luz polarizada. Nas amostras A, C, E, F, G e I é possível observar estruturas conhecidas como cruzes de malta que são indicativas de fases colestéricas. Nas amostras B, D e F é possível observar estruturas alongadas e tubulares que são características de fases nemáticas. Formulação H apresentou gotículas de emulsão. Fonte: Autoria própria.

4.2 Obtenção de nanodispersões dos cristais líquidos

Após a verificação da anisotropia na microscopia de luz polarizada foi feita a sonicação e obtidas as nanodispersões. Uma das formulações ficou bastante viscosa (Figura 7), que foi a A do protocolo com óleo de girassol, impossibilitando as análises posteriores no ZetaSizer, entretanto, foi verificado se após a nanodispersão, as estruturas visualizadas eram mantidas e o resultado para formulação A com óleo de girassol foi uma formulação mais viscosa e homogênea.

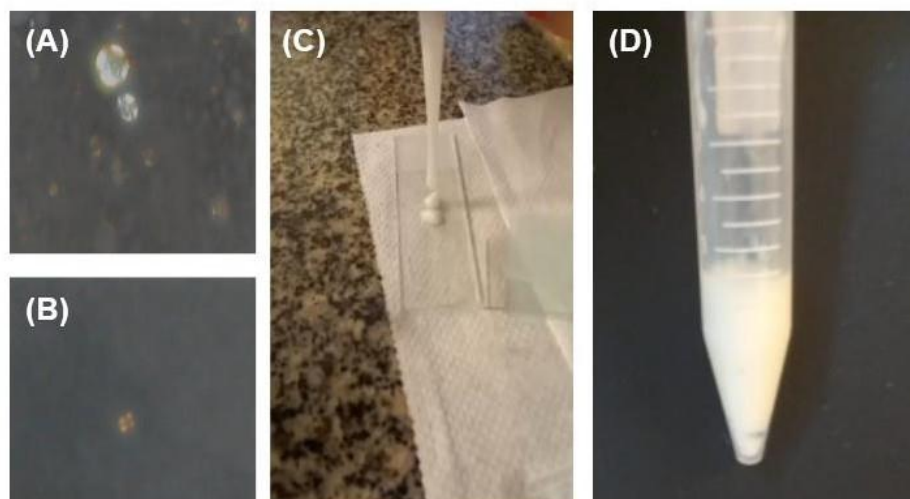


Figura 7 – (A e B) Imagens obtidas em microscopia de luz polarizada mostrando cruzeiros de malta após a nanodispersão da amostra. (C e D) Imagens macroscópicas da formulação apresentando aspecto viscoso e com aparência cremosa. Fonte: Autoria própria.

4.3 Análise do tamanho de partícula, Pdl, potencial zeta e condutividade

Os mecanismos envolvidos nas aplicações de liberação tópica e transdérmica de fármacos dependem da formulação dos nanocarreadores, em particular, fatores como composição química, carga superficial, número de lamelas e tamanho de partícula devem ser cuidadosamente considerados. Os primeiros estudos sobre o uso potencial de vesículas lipídicas em aplicações tópicas para a pele foram relatados na década de 1980. As vesículas fosfolipídicas provaram ser úteis no tratamento de doenças de pele, como psoríase e câncer de pele (Danaei et al., 2018). Através da utilização de formas de dosagem transdérmica, os compostos bioativos podem ser direcionados para o local da infecção ou doença e os efeitos colaterais podem ser reduzidos ao mínimo pela prevenção da absorção sistêmica da droga (Sadat E Haddadi, 2016). Foram selecionadas apenas as formulações que apresentaram anisotropia para que fossem caracterizadas e assim obtidos parâmetros importantes da formulação como tamanho de partícula, Pdl, Potencial Zeta e condutividade.

Tabela 2 – Resultados obtidos das formulações utilizando o ácido oleico como lipídeo.

ANÁLISE ZETASIZER E PDI – Ácido Oleico				
Formulações	Tamanho(nm)	PdI	Zeta(mV)	Condutividade(mS/cm)
A	361,26 ± 10,93	0,549 ± 0,022	-37,8±0,611	0,138±0
I	150,6 ± 6,67	0,278 ± 0,049	-14,2 ± 0,451	0,428 ± 0,007

As amostras utilizando ácido oleico que apresentaram anisotropia apresentaram resultados bem diferentes, onde, a formulação A apresentou tamanho de partícula, PdI e potencial zeta bem maiores que a formulação I, entretanto a visualização da anisotropia foi vista em toda a superfície da lâmina na formulação A, que não foi visto com tanta intensidade na formulação I (Tabela 2).

Tabela 3 – Resultados obtidos das formulações que utilizam o óleo de girassol como lipídio.

ANÁLISE ZETASIZER E PDI – Óleo de Girassol				
Formulações	Tamanho(nm)	PdI	Zeta(mV)	Condutividade(mS/cm)
B	164,066 ±1,37	0,153±0,011	-23,3±0,473	0,134±0
C	248,7±2	0,28±0,01	-23,9±0,231	0,102±0,0005
D	274,33±2,95	0,311±0,014	-21,9±0,493	0,104±0,0005
E	121,13±0,50	0,202±0,011	-29,3±0,586	0,278±0
F	121,73±4,64	0,226±0,021	-35,7±1,365	0,183±0
G	206,03±9,91	0,304±0,043	-35,1±0,6	0,188±0
H	108,64±15,45	0,193±0,014	-22,2±0,153	0,293±0,001
I	92,87±1,70	0,139±0,016	-30,1±1,609	0,368±0,003

As amostras contendo óleo de girassol apresentaram tamanhos de partícula inferior a 300 nm, com baixa polidispersividade e carga superficial negativa (Tabela 3). Os valores do tamanho de partícula variaram entre 92.87 ± 1.70nm e 274.33 ± 2.95nm, os valores de PdI foram de 0.139 ± 0.016 a 0.311± 0.014, e por fim o potencial zeta, que se apresentou com valores negativos de -21.9 ± 0.493 mV a -35.7 ± 1.365 mV.

Segundo Danaei et al., 2018, o tamanho da partícula é um atributo muito crítico dos nanocarreadores lipídicos, que afeta a estabilidade, a eficiência do encapsulamento,

o perfil de liberação do fármaco, a biodistribuição, a mucoadesão e a absorção celular. A absorção ou internalização celular é um dos critérios físico-químicos mais importantes a serem considerados antes das aplicações *in vivo*. A captação de pequenas moléculas e partículas por qualquer célula depende principalmente da endocitose entre todos os outros mecanismos. A endocitose é o processo de transporte ativo de materiais para dentro da célula, englobando-os com sua bicamada fosfolipídica usando energia na forma de ATP. O tamanho de partícula e o PDI dos sistemas nanocarreadores são os principais atributos físico-químicos que influenciam a captação celular dependente de endocitose (Sadat, 2018). A caracterização das amostras foi realizada em triplicatas e os resultados expressos em gráficos (Figura 8) emitidos pelo software do equipamento Zetasizer. As demais leituras estão representadas na lista suplementar deste documento.

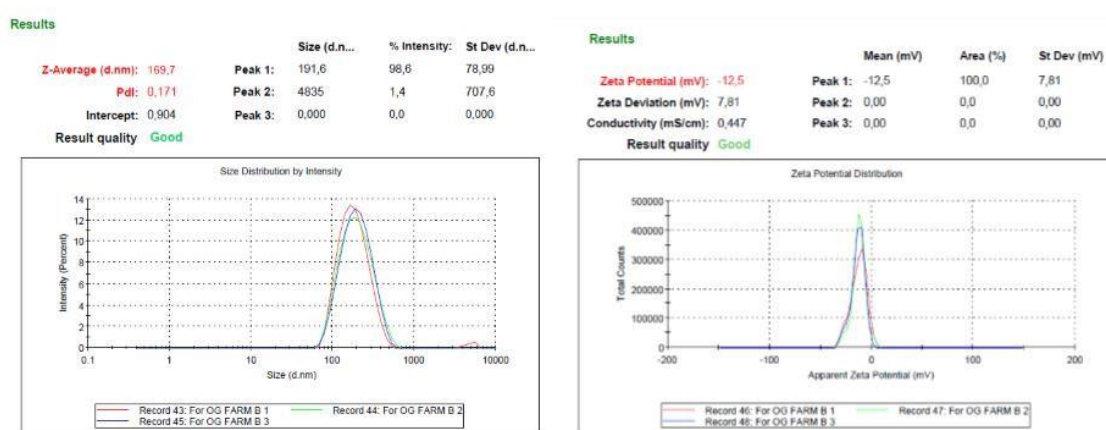


Figura 8 – Gráficos obtidos na caracterização da Amostra B pelo ZetaSizer apresentando parâmetros de tamanho de partícula, PDI, potencial zeta e condutividade. Fonte: Autoria própria.

