

Avaliação da transmissibilidade ultrassônica do gel fitoterápico de *Copaifera duckei* Dwyer¹

Daliane Ferreira Marinho^{2*}, Elaine Cristina Pacheco de Oliveira³, Jairo Augusto de Sousa Araújo⁴, Inaê Ferreira Pinto⁵, Helen Soares de Lima⁶, Waldiney Pires Moraes⁷, Carlos Eduardo Ambrósio⁸ e Adriana Caroprezo Morini⁹

ABSTRACT.- Marinho D.F., Oliveira E.C.P., Araújo J.A.S., Pinto I.F., Lima H.S., Moraes W.P., Ambrósio C.E. & Morini A.C. 2017. [Evaluation of ultrasonic transmission of *Copaifera duckei* Dwyer herbal gel.] Avaliação da transmissibilidade ultrassônica do gel fitoterápico de *Copaifera duckei* Dwyer. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 37(5):516-520. Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz s/n, Bairro Salé, Santarém, PA 68040-480, Brazil. E-mail: dalianemarinho@yahoo.com.br

This study aimed to evaluate the potential of transmissibility of an herbal gel of *Copaifera duckei* Dwyer at a concentration of 10%. The research was registered with the Brazilian Biodiversity System. The gel of *Copaifera duckei* 10% was guidelineed by the Brazilian Pharmacopoeia and tested on an Ultrasound device (US) operated in the range of 1 MHz. The control groups were selected distilled water and hydro alcoholic gel. The analysis was qualitatively and quantitatively using the model proposed in the literature. The US was scheduled to current modes pulsed/continuous and tested in the intensities (0.2/0.4/0.6/0.8/1.0W/cm²) in 1mm/cm². The data received statistical treatment by Bio-Estat software 5.3 and was admitted to a significance level of ≥ 0.05 . In continuous mode and intensity of 0.2W/cm² gel was considered "good transmitter" at the intensity of 0.4W/cm² and 0.6W/cm² a "moderate Transmitter" and the intensity of 0.8W/cm² and 1.0W/cm² a "poor transmitter". It was concluded that the 10% gel *C. duckei* US did not attenuate US waves in any form or intensity tested; it can thus be used for this treatment being considered a good or moderate transmitter according to the intensity of US.

INDEX TERMS: Ultrasonic transmission, *Copaifera duckei*, herbal gel, phytotherapy, ultrasound, phonophoresis.

¹ Recebido em 22 de julho de 2016.

Aceito para publicação em 10 de outubro de 2016.

² Programa de Pós-Graduação em Biociência (PPGBio), Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Rua da Salvação 18, Bairro Liberdade, Santarém, PA 68040-290, Brasil. Pesquisa de Mestrado com apoio FAPESP-PA. *Autor para correspondência: dalianemarinho@yahoo.com.br

^{3,9} PPGBio, Instituto de Biodiversidade e Floresta (IBEF), UFOPA, Rua Vera Paz s/n, Bairro Salé, 68040-480, Santarém, PA 68040-480.

^{4,5} IBEF, UFOPA, Rua Vera Paz s/n, Bairro Salé, Santarém, PA 68040-480. Bolsista do Programa de Iniciação Científica CNPq/UFOPA.

⁶ PPGBio, UFOPA, Rua Vera Paz s/n, Bairro Salé, Santarém, PA 68040-480. Bolsista do Programa de Iniciação Científica CNPq/UFOPA.

⁷ PPGBio, Instituto de Saúde Coletiva (ISCO), UFOPA, Rua Vera Paz s/n, Bairro Salé, Santarém, 68040-480.

⁸ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Campus de Pirassununga, Av. Duque de Caxias Norte 225, Campus Fernando Costa, Pirassununga, SP 13635-90, Brasil.

