



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JOSENILDO PESSOA SENA

**NANOGRAFENOS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DE FLUCONAZOL NO  
COMBATE À CANDIDÍASE**

Recife

2024

JOSENILDO PESSOA SENA

**NANOGRAFENOS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DE FLUCONAZOL NO  
COMBATE À CANDIDÍASE**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Beate Saegesser Santos

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo

Recife

2024

## Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Sena, Josenildo Pessoa.

Nanografenos como sistemas de entrega de fluconazol no combate à candidíase / Josenildo Pessoa Sena. - Recife, 2024. 85f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2024.

Orientação: Beate Saegesser Santos.

Coorientação: Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo.

1. Nanocarreador de grafeno; 2. Sistema de entrega de fármacos; 3. Candida spp. I. Santos, Beate Saegesser. II. Macêdo, Danielle Patrícia Cerqueira. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CDD 615

JOSENILDO PESSOA SENA

**NANOGRAFENOS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DE FLUCONAZOL NO  
COMBATE À CANDÍDIASE**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Aprovado em: 30/01/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Beate Saegesser Santos (Presidente)

Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Examinadora Interna)

Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE

---

Dr.<sup>a</sup> Bruna Rodrigues de Sousa (Examinadora Externa)

Departamento de Dermatologia – HC/UFPE

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro, início meus agradecimentos a Deus, aos irmãos de luz e as forças da natureza, que me ajudaram em todo momento.

À minha mãe, Joelma, por toda dedicação, inspiração, amor, compreensão e por todo suporte dado, que não se resume apenas a minha vida acadêmica. E a toda minha família materna.

À Prof<sup>a</sup> Beate, pelo acolhimento no laboratório, por apoiar meus devaneios científicos. Pela luz que emana e contagia a todos no meio acadêmico. Por amar e defender a educação e a ciência com todo louvor.

Às minhas amigas, Dhebora Valentim e Renata Sobral, que são parte da minha caminhada desde 2014 quando entramos no mundo universitário. Obrigado pelos abraços, sorrisos, escutas, que mesmo distante, sei que estão presentes.

Aos meus amigos BioVetFarmaLoucos, que mesmo percorrendo caminhos diferentes, vocês são parte desta construção. Nossas conversas que sempre terminam em risos, servem como válvula de escape para momentos de tensão. Obrigado, Camila, Cláudio, Dhebys, Elivelton (Lilis), João, Julia, Luzia, San Miris e Renata.

À Cláudio, que sempre se faz presente em todos os momentos, contribuindo com ideias, risos, conversas, com os incentivos para procurar sempre a mudança.

À Marques, pela disposição em ajudar sempre quando pode (e não pode, rs), quebrando a cabeça, e por toda sua dedicação.

Aos companheiros do LINSO (Laboratório de Interfaces, Nanomateriais e Sistemas Coloidais), sempre solícitos nos momentos precisos e pelas conversas (paralelas) diária.

À Prof<sup>a</sup>. Dani Macêdo, por abrir as portas do LAM (Laboratório de Análises Microbiológicas), por permitir a realização de parte dos experimentos que compõem essa dissertação. E pela disponibilidade de ter aceitado ser coorientadora.

À Geise (Laboratório Bioquímica-Física), pela disponibilidade em realizar as análises de espectrofotometria de absorção.

Ao Laboratório Terras Raras (Departamento de Química Fundamental - UFPE), por ajudar na liofilização das amostras.

A FACEPE, pelo fomento da bolsa de mestrado. Instrumento que ajuda o estudante a continuar e se dedicar na pesquisa.

À Djan (minha amiga de infância) por compartilhar desejo e anseio de viver, pelas conversas, pelas risadas, por acreditar. E sua irmã Paloma (Peillow), a qual estimo muito carinho.

À Dona Djanira, pelos incentivos aos estudos e mostrar o quanto a educação é desafiadora, mas transforma.

À tia Elma (minha madrastra) por torcer e vibrar com minhas conquistas e acreditar no meu potencial.

Por fim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram no meu caminhar, seja acreditando ou desacreditando na minha capacidade. De forma ou de outra, aqueles que em algum momento, mesmo que por pouco tempo trilham o mesmo caminho que o meu, deixaram ensinamentos que valem ou não serem perpetuados.

Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.

(Marie Curie)

## RESUMO

A candidíase, uma infecção fúngica causada por espécies da *Candida*, representa um desafio clínico significativo devido à resistência antifúngica, especialmente aos azóis, sendo *C. albicans* a espécie mais prevalente na candidíase. O estudo tem como objetivo a busca por estratégias inovadoras, como o uso de nanocarreadores, para superar a resistência, com foco nos nanografenos (NG) como potenciais candidatos. Uma abordagem simples permite a síntese de NG usando ácido cítrico como precursor do grafeno e a ureia como fonte de nitrogênio, pelo método conhecido por pirólise. A espectroscopia de absorção foi usada de forma inicial para obter a confirmação dos NG formados, o nanossistema preparado absorve na faixa espectral de 320 – 350 nm, sendo confirmada por determinada análise. As demais caracterizações do nanossistema incluiu a confirmação da conjugação eletrostática do nanografeno dopado com nitrogênio ao fluconazol (NG-N@FLU), utilizando o potencial zeta ( $\zeta$ ), demonstrando NG e NG-N com -18,7 mV e -23,2 mV, respectivamente e NG@FLU, NG-N@FLU apresentando -5,1 mV e -6,9 mV. A análise do espectro de absorção dos NG evidenciou a presença no nanomaterial. Alterações nas bandas de absorção foram observadas, com destaque para banda característica do FLU em 259 nm. A presença de grupos funcionais foi confirmada pela análise do FTIR, que identificou picos específicos, incluindo estiramento de C=O em  $1705\text{ cm}^{-1}$  e vibração atribuída ao -NH da ureia em  $1556\text{ cm}^{-1}$ . Os testes de viabilidade antifúngica revelaram resultados promissores para os fungos estudados, onde apresentou concentração inibitória mínima (CIM) de  $2,5\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e  $10\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , para NG-N@FLU e NG@FLU em *C. albicans*, respectivamente. NG N@FLU, na espécie *C. krusei* o NG-N@FLU apresentou CIM de  $2,5\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e concentração fungicida mínima (CFM) de  $20\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , já o NG@FLU indicou CIM e CFM de  $2,5\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e  $40\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , por fim, para *C. tropicalis* o NG-N@FLU indicou CIM de  $2,5\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e CFM  $40\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e o NG@FLU apresenta CIM de  $20\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$  e CFM de  $40\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ . Os resultados sugerem que o material preparado tem potencial para uso como nanocarreador, necessitando uma compreensão mais aprofundada da capacidade da associação bem como do possível mecanismo de entrega.

**Palavras-chave:** Carbono; Nanotecnologia; Sistema de Liberação de Fármacos; Fungos; Resistência Fúngica.

## ABSTRACT

Candidiasis, a fungal infection caused by *Candida* species, represents a significant clinical challenge due to antifungal resistance, especially to azoles, with *C. albicans* being the most prevalent species in candidiasis. The study aims to search for innovative strategies, such as the use of nanocarriers, to overcome resistance, focusing on nanographenes (NG) as potential candidates. A simple approach allows the synthesis of NG using citric acid as a graphene precursor and urea as a nitrogen source, using a method known as pyrolysis. Absorption spectroscopy was initially used to obtain confirmation of the NG formed, the prepared nanosystem absorbs in the spectral range of 320 – 350 nm, being confirmed by certain analysis. The other characterizations of the nanosystem included confirmation of the electrostatic conjugation of nitrogen-doped nanographene to fluconazole (NG-N@FLU), using the zeta potential ( $\zeta$ ), demonstrating NG and NG-N with -18.7 mV and -23, 2 mV, respectively and NG@FLU, NG-N@FLU showing -5.1 mV and -6.9 mV. Analysis of the NG absorption spectrum showed its presence in the nanomaterial. Changes in the absorption bands were observed, with emphasis on the characteristic band of FLU at 259 nm. The presence of functional groups was confirmed by FTIR analysis, which identified specific peaks, including stretching of -C=O at 1705 cm<sup>-1</sup> and vibration attributed to -NH of urea at 1556 cm<sup>-1</sup>. Antifungal viability tests revealed promising results for the fungi studied, which presented a minimum inhibitory concentration (MIC) of 2.5  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and 10  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ , for NG-N@FLU and NG@FLU in *C. albicans*, respectively. NG N@FLU, in the species *C. krusei*, NG-N@FLU showed a MIC of 2.5  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and a minimum fungicidal concentration (CFM) of 20  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ , while NG@FLU indicated a MIC and CFM of 2.5  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and 40  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ , finally, for *C. tropicalis* the NG-N@FLU indicated MIC of 2.5  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and CFM 40  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and the NG@FLU has an MIC of 20  $\mu\text{g/mL}^{-1}$  and CFM of 40  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ . The results suggest that the prepared material has potential for use a nanocarrier, requiring a more in-depth understanding of the association capacity as well as the possible delivery mechanism.

**Keywords:** Carbon; Nanotechnology; Drug Release System; Fungi; Fungal Resistance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Morfologia de <i>Candida</i> spp é evidenciada, destacando as diversas distintas formas assumidas pelo fungo durante o seu ciclo de desenvolvimento, a saber: (A) blastóporos (leveduras); (B) Pseudohifas e (C) Hifas verdadeiras.....	19
<b>Figura 2.</b> Estrutura molecular do fluconazol. ....	21
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de ação promovido pela classe terapêutica azólica, agindo no bloqueio da síntese de ergosterol. ....	22
<b>Figura 4.</b> Ilustração contendo nanopartículas multifuncionais, de diferentes materiais projetadas como estratégias precisas na entrega de fármacos. ....	25
<b>Figura 5.</b> Descrição em imagem de liberação de fármacos: Comparação entre convencional (vermelha) e controlada (verde). ....	27
<b>Figura 6.</b> Uma visão detalhada da estrutura da folha de grafeno (a) revelando as ligações duplas (sp <sup>2</sup> ) e (b) sua semelhança marcante com a organização hexagonal de um favo de mel, destacando a natureza da rede de átomos de carbono neste material bidimensional.....	30
<b>Figura 7.</b> Demonstração das rotas sintéticas de obtenção dos nanografenos. ....	32
<b>Figura 8.</b> (A) Rota sintética por banho de óleo a 200°C por 30 min; (B) Método hidrotérmico, usando a mufla a T = 200°C por 4 h. ....	35
<b>Figura 9.</b> Esquematização da padronização do inóculo das cepas de <i>Candida</i> spp, sendo (A) o primeiro dia do preparo e (B) o segundo dia para início do estudo microbiológico. ....	38
<b>Figura 10.</b> (A) Esquematização da placa de 96 poços utilizada no teste da sensibilidade antifúngica contendo as cepas de <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , e <i>C. tropicalis</i> , com variação da concentração do Fluconazol de 80 µg/mL <sup>-1</sup> a 2,5 µg/mL <sup>-1</sup> ; (B) Solução utilizada no teste. ....	39
<b>Figura 11.</b> (A) Esquematização da placa de 96 poços, contendo os NGs na presença das três espécies de <i>Candida</i> e ausência do fármaco; (B) Esquematização da distribuição na placa de 96 poços com os conjugados na presença de <i>Candida</i> .....	40
<b>Figura 12.</b> Formação dos nanografenos a partir do método de pirólise tendo como precursor o ácido cítrico. ....	42
<b>Figura 13.</b> Esquematização da pirólise do ácido cítrico e ureia obtendo nanografenos dopados com nitrogênio. ....	44
<b>Figura 14.</b> Esquematização do mecanismo de interação molecular por meio dos grupamentos químicos .....	47

<b>Figura 15.</b> Microscopia Eletrônica de Transmissão dos nanografenos, elucidando seu tamanho < 10 nm. ....	48
<b>Figura 16.</b> Variação dos espectros de absorção UV-Vis das amostras de nanografenos (NG) com.....	50
<b>Figura 17.</b> Espectroscopia de absorção do fluconazol; NG@FLU; NG-N@FLU, como confirmação.....	51
<b>Figura 18.</b> Espectroscopia de absorção dos nanografenos dopados com nitrogênio preparados neste estudo.....	52
<b>Figura 19.</b> Espectroscopia de excitação e emissão dos nanografenos (NG, pH 7) e nanografenos .....	54
<b>Figura 20.</b> Espectro ATR-FTIR do ácido cítrico sólido, configurando suas bandas vibracionais. ....	57
<b>Figura 21.</b> Espectroscopia Raman evidenciando as bandas D e G características de materiais carbonáceos. ....	60
<b>Figura 22.</b> Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de <i>Candida albicans</i> .....	62
<b>Figura 23.</b> Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de <i>Candida krusei</i> .....	65
<b>Figura 24.</b> Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de <i>Candida tropicalis</i> .....	66

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resumo dos dados do potencial zeta, preparados em meio aquoso.....	46
<b>Tabela 2.</b> Contagem da UFC atribuída a base de log10 de <i>C. albicans</i> .....	61
<b>Tabela 3.</b> Contagem da UFC atribuída à base de log10 de <i>C. krusei</i> .....	64
<b>Tabela 4.</b> Contagem da UFC atribuída à base de log10 de <i>C. tropicalis</i> . .....	65

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	18
3.1 GÊNERO <i>Candida</i> .....	18
3.2 RESISTÊNCIA À FARMACOTERPIA ANTIFÚNGICA.....	20
3.3 NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA.....	24
3.4 ALOTRÓPOS DE CARBONO .....	27
<b>3.4.1 Grafeno</b> .....	<b>29</b>
<b>3.4.2 Nanografenos</b> .....	<b>30</b>
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	34
4.1 SÍNTESE DOS NANOGRAFENOS .....	34
4.2 PREPARAÇÃO DOS CONJUGADOS NG@FLU/NG-N@FLU.....	35
4.3 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL.....	36
<b>4.3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.2 Espectroscopia de Absorção e Emissão</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.4 Espectroscopia Raman</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.5 Potencial Zeta</b> .....	<b>37</b>
4.4 PREPARAÇÃO MICROBIOLÓGICA .....	37
4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE AO FLUCONAZOL .....	38
4.6 TESTE DE SENSIBILIDADE AO NANOGRAFENO .....	39
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
5.1 PREPARAÇÃO E CONJUGAÇÃO DO NANOMATERIAL.....	41

5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – MET .....	47
5.3 PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS SISTEMAS.....	49
5.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR.....	56
5.5 ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	59
5.6 ESTUDO DE VIABILIDADE ANTIFÚNGICA.....	61
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>67</b>
<b>7. PERSPECTIVAS .....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A candidíase, uma infecção fúngica ocasionada por espécies pertencentes ao gênero *Candida* que abrange uma diversificada coleção de fungos unicelulares que habitualmente coexistem com a microbiota humana (Monnet *et al.*, 2015). Contudo, modificações no equilíbrio microbiano ou a presença de fatores predisponentes, como a imunossupressão e o uso indiscriminado de antifúngicos, por exemplo, podem desencadear a proliferação desses microorganismos, culminando em infecções clinicamente relevantes, constituindo um desafio significativo para a saúde global (Yahya *et al.*, 2022). Este conjunto de fungos, notório por sua habilidade de colonizar superfícies mucocutâneas, engloba diversas espécies, sendo a *Candida albicans* a mais prevalente, seguida por espécies de *Candida* não-*Candida albicans*, como a *C. krusei* e *C. tropicalis*. A *C. albicans* é notoriamente reconhecida como a principal agente causador da candidíase, embora outras espécies venham a emergir como agentes patogênicos de considerável relevância. Cada variante do gênero exibe atributos singulares, exercendo influência sobre a gravidade das infecções e a resposta aos tratamentos contra a candidíase (Babić *et al.*, 2010; Shravan *et al.*, 2020).

*C. albicans*, em virtude de sua adaptabilidade, é frequentemente associada a infecções mucocutâneas, por outro lado, a *C. krusei* e *C. tropicalis* destacam-se pela menor suscetibilidade ao azóis, apresentando desafios adicionais para a gestão clínica. A diversidade entre essas espécies ressalta a crucial importância da precisa identificação da cepa específica, fornecendo orientação para estratégias terapêuticas eficazes (Makanjuola *et al.*, 2018). A classe dos azóis, particularmente o fluconazol, tem sido extensivamente utilizada no tratamento de infecções fúngicas, englobando a candidíase. Entretanto, a ascensão da resistência antifúngica representa uma ameaça à eficácia desses agentes terapêuticos. Mecanismos como modificação na expressão de bombas de efluxo e alterações na enzima alvo (*ERG11*) são contribuintes para a resistência, impelindo a busca por alternativas terapêuticas (Hussein *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2020).

Diante desse cenário desafiador, os nanocarreadores emergem como ferramentas favoráveis para aprimorar a eficácia na entrega de antifúngicos. A

capacidade dessas estruturas em encapsular fármacos possibilita uma administração direcionada, resultando na redução da toxicidade sistêmica e no aumento da concentração intracelular do agente carregado. Essa abordagem, não apenas intensifica a eficácia da terapia, mas também minimiza os efeitos adversos associados ao tratamento convencional (Ding; Li, 2017).

Na busca por nanocarreadores de maior eficiência, os nanografenos surgem como uma inovação terapêutica promissora. Sua estrutura singular única confere estabilidade e biocompatibilidade, enquanto a capacidade de funcionalização possibilita a conjugação com diversas moléculas (Henna; Pramod, 2020). A utilização de nanografenos como veículos para fármacos representa uma abordagem inovadora na superação dos desafios vinculados à resistência antifúngica, viabilizando uma entrega mais segura e eficaz dos agentes terapêuticos (Biswas *et al.*, 2021).

O presente estudo propõe-se a explorar os mecanismos subjacentes à resistência antifúngica em *Candida*, avaliar a eficácia de nanocarreadores na reversão desse fenômeno e investigar o potencial terapêutico dos nanografenos. Pretende-se oferecer *insights* valiosos para aprimorar a farmacoterapia na candidíase, contribuindo assim para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficientes e seguras.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar nanografenos e avaliar o uso destes nanossistemas como carreadores do fármaco antifúngico fluconazol no combate a resistência fúngica nas cepas de *Candida spp.*

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar nanografenos;
- Realizar dopagem dos nanografenos com nitrogênio;
- Conjugar eletrostaticamente os nanografenos e nanografenos dopados com nitrogênio com o fármaco fluconazol (NG@FLU; NG-N@FLU);
- Caracterizar os sistemas obtidos por meio de técnicas analíticas, como espectroscopia eletrônica de absorção na região UV-Vis, espectroscopia de excitação e emissão, espectroscopia FTIR, espectroscopia Raman e potencial zeta;
- Avaliar a viabilidade antifúngica dos nanossistemas e nanossistemas conjugados em cepas de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*

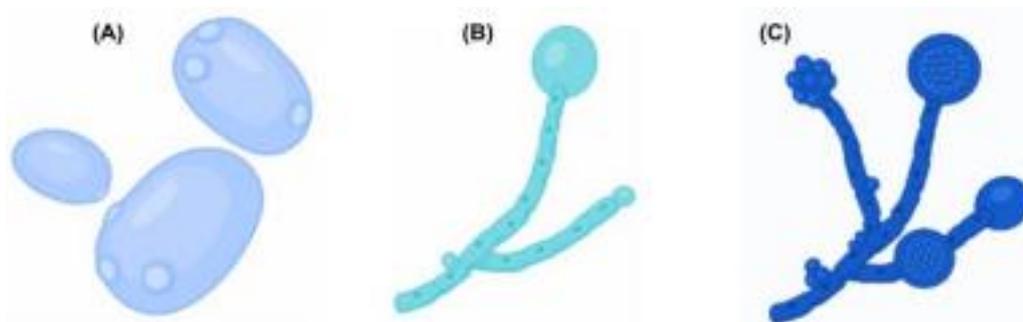
### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 GÊNERO *Candida*

O Reino Fungi engloba, entidades heterotróficas, capazes de manifestar-se como organismos unicelulares ou multicelulares, caracterizados pela eucarioticidade e ausência de clorofila (Monnet *et al.*, 2015). Sua subsistência e obtenção de energia derivam da absorção de compostos orgânicos, notavelmente carbono (Oliveira dos Santos *et al.*, 2016). São frequentemente encontrados em contextos ambientais e industriais, desempenhando papéis diversos que vão desde a produção de produtos farmacêuticos até a fabricação de bebidas fermentadas com leveduras (Kuhar *et al.*, 2013; Spatafora *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2021). No âmbito deste reino, destacam-se as leveduras do gênero *Candida*, umas das espécies fúngicas mais prevalentes entre os fungos considerados patógenos oportunistas de seres humanos. Essa relevância é atribuída à sua vasta diversidade, com documentação de mais de 350 espécies, conferindo ao gênero uma proeminência médica significativa, embora apenas um número limitado seja identificado como agente causador de candidíase em humanos (Williams *et al.*, 2011; Souza, 2015).

O gênero apresenta uma morfologia celular predominantemente oviforme ou arredondada, com dimensões variando de 2 a 6  $\mu\text{m}$ , e reproduz-se por meio do processo de brotamento (Kashem *et al.*, 2015). Durante o seu ciclo de crescimento o gênero pode assumir diferentes formas, incluindo blastóporos, pseudo-hifas e hifas (Figura 1), sendo que sua parede celular é composta principalmente por quitina, acompanhada por uma membrana fosfolipídica na qual o ergosterol é o componente predominante (Correia *et al.*, 2019; Kadosh *et al.*, 2019).

**Figura 1.** Morfologia de *Candida* spp é evidenciada, destacando as diversas distintas formas assumidas pelo fungo durante o seu ciclo de desenvolvimento, a saber: (A) blastóporos (leveduras); (B) Pseudohifas e (C) Hifas verdadeiras.



Fonte: O autor (2023).

Algumas cepas de leveduras são identificadas como parte integrante da microbiota endógena humana em vários locais de indivíduos saudáveis, em ausência de condições patológicas aparentes (Santos *et al.*, 2018), ocupando nichos como as mucosas oral e genital, a pele, o trato gastrointestinal e o trato respiratório (Polke *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2019). O fungo revela uma notável adaptabilidade e propensão oportunista (Djordjevic *et al.*, 2015).

Esse comportamento é atribuído ao desequilíbrio eventual entre *Candida* e a célula hospedeira, especialmente em situações propícias, como alterações climáticas ou estado imunológico específico, culminando na transição do fungo de uma condição comensal para um estado patogênico (Arendrup *et al.*, 2017). Esse fenômeno está associado a manifestações clínicas variadas, tanto localizadas quanto disseminadas, resultando um quadro infecciosos denominado candidíase, candidose ou monilíase, caracterizadas por um amplo espectro clínico (Leal *et al.*, 2016; Bem-Ami, 2018; Duarte *et al.*, 2019).

Dentre todas as espécies, *Candida albicans* emerge como a mais clinicamente relevante, mantendo-se como o principal agente causador predominante da candidíase em comparação com as espécies não-*albicans* (Pfaller *et al.*, 2011; Pappas *et al.*, 2018). Destaca-se a notável capacidade de dimorfismo desta espécie, cujo crescimento fúngico assume a forma de leveduras, enquanto a forma de hifa apresenta importância crucial, permitindo a invasão tecidual e a regulação simultânea da expressão de fatores relacionados à adesão e invasão (Talapko *et al.*, 2021). Isso é exemplificado pelas adesinas do tipo Als3 e Hwp1,

expressas durante a fase de hifas, desempenhando um papel fundamental na adesão do fungo às células hospedeiras (Rossi *et al.*, 2011; Lopes *et al.*, 2021).

