

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 27/11/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIA FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E
BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA

AMANDA LETÍCIA POLLI SILVESTRE

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO
CONTENDO CURCUMINA ENCAPSULADA EM NANOPARTÍCULAS DE
QUITOSANA ASSOCIADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA PARA O
TRATAMENTO DE BIOFILMES ORAIS

ARARAQUARA, SP

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIA FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS
E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA

AMANDA LETÍCIA POLLI SILVESTRE

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO
CONTENDO CURCUMINA ENCAPSULADA EM NANOPARTÍCULAS DE
QUITOSANA ASSOCIADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA PARA O
TRATAMENTO DE BIOFILMES ORAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
para obtenção do grau de Mestra.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marlus Chorilli
COORIENTADORA: Profa. Dra. Andréia Bagliotti
Meneguín.

ARARAQUARA, SP

2020

S587a

Silvestre, Amanda Leticia Polli.

Avaliação do potencial de filmes de alginato de sódio contendo curcumina encapsulada em nanopartículas de quitosana associados à terapia fotodinâmica para o tratamento de biofilmes orais / Amanda Leticia Polli Silvestre. – Araraquara: [S.n.], 2020.
98 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Biotecnologia Diagnóstica, Bioprodutos e Biofármacos.

Orientador: Marlus Chorilli.

Coorientadora: Andréia Bagliotti Meneguim.

1. Nanotecnologia Farmacêutica. 2. Nanopartículas Poliméricas. 3. Filmes bucais. 4. Curcumina. 5. Quitosana. 6. Alginato de sódio. 7. Biofilmes orais. 8. Terapia fotodinâmica. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Meneguim, Andréia Bagliotti, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030081P7

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação do potencial de filmes de alginato de sódio contendo curcumina encapsulada em nanopartículas de quitosana associados à terapia fotodinâmica para o tratamento de biofilmes orais.

AUTORA: AMANDA LETÍCIA POLLI SILVESTRE

ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI

COORIENTADORA: ANDRÉIA BAGLIOTTI MENEGUIN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Virtual)

Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. ELENARA MARIA TEIXEIRA LEMOS SENNA (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Farmacêuticas / Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. EDUARDO RICCI JÚNIOR (Participação Virtual)

Departamento de Medicamentos / Universidade Federal do Rio Janeiro

Araraquara, 27 de novembro de 2020

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, a minha família e ao meu orientador Prof. Dr. Marlus Chorilli pela oportunidade e confiança em meu trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à **Deus**, por todas as bênçãos que tem colocado em minha vida, por ter me dado força e paciência nos momentos difíceis e muita fé para me levantar e continuar. Sem ele não teria como chegar até aqui, só tenho de agradecer a cada dia por tudo.

Agradeço aos meus pais, **Maria Aparecida e Cláudio** e ao meu irmão **Gustavo**, que nunca mediram esforços em oferecer a mim apoio, segurança, educação, conduta pessoal e profissional. Obrigada por todo o amor, incentivo e ativa participação em todos os momentos de minha vida.

A meu namorado e melhor amigo **Victor Felipe** pelo companheirismo, carinho, paciência, amor e principalmente apoio em todos os momentos.

Agradeço em especial ao meu querido orientador **Prof. Dr. Marlus Chorilli**, pela oportunidade e confiança em meu trabalho, sempre muito solícito, presente, atencioso e extremamente competente e inteligente. Agradeço por toda aprendizagem dada, amizade, paciência e cuidado durante esses anos.

À querida **Prof. Dra. Andréia Bagliotti Meneguim**, minha coorientadora, agradeço por toda contribuição e ensinamentos, pela paciência e apoio nos momentos confusos e por toda dedicação nesse trabalho sempre com muita boa vontade e inteligência.

A todas as colegas do Laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica, em especial aos amigos, **Tais de Cássia, Bruna Furquim, Suzana Gonçalves, Aline Martins, Fernanda Borges, Leonardo Di Filippo, Jonatas Lobato, Victor Hugo e Bruno Fonseca**, que participaram dessa jornada comigo. Só tenho de agradecer pelas risadas, pela paciência, pelas palavras de conforto e principalmente pela aprendizagem compartilhada.

Ao **Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud, Prof. Dr. Marcos Luciano Bruschi** e a **Profa.Dra. Carla Raquel Fontana Mendonça**, pelo auxílio no exame geral de qualificação, contribuindo para o aperfeiçoamento do trabalho.

À gentil **Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião**, por toda sabedoria compartilhada e apoio durante esses anos.

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (PADC-FCF-UNESP)** e a todos os seus funcionários pela atenção e cuidado.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr-UNESP)** em especial as professoras Fernanda Brighenti e Alessandra Rastelli e aos alunos Analú Barros, João Besegato e Priscila Borges por todas as contribuições e parcerias.

Ao **Instituto de Química da UNESP** de Araraquara, pela realização das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG).

Ao **Programa de Pós-Graduação em Biociência e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia** e a todos os professores do programa.

À **Seção Técnica de Pós-Graduação** que sempre foram muito atenciosas e prestativas, em especial Cláudia Molina, Aniele Vilella e Denise Hatanaka.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**
– Código de Financiamento 001

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, processo nº 2018/23096-7 pelo apoio financeiro na forma de Bolsa de Mestrado.

RESUMO

A cavidade oral é colonizada por várias espécies de microrganismos, dentre eles *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* são os mais predominantes e podem ser encontrados organizados na forma de biofilme, podendo causar cáries e candidíase bucal. O tratamento convencional para remoção desses biofilmes orais consiste na sua remoção mecânica associada à administração sistêmica de antimicrobianos, que causa vários efeitos colaterais ao paciente, além de ser potencial causador de resistência microbiana. Diante desse contexto, terapias alternativas têm sido desenvolvidas para o tratamento de doenças na cavidade oral, dentre elas a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aTFD), que é realizada com a utilização de um fotossensibilizador, como a curcumina (CUR). No entanto, a CUR apresenta a limitação de ser um composto de baixa solubilidade aquosa e que sofre degradação quando exposto à luz, temperatura e condições alcalina. Uma estratégia para suprir essas limitações é sua incorporação em nanopartículas poliméricas (NPs), que oferecem importantes benefícios, como melhoria da solubilidade e proteção contra a degradação. A incorporação de NPs_CUR em filmes de alginato de sódio (FA) contribui para adesão do sistema na cavidade oral, otimizando a aplicação da aTFD e a ação antimicrobiana. O presente trabalho teve como objetivo a avaliação do potencial de FA contendo CUR encapsulada em NPs de quitosana (QTS) e alginato de sódio (ALG) associados à aTFD para o tratamento de biofilmes orais. As NPs foram obtidas pelo método de complexação polieletrólítica através da concentração de 0,3 mg/mL de QTS e 0,5 mg/mL de ALG com proporções (m/m) de 0,05:1 até 1:1 e foram caracterizadas empregando análise de diâmetro hidrodinâmico médio (DHM), índice de polidispersão (IPD), potencial zeta (PZ), microscopia eletrônica de varredura (MEV), eficiência de encapsulação (EE) e análise térmica. Os FAs foram obtidos pelo método de evaporação do solvente utilizando 2% de ALG e 10% de glicerina e foram caracterizados por ensaios de absorção de líquidos, determinação da espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas e mucoadesão. Realizou-se ensaio de liberação *in vitro* do sistema final FA/NPs_CUR, CUR livre e NPs_CUR. Foram ainda determinadas a concentração inibitória mínima (CIM) e bactericida (CBM) frente ao *S. mutans*, avaliou-se o efeito fotodinâmico sobre os biofilmes de *S. mutans* e *C. albicans* e a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL). As NPs foram obtidas com sucesso obtendo-se resultados adequados para todas as proporções testadas, principalmente para amostra 0,30:1 com DHM de 181,6 nm, IPD de 0,23 e PZ de -30,6 mV. As fotomicrografias obtidas por MEV evidenciaram morfologia esférica das NPs. A incorporação da CUR manteve a NP esférica e com tamanho entre 200 e 300 nm, indicando que houve incorporação e isso pode ser afirmado pela EE, a qual obteve o valor de 32,91 a 80,23%. Os FA foram obtidos com sucesso e mostraram-se homogêneos, sem fissuras ou bolhas e com adequadas propriedades mecânicas e de espessura, além de apresentarem PVA e absorção de líquidos considerável e excelentes propriedades mucoadesivas. O ensaio de liberação *in vitro* indicou que a liberação foi controlada por difusão e intumescimento, com 92,31% de CUR liberada após 24 h a partir das FA/NPs_CUR, 47,77% para CUR livre e 50,79% para NP_CUR. No ensaio microbiológico de CIM e CBM obteve-se para CUR livre um valor de 2,175 µg/mL e para NPs-CUR de 8,7 µg/mL. Os resultados de UFC/mL nos ensaios de biofilme de *C. albicans* não demonstraram redução significativas de log entre os grupos testados com os tratamentos com luz e sem luz. Por outro lado, os ensaios de UFC/mL para o biofilme de *S. mutans* demonstraram redução de 3 log₁₀ para o grupo das NPs testadas quando comparadas com os tratamentos sem luz. Portanto, os resultados são promissores e sugerem que o sistema desenvolvido apresenta potencial para o tratamento de biofilme de *S. mutans*.

