

DESENVOLVIMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ETOSSOMAS CONTENDO *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (Hemsl) A. GRAY PARA USO EM MEDICAMENTOS

Lorenzo Henrique Costa Pellegrino e (IC) Marcelo Guimarães (Orientador)

Apoio: PIVIC Mackenzie

RESUMO

Diversas tecnologias vêm sendo desenvolvidas para melhorar a permeação e/ou absorção de fármacos, sendo uma dessas alternativas, o desenvolvimento de nanoestruturas chamadas etossomas, vesículas lipídicas com composição próxima a lipossomas, tendo como principal diferença a presença de etanol, considerado um *drug delivery* eficaz. O uso do extrato vegetal vem sendo utilizado em diversas áreas industriais, dado o seu grande potencial de utilização, apresentando menos efeitos indesejáveis ao paciente. A *Tithonia diversifolia* tem diversos grupos terpenóides e compostos fenólicos que mostram um perfil farmacológico, como um eficiente anti-inflamatório, antiparasitários, antivirais, antibacterianos e antiespasmódicos. Para o delineamento do etossoma utilizou-se lectina de soja e extrato alcoólico de flores de *Tithonia diversifolia*. A mistura foi submetida à rotoevaporação, formando assim um filme lipídico, que foi posteriormente hidratado com uma solução alcoólica a 20%, levada para um congelador e finalmente liofilizado. Em seguida, as amostras foram submetidas às diversas análises, com o objetivo de caracterização físico-química e morfológica dos nanossistemas desenvolvidos. As análises realizadas foram análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de termogravimetria (TG). Os resultados obtidos mostraram, uma grande estabilidade, tanto o etossoma branco quanto o etossoma com extrato vegetal. Além disso, temos também uma incorporação eficaz do extrato, devido as vilosidades encontradas no etossoma branco, quanto a superfície lisa do fármaco, facilitando a incorporação. A utilização de metodologia eficaz quanto à incorporação do fármaco, bem como mostrou-se eficaz na obtenção de um sistema de liberação de fármaco (*drug delivery system*) inovador.

Palavras-chave: Etossomas; *Tithonia diversifolia*; sistema de liberação de fármaco.

ABSTRACT

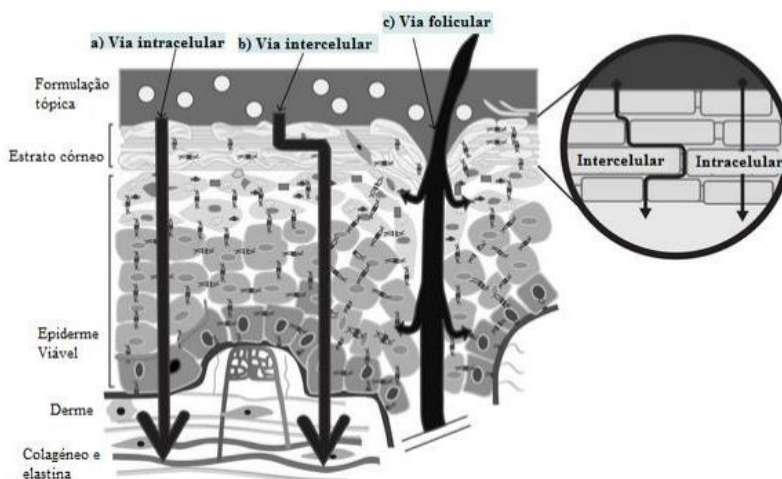
Several techniques have been developed to improve the penetration of drugs, one of these formulations, are the ethosomes, lipid vesicles with composition close to liposomes, having as main difference the presence of ethanol, about 20 to 50%, that will cause fluidizing effect at the application site, crossing the corneal extract to deeper layers of the skin, thus bringing a more effective drug delivery. Vegetal extracts have been used in several industrial areas, due to its great potential of use, presenting fewer undesirable effects to the patient. *Tithonia diversifolia* has several terpenoid groups and phenolic compounds that show a pharmacological profile, as an efficient anti-inflammatory, antiparasitic, antiviral, antibacterial and antispasmodic. To prepare the ethosome, soybean lectin, chloroform and alcoholic extract of *Tithonia diversifolia* were used, after which the mixture was rotoevaporated to form a lipid film, which was hydrated with a 20% alcoholic solution, leading to the mixture to a freezer, which after being frozen will go to the lyophilization, being ready for the analyzes of physical-chemical and morphological characterization of the developed nanosystems. The analyzes are made from the freeze-drying, with absorption spectroscopy in the infrared region (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and thermogravimetry (TG). The results showed a great stability, the size of the white, the extract, as a smooth base of the drug, facilitating incorporation. In order to become an effective drug release system, it is an effective drug release system.

Keywords: *Ethosomes; Tithonia diversifolia; drug delivery system.*

1. INTRODUÇÃO

A pele (Figura 1) é o órgão que tem a maior extensão do corpo humano, com cerca de 1,75m², sendo o maior órgão e possui uma grande importância na administração de medicamentos (MARTINI, 2009).

Figura 1: Vias de permeação nas camadas cutâneas



Fonte: ANTUNES, 2016

Diversas técnicas vem sendo desenvolvidas para que possa-se melhorar a penetração de fármacos, sendo mais de um terço das novas formulações com aplicação na pele, tem trabalhado com o *drug delivery*, que tem como vantagem agir no sítio de ligação de interesse do manipulador e do fármaco, tendo como resultado uma penetração mais eficiente em níveis mais profundos da pele, uma liberação do fármaco de forma mais controlada, capacidade de redução da irritação provocada por alguns fármacos, entre outros benefícios (FERNANDES, 2016; GAMA, 2014).