RESUMO.- Esse estudo teve por objetivo avaliar o potencial de transmissibilidade ultrassônica de um gel fitoterápico de copaíba da espécie *Copaifera duckei* Dwyer na concentração de 10%. A pesquisa foi registrada junto ao Sistema Brasileiro de Biodiversidade. O gel fitoterápico de *Copaifera duckei* 10% foi manipulado de acordo diretrizes da Farmacopéia Brasileira e testado em um aparelho de Ultrassom (US) operado na faixa de 1 MHz. Como grupos controle foram selecionados a água destilada e o gel hidroalcoólico. A análise ocorreu de forma qualitativa e quantitativa através do modelo proposto na literatura. O US foi programado para modos de corrente pulsado/contínuo e testados nas intensidades (0,2/0,4/0,6/0,8/1,0W/cm²), em 1mm/cm². Os dados receberam tratamento estatístico pelo *software BioEstat* 5.3 e foi admitido um nível de significância de $\geq 0,05$. No modo contínuo e na intensidade de 0.2W/cm² o gel foi considerado "Bom transmissor", na intensidade de

0.4 W/cm² e 0.6W/cm² um “Transmissor moderado” e nas intensidades de 0.8W/cm² e 1.0W/cm² um “Transmissor pobre”. Concluiu-se que o gel de *C. duckei* 10% não atenuou as ondas de US em nenhum modo ou intensidade testado. E pode assim ser adicionado a esse para tratamentos sendo considerado transmissor bom ou moderado de acordo com a intensidade do US.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Transmissibilidade ultrassônica, gel fitoterápico, *Copaifera duckei*, fitoterapia, ultrassom, fonoforese.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS), desde a década de 80 constatou a importância e o aumento do uso de plantas medicinais, sobretudo nos países pobres e em desenvolvimento. Isto devido além do baixo custo, a outro ponto positivo atribuído pela população, que consideram as plantas medicinais menos agressivas ao organismo (OMS 2000).

Há muito tempo o óleoresina (OR) de copaíba é conhecido e utilizado por comunidades tradicionais como recurso natural no tratamento de doenças, como afecções inflamatórias, no processo de cicatrização, antituberculoso, antitumoral, como inseticidas naturais, dentre outras aplicações (Pieri et al. 2009). Destacando-se que muitos de seus efeitos, como o efeito antimicrobiano, anti-inflamatório e cicatrizante já possuem diversos estudos realizados com comprovações científicas (Vieira et al. 2008, Ziech et al. 2013, Melo et al. 2015).

O OR é obtido através da perfuração no tronco da copaíba (Oliveira et al. 2005). É uma substância natural composta de uma parte sólida, resinosa não volátil formada por ácidos diterpênicos e diluída na outra parte temos um óleo essencial composto de sesquiterpenos que possuem maior atividade anti-inflamatória (Rigamonte-Azevedo et al. 2004).

Dentre as diversas espécies de copaíba conhecida, a espécie *Copaifera duckei* Dwyer (*C. duckei*) possui cinco efeitos comumente testados, o antimicrobiano, antimutagênico, embriotóxico, anti-inflamatório e analgésico, além de anti-edematoso, tóxico e fetotóxico. Na composição química do OR de *C. duckei* foram encontrados 35 sesquiterpenos dos 38 identificados no gênero. Quanto aos diterpenos estes foram enumerados em cinco com três derivados (Leandro et al. 2012).

O ultrassom (US) terapêutico é uma das terapias físicas mais utilizadas na Fisioterapia como recurso eletroterapêutico para o controle do processo inflamatório e aceleração do processo de cicatrização tecidual. Dentre as diversas modalidades de aplicação do US terapêutico temos o método de fonoforese, que consiste na aplicação transdérmica de fármacos através das ondas mecânicas produzidas pelo equipamento de US, a fim de combinar os efeitos de ambas as terapias e minimizar os efeitos colaterais destes fármacos no sistema gástrico (Oliveira et al. 2011, Victor et al. 2012). No entanto, para que um fármaco possa ser utilizado por fonoforese este precisa ser capaz de possibilitar a passagem das ondas de ultrassom e não atenuá-las, neutralizando seus efeitos.

