

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

HENRIQUE PASCOA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO À
BASE DE ÓLEO DE SUCUPIRA (*P. emarginatus* Vog. Fabaceae) E
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA TÓPICA

Goiânia/GO

2012

HENRIQUE PASCOA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO À
BASE DE ÓLEO DE SUCUPIRA (*P. EMARGINATUS* VOG. FABACEAE)
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA TÓPICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Freitas Bara

Goiânia/GO

2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

P281d Pascoa, Henrique.
Desenvolvimento e caracterização de microemulsão à base de óleo de sucupira (*P. emarginatus* Vog. Fabaceae) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica [manuscrito] / Henrique Pascoa. - 2012.
88 f. : figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Freitas Bara.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, 2012.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

1. *Pterodon emarginatus* Vogel. 2. Óleo de sucupira – Estudos. 3. Plantas medicinais. I. Título.

CDU: 615.89

Aos meus pais, Walter e Elizabeth pelo incentivo, aos meus irmãos Adriano e Lillian pelo exemplo e à minha esposa Danielle pelo apoio e pela força prestada durante esses anos.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus pela saúde e disposição dada para concluir essa jornada.

À minha orientadora, profa. Dra. Maria Teresa Freitas Bara, que mesmo após um bom tempo afastado me acolheu e me ofereceu essa oportunidade.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais pela atenção e companheirismo prestados durante todo esse período.

Ao professor Dr. Élon Alves da Costa e a colega Iziara Ferreira Florentino, pela realização dos ensaios farmacológicos necessários para a conclusão do meu trabalho.

A Fernanda Bellato pelas conversas e pelo apoio dado em vários momentos durante esse período.

A todos aqueles que me ajudaram de forma direta ou indireta para concretizar mais essa etapa da minha vida.

Aos amigos que me alegraram em vários momentos dentro e fora da Universidade.

Aos meus pais e meus irmãos por acreditarem em mim.

À minha esposa Danielle Diniz que me incentivou e, mais do que qualquer um, tornou possível que eu voltasse à faculdade e cumprisse essa fase da minha vida.

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”

Chico Xavier

RESUMO

Pterodon emarginatus Vogel, conhecida popularmente como sucupira branca, é uma espécie arbórea nativa do cerrado brasileiro encontrada nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Vários estudos comprovam suas atividades terapêuticas como antiinflamatório, antinociceptivo, analgésica, antimicrobiana, entre outros. O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma microemulsão a partir do óleo fixo da sucupira obtido por prensagem à frio de seu frutos e adicionalmente avaliar a atividade antiinflamatória tópica da mesma utilizando o modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton. Inicialmente foi feita a caracterização físico-química e da composição química da matéria-prima vegetal. Através de cromatografia gasosa acoplada a detector de massas foi possível identificar a presença de sesquiterpenos como β -cariofileno e α -humuleno, com conhecida atividade farmacológica antiinflamatória. O cálculo do valor de EHL requerido pelo óleo e ensaios de determinação do sistema tensoativo possibilitou a formulação de uma microemulsão utilizando o sistema tensoativo/cotensoativo Ultramona[®] R-540/propilenoglicol, o óleo de sucupira e água nas proporções 15:10:75, respectivamente. Ensaio de estabilidade demonstraram que a formulação quando acondicionada em geladeira ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) ou a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) mostraram-se estáveis por 30 dias não apresentando alterações significativas em seus parâmetros físico-químicos. A atividade antiinflamatória do óleo e da formulação apresentaram significância estatística quando comparadas aos respectivos controles negativos com $p < 0,001$ para ambos. A microemulsão apresentou-se uma forma farmacêutica eficaz para essa atividade demonstrando grande potencial para o aumento da permeabilidade cutânea do óleo de sucupira confirmando a possibilidade da obtenção de um fitoterápico de uso tópico com ação antiinflamatória.

Palavras chave: planta medicinal; fitoterápico; tecnologia fitofarmacêutica; β -cariofileno; sesquiterpenos

ABSTRACT

Pterodon emarginatus, popularly known as Sucupira Branca is a native species found in the Brazilian Savannahs in states of Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul. Several studies have confirmed their therapeutic activities as anti-inflammatory, antinociceptive, analgesic, antimicrobial, among others. The aim of this study was to develop a microemulsion with topical anti-inflammatory activity from the fixed oil obtained by cold pressing of the fruits of sucupira and additionally evaluate the topical anti-inflammatory activity using the same model of ear edema induced by croton oil. Initially, we made the physical-chemical and chemical composition of vegetable raw material. Using gas chromatography coupled with mass detector was possible to identify the presence of sesquiterpenes such as β -caryophyllene and α -humulene, with known anti-inflammatory pharmacological activity. The calculation of HLB value required by the oil and tests for determining the surfactant system has enabled the formulation of a microemulsion system using the surfactant/cosurfactant Ultramona® R-540/propyleneglycol, oil sucupira and water proportions 15:10:75 respectively. Stability tests have shown that the formulation when stored in the refrigerator ($5\pm 2^\circ\text{C}$) or room temperature ($25\pm 2^\circ\text{C}$) were stable for 30 days with no significant alterations in their physical and chemical parameters. The anti-inflammatory activity of oil and formulating show statistical significance when compared to the respective negative controls with $p < 0.001$ for both. The microemulsion presented an effective dosage form for this activity showing great potential for increasing the permeability of the skin oil sucupira confirming the possibility of obtaining a topical herbal medicine with anti-inflammatory action.

Keywords: medicinal plant, herbal, phytopharmaceutical technology; β -caryophyllene, sesquiterpenes

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais estudos fitoquímicos do gênero <i>Pterodon</i> realizados nas décadas de 60 e 70 (OLIVEIRA, 2010).....	20
Quadro 2 - Principais estudos fitoquímicos do gênero <i>Pterodon</i> realizados nas décadas de 80 e 90 (OLIVEIRA, 2010).....	21
Quadro 3 - Principais estudos fitoquímicos do gênero <i>Pterodon</i> realizados nos anos de 2000 até os dias atuais (OLIVEIRA, 2010).....	22
Quadro 4 - Estudos das atividades farmacológicas de plantas do gênero <i>Pterodon</i>	24
Quadro 5 - Composição da formulação para ensaio de avaliação do valor de EHL requerido pelo óleo.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Árvore de <i>P. emarginatus</i> Vogel (Sucupira) no município de Bela Vista-GO. J. R. Paula, setembro de 2006. Fonte: MORAES, 2007. p.23.....	19
Figura 2 - Representação esquemática da organização das microemulsões (CASTILLO, 2002 apud FORMARIZ <i>et al.</i> , 2005).....	29
Figura 3 - Diagrama pseudoternário de óleo de sucupira, água e mistura tensoativo/cotensoativo na proporção de 2:1 respectivamente.....	43
Figura 4 - Cromatograma do óleo fixo da <i>Pterodon emarginatus</i>	53
Figura 5 - Espectro de massas do β -cariofileno.....	55
Figura 6 - Espectro de massas do α -humuleno.....	55
Figura 7 - Diagrama pseudoternário para sistema água, óleo, tensoativo/cotensoativo. Formulação mais estável: 22 (em vermelho). Emulsões instáveis: 11, 12, 13, 16, 17, 18, 23, 24, 29, 30, 31 (em azul).....	58
Figura 8 - Diagrama de fases no entorno da formulação 22 (azul). As formulações apresentadas em vermelho apresentaram características de microemulsões e as formulações em preto apresentaram somente características de emulsões.....	59
Figura 9 - Cromatogramas do padrão de β -cariofileno (A), do óleo (B) e do branco da formulação (C).....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção de tensoativos lipofílico (Span [®] 80) e hidrofílico (Tween [®] 80) utilizados na obtenção do valor de EHL requerido para o óleo fixo de sucupira.....	41
Tabela 2 - Determinação das concentrações, em porcentagem, dos componentes das formulações testadas para a determinação do melhor sistema tensoativo/cotensoativo.....	42
Tabela 3 - Concentrações em porcentagem (p/p) dos componentes das emulsões conforme diagrama pseudoternário.....	43
Tabela 4 - Índices físico-químicos da análise do óleo fixo de <i>Pterodon emarginatus</i> expressos em média (\pm desvio padrão).....	52
Tabela 5 - Constituintes do óleo fixo da <i>Pterodon emarginatus</i> detectados através de cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.....	54
Tabela 6 - Perfil de cremeação obtidos com os tensoativos Tween [®] 80 e Span [®] 80 para avaliação do valor de EHL requerido para o óleo de sucupira da amostra de São Domingos e Campestre.....	55
Tabela 7 - Análise microscópica e macroscópica das formulações testadas para avaliação do sistema tensoativo com maior estabilidade.....	56
Tabela 8 - Concentrações em porcentagem (p/p) dos componentes das emulsões para confecção de novo diagrama de fases na região de microemulsão.....	58
Tabela 9 - Variação da concentração (mg/mL) de β -cariofileno em função do tempo expresso em média (\pm desvio padrão).....	65
Tabela 10 - Parâmetros de <i>system suitability</i> avaliados para método analítico de CLAE.....	65
Tabela 11 - Repetibilidade obtida para β -cariofileno utilizando método cromatográfico descrito no item 3.10.....	67
Tabela 12 - Precisão intermediária obtida para β -cariofileno utilizando método cromatográfico descrito no item 3.10.....	68
Tabela 13 - Exatidão obtida para β -cariofileno utilizando método cromatográfico descrito no item 3.10.....	68
Tabela 14 - Robustez em relação à variação do fluxo da fase móvel.....	69
Tabela 15 - Robustez em relação à variação da composição da fase móvel.....	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Variação do diâmetro médio das gotículas da fase interna em função do tempo. Resultados em média e desvio padrão (n=3).....	62
Gráfico 2 - Variação da medida da turbidez em função do tempo. Resultados em média e desvio padrão (n=3).....	62
Gráfico 3 - Variação da medida do pH em função do tempo. Resultados em média e desvio padrão (n=3).....	63
Gráfico 4 - Variação do potencial Zeta em função do tempo. Resultados em média e desvio padrão (n=3).....	64
Gráfico 5 - Curva de calibração para β -cariofileno nas concentrações de 45,4125 a 726,6 $\mu\text{g/mL}$	67
Gráfico 6 - Edema de orelha, em mg, induzido por óleo de cróton (2,5% v/v em acetona) nos grupos previamente tratados pela via tópica.....	71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A/O: Água em Óleo

ANOVA: *Analysis of Variance*

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CG/EM: Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

Desv. Pad.: Desvio Padrão

DPR: Desvio Padrão Relativo

EHL: Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

FA: Fator de Assimetria

FDA: *Food and Drug Administration*

IA: Índice de Acidez

IBPM: Instituto Brasileiro de Plantas Mediciniais

II: Índice de Iodo

INCI: *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient*

IP: Índice de Peróxido

IS: Índice de Saponificação

ME: Microemulsão

N: Número de Pratos Teóricos

NTU: Unidade Nefelométrica de Turbidez

O/A: Óleo em Água

P. emarginatus: *Pterodon emarginatus*

p/p: peso por peso

pH: potencial Hidrogeniônico

PVDF: Fluoreto de Polivinilideno

r: Coeficiente de correlação

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS

rpm: rotações por minuto

Rs: Resolução do Pico

SUS: Sistema Único de Saúde

SV: Solução Volumétrica

T/C: Tensoativo/Cotensoativo

SUMÁRIO

1.Introdução.....	17
1.1. <i>Pterodon emarginatus</i> Vogel.....	18
1.1.1.Constituintes químicos.....	19
1.1.2.Ações Farmacológicas.....	24
1.2.Políticas Públicas para fitoterápicos e plantas medicinais.....	25
1.3.Uso de fitoterápicos e potencialidades de desenvolvimento.....	26
1.4.Microemulsão.....	28
1.4.1.Formação das microemulsões.....	30
1.4.2.Aplicações das microemulsões.....	31
2.Objetivos.....	34
2.1.Objetivo Geral.....	34
2.2.Objetivos Específicos.....	34
3.Material e Métodos.....	36
3.1.Equipamentos.....	36
3.2.Material Botânico.....	36
3.2.1.Coleta.....	36
3.2.2.Obtenção do Óleo.....	37
3.3.Caracterização físico química do óleo.....	37
3.3.1.Índice de Acidez (IA).....	37
3.3.2.Índice de Iodo (II)	37
3.3.3.Índice de Peróxido (IP).....	38
3.3.4.Índice de Saponificação (IS).....	38
3.4.Cromatografia Gasosa.....	39
3.5.Microemulsões.....	39
3.5.1.Composição.....	39
3.5.1.1.Fase Oleosa.....	39
3.5.1.2.Fase Aquosa.....	39
3.5.1.3.Tensoativos.....	39
3.5.1.4.Co-tensoativos.....	40
3.6.Desenvolvimento da microemulsão.....	40
3.6.1.Método geral de emulsificação.....	40

3.6.2.Determinação do Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) requerido pelo óleo de sucupira.....	40
3.6.3.Determinação do sistema tensoativo.....	42
3.6.4.Diagrama de fases.....	42
3.6.5.Preparo das microemulsões.....	44
3.7.Análise das variáveis do processo de obtenção das microemulsões.....	44
3.7.1.Influência da Temperatura.....	44
3.7.1.1.Emulsificação à frio.....	44
3.7.1.2.Emulsificação à quente.....	45
3.7.2.Influência da ordem de adição dos componentes.....	45
3.8.Testes de estabilidade.....	45
3.8.1.Teste preliminar de estabilidade.....	45
3.8.2.Centrifugação.....	45
3.8.3.Estabilidade acelerada.....	46
3.8.3.1.Tamanho das partículas.....	46
3.8.3.2.Potencial Zeta.....	46
3.8.3.3.Determinação do pH.....	46
3.8.3.4.Determinação da turbidez.....	47
3.8.3.5. Acompanhamento da concentração do marcador.....	47
3.9.Condições cromatográficas e adequabilidade do sistema.....	47
3.10.Co-validação do método analítico para identificação e quantificação de β -cariofileno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	48
3.10.1.Seletividade.....	48
3.10.2.Linearidade.....	48
3.10.3.Precisão.....	48
3.10.4.Exatidão.....	49
3.10.5.Robustez.....	49
3.11.Avaliação da atividade antiinflamatória “ <i>in vivo</i> ”.....	49
3.12. Análise Estatística.....	50
4.Resultados e Discussão.....	52
4.1. Identificação dos frutos.....	52
4.2.Índices físico-químicos do óleo de sucupira.....	52
4.3.Cromatografia Gasosa.....	53

4.4. Microemulsões.....	55
4.4.1. Determinação do valor de EHL requerido para o óleo fixo de sucupira.....	55
4.4.2. Determinação do sistema tensoativo.....	56
4.4.3. Diagrama de fases.....	57
4.4.4. Análise das variáveis do processo de obtenção das microemulsões.....	60
4.4.4.1. Influência da temperatura.....	60
4.4.4.1.1. Emulsificação a frio.....	60
4.4.4.1.2. Emulsificação a quente.....	60
4.4.4.2. Influência da ordem de adição dos componentes.....	60
4.4.5. Estabilidade Acelerada.....	61
4.5. Condições cromatográficas e adequabilidade do sistema.....	65
4.6. Co-validação do método analítico para quantificação de β -cariofileno por cromatografia líquida de alta eficiência.....	65
4.6.1. Seletividade.....	65
4.6.2. Linearidade.....	66
4.6.3. Precisão.....	67
4.6.4. Exatidão.....	68
4.6.5. Robustez.....	69
4.7. Determinação do teor de β -cariofileno no óleo de sucupira.....	69
4.8. Avaliação da atividade antiinflamatória “ <i>in vivo</i> ”.....	69
5. Conclusões.....	74
Referências Bibliográficas.....	76

Introdução

1. Introdução

O uso de espécies vegetais com fins medicinais é considerada uma das primeiras formas de cuidado da saúde utilizada pelo homem e está relacionada aos primórdios da medicina. Registros fósseis datam o uso humano de plantas como medicamentos há, pelo menos, 60.000 anos (FABRICANT; FARNSWORTH, 2001).

