



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO  
TECNOLÓGICA DE MICROPARTÍCULAS DE *Arrabidaea  
chica* (H & B) B. Verl. OBTIDAS POR *SPRAY DRYER***

**Rita de Cássia Almeida Sampaio**

BELÉM - PA

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO  
TECNOLÓGICA DE MICROPARTÍCULAS DE *Arrabidaea  
chica* (H & B) B. Verl. OBTIDAS POR *SPRAY DRYER***

**Autora: Rita de Cássia Almeida Sampaio**  
**Orientador: Prof. Dr. José Otávio Carréra Silva Júnior**  
**Co-orientador: Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM - PA

2012

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, em especial, à minha família.

Aos meus pais Raimundo e Cenira.

Aos meus irmãos Alinda, Olívia e Raimundo Filho.

Aos meus sobrinhos Enzo, Ana Beatriz, Maria Rita, Sophia e Lívia.

Ao meu noivo Márcio.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, razão de todas as minhas conquistas e vitórias.

Ao professor e orientador Dr. José Otávio Carréra Silva Júnior, por dividir o conhecimento que muito contribuiu para a realização deste trabalho.

Ao professor e co-orientador Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa pela oportunidade de realização das análises cromatográficas no Laboratório de Fitoquímica.

Aos meus professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), em especial, à professora Dra. Roseane Ribeiro e ao professor PhD José Luiz Fernandes Vieira, pelos conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Carlos Emerson Costa, pela disponibilização do laboratório de Catálise e Oleoquímica (LCO) do Instituto de Ciências Exatas e Naturais (ICEN – UFPA).

À colega MsC. Taís Gabbay e ao aluno Charles Alberto pelas contribuições nas análises térmicas.

Às colegas Jeane Alves e Russany Costa (UFPA), Frederico Martins (UFG) e Bruno Leite Sampaio (USP-Ribeirão Preto) pela imensa colaboração nos ensaios cromatográficos.

Às secretárias do PPGCF, Cliciane e Brasília, pela amizade e presteza.

À todos os meus colegas do PPGCF pela amizade, em especial, ao Jailton Nascimento.

Aos alunos Andriele, Kalene e Bruno, pela colaboração nas análises microbiológicas.

À equipe do Laboratório de P & D em Processos Farmacêuticos- LAPROFAR (USP- Ribeirão Preto), professor PhD Wanderley Pereira de Oliveira, MsC. Marcelo Martinez e colegas, pela acolhida e valiosas contribuições proporcionadas a este trabalho.

À PhD Claudia Regina Fernandes de Souza (LAPROFAR), pelas suas inestimáveis orientações técnico-científicas, bem como a revisão final do trabalho, a qual tenho a eterna gratidão.

À Professora Dra. Cenira Almeida Sampaio, pelas valiosas contribuições referentes à revisão metodológica.

À Professora Dra. Maria José Vieira Fonseca e a mestranda Daniele Fernandes da Silva da USP- Ribeirão Preto, pelas orientações durante as análises de atividade antioxidante.

À amiga Ivete Costa Vaz pelo imenso incentivo em fazer o mestrado.

A minha família, em especial aos meus pais Raimundo e Cenira, por nunca medirem esforços em prol da minha educação; por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e orientando, compartilhando tristezas e alegrias e, acima de tudo, por acreditarem em mim. À minha mãe, pelos conhecimentos compartilhados, exemplo de amor à docência, de força e coragem, de fé e perseverança, minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos, Alinda, Olívia e Raimundo Filho, pela amizade e força que sempre me deram; pelos momentos que dividimos e aprendemos juntos.

Aos meus queridos sobrinhos Ana Beatriz, Maria Rita, Sophia, Enzo e Lívia por existirem na minha vida.

Ao meu noivo Márcio pelo amor e dedicação em todo o decorrer deste trabalho; por compreender a minha ausência nos momentos de reunião de família, incentivando sempre o meu crescimento profissional.

Aos meus sogros, Aldiza e Fernando, pelo incentivo, compreensão e companheirismo em todos os momentos.

À todos que me apoiaram e contribuíram direta ou indiretamente para o êxito deste trabalho.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,  
mas lutei para que o melhor fosse feito.  
Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus,  
não sou o que era antes”.*

Marthin Luther King

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DE MICROPARTÍCULAS DE *Arrabidaea chica* (H & B) B. Verl. OBTIDAS POR SPRAY DRYER

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento tecnológico de formas farmacêuticas particuladas obtidas a partir de solução extrativa (tintura) de partes aéreas de *Arrabidaea chica* (pariri), empregando-se a secagem por *spray drying*. Investigou-se a influência de adjuvantes tecnológicos (maltodextrina e goma arábica, isoladas e em associação) no desempenho da secagem e nas propriedades dos produtos secos. A tintura de *A. chica* foi concentrada em evaporador rotativo obtendo-se o extrato concentrado (EC) o qual foi adicionado dos adjuvantes tecnológicos e submetidos a secagem em *spray drying*. O processo de secagem foi avaliado através da determinação da recuperação de produto e eficiência térmica. As micropartículas (ES) foram avaliadas quanto a umidade residual; atividade de água; diâmetro médio das partículas; densidade bruta, densidade de compactação e índices de fluidez, perfil térmico e espectroscópico por IV. O monitoramento químico foi realizado por espectrofotometria UV-vis, utilizando como marcador químico os flavonoides (Ft), polifenóis (Pt) e taninos totais (Tt) presentes na *A. chica*. A atividade antioxidante do produto foi avaliada pelo método DPPH e quimioluminescência. O teor de umidade nas ES teve seus valores na faixa de 2,77 a 4,69% estando dentro do especificado. Os valores de atividade de água ficaram abaixo de 0.2, que é favorável à estabilidade físico-química e microbiológica. O percentual de degradação dos marcadores químicos nas ES em relação ao EC ficou na faixa de 24 a 46% para Ft, de 48 a 56% para Pt, e de 53 a 72% para Tt, que pode estar associada à degradação térmica e oxidação dos compostos. Na análise por CCD, a tintura, o EC e os ES apresentaram os padrões luteolina e canferol mostrando que o processo de secagem não causou a perda destes compostos. A distribuição granulométrica mostra que os ES apresentaram diâmetro médio em torno de 10  $\mu\text{m}$  sendo que as partículas apresentaram morfologia esférica e algumas com superfície rugosa. Através da determinação dos índices de fluidez e de acomodação dos pós obteve-se resultados característicos de pós com baixa fluidez e características de compressibilidade. A atividade antioxidante dos ES apresentou valores entre 32,17 a 44,53  $\mu\text{g/mL}$ . Na análise colorimétrica, os parâmetros comprovaram a coloração vermelha-amarelada. A recuperação de produto ficou na faixa de 60 a 65% e os valores de eficiência térmica ficaram entre 36 % e 39%. As análises de espectroscopia na região do infravermelho e análises térmicas se mostraram ferramentas importantes na caracterização físico-química e controle de qualidade dos sistemas microparticulados obtidos.

**Palavras-chave:** secagem; *spray drying*; adjuvantes de secagem; *Arrabidaea chica*; análises térmicas; atividade antioxidante.

