

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Desenvolvimento de emulsões com fase gel lamelar à base de óleo  
de calêndula (*Calendula officinalis*) e avaliação da atividade  
cicatrizial em úlceras cutâneas de ratos**

Cindy Hana Okuma

**Ribeirão Preto**  
**2013**

## RESUMO

OKUMA, C. H. **Desenvolvimento de emulsões com fase gel lamelar à base de óleo de calêndula (*Calendula officinalis*) e avaliação da atividade cicatricial em úlceras cutâneas de ratos**. 2013. 90 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

O objetivo desta pesquisa foi desenvolver e aperfeiçoar uma formulação com fase gel lamelar contendo óleo de *Calendula officinalis* e avaliar seu potencial na atividade cicatrizante de úlceras em ratos. A formulação estudada possui valor de EHL 6,0, constituída por óleo de calêndula e sistema tensoativo formado por derivados etoxilados dos alcoóis cetílico e estearílico (*Ceteth 2/Steareth 20*). Primeiramente, determinou-se a região do diagrama ternário de fases em que se encontravam as emulsões com fase gel lamelares (EFGL), macroscopicamente estáveis. Em seguida foi avaliada a estabilidade do sistema e parâmetros que poderiam influenciar na formação das estruturas anisotrópicas. Avaliou-se o comportamento das emulsões utilizando o teste de perda de massa por evaporação. Na avaliação *in vitro*, foram realizados testes de citotoxicidade do óleo de calêndula frente às células de fibroblastos da linhagem L929 através do ensaio de apoptose e necrose. O teste *in vivo* foi realizado através do Índice de Cicatrização de Úlceras (ICU) no modelo em dorso de ratos (úlceras excisionais contráteis) a fim de avaliar o potencial cicatrizante da emulsão proposta comparando com o *sham* (grupo controle). As úlceras foram avaliadas mediante análise de imagem nos tempos de 0, 2, 7, 14 e 21 dias após o procedimento cirúrgico. A EFGL demonstrou maior estabilidade frente aos testes de estabilidade preliminar e acelerada em relação as demais formulações. Além disso, esta formulação demonstrou menor área de histerese (tixotropia), portanto menor grau de espalhabilidade e com maior tempo de contato com a úlcera. Durante a evaporação das emulsões houve manutenção das estruturas anisotrópicas. O óleo bruto da *Calendula officinalis* não apresentou interferência na via da apoptose e necrose na concentração de até 1000 µg/mL em fibroblastos L929. A formulação proposta promoveu melhor cicatrização no modelo de úlcera cutânea (ICU) na região dorsal de ratos, supondo-se modular a fase inflamatória do processo de cicatrização, pois o maior recrutamento de células inflamatórias bem como a colagênese, diminuída no grupo EFGL, foram fatores essenciais que permitiram a total reepitelização das úlceras cutâneas. Portanto, pode-se concluir que a metodologia utilizada nesta pesquisa foi útil para a obtenção de emulsões com fase gel lamelar, sendo que a formação dessa estrutura é importante para a estabilidade do sistema, podendo ser utilizada como uma formulação viável e eficaz no processo cicatricial de feridas.

**Palavras chave:** óleo de calêndula, fase gel lamelar, estudos de estabilidade, reologia e cicatrização.

# *Introdução*

## 1. INTRODUÇÃO

A combinação entre as necessidades do consumidor e o desenvolvimento de tecnologias farmacêuticas e cosméticas proporcionou o surgimento de novos sistemas para veicular substância ativa e/ou aperfeiçoar a liberação destas, aplicáveis em diferentes áreas. As preparações cosméticas e/ ou farmacêuticas para o cuidado e tratamento da pele constituem um grupo particular, no qual se diferenciam as emulsões com fase gel lamelares (EFGL) (LINARES, 1996).

