



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
FARMÁCIA

MARIANA ALICE GONZAGA GABÚ

**NANOTECNOLOGIA APLICADA AO DESENVOLVIMENTO DE NOVAS
FORMULAÇÕES PARA INFECÇÕES POR ARBOVÍRUS**

RECIFE-PE

2024

MARIANA ALICE GONZAGA GABÚ

**NANOTECNOLOGIA APLICADA AO DESENVOLVIMENTO DE NOVAS
FORMULAÇÕES PARA INFECÇÕES POR ARBOVÍRUS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Dr. Fábio Rocha Formiga

Coorientador: Dr. Douglas Dourado Oliveira

RECIFE-PE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Gabú, Mariana Alice Gonzaga .
NANOTECNOLOGIA APLICADA AO DESENVOLVIMENTO DE
NOVAS FORMULAÇÕES PARA INFECÇÕES POR ARBOVÍRUS / Mariana
Alice Gonzaga Gabú. - Recife, 2024.
49 p. : il., tab.

Orientador(a): Fábio Rocha Formiga
Coorientador(a): Douglas Dourado Oliveira
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2024.

1. Nanotecnologia. 2. Sistema de liberação de fármacos. 3. Arboviroses. I.
Formiga, Fábio Rocha. (Orientação). II. Oliveira, Douglas Dourado.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA



Aprovada em: 29/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIO ROCHA FORMIGA
Data: 01/03/2024 10:58:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Fabio Rocha Formiga
(Orientador)
Instituto Aggeu Magalhães

Documento assinado digitalmente
gov.br DANILO CESAR GALINDO BEDOR
Data: 29/02/2024 10:31:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danilo César Galindo Bedor
(Presidente e Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br POLIANA GOMES DA SILVA
Data: 29/02/2024 10:40:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Poliana Gomes da Silva
(Examinadora)
Instituto Aggeu Magalhães

Dr. Leslie Raphael de Moura Ferraz
(Suplente)
Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a toda minha família, por sempre me apoiar, me guiar e me auxiliar nos momentos difíceis, principalmente a minha mãe Marta, a minha avó Marilene, ao meu avô Francisco, ao meu pai Adilson e ao meu avô José Bezerra. Agradeço também aos meus amigos do ensino fundamental, do médio e da graduação, pois sem eles essa jornada não teria sido vivida da maneira mais leve e divertida, onde até nos momentos de dificuldade, tínhamos motivos para sorrir. Agradeço ao meu Orientador Fábio Formiga e ao meu Coorientador Douglas Dourado por todo o aprendizado e experiência transmitidos, assim como a cada membro do grupo de pesquisa do departamento de imunologia, liderado pelo professor Fábio, com destaque especial a Poliana Gomes, que foi minha mentora, inicialmente, durante a iniciação científica e além de se mostrar uma excelente tutora, também foi uma ótima companhia de laboratório, deixando sempre as atividades mais leves e divertidas.

RESUMO

As arboviroses são infecções virais transmitidas por vetores artrópodes hematófagos, que apresentam regiões endêmicas no Brasil e no mundo todo, principalmente África e Ásia, devido a estes serem países tropicais e subtropicais, auxiliando a proliferação dos vetores. Os agentes causadores destas infecções são conhecidos como arbovírus, e alguns dos principais e mais endêmicos no Brasil são: Vírus da Dengue (DENV), Zika vírus (ZIKV) e Vírus Chikungunya (CHIKV). Apesar de apresentarem importância clínica mundial, essas arboviroses não apresentam atualmente formas terapêuticas eficazes com ação contra o vírus e as novas moléculas e compostos bioativos descobertos que apresentam atividade contra os arbovírus, apresentam limitações, como: baixa solubilidade aquosa, baixa biodisponibilidade, reduzida distribuição no sistema nervoso central (SNC), efeitos tóxicos, etc. Para superar estas dificuldades, estudos recentes vêm desenvolvendo e aprimorando sistemas de entrega de fármacos, utilizando-se de nanotecnologia para produção de antivirais, inclusive contra os arbovírus. Desta forma, o presente trabalho se propõe a expor os recentes nanossistemas de liberação de fármacos para produção de medicamentos contra os vírus da Dengue, Chikungunya e Zika, verificando assim os aprimoramentos em eficácia e segurança destas moléculas candidatas.

Palavras chave: Arboviroses; Zika vírus; Vírus da Dengue; Vírus Chikungunya; Nanotecnologia; Sistema de liberação de fármacos por Nanopartículas.

ABSTRACT

Arboviruses are viral infections transmitted by hematophagous arthropod vectors, which have endemic regions in Brazil and worldwide, mainly in Africa and Asia, due to these being tropical and subtropical countries, aiding the proliferation of vectors. The causative agents of these infections are known as arboviruses, and some of the main and most endemic ones in Brazil are: Dengue Virus (DENV), Zika virus (ZIKV), and Chikungunya Virus (CHIKV). Despite their worldwide clinical importance, these arboviruses currently do not have effective therapeutic forms against the virus, and the new bioactive molecules and compounds discovered that show activity against arboviruses have limitations such as low aqueous solubility, low bioavailability, reduced distribution in the central nervous system (CNS), toxic effects, etc. To overcome these difficulties, recent studies have been developing and improving drug delivery systems, using nanotechnology for the production of antivirals, including against arboviruses. Thus, this study aims to expose the recent nanosystems for drug delivery for the production of medications against Dengue, Chikungunya, and Zika viruses, thereby verifying the enhancements in the effectiveness and safety of these candidate molecules.

Keywords: Arboviruses; Zika virus; Dengue virus; Chikungunya virus; Nanotechnology; Nanoparticle Drug Delivery System.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 8 |
| 1.1. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS: | 9 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 10 |
| 2.1. ARBOVIROSES: | 10 |
| 2.2. ARBOVIROSES NO BRASIL: | 11 |
| 2.3. MOLÉCULAS ATIVAS CONTRA ARBOVÍRUS: | 14 |
| 2.4. SISTEMAS NANOTECNOLÓGICOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS | 16 |
| 3. METODOLOGIA | 18 |
| 4. RESULTADOS e DISCUSSÕES | 20 |
| 5. CONCLUSÃO | 39 |
| 6. REFERÊNCIAS | 40 |

1. INTRODUÇÃO

Dentre os diversos vírus existentes por todo mundo, existe um grupo que se destaca em países tropicais e subtropicais, como o Brasil, estes são os arbovírus, que são capazes de serem transmitidos a hospedeiros vertebrados por vetores artrópodes hematófagos, como mosquitos do gênero *Aedes* (Huang et al., 2019). Já foram identificados que cerca de 150, dos mais de 500 arbovírus, causam alguma doença em humanos e pertencem a quatro famílias virais líderes, sendo os Flaviviridae o grupo mais importante (Young, 2018).

A emergência e distribuição de arbovírus pelo mundo pode ser influenciada por diversos fatores, principalmente aqueles relacionados ao meio ambiente, como clima, temperatura e precipitação, já que são estes fatores que afetam diretamente a biologia e o ciclo de vida dos vetores assim como também afetam as interações entre o inseto e o vírus (Huang et al., 2019; Young, 2018). Embora os fatores citados anteriormente sejam de fundamental importância para a emergência e distribuição desses vírus, também existem outros fatores que devem ser considerados, como mudanças na saúde pública, mudanças genéticas dos vírus, bem como mudanças demográficas, sociais e agrícolas (Gubler, 2006; Marklewitz e Junglen, 2019).

Devido a estes fatores, o Brasil é um país com características propícias para a proliferação destes arbovírus. Alguns destes arbovírus presentes no Brasil são: Zika vírus, Vírus da Dengue e Chikungunya vírus, nos quais apresentaram surtos em períodos prolongados no país, e ainda persistem endêmicos em algumas regiões, principalmente em períodos chuvosos e de altas temperaturas.

Apesar da importância clínica das patologias provocadas por estes arbovírus, atualmente não existem medicamentos antivirais específicos e eficientes disponíveis contra os vírus causadores dessas doenças, portanto, o manejo clínico dessas infecções é feito pelo controle dos sintomas (Beckham e Tyler, 2015; Donalisio et al., 2017).

Recentemente, foi aprovada para uso em diversos países, uma vacina tetravalente (Dengvaxia) produzida pela Sanofi Pasteur contra um destes arbovírus, o vírus da Dengue, na qual apresentou 60,8% de eficácia para os 4 sorotipos de DENV, com aplicação de 3 doses a cada 6 meses. No entanto, esta apresenta algumas limitações, como: é indicada para pessoas entre 9 e 45 anos, e, apenas para pacientes que já entraram em contato com o vírus e vivem em áreas endêmicas (European Medicines Agency, 2024). Além disso, esta não é indicada para pacientes soropositivos, mesmo estes apresentando histórico anterior de infecção por Dengue (Anvisa, 2022). Desta forma, em pacientes que não estiveram em contato com o vírus, a vacina é capaz de aumentar o risco de hospitalização nestes ou até fazer com que o

paciente desenvolva a forma grave de dengue (CDC, 2021). Outra vacina aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2023, foi a chamada Qdenga, da Takeda Pharma Ltda., também com ação contra os 4 sorotipos da dengue, administrada em 2 doses e disponível para pessoas entre 4 - 60 anos (Anvisa, 2023).

Devido a esta falta de medicamentos disponíveis contra as arboviroses e as limitações referentes às vacinas disponíveis contra o vírus da Dengue, a busca por novos medicamentos para essas doenças é de fundamental importância. Assim, diversas moléculas bioativas, como fitoquímicos, e fármacos já conhecidos vêm sendo estudados, verificando suas ações contra os arbovírus. Porém, estas muitas vezes apresentam limitações biofarmacêuticas em função das suas propriedades físico-químicas, que acabam afetando o seu potencial terapêutico. Como alternativa promissora para contornar essas limitações, está a nanotecnologia.

Nesse contexto, visa-se apresentar uma revisão dos avanços recentes no campo de nanomedicamentos contra arbovírus, baseados em solucionar os problemas e limitações vistos nos medicamentos convencionais utilizados e nas moléculas bioativas descobertas.

1.1. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS:

Geral: Realizar uma revisão integrativa dos nanossistemas de entrega de fármacos recentemente desenvolvidos contra os seguintes arbovírus presentes no Brasil: ZIKV, CHIKV, DENV.

Específicos:

- Buscar artigos, teses e dissertações a respeito do desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos baseados em nanotecnologia contra ZIKV, CHIKV ou DENV;
- Apresentar as propriedades físico-químicas e biológicas das nanossistemas encontradas nos estudos buscados;
- Discutir a respeito das vantagens e desvantagens dos sistemas apresentados;
- Desenvolver sobre as perspectivas futuras para estes sistemas de entrega de medicamentos e sua aprovação no mercado.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. ARBOVIROSES:

Os vírus são agentes intracelulares obrigatórios que infectam o hospedeiro, com a finalidade de utilizar o ‘maquinário’ celular do hospedeiro para replicação viral. A entrada do vírus nas células hospedeiras é uma das etapas cruciais na instalação da infecção, sendo realizada pela ligação de proteínas virais de superfície com receptores das células hospedeiras. Uma das formas promissoras de impedir que a infecção aconteça é justamente pelo bloqueio da entrada do vírus na célula hospedeira (Geraghty et. al, 2021).

O estabelecimento da infecção viral continua pela transcrição e replicação do material genético viral; transdução de proteínas virais; formação do capsídeo e envelope viral; liberação dos vírions para ataque de novas células hospedeiras. Estas etapas também podem ser alvos no desenvolvimento de antivirais, inviabilizando o desenvolvimento do vírus intracelularmente (Manjarrez-Zavala et. al., 2013).

A complexidade relacionada ao mecanismo de ação do vírus no hospedeiro e a facilidade de transmissão da maioria dos vírus podem ser razões para que infecções virais sejam um grande problema de saúde pública. Dentre os vírus considerados um problema de saúde pública mundial estão os chamados arbovírus, um grupo bem diversificado de vírus, que são assim conhecidos devido a sua transmissão a hospedeiros vertebrados ocorrer por vetores artrópodes hematófagos (mosquitos, carrapatos, etc) (Young, 2018).

Este grupo de vírus é composto por mais de 500 espécies, sendo 150 destas capazes de provocar doenças em humanos. As principais famílias de arbovírus responsáveis por ocasionar doenças em humanos são: Togaviridae, Flaviviridae e Bunyaviridae. Destas famílias destacadas, a Flaviviridae mostra-se a mais impactante com relação às doenças humanas, sendo o gênero *Flavivirus*, o principal pertencente a esta família, composto por vírus da dengue (DENV), vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus Zika (ZIKV) e vírus da febre amarela (YFV) (Mayer et al., 2017).

O ciclo de transmissão por meio do vetor destes arbovírus se inicia quando o vetor se alimenta do sangue de um hospedeiro infectado, onde o vírus replica-se no intestino médio, disseminando-se até as glândulas salivares e por fim, o vírus é inoculado pelo vetor, através da picada, em um novo hospedeiro, dando continuidade ao ciclo de transmissão (Huang et al., 2019).

A rápida transmissão dos arbovírus pelo mundo é provocada a partir do desenvolvimento e disseminação dos insetos vetores, das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, facilitada pela urbanização e desmatamento (Mayer et al., 2017).

As arboviroses são doenças causadas por arbovírus, predominantemente zoonoses que ocasionalmente afetam humanos. Geralmente apresentam-se como doenças febris sistêmicas com sintomas iniciais inespecíficos, o que dificulta o diagnóstico precoce e o tratamento. Além disso, a falta de medicamentos específicos contra esses vírus resulta em tratamentos sintomáticos muitas vezes ineficazes (Halstead, 2019).

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no número de pessoas acometidas pelas arboviroses ao longo do mundo todo. Como exemplo disso, podemos citar a disseminação do vírus Chikungunya em La Reunion em 2005, pelo subcontinente indiano, Sudeste Asiático e globalmente; a distribuição da Chikungunya nas Américas a partir de 2013, apresentando mais de 1 milhão de casos nos anos iniciais; os surtos do vírus da dengue em países tropicais como o Brasil, aumentando o número de casos de dengue nas Américas de 1,5 milhões para 16,2 milhões entre 2010-2019; a epidemia repentina do vírus Zika na América do Sul a partir de 2014 (Young, 2018; OPAS, 2023; OPAS, 2024).

Por isso, estudos recentes buscam o desenvolvimento de métodos de diagnóstico precoce, assim como a pesquisa por compostos bioativos com ação contra estes vírus para a produção de medicamentos que atuem diretamente contra o vírus.

2.2. ARBOVIROSES NO BRASIL:

Os arbovírus desenvolvem-se geralmente em ambientes tropicais e subtropicais, devido a facilidade de proliferação dos vetores em regiões deste tipo, assim, países como o Brasil são favoráveis para sua reprodução e evolução. Um importante vetor, presente no Brasil, que auxilia na disseminação dos arbovírus é o mosquito *Aedes aegypti*, da família *Culicidae*. Esta espécie é a única comprovada que transmite este grupo de vírus no país e sua distribuição ocorre, principalmente, em regiões tropicais e subtropicais, por isso as arboviroses são mais endêmicas nestas regiões (Brasil, 2021).

A prática de usar grandes recipientes para armazenamento de água, comum no Brasil, ou até o excesso de água parada em vasos de plantas ou outros locais tornam o ambiente propício para a evolução e desenvolvimento de populações de *Aedes aegypti*, o que acaba favorecendo na alta disseminação dos arbovírus (Moyes et al., 2017).