O modo de infecção intracelular por *C. albicans* manifesta variações dependendo do tipo celular e do local específico da infecção (Talapko *et al.*, 2021). Por exemplo, na candidíase vaginal, o fungo pode invadir as células epiteliais da mucosa, resultando em danos teciduais e inflamação, e apresentando sintomas como prurido, corrimento branco e ardência (Rodríguez-Cerdeira *et al.*, 2019). Em candidíase oral e esofágica, o fungo também invade células epiteliais, mas os sinais e sintomas diferem. A candidíase oral se manifesta por manchas brancas na língua e outras áreas da boca, podendo ser dolorosa e até causar sangramento durante a escovação dental. No esôfago, a infecção provoca dificuldade para engolir e, por vezes, dor no peito (Mohamed *et al.*, 2019; Patel *et al.*, 2022). Em infecções sistêmicas, o mecanismo fúngico envolve a invasão de células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos, facilitando assim a rápida disseminação do fungo (Rajendran *et al.*, 2016; Levinson *et al.*, 2020; Vila *et al.*, 2020).

Conforme relatado pela GVIMS/GGTES/ANVISA (2017) em seu boletim sobre segurança do paciente e qualidade nos serviços de saúde, *Candida* spp figura como a sexta principal notificação em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) adulto, totalizando 1.281 casos, dos quais 628 foram atribuídos *Candida albicans*. Adicionalmente, destaca-se como a segunda maior notificação em UTI pediátrica, com 370 casos, sendo que 128 desses tiveram *C.albicans* identificada como agente patogênico.

Estas infecções frequentemente decorrem da elevada incidência de pacientes afetados por Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), dada a natureza oportunista e a notável resistência aos antifúngicos apresentada por esse fungo patogênico (Lopes *et al.*, 2018). A resistência fúngica configura um desafio substancial no enfrentamento das infecções, constituindo uma séria ameaça à saúde pública, uma vez que o arsenal de fármacos antifúngicos com potencial terapêutico ainda é restrito (Arendrup *et al.*, 2017).

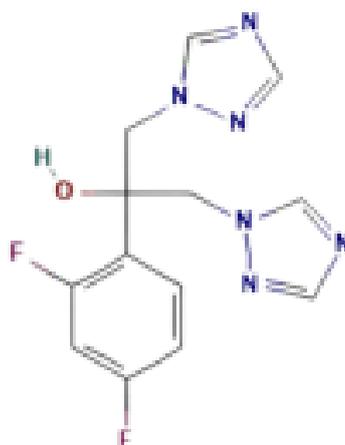
### 3.2 RESISTÊNCIA À FARMACOTERPIA ANTIFÚNGICA

As classes terapêuticas atualmente disponíveis para o tratamento de doenças fúngicas, como candidíase, incluem os polienos, azólicos e equinocandinas,

podendo ser administradas isoladamente ou em combinação. Contudo, a ineficiência do tratamento não está restrita à resistência fúngica ou à limitada diversidade de fármacos, sendo múltiplos os fatores que contribuem para o atual quadro clínico. Tais fatores englobam desde a comprometida funcionalidade do sistema imunológico do hospedeiro até a localização da disseminação invasiva fúngica. Adicionalmente, a eficácia do tratamento pode ser comprometida por falhas na adesão ao protocolo estabelecido para terapia, na dosagem adequada e, em alguns casos, pela elevada toxicidade sistêmica associada a determinados antifúngicos, notadamente a nefrotoxicidade (Bandeira; Sabadin, 2017; Beardsley *et al.*, 2018).

Deficiências na eficácia da farmacoterapia em determinadas cepas fúngicas são documentadas em uma série de relatos clínicos e estudos epidemiológicos e farmacológicos (Aldardeer *et al.*, 2020). É crucial destacar que, embora a *Candida albicans* continue a ser a espécie mais prevalente em casos de candidíase humana, tem-se observado um crescimento alarmante de espécies não albicans, incluindo *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* e *Candida auris*, emergindo como agentes causadores significativos de quadros clínicos de candidíase nos últimos anos. Muitos desses isolados têm demonstrado baixa suscetibilidade aos antifúngicos, como o fluconazol (Figura 2) (Logan *et al.*, 2020; O'Brien *et al.*, 2020; Botelho *et al.*, 2022).

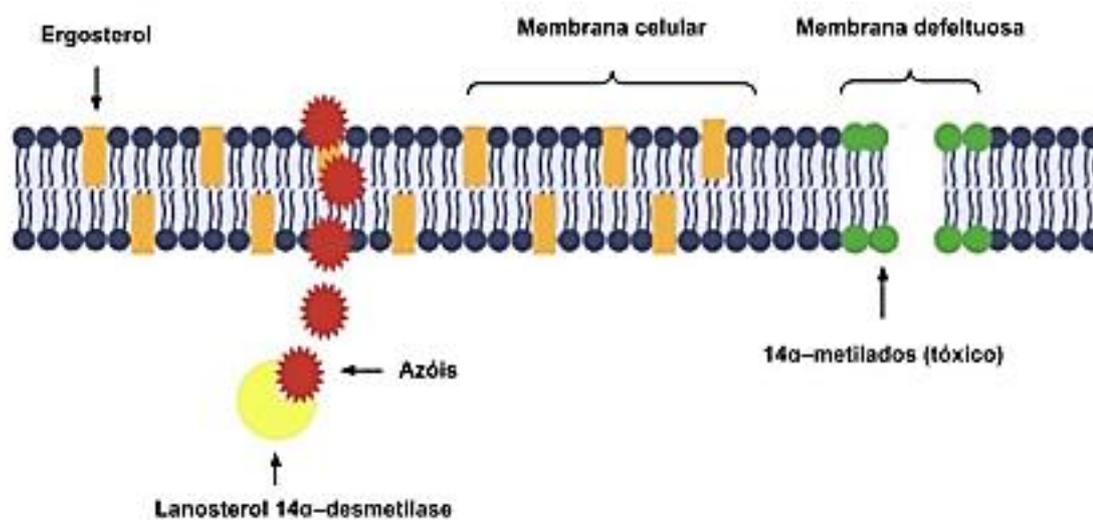
**Figura 2.** Estrutura molecular do fluconazol.



**Fonte:** Pubchem, cód. 3365

O fluconazol, classificado como um azol, atua inibindo seletivamente a atividade enzimática da 14 $\alpha$ -desmetilase do citocromo P450, a qual é codificada pelo gene *ERG11* (Figura 3). O gene *ERG11* é um componente essencial na biossíntese do ergosterol, um elemento-chave das membranas celulares dos fungos (Goodman *et al.*, 2019). O ergosterol desempenha um papel crucial na manutenção da integridade e fluidez das membranas fúngicas. A redução dos níveis de ergosterol resulta no acúmulo de produtos intermediários tóxicos de esteróis metilados, como o 14 $\alpha$ -metil ergosta-8-eno-3,6-diol, comprometendo a função da membrana e a integridade do fungo. Em última instância, esse mecanismo pode levar à morte celular e à inibição do crescimento fúngico (Beardsley *et al.*, 2018; Fisher *et al.*, 2018).

**Figura 3.** Mecanismo de ação promovido pela classe terapêutica azólica, agindo no bloqueio da síntese de ergosterol.



Fonte: O autor (2023)

No entanto, nos últimos anos, com o aumento na prevalência de cepas fúngicas resistentes e o restrito repertório de antifúngicos clinicamente relevantes (Reinhardt *et al.*, 2020), a situação se torna ainda mais alarmante quando o fungo não responde a uma ou mais classes de fármacos (Lee *et al.*, 2020). A *Candida* desenvolveu diversos mecanismos adaptativos e de tolerância como estratégias de sobrevivência (Lee *et al.*, 2020), alguns dos quais são delineados a seguir:

- Mutações ou modificações na estrutura ou função da enzima alvo CYP450 14 $\alpha$  desmetilase, codificada pelo gene *ERG11*. Tais mutações diminuem a

afinidade de ligação do azol à enzima, resultando em inibição reduzida e menor sensibilidade ao fármaco, como no caso do fluconazol (Hou *et al.*, 2019);

- As células de *Candida* têm a capacidade de regular positivamente a expressão dos genes da bomba de efluxo, responsável por extrusar fármacos azólicos para fora da célula. Nas cepas resistentes, esse processo de efluxo é intensificado, resultando em concentrações intracelulares dos fármacos inferiores ao esperado. Essa resistência, induzida pela atividade da bomba de efluxo, leva a uma redução na eficácia farmacológica, contribuindo para a resistência a múltiplos fármacos (Golabek *et al.*, 2015; Beardsley *et al.*, 2018);
- Em resposta compensatória à exposição a fármacos, às células do fungo podem intensificar a produção de ergosterol ao modificar a expressão de genes envolvidos na via biossintética, tais como ERG3, ERG5 e ERG11. Este mecanismo é capaz de suplantar os efeitos inibitórios dos azóis, resultando em uma redução na sensibilidade a essa classe de fármacos (Perlin *et al.*, 2017);
- Mecanismos independentes do ergosterol, que podem ativar vias alternativas de resposta ao estresse, como a via de calcineurina, com o propósito de preservar a integridade da membrana celular na falta de ergosterol suficiente. Esse mecanismo possibilita à célula a sobrevivência ao se adaptar ao estresse induzido pelo antifúngico (Bhattacharya *et al.*, 2020);
- Formação de biofilmes que proporciona uma matriz protetora e induz alterações fisiológicas nas células, reduzindo assim sua suscetibilidade aos efeitos do fármaco (Hou *et al.*, 2019).

Podemos constatar que a resistência apresenta um caráter multifatorial, envolvendo diversos mecanismos que podem operar de maneira isolada ou sinérgica. É notável que mecanismos específicos podem variar entre diferentes espécies de *Candida* ou mesmo dentro da mesma espécie (Correia *et al.*, 2019). A compreensão desses mecanismos moleculares é essencial para desenvolver novas estratégias visando reverter a resistência aos antifúngicos, aprimorando, assim, a abordagem no tratamento das infecções.

O emprego de nanocarreadores emerge como uma estratégia promissora para aprimorar a entrega de fármacos antifúngicos e combater a resistência. Essa abordagem pode melhorar a estabilidade e solubilidade dos fármacos, proporcionar liberação sustentada, superar a bomba de efluxo e penetrar biofilmes (Wang et al., 2021). Além disso, constitui uma abordagem inovadora que oferece a oportunidade de realizar combinações terapêuticas, promovendo sinergias farmacológicas, o que se revela promissor na reversão da resistência antifúngica.

### 3.3 NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA

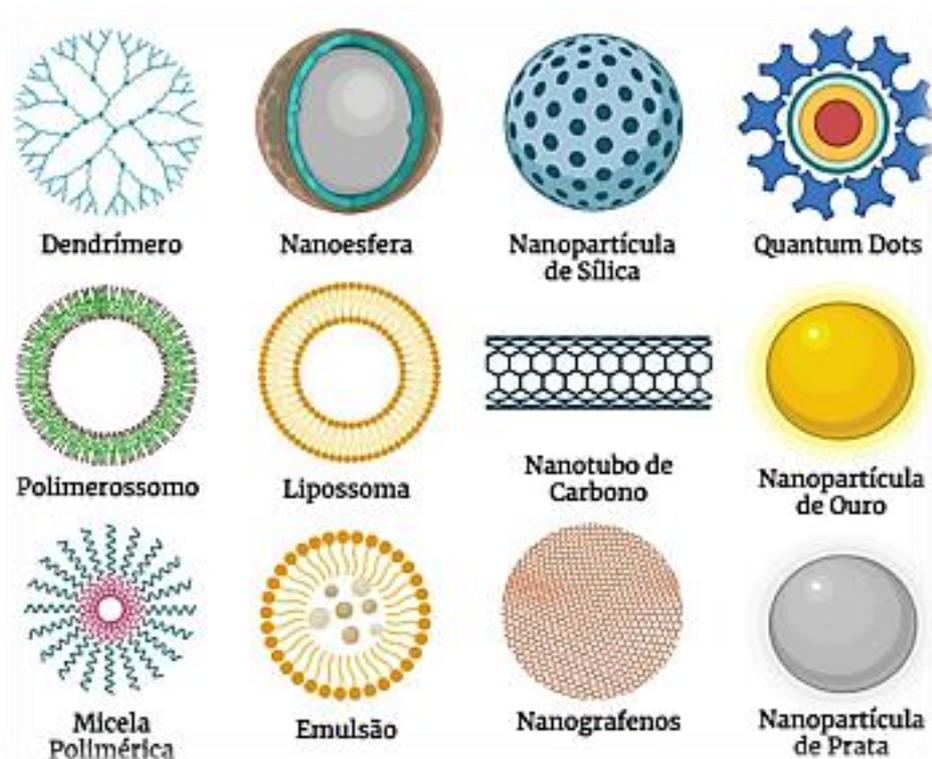
A nanotecnologia, conforme definido pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação do Brasil (MCTI), acessado em maio de 2023, é um campo interdisciplinar, disruptivo e difundido da ciência e tecnologia que se dedica à compreensão, manipulação e aplicação das propriedades da matéria em escala nanométrica ( $1 \times 10^{-9} \text{m}$ ). Nos últimos anos, observou-se um avanço significativo na aplicação da nanotecnologia na área da saúde, especialmente no uso de nanopartículas (NPs) para diagnósticos e terapias diversas (Xin et al., 2017).

Essas NPs apresentam características notáveis, como menor toxicidade (Cao et al., 2020), tamanho comparável às estruturas biológicas facilitando a penetração nos tecidos e barreiras celulares (Khalin et al., 2022), alta área de superfície em relação ao volume (Yin et al., 2020), propriedades físico-químicas ajustáveis (Hui et al., 2019), versatilidade na administração de medicamentos (Chen; Feng, 2022), multifuncionalidades (Aghebati-Maleki et al., 2019), capacidade de resposta a estímulos (Handa et al., 2022), entre outras.

Contudo, devido à necessidade intrínseca aos processos biológicos, as NPs destinadas ao uso como nanocarreadores de fármacos são projetadas em tamanhos amplamente variados, geralmente na faixa de 1 a 1000 nm, com aplicações em prevenção, diagnóstico e terapia (Zhang et al., 2018; Abdel-Mageed et al., 2021). Essas NPs apresentam uma ampla diversidade, dependendo do material utilizado em sua fabricação, diferindo em tamanho e tipo, e novas são continuamente desenvolvidas (Mitchell et al., 2020). Entre as mais comumente utilizadas em estudos (Figura 4), podem ser mencionadas lipossomas e suas variantes, partículas poliméricas, metálicas, lipídicas sólidas, nanoemulsões, pontos quânticos

convencionais (QDs, do inglês *Quantum Dots*) e os de natureza carbonácea, como nanotubos, pontos de carbono (CD, do inglês *Carbon Dots*) e nanografenos ou nanofolhas de grafeno (Mitchell *et al.*, 2020; Abdel-Mageed *et al.*, 2021).

**Figura 4.** Ilustração contendo nanopartículas multifuncionais, de diferentes materiais projetadas como estratégias precisas na entrega de fármacos.



**Fonte:** O autor (2023)

Devido à diversidade alcançada, é evidente que o vasto campo da nanotecnologia possibilita o desenvolvimento cuidadoso do uso de NPs como nanocarreadores para vários diagnósticos clínicos, proporcionando efeitos terapêuticos promissores (Naoum *et al.*, 2016). Nesse contexto, o principal desafio tecnológico no campo farmacêutico reside no desenvolvimento de métodos eficazes para a liberação controlada de medicamentos, visando uma administração com cinética constante e segura (Adepu; Ramakrishna, 2021).

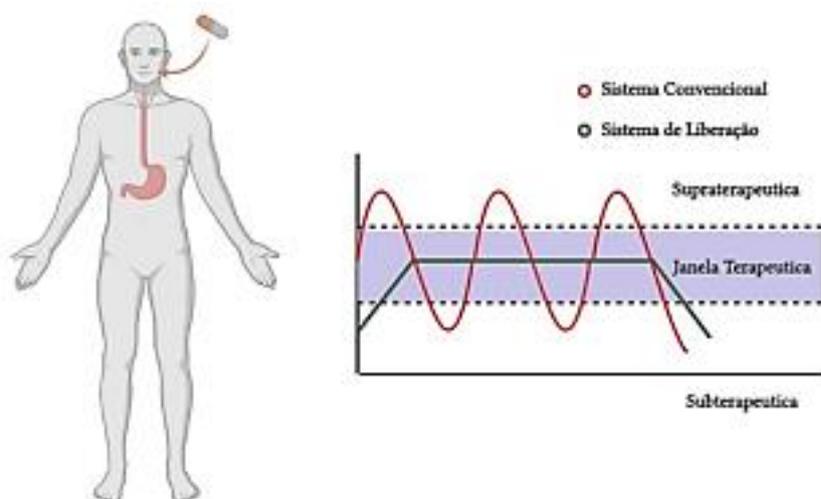
Apesar de as formas farmacêuticas convencionais, como comprimidos, cápsulas, cremes, géis, entre outras, apresentarem resultados considerados satisfatórios em determinados casos, dependendo do local de ação e das

características do fármaco, elas também podem resultar em efeitos indesejáveis. Tais efeitos incluem respostas colaterais associadas à dose supraterapêutica, seja devido à ação inespecífica ou à necessidade de doses repetidas. Além disso, essas formas farmacêuticas podem ter sua eficácia reduzida, caracterizada como dose subterapêutica, devido à metabolização precoce (Adepu; Ramakrishna, 2021; Spyker et al., 2022).

O direcionamento de agentes farmacológicos para áreas específicas teve seu surgimento em meados de 1909 com a concepção do antibiótico arsfenamina, sob a liderança do biólogo Paul Ehrlich. Este composto foi empregado no tratamento da sífilis, evidenciando sua capacidade de inibir a bactéria *Treponema pallidum* sem ocasionar danos às células hospedeiras. O pesquisador denominou tal substância como uma “bala mágica”, dada sua notável especificidade, tal descoberta teve um impacto expressivo na abordagem terapêutica de diversas patologias, representando um marco crucial no desenvolvimento da terapia medicamentosa direcionada (Bosch; Rosich, 2008; Ferraz, 2017).

Os sistemas de entrega de fármacos (conforme representado na Figura 5) são concebidos para transpor potenciais obstáculos, visando alcançar concentrações plasmáticas do fármaco com preciso controle cinético. Isso possibilita a obtenção de efeitos terapêuticos desejados, ao mesmo tempo que mitiga quaisquer riscos farmacológicos potenciais decorrentes de doses supraterapêuticas, que podem ser tóxicas, ou doses subterapêuticas (Unsoy. Gunduz, 2018). Uma comparação esquemática entre os sistemas convencionais e de liberação pode ser observada na imagem abaixo.

**Figura 5.** Descrição em imagem de liberação de fármacos: Comparação entre convencional (vermelha) e controlada (verde).



**Fonte:** O autor (2023)

Apesar de ainda não ter sido plenamente alcançado, o sistema ideal de administração de medicamentos deveria ter a capacidade de direcionar os produtos farmacêuticos para o local-alvo específico, minimizando a exposição aos tecidos circundantes (Prasher *et al.*, 2020). A indústria farmacêutica tem investigado o uso de métodos de entrega para aprimorar a distribuição de produtos que estão no mercado há décadas, contudo, devido ao seu custo elevado, toxicidade significativa e baixa estabilidade físico-química, alguns desses materiais enfrentam limitações na aplicabilidade clínica (Kong *et al.*, 2023).

Nesse contexto, destaca-se a utilização de sistemas coloidais, como as nanofolhas de grafeno, como uma opção promissora na administração de fármacos, por ser um veículo com atrativos pode apresentar pontos interessantes como biocompatibilidade, ser econômico e ecologicamente sustentável na obtenção, além de poder ser funcionalizado aumentando sua interação com outras moléculas (Campbell *et al.*, 2021; Mohammadi *et al.*, 2022; Sivamaruthi *et al.*, 2022).

### 3.4 ALOTRÓPOS DE CARBONO

O carbono é um elemento tetravalente e não metálico, caracterizado por sua habilidade singular de autoligação e de formar ligações com outros elementos. Essa propriedade conduz à elaboração de compostos com uma variedade de

características estruturais, bem como propriedades físicas e químicas distintas (Singhal *et al.*, 2022). A capacidade de um elemento químico adotar várias formas estruturais em seu estado sólido é denominada alotropia (Khalaj *et al.*, 2017). As formas alotrópicas do carbono englobam o carbono amorfo, diamante, grafite, fulerenos e nanotubos de carbono (Tiwari *et al.*, 2018). Cada uma dessas manifestações alotrópicas exibe características físicas e químicas distintas. O grafite, com sua rede de carbono e hibridização  $sp^2$ , assim como o diamante, com hibridização  $sp^3$ , são os dois alótropos de carbono que ocorrem naturalmente. Através de modificações nos processos sintéticos, os cientistas da área de ciência de materiais conseguiram alterar as estruturas e as características funcionais de materiais preexistentes, resultando na produção de novas e aprimoradas formas (Singhal *et al.*, 2022).

A capacidade de criar novos alótropos com anéis ou polígonos ampliados é viabilizada pela característica expansiva do carbono (Hirsch, 2010). Um exemplo notável é o fulereno de dimensão zero (0D), que foi o primeiro alótropo sintético descoberto por Kroto e colaboradores em 1985. Posteriormente, foram desenvolvidos os nanotubos de uma dimensão (1D) e o grafeno, um material bidimensional (2D), descoberto por Novoselov (Singhal *et al.*, 2022). Os fulerenos tem uma promissora aplicação na entrega de peptídeos, seja como agente terapêutico ou de diagnóstico. Essa perspectiva é embasada na estrutura celular oca desse material, que se assemelha a gaiolas com clatrina, a justificativa para essas aplicações reside na tensão estrutural induzida pela flexão do carbono  $sp^2$ , possibilitando a observação de processos biológicos adicionais (Goodarzi *et al.*, 2017).

Os nanomateriais derivados do carbono, entre os nanomateriais à base de grafeno, destacam-se por apresentar características físicas e químicas especiais, atraindo a atenção dos pesquisadores devido à sua versatilidade em diversas aplicações na área da saúde. Essas aplicações incluem a entrega de fármacos e genes (Bai *et al.*, 2019), imagem óptica e ressonância magnética (Molaei *et al.*, 2021), além de usos teranósticos no tratamento do câncer (Orecchioni *et al.*, 2015). Com base na revisão bibliográfica, esses nanomateriais apresentam características específicas, como boa solubilidade (Raj *et al.*, 2020), baixa toxicidade (Ou *et al.*,

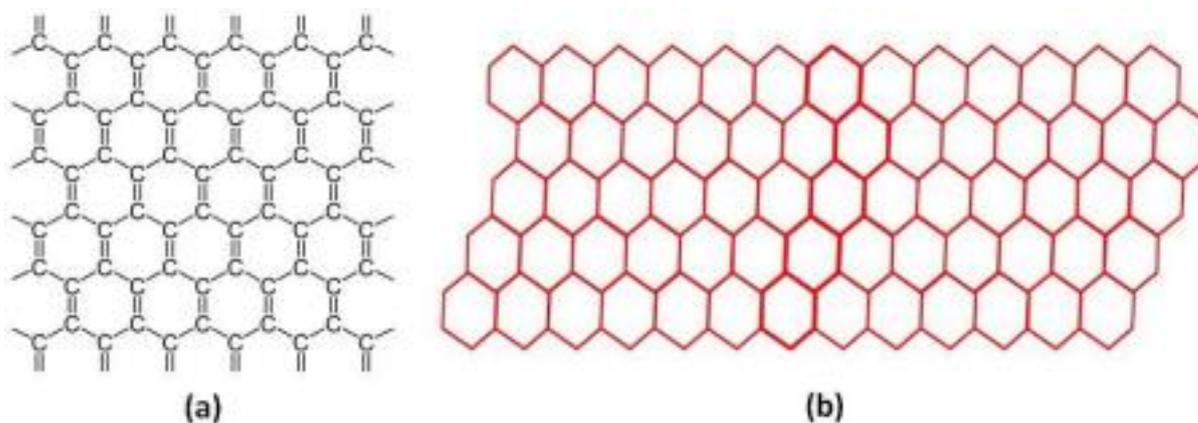
2016) e aprimorada compatibilidade biológica, para sua eficaz aplicação em contexto biológico (Priyadarsini *et al.*, 2018).

