

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

ESTUDOS TECNOLÓGICOS PARA A OBTENÇÃO DE FORMA
FARMACÊUTICA SÓLIDA A PARTIR DE *Endopleura uchi* e
Uncaria tomentosa

RODRIGO QUEIROZ DE LIMA

MANAUS

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

RODRIGO QUEIROZ DE LIMA

ESTUDOS TECNOLÓGICOS PARA A OBTENÇÃO DE FORMA
FARMACÊUTICA SÓLIDA A PARTIR DE *Endopleura uchi* e
Uncaria tomentosa

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

Orientadora: Tatiane Pereira de Souza

Co-orientador: João Vicente Braga de Souza

MANAUS

2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

L732e Lima, Rodrigo Queiroz de
Estudos tecnológicos para a obtenção de forma farmacêutica
sólida a partir de Endopleura uchi e Uncaria tomentosa / Rodrigo
Queiroz de Lima. 2018
102 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Tatiane Pereira de Souza
Coorientador: João Vicente Braga de Souza
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Plantas Mediciniais. 2. Desenvolvimento Tecnológico. 3.
Fitoterapia. 4. Endopleura uchi. 5. Uncaria tomentosa. I. Souza,
Tatiane Pereira de II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

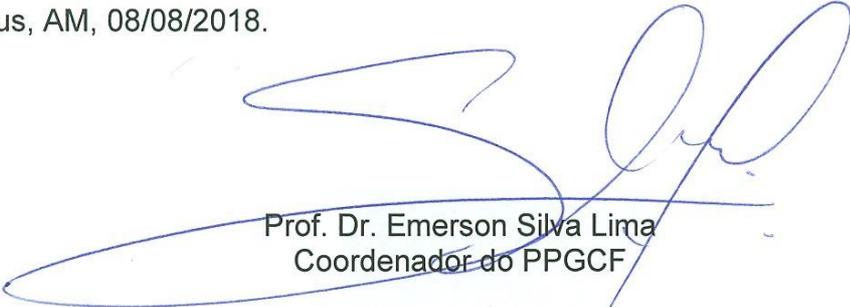
“Estudos tecnológicos para obtenção de forma farmacêutica sólida a partir de *Endopleura uchi* e *Uncaria tomentosa*”.

DISCENTE: RODRIGO QUEIROZ DE LIMA

PARECER:

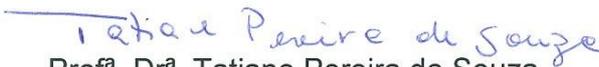
Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, AM, 08/08/2018.

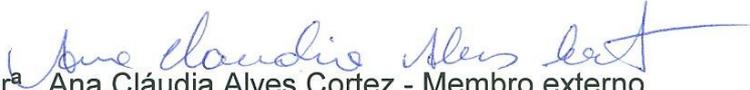


Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Coordenador do PPGCF

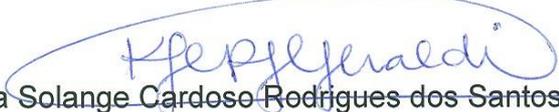
A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes professores:



Prof.^a. Dr.^a. Tatiane Pereira de Souza
Orientadora e presidente da banca



Prof.^a. Dr.^a. Ana Cláudia Alves Cortez - Membro externo
Membro externo (INPA)



Prof.^a. Dr.^a. Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi - Membro interno
Membro interno (UFAM)

Dedico aos meus pais Mariene e Marcilio, meu irmão Renan, toda minha família e todos meus amigos, pela compreensão, apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem Ele nada disso seria possível desde o início da minha vida;

A minha mãe, Mariene, que sempre possibilitou eu continuar estudando e realizando meus sonhos. A meu irmão, meu pai e toda minha família;

A minha orientadora Prof^a Dr^a Tatiane Pereira de Souza, pela oportunidade, pelo acompanhamento constante e por possibilitar o desenvolvimento desta pesquisa;

Ao Prof^o. Dr. João Vicente e Dr. Ana Cortez, pelo apoio contínuo nas atividades do laboratório de micologia do INPA;

À Prof^a Dr^a Katia Solange pela contribuição em ceder as instalações e equipamentos do Laboratório de Controle de qualidade, como pela paciência e a disponibilidade;

Ao Prof.^o Dr. Emerson Lima e Dr^a Marne Vasconcelos por permitir o uso das instalações do BIOPHAR, para realização de análises;

À Prof^a Dra. Ellen Paes e Doroth que sempre possibilitaram uso do Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia da UFAM;

Aos colaboradores Dr. Luís Alexandre, Áurea Lanchote, Juan Revilla, Magda Rhayanny, Luiz Alberto;

Aos vários professores e funcionários da UFAM José Neto, Karen Magalhães, Igor Rafael, Pritesh Lalwani, Fernanda Simplicio, Giane Alves, Keiti, Cleo e a Dona Lurdes;

Aos amigos(as) do LIDETEF, Patrícia, Jesus, Jandiara, Fabrício, Deyse, Arine Heloísa, Juliana, Letícia, Fernanda, Sayuri, Nathasha, Karla, em especial Newton Leiros por ter sido um pai para mim no laboratório;

Aos amigos da UFAM Rodrigo Silva, Janaína, Samir, Cibele, Diana, Diego;

Aos amigos(as) do Laboratório de Micologia (INPA), Silviane, Ralyvan, Beatriz, Michele, Katia, Flávia, Marielle, Walter, Ingrid, Dra. Erica, Leonardo, Luan, pela recepção, apoio e auxílio nos ensaios;

Aos amigos eternos e queridos Sarah Pessoa, Sara Jessica, Rodrigo Ribeiro, Carlos Eduardo, Rodrigo Raison, Márcia Moura, Ledjane, Leonard, Leilane Bentes, Thalita Machado, Carolina Valentim, Marcelia, Angela, Gutemberg, Ana, Stefani, Márcia, Taynara, Maylon, Gleide Martins, Fabio, Tibério, Marília, Kelly, Tharcyara, Geane e Katia.

À agência de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa. À todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado!

*Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso!
Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor,
o seu Deus, estará com você por onde você andar*
Josué 1.9

RESUMO

Fitoterápico é um medicamento obtido através de plantas medicinais e constitui uma opção terapêutica eficaz e segura. Atualmente, tem sido uma prioridade a investigação clínica de plantas medicinais para obtenção desses produtos farmacêuticos. Desta forma, através de amplas pesquisas bibliográficas, verificou-se que duas plantas destacam-se por suas atividades biológicas como a *Endopleura uchi* (uxi amarelo) e a *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato). Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver formas farmacêuticas sólidas, pós e granulados, a partir das cascas de *E. uchi* e *U. tomentosa*. A partir disso, foram produzidas soluções extrativas (SE) através do método de maceração dinâmica e decocção sob refluxo. As SE foram secas em equipamento de *spray dryer*, sendo avaliada a viabilidade de obtenção destes produtos secos na forma isolada e em associação das espécies resultando nos Extratos Secos por Aspersão (ESA), Produtos (PSA) e Mistura (MSA). Foram realizados ensaios com os produtos secos (ESA, PSA e MSA) para avaliação das propriedades tecnológicas, doseamento dos marcadores fitoquímicos e algumas atividades biológicas: antifúngica, citotoxicidade e anti-inflamatória. Sendo avaliando ainda a viabilidade de obtenção de granulados por via úmida tradicional e pela técnica empregando o leito fluidizado. Com a execução do trabalho nota-se que lotes das matérias-primas vegetal (MPV) de *E. uchi* e *U. tomentosa* apresentaram parâmetros de controle de qualidade aceitáveis, possibilitando prosseguimento das atividades. Em relação as características físico-químicas da SE hidroetanolicas (He) e aquosas (Aq) apresentaram-se semelhantes a outros estudos na literatura com a mesma espécie vegetal. No entanto na operação de secagem das SE He de *E. uchi* o rendimento para obter ESA/PSA foi de 56,92 a 66,09% e para a *U. tomentosa* variou de 54,43 a 62,95%, sendo valores bem superior se comparado ao rendimento das SE Aq que foi de 5,87 a 37,77 %. Quanto ao teor de bergenina nos produtos secos de *E. uchi* variaram de 33,42 a 40,76% , enquanto os teores de mitrafilina nos produtos derivados da *U. tomentosa* variaram de 0,77 a 0,97% sendo semelhante aos valores da literatura. Em relação a MSA He rendimento operacional foi satisfatório (68.04%) no entanto resultou em um pó com elevado teor de umidade (10,35%), baixa densidade, pobre fluidez e tendência a aglomeração. Quando comparado o teor de bergenina e mitrafilina na amostra de MSA ou a mistura física dos extratos secos, observa-se que, do ponto de vista químico, aparentemente não há interação negativa entre as substâncias. Os resultados das atividades biológicas evidenciaram que a espécie de *E. uchi* foi a mais promissora se comparada a *U. tomentosa*, sendo concentração inibitória mínima de 50 µg/mL contra *Candida albicans*, não apresentaram potencial de citotoxicidade em linhagem de células MRC5 e ação anti-inflamatório por causa inibição de óxido nítrico a partir das concentrações de 2,5 µg/mL. Por isso optou-se por produzir granulado de *E. uchi*. A granulação por via úmida clássica do PSA He *E. uchi* possibilitou a obtenção de granulados com propriedades tecnológicas favoráveis. Em relação ao ensaio piloto com uso do leito fluidizado foi viável, no entanto, há necessidade da otimização dos parâmetros do processo. O perfil de dissolução de todos os granulados contendo *E. uchi* demonstrou que eles podem ser classificados como forma farmacêutica de liberação rápida. Portanto, foi possível realizar estudos tecnológicos para obtenção de formas farmacêuticas sólidas a partir das cascas do caule de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

Palavras-chave: Plantas Medicinais; Desenvolvimento Tecnológico; Fitoterapia; *Endopleura uchi*; *Uncaria tomentosa*.

ABSTRACT

Herbal product is a drug obtained through medicinal plants and is an effective and safe therapeutic option. Currently, clinical research on medicinal plants to obtain these pharmaceutical products has been a priority. Thus, through extensive bibliographical research, it was verified that two plants stand out for their biological activities like *Endopleura uchi* (uxi) and *Uncaria tomentosa* (cat's claw). The aim of this study was to develop solid dosage forms, powders and granulates, from the bark of stem of *E. uchi* and *U. tomentosa*. From this, extractive solutions (SE) were produced by the dynamic maceration and decoction under reflux method. The SE were dried in *spray dryer* equipment, evaluating the feasibility of obtaining these dried products in isolated form and in association of the species resulting in the Dry Spraying Extracts (ESA), Products (PSA) and Mixture (MSA). Tests were performed with dry products (ESA, PSA and MSA) to evaluate the technological properties, assay of phytochemical markers and some biological activities: antifungal, cytotoxicity and anti-inflammatory. It is also evaluating the viability of obtaining traditional wet granulates and the technique using the fluidized bed. With the execution of the work, it can be noticed that lots of the vegetable raw materials (MPV) of *E. uchi* and *U. tomentosa* presented acceptable quality control parameters, enabling the continuation of activities. In relation to the physical-chemical characteristics of the hydroethanol (HE) and aqueous (Aq) SE were similar to other studies in the literature with the same plant species. However in the drying operation of *E. uchi* the yield to obtain ESA / PSA was 56.92 to 66.09% and for *U. tomentosa* ranged from 54.43 to 62.95%, being well values higher than that of the Aq SE which was 5.87 to 37.77%. As for the bergenin content in dried *E. uchi* products ranged from 33.42 to 40.76%, while the levels of mitraphil in *U. tomentosa* products varied from 0.77 to 0.97%, similar to the values of literature. Regarding MSA He satisfactory operational yield (68.04%) however resulted in a powder with high moisture content (10.35%), low density, poor flowability and tendency to agglomeration. When comparing the content of bergenin and mitraphilin in the MSA sample or the physical mixture of the dried extracts, it is observed that from the chemical point of view, there is apparently no negative interaction between the substances. The results of the biological activities evidenced that the *E. uchi* species was the most promising when compared to *U. tomentosa*, with a minimum inhibitory concentration of 50 µg / mL against *Candida albicans*, showed no potential for cytotoxicity in MRC5 cell line and anti-inflammatory because of inhibition of nitric oxide from the concentrations of 2.5 µg / mL. Therefore it was chosen to produce *E. uchi* granules. The classical wet granulation of the He *E. uchi* PSA made it possible to obtain granules with favorable technological properties. In relation to the pilot test using the fluidized bed was feasible, however, there is a need for optimization of the process parameters. The dissolution profile of all granules containing *E. uchi* showed that they can be classified as a fast release pharmaceutical form. Therefore, it was possible to carry out technological studies to obtain solid dosage forms from the bark of stem of *E. uchi* and *U. tomentosa*.

Key words: Plants, Medicinal; Technological Development; Phytotherapy; *Endopleura uchi*; *Uncaria tomentosa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Uxizeiro (<i>Endopleura uchi</i>) | 21 |
| Figura 2 – Estrutura química da bergenina..... | 23 |
| Figura 3 – Dissociação da bergenina..... | 24 |
| Figura 4 – Unha de gato (<i>Uncaria tomentosa</i>)..... | 30 |
| Figura 5 – Alcaloides oxindólicos pentacíclicos da <i>U. tomentosa</i> | 31 |
| Figura 6 – Fluxograma do procedimento experimental. | 42 |
| Figura 7 – Esquema da microplaca de 96 poços esquema para realizar o ensaio antifúngico por microdiluição..... | 55 |
| Figura 8 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas da MPV de <i>E. uchi</i> | 65 |
| Figura 9 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas da MPV de <i>U. tomentosa</i> | 66 |
| Figura 10 – Gráfico do teor de polifenóis totais nas SE de <i>E. uchi</i> e <i>U. tomentosa</i> | 70 |
| Figura 11 – Características macroscópicas do ESA He <i>E. uchi</i> (A), PSA He de <i>E. uchi</i> (B), MSA He (C), ESA He <i>U. tomentosa</i> (D) e PSA He de <i>U. tomentosa</i> (E). | 71 |
| Figura 12 – Características macroscópicas do ESA Aq <i>E. uchi</i> (A), ESA Aq <i>U. tomentosa</i> (B) e MSA Aq (C). | 74 |
| Figura 13 – Efeito das amostras sobre a viabilidade em linhagem de células MRC5 expostos ao tratamento com diferentes concentrações 3,12 a 100 µg/mL após 24 horas de tratamento com as amostras ESA He <i>E. uchi</i> (A) e ESA He <i>U. tomentosa</i> (B)..... | 79 |
| Figura 14 – Ensaio concentração-resposta do ESA He <i>E. uchi</i> sobre a inibição de óxido nítrico (NO [•]) em sobrenadantes de linhagem de células Cell Raw 24.7 estimulados por 1 µg/mL de lipopolissacarídeo utilizando reagente de Griess..... | 80 |

| | |
|---|-----|
| Figura 15 – Características macroscópicas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He de <i>E. uchi</i> . | 81 |
| Figura 16 – Características macroscópicas dos granulados GRA B (A) e F4 (B). | 83 |
| Figura 17 – Varreduras em espectrofotômetro UV-Vis das amostras ESA He e PSA He de <i>E. uchi</i> solubilizados em água; como também os componentes da formula Aerosil [®] , amido, lactose, celulose microcristalina, água e etanol. | 85 |
| Figura 18 – Curva de calibração do ESA He <i>E. uchi</i> em água em 272 nm. | 86 |
| Figura 19 – Gráfico do perfil de dissolução dos granulados de <i>E. uchi</i> . F1 (celulose microcristalina), F2 (amido modificado), F3 (lactose) e F4. | 86 |
| Figura 20 – Histograma da distribuição de partículas do MPV <i>E. uchi</i> . | 100 |
| Figura 21 – Histograma da distribuição de partículas de <i>U. tomentosa</i> . | 100 |
| Figura 22 – Histograma da distribuição de partículas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He <i>E. uchi</i> . | 101 |
| Figura 23 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas dos granulados F1, F2 e F3 contendo PSA He <i>E. uchi</i> . | 101 |
| Figura 24 – Histograma da distribuição de partículas dos granulados GRA B e F4 de <i>E. uchi</i> . | 102 |
| Figura 25 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas dos granulados GRA B e F4 de <i>E. uchi</i> . | 102 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Classificação taxonômica da espécie botânica <i>E. uchi</i> | 20 |
| Tabela 2 – Classificação taxonômica da espécie botânica <i>U. tomentosa</i> | 30 |
| Tabela 3 – Parâmetros de secagem no <i>Spray dryer</i> | 51 |
| Tabela 4 – Composição dos granulados contendo 3% de PSA He <i>E. uchi</i> | 58 |
| Tabela 5 – Granulados apenas com excipientes para granulação no minileito fluidizado | 59 |
| Tabela 6 – Caracterização da MPV de <i>E. uchi</i> | 63 |
| Tabela 7 – Caracterização da MPV de <i>U. tomentosa</i> | 64 |
| Tabela 8 – Caracterização físico-química das SE He de <i>E. uchi</i> e <i>U. tomentosa</i> | 68 |
| Tabela 9 – Caracterização físico-química das SE Aq de <i>E. uchi</i> e <i>U. tomentosa</i> | 70 |
| Tabela 10 – Características macroscópicas dos produtos secos (ESA, PSA e MSA). | 71 |
| Tabela 11 – Caracterização do ESA He e PSA He de <i>E. uchi</i> | 72 |
| Tabela 12 – Caracterização do ESA He e PSA He de <i>U. tomentosa</i> | 72 |
| Tabela 13 – Caracterização do MSA He. | 73 |
| Tabela 14 – Características macroscópicas do ESA Aq <i>E. uchi</i> , ESA Aq <i>U. tomentosa</i> e MSA Aq. | 73 |
| Tabela 15 – Quantificação do teor de marcador bergenina e polifenóis totais nas amostras de ESA, PSA e MSA..... | 75 |
| Tabela 16 – Quantificação do teor de marcador mitrafilina e polifenóis totais nas amostras de ESA, PSA e MAS contendo <i>U. tomentosa</i> | 76 |
| Tabela 17 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra cepa de <i>C. albicans</i> ATCC 36232 | 77 |
| Tabela 18 – Viabilidade celular (Concentração Inibitória - CI ₅₀) da amostra com fármaco padrão doxorubicina testados em linhagens celulares de células MRC 5..... | 79 |

| | |
|--|----|
| Tabela 19 – Características macroscópicas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He de <i>E. uchi</i> | 80 |
| Tabela 20 – Caracterização dos granulados F1, F2 e F3 contendo 3% PSA He <i>E. uchi</i> | 81 |
| Tabela 21 – Características macroscópicas do granulados GRA B e F4..... | 83 |
| Tabela 22 – Caracterização dos granulados GRA B e F4 | 84 |

LISTA DE ABREVIATURAS

$A_{1cm}^{1\%}$ = Coeficiente de absorção do específico

α = Ângulo formado

CCD = Cromatografia de Camada Delgada

CI₅₀ = Concentração inibitória 50%

CIM = Concentração Inibitória Mínima

CLAE = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLSI = Clinical and Laboratory Standards Institute

Db = Densidade bruta (g/mL);

Dc = Densidade de compactação (g/mL);

DL = Dose letal

DMSO = Dimetilsulfóxido

DPPH = 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EqAG = Equivalentes de Ácido Gálico

ESA = Extrato Seco por Aspersão

FD = Fator de diluição;

FH = Fator de Hausner;

°GL = Grau Gay Lussac

HeLa = Linhagem de células tumorais de cérvix uterino humano

HSV-1 e 2 = Herpes simplex tipo 1 e 2

IC = Índice de Carr;

IL-4 = Interleucina 4

LIDETEF = Laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica

MPV = Matéria-prima vegetal

NCCLS= National Committee for Clinical Laboratory Standards

NO•= Óxido nítrico

PD= Perda por dessecação

pH= Potencial Hidrogeniônico

POA= Alcaloides oxindólicos pentacíclicos

PSA= Produto Seco por Aspersão

PT= Polifenóis Totais;

rpm= Rotações por minuto

RPMI= Roswell Park Memorial Institute

Rs= Resíduo seco (% m/m)

SE= Solução extrativa

TE = Teor extrativo

TNF- α = Fator de necrose tumoral alfa

TOA= Alcaloides oxindólicos tetracíclicos

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 16 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 20 |
| 2.1 Espécies Vegetais | 20 |
| 2.1.1 <i>Endopleura uchi</i> | 20 |
| 2.1.2 <i>Uncaria tomentosa</i> | 29 |
| 2.2 Formas Farmacêuticas Sólidas..... | 36 |
| 2.2.1 Extratos Secos | 36 |
| 3 OBJETIVOS..... | 40 |
| 3.1 Objetivo Geral..... | 40 |
| 3.2 Objetivos Específicos | 40 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 41 |
| 4.1 Material..... | 41 |
| 4.1.1 Equipamentos e acessórios..... | 41 |
| 4.1.2 Reagentes, solventes e soluções | 41 |
| 4.1.3 Adjuvantes farmacêuticos | 42 |
| 4.2 Métodos | 42 |
| 4.2.1 Delineamento experimental..... | 42 |
| 4.2.2 Obtenção e caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)..... | 44 |
| 4.2.3 Preparação e caracterização das soluções extrativas hidroetanólicas (SE He) de <i>E. uchi</i> e de <i>U. tomentosa</i> | 48 |
| 4.2.4 Preparação e caracterização das soluções extrativas Aquosas (Aq) de <i>E. uchi</i> e <i>U. tomentosa</i> | 50 |
| 4.2.5 Preparação e caracterização dos produtos secos (ESA/ PSA/ MSA)..... | 51 |
| 4.2.6 Atividade antifúngica | 54 |

| | |
|---|-----|
| 4.2.7 Ensaio de viabilidade celular..... | 57 |
| 4.2.8 Avaliação da capacidade de inibição de óxido nítrico (NO [•])..... | 57 |
| 4.2.9 Obtenção e caracterização de granulados..... | 58 |
| 4.2.10 Análise dos dados..... | 62 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 63 |
| 5.1 Caracterização da MPV | 63 |
| 5.2 Caracterização da solução extrativa hidroetanólica (SE He)..... | 67 |
| 5.3 Caracterização da solução extrativa aquosa (SE Aq) | 69 |
| 5.4 Caracterização de ESA, PSA e MSA He..... | 71 |
| 5.5 Caracterização dos ESA e MSA obtidos das SE aquosas..... | 73 |
| 5.6 Atividade antifúngica..... | 76 |
| 5.7 Efeito dos ESA He sobre a viabilidade celular..... | 78 |
| 5.8 Efeito dos ESA He <i>E. uchi</i> sobre inibição de óxido nítrico (NO [•])..... | 79 |
| 5.9 Obtenção dos granulados clássicos..... | 80 |
| 5.10 Obtenção dos granulados leiteo fluidizado..... | 83 |
| 5.10.1 Ensaio de liodisponibilidade | 85 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 88 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 90 |
| APÊNDICE | 99 |
| Apêndice 1 – Histograma de distribuição das MPV <i>E. uchi</i> e <i>U. tomentosa</i> | 100 |
| Apêndice 2 – Histograma e gráfico de distribuição do tamanho dos granulados obtidos via úmida tradicional contendo PSA <i>E. uchi</i> | 101 |
| Apêndice 3 – Histograma e gráfico de distribuição do tamanho dos Granulados obtidos por leiteo fluidizado contendo <i>E. uchi</i> | 102 |

1 INTRODUÇÃO

O termo fitoterápico se refere ao produto obtido de plantas medicinais, ou de seus derivados, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa (BRASIL, 2014). Assim, a ação terapêutica do fitoterápico não é baseada numa única substância química isolada, mas por um conjunto de moléculas que atuam sinergicamente (NETTO *et al.*, 2006) com a vantagem de ser utilizado para tratamento de doenças com etiologias múltiplas, evitando uso de mais de um medicamento (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

Para o desenvolvimento tecnológico de um produto fitoterápico é necessário estudo prévio de várias áreas do conhecimento: botânica, agrônômica, química, biológica e analítica (SIMÕES *et al.*, 2004). Nesse aspecto, o Brasil tem a vantagem de ser um país com a maior biodiversidade do mundo com uma rica diversidade étnica e cultural relacionadas ao conhecimento tradicional de plantas medicinais. Assim, a obtenção de medicamentos fitoterápicos tem como objetivos a melhoria da atenção à saúde, uso sustentável dessa biodiversidade e geração de emprego e renda (BRASIL, 2016).

Entretanto, o fortalecimento das indústrias fabricantes de fitoterápicos nacionais ainda necessita de um apoio governamental forte, integração de diferentes áreas do conhecimento (química, bioquímica, farmacologia, botânica, agronomia e tecnologia farmacêutica), bem como do setor de pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos das indústrias farmacêuticas (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001; MARQUES; SOUZA, 2012).

Neste sentido tornou-se uma prioridade a investigação clínica de plantas medicinais para obtenção de uma terapêutica alternativa e complementar (BRASIL, 2011). Como, por exemplo, a *Endopleura uchi* e *Uncaria tomentosa*, duas espécies vegetais bastante utilizadas pela população para o tratamento de diversos males (REINHARD, 1999; TACON, 2012).

A *E. uchi* é uma planta da região amazônica alvo de muitos estudos, cujos resultados a destacam como potencial terapêutico para torna-la um produto fitoterápico (TACON, 2012). A espécie vegetal pertence à família Humiriaceae. Do ponto de vista botânico, é uma árvore de tronco reto com cerca de 30 metros de altura e até 1 metro de diâmetro (MENEZES; HOMMA, 2012). A espécie também é conhecida como uxi amarelo e uxi-liso, sendo de amplo uso popular: a madeira na construção civil e naval (NAHUZ, 2013); os frutos como alimento ou sucos; sementes em artesanato como amuletos; e casca do caule uso na medicina popular (SHANLEY; MEDINA, 2005). A casca do caule é usada, popularmente, na forma de chá para o tratamento contra miomas (POLITI, 2009), inflamações uterinas e outras desordens femininas, sendo isolada a bergenina, uma substância bioativa, a partir dos extratos obtidos com esta espécie (SILVA *et al.*, 2009).

