

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 13/12/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

STÉPHANIE ROCHETTI DO AMARAL

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ENSAIOS
BIOLÓGICOS *IN VITRO* DE NANOCÁPSULAS DE QUINIZARINA
PARA USO EM TERAPIA FOTODINÂMICA COM POTENCIAL DE
APLICAÇÃO EM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS**

ARARAQUARA, SP

2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Campus de Araraquara



Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

STÉPHANIE ROCHETTI DO AMARAL

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ENSAIOS
BIOLÓGICOS *IN VITRO* DE NANOCÁPSULAS DE QUINIZARINA
PARA USO EM TERAPIA FOTODINÂMICA COM POTENCIAL DE
APLICAÇÃO EM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Lucas Primo

ARARAQUARA, SP

2023

A485d Amaral, Stéphanie Rochetti do.
Desenvolvimento, caracterização e ensaios biológicos *in vitro* de nanocápsulas de quinizarina para uso em terapia fotodinâmica com potencial de aplicação em doenças inflamatórias / Stéphanie Rochetti do Amaral. - Araraquara, 2023.
78 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Fernando Lucas Primo.

1. Quinizarina. 2. Nanocápsulas. 3. Fotodinâmica. 4. Nanotecnologia. 5. Psoríase. I. Primo, Fernando Lucas, orient. II. Título.

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

CAPES: 33004030078P6

Esta ficha não pode ser modificada



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Campus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: **DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E ENSAIOS BIOLÓGICOS IN VITRO DE NANOCÁPSULAS DE QUINIZARINA PARA USO EM TERAPIA FOTODINÂMICA COM POTENCIAL DE APLICAÇÃO EM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS**

Autora: Stéphanie Rochetti do Amaral

Orientador: Prof. Dr. Fernando Lucas Primo

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS, área de conhecimento: Farmácia.

Prof. Dr. Fernando Lucas Primo

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Câmpus de Araraquara.

Prof. Dr. Marigilson Pontes de Siqueira Moura

Colegiado Acadêmico de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco – Câmpus Petrolina

Profa. Dra. Carla Raquel Fontana

Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Câmpus de Araraquara.

Araraquara, 13 de Dezembro de 2023.

RESUMO

A psoríase consiste em uma doença cutânea inflamatória crônica, com mecanismos imunopatogênicos complexos, sendo caracterizada pela hiperproliferação de queratinócitos, responsáveis pelo desenvolvimento das lesões cutâneas características. Contudo, os tratamentos utilizados atualmente não proporcionam ação direcionada, sendo desejável o desenvolvimento de terapias mais específicas. No presente trabalho foram desenvolvidas nanocápsulas contendo Quinizarina (NC/QZ) avaliando sua ação em modelo de processo inflamatório *in vitro* com ação da TFD. Os nanomateriais foram desenvolvidos através da técnica da deposição interfacial e caracterizados através da técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz, os quais apresentaram características físico-químicas características e estáveis durante o período de análise. A incorporação da Quinizarina não provocou alterações no perfil fotofísico do fotossensibilizador, sendo possível a observação dos grupamentos químicos da molécula por meio da espectroscopia de FTIR. A quantificação realizada mostrou uma taxa de incorporação de 99% para o ativo associado ao nanocarreador. Os estudos de viabilidade preliminares com células NIH/3T3 mostraram ausência de citotoxicidade para a formulação de NC/QZ nas concentrações de 2,5, 5 e 15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, QZ livre (50 e 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e na NC/Vazia a 50% (v/v). A permeação do nanomaterial observada em modelo de matriz extracelular e pele de porco apresentou resultados promissores, permeando todas as camadas analisadas. O estudo de *uptake celular* mostrou uma maior internalização celular no composto nanoencapsulado quando comparado com a sua forma livre. O estudo de viabilidade celular com células HaCaT apresentou toxicidade apenas na concentração mais elevada (50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). A indução do processo inflamatório *in vitro* foi desenvolvida adequadamente, onde foi possível observar a expressão de citocinas importantes no processo inflamatório. O tratamento realizado com TFD foi altamente eficiente quando comparado com a ledterapia e nanofármacos isolados. A partir dos resultados obtidos é possível indicar que o nanomaterial desenvolvido apresenta parâmetros físico-químicos satisfatórios, além de não apresentar citotoxicidade nas concentrações citadas, evidenciando sua biocompatibilidade *in vitro*, sendo observado que a nanotecnologia proporcionou uma maior internalização celular do ativo, resultando em uma ação direcionada, ainda, a TFD se mostrou um potencial candidato no tratamento de doenças autoimunes, diminuindo a concentração de citocinas no modelo inflamatório *in vitro*, possibilitando assim, experimentos subsequentes direcionados à terapias específicas.

Palavras-chave: quinizarina; nanocápsulas; fotodinâmica; nanotecnologia; psoríase.

ABSTRACT

Psoriasis constitutes a chronic inflammatory skin disease with complex immunopathogenic mechanisms which is characterized by the hyperproliferation of keratinocytes, responsible for the development of characteristic skin lesions. Currently used treatments, however, do not provide targeted action and the development of more specific therapies is desirable. In this study, nanocapsules containing Quinizarin (NC/QZ) were developed, and their action evaluated in an *in vitro* inflammatory process model with PDT action. The nanomaterials were developed using the interfacial deposition technique and characterized using the Dynamic Light Scattering technique, which showed characteristic and stable physicochemical characteristics during the analysis period. The incorporation of quinizarin did not cause any changes to the photophysical profile of the photosensitizer, and it was possible to observe the chemical groups of the molecule using FTIR spectroscopy. Quantification showed an incorporation rate of 99% for the active ingredient associated with the nanocarrier. Preliminary viability studies with NIH/3T3 cells showed no cytotoxicity for the NC/QZ formulation at concentrations of 2.5, 5 and 15 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, free QZ (50 and 70 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) and NC/empty at 50% (v/v). The permeation of the nanomaterial observed in an extracellular matrix model and pig skin showed promising results, permeating all the layers analyzed. The cellular uptake study showed greater cellular internalization of the nanoencapsulated compound when compared to its free form. The cell viability study with HaCaT cells showed toxicity only at the highest concentration (50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). The inflammatory process was properly induced *in vitro*, where it was possible to observe the expression of important cytokines in the inflammatory process. The treatment carried out with PDT was highly efficient when compared to LED therapy and nanopharmaceuticals alone. Based on the results obtained, it is possible to indicate that the nanomaterial developed has satisfactory physical-chemical parameters, as well as not showing cytotoxicity at the concentrations mentioned, demonstrating its biocompatibility *in vitro*, and it was observed that nanotechnology provided greater cellular internalization of the active ingredient, resulting in a targeted action. Furthermore, PDT proved to be a potential candidate in the treatment of autoimmune diseases, reducing the concentration of cytokines in the inflammatory model *in vitro*, thus enabling subsequent experiments aimed at specific therapies.