Quando falamos da aplicação associada do OR de copaíba com o método de fonoforese ainda são poucas as pes-

quisas desenvolvidas (Brito et al. 2006), e inexistentes em relação à espécie *C. duckei*.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial de transmissibilidade ultrassônica de um gel de *C. duckei* a 10% a fim de atestar sua viabilidade técnica na utilização terapêutica posterior por fonoforese. Para isso foi realizada a confecção de um gel fitoterápico que foi testado através de protocolo de análise da transmissibilidade disponível na literatura através das pesquisas de Guirro et al. (1996) e Cameron & Monroe (1992).

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras. Foram utilizadas três amostras da substância analisada e analisadas em triplicata conforme recomenda a Farmacopéia Brasileira.

Aquisição do óleo de *Copaifera duckei* Dwyer. O óleoresina (OR) da espécie *Copaifera duckei* Dwyer (*C. duckei*) foi selecionado por já ter seu efeito anti-inflamatório comprovado (Rigamonte-Azevedo et al. 2004) e o utilizado nessa pesquisa foi proveniente da Floresta Nacional do Tapajós (FLONA), Km 83, coletado no período chuvoso, de árvores já anteriormente identificadas e georreferenciadas. Sendo que suas exsicatas foram depositadas no Herbário da Embrapa Amazônia Oriental, sob registro *C. duckei* - NID 69/2011.

A caracterização química do OR *C. duckei* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa em parceria com o Centro pluridisciplinar de pesquisas químicas, biológicas e agrícolas da Universidade Federal de Santa Maria. Esta comprovou a autenticidade e identificou os componentes químicos existentes no OR.

Formulação do gel de *C. duckei*. O OR *in natura* foi manipulado com gel hidroalcoólico para uma formulação em gel na concentração de 10%, de acordo com protocolo recomendado pela Farmacopéia Brasileira e manipulado por farmácia de manipulação credenciada na cidade de Santarém-Pará, de acordo com o protocolo para formulação do gel base de carbopol acrescido do OR de *C. duckei*.

A escolha da manipulação do gel de OR copaíba na concentração 10% baseou-se nas recomendações da Farmacopéia Brasileira para outros OR de copaíba na formulação em pomada e para formulações em gel de outras plantas medicinais. Além do fato de ser a formulação em gel a mais indicada para a utilização com a técnica de fonoforese.

Equipamento de ultrassom. Foi utilizado um aparelho de US, o *Sonopulse Special* Ibramed®. Este operando na faixa de 1MHz, com área de radiação específica (ERA) de 3,5cm² e 1cm², este foi calibrado através de uma balança ultra-sônica. Sendo que os testes foram realizados com o cabeçote de maior ERA.

Para a avaliação qualitativa O US foi programado na frequência de 1MHz com ERA de 3,5cm² e modos de corrente pulsados e contínuo. Sendo que no modo pulsado foi testado com frequência do pulso = 100Hz - 20% e 50%; intensidade média variando de 0,2 a 1,0 W/cm² (0,2/0,4/0,6/0,8/1,0) e tempo de aplicação de 1 min/cm².

Teste de transmissibilidade. O teste de transmissibilidade realizado foi baseado em modelos propostos por Guirro et al. (1996) e Cameron & Monroe (1992). Este sistema consistiu na análise qualitativa e quantitativa do gel a ser utilizado com ultrassom terapêutico através da técnica de fonoforese.

O gel de *C. duckei* 10% foi testado nesse sistema e seus resultados foram comparados com os obtidos com a água destilada e o gel carbopol hidroalcoólico, ambos considerados como grupos controle.

No modelo utilizado para a análise qualitativa foi fixado em volta do cabeçote ultrassônico um adaptador de acrílico. Em seguida foi colocada uma camada de cinco milímetros de espessura do gel a ser analisado sobre a superfície do cabeçote, sendo que esta foi aferida por meio de uma régua milimetrada. Após esse procedimento foi colocada uma camada de água até esta atingir uma espessura também de cinco milímetros recobrando toda a área do gel.

Na análise qualitativa os géis foram classificados como:

1. “Condutibilidade negativa”: utilizado para os géis que não produziram movimentação na superfície da água no sistema de teste. E excluídos da análise quantitativa do experimento.
2. “Condutibilidade positiva”: utilizado para os géis que produziram movimentação na superfície da água no sistema de teste e submetidos à análise quantitativa.

