UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Lipossomas contendo ácido caurenico ou extrato de *Copaifera langsdorffii*: desenvolvimento, caracterização e atividades antitumoral e tripanocida

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientada: Ana Rita de Mello Costa

Orientador: Prof. Dr. Luís Alexandre Pedro de Freitas

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Elena Ibáñez

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 18/04/2016. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2016

RESUMO

COSTA, A. R. M. **Lipossomas contendo ácido caurenico ou extrato de *Copaifera langsdorffii*: desenvolvimento, caracterização e atividades antitumoral e tripanocida.** 2016. 182f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

A *Copaifera langsdorffii* é uma das plantas de incentivo governamental para pesquisas científicas e possui diversas atividades biológicas. Em especial, as atividades antitumoral e tripanocida foram abordadas neste estudo tendo o ácido caurenico (AC) como marcador. Devido à escassa literatura sobre a extração do AC e à sua baixa solubilidade, sua extração foi estudada com solvente orgânico e por fluido supercrítico. A extração por fluido supercrítico é vantajosa já que não fornece extratos com resíduos de solventes orgânicos e é ecologicamente correta. Visto as atividades antitumoral e tripanocida do AC e estas atividades serem objeto de estudo nacional e mundial, o AC foi inserido em lipossomas convencionais e furtivos com a finalidade de torná-lo mais biodisponível, permitir seu alcance ao sítio-alvo e diminuir seus efeitos adversos. Assim, os objetivos deste trabalho foram segmentados em três vertentes: a) realizar o estudo e otimização da extração do ácido caurenico a partir das folhas de *C. langsdorffii*, b) obter lipossomas convencionais, secá-los pelos métodos de secagem liofilização (FD), *spray drying* (SD) e *spray freeze drying* (SFD), comparar suas características físico-químicas e avaliar suas atividade antitumoral e tripanocida, c) obter lipossomas furtivos e avaliar sua seletividade tumoral. De maneira geral, os resultados das extrações sólido-líquido e por fluido supercrítico apresentaram boa seletividade e eficiência visto que foram capazes de fornecer extratos com aproximadamente 20% de AC. A extração por fluido supercrítico foi mais eficaz extraíndo 26,2% de AC. Já os lipossomas convencionais secos por SD e SFD apresentaram-se mais semelhantes entre si quanto à propriedade de fluxo e morfologia, à interação do AC com os componentes da bicamada lipídica e à dissolução/ liberação que quando secos por FD. Os três métodos de secagem foram capazes de prolongar em seis meses a estabilidade do AC nos lipossomas quando comparado com a dispersão aquosa. Os lipossomas convencionais secos apresentaram citotoxicidade maior frente a células tumorais e menor frente a células normais quando carregados com o AC e comparados com os lipossomas convencionais vazios (sem AC). Foi possível sintetizar com sucesso o lipídeo ligado ao polietilenoglicol e ao ácido fólico com o intuito de preparar os lipossomas furtivos. Entretanto, estes lipossomas não apresentaram ação antitumoral seletiva quando comparados às células normais.

Palavras-chave: secagem, extração por fluido supercrítico, lipossomas furtivo

Introdução

1 Introdução

Os lipossomas apresentam grande versatilidade de formulações além de se enquadrarem como sistemas de liberação modificada na área farmacêutica. Por isso, têm sido sistemas promissores para liberação e veiculação de fármacos e moléculas de características e interesses diversos.

Entretanto, a instabilidade química e física em dispersões aquosas, baixa encapsulação ou vazamento do fármaco do lipossoma e agregação entre eles foram uma motivação para se avaliarem técnicas de secagem disponibilizadas em nosso laboratório (liofilização, *spray dryer* ou *spray freeze drying*). Além disso, os poucos trabalhos encontrados na literatura comparando-se métodos de secagem para lipossomas foram um impulso para que este trabalho fosse proposto.

Apesar do incentivo internacional e mercadológico, da biodiversidade brasileira e da ampla utilização das plantas medicinais no Brasil, o país ainda deixa a desejar quando se trata do desenvolvimento e pesquisas tecnológicas de plantas medicinais nativas. A *Copaifera langsdorffii* é uma das plantas de incentivo governamental para pesquisas científicas e possui diversas atividades biológicas. Por isso, o uso do extrato das folhas de *C. langsdorffii* e do ácido caurenóico (AC) na encapsulação em lipossomas foi motivado. Também por apresentarem atividade antitumoral *in vitro* em estudos científicos, assim como atividade tripanocida. Tampouco há vastos estudos sobre a extração do ácido caurenóico a partir das folhas de *C. langsdorffii* e, por isso, o estudo da extração por sólido-líquido e o uso da extração por fluido supercrítico foram propostas e realizadas.

As atividades antitumoral e tripanocida do AC incentivaram a exploração de sua encapsulação nos lipossomas. Visto que o AC apresentou atividade antitumoral *in vitro*, mas sua ação citotóxica não foi seletiva para células cancerosas, a proposta de desenvolvimento de formulações de lipossomas mais seletivos permitiu uma inovação nas áreas de tecnologia farmacêutica e de fitoterápicos.

No Brasil, foram estimados anualmente 489.270 casos novos de câncer para os anos de 2010 e 2011 sendo o de pele do tipo não melanoma (114 mil casos novos) o mais incidente na população brasileira e a leucemia o tipo mais incidente em crianças correspondendo 25 a 35%. Além disso, atualmente, a indústria

farmacêutica mundial investe muitos bilhões em pesquisa e desenvolvimento de novas moléculas e/ou novas tecnologias para o tratamento do câncer.

O AC também apresentou boa atividade tripanocida que, possivelmente, poderia ser aumentada quando incorporado em lipossomas. É interessante investigar a atividade tripanocida, pois a doença a qual está relacionada, a doença de Chagas, é negligenciada ainda que a estimativa de pessoas que sejam portadoras da doença alcance 1,9 milhões no Brasil. Além disso, há atualmente apenas um medicamento comercializado e eficaz para a doença de Chagas, o benzonidazol (Rochagan®, Roche). A forma farmacêutica atual apresenta-se em comprimido de liberação imediata que deve ser administrado várias vezes ao dia, o que dificulta a adesão do paciente ao tratamento, além do que não atinge as formas amastigostas intracelulares (WHO, 2015). Assim, a pesquisa de substâncias em potencial para a quimioprevenção da doença de Chagas em ambas as fases, aguda e crônica, torna-se necessária.