Dentre os arbovírus presentes no Brasil, destacam-se o vírus da Dengue (DENV), o vírus da Zika (ZIKV) e o vírus da Chikungunya (CHIKV). Atualmente, neste país, os arbovírus causam infecções virais que têm grande impacto epidemiológico e necessitam de ações intersetoriais e interinstitucionais por meio do Sistema Único de Saúde (SUS) e outros setores sociais (Brasil, 2021).

O vírus da dengue é um retrovírus, do gênero *Flavivirus*, que pertence à família *Flaviviridae*, com 4 sorotipos com genomas diferentes - DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Este vírus é responsável por causar a arbovirose mais prevalente do mundo e a mais frequente nas Américas (Pinho, 2013; Organização Pan-Americana Da Saúde, 2020). Além disso, recentemente foi descoberto um 5º sorotipo - DENV-5 - identificado em um paciente na Malásia em 2007 (Mustafa et al. 2015).

Este vírus a cada ano, por todo o mundo, provoca a infecção de aproximadamente 400 milhões de pessoas, atingindo um número próximo a 22.000 mortes (Bhatt et al. 2013; Shepard et al. 2016). O primeiro surto deste arbovírus foi verificado em 1779 nos seguintes locais: Jacarta, Indonésia e Cairo, Egito (Wu et al. 2011). A disseminação do DENV ao redor do mundo ocorreu rapidamente com o passar dos anos, sendo encontrado no Brasil pela primeira vez por volta dos séculos XVIII e XIX e persistindo ao longo dos anos, principalmente em endemias na região do nordeste do país (Fiocruz, 2013).

A infecção por DENV pode apresentar diferentes manifestações clínicas, como: Dengue clássica, forma mais branda, à febre hemorrágica da dengue e síndrome do choque da dengue, formas mais graves (Gubler, 1998; Martina et al., 2009). A dengue, assim como muitas das arboviroses, apresentam sintomas de febre aguda em conjunto com outros sintomas genéricos de infecções, sendo em alguns casos até assintomática (Brasil, 2016). O aumento da gravidade desta patologia pode ser adquirido por meio de infecções por sorotipos diferentes (Roy, Bhattacharjee, 2021).

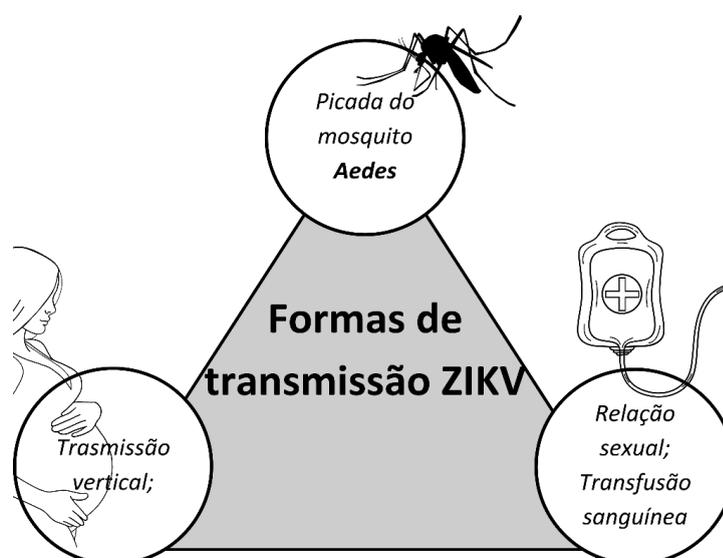
Embora a arbovirose causada pelo DENV cause manifestações clínicas graves no paciente e até seja letal em alguns casos, atualmente não estão disponíveis medicamentos com ação contra o vírus. Desta forma, pesquisadores vêm se esforçando ao longo dos anos para descobrir fármacos e/ou moléculas bioativas capazes de exercer ação contra o DENV (Abd Kadir et al., 2013).

O Zika vírus é outro arbovírus de importância clínica presente no Brasil, que também pode causar sintomas mais comuns, como febre, dor de cabeça, ou até em alguns casos ser assintomático, ou provocar alterações neurológicas (Musso et al., 2014; Oliveira Souto et al., 2018). Este vírus foi relatado pela primeira vez em abril de 1947 em uma floresta da Uganda, no qual foi isolado em soro de macaco Rhesus. Ao longo dos anos, o zika vírus foi sendo relatado em outras regiões do mundo tanto em animais quanto em humanos, porém foi em apenas 2007 que o primeiro surto causado por este vírus ocorreu, na Ilha de Yap, nos Estados Federados da Micronésia, onde grande parte da população foi infectada (Kindhauser et al., 2016; Sampathkumar; Sanchez, 2016; Watrin et al., 2016). Já no Brasil, este vírus foi

reportado somente em 2015, tornando-se o 11º arbovírus presente no país (Zanluca et al., 2015). A primeira infecção ocasionada pelo ZIKV no Brasil aconteceu em Camaçari, na Bahia, o que desencadeou um surto do vírus no país e até em outros países das Américas (Figueiredo, 2007; Plourde; Bloch, 2016; Waggoner; Pinsky, 2016).

A forma de transmissão do ZIKV pode se dar de diferentes maneiras, além da comum transmissão pela picada do mosquito, como é visto na figura 1 abaixo.

Figura 1 - Formas de transmissão por vírus da zika.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A passagem do vírus da mãe para o feto foi confirmada em casos de infecções por ZIKV no Brasil, visto que, pelo período de outubro de 2015, houve uma alta nos casos de microcefalia em recém-nascidos no país, assim, posteriormente, foi comprovado a relação entre a microcefalia em bebês e a transmissão do ZIKV de maneira vertical. Portanto, este vírus é capaz de provocar alterações neurológicas durante o período gestacional no feto (Basu; Tumban, 2016; Plourde; Bloch, 2016).

Além de acometer fetos, as alterações neurológicas podem ocorrer em adultos infectados pelo ZIKV também, doenças como Síndrome de Guillain-Barré, paralisia cerebral, podem ser desenvolvidas em pacientes acometidos por este vírus (Kindhauser et al., 2016; Sampathkumar; Sanchez, 2016; Watrin et al., 2016).

A forma de profilaxia existente contra o ZIKV é a proteção contra picadas do mosquito, com repelentes e roupas cobrindo grande parte do corpo, principalmente em gestantes; o uso de preservativo durante a relação sexual. Já a forma de tratamento atualmente é sintomática, não existindo medicamento antiviral específico para este arbovírus (Basarab et

al., 2016). Por isso, os estudos atuais envolvem a descoberta de molécula ativas contra o vírus, que possam ser administradas como medicamentos, principalmente englobando compostos naturais, por meio da extração de componentes ativos de plantas, raízes e flores (Gach et al., 2016).

Outro vírus de fundamental importância para a saúde pública do país é o arbovírus chikungunya (CHIKV), pertencente ao gênero *Alphavirus*, da família Togaviridae. Assim como os *Flavivirus*, os *Alphavirus* abrigam-se em reservatórios, geralmente vertebrados, e são transmitidos também por vetores artrópodes. Os vírus desta família costumam apresentar 40 a 70 nm de diâmetros, compostos por envelopes e capsídeo icosaédrico que circunda o genoma de RNA de fita simples positiva viral (Petersen; Powers, 2016).

O CHIKV foi encontrado pela primeira vez em 1952, isolado em humanos e mosquitos na Tanzânia, porém este arbovírus chamou a atenção mundial quando disseminou-se por ilhas do Oceano Índico desde 2005, causando surtos da infecção nestas regiões (Figueiredo, 2007; Enserik, 2006). No Brasil, os primeiros casos com transmissão por vetor (*Aedes aegypti*) da febre de Chikungunya foram detectados em 2014 (Vigilância em saúde, 2023).

Este vírus é responsável por provocar doenças febris acompanhadas geralmente por sinais e sintomas como: erupções cutâneas, mialgia, artralgia, dor de cabeça, etc. As infecções são caracterizadas por possuírem altas taxas de ataque, apresentando 3 fases, de acordo com o curso da doença, fase aguda/febril, fase pós-aguda e fase crônica - sendo a artralgia um sintoma bem comum da fase crônica, que pode persistir por anos (Borgherini et al., 2008).

Com o aumento da incidência de surtos relacionados ao CHIKV nos últimos anos, foi possível verificar o aumento de casos mais graves da doença, apresentando casos de comprometimento neurológico e hepático (Wielanek et al, 2007; Joubert et al., 1985; Josseran et al., 2006).

Assim como os arbovírus citados anteriormente, atualmente não existe nenhum tratamento medicamentoso eficaz contra o vírus da chikungunya.

2.3. MOLÉCULAS ATIVAS CONTRA ARBOVÍRUS:

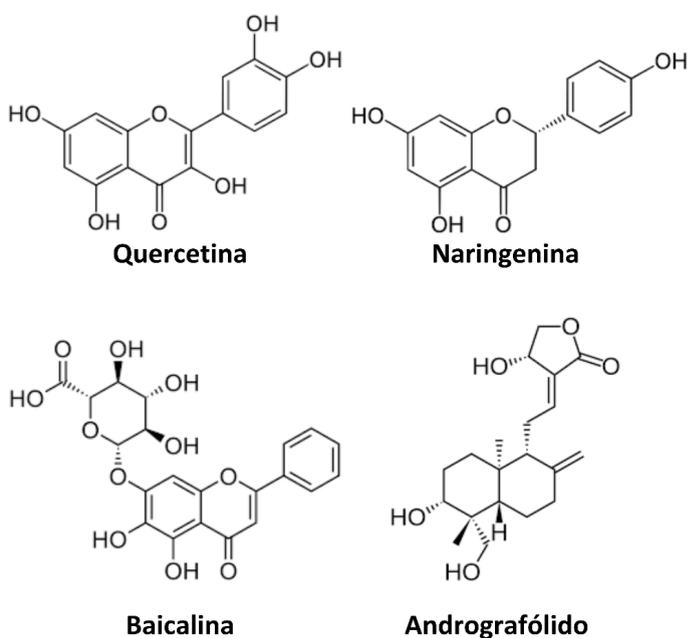
Apesar das arboviroses serem endêmicas em diversas regiões e apresentarem importância clínica para a saúde pública mundial, atualmente ainda não existem medicamentos eficazes para eliminação ou inativação dos vírus no organismo. Os fármacos existentes são geralmente para tratar os sintomas provocados pelo vírus. Isso acontece devido

à complexidade de ação dos vírus e ao surgimento de cepas multirresistentes (Chakravarty; Vora, 2021).

Por isso, a busca por compostos que apresentem ação contra os arbovírus vêm crescendo com o passar dos anos. Assim, uma variedade de compostos naturais e fármacos estudados demonstram ação contra 1 ou mais arbovírus, como a curcumina, que inibe a ligação de componentes dos envelopes do ZIKV ou CHIKV à superfície da célula hospedeira; a berberina, que apresentou alta efeito virucida *in vitro* contra o ZIKV; e o sofosbuvir que mostraram, em pesquisas, ação inibitória na replicação do ZIKV, através de sua ação na RNA polimerase do ZIKV (Mounce et al., 2017; Batista et al., 2019; Sacramento et al., 2017). No estudo de Padilla et al., 2014 também foi visto que a curcumina exercia atividade contra o sorotipo DENV-2.

Outros fitoquímicos como quercetina, naringenina, baicalina, andrografólido, nos quais as estruturas químicas estão representadas na figura 2, demonstram, em estudos, atividade contra a DENV e até contra o CHIKV, como é o caso do andrografólido (Zandi et al., 2011; Frabasile et al., 2017; Cataneo et al., 2019; Ahmadi et al., 2016; Moghaddam et al., 2014; Jiang et al., 2014).

Figura 2 - Estruturas químicas de fitoquímicos



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Embora uma gama de compostos e até fármacos já existentes apresentem ação contra os arbovírus, quando se propõe em realizar o desenvolvimento farmacotécnico destes compostos diversas limitações são consideradas como baixa disponibilidade, baixa

solubilidade aquosa, baixa absorção no organismo, problemas com a entrega do fármaco ao alvo específico, efeitos adversos, entre outros problemas (Carvalho, 2020).

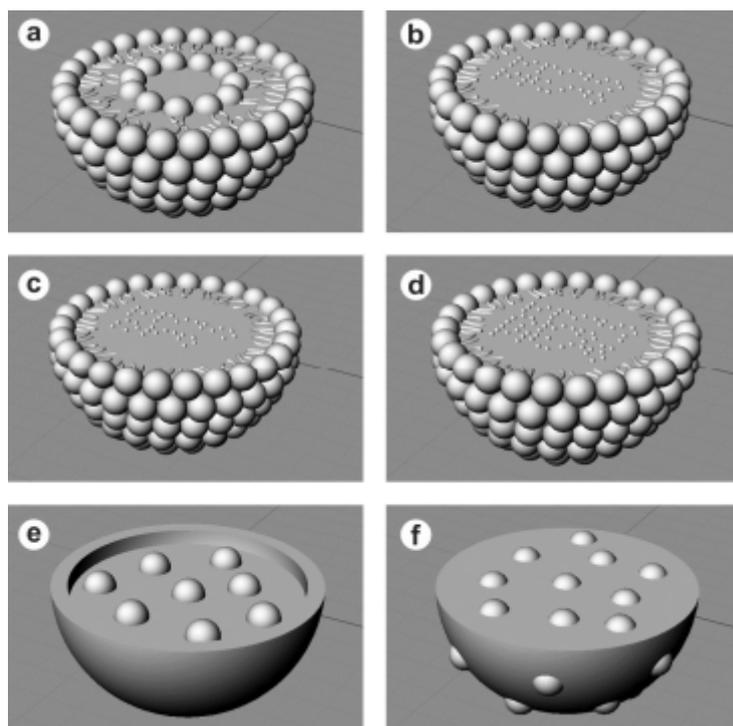
Desta forma, o uso de nanotecnologias para superar essas limitações é de grande importância, auxiliando a chegada destes compostos ao mercado.

2.4. SISTEMAS NANOTECNOLÓGICOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Diante das dificuldades encontradas no desenvolvimento de medicamentos com ação antiviral e vacinas, ao longo dos anos, a nanomedicina usando nanotecnologia vem revolucionando o campo de desenvolvimento de medicamentos, arquitetando e produzindo medicamentos baseados em nanopartículas (Martinho et al, 2011; Jahangirian et al 2017). Por se apresentarem na escala nanométricas (nm), as nanoestruturas têm facilidade de penetrar pelas barreiras biológicas chegando até a circulação sanguínea, onde permanecem por um período prolongado e permitem a liberação de fármacos na dose especificada, no local alvo de ação (Fonseca, 2012). Assim, estes nanomedicamentos causam menos flutuações plasmáticas, reduzindo, conseqüentemente, os efeitos adversos, e agem diretamente para tratar as células infectadas com maior eficiência (Güven, 2021).

Dentre os sistemas nanotecnológicos de liberação de fármacos, podem ser citadas os: (a) lipossomas, (b) nanoemulsões, (c)(d) nanopartículas lipídicas, (e)(f) nanopartículas poliméricas, representados na figura 3, que podem superar as limitações observadas em antivirais convencionais e moléculas bioativas, como fitoquímicos, podendo atravessar barreiras como a placentária e hematoencefálica, parâmetros importantes por exemplo no tratamento contra Zika Vírus. Adicionalmente, esses sistemas de liberação, podem ser com perfis de liberação controlada, sustentada/prolongada, de dose única, etc, apresentados na figura 4, que podem ser ajustado conforme a necessidade, e ainda é possível a realização da entrega do fármaco ao local de ação (Mendes, 2013; Villanueva-Flores,2020).