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF *Arrabidaea chica* (H & B) B. Verl. MICROPARTICLES OBTAINED BY SPRAY DRYER

This work aimed the technological development of particulate dosage forms obtained from extraction solution (tincture) from aerial parts of *Arrabidaea chica* (Pariri), using the spray drying. We investigated the influence of processing aids (maltodextrin and arabic gum, alone and in a mixer) in drying performance and product properties. *A. chica* tincture was concentrated on a rotary evaporator to obtain the concentrated extract (CE) which was added to the processing aids and subjected to spray drying. The drying process was assessed through determination of product recovery and thermal efficiency. Microparticles (ES) were evaluated for residual moisture, water activity, average particle diameter, bulk density, packing density and flow properties, thermal profile and IR spectroscopy. The chemical monitoring was performed by UV-vis spectrophotometer, using chemical marker flavonoids (Ft), polyphenols (Pt) and total tannins (Tt) in the *A. chica*. The antioxidant activity of the product was evaluated by DPPH and chemiluminescence. The moisture content of the ES had their values in the range 2.77 to 4.69% being within the specified. The water activity values were below 0.2, which supports the physical and chemical stability and microbiological of dried products. The percentage of degradation of chemical markers in ES regard to CE was in the range 24-46% for Ft, 48-56% for Pt and 53-72% to Tt, which may be associated with thermal degradation and oxidation of the same compounds. In TLC analysis, tincture, CE and ES showing the luteolin and kaempferol patterns indicate that the drying process does not cause the loss of these compounds. The particle size distribution shows that the ES showed an average diameter of about 10  $\mu\text{m}$  and the particles had a spherical morphology and with some rough surface. The flowability indices and accommodation of the powders obtained results are typical of powders with low flowability and compressibility characteristics. The antioxidant activity of ES presented values between 32.17 to 44.53 mg / mL. In the colorimetric analysis, the parameters proved the yellowish-red color. The recovery of product was in the range 60-65% and the thermal efficiency values were between 36% and 39%. Analyses of infrared spectroscopy and thermal analysis proved important tools in the physico-chemical characterization and quality control systems microparticulate obtained.

Keywords: drying, spray drying, drying aids, *Arrabidaea chica*, thermal analysis, antioxidant activity.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	<i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl. ....	24
<b>Figura 2</b>	Diagrama esquemático de <i>Spray Dryer</i> .....	33
<b>Figura 3</b>	Diagrama esquemático e foto do <i>Spray Dryer</i> utilizado.....	42
<b>Figura 4</b>	Diagrama de cores do sistema CIELAB.....	65
<b>Figura 5</b>	Distribuição granulométrica do pó das folhas de <i>A. chica</i> .....	67
<b>Figura 6</b>	Curvas TG/DTG e DTA do pó das folhas de <i>A. chica</i> .....	69
<b>Figura 7</b>	Perfil reológico da tintura de <i>A. chica</i> .....	72
<b>Figura 8</b>	Características de viscosidade da tintura de <i>A. chica</i> .....	72
<b>Figura 9</b>	Placas com amostras do pó das folhas de <i>A. chica</i> mostrando o crescimento de bactérias (A) e fungos (B) em diluição 1: 1000.....	75
<b>Figura 10</b>	Placas com amostras da tintura de <i>A. chica</i> mostrando ausência de crescimento de bactérias (A) e fungos (B). Da esquerda para a direita estão as diluições 1:10, 1:100 e 1:1000.....	76
<b>Figura 11</b>	Fotografias dos extratos secos obtidos em microscópio óptico com aumento de 50 vezes.....	81
<b>Figura 12</b>	Histogramas da distribuição granulométrica dos extratos secos por <i>spray dryer</i> de <i>A. chica</i> em função das formulações de secagem analisadas.....	82
<b>Figura 13</b>	Fotografia da placa de CCD após a corrida. Da esquerda para a direita, padrão luteolina, padrão canferol, tintura, EC, ES1, ES2, ES3 e ES4.....	83
<b>Figura 14</b>	Aspecto macroscópico dos extratos secos de <i>A. chica</i> obtidos por <i>spray dryer</i> preparados com diferentes concentrações dos adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).....	84
<b>Figura 15</b>	Fotomicrografias obtidas em MEV para extratos secos obtidos a partir de <i>A. chica</i> com aumentos de 2000, 5000 e 10000 vezes para as formulações ES1 e ES2.....	86
<b>Figura 16</b>	Fotomicrografias obtidas em MEV para extratos secos obtidos a partir de <i>A. chica</i> com aumentos de 2000, 5000 e 10000 vezes para as formulações ES3 e ES4.....	87
<b>Figura 17</b>	Curvas TG/DTG e DTA do adjuvante goma arábica (GA).....	88
<b>Figura 18</b>	Curvas TG/DTG e DTA do adjuvante maltodextrina (MD).....	89

<b>Figura 19</b>	Curvas TG (a) e DTA (b) do ES1 (75% de MD) comparando com o adjuvante maltodextrina (MD).....	90
<b>Figura 20</b>	Curvas TG (a) e DTA (b) do ES2 (50% de GA e 25% de MD) comparando com os adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).....	90
<b>Figura 21</b>	Curvas TG (a) e DTA (b) do ES3 (75% de GA) comparando com o adjuvante goma arábica (GA).....	91
<b>Figura 22</b>	Curvas TG (a) e DTA (b) do ES4 (25% de GA e 50% de MD) comparando com os adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).....	92
<b>Figura 23</b>	Espectros na região do infravermelho do ES4 e do pó das folhas de <i>A. chica</i> .....	93
<b>Figura 24</b>	Espectro de cor dos extratos secos de <i>A. chica</i> obtidos por <i>spray dryer</i> .....	96