Os grupos de teste que passaram para a análise quantitativa foram analisados em um sistema onde sobre uma balança analítica foi posicionado um recipiente de plástico e neste foi inserido um cone de metal e em seguida colocado água destilada de modo a cobrir todo o cone. No cabeçote do US foi colocado o mesmo adaptador de acrílico com cinco milímetros de gel, da mesma forma utilizada na avaliação qualitativa, sobre o qual foi depositado separadamente os géis de carbopol e *C. duckei* 10%.

O cabeçote do US com a adaptação e o gel de escolha foram então posicionados de forma a ficar imersos na água sem tocar a extremidade do cone. Para o grupo apenas com água destilada o sistema se constituiu de apenas o cabeçote imerso em água destilada a uma distância de 1cm da extremidade do cone metálico. Em seguida, o equipamento foi ligado na modalidade selecionada para o teste.

Como critério de análise dos resultados foi considerado que quanto maior o valor registrado pelo *display* da balança maior a energia ultrassônica transmitida pelo cabeçote do equipamento. Os testes foram iniciados com a quantificação da água, tomada como parâmetro para a análise dos géis, a qual foi mensurada por cinco vezes, a fim de atingir maior índice de confiabilidade. Descartando-se o maior e o menor valor obtidos.

Cada um dos géis foi submetido a três procedimentos de teste e o valor registrado na balança em cada uma das potências ultrassônicas utilizadas foi coletado para posterior análise. A média de transmissão ultrassônica atingida por cada um dos géis com seus respectivos desvios padrão foi classificada em termos percentuais, tomando-se por comparação os valores obtidos pela energia transmitida pelo US através da água destilada.

Os géis foram considerados “bons transmissores” quando tiveram valores iguais ou superiores a 80% dos encontrados pelo US usando a água como meio de transmissão; os que permitiram entre 40% e 79% de passagem da onda foram classificados como de “transmissão moderada” e os com índices menores que 40% foram considerados “transmissores pobres”.

Análise estatística. Os dados relativos a estas análises foram armazenados e tabulados em planilhas de *Software Microsoft Excel 2007®* e posteriormente receberam tratamento estatístico conforme estatística descritiva, considerando-se suas médias, desvios padrão e índices percentuais. Foi admitido o nível de significância considerando o valor de $p \geq 0,05$ (Fontelles 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de transmissibilidade - Avaliação qualitativa

No Quadro 1 estão apresentados os resultados da avaliação qualitativa que precedeu a avaliação quantitativa da transmissibilidade ultrassônica do gel de *C. duckei* 10% testado.

Quadro 1. Resultado do teste de transmissibilidade qualitativa do gel de *Copaifera duckei* 10% com o ultrassom nos modos contínuo, pulsado 20% e pulsado 50%

Modo US	Avaliação qualitativa da transmissibilidade			
	Intensidade (W/cm ²)	Substância testada como meio de acoplamento		
		Gel carbopol	Água destilada	Gel <i>C. duckei</i> 10%
Contínuo	0.2 W/cm ²	+	+	+
	0.4 W/cm ²	+	+	+
	0.6 W/cm ²	+	+	+
	0.8 W/cm ²	+	+	+
	1.0 W/cm ²	+	+	+
Pulsado 20%	0.2 W/cm ²	+	+	-
	0.4 W/cm ²	+	+	+
	0.6 W/cm ²	+	+	+
	0.8 W/cm ²	+	+	+
	1.0 W/cm ²	+	+	+
Pulsado 50%	0.2 W/cm ²	+	+	-
	0.4 W/cm ²	+	+	+
	0.6 W/cm ²	+	+	+
	0.8 W/cm ²	+	+	+
	1.0 W/cm ²	+	+	+

+ Transmissibilidade observada, - Transmissibilidade não observada.

Nas intensidades de 0.2W/cm² no modo pulsado 20% e 50% com o gel de *C. duckei* 10% as ondas de ultrassom não foram observadas, estas foram atenuadas pela substância. Assim, nessas intensidades não se recomendariam o uso de do gel de *C. duckei* 10%. Algo parecido ocorreu na pesquisa de Chorilli et al. (2005), que concluiu que a intensidade e frequência interferem na transmissibilidade das ondas de forma proporcional, quanto maior elas são maiores são os índices de transmissão das ondas de ultrassom.

