

DESENVOLVIMENTO E SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO *THITONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL) A. GRAY

Anna Luiza de Aveiro Ruocco (IC) e Marcelo Guimarães (Orientador)

PIBIC Mackenzie

RESUMO

As nanopartículas são sistemas formados por polímeros biodegradáveis, sintéticos ou naturais, que têm ganhado cada vez mais espaço em diferentes segmentos da indústria, sendo alvos de grandes pesquisas. Estas pequenas partículas apresentam diversas características promissoras aplicáveis na área da saúde, incluindo: a liberação de fármacos em sítios específicos, melhora da solubilidade e estabilidade dos princípios ativos, assim como da velocidade de distribuição do fármaco. A combinação da nanotecnologia com plantas medicinais, pode ser capaz de potencializar a ação de extratos de plantas. Para tanto, muitos sistemas de liberação inovadores têm surgido, incluindo as nanopartículas poliméricas. Este estudo teve como objetivo principal desenvolver e sintetizar nanopartículas poliméricas acrescidas com o extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray para possíveis aplicações futuras, visando a melhoria da estabilidade do princípio ativo e de sua ação terapêutica. A síntese das nanopartículas ocorreu através do processo de polimerização por emulsão, realizada a 800 rpm, onde foram adicionados a uma solução aquosa de HCl 0,01M (pH 2,5) o monômero *n*-butil-cianoacrilato (BCA) juntamente com Dextran®, com posterior incorporação do extrato da planta e neutralização do meio com NaOH. A estabilidade do mesmo foi avaliada quanto a estabilidade física e variação do pH antes e após a adição do extrato, não demonstrando variações significativas.

Palavras-chave: nanopartículas poliméricas; *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray; poli (n-butyl cianoacrilato)

ABSTRACT

Nanoparticles are systems formed by biodegradable, synthetic or natural polymers, that have gained significant importance in different industry segments, as well as being the highlight of essential researches. These tiny particles are applicable in the health segment, as they present various promising characteristics, such as: site-specific and gradual drug release, as well as improvement of active principle solubility and stability. The combination of nanotechnology with medicinal plants could be able to enhance the action of plant extracts, such so that many innovative drug carriers have emerged, including polymeric nanoparticles.

The objective of this study was to develop and synthesize polymeric nanoparticles containing *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray aqueous extract, aiming to improve the active principle's stability and its therapeutic action, for possible future applications. The nanoparticle was synthesized through the process of emulsion polymerization, at 800 rpm, where the monomer n-butyl-cyanoacrylate together with Dextran® were incorporated into an aqueous HCl solution (0,01M, pH 2,5), with posterior addition of the aqueous plant extract and final reaction neutralization with NaOH. The nanoparticle system was then evaluated taking into consideration physical stability and pH variation prior and posterior to the addition of the extract. The results showed no significant variations.

Keywords: polymeric nanoparticles; *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray; poly (n-butyl-cyanoacrylate)

1 INTRODUÇÃO

Na última década houve uma intensificação das pesquisas de vetores que possam controlar a liberação de fármacos em sítios específicos de ação, melhorando tanto a velocidade de distribuição quanto o regime de dosagem. Os principais sistemas estudados, com essas finalidades, tem sido as micropartículas e os sistemas coloidais (lipossomas e nanopartículas). As nanopartículas, sistemas formados por polímeros biodegradáveis, sintéticos ou naturais, tem sido empregada em vários segmentos tecnológicos e biomédicos pela facilidade do controle das estruturas químicas, das funcionalidades de superfície e do diâmetro das partículas. (AKAGI *et al.*, 2007)

Várias estratégias nanotecnológicas, tais como nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, sistemas de cristais líquidos, sistemas precursores para cristais líquidos, lipossomas e microemulsões permitem que substâncias com propriedades diferentes possam ser usadas na mesma formulação, permitindo alterar as propriedades e o comportamento de uma substância em um ambiente biológico. (BONIFÁCIO *et al.*, 2014). É também conhecido que as nanoestruturas podem melhorar a solubilidade e a estabilidade dos princípios ativos, aumentar a ação de uma formulação e combinar com sucesso substâncias ativas de diferentes graus de hidrofilia / lipofilia . Esta tecnologia pode, ainda, ser empregada para se conseguir a distribuição de uma substância para tecidos ou órgãos específicos. (SINTOV & SHAPIRO, 2004; CUNHA *et al.*, 2003).