A *U. tomentosa*, conhecida como unha-de-gato (*cat's claw*), é uma planta originária da Amazônia peruana promissora e muito conhecida por suas atividades biológicas. A espécie pertence à Família Rubiaceae. Botanicamente, é um cipó trepador lenhoso que ocorre também no estado do Acre. Considerada uma planta medicinal com grande potencial econômico e comercial (MIRANDA; SOUSA; PEREIRA, 2001). Os metabolitos secundários da *U. tomentosa* são os alcaloides oxindólicos pentacíclicos e os estudos revelam que podem estar relacionados com ação no sistema imune (REINHARD, 1999) e ação antitumoral (RIBEIRO *et al.*, 2015). Outras classes bioativas presentes são os glicosídeos de ácidos quinóvicos (AQUINO *et al.*, 1989) e proantocianidinas (GONÇALVES; DINIS; BATISTA, 2005).

A literatura registra algumas pesquisas envolvendo o processamento tecnológico destas duas plantas como, por exemplo, a otimização e o desenvolvimento de produtos intermediários e finais. Em relação às cascas de *E. uchi* foram realizados estudos para otimização do processo de secagem dos extratos pela técnica de aspersão (*spray dryer*) (TACON, 2012). A *U. tomentosa* é uma droga vegetal que já está descrita na Farmacopeia

Americana (PHARMACOPEIA ONLINE, 2016) e há relatos de estudos com a produção de formas farmacêuticas sólidas orais com atividade antioxidante (MARQUES, 2008), existindo inclusive disponível no mercado nacional e internacional cápsulas e comprimidos de *cat's claw*.

No entanto, ainda que seja possível encontrar produtos secos da *E. uchi* e *U. tomentosa* isoladamente, em termos tecnológicos, ainda são escassas formulações padronizadas com estas espécies e inexistente um produto seco com a associação destas plantas. Existem produtos de uso popular que tem ambas as espécies, entretanto é comercializado sem registro junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sendo vendido em feiras livres e indicados contra inflamações em geral (CASALI; ALMEIDA, 2010).

Os extratos vegetais secos são de grande interesse na indústria farmacêutica, para a produção de formas farmacêuticas sólidas, devido às vantagens de exatidão de dosagem e facilidade de manuseio, transporte e armazenagem, além de demonstrarem, em geral, maior estabilidade química, física e microbiológica (PACHÚ, 2007). Além disso, apresentam teor mais concentrado de substância ativas que as tinturas, infusos e macerados (PRISTA *et al.*, 2003). Vale ressaltar que a secagem pode ser feita com adição de adjuvantes, sendo assim, atribui-se o termo Extratos Secos por Aspersão (ESA) quando não se adiciona esses adjuvantes, e Produto Seco por Aspersão (PSA) quando se faz adição destes (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Porém, ainda que possam ser utilizados como forma farmacêutica final, os extratos vegetais secos apresentam deficientes características tecnológicas, tais como, pobre fluidez, baixa densidade e elevada higroscopia, propriedades estas que dificultam desde a embalagem do pó até a obtenção de uma forma farmacêutica sólida final, como as cápsulas duras e os comprimidos (PETROVICK, 2006; CHAVES; COSTA; FREITAS, 2009). Para superar isso,

é possível usa como produtos intermediários no desenvolvimento de formas sólidas derivadas, como por exemplo, os granulados, os quais viabilizam a transformação em cápsulas e comprimidos (SOUZA *et al.*, 2009).

Dentre as várias técnicas de granulação, destaca-se a via úmida, em que o processo envolve a agregação das partículas dos pós, com uso de líquidos como álcool, água ou outras soluções aglutinantes, seguido da granulação dessa massa por meio de tamis e a secagem dos grãos formados. Entre as vantagens sobre os extratos secos por aspersão está o fato de que não aderem entre si, são mais agradáveis de ingerir, apresentam melhor conservação devida menor superfície de contato e podem ser revestidos (PRISTA *et al.*, 2003).

Há ainda o processo de granulação em leito fluidizado que tem sido bem aceito devido à possibilidade de controlar os vários estágios da produção e de processar grandes quantidades de material. O mecanismo de funcionamento consiste na dispersão por aspersão do líquido de granulação no leito dos componentes a granular, os quais são secos continuamente pelo fluxo de ar que os suspende no ar. Como vantagem, há um alto grau de mistura dos sólidos e homogeneidade do produto final (DIAS, 2007).

Considerando-se a importância terapêutica e econômica *E. uchi* e *U. tomentosa* e a necessidade do desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida padronizada que contenham extratos secos destas espécies, o objetivo principal deste trabalho foi realizar estudos tecnológicos para obtenção de forma farmacêutica sólida a partir destas plantas medicinais, visando à obtenção um produto seco padronizado com qualidade que possa ser utilizado para elaboração de um futuro fitoterápico composto pelas duas espécies vegetais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Espécies Vegetais

2.1.1 *Endopleura uchi*

2.1.1.1 Aspectos Botânicos

E. uchi é uma árvore frutífera de grande porte, nativa da região norte da Amazônia, popularmente conhecida como uxizeiro (BRASIL, 2015), *uchi*, uxi amarelo e uxi-liso (NAHUZ, 2013). A classificação taxonômica da espécie *E. uchi* pode ser descrita conforme a Tabela 1.

| Categoria | Nome |
|------------------|------------------------------------|
| Reino: | Plantae |
| Divisão: | Magnoliophyta |
| Classe: | Magnoliopsida |
| Subclasse: | Magnoliidae |
| Ordem: | Malpighiales |
| Família: | Humiriaceae |
| Gênero: | <i>Endopleura</i> |
| Espécie: | <i>E. uchi</i> (Huber) Cuatrecacas |

Tabela 1 – Classificação taxonômica da espécie botânica *E. uchi*.

Fonte: (MUNIZ, 2013)

Pertencente à família Humiriaceae que compreende 8 gêneros e um total de 49 espécies que são diferenciadas por meio do tronco das árvores, geralmente de coloração marrom-escuro ou avermelhado e resinosos (RIBEIRO *et al.* 1999). No caso do *E. uchi* (Figura 1) apresenta o tronco reto com cerca de 25 a 30 metros de altura e até 1 metro de diâmetro (MENEZES; HOMMA, 2012). Demais características botânicas da espécie são folhas sempre glabras (lisas), com flores perfumadas, pequenas, com pétalas brancas com 5 sépalas (cálice) e pétalas (corola) (RIBEIRO *et al.*, 1999; BORGES, 2010).

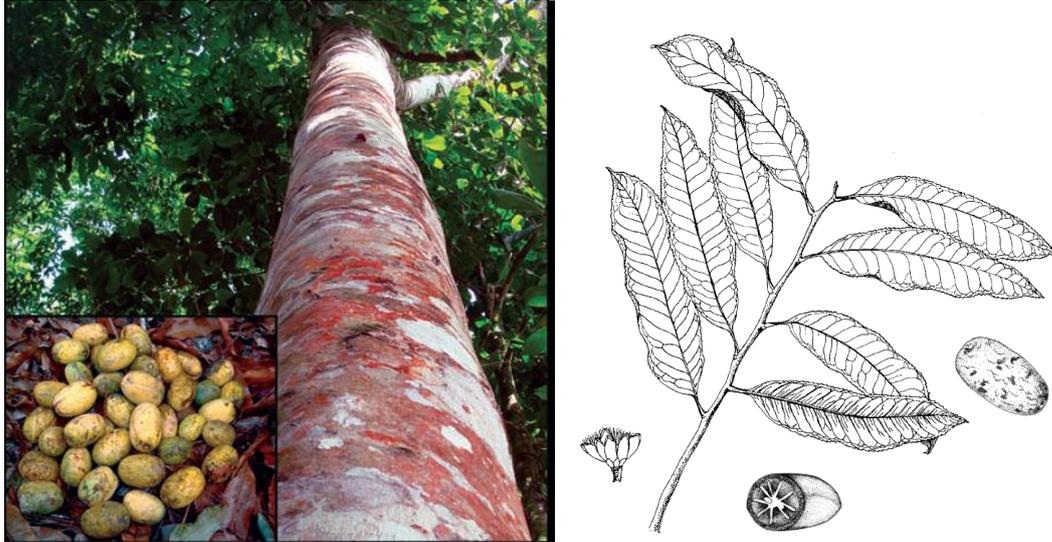


Figura 1 – Uxizeiro (*Endopleura uchi*)
Fonte: (MENEZES; HOMMA, 2012).

A árvore se propaga por meio de sementes que demoram cerca de 10 meses para germinar em áreas de terras firmes (BRASIL, 2015). A produção de mudas é um tanto difícil pelo fato da germinação durar de 1 a 2 anos, mas a preservação e o uso sustentável desta planta é indispensável, visto seu amplo uso medicinal, frutífero e madeireiro (MENEZES; HOMMA, 2012).

Em geral, a frutificação ocorre de junho a dezembro, mas em Manaus e Belém, ocasionalmente frutifica entre julho e agosto (BORGES, 2010). O fruto apresenta uma dupla camada oblongo-elipsoide de, em média, 6 cm de comprimento e 4 cm de diâmetro, peso variando de 50 a 70 g e apresenta coloração verde-amarelada ou pardo-escuro quando maduro (POLITI, 2009).

Em relação à casca do caule de *E. uchi*, o trabalho de Politi (2009) demonstra várias estruturas microscópicas importantes para identificação e autenticidade da espécie botânica, conforme se descreve a seguir:

- a) *in natura* – apresenta distribuição periclinal das células do esclerênquima em relação ao parênquima radial. Há abundância de idioblastos cristalíferos no tecido parenquimático, e reservas de substâncias fenólicas;

- b) no pó da casca – presença de fragmentos de fibras lignificadas envolvidas por bainha cristalífera, de cristais prismáticos, de fragmentos de fibras gelatinosas, poucas células pétreas e grãos de amido pequenos, esféricos e isolados.

2.1.1.2 Aspectos Fitoquímicos

Segundo Costa e colaboradores (2010), a análise das polpas dos frutos de *E. uchi* revelaram altos valores de fitoesteróis e tocoferóis. Os autores detectaram, majoritariamente, na polpa fitoesteróis β -sitosterol+sitostanol (88,0 mg/100g), brassicasterol (19,0 mg/100g) e stigmasterol (12,0 mg/100g). Em relação aos tocoferóis, a concentração nos frutos de *E. uchi* são mais elevados que o açaí (*Euterpe oleracea*), sendo 37,49 $\mu\text{g/g}$ de γ -tocoferol e 200,92 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol, sugerindo altos valores de vitamina E.

Em relação às cascas do *E. uchi* são evidenciados três tipos de classes de metabolitos secundários: taninos, saponinas e cumarinas (POLITI, 2009):

- a) taninos – são solúveis em água e tem capacidade de precipitar proteínas e alcaloides, do ponto de vista químico são polifenóis (POLITI, 2009);
- b) saponinas – tem capacidade de reduzir a tensão superficial da água que está diretamente ligado às ações detergentes e emulsificantes. Estas podem ser terpenos policíclicos ou glicosídeos de esteroides por isso algumas são usadas para síntese de esteroides (SIMÕES *et al.*, 2004);
- c) cumarinas – são a classe de metabólitos derivados do metabolismo da fenilalanina presentes principalmente nos vegetais. As propriedades farmacológicas dessas substâncias se devem aos padrões de substituição da estrutura química, portanto muitas cumarinas são isoladas de fontes naturais e utilizadas como precursoras de bioativos (SIMÕES *et al.*, 2004). Uma das cumarinas presente no *E. uchi* é a bergenina considerado marcador químico da espécie (SILVA; TEIXEIRA, 2015).

Das técnicas empregadas no estudo analítico das substâncias presentes na espécie *E. uchi* a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem sido muito utilizada nas etapas de identificação, doseamento e monitoramento das substâncias (SILVA; TEIXEIRA, 2015).

Silva e Teixeira (2015) utilizando a CLAE detectaram 5 substâncias fenólicas, sendo a majoritária a bergenina, principalmente no infuso da planta. No extrato aquoso das cascas de *E. uchi* tem sido detectado 3,18% de bergenina (OLIVEIRA; NUNOMURA; NUNOMURA, 2009) e tem sido relatado valores de até 3,76 % (MUNIZ, 2013).

2.1.1.2.1 Bergenina

A bergenina (Figura 2) é a substância majoritária da planta *E. uchi* sendo uma isocumarina extraída e isolada do extrato etanólico das cascas da espécie. Está presente, também, nos extrato aquoso liofilizado (BORGES, 2010), extrato metanólico e na fração acetato de etila do extrato metanólico (MAGALHÃES *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009).

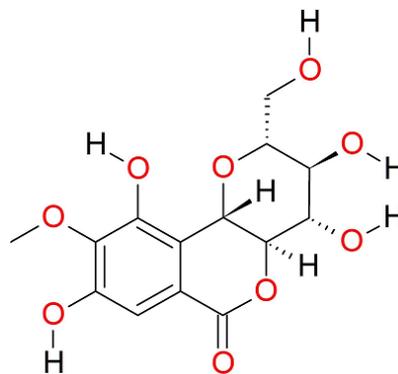


Figura 2 – Estrutura química da bergenina.
Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/bergenin

De acordo com Silva e Teixeira (2015), o conteúdo de bergenina nos extratos das cascas do *E. uchi*, obtidos por infusão, são de 813,4 mg/Kg e por extração em solução hidroalcoólica, de 922,9 mg/kg. A molécula química da bergenina (Figura 2) é composta de três anéis de seis membros: um anel aromático, um anel glucopiranosose e um anel lactona (BORGES, 2010).

O conhecimento das propriedades físico-químicas da bergenina é importante para o desenvolvimento de formas farmacêuticas contendo esta molécula. A bergenina se apresenta como cristal não higroscópico e estável contra calor e umidade. Em soluções ácidas (pH= 1 a 5) é estável em temperaturas de 25°C a 37°C, entretanto, sensível à hidrólise em soluções neutras (pH=7) e alcalinas (pH=8), com intensificação da degradação com aumento da temperatura. A bergenina se comporta como ácido fraco com valores da constante de ionização de $pK_{a1}= 5,46$ e $pK_{a2}= 5,74$, assim apresenta uma maior fração ionizada em pH neutros e alcalinos (Figura 3). A solubilidade da bergenina testada em pH igual a 1, 3 e 5 revelaram que o aumento da temperatura também eleva a solubilidade da substância. Testes de partição octanol/água evidencia pobre lipofilicidade da bergenina em pH ácidos (ZHOU *et al.*, 2008).

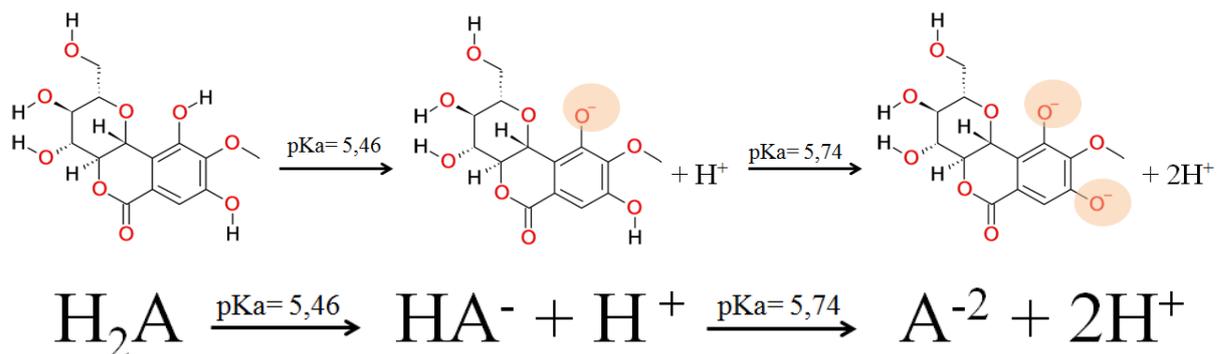


Figura 3 – Dissociação da bergenina.

Nota: A= ácido fraco (bergenina)

Fonte: (ZHOU *et al.*, 2008; DITTRICH *et al.*, 2009)

A bergenina apresenta propriedades físico-químicas semelhantes a algumas isocumarinas, que apresentam anel “ α -pyrone” e lactona $\alpha\beta$ -insaturada. O anel lactona das isocumarinas tem a tendência de hidrolisar e forma sal em pH alcalinos. Neste sentido a bergenina pode sofrer a mesma reação de hidrólise (WU; WU, 2003 apud ZHOU *et al.*, 2008, p. 367).

As modificações na estrutura química da bergenina, como a acetilação, têm aumentado as atividades biológicas pelo aumento da lipofilicidade por ser um grupamento

orgânico de baixa polaridade. Tal modificação gerou a chamada acetilbergenina, que demonstrou apresentar maior efeito hepatoprotetor *in vivo* (BORGES, 2010); e atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* não observada com a bergenina (CASTRO, 2013). Nota-se que a bergenina tem sido uma molécula promissora por suas propriedades físico-químicas, atividades biológicas, podendo servir ainda como precursora de novas substâncias com potencial farmacológico.

2.1.1.3 Aspectos farmacológicos

2.1.1.3.1 Etnofarmacológicos

A planta *E. uchi* apresenta elevada importância devido ao amplo uso medicinal, frutífero e madeireiro (MENEZES; HOMMA, 2012). As sementes ou caroços dos frutos são usados para confecção de artesanato, enquanto, a casca do caule tem emprego na medicina popular (SHANLEY; MEDINA, 2005).

A casca de *E. uchi* vem sendo bastante empregada pelos habitantes da região norte do Brasil na forma de chá para tratamento de afecções do trato genito urinário feminino e no tratamento de tumores uterinos benignos, além do uso como anti-inflamatório (SILVA *et al.*, 2009).

Em relação à cadeia produtiva da *E. uchi*, a matéria-prima vegetal é mais encontrada em Manacapuru, Iranduba e Parintins, sendo obtidas, na maior parte das vezes, pelos fornecedores (58,2%) com valores de venda que variam entre R\$ 3,00 e R\$ 4,00 um pacote de 50 g e a maior parte do público consumidor são as mulheres, onde mais da metade diz que é indicado para o combate a miomas (58,3%) (BEZERRA *et al.*, 2011).

2.1.1.3.2 Ensaio Pré-clínicos

Antioxidante e inibição enzimática

Silva e Teixeira (2015) demonstraram que o infuso e extrato hidroalcoólico das cascas de *E. uchi* apresentaram atividade antioxidante nos ensaios de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e superóxido. A atividade antioxidante do extrato de *E. uchi* tem sido relatada com valores de CI_{50} de 3,7 $\mu\text{g/mL}$ sendo relacionada a um alto conteúdo de substâncias fenólicas (SILVA *et al.*, 2012; TACON, 2012). Mencionam, ainda, que extratos vegetais causaram a inibição de acetilcolinesterase, butilcolinesterase e α -glucosidase. Neste sentido, há grande interesse para incorporação em formas farmacêuticas para redução da hiperglicemia e pela inibição das colinesterases.

De acordo com Kim e colaboradores (2000), a molécula bergenina, isolada de outras plantas, demonstrou ação anti-hepatotóxica quando se utilizou tetracloreto de carbono para induzir citotoxicidade em hepatócitos. Os autores ainda descrevem que a bergenina aumenta a atividade das enzimas glutathione S-transferase e glutathione reductase, que possuem atividade antioxidante e são importantes na desintoxicação do organismo.

Em relação à segurança dos extratos aquosos, no trabalho de Politi e colaboradores (2010) foi verificado que os extratos aquosos não apresentam toxicidade sistêmica em camundongos, conferindo, assim, evidências da segurança no seu consumo.

Segundo Sá e colaboradores (2015), os extratos hidroalcoólicos também não apresentam efeitos tóxicos ou mortes em ratos *Wistar*, nem mesmo alterações no peso e parâmetros bioquímicos dos animais. A única alteração foi o índice de eritrócitos nos animais tratados, mas, sem relevância clínica.

Os estudos de viabilidade celular realizado por Silva e Teixeira (2015) demonstram que, no ensaio com cultura de células, os extratos não revelaram ação citotóxica para

linhagem Caco-2, que são amplamente utilizadas em ensaios por mimetizarem *in vitro* o epitélio intestinal (MIRET; ABRAHAMSE; GROENE, 2004).

Ação biológica

Em avaliações da atividade antitumoral, Bento (2013) verificou que o decocto de *E. uchi* diminuiu a viabilidade e proliferação celular de forma dose-dependente, sobre a linhagem de células tumorais de cérvix uterino humano (HeLa). O autor aponta que o decocto foi capaz de promover a morte de células HeLa por apoptose através da via mitocondrial e por promoverem a ativação dos macrófagos peritoneais. Possivelmente, a substância relacionada a apoptose das células HeLa citada por Bento (2013) pode ser a bergenina.

Nunomura e colaboradores (2009) destacou a atividade anti-inflamatória da bergenina e sugeriu o possível mecanismo de ação, baseado na inibição seletiva da ciclooxigenase 2 com CI_{50} de 1,2 $\mu\text{mol/L}$ de bergenina.

Tem sido relatada ação *in vitro* no crescimento de leveduras do gênero *Candida*, contra *C. albicans*, *C. guilliermondii* e *C. tropicalis*, com uso do extrato aquoso e extrato de acetato de etila da *E. uchi* (TACON, 2012; GIORDANI; SANTIN; CLEFF, 2015).

Os extratos de *E. uchi* podem não ser eficientes em cepas de *Aspergillus niger*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma reesei* e *Trichophyton rubrum* (PAULA, 2011). Em Silva e Teixeira (2015), a ação antibacteriana foi mais efetiva nas bactérias gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*.

No trabalho de Politi (2009), a atividade do extrato aquoso obtido por infusão a 10 % (m/v), revelou um pequeno halo de inibição frente à linhagem de *C. albicans* e o extrato hidroalcoólico 10% (m/v) obtido por percolação apresentou baixa atividade contra *S. aureus*.

Silva e colaboradores (2009) demonstraram a inibição do crescimento de leveduras da espécie *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii* e, neste sentido, os autores mencionam que este fato colabora na compreensão do seu uso tradicional contra que infecções que afetam o aparelho reprodutor feminino.

Politi e colaboradores (2011), fizeram análises da atividade antioxidante, citotoxicidade e atividade antimicrobiana de extratos da casca de *E. uchi*. Notou-se que os valores antioxidantes dos extratos e os padrões antioxidantes foram semelhantes. A análise de citotoxicidade em células de mamíferos indicou valores de IC₅₀ superiores à concentração mais elevada utilizada, mostrando que não apresentam um risco quando consumidos nestas condições.

2.1.1.4 Estudos Tecnológicos e Controle de Qualidade

Muniz (2013) analisou 14 amostras comerciais de produtos contendo cascas de *E. uchi* quanto ao conteúdo de bergenina, e os valores encontrados variaram de 8,06 até 143,20 µg/mL ou 0,2 a 3,57%, e, quando comparados com o valor do padrão de 151,02 µg/mL (3,76%) referente às cascas *E. uchi* da Reserva Ducke, apenas 5 amostras se aproximaram do valor padrão.

Devido a essas grandes variações no teor de marcador químico verifica-se que muitos desses produtos não seguem o mínimo exigido pelas Boas Práticas de Fabricação. Além disso, tais produtos não são registrados como fitoterápicos, mas como suplementos alimentares. Apesar disso, ainda são produtos vendidos livremente nas feiras livres. A própria Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não recomenda o uso desses suplementos alimentares, uma vez que apenas pelos hábitos alimentares corretos, é possível ter todos os nutrientes necessários ao corpo humano. Entretanto, a crescente facilidade no acesso a esses

produtos via internet, eletrônica e compra sem necessidade de receita médica faz a popularização desses produtos (ANVISA, 2016).

Tacon (2012) contribuiu de forma significativa com a pesquisa tecnológica sobre a *E. uchi* por otimizar e padronizar o processo de obtenção de soluções extrativas desta espécie, como também, realizar a avaliação do processo de secagem em *spray dryer* dessas soluções extrativas e os parâmetros operacionais para o desenvolvimento de um produto seco por aspersão com alta qualidade tecnológica.

2.1.2 *Uncaria tomentosa*

2.1.2.1 Aspectos Botânicos

A *U. tomentosa* pertence à Família Rubiaceae (Tabela 2; Figura 4). É uma planta medicinal com potencial econômico e comercial, conhecida internacionalmente (MIRANDA; SOUSA; PEREIRA, 2001). A espécie *U. tomentosa* é popularmente chamada de unha-de-gato (*cat's claw*) devido ao fato da planta conter espinhos em forma da unha de gato. Diferencia-se das outras espécies do mesmo gênero, como a *U. guianensis*, que possuem espinhos semicurvados, originando o nome popular de bailarina justamente devido ao formato semelhante a uma saia. A planta ocorre em zonas tropicais do Brasil, Peru, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Guianas e Paraguai (SHANLEY; MEDINA, 2005).