Ao longo dos séculos, os produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças (BRANDÃO, 2006), quer de forma tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta que é passado de geração a geração, quer pela utilização de espécies vegetais como fonte de moléculas ativas (OUBRE et al., 1997). Estima-se que cerca de 25% dos fármacos empregados nos países industrializados advêm, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas superiores (CALIXTO, 2001; FUNARI; FERRO, 2005).

Em conceito definido pela Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA) medicamento fitoterápico é o medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais, sendo caracterizado pelo conhecimento da espécie vegetal, de sua eficácia e dos riscos do seu uso e também pela sua reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BRASIL, 2010b).

O mercado de fitoterápicos enfraqueceu com o desenvolvimento dos medicamentos sintéticos no período pós-guerra, porém voltou a apresentar um crescimento marcante nas últimas décadas, como alternativa aos medicamentos da medicina convencional para o tratamento de diversas patologias (CARVALHO et al., 2008).

De acordo com projeções do Instituto Brasileiro de Plantas Mediciniais (IBPM), o mercado de medicamentos fitoterápicos movimenta até 500 milhões de dólares por ano, somente no Brasil. Há uma estimativa que, no mundo, seriam gastos cerca de US\$ 27 bilhões (em torno de 7% do mercado mundial de medicamentos) com plantas medicinais. O mercado farmacêutico de medicamentos sintéticos cresce, mundialmente, de 3% a 4% ao ano, enquanto este aumento para o mercado de fitoterápicos é de 6% a 7% ao ano (SOUZA; MACIEL, 2010).

Uma vantagem dos medicamentos fitoterápicos em relação aos sintéticos é o custo de produção. Comparado ao desenvolvimento de um novo medicamento sintético, que envolve vultosas somas de recursos (cerca de US\$ 350 milhões a US\$

800 milhões e de 10 a 15 anos de pesquisa), o desenvolvimento de um fitoterápico requer muito menos recursos e também menor tempo de pesquisa. Com base no vasto conhecimento popular já existente para o uso de muitas plantas medicinais, estima-se que os custos para o desenvolvimento de um fitoterápico não devem ultrapassar 2 a 3 % daquele previsto para o desenvolvimento de um novo medicamento sintético (CALIXTO, 2003).

Estes valores indicam um mercado potencial em expansão, principalmente se for considerada a biodiversidade brasileira e a aceitabilidade dos fitoterápicos pela população. O comércio de fitoterápicos pode ser um caminho para o desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira, se considerada a dificuldade de competição com os mercados multinacionais de síntese química (CARVALHO, 2011).

1.1. *Pterodon emarginatus* Vogel

A ordem Fabales inclui a família Leguminosae e é uma das maiores e mais importantes famílias botânicas, visto o grande número de espécies vegetais e a sua importância como fonte de produtos alimentares, medicinais, ornamentais e madeireira de grande valor econômico. A família Leguminosae possui cerca de 650 gêneros e 18.000 espécies. Sua distribuição é cosmopolita, representando uma das maiores famílias de Angiospermas, incluindo árvores, arbustos, lianas e ervas (CARVALHO et al., 1999).

Sucupira é o nome vulgar dado a algumas espécies de gênero *Pterodon* e *Bowdichia*. Ambos os gêneros pertencem à família das Leguminosae, Papilionaceae (LORENZI, 1998). O gênero *Pterodon* inclui quatro espécies nativas do Brasil: *Pterodon abruptus* Benth, *Pterodon apparicioi* Pedersoli, *Pterodon emarginatus* Vogel (sinonímia *Pterodon polygalaeflorus* Benth) e *Pterodon pubescens* Benth (SANO et al., 2008).

Pterodon emarginatus Vogel é conhecida na medicina popular como faveiro, sucupira-branca, fava-de-sucupira, sucupira ou sucupira-lisa. É uma espécie arbórea nativa do cerrado brasileiro encontrada nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo, e Mato Grosso do Sul. É uma árvore de grande porte, podendo chegar até 15 metros de altura, a casca é de cor cinza-clara, levemente áspera. As folhas são alternas, compostas pinadas, imparipinadas e pecioladas. Inflorescência em

panícula terminal e nas axilas das folhas superiores, com cerca de 80 a 200 flores. Os frutos são indeiscentes com cerca de 5 cm de comprimento, castanho-escuro, oval a orbicular, semente única, central, dotada de invólucro aliforme de endocarpo (ALMEIDA et al., 1998).

Figura 1 - Árvore de *P. emarginatus* Vogel (Sucupira) no município de Bela Vista - GO. J. R. Paula, setembro de 2006.



Fonte: MORAES, 2007. p.23.

É uma espécie geralmente preservada pela agricultura e pecuária familiar e é incorporada à etnobotânica brasileira, em que as populações fazem o uso de seus frutos em maceração hidroalcoólicas para tratar afecções de laringe e para uso infantil como fortificante ou estimulante do apetite (MASCARO et al., 2004).

1.1.1. Constituintes químicos

As substâncias biologicamente ativas presente em plantas medicinais provêm do metabolismo secundário, constituído e influenciado, em muitos casos, por respostas dos mecanismos de integração da planta com o ambiente (CASTRO et al., 2004).

Estudos fitoquímicos realizados com diferentes espécies do gênero *Pterodon* ao longo dos anos conduziram ao isolamento de vários metabólitos secundários onde alguns deles demonstraram atividade biológica (DUTRA, 2008; OLIVEIRA, 2010).

Segundo levantamento bibliográfico realizado por Oliveira (2010) vários compostos vem sendo isolados e/ou sintetizados de espécies do gênero *Pterodon* como apresentado nos quadros 1, 2 e 3.

Quadro 1 - Principais estudos fitoquímicos dos frutos do gênero *Pterodon* realizados nas décadas de 60 e 70.

Espécie vegetal	Substância isolada* / sintetizada**	Autores
<i>P. pubescens</i>	14, 15-epoxigeranilgeraniol*	MORS et al., 1967
<i>P. emarginatus</i>	14,15-dihidroxi-14,15-dihidrogeranilgeraniol*	MAHAJAN; MONTEIRO, 1970
<i>P. pubescens</i>	16-epoxigeranilgeraniol* 16,17- epoxigeranilgeraniol*	FASCIO et al., 1970
<i>Pterodon sp.</i>	Isoflavonas	BRAZ FILHO; GOTTLIEB, 1971
<i>P. pubescens</i>	14, 15-diidro-14, 15-diidroxigeranilgeraniol 6,7-diocetoxi-12,16-diidro-12,14-diidroxi-16-oxovinhaticoato de metila	SANTOS FILHO et al., 1972
<i>P. emarginatus</i>	6 α , 7 β -diacetovouacapano* 7 β -acetoxivouacapano* Ácido 6 α , 7 β -dihidroxivouacapano-17 β -oico* Metil 6 α , 7 β -dihidroxyvouacapan-17 β -oato * Metil 7 β -acetoxi-6 α -hidroxivouacapan-17 β -oato* 6 α -acetoxivouacapano-17 β , 7 β -lactona* Vouacapano-6 α , 7 β , 14 β -triol* 6 α , 7 β -diacetoxivouacapan-14(17)-ano* 6 α , 7 β -diacetoxivouacapan-14- <i>epi</i> -vouacapano**	MAHAJAN; MONTEIRO, 1973
<i>P. apparicioi</i>	Nove isoflavonas isoladas	ALMEIDA-LEITE e GOTTLIEB, 1975
<i>P. apparicioi</i>	7 β -acetoxivouacapanato* Metil 6 α -acetoxi-7 β -hidroxivouacapan-17-oato*	FASCIO et al., 1976
<i>P. pubescens</i>	6 α , 7 β -diacetoxivouacapan-14 β -al* 6 α , 7 β -diacetoxivouacapan-14 β -oato* metil 6 α , 7 β -diacetoxi-14-hidroxivinhaticoato* metil 6 α , 7 β , diacetoxi-12,16-diidro-12,14-dihidroxi-16-oxovinhaticoato*	FASCIO et al., 1976

<i>P. polygalaeflorus</i>	ácido 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17-óico* metil 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17-oato* metil 6 α -acetoxi-7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oato* vouacapano-6 α ,7 β ,14 β -triol*	FASCIO et al., 1976
---------------------------	--	------------------------

(OLIVEIRA, 2010)

Quadro 2 - Principais estudos fitoquímicos dos frutos do gênero *Pterodon* realizados nas décadas de 80 e 90.

Espécie vegetal	Substância isolada* / sintetizada**	Autores
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oato de sódio* 6 α , 7 β , 14 β -tri-hidroxiouacapano* ácido 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -óico** 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oat de metila** 6 α -acetoxiouacapano, 7 β , 17 β -lactona**	NUNAN, 1985
<i>Pterodon sp.</i>	Alcalóides	TORRE NEGRA et al., 1989
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α , acetoxi-7 β -hidroxiouacapan-17 β -amida** Ácido 6 α , acetoxi-7 β -hidroxiouacapan-17 β - hidroxâmico** 6 α ,acetoxi-7 β -dihidroxiouacapan-17 β - metilamida** 6 α , acetoxi-7 β -dihidroxiouacapan-17 β -amida**	RUBINGER et al., 1991
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oato	DUARTE et al., 1992
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α -hidroxi-17 β -azavouacapano-17,7 β - carbocactona** 6 α ,7 β -dihidroxi-17-norvouacapan-14 β -amina**	MALTHA et al., 1995
<i>P. polygalaeflorus</i>	vouacapano-6 α , 7 β , 17 β -triol* vouacapano-6 α , 7 β , 19-tetraol*	DEMUNER et al., 1996
<i>Pterodon sp.</i>	6 α -acetoxiouacapan-17, 7 β -lactona* ácido 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oico* 6 α , 7 β -dihidroxiouacapan-17 β -metil éster* 6 α -hidroxiouacapan-17,7 β -lactona*	MASCIO et al., 1997
<i>P. polygalaeflorus</i>	Ácido6 α ,7 β -dihidroxi-12,13,15,16- tetrahidrovouacapan-17-óico** 6 α ,hidroxi-12,13,15,16-tetrahidrovouacapano- 7 β ,17 β -lactona** 21 α -flúor-7-norvouacapano-17 β ,21 α -lactona** 21 α -flúor-7-nor-12,13,15,16-tetraidrovouacapano- 17 β ,21 α -lactona** Metil 6 α ,7 β -bis[metiltio(tiocarbonil)oxi] vouacapano -17 β -oato**	DEMUNER et al., 1998
<i>P. polygalaeflorus</i>	Isoflanóides* Triterpenos (lupeol e betulina)*	MARQUES et al., 1998
<i>P. pubescens</i>	Alcalóides, Isoflavonas e Diterpenos	SABINO et al., 1999

(OLIVEIRA, 2010)

Quadro 3 - Principais estudos fitoquímicos dos frutos do gênero *Pterodon* realizados nos anos de 2000 até os dias atuais.