Keywords: quinizarin; nanocapsules; photodynamic; nanotechnology; psoriasis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Psoríase.....	15
2.2 Terapia Fotodinâmica.....	18
2.3 Fotossensibilizadores (FS).....	20
2.4 Nanotecnologia e Nanocarreadores.....	23
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos Específicos.....	25
4. CONCLUSÕES.....	26
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Ilustração do modelo patogênico baseado no eixo IL-23/IL-17 induzindo o desenvolvimento do fenótipo da psoríase. O eixo IL-23/IL-17 encontra-se destacado em vermelho, enquanto outros sinais imunológicos se encontram em azul. IFN: interferon; IL: interleucina; KC: queratinócito; mDC: células dendríticas mielóides; TNF: fator de necrose tumoral; ILC3: células linfoides inatas. Fonte: Adaptado de CHIRICOZZI, et al., 2018. 17
- Figura 2. Ilustração sistemática dos mecanismos de reação da TFD. Fonte: Adaptado de KWIATKOWSKI, et al., 2018. 20
- Figura 3. Estrutura química da Quinizarina (1,4 di-hidroxi-antraquinona). Fonte: autora..... 23

LISTA DE ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$ Oxigênio Singleto

ACN Acetonitrila

DLS Dynamic Light Scattering – Espalhamento dinâmico de luz

EROS Espécies Reativas de Oxigênio

FS Fotossensibilizador

FTIR Infravermelho por transformada de Fourier

IFN – γ Interferon gama

IL Interleucina

NC Nanocápsula polimérica

NC/QZ Nanocápsula com Quinizarina

NC/Vazia Nanocápsula sem o fotossensibilizador

PdI Índice de polidispersidade

PDT Photodynamic Therapy

PLGA Poli-láctico-co-glicólico

QZ Quinizarina

S⁰ Estado fundamental

S¹ Estado singleto excitado

T¹ Estado tripleto excitado

TFD Terapia Fotodinâmica

Th17 Células T auxiliares

TNF- α Fator de Necrose Tumoral Alfa

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Lucas Primo, pelos anos de orientação, ensinamentos, confiança e pela amizade que construímos durante todo esse tempo.

À minha família pelo apoio e incentivo incondicional.

Ao meu irmão, a quem devo todo o incentivo para permanecer na área acadêmica.

Às amigas Mariza, Camila, Brenda e Isabella pela amizade sincera durante esses anos e por todo suporte.

Ao meu grupo de pesquisa, GNanoEngineers do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da FCFAr/UNESP por toda experiência compartilhada e todo auxílio durante essa pesquisa.

Aos técnicos Adriana, Ana, Flavio e Matheus pelo profissionalismo e disposição. A todos os amigos e servidores do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Ao Programa de Pós-graduação de Ciências Farmacêuticas, por toda ajuda e pela oportunidade que me foi proporcionada durante o CAPES PrInt.

À Pro-Reitoria de Pós-Graduação da UNESP (ProPG) e a CAPES pela capacitação em missão realizada no Programa Institucional de Internacionalização (Print-UNESP) Processo n. 88887.839000/2023-00, realizado junto à *University of Birmingham* no Reino Unido.

Ao Prof. Dr. Liam Grover da *University of Birmingham* pela oportunidade de colaboração e por todo aprendizado oferecido no *Healthcare Technologies Institute* (HTI).

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP – Araraquara.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado que possibilitou a realização dessa pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

1. INTRODUÇÃO

A psoríase se trata de uma doença cutânea, crônica a qual envolve respostas inflamatórias multifatoriais ligadas a respostas autoimunes altamente complexas, possuindo impactos significativos na vida dos indivíduos que possuem, sendo que nos últimos anos, tem-se observado um aumento nos casos dessa doença, apresentando taxas de prevalência mundial entre 0,09% e 11,4% (HARI et al., 2022; MASCHARENHAS- MELO et al., 2022). Caracteriza-se pelo crescimento excessivo e diferenciação anormal dos queratinócitos levando a lesões cutâneas, resultado de estímulos inflamatórios e angiogênicos, sendo que em qualquer tipo clínico da doença, o desenvolvimento sempre é ligado ao aumento das expressões de células imunes e citocinas inflamatórias (HARI et al., 2022; JIN et al., 2015).

Atualmente, são utilizados como métodos para o tratamento da psoríase a terapia tópica, a fototerapia e terapia sistêmica (JIN et al., 2015). A primeira linha de tratamento consiste na terapia tópica, caso esse tratamento não seja mais eficaz, parte-se para a fototerapia e medicamentos sistêmicos, contudo, o problema relacionado a esses métodos, consiste nos efeitos colaterais indesejáveis, que podem envolver náuseas, irritações cutâneas, hepatotoxicidade e entre outros, sendo necessário então o desenvolvimento de alternativas terapêuticas com menores efeitos adversos secundários e mais eficazes (MASCHARENHAS-MELO et al., 2022).

Neste contexto, a Terapia Fotodinâmica (TFD), ou na língua inglesa *Photodynamic Therapy* (PDT), consiste em uma modalidade terapêutica amplamente utilizada em complemento clínico oncológico, e com resultados promissores em

pacientes com vários tipos de doenças de pele superficiais, inclusive a psoríase (LI et al., 2023; WANG et al., 2022).

O mecanismo central de ação da TFD baseia-se em reações fotoquímicas controladas, que ocorrem pela transferência de energia após a excitação de um composto, denominado fotossensibilizador, em um comprimento de onda específico do espectro-eletromagnético da luz, e resultando na produção de espécies químicas excitadas como o oxigênio singleto e outras espécies reativas de oxigênio, os quais podem induzir alteração no metabolismo celular de forma controlada, inclusive com indução de morte celular via apoptose e/ou necrose (JIN et al., 2015).