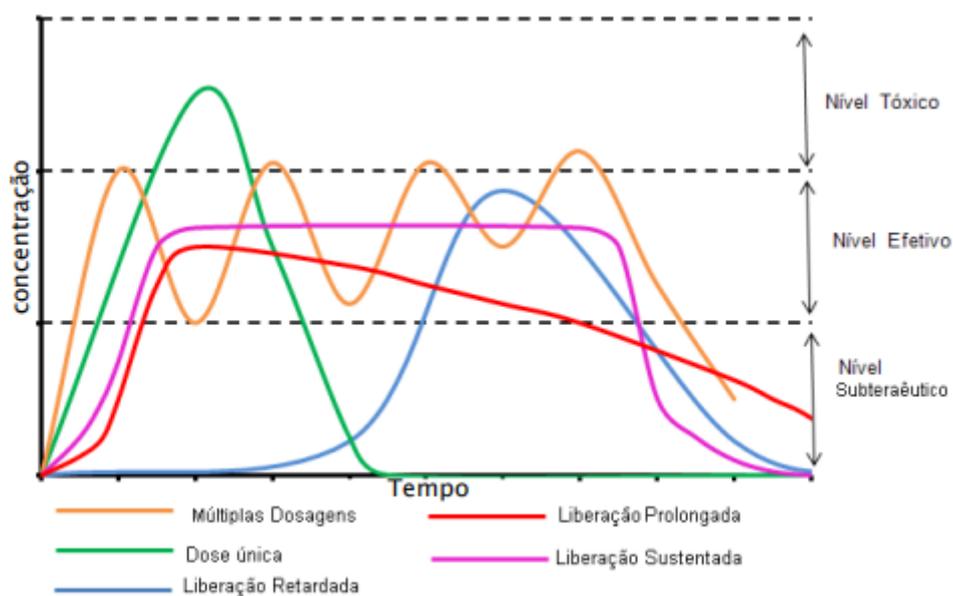
Figura 3 - Modelagem 3D de sistemas nanoestruturados



(a) lipossoma; (b) nanoemulsão; (c) nanopartícula lipídica sólida; (d) carreador lipídico nanoestruturado; (e) nanocápsula; (f) nanoesfera.

Fonte: Pohlmann et al., 2015

Figura 4 - Perfis de liberação de fármacos



Fonte: Albanez, 2012

Portanto, o desenvolvimento de novos antivirais contra arbovírus utilizando nanotecnologia pode ser uma alternativa terapêutica de fundamental importância para superar os problemas dos antivirais convencionais e mostrar-se como forma de tratamento promissora para as arboviroses.

3. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi realizada uma revisão integrativa da literatura a respeito de sistemas de liberação de fármacos utilizando nanotecnologia, contra os seguintes arbovírus: ZIKV, DENV, CHIKV. A pergunta norteadora para auxiliar na produção da revisão foi:

“Quais os nanossistemas de liberação de fármacos produzidos contra as arboviroses do Brasil (ZIKV, DENV, CHIKV) nos últimos 10 anos?”

3.1 Fase de busca

Os locais de buscas dos artigos científicos, teses e dissertações, foram em bases de dados, como: *PubMed*, BIREME, *MedLine*, *Science Direct* e BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). Os descritores utilizados durante as pesquisas foram: “Sistema de liberação de fármacos AND antivirais”; “Sistema de liberação de fármacos AND arboviroses”; Sistema de liberação de fármacos AND ZIKA virus”; Sistema de liberação de fármacos AND Dengue”; Sistema de liberação de fármacos AND Chikungunya”; “nanopartículas AND arboviroses”, sendo estes também pesquisados com a escrita em inglês, fazendo uso dos termos “*Drug delivery system*”; “*antivirals*”; “*nano**”; “*arboviruses*”.

3.2 Seleção inicial

Os artigos, teses e dissertações encontrados através das buscas realizadas de acordo com o tópico anterior, foram analisados pelos seus respectivos títulos e resumos, verificando a presença de estudos duplicados e até estudos que não estão em conformidade com o objetivo deste trabalho.

Portanto, para delimitar ainda mais esta pesquisa e selecionar dados e informações adequados a finalidade desta pesquisa, utilizou-se critérios de inclusão e exclusão, foram eles:

Critérios de inclusão:

- Trabalhos publicados nos últimos 10 anos, a partir de janeiro de 2013;
- Trabalhos sobre nanotecnologia relacionada apenas a sistemas de liberação de fármacos;
- Trabalhos a respeito do desenvolvimento de nanossistemas (nanopartículas poliméricas, nanoemulsões, lipossomas, nanopartículas lipídicas, etc);
- Arboviroses pesquisadas: Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV).

Critérios de exclusão:

- Trabalhos sobre desenvolvimento de nanoestruturas compostas de partículas metálicas, inorgânicas, *quantum dots*;

- Trabalhos sobre outras arboviroses, como Febre amarela;
- Trabalhos publicados antes de 2013.

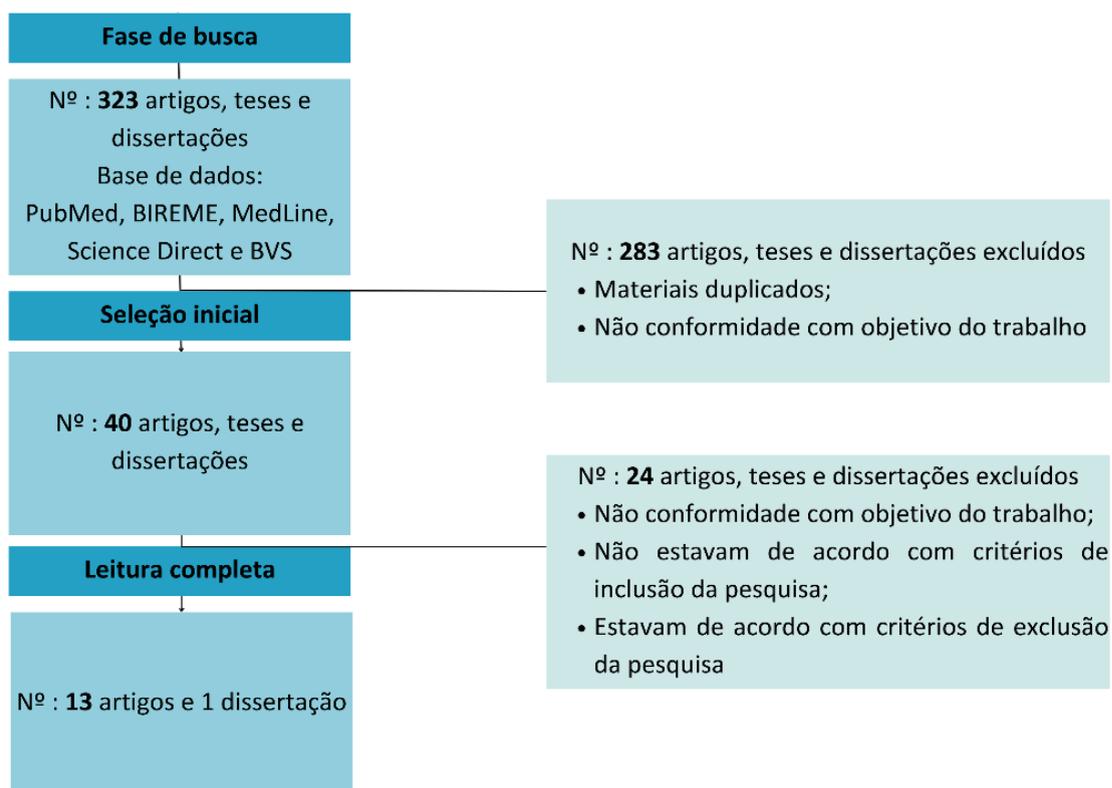
3.3 Leitura completa

Após a seleção inicial dos materiais de pesquisa, a leitura completa de cada um destes materiais foi realizada, verificando mais uma vez, de maneira minuciosa, se cada trabalho estava alinhado com os critérios de inclusão da pesquisa, eliminando aqueles que apresentavam algum dos critérios de exclusão citados anteriormente. Os trabalhos escolhidos de acordo com os critérios foram utilizados no desenvolvimento do conteúdo deste trabalho.

4. RESULTADOS e DISCUSSÕES

A partir da execução da metodologia citada, foram encontrados, na fase de busca, um total de 323 artigos científicos, teses e dissertações. Deste total, 40 estudos foram selecionados, na etapa “3.2 seleções inicial”, sendo analisados os títulos e resumos de cada um destes trabalhos, verificando se estes estão em conformidade com o objetivo proposto por esta pesquisa. Por fim, após a seleção de materiais e estudos relacionados com a finalidade proposta por este trabalho, a leitura completa foi realizada, totalizando 13 artigos e 1 dissertação, que cumpriram os critérios impostos na metodologia e auxiliaram no desenvolvimento desta pesquisa. A metodologia de busca é demonstrada na figura 5 e os estudos encontrados, assim como os nanossistemas abordados nestas pesquisas, foram dispostos na Tabela 1, sendo categorizados pelo tipo de nanossistema utilizado.

Figura 5 - Esquema de busca por pesquisas para o desenvolvimento do estudo



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 1 - Nanossistemas encontrados nos estudos pesquisado

| TIPOS DE NANOSSISTEMAS | NANOSSISTEMAS (Referência) | TAMANHO (nm); PDI; POTENCIAL | COMPOSIÇÃO | ARBOVÍRUS |
|------------------------|----------------------------|------------------------------|------------|-----------|
| | | | | |

| | | ZETA (mV) | | |
|--------------|--|--|--|------|
| Nanoemulsões | Nanoemulsão de óleo de copaíba (21) | NI | Fase aquosa: água deionizada; Fase oleosa: Óleo de copaíba; Surfactante: Lecitina de ovo LIPOID E 80 | ZIKV |
| | Nanoemulsão de curcumina (88) | 40.85 ± 0.919 nm; 0.366 ± 0.165; -7.039 ± 0.532 mV | Fase oleosa: óleo de mamona; Surfactante: Cremophor RH 40; Co-surfactante: PEG 400; Núcleo: Curcumina; Fase aquosa: água deionizada | DENV |
| | Nanoemulsão de baicalina (127) | 58.43 ± 2.1 nm; -8.18 ± 1.2 mV | Fase oleosa: Miristato de isopropila Surfactante: Cremophor RH 40 e EL35; Co-surfactante: PEG 400, etanol e Propilenoglicol; Fase aquosa: água deionizada | DENV |
| | Nanopartícula polimérica de IVM (116) | ~88 nm; ~-22 mV | PLGA-b-PEG funcionalizadas com Fc de IgG | ZIKV |
| | Nanopartícula polimérica de curcumina (94) | 780 nm; 0,374; -24 ± 2 mV | PLGA | ZIKV |
| | Nanopartícula polimérica de quercetina (5) | <400 nm; < -30 mV | Quitosana/Alginato | DENV |

| | | | | |
|-----------------------------------|--|---|---|----------------------|
| Nanopartículas poliméricas | Nanopartícula polimérica de quercetina (108) | 135 ± 8 nm; 0,252 ± 0,01 | Goma de amêndoa; Goma-laca Estabilizador: Tween 80 | DENV |
| | Nanopartícula polimérica de naringenina (27) | 430,42 ± 5.78 nm; 0.233±0.089; +32.1±2.56 mV | Eudragit E100 | DENV, ZIKV, CHIKV |
| Nanopartículas lipídicas | Carreadores lipídicos nanoestruturados de azitromicina (4) | 453 ± 26 nm; 0.228 ± 0.07; -30 ± 0.21 mV | Fase lipídica: Compritol 888 (sólido) e óleo de amêndoa (líquido) Emulsificante: Fosfatidilcolina | ZIKV |
| | Nanopartículas lipídicas de quercetina (69) | NLSs: 74.61± 4.23 nm; <0.3; -7.7 mV± 0.4 mV CLNs: 67.46 ± 3.29 nm, <0.3; -8,9 mV± 0.5 mV | Fosfolípido, Compritol (lipídio sólido) e acetato de tocoferol; Polissorbato - aquoso; Tween 80 OBS.: O acetato de tocoferol e o fosfolípido não foram usados na formulação de NLS. | DENV |
| | Nanopartículas lipídicas sólidas catiônicas PEGladas de baicalina (70) | 47.68 ± 1.65 nm; -0.533 ± 0.115 mV | Fosfolípido de soja, Compritol (sólido), Dc-Chol, Conjugadas com OX26 | DENV |
| | Nanopartículas lipídicas sólidas de naringenina (59) | 98 ±0.61nm; 0.258±0.058; -31.4±0.98 mV mV | Glicerol monoestearato Surfactante: Tween 80 | DENV, ZIKV, CHIKV |

| | | | | |
|---------------|--|--|---|-------------|
| Outros | Nanopartícula híbrida de siRNA (57) | 152,1± 0.36 nm; <0,5; 45.7 ± 4.2 mV | Octadecilamina (ODA), Monoestearato de glicerila (GMS), colesterol, DOPC, DPPC (lipídios auxiliares), DSEP PEG 2000 | CHIKV |
| | Nanossuspensão de andrografólido (123) | 500 nm | Povidona 30 (PVPK30) e tocofersolano (TPGS) | DENV, CHIKV |

NI - Não informado.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Existem fármacos e moléculas ativas que, em diversos estudos, apresentaram ação contra os arbovírus, porém quando administradas em soluções ou suspensões convencionais estas apresentam diversas desvantagens e limitações que interferem no seu potencial terapêutico e no seu perfil de segurança, o que faz com que a nanotecnologia utilizada como ferramenta de liberação de fármacos seja uma das soluções para estes problemas, na qual esta é capaz de aprimorar: a solubilidade do fármaco, a biodisponibilidade, o perfil de liberação, a concentração plasmáticas máxima, a passagem pela barreira hematoencefálica (BHE), reduzir a toxicidade, reduzir efeitos adversos, etc. (Singh et al., 2017). Desta forma, nos estudos pesquisados, foi possível visualizar o desenvolvimento de nanossistemas contendo fármacos ou compostos com ação antiviral contra as arboviroses de interesse, e esta ferramenta na maioria dos estudos mostrou-se vantajosa com relação à superação das limitações citadas anteriormente. Os aspectos destes nanossistemas serão abordados abaixo com maior detalhamento.

4.1 Nanoemulsão (NE)

As nanoemulsões são sistemas emulsionados, cineticamente estáveis, que apresentam em sua composição uma fase oleosa, estabilizada por tensoativos, dispersa em uma fase aquosa (O/A), ou até gotículas de água dispersas em óleo (A/O) (Gutiérrez et al., 2008; Lovelyn; Attama, 2011). É importante salientar que diferente das microemulsões (O/A), as nanoemulsões (O/A) são termodinamicamente instáveis, composta por gotículas de pequeno tamanho dispersas no meio, que variam na literatura, com relação ao seu raio, com valores de 1 a 1000 nm (Viana, 2018). Estes são sistemas que vêm demonstrando resultados promissores no âmbito da nanomedicina, devido às suas características, como estabilidade a longo prazo, facilidade de preparo e facilidade de solubilização do fármaco (McClements, 2011). O uso

deste tipo de sistema é promissor em diversos campos como a indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (Bonferoni et al., 2019).

