

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AMANDA MALINI ROCHA SALES**

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS PARA CONTROLE DA LIBERAÇÃO  
DO TIMOL: POTENCIAL USO REPELENTE SOBRE *Rhipicephalus*  
*sanguineus sensu lato***

**BRASÍLIA**

**2021**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AMANDA MALINI ROCHA SALES**

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS PARA CONTROLE DA LIBERAÇÃO  
DO TIMOL: POTENCIAL USO REPELENTE SOBRE *Rhipicephalus*  
*sanguineus sensu lato***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Dra. Tais Gratieri

Co-orientador: Dr. Breno Noronha Matos

**BRASÍLIA**

**2021**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Amanda Malini Rocha Sales

Título: Desenvolvimento de nanocápsulas para controle da liberação do timol: potencial uso repelente sobre *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em:

### Banca Examinadora

---

Profa. Dra. Tais Gratieri  
Universidade de Brasília

---

Profa. Dra. Stephânia Fleury Taveira  
Universidade Federal de Goiás

---

Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy  
Universidade Federal do Ceará

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, porque sem Ele eu não estaria aqui e não seria capaz de chegar onde eu cheguei. Pai, obrigada pela força, pelo amor incondicional e pela paz que excede todo o entendimento.

Obrigada mãe, pai e Luísa, minha família, pelo apoio emocional, pela comemoração nas vitórias, pelo consolo nas derrotas, enfim, por sempre estarem presentes. Sou muito privilegiada por ter vocês na minha vida. Amo vocês. Falando em família, gostaria de agradecer à minha madrinha, à minha vó e ao meu priminho João: vocês também fazem parte disso.

Agradeço às minhas amigas Alice, Carol, Renata, Keylla, Mel, Flávia, Letícia, Giselle, Ester, Giovanna, Laís, Evelyn, Ludmilla, Caroline e Carla pelas orações, pelos conselhos e pela amizade. Amo muito cada uma de vocês.

Com o coração muito grato, gostaria de agradecer à família LTMAC. Agradeço aos coordenadores do LTMAC: Guilherme Gelfuso, Marcílio Cunha e, principalmente, Tais Gratieri, minha orientadora. Eterna gratidão por ter me acolhido, pela paciência e leveza durante a orientação. Agradeço também aos amigos (e irmãos) que fiz no LTMAC, obrigada pela ajuda, pelos conselhos e pelo apoio quando os experimentos não saiam como planejado. Agradecimento especial ao Breno Noronha, pela maestria em ensinar. Muito obrigada.

Agradeço aos meus amigos Lucas Fraga, pela amizade desde o ensino médio e agora juntos mais uma vez no mesmo laboratório, e Victor Mello, pela amizade, pelas oportunidades e pela criatividade inspiradora.

Gostaria de agradecer a Universidade de Brasília, por mais uma vez ser a minha segunda casa e a CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado;

Agradeço também à Amora pela “cãopanhia” até altas horas da noite.

*“It always seems impossible  
until it’s done.”*

– Nelson Mandela

## RESUMO

SALES, Amanda Malini Rocha. **Desenvolvimento de nanocápsulas para controle da liberação do timol: potencial uso repelente sobre *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. Brasília, 2021.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

No presente trabalho foram desenvolvidas nanocápsulas poliméricas contendo timol visando o controle da volatilização e liberação do fármaco para aplicação como repelente em ninfas de *R. sanguineus*. As nanocápsulas de timol revestidas com policaprolactona, preparadas pela técnica de deposição interfacial do polímero pré-formado, foram caracterizadas quanto ao diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersividade, potencial  $\zeta$ , eficiência de encapsulação e teor de timol. Além disso, foram avaliados o perfil de liberação, de permeação e a atividade repelente. As nanocápsulas de timol apresentaram diâmetro hidrodinâmico de  $195,75 \pm 0,55$  nm, índice de polidispersividade de  $0,20 \pm 0,00$ , potencial  $\zeta$  de  $-20,56 \pm 0,35$  mV, potencial de hidrogênio de  $4,7 \pm 0,00$  e eficiência de encapsulação e teor de timol iguais a  $80,14 \pm 0,08\%$  e  $97,90 \pm 0,19\%$ , respectivamente. O nanossistema liberou  $68,59 \pm 2,34\%$  de timol em 24 horas, demonstrando ser capaz de controlar a liberação do ativo. No estudo de permeação *in vitro*, foi observado que as nanocápsulas também controlaram a penetração de timol na epiderme comparadas ao timol puro (controle). Em relação a atividade repelente sobre as ninfas de *R. sanguineus*, as nanocápsulas de timol obtiveram 60-70% de repelência por 2 horas, apresentando resultados semelhantes ao controle de timol puro. Portanto, as nanocápsulas não comprometeram a função repelente. As nanocápsulas desenvolvidas não somente controlaram a liberação do timol, mas como também, apresentaram elevada eficiência de encapsulação e excelente atividade repelente, mostrando serem alternativas promissoras para o uso como repelente contra artrópodes.

**Palavras-chave:** timol; nanocápsulas; *Rhipicephalus sanguineus*; monoterpeno; preparações de ação prolongada.

## ABSTRACT

SALES, Amanda Malini Rocha. **Development of nanocapsules to control thymol release: potential repellent use on *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. Brasília, 2021.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

In the present work were developed thymol-loaded polymeric nanocapsules aiming to control volatilization and drug release for repellent application on *Rhipicephalus sanguineus* nymphs. Polycaprolactone loaded nanocapsules, formed by interfacial deposition of preformed polymer, were characterized by hydrodynamic diameter, polydispersity index,  $\zeta$  potential, potential of hydrogen, entrapment efficiency and thymol's content. Moreover, release and permeation profiles and repellent activity were evaluated. Thymol-loaded nanocapsules shown hydrodynamic diameter of  $195,75 \pm 0,55$  nm, polydispersity index of  $0,20 \pm 0,00$ ,  $\zeta$  potential of  $-20,56 \pm 0,35$  mV, potential of hydrogen of  $4,7 \pm 0,00$  e entrapment efficiency and thymol's content of  $80,14 \pm 0,08\%$  and  $97,90 \pm 0,19\%$ , respectively. The nanosystem released  $68,59 \pm 2,34\%$  of thymol in 24 horas, shown that is capable to controlled drug release. About permeation studies, thymol-loaded nanocapsules shown less epidermis penetration than pure thymol (control). In relation to repellent activity on *R. sanguineus* nymphs, thymol-loaded nanocapsules shown repellency of 60-70% for 2 hours. The developed nanocapsules not alone controlled release of thymol, as well, showed high entrapment efficiency and excellent repellent activity, indicating to be promising alternatives for the use as arthropod's repellent.

**Keywords:** thymol; nanocapsules; *Rhipicephalus sanguineus*; monoterpene; delayed-action preparations.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Exemplos de carrapatos das famílias *Argasidae*, *Ixodidae* e *Nuttalliellidae*: (a) *Ornithodoros turicata* (Acari: *Argasidae*), (b) *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: *Ixodidae*) e (c) *Nuttalliella namaqua* (Ixodida: *Nuttalliellidae*) .....5
- Figura 2.** Estágios imaturos e adultos de *Rhipicephalus sanguineus*: (a) larva, (b) ninfa, (c) fêmea e (d) macho .....6
- Figura 3.** Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* .....7
- Figura 4.** Via de biossíntese do timol ..... 11
- Figura 5.** Diferentes possibilidades de associação do fármaco em nanocápsulas poliméricas .....12
- Figura 6.** Fórmula estrutural da poli ( $\epsilon$ -caprolactona) .....13
- Figura 7.** Estrutura funcional (à esquerda) e dimensão geométrica (à direita) da  $\beta$ -ciclodextrina .....14
- Figura 8.** Bioensaio de repelência com ninfas de *R. sanguineus*. As placas de Petri contêm semicírculos de papel filtro tratados com NPTML, à direita, e com solvente (controle), à esquerda. Placas de Petri controle também foram avaliadas com papel filtro sem tratamento, à esquerda, e com tratamento utilizando solvente, à direita .....22
- Figura 9.** Aspecto da suspensão de nanocápsula polimérica de timol .....26
- Figura 10.** Imagens obtidas das nanocápsulas poliméricas contendo timol por microscopia eletrônica de transmissão .....31
- Figura 11.** Perfil de liberação *in vitro* do controle e da nanocápsula polimérica contendo timol (NPTML) .....32



**Figura 12.** Comparação do estudo de permeação com controle e com a nanopartícula no estrato córneo (EC), folículo piloso (FP) e na pele remanescente/epiderme (PR).

\*Diferença estatisticamente significativa entre os grupos;  $p < 0,05$  (n=5)

.....33

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (PDI) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias .....	26
<b>Tabela 2.</b> Potencial $\zeta$ e potencial de hidrogênio (pH) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias .....	28
<b>Tabela 3.</b> Teor de timol e eficiência de encapsulação (EE) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias .....	30
<b>Tabela 4.</b> Porcentagem (média $\pm$ DP) de repelência do etanol (controle), das nanopartículas vazias (NPVAZIA), da solução etanólica de timol (ETML) e das nanocápsulas poliméricas contendo timol (NPTML) sobre ninfas não-ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> (n=10) .....	34

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1.** Propriedades físico-químicas do timol .....11

**Quadro 2.** Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais .....15

## LISTA DE SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>DH</b>	Diâmetro hidrodinâmico
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>EC</b>	Estrato córneo
<b>EE</b>	Eficiência de encapsulação
<b>ETML</b>	Solução etanólica de timol
<b>FP</b>	Folículo piloso
<b>MET</b>	Microscópio eletrônico de transmissão
<b>min</b>	Minutos
<b>mL</b>	Mililitro
<b>NPTML</b>	Nanocápsulas poliméricas contendo timol
<b>NPVAZIA</b>	Nanocápsulas poliméricas vazias
<b>p/v</b>	Peso por volume
<b>PCL</b>	Policaprolactona
<b>PDI</b>	Índice de polidispersividade
<b>pH</b>	Potencial de hidrogênio
<b>PLA</b>	Poliácido láctico
<b>PR</b>	Pele remanescente
<b>s. l.</b>	sensu lato
<b>SDS</b>	Dodecil sulfato de sódio
<b>v/v</b>	Volume por volume

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Arboviroses</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>Carrapatos</b> .....	<b>4</b>
2.2.1	Rhipicephalus sanguineus sensu lato .....	5
<b>2.3</b>	<b>Formas de controle de carrapatos</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4</b>	<b>Problemas relacionados ao uso de pesticidas e repelentes para o combate aos carrapatos</b> .....	<b>8</b>
2.4.1	Alternativa aos pesticidas e repelentes .....	9
<b>2.5</b>	<b>Timol</b> .....	<b>10</b>
<b>2.6</b>	<b>Nanocápsulas</b> .....	<b>12</b>
<b>2.7</b>	<b>Ciclodextrina</b> .....	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>17</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>18</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais</b> .....	<b>18</b>
<b>4.2</b>	<b>Preparo da nanocápsula polimérica</b> .....	<b>18</b>
<b>4.3</b>	<b>Estudo de estabilidade</b> .....	<b>19</b>
<b>4.4</b>	<b>Quantificação do timol</b> .....	<b>19</b>
4.4.1	Eficiência e teor .....	19
<b>4.5</b>	<b>Análise morfológica</b> .....	<b>20</b>
<b>4.6</b>	<b>Perfil de liberação in vitro</b> .....	<b>20</b>
<b>4.7</b>	<b>Estudo da permeação passiva in vitro</b> .....	<b>21</b>
<b>4.8</b>	<b>Tape-stripping diferencial</b> .....	<b>21</b>
<b>4.9</b>	<b>Atividade repelente in vitro</b> .....	<b>22</b>
4.9.1	Colônia de carrapatos .....	22
4.9.2	Bioensaio de repelência.....	22
<b>4.10</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>23</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>5.1</b>	<b>Estudo de estabilidade da nanocápsula</b> .....	<b>25</b>

5.1.1	Características organolépticas .....	25
5.1.2	Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade .....	26
5.1.3	Potencial $\zeta$ e potencial de hidrogênio .....	27
5.1.4	Eficiência de encapsulação e teor de timol .....	29
<b>5.2</b>	<b>ANÁLISE MORFOLÓGICA .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3</b>	<b>ESTUDO DE LIBERAÇÃO IN VITRO .....</b>	<b>31</b>
<b>5.4</b>	<b>ESTUDO DE PERMEAÇÃO IN VITRO .....</b>	<b>33</b>
<b>5.5</b>	<b>ATIVIDADE REPELENTE .....</b>	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos são vetores de inúmeros patógenos de importância médico-veterinária e resultam em grandes perdas econômicas na pecuária (MASSARD; FONSECA, 2004; NWANADE; YU; LIU, 2020). Da vasta variedade de espécies de carrapatos, destaca-se *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (LATREILLE, 1806), presente em todos os continentes, e que, apesar de parasitar principalmente cães, também pode parasitar bovinos, ovinos, caprinos e o homem (NORVAL; DAILLECOURT; PEGRAM, 1982).

A forma mais efetiva de prevenir as doenças transmitidas por carrapatos é prevenindo o contato com os carrapatos pela aplicação de repelente nas roupas e na pele. Considerado o padrão-ouro, o N, N-dimetil-meta-toluamida (DEET) é o repelente mais utilizado (BISSINGER et al., 2009; BISSINGER; ROE, 2010). Dermatite, reações alérgicas e neurológicas e toxicidade cardiovascular são alguns dos efeitos adversos identificados após o uso de DEET (BROWN; HEBERT, 1997), os quais colocam em dúvida a segurança desse produto (AQUINO et al., 2004) e promovem a busca por repelentes alternativos (MAIA; MOORE, 2011).

O timol (2-isopropil-5-metil-fenol) é um monoterpeneo natural, cristalino, com odor herbal característico (ESCOBAR et al., 2020; KOWALCZYK et al., 2020). Dentre as propriedades farmacológicas do timol, destacam-se a atividade acaricida sobre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, *Amblyomma cajennense*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus turanicus*, *Hyalomma lusitanicum* (DAEMON et al., 2009; DE OLIVEIRA MONTEIRO et al., 2010; DUCHEËNE; GREF, 2011; ARAÚJO et al., 2015b; NOVATO et al., 2018, 2019; QUADROS et al., 2020; VALCÁRCEL et al., 2021) e, também, a atividade repelente sobre os carrapatos das espécies *Ixodes ricinus* (TABARI et al., 2017), *Rhipicephalus annulatus* (ARAFÁ et al., 2020) e *R. microplus* (NOVELINO; DAEMON; SOARES, 2007).

A fim de contornar a volatilidade e a baixa solubilidade em água apresentados pelo timol (PEREIRA et al., 2021), as nanocápsulas poliméricas têm sido utilizadas para preservar as propriedades químicas de fitoquímicos com aplicação biológica (PINTO et al., 2016). Esse nanossistema permite o encapsulamento de fármaco no núcleo, enquanto o invólucro polimérico aumenta sua vida útil, controla a liberação e o protege de fatores externos que possam levar à degradação (DIASPRO et al., 2002;

IYISAN; LANDFESTER, 2019). As nanocápsulas possuem extensa variedade de aplicações e alta reprodutibilidade (KOTHAMASU et al., 2012).

O presente estudo teve como objetivo controlar a liberação do timol por meio da sua encapsulação em uma nanocápsula polimérica, e, assim, avaliar a atividade repelente desse nanosistema frente às ninfas de *R. sanguineus*.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Arboviroses

O termo arboviroses é usado para classificar as doenças que são transmitidas por artrópodes aos seres humanos (LIANG; GAO; GOULD, 2015). As arboviroses são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em humanos (ARAÚJO et al., 2015a). As arboviroses estão presentes tanto no hemisfério sul como no norte, porém algumas dessas doenças estão presentes apenas em regiões específicas, como o vírus O'nyong-nyong na África e na Ásia e o vírus da febre do Rio Ross na Austrália (GOULD et al., 2010, 2003).

As arboviroses são um problema de saúde pública mundial devido ao seu grande potencial de dispersão e adaptabilidade (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017). Com a crescente urbanização e mudanças socioeconômicas, o ser humano passou a explorar novos habitats que antes eram santuários para os artrópodes interagirem com os animais selvagens e as plantas (GOULD; HIGGS, 2009; KILPATRICK; RANDOLPH, 2012).

Da grande variedade de artrópodes, os carrapatos são os responsáveis pela transmissão de algumas das arboviroses que frequentemente causam epidemias (LWANDE et al., 2013). Os carrapatos são os responsáveis pela transmissão de cerca de 20 diferentes espécies de vírus que causam patologias em seres humanos (MASSARD; FONSECA, 2004). A exemplo de arboviroses transmitidas por carrapatos tem-se a doença da floresta de Kyasanur (YADAV et al., 2014), a febre hemorrágica de Omsk (HOLBROOK et al., 2005), o vírus de Powassan (HERMANCE; THANGAMANI, 2017) e a encefalite transmitida por carrapato (DONOSO-MANTKE; S.; RUZEK, 2011).

A maioria das arboviroses causa infecções assintomáticas ou sintomas semelhantes a de um resfriado, apenas uma pequena proporção dos infectados progridem para casos severos (LWANDE et al., 2013). Entretanto, devido à falta de informação e à baixa frequência de arboviroses transmitidas por carrapatos, estima-se que a incidência de arboviroses seja subestimada (HERMANCE; THANGAMANI, 2017; ORGANIZATION, 2017), como sugerem alguns estudos (PIANTADOSI et al., 2015; KNOX et al., 2017).

Além de transmitirem arboviroses, os carrapatos são responsáveis pela transmissão de outros agentes infecciosos, como bactérias (*Borrelia* sp, *Rickettsia* sp) e parasitas (*Babesia* sp, *Theileria* sp) (BOULANGER et al., 2019). Os casos de febre maculosa, causada pela *Rickettsia* sp, no Brasil, ainda que raros e em declínio desde 2005, preocupam devido à alta taxa de mortalidade se comparado a outros países (FIOL et al., 2010).

## 2.2 Carrapatos

Os carrapatos, pertencentes ao filo *Arthropoda*, são ectoparasitas hematófagos obrigatórios, parasitando todas as classes de vertebrados em quase todas as regiões do mundo (FLECHTMANN, 1973; HORAK; CAMICAS; KEIRANS, 2002; ANDREOTTI; KOLLER; GARCIA, 2016). Há, pelo menos, 120 milhões de anos, os carrapatos têm sido hematófagos bem sucedidos (ANDERSON; VALENZUELA, 2008). Apesar dos carrapatos terem sido identificados como parasitas em humanos há milhares de anos por escritores da Grécia antiga (SONENSHINE, 1991), somente no final do século 19 descobriram que os carrapatos também podiam transmitir doenças (THEOBALD; KILBORNE, 1893).

Estima-se que haja mais de 900 espécies de carrapatos no mundo (HORAK; CAMICAS; KEIRANS, 2002), das quais 66 espécies são encontradas no Brasil (KRAWCZAK et al., 2015).

Há duas principais famílias de carrapatos: *Ixodidae* e *Argasidae*. A família *Ixodidae* é a mais abundante em número de espécies e é considerada a mais relevante em questão de importância médica. Os carrapatos dessa família são conhecidos como carrapatos duros devido à presença de uma dorsal esclerotizada. Os carrapatos da família *Argasidae* possuem a presença de uma cutícula flexível, sendo conhecidos como carrapatos moles. Há, também, uma terceira família de carrapatos chamada de *Nuttalliellidae*, a qual é encontrada somente no sudeste da África. Até o momento, foi identificada apenas uma espécie da família *Nuttalliellidae*, *Nuttalliella namaqua* (PAROLA; RAOULT, 200; MANS et al., 2011) (Figura 1).