Um dos maiores desafios da TFD consiste na escolha da molécula do fotossensibilizador mais adequado, o qual deve apresentar algumas características essenciais muito importantes para sua aprovação em TFD, como afinidade biológica, biodistribuição e, principalmente, potencial fotodinâmico adequada para aplicação terapêutica (WANG et al., 2022). Nesta proposta, as Antraquinonas, que são corantes fenólicos utilizados há anos como pigmentos naturais, possuem atividades biológicas e farmacológicas primárias comprovadas como ação antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana (REE et al., 2021), e como potenciais compostos fotossensibilizadores. Contudo, são encontradas algumas limitações ao uso das Antraquinonas em TFD, visto sua baixa solubilidade em meio aquoso, podendo ocasionar a falta de seletividade no tratamento além de ineficácia farmacológica. Desta forma, a nanotecnologia farmacêutica é um recurso valioso, a qual pode influenciar de forma significativa na utilização de derivados antraquinônicos em TFD, bem como sua liberação controlada e sustentada como estratégia para o sucesso terapêutico desejado (AMANTINO et al., 2020).

Nesse contexto, o presente trabalho de pesquisa busca o desenvolvimento de uma nova formulação baseada na nanoencapsulação da Quinizarina (derivado de Antraquinona), sendo um potencial tratamento para doenças autoimunes, como a psoríase, unindo os princípios da TFD com a Nanotecnologia Farmacêutica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Psoríase

Psoríase consiste em uma doença crônica de pele inflamatória autoimune (QIAO, et al., 2019), causada devido a fatores genéticos e ambientais, afetando cerca de 2-3% da população mundial (JYOTHI, et al., 2021). A manifestação mais comum da doença se dá por meio de placas crônicas, chamada de psoríase vulgar, a qual se manifesta como placas de área vermelha, escamosas e bem demarcadas na pele inflamada. Essa inflamação é resultado da hiperproliferação de queratinócitos, onde geralmente é observado um aumento de até oito vezes no *turnover* das células da epiderme, desencadeando assim um espessamento da epiderme e diferenciação aberrante dos queratinócitos (BALIWAG; BARNES; JOHNSTON, 2015). Múltiplas complicações, como doenças cardiovasculares, foram associadas à psoríase, sugerindo que se pode tratar também de uma doença sistêmica, que ainda muitas vezes pode persistir por toda a vida do paciente (DENG, et al., 2021).

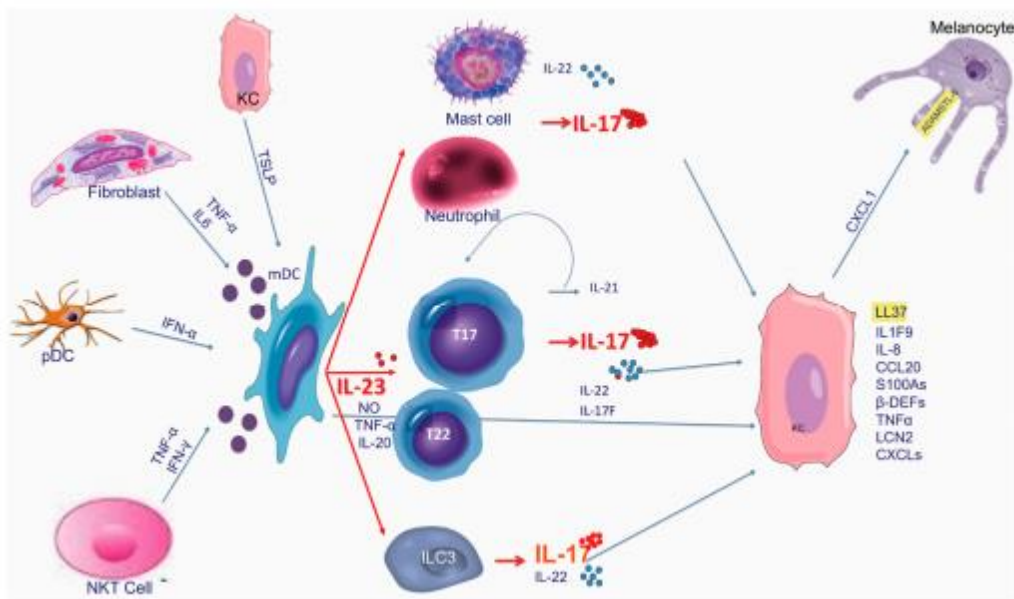
O mecanismo inflamatório da psoríase envolve a presença de queratinócitos, leucócitos, células T, macrófagos, neutrófilos, mastócitos, células dendríticas e suas vias migratórias em direção à epiderme, seguido pela liberação de citocinas inflamatórias (ALEEM; TOHID, 2018). Estudos indicam que, a maturação das

células-T em células Th17, através da influência de IL-6 e outras citocinas, acabam levando os neutrófilos para uma localização específica, sendo que os níveis de IFN – γ e TNF – α podem estar elevados e a presença de células Th125 ou Th17 aumenta a inflamação. As vias inflamatórias são iniciadas pela liberação descontrolada de citocinas IL – 1, IL – 6 e TNF- α devido à atividade das células dendríticas e T (ALEEM; TOHID, 2018). A amplificação da inflamação psoriática é influenciada pela liberação de citocinas IL-17, interferon (IFN)- γ , fator de necrose tumoral (TNF)- α e IL-22, as quais mediam os efeitos sobre os queratinócitos (KIM, KRUEGER, 2015). Outra citocina com ação direta no mecanismo inflamatório da psoríase consiste na IL-1 β , sendo classificada como pró-inflamatória com papel altamente importante no desenvolvimento da doença, sendo crítica na ativação de células T produtoras de IL-17 (CAI et al., 2019).