### **3.4.1 Grafeno**

O grafeno é um alótropo de carbono, onde átomo de carbono é  $sp^2$  hibridizado com três ligações relacionadas a diferentes átomos de carbono proximais (Shen *et al.*, 2019) formando uma estrutura 2D, sendo o único material derivado do carbono, onde os átomos de carbono estão ligados fortemente os seus vizinhos por uma nuvem eletrônica única, levantando diversas discussões importantes (Tiwari *et al.*, 2018). Conhecido por sua maior mobilidade de portador, efeito hall quântico e propriedades elétricas e  $sp$  intrônicas, também é a forma mais estável do carbono, devido a sua resistência. O grafeno tem um módulo de Young muito alto (aproximadamente 1 TPa) e uma resistência à tração muito alta devido à combinação de ligações  $\sigma$  fortes e delocalização de elétrons  $\pi$ . Isso indica que o grafeno tem capacidade de suporta intensos esforços mecânicos antes de se romper (Pesin; MacDonald, 2012; Chau *et al.*, 2022).

O seu formato hexagonal em rede, semelhante ao favo de mel (Figura 6), é responsável por produzir os cones de dispersão linear (Wang *et al.*, 2015; Ding *et al.*, 2018). Nestes materiais, em energias próximas do nível de Fermi, a banda de valência e a banda de condução assumem a forma das metades superior e inferior de uma superfície cônica, encontrando-se nos chamados cones de Dirac. Os cones de Dirac também estão presentes nos outros alótropos de carbono  $sp^2$  e  $sp^3$ , levando à conclusão de que os cones de dirac e a dispersão linear de portadores são propriedades fundamentais dos alótropos de carbono 2D (Rozhkov *et al.*, 2018). Além do fenômeno de hall quântico (Panna *et al.*, 2021), pode-se encontrar o grafeno em diversas formas, o que inclui nanofitas de grafeno (A Celis *et al.*, 2016), nanofolhas (Ersan *et al.*, 2017), nanoplacas (Rafiee *et al.*, 2020) e grafeno 3D (Sun *et al.*, 2020).

**Figura 6.** Uma visão detalhada da estrutura da folha de grafeno (a) revelando as ligações duplas (sp<sup>2</sup>) e (b) sua semelhança marcante com a organização hexagonal de um favo de mel, destacando a natureza da rede de átomos de carbono neste material bidimensional.



Fonte: O autor (2023)

Em teoria, o grafeno tem sua estrutura puramente bidimensional (Nika et al., 2016), uma enorme área superficial específica (Lu et al., 2017), boa condutividade elétrica (Lu et al., 2017; Kernin et al., 2019), alta mobilidade intrínseca (Akbar et al., 2015), alta condutividade térmica (Xie et al., 2016) e alta transmitância óptica (Xu; Liu, 2016). A variedade de qualidades excepcionais demonstra o potencial dos materiais à base de grafeno para serem usados em uma ampla gama de domínios científicos (Tiwari et al., 2020). Na verdade, a criação de materiais antimicrobianos (Zou et al., 2016), biosensoriamento (Jiang et al., 2020), engenharia de tecidos (Shin et al., 2016), bioeletrônica (Guo et al., 2019), transferência de genes (Vicent et al., 2016), tratamento de câncer (Eskiizmir et al., 2018) e outras aplicações têm visto o uso de materiais à base de grafeno desde sua introdução biomédica.

### 3.4.2 Nanografenos

Os Nanografenos (NG) são fragmentos em nanoescala de grafeno, que herdam sua estrutura, mas são muito menores que 20 nm e possuem uma estrutura de carbono hibridizada sp<sup>2</sup>, semelhante ao grafeno, e alguns autores sugerem que estes compostos possuem efeitos de confinamento quântico em suas propriedades elétricas e ópticas (Ruiz et al., 2017; Lu et al., 2019). Embora a natureza das propriedades ainda se encontra em debate na literatura, devido às suas qualidades notáveis, incluindo facilidade no preparo, fluorescência sintonizável, excelente biocompatibilidade, alta fotoestabilidade e uma grande relação superfície-volume, esses materiais têm atraído muita atenção nos últimos anos. Como resultado, eles

são candidatos promissores para uma variedade de aplicações de nanotecnologia, incluindo administração de medicamentos, bioimagem, sensores e dispositivos optoeletrônicos (Zhao *et al.*, 2020).

Uma ideia, ainda bastante debatida na literatura, é a de que um dos aspectos mais intrigantes dos NGs advém do efeito de confinamento quântico. Gan e colaboradores (2016) descrevem que o movimento dos portadores de carga dentro deles torna-se restrito devido ao seu tamanho em nanoescala, resultando em níveis de energia quantizados (Gan *et al.*, 2016). Esse confinamento resulta em *bandgaps* dependentes do tamanho, ou seja, à medida que o tamanho dos NG diminui, seu *bandgap* aumenta. Mas a depender do tamanho, este *bandgap* permite propriedades ópticas ajustáveis, incluindo fluorescência e absorção (Jin *et al.*, 2015). Porém, sua emissão de luz no mais variado comprimento de onda depende do tamanho e da funcionalização da superfície. Outra linha de compreensão destes fenômenos descreve que a mudança das propriedades ópticas resulta da mudança da superfície do material, a qual induz defeitos na estrutura eletrônica e, portanto, novos estados eletrônicos (Boöver *et al.*, 2022).

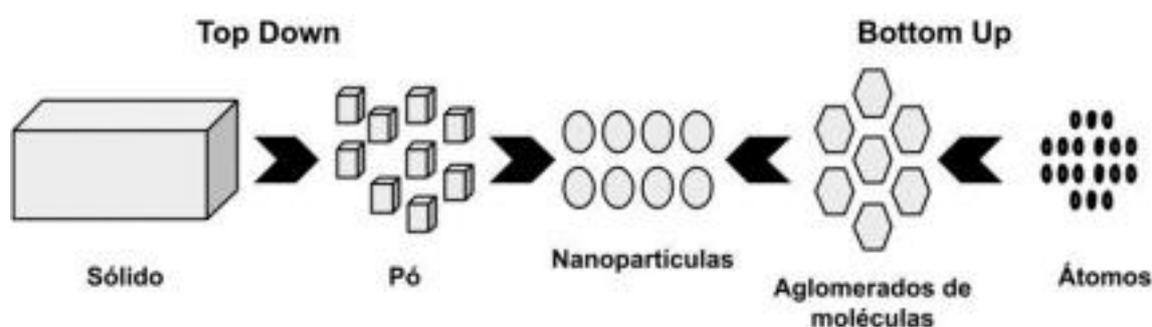
Sua ampla área de superfície oferece muitas oportunidades de funcionalização e facilita interações efetivas com outras moléculas (Campuzano *et al.*, 2019). Essa característica os torna altamente versáteis para diversas aplicações, incluindo sistemas de liberação de fármacos (Iannazzo *et al.*, 2019). Grupos funcionais como hidroxila, carboxila e amina podem ser adicionados à superfície para modificá-la. Isso aumenta a solubilidade e a estabilidade da superfície e a torna mais compatível com outras moléculas e materiais (Calabro *et al.*, 2018). Ao funcionalizar a superfície permite-se a conjugação com ligantes de direcionamento específico ou o encapsulamento de fármaco em sua estrutura, assim os NG podem servir como nanocarreadores ou nanotransportadores para aumentar a entrega de agentes terapêuticos, como fármacos antifúngicos (Ting *et al.*, 2015; Biswas *et al.*, 2021).

Além disso, a funcionalização é importante para a fluorescência do sistema. Os grupos funcionais podem modificar os estados de superfície e os níveis de energia dos NG, afetando a intensidade e as propriedades de emissão de sua fluorescência (Chhabra *et al.*, 2018; Nematy *et al.*, 2018). Esta, é uma característica positiva para imagens de diagnóstico com maior durabilidade ou aplicações de detecção onde são necessários sinais de fluorescência constantes e confiáveis, uma

vez que exibem fotoestabilidade excepcional, mantendo suas características de fluorescência mesmo após iluminação prolongada. Além disso, os NGs podem exibir um alto rendimento quântico de fluorescência, indicando conversão efetiva de energia absorvida em emissão de fluorescência (Guo *et al.*, 2015; Kadian *et al.*, 2020). Essa fluorescência pode ser modulada por estímulos externos, como mudanças no pH, temperatura ou presença de analitos específicos que podem induzir alterações nesta propriedade (Yuan *et al.*, 2015).

Os NGs podem ser obtidos tanto pelo método de cima para baixo (*top down*) ou de baixo para cima (*bottom up*) (Figura 7) (Bak; Kim; Lee *et al.*, 2016). Para produção de grafeno em nanoescala, o método top down é uma técnica típica de síntese onde provoca a redução e fragmentação das folhas de grafeno em massa. Escalabilidade, controle sobre o tamanho das nanopartículas e flexibilidade para usar fontes de grafeno facilmente acessíveis são apenas alguns benefícios dessa abordagem (Qin *et al.*, 2015). Uma das técnicas mais empregadas do método é a esfoliação química, que envolve a separação mecânica ou química das camadas de grafeno, sendo este, um dos procedimentos mais usuais. Através da divisão repetitiva do grafite ou grafeno em camadas mais finas, métodos de esfoliação mecânica como clivagem micromecânica ou descamação usando fita adesiva, eventualmente resultam na criação de NG. Os produzidos por esfoliação química, espalha as camadas de grafeno e as separa em pedaços menores usando solventes ou surfactantes (Danial *et al.*, 2021).

**Figura 7.** Demonstração das rotas sintéticas de obtenção dos nanografenos.



Fonte: O autor (2023)

Outra técnica popular é a clivagem eletroquímica, que induz delaminação e quebra da camada de grafeno em NG pela aplicação de um campo elétrico. O campo elétrico induz as camadas de grafeno a se dividirem e criarem pontos quânticos quando uma corrente elétrica é aplicada a um eletrodo de grafite em uma solução eletrolítica (Younis *et al.*, 2020). É uma técnica bem conhecida e empregada por Hummer (1985) e muito usada por alguns pesquisadores, que contam com o uso de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) para oxidar grafite e produzir pontos de grafeno com alto rendimento, mas, esse processo pode resultar em alterações que prejudicam o desempenho do sistema de forma irreversível e afetam suas propriedades eletrônicas (Danial *et al.*, 2021).

Métodos ascendentes ou de baixo para cima são considerados eficazes para criar estruturas de grafeno em nanoescala a partir de precursores de moléculas pequenas ou fontes de carbono. Ao dar aos NGs grande controle sobre o seu tamanho, forma e funcionalidade, esse método permite a personalização precisa de suas características para uma variedade de aplicações (Dervishi *et al.*, 2019). Uma das técnicas mais amplamente usadas é a hidrotérmica ou solvotérmica, que envolve o aquecimento de uma solução precursora contendo fontes de carbono sob alta pressão (Zhou *et al.*, 2016). Isso desencadeia a redução do carbono e a formação dos NGs por meio de processos de nucleação e crescimento.

A pirólise, por exemplo, é uma técnica *bottom-up* que envolve a degradação térmica de precursores ricos em carbono em altas temperaturas, como moléculas orgânicas ou polímeros. Os NGs são criados como resultado do reagrupamento e reorganização dos átomos de carbono durante a pirólise (Hong *et al.*, 2018). Em resumo, o método é útil para a construção de grafenos e nanografenos em nanoescala com propriedades desejadas para uma variedade de aplicações, pois permite um controle fino sobre os NG e oferece rotas para modificar o tamanho, a forma e a funcionalização do sistema (Li *et al.*, 2015).

Devido às suas características distintas e adaptabilidade, os materiais a base de grafeno têm gerado muito interesse como nanocarreadores de ponta (Yang *et al.*, 2014). Eles têm potencial de transformar completamente a administração de medicamentos e apresentam muitas vantagens em relação aos métodos tradicionais (Yang *et al.*, 2016). O tamanho em nanoescala dos NG como os nanocarreadores é

uma de suas principais vantagens, tornando-os capazes de entregar medicamentos para células e tecidos específicos com alta eficiência devido ao seu pequeno tamanho. Além de sua elevada área de superfície, pode conter mais fármacos, aumentando a eficácia terapêutica (Moghadam *et al.*, 2023).

Modular as qualidades de liberação de fármacos dos NG como nanocarreadores é outra vantagem. Os medicamentos podem ser liberados de maneira regulada, com certos perfis de liberação disponíveis, como contínua ou desencadeada por condições ambientais como pH ou temperatura (Joshi *et al.*, 2019; Ghanbari *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2022). Isso evita a liberação de medicamentos inespecíficos e permite a entrega precisa do medicamento na região alvo, minimizando efeitos colaterais.

Um ponto importante é o fornecimento de uma plataforma flexível para funcionalizar a superfície. Isso implica que é possível direcionar seletivamente as células modificadas na superfície dos NG com ligantes específicos, como anticorpos ou peptídeos (Jonoush *et al.*, 2021; Sattari *et al.*, 2021). A distribuição de medicamentos é feita de forma muito seletiva e eficaz, ao mesmo tempo que limita os danos aos tecidos saudáveis próximos, graças a essa funcionalização focada (Jain *et al.*, 2021). No entanto, é necessário chamar a atenção para dificuldades específicas como o uso dos NG como nanocarreadores.

Uma dessas questões é a toxicidade e segurança, apesar de ser amplamente considerado inofensivo, mais pesquisas são necessárias para determinar seu impacto biológico e toxicidade a longo prazo (Zhang *et al.*, 2017). A eficácia clínica bem sucedida do sistema como nanocarreador depende de garantir a segurança. A criação de técnicas de síntese eficazes e escaláveis para a fabricação em massa com alta qualidade e consistência é outro desafio (Liu *et al.*, 2013; Yao *et al.*, 2019). Para garantir a qualidade dos NG e permitir uma boa produção, a padronização das técnicas de síntese é crucial.

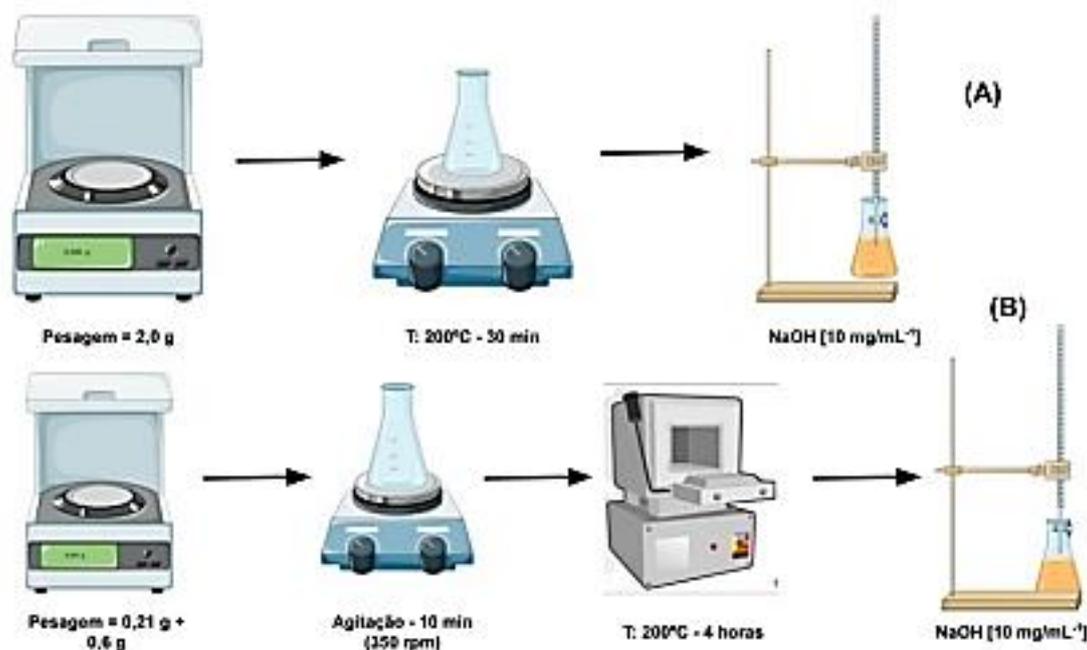
## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 SÍNTESE DOS NANOGRAFENOS**

A síntese dos nanografenos foi conduzida mediante adaptação da metodologia proposta por Dong *et al.* (2012). Inicialmente, o nanomaterial foi obtido por meio de

duas abordagens distintas: (1) aquecimento em banho de óleo a uma pressão de 1 atm, a 200°C, durante 30 minutos (Figura 8 A); (2) método hidrotérmico utilizando uma mufla EDG 3000 com taxa de aquecimento 0,5, mantendo a temperatura a 200°C por um período de 4 h (Figura 8 B). Em ambas vias de obtenção, o ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ , Sigma Aldrich – 99%) foi empregado como precursor dos nanografenos. Na primeira abordagem, foram utilizados 2g do reagente, enquanto na segunda, 0,21 g foram pesados, com adição de 0,6 g de ureia ( $CH_4N_2O$ , Neo Química). Para ajuste do grau de carbonização do ácido cítrico, o produto resultando foi disperso em 100 mL de uma solução de NaOH [ $10\text{ mg/mL}^{-1}$ , Neo Química - PA].

**Figura 8.** (A) Rota sintética por banho de óleo a 200°C por 30 min; (B) Método hidrotérmico, usando a mufla a  $T = 200^\circ\text{C}$  por 4 h.



Fonte: O autor (2023)

#### 4.2 PREPARAÇÃO DOS CONJUGADOS NG@FLU/NG-N@FLU

Para conjugação com as moléculas de fluconazol (FLU), foi preciso realizar a pesagem prévia do fármaco em  $0,160\text{ g}$  [ $1600\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ ], que foi inicialmente disperso em 10 mL da solução de nanografenos nitrogenados com pH 4,3. Posteriormente, foi adicionado um volume de 90 mL de NaCl 0,9% à mistura de NG-G@FLU para auxiliar na solubilização do fármaco. A solução resultante foi mantida em agitação (300 rpm) por 7 h a 25°C, armazenada em tubo falcon de 50 mL sob refrigeração (4

– 10°C) por 20 h, visando posterior caracterização e utilização nos testes microbiológicos.

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

##### **4.3.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET**

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram obtidas utilizando um Spirit Biotwin G2 a 120 kV (FEI Tecnai G2 Spirit Biorwin), equipado com uma câmera CD MegaView Olympus 2K e Eagle 4K, ou por meio de um F20 HRTEM a 200 kV (FEI Tecnai G2 F20 HRTEM). Para a preparação das amostras, estas foram concentradas em uma grade de cobre revestida com holey carbon e posteriormente secas em temperatura ambiente.

##### **4.3.2 Espectroscopia de Absorção e Emissão**

A análise por espectroscopia de absorção na faixa eletrônica na faixa UV-Vis, compreendendo a região entre 200 e 750 nm, foi conduzida como primeira etapa de caracterização tanto para o nanomaterial isolado (NG), o fármaco, quanto para os conjugados. Essa fase foi executada utilizando o espectrofotômetro SpectroStar nano (BMG LabTech). Os espectros de emissão dos conjugados foram obtidos por meio do fluorímetro LS55 - Fluorescence Spectrometer (Perkin Elmer), permitindo a observação dos diferentes espectros dos nanografenos apenas de ácido cítrico, os funcionalizados com nitrogênio e dos conjugados.

##### **4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR**

A análise espectroscópica foi executada por meio de um espectrômetro de absorção na região infravermelho médio (Bruker – Tensor 27) com transformada de Fourier (FTIR). Utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR), as amostras foram caracterizadas em modo de transmitância, apresentando uma resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$  e uma média de 50 varreduras por espectro. A faixa espectral examinada abrangeu 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . As amostras foram dispostas diretamente sobre o cristal da célula de ATR, empregando uma espátula, e entre cada ensaio, uma análise de branco foi conduzida, realizando a higienização da célula com cetona.

##### **4.3.4 Espectroscopia Raman**

As medidas de Raman foram conduzidas com o propósito de identificar os modos vibracionais e examinar eventuais alterações nessas bandas e transições

estruturais dos nanografenos. Os experimentos foram executados em condições de temperatura ambiente, utilizando um sistema no modelo LabRam HR Evolution (Horiba). O Sistema operou com um laser de estado sólido 671 nm, com potência de 40%. As leituras foram adquiridas no intervalo de 200 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , em aquisição de 15 segundos e 10 acumulações. A análise foi realizada no departamento de Ciências de Materiais do Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN/UFPE.

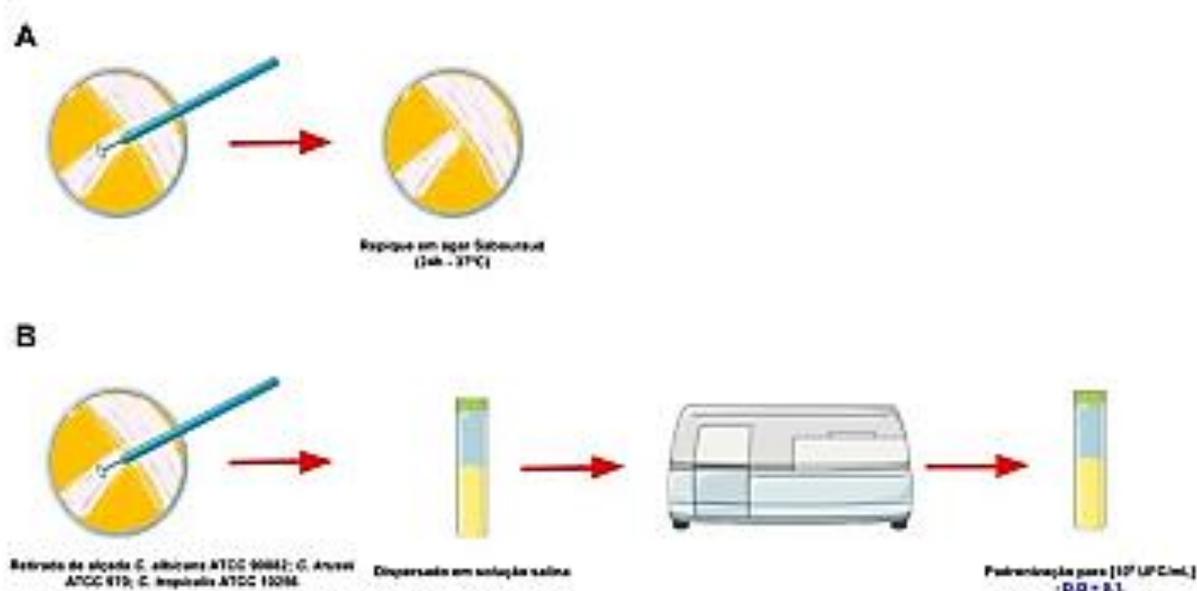
#### **4.3.5 Potencial Zeta**

Para avaliação do potencial zeta dos nanografenos e conjugados, empregou-se o equipamento Zetasizer Nanoseries S90 (Malvern Analítica, Reino Unido). Amostras de cada sistema totalizando 5 mL, foram combinadas com 50 mL de água destilada após serem submetidas a 30 min de sonicação. Posteriormente, retirou-se aproximadamente 1 mL das amostras para a realização da análise.

#### **4.4 PREPARAÇÃO MICROBIOLÓGICA**

As cepas de *Candida* spp ATCC foram cultivadas em meio de cultura ágar Sabouraud e incubadas por 24 h a 35 ( $\pm 2$  °C). As suspensões foram preparadas com uma concentração de  $10^5$  UFC/ $\text{mL}^{-1}$  e uma densidade óptica (DO) de 0,234 em solução salina. O ajuste da densidade óptica foi realizado a 540 nm utilizando um espectrofotômetro modelo Evolution 600s (Thermo Scientific®) que corresponde a uma concentração final de  $10^6$  UFC/ $\text{mL}^{-1}$ , seguindo as diretrizes do BrCAST (2020). Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análises Microbiológicas (LAM) do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, e sua representação esquemática está apresentada na figura 9.

**Figura 9.** Esquematização da padronização do inóculo das cepas de *Candida* spp, sendo (A) o primeiro dia do preparo e (B) o segundo dia para início do estudo microbiológico.