**Figura 1.** Exemplos de carrapatos das famílias *Argasidae*, *Ixodidae* e *Nuttalliellidae*: (a) *Ornithodoros turicata* (Acari: *Argasidae*) (MATHISON; PRITT, 2014), (b) *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: *Ixodidae*) (GATHANY, 2005) e (c) *Nuttalliella namaqua* (Ixodida: *Nuttalliellidae*) (MANS et al., 2011)

Além de diferenças morfológicas, os carrapatos moles e duros diferem nos períodos de alimentação e no ciclo de vida. Basicamente, os carrapatos moles (*Argasidae*) possuem dois ou mais estágios ninfais e a cada estágio se alimentam apenas uma vez, enquanto que os carrapatos duros (*Ixodidae*) possuem apenas um estágio de ninfa e se alimentam por longos períodos de tempo, independentemente do estágio de vida. Além disso, os carrapatos moles habitam áreas secas e cobertas próximos aos seus hospedeiros, já os carrapatos duros vivem em ambientes abertos, úmidos e algumas espécies dessa família, vivem meses ou anos em jejum (SONENSHINE, 1991; FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006).

Tanto as fêmeas quanto os machos das famílias *Argasidae* e *Ixodidae* ingerem sangue do parasitado, porém as fêmeas ingerem maior quantidade de sangue (FURLONG, 2005).

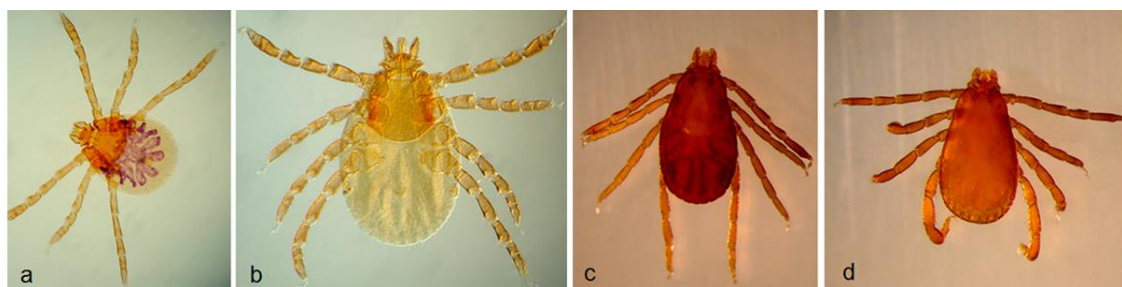
### 2.2.1 *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*

*Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (s. l.) (LATREILLE, 1806) (Acari: *Ixodidae*), também conhecido como carrapato-do-cão, é um parasita de grande importância na medicina e na veterinária por ser o reservatório de inúmeros patógenos aos humanos e aos animais (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2015). Estudos moleculares (BURLINI et al., 2010), biológicos (SZABÓ et al., 2005) e morfológicos (DANTAS-TORRES et al., 2013) indicam que o táxon *R. sanguineus* é representado por mais espécies, e, por esse motivo, todos os carrapatos que se encaixam no táxon com *R. sanguineus* devem ser chamados de *R. sanguineus* s. l. (NAVA et al., 2015).

Os carrapatos da espécie *R. sanguineus* são pequenos, de coloração marrom e possuem leve dimorfismo sexual. São encontrados em quase todo o mundo, com maior frequência em locais situados entre as latitudes 35°S e 50°N. Os cães são os principais hospedeiros de *R. sanguineus*, porém essa espécie também pode parasitar outros animais domésticos e selvagens e, inclusive, o ser humano (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006). Em cães, os carrapatos *R. sanguineus* podem transmitir a babesiose (*Babesia* sp.) e a erliquiose (*Ehrlichia* sp.), ambas fatais para o canídeo (DANTAS-TORRES, 2008). Suspeita-se que os carrapatos *R. sanguineus* também transmita a leishmaniose visceral (*Leishmania infantum*) (ZANATTA COUTINHO et al., 2005)

A transmissão de patógenos aos humanos por meio de *R. sanguineus* é bem documentada, apesar da baixa predileção da espécie por humanos (DANTAS-TORRES, 2008). A notificação de parasitismo humano por *R. sanguineus* é de importância para a saúde pública já que os carrapatos dessa espécie são vetores da *Rickettsia* spp., a qual pode causar febre maculosa em humanos e em cachorros (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2015). Mesmo o parasitismo por *R. sanguineus* não sendo comum no Brasil, há alguns casos confirmados nos estados do Rio Grande do Sul (RECK et al., 2018), Pará (SERRA-FREIRE, 2010), Rio de Janeiro (SERRA-FREIRE; SENA; BORSOI, 2011) e Goiás (LOULY et al., 2006).

Espécie trióxena, ou seja, precisa de três hospedeiros para realizar seu ciclo de vida, *R. sanguineus* (KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983), assim como todos os carrapatos duros, possui quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adulto (Figura 2).



**Figura 2.** Estágios imaturos e adultos de *Rhipicephalus sanguineus*: (a) larva, (b) ninfa, (c) fêmea e (d) macho (DANTAS-TORRES, 2010)

As fêmeas se alimentam apenas uma vez e podem pesar até 250 mg. Quando ingurgitadas, as fêmeas podem pôr 4 mil ovos. Da pré-oviposição até a incubação dos ovos pode levar de 17 a 27 dias. Os ovos, então, liberam as larvas, que se alimentam por 3 a 5 dias até se tornarem ninfas. As ninfas se assemelham aos adultos, entretanto são menores e sexualmente imaturas. Entre 11 e 23 dias, as ninfas sofrem ecdise e tornam-se adultos (KOCH, 1982; FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006; DANTAS-TORRES, 2008) (Figura 3).

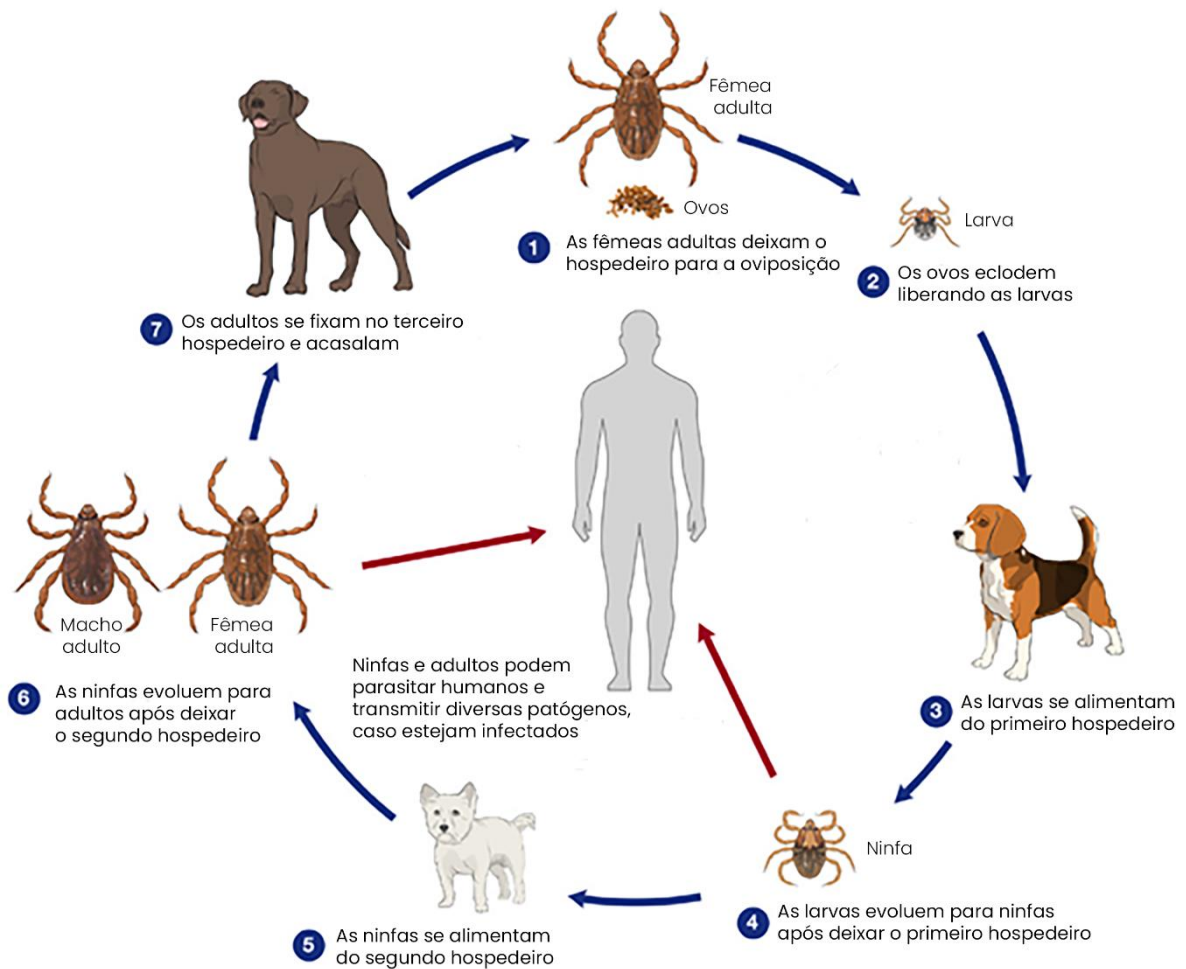


Figura 3. Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Adaptado de CDC, 2020)

### 2.3 Formas de controle de carrapatos

O uso de produtos químicos é a principal forma de controle dos carrapatos (ADENUBI et al., 2016) e é usada há mais de um século. Desde 1895, os pesquisadores buscaram formas de combater os carrapatos. Em tentativas fracassadas, foram experimentados produtos como fumo, querosene e enxofre adicionados a óleos

minerais e arsênio diluído em água. Somente em 1946, populações de carrapato foram controladas com hexaclorobenzeno (BHC), diclorodifeniltricloroetano (DDT) e outros organoclorados (FURLONG, 2005).

O controle de carrapatos baseia-se no uso de produtos químicos como os organoclorados, os organofosfatos, os piretroides, as formamidinas, as avermectinas e, também, mais recentemente no mercado, os pesticidas reguladores de crescimento e as isoxazolininas (ADENUBI et al., 2018; SILVEIRA; CARVALHO; PECONICK, 2014). Apesar de não controlarem a população de carrapatos, apenas evitam o parasitismo de carrapatos em humanos e animais, também são utilizados repelentes a base de DEET, permetrina e piperidina (BISSINGER; ROE, 2010).

Apesar da grande variedade de métodos para combater os carrapatos, o controle desse vetor é uma atividade complexa. Atribui-se a esse fato o aumento de aglomerados urbanos, a precariedade no saneamento básico, as mudanças climáticas devido ao aquecimento global, o intenso tráfego de pessoas entre países (BRASIL, 2009) e, principalmente, a resistência desse artrópode aos produtos químicos, sejam pesticidas ou repelentes (RANSON et al., 2010; NWANADE et al., 2020).

#### **2.4 Problemas relacionados ao uso de pesticidas e repelentes para o combate aos carrapatos**

Os carrapatos, além de serem problemas na saúde pública, geram graves problemas na economia devido à atuação como pragas na agricultura e parasitas em animais, levando a perdas significativas no cultivo e na criação de animais. Inúmeros produtos químicos são utilizados para controlar os carrapatos e, conseqüentemente, para solucionar os problemas na economia e na saúde causados por estes (SAÚDE, 2007; FEDER et al., 2019). Entretanto, o arsenal de produtos químicos, ditos como seguros, diminuiu bastante por causa do desenvolvimento de resistência dos carrapatos aos produtos químicos (ZAIM; GUILLET, 2002).

A resistência pode estar associada a diferentes fatores, inclusive operacionais, como a frequência de uso e a dose aplicada de pesticidas ou repelentes (WHALON; MOTA-SANCHEZ; HOLLINGWORTH, 2008). Estudos relatam a resistência em carrapatos a várias classes de pesticidas, como piretroides (BAFFI et al., 2005),

formamidinas (LI et al., 2004), avermectinas (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2014), organofosforados e carbamatos (DRUMMOND, 1977); e, também, a resistência a repelentes a base de permetrina (BURTIS et al., 2021).

A fim de reduzir os problemas de saúde causados por carrapatos em humanos, faz-se o uso de repelentes, sendo mais comum o uso de repelentes a base de DEET. O DEET tem sido usado como repelente de artrópodes, como os carrapatos, há mais de cinco décadas e está disponível em diferentes concentrações e formas farmacêuticas (BISSINGER; ROE, 2010).

Apesar de ser considerado o padrão de referência entre os repelentes (TAVARES et al., 2018), o DEET está longe de ser considerado um repelente ideal, ou seja, aquele que não é tóxico, não apresenta irritabilidade cutânea, não deixa resíduo oleoso sobre a pele, não causa danos às vestimentas, tem efeito duradouro e é economicamente viável (KATZ et. al, 2008; GARCEZ et. al, 2012).

Devido ao seu odor pungente e a sensação oleosa sobre a pele, o uso do DEET pode ser desagradável para algumas pessoas (FRANCES, 2006). A substância também pode reagir com plásticos, policloreto de vinil e couro pigmentado (BROWN; HEBERT, 1997). O DEET pode ser absorvido pela pele (BARRADAS et al., 2013), e, portanto, o seu uso deve ser evitado por mulheres grávidas e crianças (TAVARES et al., 2018).

Altas concentrações de DEET sobre a pele podem causar toxicidade sistêmica, levando a urticária, necrose da pele, anafilaxia (MARSHALL; KELCH, 1982), toxicidade cardiovascular (CLEM; HAVEMANN; RAEBEL, 1993), mania com sintomas psicóticos (SNYDER et al., 1986) e encefalopatia tóxica (BRIASSOULIS; NARLIOGLOU; HATZIS, 2001). Mesmo em concentrações menores (<11%), o DEET pode causar desordens neurológicas (BELL; VELTRI; PAGE, 2002).

#### **2.4.1 Alternativa ao uso de pesticidas e repelentes**

O uso de plantas na proteção contra artrópodes é descrito em livros das antigas civilizações chinesa e egípcia (MOORE, 2006). Sabe-se que do final do século 19 até o começo da Segunda Guerra Mundial, as plantas foram amplamente utilizadas na proteção contra artrópodes até a chegada de pesticidas orgânicos sintéticos (REGNAULT-ROGER; PHILOGÈNE, 2008).

Porém, devido ao desenvolvimento de resistência aos pesticidas e às preocupações quanto aos resíduos e o impacto destes no meio ambiente e ao uso contínuo desses produtos químicos (AHMAD; KHAN; KHAN, 2011; ABBAS et al., 2014; SILVÉRIO et al., 2020), renovou-se o interesse pelo uso de plantas no controle de artrópodes pela efetividade, segurança, baixo custo (BABAR et al., 2012; GAJGER; DAR, 2021). Entre as vantagens dos pesticidas botânicos estão a sua rápida degradação e a não bioacumulação no meio ambiente (ARNASON; SIMS; SCOTT, 2008).

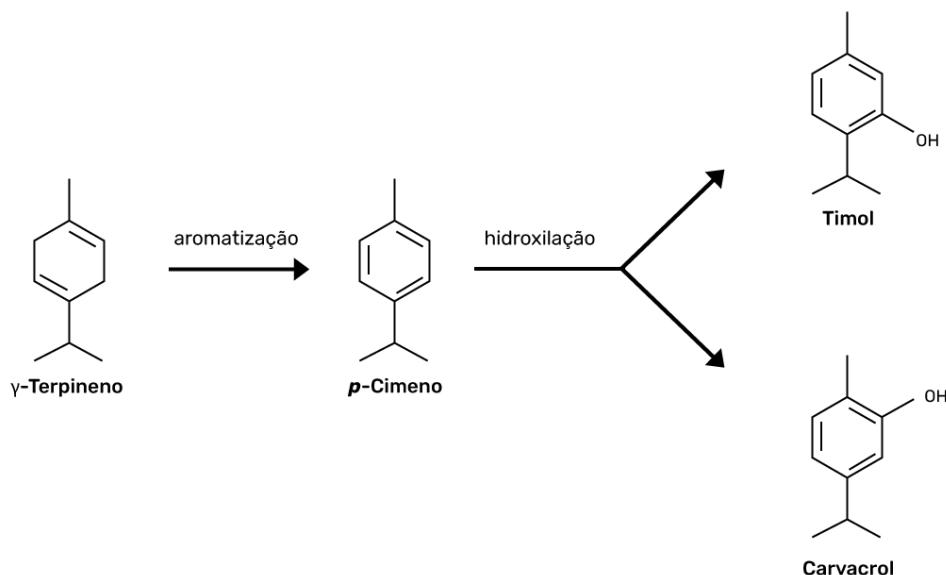
As plantas contêm inúmeras substâncias, chamadas de metabólitos secundários. Os metabólitos secundários que conferem às plantas características como, atividade antibacteriana, larvicida, ovicida, deterrente e repelente (MOORE, 2006; ZARA et al., 2016; GAJGER; DAR, 2021).

## 2.5 Timol

O monoterpene fenólico timol (2-isopropil-5-metil-fenol) é um metabólito secundário presente no óleo essencial de uma grande variedade de espécies de plantas, em sua maioria da família *Lamiaceae*, como o *Thymus vulgaris* L. (AMIRI, 2012), o qual é a principal fonte de timol (SALEHI et al., 2018).

O timol é um cristal incolor ou translúcido que possui um forte odor herbal semelhante ao tomilho (*T. vulgaris*) e sabor pungente (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). Oriundo da hidroxilação do p-cimeno, o qual é formado da aromatização do  $\gamma$ -terpineno (POULOSE; CROTEAU, 1978), o timol, que tem como isômero o carvacrol, foi descoberto em 1719 pelo químico alemão Caspar Neumann (JYOTI et al., 2018) (Figura 4).





**Figura 4.** Via de biossíntese do timol (Adaptado de KOWALCZYK et al., 2020)

Muito comum em enxaguantes bucais combinado com glicerina ou álcool (SALEHI et al., 2018), o timol é altamente solúvel em álcoois, soluções alcalinas e outros solventes orgânicos devido a desprotonação do fenol, e é pouco solúvel em água (NORWITZ; NATARO; KELIHER, 1986). O timol também é conhecido por ser uma substância volátil (ZHANG et al., 2019), tendo o ponto de fusão variando de 49°C a 51 °C (LIDE, 2004) (Quadro 1).