Espécie vegetal	Substância isolada* / sintetizada**	Autores
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α -hidroxivoacapano*	ARRIAGA et al., 2000
<i>P. polygalaeflorus</i>	N-propil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N,N-dimetil-6 α -7 β -di-hidroxivoacapan-17 β -amida** N,N-dimetil-6 α -hidroxi-7 β -metoxivoacapan-17 β -amida** N,N-dimetil-6 α -7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida**	TEIXEIRA et al., 2001
<i>P. polygalaeflorus</i>	N-etil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N-propil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N-isopropil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N,N-dietil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N,N-dimetil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N,(t-butil)-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N-benzil-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N-(2-aminoetil)-6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -amida** N-(6 α -acetoxi-7 β -hidroxivoacapan-17 β -oil)piperidina**	BELINELO et al., 2001
<i>P. polygalaeflorus</i>	N-etil-N-metil-16-(N,N-dimetilaminometil)-6 α , 7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida** N-etil-N-metil-16-(N,N-dietilaminometil)-6 α ,7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida** N-etil-N-metil-16-(N, N-dipropilaminometil)-6 α , 7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida** N-etil-N-metil-16-(1-piperidilmetil)-6 α ,7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida** N-etil-N-metil-16-(1-pirrolidinilmetil)-6 α ,7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida** N-etil-N-metil-16-(4-morfolinilmetil)-6 α ,7 β -dimetoxivoacapan-17 β -amida**	BELINELO et al., 2002
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α ,7 β -tiocarbonildioxivoacapan-17 β -oato de metila**	RUBINGER et al., 2004
<i>P. pubescens</i>	6 α ,7 β -dihidroxivoacapano	SILVA et al., 2004

<i>P. pubescens</i>	Sesquiterpenos*; Sesquiterpenos lineares*; Diterpenos*	COELHO et al., 2005
<i>P. polygalaeflorus</i>	Ácido 6 α -dihydroxyvouacapan-17 β -óico* 6 α -hydroxyvouacapan-7 β , 17 β -lactona** 6 α -oxovouacapan-7 β , 17 β -lactona**	KING-DÍAZ et al., 2006
<i>P. polygalaeflorus</i>	6- α -acetoxivouacapano**; 6- α -hidroxivouacapano*, Vouacapano* β -cariofileno*	PIMENTA et al., 2006
<i>P. polygalaeflorus</i>	6 α -hidroxivouacapan-7 β , 17 β -lactona* Ácido 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oico* metil 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oato*	OMENA et al., 2006
<i>P. polygalaeflorus</i>	16- (diethylaminomethyl)-6-oxovouacapan- 7 β , 17 β -lactona** 16-(dipropylaminomethyl)-6-oxovouacapan- 7 β , 17 β -lactona** 16-(1-piperidinylmethyl)-6-oxovouacapan- 7 β , 17 β -lactona** 16-(dibenzylaminomethyl)-6-oxovouacapan- 7 β , 17 β -lactona**	SANTOS et al., 2007
<i>P. polygalaeflorus</i>	trans-cariofileno*; espatulenol*; α -copaeno*; Y- muuroleno*; β -elemeno*; α -humuleno*; alloaromadendreno*; biciclogermacreno*; δ - cadineno*; α -cubeneno*; Y-cadineno*; B- gurjuneno*; aromadendreno*; germacreno D*; α -calacoreno*; σ -elemeno*; α -gurjuneno*	EVANGELISTA et al., 2007
<i>P. emarginatus</i>	Fitol*; ácido oléico*; linoleiladato de metila*; ácido palmítico*; 1,2,4-trimetil*, isopropilbenzenos*; isopropenilmetilcetona*, 3- penten-2-ona*	HERNANDEZ- TERRONES et al., 2007
<i>P. emarginatus</i>	Lupeol e betulina	MORAES, 2007
<i>P. polygalaeflorus</i>	metil- 6,7-dioxovouacapan-17 β -oato** metil 6-hidroxi-7-oxovouacapan-5-en-17 β -oato**	SANTOS et al., 2008
<i>P. pubescens</i>	vouacapan-6 α , 7 β , 14 β , 19-tetraol*	VIEIRA et al., 2008
<i>P. emarginatus</i>	flavonóides, leucoantocianidinas, taninos, heterosídeos cardiotônicos, cumarinas, triterpenos/esteróides, saponinas, <i>trans</i> - cariofileno, β -elemeno, α -humuleno	DUTRA, 2008
<i>P. polygalaeflorus</i>	Ácido 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oico* 6 α -hidroxivouacapan-7 β , 17 β -lactona** 6 α -acetoxivouacapan- 7 β , 17 β -lactona** 6-oxovouacapan-7 β , 17 β -lactona**	EUZEBIO et al., 2009
<i>P. pubescens</i>	6 α -acetóxi-7 β -hidróxi-vouacapano* 6 α , 7 β -diacetoxivouacapano* 7 β -diacetoxivouacapano* 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oate metil éster* 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -metileno-ol*	SPINDOLA et al., 2009
<i>P. polygalaeflorus</i>	ácido 6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -óico* N-etil-6 α , 7 β -di-hidroxivouacapan-17 β -amida** 6 α -acetoxivouacapan-7 β , 17 β -lactona **	BELINELO et al., 2009

<i>P. emarginatus</i>	α -copaeno*, β -elemeno*, E-cariofileno*, α -humuleno*, allo-aromadendreno*, γ -muuroleno*, biciclogermacreno*, acifileno*, δ -cadineno*	SANTOS, 2008
<i>P. pubescens</i>	6 α , 7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oate metil éster* Geranilgeraniol*	SPINDOLA et al., 2010

(OLIVEIRA, 2010)

1.1.2. Ações Farmacológicas

Por seu uso na medicina popular, espécies do gênero *Pterodon* vêm sendo amplamente estudadas a fim de se comprovar suas atividades terapêuticas como demonstrado no quadro 4.

Quadro 4 - Estudos das atividades farmacológicas de plantas do gênero *Pterodon*.

Ação farmacológica	Autor
Larvicida frente a larvas do estágio 3 de <i>Aedes aegypti</i>	PIMENTA et al. (2006); OMENA et al. (2006)
Infecções por <i>Schistosoma mansoni</i> (ação protetora contra a penetração de cercarias)	KATZ et al., 1993; MORS; PELLEGRINO, 1966
Atividade leishmanicida	DUTRA et al., 2009a
Atividade antimicrobiana	BUSTAMANTE et al., 2010; DUTRA et al., 2009a; GONÇALVES et al., 2005; SILVA et al. 2005
Atividade antifúngica	SILVA et al. 2005;
Atividade alelopática	BELINELO et al., 2001; 2009; DEMUNER et al., 1998; HERNANDEZ-TERRONES et al. 2007; RUBINGER et al., 2004
Antinociceptivo	COELHO et al., 2005; DUTRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2010; SPINDOLA et al., 2010; TAMINATO et al., 2007
Antiinflamatória	CARVALHO et al., 1999; CHAVAN et al., 2010; DUTRA, 2008; EVANGELISTA et al., 2007; FERNANDES et al., 2007; MORAES et al., 2009; NUNAN et al., 2001; PIMENTA et al., 2006; POLO et al., 2004; SABINO et al., 1999; SANTOS, 2008; SERTIE et al., 2005; SILVA et al., 2004;
Cicatrizante	DUTRA et al, 2009b
Analgésico	DUARTE et al. 1992;
Antiproliferativa	EUZÉBIO et al., 2009; SPINDOLA et al., 2009

1.2. Políticas Públicas para fitoterápicos e plantas medicinais

Em 1978, a Organização Mundial da Saúde em uma conferência realizada em Alma-Ata no Cazaquistão, publicou um documento orientando os países membros a proteger e promover a saúde dos povos do mundo pela formulação de políticas e regulamentações nacionais referentes ao uso de remédios populares de eficácia comprovada, sendo o primeiro reconhecimento oficial do uso de plantas medicinais (OMS, 1979).

No Brasil, a política de plantas medicinais e fitoterápicos remonta de 1981 por meio da Portaria n.º 212, de 11 de setembro, do Ministério da Saúde que define o estudo das plantas medicinais como uma das prioridades de investigação clínica. Em 1982, o Ministério da Saúde lançou o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos para obter o desenvolvimento de uma terapêutica alternativa e complementar, com embasamento científico, pelo estabelecimento de medicamentos fitoterápicos, com base no real valor farmacológico de preparações de uso popular, à base de plantas medicinais (BRASIL, 2011).

A partir da década de 80, diversos documentos foram elaborados enfatizando a introdução de plantas medicinais e fitoterápicos na atenção básica no sistema público, entre os quais destacam-se (BRASIL, 2006):

- A Resolução Ciplan Nº 8/88, que regulamenta a implantação da Fitoterapia nos serviços de saúde e cria procedimentos e rotinas relativas a sua prática nas unidades assistenciais médicas;
- O Relatório da 10ª Conferência Nacional de Saúde, realizada em 1996, que aponta no item 286.12: "incorporar no SUS, em todo o País, as práticas de saúde como a Fitoterapia, acupuntura e homeopatia, contemplando as terapias alternativas e práticas populares" e, no item 351.10: "o Ministério da Saúde deve incentivar a Fitoterapia na assistência farmacêutica pública e elaborar normas para sua utilização, amplamente discutidas com os profissionais em saúde e especialistas, nas cidades onde existir maior participação popular, com gestores mais empenhados com a questão da cidadania e dos movimentos populares".

- A Portaria nº 3916/98, que aprova a Política Nacional de Medicamentos, a qual estabelece o apoio às pesquisas que visem o aproveitamento do potencial terapêutico da flora e fauna nacionais.
- O Relatório do Seminário Nacional de Plantas Medicinais, Fitoterápicos e Assistência Farmacêutica, realizado em 2003, que recomenda a integração no Sistema Único de Saúde do uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos.
- O Relatório da 12ª Conferência Nacional de Saúde, realizada em 2003, que aponta a necessidade de se "investir na pesquisa e desenvolvimento de tecnologia para produção de medicamentos homeopáticos e da flora brasileira.
- Decreto presidencial de 17/02/05 que cria o Grupo de Trabalho para elaboração da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.

No ano de 2006 duas outras políticas envolvendo plantas medicinais e fitoterápicos foram implantadas: a portaria 971 de 03 de maio de 2006, que insere as práticas integrativas e complementares no Sistema Único de Saúde (SUS) e o decreto 5.813, de 22 de junho de 2006, que criou a Política Nacional de Plantas Medicinais. Essas políticas culminaram na elaboração e publicação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) em 2009, que contém 71 espécies vegetais para uso no SUS (CARVALHO, 2011).

Outro passo dado no desenvolvimento das pesquisas com fitoterápicos foi a criação das chamadas Farmácias Vivas que são estabelecimentos instituídos pela Portaria 886 de 20 de abril de 2010 para manipular exclusivamente plantas medicinais e fitoterápicos. Junto com o conceito das Farmácias Vivas o Ministério da Saúde lançou o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira 1ª edição que complementa essas normas de manipulação, oficializando as formulações que serão manipuladas de forma padronizada (BRASIL, 2011).

1.3. Uso de fitoterápicos e potencialidades de desenvolvimento

A importância e potencialidade química das plantas medicinais se reflete nos dados obtidos em pesquisas científicas uma vez que aproximadamente 50% dos medicamentos utilizados na clínica, em todo o mundo, originam-se de produtos naturais e derivados. Esse potencial é, entretanto, ainda pouco explorado,

considerando que existam entre 250 a 350 mil espécies de plantas das quais somente 15% tem sido estudadas fitoquimicamente e 6% biologicamente (GURIB-FAKIM, 2006).

Apesar de ser comum o uso das plantas medicinais, sua eficácia deve ser comprovada por meio de estudos da composição química e das propriedades biológicas, garantindo a qualidade e a segurança na terapêutica. O uso indiscriminado pode promover efeitos adversos, interações com medicamentos sintéticos ou até mesmo intoxicação devido à presença substâncias nocivas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; NICOLETTI et al., 2010).

O desenvolvimento e a correta formulação de uma forma farmacêutica requerem o conhecimento das características físicas, químicas e biológicas de todas as substâncias ativas e adjuvantes a serem utilizados na preparação. A escolha apropriada da forma farmacêutica e da via de administração dos medicamentos tem como objetivo veicular, de forma correta, o(s) princípio(s) ativo(s) promovendo uma eficiente absorção e distribuição garantindo, assim, o efeito terapêutico preconizado (FERREIRA; LEITE, 2009). O desenvolvimento de uma formulação busca também obter um teor de constituintes ativos padronizados de fácil administração, oferecendo ao indivíduo maior conforto e assegurando a ação farmacológica desejada (CUNHA-JÚNIOR et al., 2000).

Para veicular os derivados vegetais (extratos, óleos fixo e voláteis, etc) é necessário escolher adequadamente a forma farmacêutica considerando fatores como características físico-químicas desses derivados (solubilidade, pH, estabilidade), velocidade e local de absorção dos mesmos, tipo de ação (local ou sistêmica) e fatores de individualidade do usuário como idade, patologias e/ou outras disfunções associadas (FERREIRA; LEITE, 2009).

Normalmente a escolha de uma administração tópica relaciona-se a um esperado efeito local. Casos em que se visa um efeito sistêmico através da via cutânea são pouco utilizados na fitoterapia (PRISTA et al., 1995). Uma formulação tópica conta, normalmente, com a presença de um sistema carreador (veículo) que pode interferir na ação esperada aumentando ou diminuindo a atividade terapêutica pela modificação da permeação cutânea. Há a necessidade de avaliar a compatibilidade entre droga vegetal e veículo para que não haja o comprometimento da eficácia da formulação (FERREIRA; LEITE, 2009).

1.4. Microemulsão

Segundo Frange e Garcia (2009) emulsões são dispersões de duas fases líquidas imiscíveis entre si (usualmente água e óleo) estabilizadas pela presença de agentes tensoativos, localizados na interface óleo/água. Porém esse sistema é termodinamicamente instável devido à alta energia livre na interface entre as duas fases (BECHER, 1965). Para que o equilíbrio seja alcançado é preciso reduzir ao mínimo a área de contato entre as fases. Assim, é necessária a escolha correta dos agentes tensoativos (CAMERON et al., 1991). Os agentes tensoativos têm papel fundamental na estabilização de emulsões por possuírem a propriedade de diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água. Esse efeito deriva do fato de que os tensoativos possuem estrutura molecular anfipáticas, ou seja, suas moléculas são compostas de dois grupos opostos de solubilidade (OLIVEIRA et al., 2004). Porém, os tensoativos não conseguem diminuir a tensão interfacial a ponto de anular totalmente a energia livre da superfície provocada pelo aumento da área interfacial tornando as emulsões sistemas termodinamicamente instáveis (FRANGE; GARCIA 2009).

Segundo Prista et al. (1995) a estabilidade das emulsões está relacionada com o tipo de agente tensoativo utilizado e conseqüentemente com as características físicas da interface formada.

Dependendo do tamanho do glóbulo formado e do processo utilizado, as emulsões podem ser classificadas em microemulsões (ME), nanoemulsões e macroemulsões (ZANIN et al., 2002; JAFARI et al., 2007).