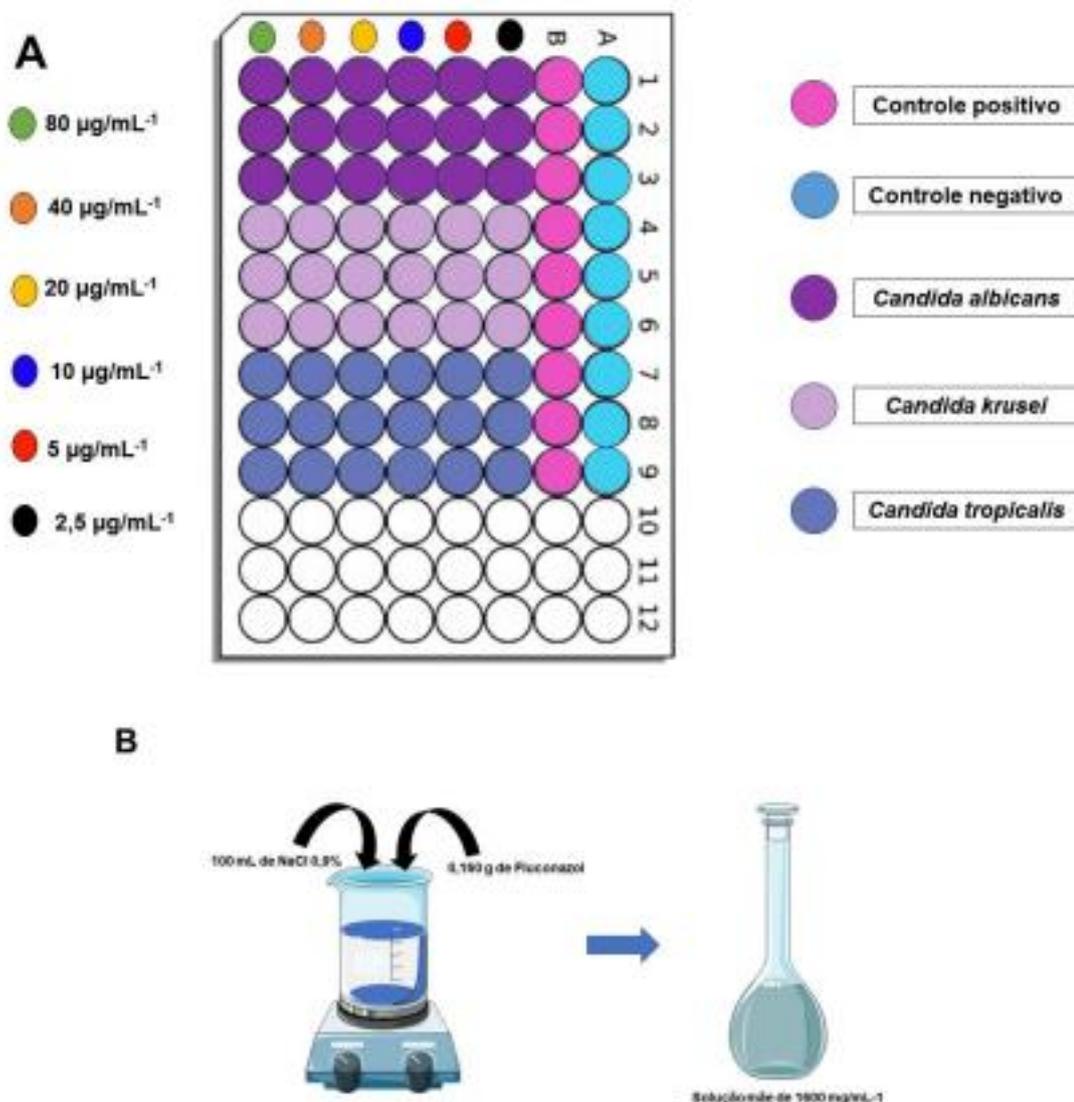


Fonte: O autor (2024)

#### 4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE AO FLUCONAZOL

A avaliação da sensibilidade ao fluconazol das cepas de *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 970 e *Candida tropicalis* ATCC 10256 foi conduzida através da técnica de microdiluição em meio RPMI 1640 2% G, tamponado com MOPS, seguindo as recomendações do BrCAST. A faixa de concentração intermediária do fármaco utilizada variou de  $1600 \mu\text{g/L}^{-1}$  até  $2,5 \mu\text{g/L}^{-1}$ , sendo feita a inclusão dos controles positivos e negativos de crescimento. O procedimento experimental está esquematizado na Figura 10, sendo a revelação realizada mediante o emprego da resazurina, de acordo com o método proposto por Chakansin *et al.* (2022). Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata. A escolha recaiu sobre o emprego de uma placa de 96 poços na orientação vertical (Figura 10 A), visando otimizar o aproveitamento experimental das três cepas de ATCC. O fármaco fluconazol, adquirido em sua forma pura sob a apresentação de pó branco, foi solubilizado mediante a preparação de uma solução utilizando NaCl a 0,9%, o que foi realizado por meio de agitação por um período de 30 min (Figura 10 B).

**Figura 10.** (A) Esquemática da placa de 96 poços utilizada no teste da sensibilidade antifúngica contendo as cepas de *C. albicans*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*, com variação da concentração do Fluconazol de  $80 \mu\text{g/mL}^{-1}$  a  $2,5 \mu\text{g/mL}^{-1}$ ; (B) Solução utilizada no teste.

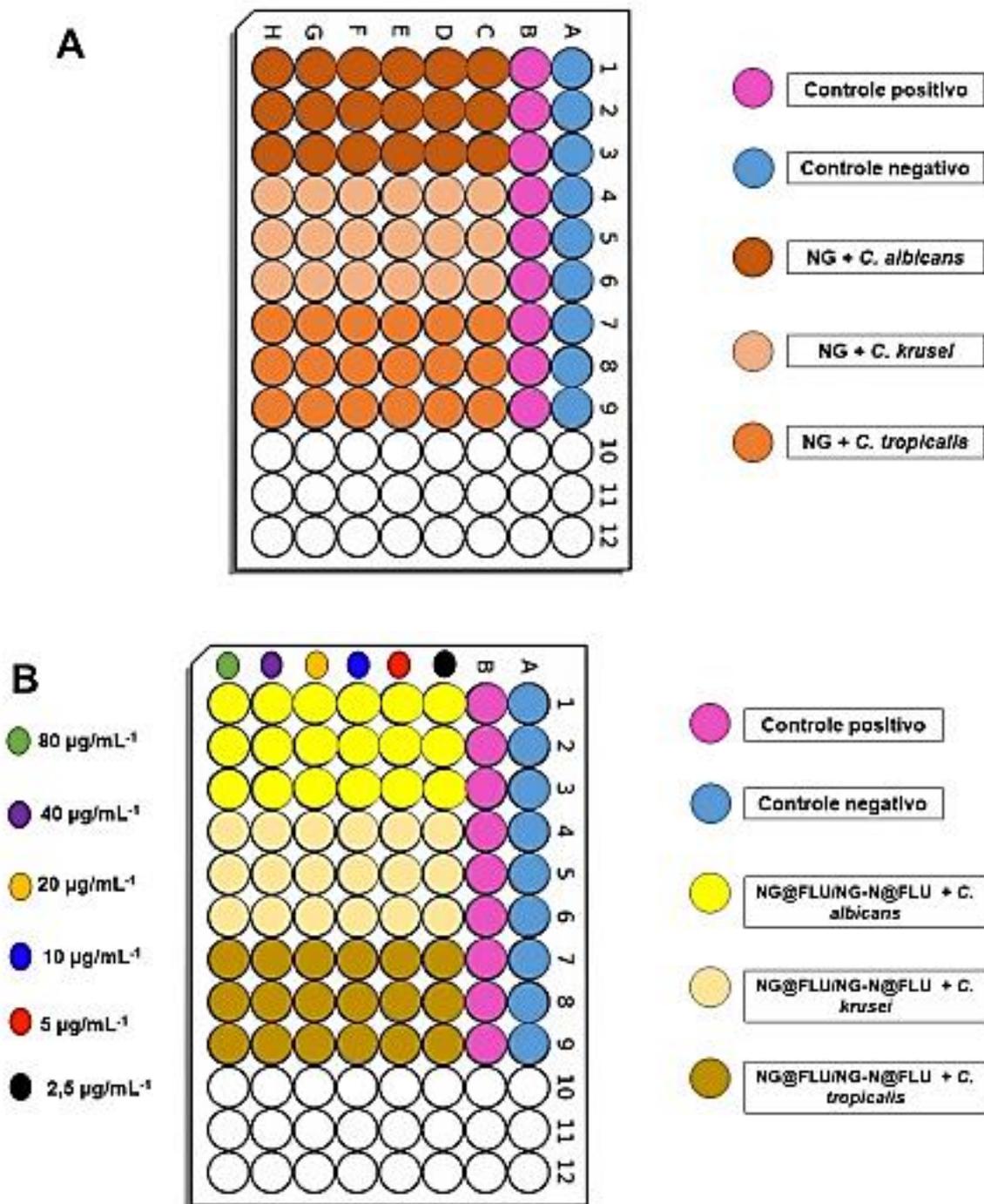


Fonte: O autor (2024)

#### 4.6 TESTE DE SENSIBILIDADE AO NANOGRAFENO

O procedimento experimental adotou uma abordagem semelhante à avaliação da sensibilidade ao fluconazol, empregando uma placa de 96 poços na orientação vertical. Os poços foram semeados com RPMI 2% G, tamponado com MOPS, sendo adicionado  $100 \mu\text{L}$  da suspensão de NGs em cada poço, na presença das cepas ATCC utilizadas com ausência do fármaco. Todo o experimento foi conduzido em triplicata (Figura 11).

**Figura 11.** (A) Esquematização da placa de 96 poços, contendo os NGs na presença das três espécies de *Candida* e ausência do fármaco; (B) Esquematização da distribuição na placa de 96 poços com os conjugados na presença de *Candida*.



Fonte: O autor (2024)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PREPARAÇÃO E CONJUGAÇÃO DO NANOMATERIAL

A síntese dos nanografenos foi conduzida em duas etapas distintas, com base na metodologia adaptada de Dong et al. (2012). Inicialmente, 2 g de ácido cítrico (AC) foram pesados e submetidos a um processo térmico em banho de óleo ( $P = 1 \text{ atm}$ ) a uma temperatura de  $200^\circ\text{C}$  por 30 min. Durante essa fase, foi observada a liquefação do ácido cítrico em aproximadamente 5 min, evidenciada por uma transição de coloração de incolor para amarelo pálido. Após cerca de 30 min, uma segunda mudança de cor ocorreu, apresentando uma tonalidade amarelo alaranjado, indicativa do processo de pirólise, conforme ilustrado no esquema da Figura 12. O resfriamento subsequente à temperatura ambiente preparou o sistema para a adição controlada da solução de NaOH [ $10 \text{ mg/mL}^{-1}$ ], realizada por meio do gotejamento e agitação. Esse procedimento resultou na obtenção de nanografenos fotoluminescentes, demonstrando a aplicação bem sucedida da técnica proposta (Dong *et al.*, 2012).

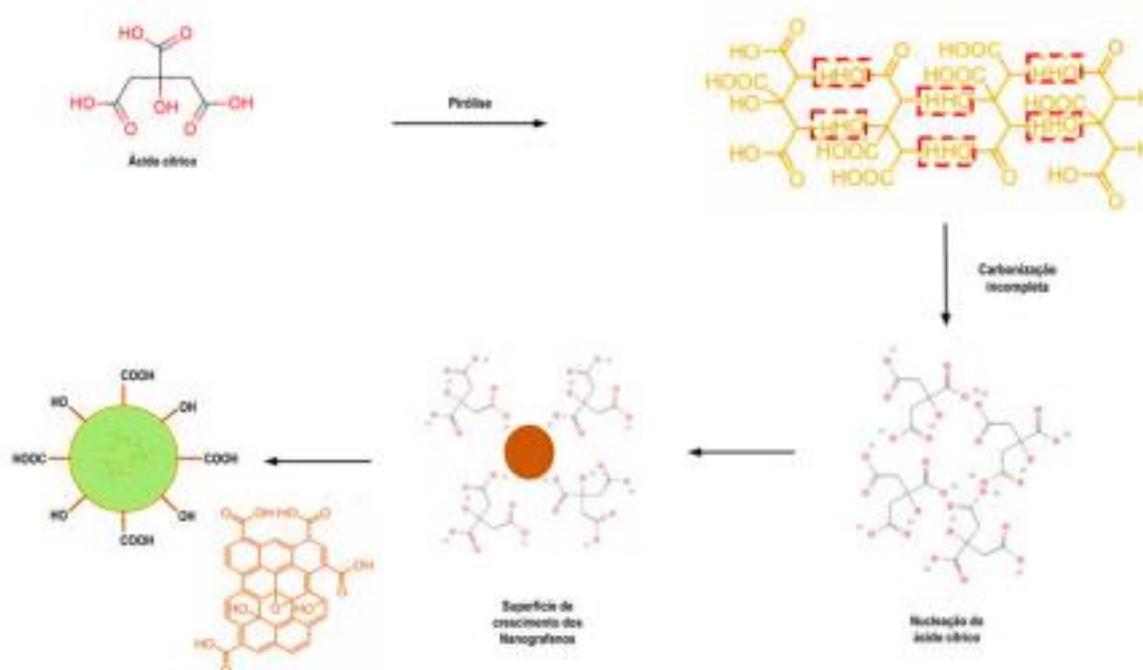
De acordo com o estudo de Dong e colaboradores, o grau de carbonização do ácido cítrico pode ser alterado para regular o processo de síntese de NG. A mudança de cor que ocorre durante a carbonização é uma das principais observações sobre o processo de síntese. Quando o AC foi aquecido a  $200^\circ\text{C}$ , a mudança de incolor para amarelo claro e depois laranja, significa a formação dos NG, sendo condizente com as análises macroscópicas observadas em nosso estudo. Como forma de respaldo para confirmação do que foi observado, Dong descreve que o fator tempo também é essencial para formação do nanomaterial proposto, o autor relata que ao deixar o AC realizando a queima por mais tempo do que o período determinado, o líquido laranja forma pontos pretos, semelhantes a fuligem, significando a formação do óxido de grafeno.

A pirólise química do ácido cítrico é uma decomposição térmica controlada da substância orgânica que resulta na quebra de suas ligações moleculares. Nesse ambiente, o reagente passa por transformações importantes, dando origem, por exemplo, ao íon hidrônio que vai agir como catalisador vital nas etapas subsequentes. (Nikan *et al.*, 2017). A formação de polímeros solúveis ocorre através da polimerização e condensação dos produtos. Nikan *et al.* (2017), aborda em seu trabalho um ponto importante na formação dos nanografenos, que surgem da

aromatização e criação de aglomerados aromáticos por meio da condensação aldólica e cicloadição.

Quando observamos a Figura 12, notamos que os NGs têm sua formação determinada a partir da nucleação quando a concentração de aglomerados aromáticos atinge um ponto crítico de supersaturação (Nikan *et al.*, 2017). É interessante notar, que tal fenômeno é essencial para obter as determinadas nanoestruturas de grafeno com potencialidade específicas e é frequentemente usada como uma estratégia de síntese para explorar as propriedades desses materiais em vários contextos científicos e tecnológicos.

**Figura 12.** Formação dos nanografenos a partir do método de pirólise tendo como precursor o ácido cítrico.



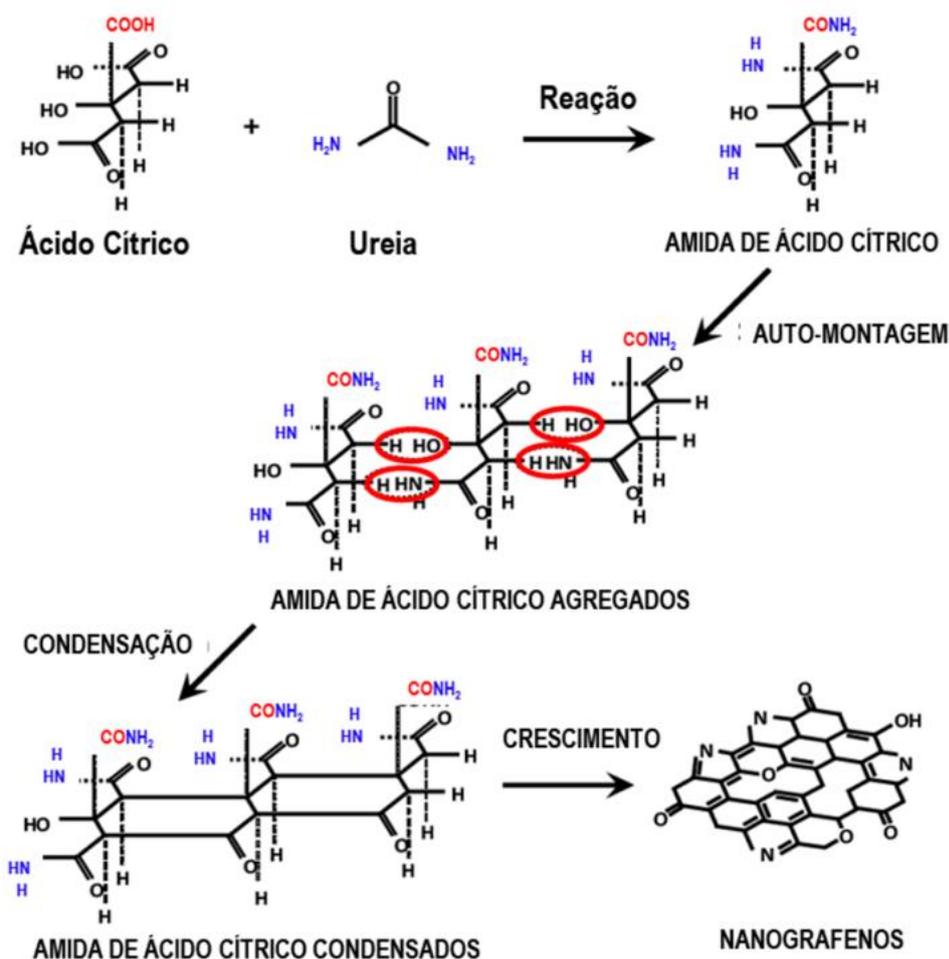
Fonte: O Autor (2024).

. A aplicação do método revelou ausência de controle cinético efetivo na síntese, sendo que fatores externos, como a temperatura ambiente, exercem uma influência significativa nos comportamentos das NPs. Observou-se que, ao realizar a replicação do experimento, não foi possível manter uma temperatura constante a 200°C; ocorreram variações significativas, chegando a 150°C, impactando diretamente no processo de nucleação. Este fenômeno, embora subestimado em

discussões científicas, foi corroborado por Kanwal *et al* (2020), que reconheceram o ponto crítico, adotando modificações na abordagem de obtenção. Em seu estudo, empregaram o método de aquecimento em manta térmica, complementado pela via de ultrassom, resultando em nanografenos com rendimento fluorescente (QY) superior.

A segunda abordagem para obtenção dos nanografenos envolveu a síntese hidrotérmica, utilizando a mufla com temperatura mantida a 200°C. Nesta variação do método, o tempo de queima do reagente foi estendido de 30 min para 4 h, permitindo um resfriamento gradual dentro do próprio equipamento por pelo menos 12 h. Uma modificação adicional foi realizada na concentração do reagente, que agora constitui em 0,21 g de ácido cítrico, juntamente com a adição de 0,6 g de ureia como fonte de nitrogênio. Essa adaptação visou induzir defeitos na superfície do material, intensificando sua fluorescência e proporcionando características específicas aos NGs obtidos (Figura 13). (More *et al.*, 2018; Gu *et al.*, 2020).

**Figura 13.** Esquemática da pirólise do ácido cítrico e ureia obtendo nanografenos dopados com nitrogênio.



Fonte: Adaptado de Ogi *et al.*, (2014).

A criação de defeitos na superfície do nanomaterial é o que torna essa incorporação tão importante, porque promove interações potenciais com outras moléculas e aumentam o rendimento fluorescente do nanografeno. Usando um processo simples de uma etapa, Cai *et al.* (214) produziram quantidades de NGs nitrogenados (NG-N) usando ácido cítrico como fonte de carbono e amônia como fonte de nitrogênio. Esses NG-N emitiram uma emissão na faixa azul, com QY de 18,6%.

A conjugação eletrostática é uma abordagem promissora para associar molécula de forma eficiente, particularmente em sistemas de entrega de medicamentos. Este mecanismo é baseado em interações eletrostáticas entre grupos funcionais com cargas opostas, que resultam em uma conexão estável entre

moléculas conjugadas (Werengowska-Ciećwierz *et al.*, 2015; Bajpayee *et al.*, 2017). O método tem sido extensivamente estudado em nanotecnologia para conectar produtos farmacêuticos com nanocarreadores, como os NGs.

Nasrollahi e colaboradores. (2019) utilizaram conjugação eletrostática para interação dos nanografenos ao fármaco cisplatina, por meio da interação com os grupos carboxílicos do nanomaterial. A hidrólise da cisplatina em ambientes aquosos produz espécies descloradas com cargas positivas, essas características permitem que ele se associe efetivamente à superfície negativa dos NG por meio de interações eletrostáticas. O objetivo do trabalho de Nasrollahi *et al.*, (2019) foi direcionar o sistema para células cancerosas que expressam o fator de crescimento epidérmico (EGFR). Os resultados mostraram que os nanografenos tinham maior capacidade de carrear fármacos do que outros nanocarreadores, como nanotubos e lipossomas.

Yu e colaboradores (2016) apresentaram o método para aplicação do processo de conjugação de anticorpos, utilizando o Herceptin como ligante de direcionamento para nanopartículas à base de polietilenimina (PEI) e poli (D, L-lactídeo-co-glicólico) (PLGA) – PPNs. Essas NPs foram preparadas com o objetivo da entrega eficiente do Paclitaxel em células de câncer de mama. O artigo enfatiza que a pesquisa de interações eletrostáticas não se restringe ao cenário da conjugação de anticorpos, mas também inclui uma compreensão mais ampla das ramificações dessas interações em outros domínios, reforçando o papel das forças elétricas na formação de ligações químicas, na configuração estrutural das proteínas e na estabilidade dos compostos químicos. Esta perspectiva mais ampla enfatiza a multifuncionalidade do método e seu amplo impacto nos processos biológicos e químicos.

A caracterização precisa de nanopartículas (NPs) é crucial porque as características físico-químicas dos nanomateriais são críticas para suas interações em ambientes biológicos. Segundo Treuel e colaboradores (2014), é crucial obter dados quando se trata de preocupações de segurança relacionadas aos aspectos químicos, como funcionalização de superfície e contaminantes, e físicos, como tamanho, carga e formas, das NPs. O potencial zeta ( $\zeta$ ), é responsável pela medição da carga elétrica que envolve uma partícula suspensa numa dispersão coloidal (Honary *et al.*, 2013; Bhattacharjee, 2016).

Ao gerar um nanomaterial cuja caracterização está sendo realizada, é plausível associar as cargas negativas observadas no sistema como um indicativo da presença de grupos funcionais negativos nas extremidades da estrutura do nanografeno. Hertel (2021) abordou o pensamento em sua dissertação ao explorar nanografenos contendo heteroátomos (N e/ou S) derivados da glutatona, observando valores negativos no potencial zeta ( $\zeta$ ). Essas descobertas mostram que os grupos funcionais são essenciais para a carga do material, melhorando nossa compreensão das propriedades coloidais e potenciais aplicações.