Recentemente, uma caracterização precisa das vias imunológicas envolvidas, levaram a reconhecer o papel de subconjuntos específicos e seus produtos, como a influência do eixo IL-23/IL-17, sendo a IL-23 o indutor mais potente envolvido na produção de IL-17 por diferentes tipos de células (células T (Th17), neutrófilos, mastócitos), as quais possuem fortes contribuições na patogênese da psoríase (CHIRICOZZI, et al., 2018). A imunopatogênese da psoríase baseada no eixo IL-23/IL-17, observada na Figura 1, pode ser elucidada pelos eventos subsequentes, sendo que quando fatores desencadeantes causam lesão cutânea, os queratinócitos ativam células dendríticas mielóides (TNF α , NO, e IL-20), com consequente produção de IL-23 (IFN- α , TSLP), que, por sua vez, estimula principalmente os subconjuntos de células T, mas também ILC3 (IL-22, IL-17F e IL-21), mastócitos e neutrófilos, para secretar IL-17, contribuindo para o desenvolvimento da pele psoriática. As citocinas liberadas por estas células estimulam ainda mais os

queratinócitos e o circuito imunológico é amplificado, promovendo a sua hiperproliferação bem como a expressão de citocinas e quimiocinas (CHIRICOZZI, et al., 2018; KIM; KRUEGER, 2015).

Figura 1. Ilustração do modelo patogênico baseado no eixo IL-23/IL-17 induzindo o desenvolvimento do fenótipo da psoríase. O eixo IL-23/IL-17 encontra-se destacado em vermelho, enquanto outros sinais imunológicos se encontram em azul. IFN: interferon; IL: interleucina; KC: queratinócito; mDC: células dendríticas mielóides; TNF: fator de necrose tumoral; ILC3: células linfóides inatas. Fonte: Adaptado de CHIRICOZZI, et al., 2018.



Diversos tipos de terapias convencionais são utilizados atualmente no tratamento da psoríase, incluindo terapias orais, injetáveis, tópicas e fototerapia. Contudo, a utilização de medicamentos como esteroides, metotrexato, ciclosporina em altas doses levam à efeitos indesejados e tóxicos, resultando na supressão do sistema imunológico como um todo, podendo levar até ao comprometimento de órgãos vitais em alguns casos com administração à longo prazo. Em razão desse fato, os sistemas de administração de fármacos utilizados não conseguem tratar com sucesso a psoríase de fato, necessitando-se então do desenvolvimento de novas

terapias com maior direcionamento do fármaco, atividade biológica aprimorada e biodisponibilidade (TAMBE; NAUTIYAL; WAIRKAR, 2021).

2.2 Terapia Fotodinâmica

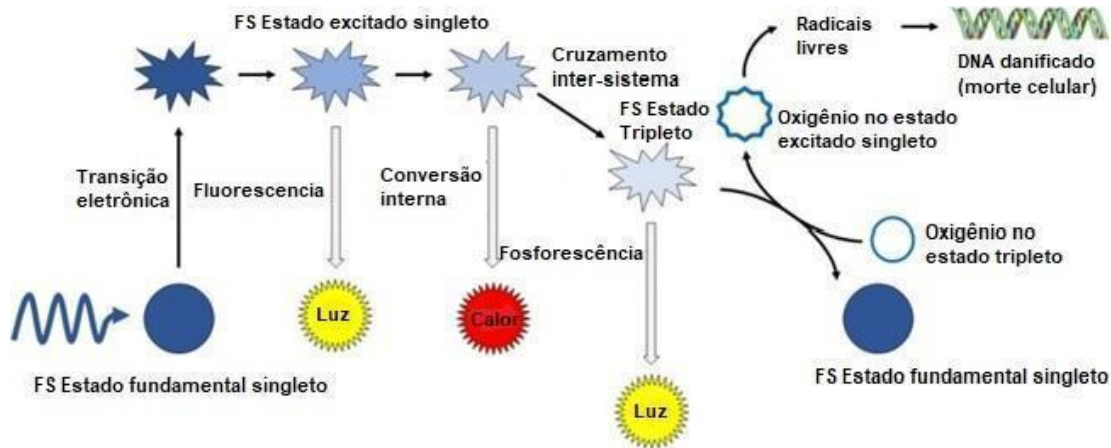
A TFD consiste em uma forma terapêutica não invasiva e que tem sido utilizada nos estudos para tratamento clínico de diversas doenças, sendo utilizada como uma única terapia ou terapia complementar aos tratamentos convencionais (KWIATKOWSKI, et al., 2018; AMANTINO, et al., 2020). A TFD tem recebido notável atenção em diversas áreas, principalmente no tratamento do câncer de pele, sendo uma abordagem eficiente a qual não apresenta toxicidade, não levando a elevados efeitos colaterais, além de não apresentar mecanismos de resistência adquiridos ou intrínsecos com excelente aceitação estética por ser minimamente invasiva (LI et al., 2023).

Os mecanismos de ação da TFD, apresentados na Figura 2, consistem na produção de oxigênio singlete (1O_2) e outras espécies reativas de oxigênio (EROS), através da fotoexcitação de um composto fotossensibilizador (FS) que pode ser administrado por via tópica, transdérmica, intravenosa ou oral (sistêmica), utilizando-se em seguida a ativação biológica por irradiação de um sistema do tipo LASER ou LED operando em comprimento de onda específico na região do UV-visível e potência adequada (fluência em J/cm^2), desencadeando reações fotoquímicas controladas. Estas reações são denominadas mecanismos fotodinâmicos do Tipo I e Tipo II, os quais levam à produção controlada de 1O_2 e EROS (KWIATKOWSKI, et al., 2018). Estas espécies reativas induzem processos fotobiológicos controlados que podem desencadear à morte celular por mecanismos apoptóticos e/ou necróticos e, assim, afetar diretamente certas vias metabólicas e processos

bioquímicos do meio extracelular (KWIATKOWSKI, et al., 2018). Além disso a TFD pode também induzir uma alteração no equilíbrio eletrofisiológica mitocondrial celular, gerando efeitos de reposta direta no metabolismo intracelular. Nesse cenário, a existência destes dois mecanismos clássicos (Tipos I e II) na TFD, são necessariamente dependentes das moléculas de oxigênio disponíveis no microambiente celular. (KWIATKOWSKI, et al., 2018).