Neste contexto, propusemos obter lipossomas convencionais contendo o ácido caurenóico, assim como obter também lipossomas furtivos contendo o extrato da planta *C. langsdorfii*. Aqueles foram secos pelos três diferentes métodos de secagem, liofilização, *spray drying* e *spray freeze drying* e estes, por liofilização. A avaliação da atividade antitumoral para os lipossomas furtivos foi essencial para verificar sua seletividade às células tumorais sendo realizada também para os lipossomas convencionais. A atividade tripanocida também foi proposta sendo os lipossomas convencionais foram avaliados.

Conclusão

6 Conclusão

Pode-se concluir que os métodos de extração tanto por sólido-líquido utilizando solvente orgânico (acetato de etila) quanto por fluido supercrítico foram bastante seletivos e eficazes visto que foram capazes de fornecer extratos com aproximadamente 20% de ácido caurenico. A extração por fluido supercrítico foi mais eficaz extraindo 28,6% mais de ácido caurenico. Além disso, esta técnica é interessante, pois não utiliza solvente orgânico sendo considerada ecologicamente “correta”.

Já os lipossomas convencionais secos por *spray drying* e *spray freeze drying* apresentaram ser mais semelhantes entre si quanto à propriedade de fluxo e morfologia, à interação do ácido caurenico com os componentes da bicamada lipídica e à dissolução/ liberação que quando secos por liofilização. Portanto, concluiu-se que o método de secagem por liofilização foi capaz de fornecer lipossomas secos de liberação mais lenta e com menor fluidez.

De maneira geral, os lipossomas convencionais secos apresentaram citotoxicidade maior frente a células tumorais e menor frente a células normais quando carregados com o ácido caurenico e comparados com os lipossomas convencionais vazios (sem o ácido caurenico).

Para a atividade tripanocida, os lipossomas convencionais secos pelos três métodos apresentaram maior diminuição da parasitemia que o ácido caurenico e que o benzonidazol (controle positivo) na mesma concentração; portanto, pode ser considerado um interessante sistema de liberação do ácido caurenico para facilitar e aprimorar sua ação tripanocida.

Foi possível sintetizar com sucesso o lipídeo ligado ao PEG₆₀₀ e ao ácido fólico sendo bem sucedida a proposta de preparar os lipossomas furtivos. As ferramentas de obtenção destes lipossomas furtivos por síntese também foi adequada, visto que são as mais utilizadas na literatura e as que permitem maior liberdade de ligação de moléculas específicas aos lipossomas. Entretanto, estes lipossomas não apresentaram ação antitumoral seletiva quando comparados às células normais.

7 Referências

- ALI, S.; MINCHEY, S.; JANOFF, A.; MAYHEW, E. A differential scanning calorimetry study of phosphocholines mixed with paclitaxel and its bromoacylated taxanes. **Biophysical Journal**, v. 78, n. 1, p. 246-256, 2000.
- AMERI, M.; MAA, Y. F. Spray drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n. 6, p. 763-768, 2008.
- ANAELLE, T.; SERRANO LEON, E.; LAURENT, V.; ELENA, I.; MENDIOLA, J. A.; STÉPHANE, C.; NELLY, K.; STÉPHANE, L. B.; LUC, M.; VALÉRIE, S.-P. Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model. **Talanta**, v. 104, n. 0, p. 44-52, 2013.
- ARORA, G.; MALIK, K.; SINGH, I.; ARORA, S.; RANA, V. Formulation and evaluation of controlled release matrix mucoadhesive tablets of domperidone using *Salvia plebeian* gum. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 3, p. 163-9, 2011.
- BALEKAR, N.; NAKPHENG, T.; KATKAM, N. G.; SRICHANA, T. Wound healing activity of ent-kaura-9(11),16-dien-19-oic acid isolated from *Wedelia trilobata* (L.) leaves. **Phytomedicine**, v. 19, n. 13, p. 1178-1184, 2012.
- BANGHAM, A. D. Lipid bilayers and biomembranes. **Annual Review of Biochemistry**, v. 41, p. 753-776, 1972.
- BARZEGAR-JALALI, M.; ADIBKIA, K.; VALIZADEH, H.; SHADBAD, M. R. S.; NOKHODCHI, A.; OMIDI, Y.; MOHAMMADI, G.; NEZHADI, S. H.; HASAN, M. Kinetic analysis of drug release from nanoparticles. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 167-177, 2008.
- BATISTA, R.; BRAGA, F. C.; OLIVEIRA, A. B. Quantitative determination by HPLC of ent-kaurenoic and grandifl orenic acids in aerial parts of *Wedelia paludosa* D.C. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 2, p. 119-125, 2005.
- BATISTA, R.; GARCÍA, P. A.; CASTRO, M. A.; MIGUEL DEL CORRAL, J. M.; SPEZIALI, N. L.; DE P. VAROTTI, F.; DE PAULA, R. C.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, L. F.; FRANCESCH, A.; SAN FELICIANO, A.; DE OLIVEIRA, A. B. Synthesis, cytotoxicity and antiplasmodial activity of novel ent-kaurane derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 0, p. 168-176, 2013.
- BATISTA, R.; HUMBERTO, J. L.; CHIARI, E.; DE OLIVEIRA, A. B. Synthesis and trypanocidal activity of ent-kaurane glycosides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 381-391, 2007.

BEŇOVÁ, B.; ADAM, M.; PAVLÍKOVÁ, P.; FISCHER, J. Supercritical fluid extraction of piceid, resveratrol and emodin from Japanese knotweed. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 3, p. 325-330, 2010.

BOX, G.; HUNTER, S.; HUNTER, W. G. **Statistics for Experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building**. 2nd. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

BOZZUTO, G.; MOLINARI, A. Liposomes as nanomedical devices. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 975-999, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia para validação de métodos bioanalíticos. RE 899, 29 de maio de 2003, Brasília, 2003.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 4, p. 389-96, 1962.