A presença da fase gel lamelar em formulações proporciona benefícios que refletem na estabilidade, incorporação de componentes ativos em estruturas da fase gel lamelares ou mesmo em formulações que as contenha, aumento da hidratação e, finalmente, possibilitam a liberação controlada de ativos farmacêutico-cosméticos na pele ou através da mesma. Desde modo, muitas indústrias farmacêuticas têm investido em matérias-primas de origem vegetal, como é o caso do óleo de *Calendula officinalis* (HAMMES, 2005; MASSON et al., 2005; MOHANTY, 2003; SANTOS et al., 2005).

Muitas matérias-primas naturais são conhecidas por apresentar propriedades cicatrizantes, baseadas no conhecimento popular e evidências científicas (RANZATO; MARTINOTTI; BURLANDO, 2011). A calêndula (*Calendula officinalis* L.) tem sido utilizada como planta medicinal há centenas de anos devido à atividade cicatrizante. Várias substâncias químicas foram recentemente identificadas como: polifenóis, flavonóides, taninos, ácido mélico e salicílico, mucilagens, carotenóides, flavocromo, mutocromo, aurocromo, flaroxantina, crisantimaxantina, xantofila, materiais corantes, ésteres colesterínicos, minerais (cálcio e silício), vitaminas (pró-vitamina B), ácido oleanóico, saponinas, ácidos graxos (ácidos láurico, palmítico, palmitoleico, oléico, linoléico, linolênico e esteárico), além dos terpenóides e cumarinas. A identificação destes componentes permitiu que a calêndula fosse empregada como matéria-prima importante tanto para a dermatologia no tratamento de cicatrização de feridas como para a cosmetologia com a ação hidratante (DOMOKOS et al., 2000; LAVAGNA, 2001; PAULSEN, 2002; SANTOS et al., 2006; SCHMIDT et al., 2009).

As úlceras cutâneas constituem importante problema de saúde pública que afeta mundialmente milhões de pacientes. Considerando que as úlceras não ocorrem de modo isolado, torna-se importante avaliar o impacto da patologia com

base na cicatrização e estabelecer um plano terapêutico individualizado de modo que o tratamento seja adequado para corrigir a anormalidade e prevenir a degradação tecidual subsequente (HARDING; MORRIS; PATEL, 2002; STOJADINOVIC et al., 2008). A situação agrava-se quando estas úlceras não cicatrizam de forma e em tempo adequado, acarretando a cronicidade. É estimado que em torno de seis milhões de pessoas sofram de desordens na cicatrização de úlceras. Estudos para melhor compreensão das fases do processo cicatricial, assim como, a busca por alternativas para o tratamento de pacientes acometidos são frequentes e incessantes.

A terapêutica implica não apenas no conhecimento dos produtos utilizados para promover a cicatrização, mas primeiramente no entendimento da fisiopatologia do processo de reparo tecidual (ABREU; MARQUES, 2005). Produtos destinados ao tratamento de úlceras cutâneas devem apresentar certas propriedades como: facilidade de aplicação e remoção, conforto ao paciente, manutenção da umidade adequada no leito da úlcera, dentre outras (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Tendo em vista a aplicabilidade das emulsões com fase gel lamelar em manter a umidade adequada no produto e a importância do óleo de calêndula (*Calendula officinalis*) como potencial cicatrizante, a proposta desta pesquisa foi desenvolver formulações farmacêuticas que possam promover a formação de fase gel lamelar e contribuir para a estabilidade do produto.

*Conclusões*

## 6. CONCLUSÕES

- ✓ Esta pesquisa demonstrou que foi possível obter emulsões com fase gel lamelares à base do óleo de calêndula estáveis, compatíveis e eficazes no processo de cicatrização.
- ✓ A emulsão 6' demonstrou maior estabilidade frente aos testes de estabilidade preliminar e acelerada;
- ✓ Durante o processo de evaporação das amostras da emulsão 6' houve a manutenção das estruturas anisotrópicas com até 70,0% de perda de água, porém sua forma variou em função da diminuição da quantidade de água no sistema;
- ✓ O óleo bruto da *Calendula officinalis* não apresentou interferência na viabilidade celular na concentração de até 1000 µg/mL em fibroblastos L929, ou seja, possui baixa toxicidade nas concentrações estudadas;
- ✓ A emulsão 6' promoveu melhor cicatrização no modelo de úlcera cutânea (ICU) na região dorsal de ratos, indicando modular a fase inflamatória do processo de cicatrização, contribuindo assim para as fases seguintes da cicatrização;
- ✓ O maior recrutamento de leucócitos bem como a colagênese diminuída no processo inicial da cicatrização das úlceras no grupo EFGL, foram fatores essenciais que permitiram a total reepitelização das úlceras cutâneas tratadas com EFGL nos ratos;
- ✓ Atividade cicatricial foi compatível para o tratamento de úlceras crônicas, visto que estas são de grande preocupação mundial em relação às úlceras agudas.