Quando avaliadas quanto ao tamanho das gotículas da fase interna há uma interpolação entre microemulsões e nanoemulsões. De forma geral o diâmetro médio das gotículas em uma microemulsão varia entre 10 - 100 nm (100 – 1000 Å) (SINTOV; SHAPIRO, 2004; CHEN et al., 2004; SHAKEEL; RAMADAN, 2010; JADHAV et al., 2010) porém, encontramos na literatura variações de 3 até 140nm (HARRISON, 2004; FORMARIZ et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2004). Para as nanoemulsões essa variação é de 20 a 500 nm (SOLANS et al., 2003; NAKAJIMA; TOMOMASA; OKABE, 1993) ou 50 a 200 nm (TADROS et al., 2004). As características físicas de ambas também se confundem por apresentarem em comum baixa viscosidade, translucidez e reflexo azulado. No entanto, por definição é necessário uma agitação vigorosa com alto índice de cisalhamento na formação

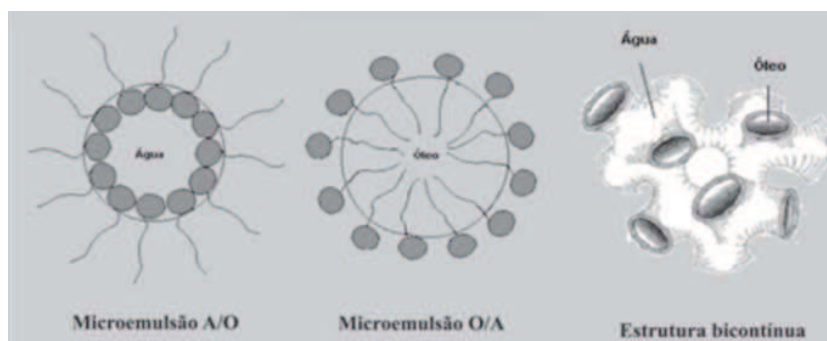
das nanoemulsões para diminuição da tensão superficial das gotículas enquanto as microemulsões se formam espontaneamente somente por agitação com intensidade de leve a moderada (MASON et al., 2006).

Diferente das emulsões as microemulsões se formam a partir de uma aparente solubilização espontânea de dois líquidos imiscíveis na presença de um tensoativo e, se necessário, um cotensoativo. Caracteristicamente são sistemas dispersos, monofásicos, termodinamicamente estáveis, transparentes ou translúcidos, com baixíssima tensão interfacial e com capacidade de combinar grandes quantidades de dois líquidos imiscíveis em uma única fase homogênea (ROSSI, 2007).

Os sistemas microemulsionados foram descritos originalmente por Hoar e Schulman (1943) quando geraram uma solução transparente, de única fase, por titulação de uma emulsão de aspecto leitoso com hexanol. A utilização do termo microemulsão só foi utilizado por Schulman e colaboradores (1959), no final da década de 1950.

A formação da microemulsão geralmente envolve a combinação de três a cinco componentes, tais como, tensoativo ou mistura de tensoativos, fase aquosa, fase oleosa e, caso necessário, cotensoativo (OLIVEIRA et al., 2004; DALMORA et al., 2001; FORMARIZ et al., 2005). As microemulsões formadas podem ser do tipo O/A (óleo em água) ou A/O (água em óleo) ou estrutura bicontínua dependendo das propriedades físico-químicas dos tensoativos utilizados (OLIVEIRA et al., 2007) como mostrado na figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática da organização das microemulsões



(FORMARIZ et al., 2005, modificada)

Os sistemas microemulsionados são capazes de compartimentalizar fármacos nas gotículas da fase interna, as quais possuem propriedades físico-químicas bastante diferentes das do meio dispersante, induzindo modificações nas

propriedades biológicas dos fármacos incorporados (BHARGAVA et al., 1987). Além disso, esses sistemas melhoram a solubilização de fármacos lipofílicos em água e os protegem contra hidrólise enzimática, além de aumentar o potencial de absorção devido à presença do tensoativo (CRUZ, 2001; KREILGAARD, 2002; KOGAN e GARTI, 2006). Entretanto, a possibilidade de formar microemulsão depende do balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo, determinada não somente pela sua estrutura química, mas também por outros fatores como temperatura, força iônica e a presença de cotensoativo. A mistura de tensoativos com equilíbrio hidrófilico/lipófilico adequado proporciona a condição máxima de “solubilização” do óleo e da água (MITAL, 1999).

No intuito de selecionar qual seria o tensoativo ideal de uma determinada emulsão, Griffin (1954 *apud* FORMARIZ, et al.; 2005) desenvolveu um método para classificar os tensoativos com base na sua composição química, sendo este denominado Equilíbrio Hidrofílico/Lipofílico (EHL) onde, as contribuições das partes polar e apolar de tensoativos não-iônicos foram quantificadas. Desta forma a cada tensoativo conhecido atribuiu-se um valor de EHL. Atualmente, para todos os tensoativos citados na literatura os valores teóricos de EHL variam entre 1 – 50, porém a faixa usual utilizada é entre 1 e 20. Tensoativos que são altamente polares apresentam valores mais elevados que aqueles menos polares. Os valores de EHL possibilitam a caracterização dos tensoativos quanto a polaridade e assim determinar o seu uso (ALLEN JÚNIOR et al., 2007). Para que se tenha ação antiespumante, o valor teórico de EHL deve estar entre 1,5 – 3. Para ação emulsionante em emulsões do tipo A/O apresentam valor de EHL na faixa entre 3 – 6. Possuem ação espumante aqueles que possuem valor de valor EHL entre 7 – 9. Os emulsionantes do tipo O/ A possuem valor de EHL entre 8 – 18, os detergentes entre 13 – 15 e os solubilizantes entre 15 – 20 (ROSSI et al., 2007).

1.4.1. Formação das microemulsões

Existem várias teorias que tentam explicar o processo de formação das microemulsões, dentre elas, acredita-se que durante a obtenção de um sistema microemulsionado o papel do cotensoativo é reduzir a tensão interfacial otimizando a estabilização termodinâmica das gotículas da fase interna da microemulsão (ROSSI et al., 2007).

O processo de emulsificação implica num grande aumento de área interfacial ($S_1 \rightarrow S_2$) a qual leva a um aumento brusco da energia livre de superfície ($G_1 \rightarrow G_2$) (FRIBERG; VENABLE, 1983; FRIBERG; BOTHOREL, 1988). Este fenómeno, em condições de temperatura constante, pode ser descrito pela Equação (1):

$$\Delta G = G_2 - G_1 = \gamma_i \times T \Delta S \quad (1)$$

onde, γ_i representa a tensão interfacial entre as fases aquosa e oleosa, T a temperatura e ΔS a diferença entre a área interfacial.

Através da equação 1 verifica-se que a opção mais viável para a estabilização do sistema é a diminuição da tensão interfacial da dispersão, como forma de reduzir a energia livre derivada da expansão da área interfacial. É possível verificar, também, que a estabilidade da emulsão deverá ser maior, quanto menor for a energia livre remanescente da expansão da área interfacial, tendendo a um sistema termodinamicamente estável, caso o aumento da energia livre seja totalmente compensado pela diminuição da tensão interfacial (OLIVEIRA et al., 2004; LAWRENCE; RESS, 2000).

A mistura dos constituintes de uma microemulsão nem sempre formam um sistema disperso homogêneo. Em 1948, Winsor classificou as diferentes sequências de equilíbrio observadas em um sistema microemulsionado. As classificações são: Winsor I: possui duas fases, composta por uma fase microemulsionada na parte inferior e o excesso do óleo na parte superior; Winsor II: duas fases, sendo a fase microemulsionada superior em equilíbrio com o excesso de água (inferior); Winsor III: três fases, onde a microemulsão posiciona-se no meio do sistema, a fase oleosa na parte superior e o excesso de água na parte inferior; Winsor IV: fase única, constituída pela microemulsão (ROSSI et al., 2007; TAN et al., 2011).

1.4.2. Aplicações das microemulsões

Nos últimos anos, o interesse na aplicação das microemulsões como sistemas de liberação de fármacos vem ganhando mais atenção por parte dos laboratórios industriais e dos pesquisadores acadêmicos. No campo farmacêutico, diversos estudos têm sido encontrados na literatura descrevendo o uso desse sistema nas mais variadas vias de administração (DANTAS et al., 2010; HATHOUT et al., 2010; KARASULU, 2008; ROGÉRIO et al., 2010; TSAI et al., 2010). As microemulsões (MEs) podem proporcionar uma modificação na biodisponibilidade e

na diminuição da toxicidade dos fármacos, visto que esses sistemas apresentam-se como reservatórios capazes de liberar e direcionar os fármacos para tecidos e células específicas do organismo e, além disso, dependendo de sua composição, podem ser aplicados, sem restrições, às vias de administração oral, ocular, parenteral, transdérmica, vaginal e retal (GUPTA; MOULICK, 2008). Três principais mecanismos têm sido propostos para explicar as vantagens do uso tópico das microemulsões. Primeiro, o aumento da solubilidade de fármacos tanto lipofílicos quanto hidrofílicos dentro dos sistemas microemulsionados eleva sua atividade termodinâmica resultando num aumento da permeação do mesmo pela pele. Segundo, os constituintes da microemulsão podem atuar como potenciadores da permeação alterando, reversivelmente, a estrutura do extrato córneo e aumentando a permeação do fármaco através da pele. Terceiro, o fármaco veiculado na fase interna da microemulsão aumenta sua afinidade química pela pele aumentando assim sua absorção (OKUR et al., 2011; MARTINS; VEIGA, 2002; FLORENCE, 2003; RHEE et al., 2001; ZHAO et al., 2008).

Dentre as características dos sistemas microemulsionados destacam a facilidade de preparação por emulsificação, estabilidade termodinâmica, viscosidade adequada e a alta capacidade de solubilizar fármacos pouco solúveis em água na fase dispersa oleosa (DAMASCENO et al., 2011). Essas características podem ainda apresentar-se de forma variada, gerando uma grande diversidade de aplicações no uso desses sistemas para diversas vias de administração (LAWRENCE et al., 2000).

A proposta deste trabalho possui caráter inovador uma vez que não há relatos do uso dos sistemas microemulsionados para veiculação do óleo fixo de sucupira e a aplicação dessas formulações em via tópica com atividade antiinflamatória.

Objetivos

2. Objetivos:

2.1. Objetivo Geral:

- Desenvolver uma microemulsão a base de óleo fixo do fruto de *P.emarginatus* e avaliar sua atividade antiinflamatória.

2.2. Objetivos Específicos:

- Caracterizar o óleo fixo de sucupira quanto à composição e seus índices físico-químicos;
- Realizar estudos de pesquisa e desenvolvimento de microemulsão;
- Investigar a atividade antiinflamatória do óleo fixo de sucupira e da formulação que o contém utilizando o modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton.

Materiał e

Metodos

3. Material e Métodos

3.1. Equipamentos

- Agitador Magnético BIOMIXER 78HW-1
- Balança analítica BEL Mark 500
- Balança analítica RADWAG XA110
- Balança semi-analítica TECNAL AS 1000
- Banho-maria CIENTEC CT-248
- Banho ultrassom UNIQUE USC 4800
- Centrifuga PRESVAC modelo DCS-16RV
- Chapa Aquecedora QUIMIS Q313-A
- Cromatógrafo gasoso Shimadzu GC17A acoplado a espectrômetro de massas QP-5050
- Cromatógrafo Líquido Waters e2695 acoplado a detector PDA 2998
- Espectrofotômetro Biospectro modelo SP-220
- Estufa FANEM 002 CB
- Microscópio AXIOSTAR Plus acoplado a câmera Canon Power Shot G10
- Peagômetro TECNAL TEC 3MP
- Zeta Plus BROOKHAVEN
- Zeta sizer (Nano S) MALVERN

3.2. Material Botânico

3.2.1. Coleta

Os frutos de *Pterodon emarginatus* Vog. foram coletados no estado de Goiás no município de São Domingos (S13°42'12.9" O46°20'35.7", altitude 677m). Foi realizada uma identificação morfológica dos frutos pela professora doutora Maria Teresa Freitas Bara da Universidade Federal de Goiás.

3.2.2. Obtenção do Óleo

O óleo dos frutos foi obtido através de prensagem a frio em prensa contínua na cidade de Limeira – SP por uma empresa especializada (Ecirtec).

3.3. Caracterização físico química do óleo

Para caracterização do óleo foram determinados os índices de Acidez, de Peróxido, de Iodo e Saponificação segundo metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010a).

3.3.1. Índice de Acidez (IA)

Para a determinação do índice de acidez foi pesado cerca de 10,0 g do óleo e a este foi adicionado 50 mL de uma mistura de etanol 96% e éter etílico (1:1) v/v. À essa mistura foi adicionado 0,5 mL de solução de fenoftaleína e titulada com hidróxido de potássio 0,1M (solução volumétrica (SV)) até a observação de uma coloração rosa pálida persistente. Em seguida um ensaio em branco foi realizado para que fosse feita a correção do volume do titulante consumido.

O índice de acidez foi calculado pela equação 2:

$$IA = \frac{5,610 n}{m} \quad (2)$$

onde n é o volume de hidróxido de potássio gasto na titulação e m a massa da amostra em gramas.

3.3.2. Índice de Iodo (II)

Na determinação do índice de iodo aproximadamente 0,15 g do óleo foi dissolvido em 15 mL de clorofórmio e, em seguida, foram acrescentados 25 mL de uma solução de brometo de iodo. O recipiente que continha a mistura foi tampado e conservado ao abrigo da luz por 30 minutos sendo, frequentemente, agitado. Ao final do prazo estipulado a mistura recebeu 10 mL de solução de iodeto de potássio (100 g/L) e 100 mL de água. Essa mistura foi titulada com tiosulfato de sódio 0,1 M (SV) até o quase desaparecimento da coloração amarela. Em seguida, foram adicionados

5 mL de solução de amido e a titulação foi retomada até o desaparecimento da cor azul. Um ensaio em branco foi realizado a fim de corrigir o volume de titulante gasto.

O índice de iodo foi calculado segundo a equação 3:

$$II = \frac{1,269 \times (n_2 - n_1)}{m} \quad (3)$$

onde n_2 é o volume de titulante gasto no ensaio em branco, n_1 é o volume de titulante gasto para o ensaio com a amostra e m é a massa em gramas de óleo pesada para a realização do experimento.