Em paralelo, a utilização de plantas como medicamentos tem sido descrita ao longo da evolução da humanidade. A investigação da composição química das plantas medicinais e das suas aplicações para uso geral vem despertando crescente interesse em várias comunidades científicas, em razão de proporcionar o desenvolvimento de produtos inovadores e que possuam menor potencial de efeitos colaterais (COSTA *et al.*, 2010). O uso popular das diferentes espécies de plantas aliado ao conhecimento de estudos científicos da aplicabilidade delas, em medicina, também tem sido importante para o desenvolvimento da indústria farmacêutica. Dados demonstram que, de 1981 a 2006, cerca de 50% dos fármacos aprovados para uso eram derivadas de produtos naturais, direta ou indiretamente. (FERREIRA & PINTO, 2010).

A combinação de plantas medicinais com nanotecnologia, em razão dos sistemas nanoestruturados, pode ser capaz de potencializar a ação de extratos de plantas, reduzindo as doses necessárias, bem como os efeitos colaterais esperados, e, conseqüentemente, implementando a atividade do medicamento. Os nanossistemas podem levar o constituinte ativo, em concentração suficiente, dirigindo-o para o sítio específico da ação desejada, durante o todo o processo de tratamento.

Os processos nanotecnológicos envolvendo plantas têm sido alvos de pesquisas, resultando no desenvolvimento de muitos sistemas de liberação inovadores, inclusive as nanopartículas poliméricas. Esses materiais são feitos de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis e representam uma opção para liberação controlada das drogas. As nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais que funcionam como vetores para controlar a liberação do fármaco, direcionando-o para localizações específicas. Comparado com formulações convencionais as nanopartículas poliméricas são capazes de aumentar a solubilidade dos constituintes, reduzir a dose terapêutica e melhorar a absorção dos componentes ativos. Além disso, as nanopartículas, quando circulam na corrente sanguínea, possuem as vantagens de serem estáveis, não tóxicas, não trombogênicas, não imunogênicas, não inflamatórias (BONIFÁCIO *et al.*, 2014). As nanopartículas poliméricas podem ser sintetizadas utilizando vários métodos, tendo diâmetros que variam de 10 a 1000 nanômetros. Os métodos mais empregados para a produção de nanopartículas poliméricas são: polimerização *in situ* (com monômeros dispersos) e método de precipitação dos polímeros pré-formados. Mas, independentemente do método escolhido, os produtos são obtidos como suspensões coloidais aquosas. (BONIFÁCIO *et al.*, 2014). A microemulsão é emulsão transparente, onde um óleo é disperso em um veículo aquoso, ou vice-versa, e que contém um tensoativo, com ou sem a presença de um co-tensoativo apropriado. Isso gera um sistema termodinamicamente estável.

As substâncias ativas podem ser carregadas pela microemulsão, quando solubilizadas na fase aquosa ou oleosa. As microemulsões promovem um ambiente restrito com propriedades particulares e são capazes de ligar ou associar moléculas de diferentes grupos de fármacos, com a finalidade de melhorar a solubilidade, a estabilidade ou a biodisponibilidade dos fármacos. (OLIVEIRA & SCARPA, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2002).

Vários autores têm estudado alguns princípios ativos de plantas com ações específicas tanto antioxidantes quanto cicatrizantes. Dentro da família Asteraceae, a espécie *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. tem sido utilizada como planta medicinal (LACERDA *et al.*, 2011), possuindo ação antiinflamatória (OWOYELE *et al.*, 2004) e contendo compostos químicos como fenóis totais, taninos e flavonóides que contribuem também para uma ação antioxidante (GAMA *et al.*, 2013), anticancerígena (CHOWDHURY *et al.*, 2002; CAI *et al.*, 2004), antimicrobiana (NASCIMENTO *et al.*, 2000; CUSHINE & LAMB, 2005) e cicatrizante (NAYAK & PEREIRA, 2006).