A Nanotecnologia é um campo multidisciplinar que tem aplicação em diversas áreas, desde a área eletrônica até a área farmacêutica, dessa forma apresenta propriedades químicas, físico-químicas e comportamentais diferente a outras moléculas. A formulação em nanopartículas pode trazer o resgate de fármacos que anteriormente foram descartadas por causa de efeitos colaterais ou baixa biodisponibilidade (BERGMANN, 2008).

Os processos nanotecnológicos com emprego de extratos vegetais vem sendo cada vez mais pesquisados, sendo uma revolução sustentável no mercado, devido à utilização de matéria prima natural, utilizando o mínimo de matéria sintética, tendo como vantagem tanto a velocidade de distribuição quanto dosagem da forma farmacêutica e a permeabilidade com a ação específica nos sítios alvos (CARVALHO, 2018).

Uma das nanoestruturas mais empregadas como *drug delivery system* utilizadas na atualidade são os etossomas, nanopartículas elásticas e maleáveis com alta estabilidade, grande faixa de segurança, maior eficiência entre os lipossomas disponíveis, tendo grande facilidade de penetrar o sistema córneo devido à grande quantidade de álcool presente em sua formulação, trazendo um efeito fluidificante sobre os lipídios da pele, tendo um tamanho aproximado de 150-200nm de diâmetro (CARVALHO, 2018).

O uso do extrato vegetal vem sendo utilizado em diversas áreas industriais, dado ao seu grande potencial de utilização, tendo como exemplo antimicrobianos, antivirais, antifúngicos, tratamento de diabetes, tratamento de doenças neurodegenerativas, com isso o mercado farmacêutico vem explorando essa área que tem tendência de crescimento de pesquisa (PINTO, 2002). Além de possibilitar diversos usos nas mais diversas áreas, a utilização destes extratos muitas vezes apresenta menos efeitos indesejáveis ao paciente do que os medicamentos já existentes (COSTA, 2010). Os processos nanotecnológicos empregando extratos vegetais, podem ser capazes de potencializar a ação desses extratos, reduzindo as doses necessárias, bem como os efeitos colaterais esperados e, conseqüentemente, implementando a atividade do medicamento (COELHO, 2007).

A *Tithonia diversifolia*, uma representante da família Asteraceae, assim como o guaco, calêndula e marcela, tem diversos grupos terpenóides e compostos fenólicos que mostram um perfil farmacológico, apresentando-se como um eficiente anti-inflamatório, antiparasitários, antivirais, antibacterianos e antiespasmódicos, apresentando assim um extrato que possui diversas atividades, dessa forma ocorrendo uma crescente na área de pesquisa (PAULA, 2010).

Esse estudo tem como finalidade o desenvolvimento, a síntese e caracterização físico-química e morfológica de etossomas contendo extrato alcoólico de flores de *Tithonia diversifolia*, trazendo assim uma nova tecnologia a ser pesquisada.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Diversos medicamentos dotados de mecanismo de liberação convencional, sejam de administração tópica ou em outra via de administração, apresentam problemas quanto à sua eficácia devido às suas propriedades biofarmacêuticas (SILVA, 2010), bem como pelos efeitos adversos desenvolvidos, difícil administração e baixa biodisponibilidade. Dessa forma, há diversas pesquisas que tem como objetivo a melhora destas propriedades, tendo como exemplo a solubilidade no meio fisiológico e, também, a permeabilidade em membranas biológicas (VIEIRA, 2013).

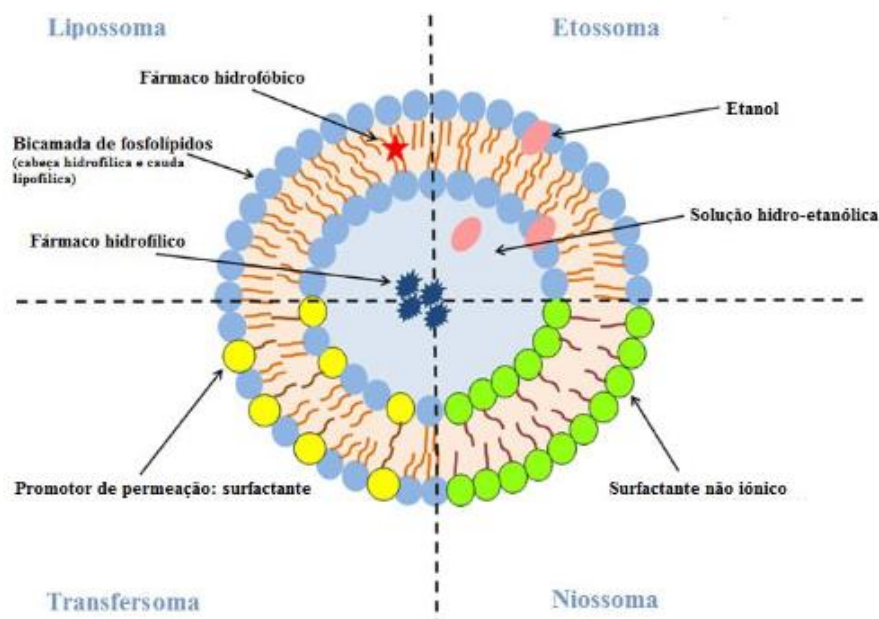
Para que haja tal melhora de resultados terapêuticos há diversos recursos farmacotécnicos, como exemplos a Microtecnologia e a Nanotecnologia, entre outros. De maneira semelhante, com o objetivo de aumentar a permeação cutânea, é possível citar, como exemplo, o emprego de *enhancers*, que são promotores de permeação e/ou absorção, farmacologicamente inertes, atóxicos e de ação rápida, com duração previsível (SOARES, 2016).