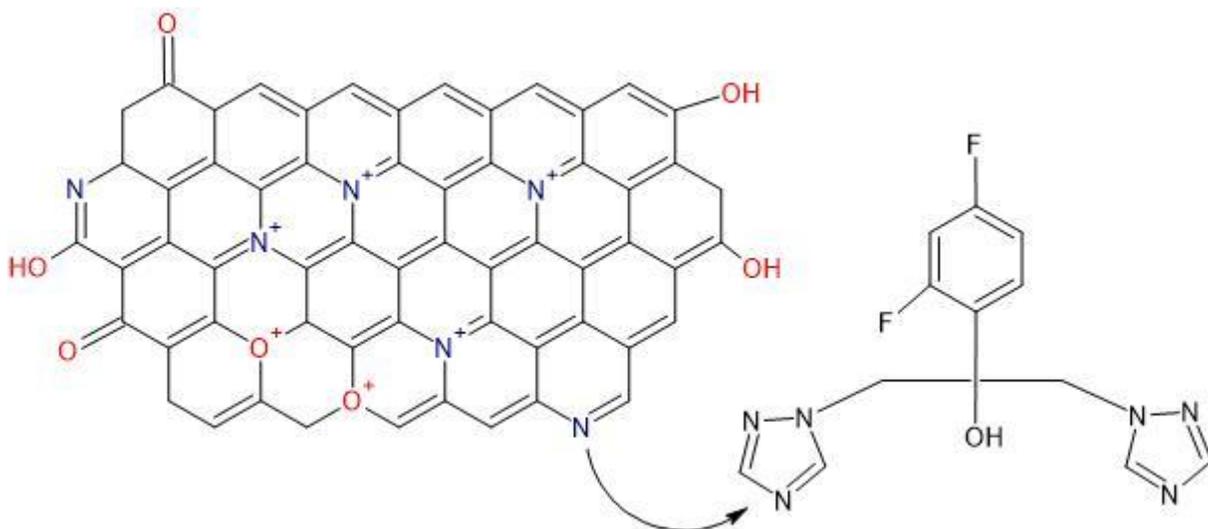
**Tabela 1.** Resumo dos dados do potencial zeta, preparados em meio aquoso.

<b>Tipo</b>	<b>Potencial Zeta (<math>\zeta</math>)/mV</b>
NG	-18,7
NG-N	-23,2
NG@FLU	-5,1
NG-N@FLU	-6,9

**Fonte:** O Autor (2024).

Os dados inicialmente apresentados indicam um notável decréscimo nas cargas, sugerindo fortemente que ocorreu a conjugação do nanomaterial com o fármaco fluconazol. Este fenômeno é um indicativo significativo da interação entre o nanomaterial e o agente terapêutico (Figura 14), demonstrando alterações substanciais nas propriedades eletrostáticas do sistema.

**Figura 14.** Esquemática do mecanismo de interação molecular por meio dos grupamentos químicos



Fonte: O Autor (2024).

A incorporação de nitrogênio na estrutura do nanomaterial é particularmente relevante quando se considera a composição do fármaco, que contém grupos amida. A interação entre o grupamento citado do fármaco e o nitrogênio na superfície do nanomaterial, pode levar a mudanças de carga efetiva, indicando modificação nas características elétricas do sistema, pelo decaimento de carga.

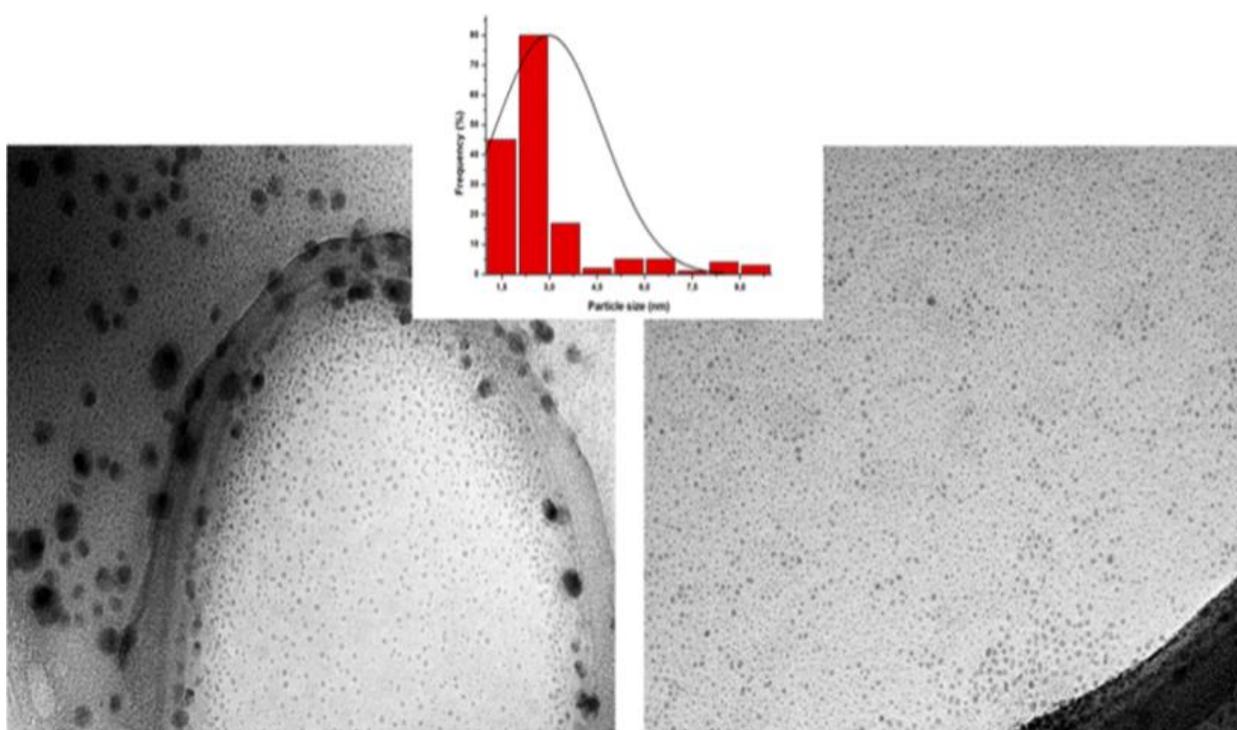
Fang *et al* (2018), por exemplo, contribuiu para a compreensão desse fenômeno ao explorar nanografenos dopados com nitrogênio para a detecção de  $Al^{+3}$  em células vivas. Durante a mensuração do potencial zeta do material, foi observado decaimento semelhante nas cargas, porém, com uma diferença notável. O autor optou por utilizar o óxido de grafeno (OG) como precursor na obtenção dos NG, sendo o OG apresentando inicialmente um  $\zeta = -30,1$  mV que mudou para  $\zeta = -8,1$  mV ao ser dopado com nitrogênio durante a síntese. A justificativa para a variação no potencial zeta, evidenciada pela presença de nitrogênio no material, oferece uma perspectiva esclarecedora para a compreensão do decréscimo observado nos NG conjugados FLU (NG@FLU) e com NG dopado com nitrogênio conjugados com FLU (NG-N@FLU).

## 5.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO – MET

A Figura 15 mostra duas imagens de MET representativas do conjunto de imagens observadas, do nanossistema obtido pelo método de imersão a óleo. Os NGs

correspondem às pequenas “manchas” arredondadas escuras. Para calcular os valores médios dos diâmetros dos nanomateriais, as imagens obtidas foram processadas com o software Image-J. Observou-se que os NGs dispersos em NaOH apresentam aglomeração em diversos momentos, resultando em NPs de tamanho prevalentes entre 3 a 3,5 nm (qual o desvio padrão da tua análise feita pelo ImageJ?). Este processo de análise e caracterização permite uma avaliação precisa das propriedades morfológicas.

**Figura 15.** Microscopia Eletrônica de Transmissão dos nanografenos, elucidando seu tamanho < 10 nm.



**Fonte:** O Autor (2024).

Os dados apresentados por Nguyen *et al.* (2019) em sua pesquisa corroboram com nossas descobertas. Os pesquisadores sintetizaram NGs e NG-N usando a síntese assistida por microondas. Para isso, eles usaram imagens obtidas por MET, onde observaram que o nanomaterial frequentemente apresentava aglomeração resultando em tamanhos médios de aproximadamente 5 nm. Além disso, a consistência e confiabilidade das observações morfológicas dos nanomateriais estudados são reforçadas por essa concordância entre nossos resultados e os dados da literatura. Por exemplo, os nanomateriais (NG-N) estudados por Qu *et al.* (2014) demonstraram um diâmetro entre 1,8 a 3,8 nm e apresentava morfologia de tamanho

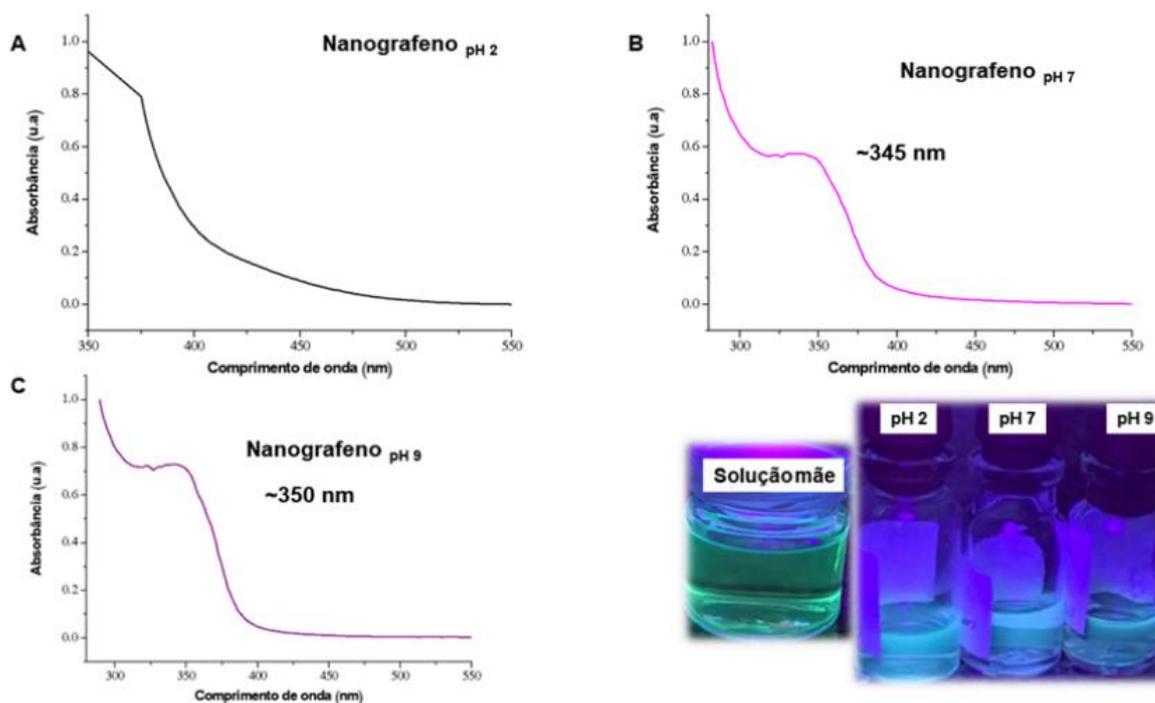
uniforme. A capacidade de controle cinético durante a síntese (mufla) é destacada pela uniformidade morfológica.

Como parte do esforço para compreender a morfologia do nanomaterial, recorreu-se à análise via Microscopia de Força Atômica. Entretanto, não foi possível observar relevos significativos, uma vez que as dimensões estavam abaixo do limite de resolução do equipamento ( $d < 0,5$  nm). Essa constatação sugere que o material obtido neste estudo não se configura como um ponto, mas sim como nanofolhas, que possuem uma espessura estimada em ca. 0,3 nm. (Wang *et al.*, 2017)

### 5.3 PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS SISTEMAS

A investigação do espectro de absorção é essencial para compreender o comportamento óptico dos nanografenos. A diluição de alíquotas das dispersões em água destilada ( $V_{\text{final}} = 3$  mL, razão de 1:2) configura uma etapa importante para obtenção de espectros eletrônicos representativos das propriedades ópticas dos sistemas (NG, NG@FLU, NG-N e NG N@FLU). Essa estratégia de diluição, variável conforme exigido pelo experimento, visa principalmente ajustar a intensidade de extinção e luminescência. É uma adaptação essencial para obter dados espectroscópicos robustos, que permitem uma análise precisa do comportamento óptico. Os dados obtidos por meio da análise de absorção do nanomaterial após a conjugação auxiliam na compreensão do comportamento dos NGs dopados com nitrogênio em comparação com os sistemas não dopados, conforme evidenciado na Figura 16.

**Figura 16.** Variação dos espectros de absorção UV-Vis das amostras de nanografenos (NG) com

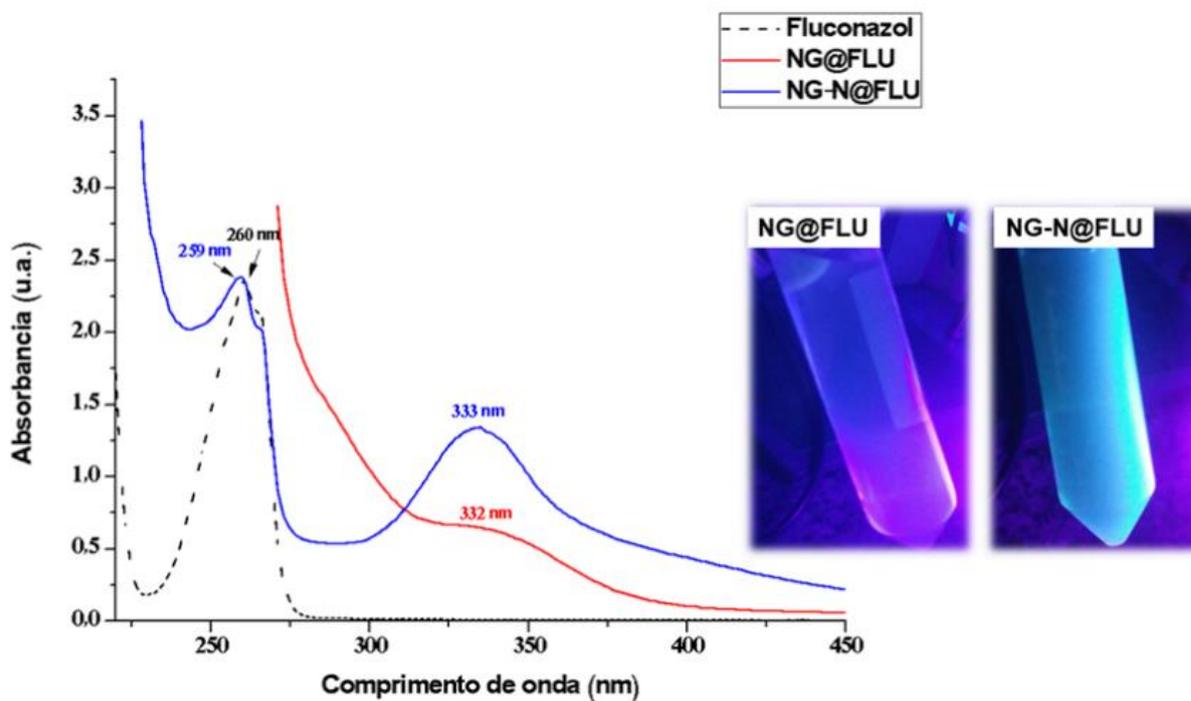


**Fonte:** O autor (2024)

Os espectros de absorção dos nanomateriais vão se tornando melhor definidos à medida que o pH da dispersão aumenta (Figura 16). Ainda assim, mesmo aumentando a intensidade de absorção no espectro, notamos que não há uma variação na banda de comprimento, o nanomaterial continua sendo característico entre  $\lambda = 340 \sim 350$  nm.

A largura das bandas de absorção, consideradas relativamente estreitas, indica que há uma organização ou agregação específica de átomos de carbono na estrutura dos nanografenos. Este fenômeno mostra que as estruturas essenciais do grafeno, como uma geometria planar e ligações duplas, ainda estão presentes dentro dos NGs. Tal resultado alinha-se com observações previamente relatadas por Dong *et al.* (2012), os quais discutiram a presença de aglomerados  $sp^2$  uniformes, quando observou como resultado no nanomaterial obtido, que o AC apresenta absorção apenas no UV abaixo de 250 nm, enquanto que os NGs tem absorção significativa em 362 nm.

**Figura 17.** Espectroscopia de absorção do fluconazol; NG@FLU; NG-N@FLU, como confirmação

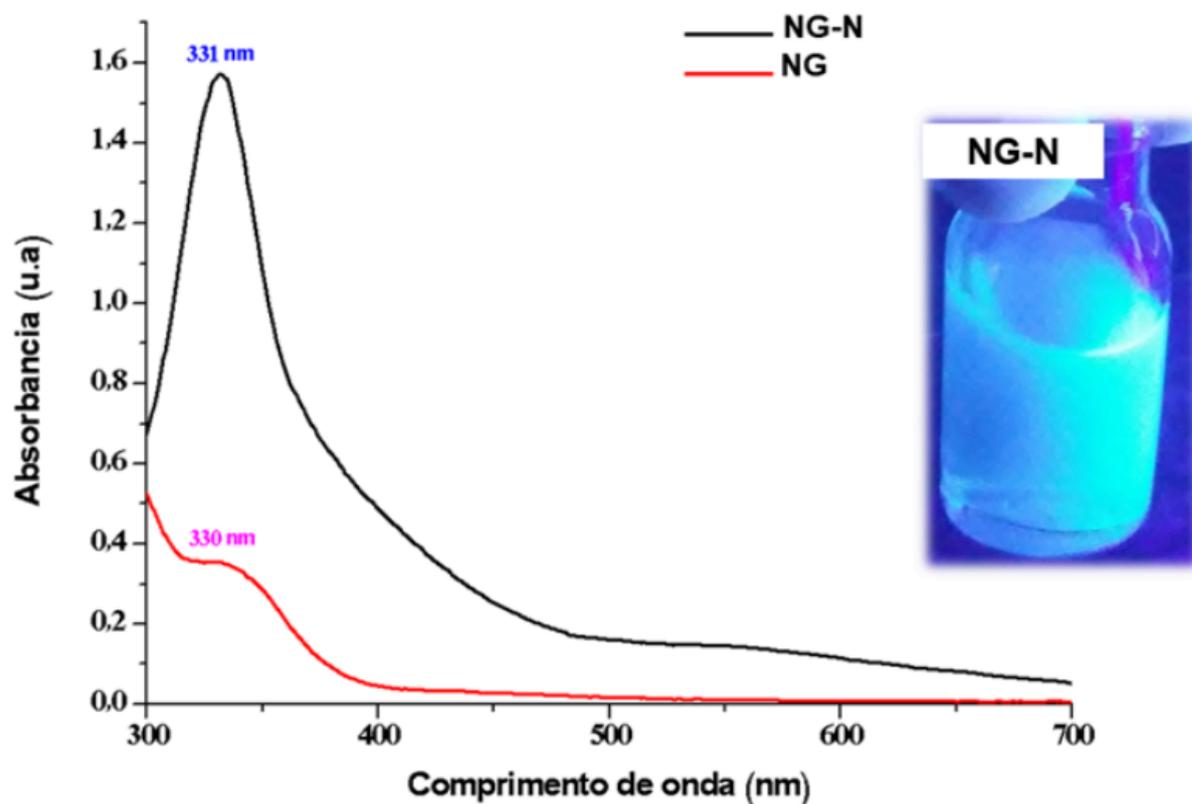


Fonte: O Autor (2024)

O espectro de absorção do NG-N@FLU mostra duas bandas distintas, uma com máximo em 260 nm, que corresponde ao comprimento de onda característico do fluconazol, e outra com máximo em 333 nm, que representa o conjunto de NGs. De acordo com essa configuração espectral, a conjugação eletrostática foi esperada. Por outro lado, é notável que o espectro NG isolado não mostra um pico específico do fármaco. A diferença nos espectros reforça a ideia de que, no caso do NG-N@FLU, a conjugação eletrostática foi bem sucedida; no entanto, no NG, a extrapolação da concentração e, portanto, a não visualização da banda correspondente do pico característico do fármaco não deixa clara a presença do FLU.

É importante ressaltar que um grande número de esforços foi dedicado à otimização do QY do nanomaterial. Dopá-lo com heteroátomos é uma das maneiras mais acessíveis e eficazes de atingir-se o objetivo. O átomo de nitrogênio (N), que tem um tamanho atômico próximo ao do carbono (C), tem sido uma alternativa frequente como agente dopante para alterar deliberadamente as propriedades ópticas (Niu *et al.*, 2016). A Figura 18 apresenta o perfil de absorção espectral dos NGs dopados com nitrogênio após reação de pirólise realizada em presença da ureia (Seção 4.1).

**Figura 18.** Espectroscopia de absorção dos nanografenos dopados com nitrogênio preparados neste estudo.



Fonte: O autor (2024)

As bandas de absorção da suspensão coloidal em pH 7,0, quando comparamos com a figura 18, mostram uma mudança na banda espectral. O tempo de armazenamento da amostra sugere uma probabilidade de agregação de NPs. Em seu trabalho, Chong e colaboradores (2014) abordaram essa ideia e sugeriram um método para melhorar a estabilidade e solubilidade aquosa de materiais de carbono, criando nanopartículas *ultrasmall* – ultrapequenas. Partindo da ideia do uso do movimento browniano - evento casual envolvendo partículas suspensas em um líquido como resultado de colisões com átomos em movimento rápido - das NPs para fornecer energia suficiente e evitar agregação.

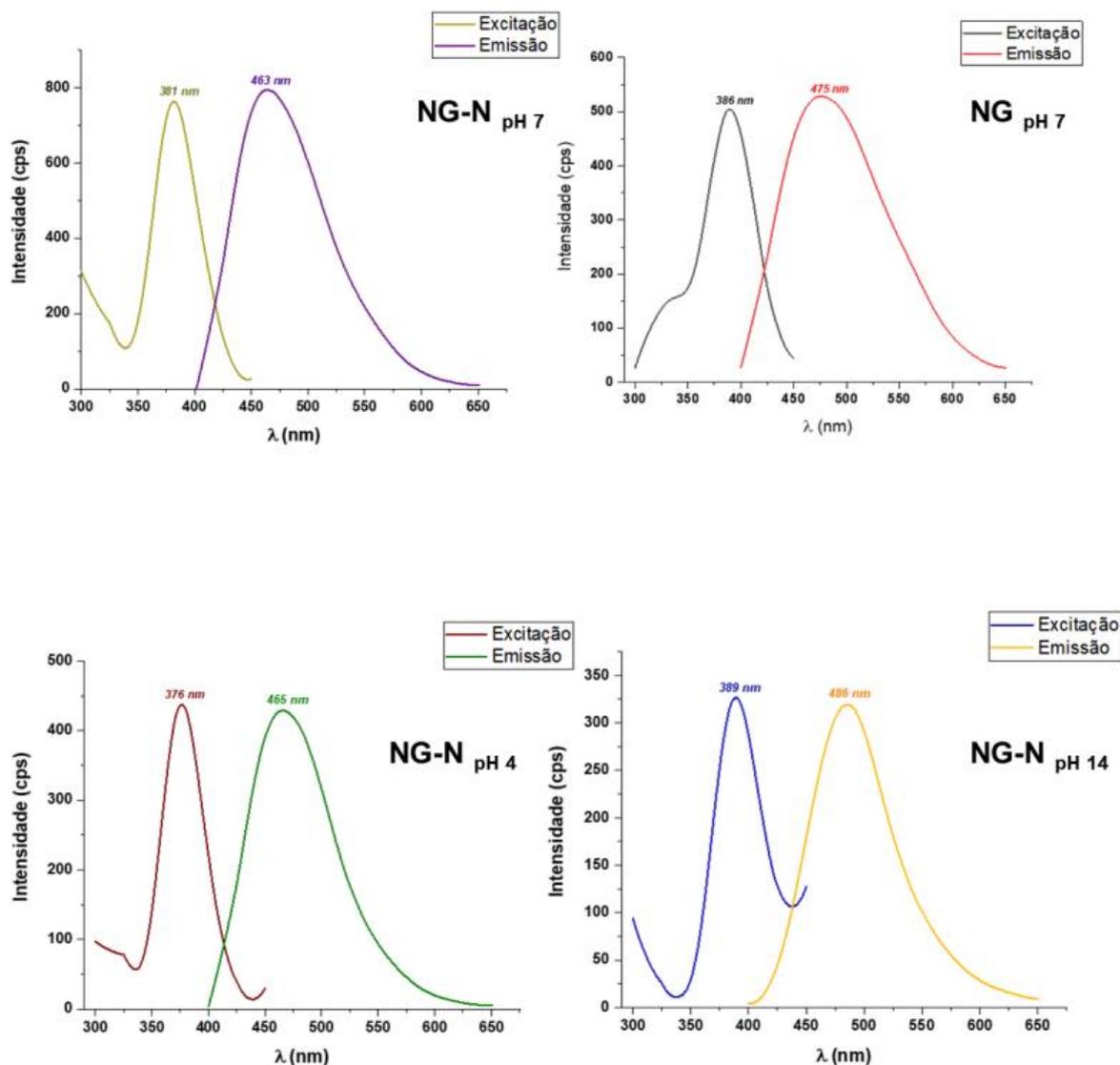
A banda de absorção ocorre em cerca de 330 nm, isso é principalmente causado pelas transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  de C-C no domínio  $sp^2$  da matriz  $sp^3$ , transições  $n \rightarrow \pi^*$  de C=O, e centros moleculares de superfície, ou uma borda de absorção induzida pelas transições ( $n \rightarrow \pi^*$ ) de elétrons não ligantes e átomos. A presença de um heteroátomo (N) específico na superfície do nanomaterial foi significativamente

influenciada pela síntese de NGs a partir do ácido cítrico como precursor e da ureia como fonte de N. Esta introdução fez com que as estruturas das nanofolhas fossem alteradas, o que se refletiu em um aumento significativo da intensidade da fluorescência do material (Gan *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2017; Rabeya *et al.*, 2022). Além de melhorar a compreensão dos aspectos estruturais, esta observação oferece uma visão científica que vai além das aplicações inicialmente propostas para o trabalho.