Estudos dermatológicos têm identificado diversos fatores responsáveis pelo envelhecimento da derme, observando que este é regido não apenas pela genética do indivíduo, mas também por fatores extrínsecos pertencentes ao ambiente no qual o

indivíduo se encontra. Alguns fatores como mudanças hormonais, estresse, raios ultravioletas (UV), entre outros, podem acabar ativando mecanismos locais que levam à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO_s) (CADET *et al.*, 2009). Estas espécies ocorrem naturalmente nas células do organismo, porém, em situações de estresse oxidativo, os seus níveis podem aumentar significativamente a ponto de causar dano às células (BRIEGER *et al.*, 2012). A atividade biológica destas espécies pode ser reduzida pelo emprego de antioxidantes naturais oriundos de plantas ou de seus componentes, e são representados principalmente pelos flavonoides e outros polifenóis (THIELECKE & BOSCHMANN, 2009).

Este estudo tem como objetivo principal desenvolver e sintetizar nanopartículas poliméricas a partir de um monômero, com incorporação do extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray para possíveis aplicações futuras, visando a melhoria da estabilidade do princípio ativo e de sua ação terapêutica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Preparo das nanopartículas

Existem diversos métodos para o preparo de nanopartículas poliméricas, havendo métodos baseados na polimerização *in situ* de monômeros dispersos (cianoacrilatos de alquila), na precipitação de polímeros pré-formados, tais como poli (ácido láctico), poli (ácido láctico-co-ácido glicólico), poli (ε-caprolactona) e copolímeros do ácido metacrílico e de um éster acrílico ou metacrílico.

Os métodos baseados na polimerização *in situ* de cianoacrilatos de alquila podem originar nanoesferas, através da polimerização em emulsão, ou nanocápsulas, através da polimerização interfacial. Os métodos baseados na precipitação ou deposição interfacial de polímeros pré-formados fornecem nanoesferas ou nanocápsulas, e o método de emulsificação-difusão é uma alternativa para também preparar nanopartículas a partir de polímeros pré-formados. (GUTERRES *et al.*, 2012)

Segundo a literatura pertinente, o método mais utilizado para o preparo de nanoesferas é o de polimerização em emulsão. Trata-se de um método simples, que não utiliza solvente orgânico, tem tempo de duração relativamente curto, possui poucas etapas, tem um bom rendimento, gera nanopartículas estáveis, e geralmente produz satisfatória porcentagem de fármaco encapsulado. Para a aplicação deste método é necessário controlar fatores como: o pH do meio reacional, o tempo de agitação da polimerização, a

velocidade de agitação da reação e o emprego dos diferentes estabilizantes. (ALYAUDIN, *et al.*, 1997; BEHAN, *et al.*, 2001)

O monômero a ser utilizado é o *n*-butil-cianoacrilato, que através do método de polimerização por emulsão, resulta em um polímero de nome similar, o poli (n-butil cianoacrilato). A seguir, as nanopartículas resultantes devem ser filtradas utilizando membranas com porosidades definidas e centrifugadas para purificação, sendo descartado o sobrenadante (XI-XIAO *et al.*, 2006)

2.2 A incorporação do fármaco

A incorporação do fármaco às nanopartículas pode ocorrer por conta da grande área superficial e da porosidade das estruturas. O extrato pode ser incorporado às nanoesferas antes da adição do monômero, após a iniciação da polimerização, ou adicionado às partículas pré-formadas. (SIMEONOVA *et al.*, 2003).

3 MATERIAL

- Monômero n-butil cianoacrilato (Histoacryl®) – Aesculap AG®
- Soluções de HCl 0,01M e NaOH 0,1M
- Extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.
- Pissete com água destilada
- Papel para pesagem
- Espátula
- Béquer
- Erlenmeyer
- Funil de vidro
- Suporte para funil
- Papel filtro
- Pipeta graduada de 10 mL
- Micropipeta e ponteiros

- Filme plástico
- Potenciômetro - Digimed®
- Agitador magnético
- Barra magnética revestida de vidro (“peixinho”)
- Balança analítica
- Frasco de vidro opaco para guardar o polímero formado