Palavras-chaves: Nanotecnologia Farmacêutica; Nanopartículas Poliméricas; Filmes bucais; Curcumina; Quitosana; Alginato de sódio; Biofilmes orais; Terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

The oral cavity is colonized by several species of microorganisms, among them, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* are the most prevalent and can be found organized in the form of biofilm, which can cause cavities and oral candidiasis. The conventional treatment for the removal of these oral biofilms consists of their mechanical removal associated with the systemic administration of antimicrobials, which causes several side effects to the patient, in addition to being a potential cause of microbial resistance. In this context, alternative therapies have been developed to treat diseases in the oral cavity, including Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT), which is performed using a photosensitizer, such as curcumin (CUR). However, CUR has the limitation of being a hydrophobic compound and that suffers degradation in light, temperature, and alkaline conditions. One strategy to overcome these limitations is their incorporation into polymeric nanoparticles (NPs), which offer important benefits, such as improved solubility and protection against degradation. The incorporation of NPs_CUR in sodium alginate films (FA) contributes to system adhesion in the oral cavity, optimizing the application of aPDT and the antimicrobial action. This work aims to evaluate the potential of FA containing CUR encapsulated in NPs of chitosan (CS) and sodium alginate (SA) associated with aPDT for the treatment of oral biofilms. The NPs were obtained by the polyelectrolytic complexation method through the concentration of 0.3 mg / mL of QTS and 0.5 mg / mL of ALG with proportions (w/w) of 0.05:1 to 1:1 and were characterized employing the analysis of average hydrodynamic diameter (DHM), polydispersion index (PDI), zeta potential (ZP), scanning electron microscopy (SEM), encapsulation efficiency (EE) and thermal analysis. The FAs were obtained by the solvent casting method using 2% SA and 10% glycerin and were characterized by liquid absorption tests, thickness determination, water vapor permeability (PVA), mechanical properties, and mucoadhesion. An in vitro release test of the final system FA/NPs_CUR, free CUR, and NPs_CUR was performed. The minimum inhibitory (MIC) and bactericidal (CBM) concentrations against *S. mutans* were also determined and the photodynamic effect on the biofilms of *S. mutans* and *C. albicans* and the count of Colony Forming Units (CFU/mL) were evaluated. The NPs were successfully obtained, obtaining adequate results for all the proportions tested, mainly for 0.30: 1 sample with DHM of 181.6 nm, PDI of 0.23, and ZP of - 30.6 mV. The photomicrographs obtained by SEM showed the spherical morphology of the NPs. The incorporation of CUR kept the spherical NP with a size between 200 and 300 nm indicating that there was incorporation, and this can be affirmed by EE where it obtained the value of 32.91 to 80.23%. The FA were successfully obtained and proved to be homogeneous without fissures or bubbles and adequate mechanical and thickness properties, in addition to having PVA and considerable liquid absorption and excellent mucoadhesive properties. The in vitro release test indicates that the release is controlled by diffusion and swelling using the Korsmeyer Peppas model, with a 24-hour release profile of 92.31% for FA/NPs_CUR, 47.77% for free CUR, and 50.79 % for NP_CUR. In the MIC and CBM microbiological assay, a value of 2,175 µg / mL was obtained for free CUR and 8,7 µg / mL for NPs-CUR. The results of CFU / mL in the biofilm assays of *C. albicans* did not show significant log reduction between the groups tested with treatments with and without light. On the other hand, the UFC / mL assays for the *S. mutans* biofilm showed a reduction of 3 log₁₀ for the group of tested NPs when compared to treatments without light. Therefore, the results are promising and suggest that the developed system has the potential for the treatment of *S. mutans* biofilms.

Keywords: Pharmaceutical nanotechnology; Polymeric Nanoparticles; Oral films; Curcumin; Chitosan; Sodium alginate; Oral biofilms; Photodynamic therapy.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 MATERIAL.....	26
3.1.1 Equipamentos e materiais	26
3.1.2 Reagentes.....	27
3.2 MÉTODO.....	27
3.2.1 Preparação de soluções e dispersões.	27
3.2.2 Análise do potencial zeta dos polímeros em função do pH.....	29
3.2.3 Preparação das NPs	29
4 Caracterização das nanopartículas.....	30
4.1 Análise de diâmetro hidrodinâmico médio e do índice de polidispersão das nanopartículas	30
4.2 Análise do potencial zeta das partículas	31
4.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG).....	31
4.4 Análise térmica do sistema	31
5 Validação da Metodologia Analítica por CLAE	32
6. Eficiência de encapsulação (EE%).....	35
7. Preparação dos filmes.....	36
8. Caracterização dos filmes	37
8.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	37
8.3 Determinação da espessura dos filmes	37
8.4 Propriedades mecânicas dos filmes.....	37
8.5 Absorção de líquido.....	39

11. Ensaios Microbiológicos	42
11.1 Grupos testados e parâmetros da Terapia Fotodinâmica.....	42
11.2 Preparo da suspensão bacteriana padronizada	42
11.3 Preparo da suspensão fúngica padronizada	43
11.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida (CBM)	43
11.5 Formação do biofilme bacteriano <i>in vitro</i> em fundo de placa de 96 poços.....	44
11.6 Avaliação quantitativa das células bacterianas viáveis dos biofilmes	45
12. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
12.1 Análise do potencial zeta dos polímeros em função do pH.....	46
12.2 Preparação das nanopartículas poliméricas	48
12.3 Caracterização das Nanopartículas	49
12.4 Influência de tensoativos na formação das Nps.....	52
11 Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG).....	55
12 Análise térmica.....	57
13 Validação da Metodologia Analítica por CLAE	58
15. Eficiência de Encapsulação (EE%)	64
16. Caracterização dos Filmes	66
16.1 Análise Macroscópica.....	66
16.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG).....	67
16.3 Determinação da espessura dos filmes	69
16.4 Propriedades mecânicas dos filmes.....	71
16.6 Mucoadesão.....	75
18. Ensaios Microbiológicos.....	80
19. CONCLUSÕES.....	87
REFERÊNCIAS.....	88

1. INTRODUÇÃO

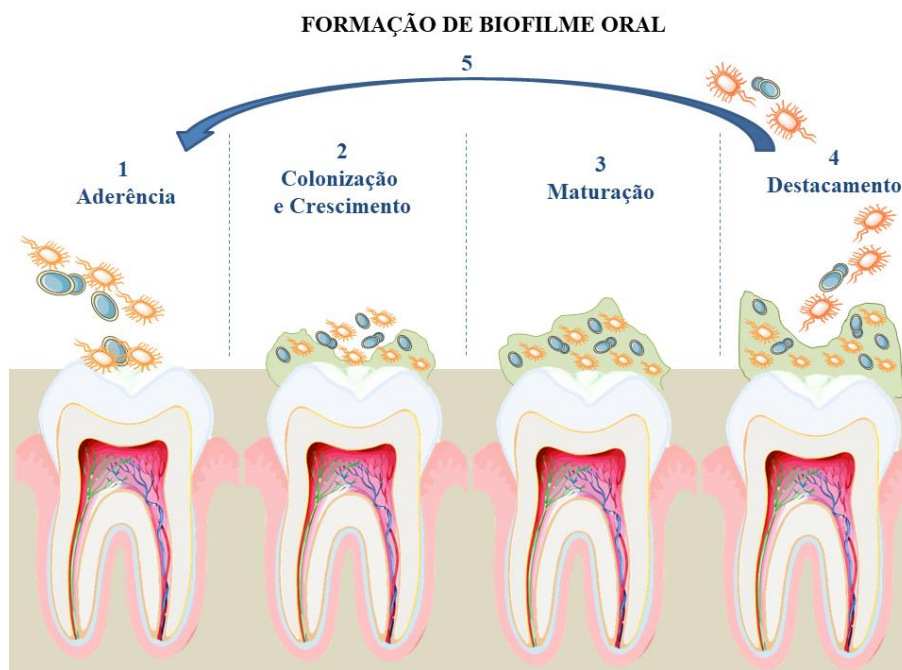
A cavidade oral abriga um sistema ecológico complexo constituído por mais de 700 espécies de microrganismos. É bem conhecido que muitas dessas espécies encontram-se organizadas na forma de biofilmes (KARYGIANNI et al., 2016; MARSH; HEAD; DEVINE, 2015). Os biofilmes podem ser classificados como uma comunidade de microrganismos que se fixam em superfícies bióticas ou abióticas, recobertos por uma matriz extracelular polimérica composta principalmente por polissacarídeos, proteínas, DNA extracelular e lipídeos. A matriz do biofilme garante uma série de vantagens para a colônia, como proteção celular, sobrevivência em ambientes desfavoráveis, maior adesão em ambientes não estáveis, melhor comunicação entre as células, o que facilita atividades bioquímicas e melhor proliferação, além de dificultar o acesso, que protege os microrganismos contra a ação de antibióticos e antifúngicos (ALBERS, 2018; BOWEN et al., 2017; DONLAN; COSTERTON, 2002).