Usando ácido cítrico e ureia, Gu *et al.* (2020) produziram nanografenos por meio da pirólise assistida por infravermelho. O estudo demonstrou que é possível deduzir a banda de absorção do estado de transição do espaço de banda óptica. Isso destaca a presença significativa de grupos funcionais como C=O, C-N e C=N, sugerindo, que a localização específica dessas funcionalidades de superfície tem um impacto significativo na mudança de borda das estruturas de *bandgap*.

Os picos de emissão apresentam uma coincidência notável em comprimento de onda, independentemente do aumento do comprimento de onda de excitação. Diferente da maioria dos materiais de fluorescência à base de carbono, esta característica do comportamento de PL se manifesta de forma independente do processo de excitação quando os NG e NG-N estão em meio aquoso (Figura 19). Essas variações podem indicar que os aglomerados  $sp^2$  incorporados nos NG-N devem ter tamanhos uniformes, o que reflete nas bandas de emissão.

**Figura 19.** Espectroscopia de excitação e emissão dos nanografenos (NG, pH 7) e nanografenos



Fonte: O autor (2024).

Segundo Gu *et al.* (2020), a presença de *clusters*  $sp^2$  ordenados é a principal causa do fenômeno de PL observado, baseando-se no fato de que os NG-N, em particular, apresentam uma abundância de estruturas  $sp^2$  além de grupos funcionais contendo oxigênio, como C-O, C=O e -COOH. Os NG-N foram avaliados para entender os efeitos das mudanças no valor de pH e na concentração sobre a intensidade de fluorescência.

Conforme podemos observar na Figura 19, as intensidades de fluorescência tendem a diminuir em soluções com valores de pH altos (p. ex. pH 14) e baixos (p.

ex. pH 4) podemos refletir que este comportamento está diretamente relacionado aos grupos funcionais na superfície os NG-N, que mostram sensibilidade a mudanças da solução.

De acordo com o que foi observado por Li *et al* (2017) em soluções coloidais de oxido de grafeno (GO), quando há redução do pH, existe uma tendência em promover agregação em um arranjo face a face, sendo resultado do aumento das forças de Van der Waals, da diminuição da repulsão eletrostática e da possibilidade de interações  $\pi$ - $\pi$ . Em contraste, o autor cita que a elevação do pH pode favorecer a estabilidade de dispersões de GO, podendo ser explicado pela repulsão aumentada entre as nanofolhas que estão carregadas de forma negativa. Porém, é descrito que o excesso de íons  $\text{OH}^-$  (usados para criar defeitos na superfície do nanomaterial) pode causar agregação, um efeito denominado como “*salting-out*”.

No entanto, é notável que PL permaneça relativamente constante em soluções com pH 7,0. Gu e colaboradores (2020) destacam um aspecto relevante ao salientar que, a estabilidade observada nas FL dos NG-N é particularmente favorável, dada a faixa de pH normal em ambientes fisiológicos e patológicos, que está entre 4,5 e 9,5. Junto com os achados na literatura, podemos propor que o resultado obtido indica uma resiliência significativa, que pode ser atribuída à presença de fluoróforos quase moleculares e às características químicas inerentes dos NG-N, enfatizando a resistência do nanomaterial a diferentes pH para uso em condições específicas.

Usando NG-N como nanocarreadores para doxorrubicina (DOX), Liu e colaboradores (2015) realizaram uma avaliação completa da influência do pH na entrega de medicamentos. O estudo mostrou que a liberação da DOX era significativamente maior em condições de pH 5,0 quando comparada ao pH 7,4. Este aumento foi atribuído à maior hidrofiliabilidade e solubilidade da DOX em condições ácidas. Além disso, o assunto da discussão foi a mudança no grau de interação por ligação de hidrogênio entre DOX e NG-N com variação do pH. Observa-se que, em comparação ao pH neutro, as interações com os grupos  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$  e  $-\text{NH}_2$  e os grupos  $-\text{OH}$  e  $-\text{NH}_2$  da DOX são mais intensas em ambientes ácidos, afetando a eficácia da ligação entre DOX e NG-N.

Uma alta concentração de íons  $H^+$  em ambientes de pH ácido pode explicar essa observação. O grupo  $-NH_2$  do fármaco e do nanocarreador forma  $NH_3^+$  em condições ácidas, esse rearranjo molecular resulta no enfraquecimento das interações de hidrogênio entre o fármaco e a superfície do nanomaterial (Liu *et al.*, 2015). Essa discussão nos fornece a sugestão de que a liberação contínua e controlada da DOX e NG-N é facilitada nesse ambiente, fornecendo informações importantes sobre os mecanismos de liberação em ambientes ácidos. Observando estes estudos conclui-se que o pH de aplicação destes sistemas para entrega de fármacos é extremamente relevante.

Realizando um paralelo com nossos resultados, o nanocarreador obtido possui grupos nitrogenados que podem ser protonados em ambientes com pH ácido, ganhando carga positiva. Porém, o FLU tem a presença de grupos funcionais, como as aminas, em sua composição molecular, o que também será favorecido com carga positiva em ambientes ácidos, pois terá a capacidade de ser protonado. Logo, haverá repulsão de cargas, o que vai diminuir a afinidade entre o fármaco e o nanocarreador, liberando de forma mais facilitada. Devemos lembrar que a conjugação imposta no trabalho, é do tipo de interações de hidrogênio e Van der Waals, a protonação apresenta potencial de realizar alterações nessas interações, deixando-as enfraquecidas e conseqüentemente acelera a liberação do fármaco. (Rojewska *et al.*, 2019; Volkova *et al.*, 2023).

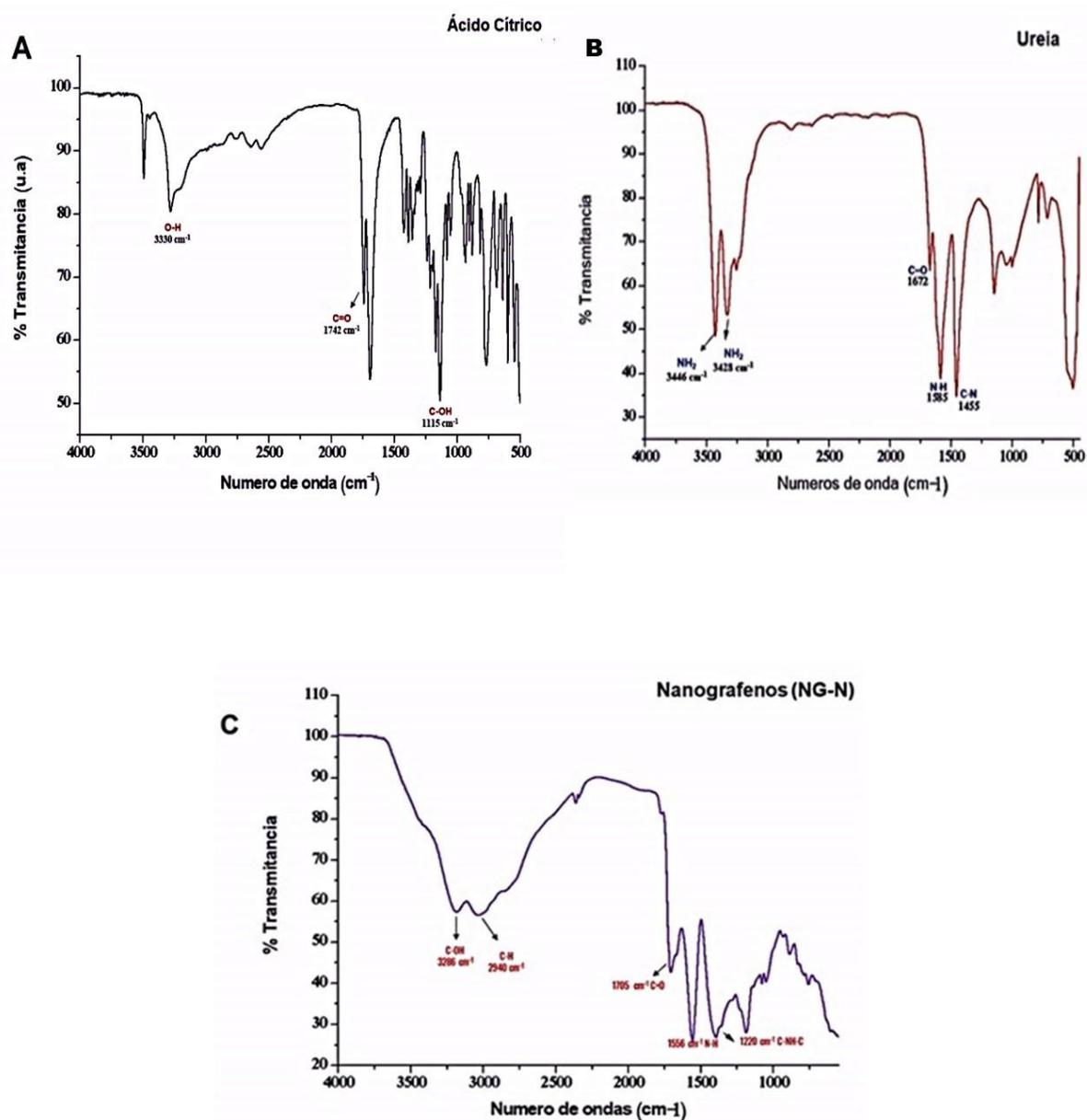
#### 5.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER – FTIR

É uma análise que utiliza a região do espectro eletromagnético que corresponde às frequências da vibração molecular (Dutta, 2017). Certas frequências de luz infravermelha são absorvidas pelas moléculas, revelando detalhes sobre as ligações químicas contidas em uma amostra.

Na Figura 20A, foi observado que o ácido cítrico tem espectros de absorção infravermelho distintos. O alargamento no estiramento  $-OH$  em torno de  $3330\text{ cm}^{-1}$ , o estiramento  $C=O$  em  $1742\text{ cm}^{-1}$  e  $C-OH$  angular em  $1115\text{ cm}^{-1}$ . Esses resultados atribuídos a modos vibracionais específicos encontrados na molécula de ácido cítrico na análise de FTIR fornecendo informações detalhadas sobre sua estrutura molecular. Ao comparar os resultados obtidos com a literatura existente, identifica-se

concordância ou proximidade com descobertas prévias. Em particular, ao analisar NGs obtidos por processo eletroquímico, descobriu-se que havia picos de vibração C=C em  $1635\text{ cm}^{-1}$  e C-OH em  $1230\text{ cm}^{-1}$ , o que caracteriza ácido cítrico, conforme demonstra a análise de FTIR (Panyathip *et al.*, 2021).

**Figura 20.** Espectro ATR-FTIR do ácido cítrico sólido, configurando suas bandas vibracionais.



Fonte: O autor (2024)

No espectro de ATR da ureia (Figura 20B) é visível a presença de um par de estiramentos da amida primária -NH<sub>2</sub> em 3446 cm<sup>-1</sup> e 3428 cm<sup>-1</sup>, que são características do material. Além disso, foi encontrada uma banda intensa de 1445 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao estiramento C-N, por outro lado, a banda em 1670 cm<sup>-1</sup> é atribuída ao modo estiramento de C=O. As bandas de flexão da ligação NH também foram encontradas em 1585 cm<sup>-1</sup>. Esses padrões distintos de análise do espectro de infravermelho conferem informações importantes, garantindo que o material analisado é o desejável.

Os resultados deste estudo estão consistentes com as análises FTIR realizadas por Jamadi e colaboradores (2016) na síntese de poliéster uretano ureia, eles atribuíram o pico vibracional de 1578 cm<sup>-1</sup> a N-H. Considerando outras fontes, resultados semelhantes ao nosso foram encontrados com o de Timón *et al.* (2021). Nesse estudo, eles analisaram espectros infravermelhos de gelo de ureia cristalinos e amorfos, constatando picos vibracionais de -NH<sub>2</sub> em  $\nu = 3453$  cm<sup>-1</sup> e  $\nu = 3439$  cm<sup>-1</sup>, bem como vibrações em  $\nu = 1468$  cm<sup>-1</sup> para cristalino e  $\nu = 1452$  cm<sup>-1</sup> para amorfo.

Os espectros vibracionais de NG-N, apresentados na Figura 20C, apresentam grupos funcionais e estruturas químicas significativas, que foram demonstradas por meio das análises suplementares da técnica FTIR. Os picos de vibração de estiramento de C-OH são de  $\nu = 3286$  cm<sup>-1</sup> e C-H de  $\nu = 2940$  cm<sup>-1</sup>. Além disso, foi observado um pico notável de absorção vibracional de C=O associado a carbonos aromáticos condensados, com posição em  $\nu = 1705$  cm<sup>-1</sup>. Essas observações sugerem que grupos carboxílicos enriquecem os sistemas NG-N.

Outras informações podem ser notadas, como os picos vibracionais de estiramento simétrico de C-NH-C em  $\nu = 1220$  cm<sup>-1</sup> e picos vibracionais de flexão de N-H em  $\nu = 1556$  cm<sup>-1</sup>. Essas características vibracionais mostram a presença distintiva de grupos funcionais específicos, permitindo uma compreensão mais profunda da estrutura molecular dos NG-N. A caracterização precisa desses nanomateriais dopados depende dessas informações, pois fornecem um conhecimento mais abrangente de sua estruturação química.

Os dados desta pesquisa e os resultados da literatura, especialmente o estudo de Gu *et al* (2016), estão de acordo com os obtidos no presente estudo. Foram identificados picos semelhantes aos relatados na literatura, um deles foi o pico de

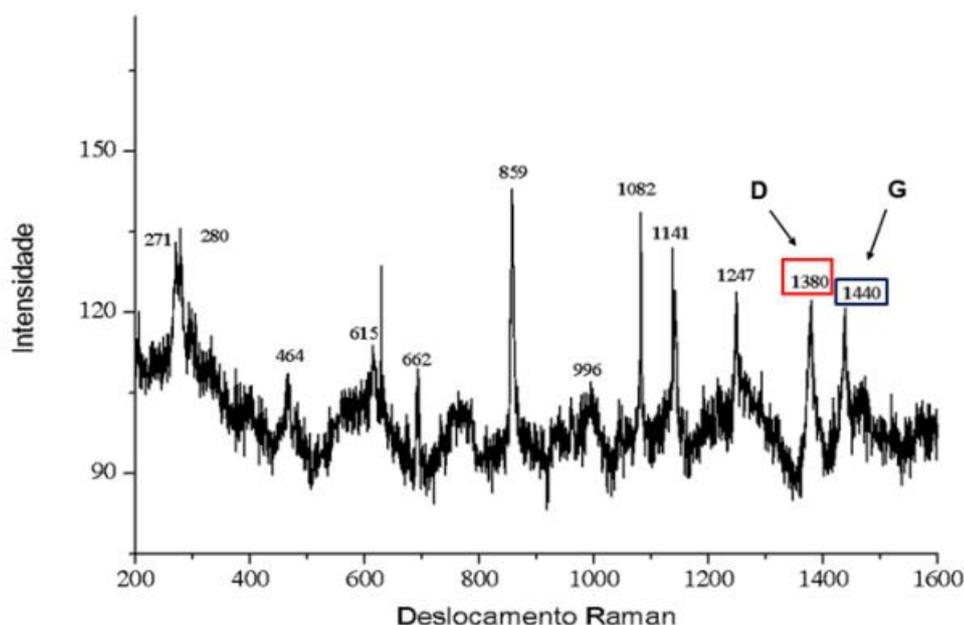
transmitância, que estava em cerca de (ca).  $\nu = 1640 \text{ cm}^{-1}$ , atribuído à presença de estiramento C=C. Além disso, foi enxergado um pico de transmitância ca.  $\nu = 1710 \text{ cm}^{-1}$ , o que corresponde à presença de grupos funcionais C=O.

Zhou *et al* (2015) descobriu padrões semelhantes e encontrou coincidências de picos neste estudo. Um pico vibracional de estiramento C-OH notável em  $\nu = 3434 \text{ cm}^{-1}$ , além disso, o estudo mencionado confirmou o pico de alongamento do C-H em  $\nu = 2922 \text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, houve mais um ponto de concordância entre os resultados, foi a impressão vibracional de flexão no plano N-H centrada em  $\nu = 1570 \text{ cm}^{-1}$ . Essa concordância entre vários estudos aumenta a consistência e confiabilidade dos resultados, fornecendo uma caracterização mais precisa dos nanografenos dopados com nitrogênio e validando os resultados.

## 5.5 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Métodos de análise vibracional, como a espectroscopia Raman, têm sido amplamente empregados na caracterização de nanoestruturas, como nanografenos (Wu *et al.*, 2018). Esse tipo de nanomaterial exibe diferentes espectros que fornecem informações importantes sobre sua estrutura, composição e interações químicas devido à sua escala nanométrica. É uma ferramenta útil para reconhecer e compreender os NG, uma vez que fornece informações sobre modos vibracionais simétricos ou não. A espectroscopia Raman é sensível ao grau de organização do material. A Figura 21 apresenta o espectro Raman das estruturas NG.

**Figura 21.** Espectroscopia Raman evidenciando as bandas D e G características de materiais carbonáceos.



Fonte: O autor (2024)

No espectro Raman convencional dos NG (Figura 22), foram identificadas as bandas G em  $\nu = 1440 \text{ cm}^{-1}$  e a banda D em  $\nu = 1380 \text{ cm}^{-1}$ , ambas de intensidade modesta. Não foram detectados outros picos adicionais que correspondam a estruturas mais complexas dos NG que podem ser relevantes para sua fotoluminescência. A banda G pode ser comumente encontrada entre  $\nu = 1420$  e  $1580 \text{ cm}^{-1}$  e está ligada a materiais carbonáceos de hibridização  $sp^2$  (Gadelha, 2013). Essa banda está conectada ao modo vibracional de estiramento C-C no plano. Sua presença, restrita a materiais de determinada hibridização, confirma a natureza carbonífera do material em questão (Dervishi *et al.*, 2019).

Por outro lado, um processo de dupla ressonância de segunda ordem dá origem à banda D (Gadelha, 2013). Embora não seja um fenômeno comum, este indica que há defeitos no material. As quebras simétricas, como a presença de componentes inseridos no material (em nosso caso, nitrogênio), estão associadas a tais defeitos no contexto analisado (Gadelha, 2013).

Em sua pesquisa, Ahirwar e colaboradores (2017), produziram nanografenos e óxidos de grafeno por meio de uma técnica eletroquímica. A espectroscopia Raman foi realizada em ambos materiais e revelou a presença de uma banda D ( $\nu = 1338$  a

1350  $\text{cm}^{-1}$ ), confirmando a desordem nas bordas que é demonstrada por carbonos  $\text{sp}^3$ , pela presença de grupos funcionais na superfície dos NGs. Além disso, a banda G, localizada na faixa  $\nu = 1558 - 1598 \text{ cm}^{-1}$ , foi atribuída ao alongamento das ligações C-C na rede de carbono  $\text{sp}^2$ .

## 5.6 ESTUDO DE VIABILIDADE ANTIFÚNGICA

Aconselha-se a realização de teste de sensibilidade antifúngica, principalmente para fungos que causam infecções invasivas. A técnica de diluição é um procedimento padrão para teste de sensibilidade, sendo empregada para encontrar a concentração inibitória mínima (CIM). A capacidade de proliferação de fungos em poços de placas de microdiluição contendo meio de cultura líquido com diluições seriadas do fármaco, foi avaliado por meio do método de diluição, seguindo as orientações do BrCAST (2020).

Devido aos desafios encontrados durante a condução do ensaio experimental, foi necessário ajustar o protocolo preconizado pelo BrCAST para identificar o ponto de falha no delineamento experimental. Assim, em vez de empregar a concentração de  $1600 \text{ mg/L}^{-1}$  da solução mãe do fármaco, optou-se por utilizar a concentração de  $0,160 \text{ g/mL}^{-1}$ , equivalente a  $1600 \text{ mg/100 mL}^{-1}$ . Todas as demais etapas, foram seguidas conforme descrita no documento para o método de determinação da concentração inibitória mínima. Para melhor leitura, foi convertido as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em Log10 (Tabela 2).

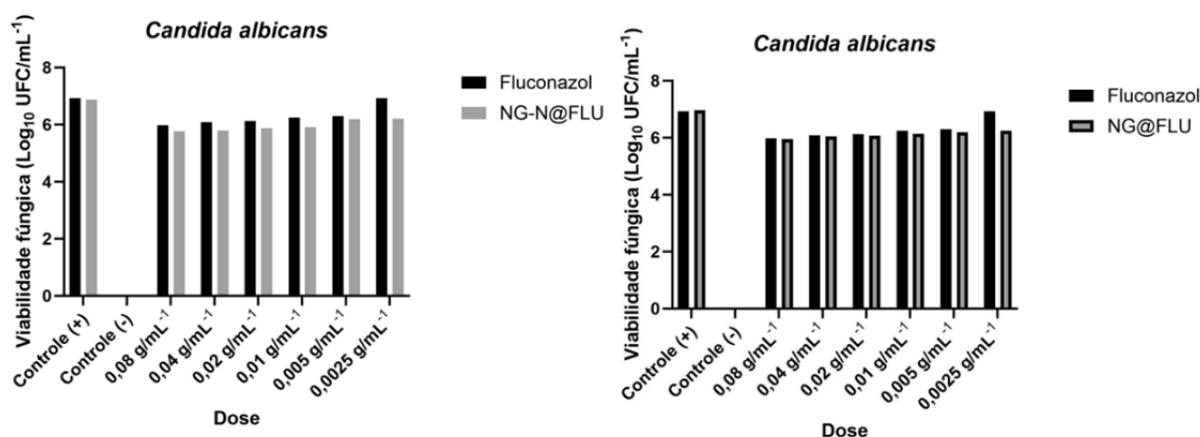
**Tabela 2.** Contagem da UFC atribuída a base de log10 de *C. albicans*

Dose	Fluconazol	NG-N@FLU	NG@FLU
0,08 $\text{g/mL}^{-1}$	96 UFC (log 10) = 5.98	60 UFC (log 10) = 5.77	90 UFC (log 10) = 5.95
0,04 $\text{g/mL}^{-1}$	125 UFC (log 10) = 6.09	62 UFC (log 10) = 5.79	112 UFC (log 10) = 6.04
0,02 $\text{g/mL}^{-1}$	138 UFC (log 10) = 6.13	75 UFC (log 10) = 5.87	120 UFC (log 10) = 6.07
0,01 $\text{g/mL}^{-1}$	1000 UFC (log 10) = 7	83 UFC (log 10) = 5.91	350 UFC (log 10) = 6.14
0,005 $\text{g/mL}^{-1}$	1000 UFC (log 10) = 7	155 UFC (log 10) = 6.19	1000 UFC (log 10) = 7
0,0025 $\text{g/mL}^{-1}$	1000 UFC (log 10) = 7	162 UFC (log 10) = 6.20	1000 UFC (log 10) = 7
Controle +	1000 UFC (log 10) = 7	750 UFC (log 10) = 6.87	1000 UFC (log 10) = 7
Controle -	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)

Fonte: O autor (2024)

A fim de alcançar uma avaliação precisa da eficácia ou potencial efeito desejado dos NG como nanocarreadores nos testes, institui-se um limiar de  $0,04 \text{ g/mL}^{-1}$  (equivalente a  $40 \text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , a partir de então, de forma mais didática, será usada a concentração em microgramas) como ponto de corte. Esta delimitação permite categorizar os valores da Concentração Inibitórias Mínimas (CIM) em sensível, sensível com exposição aumentada e resistente. Essa classificação robusta fornece uma base analítica que subsidia a avaliação da resposta aos testes, bem como a análise do impacto terapêutico potencial.