4 MÉTODOS

4.1 Preparo do extrato aquoso

Para a preparação do extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, foi necessário obter amostras de suas flores, passá-las por um processo de secagem utilizando uma câmara de ar quente a aproximadamente 50°C, num período de uma semana. Após este processo, as flores foram reduzidas por um moinho, permanecendo em etanol a 100%, sob agitação e à temperatura ambiente durante 24 horas. Esta mistura passou, então, por um processo de filtração, sendo concentrado o extrato no evaporador rotativo, ligado a uma bomba de vácuo até atingir a concentração de 0,1 g/mL. (ARMANDO-JÚNIOR, 2014)

4.2 Preparo das soluções

Para a síntese das nanopartículas, duas soluções foram previamente preparadas: solução de ácido clorídrico (HCl) e solução de hidróxido de sódio (NaOH). A solução de HCl ideal deve ter um potencial hidrogeniônico (pH) próximo a 2,5, pois a polimerização é pH dependente, ocorrendo melhor em meio ácido. Já a solução de NaOH deve ser básica, para neutralizar o pH ácido do meio reacional e assim interromper a reação de polimerização (SCHAFFAZIK *et al.*, 2003; VAUTHIER *et al.*, 2003).

As soluções preparadas foram:

- HCl 0,01M com pH 2,5
- NaOH 0,1M com pH básico de 12,7 (na primeira medição)

4.3 Preparo das nanopartículas utilizando n-butil cianoacrilato (BCA)

Para o preparo das nanopartículas “brancas” (PBCA – Branco), ou seja, aquelas que contêm apenas o polímero, utilizou-se a solução de HCl 0,01 M previamente preparada, verificando se o pH da mesma encontrava-se em um valor de 2,5, ajustando o mesmo se necessário. Procedeu-se então para a pesagem de 100mg (0,01g) do emulsionante/estabilizante Dextran® e, transferiu-se o mesmo para um Erlenmeyer de 150mL. Adicionou-se 10mL da solução de HCl 0,01M (pH 2,5) com auxílio de uma pipeta graduada de 10 mL, no Erlenmeyer. Posicionou-se a barra magnética revestida de vidro (“peixinho”) dentro deste último e colocou o mesmo no agitador magnético. Aumentou-se a velocidade cuidadosamente até atingir 800 rpm. Com auxílio de uma micropipeta, 100µL do monômero n-butil cianoacrilato (Histoacryl®) foram adicionados à solução aquosa de HCl. Após uma hora de agitação contínua, adicionou-se então a solução aquosa de NaOH 0,1 M, até atingir a neutralidade ($\text{pH} = 7,0 \pm 0,3$), a fim de finalizar a reação de polimerização. Procedeu-se então para a filtração com auxílio de funil de vidro e papel filtro. Transferiu-se o polímero formado para um frasco de vidro opaco, fechou-se o mesmo e guardou-o na geladeira, sendo nomeado como PBCA - Branco.

4.4 Inclusão do extrato aquoso

Primeiramente, 100mg de Dextran® foram transferidos para um Erlenmeyer e então 10mL da solução aquosa de HCl 0,01M foram adicionados ao mesmo. Sob agitação, 100µL do monômero n-butil cianoacrilato (Histoacryl®) foram acrescentados. Após uma hora de agitação contínua, com auxílio de uma micropipeta (de 1000µL) retirou-se 1mL da nano branca PBCA, sendo esta alíquota transferida para um ependorff devidamente identificado, e guardado em geladeira.

Adicionou-se então 1mL do extrato aquoso da *planta Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. no Erlenmeyer, permanecendo sob agitação por mais três horas. Ao término de quatro horas, com a adição da solução aquosa de NaOH 0,1 M até a neutralização do meio reacional ($\text{pH} = 7,0 \pm 0,3$), obteve-se o término da polimerização. Procedeu-se então para a filtração com papel filtro, estocando o polímero em um frasco de vidro opaco em temperatura refrigerada e, identificando o mesmo como PBCA - Extrato.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A emulsão nanoparticulada apresentou uma coloração esbranquiçada de aspecto leitoso (Figura 1).

Figura 1 Cor da emulsão antes da adição do extrato aquoso



A estabilidade física da emulsão final contendo o extrato foi avaliada, a fim de se descobrir se o extrato aquoso iria ou não reagir de forma indevida com o polímero.