Devido aos aspectos promissores atrelados às nanoemulsões, Carvalho (2017) desenvolveu nanoemulsões para internalizar o óleo de copaíba. A Copaíba é uma planta da família Leguminosae, do gênero *Copaifera* (Tobouti et al., 2017). O óleo desta planta é composto de diterpenos, sesquiterpenos, etc, e mostra-se bastante promissor devido às suas diversas propriedades como anti-inflamatório, antitumoral, antiviral, antioxidante, antifúngico, analgésico, etc (Tobouti et al., 2017; Diefenbach et al., 2018). Devido às características lipofílicas deste óleo, este apresenta dificuldades na absorção pelo organismo, e, conseqüentemente, dificuldades na sua internalização celular, mitigando seu potencial terapêutico (Singh et al., 2017). Por isso, Carvalho (2017), para solucionar os problemas atrelados ao óleo, desenvolveu esta nanoemulsão e sua ação em células infectadas com Zika vírus.

A nanoemulsão de óleo de copaíba foi produzida utilizando água deionizada para fase aquosa e lecitina de ovo (LIPOID E 80™), como tensoativo, na proporção 2:1 entre tensoativo:óleo. Esta apresentou-se não citotóxica contra células VERO E6, com uma viabilidade celular acima de 80% em concentrações até 180 µg/mL, e células HuH-7, com uma viabilidade celular de 67% em 360 µg/mL de nanoemulsão, após 48 horas de tratamento. O óleo de copaíba em sua forma livre apresentou altos níveis de citotoxicidade nas células VERO E6 e HuH-7, o que impossibilitou a continuação dos experimentos no estudo para verificar a atividade do óleo contra o ZIKV, evidenciando que o encapsulamento deste óleo foi benéfico para mitigar a toxicidade. Além disso, outros experimentos foram realizados com a nanoemulsão produzida e observou-se que a internalização destas aconteceu em todos os períodos de análise nas células VERO E6 e HuH-7, justificado pelo tamanho nanométrico das nanoemulsões, assim como a inibição viral por estas nanoemulsões foi exibida nos ensaios utilizando células VERO E6 infectadas com o ZIKV, nos quais 80% das células tratadas apresentaram inibição do vírus pela ação da nanoemulsão de óleo de copaíba. E, como demonstrado neste estudo, a nanoemulsão produzida também foi capaz de reduzir os níveis de RNA extracelular de ZIKV. Embora os resultados obtidos até o momento demonstram o potencial de ambos os NEs para inibir o ZIKV, mais estudos são necessários para confirmar o mecanismo de ação que esses sistemas usam para levar a esses efeitos.

A curcumina é um fitoquímico que, semelhante ao óleo de copaíba, apresenta diversas ações clínicas já relatadas anteriormente. Estudos recentes identificaram uma nova propriedade deste fitoquímico que é sua ação contra o vírus da dengue, principalmente o

sorotipo 2 (DENV-2) (Padilla et al., 2014). Porém, assim como muitos fitoquímicos, a curcumina também apresenta alguns problemas que limitam sua ação terapêutica, como baixa solubilidade aquosa e rápida hidrólise, apresentando classe biofarmacêutica IV (baixa solubilidade, baixa permeabilidade) (Rachmawati et al., 2016). Assim, Nabila et al., 2020 utilizou-se da nanotecnologia, para desenvolver uma nanoemulsão composta de óleo de mamona (fase oleosa), Cremophor RH 40 (tensoativo) e polietilenoglicol (PEG) 400 (co-tensoativo), contendo em seu interior curcumina. O tamanho de gotículas apresentou-se uniforme, nas imagens no microscópio de transmissão eletrônica (MET), com valor de 40.85 ± 0.919 nm, com índice de polidispersão igual a 0.366 ± 0.165 e potencial zeta -7.039 ± 0.532 mV, mostrando-se quase monodispersa. A quantidade de curcumina encapsulada foi de 99.40% e o valor de carregamento do fármaco foi de aproximadamente 2mg/mL. A viabilidade de células de carcinoma pulmonar humano (A549) foi maior que 80% quando tratadas com a nanoemulsões contendo curcumina usando concentrações abaixo de 12.5 $\mu\text{g/mL}$, com exceção do ensaio com DENV-4, que foi por volta de 70%. Por isso, no ensaio de atividade antiviral foram utilizadas concentrações testes de 1, 5, e 10 $\mu\text{g/mL}$. Neste ensaio, utilizou-se também células A549 infectadas com DENV-1 ou DENV-2 ou DENV-3 ou DENV-4 que foram tratadas com a nanoemulsões contendo curcumina, o que resultou em supressão do crescimento viral, principalmente nos sorotipos 1 e 2, assim como no tratamento com a solução de curcumina livre. Apesar da preparação de nanoemulsões contendo curcumina se mostrar viável em certas concentrações, quando em comparação com a curcumina livre, esta apresentou resultados mais satisfatórios, mostrando uma concentração citotóxica (CC50) de 61.51 $\mu\text{g/mL}$, enquanto a nanocurcumina foi de 52.97 $\mu\text{g/mL}$. Isso pode ser explicado possivelmente pelas diferenças entre a captação celular, sendo a nanoemulsão melhor absorvida. Com os achados elencados neste estudo, pode-se concluir que o encapsulamento da curcumina não interferiu no seu potencial inibitório contra os 4 sorotipos da DENV.

A baicalina, glicuronídeo da baicaleína, obtido da raiz da *Scutellaria*, é outro fitoquímico ativo contra diversos vírus, como o vírus da dengue (Moghaddam et al., 2014).

Pensando na ação antiviral da baicalina, Wu et al. (2018) produziram uma nanoemulsão, com a finalidade de melhorar a exposição oral de baicalina e auxiliar na sua absorção. Para formulação desta nanoemulsão, através de um estudo de solubilidade, foram escolhidos miristato de isopropila (IPM) e água destilada como fase oleosa e fase aquosa, respectivamente; Cremophor EL35 e Cremophor RH40 foram utilizados como surfactantes; propilenoglicol, etanol e PEG400 foram utilizados como co-tensoativos. Com base no estudo

de solubilidade e na pesquisa do diagrama de fases, a nanoemulsão foi preparada nas proporções desejadas dos componentes. Esta nanoemulsão apresentou formato esférico com um tamanho de 58.43 nm, potencial zeta de -8.18 mV e boa estabilidade. O ensaio de estabilidade a curto e longo prazo indicou que o processamento da preparação e a estabilidade da nanoemulsão foram adequadas. Também foi realizado o ensaio de absorção intestinal, onde a nanoemulsão de baicalina apresentou melhor absorção em comparação a suspensão de baicalina. O estudo farmacocinético em modelos de ratos machos Sprague-Dawley indicou que a nanoemulsão de baicalina apresentou uma melhoria de 14,56 vezes na exposição em comparação com a suspensão de baicalina. As recuperações de baicalina na extração do plasma foram todas superiores a 85,0%. Comparado com a suspensão de baicalina, a Cmax e o Tmax da nanoemulsão de baicalina aumentaram consideravelmente em 3,39 vezes e 3,0 vezes em plasma. Além disso, a nanoemulsão exibiu maior capacidade de solubilizar baicalina (9,8 mg/mL). Ainda que existam resultados satisfatórios quanto aos parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos, é de fundamental importância que estudos futuros sejam realizados analisando a ação biológica das nanoemulsões produzidas frente ao DENV, para confirmar que a baicalina, ao ser encapsulada, não perdeu sua ação contra este vírus.

4.2 Nanopartículas (NPs)

As nanopartículas são partículas de tamanho variado, com escala nanométrica entre um e centenas de nanômetros. Estes apresentam diversas aplicações como veículos de entrega de medicamentos, genes, proteínas, agentes de diagnóstico por imagem, etc (Kamal et al., 2012). A classificação destas partículas pode ser realizada de acordo com suas propriedades físico-químicas, sendo consideradas: NPs poliméricos, NPs lipídicas, NPs metálicas, etc (Khan et al., 2019). As NPs poliméricas e lipídicas são as principais candidatas como potenciais antivirais devido à sua composição, já que os materiais utilizados para fabricá-los conferem aos NPs biocompatibilidade e biodegradabilidade, não imunogenicidade e não toxicidade, e uma alta eficiência de aprisionamento de medicamentos (Yetisgin et al., 2020).

4.2.1 Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas poliméricas são estruturas coloidais que apresentam em sua estrutura polímeros, sintéticos ou naturais, capazes de encapsular fármacos, com a finalidade de aprimorar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas destes no organismo (Mehanna et al., 2014). Um dos polímeros bastante utilizado na composição das nanopartículas é o poli (ácido lático-co-glicólico)(PLGA), pelo fato de que este polímero é biodegradável, altamente biocompatível, não imunogênico, não tóxico, o que garante segurança e estabilidade aos nanossistemas (Molavi et al., 2020). Estes sistemas mostraram-se

benéficos principalmente devido à possibilidade de ajuste de tamanho, a garantia de proteção do fármaco, ao seu uso potencial para liberação controlada e também a capacidade de modificação de sua superfície, auxiliando no direcionamento do fármaco ao seu local de ação (Janagam et al., 2017; Owens III, Peppas 2006). Relacionado a estas vantagens, muitos estudos vêm sendo realizados para a produção de antivirais utilizando nanopartículas poliméricas, alguns destes serão comentados no texto a seguir.

A ivermectina (IVM) é uma lactona macrocíclica com ação antiparasitária de amplo espectro, principalmente contra nematelmintos. Recentemente, novos estudos mostram que este fármaco também apresenta ação contra alguns vírus, como o ZIKV. Porém, o fármaco apresenta limitações como baixa solubilidade em água, o que resulta na redução da concentração plasmática ideal para este desenvolver sua ação (Barrows et al., 2016). Por isso, Surnar et al. (2019) desenvolveram nanopartículas biodegradáveis contendo IVM, resistentes à pH ácido, funcionalizadas com fragmentos da porção Fc de anticorpos policlonais (IgG) para serem administradas por via oral e com liberação gradual do fármaco. Assim estes produziram uma plataforma biodegradável baseada no polímero PLGA composta por copolímeros em bloco de poli(lactídeo-coglicolido)-b-poli-etilenoglicol (PLGA-b-PEG). O Receptor Fc neonatal (FcRn) medeia o transporte de imunoglobulina G (IgG) através das barreiras epiteliais polarizadas, sendo expresso em um nível que é muito semelhante à expressão fetal na região apical de células epiteliais no intestino delgado e difusa em todo o cólon na idade adulta. O receptor se liga à porção Fc de IgG em pH ácido (<6,5), sendo o pH fisiológico (7,4) responsável por liberar a porção Fc da ligação com o receptor. Por isso a ideia de funcionalização das nanopartículas com porção Fc de IgG, para que estas sejam melhor absorvidas oralmente pelo organismo. (Dickinson et al., 1999; Israel et al., 1997)

As nanopartículas (NPs) foram sintetizadas pelo método de nanoprecipitação, sendo utilizadas diferentes concentrações de alimentação de IVM com relação ao polímero: 10, 20, 30, 40 e 50%. Com a caracterização físico-química de cada uma das NPs produzidas foi verificado que a alimentação das NPs com até 30% de IVM mostraram-se mais estáveis e bem definidas. Com a conjugação do fragmento de Fc de anticorpo IgG, as NPs apresentaram tamanho maior (~88 nm) e potencial zeta (~-22mV).

Durante os experimentos realizados no estudo foi possível verificar que as NPs funcionalizadas:

- Apresentaram passagem pela modelo de barreira epitelial intestinal com células Caco-2 e pelo estudo *in vivo* em camundongos BALB/C, apresentando boa distribuição na corrente sanguínea neste último experimento;

- Não induziram imunogenicidade, nem hepatotoxicidade;
- Liberação de IVM mais rápida em pHs entre 3 e 5;
- Liberação controlada na corrente sanguínea;
- Não apresentaram toxicidade contra células Caco-2;
- Inibiram a expressão da proteína NS1, presente em ZIKV, em células renais humanas embrionárias (HEK293T);
- Não atravessaram a barreira placentária, como a IVM livre;
- Não apresentaram toxicidade em linhagens celulares derivadas do tecido placentário humano (JEG-3), como a IVM livre.

Visando aprimorar as propriedades biofarmacêuticas da curcumina, Pachó et al., 2021 produziram nanopartículas de PLGA contendo curcumina (NPs-PLGA-CUR), nas quais apresentaram um tamanho de 780 nm, um índice de polidispersão de 0,374 e um potencial zeta de -24 ± 2 mV. O perfil de liberação da curcumina *in vitro* apresentou 80% do fármaco liberado, mostrando uma liberação mais lenta em períodos mais longos, sugerindo que o fármaco é liberado de duas formas, inicialmente por difusão do fármaco das NPs para o ambiente externo e, posteriormente, por degradação do polímero. Além disso, deve-se considerar que a liberação foi realizada em meio aquoso isento de enzimas. No organismo humano, a presença de enzimas capazes de hidrolisar o PLGA para produzir ácido lático e glicólico pode permitir uma maior liberação de CUR no organismo. O ensaio de citotoxicidade em células VERO foi realizado neste trabalho e as células tratadas com as NPs de PLGA-CUR demonstraram uma viabilidade celular superior a 90% até mesmo na concentração máxima avaliada de 140 μ M. Em contraste, uma maior citotoxicidade dependente da dose foi exibida pela CUR livre, atingindo uma redução de 50% na viabilidade das células VERO após tratamento com uma concentração de CUR de $68,3 \pm 0,4$ μ M. Por fim, foi realizado o ensaio para avaliar a atividade antiviral das NPs desenvolvidas através de células VERO infectadas com ZIKV. O resultado deste ensaio foi verificado através da inibição do efeito citopático induzido pelo vírus, onde as NPs-PLGA-CUR mostraram uma concentração efetiva (EC50) de $3,7 \pm 0,05$ μ M. A redução no rendimento do vírus observada em células infectadas com ZIKV pelo efeito de NPs de PLGA-CUR em comparação com células infectadas tratadas com PLGA de controle foi superior a 95%. Dada a falta de toxicidade celular e a eficiência antiviral, os NPs de PLGA-CUR podem ser considerados um agente antiviral potente e seletivo contra o ZIKV. Além disso, não ocorreu interação entre a curcumina e o copolímero nas NPs de PLGA-CUR resultantes que apresentaram um perfil de liberação satisfatório. Este estudo foi o primeiro a apresentar a atividade antiviral contra

ZIKV de nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina, sugerindo que NPs de PLGA-CUR são candidatos promissores para uma formulação de medicamento contra flavivírus patogênicos humanos.