É importante salientar que a película adquirida (proteínas e glicoproteínas salivares e do fluido gengival na superfície dentária) é a principal superfície de formação do biofilme oral. Porém, pode se aderir também em estruturas bucais sólidas, tais como próteses, aparelhos ortodônticos, restaurações e superfície de implantes (HUANG; LI; GREGORY, 2011).

Dessa forma, a formação do biofilme compreende cinco estágios e inicia-se com a aderência às células planctônicas de microrganismos por meio de forças de Van der Waals, forças elétricas de dupla camada, interações moleculares e celulares, resultando em um estágio reversível. Na segunda etapa ocorre uma adesão mais forte e a agregação e coagregação de outros microrganismos e a produção da matriz extracelular polimérica. Esta fase é considerada irreversível e ocorre por meio de ligações covalentes e interações dipolo-dipolo. Durante a fase de maturação (terceiro estágio), os microrganismos liberam

sinais auto-indutores para a comunicação entre eles, o que facilita a expressão dos genes formadores de biofilme. A fase final é a fase de dispersão (quarto estágio) que gera o desprendimento dos microrganismos do biofilme por meio de estresse mecânico e enzimas específicas capazes de quebrar os polissacarídeos da matriz (estrutura fundamental do biofilme). Com isso, os microrganismos retornam à fase planctônica, podendo iniciar a formação de um novo biofilme em outras superfícies (quinto estágio). A Figura 1 ilustra esse processo, as células destacadas, embora na forma planctônica, geralmente retêm algumas das propriedades da população do biofilme, principalmente a suscetibilidade reduzida a antimicrobianos (DONLAN; COSTERTON, 2002; FULAZ et al., 2019; JAMAL et al., 2017).

Figura 1. Formação de biofilme na cavidade oral



Fonte: própria autora.

Este sistema se mantém em equilíbrio quando presente em um ambiente bucal sadio, no qual os hábitos de higiene são praticados regularmente e com eficiência (AL-SHAMMERY et al., 2019); contudo, alterações na microbiota hospedeira (por exemplo, devido à utilização de antimicrobianos), alterações na resposta imune do hospedeiro (causados por estresse, infecção por outro microrganismo ou terapia imunossupressora) ou

variações no ambiente local (como mudanças no pH ou conteúdo nutricional) causam um desequilíbrio, resultando em cáries, doenças periodontais, candidíase, infecções endodônticas e ortodônticas (ALLAKER, 2010; LAMONT; KOO; HAJISHENGALLIS, 2018).

As bactérias predominantes nos biofilmes dentários são os *Streptococos*, sendo *Streptococcus mutans* considerado o principal agente etiológico no desenvolvimento da cárie. As células de *S. mutans* são Gram positivas, têm morfologia ovalada, medem cerca de 0,5 a 0,75 µm de diâmetro, agrupam-se aos pares ou em cadeias, requerem meios nutricionalmente ricos para seu crescimento, são anaeróbios facultativos e sua temperatura ótima de crescimento é de 37 °C (HOBDELL; CHHER, 2012; LEMOS et al., 2019).

Em razão disso, *S. mutans* é capaz de produzir enzimas denominadas glicosiltransferases, que hidrolisam o açúcar da dieta em glicose e frutose, e formam glicanos insolúveis. Esses glicanos conferem aos microrganismos a capacidade de aderir às superfícies lisas dos dentes e formar a matriz do biofilme dental. A aderência específica de *S. mutans* aos glicanos aderentes e a formação de ácidos promovem a desmineralização do esmalte dentário e o início das lesões de cárie (FORSSTEN; BJÖRKLUND; OUWEHAND, 2010; KLEIN et al., 2015).

A cárie é uma microcavidade que pode acometer o esmalte, dentina ou polpa do dente. Existem vários tipos de cáries que podem apresentar desde manchas brancas ou escuras até a formação microcavidades. Quando a cárie atinge a polpa do dente pode levar ao tratamento do canal, e quando não tratada pode ocorrer perda do dente. Apesar de todas as medidas de higiene conferir uma diminuição na incidência de cárie, ainda não conseguimos erradicá-las (LIMA, 2007).

As leveduras mais comuns na cavidade bucal são as do gênero *Candida* ssp da espécie *Candida albicans*. A levedura *C. albicans* por sua vez, possui morfologia extremamente versátil, podendo estar presente no meio bucal sem causar qualquer dano, porém quando em associação a fatores predisponentes é capaz de invadir tecidos causando

candidíase, que é uma infecção oportunista (KOO; ANDES; ID, 2018).

A candidíase bucal mais predominante é a pseudomembranosa também conhecida popularmente como “sapinho”. É a forma mais comum e se manifesta por placas ou nódulos branco-amarelados na mucosa, na língua ou qualquer parte do trato gastrointestinal superior.

Durante a maturação do biofilme, as leveduras desenvolvem novas propriedades fisiológicas e estruturais diferentes, como a transição de levedura para o morfotipo hifas, o que representa um passo crucial para a patogênese. As hifas fornecem integridade estrutural aos biofilmes, sendo assim um fator de virulência, além do biofilme trazer resistência a vários componentes antifúngicos que são rotineiramente utilizados no ambiente clínico (AL-FATTANI; DOUGLAS; DOUGLAS, 2006; MAYER et al., 2013).

Estudos demonstram que esses microrganismos podem desenvolver biofilmes dentários em associação. A interação entre *S. mutans* e *C. albicans* acontece quando *S. mutans* produz proteínas ancoradas na parede celular, facilitando a ligação à *C. albicans*, promovendo maior virulência e estabelecendo uma interação benéfica para ambos os microrganismos (KOO; BOWEN, 2014).

Ambas as doenças podem causar dor, desconforto para mastigar, sensibilidade e quando não tratadas podem levar infecções mais graves e crônicas. O tratamento convencional para remoção dos biofilmes orais consiste na sua remoção mecânica (processo físico), associado à administração sistêmica de antimicrobianos, o que frequentemente pode resultar na seleção de espécies resistentes e efeitos colaterais (BAPAT et al., 2019).

Outro dado relevante é que a resistência aos antimicrobianos é um problema gravíssimo de saúde pública ao nível mundial. O relatório da Organização Mundial da Saúde (2019) afirma que a resistência microbiana mata cerca de 700.000 pessoas de todas as idades anualmente no mundo. O cenário com o qual os especialistas trabalham é que esse número chegue a 10 milhões em 2050 (OMS, 2020).

Nesse contexto, pesquisas inovadoras estão surgindo para criar alternativas de

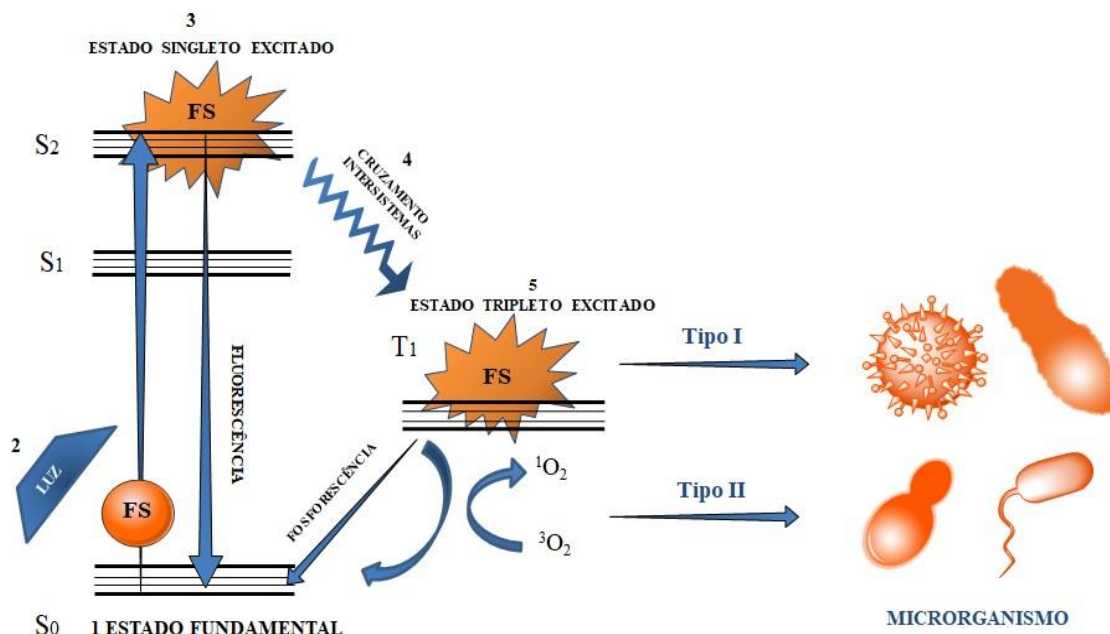
terapias menos invasivas para o tratamento de doenças bucais, com baixos efeitos colaterais e improvável resistência microbiana, como é o caso da (TFD) ou também conhecida como Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aTFD) (DINIZ et al., 2015; KIKUCHI et al., 2015; ONISZCZUK et al., 2016; SANTIN et al., 2014).