Após a internalização do FS nas células-alvo, a luz é irradiada em um comprimento de onda coincidente com a melhor região do espectro de absorção do FS, induzindo então a transição de estado de menor energia, ou fundamental (S_0), para os estados de maior energia, ou singletos ($S_n \rightarrow S_1$) resultado da absorção controlada de fótons. Parte desta energia de excitação é devolvida na forma de processo radiativo na forma de fluorescência e a outra parte residual pode ser transferida pelo mecanismo de conversão inter-sistema, no qual o FS passa para os estados excitados tripletos ($T_n \rightarrow T_1$), sendo este o transiente desejado para se atingir os efeitos foto-terapêuticos adequados (KWIATKOWSKI, et al., 2018). No mecanismo tipo I, o FS no estado T_1 , pode interagir com diferentes substratos biológicos, formando radicais livres por transferência de elétrons ou prótons, sendo que esses radicais podem induzir dano fotodinâmico controlada às células ou reagir com oxigênio formando novos EROS. Já no mecanismo tipo II, o FS também no estado T_1 é capaz de transferir energia para o oxigênio molecular (O_2), formando oxigênio singleto (1O_2), caracterizado por propriedades oxidantes fortes e ativação de processos de fotoestimulação (AGAZZI, et al., 2019).

Figura 2. Ilustração sistemática dos mecanismos de reação da TFD. Fonte: Adaptado de KWIATKOWSKI, et al., 2018.



No entanto, a TFD, como única alternativa terapêutica, ainda não tem sido utilizada, atuando de forma complementar aos protocolos tradicionais devidos à algumas limitações ainda existentes, as quais podemos destacar o baixo interesse da indústria farmacêutica em escalonar rotas de síntese e purificação química, e desafios na padronização dos parâmetros fotofísicos na rotina clínica (NIRMAL, et al., 2021).

2.3 Fotossensibilizadores (FS)

Nos estudos envolvendo TFD a escolha do FS é de extrema importância. O FS consiste na substância a qual produz, de forma controlada, intermediários ativos quando exposta à radiação monocromática. Sendo assim, a eficiência de conversão de luz pelo FS acaba determinando, geralmente, a eficiência dos mecanismos fotodinâmicos na TFD (ZHOU, et al., 2021). O grande desafio está na utilização de compostos FS que possuem melhor afinidade biológica, biodistribuição e potencial fotodinâmico adequado (WANG, et al., 2021). Durante muito tempo, a Photofrin® I, um derivado de hematoporfirina, HpD, foi muito utilizada como fotossensibilizador, sendo aprovada em 1995 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o

tratamento de alguns tipos de câncer de cabeça e pescoço e posteriormente em 1998 para terapia de câncer de pulmão (KONAN; GURNY; ALLÉMANN, 2002). Contudo, esse FS faz parte da classe de primeira geração, os quais apresentam muitas desvantagens devido a baixíssima solubilidade em meio fisiológico, meia-vida muito alta comparando-se a fármacos antitumorais convencionais e pouca seletividade pelo tecido-alvo (WANG, et al., 2021). As limitações encontradas com os FS de 1º geração levaram à uma intensa busca científica pelo desenvolvimento de novas moléculas durante mais de duas décadas desde o fim dos anos 90, chamadas de fotossensibilizadores de segunda geração, caracterizados pela presença de outros derivados de hematoporfirina e fotossensibilizadores sintéticos com destaque para os ftalocianínicos e clorínicos. Estas novas gerações tendem a apresentar maior rendimento de formação de oxigênio singlete, menos efeitos colaterais, o que resulta de uma maior seletividade para tecidos cancerosos, entretanto, ainda apresentaram baixa solubilidade em água, sendo um fator muito significativo pelo fato de interferir na administração farmacêutica (KWIATKOWSKI, et al., 2018). Os fotossensibilizadores de terceira geração foram desenvolvidos incorporando estratégias avançadas de síntese e purificação e tecnologias inovadoras, como a nanotecnologia, buscando aumentar a biodisponibilidade e maior eficácia fotodinâmica relacionada aos FS das classes anteriores (MFOUO-TYNGA et al., 2021; KWIATKOWSKI, et al., 2018).

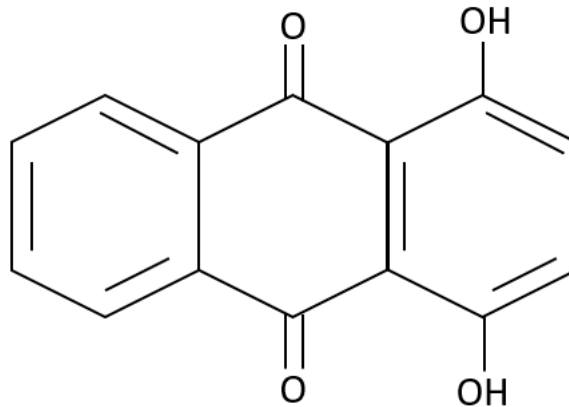
A busca por novos FS ainda é uma área de desenvolvimento científico em plena expansão, e vem de encontro com segmentos da biotecnologia que oferecem compostos de origem microbiológica com alta eficiência fotodinâmica, a exemplo os colorantes (corantes e pigmentos) com altíssimo coeficiente de extinção molar e ao mesmo tempo compatibilidade biológica avançada comparando-se aos seus

precursores de origem sintética da primeira e segunda geração de FS (AMANTINO, et al., 2020).

Neste contexto, as Antraquinonas (AQs) constituem o maior grupo de quinonas presentes no reino vegetal, sendo um importante grupo de metabólitos secundários com potenciais aplicações terapêuticas, demonstrando atividades biológicas significativas, como: hepatoprotetora, antiviral, antifúngica (SINGH, 2014); antimicrobiana, antioxidante (MALIK; MÜLLER, 2016) (VÁZQUEZ, et al., 2017). Considerando a vasta quantidade de atividades biológicas envolvidas, o interesse pelo desenvolvimento de novos derivados de antraquinona vem crescendo nos últimos anos (MALIK; MÜLLER, 2016). A exemplo temos a estrutura química da Quinizarina (QZ) (1,4 di-hidroxi-antraquinona), apresentada na Figura 3, possuindo funções químicas pertencentes ao grupo dos corantes naturais derivados de antraquinona, apresentando parâmetros espectroscópicos de absorção e emissão em 470 nm e 570 nm respectivamente. Em análise estrutural observa-se a presença de grupamentos aromáticos conjugados planares e quinoídes de alta densidade eletrônica, o que pode contribuir para a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS), a partir de transferência de elétron para o O₂ (QUINTI, et al., 2003) (HU, et al., 2019). Ainda, estudos indicam que a presença do grupamento planar cromóforo hidroxi-9,10-antraquinona substituído por um amino açúcar, como apresentado na estrutura da QZ e em diversas Antraquinonas, tende a interagir com o DNA, inibindo a enzima topoisomerase II e realizando uma intercalação entre os pares de base do DNA, resultando na estabilização do complexo intermediário da reação de topoisomerase II e conseqüentemente causando morte celular por apoptose (TOADER; ENACHE, 2021; DIAZ-MUÑOZ et al., 2018). Uma das desvantagens que dificulta a o uso das Antraquinonas, consiste em sua baixa solubilidade em meio

aquoso, fator que leva a uma seletividade parcial e entrega pouco específica em tecidos alvos, assim, a nanoencapsulação se torna uma alternativa vantajosa na sua classificação como medicamento (AMANTINO et al., 2020).