**Quadro 1.** Propriedades físico-químicas do timol<sup>a</sup>

Propriedades físico-químicas	Timol
Solubilidade em água	0,9 g/L (a 20°C)
LogP	3,3
pKa ácido	10,59
pKa básico	-5,2

<sup>a</sup> Adaptado de (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021)

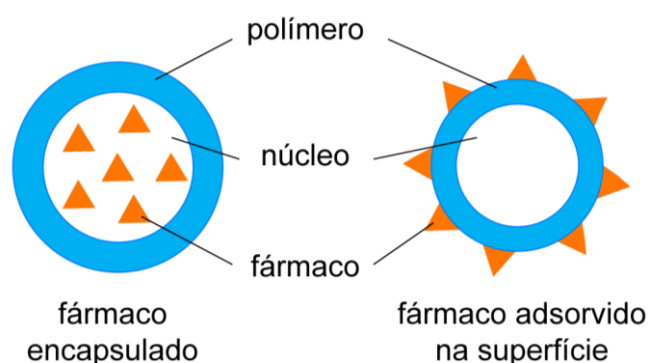
Dentre as inúmeras atividades farmacológicas do timol estão as atividades antioxidante (BEENA; KUMAR; RAWAT, 2013), antimicrobiana (FALCONE et al., 2005), antiespasmódica (BEGROW et al., 2010) e antitumoral (DE LA CHAPA et al., 2018). O timol também é usado para o tratamento de distúrbios nos sistemas respiratório (GAVLIAKOVA et al., 2013), nervoso (ASADBEGI et al., 2017) e cardiovascular (YU et al., 2016). Essas propriedades farmacológicas do timol são

atribuídas ao farmacóforo do grupo hidroxila fenólico em sua estrutura química (MEERAN et al., 2017).

Além da medicina, o timol possui efeitos benéficos na área alimentícia, na agricultura, na veterinária e no controle de peste (TAO et al., 2014). O timol possui atividade acaricida sobre larvas ingurgitadas e não ingurgitadas (DAEMON et al., 2009) e sobre ninfas ingurgitadas (DE OLIVEIRA MONTEIRO et al., 2009) de *Rhipicephalus sanguineus*. O timol também é capaz de danificar o órgão de Gené, estrutura responsável pela oviposição, em fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* (DA SILVA MATOS et al., 2014)

## 2.6 Nanocápsulas

As nanocápsulas poliméricas são sistemas vesiculares, menores que 1  $\mu\text{m}$ , que confinam fármacos em uma cavidade aquosa ou oleosa, revestida por uma membrana polimérica (SOPPIMATH et al., 2001; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010;). O fármaco é geralmente armazenado na cavidade interna, mas também pode ser adsorvido na superfície da nanocápsula polimérica (PINTO REIS et al., 2006) (Figura 5).



**Figura 5.** Diferentes possibilidades de associação de fármaco em nanocápsulas poliméricas  
(Adaptado de ZIELIŃSKA et al., 2020)

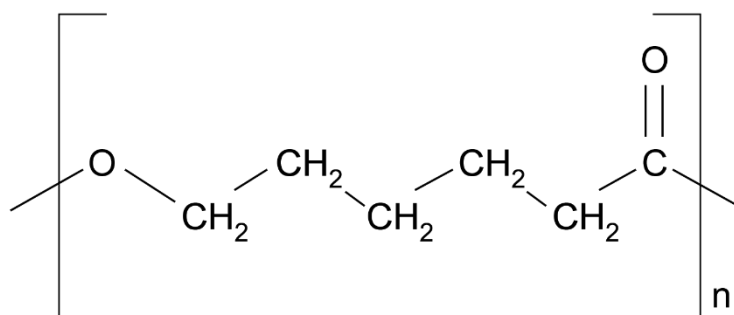
As nanocápsulas poliméricas conferem estabilidade ao fármaco (KÜLKAMP et al., 2009), retardam e controlam sua liberação (MORAES et al., 2009). Além disso, essa suspensão coloidal aquosa pode restringir a permeação cutânea (VETTOR et al., 2010) e, também, o seu invólucro polimérico consegue isolar o fármaco evitando

a sua degradação induzida por pH, luz, temperatura, enzimas e outros fatores (DENG et al., 2020).

A estrutura das nanocápsulas poliméricas é versátil. Independentemente do material escolhido para o revestimento, as nanocápsulas permitem o encapsulamento de moléculas com diferentes propriedades físico-químicas e em vários estados físicos (LIMA et al., 2021). O núcleo das nanocápsulas polimérica geralmente é composto de triglicerídeo e a substância ativa (POLETTTO et al., 2011).

As nanocápsulas destinadas a aplicação cosmética e dermatológica não devem causar irritação cutânea. Para aplicação tópica, os polímeros hidrofóbicos mais utilizados são os poliésteres, como a poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) (POLETTTO et al., 2011).

A poli ( $\epsilon$ -caprolactona) é um poliéster alifático composto de repetidas unidades de hexanoato (Figura 6). É um polímero biodegradável, biocompatível e possui uma cristalinidade de 69%, o que o classifica como semicristalino. À temperatura ambiente (25°C), a PCL é altamente solúvel em solvente aromáticos e em solventes clorados, parcialmente solúvel em solventes polares e insolúvel em álcoois e água (LABET; THIELEMANS, 2009; LEE et al., 2017). Devido à sua excepcional compatibilidade, a PCL tem sido objeto de estudo quanto a sua potencial aplicação no campo biomédica (WOODRUFF; HUTMACHER, 2010).



**Figura 6.** Fórmula estrutural da poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (MCKEEN, 2021)

A deposição interfacial de polímero pré-formado (FESSI et al., 1989) seguido pela emulsificação-difusão (QUINTANAR-GUERRERO et al., 1998) são os métodos mais utilizados para a produção de nanocápsulas de PCL (KOTHAMASU et al., 2012; POHLMANN et al., 2013). Quaisquer que seja o método utilizado, o protocolo geral para a produção de nanocápsulas de PCL requer uma fase dispersa e uma fase

contínua, as quais são constituídas de solvente orgânico e água, respectivamente (LIMA et al., 2021).

O uso de solvente orgânico é quase inevitável e as nanocápsulas costumam a serem obtidas na forma de suspensões coloidais. Para tanto, é necessário remover o solvente orgânico, tendo como produto final as nanocápsulas dispersas em meio aquoso. Além disso, para a produção de nanocápsulas eficientes, é preciso usar um ou mais surfactantes, que não apenas auxiliam na produção de nanocápsulas, mas também contribuem para a estabilidade e impedem a agregação (BAZYLIŃSKA et al., 2017; PINEDA-REYES et al., 2021).

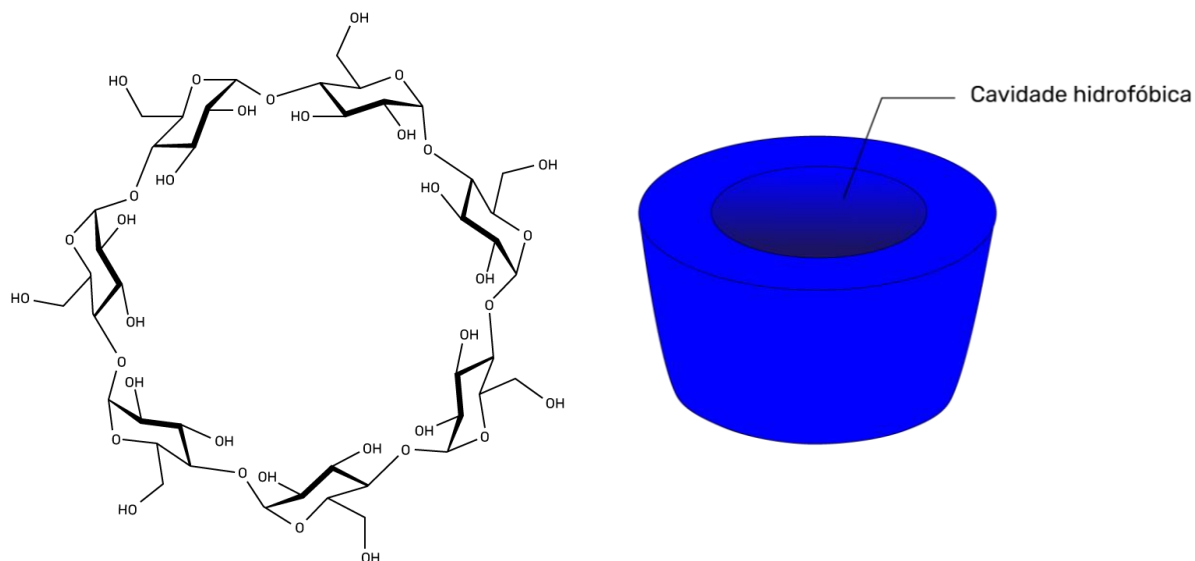
## 2.7 Ciclodextrina

As ciclodextrinas e os polímeros ainda são os materiais mais empregados para encapsular substâncias voláteis (KAUR et al., 2018). As ciclodextrinas são materiais simples, relativamente baratos e são bem-sucedidas na encapsulação de compostos aromáticos e voláteis por melhorar a estabilidade física e/ou química e prolongar a liberação desses compostos (MARQUES, 2010; WADHWA et al., 2017). Uma forma de proteger ainda mais ativos voláteis é através do uso de ciclodextrina como revestimento da superfície das nanopartículas (ERDOĞAR et al., 2018; MENEZES et al., 2019). Tal junção é possível devido às interações hidrofóbicas estequiométricas via equilíbrio dinâmico entre a ciclodextrina usada e a nanoestrutura complexada no interior da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina (BEHR; SEIDENSTICKER, 2020).

As ciclodextrinas (CDs) foram isoladas por Villiers em 1891 como um produto da degradação do amido (VILLIERS, 1891). Na primeira década do século 20, Schardinger isolou os tipos de bactérias responsáveis pela síntese de CDs, o que levou a descoberta de outros tipos de ciclodextrina (CD) e a sua posterior classificação como uma família de oligossacarídeos cíclicos, as quais são compostos por unidades D-glicopiranosídicas ligadas entre si por meio de ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas (FRENCH et al., 1965; SZEJTLI, 1998).

As CDs são moléculas em formato de cone toróide ou toroidal, que se apresentam como um pó cristalino branco, sem odor e com gosto levemente adocicado. O interior do cone toróide é hidrofóbico, enquanto que o exterior, é

hidrofílico (Figura 7) (SZEJTLI, 1998; DEL VALLE, 2004; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).



**Figura 7.** Estrutura funcional (à esquerda) e dimensão geométrica (à direita) da  $\beta$ -ciclodextrina (Adaptado de DEL VALLE, 2004)

Dentre as formas mais usadas estão três ciclodextrinas naturais  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina e  $\gamma$ -ciclodextrina, que diferem o tamanho do anel, a solubilidade e o número de unidades de glicopiranoses (Quadro 2).

**Quadro 2.** Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas naturais<sup>a</sup>

Propriedades	Tipos de ciclodextrinas naturais		
	$\alpha$ -ciclodextrina	$\beta$ -ciclodextrina	$\gamma$ -ciclodextrina
Unidades de glicopiranoses	6	7	8
Peso molecular (Da)	972.84	1134.98	1297.12
Solubilidade em água <sup>b</sup> (mg/mL)	129.5 $\pm$ 0.7	18.4 $\pm$ 0.2	249.2 $\pm$ 0.2
Altura (nm)	0.78	0.78	0.78
Diâmetro interno (nm)	0.50	0.62	0.80
Diâmetro externo (nm)	1.46	1.54	1.75

<sup>a</sup> Adaptado de (LOFTSSON; BREWSTER, 2010)

<sup>b</sup> A temperatura ambiente (25°C)

O arranjo diferenciado permite que as ciclodextrinas acomodem a molécula convidada dentro da cavidade interna, formando um complexo de inclusão. Assim que

circundam a molécula convidada, as ciclodextrinas são capazes de aumentar a solubilidade, controlar a liberação de compostos voláteis, melhorar a estabilidade térmica, diminuir a irritação na pele após a administração tópica, mascarar odor e sabor desagradáveis e até mesmo, retardar ou suprimir reações químicas, como fotodegradação, hidrólise, sublimação e oxidação (CHIARI-ANDRÉO et al., 2019; DEL VALLE, 2004; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

Na tentativa de desenvolver melhores carreadores, derivados das ciclodextrinas naturais têm sido desenvolvidos, principalmente com base na  $\beta$ -ciclodextrina. Para tanto, houve a substituição de grupos hidroxílicos primários e/ou secundários por grupos funcionais, como o grupo hidroxipropil, gerando, a exemplo, um derivado hidroxipropilado da  $\beta$ -ciclodextrina: 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (LOFTSSON; DUCHÊNE, 2007; MARQUES, 2010; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017; CHIARI-ANDRÉO et al., 2019).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

O objetivo geral do projeto é desenvolver nanocápsulas poliméricas para o controle da liberação de compostos com atividade repelente sobre o *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver nanocápsulas de poli ( $\epsilon$ -caprolactona) contendo timol;
- Caracterizar as nanocápsulas obtidas quanto ao diâmetro hidrodinâmico, potencial  $\zeta$ , índice de polidispersividade, potencial de hidrogênio, eficiência de encapsulação e teor de fármaco;
- Avaliar o perfil de liberação *in vitro* das formulações desenvolvidas;
- Avaliar a permeação passiva *in vitro* por meio da pele de porco intacta, seguindo modelo de penetração de células do tipo *Franz* adaptadas, e a retenção na pele por meio da técnica de *tape-stripping* diferencial; e
- Analisar o potencial repelente da formulação desenvolvida sobre as ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais

Para o preparo da nanocápsula polimérica foram utilizados o polisorbato 80 e o triglicerídeo caprílico, provenientes da Dinâmica Química Contemporânea (São Paulo, Brasil); o timol, (Lote #SZBF0370V, pureza  $\geq 99\%$ ), o monoestearato de sorbitano (Span 60<sup>®</sup>), a poli ( $\epsilon$ -caprolactona) e a 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD) obtidos da Sigma-Aldrich (Missouri, Estados Unidos) e; a lecitina de soja (Lipoid S 75), proveniente da Lipoid GmbH (Ludwigshafen am Rhein, Alemanha). Nas análises em CLAE foram utilizados a acetonitrila, proveniente da Dinâmica Química Contemporânea (São Paulo, Brasil) e a água ultrapura Mili-Q<sup>®</sup>, proveniente da Millipore (Illkirch-Graffenstaden, França). Nos estudos de permeação e de liberação foi utilizado o dodecil sulfato de sódio (SDS) obtido da Dinâmica Química Contemporânea (São Paulo, Brasil). A membrana de celulose, utilizada nos estudos de liberação, foi obtida da Sigma-Aldrich (Missouri, Estados Unidos). Para a técnica de tape-stripping foi utilizada a fita adesiva Scotch n.º 845 (3M Company, Minnesota, EUA) e cola de cianoacrilato (Henkel Ltda., Düsseldorf, Alemanha).

### 4.2 Preparo da nanocápsula polimérica

A nanocápsula de timol foi preparada pela técnica desenvolvida por Bender et al. (2012) com uma modificação para incluir a HP $\beta$ CD (MEMISOGLU-BILENSOY; ŞEN; HINCAL, 2006). O timol e a HP $\beta$ CD foram adicionados em proporção equimolar. A fase orgânica contendo timol (0,025 g; 1,664 mmol), PCL (0,1 g), monoestearato de sorbitano (0,04 g) e triglicerídeo caprílico (0,12 g) foi solubilizada em 25 mL de acetona. A HP $\beta$ CD (0,231 g; 1,664 mmol) e a lecitina de soja (0,03 g) foram solubilizadas em 5 mL de etanol, formando a solução etanólica, que foi adicionada à fase orgânica. A suspensão formada foi adicionada por gotejamento a solução aquosa formada por polisorbato 80 (0,08 g) e água ultrapura (50 mL) sob agitação.

A suspensão foi concentrada em rotoevaporador V-100 (Büchi Ltda., Flawil, Suíça) por 20 min a 35°C e 43 mbar (XAVIER-JUNIOR et al., 2018) até atingir 40 mL de volume final.



### 4.3 Estudo de estabilidade

Para avaliar a estabilidade, a suspensão de nanopartícula com timol (NPTML) foi armazenada às temperaturas de geladeira e estufa,  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , respectivamente. As amostras foram acondicionadas em frasco de vidro, vedado com plástico de parafina para evitar a perda de amostra para o meio. A estabilidade de cada amostra foi analisada no dia de preparo (D0), após 7 dias (D7), 15 dias (D15), 30 dias (D30), 60 dias (D60) e 90 dias (D90).

Nos dias determinados para o estudo de estabilidade, foram analisados o diâmetro hidrodinâmico, o índice de polidispersividade e o potencial  $\zeta$  no equipamento ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) após a diluição da nanopartícula em água ultrapura na proporção 1:100 (v/v).

Também foram mensurados o pH da suspensão, utilizando o equipamento Digimed DM-22 pHmeter (Digimed Analytica Ltda., São Paulo, Brazil), a eficiência de encapsulação (EE) e o teor de timol (TE) na formulação, os quais foram calculados por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV).

### 4.4 Quantificação do timol

O timol contido nas nanopartículas foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (CLAE) com detecção de ultravioleta. A análise foi realizada no equipamento LC-20AT (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) com coluna de fase reversa C18 (30 mm x 3,9 mm, 10  $\mu\text{m}$ ). A fase móvel utilizada foi acetonitrila:água (65:35 v/v), com detecção a 278 nm, vazão de 1,5 mL/min, volume de injeção igual a 30  $\mu\text{L}$  e temperatura de  $50^\circ\text{C}$  (ANGELO et al., 2016). O software utilizado para análise foi o LabSolution (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão). Esse método foi utilizado para quantificar o timol na nanopartícula e nos estudos de liberação e permeação *in vitro*.

#### 4.4.1 Eficiência de encapsulação e teor de timol

A eficiência de encapsulação (EE) e o teor de timol (TE) foram calculados utilizando as equações 1 e 2, respectivamente:

$$(1) \quad EE\% = \frac{FT-FL}{FT} \times 100$$

$$(2) \quad TE\% = \frac{FT}{CT} \times 100$$

O fármaco total (FT) é o resultado da diluição da nanopartícula com metanol (1:9 v/v) e posterior análise em CLAE. O fármaco livre (FL), que também é analisado em CLAE, é o filtrado obtido na centrifugação da nanopartícula no Vivaspin 2 MWCO 1.000 (Sartorius AG, Göttingen, Germany) a 3000 rpm por 20 minutos na centrífuga K14-4000 (Kasvi Ltda, São José dos Pinhais, Brasil). A concentração teórica (CT) é calculada pela divisão da massa de timol utilizada para o preparo da nanopartícula sobre o volume da nanopartícula após rotoevaporação.

#### 4.5 Análise morfológica

A morfologia das nanocápsulas poliméricas contendo timol foi analisada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) usando o equipamento JEM-2100 a 200kV (JEOL Inc., Boston, EUA). A suspensão de NPTML foi diluída com água ultrapura na proporção 1:20 (v/v) e uma gota da diluição preparada foi adicionada sobre uma grade de cobre e deixada à temperatura ambiente para evaporação da água. Em seguida, a amostra foi corada com ácido fosfotúngstico a 1%, que cora polímeros, e analisada por MET.

#### 4.6 Perfil de liberação *in vitro*

O perfil de liberação *in vitro* foi realizado em quintuplicata nas células do tipo *Franz* modificadas. Duas amostras foram utilizadas para o teste: a suspensão de nanopartículas e o controle, uma solução de timol diluído em dodecil sulfato de sódio (SDS) a 0,5% na mesma concentração que a nanopartícula. No meio doador foi adicionado 1 mL de cada amostra, enquanto que o meio receptor foi preenchido com 15 mL de SDS 0,5%. O meio receptor ficou sob agitação a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  e 500 rpm durante todo o processo.