C'EH, B.; WINTERHALTER, M.; FREDERIK, P. M.; VALLNER, J. J.; LASIC, D. D. Stealth® liposomes: from theory to product. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 24, n. 2-3, p. 165-177, 1997.

CARRILHO, E.; TAVARES, M. C. H.; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica. I. Cromatografia com fluido supercrítico: conceitos termodinâmicos. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 509-515, 2001.

CASCON, V. Copaíba - *Copaifera* spp. In: CARVALHO, J. C. T. (Ed.). **Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, v.1, 2004. cap. 14, p.221-256,.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 773-778, 2000.

CAVALCANTI, B. C.; BEZERRA, D. P.; MAGALHÃES, H. I. F.; MORAES, M. O.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; CÂMARA, C. A. G.; RAO, V. S.; PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L. V. Kauren-19-oic acid induces DNA damage followed by apoptosis in human leukemia cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 29, n. 7, p. 560-568, 2009.

CAVALCANTI, B. C.; FERREIRA, J. R. O.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; FURTADO, G. V.; BURBANO, R. R.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; CAMARA, C. A. G.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J. A. P.; RAO, V. S. N.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. Structure-mutagenicity relationship of kaurenoic acid from *Xylopia sericeae* (Annonaceae). **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 701, n. 2, p. 153-163, 2010.

CHARNVANICH, D.; VARDHANABHUTI, N.; KULVANICH, P. Effect of cholesterol on the properties of spray-dried lysozyme-loaded liposomal powders. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 2, p. 832-842, 2010.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKAR, A. Preparation and characterization of etoricoxib solid dispersions using lipid carriers by spray drying technique. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E405-12, 2005.

CHEN, C.; HAN, D.; CAI, C.; TANG, X. An overview of liposome lyophilization and its future potential. **Journal of Controlled Release**, v. 142, n. 3, p. 299-311, 2010.

CHEN, K. H.; DI SABATINO, M.; ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; KETT, V. L. The effect of polymer coatings on physicochemical properties of spray-dried liposomes for nasal delivery of BSA. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3-4, p. 312-322, 2013.

CHEOW, W. S.; NG, M. L. L.; KHO, K.; HADINOTO, K. Spray-freeze-drying production of thermally sensitive polymeric nanoparticle aggregates for inhaled drug delivery: effect of freeze-drying adjuvants. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, p. 289-300, 2011.

CHEUNG, A. P.; OLSON, L. L. H-1-Nmr assay of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in AI721. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 8, n. 8-12, p. 729-734, 1990.

CHOI, R. J.; SHIN, E. M.; JUNG, H. A.; CHOI, J. S.; KIM, Y. S. Inhibitory effects of kaurenoic acid from *Aralia continentalis* on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages. **Phytomedicine**, v. 18, n. 8-9, p. 677-682, 2011.

CHOUGULE, M.; PADHI, B.; MISRA, A. Development of spray dried liposomal dry powder inhaler of Dapsone. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 1, p. 47-53, 2008.

COIMBRA, M.; ISACCHI, B.; VAN BLOOIS, L.; TORANO, J. S.; KET, A.; WU, X. J.; BROERE, F.; METSELAAR, J. M.; RIJCKEN, C. J. F.; STORM, G.; BILIA, R.; SCHIFFELERS, R. M. Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 416, n. 2, p. 433-442, 2011.

COLONNA, C.; CONTI, B.; GENTA, I.; ALPAR, O. H. Non-viral dried powders for respiratory gene delivery prepared by cationic and chitosan loaded liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 1, p. 108-118, 2008.

CONTINI, M.; BACCELLONI, S.; MASSANTINI, R.; ANELLI, G. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 659-669, 2008.

COSTA-LOTUFO, L. V.; CUNHA, G. M. A.; FARIAS, P. A. M.; VIANA, G. S. B.; CUNHA, K. M. A.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V.; RAO, V. S. N. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a

diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. **Toxicon**, v. 40, n. 8, p. 1231-1234, 2002.

COSTA-MACHADO, A. R. M. **Obtenção de produtos a partir das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf.: otimização da extração e secagem em spray dryer utilizando planejamentos experimentais**. 2011. 115 Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (Mestrado). Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

COSTA, A. R. D.; MARQUIAFANEL, F. S.; VAZ, M. M. D. L. L.; ROCHA, B. A.; BUENO, P. C. P.; AMARAL, P. L. M.; BARUD, H. D.; AP BERRETA-SILVA, A. Quercetin-PVP K25 solid dispersions: Preparation, thermal characterization and antioxidant activity. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, n. 1, p. 273-278, 2011.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 13, n. 2, p. 123-33, 2001.

COUTO, R. O.; ARAUJO, R. R.; TACON, L. A.; CONCEICAO, E. C.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R.; FREITAS, L. A. P. Development of a phytopharmaceutical intermediate product via spray drying. **Drying Technology**, v. 29, n. 6, p. 709-718, 2011.

DAMAN, Z.; GILANI, K.; ROUHOLAMINI NAJAFABADI, A.; EFTEKHARI, H. R.; BARGHI, M. A. Formulation of inhalable lipid-based salbutamol sulfate microparticles by spray drying technique. **Daru**, v. 22, p. 50, 2014.

DASH, S.; MURTHY, P. N.; NATH, L.; CHOWDHURY, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 3, p. 217-223, 2010.

DE SOUSA, J. P.; LEITE, M. F.; JORGE, R. F.; RESENDE, D. O.; DA SILVA FILHO, A. A.; FURTADO, N. A.; SOARES, A. E.; SPADARO, A. C.; DE MAGALHAES, P. M.; BASTOS, J. K. Seasonality role on the phenolics from cultivated *Baccharis dracunculifolia*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 464289, 2011.

DEMETZOS, C. Differential Scanning Calorimetry (DSC): A tool to study the thermal behavior of lipid bilayers and liposomal stability. **Journal of Liposome Research**, v. 18, n. 3, p. 159-173, 2008.

Dictionary of Natural Products, 2014. Disponível em: dnpc.chemnetbase.com/. Acesso em: junho de 2014.