A *U. tomentosa* é uma espécie perenifolia, assim, apresenta folhas durante todo o ano (MIRANDA; SOUSA; PEREIRA, 2001), enquanto que as flores surgem nos meses de setembro a novembro e frutificam de outubro a dezembro (SHANLEY; MEDINA, 2005). O fruto é bivalvo e comprido, medindo até 6 mm de longitude. As sementes são muito pequenas, fusiformes e aladas (MIRANDA; SOUSA; PEREIRA, 2001).

| Categoria | Nome |
|------------------|----------------------------------|
| Reino: | Plantae |
| Divisão: | Magnoliophyta |
| Classe: | Magnoliopsida |
| Sub-classe: | Asterids |
| Ordem: | Gentianales |
| Família: | Rubiaceae |
| Subfamília: | Cinchonoideae |
| Tribo: | Naucleaeae |
| Gênero: | <i>Uncaria</i> |
| Espécie: | <i>U. tomentosa</i> (Willd.) DC. |

Tabela 2 – Classificação taxonômica da espécie botânica *U. tomentosa*

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=128375>

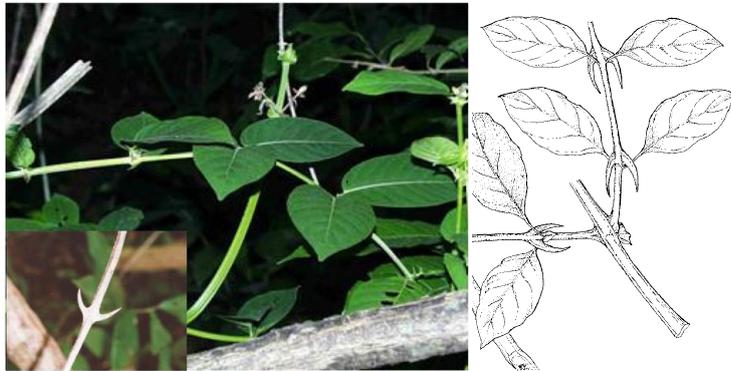


Figura 4 – Unha de gato (*Uncaria tomentosa*)

Fonte: (MIRANDA; SOUSA; PEREIRA, 2001; SHANLEY; MEDINA, 2005; MARQUES, 2008).

A literatura registra diversos estudos com esta espécie vegetal. Sua descrição botânica, química e de atividade biológica é bastante descrita, apresentando inclusive monografia na Farmacopeia Americana (PHARMACOPEIA ONLINE, 2016). Assim, os principais trabalhos realizados com essa espécie vegetal são relatados de forma resumida a seguir.

2.1.2.2 Aspectos Fitoquímicos

Os metabolitos secundários da *U. tomentosa* são os alcaloides oxindólicos pentacíclicos relacionados com ação no sistema imune (REINHARD, 1999) outras classes bioativas são os glicosídeos de ácidos quinóvicos (AQUINO *et al.*, 1989) e proantocianidinas (GONÇALVES; DINIS; BATISTA, 2005).

Peñaloza e colaboradores (2015) identificaram distintamente três quimiotipos da espécie *U. tomentosa*, ou seja, apesar da presença dos alcaloides oxindólicos, as plantas possuem composição química diferente, porém, estável ao longo de várias gerações, mesmo pertencendo à mesma espécie botânica. O quimiotipo I é caracterizado por conter majoritariamente especiofilina, uncarina F, pteropodina e isopteropodina, que são classificados como Alcaloides Oxindólicos Pentacíclicos (POA) (Figura 5) com junção de anel tipo *cis*. Enquanto o quimiotipo II há maior conteúdo de mitrafilina e isomitrafilina que já são POA com junção de anel tipo *trans*. No quimiotipo III encontra-se a rincofilina e isorincofilina classificados como alcaloides oxindólicos tetracíclicos (TOA).

Valente e colaboradores (2006) dão ênfase a 6 POA (Figura 5) considerados marcadores do gênero *Uncaria* spp.: especiofilina, mitrafilina, uncarina F, isomitrafilina, pteropodina e isopteropodina. Os autores também desenvolveram um método analítico qualitativo por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) para verificação do perfil dos POA nas folhas, nas cascas e nos produtos contendo *U. tomentosa*.

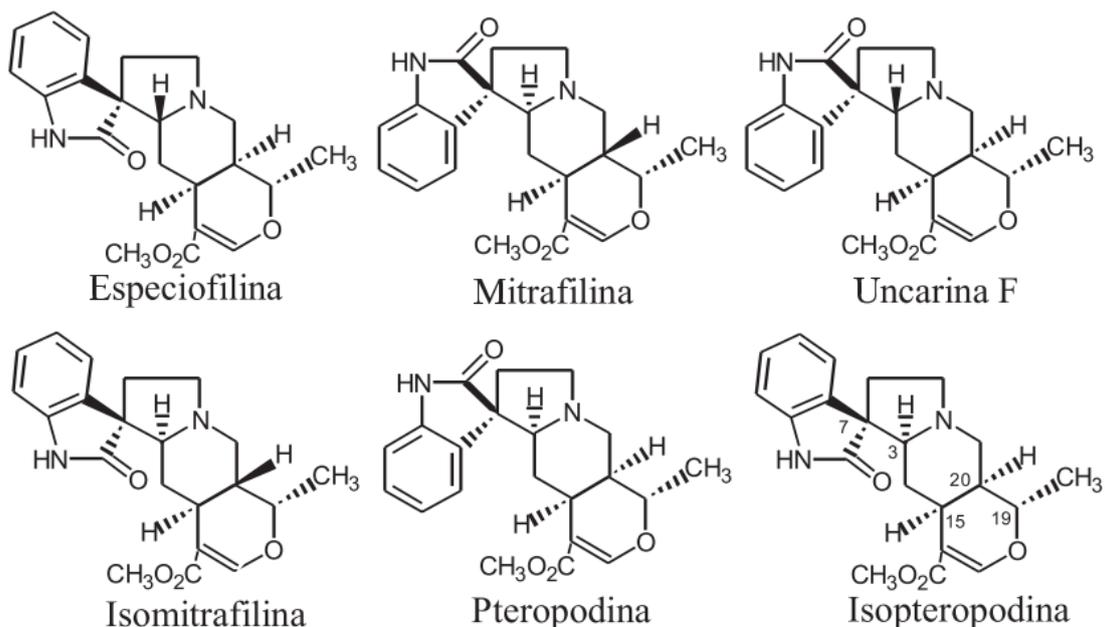


Figura 5 – Alcaloides oxindólicos pentacíclicos da *U. tomentosa*.
Fonte: (VALENTE *et al.*, 2006).

A mitrafilina é um dos alcaloides oxindólicos pentacíclicos marcadores do gênero *Uncaria* spp. (VALENTE *et al.*, 2006). Este alcaloide apresenta junção anelar trans D / E (PEÑALOZA *et al.*, 2015).

Pereira (2013) analisou o perfil químico, o teor de alcaloides (considerando a mitrafilina como marcador) e, também, o teor de polifenóis (considerando o ácido clorogênico como marcador) em amostras de folhas de *U. tomentosa*, provenientes de diferentes localidades, utilizando técnicas cromatográficas (CCD e CLAE). O autor verificou que três das amostras investigadas apresentaram conteúdos de mitrafilina entre 0,88 a 2,15 mg/g nas folhas secas. Todas as amostras estudadas apresentaram um conteúdo de ácido clorogênico variando de 0,14 a 1,71 mg/g nas folhas secas e, por fim, verificou que uma das amostras provavelmente não se tratava de *U. tomentosa*, pois foi constatado o flavonoide campferitrina na sua constituição química. Tal estudo demonstra a importância da realização de um rigoroso controle químico para esta espécie vegetal, a fim de evitar adulterações e garantir a segurança e eficácia da droga vegetal e produtos derivados.

Estudos revelam que a mitrafilina isolada apresenta algumas atividades biológicas, tais como, inibição do crescimento das linhagens de células neoplásicas *in vitro* (PRADO *et al.*, 2007; GIMÉNEZ *et al.* 2010) e ação anti-inflamatória *in vivo* (ROJAS-DURAN *et al.*, 2012).

2.1.2.3 Aspectos Farmacológicos

2.1.2.3.1 Etnofarmacológicos

U. tomentosa é utilizada na medicina popular (uso tradicional) no tratamento de asma, câncer, contracepção, efeitos colaterais de quimioterapia, febres, feridas, fraqueza, hemorragias, inflamações, inflamações no trato urinário, irregularidades menstruais, limpeza dos rins, purificação da pele/ sangue e úlcera gástrica. Utilizado ainda na terapêutica de

artrites, bursites, reumatismo, herpes genital e herpes zoster, alergias, candidíases sistêmicas, lúpus, fadiga crônica, intoxicação ambiental, coadjuvante em depressão e AIDS. Relata-se ainda a associação de *U. tomentosa* com uxi-amarelo (*E. uchi*) no tratamento de miomas e cistos uterinos (JONES, 1995 apud VALENTE, 2006).

2.1.2.3.2 Ensaios Pré-clínicos

U. tomentosa possui uma ação antiproliferativa contra linhagens celulares específicas (MARTINO *et al.*, 2006; PILARSKI *et al.*, 2010). De acordo com PRADO e colaboradores (2007), as propriedades antitumorais da *U. tomentosa* é parcialmente explicada pelos alcaloides pentacíclicos isolados da droga vegetal, como a mitrafilina. Entretanto, essa atividade anticancerígena também pode estar ligada à ação sinérgica de vários outros componentes presentes no extrato da planta, em vez da atividade de uma substância isolada (GIMÉNEZ *et al.*, 2010).

Alguns estudos relatam que a mitrafilina, isolada da *U. tomentosa*, em concentrações micromolares de 5 a 40 mM, inibiu o crescimento das linhagens de células neoplásicas como neuroblastoma SKN-BE, glioma GAMG (PRADO *et al.*, 2007), sarcoma de Ewing humano MHH-ES-1 e células de câncer de mama MT-3 (GIMÉNEZ *et al.* 2010).

Rojas-Duran e colaboradores (2012) evidenciaram que a mitrafilina possui ação anti-inflamatória por inibição de citocinas inflamatórias em modelo murino *in vivo*. Os autores descrevem que a mitrafilina inibiu cerca de 50% da liberação das interleucinas 1a, 1b, 17 e TNF-a semelhante à substância padrão (dexametasona). Relatam ainda a redução de 40% de interleucina 4 e que o isolado não mostrou qualquer toxicidade nas células K562, nem nos macrófagos murinos em doses até 100 mM.

Paz e colaboradores (2016), estudando o efeito da mitrafilina em modular a ativação dos neutrófilos e de regular citocinas inflamatórias, notaram que a mitrafilina é capaz de gerar

respostas anti-inflamatórias que diminuem a ativação de neutrófilos, contribuindo para a atenuação de episódios inflamatórios.

Herrera e colaboradores (2010), estudando efeito antimicrobiano contra *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* e *C. albicans* com formulações de gel de natrosol contendo *U. tomentosa* a 2%, clorexidina a 2% e clorexidina 2% com *U. tomentosa* 1%, verificaram que as formulações foram mais eficazes contra as cepas *E. faecalis* e *C. albicans*. Em relação ao produto contendo 2% clorexidina + 1% *U. tomentosa*, o diâmetro médio do halo de inibição variou de 21,7 a 33,5 mm. Nos trabalhos de Herrera e colaboradores (2016), o gel com 2% de *U. tomentosa* também apresentou efeito antibacteriano contra *E. faecalis* em modelo de dentina infectada.

A isopteropodina, alcaloide da *U. tomentosa*, tem apresentado potente ação antibacteriana contra bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*, com CIM 150 µg/ml e *Bacillus subtilis*, 250 µg/ml, sendo que as CIM do padrão ampicilina foram de 5 µg/ml para *S. aureus* e 10 µg/ml para *B. subtilis* (GARCIA *et al.*, 2005).

Ainda que a *U. tomentosa* tenha ações no sistema imunológico, anti-inflamatórias e antioxidantes, deve-se levar em consideração aspectos relacionados à segurança do uso dessa espécie vegetal. A literatura ressalva que o seu uso é contraindicado na gravidez, pois está associada a um risco substancial de causar malformação fetal ou dano irreversível, classificado como risco de categoria D, provavelmente pelo elevado teor de alcaloides. Recomenda-se utilizar produtos derivados de *U. tomentosa* com o conteúdo de alcaloides padronizado. Algumas reações adversas mencionadas são diarreia temporária, constipação, indigestão, linfocitose, eritrocitose e agravamento da acne (MILLS; BONE, 2005).

Caldas e colaboradores (2010) realizaram estudo visando avaliar a segurança de um creme com *U. tomentosa* para o tratamento tópico de herpes labial. Neste trabalho, 27 pacientes receberam aciclovir, enquanto 27 aplicaram o creme com *U. tomentosa*, mas não

houve diferença significativa entre as respostas. Contudo, os autores relataram que ambos os produtos foram seguros, sem ocorrência de reações adversas. Além disso, em relação à gravidade da reação inflamatória, o produto de *U. tomentosa* foi significativamente melhor do que o aciclovir. Este fato deve-se à *U. tomentosa* poder atuar como um agente anti-inflamatório.

Gama e colaboradores (2010) avaliaram o extrato de *U. tomentosa* na forma de um gel 50 mg/g de aplicação tópica como complemento no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com herpes simplex tipo 1 (HSV-1) e 2 (HSV-2). No grupo de 150, pacientes, após 5 dias de tratamento, 30% tiveram cura total das lesões. Daqueles que continuaram, 101 pacientes, 68,3% tiveram cura das lesões em 10 dias. Eventos adversos brandos e transitórios foram detectados em dez pacientes, mas na avaliação médica o gel contendo o extrato de *U. tomentosa* foi eficaz e seguro no tratamento e controle das lesões orais e genitais decorrentes da infecção com HSV-1 e HSV-2 nesses pacientes. Os autores ressaltam, ainda, a combinação de efeitos anti-inflamatórias, antivirais e de imunestimulação da planta para propiciar os benefícios terapêuticos para o tratamento dessas lesões.

Sheng e colaboradores (2001) realizaram estudo com pacientes de quimioterapia, administrando comprimidos contendo extrato aquoso de *U. tomentosa* denominado de C-Med-100[®]. O estudo demonstrou uma melhora na recuperação do DNA, resposta mitogénica e na recuperação dos leucócitos após danos induzidos pela quimioterapia nos voluntários humanos. Os autores observaram ainda que não houve respostas tóxicas relacionadas ao suplemento C-Med-100[®].

2.1.2.4 Estudos Tecnológicos

No trabalho de Marques (2008) foi observado, através de CLAE, que casca pulverizada de *U. tomentosa* e o liofilizado obtido do decocto da droga vegetal apresentam

um perfil químico característico de substâncias fenólicas. O estudo demonstrou como majoritário o ácido cafeico e presença das substâncias: ácido protocatéquico, catequina e epicatequina. Verificou-se ainda, diversas moléculas com perfis espectrais e máximos de absorção característicos de 3-flavanois poliméricos, correspondentes a proantocianidinas.

Ribeiro e colaboradores (2015) desenvolveram e otimizaram nanopartículas de PLGA (polímero ácido láctico-co-ácido glicólico) com extrato seco de *U. tomentosa* contendo 4,5% alcaloides totais.

As formas farmacêuticas orais sólidas quando comparadas as preparações usadas na medicina tradicional (chás) apresentam certas vantagens, tais como, são de mais fácil administração, facilitando a adesão do doente à terapêutica e permitem conferir maior estabilidade dos constituintes ativos e exatidão de doses a administrar. Neste sentido, Marques (2008) desenvolveu uma forma farmacêutica sólida de *U. tomentosa* com elevado teor de proantocianidinas para ingestão oral.

Nas farmácias de manipulação de Cuiabá, a dispensação de fitoterápicos, em especial a *U. tomentosa* (Unha-de-gato) tem bom índice de aceitabilidade pela população, todos os farmacêuticos conhecem as indicações desses produtos e 80% desses dispensam a *U. tomentosa* (BIESKI, 2006).

2.2 Formas Farmacêuticas Sólidas

2.2.1 Extratos Secos

Os extratos secos tem sido uma das matérias-primas mais utilizadas na produção de medicamentos fitoterápicos devido sua vantagem de maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, maior facilidade de padronização, exatidão de dosagem, manuseio,

transporte e mais elevada capacidade de transformação em outras formas farmacêuticas (PRISTA *et al.*, 2003; PACHÚ, 2007; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Para a obtenção dos extratos secos é necessário fazer uso de operação de secagem, uma técnica de secagem por aspersão (*spray drying*) tem sido de grande emprego para obtenção de medicamentos (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

2.2.1.1 Técnica por *Spray Dryer*

A técnica de secagem por *Spray Dryer*, também conhecida como secagem por aspersão, por nebulização ou por pulverização, pode ser aplicada para secagem de soluções, pastas, emulsões ou suspensões, que são atomizadas em finas gotículas em uma câmara provida de ar quente, com o intuito de eliminar solvente (por evaporação) e obter produto seco particulado (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). A eficácia se baseia no princípio do aumento da área de contato e no fornecimento de energia para vaporização do solvente e, também, suficiente ar dessecante para absorver a umidade (MASTERS, 1973).

Uma grande vantagem desta técnica de secagem é a possibilidade de obtenção de produtos diretamente na forma de pó, eliminando a necessidade de etapas de moagem típicas de outros processos de secagem. Além disso, o tempo de permanência do material a secar dentro da câmara de secagem é curto, tornando-a adequada para a secagem de produtos termossensíveis, como algumas substâncias contidas nos extratos vegetais (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Em relação ao processo de otimização de secagem, dentre os parâmetros que devem ser observados, destacam-se temperatura de entrada e de saída, velocidade de fluxo de alimentação, concentração e tipo de adjuvantes tecnológicos, teores de resíduos seco (VASCONCELOS *et al.*, 2005).

A técnica de secagem por aspersão (*spray dryer*) tem sido mais adequada para determinados materiais e metabólitos vegetais que o uso da liofilização e fornos de secagem. A secagem por aspersão é capaz de gerar produtos com características físico-químicas mais adequadas, tais como valores de higroscopicidade reduzidos e melhor integridade química que demais formas de secagem (CHRANIOTI; CHANIOTI; TZIA, 2016).

No entanto, a problemática dos produtos secos por aspersão é que estes, geralmente, apresentam deficientes características tecnológicas, como pobre fluidez, baixa densidade e elevada higroscopia, propriedades estas que dificultam a obtenção de uma forma farmacêutica sólida final (PETROVICK *et al.*, 2006; CHAVES *et al.*, 2009).

2.2.2 Granulados

Os granulados são, geralmente, substâncias medicamentosas associadas a adjuvantes tecnológicos que se apresentam na forma de pequenos grãos ou grânulos irregulares. O processo de granulação envolve a aglomeração das partículas dos pós, com uso de líquidos como álcool, água ou soluções aglutinantes, seguido da granulação dessa massa por meio de equipamento apropriado e a secagem dos grãos formados (PRISTA *et al.*, 2003).

As vantagens sobre os pós, como no caso dos produtos secos por aspersão, são (PRISTA *et al.*, 2003):

- não liberam pó quando armazenados ou administrados;
- os grão não aderem entre si devido à baixa higroscopicidade;
- estética;
- mais agradáveis de ingerir e posologia mais fácil;
- melhor conservação devido menor superfície de contato;
- podem ser revestidos.

No entanto, o processo de granulação tem alguns pontos negativos, uma vez que requer procedimentos unitários adicionais que levam a mais custos, tempo, equipamentos, espaços físicos e recursos humanos (PETROVICK *et al.*, 2006). Porém, é uma etapa crucial para superar as desvantagens dos produtos secos por aspersão.

Para a preparação do granulado há a via seca e a via úmida. Na via seca, o agente efetor é a pressão onde, por compactação, atuam as forças coesivas das partículas. Pela via úmida, o uso do líquido de umedecimento promove a dissolução parcial de um ou mais constituintes da mistura de pós (COUTO; GONZÁLEZ-ORTEGA; PETROVICK, 2000).

Há ainda o processo de granulação em leito fluidizado, que tem sido bem aceito devido à possibilidade de controlar as várias etapas do processo. O mecanismo de funcionamento consiste na dispersão por aspersão do líquido de granulação no leito dos componentes a granular, os quais são secos continuamente pelo fluxo de ar que os suspende no ar. Como vantagem, há um alto grau de mistura dos sólidos e homogeneidade do produto final (DIAS, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Realizar estudos tecnológicos para obtenção de formas farmacêuticas sólidas, pós e granulados, a partir das cascas do caule de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter e caracterizar a droga vegetal e as soluções extrativas (SE) de *E. uchi* e *U. tomentosa*;
- Verificar a viabilidade de obtenção de extrato e ou produto seco por aspensão de *E. uchi* e *U. tomentosa* de forma isolada e em associação;
- Avaliar a viabilidade da obtenção de forma farmacêutica sólida, tipo granulado, a partir de *E. uchi* através da técnica da via úmida clássica por leito fluidizado;
- Avaliar as características físico-químicas e tecnológicas dos produtos pulveréos obtidos;
- Avaliar atividades biológicas dos produtos obtidos: citotoxicidade, atividade antifúngica e anti-inflamatória de óxido nítrico (NO[•]).

4 MATERIAL E METÓDOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos e acessórios

Agitador magnético Nova Ética[®] modelo 114

Aparelho Mini *Spray Dryer* (modelo MSD 1.0) da Labmaq[®] do Brasil

Balança analítica Shimadzu modelo Ay 220

Balança de secagem Shimadzu[®] modelo MOC-120 H

Banho-maria Quimis[®] modelo 0334 M-28

Dissolutor Nova ética[®] modelo 299-6ATTS

Espectrofotômetro UV-Vis, Shimadzu[®], modelo UV-1700 Pharma Spec

Estufa com circulação e renovação de ar Solab[®] modelo SL102

Friabilômetro Nova ética[®] modelo 300

Malhas (tamises) Bertel[®]

Medidor de pH Hanna Instruments[®] modelo pH21

Moinho de facas Tecnal[®] tipo Wiley

Tamisador Bertel[®]

4.1.2 Reagentes, solventes e soluções

Etanol 96° GL

Água destilada

Reagente de *Folin-Ciocalteu*

Solução de Carbonato de Sódio 29% (m/V)

4.1.3 Adjuvantes farmacêuticos

Aerosil® (Dióxido de silício coloidal)

Estearato de magnésio

Amido

Amido modificado (HI-MAIZE)

Bergenina

Mitrafilina

4.2 Métodos

4.2.1 Delineamento experimental

Os experimentos foram realizados nas seguintes etapas (Figura 6): inicialmente a caracterização da MPV; obtenção e caracterização das SE; secagem em *Spray Dryer* para obtenção dos ESA, PSA e MSA; ensaios biológicos (antifúngico, citotoxicidade e anti-inflamatória) dos produtos secos; ensaio piloto para obtenção de granulados pela via úmida clássica e por leito fluidizado.

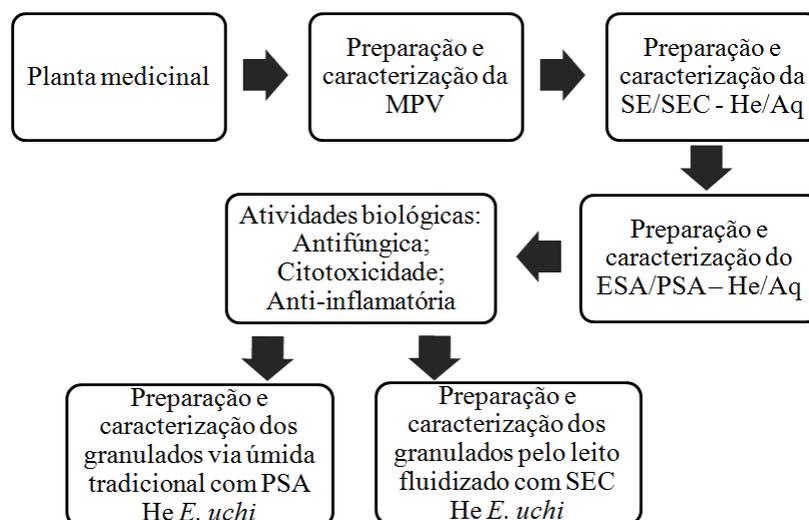


Figura 6 – Fluxograma do procedimento experimental.

Nota: MPV= matéria-prima vegetal; SE= solução extrativa; SEC= solução extrativa concentrada; He= hidroetanólica; Aq= aquosa; ESA= extrato seco por aspersão; PSA= produto seco por aspersão.

Fonte: Acervo pessoal.

O presente trabalho possui caráter multidisciplinar e, para sua execução, foram realizadas parcerias com vários laboratórios. Os ensaios de caracterização do material vegetal, preparação de solução extrativa, obtenção de extrato seco e produtos secos por aspensão, operação de granulação foram realizados nos Laboratórios de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), coordenado pela Prof^a. Dra. Tatiane Pereira de Souza em colaboração do Técnico em química Newton de Leiros Garcia Junior.

Os ensaios de dissolução e friabilidade foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade da UFAM, coordenado pela Prof^a. Dra. Katia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi em colaboração do Técnico em química Roberto Bentes.

A quantificação dos marcadores químicos, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, dos produtos derivados das drogas vegetais, *E. uchi* e *U. tomentosa*, foram realizados no Laboratório de Física Industrial da Faculdade de Farmácia da USP-Ribeirão Preto, sob a coordenação do Prof. Dr. Luís Alexandre Pedro de Freitas em colaboração da Técnica em química Áurea Lanchote.

A atividade antifúngica e ensaio preliminar do mecanismo de ação foi realizada no Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), coordenado pelo Dr. João Vicente Braga de Souza em colaboração da Dra. Ana Cláudia Alves Cortez e grupo de pesquisas de Micobactérias e Fungos da Amazônia.

Os ensaios para avaliar as atividades de citotoxicidade e anti-inflamatória *in vitro* foram realizados no Laboratório Biophar e Laboratório de Cultura de Células da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UFAM, coordenados pelo Dr. Emerson Silva Lima e Dra. Marne Carvalho de Vasconcellos, respectivamente, em colaboração da Msc. Márcia de Jesus Amazonas da Silva.