## *Referências*



## 7. REFERÊNCIAS

ABREU, E. S.; MARQUES, M. E. A. Abordagem multiprofissional do tratamento de feridas. In: JORGE, S. A. e DANTAS, S. R. P. E. (Ed.). **Histologia da pele normal**. São Paulo.: Atheneu, 2005. p.17-29.

ALEXANDROU, A. N.; CONSTANTINOU, N., GEORGIU, G. Shear rejuvenation, aging and shear banding in yield stress fluids. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, Nicosia, v. 158, p. 6-17, 2009.

ANDRADE, T. A. M. **Atividade da biomembrana de látex natural da seringueira Hevea brasiliensis na indução de neoformação tecidual em camundongos**. Dissertação (Mestrado), 2007. 138 f. Departamento de Clínica Médica, Divisão de Dermatologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

ANVISA. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância sanitária**, 2004.

ARAÚJO, L. U. et al. Profile of wound healing process induced by allantoin. **Acta Cirúrgica Brasileira.**, São Paulo., v. 25, n. 5, p. 460-466, 2010.

BARNES, H. A. Rheology of emulsions - A Review. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 91, p. 89-95, 1994.

BARRY, B. W. Rheology of dermatological vehicles. In: (Ed.). **Dermatological Formulations**. New York: Marcel Dekker, p.351-439, 1993.

BEVACQUA, A. J. et al. Liquid crystal in multiple emulsions. **Cosmetics and Toiletries**. New Yor. 106: 53-56 p. 1991.

BRASIL. **Cosmetic Products Stability Guide**. Brasília. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

BURD, A. et al. A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. **Wound Repair and Regeneration**, n.15, 94-104, 2007.

CAETANO, K. S. et al. Phototherapy Improves Healing of Chronic Venous Ulcers. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 1, p. 111-118, 2009.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 107, n. 2-3, p. 125-155, 2004.

CEFALI, L. C. et al. **Estudo do comportamento reológico e da espalhabilidade de emulsão contendo fase oleosa constituída de karité**. 56° Jornada Farmacêutica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, 2009.

CHIARI, B. G. et al. Influência da concentração de C12-25 acid PEG-8 éster no comportamento reológico de emulsões O/A contendo hidrowyetilcelulose. **55° Jornada Farmacêutica**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, 2008.

CLARK, R. A. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 13, n. 5, p. 701-25, 1985.

DAVIS, S. S.; BURBAGE, A. S. Electron micrography of water in oil in water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 62, n. 2, p. 361-363, 1977.

DEGTEREV, A.; BOYCE, M.; YUAN, J. Y. A decade of caspases. **Oncogene**, v. 22, n. 53, p. 8543-8567, 2003.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, p. 283-9, 2004.

DOLZ, M.; HERNANDEZ, M. J.; DELEGIDO, J. Oscillatory measurements for salad dressings stabilized with modified starch, xanthan gum, and locust bean gum. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, n. 1, p. 897-903, 2006.

\_\_\_\_\_. Creep and recovery experimental investigation of low oil content food emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 421-427, 2008.

DOMOKOS, J. et al. Kozmetikaepari növényenk a körömvirág (*Calendulaofficinalis* L.). **Olaj Szappan Kozmet**, n. 49, p.139-142, 2000.