A Nanotecnologia vem sendo alvo de pesquisas em medicamentos na forma de sistemas de liberação transdérmico, podendo assim controlar onde irá ocorrer a ação, maior facilidade de administração, maior permeação e absorção, tendo assim um grande impacto econômico. Sendo as nanopartículas definidas como estruturas menores de 1.000 nanômetros de diâmetro, apresentando diversas propriedades, maior estabilidade, direcionamento do fármaco para o sítio alvo, aumento do tempo de validade dessa forma, aumentando o tempo de prateleira disponível para o medicamento, trazendo consequentemente, uma maior eficiência no tratamento, maior comodidade de aplicação e maior rentabilidade econômica (GAMA, 2014; DIMER, 2013).

Há diversas nanoestruturas de interesse farmacêutico e/ou cosmético, sendo as mais comuns os lipossomas (precursores das nanoestruturas modernas), nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, niossomas, etossomas, entre outras. Os lipossomas são esferas artificiais de tamanho variável são os primeiros sistemas empregados no carreamento e liberação controlada de fármacos (BERGMANN, 2008). Já os etossomas são vesículas lipídicas com composição próxima à dos lipossomas, tendo como principal diferença a presença de etanol, com uma proporção média de cerca de 20 a 50%, que provocará efeito fluidificante no local de aplicação, atravessando o estrato córneo até camadas mais profundas da pele. Os etossomas tem como principais vantagens a eficácia na administração de substâncias na pele, componentes seguros (baixa toxicidade), facilidade no preparo e na incorporação em cremes e géis, altas estabilidade e solubilidade, apresentando geralmente um menor tamanho quando comparados a outros sistemas nanoparticulados. Tendo em sua

formulação uma fácil preparação, sendo elas eficientes e com aptidão de transportar diversos fármacos, além de conter uma elevada estabilidade e maleabilidade (ANTUNES, 2016; TRINDADE, 2017). As principais diferenças entre as nanoestruturas estão representadas (Figura 2).

Figura 2: Principais diferenças entre as nanoestruturas.



Fonte: ANTUNES, 2016

A *Tithonia diversifolia*, originada do México, tem sido alvo de pesquisas, devido às suas atividades anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, antiviral, leishmanicida, inseticidas, antidiabética e ação preventiva de câncer já reportadas em diversos artigos científicos (MUSIAL, 2017; GAMA, et.al., 2014). Esta forma possui diversos princípios ativos que têm interesse para formulação de novos e inovadores medicamentos fitoterápicos e/ou fitocosméticos. Basicamente é rica em ácidos clorogênicos, flavonas, monoterpenos, sesquiterpenos, saponinas e alcalóides presença de taninos, que possuem capacidade de se complexar proteínas formando camadas protetoras (SARMIENTO, 2013). Sua flor pode ser observada a seguir (Figura 3).

Figura 3: Foto ilustrativa da flor da *Tithonia diversifolia*.



Fonte: Depositphotos 2016

3. METODOLOGIA

3.1 PREPARO DO EXTRATO ALCOÓLICO DA PLANTA *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) A. GRAY

Para o preparo do extrato alcoólico da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl. A. Gray) foram adquiridas amostras de suas flores. Em seguida, foram processadas por meio de secagem utilizando uma câmara de ar quente à aproximadamente 50°C, durante uma semana. Após este procedimento, as flores foram reduzidas por um moinho, sob etanol a 100%, agitação e à temperatura constante durante 24 horas. A próxima etapa foi a filtração, sendo concentrado o extrato em um evaporador rotativo, ligado a uma bomba de vácuo até concentração de 0,1g/mL (GAMA, et.al. 2014).

3.2 PREPARO DO ETOSSOMA

3.2.1 SÍNTESE DOS ETOSSOMAS BRANCOS

Para o preparo do etossoma branco (nanoestruturas sem fármaco) foi pesado 0,6634g de lectina de soja (Mapric, lote AUTO268313). Foram medidos 30 ml de clorofórmio (Sigma-Aldrich lote SHBG6655V), misturados a lectina de soja em um balão de fundo redondo. A mistura foi levada para rotoevaporação (QUIMIS, Q344B2), a 70°C em rotação 4 por cerca de 20 minutos, até haver ebulição total de todo o solvente (Figura 4). Após a ebulição, com auxílio de uma espátula de alumínio, o filme lipídico foi retirado com auxílio de uma espátula E transferido para um béquer de 50mL, e, em seguida, hidratado com 15mL de solução de etanol (Sigma-Aldrich, lote SHBJ2760) a 20%.

Figura 4: Etossomas brancos



Fonte: Os autores

A composição obtida foi encaminhada para a agitação mecânica (QUIMIS modelo 0261-22) com aquecimento (rotação 4 em temperatura 4 cerca de 50°C) por 30 minutos com peixinho de plástico com aquecimento, ao fim do processo cobrir o béquer com papel filme, transferindo o béquer para ultrassom por 30 minutos.

As amostras foram fracionadas e colocadas em tubos criogênicos, sendo preenchidos com 1/3 do volume total da sua capacidade, sendo armazenados no congelador a -22°C para ser liofilizados e enviados para as análises de caracterização.

3.2.2 SÍNTESE DOS ETOSSOMAS CONTENDO EXTRATO ALCÓOLICO DE *TITHONIA DIRVERSIFOLIA*

O método empregado foi o mesmo dos etossomas brancos, sendo pesados 380mg de extrato alcoólico de *Tithonia diversifolia*, A estrutura obtida pode ser observada (Figura 5).