A coleta do meio receptor foi feita de hora em hora até completar 12 horas, depois somente em 24 horas. A cada coleta foi feita a imediata reposição de 1 mL de

SDS 0,5% no meio receptor. As amostras coletadas foram analisadas em CLAE para quantificação do timol e avaliação de seu perfil cinético de liberação.

#### **4.7 Estudo da permeação passiva *in vitro***

A permeação foi realizada com pele extraída de orelha de porco fresca, cedida pelo frigorífico Bonasa S/A (Formosa, Brasil). Debris e gordura foram cuidadosamente removidos das orelhas utilizando um bisturi. As peles foram envoltas em folha de alumínio e armazenadas em congelador a -4 °C antes da realização do estudo de permeação.

A pele retirada da orelha de suínos foi colocada entre o meio doador e o meio receptor da célula do tipo Franz modificada com o estrato córneo voltado para cima. No meio doador foi acrescido 15 mL de uma solução de tampão fosfato pH 7,0 com SDS a 0,5%, já no meio receptor foi colocado 1 mL da amostra, podendo esta ser a nanopartícula ou o controle (timol diluído em água ultrapura) na mesma concentração da nanopartícula. A solução receptora foi mantida sob agitação a  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  por 2 horas. Ao final da permeação foi realizado o *tape-stripping* para a quantificação do timol. O estudo de permeação foi feito em quintuplicata de cada amostra.

#### **4.8 Tape-stripping diferencial**

Por meio da técnica de *tape-stripping* foi possível quantificar o timol retido no estrato córneo (EC) e na epiderme (PR) (MATOS et al., 2015; TAMPUCCI et al., 2014). Para quantificar o timol retido no folículo piloso (FP) foi realizado uma biópsia.

A pele de porco foi esticada e presa em um suporte de isopor. O EC foi completamente removido após 15 aplicações de fita adesiva sobre a região. Para a remoção do FP, foi adicionada, sobre a pele, uma gota de cola de cianoacrilato, e, por cima, um pedaço de fita adesiva. Após 1 minuto, a fita adesiva contendo o folículo piloso foi retirada. A PR foi picotada com auxílio de uma tesoura cirúrgica. As fitas adesivas e as peles remanescentes foram transferidas para vials distintos, onde ficaram sob agitação a 500 rpm por 12 horas em 5 mL de metanol (solvente de extração).

Após 12h, o conteúdo de cada vial foi filtrado em filtros com porosidade de 0,22

$\mu\text{m}$ , e posteriormente, foi feita a quantificação do timol por CLAE com metodologia previamente validada (ANGELO et al., 2016), a qual obteve valores superiores a 90% para a recuperação de timol no estrato córneo, pele remanescente e folículo piloso.

Para analisar o direcionamento da NPTML aos folículos pilosos, a concentração obtida no folículo piloso foi dividida pela soma das concentrações no estrato córneo, no folículo piloso e na pele remanescente.

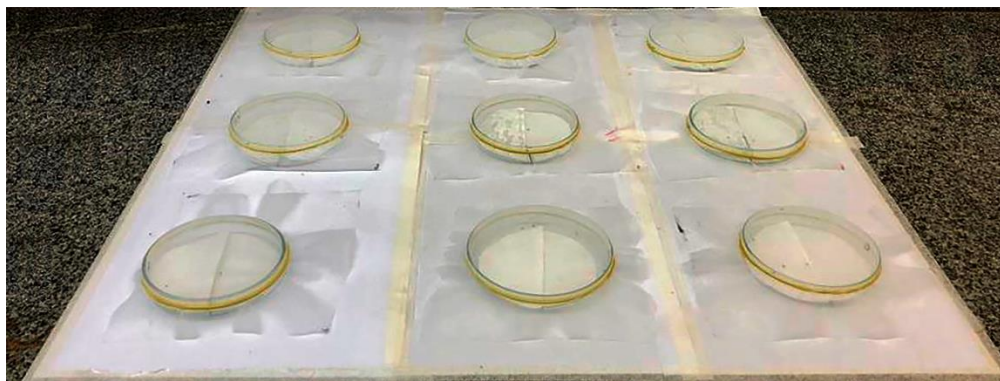
## **4.9 Atividade repelente *in vitro***

### **4.9.1 Colônia de carrapatos**

As fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* foram provenientes de cães naturalmente infestados da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) na Universidade Federal de Goiás (UFG) (Goiânia, Brasil). Para a postura dos ovos, as fêmeas ingurgitadas foram incubadas a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  com umidade relativa  $>80\%$ . As larvas e as ninfas também foram incubadas sob estas mesmas condições. A alimentação das larvas e das ninfas foi feita através de um aparato de alimentação grudado nas costas depiladas de coelhos (*Oryctolagus cuniculus* Califórnia x Nova Zelândia) (LOULY et al., 2009). O projeto foi aprovado pela Comitê de Ética no Uso de Animais da UFG (CEUA/UFG) (Prot. n.º 058/20). Ninfas não ingurgitadas com idade entre 30 a 60 dias foram utilizadas para o bioensaio de repelência.

### **4.9.2 Bioensaio de repelência**

A atividade repelente das nanocápsulas polimérica contendo timol foi baseada em estudos prévios (BARROZO et al., 2021; BISSINGER et al., 2009). Os experimentos foram realizados em ambiente aclimatado ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ . Dois semicírculos de papel filtro (Whatman® Qualitative Cat n.º 1001, 90 mm, USA) foram utilizados para cobrir o fundo da placa de Petri (10 cm de diâmetro) (Figura 8).



**Figura 8.** Bioensaio de repelência com ninfas de *R. sanguineus*. As placas de Petri contêm semicírculos de papel filtro tratados com NPTML, à direita, e com solvente (controle), à esquerda. Placas de Petri controle também foram avaliadas com papel filtro sem tratamento, à esquerda, e com tratamento utilizando solvente, à direita.

Sobre um semicírculo, foi adicionado 200  $\mu$ L de NPTML e em outro semicírculo foi adicionado a mesma quantidade de etanol (controle). Nanopartículas vazias também foram avaliadas. Os papéis filtro foram secos ao ar por 10 minutos. Em seguida, 10 ninfas não ingurgitadas foram colocadas no centro da placa de Petri, entre os papéis tratados e não tratados. As placas de Petri foram cobertas com um tecido de malha fina transparente (100% poliamida), o qual foi preso à placa com um elástico de borracha para prevenir que as ninfas escapassem.

Os carrapatos que permaneceram, durante o estudo, nos semicírculos não tratados foram considerados repelidos. A porcentagem média de repelência correspondeu à porcentagem de carrapatos no lado controle da placa de Petri (n=10).

#### 4.10 Análise estatística

As variáveis analisadas apresentaram distribuição normal conforme demonstrado pelo teste de Shapiro-Wilk. Para avaliar os parâmetros do estudo de estabilidade da nanopartícula ao longo do tempo e para comparar o perfil de liberação e de permeação do timol com o controle, foi utilizado o teste Two-Way ANOVA. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e o nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0,05$ ). Ao ser detectado diferença significativa, o teste post hoc Sidak foi aplicado para identificar onde a diferença significativa ocorreu. O software GraphPad Prism 8.4.2 (San Diego, Califórnia) foi utilizado para análise

estatística e elaboração dos gráficos. Os dados da atividade repelente foram tratados estatisticamente pelo teste do qui-quadrado ( $p < 0,05$ ) por meio da plataforma online [quantpsy.org](http://quantpsy.org) (PREACHER, 2001).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Estudo de estabilidade da nanocápsula**

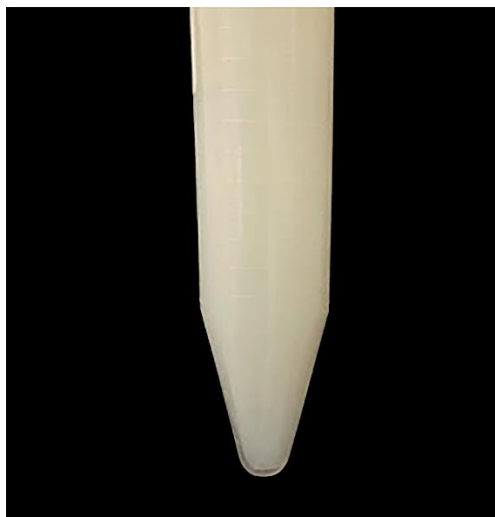
Compostos aromáticos voláteis, como o timol, estão presentes no cotidiano em produtos de higiene pessoal, de limpeza doméstica e em formulações cosméticas, dando ao consumidor uma sensação de bem-estar, mascarando o odor de outros ingredientes químicos e, até mesmo, contribuindo para uma propriedade farmacêutica específica. Por tanto, é de grande interesse controlar a estabilidade e a liberação dos compostos aromáticos voláteis (VILLA et al., 2007; KAUR et al., 2018; ALQARNI et al., 2021).

Por meio do estudo de estabilidade, é possível conhecer o grau de estabilidade relativa de um produto sob variadas condições e, assim, orientar e aperfeiçoar o desenvolvimento de uma formulação e auxiliar no monitoramento da sua estabilidade físico-química e organoléptica. É importante ressaltar que, cada componente, ativo ou não, pode afetar a estabilidade de um produto (ANVISA, 2004).

Para estudar a estabilidade física das suspensões de nanocápsulas poliméricas, as análises foram feitas por meio da técnica de retroespalhamento de luz, que permite a caracterização de sistemas de partículas. A principal vantagem dessa técnica é a detecção de fenômenos de desestabilização muito antes de serem percebidos a olho nu (KÜLKAMP et al., 2009).

#### **5.1.1 Características organolépticas**

Durante os 90 dias de estudo de estabilidade da suspensão de NPTML, seja armazenada em geladeira, seja armazenada em estufa, não foram observadas alterações no aspecto e cor. A NPTML se manteve como um líquido de coloração branca, sem a presença de corpos estranhos, depósitos e turvação e com odor levemente herbal, que se assemelha ao odor característico do timol (Figura 9).



**Figura 9.** Aspecto da suspensão de nanocápsula polimérica de timol

### **5.1.2 Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade**

O controle do tamanho da nanopartícula é um parâmetro que deve ser medido durante o armazenamento, uma vez que a forma de verificar se uma formulação de nanopartículas é fisicamente estável é por meio da determinação periódica do diâmetro médio (WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

A distribuição do tamanho das partículas, chamado de índice de polidispersividade (PDI), também é um dos parâmetros para analisar a estabilidade física das nanopartículas. O PDI variando de 0.1 a 0.25 indica uma distribuição homogênea de nanopartículas, enquanto que valores acima de 0.5 indicam uma distribuição heterogênea (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2010; PINA-BARRERA et al., 2019).

Os resultados do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (PDI) da NPTML estão demonstrados na tabela 1.



**Tabela 1.** Diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (PDI) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias

Dia	Geladeira (4°C)		Estufa (40°C)	
	DH (nm)	PDI	DH (nm)	PDI
<b>D0</b>	195,75 ± 0,55	0,20 ± 0,00	195,75 ± 0,55	0,20 ± 0,00
<b>D7</b>	193,80 ± 2,80 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,01	187,20 ± 3,90 <sup>*a</sup>	0,18 ± 0,01
<b>D15</b>	191,96 ± 0,80 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,02	186,10 ± 0,30 <sup>*a</sup>	0,16 ± 0,00 <sup>*</sup>
<b>D30</b>	192,20 ± 0,72 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,01	185,83 ± 1,42 <sup>*a</sup>	0,22 ± 0,00
<b>D60</b>	192,13 ± 2,21 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,00	185,23 ± 1,15 <sup>*a</sup>	0,22 ± 0,00
<b>D90</b>	192,70 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>*</sup>	184,80 ± 0,60 <sup>*a</sup>	0,21 ± 0,00

Resultados expressos em média ± DP (n=3). Diferença estatística significativa em comparação com: <sup>\*</sup>D0 na mesma amostra, <sup>a</sup>NPTML geladeira no mesmo momento, <sup>b</sup>NPTML estufa no mesmo momento; p<0,05.

Não houve diferença significativa de diâmetro hidrodinâmico nas análises da amostra na geladeira. Para a mesma amostra, somente foi observada diferença estatisticamente significativa em comparação com o diâmetro hidrodinâmico da amostra na estufa. Em relação ao índice de polidispersividade, houve diferença estatisticamente significativa entre o D0 e o D90 da amostra na geladeira e entre o D0 e D15 da amostra na estufa.

As nanocápsulas poliméricas contendo vitamina K1 produzidas por nanoprecipitação em estudos de Silva e colaboradores (2013) obtiveram diâmetro hidrodinâmico e PDI iguais a 211 ± 2 nm e 0,09, respectivamente. Em estudos com nanocápsulas poliméricas contendo efavirenz, também produzidas por nanoprecipitação, a partícula desenvolvida obteve o diâmetro hidrodinâmico igual a 241,93 ± 9,23 nm e PDI igual a 0,27 ± 0,02 (LYRA et al., 2021).

### 5.1.3 Potencial $\zeta$ e potencial de hidrogênio

A fim de avaliar a estabilidade química da suspensão de nanocápsulas, foram avaliados o potencial  $\zeta$  e o pH da formulação.

No primeiro dia de análise, a NPTML apresentou o potencial  $\zeta$  de -20,56 mV. O potencial  $\zeta$  das amostras armazenadas a 4°C e a 40°C apresentaram uma redução

ao longo dos 90 dias de análise, sendo observada diferença estatisticamente significativa comparação com o D0 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Potencial  $\zeta$  e potencial de hidrogênio (pH) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias.

Dia	Geladeira (4°C)		Estufa (40°C)	
	Potencial $\zeta$ (mV)	pH	Potencial $\zeta$ (mV)	pH
D0	-20,56 ± 0,35	4,7 ± 0,00	-20,56 ± 0,35	4,7 ± 0,00
D7	-17,13 ± 0,40*	4,7 ± 0,05	-16,80 ± 0,26*	4,7 ± 0,00*
D15	-19,50 ± 0,26 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,11 <sup>b</sup>	-18,43 ± 0,25 <sup>aa</sup>	4,5 ± 0,05 <sup>aa</sup>
D30	-19,33 ± 0,15 <sup>ab</sup>	4,6 ± 0,05 <sup>b</sup>	-18,20 ± 0,40 <sup>aa</sup>	4,2 ± 0,05 <sup>aa</sup>
D60	-19,56 ± 0,41 <sup>ab</sup>	4,5 ± 0,05 <sup>b</sup>	-15,70 ± 0,60 <sup>aa</sup>	4,0 ± 0,11 <sup>aa</sup>
D90	-19,33 ± 0,25 <sup>ab</sup>	4,6 ± 0,00 <sup>b</sup>	-14,26 ± 0,15 <sup>aa</sup>	3,8 ± 0,05 <sup>aa</sup>

Resultados expressos em média ± DP (n=3). Diferença estatística significativa em comparação com: \*D0 na mesma amostra, <sup>a</sup>NPTML geladeira no mesmo momento, <sup>b</sup>NPTML estufa no mesmo momento; p<0,05.

O potencial  $\zeta$  reflete do potencial elétrico das nanopartículas e é resultado dos excipientes usados para a produção das nanopartículas, como os surfactantes, localizados na interface entre as fases contínua e dispersa, portanto, o potencial  $\zeta$  é influenciado pela composição das nanopartículas e o meio a qual estão dispersas (COUVREUR et al., 2002; MOHANRAJ; CHEN, 2006; MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010). Nanopartículas com potencial  $\zeta$  acima de  $\pm 30$  mV são consideráveis mais estáveis, pois a presença de carga elétrica reduz a tendência de agregação e aumenta a estabilidade da formulação por promover a estabilidade entre as nanopartículas (COUVREUR et al., 2002; HONARY; ZAHIR, 2013; GONÇALVES DA ROSA et al., 2020).

A literatura descreve tanto partículas com o potencial  $\zeta$  positivo quanto com o negativo para a aplicação cutânea (OURIQUE et al., 2008; SONAVANE et al., 2008; HOELLER; SPERGER; VALENTA, 2009). O potencial  $\zeta$  de ambas amostras (geladeira e estufa) apresentou valores negativos, semelhante ao relatado em outros estudos com nanocápsulas de PCL (USHIROBIRA et al., 2020). Os valores negativos são devido às características estruturais do polisorbato 80 (JÄGER et al., 2009) e à

presença do ácido fosfatídico, contido na lecitina (CALVO; VILA-JATO; ALONSO, 1996; MOSQUEIRA et al., 2000).

A NPTML apresentou pH de 4,7 no primeiro dia de análise. Foi observada diferença estatisticamente significativa somente na amostra a 40°C. O pH da amostra a 4°C não sofreu alteração durante o estudo de estabilidade. Também foi observado diferença estatisticamente significativa em todos os dias de análise, exceto no D0, comparando o potencial  $\zeta$  e o pH entre as amostras no mesmo dia de análise. O valor obtido está dentro da faixa de pH de 3,0 a 7,5 usualmente encontrada em nanocápsulas produzidas por nanoprecipitação (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010)

O pH é uma característica determinante para a estabilidade e para o uso de uma formulação para aplicação na pele, que deve ser levemente ácido, conforme apresentado pela nanocápsula no D0 e nos dias subsequentes da amostra a 4°C (LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2002). A manutenção do pH da NPTML armazenada a 4°C demonstra não haver a degradação significativa da PCL nessas condições e este é um indício de que o timol se manteve encapsulado ao longo do estudo de estabilidade (KÜLKAMP et al., 2009).

A redução do pH da amostra a 40°C pode ser explicado pela hidrólise de PCL e pela auto-oxidação de polisorbato 80. A hidrólise de PCL leva à liberação de grupos carboxílicos, os quais não somente reduzem o pH, mas também, reduzem o potencial  $\zeta$  (GRILLO; ROSA; FRACETO, 2014; MALIN et al., 1996). Isso pode explicar o porquê da diminuição do pH e do potencial  $\zeta$  da amostra a 40°C. Outra explicação para a redução do pH é a provável formação de diferentes compostos durante a degradação de polisorbato 80 por auto-oxidação em meio aquoso. Estudos demonstram que a auto-oxidação ocorre de forma mais rápida a temperatura de 40°C (KISHORE et al., 2011).

#### **5.1.4 Eficiência de encapsulação e teor de timol**

A quantidade de fármaco que pode ser incorporada em uma nanopartícula é influenciada pelo tipo de formulação e pela técnica de preparo utilizada (DE SOUSA LOBATO et al., 2013). O teor de timol presente nas nanopartículas e a eficiência de encapsulação foram quantificados por CLAE-UV (Tabela 3).

**Tabela 3.** Teor de timol e eficiência de encapsulação (EE) da NPTML armazenada em geladeira e em estufa ao longo de 90 dias.

Dia	Geladeira (4°C)		Estufa (40°C)	
	Teor (%)	EE (%)	Teor (%)	EE (%)
D0	97,90 ± 0,19	80,14 ± 0,08	97,90 ± 0,01	80,14 ± 0,08
D7	91,47 ± 0,04 <sup>*b</sup>	80,62 ± 0,20 <sup>*b</sup>	87,38 ± 1,00 <sup>*a</sup>	83,31 ± 0,09 <sup>*a</sup>
D15	95,73 ± 0,50 <sup>*b</sup>	80,37 ± 0,12 <sup>b</sup>	85,74 ± 0,02 <sup>*a</sup>	82,34 ± 0,27 <sup>*a</sup>
D30	88,47 ± 0,67 <sup>*b</sup>	80,53 ± 0,59 <sup>b</sup>	78,58 ± 0,18 <sup>*a</sup>	81,61 ± 0,06 <sup>*a</sup>
D60	91,46 ± 0,12 <sup>*b</sup>	80,17 ± 0,04 <sup>b</sup>	53,72 ± 0,10 <sup>*a</sup>	75,76 ± 0,04 <sup>*a</sup>
D90	81,08 ± 0,02 <sup>*b</sup>	80,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	25,47 ± 0,04 <sup>*a</sup>	72,48 ± 0,12 <sup>*a</sup>

Resultados expressos em média ± DP (n=3). Diferença estatística significativa em comparação com: <sup>\*</sup>D0 na mesma amostra, <sup>a</sup>NPTML geladeira no mesmo momento, <sup>b</sup>NPTML estufa no mesmo momento; p<0,05.