Geralmente, vesículas com diâmetro igual ou superior a 600 nm não são capazes de transportar o material encapsulado para as camadas mais profundas da pele. Essas vesículas tendem a permanecer dentro ou sobre o estrato córneo e podem formar uma camada lipídica na pele após a secagem. As nanovesículas com um diâmetro de 300 nm ou menos são capazes de entregar seu conteúdo até certo ponto nas camadas mais

profundas da pele (Danaei et al., 2018). No entanto, nanovesículas com um diâmetro de 70 nm ou abaixo

mostraram deposição máxima de conteúdo em ambas as camadas dérmica e epidérmica viáveis. As nanopartículas abaixo de 6 a 7 nm de tamanho podem ser absorvidas pelas vias transepidérmicas lipídicas, enquanto aquelas com tamanho de partícula abaixo de 36 nm podem ser absorvidas pelos poros aquosos. Partículas na faixa de tamanho de 10 a 210 nm, no entanto, podem preferencialmente penetrar pela rota transfolicular (Bahari, 2016). Nos resultados obtidos é possível observar que várias amostras se enquadram nestes parâmetros de penetração da pele, com diâmetros abaixo de 300nm que podem adentrar até certas camadas da pele.

4.4 Incorporação do fotossensibilizante AlClPc ao sistema

As amostras com resultados mais satisfatórios foram reproduzidas novamente adicionando como fármaco modelo a cloro-alumínio ftalocianina (AlClPc). Para a seleção destas amostras foram observados os valores do tamanho de partícula, PDI, potencial zeta e condutividade, além de ser feita uma análise da microscopia de luz polarizada. A formação de emulsão também foi um critério decisivo na seleção e exclusão das amostras. As amostras selecionadas foram as formulações B, C, F e I do protocolo que utilizou o óleo de girassol como lipídio. As imagens obtidas por microscopia de luz polarizada estão apresentadas nas Figuras 9 a 12.

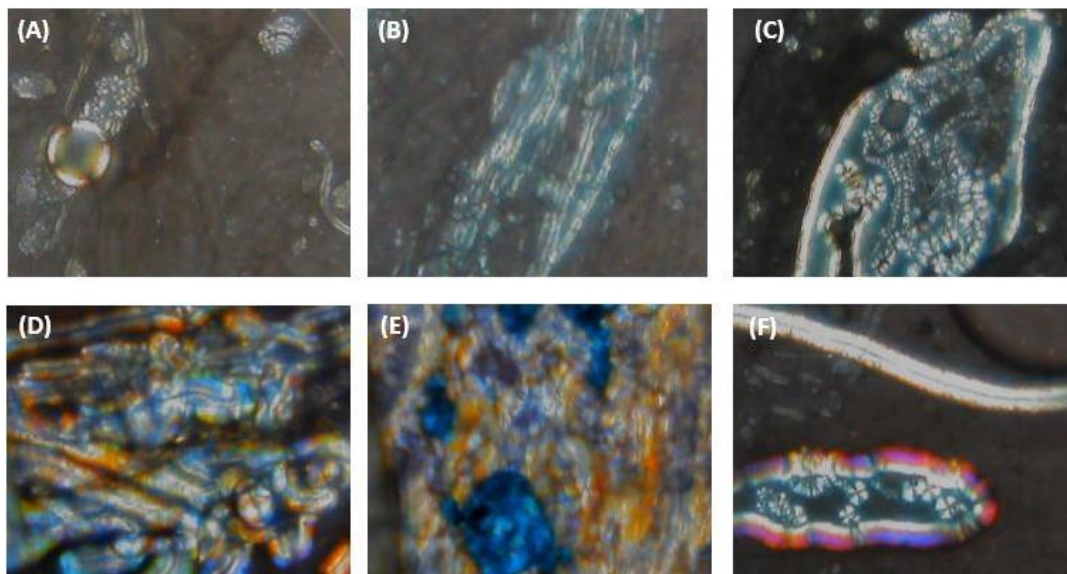


Figura 9 – A, B e C; Formulação B com óleo de girassol sem o fármaco; D, E e F; Formulação B com óleo de girassol adicionado o fármaco. Fonte: Autoria própria.

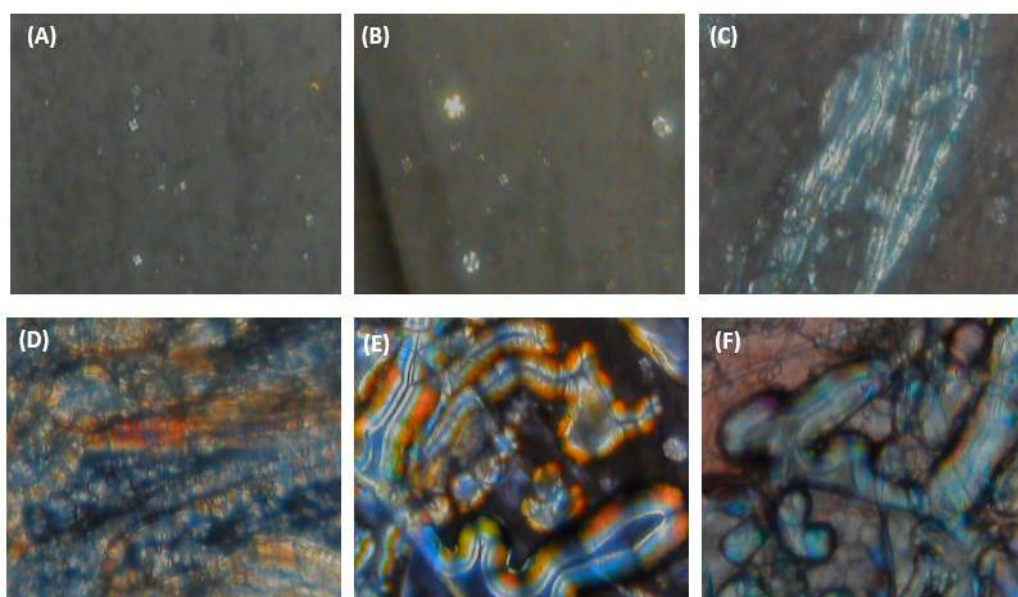


Figura 10 – A, B e C; Formulação C sem o fármaco; D, E e F; Formulação C com o fármaco. Fonte: Autoria própria.

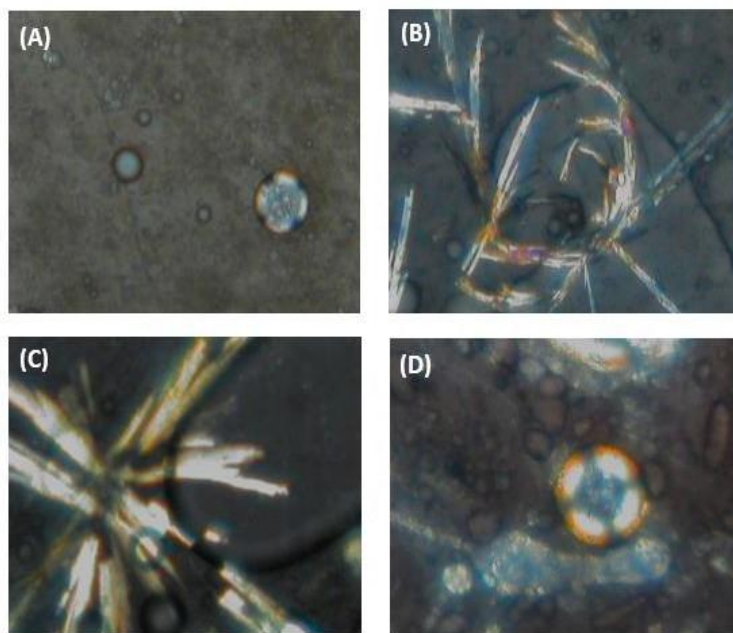


Figura 11 – A e B; Formulação F com óleo de girassol sem o fármaco; C e D; Formulação F com óleo de girassol adicionado o fármaco. Fonte: Autoria própria.

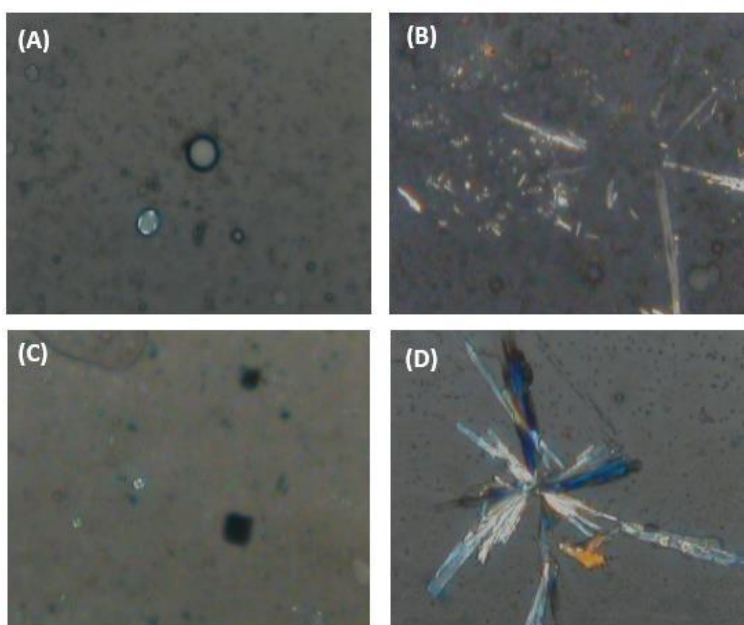


Figura 12 – A e B; Formulação I com óleo de girassol sem o fármaco; C e D; Formulação I com óleo de girassol adicionadoo fármaco. Fonte: Autoria própria.