SANTOS, O. D.; DA ROCHA-FILHO, P. A. Influence of surfactant on the thermal behavior of marigold oil emulsions with liquid crystal phases. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 5, p. 543-9, 2007.

DUERR-AUSTER, N. et al. Microstructure and stability of a lamellar liquid crystalline and gel phase formed by a polyglycerol ester mixture in dilute aqueous solution. **Langmuir**, v. 23, n. 26, p. 12827-34, 2007.

ECCLESTON, G. M. Multiple-phase oil-in-water emulsions. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 41, n. 1, p. 1-22, 1990.

\_\_\_\_\_. Functions of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 123, p. 169-182, 1997.

ECCLESTON, G. M.; BEATTIE, L. Microstructural changes during the storage of systems containing cetostearyl alcohol/polyoxyethylene alkyl ether surfactants. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 14, n. 15-17, p. 2499-2518, 1988.

ECCLESTON, G. M. et al. Synchrotron X-ray investigations into the lamellar gel phase formed in pharmaceutical creams prepared with cetrimide and fatty alcohols. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 203, n. 1-2, p. 127-139, 2000.

ECKERSLEY, J. R.; DUDLEY, H. A. Wounds and wound healing. **British Medical Bulletin**, v. 44, n. 2, p. 423-36, 1988.

ENGELHARDT, E. et al. Chemokines IL-8, GRO $\alpha$ , MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. **American Journal of Pathology**, v. 153, n. 6, p. 1849-60, 1998.

ENGELS, T.; WOLFGANG, V. R. Liquid crystalline surfactant phases in chemical applications. **Journal Materials Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 1313-1320, 1998.

FEFERMAN, I. H. S. et al. Thickener composition used as cosmetic and dermatological formulation in form of lipophilic formulation, particularly body pills, massage oil, bath oil and makeup products, and comprises synthetic sweetener and diester softener: **Botica Comercial Farmacêutica**. Sao Paulo, 2010.

FERREIRA, T. M. et al. Segmental order parameters in a nonionic surfactant lamellar phase studied with H-1-C-13 solid-state NMR. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, n. 39, p. 6033-6038, 2008.

FERREIRA, T. M.; MEDRONHO, B.; TOPGAARD, D. PHYS 352-13C-1H Dipolar couplings vs. temperature studies on CiEj/water mixtures using the R-PDLF method. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v. 236, p. 352, 2008.

FONDER, M. A. et al. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 2, p. 185-206, 2008.

FONSECA, Y. M. et al. Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 596-601, 2010.

FOXMAN, E. F.; CAMPBELL, J. J.; BUTCHER, E. C. Multistep navigation and the combinatorial control of leukocyte chemotaxis. The **Journal of Cell Biology**, v. 139, n. 5, p. 1349-60, 1997.

FRADE, M. A. C et al. Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. **International Journal of Dermatology**, v. 40, n. 3, p. 238-240, 2001.

FRIBERG, S. E. Evaporation from an ionic liquid emulsion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 307, n. 2, p. 494-499, 2007.

FRIBERG, S. E. et al. Surfactants and the stratum-corneum lipids. **Colloids and Surfaces**, v. 30, n. 1-2, p. 1-12, 1988.

FRIBERG, S. E.; HILTON, M. L.; GOLDSMITH, L. B. Emulsions are not only two liquids. **Cosmetics and Toiletries**. New York. 102, p. 87-96, 1987.

FRIBERG, S. E. et al. A nonaqueous lamellar liquid-crystal with an ionic surfactant long-chain alcohol combination. **Colloids and Surfaces**, v. 19, n. 2-3, p. 249-253, 1986.

FRONZA, M. et al. Determination of wound healing effect of *Calendula* extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**, 2009.

GUARATINI, T.; GIANETI, M. D.; CAMPOS, P. Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: Chemical and physical aspects. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, n. 1-2, p. 12-16, 2006.

GRIFFIN, W. C. Classification of surface-active agents by "HLB". **Society of Cosmetic Chemists**. n.1, 311-326, 1949.