Figura 5: Etossomas contendo extrato alcoolico de *T. diversifolia*



Fonte: Os Autores

De forma semelhante, as amostras foram fracionadas e colocadas em tubos criogênicos, sendo armazenados no congelador a -22°C para ser liofilizados e enviados para as análises de caracterização.

3.3 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DOS NANOSSISTEMAS DESENVOLVIDOS

3.3.1 ANÁLISES POR ESPECTROSCÓPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR) DOS ETOSSOMAS

As amostras de etossomas brancos e etossomas com extrato de *Tithonia diversifolia*, foram submetidos à análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR). Para isso foi transferida uma pequena amostra dos etossomas e adicionada direto no leitor do equipamento. Utilizou-se um comprimento de onda na região de 4000-500 cm^{-1} . A técnica usa como base a observação de ligação química, apresentando vibração das ligações, liberando níveis de energia bem definidos. Irradia raios infravermelhos na amostra, resultando nas transições na rotação e na conformação da molécula. Estas mudanças na molécula são medidas pelo espectrofotômetro determinando a massa dos átomos e seus níveis de energia.

3.3.2 ANÁLISES POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras também foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura, tendo como objetivo verificar diferenças entre o tamanho médio das partículas assim como os efeitos gerais do fármaco na estrutura. Para a leitura foi necessário adicionar a amostra em um recipiente e, posteriormente, recoberto com uma liga de ouro, possibilitando uma leitura mais clara. Após aplicada a camada de liga de ouro, a amostra foi transferida para o microscópio para a realização da leitura (250x – 7000x), selecionando as áreas de interesse.

3.3.3 ANÁLISE POR TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A Termogravimetria é uma técnica termoanalítica empregada para avaliar a variação de massa da amostra em função do tempo e temperatura. Foram submetidas para a análise de termogravimetria amostras de etossomas brancos, etossomas com extrato flores de *Tithonia diversifolia*, e o extrato alcoólico de flores de *Tithonia diversifolia*. TG/DTA 7200 (Extar, SII Nano Technology Inc., Japão), no intervalo de 25 a 600°C. Foram usadas cápsulas de alumínio de massa 2mg, tendo uma razão de aquecimento de 10°C/min.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

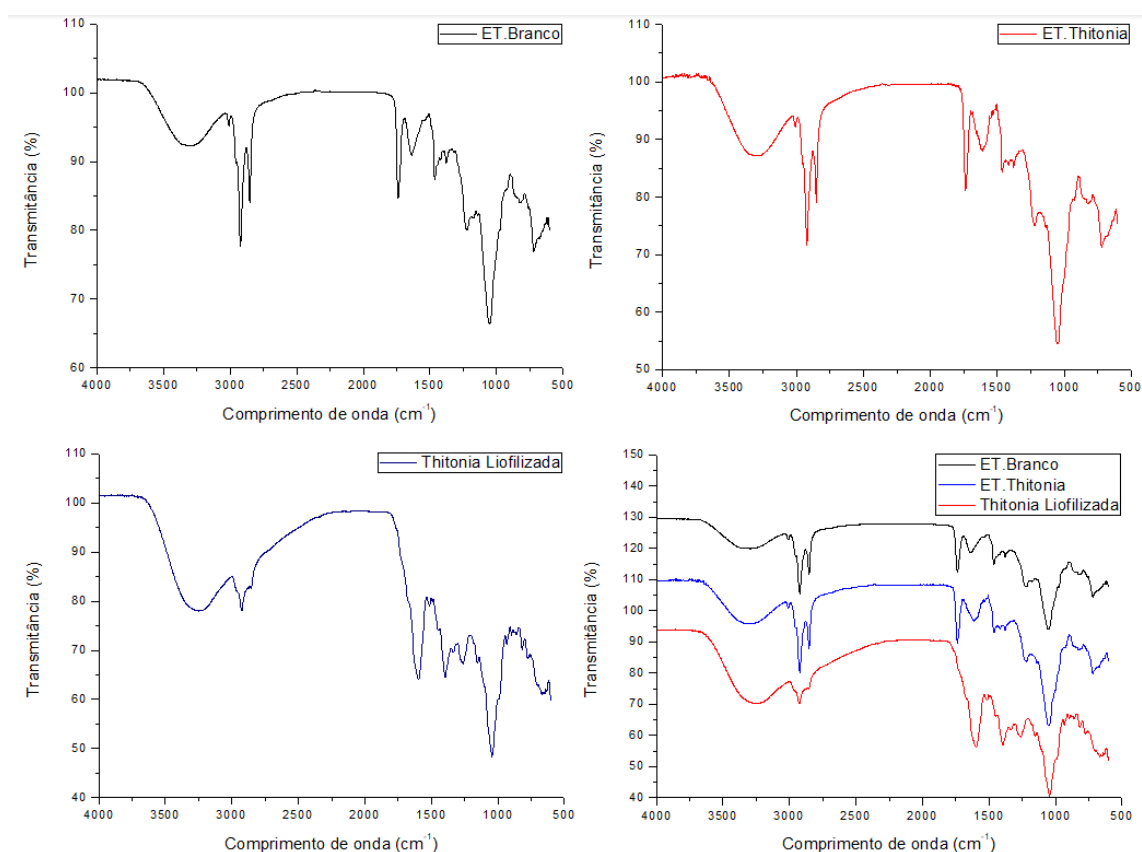
Após a realização da retroevaporação, obteve-se um material sólido na forma de um filme lipídico de coloração caramelo escura e com aspecto de um gel consistente. Ao final do

preparo dos etossomas, gerou-se uma solução turva e relativamente amarelada, sem a presença de material sólido.