A microscopia de luz polarizada apresentou diversas estruturas semelhantes a cristais líquidos em todas as amostras, com e sem o fármaco. As Formulações B e C produzida com o óleo de girassol foram detectadas muitas estruturas semelhantes a fases líquido-cristalinas com cruces de malta e estruturas alongadas e dobradas em forma de leque que são indicativos de fases nemáticas em todas as amostras com e sem o AlClPc.

A fase nemática tem uma estrutura simples se comparada com todas as mesofases e é caracterizada pela ordem de orientação uni-direcional das moléculas em virtude da correlação do eixo principal molecular (Donnio et al., 2007; Florence & Attwood, 2006; Patel & Patel, 2010 apud Fonseca-Santos, 2015), mas não são organizadas em camadas. Já a fase colestérica não apresenta ordem posicional de longo alcance, mas apresenta ordem orientacional, sendo semelhantes aos nemáticos, se diferenciando na ordem orientacional, em uma escala maior, variando uma conformação helicoidal (Florence & Attwood, 2006; Patel & Patel, 2010 apud Fonseca-Santos, 2015).

Na amostra utilizando o fármaco é possível observar o fotossensibilizante na cor azul dentro da estrutura do cristal líquido, indicativo da encapsulação. As Formulações F e I que utilizaram o óleo de girassol também apresentaram a formação de cruces de malta entretanto outras estruturas também em formato de agulhas e com organização direcional foram observadas, o que pode ser a formação de outra fase líquido-cristalina conhecida como esmética.

A fase esmética se caracteriza através de uma distribuição espacial com ordem superior à dos nemáticos e colestéricos. As moléculas se distribuem em camadas com um espaçamento bem definido. Apesar das camadas possuírem uma grande regularidade entre si, não há uma regularidade no posicionamento das moléculas em cada camada (Florence & Attwood, 2006; Patel & Patel, 2010 apud Fonseca-Santos, 2015).

A microscopia de luz polarizada é um indicativo da presença e do tipo de fase líquido-cristalina, porém a confirmação da fase líquido cristalina obtida deve ser feita utilizando-se difração de raios X de baixo ângulo (Petrilli et al., 2013).

Da Rocha Filho e colaboradores (2016) também obtiveram resultados satisfatórios quando formularam amostras de cristais líquidos contendo o óleo de girassol em sua composição apresentando muitas cruzes de malta, entretanto não foi percebido estruturas que apresentem características de outras fases líquido-cristalinas na amostra. Isso pode ocorrer devido a composição das amostras tendo em vista que o estudo utilizou surfactantes diferentes e água purificada como fase aquosa. Os resultados obtidos das análises de tamanho, PDI, potencial zeta e condutividade das formulações selecionadas com e sem AlClPc estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados obtidos das análises com as formulações que foram produzidas com fármacos para a comparação dos valores com os brancos.

ANÁLISE ZETASIZER – AMOSTRAS SELECIONADAS				
Formulações	Tamanho(nm)	PdI	Zeta(mV)	Condutividade(mS/cm)
B – Óleo de Girassol	161,56 ± 0,41	0,135 ±	-15,06 ± 0,20	0,298 ± 0,003
– Branco		0,006		
B – Óleo de Girassol	174,3 ± 4,107	0,154 ±	-12,73 ±	0,455 ± 0,007
com fármaco		0,014	0,585	
C - Óleo de Girassol	153 ± 3,95	0,189 ± 0,01	-16,36 ±	0,246 ± 0,002
– Branco			0,321	
C - Óleo de Girassol	146,96 ± 2,51	0,189 ±	-10,46 ±	0,413 ± 0,006
com fármaco		0,007	0,251	
F - Óleo de Girassol –	131,23 ± 1,7	0,164 ±	-11,5 ± 0,95	0,316 ± 0,002
Branco		0,014		
F - Óleo de Girassol	215,3 ± 1,9	0,282 ±	-6,7 ± 0,12	0,686 ± 0,013
com fármaco		0,006		
I - Óleo de Girassol –	92,98 ± 0,496	0,174 ± 0,01	-6,78 ± 0,471	0,822 ± 0,021
Branco				
I - Óleo de Girassol	200,06 ± 2,95	0,276 ±	-6,48 ± 0,176	0,576 ± 0,008
com fármaco		0,004		

É possível observar que ao reproduzir a formulação com o fármaco ocorreu uma diferença considerável nos parâmetros de tamanho de partícula, no PDI, potencial zeta e condutividade. Em todas as amostras foi observado o aumento do tamanho de partícula exceto na Formulação C do óleo de girassol que houve uma diminuição do tamanho de partícula quando foi adicionado o fármaco. Ao observarmos o PDI foi notório que também houve um aumento em todas as formulações, destacando novamente a formulação C com óleo de girassol que não teve alteração neste parâmetro.

Analisando os valores obtidos de potencial zeta foi possível observar que em todas as amostras houve uma diminuição do potencial zeta. Os valores de condutividade tiveram aumento em todas as formulações quando adicionado AICIPc, exceto a Formulação I com óleo de girassol que apresentou uma diminuição da condutividade. Ao observarmos os resultados obtidos é possível afirmar que obtemos achados bastante satisfatórios tendo em vista que algumas formulações apresentaram tamanho de partícula e PDI que se enquadram nos parâmetros aceitáveis de acordo a literatura, e que estes nanosistemas também demonstraram que são capazes de encapsular um fármaco fotossensibilizante.

4.5 Porcentagem de encapsulação da AICIPc

Inicialmente foi produzido uma curva analítica baseado nas leituras feitas utilizando nove concentrações diferentes (0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0 mcg/mL). A metodologia utilizada se enquadra na lei de Lambert-Beer onde a curva apresentada no ensaio intermediário mostrou linearidade com um ajuste de $R^2 = 0,9991$, que é considerada linearidade satisfatória. A equação da linha reta obtida: $y = 0,3101x + 0,0102$, encontra-se dentro do intervalo de concentração observado (Figura 13).

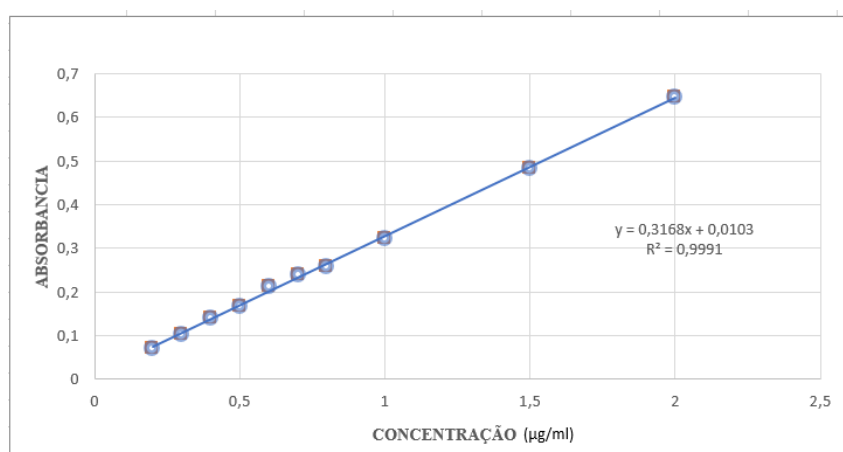


Figura 13 – Gráfico da curva realizada com AlClPc utilizando o solvente DMSO, lida por espectrofotometria na faixa de 674 nm de comprimento de onda. Fonte: Autoria própria.

Para efetuar o cálculo da eficiência de encapsulação do fotossensibilizante ao sistema foram selecionadas as formulações que apresentaram anisotropia em grande parte da superfície da lâmina e que demonstraram ausência de gotículas de emulsão na visualização microscópica. Seguindo estes parâmetros foram escolhidas as formulações B e C, tendo em vista que estas demonstraram os critérios necessários, assim como bom tamanho de partícula e baixo índice de polidispersão. A porcentagem de encapsulação é um parâmetro bastante importante de ser avaliado, tendo em vista que a incorporação do fotossensibilizante foi medida e ambas atingiram um percentual acima de 50%, mais especificamente, $58,89\% \pm 0,044$ na formulação B e $55,47\% \pm 0,093$ na formulação C.