Teste de transmissibilidade - Avaliação quantitativa

US Contínuo. Na Figura 1 estão apresentados os resultados encontrados na análise utilizando o US contínuo, nas intensidades de interesse 0.2/0.4/0.6/0.8/1.0W/cm².

No modo contínuo e na intensidade de 0.2W/cm² o gel

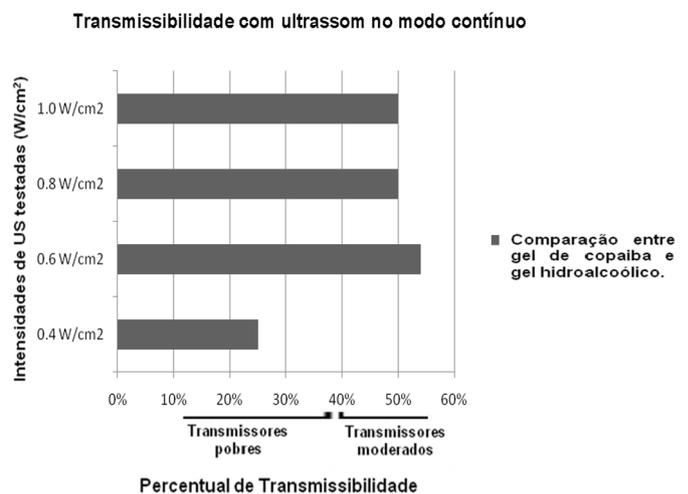


Fig.1. Resultado percentual do teste de transmissibilidade quantitativa do gel de *Copaifera duckei* 10% com o ultrassom no modo contínuo em comparação aos valores obtidos com o gel hidroalcoólico. *Não foi possível realizar a comparação com o grupo água destilada devido a não observância de valores no visor da balança do referido grupo.

de copaiba foi considerado um “Bom transmissor”. Na intensidade de 0.4 W/cm^2 e 0.6 W/cm^2 este foi considerado um “Transmissor moderado” e nas intensidades de 0.8 W/cm^2 e 1.0 W/cm^2 este foi considerado um “Transmissor pobre”, tanto quando comparado a água destilada como quando comparado ao gel carbopol comercial. Assim, quando no modo contínuo podemos observar que os melhores resultados foram obtidos com a utilização do US nas menores intensidades.

Na análise com gel carbopol contínuo, além dos valores captados pela balança foi possível observar uma vibração na superfície da água destilada contida no interior do *ba-cker* utilizado no sistema de análise.

US pulsado 20%. Na análise realizada com o US no modo pulsado 100Hz - 20% não foram observadas medidas capturadas pela balança (índice = 0.00g). No entanto, foi possível observar a formação de uma linha de transmissão das ondas de US entre o cabeçote e o cone (observável através da formação de micro-bolhas entre estes). O mesmo ocorreu quando do teste com o gel hidroalcoólico no modo pulsado 20% em todas as intensidades.

Já quanto ao gel de *C. duckei* 10% as medidas capturadas pela balança foram de valores negativos até a intensidade de 0.6 W/cm^2 e nas intensidades maiores, de 0.8 W/cm^2 e 1.0 W/cm^2 estas apresentaram valores positivos.

Na modalidade de US pulsado 20% apenas o gel de *C. duckei* 10% apresentou transmissibilidade positiva. Este não promoveu atenuação das ondas de US e apresentou viabilidade técnica para a veiculação dos efeitos terapêuticos da fonoforese.

US pulsado 50%. Na Figura 2 estão apresentados os resultados para análise com o US pulsado 50%.

No entanto, no modo pulsado 100Hz - 50% na intensidade de 0.6 W/cm^2 , 0.8 W/cm^2 e 1.0 W/cm^2 o gel de copaiba foi considerado um “Transmissor moderado” e na intensi-

dade de 0.4 W/cm^2 este foi considerado um “Transmissor pobre”, isso quando comparado ao gel hidroalcoólico comercial. Assim, quando no modo pulsado 50% os melhores resultados foram obtidos com a utilização do US nas intensidades acima de $0,6 \text{ W/cm}^2$.