**Figura 22.** Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de *Candida albicans*



Fonte: O autor (2024)

Ao empregar o ponto de corte estabelecido e analisar os gráficos, o FLU sem conjugação teve uma inibição em torno de 90%, o que já é esperado por ser uma cepa ATCC e condiz com o protocolo do BrCast que determina um padrão de 50% (quando usando a tabela de contagem UFC) determinando a CIM de  $80 \text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ . Mostrando ser promissor como nanocarreador, o conjugado NG-N@FLU teve sua CIM  $2,5 \text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , mostrando que o defeito criado com nitrogênio consegue efetuar uma conjugação eletrostática interessante, podendo indicar um maior número de moléculas do fármaco na superfície do nanossistema. Já o conjugado NG@FLU teve sua CIM  $10 \text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}$ , uma inibição em torno de 50%. Foram conduzidas contagens de UFC apenas para o NG e NG-N sem conjugação, para verificar se o nanossistema sozinho tem atividade antifúngica, porém, não foi possível realizar pois o crescimento formou uma camada espessa impossibilitando a análise, mas, é um indicativo que o nanocarreador sozinho não exerça tal atividade.

Pesquisadores vêm realizando experimentos como forma de melhorar a superfície de nanomateriais à base de grafeno, o intuito seria aprimorar sua solubilidade e a biocompatibilidade, permitindo que sua funcionalização seja mais efetiva, evitando erros no momento de conjugação (Ghahramani *et al.*, 2022). Resultados obtidos por Shi e colaboradores (2014), mostraram que nanomateriais a base de grafeno pode apresentar uma grande versatilidade de aplicações na área da saúde, como imageamento, terapia fototérmica e administração de medicamentos, atribuindo esse potencial na melhoria da funcionalização.

O estudo conduzido por Cobos *et al.* (2020) contribuiu significativamente na compreensão dos sinergismos entre materiais à base de grafeno e outras moléculas. Ao adicionar prata à superfície do óxido de grafeno, observaram uma inibição do crescimento fúngico de pelo menos 50% em uma concentração específica (*C. albicans*, 32 mg/mL após 24 h de exposição). Essas descobertas destacam a capacidade dos nanomateriais modificados agirem de forma sinérgica, abrindo portas para aplicações promissoras.

Ghahramani *et al.* (2022) abre precedentes quando sugere a possibilidade que nanomateriais de grafeno como os NGs, tenham sua capacidade antimicrobiana aumentada com a incorporação de moléculas bioativas. As descobertas de Cheong *et al.* (2020) complementam esta discussão, mostrando que o polietilenoglicol (PEG) tem um efeito sinérgico antifúngico quando combinado com o óxido de grafeno, enfatizando a importância das interações entre vários componentes.

Portanto, o nitrogênio atuando como agente dopante nos nanografenos atribuiu defeitos à sua superfície, facilitando a conjugação eletrostática com o fármaco, fazendo com que o NG-N@FLU apresentasse resultados coerentes com os achados na literatura. Essa dopagem efetiva ao nanomaterial, ressalta a importância de criar defeitos na superfície do material, que atribui melhorias das propriedades e funcionalidades.

**Tabela 3.** Contagem da UFC atribuída à base de log<sub>10</sub> de *C. krusei*

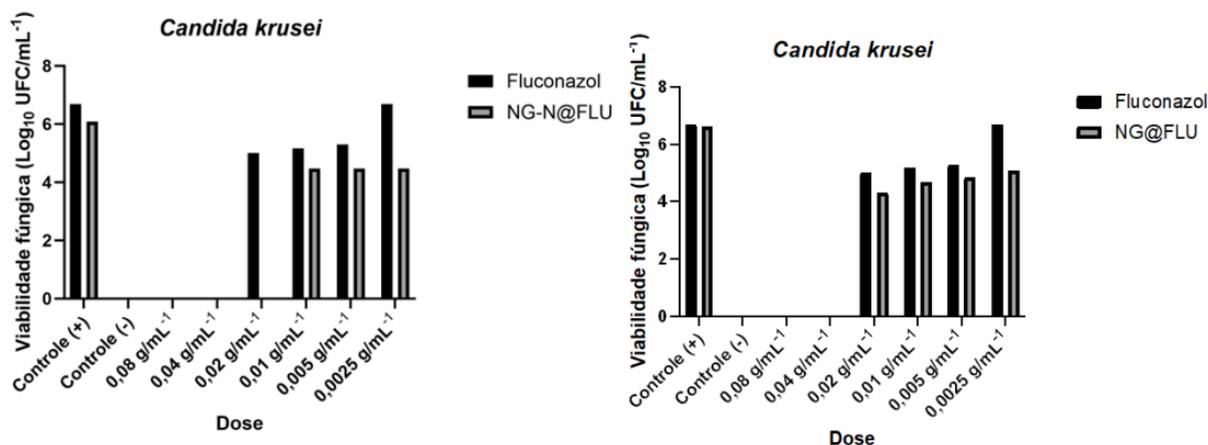
Dose	Fluconazol	NG-N@FLU	NG@FLU
0,08 g/mL <sup>-1</sup>	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)
0,04 g/mL <sup>-1</sup>	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)
0,02 g/mL <sup>-1</sup>	10 UFC (log 10) = 5	0 UFC (log 10)	2 UFC (log 10) = 4.30
0,01 g/mL <sup>-1</sup>	15 UFC (log 10) = 5,17	3 UFC (log 10) = 4.47	5 UFC (log 10) = 4.69
0,005 g/mL <sup>-1</sup>	20UFC (log 10) = 5.30	3 UFC (log 10) = 4.47	7 UFC (log 10) = 4.84
0,0025 g/mL <sup>-1</sup>	30 UFC (log 10) = 5.47	3 UFC (log 10) = 4.47	12 UFC (log 10) = 5.07
Controle +	1000 UFC (log 10) = 7	1000 UFC (log 10) = 7	1000 UFC (log 10) = 7
Controle -	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)

**Fonte:** O autor (2024)

A indução de radicais livres, a ruptura das paredes membranas celulares e a interrupção da expressão gênica, são os principais mecanismos antimicrobianos atribuídos aos nanografenos (Rajendiran *et al.*, 2019). O ponto de vista é apoiado pelas descobertas de Uusitalo e Hempel (2012), que indicam que esses nanomateriais são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio (EROS) e desempenhar um papel na inativação de fatores de transcrição, acúmulo de cálcio intracelular e mudanças nas citocinas.

Estes mecanismos proporcionam uma compreensão mais abrangente dos efeitos antimicrobianos dos nanografenos, destacando sua complexa interação com microrganismos (Figura 23). Isso nos conduz a compreender sua atividade mais expressiva nas espécies *C. krusei*. Observamos que tanto para o FLU, quanto para o nanossistema NG@FLU apresentaram CIM na concentração de 2,5 µg/mL<sup>-1</sup> e Concentração Fungicidas Mínimas (CFM) de 40 µg/mL<sup>-1</sup>, diferente para o NG-N@FLU onde sua CIM foi de 2,5 µg/mL<sup>-1</sup>, e CFM 20 µg/mL<sup>-1</sup>, indicando mais uma vez, a possibilidade de criar defeitos proporciona maior interação do nanocarreador com o fármaco, com a capacidade de inibir o crescimento fúngico.

**Figura 23.** Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de *Candida krusei*



Fonte: O autor (2024)

Os resultados ficam ainda mais significativos quando se considera que a espécie *C. krusei* pode causar infecções potencialmente fatais em pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com malignidades hematológicas, e geralmente fazem uso do fluconazol como alternativa terapêutica. No entanto, a espécie tem demonstrando intrínseca ao fluconazol, enquanto desenvolve rapidamente resistência adquirida a outros antifúngicos (Jamiu *et al.*, 2020). Em tal contexto, o nanocarreador de porte como o NG-N emerge como uma inovação promissora capaz de reverter os mecanismos de resistência da espécie, oferecendo uma abordagem potencialmente eficaz contra infecções fúngicas desafiadoras.

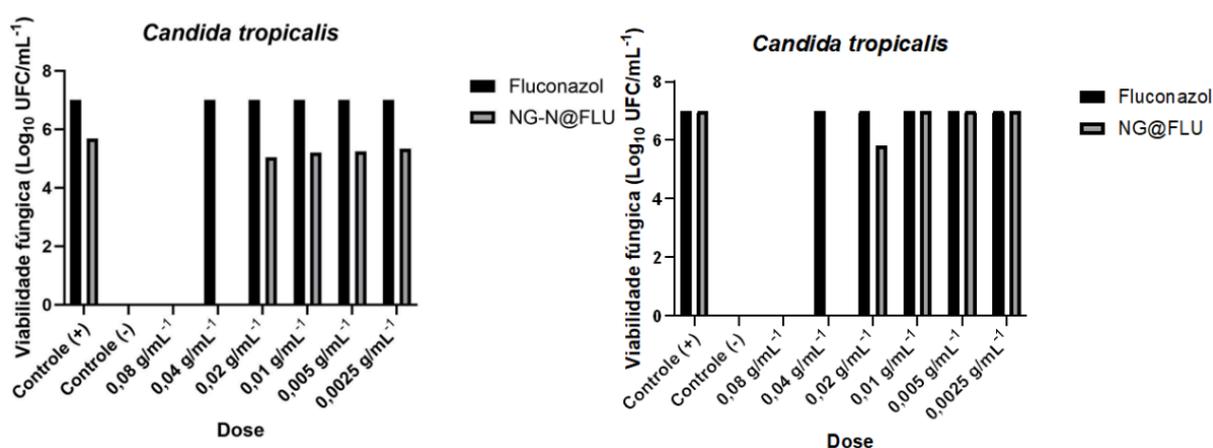
**Tabela 4.** Contagem da UFC atribuída à base de log<sub>10</sub> de *C. tropicalis*.

Dose	Fluconazol	NG-N@FLU	NG@FLU
0,08 g/mL <sup>-1</sup>	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0
0,04 g/mL <sup>-1</sup>	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0
0,02 g/mL <sup>-1</sup>	1000 UFC (log 10) = 7	110 UFC (log 10) = 5.04	650 UFC (log 10) = 5.81
0,01 g/mL <sup>-1</sup>	1000 UFC (log 10) = 7	160 UFC (log 10) = 5.2	1000 UFC (log 10) = 7
0,005 g/mL <sup>-1</sup>	1000 UFC (log 10) = 7	175 UFC (log 10) = 5.24	1000 UFC (log 10) = 7
0,0025 g/mL <sup>-1</sup>	1000 UFC (log 10) = 7	219 UFC (log 10) = 5.34	1000 UFC (log 10) = 7
Controle +	1000 UFC (log 10) = 7	850 UFC (log 10) = 6.92	1000 UFC (log 10) = 7
Controle -	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)	0 UFC (log 10)

Fonte: O autor (2024)

Os resultados obtidos para a espécie *C. tropicalis* também são notáveis. Ao compararmos o gráfico com a coluna que apresenta as quantidades de UFC, observamos um decréscimo de 2 log. Essa redução significativa na contagem de UFC destaca a possível eficácia do tratamento com o nanocarreador, indicando sua capacidade de suprimir o crescimento dessa espécie. Através das análises o FLU expressou CIM e CFM de  $40 \mu\text{g/mL}^{-1}$ , enquanto NG-N@FLU indicou CIM de  $2.5 \mu\text{g/mL}^{-1}$  e CFM igual ao FLUL de  $40 \mu\text{g/mL}^{-1}$  e o NG@FLU apresenta CIM de  $20 \mu\text{g/mL}^{-1}$  e CFM igualmente as demais de  $40 \mu\text{g/mL}^{-1}$ . Esses achados sugerem que o NG-N@FLU possui potencial aplicação no controle de infecções causadas por *C. tropicalis*.

**Figura 24.** Gráfico comparativo do desempenho do NG e NG-N como carreador em diferentes concentrações na espécie de *Candida tropicalis*.



Fonte: O autor (2024)

Embora as aplicações versáteis do grafeno sejam amplamente discutidas na literatura, os estudos antifúngicos empregando nanomateriais à base de grafeno não recebem tanta ênfase. Li *et al.* (2013) realizaram uma investigação utilizando nanofolhas de óxido de grafeno (NOG) e nanofolhas de óxido de grafeno conjugadas com nanopartículas de prata (NOG@AgNPs) para avaliar seus efeitos antifúngicos. A pesquisa abrangeu concentrações de 0,02%, 2%, 1%, 5% e 25% contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, destacando resultando relevantes para aplicações clínicas em infecções nosocomiais, vaginite por *Candida* e feridas. Vale ressaltar que o NOG puro não apresentou eficácia significativa na eliminação fúngica, enquanto o NOG@AgNPs demonstrou uma notável atividade antifúngica.

Em um estudo de Kahraman *et al.* (2023), os nanografenos e o hidróxido de magnésio (NG/Mg(OH)<sub>2</sub>) são usados para formar nanocompósitos. Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) dos nanocompósitos foram de 15,625 g/mL<sup>-1</sup> e contra fungos (*C. metapsilosis* e *C. parapsilosis*) e 62,5 g/mL<sup>-1</sup> contra bactérias gram positivas (*S. pneumoniae* e *E. faecalis*) e gram-negativa (*E. coli*). Esse resultado enfatiza a possibilidade de sinergismo entre esses materiais, abrindo caminho para estudos detalhados.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa destacam aspectos cruciais na síntese e caracterização de nanografenos por imersão a óleo. Ao enfrentar desafios relacionados ao controle cinético, a readequação da metodologia para uma abordagem envolvendo mufla com rota hidrotérmica revelou-se essencial. Essa rota, com ajustes no tempo de queima, resfriamento gradual e concentração dos reagentes, visou induzir defeitos na superfície do material, intensificando a fluorescência e conferindo características específicas ao nanografeno obtido.

A redução nas cargas do potencial zeta revelou o primeiro indício da conjugação do nanomaterial com o fluconazol. Isso enfatiza a importância da incorporação de nitrogênio na estrutura, particularmente devido à composição amida do fármaco. As mudanças nas cargas elétricas mostraram a interação entre os grupos nitrogenados presentes na superfície do material.

A caracterização morfológica das nanopartículas dispersas em NaOH mostrou aglomeração, resultando em ~3 nm. A análise da microscopia de força atômica (AFM) identificou o nanografeno como nanofolhas, destacando sua espessura de aproximadamente 0,3 nm. Isso melhorou a compreensão da morfologia.

Uma conjugação eletrostática potencialmente bem-sucedida com o fluconazol foi demonstrada por duas bandas distintas no espectro de absorção do NG-N@FLU. No entanto, o pico específico do fármaco no espectro do NG isolado não existe, o que indica que estudos fotofísicos mais completos, que incluem medidas de tempo de decaimento, são necessários. Isso será uma consideração importante para investigações futuras.

A intensidade de absorção aumentou, segundo os espectros analisados em diferentes pHs de dispersão. No entanto, a banda de comprimento permaneceu característica dos nanografenos. A presença de heteroátomos na superfície como resultado da síntese de ácido cítrico e ureia melhorou significativamente a intensidade de fluorescência, e a dopagem com nitrogênio teve um impacto positivo na estrutura das nanopartículas. Análises complementares como FTIR e Raman mostraram grupos funcionais específicos e mudanças na estrutura molecular dos nanografenos. Isso permitiu uma melhor compreensão.

Os testes de atividade antifúngica do nanocarreador indicam a possibilidade do uso dos mesmos na inibição do crescimento das espécies estudadas, tornando-o interessante aprofundar seu estudo em cepas clínicas para fortalecer seu papel na contribuição da reversão antifúngica.

## **7. PERSPECTIVAS**

- Realizar ensaio de citotoxicidade no nanomaterial;
- Conduzir um estudo do impacto do pH no nanocarreador;
- Investigação do mecanismo de entrega por meio da fluorescência;
- Estudos fotofísicos abrangentes

## REFERÊNCIAS

A CELIS, *et al.* Graphene nanoribbons: fabrication, properties and devices. **Journal Of Physics D: Applied Physics**, [S.L.], v. 49, n. 14, p. 143001, 10 mar. 2016.

ABDEL-MAGEED, Heidi Mohamed *et al.* Nanoparticles in nanomedicine: a comprehensive updated review on current status, challenges and emerging opportunities. **Journal Of Microencapsulation**, [S.L.], v. 38, n. 6, p. 414-436, 5 jul. 2021.

ADEPU, Shivakalyani; RAMAKRISHNA, Seeram. Controlled Drug Delivery Systems: current status and future directions. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 19, p. 5905, 29 set. 2021.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **IRAS201616**: Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde. 16 ed. Brasília: Anvisa, 2017. 12 p.

AGHEBATI-MALEKI, Ali *et al.* Nanoparticles and cancer therapy: perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. **Journal Of Cellular Physiology**, [S.L.], v. 235, n. 3, p. 1962-1972, 22 ago. 2019.

AHIRWAR, Satyaprakash *et al.* Electrochemical Method To Prepare Graphene Quantum Dots and Graphene Oxide Quantum Dots. **Acs Omega**, [S.L.], v. 2, n. 11, p. 8343-8353, 28 nov. 2017.

AKBAR, F. *et al.* Graphene synthesis, characterization and its applications in nanophotonics, nanoelectronics, and nanosensing. **Journal Of Materials Science: Materials in Electronics**, [S.L.], v. 26, n. 7, p. 4347-4379, 5 fev. 2015.

ALDARDEER, Namareq F. *et al.* Antifungal resistance in patients with Candidaemia: a retrospective cohort study. **Bmc Infectious Diseases**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 145-150, 17 jan. 2020.

ARENDRUP, Maiken Cavling *et al.* Multidrug-Resistant Candida: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 216, n. 3, p. 445-451, 15 ago. 2017.

BABIĆ, Mirela *et al.* Candida Albicans and Non-Albicans Species as Etiological Agent of Vaginitis in Pregnant and Non-Pregnant Women. **Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 89-97, 20 fev. 2010.

BAI, Renu Geetha *et al.* Graphene-based drug delivery systems. In: UNNITHAN, Afeesh Rajan *et al.* **Biomimetic Nanoengineered Materials for Advanced Drug Delivery**. Holanda: Elsevier, 2019. p. 1-195.

BAJPAYEE, Ambika G. *et al.* Cartilage-targeting drug delivery: can electrostatic interactions help?. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 183-193, 9 fev. 2017.

BAK, Sora; KIM, Doyoung; LEE, Hyoyoung. Graphene quantum dots and their possible energy applications: a review. **Current Applied Physics**, [S.L.], v. 16, n. 9, p. 1192- 1201, set. 2016.

BANDEIRA, Yeska Reichow Santos Vieira; SABADIN, Clarice Elvira Saggin. Presence of candidiasis and fungi of the genus Candida in patients undergoing chemotherapy. *Journal of oral investigations*, v. 5, n. 2, p. 33-39, 2017.

BEARDSLEY, Justin *et al.* Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. **Future Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 1175-1191, ago. 2018.

BEN-AMI, Ronen. Treatment of Invasive Candidiasis: A Narrative Review. *Journal of Fungi*. Tel Aviv, p. 90-97. 16 ago. 2018

BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 235, p. 337-351, ago. 2016.

BHATTACHARYA, *et al.* Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. **Antibiotics**, [S.L.], v. 9, n. 6, p. 312, 9 jun. 2020.

BISWAS, Manik Chandra *et al.* Graphene Quantum Dots (GQDs) for Bioimaging and Drug Delivery Applications: a review. **Acs Materials Letters**, [S.L.], v. 3, n. 6, p. 889- 911, 26 maio 2021.

BISWAS, Manik Chandra *et al.* Graphene Quantum Dots (GQDs) for Bioimaging and Drug Delivery Applications: a review. **Acs Materials Letters**, [S.L.], v. 3, n. 6, p. 889- 911, 26 maio 2021.

BOËVER, Raphaël de *et al.* Carbon Dots for Carbon Dummies: the quantum and the molecular questions among some others. **Chemistry – A European Journal**, [S.L.], v. 28, n. 47, p. 1-19, 7 jul. 2022.

BOSCH, Félix; ROSICH, Laia. The Contributions of Paul Ehrlich to Pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his nobel prize. **Pharmacology**, [S.L.], v. 82, n. 3, p. 171-179, 2008.

BOTELHO, Tatiani Karini Rensi *et al.* Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from clinical samples in southern Brazil. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 58, p. 327-345, dez. 2022.

BrCAST. *et al.* **Documento Definitivo E.DEF. 7.3.2**: método para determinação de concentração inibitória mínima em caldo dos agentes antifúngicos para leveduras. [S.L]: Eucast, 2020.

CAI, Fei *et al.* A simple one-pot synthesis of highly fluorescent nitrogen-doped graphene quantum dots for the detection of Cr(vi) in aqueous media. **Rsc Adv.**, [S.L.], v. 4, n. 94, p. 52016-52022, 8 out. 2014.

CALABRO, Rosemary L. *et al.* Liquid-phase laser ablation synthesis of graphene quantum dots from carbon nano-onions: comparison with chemical oxidation. **Jornal Of Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 527, p. 132-140, out. 2018.

CAMPBELL, Elizabeth *et al.* Graphene quantum dot formulation for cancer Imaging and redox-based drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and medicine**, [S.L.], v. 37, p. 102408, out. 2021.

CAMPUZANO, Susana *et al.* Carbon Dots and Graphene Quantum Dots in Electrochemical Biosensing. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 634, 19 abr. 2019.

CAO, Qiang *et al.* A Review of Current Development of Graphene Mechanics. **Crystals**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 357, 6 set. 2018.

CAO, Yi *et al.* Modeling better in vitro models for the prediction of nanoparticle toxicity: a review. **Toxicology Mechanisms And Methods**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 1-17, 12 out. 2020.

CHAU, Tuan Khanh *et al.* Two-dimensional ferromagnetism detected by proximity coupled quantum Hall effect of graphene. **Npj Quantum Materials**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 300-305, 14 mar. 2022.

CHEN, Yang; FENG, Xun. Gold nanoparticles for skin drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 625, p. 122122, set. 2022.

CHEONG, Yuen-Ki *et al.* Synergistic Antifungal Study of PEGylated Graphene Oxides and Copper Nanoparticles against *Candida albicans*. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 819, 25 abr. 2020.

CHHABRA, Varun A. *et al.* Synthesis and spectroscopic studies of functionalized graphene quantum dots with diverse fluorescence characteristics. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 8, n. 21, p. 11446-11454, 2018.