A aTFD é baseada em um fotossensibilizador (FS) ativado por uma fonte de luz sob um comprimento de onda específico que atua em uma célula-alvo. Durante a reação fotodinâmica, podem ser produzidas espécies reativas de oxigênio (EROs), que são extremamente tóxicas para os microrganismos e podem induzir a morte celular sem causar danos ao corpo humano (CARRERA et al., 2016; TAVARES et al., 2010). Além disso, aTFD tem atividade contra bactérias, fungos, vírus e protozoários (COSTA et al., 2011; OZTURK et al., 2020; SANTOS et al., 2019; SEPÚLVEDA et al., 2020).

Outro ponto a evidenciar é o improvável desenvolvimento de resistência microbiana. Isso acontece, pois, a aTFD é mediada pela liberação de oxigênio singlete e EROs, os quais interagem rapidamente com uma diversidade de substratos e estruturas celulares, sem uma ação específica (LIU et al., 2015a). Também, a rápida aplicação não desencadeia efeitos colaterais e a cavidade oral torna-se um local de fácil aplicação da aTFD, já que é acessível para iluminação (BENOV, 2015).

O mecanismo químico da aTFD baseia-se no diagrama de Jablonski em que o FS no estado fundamental é irradiado por luz (sob o comprimento de onda adequado do FS), absorve um fóton (luz) gerando o FS no estado singlete excitado (breve vida útil que pode retornar ao estado fundamental por emissão de fluorescência) ou pode passar por um processo denominado cruzamento intersistema e gerar o FS no estado tripleto excitado (vida útil mais longa e pode retornar ao estado fundamental por fosforescência) que produz dois tipos de reações (TEDESCO; PRIMO; JESUS, 2017). Este mecanismo pode ser observado na Figura 2.

Figura 2. Mecanismo de ação da aTFD baseado no Diagrama de Jablonski, onde (1) corresponde ao fotossensibilizador (FS) no estado fundamental, (2) absorção de luz, (3) FS excitado em um estado singlete, ou (4) processo de cruzamento intersistema resultando em um estado excitado tripleto (5), gerando dois tipos de reações.



Fonte: própria autora.

Neste processo, o FS (no estado tripleto excitado) é passível de reagir com moléculas biológicas por dois principais mecanismos que são dependentes de oxigênio (consideradas indiretas), denominados de reação tipo I e reação tipo II. A reação de tipo I envolve reações de transferência de elétron entre o estado excitado do FS e o oxigênio molecular, produzindo espécies radicais como $OH \cdot$, $O_2 \cdot^-$, H_2O_2 e causando estresse oxidativo e morte celular. Na reação do tipo II, o FS transfere energia diretamente ao oxigênio em seu estado tripleto fundamental. Há a formação de oxigênio singlete (1O_2), que é altamente reativo e citotóxico, e que pode reagir com um grande número de substratos biológicos e induzir dano oxidativo na membrana celular e na parede celular (KWIATKOWSKI et al., 2018).

Acredita-se que ambas as reações (tipo I e II) possam ocorrer concomitantemente durante aTFD com proporções diferentes dependendo do tipo de FS, mas o oxigênio singlete (Tipo II) é o principal mediador fotodinâmico nos sistemas biológicos (LIU et al., 2015a).

Além dos mecanismos indiretos (que requerem oxigênio), existem os mecanismos diretos (independentes de oxigênio) de fotossensibilização na aTFD. Esses mecanismos vêm sendo discutidos na literatura científica e trata-se das reações de tipo III e reações de tipo IV, baseadas na ativação de FSs para induzir a morte celular sem a dependência do oxigênio para transferência de energia ou carga. A reação do tipo III envolve o estado de tripleto do FS e os radicais livres nativos do microrganismo que causam citotoxicidade. E, finalmente, há também a reação do tipo IV que, em suma, envolve uma mudança estrutural no estado singlete do FS quando irradiado, permitindo que ele se ligue ao alvo celular por fotoisomerização (SCHERER et al., 2017).

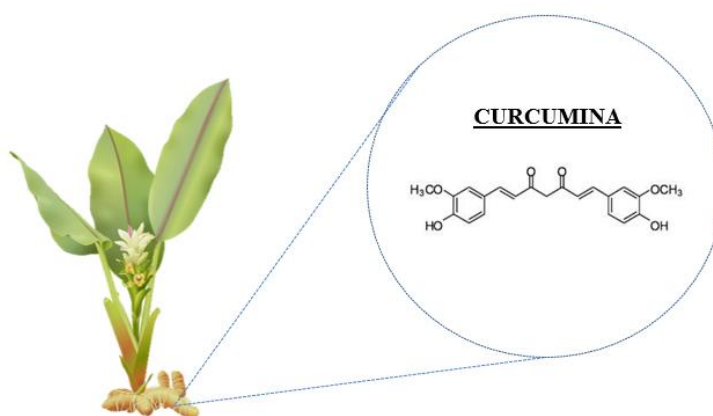
A irradiação durante a aTFD pode ser feita por diferentes fontes de luz, como lâmpadas de amplo espectro, lâmpadas de diodo (LEDs), lasers e também por quimioluminescência. A ação desses dispositivos depende do comprimento de onda, da dose de radiação (J cm^{-2}), da densidade de potência (W cm^{-2}), e também do tempo de incubação do FS (tempo de pré-irradiação) (DIAS et al., 2016; ETCHEVERRY; PASQUALE; GARAVAGLIA, 2016; FERRAZ et al., 2011).

Geralmente, os FS podem ter uma fórmula estrutural aromática ou linear e podem ser usados topicamente ou sistemicamente. Vários tipos de corantes e FS podem ser usados para aTFD. A curcumina (CUR), cuja estrutura química é demonstrada na Figura 3, é um corante amarelo-alaranjado, extraído do rizoma da planta *Curcuma longa*, comumente usada como tempero na tradicional culinária asiática e na medicina chinesa. A CUR possui diversas propriedades farmacológicas, como anti-inflamatórias, antitumorais e antimicrobianas (ALVES et al., 2018). Algumas dessas propriedades são melhoradas com associação de ativação pela luz (AURELIO et al., 2013; AZIZI et al., 2019; MA et al., 2019; SANTEZI; REINA; DOVIGO, 2018)

No caso da CUR, a luz azul é uma opção interessante para sua fotoativação. A faixa azul do espectro de luz (450- 492nm) é capaz de promover efetiva ativação da CUR, além de

ser mais segura e estar numa faixa do espectro comumente utilizada nos consultórios odontológicos, por meio do uso de aparelhos do tipo LED ou de luz halógena (PAOLILLO et al., 2014; SERIES, 2018). Por outro lado, a CUR é um composto considerado hidrofóbico, insolúvel em água e que pode sofrer rápida degradação em várias condições (luz, temperatura, oxigênio, condições alcalinas). Apesar de solúvel em etanol e DMSO (dimetilsulfóxido), esses solventes orgânicos apresentam efeitos tóxicos dependendo da concentração utilizada, sendo necessário o desenvolvimento de novas estratégias para melhoria da solubilidade e estabilidade desta molécula (CODEVILLA et al., 2015).

Figura 3. Estrutura química da curcumina.



Fonte: ALVES et al., 2018

Nanossistemas (NS) associados a aTFD para infecções orais possuem potencial promissor para combater as limitações mencionadas acima e também tem o potencial de entregar FS no biofilme oral (FEKRAZAD; NEJAT; KALHORI, 2017; HU et al., 2018; LBOUTOUNNE, 2017). Além disso, biofilmes são estruturas complexas e os antimicrobianos convencionais têm demonstrado dificuldade em atuar sobre eles. O desenvolvimento de novas classes de antimicrobianos é um processo demorado, portanto, o desenvolvimento de abordagens alternativas é fundamental (QAYYUM; KHAN, 2016). Nos últimos anos, tem havido um aumento significativo de estudos no campo da nanotecnologia farmacêutica para explorar NS para o tratamento de biofilmes (DE MELO et al., 2013; ELIZABETH; NÉSTOR; DAVID, 2019).

NS são estruturas nanométricas que podem ser divididas em nanopartículas orgânicas e inorgânicas (KHALID et al., 2020). Através da composição química tamanho de partícula, carga superficial e outras propriedades, os NS acabam direcionando a liberação, sendo que a interação do sistema com a matriz do biofilme promove aumento significativa na eficácia antimicrobiana (FULAZ et al., 2019; NAFEE, 2015).

Neste contexto, vários NS têm sido desenvolvidos para melhorar a biodisponibilidade, solubilidade e eficácia terapêutica da CUR e a liberação de fármaco, incluindo lipossomas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, ciclodextrinas, nanoemulsões, entre outros (CHOPRA et al., 2016; LIU et al., 2015b; MANGOLIM et al., 2014; SARI et al., 2015; WANG et al., 2017).