DOMINGUES, M. M.; BIANCONI, M. L.; BARBOSA, L. R. S.; SANTIAGO, P. S.; TABAK, M.; CASTANHO, M. A. R. B.; ITRI, R.; SANTOS, N. C. rBPI(21) interacts with negative membranes endothermically promoting the formation of rigid multilamellar structures. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1828, n. 11, p. 2419-2427, 2013.

DOWD, L. E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 7, p. 1184-1187, 1959.

DÜZGÜNES, N.; NIR, S. Mechanisms and kinetics of liposome-cell interactions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 40, n. 1-2, p. 3-18, 1999.

FERRARI, M.; PAGNONI, U. M.; PELIZZONI, F.; LUKES, V.; FERRARI, G. Terpenoids from *Copaifera langsdorffii*. **Phytochemistry**, v. 10, p. 905-907, 1971.

FRANZEN, U.; OSTERGAARD, J. Physico-chemical characterization of liposomes and drug substance-liposome interactions in pharmaceuticals using capillary electrophoresis and electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1267, p. 32-44, 2012.

FREITAS, C.; MULLER, R. H. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLN (TM)). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 46, n. 2, p. 145-151, 1998.

FREITAS, L. A. P.; ANDRADE, T. C.; TEIXEIRA, C. C. C.; TACON, L. A.; TSUKADA, M. Innovative applications of spray drying. In: JOSÉ, M. J. S. (Ed.). **Advances in chemical engineering**. Kerala: Transworld Research Network, 2010. cap. 1, p.1-13.

FRIAS, M. A.; DIAZ, S. B.; ALE, N. M.; BEN ALTABEF, A.; DISALVO, E. A. FTIR analysis of the interaction of arbutin with dimyristoyl phosphatidylcholine in anhydrous and hydrated states. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1758, n. 11, p. 1823-1829, 2006.

GABIZON, A.; SHMEEDA, H.; HOROWITZ, A. T.; ZALIPSKY, S. Tumor cell targeting of liposome-entrapped drugs with phospholipid-anchored folic acid-PEG conjugates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 8, p. 1177-1192, 2004.

GABIZON, A. A. Liposome circulation time and tumor targeting: implications for cancer chemotherapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 16, n. 2-3, p. 285-294, 1995.

GALVEZ, J.; DELACRUZ, J. P.; ZARZUELO, A.; DEMEDINA, F. S.; JIMENEZ, J.; DELACUESTA, F. S. Oral-administration of quercitrin modifies intestinal oxidative status in rats. **General Pharmacology**, v. 25, p. 1237-1243, 1994.

GEIDOBLE, R.; WINTER, G. Controlled ice nucleation in the field of freeze-drying: fundamentals and technology review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 2, p. 214-222, 2013.

GELMINI, F.; BERETTA, G.; ANSELMINI, C.; CENTINI, M.; MAGNI, P.; RUSCICA, M.; CAVALCHINI, A.; FACINO, R. M. GC-MS profiling of the phytochemical constituents of the oleoresin from *Copaifera langsdorffii* Desf. and a preliminary *in vivo* evaluation of its antipsoriatic effect. **European Journal of Pharmacology**, v. 440, n. 2, p. 170-178, 2013.

GLAVAS-DODOV, M.; FREDRO-KUMBARADZI, E.; GORACINOVA, K.; SIMONOSKA, M.; CALIS, S.; TRAJKOVIC-JOLEVSKAA, S.; HINCAL, A. A. The effects of lyophilization on the stability of liposomes containing 5-FU. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 291, n. 1-2, p. 79-86, 2005.

GOMES, N. D. M.; REZENDE, C. D. M.; FONTES, S. P.; HOVELL, A. M. C.; LANDGRAF, R. G.; MATHEUS, M. E.; PINTO, A. D. C.; FERNANDES, P. D. Antineoplastic activity of *Copaifera multijuga* oil and fractions against ascitic and solid Ehrlich tumor. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 1, p. 179-184, 2008.

GUAN, P.; LU, Y.; QI, J. P.; NIU, M. M.; LIAN, R. Y.; WU, W. Solidification of liposomes by freeze-drying: The importance of incorporating gelatin as interior support on enhanced physical stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 478, n. 2, p. 655-664, 2015.

GUAN, T.; MIAO, Y. Q.; XU, L. S.; YANG, S. S.; WANG, J.; HE, H. B.; TANG, X.; CAI, C. F.; XU, H. Injectable nimodipine-loaded nanoliposomes: preparation, lyophilization and characteristics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 410, n. 1-2, p. 180-187, 2011.

HAWE, A.; FRIESS, W. Physico-chemical lyophilization behavior of mannitol, human serum albumin formulations. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 3, p. 224-232, 2006.

HEDRICK, J. L.; MULCAHEY, L. J.; TAYLOR, L. T. Supercritical fluid extraction. **Mikrochimica Acta**, v. 108, n. 3-6, p. 115-132, 1992.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.

HERRERO, M.; PLAZA, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Green processes for the extraction of bioactives from rosemary: chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and *in-vitro* assays. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2512-2520, 2010.

HINRICHS, W. L. J.; MANCENIDO, F. A.; SANDERS, N. N.; BRAECKMANS, K.; DE SMEDT, S. C.; DEMEESTER, J.; FRIJLINK, H. W. The choice of a suitable oligosaccharide to prevent aggregation of PEGylated nanoparticles during freeze thawing and freeze drying. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 311, n. 1-2, p. 237-244, 2006.

HOLOWKA, E. P.; BHATIA, S. K. **Drug Delivery: materials design and clinical perspective**. New York: Springer, 2014.

HUESO-FALCON, I.; GIRON, N.; VELASCO, P.; AMARO-LUIS, J. M.; RAVELO, A. G.; DE LAS HERAS, B.; HORTELANO, S.; ESTEVEZ-BRAUN, A. Synthesis and induction of apoptosis signaling pathway of ent-kaurane derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 1724-1735, 2010.

ICH. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1), 2005.

INGVARSSON, P. T.; SCHMIDT, S. T.; CHRISTENSEN, D.; LARSEN, N. B.; HINRICHS, W. L. J.; ANDERSEN, P.; RANTANEN, J.; NIELSEN, H. M.; YANG, M.; FOGED, C. Designing CAF-adjuvanted dry powder vaccines: spray drying preserves the adjuvant activity of CAF01. **Journal of Controlled Release**, v. 167, n. 3, p. 256-264, 2013.