4.2.2 Obtenção e caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)

O material vegetal, seco e rasurado, de cascas do caule de *E. uchi* e cascas de *U. tomentosa* foi adquirido comercialmente na Loja de Produtos Naturais do Dr. Juan Revilla localizada na cidade de Manaus - AM. O produtor informou que uma exsicata de *E. uchi* foi depositada no Herbário do INPA sob nº 276857 e que a exsicata de *U. tomentosa* estava ainda sendo providenciada. Ao logo deste trabalho foram obtidos diferentes lotes de droga vegetal: para *E. uchi* Lote 1 (01/2016) e Lote 2 (07/2016) e para *U. tomentosa* Lote 1 (03/2017). Para o *U. tomentosa* ainda, foram doados galhos *in natura* pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) da Amazônia Ocidental, dos quais foi realizado a retirada das cascas para gerar o lote 2 (05/2017) da espécie.

Para dar início ao tratamento do material vegetal, este foi pesado e amostras retiradas para a análise do teor de umidade. Todo material com umidade acima de 14%, foi submetido a secagem em estufa de ar circulante a 40 °C, por 7 dias. Após o tempo de secagem, os materiais foram levados para moinho de facas, com abertura de malha de 1 mm. O material cominuído resultante foi armazenado, constituindo a MPV e caracterizado de acordo com os ensaios descritos abaixo.

4.2.2.1 Determinação da perda por dessecação (PD) por balança de secagem

O ensaio consiste em utilizar uma balança de secagem para avaliar o conteúdo de umidade e voláteis na amostra. Para isso, foi pesado 1 g da amostra e distribuída uniformemente no coletor de alumínio contido no aparelho. Foi programada temperatura de 105°C ± 1°C até peso constate, procedimento realizado em triplicata (ANVISA, 2010).

4.2.2.2 Determinação da perda por dessecação (PD) em estufa

O ensaio de consiste em utilizar pesa-filtros previamente tarados, estufa de circulação de ar e dessecador com sílica gel para avaliar o conteúdo de umidade e voláteis na amostra. Inicialmente, foram pesados 1 g de MPV em pesa-filtros, sendo posteriormente, colocados em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por período inicial de 2 horas. Os pesa-filtros com as amostras foram retirados da estufa e arrefecidos por 20 minutos em dessecador e pesados em seguida. Este procedimento foi repetido, com intervalos de 1 hora, até peso constante (ANVISA, 2010).

4.2.2.3 Análise granulométrica por tamisação

Foi pesado cerca 50 g do material moído e transferido para um conjunto de tamises. Os tamises, com abertura de malha de 1,0; 0,850; 0,710; 0,600; 0,500; 0,425; 0,355; 0,250 mm. O conjunto de tamises foi colocado em aparelho agitador mecânico e deixado por 15 minutos, com 60 vibrações por segundo. Após, foi removido o material retido na superfície superior de cada tamis com auxílio de um pincel para um papel impermeável. Foi pesado o pó e também o material retido no coletor (ANVISA, 2010). A análise foi realizada em triplicata.

Os dados foram analisados através da construção de histograma de distribuição e gráfico com as curvas de retenção e passagem a fim de verificar a granulometria das partículas e a classificação do pó. O diâmetro médio foi obtido por meio do valor de intersecção do gráfico de curva de retenção/passagem e, também, através do método matemático descrito por Allen Júnior, Popovich e Ansel (2007), conforme a Equação 1:

$$Dm = \frac{\sum (\%retida \times abertura \text{ média do tamis})}{100} \quad (\text{Equação 1})$$

Legenda: Dm= diâmetro médio (mm).

4.2.2.4 Determinação do teor extrativo

Este ensaio avalia o teor de substâncias hidrossolúveis presentes na amostra, além de ser um parâmetro obrigatório de controle de qualidade. Inicialmente 1,5 g da MPV foram colocados em béquer de vidro juntamente com 150 mL de água destilada, pesando-se o conjunto. Em seguida, foram submetidas à extração por decocção em um período de 10 minutos. Após resfriamento, o conjunto foi novamente pesado e reconstituiu-se o peso inicial antes da evaporação. Realizou-se o processo de filtração e os primeiros 20 mL de filtrado foram desprezados. Cerca de 20 g do filtrado, foram exatamente pesados diretamente em pesa-filtro, previamente tarados e evaporados até secura em banho-maria, com agitação ocasional. Após secura completa, o resíduo foi colocado em estufa à temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 2 horas. Após esse tempo, os pesa-filtros foram colocados em dessecador para arrefecimento por 20 minutos, pesando em seguida. Esse procedimento foi repetido de uma em uma hora até atingir peso constante (BUNDESVEREINIGUNG, 1986). O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo do teor extrativo, determinado de acordo com a Equação 2:

$$\text{TE} = \frac{(P_s - P_{ft}) \times \text{FD}}{m - \left(\frac{m \times \text{PD}}{100}\right)} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Legenda: TE = teor extrativo (% m/m); FD = constante (valor 7,5); m = massa da MPV (g); PD = perda por dessecação (% m/m); Pft= massa do pesa-filtro tarado (g); Ps = massa constante do pesa-filtro com a amostra após a dessecação (g).

4.2.2.5 Determinação das cinzas totais

Visa avaliar teor de matéria inorgânica na amostra. Foram pesados 3 g de amostra e transferidos para cadinho previamente tarado. O cadinho contendo a amostra foi colocada em tela de amianto sob bico de Bunsen até completa combustão (ausência de fumaça). Em seguida, os cadinhos foram incinerados em mufla aumentando, gradativamente, a temperatura até 550°C por 3 horas. As amostras foram resfriadas em dessecador por 30 minutos e pesadas.

Este procedimento foi repetido, com intervalos de 1 hora, até peso constante (ANVISA, 2010).

$$CT = \frac{Pcz - Pct}{m - \left(\frac{m \cdot PD}{100}\right)} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde: CT= cinzas totais (%); PD= perda por dessecação (%); m = massa da MPV (g); Pct= massa do cadinho tarado (g); Pcz = massa constante do cadinho com as cinzas (g).

4.2.2.6 Determinação de polifenóis totais (PT)

Foi realizado por método espectrofotométrico com a utilização do reagente colorimétrico *Folin-Ciocalteu*, em meio alcalinizado com carbonato de sódio anidro a 29%, conforme ANVISA (2010), modificado por Marinho (2016).

Inicialmente foi preparada a solução estoque: 0,750 g de MPV foram pesados e transferidos para um balão de fundo redondo de 250 mL com a boca esmerilhada, adicionado 150 mL de água destilada. A preparação foi mantida sob refluxo durante 30 minutos com temperatura de 85°C, e, em seguida, resfriada à temperatura ambiente. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 250 mL e o volume, completado com água destilada. A solução foi deixada em repouso para decantar e em seguida, filtrada em papel de filtro, desprezando os primeiros 50 mL, e o restante do filtrado constituiu a solução estoque.

Preparação da solução amostra para determinação de PT: foram transferidos, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente *Folin-Ciocalteu* e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com solução de carbonato de sódio anidro (Na₂CO₃) a 29% (m/v). Após 30 minutos, as medidas foram realizadas em espectrofotômetro UV visível, em comprimento de onda de 760 nm, sendo utilizado o ácido gálico como substância de referência. Os PT foram calculados de acordo com a Equação 4.

$$PT = \frac{A1 \times FD}{A_{1cm}^{1\%} \times \left[m - \left(m \times \frac{PD}{100} \right) \right]} \quad (\text{Equação 4})$$

Legenda: PT= percentual de polifenóis totais (g %); A1= absorvância de PT; FD= fator de diluição; m= massa da MPV (g); PD = perda por dessecação da MPV (g%); A_{1cm}^{1%} = coeficiente de absorção do ácido gálico.

4.2.3 Preparação e caracterização das soluções extrativas hidroetanólicas (SE He) de *E. uchi* e de *U. tomentosa*

A SE He de *E. uchi* foi obtida por meio de maceração dinâmica por 18h, utilizando álcool 70°GL como líquido extrator, uma relação droga:solvente de 16,5% (m/V), sob agitação magnética e temperatura de 25°C (TACON, 2012, modificado). Posteriormente, a solução foi filtrada e transferida para balão volumétrico para corrigir o volume com o mesmo líquido extrator. Foi realizada ainda a redução do teor alcoólico por rota- evaporação até 40% do volume inicial, obtendo-se a SE concentrada (SEC He).

Para SE He de *U. tomentosa* foi usado o método da decocção, sob refluxo, durante 15 minutos, utilizando etanol 50% (V/V) como líquido extrator, uma relação droga:solvente de 10% (m/V). Após o tempo de extração, o decocto foi arrefecido para realizar filtração a vácuo. A solução obtida foi transferida para um balão para correção do volume com a solução de etanol a 50%.

A caracterização da SE He e SEC He de *E. uchi* e SE He de *U. tomentosa* foi realizada pelos ensaios, realizados em triplicata, descritos abaixo.

4.2.3.1 Determinação do grau alcoólico

Foi realizada utilizando volume da amostra em proveta com uso de alcoômetro e termômetro (ANVISA, 2010).

4.2.3.2 Determinação do pH

Foi realizada com uma amostra de 10,0 mL de SE em potenciômetro calibrado com soluções tampão pH 4,01 e 7,01 (ANVISA, 2010).

4.2.3.3 Determinação da densidade de líquidos

Foi realizado em picnômetro de 25 mL, previamente calibrado através da aferição do mesmo vazio e contendo água. Em seguida, foi determinada a massa do picnômetro contendo a solução extrativa. A densidade foi calculada em relação a densidade da água (ANVISA, 2010).

4.2.3.4 Determinação de resíduo seco

Alíquotas de 20 g de amostra líquida, exatamente pesada em pesa-filtro, previamente tarado, foram levadas a banho-maria até secura total. Após isso, o pesa-filtro, contendo o resíduo sólido, foi levado à estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ até peso constante. O resultado foi expresso em relação a 100 g da amostra (BUNDESVEREINIGUNG, 1986; ANVISA, 2010).

4.2.3.5 Determinação de polifenóis totais (PT)

Método em microplacas para determinação do teor de polifenóis totais presentes nos sucos estudados foi realizada utilizando o método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu*, com modificações, descrito por Bonoli e colaboradores (2004). Inicialmente foi adicionado 10 μL de cada amostra na concentração de 1 mg/mL em cada cavidade da microplaca. O padrão utilizado no ensaio foi ácido gálico na mesma concentração da amostra. Logo após, foi adicionado 50 μL *Folin-Ciocalteu* a 10% e a placa foi incubada por 8 minutos em temperatura ambiente, protegida da luz. Em seguida, 240 μL de solução de carbonato de sódio 0,4% foram adicionados à reação. A placa, então, foi novamente incubada por 3 minutos e, em seguida, foi realizada a leitura em leitor de microplaca, no comprimento de onda de 620 nm. O ensaio foi realizado em triplicata. Foi expresso o valor de PT em percentual conforme a Equação 10 como também determinado pela interpolação da absorbância das amostras uma curva padrão com solução de ácido gálico nas seguintes concentrações: 7,813, 15,625, 31,25, 62,5, 125,

250 e 500 µg/mL expressos como mg de EqAG (equivalentes de ácido gálico) por g de amostra.

$$PT = \frac{Abs\ amostra}{Abs\ padrão} \times 100 \text{ (Equação 5)}$$

4.2.4 Preparação e caracterização das soluções extrativas Aquosas (Aq) de *E. uchi* e *U. tomentosa*

A SE Aq de *E. uchi* e *U. tomentosa* foram preparadas com base nas instruções no rótulo do fornecedor da Loja de Produtos Naturais onde foram adquiridos a MPV. Para droga vegetal *E. uchi* as instruções consistiam em utilizar duas colheres de sopa (equivalente a 21,2 g) de cascas em 1 litro e meio de água, ferver até restar 1 litro. Nestas condições, a relação droga:solvente foi de 1,4% (m/v) utilizando água destilada pelo método da decocção até evaporar 1/3 do volume inicial.

Para droga vegetal *U. tomentosa* a relação droga:solvente foi 0,7% (m/v) utilizando água destilada pelo método da decocção até evaporar 1/3 do volume inicial. Após a decocção, os decoctos foram resfriados e filtrados, dando origem às SE Aq das duas espécies quais foram caracterizadas pelos ensaios, realizados em triplicata, descritos a seguir.

4.2.4.1 Determinação do pH

A determinação de pH foi realizada conforme o item 4.2.3.2.

4.2.4.2 Determinação da densidade de líquidos

A determinação da densidade foi realizada conforme o item 4.2.3.3.

4.2.4.3 Determinação de resíduo seco

A determinação de resíduo seco foi realizada conforme o item 4.2.3.4.

4.2.4.4 Determinação de polifenóis totais (PT)

A determinação de PT foi realizada conforme o item 4.2.3.5.

4.2.5 Preparação e caracterização dos produtos secos (ESA/ PSA/ MSA)

As SE de *E. uchi* e *U. tomentosa* foram secas em aparelho de *Spray dryer* para obtenção do ESA e do PSA em condições similares as padronizadas por Tacon (2012) conforme Tabela 3. A operação de secagem das SE foi feita de maneira isolada (para cada espécie individualmente) e em associação entre as duas espécies de plantas.

| Condição | Solução extrativa |
|---------------------------|---------------------------|
| Temperatura de entrada | 110°C |
| Temperatura de saída | 80-85°C |
| Vazão de ar de secagem | 3,80 m ³ /min. |
| Vazão de ar comprimido | 30 L/min. |
| Velocidade de alimentação | 5,2 – 5,3 mL / minuto |
| Bico do pulverizador | 1,3 mm |
| Aditivo* | 20% Aerosil [®] |

Tabela 3 – Parâmetros de secagem no *Spray dryer*.

*Foi obtido extrato seco sem aditivo (ESA) e com aditivo (PSA)

No caso da associação, antes da secagem em *Spray Dryer*, foi realizada a mistura de 1:1 de volume da SE *E. uchi* e SE *U. tomentosa*, originando a Mistura Seca por Aspersão (MSA). Essa operação foi realizada tanto com as SE hidroetanólicas quanto com as SE aquosas de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

Para obtenção do PSA foi utilizado 20% de Aerosil[®] adicionado à SEC He de *E. uchi* ou SE He *U. tomentosa*, calculado em relação ao teor de resíduo seco de cada solução extrativa concentrada.

A caracterização do ESA e PSA de *E. uchi* e *U. tomentosa* foi realizada, em triplicata, pelos ensaios descritos a seguir:

4.2.5.1 Características macroscópicas

Foram avaliadas pela observação visual de cor e aspecto.

4.2.5.2 Rendimento da operação de secagem no *Spray dryer*

O rendimento operacional foi determinado pela pesagem do produto obtido no final da secagem e comparação com o rendimento teórico calculado a partir do teor de sólidos contido no produto inicial.

4.2.5.3 Determinação das densidades bruta e de compactação, fator de Hausner e índice de Carr

A densidade bruta (D_b) foi determinada a partir do volume ocupado por 1 g da amostra em proveta de 10 mL. Enquanto, a densidade de compactação (D_c) determinada submetendo essa mesma proveta de 10 mL com a amostra a 10, 500 e 1250 quedas manuais, elevando-se a proveta de 2 a 3 cm de altura em relação à superfície de batimento, a fim de expulsar o ar intraparticular. O ensaio foi continuado em sequência de 1250 quedas até que a diferença entre duas leituras subsequentes seja inferior ou igual a 0,1 mL e aferir o volume após esse procedimento (PODCZECK, 1999).

A partir dos dados obtidos neste ensaio, foram calculadas, as densidades brutas (D_b , Equação 5) e de compactação (D_c , Equação 6). Foram calculados, ainda, o fator de Hausner (FH) e índice de Carr (IC), segundo as Equações 7 e 8 respectivamente (CARR, 1965; HAUSNER, 1967).

$$D_b = \frac{M_a}{V_b} \quad (\text{Equação 6})$$

$$D_c = \frac{M_a}{V_c} \quad (\text{Equação 7})$$

$$FH = \frac{D_c}{D_b} \quad (\text{Equação 8})$$

$$IC = \left(\frac{D_c - D_b}{D_c} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 9})$$

Legenda: FH= fator de Hausner; D_b = densidade bruta (g/mL); D_c = densidade de compactação (g/mL); IC = índice de Carr; V_b = volume bruto; V_c = volume compactado; M_a = massa da amostra (g).

Os parâmetros índice de Carr e fator de Hausner, foram utilizados para avaliar as propriedades de fluxo dos ESA e PSA, ainda que de modo indireto. Para a classificação, foram seguidos os critérios descritos na literatura (WELLS, 2005; USP, 2006), conforme descrito abaixo:

Para Fator de Hausner:

1,00 a 1,11 = excelente fluxo

1,12 a 1,18 = fluxo

1,19 a 1,25 = fluxo fraco

1,26 a 1,45 = fluxo pobre

$FH > 1,50$ = fluxo muito pobre

Para Índice de Carr:

$IC < 10\%$ = excelente fluxo

11 a 15% = fluxo bom

16 a 20% = fluxo fraco

21 a 31% = fluxo pobre

$IC > 32\%$ = fluxo muito pobre

4.2.5.4 Determinação do ângulo de repouso

Foi pesado cerca de 5,0 gramas de amostra, a qual foi vertida lentamente em funil de vidro, apoiado em suporte, sobre papel milimetrado. Com auxílio de duas réguas, foi medida a altura do cone formado pela amostra, e observando o papel milimetrado foi medido o diâmetro da base do cone. O cálculo do ângulo de repouso foi determinado pela Equação 9.

$$\alpha = \text{tg}^{-1} \left(\frac{H}{r} \right) \quad (\text{Equação 10})$$

Legenda: tg^{-1} = tangente inversa; α = ângulo formado (ângulo de repouso); r = raio da base; h = altura do cone.

4.2.5.5 Determinação da PD em balança de secagem

A determinação da PD em balança de secagem foi realizada conforme o item 4.2.2.1 (ANVISA, 2010).

4.2.5.6 Determinação de Polifenóis totais (PT)

A determinação de PT foi realizada conforme o item 4.2.3.5.

4.2.5.7 Análise quantitativa do marcador químico

Foi utilizado como marcador químico a bergenina para a espécie *E. uchi* e mitrafilina para *U. tomentosa*. A quantificação da bergenina no ESA e PSA de *E. uchi* foi realizada por CLAE, método validado Tacon (2012). A quantificação de mitrafilina foi realizada por CLAE, segundo método validado por Reis (2017).

4.2.6 Atividade antifúngica

Para a atividade antifúngica foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, conforme o documento M27-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (NCCLS, 2002). As amostras testadas foram ESA He, PSA He, ESA Aq de *E. uchi* e *U. tomentosa*, aerosil e bergenina nas concentrações de 800 a 1,5 µg/mL. As amostras foram previamente solubilizadas em 100µL DMSO, e posteriormente 900 µL de caldo RPMI-1640 para obter uma solução inicial de 3,2 mg/mL. Foi testada ainda a anfotericina B de 16 a 0,031 µg/mL como droga controle ou padrão.

4.2.6.1 Microdiluição em caldo para determinação de concentração inibitória mínima (CIM)

4.2.6.1.1 Obtenção do inóculo

A cepa utilizada foi de *C. albicans* ATCC 36232 pertencente a coleção de microrganismos de interesse médico do INPA. O inóculo foi preparado em solução salina

(0,85%) esterilizada, utilizando-se colônias de 24 h subcultivadas em ágar Sabouraud. A concentração foi ajustada por contagem de células em câmara de Neubauer, para a obtenção de um inóculo de concentração igual a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL equivalente à escala 0,5 de McFarland, e o volume correspondente foi transferido para caldo RPMI-1640. A viabilidade e a pureza do inóculo foram controladas por cultivo de alíquotas de suspensão em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose, incubadas a 37 °C durante 48 horas.

4.2.6.1.2 Teste de sensibilidade antifúngica

Inicialmente, foi transferido volume de 100 µL do meio RPMI-1640 para cada poço das microplacas (Figura 7). Em seguida alíquotas de 100 µL de cada solução da amostra foi aplicada na coluna 1, em duplicatas, e desta diluída até os poços da coluna 10 da placa pela técnica de microdiluição com uso de pipeta multicanal. Observando que no fim do poço 10 deve ser descartado 100 µL em excesso. Por fim, foi adicionado os volumes de 100 µL do inóculo nos poços, exceto os da coluna 12 que foram utilizados como controle do meio (controle negativo), sendo depositados nestes 200 µL de meio RPMI-1640. Os poços da coluna 11 foram utilizados como controle positivo de crescimento do fungo.

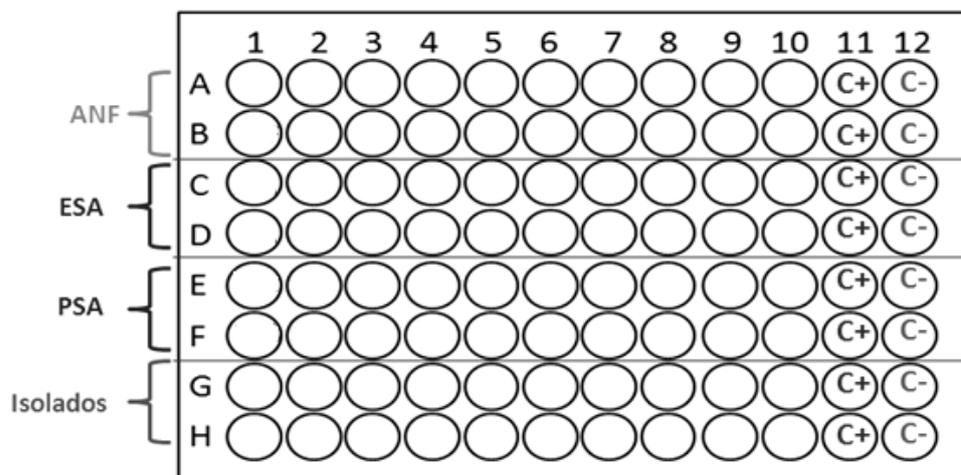


Figura 7 – Esquema da microplaca de 96 poços esquema para realizar o ensaio antifúngico por microdiluição

Nota: ANF: anfotericina B; ESA: Extrato seco por aspersão; PSA: produto seco por aspersão; C+: controle positivo (inóculo); C-: Controle negativo (meio RPMI-1640).

Fonte: (NCCLS, 2002).

As microplacas foram incubadas a 37°C, durante 24 horas. A leitura foi realizada visualmente, comparando-se o crescimento no poço controle positivo (poço 11), com os demais poços referentes às concentrações das substâncias testadas. Foi considerado o CIM 50% como a menor concentração capaz de inibir o crescimento de 50% da levedura (NCCLS, 2002).

4.2.6.2 Teste de interação *in vitro* entre ESA *E. uchi* e ESA *U. tomentosa* na sensibilidade antifúngica

Este teste foi realizado com uma mistura física entre o ESA *E. uchi* e ESA *U. tomentosa* e, também com MSA (*E. uchi* + *U. tomentosa*) a fim de verificar possíveis mudanças no valor do CIM se comparado aos produtos secos individualmente.

4.2.6.3 Ensaios preliminares dos mecanismos de ação

Os testes, descritos abaixo, foram realizados apenas com o ESA He de *E. uchi*.

4.2.6.3.1 Ensaio proteção do sorbitol

Para avaliar uma possível ação sobre a parede celular fúngica foi utilizado o sorbitol como osmoprotetor na parede celular fúngica. O ensaio consiste em preparar uma placa igual ao teste de sensibilidade antifúngica (item 4.2.6.1.2) e outra placa contendo a mesma amostra, nas mesmas concentrações, acrescidos de 0,8M de sorbitol em cada poço. Após incubação à 37 ° C, as CIM foram lidas em 24 h e observadas as alterações no valor da CIM. Este ensaio foi realizado em duplicada (FROST *et al.*, 1995).

4.2.6.3.2 Ação sobre o ergosterol

Para avaliar uma possível ação sobre o ergosterol um constituinte da membrana da célula fúngicas, preparou-se uma placa igual ao teste de sensibilidade antifúngica (item 4.2.6.1.2) e outra placa contendo a mesma amostra e diferentes concentrações de ergosterol de 200 à 800 µg/mL adicionado ao meio de ensaio, em linhas diferentes da mesma placa. A CIM foi lida às 24 h de acordo com o controle do crescimento de fungos (CARRASCO *et al.*, 2012).

4.2.7 Ensaio de viabilidade celular

4.2.7.1 Método *Alamar blue*

Este teste foi realizado com o ESA He *E. uchi* e ESA He *U. tomentosa*, a fim de determinar as concentrações não tóxicas desses extratos secos. A citotoxicidade foi avaliada pelo método Alamar blue utilizando-se fibroblastos de pulmão humano (MRC5) conforme Silva (2016). O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.8 Avaliação da capacidade de inibição de óxido nítrico (NO·)

Com base nos ensaios antifúngicos, anti-inflamatórios preliminares e de viabilidade celular optou-se por avaliar a capacidade de inibição da produção de NO· em linhagem de células *cell Raw 264.7* ativado com 1 µg/mL de lipopolissacarídeo apenas para o ESA He *E. uchi*, o qual foi avaliado nas concentrações de 20, 10, 5, 2,5 e 1,25 µg/mL e utilizado como controle positivo o lipopolissacarídeo, como controle negativo somente meio de cultura RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino (SILVA, 2016).

4.2.9 Obtenção e caracterização de granulados

Foi verificada a viabilidade de obtenção dos granulados por duas técnicas: por via úmida tradicional e através do equipamento Minileito Fluidizado. Pelo método da via úmida tradicional foram realizados ensaios a fim de selecionar o melhor agente aglutinante e as condições iniciais do processo, considerando como variável independente o tipo de agente aglutinante, tendo como variáveis dependentes as características tecnológicas e químicas dos granulados obtidos. Os agentes aglutinantes selecionados para o estudo foram os adjuvantes: celulose microcristalina, amido modificado e lactose.