A quercetina é um flavonoide encontrados naturalmente em frutas e vegetais, como: cebolas, maçãs, etc. com diversas propriedades terapêuticas já relatadas, na qual já foi demonstrado em alguns estudos que este é capaz de reduzir a replicação viral da dengue, principalmente do sorotipo 2 (Zandi et al., 2011). Porém seu potencial terapêutico muitas vezes é prejudicado devido a sua baixa solubilidade aquosa, instabilidade sob condições fisiológicas e baixa biodisponibilidade (Cai et al., 2013). Por isso, no estudo de Aluani et al. (2017), estes desenvolveram nanopartículas de quitosana/alginate para utilizá-las como sistema de liberação de quercetina. A gelificação eletrostática de alginate de sódio e quitosana foi realizada para preparação de nanopartículas de quitosana/alginate, sendo a quercetina, posteriormente, introduzida nas nanopartículas dispersas no meio. Durante o desenvolvimento das nanopartículas, diferentes proporções de alginate de sódio e quitosana foram testadas, e visualizou-se que a maior concentração de alginate, quando comparada à concentração de quitosana, na formulação foi responsável por garantir um tamanho menor de nanopartículas (< 400 nm) e um potencial zeta de valor negativo (< -30 mV), o que resultou numa estabilidade maior. Ensaio de citotoxicidade *in vitro* foram realizados em células de carcinoma hepatocelular humano (HepG2), analisando os resultados utilizando o reagente 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e verificando a liberação da Lactato Desidrogenase (LDH), e mostraram que as nanopartículas vazias e as carregadas com quercetina não foram tóxicas, mesmo após 72h das células tratadas com as nanopartículas. Além disso, as nanopartículas também foram administradas em camundongos, como forma de avaliar a toxicidade *in vivo* das nanopartículas. Os resultados do ensaio *in vivo* demonstraram que as nanopartículas não alteraram o peso corporal, o peso relativo dos fígados dos camundongos, a histologia hepática, os parâmetros hematológicos e bioquímicos. Portanto, o estudo mostrou que o encapsulamento da quercetina em nanopartículas de quitosana/alginate resultou em um sistema medicamentoso possuindo perfil de segurança benéfico para administração oral. Mas, ainda é importante que ensaios biológicos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sejam feitos, analisando o potencial de ação das nanopartículas produzidas contra o DENV, para verificar se a quercetina ainda apresenta ação contra o vírus, mesmo quando encapsulada.

Outro estudo encontrado a respeito do encapsulamento de quercetina, onde foram utilizadas nanopartículas poliméricas, foi o de Sedaghat et al. (2019). Nele, as nanopartículas

de quercetina foram preparadas através de goma de amêndoa (AG), tween 80 como estabilizador e goma-laca (SH) como núcleo, utilizando o método de precipitação antissolvente. A goma de amêndoa é um polissacarídeo arabinogalactano de natureza anfifílica, produzida por amendoeiras doces (*Amygdalus communis L.*) (Bouaziz et al., 2014). Já a goma-laca é macromolécula não tóxica, secretada por insetos *Kerria lacca*, composto de componentes polares e não polares (Patel et al., 2013; Farag, Leopold, 2009). O tamanho médio da partícula produzida foi de 135 ± 8 nm com índice de polidispersidade de $0,252 \pm 0,01$ e eficiência de encapsulamento de $97,7 \pm 1,2\%$. O encapsulamento da quercetina foi responsável por aumentar em até 2 vezes a absorção do fitoquímico em comparação à quercetina livre em pH 7,4. Os ensaios de citotoxicidade revelaram que nenhuma toxicidade significativa foi observada para células Caco-2 tratadas com nanopartículas carregadas de quercetina com fator de diluição de 100, sendo esta toxicidade reduzida com o aumento da diluição e a presença da quercetina. Os autores do artigo justificaram que a toxicidade em células Caco-2 vistas durante o experimento, com o tratamento por NPs vazias, foi devido à presença de goma-laca e o tween na formulação. Além disso, o estado de diferenciação das células também pode ser outro fator, já que as células Caco-2 usadas no estudo eram indiferenciadas e em crescimento, sendo estas mais sensíveis à toxicidade em geral em comparação com o células Caco-2 totalmente diferenciadas, semelhantes a enterócitos. Portanto, mais pesquisas são necessárias, com diferentes modelos de células intestinais, para confirmar a toxicidade celular. Com relação à absorção da quercetina por células Caco-2, foi verificado que as células tratadas com quercetina livre em DMSO apresentaram uma absorção maior do fitoquímico, seguido de células tratadas com nanopartículas carregadas de quercetina com fator de diluição de 100. As células tratadas com nanopartículas carregadas de quercetina com fator de diluição de 50 apresentaram menor captação de quercetina, pois esta apresenta uma maior citotoxicidade causando danos à membrana celular e prejudicando a absorção da quercetina. É importante destacar que ensaios biológicos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, ainda precisam ser feitos, analisando o potencial de ação das nanopartículas produzidas contra o DENV, para verificar se a quercetina ainda apresenta ação contra o vírus, mesmo quando encapsulada

Outro flavonóide, como a quercetina, é a naringenina (NRG), presente em toranjas, uvas, limão, tangerina, etc, (Jayaraman et al., 2009) que também apresenta baixa solubilidade em água, como também baixa biodisponibilidade oral, o que restringe suas aplicações terapêuticas. Este exibe uma gama de efeitos farmacológicos nos sistemas biológicos como ações anti inflamatórias, anticancerígenas, anti aterogênicas, anti fibrogênicas e antioxidantes

(Yang et al., 2013; Khan et al., 2015). Além disso, estudos recentes *in vitro* demonstraram sua capacidade de inibir a replicação viral de arbovírus, como DENV, ZIKV e CHIKV (Frabasile et al., 2017; Cataneo et al., 2019; Ahmadi et al., 2016).

Para aumentar a biodisponibilidade da naringenina, o estudo de Chaurasia et al. (2018) desenvolveram um sistema de nanoentrega polimérico composto de NRG e eudragit E100, através da técnica de alta velocidade de homogeneização (emulsificação-difusão-evaporação). Este sistema foi caracterizado físico-quimicamente e quanto aos dados farmacocinéticos e citotóxicos. As NRG-EE100-NPs apresentaram tamanho de partícula 430,42 nm, índice de polidispersão de 0,233, potencial zeta de + 32.1 mV com eficiência de encapsulamento de 68,83%. Através dos ensaios realizados durante o estudo foi possível verificar que a liberação da NRG das NPs foi governada por uma combinação de difusão de drogas e relaxamento da cadeia polimérica durante o inchaço do polímero. Nos estudos de estabilidade, as NRG-EE100-NPs eram estáveis à temperatura ambiente (por 9 meses) e à uma temperatura acelerada (por seis meses) para todos os parâmetros físico-químicos. Com relação ao estudo farmacocinético, os valores de área sob a curva e Cmax foram bem maiores quando a NRG foi administrada como NRG-EE100-NPs em comparação com a suspensão aquosa de NRG, e a eliminação da suspensão de NRG também foi rápida, após 2 horas. Assim, os resultados da farmacocinética corroboram com um aumento da biodisponibilidade oral causada pelas NRG-EE100-NPs. Esta melhora na biodisponibilidade oral pode ser explicada por alguns fatores, são eles: (i) estado amorfo ou molecularmente disperso do fármaco dentro das matrizes poliméricas, ou seja, a estrutura cristalina original da droga não foi encontrada nas nanopartículas dependentes de pH, apesar da carga relativamente alta de NRG nas nanopartículas; (ii) a boa adesão das NRG-EE100-NPs pela mucosa gastrointestinal devido ao polímero EE100; (iii) a natureza catiônica também confere mucoadesividade à membrana do TGI e permite a absorção das nanopartículas por um período de tempo mais longo. Apesar das vantagens associadas ao encapsulamento da NRG, ainda são necessários ensaios biológicos para verificar a permanência da atividade da NRG contra os arbovírus.

4.2.2 Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas são cápsulas nanométricas (entre 50 - 1000 nm) à base de lipídios, divididas em Carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) com matriz sólida, que consiste numa mistura de lipídios sólidos e líquidos; Nanopartículas lipídicas sólidas (NLSs), com matriz sólida, rodeada de surfactantes em uma dispersão aquosa, diferindo das NLCs no nível de organização da matriz (Mehnert, Mader, 2001; Battaglia, Gallarate, 2012). Em comparação as NLSs, os CLNs apresentam uma capacidade melhor de carregamento dos

fármacos, assim como sua biocompatibilidade também é vantajosa com relação a outros nanocarreadores lipídicos (Garg et al., 2022). Devido à biocompatibilidade, baixa toxicidade, estabilidade, facilidade de funcionalização de superfície e aumento de escala, as nanopartículas lipídicas vêm sendo empregadas para a entrega de compostos antivirais (Shadab et al., 2015).

A azitromicina (AZ) é um antibiótico tipicamente utilizado em diversas infecções bacterianas. No entanto, este fármaco mostrou-se ativo contra alguns vírus como SARS-CoV-2, ZIKV, ebola e influenza (Damle et al., 2020). Porém, o fármaco é bastante associado a diversos efeitos indesejáveis durante sua administração prolongada (Bleyzac et al., 2020). Para aprimorar as propriedades biofarmacêuticas e reduzir os efeitos adversos deste fármaco, o estudo de Alrashedi et al. (2022) desenvolveu uma Carreadores lipídicos nanoestruturados de AZ como sistema de liberação pulmonar.

As nanoestruturas desenvolvidas apresentaram tamanho de 453 ± 26 nm, potencial zeta de -30 ± 0.21 mV e com índice de polidispersão igual a 0.228 ± 0.07 . A liberação *in vitro* do fármaco mostrou-se crescente, sendo 50% da AZ liberada nas primeiras 2h seguida de uma liberação sustentada. Todas as alterações histológicas induzidas em camundongos por Bleomicina (BLM) foram atenuadas pelo tratamento com as nanoformulações (AZ-CLN) em dose relativamente baixa em comparação à administração oral de AZ livre. Para administração pelo sistema pulmonar, as AZ-CLN foram formuladas com sucesso usando o método de emulsificação-ultrasonicação a quente, nas quais apresentaram características farmacêuticas aceitáveis de tamanho de partícula e padrão de liberação. Portanto, o presente estudo representa uma base para estudos adicionais, como estabilidade da formulação e farmacocinética.

Kumar et al. (2016) também produziram nanopartículas lipídicas, porém com o encapsulamento do fitoquímico, quercetina. A composição das nanopartículas contou com fosfolípidios e acetato de tocoferol para ultrapassar a BHE, já que a quercetina em solução apresenta baixa absorção pela BHE. Os nanocarreadores desenvolvidos (74,61 nm para Nanopartículas lipídicas sólidas - NLS e 67,46 nm para Carreadores lipídicos nanoestruturados - CLNs) estavam na faixa nanométrica com valores de PDI $<0,3$, cargas superficiais no valor de $-7,7$ mV para NLSs, e $-8,9$ mV para NLCs e o encapsulamento da quercetina por ambos os nanocarreadores foi $>80\%$ (83,27% para NLSs e 89,91% para CLNs). Durante os 6 meses de estudo, verificou-se a estabilidade dos nanocarreadores, não havendo mudanças ($<5\%$) no EE e no tamanho de partícula a uma temperatura de armazenamento de 5°C . Quando as nanopartículas foram armazenadas em temperaturas mais

altas (30-40°C) a incidência de coalescência das nanopartículas ocorreu, resultando no vazamento das nanopartículas, e, conseqüentemente, redução da eficiência de encapsulamento (EE). O ensaio em modelos de células Caco-2 para verificar a permeabilidade dos nanocarreadores através destas, apresentou as NLSs e CLNs com melhor permeabilidade intestinal quando comparada à quercetina livre, devido ao design, composição e faixa de tamanho nanométrico destas. Os nanocarreadores também melhoraram a biodisponibilidade relativa da quercetina em 3,5 vezes (NLSs) e 5,4 vezes (CLNs) comparando com o fitoquímico livre. Com relação a distribuição da quercetina no SNC, as nanopartículas foram capazes de aumentar a distribuição cerebral de quercetina em 3,2 vezes (NLSs) e 5,6 vezes (CLNs). Os resultados farmacocinéticos promissores oferecem imenso potencial no desempenho farmacodinâmico.

No estudo de Liu et al. (2015) foram preparadas nanopartículas lipídicas sólidas catiônicas PEGladas conjugadas com anticorpo OX26 foram carregadas com Baicalina (OX26-PEG-CNLS) para servir como um sistema de entrega de fármaco no cérebro. Estas foram obtidas por evaporação-solidificação da emulsão em baixa temperatura. O anticorpo monoclonal OX26 contra o receptor de transferrina tem sido utilizado com sucesso em muitos estudos de direcionamento cerebral *in vivo*, já que este receptor encontra-se na superfície de células da BHE (Hu et al., 2011). Os resultados demonstraram que OX26-PEG-CNLS apresentou tamanho de 47.68 nm, potencial zeta de -0.533 mV e EE = 83.03%. O tamanho das nanopartículas mostraram-se promissores, já que geralmente a transcitose pelas células capilares cerebrais ocorre com partículas menores que 200 nm. No estudo farmacocinético, a área sob a curva (AUC) das NPs mostrou um valor de 11.08 vezes maior que a solução de Baicalina, e a concentração plasmática máxima (Cmax) foi 7.88 vezes maior que a solução. As NPs apresentam-se promissoras como sistema de entrega de fármacos através da BHE, sendo ainda necessário, em estudos posteriores, a avaliação biológica das NPs produzidas, para verificar a ação destas contra o DENV.

Ji et al., 2016 foram outros autores que desenvolveram nanopartículas lipídicas sólidas(NLSs) para prolongar e sustentar a liberação da NRG, com aprimoramento da estabilidade, toxicidade e aumento da biodisponibilidade. As NRG-NLSs foram preparadas por emulsificação e baixa temperatura de solidificação. O glicerol monoestearato (GMS) foi selecionado para construção das NLSs, já que apresentou melhor solubilidade do fármaco no meio, assim como maior compatibilidade com a NRG. O Tween 80 foi utilizado como surfactante, garantindo menor tamanho para a NLSs e melhor estabilidade. As NRG-NLSs preparadas obtiveram um formato esférico, com tamanho de 98 nm, índice de polidispersão de

0.258, potencial zeta de -31.4 mV, conteúdo total do fármaco de 9.76 mg, uma eficiência de encapsulamento de 79.11% e uma liberação cumulativa do fármaco de 80% em 48h, mostrando um perfil sustentado de liberação. Pelo ensaio de citotoxicidade utilizando o reagente MTT e células A549, as NRG-NLSs mostraram-se não tóxicas, mesmo em concentrações altas de 50 µg/mL, e a biodisponibilidade relativa apresentou-se maior que a suspensão de NRG 2.53 vezes. Para avaliar se os NRG-NLSs poderiam entregar eficientemente a droga em células, os autores utilizaram FITC (marcador de fluorescência) para marcar as NLSs e examinar a internalização. O resultado deste ensaio foi visualizado por microscopia confocal de varredura a laser, verificando a internalização significativa, em 2 e 3 horas, de 50 µg/mL de FITC-NLSs nas células A549, não penetrando o núcleo. Estes resultados mostraram que a captação celular de FITC-NLSs em células A549 é altamente dependente do tempo dentro de 3 horas. No estudo farmacocinético, as concentrações plasmáticas de NRG foram significativamente mais elevadas em ratos tratados com suspensão de NRG-NLSs do que naqueles tratados com suspensão de NRG. Os resultados atuais mostram o alto potencial de tratamento clínico dos NLSs como uma ferramenta eficaz de nanocarreador para a administração de NRG, sendo ainda necessário, em estudos posteriores, a avaliação biológica das NPs produzidas, para verificar a ação destas contra o DENV.

4.3 Outros

Além dos nanossistemas apresentados anteriormente, existem vários outros que podem ser utilizados para entrega de antivirais. Um exemplo de nanossistema que mostrou-se na literatura, sendo usado como potencial antiviral, foi nanopartícula híbrida, composta por mais de um tipo de material de encapsulamento. Este sistema é composto por 3 estruturas: matriz polimérica interna (núcleo), que transporta o fármaco com alta eficiência de carregamento; camada lipoidal, que é cercada por um núcleo polimérico que confere biocompatibilidade e estimula a retenção do medicamento dentro do núcleo polimérico; e a camada externa que é composta por PEG lipídico que reveste a camada lipoidal e assim aumenta a estabilidade, prolonga o tempo de circulação *in vivo* e auxilia na estabilização estérica (Chan et al., 2009). As nanopartículas híbridas têm sido bastante estudadas na nanomedicina devido às suas muitas vantagens sobre outros nanossistemas, como estabilidade, capacidade de liberação controlada, alta biocompatibilidade devido à presença de PEG-lipídio (Chan et al., 2009).