Para Almeida, (2014), que produziu nanopartículas lipídicas para a encapsulação de AlClPc, foi possível notar que houve uma porcentagem de encapsulação superior às obtidas neste estudo, trazendo alguns fatores relevantes a serem verificados como o aumento da quantidade de fase aquosa que contribuiu para aumentar a encapsulação do fármaco, e a afinidade dos componentes utilizados neste sistema. Carollo (2011), também produziu nanodispersões de cristal líquido, entretanto foram utilizados como fotossensibilizantes a Protoporfirina IX e Cyclam-NO. As amostras que foram

adicionadas a Protoporfirina IX apresentaram porcentagem de encapsulação de $68,33 \pm 4,15\%$ e $79,67 \pm 3,16\%$, já as amostras contendo Cyclam-NO $75,11 \pm 2,29\%$ e $82,19 \pm 2,60\%$ apresentaram valores ainda mais elevados, confirmando a sua efetividade em encapsular esses fármacos.

5. Conclusão

Pode-se observar que a pesquisa demonstra resultados bastante promissores, tendo em vista que nos protocolos utilizando óleo de girassol, obteve-se a formação de cristais líquidos em todas as amostras, e nos protocolos do ácido oleico em formação nas amostras A e I, sendo que estes tratam de formulações inéditas, não mencionadas na literatura anteriormente. Estes resultados propiciaram a seleção das melhores amostras e avaliação da porcentagem de encapsulação de AlClPc nas nanodispersões líquido cristalinas. É demonstrado aqui a importância deste trabalho para a inovação dos estudos em nanotecnologia, bem como uma possível alternativa para o tratamento do câncer de pele tendo em vista que os sistemas obtidos com este estudo demonstraram parâmetros aceitáveis para a penetração cutânea. Desta forma, testes como de penetração cutânea in vitro, eficiência de encapsulação e estabilidade serão realizados para uma melhor avaliação dos sistemas obtidos.

6. Agradecimentos

Agradecimentos à FUNCAP pelo financiamento da pesquisa, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic) da Unilab, à UNILAB por possibilitar que pesquisas como esta possam ser desenvolvidas, ao CEDEFAR(UFC) e CEFAC(UFC) pela colaboração fornecida, ao Grupo de Pesquisa TECFAR e a Professora Dra. Raquel Petrilli Eloy pela oportunidade e confiança.

7. Referencias

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, 2014.

AMARAL, R. G. et al. Crioterapia no tratamento do câncer: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, 2022. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33916>

BAHARI, Leila & HAMISHEHKAR, Hamed. (2016). The Impact of Variables on Particle Size of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers; A Comparative Literature Review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 6. 143-151. 10.15171/apb.2016.021.

CAROLLO, Aline Regina Hellmann. Desenvolvimento de nanodispersões de fase líquido-cristalina para a liberação cutânea da associação de complexo nitrosilo de rutênio e protoporfirina IX na terapia fotodinâmica do câncer de pele [tese]. Ribeirão Preto: , Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto; 2011 [citado 2024-04-18]. doi:10.11606/T.60.2011.tde-22062011-124307.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

DANAEI, M. *et al.* Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 18 maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>. Acesso em: 14 fev. 2023.

Da Rocha-Filho, P.A.; Maruno, M.; Ferrari, M.; Topan, J.F. Liquid Crystal Formation from Sunflower Oil: Long Term Stability Studies. *Molecules* 2016, 21, 680. <https://doi.org/10.3390/molecules21060680>

FONSECA-SANTOS, Bruno. Sistemas precursores de cristais líquidos mucoadesivos para administração bucal de curcumina no tratamento do câncer bucal. 2015. 116 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/132591>>.

FONSECA-SANTOS, B. et al. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 4553–4562, 2016.

FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 3, p. 301–313, 2005.

HERAI, H. et al. Doxorubicin skin penetration from monoolein-containing propylene glycol formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 88–93, 2007.

HIGH, W. A., & Robinson, W. A. (2007). Genetic Mutations Involved in Melanoma: A Summary of Our Current Understanding. *Advances in Dermatology*, 23, 61–79. <https://doi.org/10.1016/j.yadr.2007.07.009>

HYDE, S. T. (2001). Identification of Lyotropic Liquid Crystalline Mesophases. In Krister Holmberg (Ed.), *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Ambiente, trabalho e câncer:** aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios, Rio de Janeiro: INCA, 2021a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/ambiente-trabalho-e-cancer-aspectos-epidemiologicos-toxicologicos-e-regulatorios>. Acesso em: 23 ago. 2023.

JAYME, C. C.; Calori, I.R, Tedesco, A.C. Spectroscopic analysis of aluminum chloride phthalocyanine in binary water/ethanol systems for the design of a new drug delivery system for photodynamic therapy cancer treatment. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 153 , p. 178-183, 2016. Acesso em: 23 ago. 2023.

JAYME, Cristiano Ceron. Estudo da utilização de filmes poliméricos a base de DNA como sistema carreador de fármacos e ativos. 2018. Tese (Doutorado em Química) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018. doi:10.11606/T.59.2018.tde-08052018-080108.

KAMEO, S., Y. et al. Reações adversas em pacientes oncológicos após tratamento radioterápico. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, 2020, p. 92-30. Disponível em: https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/9jdsh&ved=2ahUKEwjjpq_b9fOAAxXfpZUCHWmBAokQFnoECBoQAQ&usg=AOvVaw1UyioFgzXDT7xQ_lSE-gKa. Acesso em: 23 ago. 2023.

LIARTE, Danilo & Bierbaum, Matthew & Mosna, Ricardo & Kamien, Randall & Sethna, James. (2015). Weirdest Martensite: Smectic Liquid Crystal Microstructure and Weyl-Poincaré Invariance. *Physical Review Letters*. 116. 10.1103/PhysRevLett.116.147802.

LOPES, L. B. et al. Reverse Hexagonal Phase Nanodispersion of Monoolein and Oleic Acid for Topical Delivery of Peptides: in Vitro and in Vivo Skin Penetration of Cyclosporin A. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 6, p. 1332–1342, 25 jun. 2006. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11095-006-0143-7>>.

MORAES, C. et al. Development of lamellar gel phase emulsion containing baru oil (*Dipteryx alata* Vog.) as a prospective delivery system for cutaneous application. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 183–190, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.09.003>>.

MORAIS, G. G.; OLIVEIRA, W. P.; DA ROCHA-FILHO, P. A. Influence of Mixing Speed in Liquid Crystal Formation and Rheology of O/W Emulsions Containing Vegetable Oils. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 35, n. 11, p. 1551–1556, 2014.

MULET, X., Boyd, B. J., & Drummond, C. J. (2013). Advances in drug delivery and medical imaging using colloidal lyotropic liquid crystalline dispersions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 393(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.10.014>

MURGIA, S., Biffi, S., & Mezzenga, R. (2020). ScienceDirect Recent advances of non-lamellar lyotropic liquid crystalline nanoparticles in nanomedicine. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.006>

NAGARAJ M. Liquid Crystals Templating. *Crystals*. 2020; 10(8):648. <https://doi.org/10.3390/cryst10080648>

NATIONAL CANCER INSTITUTE (United States). Cancer types. **Skin câncer (including melanoma) – patient version**. [Bethesda]: NCI, 2019. Disponível em: <https://www.cancer.gov/types/skin>. Acesso em: 22 ago. 2023.

NEMES, Z.; STEINERT, P. M. Bricks and mortar of the epidermal barrier.

Experimental & molecular medicine, v. 31, n. 1, p. 5–19, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10231017>>.

PETRILLI, R. et al. Nanoparticles of Lyotropic Liquid Crystals: A Novel Strategy for the Topical Delivery of a Chlorin Derivative for Photodynamic Therapy of Skin Cancer. **Current Nanoscience**, v. 9, n. 4, p. 434–441, 2013a. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1573-4137&volume=9&issue=4&spage=434>>.

PETRILLI, R. et al. Liquid Crystalline Nanodispersions Functionalized with Cell-Penetrating Peptides for Topical Delivery of Short-Interfering RNAs: A Proposal for Silencing a Pro-Inflammatory Cytokine in Cutaneous Diseases. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 12, n. 5, p. 1063–1075, 1 maio 2016a. Disponível em: <<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1550-7033&volume=12&issue=5&spage=1063>>.

PETRILLI, R., Eloy, J. O., Saggiaro, F. P., Chesca, D. L., de Souza, M. C., Dias, M. V. S., daSilva, L. L. P., Lee, R. J., & Lopez, R. F. V. (2018). Skin cancer treatment effectiveness is improved by iontophoresis of EGFR-targeted liposomes containing 5-FU compared with subcutaneous injection. *Journal of Controlled Release*, 283(December 2017), 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.038>

QUAZI S. J., et al. Surgical Margin of Excision in Basal Cell Carcinoma: A Systematic Review of Literature. **Cureus**, 2020; 12(7): e9211.

ROBERTS, M. S. et al. Topical and cutaneous delivery using nanosystems. **Journal of Controlled Release**, v. 247, p. 86–105, 2017.

ROBERTSON, C. A.; EVANS, D. H.; ABRAHAMSE, H. Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 96, n. 1, p. 1–8, 2009.