Para avaliar o comportamento dos etossomas contendo extrato de flores da planta, realizou-se análises de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e termogravimetria. Contudo, necessitou-se realizar um processo de liofilização com o objetivo de se obter um material sólido, visto que os equipamentos utilizados nas análises não trabalham com compostos líquidos.

As análises de Infravermelho (Figura 6) permitiram observar a existência de alterações, no caso, da composição original dos etossomas. Assim, pode-se obter indícios da incorporação do extrato da planta junto ao etossoma por conta da alteração das bandas no espectro.

Figura 6: Gráficos de espectroscopia de absorção na região do infravermelho da síntese de etossomas

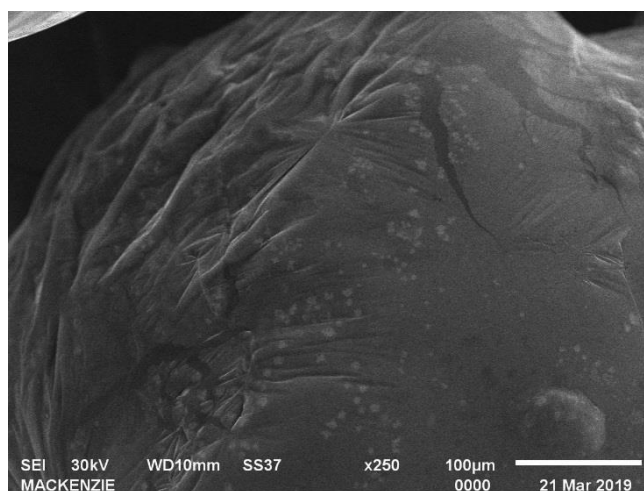
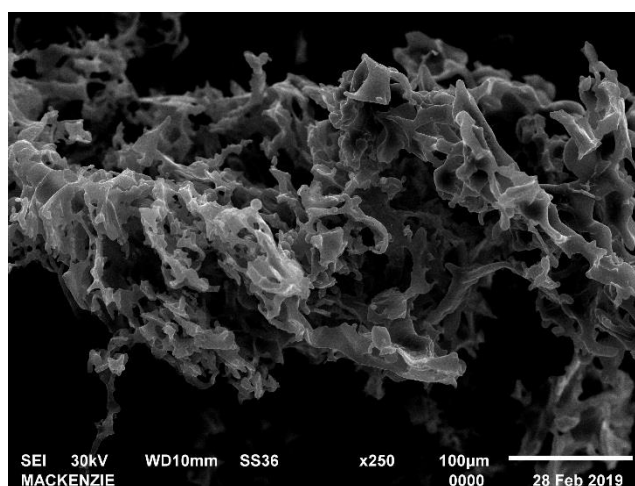
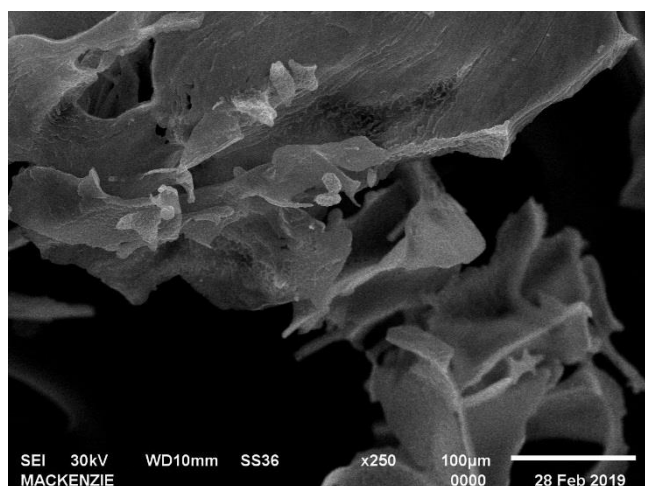


Fonte: Os autores (2019)

Interpretando os espectros de infravermelho obtidos, nota-se que o etossoma branco apresenta uma banda característica que se apresenta também na análise do extrato de flores de *Tithonia diversifolia*, permanecendo após a incorporação do extrato, alterando apenas a sua intensidade. Dessa forma observando-se nas amostras alguns grupos funcionais de