Figura 3. Estrutura química da Quinizarina (1,4 di-hidroxi-antraquinona). Fonte: autora.



2.4 Nanotecnologia e Nanocarreadores

A nanotecnologia farmacêutica apresenta um enorme potencial no campo da medicina, sendo a ciência aplicada ao diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças e lesões traumáticas, visando preservar e realizar melhorias à saúde humana (LU, et al., 2021). Os medicamentos tradicionais possuem diversas limitações, principalmente em relação à seletividade, os quais podem levar à efeitos colaterais graves, devido a necessidade de alta dosagem, além de possuírem eficácia comprometida pelo fato de não passarem por algumas barreiras biológicas. Em contrapartida, os sistemas de liberação nanoestruturados ou nanofármacos possuem ação direcionada, o que auxilia diretamente na redução da toxicidade, melhorando a biodisponibilidade (LU, et al., 2021). O sistema de liberação ideal deve permitir o acúmulo direcionado do FS no tecido alvo, seguido da distribuição terapêutica, não sendo o FS absorvido por células saudáveis, não causando ainda

perda ou alteração das atividades do fotossensibilizador, além de ser biodegradável e apresentar pouca ou nenhuma imunogenicidade (KONAN; GURNY; ALLÉMANN, 2002).

Dentre os principais nanocarreadores coloidais com potencial aplicação, são evidenciados os sistemas poliméricos e emulsionados, destacam-se as nanocápsulas poliméricas (NC). As NC são constituídas em sua maioria por polímeros biodegradáveis, biocompatíveis, evitando assim toxicidade, apresentando ainda, alta eficiência de encapsulamento de ativos (ABED, *et al.*, 2021). Além disso, o envoltório polimérico presente nas nanocápsulas preserva o fármaco dos efeitos degradativos de fatores como luz, oxigênio e ambiente ácido do estômago e modula e controla a liberação do ativo internalizado nos alvos biológicos de interesse (NETO, *et al.*, 2021).

Dessa forma, o presente estudo tem como proposta o desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas poliméricas contendo o fotossensibilizador Quinizarina, a fim de avaliar sua ação potencial em modelo inflamatório *in vitro*, unindo os princípios fotofísicos da TFD e da nanotecnologia para potencial aplicação terapêutica da psoríase e outras doenças inflamatórias

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar nanocápsulas poliméricas contendo QZ buscando avaliar seu potencial de aplicação em Terapia Fotodinâmica empregando-se modelos *in vitro* de processo inflamatório em queratinócitos.

3.2 Objetivos Específicos

- Síntese das nanocápsulas poliméricas contendo QZ, e caracterização físico-química para determinação do tamanho de partícula e potencial Zeta;
- Análise de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR;
- Análise morfológica por Microscopia de Força Atômica - MFA;
- Determinação dos espectros de absorção e emissão de fluorescência no UV-visível;
- Análise de permeação em matriz extracelular para impressão de equivalente de pele 3D e em pele de porco;
- Indução da hiperproliferação das células de queratinócitos como modelo da psoríase com posterior aplicação em Terapia Fotodinâmica (TFD);
- Análise do processo inflamatório *in vitro* pelo efeito da expressão de sinalizadores antes e após TFD.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que foi possível o desenvolvimento de uma nanocápsula predominantemente monodispersa e inovadora, para associação do derivado de antraquinona, Quinizarina, com características fotofísicas e biológicas de interesse. O sistema apresentou partículas submicrônicas, homogêneas e estabilidade no tempo de análise. Estudos espectroscópicos mostraram que a nanoencapsulação da QZ não levou a alterações nas características fotofísicas do FS em comparação com a QZ livre, podendo prosseguir com testes posteriores de TFD. A quantificação realizada evidenciou uma elevada taxa de incorporação de QZ na nanoestrutura, mostrando uma incorporação altamente efetiva do fotossensibilizador. O ensaio de viabilidade celular desenvolvido com linhagem de células NIH/3T3 e HaCaT não mostrou citotoxicidade nas concentrações mais baixas de NC/QZ. A nanocápsulas em sua forma vazia (NC/Vazia) e a QZ livre não apresentaram citotoxicidade nas concentrações testadas. Os estudos de permeação e *uptake celular* evidenciaram a permeação da NC/QZ em modelos similares à pele e a incorporação e internalização intracelular do fármaco, respectivamente, potencializando a sua ação na técnica do *drug delivery*. O processo inflamatório *in vitro* foi devidamente desenvolvido, com posterior aplicação da TFD e análise imuno-enzimática, no qual foi possível observar efeitos representativos da TFD quando comparado com a ação do laser e das NC/QZ isoladamente, apresentando resultados altamente favoráveis na utilização do modelo desenvolvido para indução do processo inflamatório *in vitro* e da utilização do nanomaterial sintetizado, unido à TFD, representando assim uma possível nova abordagem terapêutica para doenças autoimunes, como a psoríase.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABED, Elham Maghareh et al. Use of nanotechnology in the diagnosis and treatment of coronavirus. **J Curr Biomed Rep**, v. 2, n. 2, p. 2717-1906, 2021.

AGAZZI, Maximiliano L. et al. BODIPYs in antitumoral and antimicrobial photodynamic therapy: An integrating review. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 40, p. 21-48, 2019.

AKRAM, Zohaib et al. Effect of photodynamic therapy and laser alone as adjunct to scaling and root planing on gingival crevicular fluid inflammatory proteins in periodontal disease: a systematic review. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 16, p. 142-153, 2016.