4.2.9.1 Obtenção dos granulados pela via úmida clássica

Foram preparadas 3 formulações de granulados (Tabela 4), contendo 3% de PSA He *E. uchi*. Os experimentos foram realizados com os diferentes agentes aglutinantes na concentração de 15% e como diluente foi utilizado o amido. Inicialmente foi realizada a mistura manualmente por diluição geométrica. Como líquido aglutinante foi utilizado água até consistência adequada para granulação. A massa úmida foi moldada utilizando tamis com malha de 1 mm. Em seguida os grânulos obtidos foram submetidos à secagem em estufa de ar circulante a 40° C por 6 dias. Os granulados secos foram calibrados por tamisação utilizando tamises sequenciados de 1000 e 250 µm. Após calibração, os granulados foram armazenados.

| Composição | F1 | F2 | F3 |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| PSA He (%) | 3 | 3 | 3 |
| Celulose microcristalina (%) | 15 | - | - |
| Amido (%) | - | 15 | - |
| Lactose (%) | - | - | 15 |
| Amido (diluente) (%) | 82 | 82 | 82 |
| H ₂ O qs (mL) | 80 | 75 | 50 |

Tabela 4 – Composição dos granulados contendo 3% de PSA He *E. uchi*

4.2.9.2 Obtenção dos granulados através de minileito fluidizado

Para a granulação no minileito fluidizado foram preparados granulados contendo apenas os excipientes pela via úmida clássica denominados GRA B (Tabela 5) e a partir desses granulados foi feito procedimento atomização da SEC He *E. uchi* no equipamento de minileito. No ensaio piloto foi utilizado 35 g de GRA B colocados no equipamento Mini-leito fluidizado com vazão de ar de secagem 0,35 m³/min, temperatura de entrada de 50 °C e vibração de 35%. Foram atomizados de 350 mL de SEC He *E. uchi* com velocidade de alimentação de 3 mL/min. A caracterização dos granulados foi realizada pelos ensaios descritos a seguir.

| Composição | GRA B |
|------------------------------|--------------|
| Celulose microcristalina (%) | 15 |
| Amido (diluyente) (%) | 70 |
| Pasta de amido (15%) | 15 |
| Etanol 50°GL qs (mL) | 110 |

Tabela 5 – Granulados apenas com excipientes para granulação no minileito fluidizado

4.2.9.3 Características macroscópicas

Características macroscópicas – foram avaliadas pela observação visual da cor e aspecto da amostra;

4.2.9.4 Rendimento da operação de granulação

O rendimento percentual de granulação foi calculado levando em consideração a quantidade inicial dos componentes da formulação e a quantidade final de granulados calibrados obtidos.

4.2.9.5 Análise granulométrica por tamisação

A determinação de resíduo seco foi realizada conforme o item 4.2.2.3.

4.2.9.6 Determinação das densidades bruta e de compactação, fator de Hausner e índice de Carr

A determinação de resíduo seco foi realizada conforme o item 4.2.5.3.

4.2.9.7 Determinação da friabilidade

O equivalente a 30 mL de granulado, na faixa de 0,250 a 0,850 mm, foi transferida cuidadosamente para proveta de 100 mL, sendo a mesma tampada e acoplada a friabilômetro. O conjunto permaneceu em rotação por 15 minutos a 20 rpm. Posteriormente, o granulado foi novamente tamisado para a eliminação dos finos com tamis de abertura de malha de 0,250 mm, sendo a porção retida pesada (PRISTA *et al.*, 2003). A friabilidade foi calculada a partir do percentual de finos liberados em relação à massa inicial isenta de finos.

4.2.9.8 Avaliação do ângulo de repouso

Para a avaliação do ângulo de repouso, cerca de 25g da amostra foi transferido para interior de funil de 250 mL, com abertura de 11,3 mm, altura de 14 cm e base fixa. De acordo com os resultados obtidos, os granulados foram classificados em termos de propriedades de escoamento como se segue: ângulo de repouso de 25-30° fluxo excelente; de 31- 35° fluxo bom; de 36-40° fluxo aceitável; de 41-45° fluxo passável; de 46-55° fluxo pobre; acima de 56° fluxo muito pobre (WELLS, 2005).

4.2.9.9 Determinação da PD por balança de secagem

Conforme o item 4.2.2.1 seguindo as adaptações necessárias no caso utilizado 500 mg de amostra (ANVISA, 2010).

4.2.9.10 Análise quantitativa de marcador químico

As amostras foram analisadas conforme o item 4.2.5.7 com as adaptações necessárias por tratarem-se de granulados.

4.2.9.11 Avaliação da liodisponibilidade

4.2.9.11.1 Seleção do comprimento de onda

A quantificação foi determinada inicialmente por meio do preparo de uma solução de ESA He *E. uchi* em água destilada (meio da dissolução) e análise de varredura em espectrofotômetro UV-Vis de 200 a 800 nm. Foi avaliado ainda soluções dos demais excipientes (amido, lactose, celulose microcristalina).

4.2.9.11.2 Curva de calibração

Foi construída uma curva de calibração nas concentrações de 18, 24, 30, 36 e 42 µg/mL das amostras em água destilada com leitura no comprimento de onda de 272 nm considerando o comprimento de onda máximo de absorção do ESA He *E. uchi*.

4.2.9.11.3 Determinação da liodisponibilidade

O ensaio de dissolução foi realizado no equipamento Dissolutor com os granulados, de acordo com ANVISA (2010), utilizando o aparato das cestas, na velocidade de rotação de 100

rpm, meio de dissolução foi 900 mL água destilada para cada cuba e temperatura do banho de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Foram retiradas alíquotas de 10 mL do meio de dissolução ao final do tempo de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos e posteriormente filtradas. O mesmo volume de meio foi repostado após cada retirada. Em seguida, foram determinadas as absorvâncias por espectrofotometria no ultravioleta (UV), em 272 nm.

4.2.10 Análise dos dados

Todos os resultados foram expressos através de média e desvio padrão e interpretados com auxílio de software Microsoft Excel[®].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da MPV

Os resultados da caracterização dos diferentes lotes de MPV de *E. uchi* Lote 1 (01/2016) e Lote 2 (07/2016) (Tabela 6). Os dois lotes avaliados apresentaram valores de perda por dessecação dentro do preconizado de 6 a 15% pela Farmacopeia brasileira (ANVISA, 2014) e, embora o teste *t Student* realizado entre os dois lotes tenha apontado diferença estatística significativa ($p < 0,05$), considerando os limites de umidade especificados para droga vegetal na Farmacopeia Brasileira 5ª ED, pode-se inferir que ambos os lotes de *E. uchi* apresentam estabilidade de conservação, estando pouco sujeitos às contaminação microbiana, atividade enzimática e hidrólise de seus princípios ativos (COUTO *et al.*, 2009; ANVISA, 2014).

| ENSAIOS | <i>E. uchi</i> Lote 1 (01/2016) | <i>E. uchi</i> Lote 2 (07/2016) | Literatura |
|---|---------------------------------|---------------------------------|--------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | |
| Perda por Dessecação (Balança de secagem) | ND | 7,09% ± 0,22 | 6 a 15% |
| Perda por Dessecação (Estufa) | 8,70% ± 0,07 | 6,14% ± 0,04 | 6 a 15% |
| Diâmetro médio (gráfico) | 0,35 mm ± 0,00 | 0,38 mm ± 0,01 | 0,2 a 0,8 mm |
| Diâmetro médio (formula) | 0,32 mm ± 0,01 | 0,35 mm ± 0,01 | 0,2 a 0,8 mm |
| Teor de extrativos | 8,78 % ± 0,14 | 6,54 % ± 0,27 | |
| Polifenóis totais | ND | 6,93 % ± 0,09 | |
| Cinzas totais | ND | 4,52 % ± 0,04 | |

Tabela 6 – Caracterização da MPV de *E. uchi*

Nota: ND: não disponível

Em relação à determinação da perda por dessecação nos dois lotes de *U. tomentosa* (Tabela 7), observou-se uma diferença significativa entre os teores de umidade encontrados dependendo da técnica de análise, ou seja, quando utilizada a balança de secagem não houve diferença estatística ($p = 0,114985$) entre os Lote 1 (03/2017) e Lote 2 (05/2017), no entanto, quando empregada a técnica de dessecação em estufa houve diferença significativa ($p = 0,000986$) entre os lotes, sendo o Lote 2 a apresentar maior umidade. A Farmacopeia americana prevê que a droga vegetal da *U. tomentosa* apresente perda por dessecação menor

que 7%, que significa que apenas o lote Lote 1 estaria dentro do aceitável (PHARMACOPEIA ONLINE, 2016), evidenciando limites de aceitação mais rigorosos para esta monografia específica quando comparado as normas gerais da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2014; GONÇALVES, 2017).

| ENSAIOS | <i>U. tomentosa</i> | <i>U. tomentosa</i> | <i>Literatura</i> |
|---|---------------------|---------------------|-------------------|
| | Lote 1 (03/2017) | Lote 2 (05/2017) | |
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | |
| Perda por Dessecação (Balança de secagem) | 8,68% ± 0,56 | 9,36% ± 0,30 | <7% |
| Perda por Dessecação (Estufa) | 6,81% ± 0,02 | 7,63% ± 0,07 | <7% |
| Diâmetro médio (gráfico) | 0,35 mm ±0,01 | 0,35 mm ±0,04 | 0,2 a 0,8 mm |
| Diâmetro médio (formula) | 0,34 mm ±0,01 | 0,37 mm ±0,03 | 0,2 a 0,8 mm |
| Teor de extrativos | 14,39 % ±0,34 | 17,01 % ±0,11 | |
| Polifenóis totais | 8,43 % ±0,24 | ND | |
| Cinzas totais | 3,76 % ±0,14 | ND | < 8,0 % |

Tabela 7 – Caracterização da MPV de *U. tomentosa*

Nota: ND: não disponível

Uma explicação possível para que o lote 2 de *U. tomentosa* apresente maior umidade que o lote 1 é por se tratar de um material vegetal proveniente da EMBRAPA adquirido ainda fresco e não rasurado, dessa forma, o material foi tratado praticamente desde a coleta, sendo todo o processo de estabilização e secagem da droga vegetal realizado. Tal fato, sugere que o tempo de 7 dias deixado na estufa para estabilização e secagem do material ainda fresco não foi suficiente para atingir a PD% exigida na monografia da *U. tomentosa* (droga vegetal).

Em relação ao ensaio de teor de extrativos com água para avaliar o teor de substâncias hidrossolúveis (açúcares, aminoácidos e outros) presentes na MPV, nota-se que os dois lotes de *E. uchi* apresentaram valores baixos (6,54% e 8,70%) se comparado com dados da literatura que evidencia até 13,77% (POLITI, 2009). Isto pode ser justificado por fatores edafoclimáticos, tais como, diferentes locais de coleta e sazonalidade. Vale ressaltar que este ensaio é empregado como um teste auxiliar na caracterização físico-química da droga vegetal e serve como um parâmetro de qualidade da MPV, sendo, possível ainda inferir que o uso

somente de água, através de decocção, não seria o solvente mais apropriado para extração das substâncias presentes na MPV *E. uchi*.

Em relação à avaliação granulométrica da MPV de *E. uchi* (Figura 8, Figura 20 no Apêndice 1) pode-se observar que os lotes da MPV *E. uchi* apresentaram diferença no diâmetro das partículas sendo $0,38 \text{ mm} \pm 0,01$ e $0,35 \text{ mm} \pm 0,004$, apesar de processados no mesmo equipamento, tal diferença pode ser explicada pelas propriedades do material ser fibroso e pela diferença da umidade total dos lotes sendo 6,14% e 8,70 %, uma vez que a operação de secagem influencia na moagem (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

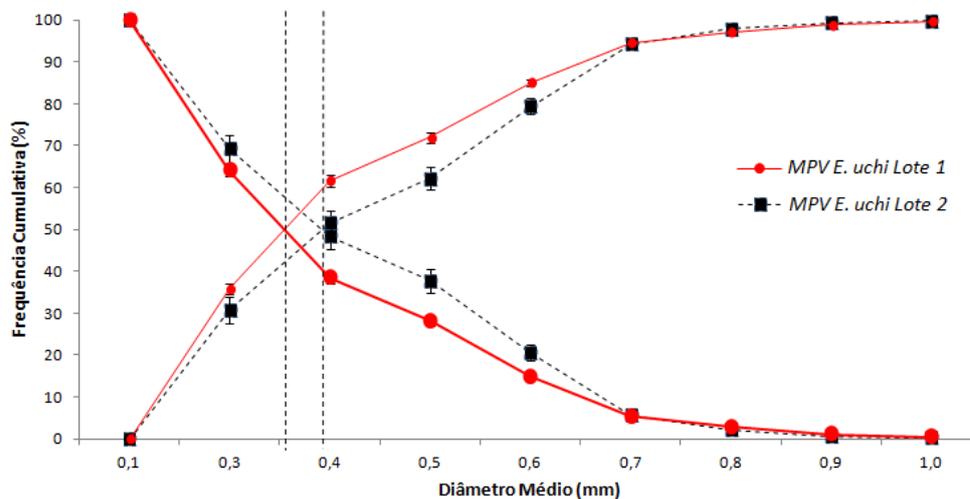


Figura 8 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas da MPV de *E. uchi*.

Nota: —●— MPV *E. uchi* Lote 1 ($0,35 \text{ mm} \pm 0,004$); - -■- - MPV *E. uchi* Lote 2 ($0,38 \text{ mm} \pm 0,01$). **Fonte:** Acervo pessoal.

Com base no histograma de distribuição da MPV de *E. uchi* (Figura 20 no Apêndice 1) nota-se que as partículas encontram-se predominantemente entre os tamises de 250 a 600 μm , sendo assim, ambos os lotes são classificadas como pó grosso (ANVISA, 2010).

Em relação a avaliação granulométrica das MPV de *U. tomentosa* (Figura 9) observa-se que o diâmetro médio foi semelhante pelo método do gráfico e do uso da fórmula para ambos os lotes, indicando que apesar da diferença entre o teor de PD entre os diferentes lotes, a umidade não influenciou na moagem do material final. Em relação ao histograma de distribuição das partículas de MPV de *U. tomentosa* (Figura 21 no Apêndice 1) foi observado

que as partículas encontram-se predominantemente entre os tamises de 250 a 350 μm , sendo assim, classificadas também como pó moderadamente grosso, tal qual a MPV de *E. uchi* (ANVISA, 2010).

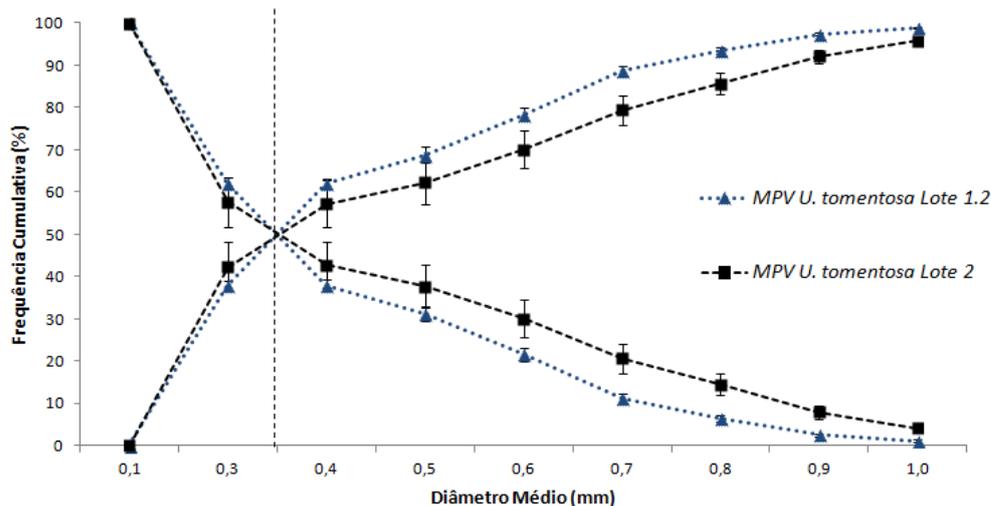


Figura 9 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas da MPV de *U. tomentosa*.

Nota: ▲ MPV *U. tomentosa* Lote 1 (0,346 mm \pm 0,004); ■ MPV *U. tomentosa* Lote 2 (0,346 mm \pm 0,036). **Fonte:** Acervo pessoal.

De acordo com a literatura consultada, o diâmetro das partículas da MPV *E. uchi* e de *U. tomentosa* está dentro da faixa adequada para extração das substâncias nelas contidas, uma vez que se as partículas da MPV forem muito pequenas (menor que 0,2 mm) pode ser prejudicial, desde o fato de dificultar o processo de filtração final, como também comprometer a operação de extração, pois tendem a se aglomerar formando um particulado que inibe a penetração do solvente e lixiviação ou dissolução das substância, o mesmo acontecendo com partículas muito grandes (acima de 0,8 mm) que não permite a penetração do líquido extrator em todas as células vegetais (VOIGT; BORNSCHEIN,1982).

O teor de cinzas totais foi determinado apenas na MPV *E. uchi* Lote 2 e MPV *U. tomentosa* Lote 1 apresentando percentual de 4,52 % e 3,76 %, respectivamente. Os valores são semelhantes a outros trabalhos que avaliam o conteúdo de cinzas em plantas medicinais como Almeida e colaboradores (2003) e Pedro e colaboradores (2016). Os autores ainda mencionam que teores de cinzas elevados (5 a 10%) indicam a abundância de elementos

minerais em plantas. Vale destacar que alguns produtos vegetais são falsificados pela adição de produtos de origem mineral tais como pedra, areia ou terra e outras impurezas, o que eleva o teor de cinzas, indicando que a droga vegetal está contaminada (SIMÕES *et al.* 2004; RODRIGUES *et al.*, 2015). Politi (2009) encontrou valores de cinzas entre 5,83 a 7,12% para cascas de *E. uchi* semelhante ao valor encontrado nesse trabalho. Para cascas de *U. tomentosa*, o teor de cinzas está dentro do permitido sendo inferior a 8,0% (PHARMACOPEIA ONLINE, 2016).

A determinação do teor de PT foi realizada apenas nos Lotes da MPV *E. uchi* Lote 2 e MPV *U. tomentosa* Lote 1 apresentando percentual de 6,93 % e 8,43 %, respectivamente. De acordo com Hoyos e colaboradores (2015), que avaliaram a composição de substâncias fenólicas presentes em *U. tomentosa* de diferentes regiões da Costa Rica, é viável o uso desta planta medicinal para obtenção de extratos ricos em fenólicos uma vez que foram detectados até 32 substâncias nos extratos provenientes desta planta. Extratos enriquecidos de *U. tomentosa* alcançam teores de até 31,93% de PT (BORRE, 2010). Vale mencionar que os estudos relatam que a atividade anti-inflamatória da *U. tomentosa* é atribuída a essas substâncias polifenólicas (SANDOVAL *et al.*, 2000; SANDOVAL *et al.* 2002; PILARSKI *et al.*, 2006). Através das análises de caracterização da MPV com base na literatura foram selecionados os lotes *E. uchi* Lote 2 (07/2016) e *U. tomentosa* Lote 1 (03/2017) para continuidade do trabalho.

5.2 Caracterização da solução extrativa hidroetanólica (SE He)

A partir da MPV *E. uchi* Lote 2 (07/2016) e *U. tomentosa* Lote 1 (03/2017) foram preparadas as SE He de *E. uchi* e *U. tomentosa*, respectivamente. A caracterização das SE He (Tabela 8) visa à análise de parâmetros de qualidade tecnológica, possibilitando direcionar as operações unitárias envolvidas no desenvolvimento dos produtos secos.

Como mencionado na metodologia, foi necessária a operação de concentração da SE He de *E. uchi* devido apresentar um alto teor alcoólico (71 °GL) impossibilitando a etapa posterior de secagem em equipamento de *Spray dryer*, assim foi obtido a SEC He, o que resultou também em um aumento no teor de sólidos (0,98 para 1,47%) e na densidade específica da amostra (0,878 para 0,925 g/mL). O aumento do teor de sólidos presentes na solução a secar favorece as características tecnológicas do produto seco final, pois tende a aumentar o rendimento da operação de secagem por aspersão, devido ao aumento do tamanho e da densidade das partículas pulveréas resultantes (SOUZA, 2004; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

| ENSAIOS | SE He <i>E. uchi</i> | SEC He <i>E. uchi</i> | SE He <i>U. tomentosa</i> |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| Grau Alcoólico (°GL) | 71 °GL à 25°C | 49 °GL à 21°C | 49 °GL à 24 °C |
| pH | 5,17±0,02 | 4,61±0,02 | 5,33±0,01 |
| Densidade relativa | $d_{25}^{25} : 0,886 \pm 0,001$ | $d_{25}^{24} : 0,933 \pm 0,000$ | $d_{26}^{27} : 0,935 \pm 0,000$ |
| Resíduo Seco % (m/m) | 0,98 ±0,01 | 1,47 ±0,01 | 1,58 ±0,00 |
| Polifenóis totais (%) | 13,89 ±0,32 | 14,99 ±0,98 | 14,15 ±0,54 |
| Polifenóis totais (µg EqAG/mL) | 185,75 ±3,99 | 205,97 ±12,82 | 195,08 ±7,07 |

Tabela 8 – Caracterização físico-química das SE He de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

Nota: SE: Solução extrativa; SEC: Solução extrativa concentrada; He: Hidroetanólica; EqAG: Equivalentes de ácido gálico.

O principal constituinte químico ativo da espécie *E. uchi* (bergenina) é estável em pH ácido, estudos realizados por Zhou e colaboradores (2008) relatam que este constituinte sofre degradação em pH neutros a alcalinos, podendo sofrer degradação de até 96,4%. A solução extrativa concentrada de *E. uchi* apresentou pH ácido de 4,60 o que garante a estabilidade do seu principal marcado químico, a bergenina.

A partir do valor de resíduo seco e da densidade é possível calcular a massa teórica de sólidos totais presente na SEC He, assim, inferir o rendimento da operação de secagem. A densidade é uma propriedade específica para cada substância pura possibilitando ainda identificar e a diferenciar substâncias. No caso dos materiais que não são puros (misturas) a

densidade é uma função da sua composição sendo útil no controle de qualidade, pois, tem relação com a concentração das soluções (CÉSAR; PAOLI; ANDRADE, 2004).

O teor de polifenóis totais da SEC de *E. uchi* encontrado foi de 14,99% que são valores considerados baixos quando comparando aos resultados de Tacon e Freitas (2013) que variou de 31,89 a 47,82 %, utilizando similar método de extração. A literatura ainda menciona um extrato etanólico de *E. uchi* com valor de 620 µg EqAG/g (SILVA *et al.* 2012), ou seja, muito maior que o encontrado nos extratos do presente trabalho (205,97 µg EqAG/mL).

O teor de polifenóis totais na SE He *U. tomentosa* foi de 14,15% ou 195,08 µg EqAG/mL, valor este bastante inferior a SE de *U. tomentosa* de Borré (2010) que foi de 31,93%. Um procedimento que tem sido adotado para maior conteúdo de polifenóis totais tem sido a produção de extratos com frações enriquecidas de compostos bioativos o que possibilita produtos com maior valor agregado (BORRÉ, 2010; HOYOS *et al.*, 2015).

5.3 Caracterização da solução extrativa aquosa (SE Aq)

Considerando que o fornecedor de ambas as MPV recomenda uma forma de preparo do chá para utilização terapêutica, resolveu-se obter os decoctos, aqui chamados de SE Aq de ambas as espécies e verificar suas características físico-químicas.

Em relação à caracterização das SE Aq de *E. uchi* e *U. tomentosa* (Tabela 9) observa-se similaridade com as SE He por seu pH ácido e valores do teor de polifenóis totais, entretanto, a solução aquosa de ambas as espécies apresentaram um baixo teor de sólidos solúveis (resíduo seco 0,15 % e 0,16%, para *E. uchi* e *U. tomentosa* respectivamente) o que já era de se esperar devido a baixa relação droga:solvente, sendo utilizado 0,7 e 1,4% para as aquosas de *U. tomentosa* e *E. uchi*, enquanto, que foi empregado 10% a 16,5% para SE hidroetanólicas.

Podemos mencionar que seria melhor utilizar na elaboração de formas farmacêuticas com extratos obtidos utilizando o melhor solvente de extração que a população fazer preparações caseiras que foi apontado com menor teor de sólidos solúveis e consequentemente menor teor de ativos.

| ENSAIOS | SE Aq <i>E. uchi</i> | SE Aq <i>U. tomentosa</i> |
|----------------------------------|--|--|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| pH | 4,76 ±0,01 | 5,01 ±0,01 |
| Densidade relativa | $d_{25}^{26} \text{ }^{\circ}\text{C} : 1,001 \pm 0,000$ | $d_{25}^{25} \text{ }^{\circ}\text{C} : 1,000 \pm 0,000$ |
| Resíduo Seco % (m/m) | 0,15 ±0,002 | 0,16 ±0,001 |
| Polifenóis totais | 10,34 ±0,45 | 13,72 ±0,06 |
| Polifenóis totais (mg de EqAG/g) | 145,28 ±5,87 | 189,42 ±0,80 |

Tabela 9 – Caracterização físico-química das SE Aq de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

Nota: SE: Solução extrativa; Aq: Aquosa.

O conteúdo de polifenóis totais encontrado nas SE obtidas com diferentes líquidos de extração é mostrado na Figura 10. Quanto comparada as SE de *E. uchi*, observa-se que de acordo com o teste t de *Student* há diferença estatística ($p = 0,009126$) entre os teores de PT, por outro lado quando comparada as SE de *U. tomentosa* não há diferença ($p = 0,276131$) estatística. Dessa forma, há evidências que para a espécie *U. tomentosa* tanto o uso da água como de uma solução hidroetanólica, como solvente extrator, não interfere no conteúdo de PT.