O extrato aquoso incorporado possuía coloração amarelada (Figura 2), mas após sua adição ao polímero, a emulsão continuou com tonalidade esbranquiçada (Figura 3), permanecendo assim até o final do estudo. A separação de fases também não foi evidenciada, sugerindo que esta combinação obteve uma boa estabilidade.

Figura 2 Coloração do extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.



Figura 3 Comparação entre as emulsões obtidas com a adição do extrato aquoso da planta e sem a adição, respectivamente, alguns dias após a síntese



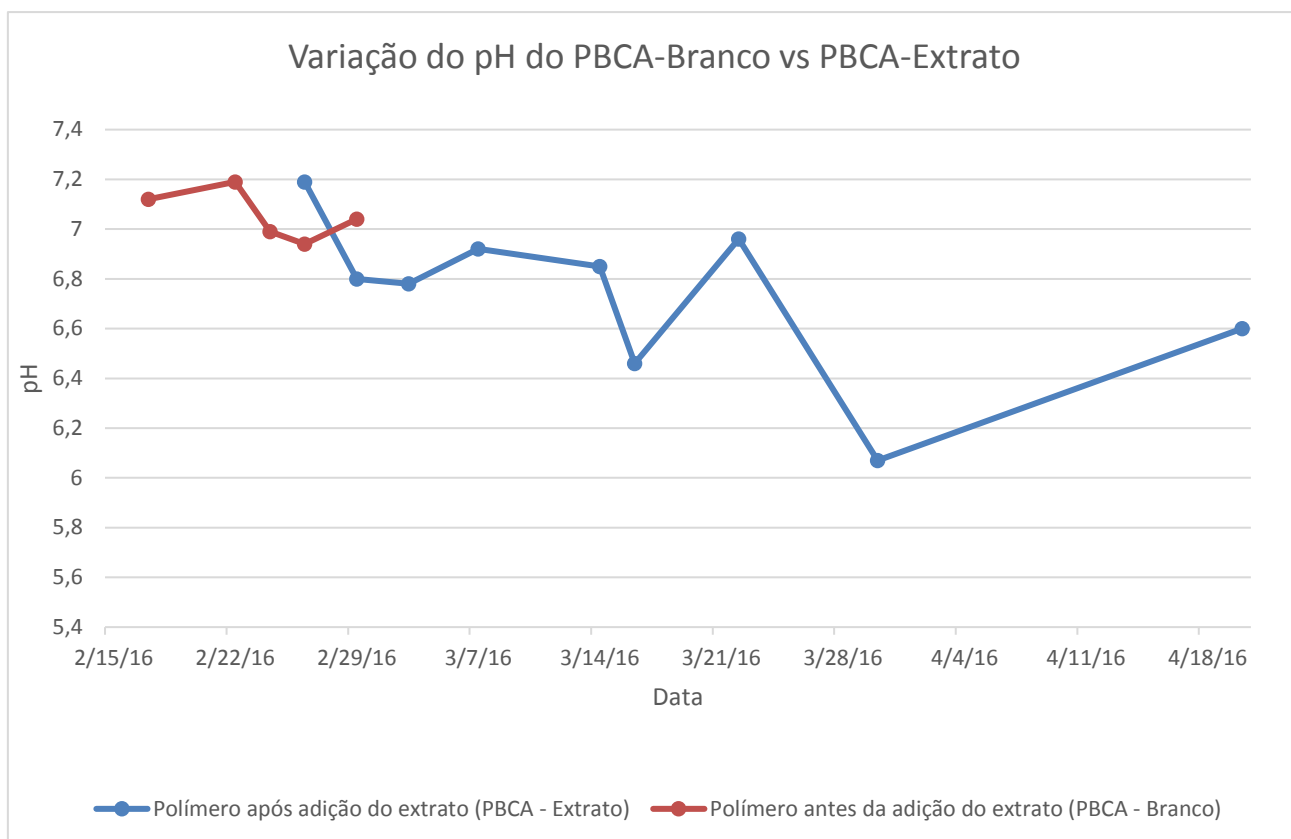
Todas as soluções, extratos e polímeros obtidos foram constantemente monitorados em relação a variação de seus pH (Tabela 1). As leituras foram realizadas em triplicatas e uma média destas foi calculada para cada componente.