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Composição percentual das formulações de secagem e extratos secos de <i>A. chica</i> .....	59
<b>Tabela 2</b>	Determinação do teor de cinzas totais, perda por dessecação em estufa e teor de umidade em balança com infravermelho do pó das folhas de <i>A. chica</i> .....	68
<b>Tabela 3</b>	Determinação do resíduo seco da tintura de <i>A. chica</i> durante o processo extrativo por percolação.....	70
<b>Tabela 4</b>	Determinação do pH, densidade aparente, teor de sólidos e teor alcoólico da tintura e do extrato concentrado (EC) de <i>A. chica</i> .....	71
<b>Tabela 5</b>	Prospecção fitoquímica da tintura de <i>A. chica</i> .....	73
<b>Tabela 6</b>	Determinação dos teores de flavonoides totais (Ft), polifenóis totais (Pt) e taninos totais (Tt) para a tintura e extrato concentrado (EC) de <i>A. chica</i> .....	74
<b>Tabela 7</b>	Número total de bactérias e fungos no pó das folhas e na tintura de <i>A. chica</i> pelo método da semeadura em superfície.....	74
<b>Tabela 8</b>	Atividade antioxidante e inibição máxima da tintura, do extrato concentrado (EC) de <i>A. chica</i> e das substâncias - padrões quercetina e luteolina.....	78
<b>Tabela 9</b>	Resultados da avaliação de desempenho do <i>spray dryer</i> .....	79
<b>Tabela 10</b>	Resultados da caracterização físico-química dos extratos secos de <i>A. chica</i> .....	80
<b>Tabela 11</b>	Valores de fator de retenção (Rf) obtidos na análise por CCD dos padrões luteolina e canferol, da tintura, extrato concentrado (EC) e extratos secos de <i>A. chica</i> .....	84
<b>Tabela 12</b>	Resultados dos índices de fluidez e de acomodação dos pós dos extratos secos de <i>A. chica</i> .....	85
<b>Tabela 13</b>	Regiões de absorção de ligações das moléculas do pó das folhas de <i>A. chica</i> .....	94
<b>Tabela 14</b>	Resultados de atividade antioxidante obtidos para os extratos secos de <i>A. chica</i> pelos métodos DPPH e quimioluminescência.....	94
<b>Tabela 15</b>	Resultados da análise colorimétrica dos extratos secos de <i>A. chica</i> .....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CGAR	Cromatografia Gasosa de Alta Resolução
CIPLAN	Comissão Interministerial de Planejamento
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazil
DTG	Derivada da curva Termogravimétrica
EC	Extrato Concentrado
EM	Espectrometria de Massas
ES	Extrato Seco
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
GA	Goma Arábica
IV	Infravermelho
MD	Maltodextrina
NMP	Número Mais Provável
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENAFITO	Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
DTA	Análise Térmica Diferencial
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
TG	Termogravimetria
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SUS	Sistema Único de Saúde
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UV-VIS	Ultravioleta – Visível
XOD	Xantina Oxidase
NP-PEG	Natural Product- Polietilenoglicol

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
2.1	Plantas Medicinais.....	23
2.2	<i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	24
2.2.1	Família Bignoniaceae.....	24
2.2.2	Uso tradicional da espécie.....	25
2.2.3	Atividades farmacológicas.....	25
2.2.4	Química da espécie.....	26
2.2.5	Toxicidade da espécie.....	27
2.3	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.....	27
2.4	Padronização de extratos vegetais.....	29
2.4.1	Extração dos princípios ativos – tinturas.....	30
2.4.2	Secagem em <i>spray dryer</i> ou secagem por nebulização.....	32
2.5	Técnicas Analíticas usadas no desenvolvimento, avaliação e controle de qualidade de fitoterápicos.....	34
2.5.1	Análise térmica.....	34
2.5.2	Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	35
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
3.1	Objetivo Geral.....	38
3.2	Objetivos Específicos.....	38
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
4.1	Materiais.....	40
4.1.1	Matéria-prima vegetal.....	40
4.1.2	Reagentes, padrões analíticos e equipamentos.....	40
4.1.2.1	Reagentes.....	40
4.1.2.2	Padrões analíticos.....	40
4.1.2.3	Equipamentos.....	41
4.1.2.3.1	<i>Spray Dryer</i> .....	41
4.2	Métodos.....	43
4.2.1	Material vegetal.....	43
4.2.1.1	Identificação botânica do material vegetal.....	43

4.2.1.2	Processamento do material vegetal.....	43
4.2.2	Caracterização físico-química e microbiológica do pó das folhas de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	44
4.2.2.1	Determinação da distribuição granulométrica.....	44
4.2.2.2	Determinação do teor de cinzas totais.....	44
4.2.2.3	Determinação da perda por dessecação.....	44
4.2.2.4	Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho.....	45
4.2.2.5	Obtenção do perfil térmico por TG/DTG e DTA.....	45
4.2.2.6	Obtenção do perfil espectroscópico na região do Infravermelho (IV).....	45
4.2.2.7	Controle de qualidade microbiológico.....	46
4.2.2.7.1	<i>Contagem de microorganismos em meio sólido, com semeadura da amostra em superfície.....</i>	46
4.2.2.7.2	<i>Contagem de microorganismos através do número mais provável (NMP).....</i>	46
4.2.3	Obtenção e caracterização físico-química, química e microbiológica da solução extrativa (tintura) de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	47
4.2.3.1	Obtenção da tintura.....	47
4.2.3.2	Avaliação da eficiência da extração.....	47
4.2.3.3	Determinação do teor de sólidos.....	47
4.2.3.4	Determinação do teor alcoólico.....	47
4.2.3.5	Determinação do pH.....	47
4.2.3.6	Determinação da densidade.....	48
4.2.3.7	Avaliação do perfil reológico.....	48
4.2.3.8	Prospecção química.....	48
4.2.3.9	Determinação dos flavonoides totais.....	51
4.2.3.10	Determinação dos polifenóis totais.....	52
4.2.3.11	Determinação dos taninos totais.....	52
4.2.3.12	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	53
4.2.3.13	Controle de qualidade microbiológico.....	53
4.2.3.13.1	<i>Contagem de microorganismos em meio sólido, com semeadura de amostra em superfície.....</i>	53
4.2.3.13.2	<i>Contagem de microorganismos através do número mais provável (NMP).....</i>	54

4.2.4	Avaliação da atividade antioxidante da tintura de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	54
4.2.4.1	Avaliação da capacidade doadora de H <sup>+</sup> ao radical DPPH.....	54
4.2.4.2	Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/XOD/luminol.....	55
4.2.5	Obtenção e caracterização físico-química do extrato concentrado (EC) de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	56
4.2.5.1	Obtenção do extrato concentrado (EC).....	56
4.2.5.2	Determinação do teor de sólidos.....	56
4.2.5.3	Determinação do teor alcoólico.....	56
4.2.5.4	Determinação do pH.....	56
4.2.5.5	Determinação da densidade.....	57
4.2.5.6	Determinação dos flavonoides totais.....	57
4.2.5.7	Determinação dos polifenóis totais.....	57
4.2.5.8	Determinação dos taninos totais.....	57
4.2.5.9	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	57
4.2.5.10	Avaliação da capacidade doadora de H <sup>+</sup> ao radical DPPH.....	58
4.2.5.11	Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/XOD/luminol.....	58
4.2.6	Obtenção e caracterização físico-química dos extratos secos de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl por <i>spray dryer</i> .....	58
4.2.6.1	Obtenção dos extratos secos (ES).....	58
4.2.6.2	Avaliação do desempenho do <i>Spray Dryer</i> .....	59
4.2.6.3	Caracterização físico-química dos extratos secos (ES) obtidos por <i>spray dryer</i> .....	60
4.2.6.3.1	Determinação de umidade pelo método de Karl Fischer (Ukf).....	60
4.2.6.3.2	Atividade de Água (Aw).....	60
4.2.6.3.3	Determinação do teor de flavonoides totais.....	61
4.2.6.3.4	Determinação do teor de polifenóis totais.....	61
4.2.6.3.5	Determinação do teor de taninos totais.....	61
4.2.6.3.6	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	61
4.2.6.3.7	Determinação da distribuição granulométrica.....	61
4.2.6.3.8	Determinação do ângulo de repouso (Ar).....	62
4.2.6.3.9	Densidade bruta (pb) e de compactação (pc).....	62
4.2.6.3.10	Determinação do Fator de Hausner (FH).....	62
4.2.6.3.11	Determinação do índice de compressibilidade (IC).....	63