3.3.3. Índice de Peróxido (IP)

Para o cálculo do índice de peróxido pesou-se 5,00 g do óleo em erlenmeyer de 250 mL com rolha esmerilhada. Adicionou-se 30 mL de uma mistura v/v de ácido acético glacial e clorofórmio (3:2 v/v). Agitou-se até dissolução do óleo e acrescentou-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. Agitou-se durante um minuto, exatamente, e adicionou-se 30 mL de água. Procedeu-se a titulação com tiosulfato de sódio 0,01 M (SV), adicionando, lentamente, sem cessar a agitação enérgica até que a coloração amarela tivesse quase desaparecido. Neste ponto acrescentou-se 5 mL de solução de amido e manteve-se a titulação agitando energicamente, até desaparecimento da coloração.

Foi realizado um ensaio em branco nas mesmas condições (n_2 : mL de tiosulfato de sódio 0,01 M).

O índice de peróxido foi calculado conforme equação 4:

$$IP = \frac{10(n_1 - n_2)}{m} \quad (4)$$

Onde n_2 é o volume de titulante gasto no ensaio em branco, n_1 é o volume de titulante gasto para o ensaio com a amostra e m é a massa em gramas de óleo pesada para a realização do experimento.

3.3.4. Índice de Saponificação (IS)

O índice de saponificação foi determinado misturando-se, aproximadamente, 1,5 g do óleo a 25 mL de solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M (SV). Essa mistura foi colocada em banho maria durante 30 minutos sob refluxo. Ao final desse processo 1 mL de solução de fenolftaleína foi acrescentado sendo mistura

titulada com uma solução de ácido clorídrico 0,5 M. Um ensaio em branco foi realizado nas mesmas condições a fim de corrigir o volume de titulante gasto.

Para a determinação do índice de saponificação foi utilizada a equação 5:

$$IS = \frac{28,05 (n_2 - n_1)}{m} \quad (5)$$

Onde n_2 é o volume de titulante gasto no ensaio em branco, n_1 é o volume de titulante gasto para o ensaio com a amostra e m é a massa em gramas de óleo gasto na realização do experimento.

3.4. Cromatografia Gasosa

A fim de avaliar a composição química do óleo foi utilizado um cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas. O sistema de injeção utilizado foi o splitless e temperatura do injetor a 250°C. O forno foi submetido a uma rampa de temperatura de 40 a 350°C (10°C/min) com uma coluna DB-5HT de 30 m de comprimento e temperatura do detector de 250°C. As análises foram realizadas no Laboratório de Métodos de Extração e Separação – UFG.

3.5. Microemulsões

3.5.1. Composição

3.5.1.1. Fase Oleosa

- Óleo fixo de sucupira.

3.5.1.2. Fase Aquosa

- Água recém destilada

3.5.1.3. Tensoativos

- Polissorbato 80 (Tween[®] 80). INCI name: *polysorbate 80*. Fabricante: Vetec. EHL = 15
- Monooleato de sorbitano (Span[®] 80). INCI name: *sorbitan oleate*. Fabricante: Oxiteno. EHL = 4,3
- Óleo de mamona 54 EO (Ultramona[®] R 540). INCI name: *PEG-54 Castor Oil*. Fabricante: Oxiteno. EHL = 14,4

- Óleo de mamona 15 EO (Ultramona[®] R 150). INCI name: PEG-15 *Castor Oil*. Fabricante: Oxiteno. EHL = 8,3
- Óleo de mamona 40 EO (Ultramona[®] R 400). INCI name: PEG-40 *Castor Oil*. Fabricante: Oxiteno. EHL = 13,0

3.5.1.4. Cotensoativos:

- Álcool etílico 95 GL P.A.. Fabricante: Cromato Produtos Químicos Ltda. Diadema-SP
- Propilenoglicol. Fabricante: DEG Import. de Produtos Químicos Ltda. São Paulo - SP

3.6. Desenvolvimento da microemulsão

3.6.1. Método geral de emulsificação

As emulsões foram preparadas pelo método de inversão de fases onde a fase aquosa e a fase oleosa acrescida dos tensoativos foram aquecidas separadamente a uma temperatura de 75 ± 5 °C. A fase aquosa foi então vertida sobre a fase oleosa sob agitação constante até que o sistema atingiu a temperatura ambiente (27 ± 5 °C). (FERREIRA, 2008).

3.6.2. Determinação do valor de Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) requerido pelo óleo de sucupira

Para a determinação do valor EHL requerido para o óleo de Sucupira foi utilizado o par de tensoativos polissorbato 80 (Tween[®]80) com valor de EHL=15,0 e monooleato de sorbitano (Span[®]80) com valor de EHL=4,3 misturados em proporções adequadas a fim de se obter o valor de EHL a ser testado conforme equações 6 e 7 (PEREIRA, 2008).

Neste ensaio também foram utilizados frutos coletados no município de Campestre – GO (S16°46'01" O40°42'06", altitude 6 12m).

$$\text{EHL requerido} = (\text{EHL A} \times \text{A}\% + \text{EHL B} \times \text{B}\%) / 100 \quad (6)$$

$$\text{A}\% + \text{B}\% = 100\% \quad (7)$$

Onde:

EHL A = valor do EHL do tensoativo lipofílico

EHL B = valor do EHL do tensoativo hidrofílico

A% = concentração do tensoativo lipofílico

B % = concentração do tensoativo hidrofílico

A formulação para a determinação do valor de EHL requerido para o óleo de sucupira é expressa no quadro 5.

Quadro 5 - Composição da formulação para ensaio de avaliação do valor de EHL requerido pelo óleo.

Componente	Concentração	
Óleo de Sucupira	10%	
Tween [®] 80 (EHL 15,0)	A%	Onde: A + B = 10%
Span [®] 80 (EHL 4,3)	B%	
Água Destilada	80%	

A tabela 1 mostra a composição em peso das preparações empregando o Tween[®]80 (EHL 15,0) como tensoativo hidrofílico e Span[®]80 (EHL 4,3) como tensoativo lipofílico.

Tabela 1 - Proporção de tensoativos lipofílico (Span[®] 80) e hidrofílico (Tween[®] 80) utilizados na obtenção do valor de EHL requerido para o óleo fixo de sucupira.

Ensaio	EHL	Óleo de Sucupira (g)	Tween [®] 80 (g)	Span [®] 80 (g)	Água Destilada (g)
1	5,0	2	0,13	1,87	16
2	6,0	2	0,32	1,68	16
3	7,0	2	0,50	1,50	16
4	8,0	2	0,69	1,31	16
5	9,0	2	0,88	1,12	16
6	10,0	2	1,07	0,93	16
7	11,0	2	1,25	0,75	16
8	12,0	2	1,44	0,56	16
9	13,0	2	1,63	0,37	16
10	14,0	2	1,81	0,19	16
11	15,0	2	2,00	0,00	16

As emulsões foram preparadas pelo método geral de emulsificação conforme descrito no item 3.6.1. Após o preparo as amostras foram transferidas para um tubo graduado (tubo Falcon) e deixados em repouso em temperatura ambiente por 24hs.

O valor do EHL requerido para o óleo de sucupira foi determinado pela amostra que apresentou uma maior fase emulsionada estável (cremeação).

3.6.3. Determinação do sistema tensoativo

A fim de se obter microemulsões a base do óleo fixo de sucupira foram avaliados alguns sistemas tensoativos/cotensoativos (T/C) em busca de formulações estáveis. Foram selecionados os tensoativos cujo valor de EHL estivesse próximo ao requerido pelo óleo. As composições das formulações testadas estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 - Determinação das concentrações, em porcentagem, dos componentes das formulações testadas para a determinação do melhor sistema tensoativo/cotensoativo.

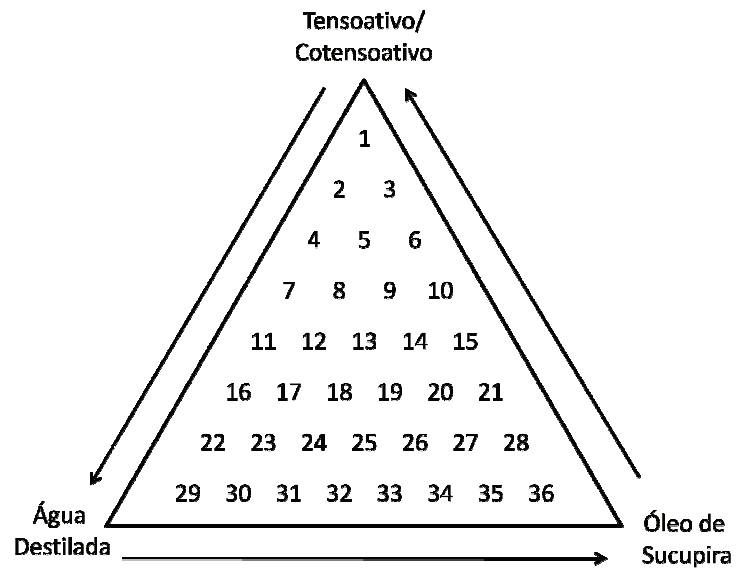
Formulação	Óleo	Água	Tensoativos		Cotensoativos	
			Tween [®] 80	Ultramona [®] R 540	Álcool Etílico	Propilenoglicol
1	6,5	57	12,5	-	24	-
2	5	80	10	-	-	5
3	10	75	10	-	5	-
4	10	75	-	10	-	5
5	10	75	-	10	5	-

Foram avaliados parâmetros macroscópicos como a presença de reflexo azulado e translucidez e parâmetros microscópicos, tais como: movimento browniano, homogeneidade das partículas e coalescência (PEREIRA, 2008).

3.6.4. Diagrama de fases

O diagrama foi obtido variando as concentrações de 10 em 10% (p/p), a fim de cobrir toda a superfície do triângulo (figura 3), obtendo-se assim 36 formulações para cada sistema proposto.

Figura 3 - Diagrama pseudoternário de óleo de sucupira, água e mistura tensoativo/cotensoativo na proporção de 2:1 respectivamente.



As quantidades de cada componente na formulação estão representadas na tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações em porcentagem (p/p) dos componentes das emulsões conforme diagrama pseudoternário.

Formulação	Proporção (%)		
	Óleo	T/C	Água
1	10	80	10
2	10	70	20
3	20	70	10
4	10	60	30
5	20	60	20
6	30	60	10
7	10	50	40
8	20	50	30
9	30	50	20
10	40	50	10
11	10	40	50
12	20	40	40
13	30	40	30
14	40	40	20
15	50	40	10
16	10	30	60
17	20	30	50
18	30	30	40
19	40	30	30
20	50	30	20

21	60	30	10
22	10	20	70
23	20	20	60
24	30	20	50
25	40	20	40
26	50	20	30
27	60	20	20
28	70	20	10
29	10	10	80
30	20	10	70
31	30	10	60
32	40	10	50
33	50	10	40
34	60	10	30
35	70	10	20
36	80	10	10

Após análise dos dados um novo diagrama foi elaborado na região onde se observou características comuns a microemulsões.

3.6.5. Preparo das microemulsões selecionadas pelo diagrama de fases

As microemulsões foram preparadas pelo método geral de emulsificação segundo item 3.6.1.

3.7. Análise das variáveis do processo de obtenção das microemulsões.

3.7.1. Influência da Temperatura

3.7.1.1. Emulsificação a frio

Para o teste de emulsificação a frio a fase oleosa foi homogeneizada com a mistura tensoativo/cotensoativo em temperatura ambiente. Em seguida, a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa e mantida sob agitação por 20 minutos. A formulação obtida foi avaliada quanto à critérios macroscópicos de estabilidade (PEREIRA, 2008).

3.7.1.2. Emulsificação a quente

O teste de emulsificação a quente foi realizada da mesma forma que o método geral de preparo de emulsões (item 3.6.1) (PEREIRA, 2008).

3.7.2. Influência da ordem de adição dos componentes

A fim de verificar a influência da ordem de adição dos componentes no preparo das formulações foram comparadas as formulações realizadas das seguintes formas (FORGIANINI et al., 2001):

- Método 1: Fase aquosa a 75°C vertida sobre fase oleosa acrescida de tensoativo/cotensoativo também a 75°C;
- Método 2: Fase oleosa a 75°C vertida sobre fase aquosa acrescida de tensoativo/cotensoativo também a 75°C;
- Método 3: Fases aquosa, oleosa e mistura de tensoativo/cotensoativo aquecidos a 75°C e homogeneizados.

3.8. Testes de estabilidade

Após a escolha da formulação final esta foi submetida a diferentes condições de estabilidade a fim de comprovar a qualidade da mesma.

3.8.1. Teste preliminar de estabilidade

Microemulsões recentemente preparadas foram submetidas à centrifugação por 3 minutos a 3500 rpm e avaliadas quanto aos aspectos macroscópicos (separação de fase, translucidez, reflexo azulado) e microscópicos (coalescência e homogeneidade das gotículas da fase interna) segundo Guia de Estabilidade sugerido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004).

3.8.2. Centrifugação

As amostras foram colocadas em tubos cônicos (tubos Falcon[®]) e submetidas a centrifugação a 1000, 2500 e 3500 rpm por 15 minutos em cada velocidade. Como

parâmetro de qualidade foram avaliadas as características macroscópicas das formulações (PEREIRA, 2008).

3.8.3. Estabilidade acelerada

A formulação final foi submetida ao estudo de estabilidade acelerada segundo Guia de Estabilidade sugerido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004) onde a amostra foi armazenada em diferentes condições de temperatura ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $40\pm 2^{\circ}\text{C}$) por um período de 30 dias. As amostras foram avaliadas no 1°, 7°, 15° e 30° dia após o preparo. Foram analisados o tamanho das partículas, potencial zeta, turbidez, pH, presença de reflexo azulado e acompanhamento da concentração do marcador (β -cariofileno) (BRASIL, 2004; PEREIRA, 2008).

3.8.3.1. Tamanho das partículas

A distribuição de tamanho de partícula foi determinada pela técnica de dispersão de luz laser, em que 10 μL das amostras em estudo foram diluídos em 990 μL de água milliQ, homogeneizados até a completa dispersão e submetidos à análise para a determinação da distribuição do tamanho de partículas.

3.8.3.2. Potencial Zeta

O potencial zeta foi determinado pela medida da mobilidade eletroforética da partícula dispersa em um campo elétrico. Assim, 100 μL das amostras em estudo foram diluídos em 1,5 mL de água milliQ, homogeneizados até a completa dispersão e submetidos à análise para a determinação do potencial zeta.