Tabela 1 Valores de pH obtidos das leituras das soluções, polímero e extrato aquoso

Data	pH							
	Solução HCl corrigido (0,01M)	Solução HCl 1 (0,01M)	Solução HCl 2 (0,01M)	Solução NaOH 1 (0,1M)	Solução NaOH 2 (0,1M)	Extrato aquoso	Polímero após adição do extrato (PBCA - Extrato)	Polímero após correção do pH (PBCA- Branco)
15/02/16	2,47	—	—	12,73	—	—	—	—
17/02/16	2,50	—	—	12,73	—	—	—	7,12
22/02/16	2,57	2,24	2,53	12,88	12,94	—	—	7,19
24/02/16	2,52	2,37	2,26	12,88	12,87	—	—	6,99
26/02/16	2,58	2,40	2,60	13,15	13,03	4,16	7,15	6,94
29/02/16	2,18	—	—	12,88	—	4,14	6,80	7,04
03/03/16	—	2,20	2,49	13,04	12,89	3,76	6,78	—
07/03/16	—	2,05	2,30	12,99	13,43	4,42	6,92	—
14/03/16	—	2,51	2,28	12,91	13,04	4,07	6,85	—
16/03/16	—	2,24	1,92	12,82	12,8	4,88	6,46	—
22/03/16	—	2,74	2,74	13,46	13,36	4,4	6,96	—
30/03/16	—	2,44	2,41	12,69	12,77	4,37	6,07	—
20/04/16	—	2,27	2,36	12,76	12,86	4,00	6,60	—

Os valores e datas destacados em vermelho são referentes aos dias nos quais ocorrem as sínteses do polímero sendo: PBCA- Branco sintetizada no dia 17/02/16 e PBCA - Extrato no dia 26/02/16. Os valores lidos após estas datas foram para análise da estabilidade do pH do polímero branco comparado ao que contém o extrato, para investigação de uma possível interferência do extrato aquoso na estabilidade da emulsão.

Gráfico 1 Comparação semanal dos valores de pH da emulsão com e sem o extrato aquoso



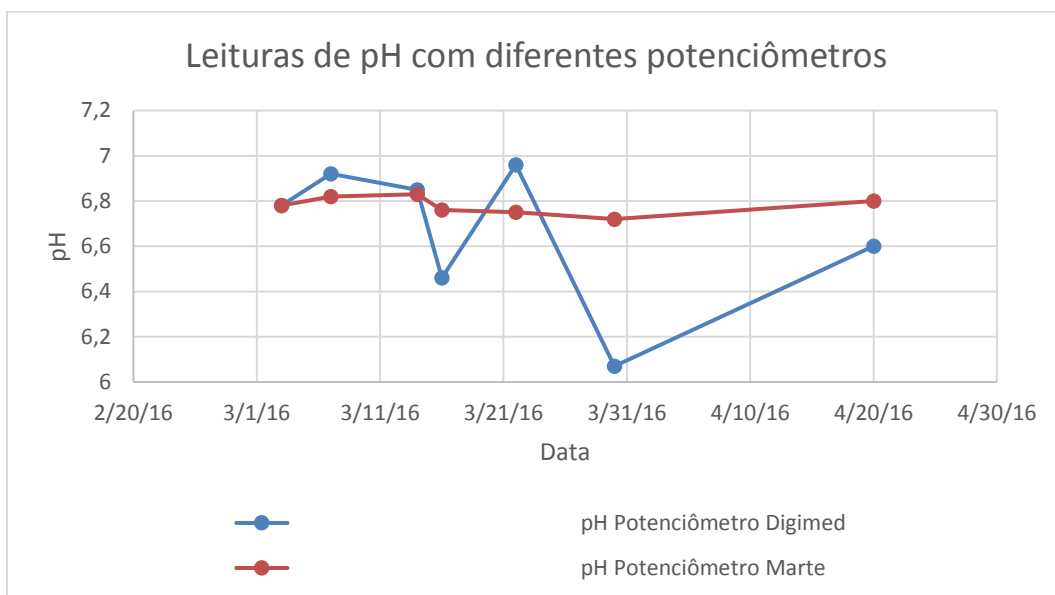
Ambas as emulsões PBCA-Branco e PBCA-Extrato partiram de um $\text{pH} = 7,0 \pm 0,3$, já que este é o pH necessário para o término da reação de polimerização. Através das semanas é possível ver que o PBCA-Branco manteve o seu pH relativamente estável, permanecendo dentro da variação de $\pm 0,3$ estabelecida previamente. Porém, ao analisar o gráfico para o PBCA- Extrato é possível notar que a diferença de pH foi muito mais significativa, atingindo um pH próximo de 6,00.