Dentre os NS, é crescente o interesse no estudo e desenvolvimento de nanopartículas poliméricas (NP) devido às vantagens de melhorar a biodisponibilidade, solubilidade, permeabilidade e seletividade dos fármacos (evitando a distribuição para outros tecidos que não o alvo e minimizando os efeitos colaterais). Além disso, oferecem proteção contra fatores externos (luz, umidade, oxigênio, temperatura) e internos (pH e degradação enzimática), permitem a incorporação de FSs hidrofílicos e hidrofóbicos, podem modificar o padrão de interação biológica do FS na biointerface, além da possibilidade de aumentar o tempo de residência no sítio alvo através da mucoadesão, atributo que pode contribuir para melhorar a interação biológica no sítio de ação/liberação (PEER et al., 2007). Além disso, podem ser funcionalizados por meio de preenchimentos, ligantes, enzimas, anticorpos e outros na superfície da estrutura (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; SUN et al., 2019; TAN; CHOONG; DASS, 2010).

Nanopartículas poliméricas (NPs) são sistemas coloidais com tamanho nanométrico que pode variar de 5 nm a 1000 nm, embora geralmente sejam obtidos tamanhos entre 100 e 500 nm no campo farmacêutico e com morfologia esférica. PNs são constituídas por polímeros que podem ser sintéticos ou naturais e são classificadas em nanocápsulas

(sistemas reservatórios, constituídos de um ou mais núcleos internos, revestidos por uma membrana polimérica) e nanoesferas (sistemas matriciais, constituídas por uma matriz polimérica, na qual o fármaco encontra-se disperso ou dissolvido no seu interior) (JARAI et al., 2020; LU et al., 2011).

As NPs podem ser obtidas através de diferentes metodologias, dentre elas por complexação polieletrólítica, a qual destaca-se pela simplicidade da técnica e baixa energia, sem envolver o uso de solventes orgânicos, com relativo baixo custo, além da utilização de biopolímeros. A técnica de complexação polieletrólítica tem por base a interação entre polímeros com cargas opostas, a qual pode acontecer através de interações eletrostáticas, dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Usualmente a técnica se dá pelo gotejamento da solução de um polícatión, sobre a solução de um poliânion sob agitação (KIZILAY; KAYITMAZER; DUBIN, 2011; LUO; WANG, 2014)

A quitosana (QTS), cuja estrutura química é apresentada na Figura 4 (A), é um dos polissacarídeos que vem sendo mais explorado no desenvolvimento de NP, principalmente devido às suas propriedades favoráveis, como ser de origem natural, atóxico, biocompatível, biodegradável, seguro e de baixo custo. A QTS possui grupos amino e hidroxilas em sua estrutura, possui $pK_a \sim 6,5$, é solúvel em meios aquosos ácidos e possui alta carga positiva sobre os grupos $-NH_3^+$ (KUMAR et al., 2004; LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009). Além disso, a QTS possui outra importante propriedade que é a mucoadesão, que acontece principalmente, mas não somente através da interação eletrostática com o ácido siálico da mucina e com isso, tem sido amplamente relatada para o uso na mucosa (LA LEUR; RÖTTGES, 2019; MUMUNI et al., 2019; ŞENEL, 2010; SIMONOSKA CRCAREVSKA; GLAVAS DODOV; GORACINOVA, 2008)

Outra propriedade importante apresentada pela QTS é a atividade antimicrobiana, que ocorre através de vários mecanismos de interação sendo os componentes celulares externos e a membrana citoplasmática, não de forma exclusiva, uma vez que a inibição

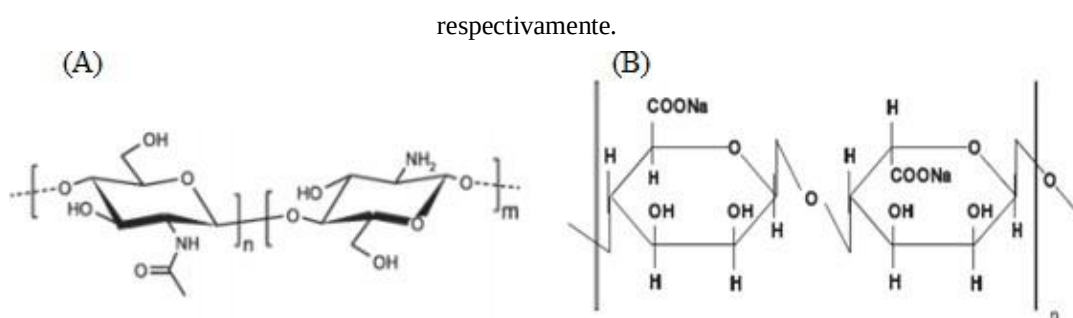
microbiana pela quitosana é considerada o resultado de uma sequência de processos moleculares que causam uma mudança na permeabilidade e nos componentes intercelulares, levando à morte celular (RAAFAT et al., 2009). A QTS possui um espectro de ação contra fungos e bactérias, principalmente bactérias Gram-positivas, como no caso *S. mutans*. Sendo assim, pode aumentar o efeito antimicrobiano do sistema e agir de forma sinérgica com a TFD e fármaco, de forma a obter melhores resultados para o tratamento dos biofilmes orais (FRADE et al., 2018).

A natureza catiônica da QTS tem sido convenientemente explorada para elaboração de sistemas nanoparticulados de liberação controlada, entre outros fatores, devido à sua capacidade de complexação eletrostática com polímeros aniônicos, como por exemplo, o polímero alginato de sódio (ALG) (EL MAGHRABY; ARAFA, 2019).

O ALG (Figura 4-B) é um polímero natural obtido de algas marrons, aniônico e solúvel em água, formado por ácidos carboxílicos compostos de subunidades de β -D-ácido manurônico (M) e α -L ácido gulurônico (G) interligados por ligações 1,4-glicosídicas. Pode estar associado a sais como sódio, cálcio ou potássio (LEE; MOONEY, 2012).

Entre as propriedades mais relevantes do ALG evidenciam-se a biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade. Além disso, o ALG tem a capacidade de criar ligações de hidrogênio com glicoproteínas do tipo mucina, promovendo o estabelecimento de importantes interações mucoadesivas, razão pela qual também tem sido usado na área farmacêutica para adesão na mucosa bucal (GONÇALVES et al., 2016; KILICARSLAN et al., 2018; MARTÍN et al., 2015; ZHOU et al., 2018).

Figura 4. Estrutura química da quitosana (A) e do alginato de sódio (B)



Fonte: SILVA et al.2006 e SOUSA et al. 2008

Os filmes bucais são modernas formas farmacêuticas sólidas representadas por películas finas flexíveis, de tamanho pequeno, que apresentam propriedades mucoadesivas, sabor e textura agradáveis, fácil transporte e manuseio. Além disso, não são invasivos e são facilmente dissolvidos favorecendo a absorção direta pela mucosa oral, sendo excelentes sistemas de liberação de fármacos, os quais inclusive podem melhorar a adesão do paciente ao tratamento (NAGARAJU et al., 2013; SILVA et al., 2015).

Os filmes poliméricos podem ser associados com sucesso à TFD. Ferreira et al. (2016) descreveram o desenvolvimento de filmes de QTS e polietilenoglicol contendo porfirina como FS, associados à TFD para o tratamento de câncer, obtendo resultados promissores, com alto rendimento de oxigênio singlete, forte ativação na luz e destruição das células cancerígenas após irradiação, além de baixa toxicidade no escuro (FERREIRA et al., 2016). Alvarez et al. (2012) descreveram a elaboração de filmes a base de polissilsesquioxanos incorporados com porfirina como FS, associados à TFD para a inativação de *C. albicans*, os quais levaram à uma diminuição de 2,5 log (99,7%) da sobrevivência celular da levedura supracitada (ALVAREZ et al., 2012). McCarron et al. (2005) desenvolveram filmes a base de metil éter vinílico e anidrido maleico, utilizando o ácido aminolevulínico como FS para o tratamento de lesões intra-epiteliais vulvares, registrando absorção cutânea com a ativação da luz, o que é um requisito para o sucesso da

TFD de lesões de natureza intra-epitelial (MCCARRON et al., 2005).

A produção dos filmes poliméricos é um método simples e rápido. Eles são constituídos de polímero, plastificante e o composto ativo de interesse, podendo ser incorporados outros componentes, como aromatizantes, corantes, entre outros, a fim de se obter filmes homogêneos, íntegros e com flexibilidade. Os filmes de ALG (FA) são finos, transparentes, uniformes e apresentam estabilidade à temperatura ambiente, flexibilidade e bioadesão. Com isso, tornam-se adequados para uso na cavidade oral (TURBIANI; KIECKBUSCH; GIMENES, 2011; SALAS-VALERO; KIECKBUSCH, 2008; SANTANA, 2010).

Em face ao exposto, é do nosso entendimento que o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas incorporadas com curcumina dispersas em filmes de alginato de sódio associados à TFD, deve representar uma promissora ferramenta nanobiotecnológica visando o tratamento de biofilmes de *S. mutans* e *C. albicans*.