ALEEM, Daniyal; TOHID, Hassaan. Pro-inflammatory cytokines, biomarkers, genetics and the immune system: a mechanistic approach of depression and psoriasis. **Revista colombiana de psiquiatria**, v. 47, n. 3, p. 177-186, 2018.

AMANTINO, Camila F. et al. Anthraquinone encapsulation into polymeric nanocapsules as a new drug from biotechnological origin designed for photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101815, 2020.

BALIWAG, Jaymie; BARNES, Drew H.; JOHNSTON, Andrew. Cytokines in psoriasis. **Cytokine**, v. 73, n. 2, p. 342-350, 2015

BARBOSA, Ana Isabel; LIMA, Sofia A. Costa; REIS, Salette. Development of methotrexate loaded fucoidan/chitosan nanoparticles with anti-inflammatory potential and enhanced skin permeation. **International journal of biological macromolecules**, v. 124, p. 1115-1122, 2019.

BATHEJA, Priya et al. Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: formulation optimization and in vitro and in vivo skin distribution studies. **Journal of controlled release**, v. 149, n. 2, p. 159-167, 2011.

BINISH, M. B. et al. Potential of anaerobic bacteria in bioremediation of metal-contaminated marine and estuarine environment. **In: Microbial Biodegradation and Bioremediation**. Elsevier, 2022. p. 305-326.

CAI, Yihua et al. A critical role of the IL-1 β -IL-1R signaling pathway in skin inflammation and psoriasis pathogenesis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 139, n. 1, p. 146-156, 2019.

CARDOSO, Luana Pereira et al. Piperine Reduces Neoplastic Progression in Cervical Cancer Cells by Downregulating the Cyclooxygenase 2 Pathway. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 1, p. 103, 2023.

DE CARLI, CYNTHIA. **Nanoemulsões encapsulando quercetina produzidas pelo método do ponto de inversão da emulsão (ELP): estabilidade físico-química e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e em produto cárneo**. 2017. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2017.

CASARINI, Talita Pizza Anunciato et al. Innovative hydrogel containing polymeric nanocapsules loaded with phloretin: Enhanced skin penetration and adhesion. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111681, 2021.

CHIRICOZZI, Andrea et al. Scanning the immunopathogenesis of psoriasis. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 1, p. 179, 2018.

COLLINSON, David W. et al. Best practices and recommendations for accurate nanomechanical characterization of heterogeneous polymer systems with atomic force microscopy. **Progress in Polymer Science**, v. 119, p. 101420, 2021.

DANESHFAR, Reza; ASHOORI, Siavash; SOULGANI, Bahram Soltani. Interaction of electrolyzed nanomaterials with sandstone and carbonate rock: Experimental study and DLVO theory approach. **Geoenergy Science and Engineering**, v. 230, p. 212218, 2023.

DENG, Yadan et al. Evaluation of probiotics for inhibiting hyperproliferation and inflammation relevant to psoriasis in vitro. **Journal of Functional Foods**, v. 81, p. 104433, 2021.

DESHMANE, Satish L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. **Journal of interferon & cytokine research**, v. 29, n. 6, p. 313-326, 2009.

DÍAZ-MUÑOZ, Manuel D.; TURNER, Martin. Uncovering the role of RNA-binding proteins in gene expression in the immune system. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 1094, 2018.

DOLS-PEREZ, Aurora et al. Effect of surface functionalization and loading on the mechanical properties of soft polymeric nanoparticles prepared by nano-emulsion templating. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 222, p. 113019, 2023.

DOS SANTOS, Priscilla Pereira et al. Biodegradable polymers as wall materials to the synthesis of bioactive compound nanocapsules. **Trends in food science & technology**, v. 53, p. 23-33, 2016.

EL AYADI, Amina; HERNDON, David N.; FINNERTY, Celeste C. Biomarkers in burn patient care. In: HERNDON, David N. (editor). **Total burn care**. 5th. ed. Galveston,

TX, USA: Elsevier, 2018. p. 232-235.e2. doi:10.1016/B978-0-323-47661-4.00021-6.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-323-47661-4.00021-6>.

FLORENTINO NETO, Serafim et al. α -amylin-loaded nanocapsules produce selective cytotoxic activity in leukemic cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 139, p. 111656, 2021.

GHASEMIYEH, Parisa; MOHAMMADI-SAMANI, Soliman. Potential of nanoparticles as permeation enhancers and targeted delivery options for skin: Advantages and disadvantages. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 3271, 2020

Gillitzer R, Berger R, Mielke V, Myüller C, Wolff K, Stingl G. Upper keratinocytes of psoriatic skin lesions express high levels of NAP-8 mRNA in situ. **J Invest Dermatol**. v. 97, n. 1, p. 73–79. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12478128.1991>.

GOBO, Graciely Gomides et al. Novel quinizarin spray-dried nanoparticles for treating melanoma with photodynamic therapy. **Materials Today Communications**, v. 33, p. 104882, 2022.

GRILLO, Renato et al. Influence of hybrid polymeric nanoparticle/thermosensitive hydrogels systems on formulation tracking and in vitro artificial membrane permeation: A promising system for skin drug-delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 56-62, 2019.

HARRI, Gangadhar et al. Treatments for psoriasis: A journey from classical to advanced therapies. How far have we reached?. **European Journal of Pharmacology**, v. 929, p. 175147, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022>.

HAZARI, Sahim Aziz et al. An overview of topical lipid-based and polymer-based nanocarriers for treatment of psoriasis. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 122938, 2023.

HU, Xiufang et al. Design and synthesis of various quinizarin derivatives as potential anticancer agents in acute T lymphoblastic leukemia. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 27, n. 7, p. 1362-1369, 2019.

HUERTA-GARCÍA, Elizabeth et al. Internalization of titanium dioxide nanoparticles by glial cells is given at short times and is mainly mediated by actin reorganization-dependent endocytosis. **Neurotoxicology**, v. 51, p. 27-37, 2015.

JIN, Yiguang et al. Nanostructures of an amphiphilic zinc phthalocyanine polymer conjugate for photodynamic therapy of psoriasis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 128, p. 405-409, 2015.

JYOTHI, S. L. et al. Drug delivery systems for the treatment of psoriasis: current status and prospects. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, p. 102364, 2021.