Uma possível explicação para esta variação vem do próprio potenciômetro usado para as leituras. As leituras do pH do PBCA- Extrato foram então realizadas com outro potenciômetro da marca Marte®, e uma comparação foi feita entre os dois equipamentos.

Tabela 2 Medidas de pH com dois potenciômetros diferentes

Data	pH	
	Potenciômetro Digimed	Potenciômetro Marte
03/03/16	6,78	6,78
07/03/16	6,92	6,82
14/03/16	6,85	6,83
16/03/16	6,46	6,76
22/03/16	6,96	6,75
30/03/16	6,07	6,72
20/04/16	6,60	6,80

Gráfico 2 Comparação da variação do pH com dois potenciômetros diferentes



A análise comparativa entre as leituras de pH com os dois diferentes potenciômetros, mostrou que os valores obtidos com o potenciômetro Digimed® tiveram uma variação maior. Em contrapartida, os valores lidos com o potenciômetro Marte® tiveram uma menor oscilação (de 6,83 – 6,72), permanecendo dentro da variação de $\pm 0,3$ estabelecida a partir do pH inicial 7. Portanto, a partir destes dados realizados com um novo potenciômetro é possível dizer que o extrato aquoso não teve uma interferência significativa na estabilidade da emulsão.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A síntese de nanopartículas, sejam elas poliméricas ou não, com a incorporação de fármacos ou ativos é de extrema importância para o desenvolvimento desta crescente área. O desenvolvimento das nanoesferas de poli (n-butil-cianoacrilato), permitiu a adição do extrato aquoso da planta *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray, obtendo-se uma emulsão. Ao se efetuar uma análise preliminar desta, foi possível demonstrar que a mesma permaneceu estável quanto às suas características físicas e o seu potencial hidrogeniônico. Estes resultados demonstraram que há uma possível utilização e futura para este método, podendo este estudo ser levado adiante com aplicabilidades em diversas formulações. Vale a pena salientar que outros aspectos podem ser mais estudados como, a utilização de um revestimento visando aumentar a estabilidade da nanopartícula, e análises mais aprofundadas utilizando, por exemplo, espectroscopia no infravermelho.

7 REFERÊNCIAS

- AKAGI, T; BABA, M; AKASHI, M. Polymer 2007, 48, 6729. [CrossRef]. www.crossref.org, ultimo acesso em 8/05/2015.
- ALYAUTDIN, R.N.; PETROV, V.E.; LANGER, K.; BERTHOLD, A.; KHARKEVICH, D.A.; KREUTER, J. Delivery of loperamide across the blood brain barrier with polyssorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 3, p. 325-328, 1997.
- ARMANDO-JÚNIOR, J. Avaliação do efeito do extrato etanólico das flores secas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. veiculado em emulsão no processo de reparação tecidual induzido na pele de ratos wistar. Faculdade de Medicina do ABC. 2014.
- BEHAN, N.; BIRKINSHAW, C.; CLARKE, N. Poly nbutyl cyanoacrylate nanoparticles: a mechanism study of polymerization and particle formation. *Biomaterials*, v.22, p. 1335-1344, 2001.
- BONIFÁCIO BV; SILVA PB; RAMOS MAS; NEGRI KMS; BAUAB T M; CHORILLI M. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *Int J Nanomedicine*. 2014; 9: 1–15.
- BRIEGER K, SCHIAVONE S, MILLER FJ JR, KRAUSE KH. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly* 2012; 142: w13659.
- CADET J, DOUKI T, RAVANAT JL, DI MASCIO P. Sensitized formation of oxidatively generated damage to cellular DNA by UVA radiation. *Photochem Photobiol Sci* 2009; 8: 903-911.