O estudo de Jeengar et al. (2022), é um exemplo de caso de desenvolvimento de nanopartículas híbridas, nele foram utilizados lipídios catiônicos e polímeros, preparados, caracterizados e complexados com siRNA. Estes sistemas foram avaliados quanto à estabilidade e toxicidade contra o CHIKV. Dentre os vários sistemas de nanoentrega

produzidos nesta pesquisa, o sistema contendo o lipídio catiônico estearilamina (Octadecilamina; ODA), com carga catiônica de 45,7 mV, tamanho de 152,1 nm e índice de polidispersão $<0,5$, possibilitou a complexação máxima de siRNA, com uma boa estabilidade e potente inibição da carga viral do CHIKV em células VERO, sendo os efeitos combinatórios da ODA com o siRNA responsáveis pela maior inibição do crescimento viral. A atividade antiviral do sistema também foi avaliada em estudos *in vivo* usando camundongos C57BL/6 infectados com CHIKV. Após o tratamento com as nanopartículas contendo o siRNA, verificou-se redução da carga viral no soro, com 99% da viremia diminuída tanto no soro quanto no tecido muscular. Além disso, este sistema apresentou não toxicidade em células VERO, com $CC50 >100 \mu\text{g/mL}$. Em trabalhos anteriores desenvolvidos pelos mesmos autores, estes projetaram e avaliaram 2 siRNAs com ação contra o CHIKV em camundongos, porém um problema relatado na pesquisa foi que nucleases endógenas degradaram os siRNAs, o que reduziu sua meia-vida, e consequentemente, sua eficácia (Parashar et al., 2013; Gavrillov, Saltzman, 2012). Assim, no atual estudo, o sistema de entrega auxiliou na superação desta limitação, melhorando a eficácia da terapia. A terapia genética é o tipo de terapia utilizado pelos autores Jeengar et al. (2022), que vem ganhando força durante os anos como uma alternativa de tratamento contra diversas patologias. Esta consiste em tratar através da alteração genética celular do paciente (Verma et al., 2000). Uma das ferramentas que pode ser utilizada na terapia gênica é o RNA de interferência (RNAi) que regula a expressão gênica e os mecanismos de defesa contra os vírus. Os Pequenos RNAs interferentes (siRNA) são fundamentais para o mecanismo de ação do RNAi, estes são capazes de silenciar genes específicos sem ativar uma resposta de interferon em células animais, sendo isto muito promissor no tratamento de cânceres e doenças infecciosas (Kim, Rossi, 2007).

Outro sistema que pode ser destacado é o de nanossuspensão, no qual é uma partícula com menos de $1\mu\text{m}$, composta por uma dispersão de nanocristais do fármaco em um meio líquido, que geralmente é água. Esta é bem vista devido às suas propriedades termodinâmicas (Nangare et al., 2018). Este sistema apresenta como vantagens: baixo custo, facilidade no *scale up*, menor uso de solventes orgânicos, etc. Estes sistemas têm sido muito utilizados para entrega de fármacos que apresentam limitações nas suas propriedades biofarmacêuticas (Nawal, 2018).

No trabalho de Xu et al. (2017), foi desenvolvido um sistema nanoautoemulsionado contendo andrografólido. O andrografólido é um composto diterpenóide lactona isolada de *Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae), que apresenta moderada solubilidade em água, baixa biodisponibilidade oral, sendo da classe biofarmacêutica II (baixa solubilidade, alta

permeabilidade), e é bem instável em meios ácidos e básicos, o que conseqüentemente faz com que exista uma certa dificuldade de utilizar este fitoquímico como fármaco, apesar de sua atividade contra chikungunya e dengue (Jiang et al., 2014). Assim, o estudo de Xu et al. (2017) se propõe a melhorar a biodisponibilidade deste fármaco, por utilização de um sistema de entrega baseado em solid self nanodispersion. Inicialmente, os autores prepararam um sistema de nanossuspensão de andrografólido (Andro-NS), contendo PVPK30 e TPGS, que apresentou tamanho de cerca de 500 nm, preparados por tecnologia de homogeneização de alta pressão, e posteriormente convertidos em nanocristais secas (Andro-NP) por meio de secagem por pulverização para aprimorar a estabilidade da formulação. Por fim, o Andro-NP foi misturado com lactose e celulose microcristalina formando o sistema final de solid self nanodispersion (Andro-SNDS), preparado através da tecnologia de compressão direta. Na análise de resultados, foi visto que a dissolução *in vitro* do Andro-SNDS, Andro-NS e Andro-NP seco por pulverização foram superiores aos do pó bruto do andrografólido e mistura física de Andrografólido com os constituintes dos sistemas, respectivamente. No ensaio farmacocinético, a Andro-SNDS apresentou $T_{m\acute{a}x}$ (0.86h), concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) ($299,32 \pm 78,54$ ng/mL) e área sob a curva ($AUC_{0-\infty}$) ($4440,55 \pm 764.13$ mg/L · h) maiores do que o Andro livre ($1h47, 77,52 \pm 31.73$ ng/mL e $1437,79 \pm 354.25$ mg/L·h), sendo semelhante aos resultados dos ensaios *in vitro*. Apesar dos resultados promissores quanto às propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos sistemas desenvolvidos, ainda são precisos ensaios biológicos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, para comprovar que o encapsulamento não limitou a ação anti-CHIKV e anti-DENV do andrografólido.

Dado os resultados apresentados, foi possível verificar que parâmetros como: biodisponibilidade, solubilidade e viabilidade celular foram aprimorados a partir do encapsulamento dos fármacos/moléculas bioativas. Além disso, em muitos dos estudos citados, as nanopartículas desenvolvidas apresentaram liberação sustentada ou prolongada *in vitro* e/ou *in vivo*, o que auxilia em um melhor potencial terapêutico do princípio ativo, assim como pode reduzir os efeitos tóxicos.

A passagem pela BHE, em arboviroses como a provocada pelo ZIKV, é um fator primordial para o bom funcionamento do antiviral desenvolvido. Assim, alguns dos estudos apresentados tinham como finalidade a entrega dos fármacos no Sistema Nervoso Central (SNC), o que também foi possível através da utilização da nanotecnologia, principalmente com o uso de nanopartículas funcionalizadas. A funcionalização das nanopartículas ocorre geralmente por meio de modificações químicas na superfície da nanopartícula com a

introdução de um grupo funcional neste local. Este grupo funcional pode ser : uma molécula, um íon, um peptídeo, uma vitamina, etc, sendo este acoplado à nanopartícula com o objetivo de aprimorar as aplicações terapêuticas do sistema, tornando a nanopartícula mais seletiva e/ou específica (Figuerola et al., 2010).

Desta forma, foi verificado que ao trabalhar com compostos bioativos encapsulados em escala nanométrica, as propriedades físico-químicas e terapêuticas das moléculas bioativas foram modificadas. Isso é característico da nanotecnologia, que a partir da utilização desta ferramenta, é possível ajustar a solubilidade do composto, o tempo de entrega deste ao local de ação, assim como direcionar o princípio ativo ao alvo (Caruthers et al., 2007).

Outro fator que pôde ser analisado durante a pesquisa, foi o grande uso de polímeros biodegradáveis, assim como, o uso também de lipídios para produção das nanopartículas.

Os lipídios geralmente são usados como transportadores de fármacos por vantagens como: biodegradabilidade, não toxicidade, disponibilidade, custo benefício, etc (Puri et al., 2009). Além disso, os lipídios apresentam a capacidade de carregar bem o fármaco, gerar uma grande área de superfície e liberar controladamente o medicamento (Mukherjee et al., 2009). O uso de surfactantes e co-surfactantes nas formulações estudadas, auxiliaram na estabilização físico-química das nanopartículas, assim como no aprimoramento da solubilidade do fármaco.

Já os polímeros que geralmente são utilizados na composição das formulações são os hidrofílicos naturais, como alginato e quitosana, e sintéticos, como PLGA e PEG (Kaushik, 2020). O grande uso de polímeros na composição de nanopartículas está associado a facilidade de manipulação e modificação destas estruturas, além de que alguns dos polímeros sintéticos utilizados também são biodegradáveis, como o PLGA. A modificação da superfície dos polímeros vem sendo realizada como forma de reduzir a captação por células fagocitárias ou até interação com regiões diferentes do alvo de ação. Outro tipo de alteração que pode ser feita facilmente em nanopartículas poliméricas é a liberação do fármaco estimulada por fatores como pH, temperatura ou estímulos químicos do organismo. Isso auxilia, principalmente, na redução da degradação do fármaco antes de atingir o alvo de ação (Ratemi, 2018).

Apesar do encapsulamento dos princípios ativos apresentar diversas vantagens, a maioria dos estudos foram desenvolvidos através de ensaios *in vitro*, sendo apenas alguns parâmetros analisados *in vivo*. A falta de mais ensaios *in vivo* analisando o perfil farmacocinético, a farmacodinâmica, toxicidade, segurança e eficácia das nanopartículas desenvolvidas acaba dificultando a confirmação da excelência dos produtos desenvolvidos,

sendo assim necessário a continuidade destes experimentos para que os medicamentos cheguem no mercado.

A nanotecnologia, como já foi discutido, aprimora diversos fatores, porém fatores como aumento de potência do fármaco, de área superficial, etc, podem não só trazer benefícios, mas também prejuízos como interação com locais inespecíficos, toxicidade e até efeitos adversos (Sukhanova et al., 2018). Uma das causas mais encontradas por trás da toxicidade de nanossistemas é a capacidade destes gerarem estresse oxidativo e estimulação de mediadores inflamatórios em diversos tecidos (Fu et al., 2014). Porém, é importante salientar que isto é muito observado em nanopartículas inorgânicas com uso de metais como prata, carbono, etc; o uso de compostos biodegradáveis como polímeros ou lipídios, que foram vistos nas nanopartículas apresentadas neste trabalho, apresentam menores efeitos tóxicos como foi visto nos resultados, sendo compostos que apresentam maior biocompatibilidade.

Por isso, a escolha dos componentes do nanossistema é uma etapa crucial para o funcionamento adequado e seguro do medicamento. Isso foi evidenciado em 2 estudos apresentados, o da nanoemulsão de curcumina (Nabila et al., 2020) e o da nanopartícula de quercetina composta de goma-laca e tween 80 (Sedaghat et al. 2019), onde as formas encapsuladas apresentaram maior citotoxicidade em comparação ao composto livre. Além disso, é importante salientar que, apesar da toxicidade ser menor com o fármaco livre, o encapsulamento nestes dois estudos atribuiu outras vantagens ao composto bioativo aprimorando a eficácia deste. Desta forma, é importante sempre comparar o fármaco livre com o fármaco encapsulado, verificando se os ensaios, no geral, realizados mostraram resultados satisfatórios para o fármaco livre ou para o fármaco encapsulado.

Outro ponto importante a ser destacado com relação a nanotecnologia é que apesar das promissoras vantagens associadas a este tipo de ferramenta, apenas 51 nanomedicamentos foram aprovados pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA dos EUA) até 2018 (Patra et al., 2018). Um dos motivos para esta baixa aprovação de nanomedicamentos no mercado pode ser justificada pela ausência de legislações específicas para este tipo de medicamento, e também pelo conhecimento limitado, até o momento, acerca dos riscos à saúde relacionados ao uso de nanopartículas (Mahmoudi et al., 2011). Além disso, a escassa quantidade de protocolos de ensaios *in vitro* e *in vivo* padronizados para avaliar as propriedades dos nanofármacos também pode auxiliar na não continuidade do seu desenvolvimento, o que faz com que este não chegue à fase final de aprovação. Isto é verificado nos estudos apresentados nos resultados, já que muitos destes mostraram-se nas

fases de teste *in vitro* e iniciais *in vivo*, o que comprova o baixo número de estudos em fases mais avançadas.

5. CONCLUSÃO

O encapsulamento de princípios ativos em nanossistemas de liberação de fármacos têm demonstrado benefícios notáveis, contribuindo para um potencial terapêutico mais eficaz e minimizando potenciais efeitos tóxicos.

A utilização de polímeros biodegradáveis e lipídios na produção das nanossistemas revela-se como uma abordagem comum e vantajosa. E a modificação da superfície dos polímeros e a capacidade de liberação estimulada por fatores como pH, temperatura ou estímulos químicos oferecem flexibilidade no direcionamento das nanopartículas para o alvo desejado, minimizando a degradação do fármaco antes de atingir seu local de ação.

Contudo, é crucial destacar que a maioria dos estudos se baseou em ensaios *in vitro*, com poucos parâmetros analisados *in vivo*. A escassez de ensaios *in vivo* dificulta a comprovação dos resultados obtidos, sendo de extrema importância a continuidade desses experimentos para viabilizar a chegada desses medicamentos ao mercado.

Ademais, é necessário considerar que, embora a nanotecnologia ofereça vantagens substanciais, como aumento da potência do fármaco e da área superficial, alguns desafios, principalmente devido à falta de estudos necessários sobre a segurança e toxicidade deste sistema, também podem surgir. Desta forma, como os resultados *in vitro* mostraram-se promissores, é importante dar continuidade aos estudos nesta área para impulsionar o desenvolvimento e aprovação dessas inovações.

6. REFERÊNCIAS

1. ABD KADIR, S. L.; YAAKOB, H.; MOHAMED ZULKIFLI, R. Potential anti-dengue medicinal plants: a review. **Journal of Natural Medicines**, v. 67, n. 4, p. 677–689, 2013. doi: 10.1007/s11418-013-0767-y. Epub 2013 Apr 17. PMID: 23591999; PMCID: PMC3765846. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11418-013-0767-y>> Acesso 8 Fev 2024
2. AHMADI, A., HASSANDARVISH, P., LANI, R., YADOLLAHI, P., JOKAR, A., BAKAR, S. A., & ZANDI, K. (2016). Inhibition of chikungunya virus replication by hesperetin and naringenin. **RSC Advances**, v. 6, n. 73 p. 69421–69430, 19 jul. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C6RA16640G>> Acesso em 8 Fev 2024.
3. ALBANEZ, Roberta. **Recobrimento gastrorresistente de pellets de diclofenaco de sódio em leite fluidizado tipo Wurster**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Campinas - SP, 2012.
4. ALRASHEDI, M. G. et al. Local Delivery of Azithromycin Nanof ormulation Attenuated Acute Lung Injury in Mice. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8293–8293, 28 nov. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules27238293>>. Acesso em Fev 2024.
5. DENITSA ALUANI et al. Evaluation of biocompatibility and antioxidant efficiency of chitosan-alginate nanoparticles loaded with quercetin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 771–782, 1 out. 2017. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.062. Epub 2017 May 20. PMID: 28536020. Disponível em : <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.062>>. Acesso em 6 Fev 2024.
6. **Vacina da dengue terá alteração de bula**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/vacina-da-dengue-tera-alteracao-de-bula>>. Acesso em 8 Fev 2024.
7. **Anvisa aprova nova vacina para a dengue**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue>>. Acesso em 8 Fev 2024.
8. BARROWS, NICHOLAS J. et al. A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. **Cell Host & Microbe**, v. 20, n. 2, p. 259–270, ago. 2016. doi: 10.1016/j.chom.2016.07.004. PMID: 27476412; PMCID: PMC4993926. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.07.004>>. Acesso em 6 Fev. 2024.
9. BASU, R.; TUMBAN, E. Zika Virus on a Spreading Spree: what we now know that was unknown in the 1950's. **Virology journal**, v. 13, n. 1, p. 165-165, 2016. ISSN 1743-422X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27716242>>. Acesso em 6 Jan 2024.
10. BATISTA, M. N. *et al.* Natural Products Isolated from Oriental Medicinal Herbs Inactivate Zika Virus. **Viruses**, v. 11, n. 1, p. 49, 2019. ISSN 1999-4915. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30641880>>. Acesso em 6 Jan 2024.
11. BATTAGLIA, L.; GALLARATE, M. Lipid nanoparticles: state of the art, new preparation methods and challenges in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 9, n. 5, p. 497–508, 22 mar. 2012. doi: 10.1517/17425247.2012.673278. Epub 2012 Mar 22. PMID: 22439808. Disponível em: <<https://doi.org/10.1517/17425247.2012.673278>> Acesso em 8 Fev 2024.
12. BECKHAM, J. D.; TYLER, K. L. Arbovirus Infections. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 21, p. 1599–1611, dez. 2015.
13. BHATT S., *et al.* The global distribution and burden of dengue. **Nature**, 496 (7446): 504–507. 07 abr. 2013.
14. BLEYZAC, N. et al. Azithromycin for COVID-19: More Than Just an Antimicrobial? **Clinical Drug Investigation**, p. 1–4, 12 jun. 2020. doi: 10.1007/s40261-020-00933-3.