ISHWARYA, S. P.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; STAPLEY, A. G. F. Spray-freeze-drying: a novel process for the drying of foods and bioproducts. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, n. 2, p. 161-181, 2015.

KAMINSKAS, L. M.; MCLEOD, V. M.; KELLY, B. D.; SBERNA, G.; BOYD, B. J.; WILLIAMSON, M.; OWEN, D. J.; PORTER, C. J. H. A comparison of changes to doxorubicin pharmacokinetics, antitumor activity, and toxicity mediated by PEGylated dendrimer and PEGylated liposome drug delivery systems. **Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine**, v. 8, n. 1, p. 103-111, 2012.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SRAMEK, M.; GIBIS, M.; KOHLUS, R.; WEISS, J. Presence of electrostatically adsorbed polysaccharides improves spray drying of liposomes. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 2, p. E206-21, 2013.

KASTNER, E.; VERMA, V.; LOWRY, D.; PERRIE, Y. Microfluidic-controlled manufacture of liposomes for the solubilisation of a poorly water soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 0, 2015.

KIM, E. H. J.; CHEN, X. D.; PEARCE, D. Surface composition of industrial spray-dried milk powders. 2. Effects of spray drying conditions on the surface composition. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 2, p. 169-181, 2009a.

KIM, E. H. J.; CHEN, X. D.; PEARCE, D. Surface composition of industrial spray-dried milk powders. 3. Changes in the surface composition during long-term storage. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 2, p. 182-191, 2009b.

KUCERKA, N.; PENCER, J.; SACHS, J. N.; NAGLE, J. F.; KATSARAS, J. Curvature effect on the structure of phospholipid bilayers. **Langmuir**, v. 23, n. 3, p. 1292-1299, 2007.

KUKULA-KOCH, W.; ALIGIANNIS, N.; HALABALAKI, M.; SKALTSOUNIS, A.-L.; GLOWNIAK, K.; KALPOUTZAKIS, E. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 406-413, 2013.

LABMAQ. **LABMAQ do Brasil Ltda. Manual de Operações do Mini-Spray Dryer MSD 0.5**. Depto de Engenharia 2003.

LANG, Q. Y.; WAI, C. M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. **Talanta**, v. 53, n. 4, p. 771-782, 2001.

- LANGENHEIM, J. H.; CONVIS, C. L.; MACEDO, C. A.; STUBBLEBINE, W. H. *Hymenaea* and *Copaifera* leaf sesquiterpenes in relation to lepidopteran herbivory in southeastern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 14, n. 1, p. 41-49, 1986.
- LARIDI, R.; KHEADR, E. E.; BENECH, R. O.; VUILLEMARD, J. C.; LACROIX, C.; FLISS, I. Liposome encapsulated nisin Z: optimization, stability and release during milk fermentation. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 4, p. 325-336, 2003.
- LEE, K. D.; PITAS, R. E.; PAPAHAADJOPOULOS, D. Evidence that the scavenger receptor is not involved in the uptake of negatively charged liposomes by cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1111, n. 1, p. 1-6, 1992.
- LEE, R. J.; LOW, P. S. Delivery of liposomes into cultured Kb cells via folate receptor-mediated endocytosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 5, p. 3198-3204, 1994.
- LEE, R. J.; LOW, P. S. Folate-mediated tumor-cell targeting of liposome-entrapped doxorubicin *in-vitro*. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1233, n. 2, p. 134-144, 1995.
- LIMA, S. R. M.; VEIGA, V. F.; CHRISTO, H. B.; PINTO, A. C.; FERNANDES, P. D. *In vivo* and *in vitro* studies on the anticancer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 9, p. 1048-1053, 2003.
- LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical technology**. London: Heyden & Son Limited, 1989.
- LITZINGER, D. C.; BUITING, A. M. J.; VANROOIJEN, N.; HUANG, L. Effect of liposome size on the circulation time and intraorgan distribution of amphipathic poly(ethylene glycol)-containing liposomes. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1190, n. 1, p. 99-107, 1994.
- LIU, H.; ZHANG, Y. L.; HAN, Y. Z.; ZHAO, S.; WANG, L.; ZHANG, Z. X.; WANG, J.; CHENG, J. X. Characterization and cytotoxicity studies of DPPC:M²⁺ novel delivery system for cisplatin thermosensitivity liposome with improving loading efficiency. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, v. 131, p. 12-20, 2015.
- LO, Y.-L.; TSAI, J.-C.; KUO, J.-H. Liposomes and disaccharides as carriers in spray-dried powder formulations of superoxide dismutase. **Journal of Controlled Release**, v. 94, n. 2-3, p. 259-272, 2004.
- LOPES, L. B.; SCARPA, M. V.; PEREIRA, N. L.; OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, A. G. Interaction of sodium diclofenac with freeze-dried soya phosphatidylcholine and unilamellar liposomes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 4, p. 497-504, 2006.
- LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LOZANO, E.; BARRERA, P.; SALINAS, R.; VEGA, I.; NIETO, M.; TONN, C.; KEMMERLING, U.; MORTARA, R. A.; SOSA, M. A. Sesquiterpene lactones and the diterpene 5-epi-icetexone affect the intracellular and extracellular stages of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology International**, v. 61, n. 4, p. 628-633, 2012.

LOZANO, E.; STRAUSS, M.; SPINA, R.; CIFUENTE, D.; TONN, C.; RIVAROLA, H. W.; SOSA, M. A. The *in vivo* trypanocidal effect of the diterpene 5-epi-icetexone obtained from *Salvia gilliesii*. **Parasitol Int**, v. 65, n. 1, p. 23-26, 2016.

LU, Y. J.; LOW, P. S. Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 342-352, 2002.

MACEDO, C. A.; LANGENHEIM, J. H. A further investigation of leaf sesquiterpene variation in relation to herbivory in 2 Brazilian populations of *Copaifera langsdorfii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 17, n. 3, p. 207-216, 1989a.