4.2.6.3.12	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	63
4.2.6.3.13	Obtenção do perfil térmico por TG/DTG e DTA dos adjuvantes e extratos secos de <i>A. chica</i> .....	64
4.2.6.3.14	Obtenção do perfil espectroscópico na região do infravermelho (IV).....	64
4.2.6.3.15	Avaliação da capacidade doadora de H <sup>+</sup> ao radical DPPH.....	64
4.2.6.3.16	Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/XOD/luminol.....	64
4.2.6.3.17	Análise colorimétrica.....	65
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>66</b>
5.1	Caracterização física e físico-química do pó das folhas de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	67
5.1.1	Determinação da distribuição granulométrica.....	67
5.1.2	Determinação do teor de cinzas totais, perda por dessecação em estufa e teor de umidade em balança com infravermelho .....	68
5.1.3	Obtenção do perfil térmico por TG/DTG e DTA.....	68
5.1.4	Obtenção do perfil espectroscópico na região do Infravermelho (IV).....	69
5.2	Obtenção e caracterização físico-química da tintura e extrato concentrado (EC) de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	70
5.2.1	Avaliação do perfil reológico da tintura.....	71
5.2.2	Prospecção fitoquímica da tintura de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	72
5.2.3	Determinação dos flavonoides totais, polifenóis totais e taninos totais na tintura e extrato concentrado (EC).....	73
5.3	Controle de qualidade microbiológico do pó das folhas e da tintura de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	74
5.3.1	<i>Contagem de microorganismos em meio sólido, com semeadura de amostra em superfície.....</i>	<i>74</i>
5.3.2	<i>Contagem de microorganismos através do número mais provável (NMP).....</i>	<i>77</i>
5.4	Avaliação da atividade antioxidante da tintura e do extrato concentrado de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl.....	77



5.5	Obtenção e caracterização físico-química dos extratos secos de <i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bompl.) B. Verl .....	78
5.5.1	Desempenho do processo de secagem por <i>Spray Dryer</i> .....	78
5.5.2	Obtenção do Perfil Térmico por TG/DTG e DTA dos adjuvantes e extratos secos de <i>A. chica</i> .....	88
5.5.3	Obtenção do perfil espectroscópico na região do infravermelho (IV).....	92
5.6	Atividade antioxidante dos extratos secos pelos métodos DPPH e sistema xantina/XOD/luminol.....	94
5.7	Análise colorimétrica.....	95
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>97</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>113</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>118</b>

# 1. Introdução

---

## 1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade os povos primitivos utilizavam plantas medicinais para a cura de seus males. Existem relatos de uso de plantas que datam 3000 anos a.C. (ALVES, 2008).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que, mais da metade dos habitantes do planeta, especialmente aqueles dos países pobres ou em desenvolvimento, fazem uso de algum tipo de erva para o alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável, e que desse total pelo menos 30% dão-se por indicação médica (ESTRELA, 1995).

Ao longo do tempo têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina alopática, a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005).

A região Amazônica, considerada a maior reserva de biodiversidade do planeta, com espécies ainda pouco estudadas e catalogadas, aparece como alternativa promissora na busca de novas drogas de origem vegetal, que possam ser utilizadas na produção de fitoterápicos.

A Organização Mundial de Saúde (OMS), desde a Declaração de Alma Ata em 1978, tem mostrado interesse em valorizar o uso de plantas medicinais pela população, através da criação de Resoluções que recomendam aos estados-membros iniciarem programas voltados ao cultivo desse tipo de planta e produção de fitoterápicos. Nos dias atuais, percebe-se uma preocupação das instituições de saúde em nível mundial em implantar políticas que impulsionem o uso dos fitoterápicos pela população. A normatização desses produtos, pautada em estudos científicos, vem avançando no sentido de priorizar a qualidade, eficácia e segurança.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem dado a mesma importância, estabelecendo normas rígidas que abrangem desde a planta medicinal, derivados da droga vegetal até o produto final, envolvendo todas as etapas da cadeia produtiva, visando primordialmente um produto de qualidade e de

aceitável relação custo-benefício. Dessa forma, percebe-se uma grande necessidade de se produzir fitoterápicos alicerçados em rigorosos controles de qualidade, utilizando metodologias validadas e reprodutíveis que possibilitem um tratamento adequado das doenças.

A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente US\$ 22 bilhões. Dentro desta perspectiva, esperar-se-ia que o Brasil fosse um país privilegiado, considerando sua extensa e diversificada flora, detendo aproximadamente um terço da flora mundial. Além disso, existe no país um grande número de grupos de pesquisa que tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas, a quimiotaxonomia, a farmacologia de produtos naturais e outras áreas relacionadas. No entanto, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (YUNES, PEDROSA, CECHINEL FILHO, 2001).

O mercado de fitoterápicos no Brasil está em torno de R\$ 400 milhões e taxas de crescimento da ordem de 15%, contra 4% dos medicamentos sintéticos. Além disso, o custo da pesquisa de fitoterápicos é menor, estando entre U\$ 3.000.000 a 7.000.000 (pesquisa a partir da etnofarmacologia, reduzindo, portanto, o tempo), quando comparado aos custos dos sintéticos, em média cerca de U\$ 250.000.000 a 880.000.000. Estes dados justificam a atenção dos diversos setores que se ocupam do estudo das plantas medicinais (RODRIGUES, 2005).

Estes produtos naturais podem ser tão eficientes quanto os produzidos pela síntese química, contudo a transformação de uma planta em um medicamento deve visar à preservação da integridade química e farmacológica do vegetal e de seus princípios ativos, garantindo a constância de sua ação biológica e a sua segurança de utilização, além de valorizar seu potencial terapêutico. Para atingir esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer, necessariamente, estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos, toxicológicos, de desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (MIGUEL, MIGUEL, 1999).

No desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos, a técnica de secagem por aspersão *spray drying* tem sido bastante empregada com o intuito de se obter produtos intermediários com maior concentração de constituintes químicos e com

---

melhores características tecnológicas. Os produtos secos apresentam vantagens relacionadas com a homogeneidade de distribuição dos constituintes da preparação e maior estabilidade física (VASCONCELOS et al., 2005).

Outras vantagens relacionadas aos extratos secos por aspersão são a maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, mais fácil padronização, maior concentração de compostos ativos e mais elevada capacidade de transformação em diferentes tipos de formas farmacêuticas sólidas (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Várias espécies vegetais, como a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl., apresentam grande potencial em gerar metabólitos secundários terapeuticamente importantes, comprovados através de pesquisas científicas. Alguns princípios ativos da *A. chica* já foram isolados e a ação antiinflamatória, cicatrizante, antioxidante, antifúngica, tripanocida, entre outras, já foram comprovadas cientificamente, porém sendo necessários novos estudos e padronizar formas farmacêuticas terapêutica e economicamente viáveis.

No ano de 2008 o Ministério da Saúde criou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Essa lista foi elaborada considerando as espécies vegetais já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais, o conhecimento tradicional e popular e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. As espécies constantes nessa lista apresentam potencial de avançar na cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS). A espécie *Arrabidaea chica* encontra-se na RENISUS dentre as 71 espécies relacionadas.