HAMMES, G. G. **Spectroscopy for the Biological Sciences**. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2005.

HARDING, K. G.; MORRIS, H. L.; PATEL, G. K. Science, medicine, and the future - Healing chronic wounds. **British Medical Journal**, v. 324, n. 7330, p. 160-163, 2002.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento**. São Paulo: SENAC, 2003.

HUYBRECHTS-GODIN, G.; HAUSER, P.; VAES, G. Macrophage-fibroblast interactions in collagenase production and cartilage degradation. **Biochemical Journal**, v. 184, n. 3, p. 643-50, 1979.

IDSON, B. Stability testing of emulsions. **Drug & Cosmetic Industry**, v. 143, n. 6, p. 35, 1988.

ISAAC, V. L. B. et al. **Concentration influence of bentonite and kaolin in the emulsion rheological behavior**. 25° IFSCC Congress. Barcelona, 2008.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JAUL, E. Non-healing wounds: the geriatric approach. **Archives Gerontology and Geriatrics**, v. 49, n. 2, p. 224-6, 2009.

JOHNSTON, D. E. Wound healing in skin. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 1, p. 1-25, 1990.

KAUFMANN, S. H.; HENGARTNER, M. O. Programmed cell death: alive and well in the new millenium. **Trends in Cell Biology**, v. 11, n. 12, 526-534 p. 2001.

KLEIN, K. Liquid crystals and Emulsions: a wonderful marriage. **Cosmetics and Toiletries**. New York. 117, p. 30-34, 2002.

KNIGHTON, D. R.; SILVER, I. A.; HUNT, T. K. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v. 90, n. 2, p. 262-70, 1981.

KONG, L.; BEATTIE, J. K.; HUNTER, R. J. Effects of nonionic surfactant and sodium dodecyl sulfate layers on electroacoustics of hexadecane/water emulsions. **Colloid and Polymer Science**, v. 279, n. 7, p. 678-687, 2001.

KORHONEN, M. et al. Rheological properties of creams with four different surfactant combinations - effect of storage time and conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 221, n. 1-2, p. 187-196, 2001.

KULMYRZAEV, A. A.; SCHUBERT, H. Influence of KCl on the physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 1, p. 13-19, 2004.

KUMAR, M. S. et al. Triphala promotes healing of infected full-thickness dermal wound. **Journal of Surgical Research.**, v. 144, p. 94-101, 2008.

KUNIEDA, H.; AOKI, R. Effect of added salt on the maximum solubilization in an ionic-surfactant microemulsion. **Langmuir**, v. 12, n. 24, p. 5796-5799, 1996.

LATREILLE, B.; PAQUIN, P. Evaluation of emulsion stability by centrifugation with conductivity measurements. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 6, p. 1666-&, 1990.

LAVAGNA, S. M. et al. Efficacy of Hypericum and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. **Farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 451-3, 2001.

LEFKOVITS, J.; PLOW, E. F.; TOPOL, E. J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 23, p. 1553-9, 1995.

LINARES, H. A. From wound to scar. **Burns**, 22, p. 339-352, 1996.

LINDMAN, B.; KARLSTROM, G. Nonionic polymers and surfactants: Temperature anomalies revisited. **Comptes Rendus Chimie**, v. 12, n. 1-2, p. 121-128, 2009.

LORENZO, C et al. Linear viscoelastic assessment of cold gel-like emulsions stabilized with bovine gelatin. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 457-464, 2011.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte 1. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. Rio de Janeiro, 78, p. 393-410, 2003.

MARTI-MESTRES, G.; NIELLOUD, F. Emulsions in health care applications - An overview. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 23, n. 1-3, p. 419-439, 2002.

MARTIN, A. **Physical Pharmacy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

MASMOUDI, H. et al. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 289, n. 1-2, p. 117-131, 2005.

MASSARO, R. C. et al. O/W dispersions development containing liquid crystals. **Bollettino Chimico Farmacêutico**, v. 142, n. 7, p. 264-270, 2003.

MASSON, D. S. et al. Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behavior of O/W emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 463-468, 2005.