KIM, Jaehwan; KRUEGER, James G. The immunopathogenesis of psoriasis. **Dermatologic clinics**, v. 33, n. 1, p. 13-23, 2015.

KLAUS, Federica et al. Chemokine MCP1 is associated with cognitive flexibility in schizophrenia: A preliminary analysis. **Journal of psychiatric research**, v. 138, p. 139-145, 2021.

KONAN, Yvette Niamien; GURNY, Robert; ALLÉMANN, Eric. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 66, n. 2, p. 89-106, 2002.

KWIATKOWSKI, Stanisław et al. Photodynamic therapy–mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1098-1107, 2018.

LEMBO, Serena et al. MCP-1 in psoriatic patients: effect of biological therapy. **Journal of dermatological treatment**, v. 25, n. 1, p. 83-86, 2014.

LI, Xiaotong et al. Innovative strategies for photodynamic therapy against hypoxic tumor. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 100775, 2023.

LOGUE, Brian A.; MANANDHAR, Erica. Percent residual accuracy for quantifying goodness-of-fit of linear calibration curves. **Talanta**, v. 189, p. 527-533, 2018.

LONG, Wanjun et al. A novel 3D-fluorescence sensing strategy based on HN-chitosan polymer probe for rapid identification and quantification of potential adulteration in saffron. **Food Chemistry**, v. 429, p. 136902, 2023.

LOPEZ-CASTEJON, Gloria; BROUGH, David. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 22, n. 4, p. 189-195, 2011.

LU, Weijia et al. Nanomedicines: Redefining traditional medicine. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 134, p. 111103, 2021.

MALIK, E. M.; MÜLLER, C.E. Anthraquinones as pharmacological tools and drugs. **Medicinal research reviews**, v. 36, n. 4, p. 705-748, 2016.

MASCARENHAS-MELO, Filipa et al. Nanocarriers for the topical treatment of psoriasis-pathophysiology, conventional treatments, nanotechnology, regulatory and toxicology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 176, p. 95–107, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.05.012>.

MCGAW, Lyndy J.; ELGORASHI, Esameldin E.; ELOFF, Jacobus N. Cytotoxicity of African medicinal plants against normal animal and human cells. **In: Toxicological survey of African medicinal plants**. Elsevier, 2014. p. 181-233.

MFOUO-TYNGA, Ivan S. et al. Biophysical and Biological Features of Third Generation Photosensitizers Used in Anticancer Photodynamic Therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, p. 102091, 2021.

MOAKES, Richard JA et al. A suspended layer additive manufacturing approach to the bioprinting of tri-layered skin equivalents. **APL bioengineering**, v. 5, n. 4, 2021.

MUÑOZ-MATA, Lenin Saúl et al. Photodynamic therapy stimulates IL-6 and IL-8 in responding patients with HPV infection associated or not with LSIL. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 11, p. 100137, 2022.

NIRMAL, G. R. et al. Photothermal treatment by PLGA–gold nanorod–isatin nanocomplexes under near-infrared irradiation for alleviating psoriasiform hyperproliferation. **Journal of Controlled Release**, v. 333, p. 487-499, 2021

PAN, Zhao et al. A simple and quick method to detect adulterated sesame oil using 3D fluorescence spectra. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 245, p. 118948, 2021.

QUINTI, Luisa et al. A study of the strongly fluorescent species formed by the interaction of the dye 1, 4-dihydroxyanthraquinone (quinizarin) with Al (III). **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 155, n. 1-3, p. 79-91, 2003.

REE, Jin et al. Quinizarin suppresses the differentiation of adipocytes and lipogenesis in vitro and in vivo via downregulation of C/EBP-beta/SREBP pathway. **Life Sciences**, v. 287, p. 120131, 2021.

REZENDE, Nayara et al. Standardization of a resazurin-based assay for the evaluation of metabolic activity in oral squamous carcinoma and glioblastoma cells. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 26, p. 371-374, 2019.

SINGH, A. **Herbal Drugs as Therapeutic Agents**. Boca Raton, FL.: CRC Press, 2014

SIQUEIRA-MOURA, Marigilson P. et al. Development, characterization, and photocytotoxicity assessment on human melanoma of chloroaluminum phthalocyanine nanocapsules. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 3, p. 1744-1752, 2013.

SOUTO, Eliana B. et al. Physicochemical and biopharmaceutical aspects influencing skin permeation and role of SLN and NLC for skin drug delivery. **Heliyon**, p. e08938, 2022.

SUÁREZ-VALLADARES, María Jesús et al. Inflammatory response and cytokine levels induced by intralesional photodynamic therapy and 630-nm laser in a case series of basal cell carcinoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 79, n. 3, p. 580-582, 2018

TAMBE, Varunesh Sanjay; NAUTIYAL, Avni; WAIRKAR, Sarika. Topical lipid nanocarriers for management of psoriasis-an overview. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 64, p. 102671, 2021.

TOADER, Ana Maria; ENACHE, Mirela. Quinizarin interaction with bile salts micelles as biomimetic model membranes. **Revue roumaine de chimie**, v. 66, n. 1, p. 75-80, 2021.

VARENNE, F. et al. Towards quality assessed characterization of nanomaterial: Transfer of validated protocols for size measurement by dynamic light scattering and evaluation of zeta potential by electrophoretic light scattering. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 528, n. 1-2, p. 299-311, 2017.

VÁZQUEZ, MF Barrera et al. Reprint of “Experimental measurement and modeling of quinizarin solubility in pressurized hot water”. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 129, p. 63-74, 2017.

WANG, Yixuan et al. Chitosan/hyaluronan nanogels co-delivering methotrexate and 5-aminolevulinic acid: A combined chemo-photodynamic therapy for psoriasis. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, p. 118819, 2022.

WANG, Zixuan et al. Application of photodynamic therapy in cancer: challenges and advancements. **Biocell**, v. 45, n. 3, p. 489, 2021.

YANG, Wenxian et al. Delicate regulation of IL-1 β -mediated inflammation by cyclophilin A. **Cell Reports**, v. 38, n. 11, p. 110513, 2022.

ZHOU, Zhaojie et al. Advances in Photosensitizer-related Design for Photodynamic Therapy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 6, p. 668–686, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.12.003>.