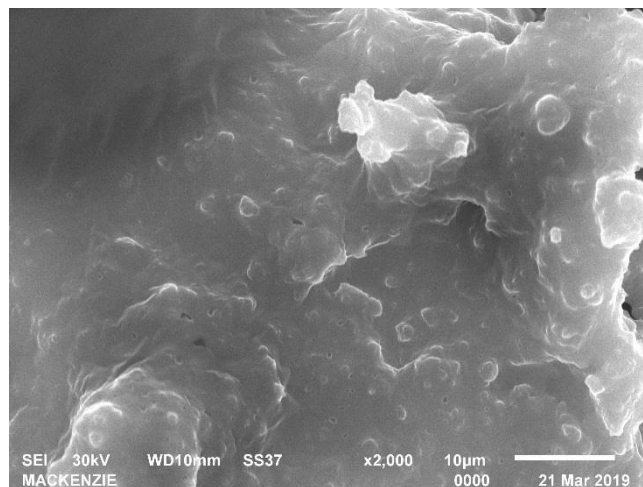
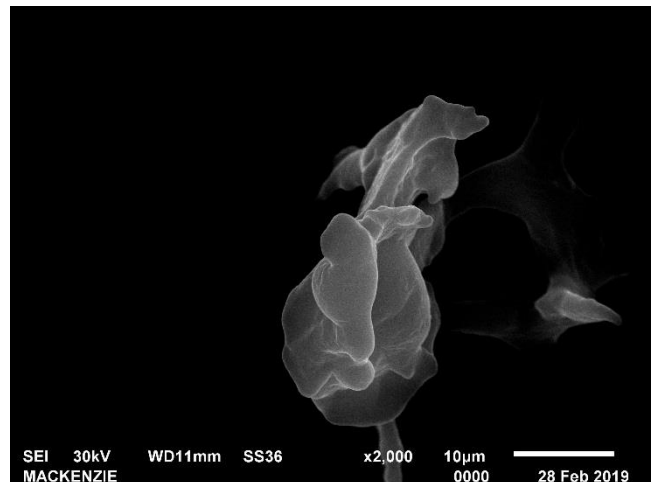
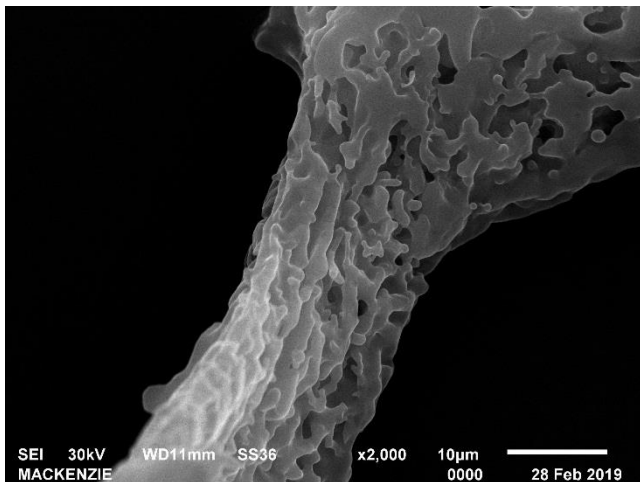
grande importância, sendo eles, também observados nos etossomas brancos, alcenos, aldeídos e anéis aromáticos. No etossoma com *Tithonia diversifolia* incorporada encontram-se também alcenos, aldeídos e anéis aromáticos, enquanto no extrato de *Tithonia diversifolia* liofilizado é possível encontrar apenas anéis aromáticos em grande quantidade (SILVERSTEIN, 1979). Comparando o espectro do etossoma branco e do etossoma com a *Tithonia diversifolia*, percebe-se que o etossoma não sofreu grandes mudanças, mesmo com a mudança de intensidade de algumas bandas após a incorporação da *Tithonia diversifolia*, dando indícios que o extrato foi incorporado aos etossomas, devido a supressão do espectro da *Tithonia diversifolia*. O infravermelho mostra as possíveis alterações estruturais apresentadas no material obtido, mas não permite uma análise dos aspectos morfológicos do etossoma. A partir dos resultados obtidos na microscopia eletrônica de varredura (Figuras 7, 8 e 9), pode-se entender a influência do extrato de *Tithonia diversifolia* sobre o etossoma.

Figura 7: Imagens das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras de etossomas brancos, etossomas com extrato de *T. diversifolia* e extrato alcoólico de *T. diversifolia* em 250x respectivamente



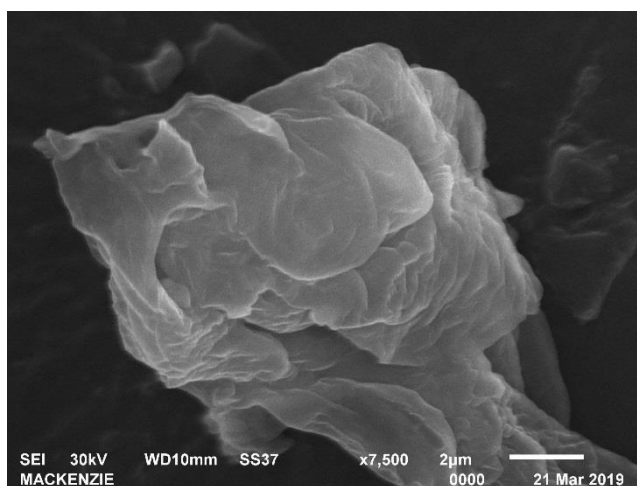
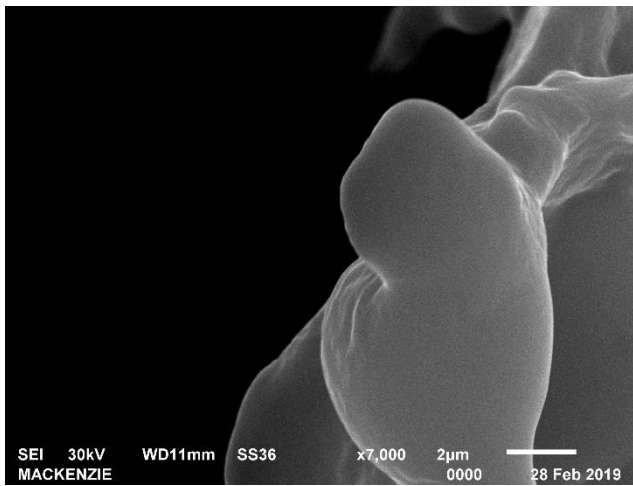
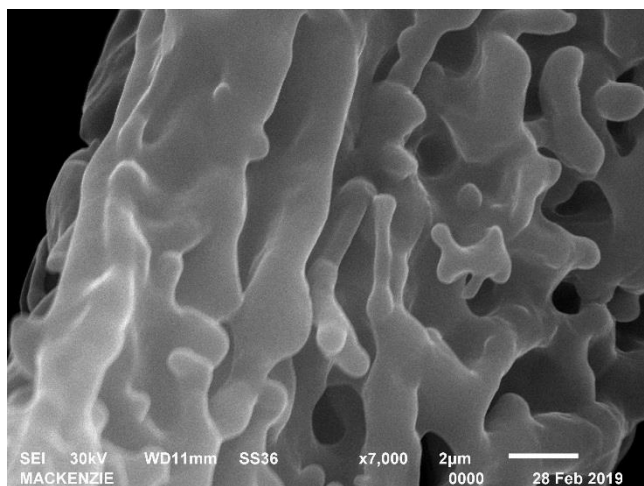
Fonte: Os autores (2019)