CAI Y.; LUO Q.; SUN M.; CORKE H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*. v. 74, n.11, pp. 2157-2184, 2004.

CHOWDHURY A.R.; SHARMA S.; MANDAL S.; GOSWAMI A.; MUKHOPADYAY S.; MAJUMDER H.K. Luteolin, an emerging anti-cancer flavonoid, poisons eukaryotic DNA topoisomerase I. *Biochemistry Journal*. v. 366, n. 5, pp. 653-661, 2002.

COSTA EMMB, BARBOSA AS, ARRUDA TA, et al. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. *J Bras Patol Med Lab*. 2010;46(3):175–180.

CUNHA ASC, JR, FIALHO SL, CARNEIRO LB, ORÉFICE F. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. *Arq Bras Oftamol*. 2003;66(3):385–391.

CUSHINE T.P.T.; LAMB A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal Antimicrobials Agents*. v. 26, n. 5, pp. 343,356, 2005.

FERREIRA VF; PINTO AC. A fitoterapia no mundo atual. *Quim Nova*. 2010;33(9):1829.

GAMA R.M.; GUIMARÃES M.; ARMANDO-JÚNIOR J.; ABREU, L. C. de. Phytochemical screening and antioxidante activity of etanol extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. dry flowers. *Asian Pac J Trop Biomed* 2014; 4(9): 740-742.

GUTERRES, S.S.; BNVENUTTI, E.V.; POHLMANN, A.R. Nanopartículas poliméricas para administração de fármacos. In: DURÁN, N.; MATTOSO, L.H.C.; MORAIS, C.P. (eds), *Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*. 2 ed. Artliber Editora. São Paulo, 2012.

KHAN RA, KHAN MR, SAHREEN S, AHMED M. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chem Cent J* 2012; 6: 12.

LACERDA A.M.; MODOLO A.K.; MATIAS R.C.; PISTORI H.; YANO M.; ROEL A.R.; PORTO A.R. Screening of plants with potential phototoxic. *Revista Brasileira de Farmácia*. v. 92, n. 4, pp. 352-355, 2011.

NASCIMENTO G.G.F.; LOCATELLI J.; FREITAS P.C.; SILVA G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal Microbiology*. v. 31, n. 2, pp. 247-256, 2000.

NAYAK B.S.; PEREIRA L.M.P. Catharanthus roseus flower extract has wound- healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. V. 6, n.4, 2006.

OLIVEIRA AG, SCARPA MV. Microemulsões I: fundamentos teóricos da formação do sistema microemulsionado. *Infarma*. 2001;13(9–10):73–79.

OLIVEIRA AG, SCARPA MV, CERA LFR. Microemulsões II: aplicações de liberação de fármacos. *Infarma*. 2002;14(7–8):76–80.

OWOYELE V.B.; WURAOLA C.O.; SOLADOYE A.O.; OLALEYE S.B. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology*. V. 90, n. 2, pp. 317-321, 2004.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v. 26, n.5, p. 726-737, 2003.

SIMEONOVA, M.; IVANOVA, G.; ENCHEV, V.; MARKOVA, N.; KAMBUROV, M.; PETKOV, C.; DEVERY, A.; O'CONNOR, R.; BROUGHAM, D. Physicochemical characterization and in vitro behavior of daunorubicin-loaded poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, v. 5, p. 2109–2121, 2009.

SINTOV AC, SHAPIRO L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. *J Control Release*. 2004;95(2):173–183.

THIELECKE F, BOSCHMANN M. The potential role of green tea catechins in the prevention of metabolic syndrome- a review. *Phytochemistry* 2009; 70: 11-24.

VAUTHIER, C, DUBERNET, C, FATTAL E, PINTO-ALPHANDARY H, COUVREUR P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. V. 55, n. 4, p. 519-548, 2003.

XI-XIAO, Y.; JAN-HAI, C.; SHI-TING, L.; DAN, G.; XV-XIN, Z. Polybutylcyanoacrylate nanoparticles as a carrier for mitomycin C in rabbits bearing VX2-liver tumor. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.46, p. 211-217, 2006.

CONTATOS: naluruocco@gmail.com (IC) e marcelo.guimaraes@mackenzie.br (Orientador)