ROSSETTI, F. C.; Nanodispersões de cristais líquidos como sistemas de liberação de fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica do câncer de pele:avaliação in vitro da permeação e retenção cutâneas. 2010

SADAT, S. , JAHAN, S. and HADDADI, A. (2016) Effects of Size and Surface Charge of Polymeric Nanoparticles on in Vitro and in Vivo Applications. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 7, 91-108. doi: 10.4236/jbnnb.2016.72011.

SCHOELLHAMMER, C.; BLANKSCHTEIN, D.; LANGER, R. Skin permeabilization for transdermal drug delivery: recent advances and future prospects. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 11, n. 3, p. 393–407, 2014. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/17425247.2014.875528>>.

SEVERYUKHINA, A. N. et al. Photosensitizer-loaded electrospun chitosan-based scaffolds for photodynamic therapy and tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 144, p. 57–64, 2016.

SILVA, V. B. et al. Terapia fotodinâmica no tratamento de lesões em câncer de pele não melanoma: revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11257>

SINGH, S. Phase transitions in liquid crystals. **Physics Reports**, v. 324, n. 3, p. 107–269, 2000.

Teeranachaideekul, V., Soontaranon, S., Sukhasem, S. et al. Influence of the emulsifier on nanostructure and clinical application of liquid crystalline emulsions. *Sci Rep* 13, 4185 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31329-w>

WILD, C. P.; WEIDERPASS, E.; STEWART, B. W. (ed.) **World cancer report: cancer research for cancer prevention**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. Disponível em: <http://publications.iarc.fr/586>. Acesso em: 22 ago. 2023.

YAGHMUR, A., & Glatter, O. (2009). Characterization and potential applications of nanostructured aqueous dispersions. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vols. 147–148, Issue C, pp. 333–342). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.07.007>

ZINK, B. S. Câncer de pele: a importância do seu diagnóstico, tratamento e prevenção. **Revista HUPE**; Rio de Janeiro; 2014; 13(Sup.1): 76-83. <https://doi.org/10.12957/rhupe.2014.12256>.

Figura 1S. Valores de Tamanho de partícula e PDI obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com ácido oleico sem fármaco.

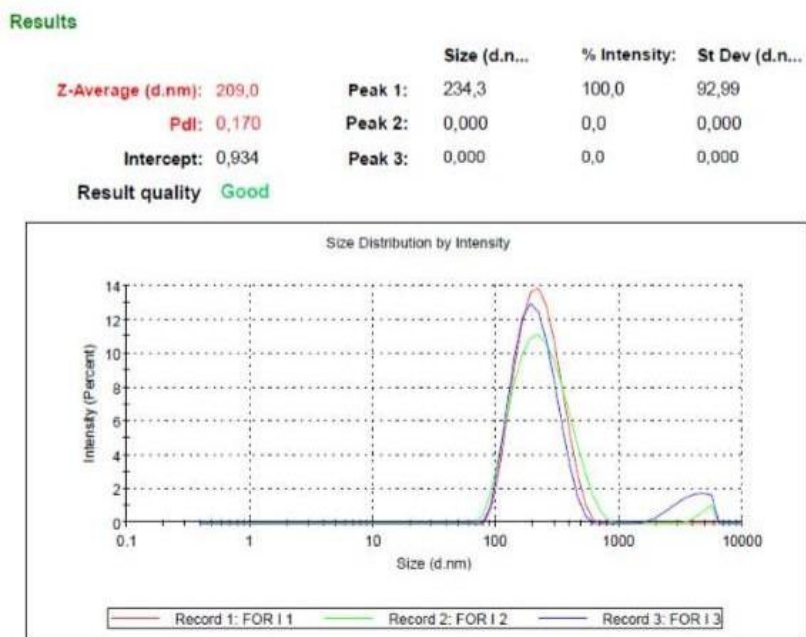


Figura 2S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com ácido oleico sem fármaco.

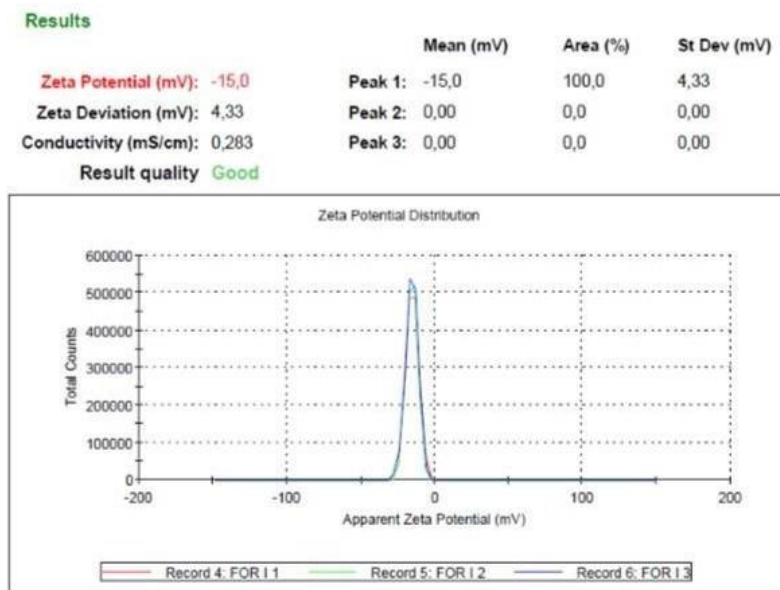


Figura 3S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com ácido oleico adicionado ALCIPc.



Figura 4S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com ácido oleico adicionado ALCIPc.

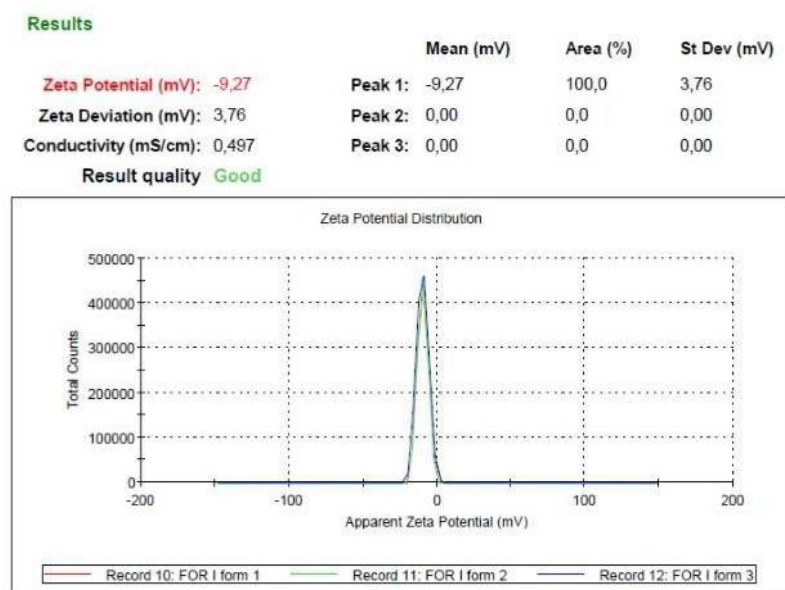


Figura 5S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação B com óleo de girassol sem fármaco.

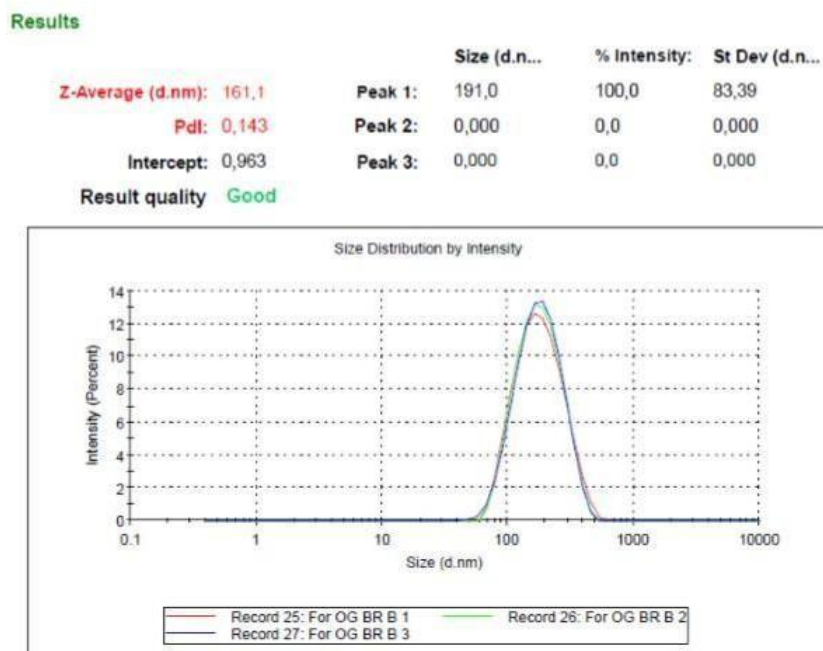


Figura 6S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação B com óleo de girassol sem fármaco.