Face ao exposto foi elaborada esta dissertação que tem por objetivo o desenvolvimento de sistemas microparticulados padronizados de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verlot. pelo processo de *spray dryer*. A planta escolhida para o estudo tem sua importância por seu vasto uso na medicina tradicional do norte do Brasil para o tratamento de disfunções no sangue e inflamação uterina, sendo também indicada no tratamento da hepatite, hemorróidas e infecções de pele (CORRÊA, 1984; PUHL et al., 2007; BARBOSA et al., 2008).

## 2. Revisão da Literatura

---

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção se apresentada uma revisão de literatura sobre a importância da utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças negligenciadas, sobre os aspectos botânicos, químicos e farmacológicos da espécie medicinal em estudo, a *Arrabidaea chica*. Também serão abordados temas como a Política Nacional de Plantas Medicinais e uma visão geral da padronização de extratos vegetais desde a extração dos princípios ativos até o emprego de metodologias de secagem visando a obtenção de extratos secos padronizados e técnicas analíticas usadas no desenvolvimento, avaliação e controle de qualidade de fitoterápicos.

### 2.1 Plantas Medicinais

Uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade é a utilização de plantas como recurso terapêutico. Os povos primitivos, através da observação e da experimentação, contribuíram para que as propriedades terapêuticas de determinadas plantas fossem descobertas e propagadas de geração em geração fazendo parte da cultura popular (ALVES, 2008).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), divulgados na década de 1990, mostram que 65 a 80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (VEIGA JUNIOR, PINTO, MACIEL, 2005).

A utilização de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico de grande aceitação pela população e vem crescendo junto à comunidade médica, desde que sejam utilizadas plantas, cuja atividade biológica tenha sido investigada cientificamente, comprovando sua qualidade, eficácia e segurança (COSTA, 2010).

A flora Amazônica é considerada a maior reserva de biodiversidade do planeta, o que posiciona o Brasil como sendo a maior reserva genética vegetal do mundo. Existem cerca de 55 mil espécies catalogadas e 350 a 550 mil estimadas. Do total de catalogadas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas ou apresentar outras utilidades (BORGES, SCILIAR, ALMEIDA, 2003; OLIVEIRA, et al., 2009; COSTA, 2010).

No mercado brasileiro de medicamentos e cosméticos, 25% dos produtos fabricados contêm princípios ativos naturais (SILVA JÚNIOR, et al., 2006). Junto a

essa realidade, percebe-se uma preocupação por parte das instituições de pesquisa, na busca de novos fármacos de origem vegetal, bem como no desenvolvimento de novos fitoterápicos que sejam mais acessíveis à população.

Entende-se que, mesmo com os avanços da medicina alopática, sobretudo na segunda metade do século XX, a população carente continua tendo dificuldades de acesso a medicamentos, principalmente pelo seu alto custo. Os fitoterápicos entram nesse contexto como uma importante alternativa, alicerçada na grande compatibilidade cultural e popular, na tradição de uso, na facilidade de acesso e no baixo custo.

## **2.2 *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.**

### 2.2.1 FAMÍLIA BIGNONIACEAE

*Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl. pertence à família Bignoniaceae, a qual contém cerca de 120 gêneros e 800 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais, na América do Sul e na África. Estudos mostram que, no Brasil, as espécies dessa família botânica encontram-se distribuídas em todas as regiões, ocorrendo, desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, não possuindo um habitat único. Podem ser encontradas no Cerrado, Mata Atlântica e região Amazônica (PAULETTI, BOLZANI, YUNG, 2003; PUHL et al., 2007) (Figura 1).



Figura 1: *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

Fonte: [http://pt.wikipedia.org/wiki/arrabidaea\\_chica](http://pt.wikipedia.org/wiki/arrabidaea_chica). Acesso em: 05 de Maio de 2011.



### 2.2.2 USO TRADICIONAL DA ESPÉCIE

Conforme a região, *A. chica* recebe denominações diversas, sendo conhecida como crajiru (Amazonas), pariri (Pará), carajuru, puca-panga e chica em outras localidades. Outros nomes pelos quais a espécie também é conhecida são: carajirú, crejer, carajerú, cipó-pau, cipó-cruz e carapiranga (RIBEIRO, 2008; PUHL et al. 2007).

As folhas dessa planta têm sido tradicionalmente utilizadas pelos índios brasileiros como corante na pintura corporal em rituais e para proteger a pele contra a luz solar e repelir insetos (BARBOSA et al., 2008). Há relatos de uso tradicional desse corante das folhas, onde os índios utilizam para tingirem os seus enfeites, utensílios, vestuário e na elaboração de tatuagens (PUHL et al., 2007).

Na medicina tradicional, as folhas de *A. chica* são utilizadas na forma de chás (infusão) com função adstringente, contra diarreia, anemia, leucemia, icterícia e albuminúria. Quando aplicada topicamente, combate as impigens e outras enfermidades de pele, podendo ser usada, principalmente, para a lavagem de feridas e úlceras. A espécie *A. chica* é comumente usada na medicina popular do norte do Brasil para o tratamento de disfunções no sangue (anemia, hemorragia) e inflamação uterina, sendo também indicada no tratamento da hepatite, hemorróida e infecções de pele (CORRÊA, 1984; PUHL et al., 2007; BARBOSA et al., 2008).

### 2.2.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

Vários autores têm buscado pesquisar a atividade farmacológica da *A. chica*, principalmente pelo seu vasto uso popular com fins terapêuticos. Estudos de Ribeiro (2008), apontaram a ação antibacteriana do extrato etanólico bruto de *A. chica* frente a *Staphylococcus aureus* (62,5mg/ml), *Escherichia coli* (250mg/ml) e antifúngica contra leveduras de *Candida albicans* (500mg/ml). Já os resultados de Barbosa et al. (2008) constataram que o extrato etanólico apresentou ação contra *Trichophyton mentagrophytes*, a uma concentração inibitória mínima de 3,125 mg/ml. Os mesmos autores sugerem a atividade tripanocida do extrato etanólico frente ao *Trypanosoma cruzi*.

A atividade antioxidante foi analisada experimentalmente por Amaral et al. (2006) e demonstraram o grande potencial da espécie em sequestrar radicais livres,

com destaque para o extrato de diclorometano, que apresentou atividade melhor que o padrão de *Ginkgo Biloba* frente ao difenilpicrilidrazina (DPPH). Estudos mais atuais, apresentados por Jorge (2008) reforçam a atividade antioxidante utilizando os ensaios DPPH e Folin-Ciocalteu.

A atividade anti-inflamatória da *A. chica* foi investigada nas pesquisas de Oliveira (2009). Dados experimentais em camundongos albinos sugerem que, o extrato aquoso quando administrado pelas vias subcutânea e intraperitoneal, possui ação anti-inflamatória contra o edema induzido pelo veneno das serpentes do gênero *Brothrops Crotalus*. Entretanto, nas doses por via oral, não apresentou efeito inibitório sobre a inflamação.

A atividade cicatrizante da *A. chica* foi investigada através do trabalho de Jorge (2008), onde afirmou que o extrato metanólico bruto de *A. chica*, demonstrou estimular o crescimento de fibroblastos e colágeno *in vitro*, com atividades semelhantes à alantoína e ao ácido ascórbico, respectivamente.