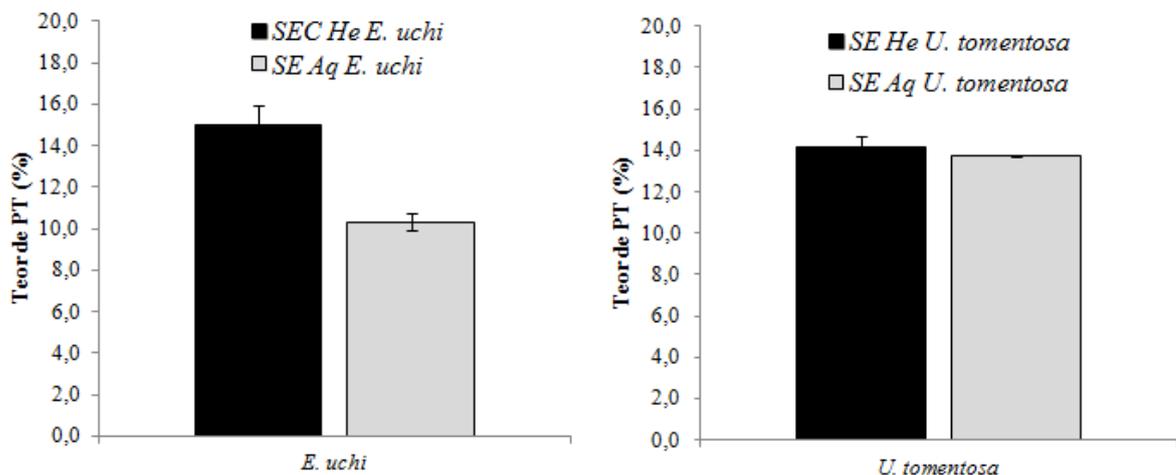


Figura 10 – Gráfico do teor de polifenóis totais nas SE de *E. uchi* e *U. tomentosa*.

Nota: PT: Polifenóis totais. **Fonte:** Acervo pessoal.

5.4 Caracterização de ESA, PSA e MSA He

Em relação à caracterização dos ESA e PSA He de *E. uchi* (Figura 11, Tabela 10, Tabela 11). Observa-se que o uso do adjuvante de secagem Aerosil® para *E. uchi* possibilitou melhorias nas características macroscópicas dos pós, reduzindo a umidade total de 6,97% para 4,95% e, também, no rendimento operacional que aumentou em cerca de 9% com o uso do adjuvante. Entretanto, as características reológicas como FH e IC ainda se enquadram como fluxo muito pobre. O Aerosil® tem sido utilizado para secagem de muitos extratos vegetais com fins medicinais, e contribui para melhoria das características tecnológicas como evitar a formação de aglomerados e higroscopicidade dos extratos secos (DE SOUZA *et al.*, 2000).

| Nome | ESA He <i>E. uchi</i> | PSA He <i>E. uchi</i> | MSA He | ESA He <i>U. tomentosa</i> | PSA He <i>U. tomentosa</i> |
|---------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|
| | pó fino | pó fino | pó fino | pó fino | pó fino |
| Aspecto | com aglomerações | sem aglomerações | com aglomerações | sem aglomerações | sem aglomerações |
| Cor | marrom médio a escuro | marrom médio | marrom médio a escuro | marrom claro | marrom claro |
| Odor | característico | característico | característico | característico | Característico |

Tabela 10 – Características macroscópicas dos produtos secos (ESA, PSA e MSA).



Figura 11 – Características macroscópicas do ESA He *E. uchi* (A), PSA He de *E. uchi* (B), MSA He (C), ESA He *U. tomentosa* (D) e PSA He de *U. tomentosa* (E).

Fonte: Acervo pessoal.

Segundo Prista (2003) o teor de umidade de extratos secos vegetais deve ser inferior a 8%. No entanto, a Farmacopeia Brasileira 5ª ed. recomenda um valor de umidade menor que 5%, uma vez que valores mais altos prejudica a conservação, pois o material está susceptível a contaminação e degradação de princípios ativos (ANVISA, 2010; ANVISA, 2014). Portanto,

seguindo esta orientação e de acordo com os resultados (Tabela 10, Tabela 11), apenas o PSA *E. uchi* apresentou valor satisfatório de 4,95%.

Em relação ao rendimento da operação de secagem, nota-se que é essencial o uso de Aerosil® na solução extrativa de *E. uchi* para melhorar a eficiência do processo de secagem. Tacon (2012) encontrou rendimentos operacionais de secagem por *spray dryer* variando de 46,8 a 70,9 %, valores semelhantes ao achado no presente trabalho apesar do autor ter utilizado como adjuvante de secagem uma mistura de amido:Aerosil® na proporção 1:1.

| ENSAIOS | ESA He <i>E. uchi</i> | PSA He <i>E. uchi</i> |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| Rendimento de secagem | 61,19 ±1,82 | 69,53 ±1,91 |
| Rendimento de secagem* | 56,92 ±1,70 | 66,09 ±1,81 |
| PD | 6,97 ±0,66 | 4,95 ±0,11 |
| A | NP | 33,62 ±2,09 |
| Db | 0,22 ±0,00 | 0,24 ±0,02 |
| Dc | 0,36 ±0,02 | 0,42 ±0,03 |
| FH | 1,60 ±0,06 | 1,76 ±0,14 |
| IC | 37,50 ±2,27 | 42,78 ±4,74 |

Tabela 11 – Caracterização do ESA He e PSA He de *E. uchi*

Nota: *ajuste com base na PD; PD: perda por dessecação; α : ângulo de repouso; Db: densidade bruta; Dc: densidade compacta; FH: Fator de Hausner; IC: índice de Carr.

Em relação à caracterização dos ESA e PSA He de *U. tomentosa* (Figura 11, Tabela 10, Tabela 12). Observa-se que o uso do adjuvante de secagem Aerosil® apenas causou melhoria nas características macroscópicas, entretanto causou influencia negativa no rendimento operacional, ou seja, o uso do adjuvante fez reduzir o rendimento de 68,33% para 58,99 % e não melhorou as deficientes características reológicas do pó.

| ENSAIOS | ESA He <i>U. tomentosa</i> | PSA He <i>U. tomentosa</i> |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| Rendimento de secagem | 68,33 ±2,11 | 58,99 ±1,17 |
| Rendimento de secagem* | 62,95 ±1,54 | 54,43 ±1,08 |
| PD | 7,87 ±0,67 | 7,72 ±0,19 |
| α | NP | 42,89 ±2,56 |
| Db | 0,08 ±0,00 | 0,14 ±0,00 |
| Dc | 0,19 ±0,00 | 0,30 ±0,01 |
| FH | 2,47 ±0,08 | 2,21 ±0,05 |
| IC | 59,41 ±1,22 | 54,74 ±1,09 |

Tabela 12 – Caracterização do ESA He e PSA He de *U. tomentosa*

Nota: *ajuste com base na PD; NP: não possível; PD: perda por dessecação; α : ângulo de repouso; Db: densidade bruta; Dc: densidade compacta; FH: Fator de Hausner; IC: índice de Carr.

A associação da SE He de *E. uchi* com a SE He de *U. tomentosa* na proporção 1:1 para secagem por aspersão e sem o uso de adjuvante, apesar de apresentar um rendimento operacional satisfatório (68.04%) resultou em um pó (MSA, Tabela 13) com elevado teor de umidade (10,35%), maior inclusive que os produtos secos das SE He individuais, baixa densidade, pobre fluidez e tendência a aglomeração (Figura 11, letra E).

| ENSAIOS | MSA He |
|------------------------|-------------|
| | MÉDIA ± DP |
| Rendimento de secagem | 75,89 |
| Rendimento de secagem* | 68,04 |
| PD | 10,35 ±0,37 |
| Db | 0,16 ±0,002 |
| Dc | 0,32 ±0,01 |
| FH | 2,04 ±0,05 |
| IC | 51,03 ±1,17 |

Tabela 13 – Caracterização do MSA He.

Nota: *ajuste com base na PD; PD: perda por dessecação; α : ângulo de repouso; Db: densidade bruta; Dc: densidade compacta; FH: Fator de Hausner; IC: índice de Carr.

5.5 Caracterização dos ESA e MSA obtidos das SE aquosas

Vale destacar que a SE Aq e ESA Aq são os que mais se aproximam dos preparados e utilizados pela população, sendo produzidos para avaliação da viabilidade da secagem em *spray dryer* e, também, para comparação com os ESA e PSA obtidos com a SE He. Os resultados da caracterização do ESA Aq de *E. uchi*, ESA Aq de *U. tomentosa* e MSA Aq (resultante da mistura de ambas as SE Aq) pode ser visualizado na Figura 12 e Tabela 14.

| Nome | ESA Aq <i>E. uchi</i> | ESA Aq <i>U. tomentosa</i> | MSA Aq |
|-------------------|-----------------------|----------------------------|------------------|
| Rendimento | 37,77 % | 5,87 % | 33,36 % |
| Aspecto | pó fino | pó fino | pó fino |
| | com aglomerações | com aglomerações | com aglomerações |
| Cor | marrom médio a escuro | marrom claro | marrom claro |
| Odor | característico | característico | característico |

Tabela 14 – Características macroscópicas do ESA Aq *E. uchi*, ESA Aq *U. tomentosa* e MSA Aq.



Figura 12 – Características macroscópicas do ESA Aq *E. uchi* (A), ESA Aq *U. tomentosa* (B) e MSA Aq (C).
Fonte: Acervo pessoal.

Nota-se que o rendimento foi extremamente baixo para ambos os extratos, mas principalmente para o ESA Aq *U. tomentosa* (5,87%), tal resultado não possibilitou massa suficiente para todos os ensaios de caracterização sendo realizado para este ESA Aq apenas a avaliação do rendimento operacional, as características macroscópicas, teor de marcador químico (Mitrafalina) e teor de polifenóis.

Em relação ao baixo rendimento da operação de secagem, já era esperado devido ao baixo teor de sólidos solúveis da SE Aq (0,15%, Tabela 14). O teor de sólidos solúveis é apontado como um importante fator que influencia no processo de secagem por *spray dryer*, sendo recomendado utilizar procedimentos extrativos que resultem em o máximo de sólidos possível, evitando-se ainda uma maior adição de adjuvantes para melhorar as características do produto final (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Outro fator de grande relevância quando se trata de extratos secos vegetais é o uso e a escolha dos adjuvantes para secagem, pois, estes são capazes de melhorar características tecnológicas dos extratos secos tais como baixa densidade, fluxo do pó e tendência a aglomerações e higroscopicidade (DE SOUZA *et al.*, 2000; SPANIOL, 2007; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

O baixo rendimento do ESA Aq, também pode ser explicado pelas perdas do produto no processo de secagem por aderência às paredes do equipamento *Mini Spray Dryer* (MARINHO, 2016). Assim, este resultado evidencia que é necessárias melhorias no processo de preparo da SE Aq para ser tornar mais adequado a obtenção de ESA Aq.

O teor de bergenina e polifenóis totais marcadores químicos da *E. uchi* é apresentado na Tabela 15. Observa-se que a presença do Aerosil® não interferiu nos marcadores químicos, pois a quantidade de bergenina e o teor de polifenóis totais no PSA He estão de acordo respeitando os 20% de adjuvante utilizado, tomando como referencia o conteúdo do ESA He *E. uchi*.

Comparando os teores de polifenóis da SEC He *E. uchi* (14,99%) com o ESA He *E. uchi* (18,96%) nota-se que o processo de secagem em *spray dryer* causou uma maior concentração dos polifenóis totais considerados compostos bioativos desses extratos secos.

Tacon (2012) encontrou teor de bergenina nos PSA He por *spray dryer* variando de 32,24 a 36,76 % semelhante aos achados no presente trabalho, apesar de que o mesmo autor encontrou valores maiores no teor de polifenóis de 27,34 a 31,57 %. O trabalho realizado por Silva e Teixeira (2015) avaliando o teor de bergenina entre um extrato oriundo de uma infusão com um extrato oriundo de uma solução hidroalcolica evidenciou que não houve diferença entre os teores de bergenina encontrado em ambos os extratos e, também revelou a bergenina com substância majoritária.

| Amostras | Teor de Bergenina | PT | PT |
|--|-------------------|-------------|----------------|
| | (%) | (%) | (mg de EqAG/g) |
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| ESA He <i>E. uchi</i> | 40,76 ±1,46 | 18,96 ±0,47 | 237,11 ±5,64 |
| PSA He <i>E. uchi</i> | 33,42 ±0,23 | 15,39 ±0,40 | 194,44 ±4,81 |
| MSA He (<i>E. uchi</i> + <i>U. tomentosa</i>) | 20,17 ±1,08 | - | - |
| Mistura física ESA He (<i>E. uchi</i> + <i>U. tomentosa</i>) | 18,90 ±0,50 | 32,84 ±0,42 | 403,08 ±5,02 |
| ESA Aq <i>E. uchi</i> | 36,20 ±1,09 | 16,14 ±0,13 | 203,36 ±1,60 |
| MSA Aq (<i>E. uchi</i> + <i>U. tomentosa</i>) | 18,27 ±0,36 | 15,47 ±0,16 | 195,36 ±1,88 |
| Mistura física ESA Aq (<i>E. uchi</i> + <i>U. tomentosa</i>) | - | 27,63 ±0,78 | 340,86 ±9,31 |

Tabela 15 – Quantificação do teor de marcador bergenina e polifenóis totais nas amostras de ESA, PSA e MSA.

Quando comparado o teor de bergenina na MSA He (*E. uchi* + *U. tomentosa*) com a mistura física de ambos os extratos secos, observa-se que do ponto de vista químico aparentemente não há interação negativa entre as substâncias, pois novamente observa-se que

os conteúdos dos marcadores químicos são compatíveis e representam cerca de 50% do conteúdo do ESA He *E. uchi*. O mesmo ocorre quando comparado o MSA Aq e o teor de bergenina do ESA Aq *E. uchi*. As misturas (tanto secando em associação, quanto apenas misturadas após secagem individual) foram avaliadas para identificar uma possível influência e interação entre seus constituintes e marcador químicos.

O resultado do teor de mitrafilina e polifenóis totais, marcadores químicos da *U. tomentosa*, está descrito na Tabela 16. Observa-se que a quantidade de mitrafilina e conteúdo de polifenóis totais no PSA He está de acordo, pois, respeita os 20% de adjuvante utilizado.

Segundo Azevedo e colaboradores (2018) nos extratos aquosos de *U. tomentosa* foram detectados mitrafilina, isomitrafilina, ácido clorogênico e ácido quínico. Além disso, os mesmo autores evidenciaram que o extrato é capaz de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias *in vitro* esclarecendo o mecanismo de ação da atividade anti-inflamatória de *U. tomentosa*.

| Amostras | Teor de Mitrafilina (%) | PT (%) | PT (mg de EqAG/g) |
|----------------------------|-------------------------|-------------|-------------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| ESA He <i>U. tomentosa</i> | 0,97 ±0,01 | 19,48 ±0,17 | 243,31 ±2,08 |
| PSA He <i>U. tomentosa</i> | 0,77 ±0,03 | 15,55 ±0,48 | 196,28 ±5,75 |
| MSA He | 0,59 ±0,03 | - | - |
| ESA Aq <i>U. tomentosa</i> | 0,87 ±0,001 | 13,97 ±0,69 | 177,44 ±8,28 |
| MSA Aq | 0,59 ±0,01 | 15,47 ±0,16 | 195,36 ±1,88 |
| Mistura física ESA Aq | 0,39 ±0,02 | 32,84 ±0,42 | 403,08 ±5,02 |

Tabela 16 – Quantificação do teor de marcador mitrafilina e polifenóis totais nas amostras de ESA, PSA e MAS contendo *U. tomentosa*.

5.6 Atividade antifúngica

O estudo de atividade antifúngica foi realizado com os produtos secos das espécies individualizadas e os resultados da CIM contra cepa de *C. albicans* ATCC 36232 está descrito na Tabela 17, onde pode ser observado que todos os produtos secos de *E. uchi* apresentaram ação contra a levedura com valores de CIM de 50 µg/mL. Extratos dessa planta já tem vários

relatos na literatura com evidências de atividade antifúngica contra a *C. albicans* (POLITI, 2009; SILVA *et al.*, 2009; TACON, 2012; GIORDANI; SANTIN; CLEFF, 2015). Vale ressaltar que o Aerosil[®] utilizado como adjuvante de secagem para obtenção do PSA não demonstrou influencia negativa na atividade antimicrobiana.

A ação antifúngica dos extratos de *E. uchi* contra *C. albicans* já havia sido relatada com CIM 2500 µg/mL para extratos secos por aspersão (*spray dryer*) com e sem adjuvantes (amido:Aerosil[®] 1:1) e o liofilizado (TACON, 2012). Nota-se que no presente trabalho o extrato tem uma atividade promissora com CIM de 50 µg/mL, ou seja, superior ao descrito na literatura.

| Amostra | <i>C. albicans</i> ATCC 36232 CIM (µg/mL) |
|-----------------------------|--|
| ESA He <i>E. uchi</i> | 50 |
| PSA He <i>E. uchi</i> | 50 |
| ESA Aq <i>E. uchi</i> | 50 |
| ESA He <i>U. tomentosa</i> | 800 |
| PSA He <i>U. tomentosa</i> | >800 |
| ESA Aq <i>U. tomentosa</i> | >800 |
| Dióxido de silício coloidal | >800 |
| Anfotericina B | <0,0313 |

Tabela 17 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra cepa de *C. albicans* ATCC 36232

Os produtos secos de *U. tomentosa* não apresentaram atividade antimicrobiana nas concentrações testadas. A ausência da atividade frente à *Candida albicans* já tem sido relatada (CCAHUANA-VASQUEZ *et al.*, 2007), apesar de que há relatos da atividade antifúngica contra cepas de *C. albicans* e também contra *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *C. tropicalis* (SOUZA JÚNIOR *et al.*, 2011).

O ensaio antifúngico, para avaliar possíveis interações sobre a atividade biológica com a mistura dos extratos entre as espécies das plantas estudadas, evidenciou que não houve mudanças no valor da CIM, ou seja, sem ocorrer efeitos sinérgicos ou antagonistas que modificariam o valor do CIM. Esse resultado colabora com os achados dos marcadores

químicos bergenina, mitrafilina e polifenóis totais que aparentemente não sofreram alteração quando associado os extratos das duas espécies vegetais.

Devido o ESA He *E. uchi* ter apresentando uma promissora ação antifúngica contra a cepa *C. albicans* foram realizados ensaios preliminares para tentar elucidar o mecanismo de ação antifúngico. No ensaio com sorbitol foi avaliado uma possível ação sobre a parede celular fúngica devido o sorbitol ser um osmoprotetor da parede celular. O ensaio com ergosterol avalia uma possível ação na membrana fúngica, devido o ergosterol ser um importante constituinte desta. Com a realização dos ensaios não foi observado mudanças na CIM, ou seja, foi possível verificar que o mecanismo de ação antifúngica não envolve a parede celular e nem o ergosterol devendo-se utilizar outros ensaios para elucidação do mecanismo de ação.

5.7 Efeito dos ESA He sobre a viabilidade celular

O ESA He *E. uchi* e o ESA He *U. tomentosa* foram testados nas concentrações de 3,12 a 100 µg/mL em linhagem de células MRC5, a fim de averiguar se esses extratos secos causariam alguma toxicidade por meio do método de Alamar blue. Conforme ilustrado na Figura 13, foi observado que as amostras testadas nas concentrações de 25 a 100 µg/mL apresentaram toxicidade para linhagem de célula testada se comparado ao controle negativo somente com DMSO. Por outro lado, as menores concentrações dos 12,5; 6,25 e 3,125 µg/mL não apresentaram potencial de citotoxicidade na linhagem testada, tornando-se estas concentrações seguras para os ensaios posteriores.

Diante dos dados anteriores foi calculado a CI_{50} de ESA He *E. uchi* e ESA He *U. tomentosa* que estão descritas na (Tabela 18). Vale ainda ressaltar, que a CI_{50} evidencia a concentração segura para outros testes em células tais como ensaio de avaliação da inibição do NO.

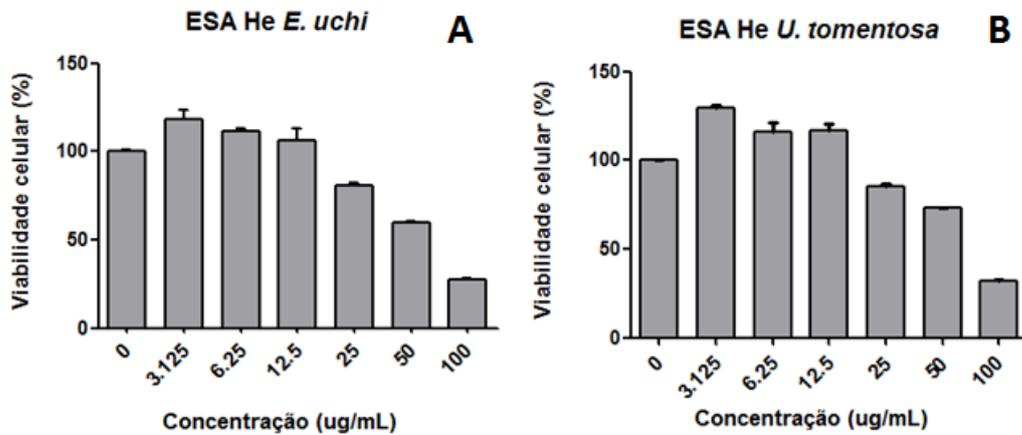


Figura 13 – Efeito das amostras sobre a viabilidade em linhagem de células MRC5 expostos ao tratamento com diferentes concentrações 3,12 a 100 µg/mL após 24 horas de tratamento com as amostras ESA He *E. uchi* (A) e ESA He *U. tomentosa* (B).

Fonte: Acervo pessoal.

| Amostras | CI ₅₀ µg/mL |
|----------------------------|------------------------|
| ESA He <i>E. uchi</i> | 42,21 (33,60-53,03) |
| ESA He <i>U. tomentosa</i> | 31,74 (26,53-37,98) |
| Doxorrubicina | 16,12 (12,55 – 20,70) |

Tabela 18 – Viabilidade celular (Concentração Inibitória - CI₅₀) da amostra com fármaco padrão doxorrubicina testados em linhagens celulares de células MRC 5

Nota: o intervalo de confiança está representado entre os parênteses CI₅₀ (µg/mL).

Em relação a *U. tomentosa*, Almeida e colaboradores (2017) ressaltam que é seguro a utilização dos fitoterápicos à base desta planta medicinal, que já está disponível no Sistema Único de Saúde para o tratamento da artrite, uma vez que o autores recentemente evidenciaram que a planta não tem apresentado efeitos citotóxicos ou mutagênicos.

5.8 Efeito dos ESA He *E. uchi* sobre inibição de óxido nítrico (NO·)

Nos ensaios realizados, o ESA He *E. uchi* foi a amostra mais promissora, por sua ação antimicrobiana previamente relatada sendo avaliado quanto à capacidade de inibição da produção de NO· em linhagem de células Cell Raw 24.7 (Figura 14). A amostra foi testada nas concentrações de 20, 10, 5, 2,5 e 1,25 µg/mL, sendo utilizado como controle positivo o lipopolissacarídeos e como controle negativo somente meio de cultura RPMI suplementado com 10% de SFB. Verificou-se que ainda que o ESA He *E. uchi* apresentou uma possível

capacidade de inibição da produção de óxido nítrico nas concentrações de 2,5; 5; 10 e 20 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que a concentração de 1,25 $\mu\text{g/mL}$ não apresentou inibição de NO^\bullet quando comparados ao controle positivo lipopolissacarídeo.

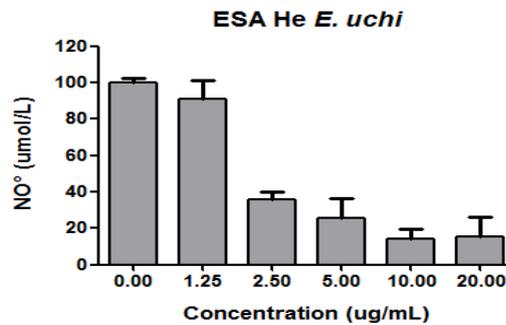


Figura 14 – Ensaio concentração-resposta do ESA He *E. uchi* sobre a inibição de óxido nítrico (NO^\bullet) em sobrenadantes de linhagem de células Cell Raw 24.7 estimulados por 1 $\mu\text{g/mL}$ de lipopolissacarídeo utilizando reagente de Griess.

Fonte: Acervo pessoal.

5.9 Obtenção dos granulados clássicos

O estudo de viabilidade de obtenção de granulados foi realizado apenas com o PSA He de *E. uchi*, uma vez que não houve significativa diferença entre as atividades biológicas testadas dos demais produtos secos de *E. uchi*, e também pelo maior rendimento pulveréneo obtido. Assim, os resultados da caracterização dos granulados obtidos por via úmida empregando diferentes aglutinantes: sendo F1 (celulose microcristalina), F2 (amido modificado) e F3 (lactose) contendo PSA He de *E. uchi* estão descritos na Figura 15, Tabela 19, Tabela 20 e Apêndice 2.

| Nome | F1 | F2 | F3 |
|----------------|--|--|--|
| Aspecto | grânulos irregulares com forma vermicular à sensivelmente esférica | grânulos irregulares com forma vermicular à sensivelmente esférica | grânulos irregulares com forma vermicular à sensivelmente esférica |
| Cor | Bege | Bege | Bege |
| Odor | sem odor característico | sem odor característico | sem odor característico |

Tabela 19 – Características macroscópicas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He de *E. uchi*.



Figura 15 – Características macroscópicas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He de *E. uchi*.

Fonte: Acervo pessoal.