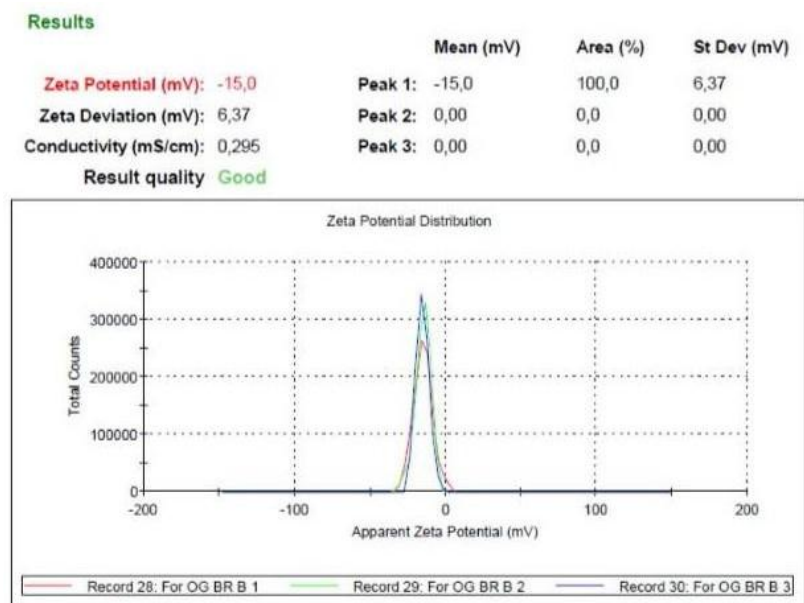


Figura 7S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação B com óleo de girassol adicionado AlClPc.

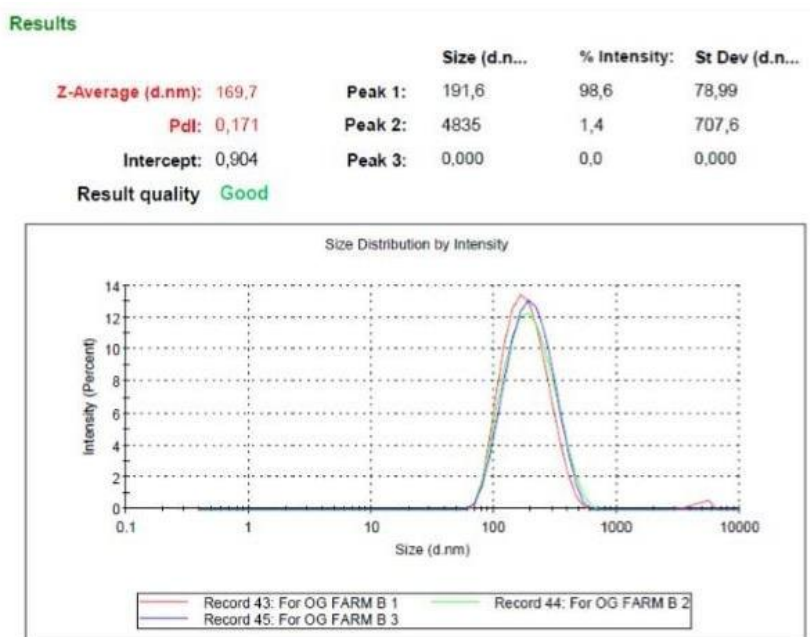


Figura 8S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação B com óleo de girassol adicionado AlClPc.

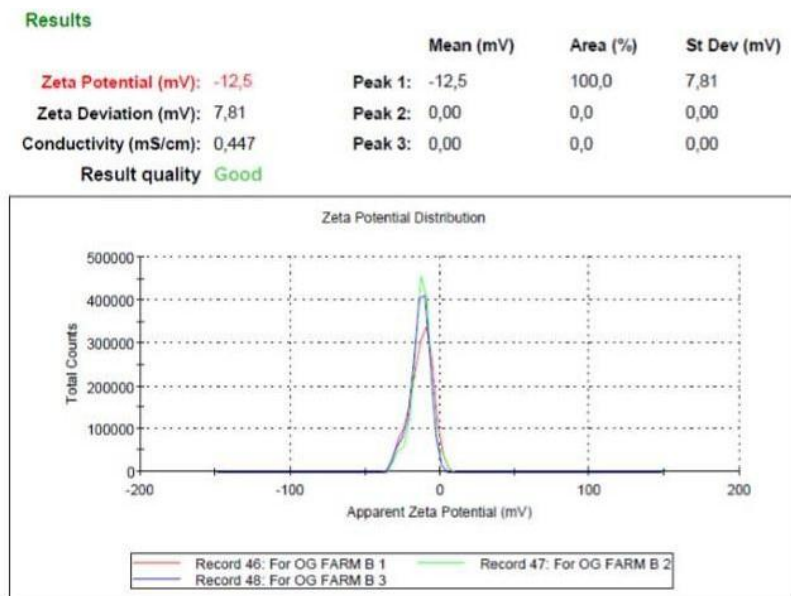


Figura 9S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação C com óleo de girassol sem fármaco.

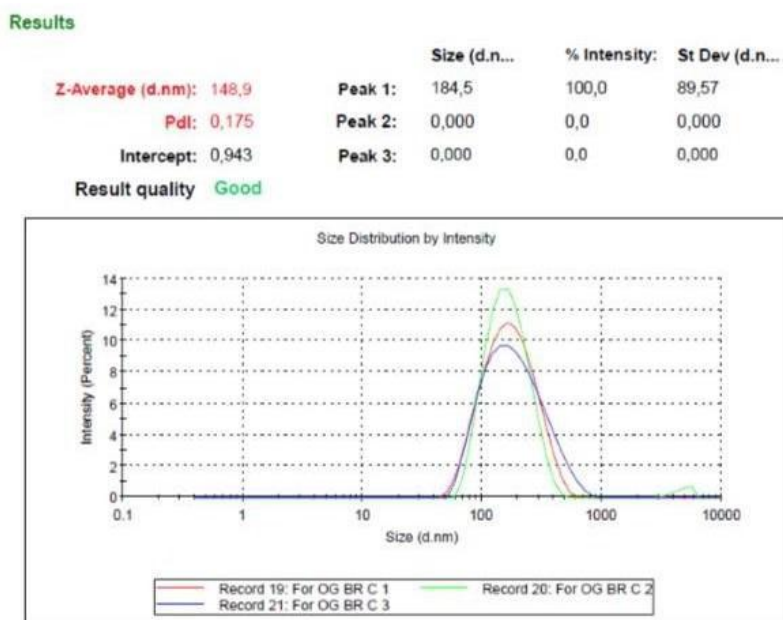


Figura 10S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação C com óleo de girassol sem fármaco.



Figura 11S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação C com óleo de girassol adicionado AIClPc.

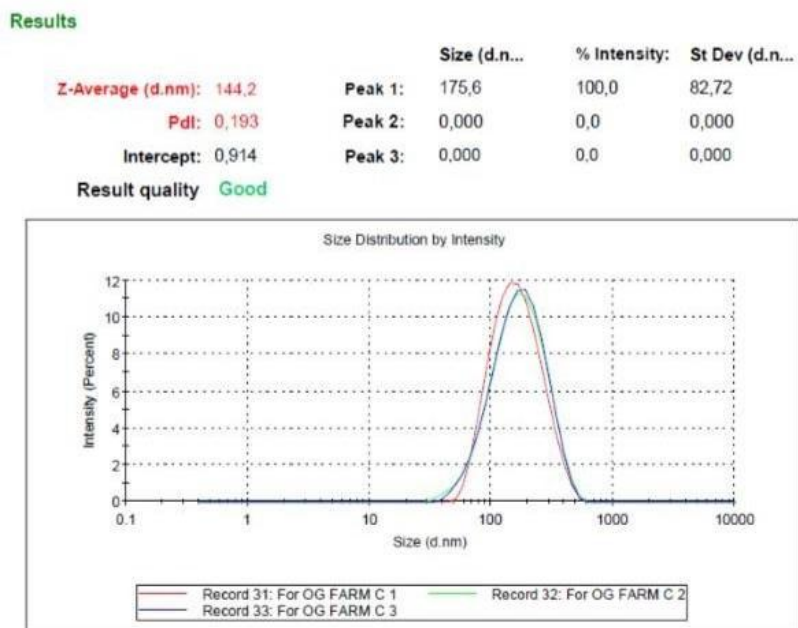


Figura 12S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação C com óleo de girassol adicionado AIClPc.