18. CONCLUSÕES

Considerando todos os resultados apresentados, pode-se concluir que os dois sistemas desenvolvidos (filmes e as nanopartículas poliméricas) apresentaram caracterização e parâmetros adequados de obtenção e eficaz aplicação *in vitro*. Diante disto, é importante lembrar que a concentração da CUR testada é eficiente, contudo, a incorporação no sistema pode retardar o efeito antimicrobiano, pois a maioria dos sistemas nanoestruturados tende a ter uma liberação prolongada, fazendo com que o FS demore mais tempo para ser liberado e, quando irradiado, promover a ação antimicrobiana. Os resultados evidenciam que o sistema proposto (FA/NP_CUR) apresentam boas propriedades mucoadesivas e liberação mais adequada (rápida) para aplicação da aTFD e isto pode ser atribuído ao método de obtenção dos filmes, em comparação com as CUR livre e as NP_CUR, as quais demonstraram liberação prolongada. É interessante ressaltar, que esses resultados podem ser aprimorados com o aumento do tempo de pré irradiação e dose aplicada da aTFD. É importante ainda citar que os resultados apresentados neste trabalho podem ser adaptados para outras aplicações na área odontológica, como através da incorporação das NP_CUR de liberação prolongada em enxaguante bucal como um tratamento preventivo de cáries ou até mesmo para outras áreas da saúde devido as diversas propriedades farmacológicas da curcumina.

Portanto, os resultados sugerem que o sistema desenvolvido associado a terapia fotodinâmica antimicrobiana apresentam um potencial promissor para aplicação no tratamento de biofilmes de *S.mutans* devido a redução de $3\log_{10}$ de UFC/mL do tratamento com luz em comparação com o tratamento sem luz.

REFERÊNCIAS

- AL-FATTANI, M. A.; DOUGLAS, L. J.; DOUGLAS, L. J. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* : chemical composition and role in drug resistance. **J Med Microbiol.** v. 55, Pt 8, p. 999–1008, 2006.
- AL-SHAMMERY, D. et al. Scope of antimicrobial photodynamic therapy in Orthodontics and related research: A review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 25, n. February, p. 456–459, 2019.
- ALBERS, V. Archaeal biofilm formation. **Nature Reviews Microbiology**, v.16, n.11, p. 699-713. 2018. DOI: 10.1038/s41579-018-0058-4.
- ALLAKER, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of dental research**, v. 89, n. 11, p. 1175–86, 25 nov. 2010.
- ALVAREZ, M. G. et al. Photodynamic inactivation of *Candida albicans* using bridged polysilsesquioxane films doped with porphyrin. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 13, p. 4032–4039, 2012.
- ALVES, R. C. et al. Critical Reviews in Analytical Chemistry A Critical Review of the Properties and Analytical Methods for the Determination of Curcumin in Biological and Pharmaceutical Matrices. A Critical Review of the Properties and Analytical Methods for the. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 49, n. 2, p.138-149, 2018.
- AURELIO, M. et al. Photodynamic potential of curcumin and blue LED against *Streptococcus mutans* in a planktonic culture. **Photodiagnosis Photodyn Ther.** v. 10, n. 3, p. 313-319. 2013.
- ASHWAR, B. A. et al. Rice starch active packaging films loaded with antioxidantsdevelopment and characterization. **Starch**, v. 67, n. 3-4, p. 294–302, 2015. <https://doi.org/10.1002/star.201400193>.
- ASSIS, O. B. G.; VALMIR L. DA, S. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros**, v. 13, n. 4, p. 223–228, 2003.
- AZIZI, A. et al. Comparison of the effect of photodynamic therapy with curcumin and methylene Blue on *streptococcus mutans* bacterial colonies. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 27, n. May, p. 203–209, 2019.
- BAPAT, R. A. et al. The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 1, p. 85–98, 2019.
- BENOV, L. Photodynamic therapy: Current status and future directions. **Medical Principles and Practice**, v. 24, n. suppl 1, p. 14–28, 2015.
- BENOIT, D. S. W.; SIMS, K. R.; FRASER, D. Nanoparticles for Oral Biofilm Treatments. **ACS Nano**, v. 13, n. 5, p. 4869–4875, 2019.
- BIZERRA, A.; SILVA, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente-RESMA**, n. 2, p. 1–12, 2016.

BHUNCHU, S.; ROJSITTHISAK, P.; ROJSITTHISAK, P. Effects of preparation parameters on the characteristics of chitosanealginate nanoparticles containing curcumin diethyl disuccinate. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 28, p. 64–72, 2015.

BOWEN, W. H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. Interactions in Microenvironments. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 229–242, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>.

BUCHHAMMER, H. M.; MENDE, M.; OELMANN, M. Formation of mono-sized polyelectrolyte complex dispersions: effects of polymer structure, concentration and mixing conditions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 218, n. 1, p. 151–159, 2003.

CARRERA, E. T. et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: A critical review. **Laser Physics**, v. 26, n. 12, 123001, 2016. <http://dx.doi.org/10.1088/1054-660X/26/12/123001>.

CARVALHO, F. C.; CHORILLI, M.; GREMIÃO, M. P. D. Plataformas bio(muco) adesivas poliméricas baseadas em nanotecnologia para liberação controlada de fármacos - propriedades, metodologias e aplicações. **Polimeros**, v. 24, n. 2, p. 203–213, 2014.

CARVALHO, F. C. et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 1–17, 2010.

CHO, H. et al. Redox-sensitive polymeric nanoparticles for drug delivery. **Chemical Communications**, v. 48, n. 48, p. 6043–6045, 2012.

CHOPRA, M. et al. Design of Curcumin Loaded Polymeric Nanoparticles- Optimization, Formulation and Characterization. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 16, n. 9, p. 9432–9442, 2016.

CODEVILLA, C. F. et al. Incorporação da curcumina em sistemas nanoestruturados: Revisão Incorporation of curcumin into nanostructured systems: A review. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas - UFSM**, v. 37, p. 151–163, 2015.

COSTA, P. J. C. DA. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 141–153, 2002.

COSTA, L. et al. Evaluation of resistance development and viability recovery by a non-enveloped virus after repeated cycles of aPDT. **Antiviral Research**, v. 91, n. 3, p. 278–282, 2011.

DASH, M. et al. Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.

DAS, R. K.; KASOJU, N.; BORA, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, n. 1, p. 153–160, 2010.

DE MELO, W. C. M. A. et al. Photodynamic inactivation of biofilm: Taking a lightly colored approach to stubborn infection. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 11, n. 7, p. 669-693, 2013. <http://dx.doi.org/10.1586/14787210.2013.811861>.

DIAS, H. B. et al. LED and low level laser therapy association in tooth bleaching using a novel low concentration H₂O₂/N-doped TiO₂ bleaching agent. **Laser Physics**, v. 26, n. 1, 015602, 2016. <https://doi.org/10.1088/1054-660X/26/1/015602>.

DIAS, S. et al. A administração na mucosa bucal como uma estratégia alternativa à via oral. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde, Porto**, v.4, p. 118-133, 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/417>.

DINIZ, I. M. A. et al. Antimicrobial photodynamic therapy: A promise candidate for caries lesions treatment. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 12, n. 3, p. 511– 518, 2015.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

DOU, L. et al. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, Part B, p. 1377-1383, Oct. 2018. Doi do artigo: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121>.

EMMANUEL, S. Predictive in vitro dissolution tools: Application during formulation development. [Dissertação]. University Clermont-Ferrand 1, França, 2010.

EL MAGHRABY, G. M.; ARAFA, M. F. Alginate-chitosan combinations in controlled drug delivery. In: HASNAIN, M.S.; NAYAK, A.K. (ed.). **Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications**. London, UK: Academic Press; Elsevier, 2019. Chapter 15, p. 339-361.

ELIZABETH, P. S.; NÉSTOR, M. M.; DAVID, Q. G. Nanoparticles as dental drug-delivery systems. In: SUBRAMANI, K.; AHMED, W. **Nanobiomaterials in Clinical Dentistry**. 2nd. ed. Amsterdam, Netherlands: elsevier, 2019. Chapter 23, p. 567-593. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815886-9.00023-1>.

ETCHEVERRY, M. E.; PASQUALE, M. A.; GARAVAGLIA, M. Photodynamic therapy of HeLa cell cultures by using LED or laser sources. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 160, p. 271–277, 2016.

FEKRAZAD, R.; NEJAT, A. H.; KALHORI, K. A. M. Antimicrobial Photodynamic Therapy With Nanoparticles Versus Conventional Photosensitizer in Oral Diseases. In: FICAI, A.; GRUMEZESCU, A.M. **Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Micro and Nano Technologies**. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2017. Chapter 10, p. 237–259. (Nanostructures in Therapeutic Medicine Series). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46152-8.00010-X>.

FERRAZ, R. C. M. C. et al. Chemiluminescence as a PDT light source for microbial control. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 103, n. 2, p. 87–92, 2011.