Em relação ao valor de perda por dessecação nota-se que a umidade encontra-se acima do limite preconizado de < 8% (PRISTA, 2003) e < 5% (ANVISA, 2010; ANVISA, 2014) para extratos secos e derivados, sendo que no caso dos granulados é importante considerar um teor maior de umidade, pois uma baixa ou mesmo a ausência total de umidade dificultaria a compressão do granulado para produção de comprimidos (PRISTA, 2003). Ainda deve-se mencionar que a Farmacopeia Brasileira permite teores de até 15% de perda por dessecação para o amido, que foi utilizado como excipiente em altas proporções (ANVISA, 2010). A maior umidade dos granulados deve-se ainda ao fato de ter utilizado a via úmida de granulação usando como líquido aglutinante a água destilada com secagem com temperatura de no máximo 40 °C, a fim de evitar possíveis interações negativas e degradações das substâncias presentes no PSA de *E. uchi* se utilizado solventes orgânicos como líquido aglutinante.

| ENSAIOS | F1 | F2 | F3 |
|-----------------------|---------------|---------------|---------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| Rendimento (g/100g) | 63,35 ±0,03 | 63,59 ±0,01 | 56,32 ±0,13 |
| Rendimento* (g/100g) | 57,40 ±0,03 | 57,80 ±0,01 | 51,77 ±0,13 |
| Teor Bergenina (%) | 0,72 ±0,02 | 0,50 ±0,01 | 0,53 ±0,03 |
| PD (%) | 9,52 ± 0,68 | 9,23 ± 0,73 | 8,22 ± 0,44 |
| Dm (gráfico) (mm) | 0,83 mm ±0,00 | 0,83 mm ±0,00 | 0,90 ±0,00 |
| Dm (formula) (mm) | 0,73 mm ±0,00 | 0,71 mm ±0,00 | 0,78 mm ±0,00 |
| Friabilidade (%) | 2,28% ± 0,30 | 2,14% ± 0,21 | 1,93% ± 0,09 |
| Db (g/mL) | 0,37 ±0,01 | 0,41 ±0,01 | 0,39 ±0,01 |
| Dc (g/mL) | 0,38 ±0,01 | 0,43 ±0,01 | 0,43 ±0,01 |
| FH | 1,04 ±0,00 | 1,04 ±0,00 | 1,08 ±0,00 |
| IC (%) | 3,66 ±0,08 | 4,06 ±0,10 | 7,79 ±0,18 |
| α (°) | 23,24 ±1,25 | 22,89 ±1,85 | 23,61 ±0,62 |
| propriedades de fluxo | Excelente | Excelente | Excelente |

Tabela 20 – Caracterização dos granulados F1, F2 e F3 contendo 3% PSA He *E. uchi*.

Nota: PD= perda por dessecação; Dm= diâmetro médio; Db= densidade bruta; Dc= densidade de compactação

Em relação ao teor de bergenina nos em granulados (Tabela 20) se observar que F1 (0,72 %) há um conteúdo diferente que F2 (0,5%) e F3 (0,53), no entanto um fator que pode ter interferido é o baixo conteúdo de PSA He *E. uchi* (3%), o processo de pesagem e preparo da amostra, que leva a concluir que apresentaram conteúdos similares de bergenina.

Quanto à friabilidade, o menor percentual obtido foi de 1,93% (F3), ou seja, das 3 formulações foi a que apresentou maior resistência a erosão, indicando maior estabilidade física e, portanto menor capacidade de voltar a condição pulveréa ou formação de finos quando submetido a determinadas provas. De acordo com Prista (2003), considera-se bom o granulado que não origine mais que 10% de pó, em relação ao seu peso, assim, a três formulações apresentaram friabilidade adequada, demonstrando resistência, o que é bastante importante para as propriedades reológicas e transformação em outra forma farmacêutica sólida como cápsulas e comprimidos.

Em relação ao tamanho médio de partícula, a F1 e a F2 apresentaram valores muito semelhantes, somente a F3 apresentou diâmetro médio superior (0,90 mm) (Figura 23 no Apêndice 2). Quanto as demais características, conforme pode ser verificado na Tabela 20, as três formulações (F1, F2 e F3) apresentaram Fator de Hausner de 1,04; 1,04 e 1,08% e Índice de Carr de 3,64; 4,06 e 7,79%, sendo todas classificadas com boa fluidez. Segundo Wells e Aulton (2005), valores de FH menores que 1,25 e com índice de Carr <10% indicam bom fluxo.

Deve-se observar que o FH e IC estão relacionados indiretamente às propriedades de fluxo, por expressarem a compactação ou compressão. Para uma avaliação mais adequada da fluidez, foi realizada a determinação do ângulo de repouso, sendo que todas as 3 formulações apresentaram valores menores que 25°, indicando excelente fluidez. Dessa maneira, os resultados evidenciam que os granulados superam as dificuldades de fluxo encontradas nos extratos secos.

5.10 Obtenção dos granulados leito fluidizado

No estudo piloto em Mini Leito não foi possível obter granulados de modo direto, ou seja, a baixa densidade do PSA e dos aglutinantes, associada a pouca quantidade de pó disponível para o estudo impedia a fluidificação adequada, inviabilizando a granulação. Dessa forma, como recurso farmacotécnico optou-se por fazer primeiramente a granulação com apenas a mistura de adjuvantes por via úmida clássica, a fim de aumentar a densidade dos pós (grânulos), permitindo a fluidificação adequada no equipamento com posterior aspersão da SEC He de *E.uchi*.

Os resultados da caracterização dos granulados brancos (GRA B), por via clássica e da formulação F4 obtida por meio do leito fluidizado estão descritos na Figura 16, Tabela 21, Tabela 22 e Apêndice 3. Pode ser verificado que os granulados F4 apresentaram coloração marrom, o que é característica do extrato seco de *E. uchi*, no entanto no final do processo ainda restaram alguns grânulos branco evidenciando que a atomização da SEC He *E. uchi* sobre os GRA B não foi uniforme.

| Nome | GRA B | F4 |
|---------|--|--|
| Aspecto | grânulos irregulares com forma cúbica à sensivelmente esférica | grânulos irregulares com forma cúbica à sensivelmente esférica |
| Cor | Branco | Marrom escuro |
| Odor | Inodoro | característico |

Tabela 21 – Características macroscópicas do granulados GRA B e F4.

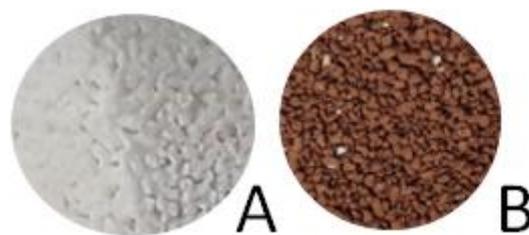


Figura 16 – Características macroscópicas dos granulados GRA B (A) e F4 (B).

Fonte: Acervo pessoal.

Através da análise da granulometria (Figura 25 no Apêndice 3) nota-se que o a operação de fluidificação no leito fluidizado causou a redução do diâmetro médio das partículas do GRA B, fazendo que no final da atomização da SEC He de *E. uchi* os GRA B de

0,8mm de diâmetro média gera-se granulados com 0,66 mm (F4) de diâmetro médio. Observa-se que é necessário melhorar a resistência do GRA B, a fim de que possa ser utilizado em leito fluidizado. Apesar da baixa resistência dos granulados brancos, verificou-se o rendimento final dos granulados obtidos (F4) foi de 84, 21 %, ou seja, indicando que atomização do SEC He de *E. uchi* sobre granulados de adjuvantes parece ser uma alternativa tecnológica interessante para melhorar as propriedades farmacotécnica do produto final.

Em relação à perda por dessecação dos granulados observa-se que a formulação F4 apresenta alto valor (10,37%), mas deve-se mencionar que não foi realizada a etapa complementar de secagem, uma vez que o processo de granulação no leito fluidizado possibilita concomitantemente ambos processos. Neste sentido, deve-se buscar a otimização do processo, modificando aspectos como quantidade de material inerte, temperatura de entrada, vazão do soprador e outros parâmetros para granulados como menor teor de umidade.

| ENSAIOS | GRA B | F4 |
|---------------------------|----------------|---------------|
| | MÉDIA ± DP | MÉDIA ± DP |
| Rendimento (g/100g) | 83,21 | 84,21 |
| Rendimento* (g/100g) | 76,48 | 75,48 |
| Teor de Bergenina (%) | - | 5,00 % ±0,20 |
| Perda por Dessecação (IV) | 8,09% ± 0,44 | 10,37 % ±0,38 |
| Friabilidade | - | 0,41 % ±0,03 |
| Diâmetro médio (gráfico) | 0,84 mm ±0,01 | 0,66 |
| Diâmetro médio (formula) | 0,74 mm ±0,003 | 0,61 |

Tabela 22 – Caracterização dos granulados GRA B e F4

O ensaio de liodisponibilidade foi realizado visando investigar o perfil de dissolução dos granulados, este teste fornece dados sobre a dissolução dos fármacos a partir de sua forma farmacêutica, com uso de diferentes excipientes, em relação a vários intervalos de tempo. No presente estudo, considerando que o ESA é o componente ativo (“fármaco”), este ensaio foi realizado a fim de avaliar o perfil de cedência do ESA (como um todo) contido nos granulados (F1, F2, F3 e F4).

5.10.1 Ensaio de liodisponibilidade

O ensaio de dissolução foi realizado através de espectrofotometria na região do UV, para isso foi realizada uma varredura da solução de ESA He e de todos os adjuvantes presentes na formulação dos granulados a fim de verificar a seletividade do método de análise. Como pode ser visualizado na Figura 17, o comprimento de onda máximo de absorção do ESA é de 272 nm, independente do solvente de solubilização (etanol 50 °GL ou água) e não há interferência nem do Aerosil® presente no PSA, nem dos aglutinantes utilizados na granulação.

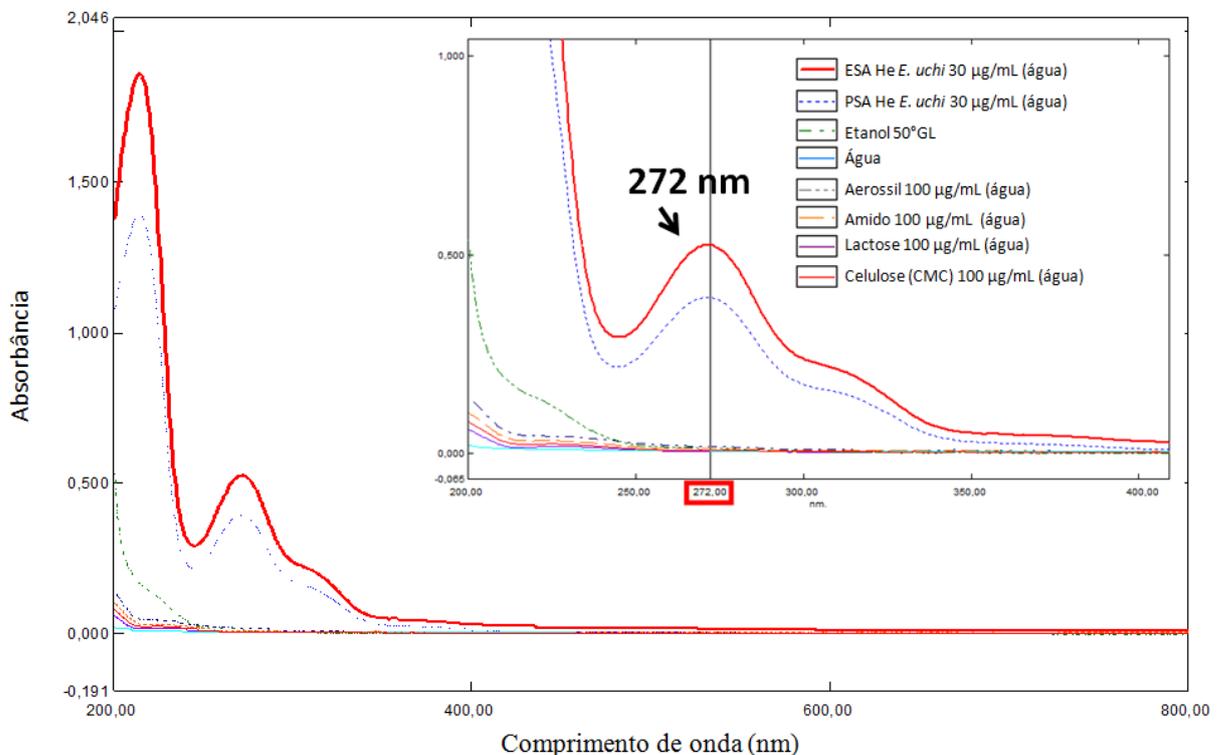


Figura 17 – Varreduras em espectrofotômetro UV-Vis das amostras ESA He e PSA He de *E. uchi* solubilizados em água; como também os componentes da formulação Aerosil®, amido, lactose, celulose microcristalina, água e etanol.

Fonte: Acervo pessoal.

A curva de calibração do ESA He *E. uchi* solubilizado em água conforme Figura 18 é explicada pela equação $y = 0,0157x - 0,0062$. O coeficiente de correlação calculado para a regressão linear da reta foi $R^2 = 0,997$. Este valor está de acordo com preconizado pela ANVISA ($> 0,99$), demonstrando linearidade entre as variáveis (BRASIL, 2017).

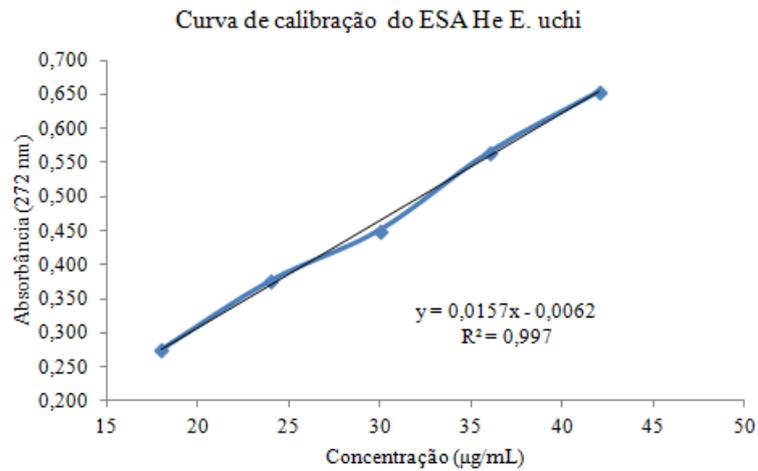


Figura 18 – Curva de calibração do ESA He *E. uchi* em água em 272 nm.
Fonte: Acervo pessoal.

O perfil de dissolução dos granulados contendo *E. uchi* está descrito na

Figura 19. Nota-se que todos os granulados liberaram mais de 100% de PSA em menos de 15 minutos, sendo, portanto considerados de rápida dissolução, e assim classificados como formas farmacêuticas de liberação muito rápida (BRASIL, 2004).

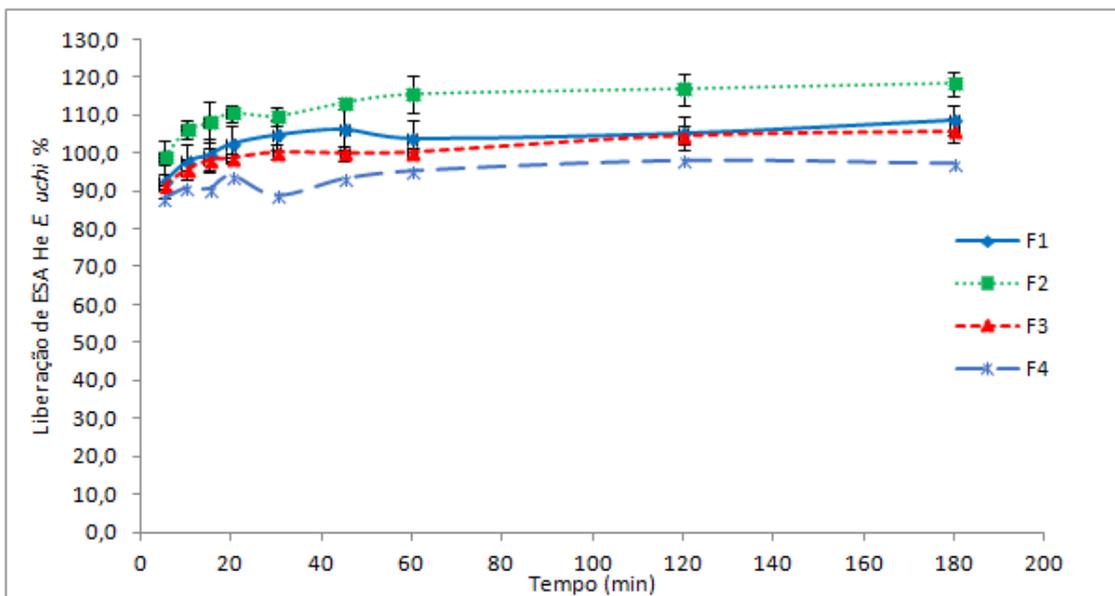


Figura 19 – Gráfico do perfil de dissolução dos granulados de *E. uchi*. F1 (celulose microcristalina), F2 (amido modificado), F3 (lactose) e F4.
Fonte: Acervo pessoal.

Com base ainda na

Figura 19 pode ser observado que a formulação F2 teve uma maior liberação no conteúdo de ESA que as demais amostras (F1, F3 e F4), indicando que a composição da formulação influencia na cedência do ESA, pois atingiu uma liberação mais rápida em menos tempo quando comparado com as demais formulações. Deve-se assim observar, que apenas a mudança do agente aglutinante da formulação causou modificações nos granulados obtidos, sendo indispensável que se realize estudos de pré-formulação a fim de garantir a eficácia do medicamento em exercer suas funções terapêuticas (BHARATE, BHARATE; BAJAJ, 2010).

6 CONCLUSÃO

Com a execução do trabalho nota-se que a droga vegetal e as soluções extrativas (SE) de *E. uchi* e *U. tomentosa* apresentaram parâmetros de controle de qualidade satisfatórios com os padrões exigidos pelos compêndios oficiais, como também semelhantes a outros estudos com a espécie vegetal, diante disso podem ser utilizados para a produção das formas farmacêuticas.

Foi viável a obtenção de extrato e/ou produto seco por aspersão de *E. uchi* e *U. tomentosa* de forma isolada e em associação, sendo observado que o uso de adjuvante foi indispensável para melhorar o teor de umidade e características macroscópicas do PSA, além de não demonstrarem influência no conteúdo dos marcadores químicos.

O estudo ainda demonstrou que aparentemente os teores de marcadores de bergenina para *E. uchi* e mitrafilina para *U. tomentosa* não sofreram interferência mesmo com uso do adjuvante ou quando feita a mistura entre as duas espécies.

Com as atividades biológicas de citotoxicidade, antifúngica e anti-inflamatória os produtos secos derivados da *E. uchi* foram os mais promissores, sendo escolhido para a produção dos granulados.

A granulação por via úmida clássica do PSA de *E. uchi* possibilitou a obtenção de granulados com propriedades tecnológicas favoráveis, no entanto, vale ressaltar que a concentração utilizada nas formulações foi de 3%, sendo necessários maiores estudos para aumentar essa concentração dos granulados finais. Em relação a utilização do leite fluidizado foi viável, mas, ressalta-se a necessidade da otimização dos parâmetros do processo.

O perfil de dissolução dos granulados (F1, F2, F3 e F4) demonstrou que os mesmos podem ser classificados como forma farmacêutica de liberação rápida.

Portanto, foi possível realizar estudos tecnológicos para obtenção de forma farmacêutica sólida a partir das cascas do caule de *E. uchi* e *U. tomentosa* com adequados conteúdos de compostos ativos dessas plantas medicinais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN JUNIOR., L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Formas Farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8 ed. Porto Alegre: Artemed, 2007. 776 p.
- ALMEIDA, I. V. *et al.* Chemotherapeutical effects of the herbal medicine *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Genet Mol Res.**, v. 16, n. 3, 2017.
- ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Determinação de Umidade, Fibras, Lipídios, Cinzas e Sílica em Plantas Medicinais. B. **CEPPA**, v. 21, n. 2, p. 343-350, 2003.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. v. 1 Brasília: ANVISA, 2010. 545 p.
- ANVISA. Instrução Normativa Nº 4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. 2014. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/>>, Acesso em: 06/02/2017.
- ANVISA. Suplementos alimentares. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13>>, Acesso em:13/02/2017.
- AQUINO, R. *et al.* Plant Metabolites. Structure and *in vitro* antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. **J Nat Prod.**, v. 52, n. 4, pp. 679-685, 1989.
- AZEVEDO, B. C. *et al.* Aqueous extracts from *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC. reduce bronchial hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of asthma. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, p. 76–89, 2018.
- BENTO, J. F. Caracterização de Polissacarídeos e Metabólitos Secundários da Casca de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec: Avaliação dos Efeitos do decocto e de Frações Polissacarídicas em Células HeLa e Macrófagos. Dissertação (Doutorado em Bioquímica). 140f. Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- BEZERRA, S. A. S. *et al.* Cadeia Produtiva de Duas Espécies Florestais de uso Farmacológico: Carapanaúba (*Aspidosperma* spp.) e Uxi-Amarelo (*Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec.). [2011] Disponível em: <http://www.cnf.org.pe/secretaria_conflat/memorias/DOCUMENTO%20MESAS/MESA%204/Stiffanny%20Bezerra.pdf>, Acesso em:14/02/2017.
- BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **J. Excipients and Food Chem.**, v. 1, n. 3, 2010.
- BIESKI, I. G. C. Utilização de Medicamentos Fitoterápicos com Ênfase na *Uncaria tomentosa* Will D.C., Dispensados em Farmácias de Manipulação na Grande Cuiabá – MT.2006. 76 f. Dissertação (Especialista em Farmacologia: Atualização e Novas Perspectivas). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

BONOLI, M. *et al.* Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5195–5200, 2004.

BORGES, J. C. M. Acetilbergenina: Obtenção e Avaliação das Atividades Antinociceptivas e Anti-inflamatória. 2010. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica). Universidade Federal do Pará.

BORRE, G. L. Obtenção e análise de frações enriquecidas de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. 2010. 146 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 310, de 01 de setembro de 2004. Determina a publicação do "Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução". Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília - DF, 2004.

BRASIL. ANVISA. RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf>, Acesso em: 10/07/2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf>, Acesso em: 09/07/2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Alimentos regionais brasileiros. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 484 p.

BRASIL. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 192 p.

BUNDESVEREINIGUNG Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.). Deutscher Arzneimittel – Codex. 1986. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986. v.1; Codex – Probe 4,9.

CALDAS, L. Q. A. *et al.* *Uncaria tomentosa* in the treatment of the herpes labialis: randomized double-blind trial. **DST J. bras. Doenças Sex. Transm**, v. 22, n. 2, p. 57–59, 2010.

CARR, R.L.. Evaluating flow properties of solids. **Chem. Engineer.**,v. 72, n. 2, p. 163- 168, 1965.

CARRASCO, H. *et al.* Antifungal Activity of Eugenol Analogues. Influence of Different Substituents and Studies on Mechanism of Action. **Molecules**, v.17, p. 1002-1024, 2012.

CASALI, V. W. D.; ALMEIDA, P. G. V. Caderno de Terapias Naturais: Instruções práticas e procedimentos tradicionais. 2010. 55 p.

- CASTRO, G. F. Estudo Espectroscópico Experimental e Teórico da Acetilbergenina. 2013. 54 f. Dissertação (mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais). Universidade do Estado do Amazonas, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e recursos naturais da Amazônia.
- CCAHUANA-VASQUEZ, R. A. *et al.* Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. **Braz. oral res.**, v.21, n.1, 2007.
- CÉSAR, J.; PAOLI, M.; ANDRADE, J. C. A Determinação da Densidade de Sólidos e Líquidos. **Chemkeys – Liberdade para aprender**. 2004.
- CHAVES, J. S.; COSTA, F. B.; FREITAS, L. A. P. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L:). **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 45, n. 3, p. 573-584, 2009.
- CHRANIOTI, C.; CHANIOTI, S.; TZIA, C. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant) – Evaluation of the final products. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1151–1158, 2016.
- COSTA, P. A. *et al.* Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 43, p. 1603-1606, 2010.
- COUTO R. O. *et al.* Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). **Rev. Eletr. Farm.**; v. 6, p.59-69, 2009.
- COUTO, A. G.; GONZÁLEZ-ORTEGA, G.; PETROVICK, P. R. Granulação. **Caderno de Farmácia**, v. 16, n. 1, p. 13 – 20, 2000.
- DE SOUZA, K. C. B. *et al.* The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P Influence on the Technological Characteristics of Spray-Dried Powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331–336, 2000.
- DIAS, V. H. R. Produção de Granulados em Leito Fluidizado de Acordo com uma Concepção Experimental. 2007. 98 f. Dissertação (Mestrado em Farmacotecnia Avançada). Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia.
- DITTRICH, B; *et al.* How to easily replace the independent atom model - the example of bergenin, a potential anti-HIV agent of traditional Asian medicine. **Acta Crystallogr B**. v. 65, n. 6, p. 749-56, 2009.
- FROST D. J. *et al.* A whole-cell *Candida albicans* assay for detection of inhibitors towards fungal cell wall synthesis and assembly. **J. Antibiot.**, v. 48, p. 306-310, 1995.
- GAMA, C. R. B. *et al.* Avaliação Clínica da *Uncaria tomentosa* no Tratamento e Controle de Lesões Decorrentes de Infecção pelo Vírus Herpes Simplex. **DST - J bras Doenças Sex Transm**, v. 22, n. 4, p. 215-221, 2010.
- GARCÍA, R. *et al.* Antimicrobial activity of isopteropodine. **Z Naturforsch C.**, v. 60, n. 5-6, p. 385-8, 2005.