3.8.3.3. Determinação do pH

Antes das análises o peagômetro foi calibrado com as soluções padrão de pH 4,0 e 7,0. A análise foi realizada introduzindo o eletrodo diretamente na amostra sem diluição em temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) (BRASIL, 2010a).

3.8.3.4. Determinação da turbidez

A determinação da turbidez foi realizada através de método espectrofotométrico onde foi traçada uma curva de linearidade com soluções de valores conhecidos de turbidez (4, 50, 80, 160, 200, 400, 800, 1600) (BRASIL, 2010a). As leituras foram feitas no comprimento de onda de 580 nm.

Para o preparo das soluções padrão foram misturados 5 mL de uma solução de sulfato de hidrazina (0,01 g/mL) e 5 mL de uma solução de hexametilenotetramina (0,1 g/mL) e mantida em repouso por 24 horas a temperatura de $25 \pm 4^\circ\text{C}$ obtendo-se assim uma solução padrão de formazina de 4000 NTU (Unidade Nefelométrica de Turbidez).

A partir desta solução, diluições foram preparadas e lidas no espectrofotômetro resultando em dados que através de uma análise estatística de regressão linear dos mínimos quadrados gerou uma equação de primeira ordem do tipo $y = ax + b$ onde (a) corresponde ao coeficiente angular, dado pela inclinação da reta, (b) corresponde ao coeficiente linear, dado pelo ponto de intersecção da reta com o eixo das ordenadas, (y) é a absorbância e (x) a turbidez expressa em NTU.

As amostras foram analisadas por método direto ou através de diluições em água destilada (BRASIL, 2010a).

3.8.3.5. Acompanhamento da concentração do marcador

O marcador químico β -cariofileno (Sigma-Aldrich) foi avaliado nos diferentes dias do teste de estabilidade por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência conforme condições cromatográficas descritas no item 3.9.

3.9. Condições cromatográficas e adequabilidade do sistema.

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência equipado com detector de arranjo de diodos. Utilizou-se coluna cromatográfica Phenomenex[®] Luna C8 (5 μ , 4.6 x 250 mm). As amostras, quando necessário, foram diluídas em metanol e solubilizadas em banho de ultrassom. Antes da injeção todas as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 μm Millex[®] (Millipore, Massachusetts, USA) e a fase móvel em membrana em PVDF de

0,45 μm (Millipore). A fase móvel utilizada foi isocrática composta de acetonitrila:metanol:água (75:10:15) com fluxo de 1,3 mL/min, temperatura da coluna de 22°C e comprimento de onda de 210 nm. (ALVES, 2011)

A verificação da adequabilidade do sistema foi realizada através dos parâmetros de conformidade do sistema (*system suitability*) monitorados pelos dados de Resolução do Pico (Rs), Fator de Assimetria (FA) e número de pratos teóricos (N).

3.10. Covalidação do método analítico para identificação e quantificação de β -cariofileno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

O método utilizado foi covalidado de acordo com as especificações da RE 899 de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003). Os seguintes parâmetros foram avaliados: seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez (ALVES, 2011).

3.10.1. Seletividade

A verificação do parâmetro de seletividade do método foi realizada através de comparação dos cromatogramas de soluções metanólicas contendo o marcador (β -cariofileno), o óleo e um branco da formulação.

3.10.2. Linearidade

Foram preparadas três curvas padrão nas concentrações aproximadas de 44,4125; 90,825; 181,65; 363,3 e 726,6 $\mu\text{g/mL}$. Todas as soluções foram preparadas em metanol grau HPLC. A área absoluta média obtida nas três curvas foi utilizada na construção de um gráfico, plotando a área média *versus* a concentração do marcador ($\mu\text{g/mL}$). Calculou-se a equação da reta por meio do estudo de regressão linear, pelo Método dos Mínimos Quadrados.

3.10.3. Precisão

A precisão foi avaliada nos níveis de repetibilidade e precisão intermediária.

A repetibilidade foi verificada com seis determinações na concentração de 363,3 µg/mL. A precisão intermediária foi conduzida em dois dias diferentes por dois analistas distintos, observando-se a concordância entre os resultados obtidos. A precisão foi expressa como o desvio padrão relativo (coeficiente de variação) da série de medidas.

3.10.4. Exatidão

A exatidão foi avaliada pelo método de adição de padrão, no qual se adiciona quantidades conhecidas do padrão de referência (83,84 µg/mL) à amostra, em três concentrações (84,5; 112,66 e 140,25 µg/mL). Pode ser expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente.

3.10.5. Robustez

A robustez foi avaliada variando-se o fluxo (1,2; 1,3 e 1,4 mL/min) e a proporção dos componentes da fase móvel (77:09:14; 75:10:15 e 73:11:16 (acetonitrila:metanol:água respectivamente)).

3.11. Avaliação da atividade antiinflamatória “*in vivo*”.

A fim de se avaliar a atividade antiinflamatória da formulação proposta foi utilizado modelo de experimento de edema de orelha induzido por óleo de cróton (PINHEIRO et al., 2011). Foi realizado um experimento no intuito de avaliar a atividade antiinflamatória do óleo de sucupira e verificar a eficiência do uso de microemulsões como veículo desse óleo. Para o experimento foram utilizados camundongos machos, albinos, *swiss*, pesando entre 40 e 45 gramas fornecidos pelo biotério central da Universidade Federal de Goiás (UFG). Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura e iluminação (ciclo claro / escuro de 12 h), com água e ração *ad libitum*, sendo o seu manuseio em todos os modelos experimentais executados de acordo com as normas propostas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em pesquisa da UFG (protocolo 104/08). O experimento foi realizado em

parceria com o Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais (LFPN/ICB/UFG). Na realização dos ensaios farmacológicos os animais foram divididos em grupos de 10 animais tratados da seguinte forma:

- Grupo 1 (Controle veículo sem ativo): 25µL de acetona foram gotejados na orelha esquerda e igual volume de uma solução de óleo de cróton em acetona (2,5% v/v) foram igualmente aplicados na orelha direita. Decorridos 30 minutos 25 µL do veículo sem o óleo foram gotejados em ambas as orelhas de todos os animais.
- Grupo 2 (Óleo fixo de sucupira): 25µL de acetona foram gotejados na orelha esquerda e igual volume de uma solução de óleo de cróton em acetona (2,5% v/v) foram igualmente aplicados na orelha direita. Decorridos 30 minutos 25 µL de solução de óleo fixo de sucupira em acetona (100,0 mg/mL) foram gotejados em ambas as orelhas de todos os animais.
- Grupo 3 (Microemulsão): 25µL de acetona foram gotejados na orelha esquerda e igual volume de uma solução de óleo de cróton em acetona (2,5% v/v) foram igualmente aplicados na orelha direita. Decorridos 30 minutos 25 µL da formulação (microemulsão) foram gotejados em ambas as orelhas de todos os animais.
- Grupo 4 (Dexametasona): 25µL de acetona foram gotejados na orelha esquerda e igual volume de uma solução de óleo de cróton em acetona (2,5% v/v) foram igualmente aplicados na orelha direita. Decorridos 30 minutos 25 µL de solução de acetato de dexametasona 20 mg/mL solubilizada em acetona foram gotejados em ambas as orelhas de todos os animais.

Após 4 horas da aplicação do agente flogístico todos os animais foram submetidos à eutanásia e discos de 6 mm de diâmetro foram retirados de ambas as orelhas de cada animal. A diferença de peso entre os discos foi tomado como medida do edema.

3.12. Análise estatística

As amostras foram submetidas à avaliação estatística não paramétrica ANOVA, teste de Tukey com $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado foi o GraphPad Prism Versão 4.00 da GraphPad Software, Inc.

Conclusões

5. Conclusões:

- Foram identificados os componentes de uma amostra do óleo de sucupira comprovando a presença de sesquiterpenos como α -humuleno e β -cariofileno;
- O óleo de sucupira mostrou-se dentro dos parâmetros de qualidade quando avaliados seus índices físico-químicos apresentando índice de acidez, peróxido, iodo e saponificação iguais a $1,23 \pm 0,05$, 0 , $110,43 \pm 2,75$ $114,10 \pm 0,64$, respectivamente. Pode-se avaliar também que o valor de EHL requerido pelo óleo foi entre 13 e 14.
- Foi obtida uma microemulsão composta por do óleo fixo de *P. emarginatus* (10%), água (75%) e mistura de Ultramona[®]R-540/propilenoglicol numa proporção de 2:1 (15%).
- A microemulsão foi caracterizada pelo tamanho do diâmetro das gotículas da fase interna ($56,8 \pm 6,07$ nm), turbidez (2859 ± 600 NTU), pH ($5,74 \pm 0,19$) e potencial zeta ($-11,3 \pm 1,54$ mV).
- Comprovou-se a atividade antiinflamatória do óleo de sucupira e sua melhor eficácia quando veiculadas sob a forma farmacêutica de microemulsões;

Referências

Bibliográficas

AHMAD, K.; HO, C. C.; FONG, W. K.; TOJI, D. Properties of palm oil-in-water emulsions stabilized by nonionic emulsifiers. **Colloid. Interface Sci.**, v. 181, p. 595–604, 1996.

ALLEN JR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 8. Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2007.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: Espécies Vegetais Úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.

ALMEIDA-LEITE, M. E.; GOTTLIEB, O. R. Further isoflavones from *Pterodon apparicioi*. **Phytochemistry**, v. 14, p. 2716, 1975.

ALVES, S.F. Estudo da composição química, de atividades biológicas e microencapsulação da fração volátil de *Pterodon emarginatus* Vog. (sucupira). 2011. Comunicação oral.

ARIAS, J. L.; GALLARDO, V.; GOMEZ-LOPERA, S. A.; PLAZA, R. C.; DELGADO, A. V. Synthesis and characterization of poly(ethyl-2-cyanoacrylate) nanoparticles with a magnetic core. **J. Control Release**, v. 77, p. 309–321, 2001.

ARRIAGA, A. M. C.; CASTRO, M. A. B.; SILVEIRA, E. R.; BRAZ-FILHO, R. Further Diterpenoids isolated from *Pterodon polygalaeflorus*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 11, n. 2, p. 187-190, 2000.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

BECHER, P. **Emulsions: Theory and Practice**; Rheinhold: New York, 1965.

BECHER, P. **Emulsions: Theory and Practice**. American Chemical Society: Washington, DC. 2001.

BELINELO, V. J.; PILÓ-VELOSO, D.; BORGES, E. E. L.; ALVES, D. L. T.; REIS, G. T. Synthesis and phytotoxic activity of new amide derivatives of 6 α , 7 β -Dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid. **Ecl. Quím.**, v. 26, p. 25-39, 2001.

BELINELO, V. J.; REIS, G. T.; STEFANI, G. M.; FERREIRA-ALVES, D.; PILÓ-VELOSO, D. Synthesis of 6 α , 7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Part IV: Mannich base derivatives and its activities on the electrically stimulated guinea-pig ileum preparation. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 13, n. 6, p. 830-837, 2002.

BELINELO, V. J.; VIEIRA FILHO, S. A.; ALMEIDA, M. S.; FERREIRA-ALVES, D. L.; PILÓ-VELOSO, D. Potencial fitotóxico de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Acanthospermum australe* (LOEFL.) O. KUNTZE e *Senna occidentalis* (L.) LINK. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 4, p. 108-115, 2009.

BERNARDI, D. S., **Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento da dermatite atópica e psoríase**. 102 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

BHARGAVA, H. N.; NARURKAR, A.; LIEB, L. M. Using microemulsions for drug delivery. **Pharm. Technol.**, Duluth, v. 3, p. 46-54, 1987.

BIAVATTI, M. W.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; ALBUQUERQUE, S.; MAGALHÃES, C. M. I.; PAGNOCCA, F. C. Chemistry and bioactivity of *Raulinoa echinata* Cowan, an endemic Brazilian Rutaceae species. **Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 121-124, 2001.

BOLZINGER, M. A.; BRIANÇON, S.; PELLETIER, J.; FESSI, H.; CHEVALIER, Y. Percutaneous release of caffeine from microemulsion, emulsion and gel dosage forms. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 68, p. 446–451, 2008.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R.; MONTE-MOR, R. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Rev. Bras. Farmacog.**, v. 16, p. 408-20, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999 (*) (Republicada dia 20/06/2000) - Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de óleos e gorduras vegetais. **ANVISA**, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº899 de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **ANVISA**, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. 1. ed. Brasília: **ANVISA**, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 270, 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **ANVISA**, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS** Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira. 5. ed. Brasília: **ANVISA**, 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº14, de 31 de março de 2010 - Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília, **ANVISA**, 2010b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Brasília: **ANVISA**, 2011.

BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. The isoflavones of *Pterodon pubescens*. **Phytochemistry**, v. 10, p. 2835-2836, 1971.

BROCK, J.; NOGUEIRA, M. R.; ZAKRZEWSKI, C.; CORAZZA, F. C.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V. Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 564-570, jul.-set., 2008.

BUSTAMANTE, K.G.L.; LIMA, A.D.F.; SOARES, M.L.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F., BARA, M.T.F.; PIMENTA, F.C.; PAULA, J.R. Avaliação da atividade

antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) – Fabaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.3, p.341-345, 2010.

CALIXTO, J. B. Medicamentos fitoterápicos. In: YUNES, R. A.; CALIXTO J. B. editors. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente. Chapecó: Argos; 2001. p. 297- 315.

CALIXTO, J. B. **Biodiversidade como fonte de Medicamentos**. Ciência e Cultura: São Paulo, v. 55, n. 3, jul/set, 2003.

CALIXTO, J. B.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor kappa B (NF-kappaB). **Planta Med.**, v. 69, p. 973–983, 2003.

CALIXTO, J. B.; CAMPOS, M. M.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. **Planta Med.**, v. 70, p. 93–103, 2004.

CAMERON, D. R.; WEBER, M. E.; IDZIAK, E. S.; NEUFELD, R. J.; COOPER, D. G. Determination of Interfacial Areas in Emulsions Using Turbidimetric and Droplet Size Data: Correction of the Formula for Emulsifying Activity Index. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, p. 655-659, 1991.