MACEDO, C. A.; LANGENHEIM, J. H. Microlepidopteran herbivory in relation to leaf sesquiterpenes in *Copaifera langsdorfii* adult trees and their seedling progeny in a Brazilian woodland. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 17, n. 3, p. 217-224, 1989b.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MERIAN, J.; DE SOUZA, R.; DOU, Y.; EKDAWI, S. N.; RAVENELLE, F.; ALLEN, C. Development of a liposome formulation for improved biodistribution and tumor accumulation of pentamidine for oncology applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 488, n. 1-2, p. 154-64, 2015.

MICHEL, R.; PLOSTICA, T.; ABEZGAUZ, L.; DANINO, D.; GRADZIELSKI, M. Control of the stability and structure of liposomes by means of nanoparticles. **Soft Matter**, v. 9, n. 16, p. 4167-4177, 2013.

MIRON, T. L.; PLAZA, M.; BAHRIM, G.; IBAÑEZ, E.; HERRERO, M. Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 30, p. 4918-4927, 2011.

MOGHIMI, S. M.; SZE BENI, J. Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties. **Progress in Lipid Research**, v. 42, n. 6, p. 463-478, 2003.

MORAES, M. O.; FONTELES, M. C.; MORAES, M. E. A.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. A. Screening for anticancer activity of plants from the Northeast of Brazil. **Fitoterapia**, v. 68, p. 235, 1997.

MOTTA. **Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE-UV-DAD para quantificação e análise sazonal de derivados galoilquínicos nas folhas de**

Copaifera langsdorffii. 2014. 160 (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J. J.; MARTINEZ-DIAZ, R. A.; ESCARIO, J. A.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A. R.; GOMEZ-BARRIO, A. *In vitro* screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 101-107, 2000.

MUMENTHALER, M.; LEUENBERGER, H. Atmospheric spray-freeze drying: a suitable alternative in freeze-drying technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 72, p. 97-110, 1991.

MUTHU, M. S.; SINGH, S. Targeted nanomedicines: effective treatment modalities for cancer, AIDS and brain disorders. **Nanomedicine**, v. 4, n. 1, p. 105-18, 2009.

NEW, R. R. C. **Liposomes: a practical approach**. New York: Oxford University Press, 1990.

NII, T.; ISHII, F. Encapsulation efficiency of water-soluble and insoluble drugs in liposomes prepared by the microencapsulation vesicle method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 298, n. 1, p. 198-205, 2005.

OBATA, Y.; SAITO, S.; TAKEDA, N.; TAKEOKA, S. Plasmid DNA-encapsulating liposomes: effect of a spacer between the cationic head group and hydrophobic moieties of the lipids on gene expression efficiency. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1788, n. 5, p. 1148-58, 2009.

OHSAKI, A.; YAN, L. T.; ITO, S.; EDATSUGI, H.; IWATA, D.; KOMODA, Y. The isolation and *in-vivo* potent antitumor-activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the Brazilian medicinal plant, *Copaifera-langsdorffii* Desfon. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 24, p. 2889-2892, 1994.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Spray drying of plant extracts: basic remarks and application. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010.

PADLA, E. P.; SOLIS, L. T.; RAGASA, C. Y. Antibacterial and antifungal properties of ent-kaurenoic acid from *Smallanthus sonchifolius*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 6, p. 408-414, 2012.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L. A.; DE SOUSA, E. T.; SILVEIRA, E. R.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Protective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin against acetic acid-induced colitis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 1, p. 51-56, 2004.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L. A.; SILVA, R. M.; TOME, A. R.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Anti-inflammatory effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on acetic acid-induced colitis in rats. **Vascular Pharmacology**, v. 39, n. 6, p. 303-307, 2002.

- PANWAR, P.; PANDEY, B.; LAKHERA, P. C.; SINGH, K. P. Preparation, characterization, and *in vitro* release study of albendazole-encapsulated nanosize liposomes. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 101-108, 2010.
- PARK, S. N.; JO, N. R.; JEON, S. H. Chitosan-coated liposomes for enhanced skin permeation of resveratrol. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, p. 1481-1485, 2014.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução à espectroscopia**. Stamford: Cengage Learning, 2010. 716.
- PAYNE, N. I.; SALMON, J. R. 1989. Spray-drying method for preparing liposomes and products produced thereby USA. Patent number: US4830858 A.
- PubChem Compound Database, 2015. Ácido caurenico. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=73062&loc=ec_rcs. Acesso em: 14 de julho de 2014.
- RAO, K. R. S. S.; NAGABHUSHANAM, M. V.; CHOWDARY, K. P. R. *In vitro* dissolution studies on solid dispersions of mefenamic acid. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 73, n. 2, p. 243-U15, 2011.
- REZENDE JR, C. O.; RIGOTTO, C.; CANESCHI, W.; REZENDE, C. A. M.; LE HYARIC, M.; COURI, M. R. C.; SIMÕES, C. M. O.; DE ALMEIDA, M. V. Anti-HSV-1 and antioxidant activities of dicaffeoyl and digalloyl esters of quinic acid. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 35-38, 2014.
- RICEEVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996.
- RISTORI, S.; DI COLA, E.; LUNGHI, C.; RICHICHI, B.; NATIVI, C. Structural study of liposomes loaded with a GM3 lactone analogue for the targeting of tumor epitopes. **Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes**, v. 1788, n. 12, p. 2518-2525, 2009.
- ROCHELLE, C. **Spray-freeze-dried protein powders for needle-free injection**. 2005. 153 (Doutorado). Departamento de Tecnologia Farmacêutica, Universidade de Erlangen-Nuremberg, Erlangen.
- RODRIGUEZ, P.; GONZALEZ-MUJICA, F.; BERMUDEZ, J.; HASEGAWA, M. Inhibition of glucose intestinal absorption by kaempferol 3-O-alpha-rhamnoside purified from *Bauhinia megalandra* leaves. **Fitoterapia**, v. 81, p. 1220-1223, 2010.
- ROSADA, R. S.; SILVA, C. L.; SANTANA, M. H.; NAKAIE, C. R.; DE LA TORRE, L. G. Effectiveness, against tuberculosis, of pseudo-ternary complexes: peptide-DNA-cationic liposome. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 373, n. 1, p. 102-9, 2012.