Com a água destilada utilizando o US pulsado 50% não foram registrados valores no visor da balança em todas as intensidades testadas. Quando utilizado gel carbopol apenas na intensidade de 0.2 W/cm^2 a balança não registrou valores. Já quando foi utilizado o gel de *C. duckei* 10% foram encontrados valores positivos para todas as intensidades testadas. Assim, não foi possível realizar comparação entre os valores obtidos com o gel de *C. duckei* 10% e as outras substâncias testadas.

Warren et al. (1976) concluíram que as formulações em gel por eles testadas se apresentaram como bons condutores de ondas ultrassônicas quando comparadas com outros meios acopladores a base de creme e de hidrocortisona, que atenuaram as ondas de ultrassom. O que podemos comprovar nessa pesquisa onde os melhores resultados foram encontrados nos testes realizados com gel e os piores resultados apenas com a água destilada. Principalmente na modalidade US pulsado 100Hz - 20%.

Divergindo do que se acreditava, Balmaseda Junior et al. (1976) concluíram que a água não pode ser considerada um bom condutor pois esta, juntamente com o óleo mineral, apresentou um alto grau de atenuação e de impedância das ondas ultrassônicas. Já a formulação em gel apresentou-se com baixo grau de atenuação e de impedância. Sendo a mais indicada para o uso em fonoforese como ocorreu nessa pesquisa, onde os piores resultados encontrados foram com a água destilada, o que dificultou e até mesmo impossibilitou a comparação entre os resultados para a análise segundo a metodologia estabelecida.

Podemos afirmar que os melhores resultados de transmissibilidade das ondas ultrassônicas foram obtidos com a utilização do US no modo contínuo devido a maior otimização do tempo de contato da substância com o tecido, a fim de garantir os maiores efeitos da cavitação ultrassônica. Sendo que a escolha do modo pode ser decisiva para a qualidade da deposição da droga pretendida, no caso dessa pesquisa os ativos de OR de *C. duckei*. Resultados semelhantes foram sugeridos pelas pesquisas de Olsson et al. (2006).

No entanto, conforme afirmam Parizotto et al. (2003), na prática clínica é comum o uso no modo pulsado a fim de associar a técnica ao processo de reparação tecidual evitando os efeitos adversos do uso do US na fase inflamatória do processo de reparação do tecido lesado. Sendo necessário assim, um maior entendimento do assunto a fim de sugerir possíveis mudanças na prática clínica. Visto que os melhores resultados encontrados da fonoforese com gel de *C. duckei* 10% foram encontrados no modo contínuo contrapondo ao que relata e recomenda a literatura para a aceleração do processo de reparação tecidual recomendando o modo pulsado.

Não foram encontradas pesquisas anteriores publicadas com formulações semi-sólidas com *C. duckei*. E, além disso, uma das grandes dificuldades na administração do OR de *C. duckei* diz respeito à permeação do mesmo. Estudos quanto

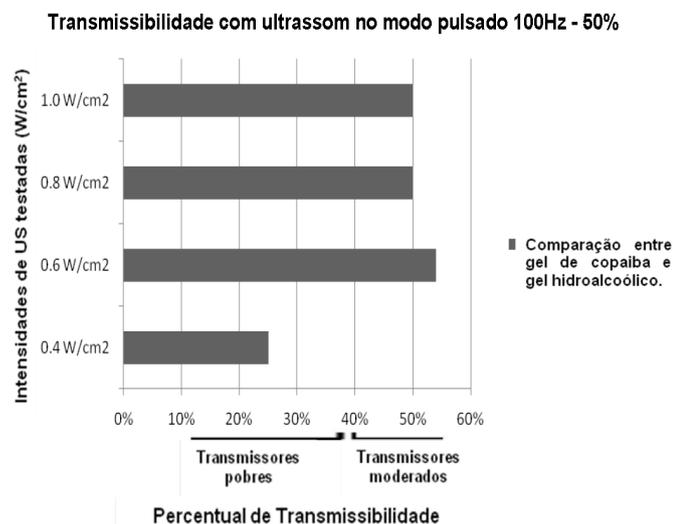


Fig.2. Resultado percentual do teste de transmissibilidade quantitativa do gel de *Copaifera duckei* 10% com o ultrassom no modo pulsado 100Hz - 50% em comparação aos valores obtidos com o gel hidroalcoólico. *Não foi possível realizar a comparação com o grupo água destilada devido a não observância de valores no visor da balança do referido grupo.