CAMPOS, A. M.; CRAVEIRO, A. A.; TEIXEIRA, T. C. Óleo essencial das sementes de *Pterodon polygalaeiflorus* Benth. In: **Resumos da Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, PN-004, 1990.

CARVALHO, J. C. T.; SERTIÉ, J. A. A.; BARBOSA, M. V. J.; PATRICIO, K. C. M.; CAPUTO, L. R. G.; SARTI, S. J.; FERREIRA, L. P.; BASTOS, J. K. Antiinflammatory activity of the crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog. **J. Ethnopharmacol.**, v. 64, p. 127-133, 1999.

CARVALHO, A. C. B., BINO, E. E., MACIEL, A., PERFEITO, J. P. S., Situação do Registro de Medicamentos Fitoterápicos no Brasil. **Rev. Bras. Farmacog.**, v. 18, n. 2, p. 314-319, abr/jun, 2008.

CARVALHO, A. C. B. **Plantas medicinais e fitoterápicos**: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil, Brasília, 2011.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais** – Metabólitos Secundários. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2004, 113p.

CHAVAN, M. J.; SHINDE, D. B.; NIRMAL, S. A. Major volatile constituents of *Annona squamosa* L. bark. **Nat. Prod. Res.**, v. 20, n. 8, p. 754-757, 2006.

CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S.; SHINDE, D. B. Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. **Phytomedicine**, v. 17, p. 149–151, 2010.

CHEN, H.; CHANG, X.; WENG, T.; ZHAO, X.; GAO, Z.; YANG, Y.; XU, H.; YANG, X. A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. **J. Control. Release**, v. 98, p. 427–436, 2004.

CHORILLI, M.; PRESTES, P. S.; RIGON, R. B.; LEONARDI, G. R.; CHIAVACCI, L. A.; SCARPA, M. V. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos empregando silicone fluido de co-polímero glicol e poliéter funcional siloxano. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 1036-1040, 2009.

COELHO, L. P.; REIS, P. A.; DE CASTRO, F. L.; GAYER, C. R. M.; DA SILVA L. C.; DA COSTA E SILVA, M. C.; CARVALHO S. K. C.; TODESCHINI, A. R.; COELHO, M. G. P. Antinociceptive properties of ethanolic extract and fractions of *Pterodon pubescens* Benth. Seeds. **J. Ethnopharmacol.**, v. 98, p. 109–116, 2005.

CRUZ, D. J. O.; UCKUN, M. F. Gel-microemulsions as vaginal spermicidal and intravaginal drug delivery vehicles. **Contraception**, Stoneham, v. 64, p. 113-123, 2001.

CUNHA-JÚNIOR, A. S.; RAMALDES, G. A.; FERREIRA, L. A. M.; OLIVEIRA, M. C. Vias de administração de formas farmacêuticas. In: GOMES, M.J.V.M., REIS, A.M.M. **Ciências farmacêuticas**: uma abordagem em farmácia hospitalar. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 43-65.

DALMORA, M.E.; DALMORA, S.L.; OLIVEIRA, A.G. Inclusion complex of piroxicam with α -cyclodextrin and incorporation in cationic microemulsion. In vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect. **Int. J. Pharm.**, v. 222, n. 1, p. 45-55, 2001.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

DANTAS, T. N. C.; SILVA, H. S. R. C.; MARCUCCI, M. C.; NETO, A. A. D.; MACIEL, M. A. M. Development of a new propolis microemulsion system for topical applications. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 20, n. 3, p. 368-375, Jun./Jul., 2010.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; PILÓ-VELOSO, D.; HOWARTH, O. W. Structure and plant growth regulatory activity of new diterpenes from *Pterodon polygalaeflorus*. **J. Nat. Prod.**, v. 59, p. 770-772, 1996.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; PILÓ-VELOSO, D.; HOWARTH, O. W. Synthesis and plant growth regulatory activity of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. **Aust. J. Chem.**, v. 51, n.1, p. 61-66, 1998.

DEUSCHLE, R. A. N.; CAMARGO, T.; ALVES, S. H.; MALLMANN, C. A.; HEIZMANN, B. M. Fracionamento do extrato diclorometânico de *Senecio desiderabilis* Vellozo e avaliação da atividade antimicrobiana. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 17, n. 2, p. 220-223, Abr./Jun. 2007

DEY, P.M.; HARBONE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academic Press, 529p. 1997.

DUARTE, I. D. G.; FERREIRA-ALVES, D. L.; NAKAMURA-CRAIG, M. Possible participation of endogenous opioid peptides on the mechanism involved in analgesia induced by vouacapan. **Life Sci.**, v. 50, n.12, p. 891-897, 1992.

DUTRA, R. C. **Avaliação fitoquímica e farmacológica das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel**. 2008. 244f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

DUTRA, R. C.; BRAGA, F. G.; COIMBRA, E. S.; SILVA, A. D.; BARBOSA, N. R. Atividades antimicrobiana e leishmanicida das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 19, p. 429-435, 2009a.

DUTRA, R. C.; PITTELLA, F.; FERREIRA, A. S.; LARCHER, P.; FARIAS, R. E.; BARBOSA, N. R. Efeito Cicatrizante das Sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel em Modelos de Úlceras Dérmicas Experimentais em Coelhos. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 28, n. 3, p. 375-82, 2009b.

EE, S. L.; DUAN, X.; LIEW, J.; Q.; NGUYEN, D. Droplet size and stability of nano-emulsions produced by the temperature phase inversion method. **Chem. Eng. J.**, v. 140, p. 626–631, 2008.

EUZEBIO, F. P. G.; SANTOS, F. J. L.; PILÓ-VELOSO, D.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E. C.; FERREIRA-ALVES, D. L.; FÁTIMA, A. Effect of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid and its lactone derivatives on the growth of human cancer cells. **Bioorg. Chem.**, v. 37, p. 96-100, 2009.

EVANGELISTA, G. L.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; SANTOS, C. F.; LEAL-CARDOSO, J.; LOPES, E. A. B.; SANTOS, M. V.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C. Essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* inhibits electromechanical coupling on rat isolated trachea. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, p. 515-522, 2007.

FABRICANT, D.S.; FARNSWORTH, N.R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environ. Health. Persp.**, v. 109 (Suppl. 1), p. 69-75, 2001.

FASCIO, M.; GILBERT, B.; MORS, W. B.; NISHIDA, T. Two new diterpenes from *Pterodon pubescens* Benth. **Anais Acad. Bras. Cienc.**, v. 42, p. 97-101, 1970.

FASCIO, M.; MORS, W. B.; GILBERT, B.; MAHAJAN, J.R.; MONTEIRO, M. B.; SANTO-FILHO, D.; VICHNEWSKI, W. Diterpenoid furans from *Pterodon* species. **Phytochemistry**, v. 15, n.1, p. 201-203, 1976.

FDA-US United States Food and Drug Administration; Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods, 1994.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSK, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 569, p. 228–236, 2007.

FERREIRA, A. O. **Guia Prático da farmácia magistral**. 3.ed. São Paulo: Pharmabooks, 2008. p. 277 – 340.

FERREIRA, L. A., LEITE, J. P. V. Desenvolvimento de formulações fitoterápicas. In: LEITE, J.P.V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**.1.ed. São Paulo: Atheneu, 2009.p. 205-251

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 3. ed., 2003, pag. 539-543.

FORGIARINI, A.; ESQUENA, J.; GONZÁLEZ, C.; SOLANS, C. Formation of Nano-emulsions by Low-Energy Emulsification Methods at Constant Temperature. **Langmuir**, v. 17, p. 2076-2083, 2001.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JR., A. A.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

FRANGE, R.C.C.; GARCIA, M.T.J. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.30, n. 3, p. 263-271, 2009.

FRIBERG, S. E.; VENABLE, R. L. In: **Encyclopedia of emulsions technology**; Becker, P. Marcel Dekker: New York, 1983.

FRIBERG, S. E.; BOTHOREL, P. **Microemulsions: Structure and dynamics**. CRC: Boca Raton, 1988. 256p.

FUNARI, C. S.; FERRO, V.O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Rev. Bras. Farmacog.**, v. 15, n. 2, p. 178-82, 2005.

GALLARDO, V.; MORALES, M. E.; RUIZ, M. A.; DELGADO, A. V. An experimental investigation of the stability of ethylcellulose latex: correlation between zeta potential and sedimentation. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 26, p. 170–175, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-8, 2005.

GONZAGA, W. A.; WEBER, A. D.; GIACOMELLI, S. R.; SIMIONATTO, E.; DALCOL, I. I.; DESSOY, E. C.; MOREL, A. F. Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Planta Med.**, v.69, n.8, p.773-775, 2003.

GUPTA, S.; MOULIK, S. P. Biocompatible microemulsions and their prospective uses in drug delivery. **J Pharm Sci.**, v. 97, n. 1, p. 22-45, 2008.

GURIB-FAKIM, A.A. **Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow**. Molecular Aspects of Medicine, New York, v.27, n.1, p.1-9, Feb. 2006.

HARRISON, J. Microemulsion technology for surfactants. **Speciality Chemicals Magazine**. 2004

HATHOUT, R. M.; WOODMAN, T. J.; MANSOUR, S. Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosterone. **Eur J Pharm Sci.**, v. 40, p. 188–196, 2010.

HERNANDEZ-TERRONES, M. G.; MORAIS, S. A. L.; FERREIRA, S.; SANTOS, D. Q.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Estudo fitoquímico e alelopático do extrato de caule de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*). **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 755-762, 2007.

HO, C. C.; AHMAD, K. Electrokinetic behavior of palm oil emulsions in dilute electrolyte solutions. **J. Colloid. Interface Sci.**, v. 216, p. 25–33, 1999.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydromicelle. **Nature**, v.152, p.102-105, 1943.

HSU, J. P.; NACU, A. Behavior of soybean oil-in-water emulsion stabilized by nonionic surfactant. **J. Colloid. Interface. Sci.**, v. 259, p. 374–81, 2003.

IACOBELLIS, N. S.; LO CANTORE, P.; CAPASSO, F.; SENATORE, F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **J. Agric. Food Chem.**, v.53, n.1, p.57-61, 2005.

JADHAV, K. R.; SHETYE, S. L.; KADAM, V.J. Design and Evaluation of Microemulsion Based Drug Delivery System. **Int. J. Adv. Pharm. Sci.**, v. 1, p. 156-166, 2010.

JAFARI, S. M.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation of Nanoparticles of d-Limonene by Spray Drying: Role of Emulsifiers and Emulsifying techniques. **Dry. Technol.**, v. 25, n. 6, p. 1079 – 1089, 2007.

JUTEAU, F.; MASOTTI, V.; BESSIERE, J.M.; DHERBOMEZ, M.; VIANO, J. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Fitoterapia**, v.73, n.6, p.532-535, 2002.

KARASULU, H. Y. Microemulsions as novel drug carriers: the formation, stability, applications and toxicity. **Expert Opin. Drug Delivery**, v. 5, n. 1, p. 119-35, 2008.

KATZ, N.; FILHO, D. S.; SARTI, S. J.; MENDES, N. M.; FILHO, P. A. R.; ARAÚJO, N. Atividade quimioprolifática na esquistossomose mansoni de sabonetes contendo óleo essencial de frutos de *Pterodon pubescens*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.35, n.2, 1993.

KING-DÍAZ, B.; SANTOS, F. J. L; RUBINGER, M. M. M.; PILÓ-VELOSO, D.; LOTINA-HENNSEN, B. A diterpene γ -lactone derivative from *Pterodon polygalaeflorus* Benth. as a photosystem II inhibitor and uncoupler of photosynthesis. **Z. Naturforsch**, v.61c, p. 227-233, 2006.

KOGAN, A.; GARTI, N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles, **Adv. Colloid. Interfac.**, v. 123–126, p. 369–385, 2006.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery, **Adv. Drug Deliv.**, Rev. 54 (Suppl. 1), p. S77–S98, 2002.

LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. 3.ed. Calouste Gulbenkian,. v. II, Lisboa, p. 509-1517, 2001.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Adv. Drug Deliver. Rev.**, v. 45, p. 89–121, 2000.

LEVINE, J. D.; REICHLING, D. B. **Peripheral mechanisms of inflammatory pain**. In: Wall PD, Melzack R, editor. Textbook of pain. 4th. edition London: Churchill Livingstone, 1999: pp. 59±84

LIEBERMAN, H. A.; RIEGER, M. M.; BANKER, G. S. **Pharmaceutical dosage forms: disperse systems**. New York: Marcel Dekker; 1988. v.1.

LIEBERMAN, H. A.; RIEGER, M. M.; BANKER, G. S. **Pharmaceutical dosage forms: disperse systems**, New York: Marcel Dekker; 1989. v.2.

LIU, W.; SUN D.; LI, C.; LIU, Q.; XU, J. Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. **J. Colloid. Interf. Sci.**, New York, v. 303, p. 557–563, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**, 1998, 227p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 1. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. p.310-311.

MAHJAN, J. R.; MONTEIRO, M. B. New diterpenoids from *Pterodon emarginatus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 42, p. 103–107, 1970.

MAHAJAN, J. R.; MONTEIRO, M. B. New diterpenoids from *Pterodon emarginatus* Vog. **J. Chem. Soc. Perkin I**, v.1, p.520-525.1973.

MALTHA, C. R. A.; STEFANI, G. M; PILÓ-VELOSO, D. The synthesis of 6 α , 7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivates. Part II: carbamate and amine derivates. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 6, n. 4, p. 357-360, 1995.

MARQUES, D. D.; MACHADO, M. I. L.; CARVALHO, M. G.; MELEIRA, L. A. C.; BRAZ-FILHO, R. Isoflavonoids and triterpenoids isolated from *Pterodon polygalaeflorus*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 9, n. 3, p. 295-301, 1998.

MARTINI, E. Nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos: Formulação e caracterização físico-química. 106p. 2005. **Dissertação** (Mestrado) UFRGS, Porto Alegre, 2005

MARTINS, M. R. F. M.; VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 38, n. 1, jan./mar., 2002.

MARUNO, M. **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivadas de óleo de framboesa para queimaduras da pele**. 2009. 158 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

MASCARO, U. C. P.; TEIXEIRA, D. F.; GILBERT, B. Avaliação da sustentabilidade da coleta de frutos de sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vog.) após queda espontânea. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v 7, p. 131-138. 2004.