- FERREIRA, D. P. et al. Porphyrin dye into biopolymeric chitosan films for localized photodynamic therapy of cancer. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 160–171, 2016.
- FONSECA-SANTOS, B.; GREMIÃO, M. P. D.; CHORILLI, M. A simple reversed phase high-performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of in situ gelling curcumin-loaded liquid crystals in in vitro performance tests. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 7, p. 1029–1037, 2017.
- FORSSTEN, S. D.; BJÖRKLUND, M.; OUWEHAND, A. C. Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. **Nutrients**, v. 2, n. 3, p. 290–298, 2010. doi: 10.3390/nu2030290. Epub 2010 Mar 2.
- FRADE, M. L. et al. Assessment of chitosan-based hydrogel and photodynamic inactivation against propionibacterium acnes. **Molecules**, v. 23, n. 2, 473, 2018. doi: 10.3390/molecules23020473.
- FULAZ, S. et al. Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 11, p. 915–926, 2019.
- FERNÁNDEZ, L.; ELENA, D.; CEBRI, M. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 4, p. 415–420, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0305-1>.
- FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; VEIGA, F.; SOUSA, J. Starch-based coatings for colon-specific delivery. Part II: Physicochemical properties and in vitro drug release from high amylose maize starch films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, p. 587-594, 2009b.
- GHANBARZADEH, B. et al. Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability , surface energy and microstructure properties of zein films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 1191– 1197, 2007.
- GONÇALVES, V. S. S. et al. Alginate-based hybrid aerogel microparticles for mucosal drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 107, p. 160–170, 2016.
- GUERRA, R. et al. Thermal behaviour of curcumin. n. January, 2012. GHASEMLOU, M. et al. Physical , mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1117– 1126, 2013.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 1, p. 206-211, 1993.
- HOBDELL, M. H.; CHHER, T. Oral Health and Disease in the Tropics. In: RYAN, E. T. et al. (ed.). **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases**. 10th. ed. Elsevier, 2012. Chapter 15, p. 127-132. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-55512-8.00015-6>.
- HU, X. et al. Antimicrobial Photodynamic Therapy to Control Clinically Relevant Biofilm Infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, Article 1299, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01299>.

HUANG, R.; LI, M.; GREGORY, R. L. Bacterial interactions in dental biofilm. **Virulence**, v. 2, n. 5, p. 435-444. 2011. doi: 10.4161/viru.2.5.16140. Epub 2011 Sep 1.

JAMAL, M. et al. Bacterial biofilm and associated infections. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n.1, p. 7-11, 2018.

JANA, S. et al. Characterization of Physicochemical and Thermal Properties of Chitosan and Sodium Alginate after Biofield Treatment. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 6, n. 10, 100043, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.4172/21532435.1000430>.

JARAI, B. M. et al. Polymeric Nanoparticles. In: Eun Ji Chung, **Nanoparticles for Biomedical Applications: Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications**. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2020. Chapter 18, p. 303-324. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816662-8.00018-7>.

KARYGIANNI, L. et al. Natural antimicrobials and oral microorganisms: A systematic review on herbal interventions for the eradication of multispecies oral biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. jan, p. 1–17, 2016.

KHALID, K. et al. Advanced in developmental organic and inorganic nanomaterial : a review. **Bioengineered**, v. 11, n. 1, p. 328–355, 2020.

KHUNAWATTANAKUL, W. et al. Novel chitosan – magnesium silicate nanocomposite film coatings for modified-release tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 407, n. 1–2, p. 132–141, 2011.

KIKUCHI, T. et al. Adjunctive application of antimicrobial photodynamic therapy in nonsurgical periodontal treatment: A review of literature. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 24111–24126, 2015.

KILICARSLAN, M. et al. Preparation and evaluation of clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 123, n. August, p. 441–451, 2018.

KIZILAY, E.; KAYITMAZER, A. B.; DUBIN, P. L. Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, n. 1–2, p. 24–37, 2011.

KLEIN, M. I. et al. Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, n. February, p. 1–8, 2015.

KOO, H.; ANDES, D. R.; ID, D. J. K. Candida – streptococcal interactions in biofilm-associated oral diseases. **Plos Pathogens**, v.14, n.12, e1007342, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007342>.

KOO, H.; BOWEN, W. H. Candida albicans and Streptococcus mutans: A potential synergistic alliance to cause virulent tooth decay in children. **Future Microbiology**, v. 9, n. 12, p. 1295–1297, 2014.

KUMAR, M. N. V. R. et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6017–6084, 2004.

KWIATKOWSKI, S. et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, n. June, p. 1098–1107, 2018.

KORSMEYER, R. W., GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal Pharmaceutics**, v. 15, p. 25–35, 1983.

LAFFLEUR, F.; RÖTTGES, S. Mucoadhesive approach for buccal application: Preactivated chitosan. **European Polymer Journal**, v. 113, n. November 2018, p. 60–66, 2019.

LAMONT, R. J.; KOO, H.; HAJISHENGALLIS, G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 12, p. 745–759, 2018.

LARANJEIRA, M. C. M.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672–678, 2009.

LBOUTOUNNE, H. Dental Medicine Nanosystems: Nanoparticles and their use in Dentistry and Oral Health Care. **International Journal of Dentistry and Oral Health**, v. 3, n. 10, p. 150–162, 2017.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 37, n. 1, p. 106–126, 2012.

LEMOS, J. A. et al. The Biology of Streptococcus mutans. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 1, 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018, 2019. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018.

LIU, J. et al. Chitosan-sodium alginate nanoparticle as a delivery system for ϵ -polylysine: Preparation, characterization and antimicrobial activity. **Food Control**, v. 91, p. 302–310, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.020>.

LIU, Y. et al. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. **Journal of Clinical and Translational Research**, v. 1, n. 3, p. 140–167, 2015a.

LIU, Y. et al. Temperature-dependent structure stability and in vitro release of chitosan-coated curcumin liposome. **Food Research International**, v. 74, p. 97–105, 2015b.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.

LU, X. Y. et al. Polymer nanoparticles. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 104, p. 299–323, 2011. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416020-0.00007-3>.

LUO, Y.; WANG, Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 353–367, 2014.

MA, J. et al. Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans* biofilms in vitro. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 27, n. June, p. 280–287, 2019.

MANGOLIM, C. S. et al. Curcumin- β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterisation by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacoustic spectroscopy, and food application. **Food Chemistry**, v. 153, p. 361–370, 2014.

MARSH, P. D.; HEAD, D. A.; DEVINE, D. A. Ecological approaches to oral biofilms: Control without killing. **Caries Research**, v. 49, suppl 1, p. 46–54, 2015.

MARTÍN, M. J. et al. Development of alginate microspheres as nystatin carriers for oral mucosa drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 140–149, 2015.

MARTINS, A. F. et al. Characterization of N-trimethyl chitosan/alginate complexes and curcumin release. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 57, p. 174–184, 2013.

MATOS, B. N. et al. Chitosan nanoparticles loading oxaliplatin as a mucoadhesive topical treatment of oral tumors: iontophoresis further enhances drug delivery ex vivo. **International journal of biological macromolecules**, v. 154, p. 1265-1275, 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.001. 2019.

MAYER, F. L. et al. Candida albicans pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013. doi: 10.4161/viru.22913. Epub 2013 Jan 9.

MAZZARINO, L.; BORSALI, R.; LEMOS-SENNA, E. Mucoadhesive films containing chitosan-coated nanoparticles: A new strategy for buccal curcumin release. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 11, p. 3764–3771, 2014.

MENEGUIN, A.B et al. Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 140–149, 2014.

MCCARRON, P. A. et al. Evaluation of a water-soluble bioadhesive patch for photodynamic therapy of vulval lesions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 293, n. 1–2, p. 11–23, 2005.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 385, n. 1–2, p. 113–142, 2010.

MORALES, J. O.; MCCONVILLE, J. T. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 77, n. 2, p. 187–199, 2011.

MUKHOPADHYAY, P. et al. Preparation, characterization and in vivo evaluation of pH sensitive, safe quercetin-succinylated chitosan-alginate core-shell-corona nanoparticle for diabetes treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 182, p. 42–51, 2018.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol-plasticized vs glycerol-plasticized whey-protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 4, p. 841- 845, 1994

MUMUNI, M. A. et al. Insulin-loaded mucoadhesive nanoparticles based on mucin-chitosan complexes for oral delivery and diabetes treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, 115506. 2019. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115506. Epub 2019 Nov 4.

MAKHLOF, A.; TOZUKA, Y.; TAKEUCHI, H. Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 42, n. 5, p. 445-451, 2011.

NAFEE, N. Nanocarriers Againstacterial Biofilms: Current Status and Future Perspectives. In: RAI, M.; KON, K. (ed.). **Nanotechnology in Diagnosis, Treatment and Prophylaxis of Infectious Diseases**. London, UK: Academic Press; Elsevier, 2015. Chapter 11, p. 167-189. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801317-5.00011-6>.

NAGARAJU, T. et al. Comprehensive Review On Oral Disintegrating Films. **Current Drug Delivery**, v. 10, n. 1, p. 96–108, 2013.