Estudos da atividade anti-hipertensiva do extrato de *A. chica*, concluíram a atividade hipotensora com ausência de efeitos toxicológicos dentro dos parâmetros analisados (CARTÁGENES, 2009).

#### 2.2.4 QUÍMICA DA ESPÉCIE

Estudos sobre a composição química da espécie *A. chica* demonstram a identificação de fitoesteróis, flavonoides e pigmentos (carajurona, carajurina e 3-deoxiantocianidinas) que tem aplicação na área cosmética. Outros metabólitos também foram relatados para a espécie tais como: saponinas, flavonas, taninos catéquicos, alcalóides, antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, catequinas, flavanonas, flavanonóis, açúcares redutores, ácidos orgânicos, triterpenóides, fenóis e flavonóis (PAULETTI, BOLZANI, YUNG, 2003; PUHL et al, 2007; BARBOSA et al., 2008; ALVES, 2008).

Amaral et al. (2006) mencionam o isolamento de flavonóides em *A. chica*, a partir do extrato de diclorometano, onde foi identificada a presença de luteolina. Em pesquisa mais recente, Barbosa et al. (2008) relataram o isolamento de três flavonóides: 4'-hidroxi-3,7-dimetoxiflavona, vicenina-2 e canferol. Estudos feitos por Zorn et al. (2001) citam o isolamento de 6,7,3'-trihidroxi-5,4'-dimetoxi-flavilium; 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxi-flavilium; 6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxi-flavilium

(carajurina); 6,7,4'-trihidroxi-5-metoxi-flavilium (carajurona) e da flavona acacetina. Também foram encontradas nas folhas da espécie, duas 3-deoxiantocianidinas: 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavilium e 6,7,4'-trihidroxi-5-metoxiflavilium e o pigmento carajurina (DEVIA et al. 2002).

Estudos experimentais de Takemura et al. (1995) na espécie *Arrabidaea chica* f. *cúprea* identificaram uma flavona, a 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavona, chamada de carajuflavona.

Cartágenes (2009) observou em extratos de folhas de *A. chica* obtidos por maceração, a presença de taninos flobafênicos, flavononóis, flavonononas e compostos esteroidais. Enquanto que, a presença de minerais foi constatada por Martins et al. (2009), que detectaram cálcio (Ca), magnésio (Mg) e ferro (Fe) no chá das folhas de *A. chica*, com leitura feita em espectrômetro de absorção atômica.

#### 2.2.5 TOXICIDADE DA ESPÉCIE

Análises toxicológicas foram feitas experimentalmente por Garrido (2005), que testou a toxicidade córneo-conjuntival do extrato aquoso de *A. chica* em coelhos albinos. Foi constatado que o extrato não produziu sinais clínicos nem histopatológicos de toxicidade nas concentrações estudadas.

Westphal et al. (2007) após a injeção do extrato aquoso de *A. chica* no espaço pleural de ratos, avaliaram as alterações anatomopatológicas e histopatológicas da pleura e do parênquima pulmonar. Foi observado que o extrato apresentou pouca alteração inflamatória nos órgãos dos animais de experimentação.

Estudos de toxicidade aguda (DL<sub>50</sub>) em camundongos concluíram que, o extrato de *A. chica* nas doses e vias de administração analisadas, não produziu morte dos animais e nem alterações macroscópicas dos órgãos vitais (CARTÁGENES, 2009).

### 2.3 Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

A fitoterapia é uma “terapia caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias isoladas, ainda que de origem vegetal”. A Organização Mundial de Saúde (OMS), desde a década de 70, tem estimulado as instituições de saúde a formularem políticas na

área da medicina tradicional. Em 1978, com a Declaração de Alma-Ata, a OMS reforça a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário (BRASIL, 2006a).

No Brasil, o interesse pela inserção de plantas medicinais e da fitoterapia na atenção básica do sistema público, teve seu início a partir da década de 1980, com a criação do SUS. A Resolução da Comissão Interministerial de Planejamento (CIPLAN) n° 8/88, regulamentou a introdução da fitoterapia nos serviços de saúde e nas unidades assistenciais médicas. Essa mesma prática foi reforçada nos relatórios das Conferências Nacionais de Saúde em 1996 e 2003, mostrando a necessidade de se investir em pesquisa e desenvolvimento de tecnologia para produção de medicamentos da flora brasileira (BRASIL, 1988; BRASIL, 2006a).

No que diz respeito à regulamentação dos fitoterápicos, destacamos a Portaria n°971, de 3 de Maio de 2006, que regulamenta a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS e o Decreto n° 5.813, de 22 de Junho de 2006, que aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF).

A PNPIC tem entre os seus objetivos implantar e implementar a fitoterapia no SUS. As suas diretrizes apontam para: a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e da Relação Nacional de Fitoterápicos; a promoção do uso racional de plantas medicinais e dos fitoterápicos no SUS; o cumprimento dos critérios de qualidade, eficácia e segurança no uso e o cumprimento das boas práticas de manipulação de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2006a).

A PNPMF garante à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional. O desenvolvimento de fitomedicamentos se apresenta como um nicho forte no mercado nacional e internacional, representando para o Complexo Industrial da Saúde no Brasil, uma oportunidade de viabilizar o fortalecimento da capacidade tecnológica industrial dessa categoria de medicamentos (BRASIL, 2006b; MACEDO, GEMAL, 2009).

Ainda no sentido da normatização das plantas medicinais e fitoterápicos, no que se refere ao processo de registro, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 14 de 31 de Março de 2010, dispõe sobre o Registro de Medicamentos Fitoterápicos junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essa Resolução estabelece os requisitos mínimos para a concessão, enfatizando a necessidade dos

ensaios de controle de qualidade e a apresentação de relatórios de todas as etapas envolvidas na produção desse tipo de produto, envolvendo testes de qualidade, segurança e eficácia (BRASIL, 2010).

A exigência da qualidade em produtos de origem vegetal também é reforçada em outras determinações da ANVISA, como a Resolução- RE n° 899/03, que estabelece um Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, a RDC n° 88/04, que sugere as Referências bibliográficas para a avaliação da eficácia e segurança de fitoterápicos, a RDC 89/04, que determina a Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos, onde as espécies constantes na lista não necessitam de validação das suas indicações terapêuticas e segurança de uso e a RDC n° 90/04 que trata dos estudos de toxicidade (BRASIL, 2003; BRASIL, 2004a; BRASIL, 2004b; BRASIL, 2004c).

No ano de 2008 o Ministério da Saúde criou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Essa lista foi elaborada considerando as espécies vegetais já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais, o conhecimento tradicional e popular e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. As espécies constantes nessa lista apresentam potencial de avançar na cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS. A espécie *Arrabidaea chica* encontra-se na RENISUS dentre as 71 espécies relacionadas.

A RENISUS tem por finalidade subsidiar o desenvolvimento de toda cadeia produtiva, nos aspectos relacionados à regulamentação, cultivo, manejo, produção, comercialização e dispensação de plantas medicinais e fitoterápicos. Objetiva, também, orientar estudos e pesquisas que possam contribuir com a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (RENAFITO), o desenvolvimento e a inovação nessa área.