ROTHWELL, J. A.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; NEVEU, V.; MEDINA-RAMON, A.; M'HIRI, N.; GARCIA LOBATO, P.; MANACH, C.; KNOX, K.; EISNER, R.; WISHART, D.; SCALBERT, A. Phenol-Explorer 3.0: a major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. 2013. Disponível em: < <http://phenol-explorer.eu/> >. Acesso em: maio de 2014.

SAFINYA, C. R.; EWERT, K. K. Liposomes derived from molecular vases. **Nature**, v. 489, n. 7416, p. 372-374, 2012.

SAKAI, K.; TOMIZAWA, H.; TSUCHIYA, K.; ISHIDA, N.; SAKAI, H.; ABE, M. Characterizing the structural transition of cationic DPPC liposomes from the approach of TEM, SAXS and AFM measurements. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, v. 67, n. 1, p. 73-78, 2008.

SANSONE, F.; MENCHERINI, T.; PICERNO, P.; D'AMORE, M.; AQUINO, R. P.; LAURO, M. R. Maltodextrin/ pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 3, p. 468-476, 2011.

SANTIAGO, P. S.; NETO, D. D.; BARBOSA, L. R. S.; ITRI, R.; TABAK, M. Interaction of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin with cationic CTAC micelles investigated by small angle X-ray scattering (SAXS) and electron paramagnetic resonance (EPR). **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 316, n. 2, p. 730-740, 2007.

SANTIAGO, K. B.; CONTI, B. J.; ANDRADE, B. F. M. T.; DA SILVA, J. J. M.; ROGEZ, H. L. G.; CREVELIN, E. J.; DE MORAES, L. A. B.; VENEZIANI, R.; AMBROSIO, S. R.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory action of *Copaifera* spp oleoresins on cytokine production by human monocytes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 70, p. 12-18, 2015.

SANTOS, H. M.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, D. A.; PINTO, J. M.; CAMPOS, V. A.; MOURÃO, A. R.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. **Journal of Natural Medicine**, v. 64, p. 231-238, 2010.

SCOMPARIN, A.; SALMASO, S.; ELDAR-BOOCK, A.; BEN-SHUSHAN, D.; FERBER, S.; TIRAM, G.; SHMEEDA, H.; LANDA-ROUBEN, N.; LEOR, J.; CALICETI, P.; GABIZON, A.; SATCHI-FAINARO, R. A comparative study of folate receptor-targeted doxorubicin delivery systems: dosing regimens and therapeutic index. **Journal of Controlled Release**, v. 208, p. 106-120, 2015.

SEE, E.; ZHANG, W.; LIU, J.; SVIRSKIS, D.; BAGULEY, B. C.; SHAW, J. P.; WANG, G.; WU, Z. Physicochemical characterization of asulacrine towards the development of an anticancer liposomal formulation via active drug loading: stability, solubility, lipophilicity and ionization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, n. 1-2, p. 528-535, 2014.

SEVILLE, P. C.; KELLAWAY, I. W.; BIRCHALL, J. C. Preparation of dry powder dispersions for non-viral gene delivery by freeze-drying and spray-drying. **The Journal of Gene Medicine**, n. 4(4), p. 428-37, 2002.

SHMEEDA, H.; AMITAY, Y.; GORIN, J.; TZEMACH, D.; MAK, L.; OGORKA, J.; KUMAR, S.; ZHANG, J. A.; GABIZON, A. Delivery of zoledronic acid encapsulated in folate-targeted liposome results in potent *in vitro* cytotoxic activity on tumor cells. **Journal of Controlled Release**, v. 146, n. 1, p. 76-83, 2010.

SHORTLE, E.; KERRY, J.; FUREY, A.; GILROY, D. Optimisation of process variables for antioxidant components from *Crataegus monogyna* by supercritical fluid extraction (CO₂) using Box-Behnken experimental design. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 81, n. 0, p. 112-118, 2013.

SHULKIN, P. M.; SELTZER, S. E.; DAVIS, M. A.; ADAMS, D. F. Lyophilized liposomes: a new method for long-term vesicular storage. **Journal of Microencapsulation**, v. 1, n. 1, p. 73-80, 1984.

SIQUEIRA, S.; FALCÃO-SILVA, V. D. S.; AGRA, M. D. F.; DARIVA, C.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. D.; FONSECA, M. J. V. Biological activities of *Solanum paludosum* Moric. extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, n. 3, p. 391-397, 2011.

SKIBA-LAHIANI, M.; HALLOUARD, F. O.; MEHENNI, L.; FESSI, H.; SKIBA, M. Development and characterization of oral liposomes of vegetal ceramide based amphotericin B having enhanced dry solubility and solubility. **Materials Science and Engineering: C**, v. 48, n. 0, p. 145-149, 2015.

SOUSA, J. P. B. ***Copaifera langsdorffii*: estudo fitoquímico, validação de métodos cromatográficos e análise sazonal**. 2011. 179 (Doutor). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SOUSA, J. P. B.; BRANCALION, A. P. S.; JUNIOR, M. G.; BASTOS, J. K. A validated chromatographic method for the determination of flavonoids in *Copaifera langsdorffii* by HPLC. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 25-29, 2012.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 7, 2006.

Spectral Database for Organic Compounds SDBS, 2013. Disponível em: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi. Acesso em: março de 2013.

TIRAPELLI, C. R.; AMBROSIO, S. R.; DA COSTA, F. B.; COUTINHO, S. T.; DE OLIVEIRA, D. C. R.; DE OLIVEIRA, A. M. Analysis of the mechanisms underlying the vasorelaxant action of kaurenoic acid in the isolated rat aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 492, n. 2-3, p. 233-241, 2004.

TOKUNAGA, M.; HAZEMOTO, N.; YOTSUYANAGI, T. Effect of oligopeptides on gene expression: comparison of DNA/peptide and DNA/peptide/liposome complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, n. 1, p. 71-80, 2004.

TORCHILIN, V. P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 13, n. 11, p. 813-827, 2014.