A concentração mensurada no D0 foi considerada para calcular a porcentagem de decaimento do timol ao longo de 90 dias. As amostras a 4°C e a 40°C apresentaram diferença estatisticamente significativa entre o D0 e D90. A amostra a 4°C apresentou redução de aproximadamente 16% de timol em 90 dias. Dentro de 90 dias, a amostra a 40°C apresentou redução de cerca de 72% de timol.

O decaimento do timol da amostra a 40°C corrobora com a redução do pH da mesma amostra, como demonstrado anteriormente, visto que, a redução do pH leva à hidrólise de PCL e, conseqüentemente, à liberação do fármaco contido no interior da nanocápsula. Devido ao timol ser uma substância volátil, possivelmente ocorreu sua degradação e a redução do seu teor na amostra a 40°C.

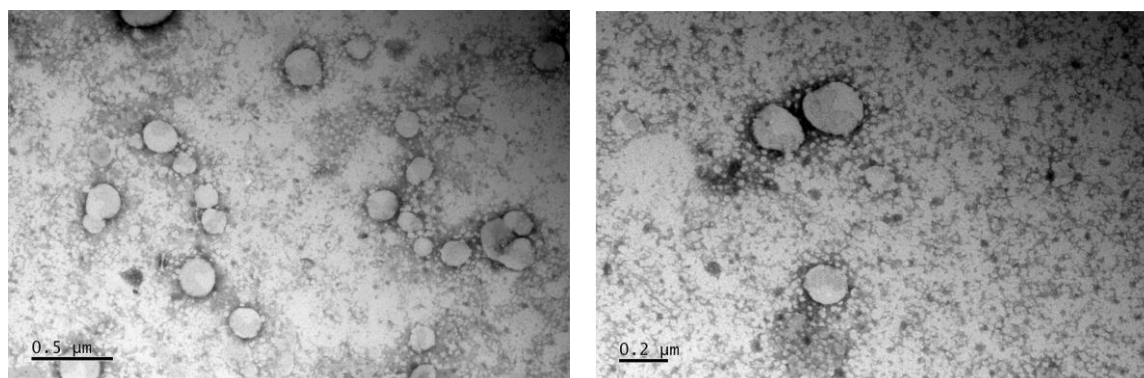
A EE da NPTML apresentou valor igual a 80,14% no D0. Em concordância com estudos prévios, a nanocápsula polimérica apresentou uma boa eficiência de encapsulação de timol (AL-NASIRI et al., 2018). Ativos hidrofóbicos, como o timol, tendem a se concentrar mais no núcleo da nanocápsula polimérica e com a adição de óleo no núcleo, como o triglicerídeo caprílico, maior será a EE (ELHESAISY; SWIDAN, 2020).

A EE da amostra a 40°C diminuiu ao longo de 90 dias, apresentando diferença estatisticamente significativa em todos os dias comparados com o D0. Por outro lado, a EE da amostra a 4°C se manteve em 80% durante todo o estudo de estabilidade.

Chen e colaboradores (2014) obtiveram EE igual a  $25,74 \pm 1.79\%$  em nanocápsulas de caseína produzidas por spray-dried. Em estudos de Medina e colaboradores (2019) as nanopartículas de timol revestidas com quitosana, produzidas por gelificação iônica, obtiveram EE igual a 66,6%. Já em nanocápsulas poliméricas de timol revestidas com metilcelulose/eticelulose a EE foi igual a 43,53%. Em comparação com o presente estudo, as nanocápsulas poliméricas contendo timol obtiveram EE superior aos estudos apresentados anteriormente.

## 5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

A análise morfológica das nanocápsulas poliméricas contendo timol por MET (Figura 10) mostraram partículas de formato esférico, cujos diâmetros estão em acordo com aqueles determinados por espalhamento de luz dinâmico. O formato esférico obtido está em conformidade com outros estudos de nanocápsulas poliméricas (FONTANA et al., 2009; YINGNGAM et al., 2019; USHIROBIRA et al., 2020).



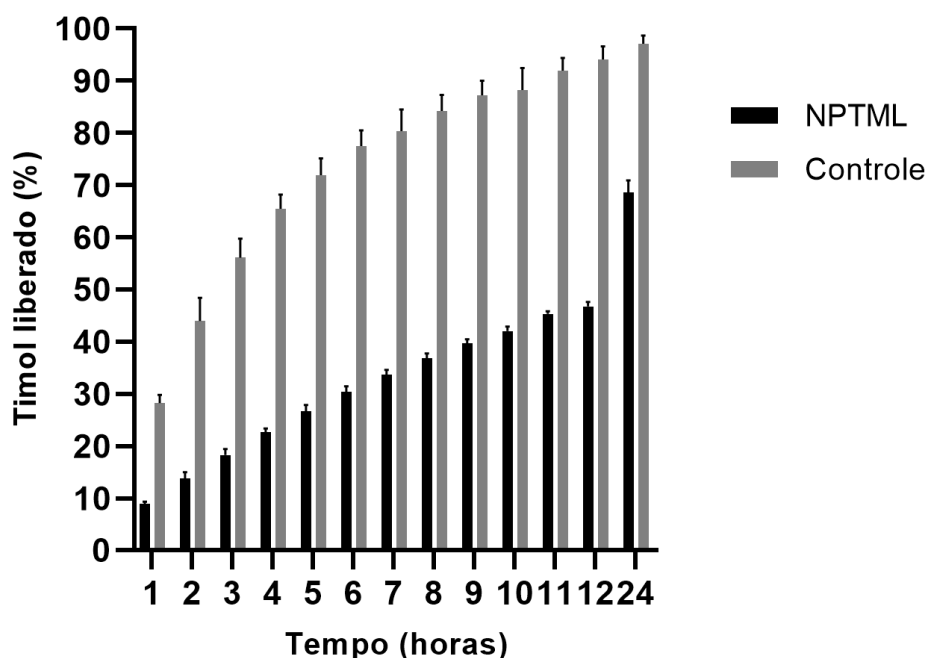
**Figura 10.** Imagens obtidas das nanocápsulas poliméricas contendo timol por microscopia eletrônica de transmissão

## 5.3 ESTUDO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

A liberação do ativo encapsulado na nanoestrutura polimérica depende da sua desdessorção da superfície polimérica, da difusão através da parede polimérica e da erosão do polímero ou processo combinado de difusão e erosão (FONTANA et al., 2009; ZIELIŃSKA et al., 2020).

O estudo de liberação foi feito em 24 horas, sendo feita coletas do meio receptor

de 1 em 1 hora até completar 12 horas de experimento, depois foi realizada a última coleta ao completar 24 horas de experimento. O controle, composto por timol (diluído em SDS 0,5%) na mesma concentração que a nanopartícula, liberou 606,68 µg de timol ao longo de 24 horas, o que corresponde a  $97,09 \pm 1,56\%$  do fármaco contido na amostra. Já a nanopartícula liberou 428,68 µg de timol, correspondendo a  $68,59 \pm 2,34\%$  do fármaco incorporado na formulação. Houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre a NPTML e o controle em todos os tempos analisados (Figura 11).



**Figura 11.** Perfil de liberação *in vitro* do controle e da nanocápsula polimérica contendo timol (NPTML)

A NPTML apresentou um perfil de liberação mais lento do que o controle, isso pode ser explicado pelo fato de que a policaprolactona é altamente hidrofóbica e cristalina, o que previne a difusão do fármaco para o meio (JIMÉNEZ et al., 2004). Além disso, a adição do triglicerídeo caprílico no núcleo da nanocápsula permite que fármacos ou ativos hidrofóbicos fiquem mais concentrados no núcleo, minimizando a liberação devido à erosão da camada polimérica (DASH; KONKIMALLA, 2012).

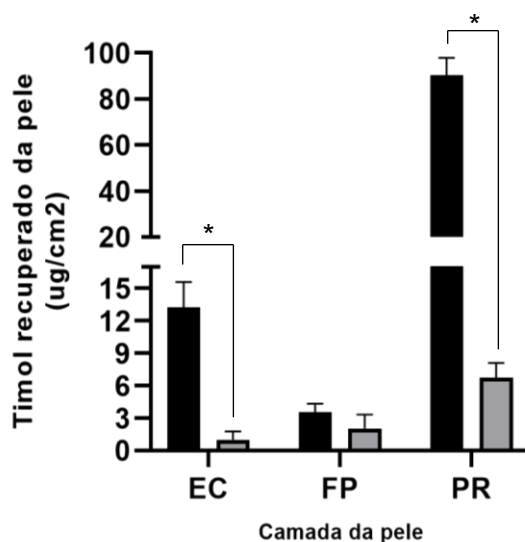
O perfil de liberação prolongada, apresentado pela NPTML, é desejável visto que, o objetivo da formulação é permanecer por mais tempo na pele possibilitando a diminuição da necessidade de reaplicação. Dessa forma, reduz a exposição à doses excessivas que podem causar efeitos adversos (BARRADAS et al., 2016).

## 5.4 ESTUDO DE PERMEAÇÃO *IN VITRO*

Os porcos possuem muitas semelhanças anatômicas, genéticas e fisiológicas com os humanos e, por isso, são excelentes modelos animais para algumas investigações (MEURENS et al., 2012; PRAÇA et al., 2018).

O estrato córneo da pele de porco possui espessura de 30 a 140  $\mu\text{m}$ , enquanto que a espessura do estrato córneo da pele humana varia de 50 a 120  $\mu\text{m}$  (SUMMERFIELD; MEURENS; RICKLIN, 2015), isso faz com que os resultados de estudos de permeação/penetração em peles suínas e humanas sejam similares (BARBERO; FRASCH, 2009).

O estudo de permeação *in vitro* foi realizado de forma passiva durante 2 horas com duas amostras: a NPTML e; o controle, uma solução de timol (diluído em água ultrapura) na mesma concentração do que a nanopartícula. Após as 2 horas de permeação, as camadas da pele de porco foram separadas pela técnica de *tape-stripping* e submersas em metanol para recuperação do timol penetrado. A comparação entre o controle e a nanopartícula é demonstrado na figura 12.



**Figura 12.** Comparação do estudo de permeação com controle e com a nanopartícula no estrato córneo (EC), folículo piloso (FP) e na pele remanescente/epiderme (PR). \*Diferença estatisticamente significativa entre os grupos;  $p < 0,05$  ( $n=5$ ).

O controle penetrou mais na pele do que NPTML. O controle apresentou uma penetração de  $13,2 \pm 1,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  no estrato córneo,  $3,5 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  no folículo piloso e de  $90,3 \pm 4,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  na pele remanescente. Já a nanopartícula apresentou uma

penetração de  $1,9 \pm 0,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  no estrato córneo,  $1,9 \pm 1,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  no folículo piloso e de  $6,8 \pm 1,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  na pele remanescente.

O controle penetrou facilmente na pele. Isso ocorre por causa da alta lipofilicidade do timol resultando em alta afinidade com as camadas da pele (CHEN et al., 2016). A maior penetração da NPTML na pele remanescente já era esperado, visto que, nanopartículas de tamanho menores favorecem a permeação do fármaco na pele (YINGNGAM et al., 2019).

Ao verificar o direcionamento do fármaco para os folículos pilosos, observou-se que a NPTML aumentou em 3 vezes a retenção do timol nos folículos pilosos comparado com o controle, evidenciando um direcionamento de retenção do timol. A NPTML foi capaz de proteger a pele da penetração do timol, o que é vantajoso, já que, a penetração do ativo não é desejável em uma formulação repelente. Espera-se que em uma situação *in vivo*, a quantidade de timol retida sirva como um sistema de reserva do ativo e, assim, prolongando o tempo de repelência.

## 5.5 ATIVIDADE REPELENTE

A atividade repelente da NPTML está demonstrada na Tabela 4.

**Tabela 4.** Porcentagem (média  $\pm$  DP) de repelência do etanol (controle), das nanopartículas vazias (NPVAZIA), da solução etanólica de timol (ETML) e das nanocápsulas poliméricas contendo timol (NPTML) sobre ninfas não-ingurgitadas de *R. sanguineus* (n=10).

Tempo	Controle	NPVAZIA	ETML	NPTML
1 min	51.7 $\pm$ 16.6	36.7 $\pm$ 23.3*	66.7 $\pm$ 17.6*	68.3 $\pm$ 16.6*
5 min	47.9 $\pm$ 16.5	41.7 $\pm$ 16.2	66.7 $\pm$ 13.6*	73.3 $\pm$ 14.0*
10 min	45.8 $\pm$ 17.2	41.7 $\pm$ 21.1	68.3 $\pm$ 14.6*	71.7 $\pm$ 15.8*
15 min	50.0 $\pm$ 15.7	40.0 $\pm$ 16.1	60.0 $\pm$ 14.0	70.0 $\pm$ 20.5*
1 h	38.7 $\pm$ 14.4	35.4 $\pm$ 18.7	65.0 $\pm$ 19.9*	64.5 $\pm$ 13.9*
2 h	36.7 $\pm$ 18.9	33.3 $\pm$ 19.2	60.0 $\pm$ 21.1*	51.7 $\pm$ 19.9*
24 h	50.0 $\pm$ 19.2	50.0 $\pm$ 17.6	55.0 $\pm$ 19.3	45.0 $\pm$ 24.9

\*Nível de significância:  $p > 0,05$

A NPTML apresentou repelência de aproximadamente 60-70% por 2 horas, tendo diferença estatisticamente significativa comparado com os controles negativos, etanol e NPVAZIA ( $p < 0,05$ ). Além disso, a solução etanólica de timol apresentou



repelência similar à NPTML. Portanto, a nanocápsula polimérica não afetou a efetividade intrínseca do timol, provendo repelência sobre as ninfas por 2 horas.

A nanotecnologia possibilita a padronização de acaricidas e repelentes, assegurando a segurança, qualidade e consistência (SOIJANYA et al., 2016). Por meio de nanosistemas, como as nanopartículas poliméricas, é possível controlar a liberação de inúmeras substâncias hidrofóbicas (SÁNCHEZ; MEJÍA; OROZCO, 2020).

Estudos prévios mostram a ação repelente do timol em diferentes nanopartículas, porém diferentes resultados foram obtidos. Na maioria dos casos, a liberação controlada foi desejada a fim de melhorar a sua performance para diferentes aplicações. Por exemplo, Karimi e colaboradores (2019) desenvolveram nanopartículas poliméricas contendo timol modificadas por ácido oleico e aproximadamente 65% de timol foi liberada nas primeiras 12 horas de estudo. O timol também foi encapsulado em nanopartículas sólidas híbridas de lipídio-polímero e incorporado em hidrogéis de quitosona, mas 50% do timol foi liberado após 6 horas de incubação (WANG; LUO, 2018). Já em nanopartículas de PLA contendo timol, 93% do timol foi liberado em 6 horas a 35 °C (MARCET et al., 2018). Até mesmo em nanopartículas, 60% do timol foi liberado em 18 horas de estudo (PIVETTA et al., 2018). Ao contrário, nanopartículas de sílica biogênica foram produzidas com timol e 50% foram liberadas em 48 h do estudo (MATTOS et al., 2018).

As nanocápsulas poliméricas desenvolvidas nesse presente estudo controlaram mais a liberação do timol. Como demonstrado anteriormente, em 24 horas, a NPTML liberou 68,59% do timol. Mesmo com o controle da liberação, a nanoestrutura polimérica não afetou a atividade repelente sobre as ninfas de *R. sanguineus*, atingindo valores excelentes de repelência (60-70%) por 2 horas, o que pode ser interessante para aplicação em um repelente de uso tópico. Uma repelência mais pronunciada pode ser observada com o aumento na concentração timol, o qual pode ser adquirida pela concentração da formulação ou pelo aumento da área de aplicação.

É importante ressaltar que repelentes contendo ativos naturais obtiveram uma média de repelência menor do que 20 minutos sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* (FRADIN; DAY, 2002). Visando os resultados apresentados pela NPTML sobre *R. sanguineus*, demonstra-se interesse em realizar novos estudos com espécies de

mosquitos para avaliar a viabilidade do uso de nanopartículas contendo timol como repelente de artrópodes.

## 6 CONCLUSÃO

A técnica de deposição interfacial do polímero pré-formado permitiu o desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo timol com atividade repelente sobre ninfas de *R. sanguineus*. A nanoestrutura desenvolvida permitiu a produção de nanocápsulas com alta eficiência de encapsulação, distribuição homogênea de tamanho e com capacidade para controlar a liberação e a volatilização do timol, dado que a estabilidade do nanosistema foi confirmada em geladeira por até 90 dias. Além disso, a formulação é constituída por componentes com baixa toxicidade para a pele, sendo ideal para a aplicação de um repelente de uso tópico.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, R. Z.; COLWELL, D. D.; IQBAL, Z.; KHAN, A. Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management.

**World's Poultry Science Journal**, [S. l.], v. 70, n. 1, p. 113–124, 2014. DOI: 10.1017/S0043933914000105.

ADENUBI, O. T.; FASINA, F. O.; MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N.; NAIDOO, V. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. **South**

**African Journal of Botany**, [S. l.], v. 105, p. 178–193, 2016. DOI:

10.1016/j.sajb.2016.03.010. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.010>.

ADENUBI, Olubukola Tolulope; AHMED, Aroke Shahid; FASINA, Folorunso Oludayo;

MCGAW, Lyndy Joy; ELOFF, Jacobus Nicolaas; NAIDOO, Vinny. Pesticidal plants

as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review

and meta-analysis. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 123, n. August 2017, p.

779–806, 2018. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.06.075.

AHMAD, Latif; KHAN, Ahrar; KHAN, Muhammad Zargham. Pyrethroid-Induced

Reproductive Toxicology-Pathology in Non-Target Species. **Pakistan Veterinary**

**Journa**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 127–137, 2011.

AL-NASIRI, Ghofran; CRAN, Marlene J.; SMALLRIDGE, Andrew J.; BIGGER,

Stephen W. Optimisation of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes with natural

antimicrobial agents: thymol, carvacrol and linalool. **Journal of Microencapsulation**,

[S. l.], v. 35, n. 1, p. 26–35, 2018. DOI: 10.1080/02652048.2017.1413147. Disponível

em: <http://dx.doi.org/10.1080/02652048.2017.1413147>.

ALQARNI, Mohammad H.; FOUDAH, Ahmed I.; ALAM, Aftab; SALKINI, Mohammad

Ayman; ALAM, Prawez; YUSUFOGLU, Hasan S. Novel HPTLC-densitometric

method for concurrent quantification of linalool and thymol in essential oils. **Arabian**

**Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 102916, 2021. DOI:

10.1016/j.arabjc.2020.102916. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102916>.

AMIRI, Hamzeh. Essential oils composition and antioxidant properties of three

thymus species. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2012, 2012. DOI: 10.1155/2012/728065.