MENKE, M. N. et al. Biologic therapeutics and molecular profiling to optimize wound healing. **Principles and Practice of Gynecologic Oncology**, v. 111, n. 2 Suppl, p. S87-91, 2008.

MINATEL, D. G. et al. Phototherapy Promotes Healing of Chronic Diabetic Leg Ulcers That Failed to Respond to Other Therapies. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 41, n. 6, p. 433-441, 2009.

MOHANTY, S. Liquid Crystals- **The 'Fourth' Phase of Matter**. In: **Resonance**, New Haven (USA), Springer India, p.52-70, 2003.

MORAIS, G. G. et al. Development of O/W emulsions with annatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 5, p. 591-596, 2005.

MORAIS, J. M. **Desenvolvimento de avaliação do processo de obtenção de emulsões múltiplas A/O/A em etapa única empregando óleo de canola e tensoativo não-iônico derivado do óleo de rícino**. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, 2008.

MORAIS, J. M. et al. Physicochemical characterization of canola oil/water nano-emulsions obtained by determination of required HLB number and emulsion phase inversion methods. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 109-115, 2006.

MORRISON, I. D.; ROSS, S. **Colloidal dispersions – Suspensions, Emulsions and Foams**. New York: John Wiley & Sons, 2002. 420-455.

MOTHÉ, C. G. et al. **Tradução e Adaptação do livro Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos, Gebhard Schramm**. São Paulo: Art Líber Ltda, 2006.

MULLER-GOYMANN, C. C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 343-356, 2004.

NARDI, A. B. et al. Cicatrização secundária em feridas dermoepidérmicas tratadas com ácido graxos essenciais, vitaminas A e E, lecitina de soja e iodo polivinilpirrolidona em cães. **Achieves of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 1-16, 2004.

NEMETH, Z. et al. Rheological behaviour of a lamellar liquid crystalline surfactant-water system. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 145, n. 1-3, p. 107-119, 1998.

NIGEL, P.; FIELD, D.; SOAMES, R. W. **Anatomy and Human Movement Structure and Function**. 4 th. London: Elsevier - Health Sciences Division, 2002.

OKUTAN, M. et al. Determination of phase transition from nematic to isotropic state in carbon nano-balls' doped nematic liquid crystals by electrical conductivity-dielectric measurements. **Physics Letters A**, v. 339, n. 6, p. 461-465, 2005.

PAULSEN, E. Contact sensitization from Compositae-containing herbal remedies and cosmetics. **Contact Dermatitis**, v. 47, n. 4, p. 189-198, 2002.

PEYREFITTE, G.; MARTINI, M.; CHIVOT, M. Cosmetologia, biologia geral e biologia da Pele. São Paulo: Andrei Ltda, p. 39-43, 325-328, 1998.

PRESTES, P. S. et al. Physicochemical Characterization and Rheological Behavior Evaluation of the Liquid Crystalline Mesophases Developed with Different Silicones. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 117-123, 2010.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 5. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

RAHATE, A. R.; NAGARKAR, J. M. Emulsification of vegetable oils using a blend of nonionic Surfactants for cosmetic applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 1077-1080, 2007.

RANZATO, E.; MARTINOTTI, S.; BURLANDO, B. Wound healing properties of jojoba liquid wax: an in vitro study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 443-9, 2011.



RAO, M. A.; STEFFE, J. F. **Measurement of viscoelastic properties of fluid and semisolid food**. New York: Elsevier Applied Science, 1992.

RIBEIRO, C. J. **Cosmetologia aplicada à dermoestética**. 2. ed. São Paulo; Pharmabooks, p. 460, 2010.

RIBEIRO, H. M.; MOES, A.; MORAIS, J. A. The influence of the cooling rate on rheology of o/w fluid emulsions containing fatty alcohols and non-ionic surfactant mixed emulsifier. **Revista da Sociedade Portuguesa de Reologia**, v. 4, p. 7-12, 2004.