## **2.4 Padronização de extratos vegetais**

Em geral, os fitoterápicos são administrados na forma de chás, tinturas, extratos fluidos e/ou moles ou na forma de pós, os quais são produtos da moagem de partes das plantas ou da secagem de um extrato.

O material vegetal é o fator de maior importância no processamento de produtos à base de plantas medicinais. As plantas, no que diz respeito à sua composição química, apresentam-se irregulares devido à influência de múltiplos

fatores (origem, secagem e condições de estocagem). A adulteração é uma questão crítica quando se trabalha com produtos vegetais necessitando-se de validação das fontes comerciais.

Geralmente, o material vegetal bruto é processado a fim de se obter um extrato. Alguns parâmetros-chaves são de grande importância durante o processamento de extratos como, por exemplo, parte da planta a ser usada (folhas, raízes, flores); coleta do material vegetal; método de extração e passos adicionais de purificação; tipo e concentração do solvente; razão entre o material vegetal bruto e o solvente (SOUZA, 2007).

A produção de extratos secos padronizados representa um campo em crescente expansão, já que a tendência atual das indústrias farmacêuticas brasileiras é a substituição das formas fluídas tradicionais pelo extrato na forma de pó. Dentre as razões a favor dessa tendência, pode-se destacar a maior concentração, estabilidade e facilidade de padronização dos princípios ativos presentes nas plantas, facilidade de transporte, menor espaço necessário para o armazenamento do produto e menores riscos de contaminação microbiana, vantagens essas que aumentam o valor agregado do produto (SOUZA, 2003; OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Dessa forma, os extratos secos são muito mais adaptados às necessidades da terapêutica moderna, contribuindo para a garantia da homogeneidade de preparações farmacêuticas (SOUZA, 2007). Os extratos secos podem ser obtidos a partir de técnicas de secagem como a liofilização, a secagem por *spray dryer* ou nebulização e a secagem em leito de jorro (De PAULA, 1996; TEIXEIRA, 1996; RUNHA et al., 2001; SOUZA, 2003; 2007; BOTT, 2008).

#### 2.4.1 EXTRAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS - TINTURAS

A primeira etapa no processo de desenvolvimento de extratos secos padronizados é a obtenção de um extrato bruto rico nos princípios ativos de interesse. A extração de compostos ativos pode ser realizada por inúmeros métodos extrativos cada qual com suas vantagens e desvantagens.

Dentre os principais métodos extrativos utilizados, encontram-se os métodos clássicos como a maceração, a percolação a extração por Soxhlet e métodos modernos, como a maceração dinâmica, extração assistida por microondas,

extração assistida por ultrassom e empregos de técnicas de extração por fluido supercrítico.

As tinturas são consideradas preparações alcoólicas ou hidroalcoólicas resultantes da extração de drogas vegetais ou animais ou da diluição dos respectivos extratos. São classificadas em simples e compostas, conforme preparada com uma ou mais matérias-primas, respectivamente (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

A aplicação das tinturas obtidas a partir de drogas vegetais pode ser diretamente, como produto terapêutico, ou como intermediário para a fabricação de produtos fitoterápicos. Os povos antigos tratavam as mais diversas enfermidades com chás (infuso, decocto, macerados), sucos, tinturas, banhos, cataplasmas e unguentos, preparados a partir de partes das plantas (RIBEIRO, 2008).

A avaliação da qualidade de uma tintura inicia-se com a análise da matéria-prima, atentando-se, principalmente, para a identificação botânica. Após o processo de produção, as tinturas devem passar por vários ensaios dentre eles, a identificação, características organolépticas, densidade, resíduo seco, determinação do teor alcoólico e doseamento de compostos marcadores. Todos esses ensaios são importantes para assegurar o padrão de qualidade, atendendo a uma especificação pré-estabelecida (FONSECA, LIBRANDI, 2008).

Atualmente, observa-se uma busca pela otimização dos métodos extrativos, visando, principalmente, aumentar a eficiência dessas técnicas, contribuindo assim, para o cumprimento dos padrões exigidos pela legislação para o registro de fitoterápicos. Nesse sentido, temos como exemplo os trabalhos de Silva e Aragão (2009), que utilizaram o ultra-som para a extração de alcalóides de *Cinchona pubescens* Vahl, mostrando-se como um recurso bastante promissor, pois permite uma extração exaustiva de princípios ativos de drogas vegetais.

Pesquisas de Souza et al. (2010), aplicam o planejamento fatorial para otimizar o processo extrativo. Outros métodos como a extração por fluido supercrítico, por líquido pressurizado e destilação por microondas propiciam melhor extração, redução do consumo de solventes orgânicos, da degradação da amostra e dos passos de purificação.

#### 2.4.2 SECAGEM EM *SPRAY DRYER* OU SECAGEM POR NEBULIZAÇÃO

O *spray dryer* ou secador por nebulização é frequentemente usado em processos industriais que envolvem a geração e secagem de gotículas líquidas (MASTERS, 1991). Esse processo basicamente consiste na atomização de uma mistura diluída sólido-fluido em uma corrente gasosa aquecida que promove a evaporação do solvente, levando a um produto seco (Figura 2).

Os pós produzidos por *spray dryer* reúnem padrões elevados de qualidade com respeito a granulometria do produto, umidade final, homogeneidade, densidade e forma das partículas, sendo que estas características podem ser alteradas por modificações nos parâmetros do processo (REMILI, et al. 1994).

Algumas vantagens atribuídas aos extratos vegetais produzidos por *spray dryer* podem interessar à fitoterapia. Os produtos obtidos são em geral, mais solúveis e concentrados. O processo envolve extração primária da planta com solventes apropriados como soluções de etanol-água em diferentes proporções. O extrato bruto então é concentrado e seco em *spray dryer* a temperaturas variando entre 100° e 200°C (SOUZA, 2003).

Uma grande vantagem do processo *spray drying* é que a secagem ocorre em condições assépticas evitando possíveis contaminações durante o processamento, podendo-se assumir que uma contaminação bacteriana final procede essencialmente da planta original ou após o processamento, pela manipulação humana (REMILI et al., 1994).

Existem diferentes tipos de configurações de secadores que podem causar influências no processo. Porém, na maioria das vezes esses equipamentos podem ser representados por poucos parâmetros críticos.

A umidade é uma variável interessante no processo de desidratação e é um ótimo parâmetro a ser medido durante a operação. A temperatura é uma medida secundária que pode não ser a causa de diferenças higroscópicas em produtos, seguida da mudança da composição e mudanças na umidade do ar de entrada. Medidas da umidade do produto após o processo são um indicador da eficiência do processo de desidratação.

As propriedades do produto e o rendimento da secagem podem ser alterados com a adição de adjuvantes à solução extrativa (indispensáveis para a maioria dos produtos desenvolvidos). A adição de adjuvantes farmacêuticos na preparação de



extratos secos de plantas medicinais deve-se às suas propriedades físicas que determinam um aumento da concentração de sólidos na solução extrativa, redução da degradação térmica e melhoria no desempenho da secagem (SOUZA, 2007).