TYAGI, N.; GHOSH, P. C. Folate receptor mediated targeted delivery of ricin entrapped into sterically stabilized liposomes to human epidermoid carcinoma (KB) cells: effect of monensin intercalated into folate-tagged liposomes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 343-353, 2011.

USP30. **American Pharmacopeia. United States Pharmacopeial Convention.** USP: Rockville, MD 2008.

VAN DEN HOVEN, J. M.; METSELAAR, J. M.; STORM, G.; BEIJNEN, J. H.; NUIJEN, B. Cyclodextrin as membrane protectant in spray-drying and freeze-drying of PEGylated liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 438, n. 1-2, p. 209-216, 2012.

VANAJA, K.; WAHL, M. A.; BUKARICA, L.; HEINLE, H. Liposomes as carriers of the lipid soluble antioxidant resveratrol: evaluation of amelioration of oxidative stress by additional antioxidant vitamin. **Life Sciences**, v. 93, n. 24, p. 917-923, 2013.

VEIGA JÚNIOR, V. F. *Copaifera* sp Linné. In: AMARAL, A. C. F.; SIMÕES, E. V., *et al* (Ed.). **Coletânea científica de plantas de uso medicinal**. Curitiba: Abifito, v.1, 2005. p.34-57.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C. The *Copaifera* L. genus. **Quimica Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Medicinal plants: safe cure? **Quimica Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VEMURI, S.; RHODES, C. T. Development and Validation of a Drug-Release Rate Method for a Water-Soluble Drug in a Liposome Preparation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 11, p. 1353-1364, 1995.

VIEIRA, H. S.; TAKAHASHI, J. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; CHIARI, E.; BOAVENTURA, M. A. D. Novel derivatives of kaurenoic acid: preparation and evaluation of their trypanocidal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 2, p. 151-157, 2002.

VIGNESWARAN, N.; WU, J.; NAGARAJ, N.; ADLER-STORTHZ, K.; ZACHARIAS, W. Differential susceptibility of metastatic and primary oral cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. **International Journal of Oncology**, v. 26, n. 1, p. 103-112, 2005.

VILEGAS, J. H. Y.; DE MARCHI, E.; LANCAS, F. M. Extraction of low-polarity compounds (with emphasis on coumarin and kaurenoic acid) from *Mikania glomerata* ('guaco') leaves. **Phytochemical Analysis**, v. 8, n. 5, p. 266-270, 1997.

VINCOURT, V. R.; NGUYEN, L.; CHAUMEIL, J.-C.; DUMORTIER, G. Freeze-drying of ATP entrapped in cationic, low lipid liposomes. **Cryobiology**, v. 60, n. 3, p. 262-270, 2010.

WAGNER, A.; VORAUER-UHL, K. Liposome technology for industrial purposes. **Journal of Drug Delivery**, v. 2011, p. 591325, 2011.

WALTON, D. E. The morphology of spray-dried particles a qualitative view. **Drying Technology**, v. 18, n. 9, p. 1943-1986, 2000.

WALTON, D. E.; MUMFORD, C. J. The morphology of spray-dried particles: the effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. **Trans IChemE**, v. 77, n. Part A, p. 442-460, 1999.

WANG, C.; FENG, L.; YANG, X.; WANG, F.; LU, W. Folic acid-conjugated liposomal vincristine for multidrug resistant cancer therapy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, p. 118-127, 2013.

WANG, M.; KIM, J.-C. *In vivo* tumor-suppressing efficacy and cell internalization of doxorubicin loaded in liposomes bearing folate. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2015.

WANG, Y.; KHO, K.; CHEOW, W. S.; HADINOTO, K. A comparison between spray drying and spray freeze drying for dry powder inhaler formulation of drug-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 424(1-2), p. 98-106, 2012.

WESSMAN, P.; EDWARDS, K.; MAHLIN, D. Structural effects caused by spray- and freeze-drying of liposomes and bilayer disks. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 4, p. 2032-2048, 2010.

WIEBER, A.; SELZER, T.; KREUTER, J. Physico-chemical characterisation of cationic DOTAP liposomes as drug delivery system for a hydrophilic decapeptide before and after freeze-drying. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 2, p. 358-367, 2012.

WHO. World and Health Organization. **Chagas disease**, 2015. Disponível em: < http://www.who.int/topics/chagas_disease/en/ >. Acesso em: 27 de maio de 2015.

WU, J.; LIU, Q.; LEE, R. J. A folate receptor-targeted liposomal formulation for paclitaxel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 316, n. 1-2, p. 148-153, 2006.

WUI, W. T. Nanospray drying technology: existing limitations and future challenges. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, 2015.

XIANG, G.; WU, J.; LU, Y.; LIU, Z.; LEE, R. J. Synthesis and evaluation of a novel ligand for folate-mediated targeting liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 356, n. 1-2, p. 29-36, 2008.

YIN, F.; GUO, S. Y.; GAN, Y.; ZHANG, X. X. Preparation of redispersible liposomal dry powder using an ultrasonic spray freeze-drying technique for transdermal delivery of human epithelial growth factor. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 1665-1675, 2014.

YOSHIDA, T.; OIDE, N.; SAKAMOTO, T.; YOTSUMOTO, S.; NEGISHI, Y.; TSUCHIYA, S.; ARAMAKI, Y. Induction of cancer cell-specific apoptosis by folate-labeled cationic liposomes. **Journal of Controlled Release**, v. 111, n. 3, p. 325-332, 2006.

ZAMARIOLI, C. M.; MARTINS, R. M.; CARVALHO, E. C.; FREITAS, L. A. P. Nanoparticles containing curcuminoids (*Curcuma longa*): development of topical delivery formulation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 1, p. 53-60, 2015.

ZHANG, L. N.; ZHANG, Q.; WANG, X.; ZHANG, W. J.; LIN, C. C.; CHEN, F.; YANG, X. G.; PAN, W. S. Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes: a novel drug delivery system for flurbiprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, n. 1-2, p. 40-45, 2015.

ZHU, J. D.; ZHOU, Z. C.; YANG, C. H.; KONG, D. L.; WAN, Y.; WANG, Z. Folate-conjugated amphiphilic star-shaped block copolymers as targeted nanocarriers. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 97A, n. 4, p. 498-508, 2011.