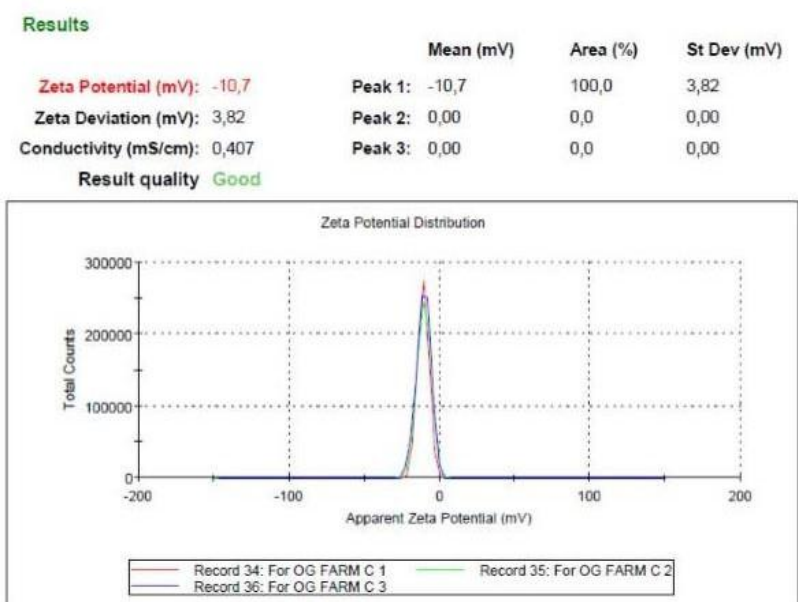


Figura 13S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol sem fármaco.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 121,6	Peak 1: 153,2	100,0	81,63
Pdl: 0,196	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,967	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Good			

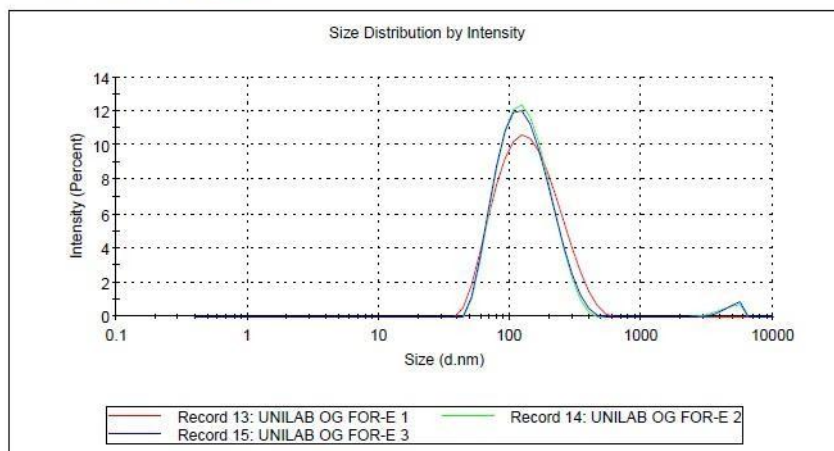


Figura 14S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol sem fármaco.

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -29,1	Peak 1: -28,9	99,2	6,18
Zeta Deviation (mV): 6,85	Peak 2: -62,4	0,8	1,56
Conductivity (mS/cm): 0,278	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			

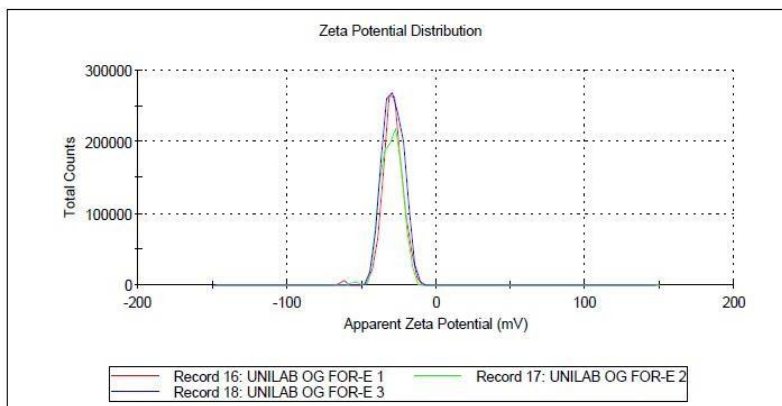


Figura 15S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol sem fármaco.

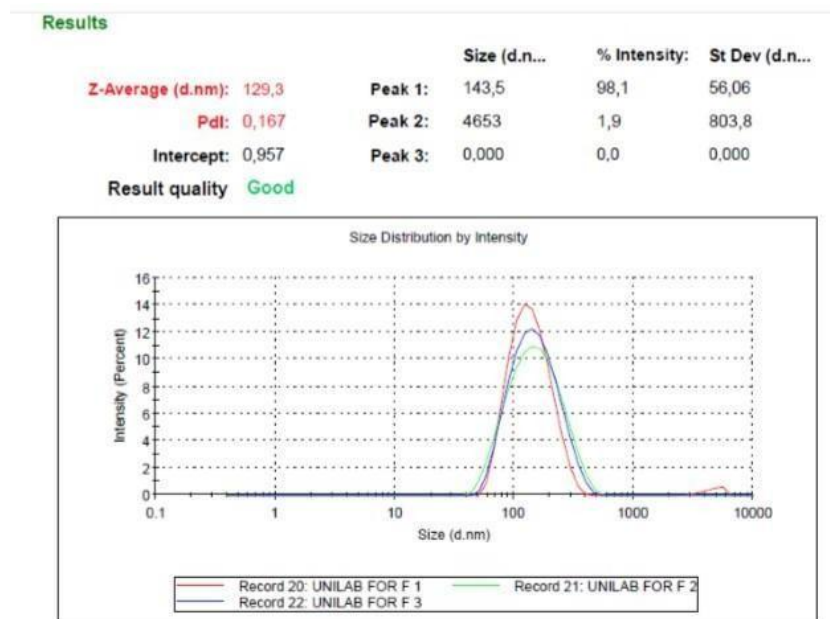


Figura 16S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol sem fármaco.

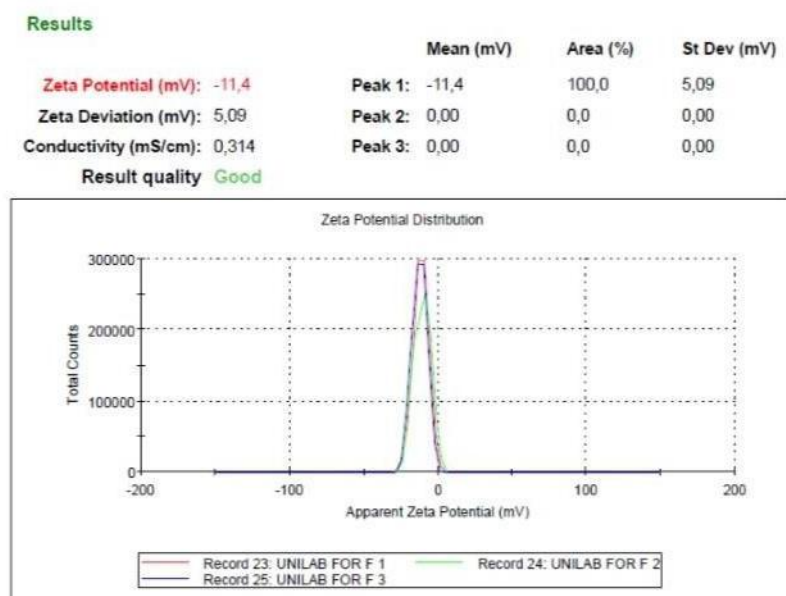


Figura 17S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol adicionado AICIPc.

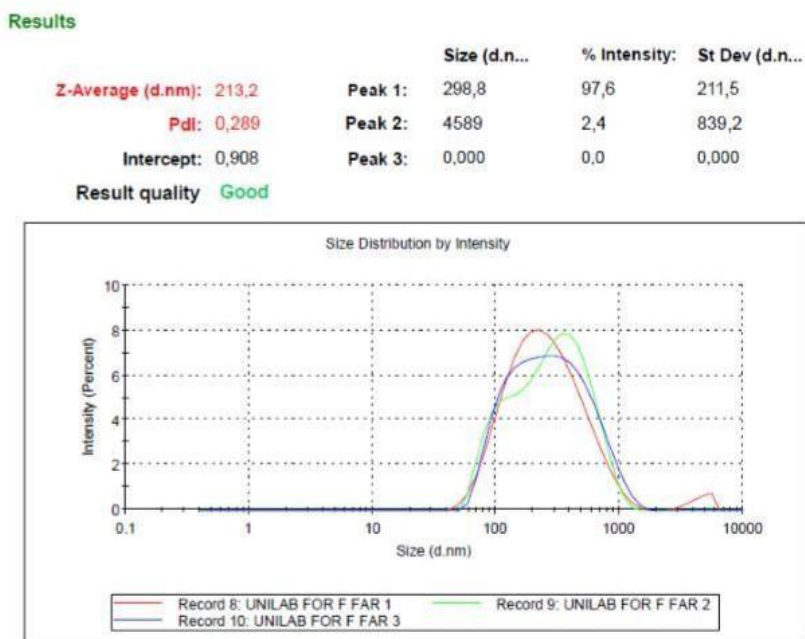


Figura 18S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação F com óleo de girassol adicionado AICIPc.