ANDERSON, J. G.; VALENZUELA, J. M. Tick saliva: from pharmacology and biochemistry to transcriptome analysis and functional genomics. *In*: BOWMAN, Alan S.; NUTTALL, P. A. (org.). **Ticks: biology, disease, and control**. 1. ed. United Kingdom: Cambridge University Press, 2008. p. 16.

ANDREOTTI, Renato; KOLLER, Wilson Werner; GARCIA, Marcos Valério. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília: Embrapa, 2016.

ANGELO, Tamara; PIRES, Felipe Q.; GELFUSO, Guilherme M.; DA SILVA, Joyce K. R.; GRATIERI, Tais; CUNHA-FILHO, Marcílio S. S. Development and validation of a selective HPLC-UV method for thymol determination in skin permeation experiments. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [S. l.], v. 1022, p. 81–86, 2016. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.04.011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.011>.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade dos cosméticos anvisa**. 1. ed. [s.l.: s.n.]. v. 1 Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=108217&\\_101\\_type=document](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=108217&_101_type=document).

AQUINO, Michael; FYFE, Murray; MACDOUGALL, Laura; REMPLÉ, Valencia. Protective Behavior Survey, West Nile Virus, British Columbia. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 10, n. 8, p. 1369–1378, 2004. DOI: 10.3201/eid1008.031053.

ARAFÁ, Waleed M.; ABOELHADID, Shawky M.; MOAWAD, Abeer; SHOKEIR, Khalid M.; AHMED, Osama. Toxicity, repellency and anti-cholinesterase activities of thymol-eucalyptus combinations against phenotypically resistant *Rhipicephalus annulatus* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 81, n. 2, p. 265–277, 2020. DOI: 10.1007/s10493-020-00506-1. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00506-1>.

ARAÚJO, Helena R. C.; CARVALHO, Danilo O.; IOSHINO, Rafaella S.; COSTA-DA-

SILVA, André L.; CAPURRO, Margareth L. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: Incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. **Insects**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 576–594, 2015. a. DOI: 10.3390/insects6020576.

ARAÚJO, Laryssa Xavier; NOVATO, Tatiane Pinheiro Lopes; ZERINGOTA, Viviane; MATOS, Renata Silva; SENRA, Tatiane Oliveira Souza; MATURANO, Ralph; PRATA, Márcia Cristina Azevedo; DAEMON, Erik; MONTEIRO, Caio Márcio Oliveira. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 114, n. 9, p. 3271–3276, 2015. b. DOI: 10.1007/s00436-015-4547-3.

ASADBEGI, Masoumeh; YAGHMAEI, Parichehreh; SALEHI, Iraj; KOMAKI, Alireza; EBRAHIM-HABIBI, Azadeh. Investigation of thymol effect on learning and memory impairment induced by intrahippocampal injection of amyloid beta peptide in high fat diet- fed rats. **Metabolic Brain Disease**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 827–839, 2017. DOI: 10.1007/s11011-017-9960-0.

BABAR, Wasim; QBAL, Zafar; KHAN, Muhammad Nisar; MUHAMMAD, Ghulam. An inventory of the plants used for parasitic ailments of animals. **Pakistan Veterinary Journal**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 183–187, 2012.

BAFFI, Milla Alves; PEREIRA, Cícero Donizete; DE SOUZA, Guilherme Rocha Lino; BONETTI, Ana Maria; CERON, Carlos Roberto; GOURLART, Luiz Ricardo. Esterase profile in a pyrethroid-resistant Brazilian strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae). **Genetics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 749–753, 2005. DOI: 10.1590/S1415-47572005000500016.

BARBERO, Ana M.; FRASCH, H. Frederick. Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: A quantitative review. **Toxicology in Vitro**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 1–13, 2009. DOI: 10.1016/j.tiv.2008.10.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2008.10.008>.

BARRADAS, Thaís Nogueira; LOPES, Lea Maria Almeida; RICCI, Eduardo; DE HOLANDA E SILVA, Katty Gyselle; MANSUR, Claudia Regina Elias. Development and characterization of micellar systems for application as insect repellents. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 454, n. 2, p. 633–640, 2013. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.05.050. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.05.050>.

BARRADAS, Thaís Nogueira; SENNA, Juliana Perdiz; JÚNIOR, Eduardo Ricci; MANSUR, Claudia Regina Elias. Polymer-based Drug Delivery Systems Applied to Insects Repellents Devices: A Review. **Current Drug Delivery**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 221–235, 2016. DOI: 10.2174/1567201813666151207110515.

BARROZO, Mayara Macêdo; ZERINGÓTA, Viviane; BORGES, Lígia Miranda Ferreira; MORAES, Nélio; BENZ, Kim; FARR, Amy; ZHU, Junwei Jerry. Repellent and acaricidal activity of coconut oil fatty acids and their derivative compounds and catnip oil against *Amblyomma sculptum*. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 300, n. June, 2021. DOI: 10.1016/j.vetpar.2021.109591.

BAZYLIŃSKA, Urszula; FRĄCKOWIAK, Renata; BRZÓZKA, Zbigniew; WILK, Kazimiera A. The effect of anionic dicephalic surfactants on fabrication of varied-core nanocarriers for sustained release of porphyrin photosensitizers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 166, p. 169–179, 2017. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.11.012.

BEENA; KUMAR, Deepak; RAWAT, Diwan S. Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 641–645, 2013. DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.12.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.001>.

BEGROW, Frank; ENGELBERTZ, Jonas; FEISTEL, Björn; LEHNFELD, Romanus; BAUER, Katrin; VERSPOHL, Eugen J. Impact of Thymol in thyme extracts on their antispasmodic action and ciliary clearance. **Planta Medica**, [S. l.], v. 76, n. 4, p. 311–318, 2010. DOI: 10.1055/s-0029-1186179.

BEHR, Arno; SEIDENSTICKER, Thomas. **Chemistry of Renewables**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-3-662-61430-3.

BELL, John W.; VELTRI, Joseph C.; PAGE, Brent C. Human Exposures to N, N - diethyl- m -toluamide Insect Repellents Reported to the American Association of Poison Control Centers 1993–1997. **International Journal of Toxicology**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 341–352, 2002. DOI: 10.1080/10915810290096559. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1080/10915810290096559>.

BENDER, Eduardo A.; ADORNE, Márcia D.; COLOMÉ, Letícia M.; ABDALLA, Dulcinéia S. P.; GUTERRES, Sílvia S.; POHLMANN, Adriana R. Hemocompatibility of poly( $\epsilon$ -caprolactone) lipid-core nanocapsules stabilized with polysorbate 80-lecithin and uncoated or coated with chitosan. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 426, n. 1–2, p. 271–279, 2012. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.01.051. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.01.051>.

BISSINGER, B. W.; APPERSON, C. S.; SONENSHINE, D. E.; WATSON, D. W.; ROE, R. M. Efficacy of the new repellent BioUD® against three species of ixodid ticks. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 48, n. 3, p. 239–250, 2009. DOI: 10.1007/s10493-008-9235-x.

BISSINGER, Brooke W.; ROE, R. Michael. Tick repellents: Past, present, and future. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 96, n. 2, p. 63–79, 2010. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.09.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.010>.

BOULANGER, N.; BOYER, P.; TALAGRAND-REBOUL, E.; HANSMANN, Y. Ticks and tick-borne diseases. **Medecine et Maladies Infectieuses**, [S. l.], v. 49, n. 2, p. 87–97, 2019. DOI: 10.1016/j.medmal.2019.01.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.01.007>.

BRASIL. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_nacionais\\_prevencao\\_controle\\_dengue.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf).

BRIASSOULIS, G.; NARLIOGLOU, M.; HATZIS, T. Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children. **Human & Experimental Toxicology**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 8–14, 2001. DOI: 10.1191/096032701676731093. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1191/096032701676731093>.

BROWN, M.; HEBERT, A. A. Insect repellents: An overview. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 243–249, 1997. DOI: 10.1016/S0190-9622(97)70289-5.



BURLINI, Leonardo; TEIXEIRA, Kátia R. S.; SZABÓ, Matias P. J.; FAMADAS, Kátia M. Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: Is there a geographical pattern? **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 361–374, 2010. DOI: 10.1007/s10493-009-9321-8.

BURTIS, James C.; POGGI, Joseph D.; PAYNE, Beau; CAMPBELL, Scott R.; HARRINGTON, Laura C. Susceptibility of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) to Permethrin under a Long-Term 4-Poster Deer Treatment Area on Shelter Island, NY. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 1966–1969, 2021. DOI: 10.1093/jme/tjab054.

CALVO, Pilar; VILA-JATO, José L.; ALONSO, María J. Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 85, n. 5, p. 530–536, 1996. DOI: 10.1021/js950474+.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Life cycle of *Rhipicephalus sanguineus* and the transmission of *Rickettsia rickettsii* (the causative agent of Rocky Mountain Spotted Fever)**. 2020. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/53759>. Acesso em: 6 nov. 2021.

CHEN, Huaiqiong; ZHANG, Yue; ZHONG, Qixin. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein-casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 144, p. 93–102, 2014. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2014.07.021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.021>.

CHEN, Jun; JIANG, Qiu-Dong; CHAI, Ya-Ping; ZHANG, Hui; PENG, Pei; YANG, Xi-Xiong. Natural Terpenes as Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery. **Molecules**, [S. l.], v. 21, n. 12, p. 1709, 2016. DOI: 10.3390/molecules21121709. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/12/1709>.

CHIARI-ANDRÉO, Bruna Galdorfini; DE ALMEIDA-CINCOTTO, Maria Gabriela José; OSHIRO, João Augusto; TANIGUCHI, Cibele Yumi Yamada; CHIAVACCI, Leila Aparecida; ISAAC, Vera Lucia Borges. **Nanoparticles for cosmetic use and its application**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1016/B978-0-12-816504-1.00013-2.

CLEM, James R.; HAVEMANN, David F.; RAEBEL, Marsha A. Insect repellent (N,N-Diethyl-m-Toluamide) cardiovascular toxicity in an adult. **Annals of Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 289–293, 1993. DOI:

10.1177/106002809302700305. Disponível em:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/106002809302700305>.

COUVREUR, Patrick; BARRATT, Gillian; FATTAL, Elias; VAUTHIER, Christine.

Nanocapsule Technology: A Review. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 99–134, 2002. DOI:

10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v19.i2.10. Disponível em:

<http://www.dl.begellhouse.com/journals/3667c4ae6e8fd136,13237f906e958e8d,12624a520b8f6730.html>.

DA SILVA, Ana Luiza M.; CONTRI, Renata V.; JORNADA, Denise S.; POHLMANN, Adriana R.; GUTERRES, Silvia S. Vitamin K1-loaded lipid-core nanocapsules:

Physicochemical characterization and in vitro skin permeation. **Skin Research and Technology**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 1–8, 2013. DOI: 10.1111/j.1600-

0846.2012.00631.x.

DA SILVA MATOS, Renata; DAEMON, Erik; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel;

FURQUIM, Karim Christina Scopinho; SAMPIERI, Bruno Rodrigues; REMÉDIO, Rafael Neodini; ARAÚJO, Laryssa Xavier; NOVATO, Tatiane Pinheiro Lopes.

Histopathological study of ovaries of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae)

exposed to different thymol concentrations. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 113, n. 12, p. 4555–4565, 2014. DOI: 10.1007/s00436-014-4145-9.

DAEMON, Erik; DE OLIVEIRA MONTEIRO, Caio Márcio; DOS SANTOS ROSA, Leonardo; APARECIDO CLEMENTE, Mateus; ARCOVERDE, Alessandro.

Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, [S. l.], v. 105, n. 2, p. 495–497, 2009. DOI: 10.1007/s00436-009-1426-9.

DANTAS-TORRES, Filipe. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,

1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 152, n. 3–4, p. 173–185, 2008. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.12.030.

DANTAS-TORRES, Filipe. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus*

sanguineus. **Parasites and Vectors**, [S. l.], v. 3, n. 1, 2010. DOI: 10.1186/1756-3305-3-26.

DANTAS-TORRES, Filipe; FIGUEREDO, Luciana Aguiar; BRANDÃO-FILHO, Sinval Pinto. Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 64–67, 2006. DOI: 10.1590/S0037-86822006000100012.

DANTAS-TORRES, Filipe; LATROFA, Maria Stefania; ANNOSCIA, Giada; GIANNELLI, Alessio; PARISI, Antonio; OTRANTO, Domenico. Morphological and genetic diversity of Rhipicephalus sanguineus sensu lato from the New and Old Worlds. **Parasites and Vectors**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2013. DOI: 10.1186/1756-3305-6-213.

DANTAS-TORRES, Filipe; OTRANTO, Domenico. Further thoughts on the taxonomy and vector role of Rhipicephalus sanguineus group ticks. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 208, n. 1–2, p. 9–13, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.12.014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.014>.

DASH, Tapan K.; KONKIMALLA, V. Badireenath. Poly- $\epsilon$ -caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 158, n. 1, p. 15–33, 2012. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.09.064. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.064>.

DE LA CHAPA, Jorge J.; SINGHA, Prajjal Kanti; LEE, Debbie R.; GONZALES, Cara B. Thymol inhibits oral squamous cell carcinoma growth via mitochondria-mediated apoptosis. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, [S. l.], v. 47, n. 7, p. 674–682, 2018. DOI: 10.1111/jop.12735.

DE OLIVEIRA MONTEIRO, Caio Márcio; DAEMON, Erik; APARECIDO CLEMENTE, Mateus; DOS SANTOS ROSA, Leonardo; MATURANO, Ralph. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, [S. l.], v. 105, n. 4, p. 1093–1097, 2009. DOI: 10.1007/s00436-009-1530-x.

DE OLIVEIRA MONTEIRO, Caio Márcio; DAEMON, Erik; SILVA, Andressa Mendes Ribeiro; MATURANO, Ralph; AMARAL, Carolina. Acaricide and ovicide activities of

thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, [S. l.], v. 106, n. 3, p. 615–619, 2010. DOI: 10.1007/s00436-009-1709-1.

DE SOUSA LOBATO, Kleidson Brito; PAESE, Karina; FORGEARINI, Joana Casanova; GUTERRES, Silvia Staniscuaski; JABLONSKI, André; DE OLIVEIRA RIOS, Alessandro. Characterisation and stability evaluation of bixin nanocapsules. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 141, n. 4, p. 3906–3912, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.04.135. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.135>.

DEL VALLE, E. M. Marti. Cyclodextrins and their uses: A review. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 39, n. 9, p. 1033–1046, 2004. DOI: 10.1016/S0032-9592(03)00258-9.

DENG, Siyuan; GIGLIOBIANCO, Maria Rosa; CENSI, Roberta; DI MARTINO, Piera. Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: Current status, challenges and opportunities. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 1–39, 2020. DOI: 10.3390/nano10050847.

DIASPRO, Alberto; KROL, Silke; CAVALLERI, Ornella; SILVANO, Daniela; GLIOZZI, Alessandra. Microscopical characterization of nanocapsules templated on ionic crystals and biological cells toward biomedical applications. **IEEE Transactions on Nanobioscience**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 110–115, 2002. DOI: 10.1109/TNB.2003.809466.

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; ZUBEN, Andrea Paula Bruno Von. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de saude publica**, [S. l.], v. 51, p. 30, 2017. DOI: 10.1590/S1518-8787.2017051006889.

DONOSO-MANTKE, Oliver; S., Luidmila; RUZEK, Daniel. Tick-Borne Encephalitis Virus: A General Overview. *In*: RUZEK, Daniel (org.). **Flavivirus Encephalitis**. 1. ed. Rijeka: InTech, 2011. p. 133–156. DOI: 10.5772/21912. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/flavivirus-encephalitis/tick-borne-encephalitis-virus-a-general-overview>.

DRUMMOND, R. O. Resistance in Ticks And Insects of Veterinary Importance. *In*:

WATSON, David L.; BROWN, A. W. A. (org.). **Pesticide Management and Insecticide Resistance**. [s.l.] : ACADEMIC PRESS, INC., 1977. p. 303–319. DOI: 10.1016/b978-0-12-738650-8.50025-4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-738650-8.50025-4>.

DUCHEËNE, Dominique; GREF, Ruxandra. Cyclodextrins and Polymer Nanoparticles. **Cyclodextrins in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Biomedicine: Current and Future Industrial Applications**, [S. l.], p. 371–391, 2011. DOI: 10.1002/9780470926819.ch20.

ELHESAISY, Nahla; SWIDAN, Shady. Trazodone Loaded Lipid Core Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) Nanocapsules: Development, Characterization and in Vivo Antidepressant Effect Evaluation. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-58803-z. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-58803-z>.

ERDOĞAR, Nazlı; VARAN, Gamze; VARAN, Cem; BILENSOY, Erem. Cyclodextrin-based polymeric nanosystems. *In*: **Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems**. [s.l.] : Elsevier, 2018. p. 715–748. DOI: 10.1016/B978-0-12-813689-8.00019-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128136898000197>.

ESCOBAR, Angélica; PÉREZ, Miriam; ROMANELLI, Gustavo; BLUSTEIN, Guillermo. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. **Arabian Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 13, n. 12, p. 9243–9269, 2020. DOI: 10.1016/j.arabjc.2020.11.009.

ESTRADA-PEÑA, Agustín; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. **Experimental & applied acarology**, [S. l.], v. 23, n. 9, p. 685–715, 1999. DOI: 10.1023/a:1006241108739. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15119974>file:///C:/Users/Mauricio/AppData/Local/Mendeley Ltd./Mendeley Desktop/Downloaded/Estrada-Peña, Guglielmone, Mangold - 2004 - The distribution and ecological “preferences” of the tick *Amblyomma cajennense* (Aca.

FACCINI, João Luiz Horácio; BARROS-BATTESTI, Darci Moraes. Aspectos gerais

da biologia e identificação de carrapatos. *In*: BARROS-BATTESTI, Darci Moraes; ARZUA, Márcia; BECHARA, Gervásio Henrique (org.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. v. 1p. 223. DOI: 10.5958/2249-0035.2015.00011.x.

FALCONE, P.; SPERANZA, B.; DEL NOBILE, M. A.; CORBO, M. R.; SINIGAGLIA, M. A study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative. **Journal of Food Protection**, [S. l.], v. 68, n. 8, p. 1664–1670, 2005. DOI: 10.4315/0362-028X-68.8.1664.

FEDER, Denise; GONZALEZ, Marcelo S.; MELLO, Cícero B.; MARCELO, G. Exploring the Insecticide and Acaricide Potential of Development Regulators obtained from Restinga vegetation from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 91, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-376520192018038>.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. Ph; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 1–4, 1989. DOI: 10.1016/0378-5173(89)90281-0.

FIOL, Fernando de Sá Del; JUNQUEIRA, Fábio Miranda; ROCHA, Maria Carolina Pereira Da; TOLEDO, Maria Inês De; BARBERATO FILHO, Silvio. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S. l.], v. 27, n. 6, p. 461–466, 2010. DOI: 10.1590/s1020-49892010000600008.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico-veterinária**. [s.l.] : Livraria Nobel, 1973. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=zq2jXjT9BpYC>.

FONTANA, M. C.; CORADINI, K.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R.; BECK, R. C. R. Nanoencapsulation as a way to control the release and to increase the photostability of clobetasol propionate: Influence of the nanostructured system. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 254–263, 2009. DOI: 10.1166/jbn.2009.1030.