MASCIO, P.D; MEDEIROS, M. H. G.; SIES, H.; BERTOLOTTI, S.; BRASLAVSKY, S. E.; PILÓ-VELOSO, D.; SALES, B. H. L. N.; MAGALHÃES, E.; BRAZ-FILHO, R.;

BECHARA, E. J. H. Quenching of singlet molecular oxygen by natural furan diterpenes. **J. Photochem. Photobiol. B: Biology**, v. 38, p. 169-173, 1997.

MASMOUDI, H.; LE DRÉAU, Y.; PICCERELLE, P.; KISTER, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **Int. J. Pharm.**, v. 289, n. 1/2, p. 117-131, 2005.

MASON, T. G.; WILKING, J. N.; MELESON, K.; CHANG, C. B.; GRAVES, S. M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **J. Phys.: Condens. Matter**, v. 18, p. R635–R666, 2006.

MITTAL, L. K. **Handbook of microemulsion science and technology**. New York: Promod Kumar, 1999. p.1-13.

MORAES, W. F. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato etanólico, frações e substância isolada das cascas de *Pterodon emarginatus* vog. (sucupira)**. 2007, 102p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

MORAES, W. F.; MATOS, L. G.; NASCIMENTO, M. V. M.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F.; CUNHA, L. C.; VALADARES, M. C.; COSTA, E. A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Pterodon emarginatus* stem bark alcohol extract. **Pharm. Biol.**, v. 47, p. 146-150, 2009.

MORS, W. B.; PELLEGRINO, M. F. Ação profilática do óleo dos frutos de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth.) contra a infecção pelo *Schistosoma mansoni*. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 38, p. 325-330, 1966.

MORS, W. B.; FASCIO, M.; MONTEIRO, H. J.; GILBERT, B.; PELLEGRINO, J. Chemoprophylactic agent in schistosomiasis. **Science**, v. 157, p. 950-1, 1967.

NAKAJIMA, H.; TOMOMASA, S.; OKABE, M. **Preparation of Nano-emulsions; Proceedings of First Emulsion Conference**. EDS: Paris, 1993; V. 1, pp 1-11/162.

NICOLETTI, M. A.; CARVALHO, K. C.; OLIVEIRA, JR. M. A.; BERTASSO, C. C.; CAPOROSSI, P. Y.; TAVARES, A. P. L. Uso popular de medicamentos contendo drogas de origem vegetal e/ou plantas medicinais: principais interações decorrentes. **Saúde**, v. 4, n. 1, 2010.

NUNAN, E. A. **Estudo da atividade antiinflamatória de furano-diterpenos isolados do *Pterodon polygalaeflorus* Benth e de alguns de seus derivados**. 1985. 128f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1985.

NUNAN, E.A.; CARVALHO, M.G.; PILO-VELOSO, D.; TURCHETTI-MAIA, R.M. M.; FERREIRA, M.P. 2001. **Dicionário Brasileiro de Plantas Mediciniais**. 2. ed. Editora Abril, São Paulo. 2001

OKUR, N. U.; APAYDIN, S.; N. YAVASOGLUC, U. K.; YAVASOGLU, A.; KARASULU, H. Y. Evaluation of skin permeation and antiinflammatory and analgesic effects of new naproxen microemulsion formulations. **Int. J. Pharm.**, v. 416, p. 136–144, 2011.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Quím. Nova**, v. 27, n. 1, p. 131-8, 2004.

OLIVEIRA, B. R.; CAMARGO, M. F. P.; MARUNO, M.; ROCHA FILHO, P. A. Nanoemulsões e emulsões com cristais líquidos formuladas com óleo de andiroba de diferentes procedências. In: 21 Congresso Brasileiro de Cosmetologia, 2007, São Paulo. Cosmetologia: Integrando ciência e Arte a Novos Mercados. São Paulo- SP, 2007.

OLIVEIRA, P. C. **Obtenção e caracterização do extrato seco padronizado dos frutos da sucupira *Pterodon emarginatus* vog.** 2010, 146p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

OMENA, M. C.; BENTO, E. S.; DE PAULA, J. E.; SANT'ANA, A. E. G. Larvicidal diterpenes from *Pterodon polygalaeiflorus*. **Vector-borne and Zoonotic Diseases**, v. 6, n. 2, p. 216-222, 2006.

Organização Mundial da Saúde-OMS/Fundo das Nações Unidas para a Infância-UNICEF. Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde. Alma Ata-URSS: OMS; set. 1978.

OUBRE, A. Y.; CARLSON, T. J.; KING, S. R.; REAVEN, G. M. From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. **Diabetologia**, v. 40, n. 5, p. 614-7, 1997.

PEIXOTO, E. R. M.; SANTANA, D. M. N.; ABRANTES, S. Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva: Proposta para atualização da legislação brasileira. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 363-470, out./dez. 1998.

PEREIRA, G. G. **Obtenção de nanoemulsões O/A à base de óleo de semente de uva e oliva aditivadas de metoxicinamato de octila e estudo do potencial antioxidante e fotoprotetor das emulsões.** 2008, 118 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

PIMENTA, A. T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; ARRIAGA, A. M. C.; MENEZES, G. H. A.; BEZERRA, S. B. Phytochemical study and evaluation of larvicidal activity of *Pterodon polygalaeiflorus* Benth (Leguminosae) against *Aedes aegypti*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.16, p. 501-505, 2006.

PINHEIRO, B.G.; SILVA, A.S.B.; SOUZA, G.E.P.; FIGUEIREDO, J.G.; CUNHA, F.Q.; LAHLOU, S.; DA SILVA, J.K.R.; MAIA, J.G.S.; SOUSA, P.J.C.. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. **J Ethnopharmacol.** v.138, p.479– 486, 2011.

POLO, M.; CARVALHO, J. C. T.; MESQUITA, J. M. O.; SARTI, S. J.; SANTOS FILHO, D.; SERTIÊ, J. A. A. Caracterização fitoquímica do extrato bruto hexânico e do óleo essencial dos frutos da espécie vegetal *Pterodon emarginatus* Vog. **Rev. Esc. Odontol.** Alfenas, n.6, p. 45-50, 2004.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 5.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian. v.1, 1995

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of Flavor Oil Microemulsions, Nanoemulsions and Emulsions: Influence of Composition and Preparation Method. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 5026–5035, 2011.

RHEE, Y. S.; CHOI, J. G.; PARK, E. S.; CHI, S. C.,. Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions. **Int. J. Pharm.**, v. 228, p. 161–170, 2001.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROGERIO, A. P.; DORA, C. L.; ANDRADE, E. L. Anti-inflammatory effect of quercetin-loaded microemulsion in the airways allergic inflammatory model in mice. **Pharmacol. Res.**, v. 61, p. 288–297, 2010.

ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N. de C.; NETO, A. A.D.; MACIEL, M. A. M. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra, Seropédica, RJ: EDUR**, v. 26, n. 1-2, p. 45-66, jan-dez., 2007

RUBINGER, M. M. M.; PILÓ-VELOSO, D.; STEFANI, G. M. Synthesis of 6 α , 7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Part I: hydroxamic acid and amide derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 2, n. 3, p. 124-128, 1991.

RUBINGER, M. M. M.; CASTELO-BRANCO, P. A.; GUILARDI, S.; SOUZA, E. M. R.; GAMBARDELLA, M. T. P.; BORGES, E. E. L; FERREIRA-ALVES, D. L.; PILÓ-VELOSO, D. Preparation, X-ray structural studies and plant growth regulatory activity of methyl 6 α , 7 β -thiocarbonyldioxyvouacapan-17 β -oate. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, n. 2, p. 219-223, 2004.

SABINO, K. C. C.; GAYER, C. R. M.; VAZ, L. C. A.; SANTOS, L. R. L.; FELZENSZWALB, I.; COELHO, M. G. P. In vitro and in vivo toxicological study of the *Pterodon pubescens* seed oil. **Toxicol. Lett.**, v. 108, p.27-35, 1999.

SAJJADI, S.; ZERFA, M.; BROOKS, B. W. Phase inversion in p-xylene/water emulsions with the non-ionic surfactant pair sorbitan monolaurate/polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Span 20/Tween 20). **Colloids Surf., A**, v. 218, p. 241-254, 2003.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: Ecologia e Flora**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, 2 v., 1279p.

SANTOS FILHO, D.; VICHNEWSKI, W.; BAKER, P. M.; GILBERT, B. Prophylaxis of Schistosomiasis: Diterpenes from *Pterodon pubescens* Benth. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 44, p. 45-49, 1972.

SANTOS, A. P. **Estudo farmacognóstico avaliação da atividade antioxidante e da toxicidade aguda dos extratos etanólicos brutos das cascas do caule e folhas de *Pterodon emarginatus* (Fabaceae)**. 2008, 146 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SANTOS, F. J. L.; PILÓ-VELOSO, D.; FERREIRA-ALVES, D. L. NMR Study of the Preparation of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid mannich base derivatives. **Ann. Magn. Reson.**, v. 6, n. 1/2, p. 34-39, 2007.

SCHULMAN, J.H.; STOECKENIUS, W.; PRINCE, L.M. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. **J. Phys. Chem.**, v. 63, n. 10, p.1677-1680, 1959.

SERTIE, J. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea*. Part V. Oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, v. 12, p. 338-344, 2005

SHAKEEL, F.; RAMADAN, W. Transdermal delivery of anticancer drug caffeine from water-in-oil nanoemulsions. **Colloid. Surface B**, v. 75, p. 356-362, 2010.

SILVA, I. D. TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M. R.; CUNHA, M.G. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 109-15, 2005.

SILVA, M. C. C.; GAYER, C. R. M.; LOPES, C. S.; CALIXTO, N. O.; REIS, P. A.; PASSAES, C. P. B.; PAES, M. C.; DALMAU, S. R.; SABINO, K. C. C.; TODESCHINI, A. R.; COELHO, M. G. P. Acute and topic anti-edematogenic fractions isolated from the seeds of *Pterodon pubescens*. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 55, p. 135-141, 2004.

SINTOV, A. C.; SHAPIRO, L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. **J. Control. Release**, v. 95, p. 173-183, 2004.

SOLANS, C.; ESQUENA, J.; FORGIARINI, A.; USÓN, A.; MORALES, D.; IZQUIERDO, P.; AZEMAR, N., In: MITTAL, K.L.; SHAH, D.O. (Eds), Adsorption and Aggregation of surfactants in solution, New York: Marcel Dekker, v.19, p. 525, 2003.

SOUZA, F. S.; MACIEL, C. C. S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **Rev. Eletrônica de Ciências**, v. 3, n. 2, 2010.

SPINDOLA, H .M.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; RODRIGUES, R. A. F.; DENNY, C.; SOUSA, I. M. O.; TAMASHIRO, J. Y.; FOGGIO, M. A. Furanoditerpenes from *Pterodon pubescens* Benth with Selective *in vitro* Anticancer Activity for Prostate Cell Line. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, p. S1-S11, 2009.

SPINDOLA, H. L.; SERVAT, L.; DENNY, C.; RODRIGUES, R. A. F.; EBERLIN, M. N.; CABRAL, E.; SOUSA, I. M. O.; TAMASHIRO, J. Y.; CARVALHO, J. E.; FOGGIO, M. A. Antinociceptive effect of geranylgeraniol and 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oate methyl ester isolated from *Pterodon pubescens* Benth. **BMC Pharmacology**, v. 10, p. 1-10, 2010.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS C. Formation and stability of nano-emulsions. **Adv. Colloid Interface Sci.**, Amsterdam, v.108-109, p. 303-318, 2004.

TAMBE, Y., TSUJIUCHI, H.; HONDA, G.; IKESHIRO, Y.; TANAKA, S. Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene, beta-caryophyllene. **Planta Medica**, v.62, p. 469-470, 1996.

TAMINATO, R. L.; SPÍNDOLA, H. M.; CARVALHO, J. E.; MURATA, R. M.; FOGLIO, M. A. . Atividade antinociceptiva de frações obtidas da *Pterodon pubescens* Beth. **Anais eletrônicos da XV Semana Científica Farmacêutica**, Goiânia: UFG, 2007.

TAN, T. T. Y.; LIU, S.; ZHANG, Y.; HAN, M. Y.; SELVAN, S. T. Microemulsion Preparative Methods (Overview). In: Andrews DL. Scholes GD and Wiederrecht GP (eds), **Comp. Nanosci. Tech.**, v. 5, p. 399-441, 2011.

TEIXEIRA, A. L.; BELINELO, V. J.; STEFANI, G. M.; REIS, G. T.; FERREIRA-ALVES, D. L. ; PILÓ-VELOSO, D. Síntese de amidas derivadas do ácido 6 α , 7 β -Dihidroxivouacapan-17 β -óico isolado dos frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 3, n. 2, p. 37-44, 2001.

TORRENEGRA, R.; BAUEREIB, P.; ACHENBACH, H. Homoormosanine-type alkaloids from *Bowdichia virgiloides*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 2219-2221, 1989.

TSAI, Y. H.; LEE, K. F.; HUANG, Y. B.; HUANG, C. T.; WU, P. C. In vitro permeation and in vivo whitening effect of topical hesperetin microemulsion delivery system. **Int. J. Pharm.**, v. 388, p. 257–262, 2010.

VIEIRA, C. R.; MARQUES, M. F.; SOARES, P. R.; MATUDA, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; SILVA, C. C.; GUILLO, L. A. Antiproliferative activity of *Pterodon pubescens* Benth. seed oil and its active principle on human melanoma cells. **Phytomedicine**, v. 15, p. 528-532, 2008.

WINSOR, P. A. Hydrotropy, solubilisation and related emulsification processes. **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, v. 44, p. 376–398, 1948.

ZANIN, S. M. W.; CHIMELLI, M. C.; OLIVEIRA, A. B. Determinação do Equilíbrio Hidrófilo- Lipófilo de óleos de origem vegetal. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, p. 13-18, 2002.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 595-629.

ZHAO, L.; FANG, L.; XU, Y.; ZHAO, Y.; HE, Z.. Effect of O-acylmenthol on transdermal delivery of drugs with different lipophilicity. **Int. J. Pharm.**, v. 352, p. 92-103, 2008.