à permeação do OR de *C. duckei* também não foram encontrados na literatura. No entanto, Lucca et al. (2015) concluíram que a permeação de β -cariofileno por nanoemulsão apresentou uma melhor penetração na pele em comparação com o óleo *in natura*, pois tal formulação atingiu a derme, uma camada mais profunda. Assim, a escolha da formulação por nanoemulsão em gel seria a melhor escolha quando do objetivo de permeação dos ativos do OR de copaíba.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o gel de *Copaifera duckei* 10% apresentou transmissibilidade positiva para utilização por fonoforese, com os melhores resultados obtidos no modo contínuo e nas maiores intensidades, e quando o modo pulsado estiver a 50%. Assim, sugere-se com este estudo que a transmissibilidade é maior quanto maior for à frequência de exposição sobre a pele.

O gel de *C. duckei* 10% apresentou assim viabilidade técnica para seu uso terapêutico por fonoforese por não atenuar as ondas de ultrassom. Podendo servir tais dados como subsídios para outras pesquisas e testes com vistas à inclusão da formulação semi-sólida com *C. duckei* na lista de fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira.

No entanto, sugerem-se estudos adicionais a fim de testar outras frequências e intensidade de ultrassom contínuo e pulsado, bem como testes com o gel em outras proporções do OR de *C. duckei*. Além de estudos de padronização do gel.

Agradecimentos.- À Universidade Federal do Oeste do Pará, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Pará e a todas as pessoas que contribuíram em diferentes momentos para que este trabalho fosse concluído.