FRADIN, Mark S.; DAY, John F. Comparative Efficacy of Insect Repellents against

Mosquito Bites. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 347, n. 1, p. 13–18, 2002. DOI: 10.1056/NEJMoa011699. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa011699>.

FRANCES, Stephen P. **Efficacy and safety of repellents containing DEET**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781420006650>.

FRENCH, Dexter; PULLEY, Arden O.; EFFENBERGER, John A.; ROUGVIE, Malcolm A.; ABDULLAH, Mukhtar. Studies on the Schardinger dextrans. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 111, n. 1, p. 153–160, 1965. DOI: 10.1016/0003-9861(65)90334-6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003986165903346>.

FURLONG, John. **Carrapato : problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005.

GAJGER, Ivana Tlak; DAR, Showket Ahmad. Plant allelochemicals as sources of insecticides. **Insects**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 1–21, 2021. DOI: 10.3390/insects12030189.

GATHANY, James. **Public Health Image Library**. 2005. Disponível em: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=7646>. Acesso em: 5 nov. 2021.

GAVLIAKOVA, S.; BIRINGEROVA, Z.; BUDAY, T.; BROZMANOVA, M.; CALKOVSKY, V.; POLIACEK, I.; PLEVKOVA, J. Antitussive effects of nasal thymol challenges in healthy volunteers. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, [S. l.], v. 187, n. 1, p. 104–107, 2013. DOI: 10.1016/j.resp.2013.02.011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2013.02.011>.

GONÇALVES DA ROSA, Cleonice; ZAPELINI DE MELO, Ana Paula; SGANZERLA, William Gustavo; MACHADO, Michelle Heck; NUNES, Michael Ramos; VINICIUS DE OLIVEIRA BRISOLA MACIEL, Matheus; BERTOLDI, Fabiano Cleber; MANIQUE BARRETO, Pedro Luiz. Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 99, n. July 2019, p. 105339, 2020. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105339. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105339>.

GOULD, E. A. et al. Understanding the alphaviruses: Recent research on important emerging pathogens and progress towards their control. **Antiviral Research**, [S. l.], v. 87, n. 2, p. 111–124, 2010. DOI: 10.1016/j.antiviral.2009.07.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.07.007>.

GOULD, E. A.; HIGGS, S. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 103, n. 2, p. 109–21, 2009. DOI: 10.1016/j.trstmh.2008.07.025. Disponível em: <https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/j.trstmh.2008.07.025>.

GOULD, Ernest A.; DE LAMBALLERIE, Xavier; ZANOTTO, Pablo M. d. A.; HOLMES, Edward C. Origins, evolution, and vector{plus 45 degree rule}host coadaptations within the Genus Flavivirus. **Advances in Virus Research**, [S. l.], v. 59, p. 277–314, 2003. DOI: 10.1016/S0065-3527(03)59008-X.

GRILLO, R.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules carrying the herbicide atrazine: Effect of chitosan-coating agent on physico-chemical stability and herbicide release profile. **International Journal of Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. 1691–1700, 2014. DOI: 10.1007/s13762-013-0358-1.

HERMANCE, Meghan E.; THANGAMANI, Saravanan. Powassan Virus: An Emerging Arbovirus of Public Health Concern in North America. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 453–462, 2017. DOI: 10.1089/vbz.2017.2110.

HOELLER, Sonja; SPERGER, Andrea; VALENTA, Claudia. Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 370, n. 1–2, p. 181–186, 2009. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.11.014.

HOLBROOK, Michael R.; ARONSON, Judith F.; CAMPBELL, Gerald A.; JONES, Steven; FELDMANN, Heinz; BARREN, Alan D. T. An animal model for the tickborne flavivirus - Omsk hemorrhagic fever virus. **Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 191, n. 1, p. 100–108, 2005. DOI: 10.1086/426397.

HONARY, S.; ZAHIR, F. 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. 255–264, 2013.

HORAK, Ivan G.; CAMICAS, Jean Louis; KEIRANS, James E. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): A world list of valid tick names. **Experimental and Applied Acarology**, [S. l.], v. 28, n. 1–4, p. 27–54, 2002. DOI: 10.1023/A:1025381712339.

INFORMATION, National Center for Biotechnology. **Thymol**. 2021. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thymol>. Acesso em: 19 maio. 2021.

IYISAN, Banu; LANDFESTER, Katharina. **Polymeric nanocarriers**. [s.l.] : Springer International Publishing, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-12461-8\_3. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-12461-8\\_3](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-12461-8_3).

JÄGER, Eliézer; VENTURINI, Cristina G.; POLETTO, Fernanda S.; COLOMÉ, Letícia M.; POHLMANN, João P. U.; BERNARDI, Andressa; BATTASTINI, Ana M. O.; GUTERRES, Silvia S.; POHLMAN, Adriana R. Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 130–140, 2009. DOI: 10.1166/jbn.2009.1004.

JIMÉNEZ, M. M.; PELLETIER, J.; BOBIN, M. F.; MARTINI, M. C. Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 272, n. 1–2, p. 45–55, 2004. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2003.11.029.

JYOTI; DHEER, Divya; SINGH, Davinder; KUMAR, Gulshan; KARNATAK, Manvika; CHANDRA, Suresh; PRAKASH VERMA, Ved; SHANKAR, Ravi. Thymol Chemistry: A Medicinal Toolbox. **Current Bioactive Compounds**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 454–474, 2018. DOI: 10.2174/1573407214666180503120222.

KARIMI, Elahe; ABBASI, Shahryar; ABBASI, Naser. Thymol polymeric nanoparticle synthesis and its effects on the toxicity of high glucose on OEC cells: Involvement of growth factors and integrin-linked kinase. **Drug Design, Development and Therapy**, [S. l.], v. 13, p. 2513–2532, 2019. DOI: 10.2147/DDDT.S214454.

KAUR, Rajnish; KUKKAR, Deepak; BHARDWAJ, Sanjeev K.; KIM, Ki Hyun; DEEP,

Akash. Potential use of polymers and their complexes as media for storage and delivery of fragrances. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 285, n. July, p. 81–95, 2018. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.07.008. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.07.008>.

KILPATRICK, A. Marm; RANDOLPH, Sarah E. Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. **The Lancet**, [S. l.], v. 380, n. 9857, p. 1946–1955, 2012. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61151-9. Disponível em:

[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61151-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61151-9).

KISHORE, Ravuri S. K.; KIESE, Sylvia; FISCHER, Stefan; PAPPENBERGER, Astrid; GRAUSCHOPF, Ulla; MAHLER, Hanns Christian. The degradation of polysorbates 20 and 80 and its potential impact on the stability of biotherapeutics. **Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 28, n. 5, p. 1194–1210, 2011. DOI: 10.1007/s11095-011-0385-x.

KNOX, Konstance K.; THOMM, Angela M.; HARRINGTON, Yvette A.; KETTER, Ellen; PATITUCCI, Jacob M.; CARRIGAN, Donald R. Powassan/Deer Tick Virus and *Borrelia burgdorferi* Infection in Wisconsin Tick Populations. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 463–466, 2017. DOI:

10.1089/vbz.2016.2082.

KOCH, Henry G. Oviposition of the Brown Dog Tick (Acari: Ixodidae) in the Laboratory1. **Annals of the Entomological Society of America**, [S. l.], v. 75, n. 5, p. 583–586, 1982. DOI: 10.1093/aesa/75.5.583.

KOSHY, T. J.; RAJAVELU, G.; LALITHA, C. M. On the life cycle of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) [common dog tick]. **Cheiron Tamil Nadu Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry**, [S. l.], v. 12, 1983.

KOTHAMASU, Pavankumar; KANUMUR, Hemanth; RAVUR, Niranjan; MADDU, Chiranjeevi; PARASURAMRAJAM, Radhika; THANGAVEL, Sivakumar.

Nanocapsules: The weapons for novel drug delivery systems. **BiolImpacts**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 71–81, 2012. DOI: 10.5681/bi.2012.011.

KOWALCZYK, Adam; PRZYCHODNA, Martyna; SOPATA, Sylwia; BODALSKA, Agnieszka; FECKA, Izabela. Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 18, p. 4125, 2020. DOI: 10.3390/molecules25184125. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420->

3049/25/18/4125.

KRAWCZAK, Felipe S.; MARTINS, Thiago F.; OLIVEIRA, Caroline S.; BINDER, Lina C.; COSTA, Francisco B.; NUNES, Pablo H.; GREGORI, Fábio; LABRUNA, Marcelo B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari: Ixodidae), a parasite of wild mammals in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 52, n. 1, p. 28–37, 2015. DOI: 10.1093/jme/tju007.

KÜLKAMP, Irene Clemes; PAESE, Karina; GUTERRES, Sílvia Stanisçuaski; POHLMANN, Adriana Raffin. Stabilization of lipoic acid by encapsulation in polymeric nanocapsules designed for cutaneous administration. **Quimica Nova**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 2078–2084, 2009. DOI: 10.1590/s0100-40422009000800018.

LABET, Marianne; THIELEMANS, Wim. Synthesis of polycaprolactone: A review. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 38, n. 12, p. 3484–3504, 2009. DOI: 10.1039/b820162p.

LATREILLE, P. A. **Genera crustaceorum et insectorum secundum ordinem naturalem in familias disposita, iconibus exemplisque plurimis explicata**. [s.l.] : Parisiis, A. Koenig, 1806. v. t.1(1806) DOI: <https://doi.org/10.5962/bhl.title.65741>. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/132620>.

LEE, Chih Hung; LI, Yu Jia; HUANG, Chih Ching; LAI, Jui Yang. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsule carriers with sustained drug release: Single dose for long-term glaucoma treatment. **Nanoscale**, [S. l.], v. 9, n. 32, p. 11754–11764, 2017. DOI: 10.1039/c7nr03221h.

LEONARDI, Gislaïne Ricci; GASPAR, Lorena Rigo; MAIA CAMPOS, Patrícia M. B. G. Study of pH variation on the skin using cosmetic formulations with and without vitamins A, E or ceramide: By a non-invasive method. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S. l.], v. 77, n. 5, p. 563–569, 2002. DOI: 10.1590/s0365-05962002000500006.

LI, Andrew Y.; DAVEY, Ronald B.; MILLER, Robert J.; GEORGE, John E. Detection and characterization of amitraz resistance in the Southern Cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 193–200, 2004. DOI: 10.1603/0022-2585-41.2.193.

LIANG, Guodong; GAO, Xiaoyan; GOULD, Ernest A. Factors responsible for the emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control.

**Emerging Microbes and Infections**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 1–5, 2015. DOI: 10.1038/emi.2015.18.

LIDE, David R. **CRC Handbook of chemistry and physics**. 84. ed. New York: CRC Press, 2004. v. 53 DOI: 10.1136/oem.53.7.504.

LIMA, Ana Luiza; GRATIERI, Tais; CUNHA-FILHO, Marcilio; GELFUSO, Guilherme M. Polymeric nanocapsules: A review on design and production methods for pharmaceutical purpose. **Methods**, [S. l.], n. July, 2021. DOI:

10.1016/j.ymeth.2021.07.009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.07.009>.

LOFTSSON, Thorsteinn; BREWSTER, Marcus E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 62, n. 11, p. 1607–1621, 2010. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01030.x.

LOULY, Carla C. B.; SOARES, Sara F.; SILVEIRA, Diana N.; NETO, Osvaldo J. S.; SILVA, Andréa C.; BORGES, Lígia M. F. Differences in the susceptibility of two breeds of dogs, English cocker spaniel and beagle, to *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **International Journal of Acarology**, [S. l.], v. 35, n. 1, p. 25–32, 2009. DOI: 10.1080/01647950802655251.

LOULY, Carla Cristina Braz; FONSECA, Iracele Nogueira; OLIVEIRA, Vilma Ferreira; BORGES, Lígia Miranda Ferreira. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, p. 103–106, 2006.

LWANDE, Olivia Wesula et al. Isolation of tick and mosquito-borne arboviruses from ticks sampled from livestock and wild animal hosts in Ijara District, Kenya. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 13, n. 9, p. 637–642, 2013. DOI: 10.1089/vbz.2012.1190.

LYRA, Amanda Martinez; RIBEIRO, Juliana Parente Menezes; NADAL, Jessica Mendes; BAGLIE, Sinvaldo; KLEIN, Traudi; NOVATSKI, Andressa; FARAGO, Paulo Vitor. Efavirenz-loaded polymeric nanocapsules: Formulation, development, and

validation of an RP-UHPLC-DAD method for drug quantification, determination of encapsulation efficiency, stability study, and dissolution profile. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 093–101, 2021. DOI: 10.7324/JAPS.2021.110212.

MAIA, Marta Ferreira; MOORE, Sarah J. Plant-based insect repellents : a review of their efficacy , development and testing PMD from lemon eucalyptus ( *Corymbia citriodora* ) extract. **Malaria Journal**, [S. l.], v. 10, n. Suppl 1, p. 1–15, 2011.

MALIN, M.; HILJANEN-VAINIO, M.; KARJALAINEN, T.; SEPPÄLÄ, J. Biodegradable lactone copolymers. II. Hydrolytic study of  $\epsilon$ -caprolactone and lactide copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, [S. l.], v. 59, n. 8, p. 1289–1298, 1996. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4628(19960222)59:8<1289::AID-APP12>3.0.CO;2-1.

MANS, Ben J.; DE KLERK, Daniel; PIENAAR, Ronel; LATIF, Abdalla A. Nuttalliella namaqua: A living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: Implications for the evolution of blood-feeding in ticks. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 8, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0023675.

MARCET, Ismael; WENG, Shihan; SÁEZ-ORVIZ, Sara; RENDUELES, Manuel; DÍAZ, Mario. Production and characterisation of biodegradable PLA nanoparticles loaded with thymol to improve its antimicrobial effect. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 239, p. 26–32, 2018. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.06.030.

MARQUES, Helena Maria Cabral. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour and Fragrance Journal**, [S. l.], v. 25, n. 5, p. 313–326, 2010. DOI: 10.1002/ffj.2019.

MARSHALL, John C.; KELCH, Robert P. Anaphylaxis associated with insect repellent. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 307, n. 21, p. 1341–1342, 1982. DOI: 10.1056/NEJM198211183072113. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198211183072113>.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, [S. l.], v. 135, n. 1, p. 15–23, 2004.

MATHISON, Blaine A.; PRITT, Bobbi S. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 48–67, 2014.

DOI: 10.1128/CMR.00008-13.

MATOS, Breno Noronha; REIS, Thaiene Avila; GRATIERI, Taís; GELFUSO, Guilherme Martins. Chitosan nanoparticles for targeting and sustaining minoxidil sulphate delivery to hair follicles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 75, p. 225–229, 2015. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.01.036. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.036>.

MATTOS, Bruno D.; TARDY, Blaise L.; PEZHMAN, Mohammadi; KÄMÄRÄINEN, Tero; LINDER, Markus; SCHREINER, Wido H.; MAGALHÃES, Washington L. E.; ROJAS, Orlando J. Controlled biocide release from hierarchically-structured biogenic silica: surface chemistry to tune release rate and responsiveness. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-23921-2.

MCKEEN, Laurence. Chapter11 - The effect of heat aging on the properties of sustainable polymers. *In*: MCKEEN, Laurence (org.). **The Effect of Long Term Thermal Exposure on Plastics and Elastomers (Second Edition)**. Plastics Design LibrarySecond Edi ed. [s.l.] : William Andrew Publishing, 2021. p. 313–332. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85436-8.00001-1>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323854368000011>.

MEDINA, Estefanía; CARO, Nelson; ABUGOCH, Lilian; GAMBOA, Alexander; DÍAZ-DOSQUE, Mario; TAPIA, Cristian. Chitosan thymol nanoparticles improve the antimicrobial effect and the water vapour barrier of chitosan-quinoa protein films. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 240, p. 191–198, 2019. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.07.023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.023>.

MEERAN, Mohamed Fizur Nagoor; JAVED, Hayate; TAE, Hasan Ai; AZIMULLAH, Sheikh; OJHA, Shreesh K. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 8, n. JUN, p. 1–34, 2017. DOI: 10.3389/fphar.2017.00380.

MEMISOGLU-BILENSOY, Erem; ŞEN, Murat; HINCAL, Atilla A. Effect of drug physicochemical properties on in vitro characteristics of amphiphilic cyclodextrin

nanospheres and nanocapsules. **Journal of Microencapsulation**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 59–68, 2006. DOI: 10.1080/02652040500286227.

MENEZES, Paula dos Passos; ANDRADE, Tatianny de Araújo; FRANK, Luiza Abrahão; DE SOUZA, Eloísa Portugal Barros Silva Soares; TRINDADE, Gabriela das Graças Gomes; TRINDADE, Igor Araújo Santos; SERAFINI, Mairim Russo; GUTERRES, Sílvia Stanisçuaski; ARAÚJO, Adriano Antunes de Souza. Advances of nanosystems containing cyclodextrins and their applications in pharmaceuticals.

**International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 559, n. December 2018, p. 312–328, 2019. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.041. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.01.041>.

MEURENS, François; SUMMERFIELD, Artur; NAUWYNCK, Hans; SAIF, Linda; GERDTS, Volker. The pig: A model for human infectious diseases. **Trends in Microbiology**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 50–57, 2012. DOI: 10.1016/j.tim.2011.11.002.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – a review. **Trop. J. Pharm. Res.**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 561–573, 2006.

MOORE, Sarah. Plant-Based Insect Repellents. **Insect Repellents**, [S. l.], n. October 2006, p. 275–304, 2006. DOI: 10.1201/9781420006650.ch14.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 385, n. 1–2, p. 113–142, 2010. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2009.10.018.

MORAES, Carolina Morales; DE MATOS, Angélica Prado; DE PAULA, Eneida; ROSA, André Henrique; FRACETO, Leonardo Fernandes. Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-co-glycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, [S. l.], v. 165, n. 3, p. 243–246, 2009. DOI: 10.1016/j.mseb.2009.06.011.

MOSQUEIRA, Vanessa Carla Furtado; LEGRAND, Philippe; PINTO-ALPHANDARY, Huguetta; PUISIEUX, Francis; BARRATT, Gillian. Poly(D,L-Lactide) nanocapsules prepared by a solvent displacement process: Influence of the composition on physicochemical and structural properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 89, n. 5, p. 614–626, 2000. DOI: 10.1002/(SICI)1520-

6017(200005)89:5<614::AID-JPS7>3.0.CO;2-7.

NAVA, Santiago et al. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 208, n. 1–2, p. 2–8, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.12.021.

NORVAL, R. A. I.; DAILLECOURT, T.; PEGRAM, R. G. **ticks of Zimbabwe. VI. The *Rhipicephalus sanguineus* group** *Zimbabwe veterinary journal*, 1982.

NORWITZ, George; NATARO, Nicole; KELIHER, Peter N. Study of the Steam Distillation of Phenolic Compounds Using Ultraviolet Spectrometry. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 639–641, 1986. DOI: 10.1021/ac00294a034.

NOVATO, Tatiane; GOMES, Geovany Amorim; ZERINGÓTA, Viviane; FRANCO, Cristiane Teixeira; DE OLIVEIRA, Débora Ramos; MELO, Diego; DE CARVALHO, Mário Geraldo; DAEMON, Erik; DE OLIVEIRA MONTEIRO, Caio Márcio. In vitro assessment of the acaricidal activity of carvacrol, thymol, eugenol and their acetylated derivatives on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 260, n. April, p. 1–4, 2018. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.07.009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.07.009>.