- PMID: 32533455; PMCID: PMC7290142. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40261-020-00933-3>> Acesso em 7 Fev 2024.
15. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2021.1.126 p. Acesso em Jan 2024.
 16. BONFERONI, M. C. et al. Nanoemulsions for “Nose-to-Brain” Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 2, 17 fev. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.06.025>>. Acesso em 7 Fev 2024.
 17. BORGHERINI, G. et al. Persistent Arthralgia Associated with Chikungunya Vírus: A Study of 88 Adult Patients on Reunion Island. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, n. 4, p. 469–475, 15 ago. 2008. doi: 10.1086/590003. PMID: 18611153. Disponível em: <<https://doi.org/10.1086/590003>>. Acesso em 7 Fev. 2024.
 18. BOUAZIZ, F.; HELBERT, C.B.; ROMDHANE, M.B.; KOUBAA, M.; BHIRI, F.; CHAARI, F.; DRISS, D.; BUON, L.; CHAABOUNI, S.E. Structural data and biological properties of almond gum oligosaccharide: application to beef meat preservation, **Int. J. Biol. Macromol.** v. 72, p. 472–479, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.044>>. Acesso em Jan 2024.
 19. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Dengue – diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança**. 5. ed. Brasília, DF: MS, 2016. E-book. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_diagnostico_manejo_clinico_adult_o.pdf. Acesso em: 8 Jan 2024.
 20. CAI, X. et al. Bioavailability of Quercetin: Problems and Promises. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 20, p. 2572–2582, 1 maio 2013.
 21. CARVALHO, T. S. **Estudo da Ação de Nanoemulsões contendo Óleo de Copaíba na inibição do Zika Vírus**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/191800/carvalho_t_me_sjrp_par.pdf?sequence=5&isAllowed=y>. Acesso em: 6 Jan 2024.
 22. CARUTHERS, S. D.; WICKLINE, S. A.; LANZA, G. M. Nanotechnological applications in medicine. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 26–30, 1 fev. 2007
 23. CATANEO, A. H. D. et al. The citrus flavonoid naringenin impairs the in vitro infection of human cells by Zika virus. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 16348, 8 nov. 2019.
 24. CDC. **For Healthcare Providers** | CDC. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dengue/vaccine/hcp/index.html>>. Acesso em 8 Fev. 2024.
 25. CHAKRAVARTY, M.; VORA, A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. **Drug Delivery and Translational Research**, 3 ago. 2020. doi: 10.1007/s13346-020-00818-0. PMID: 32748035; PMCID: PMC7398286. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13346-020-00818-0>>. Acesso em Fev. 2024.
 26. CHAN, J. M., LIANGFANG ZHANG, KAI P. YUET, GRACE LIAO, JUNE-WHA RHEE, ROBERT LANGER, OMID C. FAROKHZAD, PLGA–lecithin–PEG core–shell nanoparticles for controlled drug delivery, **Biomaterials**, Volume 30, Issue 8, 2009, Pages 1627-1634, ISSN 0142-9612, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.013>>. Acesso em Fev. 2024.

27. CHAURASIA S, PATEL RR, VURE P, MISHRA B. Potential of cationic-polymeric nanoparticles for oral delivery of naringenin: in vitro and in vivo investigations. **J Pharm Sci.** 2018;107(2):706–716. doi: 10.1016/j.xphs.2017.10.006. 143.
28. DAIRAKU I *et al.* Inhibitory effect of curcumin on IMP dehydrogenase, the target for anticancer and antiviral chemotherapy agents. **Biosci Biotechnol Biochem** 2010; 74: 185–7. 8.
29. DAMLE, B.; VOURVAHIS, M.; WANG, E.; LEANEY, J.; CORRIGAN, B. Clinical Pharmacology Perspectives on the Antiviral Activity of Azithromycin and Use in COVID-19. **Clin. Pharmacol. Ther.** 2020, 108, 201–211.
30. DIEFENBACH, A. L. *et al.* Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* spp.) on oral pathogens: Systematic review. **Phytother Res**, v. 32, n. 4, p. 586-596, Apr 2018. ISSN 1099-1573 (Electronic) 0951-418X (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29193389>>. Acesso em Jan 2024.
31. DICKINSON, B. L.; BADIZADEGAN, K.; WU, Z.; AHOUSE, J. C.; ZHU, X.; SIMISTER, N. E.; BLUMBERG, R. S.; LENCER, W. I. Bidirectional Fc α nDependent IgG Transport in A Polarized Human Intestinal Epithelial Cell Line. **J. Clin. Invest.** 1999, 104, 903–911.
32. DONALISIO, M.R., FREITAS, A.R.R., ZUBEN, A.P.B.Von, 2017. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Rev. Saúde Pública** 51, 1–6. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2017051006889>>. Acesso em: Jan 2024.
33. ENSERINK M. (2006). **Infectious diseases.** Massive outbreak draws fresh attention to little-known virus. *Science*. 311, 1085. Acesso em Jan 2024.
34. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Science Medicines Health. **Dengvaxia.** 2024. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/dengvaxia#ema-inpage-item-topics>> Acesso em Fev 2024.
35. FARAG, Y.; LEOPOLD, C.S. Physicochemical properties of various shellac types, **Dissolut. Technol.** 16 (2) (2009) 33–39. Acesso em Jan 2024.
36. FIGUEIREDO, L. T. Emergent arboviruses in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 2, p. 224-229, Mar-Apr 2007. ISSN 0037-8682 (Print) 0037-8682 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17568894>>. Acesso em Jan 2024.
37. FIGUEROLA, A. *et al.* From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharmacological Research*, v. 62, n. 2, p. 126-143, 2010. Acesso em Jan 2024.
38. FONSECA, L. B. **Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo praziquantel para o tratamento da esquistossomose.** 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Química), UFRJ, Rio de Janeiro (RJ) - Brasil.
39. FRABASILE, S., KOISHI, A. C., KUCZERA, D., SILVEIRA, G. F., VERRI, W. A., DUARTE DOS SANTOS, C. N., & BORDIGNON, J. (2017). The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells. **Scientific Reports**, 7, 1–10. 10.1038/srep41864.
40. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). Agência Fiocruz de notícias. Dengue. 2013. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/dengue-0>> , acesso jan 2024
41. FU PP, XIA Q, HWANG H-M, RAY PC, YU H. Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. **J Food Drug Anal.** 2014;22:64–75. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.005).
42. GACH, K. *et al.* Anticancer activity and radiosensitization effect of methyleneisoxazolidin-5-ones in hepatocellular carcinoma HepG2 cells. **Chem Biol**

- Interact**, v. 248, p. 68-73, Mar 25 2016. ISSN 1872-7786 (Electronic) 0009-2797 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26867810> >. Acesso em Jan 2024.
43. GARG, J., PATHANIA, K., SAH, S.P. et al. Nanostructured lipid carriers: a promising drug carrier for targeting brain tumours. **Futur J Pharm Sci** 8, 25 (2022). Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s43094-022-00414-8>>. Acesso em Jan 2024.
 44. GAVRILOV, K., SALTZMAN, W.M. Therapeutic siRNA: Principles, challenges, and strategies. **Yale J. Biol. Med.** 2012;85:187.
 45. GERAGHTY, R.J.; ALIOTA M.T.; BONNAC LF. Broad-Spectrum Antiviral Strategies and Nucleoside Analogues. *Viruses*. 2021 Apr 13;13(4):667. DOI: 10.3390/v13040667. PMID: 33924302; PMCID: PMC8069527.
 46. GUBLER, D.J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clin Microbiol Rev** 1998; 11(3): 480-96. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.11.3.480> PMID: 9665979.
 47. GUBLER, D.J., 2006. Human Arbovirus Infections Worldwide. **Annals of the New York Academic of Sciences**. 951, 13–24. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb02681.x>> Acesso em Jan 2024.
 48. GUTIÉRREZ, J. M.; GONZÁLEZ, C.; MAESTRO, A.; et al. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 245–251, 2008.
 49. GÜVEN E. Nanotechnology-based drug delivery systems in orthopedics. **Jt Dis Relat Surg**. 2021;32(1):267-273. doi: 10.5606/ehc.2021.80360. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33463450; PMCID: PMC8073448.
 50. HALSTEAD SB. Travelling arboviruses: A historical perspective. **Travel Med Infect Dis**. 2019 Sep-Oct;31:101471. doi: 10.1016/j.tmaid.2019.101471. Epub 2019 Aug 28. PMID: 31472285.
 51. HASIMA N, AGGARWAL BB. Cancer-linked targets modulated by curcumin. **Int J Biochem Mol Biol** 2012; 3: 328–51.
 52. HEWLINGS, S.J., KALMAN, D.S. Curcumin: a review of its' effects on human health. **Foods** 2017; 6: 92.
 53. HUANG, Y. S.; HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D. L. Emergence and re-emergence of mosquito-borne arboviruses. **Current Opinion in Virology**, vol. 34, 2019, Pág. 104-109, ISSN 1879-6257, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.01.001>>. Acesso em: Jan 2024.
 54. HU K.L., SHI Y.B., JIANG W.M., *et al.* Lactoferrin conjugated PEG-PLGA nanoparticles for brain delivery: preparation, characterization and efficacy in Parkinson's disease. **Int J Pharm** 2011;415:273–83.
 55. ISRAEL, E. J.; TAYLOR, S.; WU, Z.; MIZOGUCHI, E.; BLUMBERG, R. S.; BHAN, A.; SIMISTER, N. E. Expression of the Neonatal Fc Receptor, FcRn, on Human Intestinal Epithelial Cells. **Immunology** 1997, 92, 69–74.
 56. JANAGAM DR, WU L, LOWE TL. Nanoparticles for drug delivery to the anterior segment of the eye. **Adv Drug Deliv Rev**. 2017 doi: 10.1016/j.addr.2017.04.001
 57. JEENGAR, M. K.; KURAKULA, M.; PATIL, P.; MORE, A.; SISTLA, R.; PARASHAR, D. Effect of Cationic Lipid Nanoparticle Loaded siRNA with Stearylamine against Chikungunya Virus. **Molecules**. 2022 Feb 9;27(4):1170. doi: 10.3390/molecules27041170. PMID: 35208958; PMCID: PMC8877324.
 58. JIANG, Y., WANG F, XU H, LIU H, MENG Q, LIU W. Development of andrographolide loaded PLGA microspheres: optimization, characterization and in vitro-in vivo correlation. **Int J Pharm**. 2014;475(1-2):475–484. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.09.016..).

59. JI P, YU T, LIU Y, JIANG J, XU J, ZHAO Y, HAO Y, QIU Y, ZHAO W, WU C. Naringenin-loaded solid lipid nanoparticles: preparation, controlled delivery, cellular uptake, and pulmonary pharmacokinetics. **Drug Des Devel Ther.** 2016;10:911–925. doi: 10.2147/DDDT.S97738.
60. JOSSERAN L, PAQUET C, ZEHGNOUN A, *et al.* Chikungunya disease outbreak, Reunion Island. **Emerg Infect Dis** 2006; 12: 1994–95.
61. JOUBERT JJ, PROZESKY OW, LOURENS JG, *et al.* Prevalence of hepatitis virus and some arbovirus infections in Kavango, northern SWA/ Namibia. **S Afr Med J** 1985; 67: 500–02. 4.
62. KAMAL M.A., JABIR N.R., TABREZ S., ASHRAF G.M., SHAKIL S. DAMANHOURI Nanotechnology-based approaches in anticancer research. **Int. J. Nanomed.** 2012;7:4391. doi: 10.2147/IJN.S33838.
63. KAUSHIK, S. Polymeric and ceramic nanoparticles: possible role in biomedical applications. **Handb Polym Ceram Nanotechnol. Cham: Springer International Publishing;** 2020. p. 1–17. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-10614-0_39-1>. Acesso em Jan 2024.
64. KHAN AW, KOTTA S, ANSARI SH, SHARMA RK, ALI J. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of the poorly water-soluble grapefruit flavonoid Naringenin: design, characterization, in vitro and in vivo evaluation. **Drug Deliv.** 2015;22(4):552–561. doi: 10.3109/10717544.2013.878003.
65. KHAN I., SAEED K., KHAN I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arab. J. Chem.** 2019;12:908–931. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011
66. NANGARE KA, POWAR SD, KATE VK, PATWEKAR SR, PAYGHAN SA. Therapeutics Applications of Nanosuspension in Topical/ Mucosal Drug Delivery. **J Nanomedicine** 45 Res. 2018;7(1).
67. KIM, D.H., ROSSI, J.J. Strategies for silencing human disease using RNA interference. **Nat. Rev. Genet.** 2007;8:173–184. doi: 10.1038/nrg2006.
68. KINDHAUSER, M. K. *et al.* Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. **Bull World Health Organ**, v. 94, n. 9, p. 675-686C, 1 Set 2016. ISSN 1564-0604 (Electronic) 0042-9686 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27708473>>. Acesso em Jan 2024.
69. KUMAR P, SHARMA G, KUMAR R, SINGH B, MALIK R, KATARE OP, RAZA K. Promises of a biocompatible nanocarrier in improved brain delivery of quercetin: Biochemical, pharmacokinetic and biodistribution evidences. **Int J Pharm.** 2016 Dec 30;515(1-2):307-314. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.10.024. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27756627. Acesso em Jan 2024.
70. LIU Z, ZHAO H, SHU L, ZHANG Y, OKEKE C, ZHANG L, LI J, LI N. Preparation and evaluation of Baicalin-loaded cationic solid lipid nanoparticles conjugated with OX26 for improved delivery across the BBB. **Drug Dev Ind Pharm.** 2015;41(3):353–361. doi: 10.3109/03639045.2013.861478.
71. LOVELYN, C.; ATTAMA, A. A. Current State of Nanoemulsions in Drug Delivery. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 5, p. 626– 639, 2011.
72. MAHMOUDI. M.; AZADMANESH, K.; SHOKRGOZAR, M. A.; JOURNEYAY, W. S.. “Effect of Nanoparticles on the Cell Life Cycle”. 2011. **Chemical reviews.** 111(5): 3407-32.
73. MANJARREZ-ZAVALA, M.E, ROSETE-OLVERA, D.P, GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ, L.H., OCADIZ-DELGADO, R., CABELLO-GUTIÉRREZ, C. Pathogenesis of viral respiratory infection Respiratory Disease and Infection - **A New Insight**, 2013. InTech. DOI: 10.5772/54287.