- GIMÉNEZ, D. G. *et al.* Cytotoxic effect of the pentacyclic oxindole alkaloid mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark on human ewing's sarcoma and breast cancer cell lines. **Planta Medica**, v. 76, p. 133–136, 2010.
- GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M.B. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-Candida no período de 2005-2013. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, n. 1, p. 175-185, 2015.
- GONÇALVES, C.; DINIS, T.; BATISTA, M.T. Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, v. 66, p. 89-98, 2005.
- GONÇALVES, R. M. Situação dos fitoterápicos na farmacopeia brasileira: uma avaliação sistematizada. 2017. xxi, 294 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)—Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- HAUSNER, H. H. Friction conditions in a mass of metal powder. **Int. J. Powder Metall.**, v. 3, p. 7-13, 1967.
- HERRERA, D. R. *et al.* Antimicrobial activity and substantivity of *Uncaria tomentosa* in infected root canal dentin. **Brazilian oral research**, v. 30, n. 1, p. e61, 2016.
- HERRERA, D. R. *et al.* *In vitro* antimicrobial activity of phytotherapeutic *Uncaria tomentosa* against endodontic pathogens. **Journal of Oral Science**, v. 52, n. 3, p. 473–476, 2010.
- HOYOS, M. N. *et al.* Phenolic Assesment of *Uncaria tomentosa* L.(Cat's Claw): Leaves, Stem, Bark and Wood Extracts. **Molecules**, v. 20, p. 22703 - 22717, 2015.
- KIM, H. S. *et al.* Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 1, p. 79-83, 2000.
- LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Fundação Colouste Gulbenkian, 2001.1516 p.
- LIM, H. *et al.* Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on D-galactosamine-intoxicated rat hepatocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p. 69–72, 2000.
- MAGALHÃES, L. A. M. *et al.* Identificação de bergenina e carotenóides no fruto de uchi (*Endopleura uchi*, Humiriaceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 3, p. 447–450, 2007.
- MARINHO, J. S. Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas Sólidas Contendo Alto Teor de Produto Seco por Aspersão de Frutos de *Libidibia ferrea* Mart. 2016. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Manaus.
- MARQUES, L. C.; SOUZA, C. M. Pesquisa e Desenvolvimento de Fitoterápicos: Relatos de Experiência em Indústria Farmacêutica Nacional. **Revista Fitos**, v. 7, n.1, 2012.
- MARQUES, O. C. P. Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de *Uncaria tomentosa* com actividade antioxidante. 2008. 210 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra.

MARTINO, L. *et al.* Proapoptotic effect of *Uncaria tomentosa* extracts. **J. Ethnopharmacol.**, v. 107, p. 91–94, 2006.

MASTERS, K. Spray Drying: An Introduction to Principles, Operational Practice and Applications. London: Leonard Hill Books, 1973, 661p

MENEZES, A. J. E. A.; HOMMA, A. K. O. Recomendações para o Plantio do Uxizeiro. Comunicado Técnico. N 223, Bélem, PA, 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/67114/1/Oriental-ComTec233.pdf>> ; Acesso em: 22/01/2017.

MILLS, S.; BONE, K. The Essential Guide to Herbal Safety. Elsevier Churchill Livingstone. 2005 685 p. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books>>, Acesso em: 13/02/2017.

MIRANDA, E. M.; SOUSA, J. A.; PEREIRA, R. C. A. Subsídios técnicos para o manejo sustentável da unha-de-gato (*Uncaria* spp.) no Valo do Rio Juruá, AC. Documentos n. 68. Rio Branco: Embrapa Acre, 2001. 21 p.

MIRET, S.; ABRAHAMSE, L.; GROENE, E. M. Comparison of *in vitro* Models for the Prediction of Compound Absorption across the Human Intestinal Mucosa. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 9, n. 7, p. 597-606, 2004.

MUNIZ, M. P. Estudo fitoquímico e da atividade biológica de *Endopleura uchi* Huber Cuatrecasas. 2013. 129 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

NAHUZ, A. R. Catálogo de madeiras brasileiras para a construção civil. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT), 2013. 106 p.

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica: Norma Aprovada – 2ª Ed. NCCLS, Wayne, v. 22, n. 15, p. 1-30, 2002.

NETTO, E. M. *et al.* Comentários sobre o Registro de Fitoterápicos. Revista Fitos, v. 1, n. 3, 2006.

NUNOMURA, R. C. S. *et al.* Characterization of Bergenin in *Endopleura uchi* Bark and its Anti-Inflammatory Activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 6, p. 1060-1064, 2009.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.4, p.641-650, 2010.

OLIVEIRA, V. G.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M. Estudo Fitoquímico e de Atividade Biológica de *Endopleura uchi*. 61ª Reunião Anual da SBPC. 2009. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/61ra/resumos/resumos/6902.htm> 1/2>, Acesso em: 10/01/2017.

PACHÚ, C. O. Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos. 2007. 102f. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande.

PAULA, M. I. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Plinia cauliflora* e *Endopleura uchi*. 2011. 50 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso em Bacharel em Farmácia e Bioquímica). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2011.

PAZ, S. M. L. *et al.* Mitraphylline inhibits lipopolysaccharide-mediated activation of primary human neutrophils. **Phytomedicine**, v. 23, p. 141–148, 2016.

PEDRO, F. G. G. *et al.* Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.18, n.1, supl. I, p.297-306, 2016.

PEÑALOZA, E. M. C. *et al.* Chemical Composition variability in the *Uncaria tomentosa* (cat's claw) wild population. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 378–386, 2015.

PEREIRA, D. S. Análise do perfil químico e determinação quantitativa de mitrafilina e ácido clorogênico por HPLC em folhas da espécie medicinal *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). 2013. 8 f. Dissertação (Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química). 83 f. Universidade do Minho, Escola de Ciências, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Setor de Produtos Naturais.

PETROVICK, G. F. Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. Asteraceae (marcela). 2006. 199 f. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PHARMACOPEIA ONLINE. Dietary Supplements: Cat's Claw. Disponível em: <http://www.uspbpep.com/usp31/v31261/usp31nf26s1_m13845.asp>. Acesso em: 10/05/2016.

PILARSKI, R. *et al.* Anticancer activity of the *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. preparations with different oxindole alkaloid composition. **Phytomedicine**, v. 17, p. 1133–1139, 2010.

PILARSKI, R. *et al.* Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 18–23, 2006.

PODCZECK, F. Particle-particle adhesion in Pharmaceutical Powder Handling. Imperial College Press, London, 1999.

POLITI, F. A. S. Estudo Farmacognóstico e Avaliação de atividades Biológicas de Extratos Obtidos das Cascas Pulverizadas de *Endopleura uchi* (HUBER) CUATREC. (HUMIRACEAE). 2009. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências.

POLITI, F. A. S. *et al.* Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activities and Determination of the Total Tannin Content of Bark Extracts *Endopleura uchi*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 2757-2768, 2011.

POLITI, F. A. S. *et al.* Testes preliminares de motilidade intestinal e toxicidade oral aguda com extrato de cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae) em camundongos. **Rev. Pan-Amaz Saúde**, v. 1, n. 1, p. 187–189, 2010.

- PRADO, E. G. *et al.* Antiproliferative effects of mitraphylline, a pentacyclic oxindole alkaloid of *Uncaria tomentosa* on human glioma and neuroblastoma cell lines. **Phytomedicine**, v. 14, p. 280–284, 2007.
- PRISTA, L. V. N. *et al.* *Tecnologia Farmacêutica*. v. 1, ed. 6, Fundação Calouste Gulbenkian. 2003.786 p.
- REINHARD, K. *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C.: Cat's Claw, Uña de Gato, o Savéntaro. **The Journal of Alternative and Complimentary Medicine**, v. 5, n. 2, p. 143-151, 1999.
- REIS, R. A. S. P. Obtenção de produtos a partir das cascas de *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roemer e Schultes) D. C.: Otimização da Extração e secagem em *Spray dryer* utilizando planejamentos experimentais e avaliação da atividade anti-inflamatória. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêuticas). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.
- RIBEIRO, A. F. *et al.* Design of experiments for the development of poly (D,Llactide-co-glycolide) nanoparticles loaded with *Uncaria tomentosa*. **J. Nanopart. Res.**, v. 17, n. 69, 16 p., 2015.
- RIBEIRO, J. E. L. S. *et al.* Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia. In: SOTHERS, C. A.; BRITO, J. M.; PRANCE, G. T. Humiriaceae. Manaus: INPA, p. 501-503, 1999.
- RODRIGUES, G.A. *et al.* Determinação de parâmetros farmacognósticos para as folhas de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hilaire (Erythroxylaceae) coletadas no município de Goiânia, GO. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.17, n.4, supl. III, p.1169-1176, 2015.
- ROJAS-DURAN, R. *et al.* Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 801–804, 2012.
- SÁ, B. M. *et al.* Subchronic toxicity evaluation of the hydroethanolic extract from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec in Wistar rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 9, n.8, p. 223-229, 2015.
- SANDOVAL, M. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. **Phytomedicine**, v. 9, p. 325–337, 2002.
- SANDOVAL, M. *et al.* Cat's Claw Inhibits TNF α Production and Scavenges Free Radicals: Role in Cytoprotection. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 1, p. 71–78, 2000.
- SHANLEY, P.; MEDINA, G. Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. Ilustrada por Silvia Cordeiro, Antônio Valente, Bee Gunn, Miguel Imbiriba, Fábio Strympl. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. 300 p.
- SHENG, Y. *et al.* DNA repair enhancement of aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* in a human volunteer study. **Phytomedicine**, v. 8, n. 4, p. 275–282, 2001.

- SILVA, K. B. *et al.* Determinação do Teor de Fenóis Totais e Atividade Antioxidante da *Endopleura uchi*. 52º Congresso Brasileiro de Química (CBQ). 2012. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/7/988?13925.html>>, Acesso em: 19/01/2017.
- SILVA, L. R.; TEIXEIRA, R. Phenolic profile and biological potential of *Endopleura uchi* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, n. 11, p. 889–897, 2015.
- SILVA, M. J. A. Atividade Anti-inflamatória de Novos Compostos Sintéticos da Classe dos Nitroestirenos. 2016. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- SILVA, S. L. *et al.* Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 187–192, 2009.
- SIMÕES, C. M. O. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora UFRGS/ UFSC, 2004. 1102 p.
- SOUZA JÚNIOR, U. P. *et al.* Atividade Antifúngica *In Vitro* do Extrato da *Uncaria tomentosa* L. (Unha De Gato) sobre Cepas do Gênero *Candida*. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, v. 11, n. 4, p. 477-80, 2011.
- SOUZA, T. P. Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produtos seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). 2004. 280 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre.
- SOUZA, T. P. *et al.* Development of granules from *Phyllanthus niruri* spray-dried extract. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 4, 2009.
- TACON, L. A. Estudo da extração e secagem por *spray dryer* das cascas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. Humiriaceae. 2012. 108 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto.
- TACON, L. A.; FREITAS, L. A. P. Box-Behnken design to study the bergenina content and antioxidant activity of *Endopleura uchi* bark extracts obtained by dynamic maceration. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 65-71, 2013.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA: USP 29. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006.
- VALENTE, L. M. M. *et al.* Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcaloides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 216–223, 2006.
- VALENTE, L. M. M. Unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. e *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel.]: Um Panorama Sobre seus Aspectos mais Relevantes. **Fitos**, v. 2, n. 1, p. 48–58, 2006.

VASCONCELOS, E. A. F. *et al.* Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil[®]200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, 2005.

VOIGT, R; BORNSCHEIN, M. Tratado de tecnologia farmacêutica. 3^a. ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1982.

WELLS, J. Pré-formulação farmacêutica. In: AULTON, M. Delineamento de formas farmacêuticas. 2 edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e Fitoterápicos: A Necessidade do Desenvolvimento da Indústria de Fitoterápicos e Fitofármacos no Brasil. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZHOU, D. *et al.* Physicochemical properties of bergenin. **Pharmazie**, v. 63, p. 366–371, 2008.

APÊNDICE

Apêndice 1 – Histograma de distribuição das MPV *E. uchi* e *U. tomentosa*

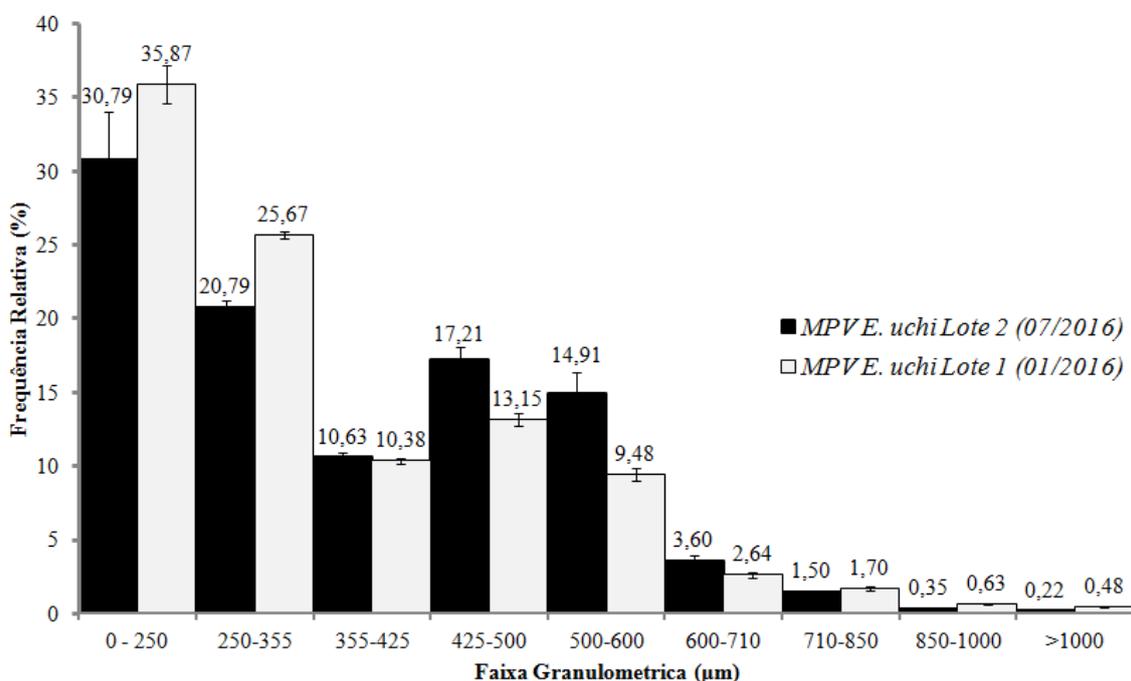


Figura 20 – Histograma da distribuição de partículas do MPV *E. uchi*

Fonte: Acervo pessoal.

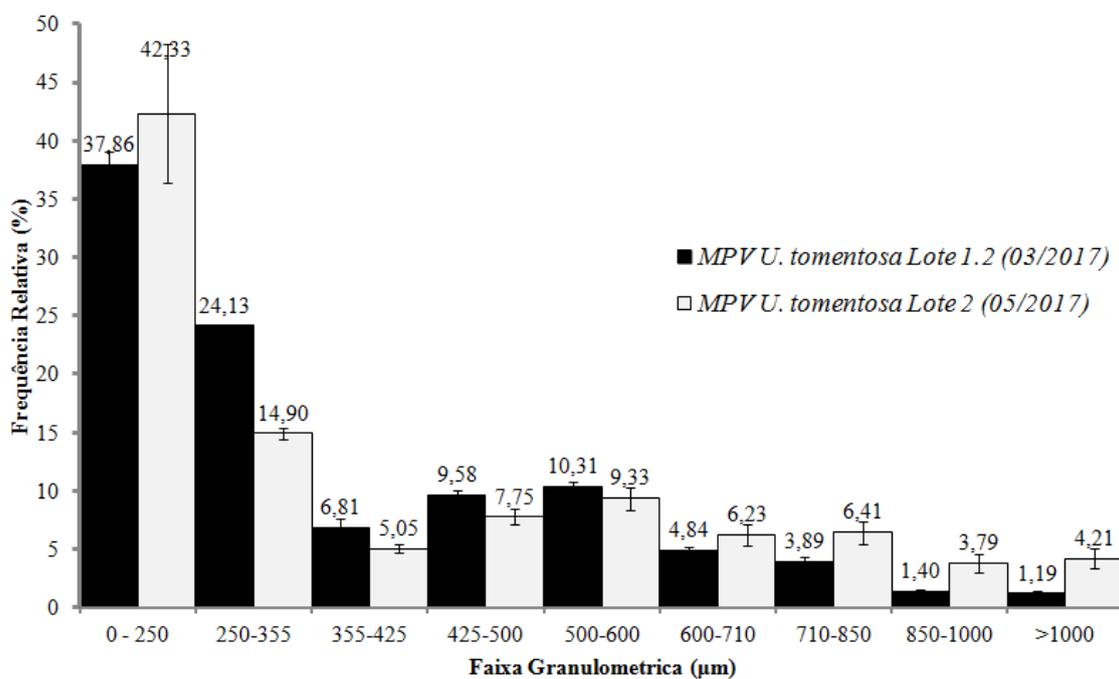


Figura 21 – Histograma da distribuição de partículas de *U. tomentosa*

Fonte: Acervo pessoal.

Apêndice 2 – Histograma e gráfico de distribuição do tamanho dos granulados obtidos via úmida tradicional contendo PSA *E. uchi*

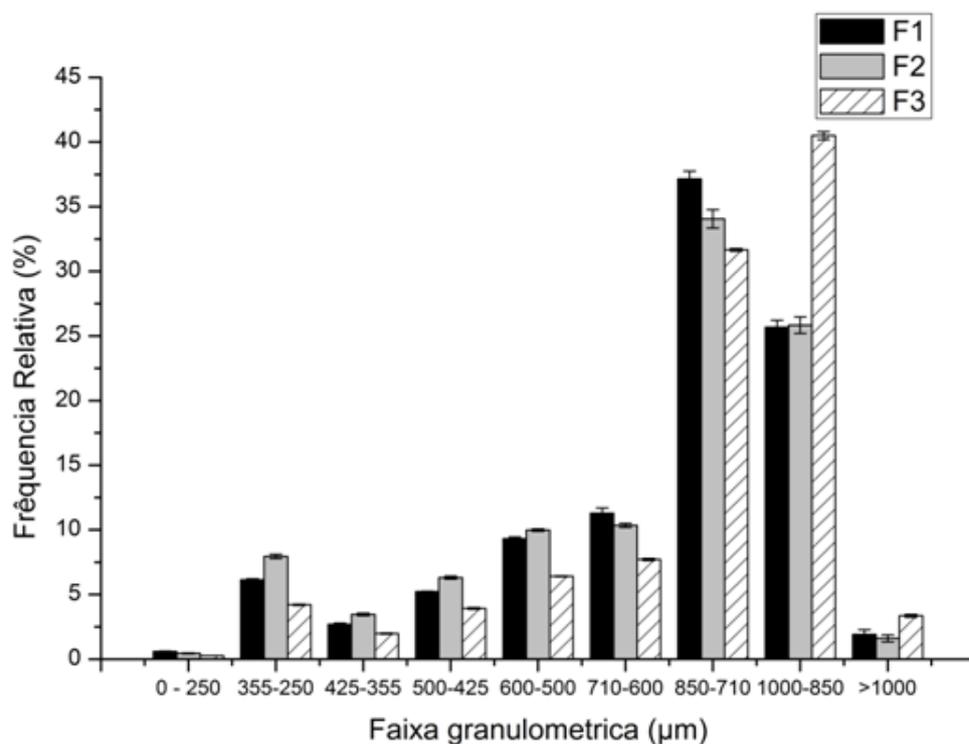


Figura 22 – Histograma da distribuição de partículas dos granulados F1, F2 e F3 com PSA He *E. uchi*

Fonte: Acervo pessoal.

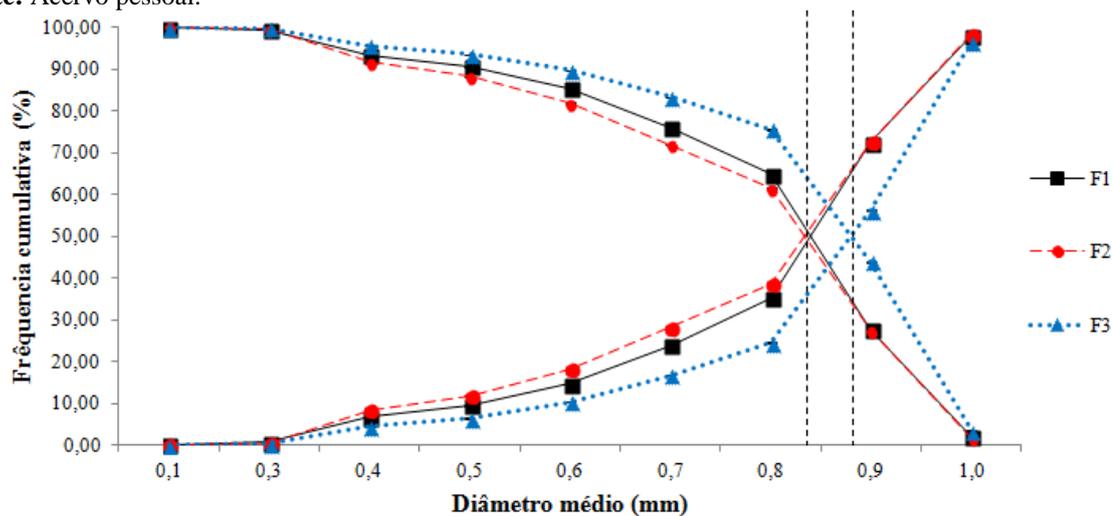


Figura 23 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas dos granulados F1, F2 e F3 contendo PSA He *E. uchi*.

Nota: —■— F1(0,83 mm \pm 0,004); —●— F2 (0,83 mm \pm 0,001); ...▲... F3 (0,90 mm \pm 0,001).

Fonte: Acervo pessoal.

Apêndice 3 – Histograma e gráfico de distribuição do tamanho dos Granulados obtidos por leito fluidizado contendo *E. uchi*

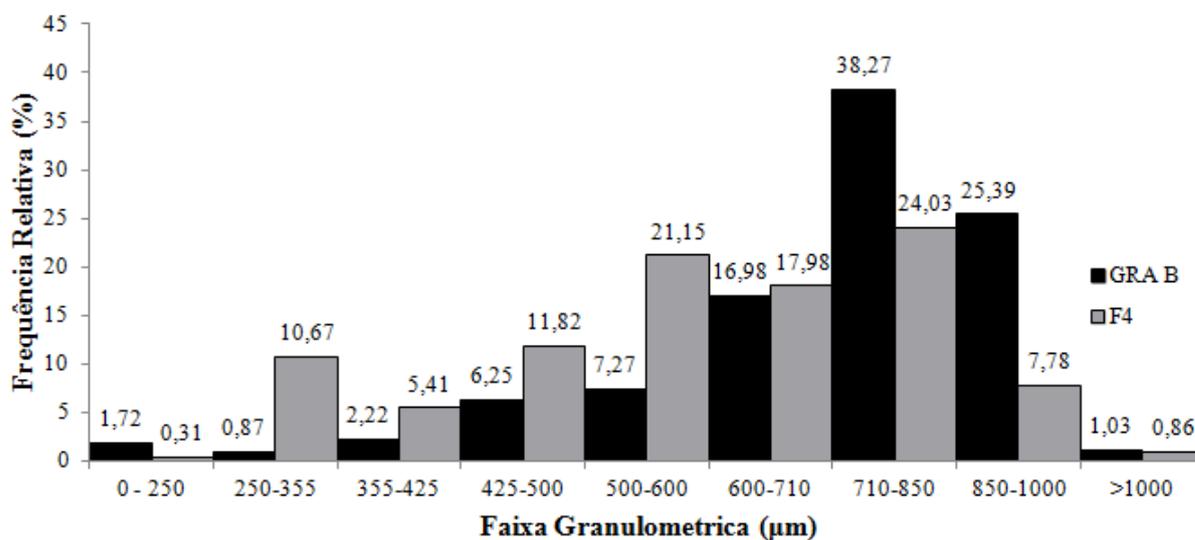


Figura 24 – Histograma da distribuição de partículas dos granulados GRA B e F4 de *E. uchi*.

Fonte: Acervo pessoal.

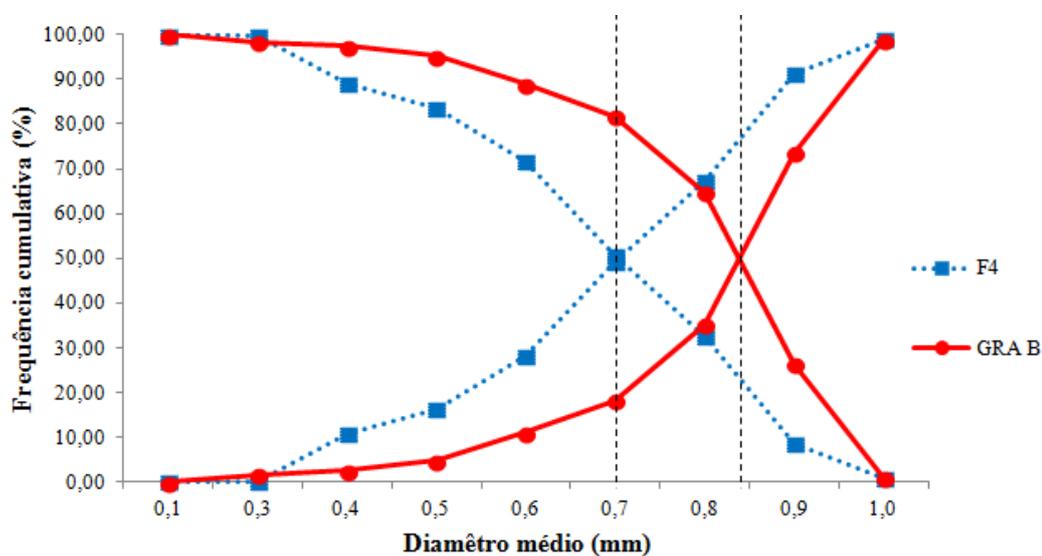


Figura 25 – Gráfico de curva de fração de retenção e passagem para determinar o tamanho médio das partículas dos granulados GRA B e F4 de *E. uchi*.

Nota: ●●● GRA B (0,83 mm); ●●● F4 (0,66 mm).