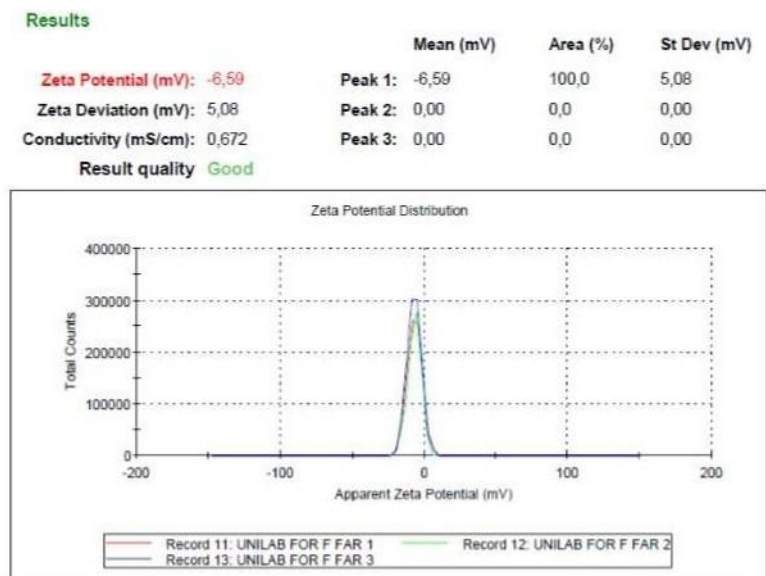


Figura 19S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação H com óleo de girassol sem fármaco.

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 118,4	Peak 1: 77,83	100,0	15,69
Pdl: 0,187	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,986	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Refer to quality report			

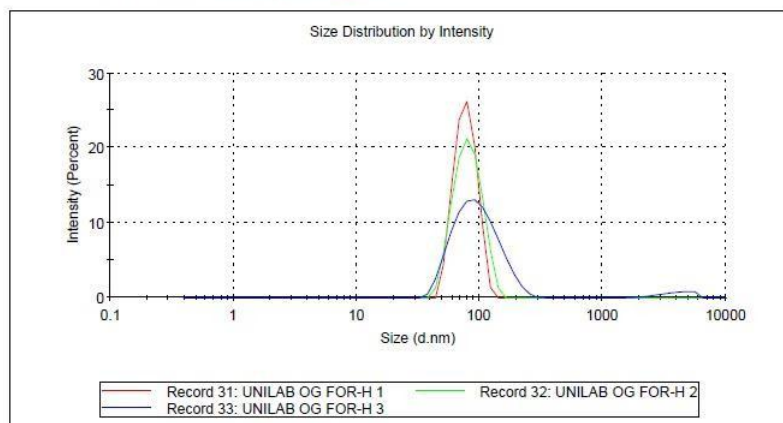


Figura 20S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação H com óleo de girassol sem fármaco.

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -22,0	Peak 1: -22,0	100,0	4,30
Zeta Deviation (mV): 4,30	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,292	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			

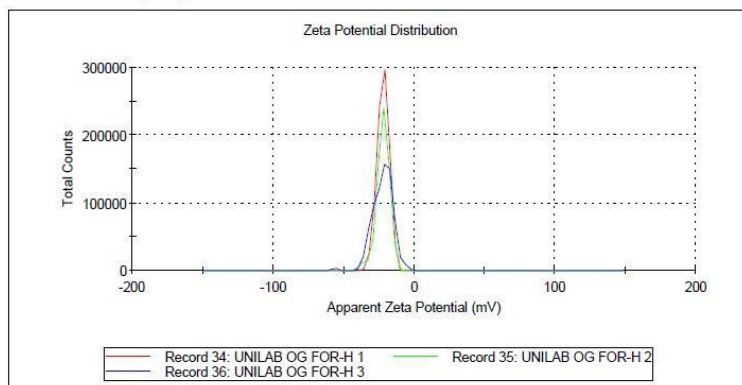


Figura 21S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com óleo de girassol sem fármaco.

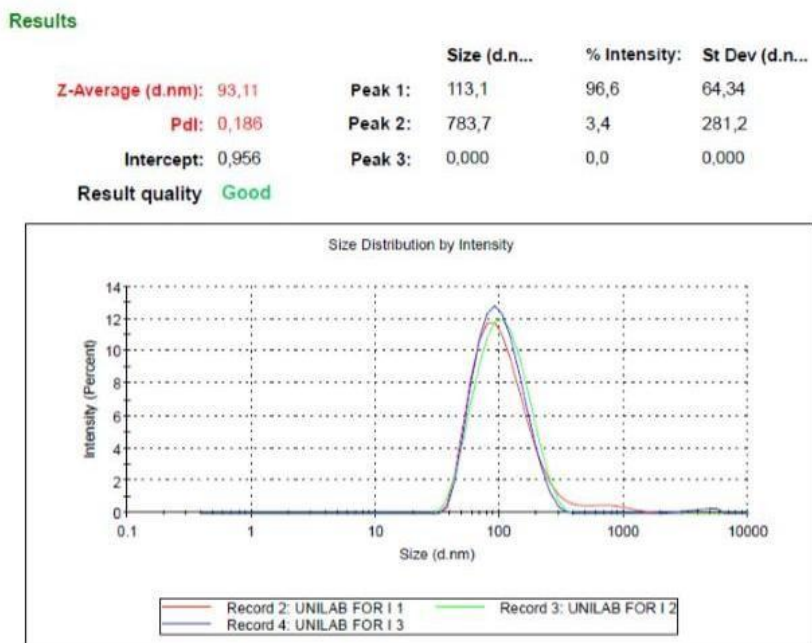


Figura 22S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com óleo de girassol sem fármaco.

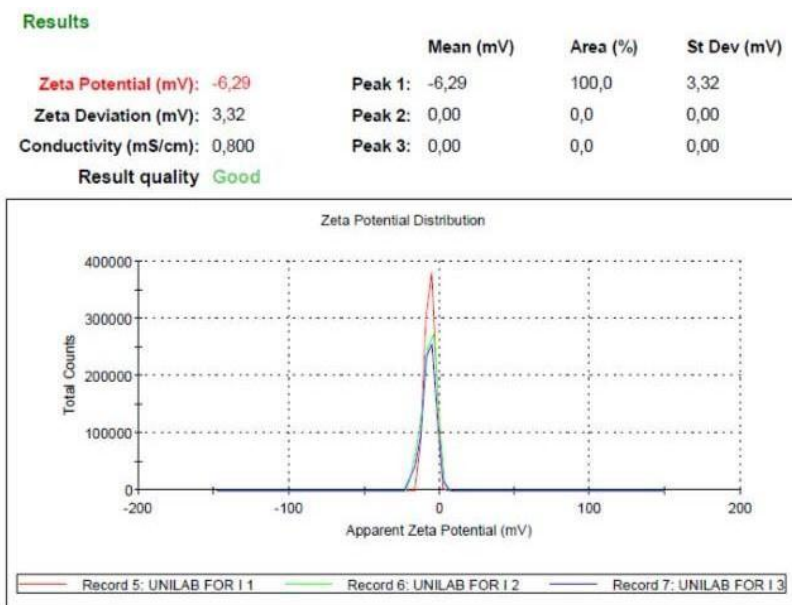


Gráfico 23S. Valores de Tamanho de partícula e Pdl, obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com óleo de girassol adicionado AIClPc.

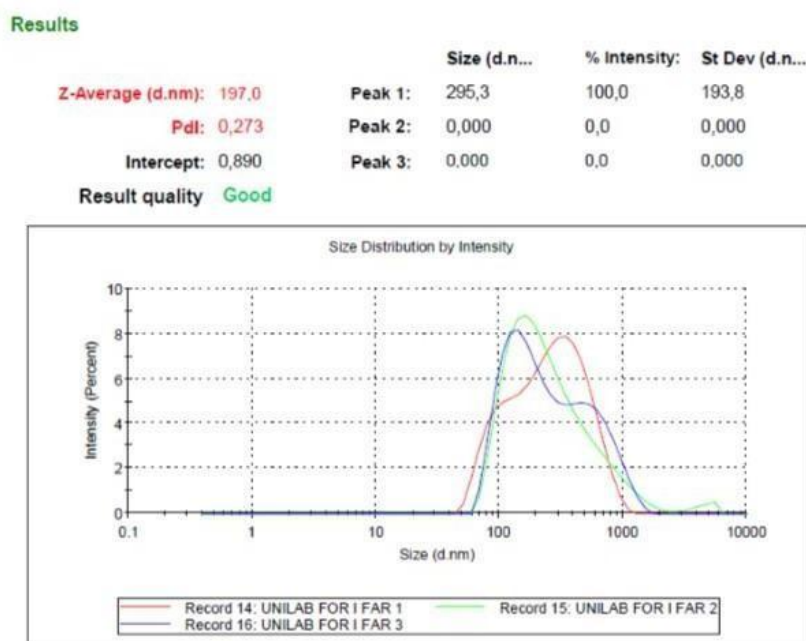


Gráfico 24S. Valores de Potencial Zeta e Condutividade obtidos pelo Zetasizer da Formulação I com óleo de girassol adicionado AIClPc.