NOVATO, Tatiane Lopes Pinheiro; MARCHESINI, Paula; MUNIZ, Natália; PRATA, Márcia Cristina de Azevedo; FURLONG, John; VILELA, Fernanda Maria Pinto; DAEMON, Erik; MATURANO, Ralph; MONTEIRO, Caio. Evaluation of synergism and development of a formulation with thymol, carvacrol and eugenol for *Rhipicephalus microplus* control. **Experimental Parasitology**, [S. l.], v. 207, n. May, p. 107774, 2019. DOI: 10.1016/j.exppara.2019.107774. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107774>.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S. l.], v. 59, n. 3, p. 700–704, 2007. DOI: 10.1590/s0102-09352007000300023.

NWANADE, Chuks F.; WANG, Min; WANG, Tianhong; YU, Zhijun; LIU, Jingze. **Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future**



**directions.** [s.l.] : Springer International Publishing, 2020. v. 81 DOI: 10.1007/s10493-020-00489-z. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00489-z>.

NWANADE, Chuks F.; YU, Zhijun; LIU, Jingze. Botanical acaricides induced morphophysiological changes of reproductive and salivary glands in tick: A mini-review. **Research in Veterinary Science**, [S. l.], v. 132, p. 285–291, 2020. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.07.008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.008>.

ORGANIZATION, World Health. **Global vector control response 2017-2030**. Geneva.

OURIQUE, A. F.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; BECK, R. C. R. Tretinoin-loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 352, n. 1–2, p. 1–4, 2008. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.12.035.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 897–928, 2001. DOI: 10.1086/319347. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/319347>.

PATRAVALE, V. B.; DATE, Abhijit A.; KULKARNI, R. M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 56, n. 7, p. 827–840, 2010. DOI: 10.1211/0022357023691.

PEREIRA, Íuri Barbosa; CARVALHO, Endrew Henrique de Sousa; RODRIGUES, Laís de Brito; MATTOS, Bruno Dufau; MAGALHÃES, Washington Luiz Esteves; LEME, Daniela Morais; KRAWCZYK-SANTOS, Anna Paula; TAVEIRA, Stephânia Fleury; DE OLIVEIRA, Gisele Augusto Rodrigues. Thymol-Loaded Biogenic Silica Nanoparticles in an Aquatic Environment: The Impact of Particle Aggregation on Ecotoxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 333–341, 2021. DOI: 10.1002/etc.4938. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/etc.4938>.

PIANTADOSI, Anne et al. Emerging Cases of Powassan Virus Encephalitis in New England: Clinical Presentation, Imaging, and Review of the Literature. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 62, n. 6, p. 707–713, 2015. DOI: 10.1093/cid/civ1005.

PINA-BARRERA, Andres M.; ALVAREZ-ROMAN, Rocio; BAEZ-GONZALEZ, Juan G.; AMAYA-GUERRA, Carlos A.; RIVAS-MORALES, Catalina; GALLARDO-RIVERA, Claudia T.; GALINDO-RODRIGUEZ, Sergio A. Application of a Multisystem Coating Based on Polymeric Nanocapsules Containing Essential Oil of *Thymus Vulgaris* L. To Increase the Shelf Life of Table Grapes (*Vitis Vinifera* L.). **IEEE Transactions on Nanobioscience**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 549–557, 2019. DOI: 10.1109/TNB.2019.2941931.

PINEDA-REYES, Ana María; HERNÁNDEZ DELGADO, Mauricio; DE LA LUZ ZAMBRANO-ZARAGOZA, María; LEYVA-GÓMEZ, Gerardo; MENDOZA-MUÑOZ, Nestor; QUINTANAR-GUERRERO, David. Implementation of the emulsification-diffusion method by solvent displacement for polystyrene nanoparticles prepared from recycled material. **RSC Advances**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 2226–2234, 2021. DOI: 10.1039/d0ra07749f.

PINTO, Náyra de Oliveira Frederico; RODRIGUES, Tigressa Helena Soares; PEREIRA, Rita de Cássia Alves; SILVA, Lorena Mara Alexandre e.; CÁCERES, Carlos Alberto; AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro De; MUNIZ, Celli Rodrigues; BRITO, Edy Sousa De; CANUTO, Kirley Marques. Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 86, p. 279–288, 2016. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.04.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.013>.

PINTO REIS, Catarina; NEUFELD, Ronald J.; RIBEIRO, António J.; VEIGA, Francisco. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 8–21, 2006. DOI: 10.1016/j.nano.2005.12.003.

PIVETTA, Thais P.; SIMÕES, Sandra; ARAÚJO, Margarete M.; CARVALHO, Tânia; ARRUDA, Caroline; MARCATO, Priscyla D. Development of nanoparticles from natural lipids for topical delivery of thymol: Investigation of its anti-inflammatory properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 164, p. 281–290, 2018. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.01.053. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.01.053>.

POHLMANN, Adriana Raffin; FONSECA, Francisco Noe; PAESE, Karina; DETONI, Cassia Britto; CORADINI, Karine; BECK, Ruy CR; GUTERRES, Silvia S. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) microcapsules and nanocapsules in drug delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 623–638, 2013. DOI: 10.1517/17425247.2013.769956.

POLETTTO, Fernanda S.; BECK, Ruy C. R.; GUTERRES, Sílvia S.; POHLMANN, Adriana R. Polymeric Nanocapsules: Concepts and Applications. *In: Nanocosmetics and Nanomedicines*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 49–68. DOI: 10.1007/978-3-642-19792-5\_3. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-19792-5\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-19792-5_3).

POULOSE, A. J.; CROTEAU, Rodney. Biosynthesis of aromatic monoterpenes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 187, n. 2, p. 307–314, 1978. DOI: 10.1016/0003-9861(78)90039-5.

PRAÇA, Fabíola Silva Garcia; MEDINA, Wanessa Silva Garcia; ELOY, Josimar O.; PETRILLI, Raquel; CAMPOS, Patrícia Mazureki; ASCENSO, Andreia; BENTLEY, Maria Vitória L. B. Evaluation of critical parameters for in vitro skin permeation and penetration studies using animal skin models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 111, n. April 2017, p. 121–132, 2018. DOI: 10.1016/j.ejps.2017.09.034. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.09.034>.

PREACHER, K. J. **Calculation for the chi-square test: an interactive calculation tool for chi-square tests of goodness of fit and independence** Nashville, 2001. Disponível em: <http://quantpsy.org>.

QUADROS, Danilo G.; JOHNSON, Tammi L.; WHITNEY, Travis R.; OLIVER, Jonathan D.; CHÁVEZ, Adela S. Oliv. Plant-derived natural compounds for tick pest control in livestock and wildlife: Pragmatism or Utopia? **Insects**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 1–25, 2020. DOI: 10.3390/insects11080490.

QUINTANAR-GUERRERO, David; ALLÉMANN, Eric; DOELKER, Eric; FESSI, Hatem. Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. **Pharmaceutical research**, [S. l.], v. 15, n. 7, p. 1056–1062, 1998. DOI: 10.1023/a:1011934328471.

RANSON, Hilary; BURHANI, Joseph; LUMJUAN, Nongkran; BLACK IV, William C. Insecticide resistance in dengue vectors. **TropiKA.net**, [S. l.], v. 1, n. 1, 2010.

Disponível em: [http://journal.tropika.net/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2078-86062010000100003&lng=en&nrm=iso](http://journal.tropika.net/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2078-86062010000100003&lng=en&nrm=iso).

RECK, José et al. Records of ticks on humans in Rio Grande do Sul state, Brazil.

**Ticks and Tick-borne Diseases**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 1296–1301, 2018. DOI:

10.1016/j.ttbdis.2018.05.010. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.05.010>.

REGNAULT-ROGER, Catherine; PHILOGÈNE, Bernard J. R. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest

management. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 46, n. 1–2, p. 41–52, 2008. DOI:

10.1080/13880200701729794.

RODRÍGUEZ-VIVAS, Róger Iván et al. Rhipicephalus (Boophilus) microplus

resistentes aos acaricidas e ivermectina nas fazendas de gado do México. **Revista**

**Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 113–122, 2014. DOI:

10.1590/S1984-29612014044.

SALEHI, Bahare et al. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential

uses. **Phytotherapy Research**, [S. l.], v. 32, n. 9, p. 1688–1706, 2018. DOI:

10.1002/ptr.6109.

SÁNCHEZ, Arturo; MEJÍA, Susana P.; OROZCO, Jahir. Recent advances in polymeric nanoparticle-encapsulated drugs against intracellular infections.

**Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 16, p. 1–45, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163760.

SAÚDE, Fundação Nacional De. Biologia e controle de artrópodos. *In*: **Manual de**

**Saneamento**. 3. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2007. p. 408.

SERRA-FREIRE, Nicolau Maués. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human

hosts, in three municipalities in the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de**

**Parasitologia Veterinaria**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 141–147, 2010. DOI: 10.1590/s1984-

29612010000300003.

SERRA-FREIRE, Nicolau Maués; SENA, Laura Morena Mendes De; BORSOI, Ana

Beatriz Pais. Parasitismo humano por carrapatos na Mata Atlântica, Rio de Janeiro,

Brasil. **EntomoBrasilis**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 69–72, 2011. DOI: 10.12741/ebrasilis.v4i2.101.

SHESKEY, Paul J.; COOK, Walter G.; CABLE, Colin G. **Handbook Of Pharmaceutical Excipients**. 8. ed. London: Pharmaceutical Press, 2017.

SILVEIRA, Wagner Heleno Da; CARVALHO, Gabriel Domingos; PECONICK, Ana Paula. Medidas de controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*: uma breve revisão. **Pubvet**, [S. l.], v. 8, n. 10, 2014. DOI: 10.22256/pubvet.v8n10.1715.

SILVÉRIO, Maíra Rosato Silveiral; ESPINDOLA, Laila Salmen; LOPES, Norberto Peporine; VIEIRA, Paulo César. Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 15, p. 3484, 2020. DOI: 10.3390/molecules25153484. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/15/3484>.

SNYDER, J. W.; POE, R. O.; STUBBINS, J. F.; GARRETTSON, L. K. Acute manic psychosis following the dermal application of N, N -Diethyl-M-Toluamide (DEET) in an adult. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, [S. l.], v. 24, n. 5, p. 429–439, 1986. DOI: 10.3109/15563658608992605. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/15563658608992605>.

SONAVANE, Ganeshchandra; TOMODA, Keishiro; SANO, Akira; OHSHIMA, Hiroyuki; TERADA, Hiroshi; MAKINO, Kimiko. In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 65, n. 1, p. 1–10, 2008. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2008.02.013.

SONENSHINE, D. E. **Biology of Ticks**. [s.l.] : Oxford University Press, 1991. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=ww9GAAAAYAAJ>.

SOPPIMATH, Kumaresh S.; AMINABHAVI, Tejraj M.; KULKARNI, Anandrao R.; RUDZINSKI, Walter E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, [S. l.], v. 70, n. 1–2, p. 1–20, 2001. DOI: 10.1016/S0168-3659(00)00339-4. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365900003394>.

SOUJANYA, P. Lakshmi; SEKHAR, J. C.; KUMAR, P.; SUNIL, N.; PRASAD, Ch

Vara; MALLAVADHANI, U. V. Potentiality of botanical agents for the management of post harvest insects of maize: a review. **Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 53, n. 5, p. 2169–2184, 2016. DOI: 10.1007/s13197-015-2161-0.

SUMMERFIELD, Artur; MEURENS, François; RICKLIN, Meret E. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. **Molecular Immunology**, [S. l.], v. 66, n. 1, p. 14–21, 2015. DOI: 10.1016/j.molimm.2014.10.023.

SZABÓ, Matias P. J.; MANGOLD, Atilio J.; JOÃO, Carolina F.; BECHARA, Gervásio H.; GUGLIELMONE, Alberto A. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 130, n. 1–2, p. 131–140, 2005. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.03.008.

SZEJTLI, József. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical Reviews**, [S. l.], v. 98, n. 5, p. 1743–1753, 1998. DOI: 10.1021/cr970022c.

TABARI, Mohaddeseh Abouhosseini; YOUSSEFI, Mohammad Reza; MAGGI, Filippo; BENELLI, Giovanni. Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 245, n. August, p. 86–91, 2017. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.08.012.

TAMPUCCI, Silvia; BURGALASSI, Susi; CHETONI, Patrizia; LENZI, Carla; PIRONE, Andrea; MAILLAND, Federico; CASERINI, Maurizio; MONTI, Daniela. Topical formulations containing finasteride. part II: Determination of finasteride penetration into hair follicles using the differential stripping technique. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 103, n. 8, p. 2323–2329, 2014. DOI: 10.1002/jps.24045.

TAO, Feifei; HILL, Laura E.; PENG, Yankun; GOMES, Carmen L. Synthesis and characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 247–255, 2014. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.05.037. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.037>.

TAVARES, Melanie; DA SILVA, Márcio Robert Mattos; DE OLIVEIRA DE SIQUEIRA, Luciana Betzler; RODRIGUES, Raphaela Aparecida Schuenck; BODJOLLE-

D'ALMEIRA, Lolita; DOS SANTOS, Elisabete Pereira; RICCI-JÚNIOR, Eduardo. Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l.], v. 539, n. 1–2, p. 190–209, 2018. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.046.

THEOBALD, Smith; KILBORNE, Fred Lucius. Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. [S. l.], p. 301 p., 10 leaves of plates : ill. (some col.); 2, 1893. Disponível em: <https://archive.org/details/bullbai001>.

USHIROBIRA, Camila Y.; AFIUNE, Luana A. F.; PEREIRA, Maira N.; CUNHA-FILHO, Marcilio; GELFUSO, Guilherme M.; GRATIERI, Tais. Dutasteride nanocapsules for hair follicle targeting: Effect of chitosan-coating and physical stimulus. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 151, p. 56–61, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.143.

VALCÁRCEL, Félix; OLMEDA, A. Sonia; GONZÁLEZ, Marta G.; ANDRÉS, Maria Fe; NAVARRO-ROCHA, Juliana; GONZÁLEZ-COLOMA, Azucena. Acaricidal and Insect Antifeedant Effects of Essential Oils From Selected Aromatic Plants and Their Main Components. **Frontiers in Agronomy**, [S. l.], v. 3, n. May, p. 1–12, 2021. DOI: 10.3389/fagro.2021.662802.

VETTOR, M.; BOURGEOIS, S.; FESSI, H.; PELLETIER, J.; PERUGINI, P.; PAVANETTO, F.; BOLZINGER, M. A. Skin absorption studies of octyl-methoxycinnamate loaded poly(D,L-lactide) nanoparticles: Estimation of the UV filter distribution and release behaviour in skin layers. **Journal of Microencapsulation**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 253–262, 2010. DOI: 10.3109/10717540903097770.

VILLA, C.; GAMBARO, R.; MARIANI, E.; DORATO, S. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of 24 fragrance allergens to study scented products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S. l.], v. 44, n. 3 SPEC. ISS., p. 755–762, 2007. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.03.020.

VILLIERS, Antonie. Sur la transformation de la fécule en dextrine par le ferment butyrique. **Comptes rendus de l'Académie des Sciences**, [S. l.], v. 112, p. 536, 1891.

WADHWA, Geetika; KUMAR, Sunil; CHHABRA, Lovely; MAHANT, Sheefali; RAO, Rekha. Essential oil–cyclodextrin complexes: an updated review. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, [S. l.], v. 89, n. 1–2, p. 39–58, 2017. DOI: 10.1007/s10847-017-0744-2.

WANG, Taoran; LUO, Yangchao. Chitosan hydrogel beads functionalized with thymol-loaded solid lipid–polymer hybrid nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 19, n. 10, 2018. DOI: 10.3390/ijms19103112.

WHALON, M. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R. M. Analysis of Global Pesticide Resistance in Arthropods. *In*: WHALON, M. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R. M. (org.). **Global Pesticide in Arthropods**. Oxford: Oxford University Press, 2008. p. 169.

WOODRUFF, Maria Ann; HUTMACHER, Dietmar Werner. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science**, [S. l.], v. 35, n. 10, p. 1217–1256, 2010. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>.

WU, Libo; ZHANG, Jian; WATANABE, Wiwik. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 63, n. 6, p. 456–469, 2011. DOI: 10.1016/j.addr.2011.02.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.001>.

XAVIER-JUNIOR, Francisco Humberto; EGITO, Eryvaldo Sócrates Tabosa Do; MORAIS, Andreza Rochelle do Vale; ALENCAR, Everton do Nascimento; MACIUK, Alexandre; VAUTHIER, Christine. Experimental design approach applied to the development of chitosan coated poly(isobutylcyanoacrylate) nanocapsules encapsulating copaiba oil. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 536, p. 251–258, 2018. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2017.02.055. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.02.055>.

YADAV, Pragya D.; SHETE, Anita M.; PATIL, Deepak Y.; SANDHYA, V. K.; PRAKASH, K. S.; SURGIHALLI, Rajesh; MOURYA, Devendra T. Outbreak of Kyasanur Forest disease in Thirthahalli, Karnataka, India, 2014. **International Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 26, p. 132–134, 2014. DOI:



10.1016/j.ijid.2014.05.013. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.05.013>.

YINGNGAM, Bancha; CHIANGSOM, Abhiruj; PHARIKARN, Paranda; VONGANAKASAME, Kantaphong; KANOKNITTHIRAN, Virawan; RUNGSEEVIJITPRAPA, Wandee; PRASITPURIPRECHA, Chutinun. Optimization of menthol-loaded nanocapsules for skin application using the response surface methodology. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [S. l.], v. 53, n. July, p. 101138, 2019. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.101138. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101138>.

YU, Ya Mei; CHAO, Tzu Yu; CHANG, Weng Cheng; CHANG, Margaret J.; LEE, Ming Fen. Thymol reduces oxidative stress, aortic intimal thickening, and inflammation-related gene expression in hyperlipidemic rabbits. **Journal of Food and Drug Analysis**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 556–563, 2016. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.02.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.02.004>.

ZAIM, Morteza; GUILLET, Pierre. Alternative insecticides: An urgent need. **Trends in Parasitology**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 161–163, 2002. DOI: 10.1016/S1471-4922(01)02220-6.

ZANATTA COUTINHO, Maria Teresa; BUENO, Lilian Lacerda; STERZIK, Annelise; FUJIWARA, Ricardo Toshio; BOTELHO, Jose Ramiro; DE MARIA, Mario; GENARO, Odair; LINARDI, Pedro Marcos. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 128, n. 1–2, p. 149–155, 2005. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.11.011.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio; SANTOS, Sandra Maria Dos; FERNANDES-OLIVEIRA, Ellen Syntnia; CARVALHO, Roberta Gomes; COELHO, Giovanini Evelim. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016. DOI: 10.5123/S1679-49742016000200017. Disponível em: [http://www.iec.pa.gov.br/template\\_doi\\_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200391&scielo=S2237-96222016000200391](http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200391&scielo=S2237-96222016000200391).

ZHANG, Yibo; ZHANG, Ye; ZHU, Zhu; JIAO, Xiangyu; SHANG, Yanli; WEN,

Yongqiang. Encapsulation of thymol in biodegradable nanofiber via coaxial eletrospinning and applications in fruit preservation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 67, n. 6, p. 1736–1741, 2019. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b06362.

ZIELIŃSKA, Aleksandra et al. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 16, p. 3731, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163731. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/16/3731>.