CORREIA, Inês *et al.* Role of *Candida albicans* mating in genetic variability and adaptation to the host. **Fungal Biology Reviews**, [S.L.], v. 33, n. 3-4, p. 180-189, jun. 2019.

DANIAL, Wan Hazman *et al.* A short review on electrochemical exfoliation of graphene and graphene quantum dots. **Carbon Letters**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 371-388, 3 jan. 2021.

DERVISHI, Enkeleda *et al.* Raman spectroscopy of bottom-up synthesized graphene quantum dots: size and structure dependence. **Nanoscale**, [S.L.], v. 11, n. 35, p. 16571-16581, 2019.

DERVISHI, Enkeleda *et al.* Raman spectroscopy of bottom-up synthesized graphene quantum dots: size and structure dependence. **Nanoscale**, [S.L.], v. 11, n. 35, p. 16571-16581, 2019.

DING, Chizhu; LI, Zibiao. A review of drug release mechanisms from nanocarrier systems. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 76, p. 1440-1453, jul. 2017.

DING, Zheyuan *et al.* Gram-scale synthesis of single-crystalline graphene quantum dots derived from lignin biomass. **Green Chemistry**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 1383-1390, 2018.

DJORDJEVIC, Z. M, *et al.*, Health care-acquired infections in neonatal intensive care units: Risk factors and etiology. *American Journal of Infection Control*, vol. 43: 86-88, 2015

DUARTE, Suzane Meriely Silva *et al.* Métodos diagnósticos para a caracterização de candidíase e papilomavírus humano. *Brazilian Journal Of Development*, [S.L.], v. 5, n. 10, p. 18083-18091, 2019.

DUTTA, Aastha. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: THOMAS, Sabu *et al.* **Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization**. [S.L.]: Elsevier, 2017. Cap. 4. p. 73-93. (978-0-323-46140-5).

ERSAN, Gamze *et al.* Adsorption of organic contaminants by graphene nanosheets: a review. **Water Research**, [S.L.], v. 126, p. 385-398, dez. 2017.

ESKIIZMIR, Görkem *et al.* Graphene-based nanomaterials in cancer treatment and diagnosis. **Fullerens, Graphenes And Nanotubes**, [S.L.], p. 331-374, 2018.

FANG, Bi-Yun *et al.* Nitrogen-doped graphene quantum dot for direct fluorescence detection of Al<sup>3+</sup> in aqueous media and living cells. **Biosensors And Bioelectronics**, [S.L.], v. 100, p. 41-48, fev. 2018.

FAR, F.e. *et al.* Efficacy of modified Leeming-Notman media in a resazurin microtiter assay in the evaluation of in-vitro activity of fluconazole against *Malassezia furfur* ATCC 14521. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 486-491, set. 2018.

FERRAZ, Leslie Raphael de Moura. **Desenvolvimento E Avaliação Da Liberação In Vitro De Drug Delivery System Ph-Dependente À Base De Benznidazol E Zif-8 Visando A Obtenção De Uma Terapia Alternativa Para A Doença De Chagas**. 2017. 179 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

FISHER, Matthew C. *et al.* Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. **Science**, [S.L.], v. 360, n. 6390, p. 739- 742, 18 maio 2018.

GADELHA, Andreij de Carvalho. **Elementos de Espectroscopia Raman em Grafeno**. 2013. 82 f. TCC (Graduação) - Curso de Bacharelado em Física, Departamento de Física, Universidade Federal de Fortaleza, Fortaleza, 2013.

GAN, Zhixing *et al.* Mechanism for excitation-dependent photoluminescence from graphene quantum dots and other graphene oxide derivatives: consensus, debates and challenges. **Nanoscale**, [S.L.], v. 8, n. 15, p. 7794-7807, 2016.

GHAHRAMANI, Yasmin *et al.* Antifungal Activity of Graphene-Based Nanomaterials. **Encyclopedia Of Green Materials**, [S.L.], p. 1-13, 2022.

GHANBARI, N. *et al.* Tryptophan-functionalized graphene quantum dots with enhanced curcumin loading capacity and pH-sensitive release. **Journal Of Drug Delivery Science And Technology**, [S.L.], v. 61, p. 102137, fev. 2021.

GOLABEK, Karolina *et al.* Selected mechanisms of molecular resistance of *Candida albicans* to azole drugs. **Acta Biochimica Polonica**, [S.L.], v. 62, n. 2, p. 247-251, 2015.

GOODARZI, Saba *et al.* Fullerene: biomedical engineers get to revisit an old friend. **Materials Today**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 460-480, out. 2017.

GOODMAN, Alfred *et al.* Quimioterapia das doenças microbianas. In: GOODMAN *et al.* **As Bases Farmacológicas Da Terapêutica De Goodman E Gilman**. 13. ed. Porto Alegre: Amgh, 2019. p. 01-1891.

GU, Siyong *et al.* Fluorescence of functionalized graphene quantum dots prepared from infrared-assisted pyrolysis of citric acid and urea. **Journal Of Luminescence**, [S.L.], v. 217, p. 116774, jan. 2020.

GUO *et al.* Viability of Neural Cells on 3D Printed Graphene Bioelectronics. **Biosensors**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 112, 20 set. 2019.

GUO, Ruihua *et al.* Rhodamine-Functionalized Graphene Quantum Dots for Detection of Fe<sup>3+</sup> in Cancer Stem Cells. **Acs Applied Materials & Interfaces**, [S.L.], v. 7, n. 43, p. 23958-23966, 26 out. 2015.

HANDA, Mayank *et al.* Stimuli-responsive Polymeric Nanosystems for Therapeutic Applications. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 28, n. 11, p. 910-921, mar. 2022.

HENNA, T.K.; PRAMOD, K.. Graphene quantum dots redefine nanobiomedicine. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 110, p. 110651, maio 2020.

HERTEL, Cristiani. **Estudo da influência das condições de preparação de pontos quânticos de grafeno nas suas propriedades ópticas e no seu desempenho como sonda desliga/liga (off/on) mediada por Fe<sup>3+</sup>**. 2021. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

HIRSCH, Andreas. The era of carbon allotropes. **Nature Materials**, [S.L.], v. 9, n. 11, p. 868-871, 22 out. 2010.

HONARY, S *et al.* Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1). **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 327-345, 9 maio 2013.

HONG, Guo-Lin *et al.* Fabrication of ultra-small monolayer graphene quantum dots by pyrolysis of trisodium citrate for fluorescent cell imaging. **International Journal Of Nanomedicine**, [S.L.], v. 13, p. 4807-4815, ago. 2018.

HOU, Xin *et al.* Rapid Detection of ERG11 -Associated Azole Resistance and FKS -Associated Echinocandin Resistance in *Candida auris*. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 320, jan. 2019.

HU, Lijun *et al.* Characterization of oral candidiasis and the *Candida* species profile in patients with oral mucosal diseases. **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 134, n. 8, p. 103-108, set. 2019.

HUI, Yue *et al.* Role of Nanoparticle Mechanical Properties in Cancer Drug Delivery. **Acs Nano**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 7410-7424, 9 jul. 2019.

HUSSEIN, Humam Saadi *et al.* Studying the candida resistance and sensitivity for some antifungals. **Journal Of Biotechnology Research Center**. [S.L.], p. 26-34. out. 2019.

IANNAZZO, Daniela *et al.* A Smart Nanovector for Cancer Targeted Drug Delivery Based on Graphene Quantum Dots. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 282, 18 fev. 2019.

JAIN, Vijay Prakash *et al.* Advanced functionalized nanographene oxide as a biomedical agent for drug delivery and anti-cancerous therapy: a review. **European Polymer Journal**, [S.L.], v. 142, p. 110124, jan. 2021.

JAMADI, Elham Sadat *et al.* Synthesis of polyester urethane urea and fabrication of elastomeric nanofibrous scaffolds for myocardial regeneration. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 63, p. 106-116, jun. 2016.

JAMIU, A T *et al.* Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical Mycology**, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 14-30, 13 maio 2020.

JIANG, Zixin *et al.* Graphene biosensors for bacterial and viral pathogens. **Biosensors And Bioelectronics**, [S.L.], v. 166, p. 112471, out. 2020.

JIN, Zehua *et al.* Graphene, graphene quantum dots and their applications in optoelectronics. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, [S.L.], v. 20, n. 5- 6, p. 439-453, out. 2015.

JONOUSH, Zahra A. *et al.* Surface Modification of Graphene and its Derivatives for Drug Delivery Systems. **Mini-Reviews In Organic Chemistry**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 78- 92, 26 mar. 2021.

JOSHI, Kumud *et al.* Graphene Family of Nanomaterials: reviewing advanced applications in drug delivery and medicine. **Current Drug Delivery**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 195-214, 1 fev. 2019.

KADIAN, Sachin *et al.* Targeted bioimaging and sensing of folate receptor-positive cancer cells using folic acid-conjugated sulfur-doped graphene quantum dots. **Microchimica Acta**, [S.L.], v. 187, n. 8, p. 327, 18 jul. 2020.

KADOSH, David. Regulatory mechanisms controlling morphology and pathogenesis in *Candida albicans*. **Current Opinion In Microbiology**, [S.L.], v. 52, p. 27-34, dez. 2019.

KANWAL, Shamsa; JAHAN, Shanaz; MANSOOR, Farukh. An ultrasonic-assisted synthesis of leather-derived luminescent graphene quantum dots: catalytic

reduction and switch on/off probe for nitro-explosives. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 10, n. 39, p. 22959-22965, 2020.

KASHEM, S. W et al. Candida albicans Morphology and Dendritic Cell Subsets Determine T Helper Cell Differentiation. **Immunity**, v. 42, n. 2, p. 356 - 366, 2015.

KERNIN, Arnaud et al. The effect of graphene network formation on the electrical, mechanical, and multifunctional properties of graphene/epoxy nanocomposites. **Composites Science And Technology**, [S.L.], v. 169, p. 224-231, jan. 2019.

KHALAJ, Zahra et al. Main Allotropes of Carbon. **Sustainable Nanosystems Development, Properties, And Applications**, [S.L.], p. 185-213, 2017.

KHALIN, Igor et al. Size-Selective Transfer of Lipid Nanoparticle-Based Drug Carriers Across the Blood Brain Barrier Via Vascular Occlusions Following Traumatic Brain Injury. **Small**, [S.L.], v. 18, n. 18, p. 2200302, 5 abr. 2022.

KONG, Xiangyi et al. Nanoparticle drug delivery systems and their applications as targeted therapies for triple negative breast cancer. **Progress In Materials Science**, [S.L.], v. 134, p. 101070, abr. 2023.

KUHAR, Francisco et al. Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos. **Boletín Biológica**, [S.L.], v. 7, n. 28, p. 11-18, jun. 2013.

LEAL, Mariana Robatto Dantas et al. Tratamento da candidíase vulvovaginal e novas perspectivas terapêuticas: uma revisão narrativa. *Revista Pesquisa em Fisioterapia*, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 169-173, 25 nov. 2016.

LEE, Yunjin et al. Antifungal Drug Resistance: molecular mechanisms in candida albicans and beyond. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 22 mai 2020.

LEVINSON, Tal et al. Impact of tolerance to fluconazole on treatment response in Candida albicans bloodstream infection. **Mycoses**, [S.L.], v. 64, n. 1, p. 78-85, 15 out. 2020.

LI, Chao *et al.* The antifungal activity of graphene oxide–silver nanocomposites. **Biomaterials**, [S.L.], v. 34, n. 15, p. 3882-3890, maio 2013.

LI, Rui *et al.* Bottom-Up Fabrication of Single-Layered Nitrogen-Doped Graphene Quantum Dots through Intermolecular Carbonization Arrayed in a 2D Plane. **Chemistry - A European Journal**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 272-278, 23 nov. 2015.

LI, Yuanning *et al.* A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi. **Current Biology**, [S.L.], v. 31, n. 8, p. 1653-1665, abr. 2021.

LIU, Jingquan *et al.* Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications. **Acta Biomaterialia**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 9243-9257, dez. 2013.

LOGAN, C. *et al.* Invasive candidiasis in critical care: challenges and future directions. **Intensive Care Medicine**, [S.L.], v. 46, n. 11, p. 2001-2014, 29 set. 2020.

LOPES, José Pedro *et al.* Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 89-121, 29 dez. 2021.

LOPES, Lillian Kelly de Oliveira *et al.* Epidemiologia das infecções relacionadas à assistência à saúde em unidade de terapia intensiva pediátricas do estado de Goiás, 2016. **Journal of Infection Control**, v. 7, n. 2, 2018.

LU, Huiting *et al.* Graphene Quantum Dots for Optical Bioimaging. **Small**, [S.L.], v. 15, n. 36, p. 1902136, 15 jul. 2019.

LU, Shi-Yu *et al.* Chemically Exfoliating Biomass into a Graphene-like Porous Active Carbon with Rational Pore Structure, Good Conductivity, and Large Surface Area for High-Performance Supercapacitors. **Advanced Energy Materials**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 1702545, 29 dez. 2017.

MAKANJUOLA, Olufunmilola *et al.* An Update on the Roles of Non-albicans *Candida* Species in Vulvovaginitis. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 121, 31 out. 2018.

MENON, Thangam *et al.* Antifungal susceptibility testing of *Candida tropicalis* biofilms against fluconazole using calorimetric indicator resazurin. **Indian Journal Of Pathology And Microbiology**, [S.L.], v. 55, n. 1, p. 72, 2012.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO - MCTI (BRASIL). Nanotecnologia: Conceitos e Áreas de Aplicações. Tecnologias Convergentes e Habilitadoras. Disponível em: <[https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/tecnologia/tecnologias\\_convergentes/pag](https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/tecnologia/tecnologias_convergentes/paginas/nanotecnologia/NANOTECCNOLOGIA.html#:~:text=Nanotecnologia%20%C3%A9%20um%20campo%20cient%20%C3%ADfico,a%201%20bilion%20%C3%A9simo%20do%20metro)

[inas/nanotecnologia/NANOTECCNOLOGIA.html#:~:text=Nanotecnologia%20%C3%A9%20um%20campo%20cient%20%C3%ADfico,a%201%20bilion%20%C3%A9simo%20do%20metro](https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/tecnologia/tecnologias_convergentes/paginas/nanotecnologia/NANOTECCNOLOGIA.html#:~:text=Nanotecnologia%20%C3%A9%20um%20campo%20cient%20%C3%ADfico,a%201%20bilion%20%C3%A9simo%20do%20metro)>. Acesso em: 22 de mai de 2023.

MITCHELL, Michael J. *et al.* Engineering precision nanoparticles for drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 101-124, 4 dez. 2020.

MOGHADAM, Negin Borzooee *et al.* Graphene family in cancer therapy: recent progress in cancer gene/drug delivery applications. **Journal Of Materials Chemistry B**, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 2568-2613, 2023.

MOHAMED, Abdimajid Ahmed *et al.* Diagnosis and Treatment of Esophageal Candidiasis: current updates. **Canadian Journal Of Gastroenterology And Hepatology**, [S.L.], v. 2019, p. 1-6, 20 out. 2019.

MOHAMED, M.A. *et al.* Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In: HILAL, Nidal *et al.* **Membrane Characterization**. [S.L.]: Elsevier, 2017. Cap. 1. p. 3-29. (978- 0-444-63776-5).

MOHAMMADI, Keyhan *et al.* Recent progress in the application of plant-based colloidal drug delivery systems in the pharmaceutical sciences. **Advances In Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 307, p. 102734, set. 2022.

MOLAEI, Mohammad Jafar. Magnetic graphene, synthesis, and applications: a review. **Materials Science And Engineering: B**, [S.L.], v. 272, p. 115325, out. 2021.

MONNET, C. *et al.* Growth and adaptation of microorganisms on the cheese surface. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters**, v. 362, n. 1, p. 1-9, 2015.

NAOUM, George e *et al.* Role of nanotechnology and gene delivery systems in TRAIL based therapies. **Ecancermedicalscience**, [S.L.], v. 10, p. 17, 1 ago. 2016.

NASROLLAHI, Fatemeh *et al.* Targeting graphene quantum dots to epidermal growth factor receptor for delivery of cisplatin and cellular imaging. **Materials Science And Engineering: C**, [S.L.], v. 94, p. 247-257, jan. 2019.

NEMATI, Fatemeh *et al.* Fluorescence turn-on sensing of thiamine based on Arginine – functionalized graphene quantum dots (Arg-GQDs): central composite design for process optimization. **Sensors And Actuators B: Chemical**, [S.L.], v. 255, p. 2078- 2085, fev. 2018.

NGUYEN, Hai Yen *et al.* Microwave-assisted synthesis of graphene quantum dots and nitrogen-doped graphene quantum dots: raman characterization and their optical properties. **Advances In Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 025005, 9 maio 2019.

NIKA, Denis L. *et al.* Thermal Transport in Graphene, Few-Layer Graphene and Graphene Nanoribbons. **Thermal Transport In Low Dimensions**, [S.L.], p. 339-363, 2016.

NIU, Xianghong *et al.* Revealing the underlying absorption and emission mechanism of nitrogen doped graphene quantum dots. **Nanoscale**, [S.L.], v. 8, n. 46, p. 19376- 19382, 2016.

O'BRIEN, Brittany *et al.* Pan-resistant *Candida auris*: new york subcluster susceptible to antifungal combinations. **The Lancet Microbe**, [S.L.], v. 1, n. 5, p. 193-194, set. 2020.

OGI, Takashi *et al.* Transient nature of graphene quantum dot formation via a hydrothermal reaction. **Rsc Adv.**, [S.L.], v. 4, n. 99, p. 55709-55715, 2014.

OLIVEIRA DOS SANTOS, C. *et al.* Emerging pan-resistance in *Trichosporon* species: a case report. **BioMed Central Infectious Diseases**, v. 16, p. 148, 2016.

ORECCHIONI, Marco *et al.* Graphene as Cancer Theranostic Tool: progress and future challenges. **Theranostics**, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 710-723, 2015.

OU, Lingling *et al.* Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. **Particle And Fibre Toxicology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 327- 345, 31 out. 2016.

PANNA, Alireza R. *et al.* Graphene quantum Hall effect parallel resistance arrays. **Physical Review B**, [S.L.], v. 103, n. 7, p. 327, 3 fev. 2021.

PANYATHIP, Rangsan *et al.* Surface Enhanced Raman Scattering in Graphene Quantum Dots Grown via Electrochemical Process. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 18, p. 5484, 9 set. 2021.

PAPPAS, Peter G. *et al.* Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 327-345, 11 mai 2018.

PATEL, Mrudula *et al.* Oral Cavity and *Candida albicans*: colonisation to the development of infection. **Pathogens**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 335, 10 mar. 2022.

PERLIN, *et al.* The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 17, n. 12, p. 383-392, dez. 2017.

PESIN, Dmytro; MACDONALD, Allan H.. Spintronics and pseudospintronics in graphene and topological insulators. **Nature Materials**, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 409-416, 23 abr. 2012.

PFALLER, Michael A. *et al.* Geographic Variations in Species Distribution and Echinocandin and Azole Antifungal Resistance Rates among *Candida* Bloodstream Infection Isolates: report from the sentry antimicrobial surveillance program (2008 to 2009). **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 396-399, jan. 2011.

POLKE, Melanie *et al.* *Candida* Survival Strategies. In: SARIASLANI, Sima; GADD, Geoffrey Michael. **Advances in Applied Microbiology**. 91. ed. [S.L.]: Elsevier, 2015. Cap. 3. p. 139-235.

PRASHER, Parteek *et al.* Drug encapsulating polysaccharide-loaded metal nanoparticles: a perspective drug delivery system. **Drug Development Research**, [S.L.], v. 82, n. 2, p. 145-148, 2 nov. 2020.

PRIYADARSINI, Subhashree *et al.* Graphene and graphene oxide as nanomaterials for medicine and biology application. **Journal Of Nanostructure In Chemistry**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 123-137, jun. 2018.

QIN, Yuancheng *et al.* Top-down Strategy toward Versatile Graphene Quantum Dots for Organic/Inorganic Hybrid Solar Cells. **Acs Sustainable Chemistry & Engineering**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 637-644, 23 fev. 2015.

QU, Dan *et al.* Formation mechanism and optimization of highly luminescent N-doped graphene quantum dots. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 327-345, 18 jun. 2014.

RABEYA, Ramisha *et al.* Structural defects in graphene quantum dots: a review. **International Journal Of Quantum Chemistry**, [S.L.], v. 122, n. 12, p. 327, 5 mar. 2022.

RAFIEE, Zahra *et al.* High-performance ZnO nanowires-based glucose biosensor modified by graphene nanoplates. **Materials Science In Semiconductor Processing**, [S.L.], v. 115, p. 105116, ago. 2020.

RAJ, Savan K. *et al.* Synthesis of highly fluorescent and water soluble graphene quantum dots for detection of heavy metal ions in aqueous media. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 28, n. 34, p. 46336-46342, 13 fev. 2020.

RAJENDIRAN, Keerthiga *et al.* Antimicrobial Activity and Mechanism of Functionalized Quantum Dots. **Polymers**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1670, 14 out. 2019.

RAJENDRAN, R. *et al.* Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection—Scotland, 2012–2013. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 87-93, jan. 2016

REINHARDT, L. C. *et al.* Sensitivity to antifungals by *Candida* spp samples isolated from cases of chronic atrophic candidiasis (CAC). **Brazilian Journal Of Biology**, [S.L.], v. 80, n. 2, p. 266-272, jun. 2020.

RHEE, Kyong Yop. Electronic and Thermal Properties of Graphene. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 926, 11 maio 2020.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, Carmen *et al.* Biofilms and vulvovaginal candidiasis. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 174, p. 110-125, fev. 2019.

ROJEWSKA, M. *et al.* Physicochemical and release studies of new mucoadhesive fluconazole delivery systems. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 566, p. 11-20, abr. 2019.

ROSSI, Tatiane de *et al.* Interactions Between *Candida albicans* and Host. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 15-58, jun. 2011.

ROZHKOV, M.A. *et al.* Evolution of Dirac Cone in Disclinated Graphene. **Reviews On Advanced Materials Science**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 137-142, 1 jul. 2018.

RUIZ, Virginia *et al.* Tuning the antioxidant activity of graphene quantum dots: protective nanomaterials against dye decoloration. **Carbon**, [S.L.], v. 116, p. 366-374, maio 2017.

SANTOS, Giselle C. de Oliveira *et al.* *Candida* Infections and Therapeutic Strategies: mechanisms of action for traditional and alternative agents. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 327-345, 3 jul. 2018.

SATTARI, Shabnam *et al.* Functionalized Graphene Platforms for Anticancer Drug Delivery. **International Journal Of Nanomedicine**, [S.L.], v. 16, p. 5955-5980, ago. 2021.

SHEN, Yiheng *et al.* PCF-Graphene: a 2d sp<sup>2</sup>-hybridized carbon allotrope with a direct band gap. **The Journal Of Physical Chemistry C**, [S.L.], v. 123, n. 7, p. 4567-4573, 30 jan. 2019.

SHIN, Su Ryon *et al.* Graphene-based materials for tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 105, p. 255-274, out. 2016.

SHRAVAN, Kumar *et al.* Age and Gender Predilection of Oral Candidiasis among outpatients in University Based Setting – A Retrospective Study. **International Journal Of Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 12, p. 330, 2 nov. 2020.

SINGHAL, Sugandha *et al.* Carbon Allotropes-Based Nanodevices:: graphene in biomedical applications. In: BIRLA, Shilpi *et al.* **Nanotechnology: device design and applications**. Florida: Crc Press, 2022. Cap. 18. p. 1-367.

VOLKOVA, Tatyana V. *et al.* Permeability of New Antifungal Fluconazole Derivatives through a Lipophilic Membrane: experiment and modeling. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 389, 2 jan. 2023.

ZHU, Shoujun *et al.* Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: quantum confinement effect and surface/edge state. **Nano Today**, [S.L.], v. 13, p. 10-14, abr. 2017.