Figura 8: Imagens das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras de etossomas brancos, etossomas com extrato de *T. diversifolia* e extrato alcoólico de *T. diversifolia* em 2000x respectivamente



Fonte: Os autores (2019)

Figura 9: Imagens das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das amostras de etossomas brancos, etossomas com extrato de *T. diversifolia* e extrato alcoólico de *T. diversifolia* em 7000x respectivamente



Fonte: Os autores (2019)

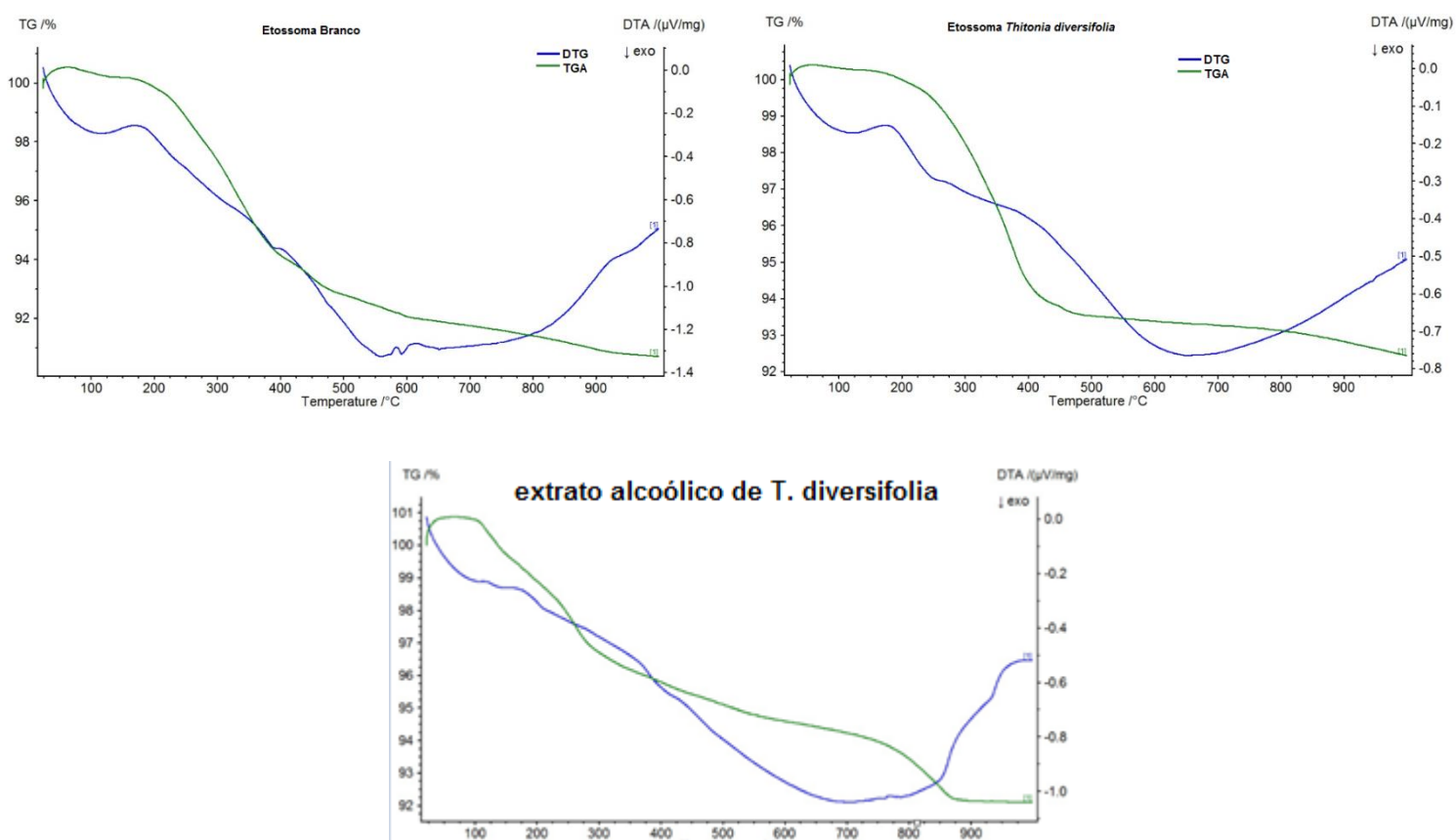
Observou-se que o etossoma branco apresenta uma grande área de contato, devido a sua forma irregular, possuindo muitas vilosidades, permitindo a deposição do fármaco para a formação de um sistema nanoestruturado de liberação de fármacos. Notou-se também a presença de uma área superficial mais lisa no extrato de *Tithonia diversifolia* (observando a imagem com aumento de 7000x), o que pode permitir uma melhor incorporação para um fármaco.

Analisando as imagens dos etossomas com o extrato, percebe-se a presença de poros dentro da estrutura, mostrando que a estrutura dos etossomas quando incorporado a *Tithonia*

diversifolia forma aglomerados de pequenas partículas lisas. Assim, sugere-se que houve a incorporação adequada do extrato de *Tithonia diversifolia*.

As análises termogravimétricas (Figura 10) auxiliam no entendimento da estabilidade térmica das amostras de etossoma bem como o extrato de *Tithonia diversifolia*.