NAIR, A. B. et al. In vitro techniques to evaluate buccal films. **Journal of Controlled Release**, v. 166, n. 1, p. 10–21, 2013.

NETO, C. G. T. et al. Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, n. 2, p. 97–103, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.02.022>.

NOMURA, D.A.; ENOKI, T.A.; SILVEIRA, N.P.; LAMY, M.T. Discussing the use of light scattering in the characterization of polydisperse colloidal systems. Trabalho apresentado In: XLII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOFÍSICA, 2013, Carlos Paz, Córdoba, Argentina.

OMS.Organização Mundial da Saúde. **Resistência microbiana: saiba o que é e como evitar**. 2020.Disponível em:
<<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/resistencia-microbiana-saiba-o-que-e-e-como-evitar> >

ONISZCZUK, A. et al. The potential of photodynamic therapy (PDT)— Experimental investigations and clinical use. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 83, p. 912–929, 2016.

OZTURK, I. et al. Antifungal photodynamic activities of phthalocyanine derivatives on *Candida albicans*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 30, n. February, Article 101715, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101715>.

PAIVA, N.A. **Citotoxicidade de curcumina presente em nanoparticulas de quitosana/sultato de condroitina contendo lecitina**. [Dissertação]. Universidade de Brasília, 2015.

PANKEY, G. A.; SABATH, L. D. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram- Positive Bacterial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 6, p. 864-870, 2004.

LEITE, D.P.V.; PAOLILLO, F.R.; PARMESANO,T. N.; FONTANA,C.R.; BAGNATO, V.S. Effects of Photodynamic Therapy with Blue Light and Curcumin as Mouth Rinse for Oral Disinfection: A Randomized Controlled Trial. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 32, n. 11, p. 627–632, 2014. <https://doi.org/10.1089/pho.2014.3805>.

LIMA, J. E. DE O. Cárie dentária: um novo conceito. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 12, n. 6, p. 119–130, 2007.

PEER, D. et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy.pdf. **Nature Nanotechnology**, v. 2, p. 751–760, 2007.

PEH, K. K.; WONG, C. F. Polymeric Films as Vehicle for Buccal Delivery: Swelling, Mechanical, and Bioadhesive Properties. v. 2, n. 2, p. 53–61, 1999.

PEÑARANDA, D. F. S. **Preparação e caracterização de matrizes nanoparticuladas na base de óxido de zinco e polímeros biodegradáveis para a liberação controlada de antimicrobianos**. [Tese]. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017. <http://hdl.handle.net/1843/SFSA-AP9T49>.

PREIS, M.; WOERTZ, .; KLEINE U E, P. Oromucosal film preparations: classification and characterization methods. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, n. 9, p. 1303-1317, 2013. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.804058>.

QAYYUM, S.; KHAN, A. U. Nanoparticles vs. biofilms: a battle against another paradigm of antibiotic resistance. **MedChemComm**, v. 7, p. 1479–1498, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6MD00124F>.

RAAFAT, D.; SAHL, H. G. Chitosan and its antimicrobial potential - A critical literature survey. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 186–201, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x>.

RAFIEE, A. et al. Comparison of chitosan, alginate and chitosan/alginate nanoparticles with respect to their size, stability, toxicity and transfection. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 5, p. 372–377, 2014.

RHIM, J. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 323–330, May 2004. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.09.008>.

ROBERTSON, G. **Food packaging: principles and practice**. New York: Marcel Dekker, 1993. (Packaging and converting technology, 6.)

SALAS-VALERO, L. M.; KIECKBUSCH, T.G. **Confecção e caracterização de filmes a base de alginato de sódio reticulados com ions estrôncio (Sr++)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Belo Horizonte-Minas Gerais, 2008.

SANTANA, A.A. **Influência de características físicas e químicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio**. [dissertação]. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 176 p. 2010.

SANTEZI, C.; REINA, B. D.; DOVIGO, L. N. Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for the treatment of oral infections—A review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 21, p. 409–415, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.01.016>.

SANTIN, G. C. et al. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: A systematic review of the literature. **Scientific World Journal**, v. 2014, Article ID 824538, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/824538>.

SANTOS, D. DE A. et al. A novel technique of antimicrobial photodynamic therapy—aPDT using 1,9-dimethyl-methylene blue zinc chloride double salt-DMMB and polarized light on Staphylococcus aureus. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 200, p. 111646, september 2019. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111646.

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 540–546, 2015.

SCHERER, K. M. et al. New Approaches to Photodynamic Therapy from Types I, II and III to Type IV Using One or More Photons. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 2, p. 171–189, 2017. DOI: <http://10.2174/1871520616666160513131723>.

ŞENEL, S. Potential applications of chitosan in oral mucosal delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 23–32, 2010. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(10\)50003-0](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(10)50003-0).

SEPÚLVEDA, A. A. L. et al. Efficacy of photodynamic therapy using TiO₂ nanoparticles doped with Zn and hypericin in the treatment of cutaneous Leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 30, Article 101676, June 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101676>.

SERIES, C. Antimicrobial photodynamic of blue LED for activation of curcumin extract (*curcuma longa*) on staphylococcus aureus bacteria, an in vitro study. 2018. **Journal of Physics: Conference Series** v. 1120, Article 012073, 2018. doi:10.1088/1742-6596/1120/1/012073.

SILVA, H. S. R. C; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776–785, 2006.

SILVA, B. M. A. et al. Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 494, n. 1, p. 537–551, 2015.

SIMONOSKA CRCAREVSKA, M.; GLAVAS DODOV, M.; GORACINOVA, K. Chitosan coated Ca-alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 565–578, 2008.

SOARES, J. P. et al. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. **Eclética Química**, v. 29, n. 2, p. 53–56, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702004000200009>.

SOARES, P. I. P. et al. Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems for doxorubicin: Optimization and modelling. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 304–312, 2016.

SORASITTHIYANUKARN, F. N. et al. Chitosan/alginate nanoparticles as a promising approach for oral delivery of curcumin diglutaric acid for cancer treatment. **Materials Science and Engineering C**, v. 93, p. 178–190, 2018.

SORASITTHIYANUKARN, F. N. et al. Chitosan/alginate nanoparticles as a promising carrier of novel curcumin diethyl diglutarate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 1125–1136, 2019.

SOUSA, A. M. M. **Aplicação de biopolímeros extraídos de algas na produção de embalagens biodegradáveis**. [Dissertação]. Universidade do Porto, Porto, 2008.

SUN, X. et al. Nanoparticles having amphiphilic silane containing Chlorin e6 with strong anti-biofilm activity against periodontitis-related pathogens. **Journal of Dentistry**, v. 81, p. 70–84, February 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.12.011>.

- TAN, M. L.; CHOONG, P. F. M.; DASS, C. R. Recent developments in liposomes, microparticles and nanoparticles for protein and peptide drug delivery. **Peptides**, v. 31, n. 1, p. 184–193, 2010.
- TAVARES, A. et al. Antimicrobial photodynamic therapy: Study of bacterial recovery viability and potential development of resistance after treatment. **Marine Drugs**, v. 8, n. 1, p. 91–105, 2010.
- TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; JESUS, P. DA C. C. DE. Antimicrobial Photodynamic Therapy (APDT) Action Based on Nanostructured Photosensitizers. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). **Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics**. Kidlington, Oxford: Elsevier, 2017. Chapter 2, p. 9-29. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52725-5.00019-8>.
- TITUS, D.; JAMES JEBASEELAN SAMUEL, E.; ROOPAN, S. M. Nanoparticle characterization techniques. In: PAL, G.; RAI, P.; PANDEY, A. (ed). **Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles**. Elsevier, 2019. Chapter 2, p. 303-319. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102579-6.00012-5>.
- TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, T. G.; GIMENES, M. L. Release of calcium benzoate from films of sodium alginate crosslinked with calcium ions. **Polimeros: Ciência e Tecnologia**, v. 21, n. 3, p. 175–181, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-14282011005000034>.
- USBERCO; SALVADOR. **Química. volume 2: físico-química**. 12 ed.reform. São Paulo: Saraiva, 2009.
- USP. **United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 34-NF 29)**. 2011.
- WANG, F. et al. Pharmacokinetic studies and anticancer activity of curcumin-loaded nanostructured lipid carriers. **Acta Pharmaceutica**, v. 67, n. 3, p. 357–371, 2017.
- WANG, H. et al. Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan , sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 283, p. 397-403, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.022>.
- XU, L. et al. Polymeric nanoparticles responsive to intracellular ROS for anticancer drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 181, p. 252–260, may 2019.
- YEKEEN, N. et al. Synergistic influence of nanoparticles and surfactants on interfacial tension reduction, wettability alteration and stabilization of oil-in-water emulsion. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 186, Article 106779, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2019.106779>.
- YONCHEVA, K. et al. Optimization and in-vitro/in-vivo evaluation of doxorubicin- loaded chitosan-alginate nanoparticles using a melanoma mouse model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 556, p. 1–8, 2019. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.11.070.
- ZHOU, M. et al. Alginate hydrogel beads as a carrier of low density lipoprotein/pectin nanogels for potential oral delivery applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 859–864, 2018.