74. MARKLEWITZ, M., JUNGLEN, S., 2019. Evolutionary and ecological insights into the emergence of arthropod-borne viruses. **Acta Tropica** 190, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.10.006>.
75. MARTINA, B.E.E., KORAKA, P., OSTERHAUS, A.D.M.E. Dengue virus pathogenesis: an integrated view. **Clin Microbiol Rev** 2009; 22(4): 564-81. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00035-09> PMID: 19822889.
76. MARTINHO, N.; DAMGÉ, C.; REIS, C.P. Recent advances in drug delivery systems. **J Biomater Nanobiotechnol.** 2011;2:510. doi: 10.4236/jbnb.2011.225062.
77. MCCLEMENTS, D.J., Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities, **Soft Matter**, 8 (2012) 1719-1729
78. MEHANNA MM, MOHYELDIN SM, ELGINDY NA. Respirable nanocarriers as a promising strategy for antitubercular drug delivery. **J Control Release.** 2014 Aug 10;187:183-97. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.038. Epub 2014 May 27. PMID: 24878180
79. W. MEHNERT, K. MÄDER. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 2001 (47) 165–96 19 –
80. MENDES PM. Cellular nanotechnology: making biological interfaces smarter. **Chem Soc Rev.** 2013;42:9207. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3cs60198f>>. Acesso em Jan 2024.
81. MOGHADDAM, E., TEOH, B.T., SAM, S.S., LANI, R., HASSANDARVISH, P., CHIK, Z., YUEH, A., ABUBAKAR, S., ZANDI, K. Baicalin, a metabolite of baicalein with antiviral activity against dengue virus. **Sci Rep.** 2014;4:5452. doi: 10.1038/srep05452].
82. MOLAVI F *et al.* Polyester based polymeric nano and microparticles for pharmaceutical purposes: a review on formulation approaches. **J Control Release** 2020; 320: 265–82.
83. MOUNCE, B. C. *et al.* Curcumin inhibits Zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding. **Antiviral Res**, v. 142, p. 148-157, Jun 2017. ISSN 1872-9096 (Electronic) 0166-3542 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28343845>>. Acesso em Jan 2024.
84. MOYES, C. L. *et al.* Contemporary status of insecticide resistance in the major Aedes vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 7, p. e0005625, Jul 2017. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28727779>>. Acesso em Jan 2024.
85. MUKHERJEE S, RAY S, THAKUR R. Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. **Indian J Pharm Sci.** 2009;71:349. doi: 10.4103/0250-474X.57282.
86. MUSSO, D. *et al.* Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Euro Surveill** v. 19, n. 14, p. 20761, 2014. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.14.20761>>. Acesso em Jan 2024.
87. MUSTAFA M.S., RASOTGI V., JAIN S., AND GUPTA V. 2015. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Med. J. Armed Forces India**, 71(1): 67–70.
88. NABILA, N.; SUADA, N. K.; DENIS, D.; YOHAN, B.; ADI, A.C.; VETERINI, A. S.; ANINDYA, A.L.; SASMONO, R.T.; RACHMAWATI, H. Antiviral Action of Curcumin Encapsulated in Nanoemulsion against Four Serotypes of Dengue Virus. **Pharm Nanotechnol.** 2020;8(1):54-62. doi: 10.2174/2211738507666191210163408. PMID: 31858909.

89. OLIVEIRA SOUTO, I. *et al.* Persistence of Zika virus in semen 93 days after the onset of symptoms. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)**, v. 36, n. 1, p. 21-23, 2018/01/01/ 2018. ISSN 2529-993X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2529993X17303003> >. Acesso em Jan 2024.
90. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Dengue**. [S.l.], [2020]. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/dengue>>. Acesso em: Jan 2024.
91. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). Organização Mundial de Saúde (OMS). **Com o aumento de casos, especialistas analisam a propagação da Chikungunya nas Américas**. Agosto, 2023. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/noticias/4-5-2023-com-aumento-casos-especialistas-analisam-propagacao-da-chikungunya-nas-americas> > Acesso em Fev 2024
92. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). Organização Mundial de Saúde (OMS). **Zika**. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/topicos/zika> > Acesso em Fev 2024
93. OWENS III D.E., PEPPAS N.A. Oponization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. **Int. J. Pharm.** 2006;307:93–102. doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.10.010.
94. PACHO, M. N.; PUGNI, E. N.; DÍAZ SIERRA, J. B.; MORELL, M. L.; SEPÚLVEDA, C. S.; DAMONTE, E. B.; GARCÍA, C. C., D'ACCORSO, N.B. Antiviral activity against Zika virus of a new formulation of curcumin in poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles. **J Pharm Pharmacol.** 2021 Mar 6;73(3):357-365. doi: 10.1093/jpp/rgaa045. PMID: 33793877.
95. PADILLA-S, L., RODRÍGUEZ, A., GONZALES, M.M., GALLEGOS-G, J.C., CASTAÑO-O, J.C. Inhibitory effects of curcumin on dengue virus type 2-infected cells in vitro. **Arch Virol** 2014; 159(3): 573-9. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00705-013-1849-6>> PMID: 24081825. Acesso em Jan 2024.
96. PARASHAR, D., PAINGANKAR, M.S., KUMAR, S., GOKHALE, M.D., SUDEEP, A., SHINDE, S.B., ARANKALLE, V. Administration of E2 and NS1 siRNAs inhibit chikungunya virus replication in vitro and protects mice infected with the virus. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 2013;7:e2405. doi: 10.1371/journal.pntd.0002405.
97. PATEL, C. REMIJN, A.I.M. CABERO, P.C.M. HEUSSEN, J.W.M.S. TEN HOORN, K.P. VELIKOV, Novel all-natural microcapsules from gelatin and shellac for biorelated applications, **Adv. Funct. Mater.** 23 (37) (2013) 4710–4718.
98. PATRA J.K., DAS G., FRACETO L.F., CAMPOS E.V.R., DEL PILAR RODRIGUEZ-TORRES M., ACOSTA-TORRES L.S., DIAZ-TORRES L.A., GRILLO R., SWAMY M.K., SHARMA S. Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. **J. Nanobiotechnol.** 2018;16:71. doi: 10.1186/s12951-018-0392-8].
99. PINHO, A. C. O. Diagnóstico e caracterização molecular do Vírus Dengue circulante na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. 2013. 75 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/13733/1/Dissertação_ICS_%20Aryane%20Cruz%20Oliveira%20Pinho.pdf>. Acesso em: Jan 2024.
100. PETERSEN, L.R.; POWERS, A.M. Chikungunya: epidemiology. **F1000Res.** 2016 Jan 19;5:F1000 Faculty Rev-82. doi: 10.12688/f1000research.7171.1. PMID: 26918158; PMCID: PMC4754000.

101. PLOURDE, A. R.; BLOCH, E. M. A Literature Review of Zika Virus. **Emerg Infect Dis**, v. 22, n. 7, p. 1185-1192, Jul 2016. ISSN 1080-6059 (Electronic) 1080-6040 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27070380>>. Acesso em Jan 2024.
102. POHLMANN, M. ROSSI, W., S.; BRENDLER, C., F.; TEXEIRA, F., G.; JÚNIOR, W., K. Drawing, virtual modeling and 3D print in the production of didactic models for the teaching-learning of visually impaired students: case study of nanostructured systems. **International Journal of Education and Research** Vol. 3, No. 12, dezembro 2015
103. PURI A, LOOMIS K, SMITH B, LEE J-H, YAVLOVICH A, HELDMAN E, et al. Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. **Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.** 2009;26:523–80. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20402623>>. Acesso em Jan 2024.
104. RACHMAWATI, H., SORAYA, I.S., KURNIATI, N.F., RAHMA, A. In vitro study on antihypertensive and antihypercholesterolemic effects of a curcumin nanoemulsion. **Sci Pharm** 2016; 84(1): 131-40. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3797/scipharm>>.ISP.2015.05 PMID: 27110504 . Acesso em Jan 2024.
105. RATEMI, E. pH-responsive polymers for drug delivery applications. Stimuli Responsive Polym. **Nanocarriers Drug Deliv.** Appl. Vol. 1 Types Triggers. Elsevier Ltd.; 2018. 10.1016/B978-0-08-101997-9.00005-9.
106. SACRAMENTO, C. Q. et al. The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication. **Sci Rep**, v. 7, p. 40920, Jan 18 2017. ISSN 2045-2322 (Electronic) 2045-2322 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28098253>>. Acesso em Jan 2024.
107. SAMPATHKUMAR, P.; SANCHEZ, J. L. Zika Virus in the Americas: A Review for Clinicians. **Mayo Clin Proc**, v. 91, n. 4, p. 514-521, Apr 2016. ISSN 1942-5546 (Electronic) 0025-6196 (Linking). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27046524>>. Acesso em Jan 2024.
108. SEDAGHAT DOOST A, KASSOZI V, GROOTAERT C, CLAEYS M, DEWETTINCK K, VAN CAMP J, VAN DER MEEREN P. Self-assembly, functionality, and in-vitro properties of quercetin loaded nanoparticles based on shellac-almond gum biological macromolecules. **Int J Biol Macromol.** 2019 Maio 15;129:1024-1033. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.071. Epub 2019 Feb 19. PMID: 30794898.
109. M. SHADAB, M. GULAM, B. SANJULA et al. Nanoneurotherapeutics approach intended for direct nose to brain delivery. **Drug Dev. Ind. Pharm.** 41 (2015) 1922–34
110. SHAKERI A *et al.* Curcumin: a naturally occurring autophagy modulator. **J Cell Physiol** 2019; 234: 5643–54. 9. Acesso em Jan 2024.
111. SHEPARD D.S., UNDURRAGA E.A., HALASA Y.A., AND STANAWAY J.D. 2016. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. **Lancet Infect. Dis.** 16(8): 935–941.
112. SINGH, L., KRUGER, H.G., MAGUIRE, G.E.M., Govender, T., PARBOOSING, R. The role of nanotechnology in the treatment of viral infections. **Therapeutic Advances in Infectious Disease.** 2017;4(4):105-131. DOI:10.1177/2049936117713593.
113. SINGH, Y., MEHER, J.G., RAVAL, K., KHAN, F.A., CHAURASIA, M., JAIN, N.K., CHOURASIA, M.K. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **J Control Release.** 2017 Apr 28;252:28-49. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.03.008. Epub 2017 Mar 6. PMID: 28279798.

114. NAWAL A. Review on preparation, characterization, and pharmaceutical application of nanosuspension as an approach of solubility and dissolution enhancement. **J Pharm Res.** 2018;12(5):771–4.
115. SUKHANOVA A, BOZROVA S, SOKOLOV P, BERESTOVOY M, KARAULOV A, NABIEV I. Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties. **Nanoscale Res Lett.** 2018;13:44. doi: 10.1186/s11671-018-2457-x).
116. SURNAR, B.; KAMRAN, M. Z.; SHAH, A. S.; BASU, U.; KOLISHESTTI, N.; DEO, S.; JAYAWEERA, D. T.; DAUNERT, S.; DHAR, S. Orally Administrable Therapeutic Synthetic Nanoparticle for Zika Virus. **ACS Nano out.** 2019, 11034–11048. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acsnano.9b02807>>. Acesso em Jan 2024
117. TOBOUTI, P. L. et al. Antimicrobial activity of copaiba oil: A review and a call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 93-99, 2017/10/01/2017. ISSN 0753-3322. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217324575>>. Acesso em Jan 2024
118. VAGHASIYA H, KUMAR A, SAWANT K. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. **Eur J Pharm Sci.** 2013;49(2):311–322).
119. VERMA, I.M., NALDINI, L., KAFRI, T., MIYOSHI, H., TAKAHASHI, M., BLÖMER, U., SOMIA, N., WANG, L., GAGE, F. Genes and Resistance to Disease. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany: 2000. **Gene therapy: Promises, problems and prospects**; pp. 147–157.
120. VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Gerência Técnica de Doenças Endêmicas. Nota técnica 01 - Arboviroses. **Secretaria de Saúde do Estado - MS**, 2023.
121. VIANA, F.F. **Microemulsões e nanoemulsões com constituintes álcali-surfactante-polímero aplicados na recuperação avançada de petróleo.** 2018. Tese (Doutorado em Química), UFRN, Natal- RN.
122. VILLANUEVA-FLORES F, CASTRO-LUGO A, RAMÍREZ OT, PALOMARES LA. Understanding cellular interactions with nanomaterials: towards a rational design of medical nanodevices. **Nanotechnology.** 2020;31:132002. doi: 10.1088/1361-6528/ab5bc8.
123. XU J, MA Y, XIE Y, CHEN Y, LIU Y, YUE P, YANG M. Design and evaluation of novel solid self-nanodispersion delivery system for andrographolide. **AAPS PharmSciTech.** 2017;18(5):1572–1584. doi: 10.1208/s12249-016-0627-7.
124. WAGGONER, J. J.; PINSKY, B. A. Zika Virus: Diagnostics for an Emerging Pandemic Threat. **Journal of clinical microbiology**, v. 54, n. 4, p. 860-867, 2016. ISSN 1098-660X0095-1137. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26888897>>. Acesso em Jan 2024.
125. WATRIN, L. et al. Guillain-Barré Syndrome (42 Cases) Occurring During a Zika Virus Outbreak in French Polynesia. **Medicine**, v. 95, n. 14, p. e3257-e3257, 2016. ISSN 1536-59640025-7974. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27057874>>. Acesso em Jan 2024.
126. WIELANEK AC, MONREDON JD, AMRANI ME, ROGER JC, SERVEAUX JP. Guillain-barre syndrome complicating a chikungunya virus infection. **Neurology** 2007; 69: 2105–07.
127. WU L, BI Y, WU H. Formulation optimization and the absorption mechanisms of nanoemulsion in improving baicalin oral exposure. **Drug Dev Ind Pharm.** 2018;44(2):266–275. doi: 10.1080/03639045.2017.1391831.

128. WU W., BAI Z., ZHOU H., TU Z., FANG M., TANG B., et al. 2011. Molecular epidemiology of dengue viruses in southern China from 1978 to 2006. **Viol. J.** 8(1): 322.
129. YANG LJ, MA SX, ZHOU SY, *et al.* Preparation and characterization of inclusion complexes of naringenin with β -cyclodextrin or its derivative. **Carbohydr Polym.** 2013;98(1):861–869.
130. YETISGIN A.A., CETINEL S., ZUVIN M., KOSAR A., KUTLU O. Therapeutic nanoparticles and their targeted delivery applications. **Molecules.** 2020;25:2193. doi: 10.3390/molecules25092193.
131. YOUNG, P. R. Arboviruses: A Family on the Move. **Adv Exp Med Biol.** 2018;1062:1-10. Doi: 10.1007/978-981-10-8727-1_1. PMID: 29845521.
132. ZANDI, K., TEOH, B.T., SAM, S.S., WONG, P.F., MUSTAFA, M.R., ABUBAKAR, S. Antiviral activity of four types of bioflavonoid against dengue virus type-2. **Viol J.** 2011;8:560. doi: 10.1186/1743-422X-8-560].
133. ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569-572, Jun 2015. ISSN 1678-8060 (Electronic) 0074-0276 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26061233> >. Acesso em Jan 2024.