RIBEIRO, H. M.; MORAIS, J. A.; ECCLESTON, G. M. Structure and rheology of semisolid O/W creams containing cetyl alcohol/non-ionic surfactant mixed emulsifier and different polymers. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 26, n. 02, p. 47-59, 2004.

SABOURIN, J. R. Selecting a preservative for creams and solutions. **Cosmetics et Toiletries**. n.10, p. 93-98, 1986.

SAMPAIO, S.; RIVITTI, E. **Dermatologia**. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001. 1156.

SANTOS, O. D.; ROCHA-FILHO, P. A. Influence of surfactant on the thermal behavior of marigold oil emulsions with liquid crystal phases. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 5, p. 543-9, 2007.

SANTOS, O. D. H. **Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética in vivo de emulsões de óleo de *Calendula officinalis* com cristal líquido**. 2006. p.130 (Doutorado.). Medicamentos e Cosméticos., Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto- USP., 2006.

SANTOS, O. D. H. et al. Study of liquid-crystalline phase changes during evaporation in vegetable oil emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 27, n. 7, p. 997-1001, 2006.

\_\_\_\_\_. Attainment of emulsions with liquid crystal from marigold oil using the required HLB method. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 243-249, 2005.

SANTOS, O. D. H.; ROCHA-FILHO, P. A. Influence of surfactant on the thermal behavior of marigold oil emulsions with liquid crystal phases. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 5, p. 543-549, 2007.

SCHMIDT, C. et al. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 3, p. 523-532, 2009.

SCHMIDTS, T. et al. Development of multiple W/O/W emulsions as dermal carrier system for oligonucleotides: Effect of additives on emulsion stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 398, n. 1-2, p. 107-113, 2010.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos**. São Paulo: Artiber, 2006.

SCHULTZ, G. S. et al. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. **Wound Repair and Regeneration**, v. 19, n. 2, p. 134-48, 2011.

SELA, Y.; MAGDASSI, S.; GARTI, N. Release of markers from the inner water phase of w/o/w emulsions stabilized by silicone-based polymeric surfactants. **Journal of Controlled Release**, v. 33, n. 1, p. 1-12, 1995.

SHARMA, S. K.; MULVANEY, S. J.; RIZVI, S. S. H. **Food processing engineering : theory and laboratory experiments**. United States of America: Wiley-Interscience, p.348, 2000.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2 ed. East Lansing, MI, USA: Freeman Press, 1996.

STOJADINOVIC, A. et al. Topical advances in wound care. **Gynecologic Oncology**, v. 111, n. 2, p. S70-S80, 2008.

STRONCEK, J. D.; BELL, N.; REICHERT, W. M. Instructional PowerPoint presentations for cutaneous wound healing and tissue response to sutures. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 90, n. 4, p. 1230-8, 2009.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108, p. 227-258, 2004.

TEDAJO, G. M. et al. pH compartmented w/o/w multiple emulsion: a diffusion study. **Journal of Controlled Release**, v. 75, n. 1-2, p. 45-53, 2001.

TESTARD, F.; ZEMB, T. Interpretation of phase diagrams: topological and thermodynamical constraints. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 205, n. 1-2, p. 3-13, 2002.

TYLE, P. Liquid crystals and their applications in drug delivery. In: (Ed.). **Controlled release of drugs: polymers and aggregate systems**. New York: Rosoff, M., cap. 4, p.125-162, 1989.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova.**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIGLIOGLIA, P. A. **Cosmiatria II**. Americana de Publicaciones. Buenos Aires: 303-313 p. 1989.

VOLPATO, A. M. D. M. **Avaliação do potencial antibacteriano da *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. p. 137 (Tese de Doutorado). Departamento de Pós Graduação do Departamento de Química, Universidade Federal de Curitiba, Curitiba - Paraná.

WAGNER, C. L. et al. Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. **Blood**, v. 88, n. 3, p. 907-14, 1996.

ZANATTA, C. F. et al. Rheological behavior, zeta potential, and accelerated stability tests of Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) emulsions containing lyotropic liquid crystals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 36, n. 1, p. 93-101, 2010.