Figura 10: Curvas referentes às análises de TG etossomas branco, etossoma com extrato de *Tithonia diversifolia*, e o extrato alcoólico de *Tithonia diversifolia*, obtidas utilizando-se cápsula de alumínio selada, razão de aquecimento de 10°C/min e atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 100mL/minuto.



Fonte: Os autores (2019)

Analisando os resultados obtidos, tem-se duas curvas: as curvas de TG e as de DTA. Na curva de TG dos etossomas brancos, percebe-se que sua perda de massa ocorre em mais de uma etapa e sua degradação total está acima de 900°C. A curva de DTA indica, a partir dos picos endotérmicos, onde as perdas de massa ocorrem.

Nos etossomas com extrato de *Tithonia diversifolia*, a curva de TG mostra que a perda de massa acontece de em uma etapa entre 250 e 375°C. Contudo, não há mudança na temperatura de degradação total da amostra, se mantendo acima de 900°C. Assim como na curva de DTA dos etossomas brancos, nos etossomas com a *Tithonia diversifolia* existe um pico endotérmico indicando a perda de massa. A curva de TG do extrato de *Tithonia diversifolia* mostra leves perdas de massa, sendo duas que estão entre 150 e 550°C. Além disso, a degradação total da amostra ocorre em 875°C, mostrando que o extrato apresenta uma alta estabilidade térmica. A curva de DTA indica como as perdas de massa são suaves.

Esses resultados indicam que o etossoma auxilia na estabilidade térmica do extrato, apesar desse extrato isolado já apresentar uma estabilidade considerável. Outro fator é que o extrato de *Tithonia diversifolia* não interferiu fortemente na estabilidade do etossoma, indicando a efetividade da incorporação do extrato a matriz lipídica.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Aparentemente a técnica empregada na síntese das nanoestruturas mostra-se como uma técnica inovadora. Da mesma forma, é possível ressaltar como uma vantagem, o emprego de um extrato vegetal, que apresenta como suas principais atividades no organismo atividades anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, antiviral, e antiparasitária, sendo uma alternativa sustentável, com maior aceitabilidade no mercado quando comparado a um medicamento sintético.

É possível observar que o sistema de liberação contendo o extrato de flores de *Tithonia diversifolia* mostra-se promissor para o mercado, tendo diversas vantagens, além de explorar áreas pouco pesquisadas. O nanossistema delineado com extrato de *Tithonia diversifolia* obteve resultados satisfatórios frente as análises, tanto quanto a estabilidade quanto a incorporação do fármaco, ocorrendo como desejado no início da pesquisa. Apesar de diversos indicativos ainda devem ser realizadas mais análises que irão sugerir maior estabilidade e já pode ser considerado um sistema inovador.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, Ana Filipa Valente et al. Sistemas nanoparticulados aplicados à dermocosmética. 2016. Dissertação de Mestrado.
- CARVALHO, Liliana Paredes et al. Nanotecnologia aplicada à dermocosmética. 2018. Dissertação de Mestrado.
- COELHO, Jéssica Aparecida et al. Avaliação in vitro das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de extratos orgânicos das cascas da do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg). 2017.
- DA GAMA, Robson Miranda, GUIMARÃES, Marcelo, et al. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray dry flowers. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v. 4, n. 9, p. 740-742, 2014.
- DE BRITO COSTA, Edja Maria Melo et al. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 46, n. 3, p. 175-180, 2010.
- DEPOSITPHOTOS **imagens de bancos de imagens**. Publicado em 13 de fevereiro de 2016. Disponível: <<https://br.depositphotos.com/99179468/stock-photo-yellow-tithonia-diversifolia-flowers.html>>. Acesso em: 16/12/2019.
- DIMER, Frantiescoli Anversa et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. Química nova. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1978-. Vol. 36, n. 10,(2013), p. 1520-1526, 2013.
- FERNANDES, Marta Sofia Ramalhinho Silva Martins. Nanotecnologia na dermofarmácia: Aplicação ao tratamento da acne. 2016. Tese de Doutorado.
- MARTINI, Frederic H.; TIMMONS, Michael J.; TALLITSCH, Robert B. Anatomia Humana:- Coleção Martini. Artmed Editora, 2009.
- MUSIAL, DIEGO CASTRO et al. Identificação fitoquímica de alguns dos grupos de interesse farmacêutico na *tithonia diversifolia*. REVISTA UNINGÁ, v. 26, n. 1, 2017.
- PAULA, Daniela Aparecida Chagas de. Atividade anti-inflamatória e caracterização fitoquímica do chá e de diferentes extratos de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae). 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- PINTO, Angelo C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. Química nova, p. 45-61, 2002.

ROSSI-BERGMANN, Bartira. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. *Ciência e Cultura*, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.

SARMIENTO, Angelica Maria Sanchez. Determinação de pesticidas organoclorados em tecidos de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) provenientes da costa sudeste do Brasil: estudo da ocorrência em animais com e sem fibropapilomatose. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SILVA, José Alexsandro da et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas básica e aplicada*, v. 31, n. 3, p. 125-131, 2010.

SILVERSTEIN, Michael. Language structure and linguistic ideology. The elements: A parasession on linguistic units and levels, p. 193-247, 1979.

SOARES, Margarida et al. Permeação cutânea: desafios e oportunidades. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciencies*, v. 36, n. 3, 2016.

TRINDADE, Marta Alexandra Leitão et al. Nanotecnologia aplicada a sistemas transdérmicos. 2017. Dissertação de Mestrado.

VIEIRA, Carla Monalizi. Farmacocinética pré-clínica e avaliação toxicológica preliminar da nova tiazolidinadiona desenvolvida para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2: 5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2, 4-diona (GQ-2). 2013.

Contatos:

lorenzohcp@hotmail.com e marcelo.guimaraes@mackenzie.br