Conflitos de interesses.- Os autores não possuem conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- Balmaseda Jr M.T., Fatehi M.T., Koozekanani S.H. & Lee A.L. 1986. Ultrasound therapy: a comparative study of different coupling media. Arch. Phys. Med. Rehabil. 67:14750. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3954574>>
- Brito M.V.H., Figueiredo R.C., Tavares M.L.C., Silveira T.S. & Cantanhêde G. 2006. Efeito dos óleos de andiroba e copaíba na miosite induzida em ratos. Rev. Para. Med. 20(2). Disponível em <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?pid=S0101-59072006000200004&script=sci_arttext>
- Cameron M.H. & Monroe L.G. 1992. Relative transmission of ultrasound by media customarily used for phonophoresis. Phys. Ther. 72:142-148. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1549636>>
- Chorilli M., Carvalho L.S., Pires-de-Campos M.S.M., Leonardi G.R., Ribeiro M.C.A.P. & Polacow M.L.O. 2005. Avaliação histológica da hipoderme de suínos submetida a tratamento mesoterápico com tiratricol, cafeína e hialuronidase. Acta farm. bonaer. 24(1):14-8. Disponível em <http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/1/LAJOP_24_1_1_2_69M2738QDX.pdf>
- Fontelles M.J. 2012. Bioestatística aplicada à pesquisa experimental. Vol.2. Editora Livraria da Física, São Paulo.
- Guirro R.R.J., Elias D., Serrão F. & Bucalon A.J. 1996. Dosimetria de aparelhos de ultra-som terapêutico utilizando balança semianalítica. Rev. bras. fisioter. 1(2):79-82. Disponível em <<http://www.rbf-bjpt.org.br/article/51829c641ef1fa2b1000000f>>
- Leandro L.M., Vargas F.S., Barbosa P.C.S., Neves J.K.O., Silva J.A. & Veiga-Junior V.F. 2012. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) Oleoresins Molecules (Basel). Disponível em <<http://www.mdpi.com/1420-3049/17/4/3866>>
- Lucca L.G., Matos S.P., Borille B.T., Dias D.O., Teixeira H.F., Veiga Jr V.F., Limberger R.P. & Koester L.S. 2015. Determination of β -caryophyllene skin permeation/retention from crude copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne) and respective oil based nano emulsion using a novel HS-GC/MS method. J. pharm. biomed. anal. 104:144-148. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708514005408>>
- Melo B.A., Almeida A.C.F., Juliana F.S. & Silva R.M. 2015. Atividade inseticida do óleo de *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaiba) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Rev. cuba. plantas med. 20(4):419-428. Disponível em <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-962015000400006>
- Oliveira U.D., Chiuchetta S. & Marins J. 2005. Avaliação do ciclo celular de *Aspergillus nidulans* exposto ao extrato da planta *Copaifera officinalis* L. SaBios-Rev. Saúde e Biol. 1(2):42-47. Disponível em <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/36>>
- Oliveira R.F., Pires D.A.P. & Soares C.P. 2011. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on 1929 fibroblasts. Arch. Med. Sci. 7(2):224-229. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3258710/>>
- Olsson D.C., Martins V.M.V., Martins E. & Mazzanti A. 2006. Efeitos da estimulação ultra-sônica pulsada e contínua no processo cicatricial de ratos submetidos à celiotomia. Ciênc. rural 36(3):865-872, Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n3/a21v36n3.pdf>>
- OMS 2000. Traditional Medicine: definitions. Organização Mundial de Saúde, Genebra. Disponível em <<http://www.who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/>>
- Parizotto N.A., Koeke P.U.Z., Moreno B.G.D. & Lourencin F.T.C. 2003. Utilização da fonoforese em desordens músculo-esquelética: uma metanálise. Rev. bras. Fisioter. 7(1):49-55. Disponível em <<http://www.rbf-bjpt.org.br/files/v7n1/v7n1a02.pdf>>
- Pieri F.A., Mussi M.C. & Moreira M.A.S. 2009. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. Rev. bras. plantas med. 11(4):465-472. Disponível em <www.scielo.br/pdf/rbpm/v11n4/a16v11n4.pdf>
- Rigamonte-Azevedo O.C., Wadt P.G.S., Wadt L.H.O., Veiga Junior V.F., Pinto A.C. & Regiani A.R. 2004. Variabilidade química e física do óleo-resina de *Copaifera* spp. no sudoeste da Amazônia brasileira. Revta Bras. Oleagin. Fibrosas, Campina Grande, 8(2/3):851-861, Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/237205489_VARIABILIDADE_QUIMICA_E_FISICA_DO_OLEORESINA_DE_Copaifera_spp_NO_SUDOESTE_DA_AMAZONIA_BRASILEIRA>
- Vieira R.C., Bombardiere E., Oliveira J.J., Lino-Júnior R.S., Brito L.A.B. & Junqueira-Kipnis A.P. 2008. Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho. Pesq. Vet. Bras. 28(8):358-366. Disponível em <<http://www.pvb.com.br/?link=verart&tipo=ID&campo1=272>>
- Victor E.G., Silveira P.C., Possato J.C., Rosa G.L., Munari U.B., Souza C.T., Pinho R.A., Silva L., Streck E.L. & Paula M.M. 2012. Pulsed ultrasound associated with gold nanoparticle gel reduces oxidative stress parameters and expression of pro-inflammatory molecules in an animal model of muscle injury. J. Nanobiotechnology. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22410000>>
- Warren C.G., Koblaski J.N. & Sigelmann R.A. 1976. Ultrasound coupling media: their relative transmissivity. Arch. Phys. Med. Rehabil. 57:218-222. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1275671>>
- Ziech R.E., Farias L.D., Balzan C., Ziech M.F., Heinzmann B.M., Lameira O.A. & Vargas A.C. 2013. Atividade antimicrobiana do oleoresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de casos de otites de cães. Pesq. Vet. Bras. 33(7):909-913. Disponível em <<http://www.pvb.com.br/?link=verart&tipo=ID&campo1=1238>>