Os adjuvantes devem caracterizar-se por sua inércia química, inocuidade e termo- estabilidade (TEIXEIRA, 1996), devendo ser seguros para uso farmacêutico. Entre os adjuvantes frequentemente empregados pode-se citar: os amidos de milho e de mandioca, as maltodextrinas, dióxido de silício coloidal, goma arábica e lactose, entre outros (SOUZA, 2007).

Como no processamento de extratos vegetais, cada material vegetal apresenta uma característica intrínseca que o distingue dos demais, a influência dos adjuvantes de secagem sobre o comportamento das substâncias ativas, propriedades físicas do produto e desempenho do sistema de secagem ainda não está bem fundamentada, e não é prontamente transferida, o que justifica a necessidade da realização de estudos individualizados para cada espécie medicinal estudada (SOUZA, 2007).

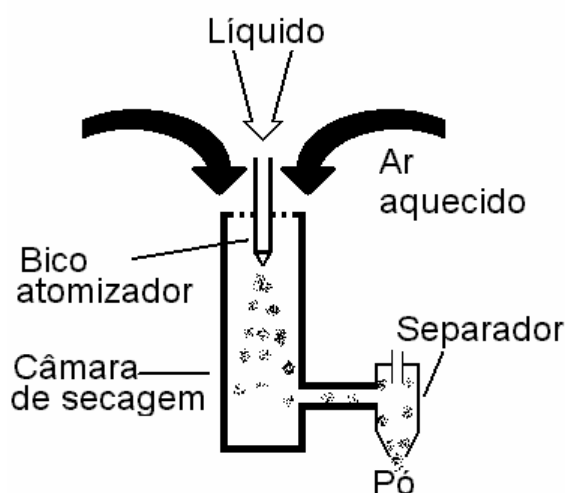


Figura 2: Diagrama esquemático de *Spray dryer* (Fonte: google imagens. Acesso em: 02 de Dezembro de 2011).

## 2.5 Técnicas analíticas usadas no desenvolvimento, avaliação e controle de qualidade de fitoterápicos

### 2.5.1 ANÁLISE TÉRMICA

A análise térmica é um conjunto de técnicas que possibilitam medir as propriedades físico-químicas de uma substância em função da temperatura (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

Nos sistemas termoanalíticos a amostra é colocada em um ambiente cuja temperatura é controlada por um dispositivo programador e suas alterações são monitoradas através de um transdutor adequado que produz um sinal elétrico de saída, análogos à transformação ocorrida. Este sinal de saída após a amplificação adequada é aplicado a um instrumento de leitura (IONASHIRO, GIOLITO, 2005).

As técnicas termoanalíticas mais comumente utilizadas são as que medem as variações de energia ou de massa de uma substância, como a Análise Térmica Diferencial (DTA), a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a Termogravimetria (TG) (IONASHIRO, GIOLITO, 2005; CAMELO, 2009; FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

A DTA é uma técnica térmica de medição contínua das temperaturas da amostra e de um material de referência termicamente inerte, na medida em que ambos vão sendo aquecidos ou resfriados em um forno. Estas medições de temperatura são diferenciais, pois registra-se a diferença entre a temperatura da referência  $T_r$ , e a da amostra  $T_a$ , ou seja,  $(T_r - T_a = \Delta T)$ , em função da temperatura ou do tempo, dado que o aquecimento ou resfriamento são sempre feitos em ritmo linear. As variações de temperatura na amostra são devidas as transições entálpicas ou reações endotérmicas ou exotérmicas (IONASHIRO, GIOLITO, 2005; SILVA, PAOLA, MATOS, 2007).

A DSC é uma técnica na qual mede-se a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, em função da temperatura enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Durante o processo de aquecimento ou resfriamento, uma amostra pode sofrer alterações de temperatura devido a eventos endotérmicos ou exotérmicos. Nesse caso, registra-se o fluxo de calor diferencial necessário para

manter a amostra e o material de referência à mesma temperatura (IONASHIRO, GIOLITO, 2005; SILVA, PAOLA, MATOS, 2007).

A TG fornece informações com relação às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura, sob determinadas condições atmosféricas. As curvas de variação de massa em função da temperatura permitem tirar conclusões sobre a estabilidade térmica da amostra, sobre a composição e estabilidade dos compostos intermediários e sobre a composição do resíduo (IONASHIRO, GIOLITO, 2005; SILVA, PAOLA, MATOS, 2007).

Nos dias atuais observa-se uma crescente aplicação prática das análises termoanalíticas, por serem aplicáveis em diversos setores dedicados à pesquisa, desenvolvimento de novos produtos e controle de qualidade de produção (IONASHIRO, GIOLITO, 2005).

Alguns trabalhos têm demonstrado as vantagens na aplicação das técnicas termoanalíticas na caracterização e controle de qualidade de fitoterápicos. Santos et al. (2003) utilizaram TG e DSC para a caracterização de quitosanas comerciais associadas a outras técnicas analíticas e concluíram que, as técnicas termoanalíticas forneceram informações sobre os mecanismos de decomposição e estabilidade térmica das amostras analisadas. Araújo et al. (2006), analisaram o perfil termoanalítico de amostras comerciais de guaraná em pó e determinaram o teor de umidade e cinzas pelos métodos convencionais e termogravimétricos comparativamente. Os métodos termogravimétricos demonstraram ser mais rápidos, com menor consumo de amostra, obtenção simultânea de umidade e cinzas, diminuição dos erros cometidos com a manipulação de amostras, bem como potencial na obtenção de parâmetros tecnológicos e de controle de qualidade.

Nunes (2009) ressalta a vasta aplicação das análises térmicas na indústria farmacêutica no sentido da investigação físico-química de produtos farmacêuticos. Mostra também, a importância dessas técnicas para o controle de qualidade e desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas, estudos de estabilidade, compatibilidade e interações entre fármaco e excipiente.

#### 2.5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) é um tipo de espectroscopia de absorção que está fundamentada no fato de que as ligações químicas das

substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de níveis vibracionais). A radiação infravermelha provoca vibração de átomos ou grupos de átomos em um composto e estas vibrações podem ter amplitudes e velocidades diferentes. As energias das vibrações são quantizadas, ou seja, existem determinadas quantidades de energia que fazem os grupos vibrarem (BARBETTA, MAGINI, 2006).

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) é uma técnica de inestimável importância na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. O infravermelho e demais métodos espectroscópicos modernos como a ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-VIS) e espectrometria de massas (EM) constituem hoje os principais recursos para a identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas (LOPES, FASCIO, 2004).

O uso dos referidos métodos físicos de análise traz uma série de vantagens, destacando-se a redução no tempo de análise, diminuição substancial nas quantidades de amostra, ampliação da capacidade de identificar ou caracterizar estruturas complexas, não destruição da amostra (exceto EM) e a possibilidade de acoplamento com métodos modernos de separação, como a cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A espectroscopia na região do infravermelho tem sido também, amplamente utilizada em linhas de produção, no controle de processos industriais (LOPES, FASCIO, 2004).

Alguns autores utilizaram a espectroscopia no infravermelho com sucesso para caracterização de extratos secos por nebulização, como Silva Júnior, et al. (2006), que usou a técnica associada a termogravimetria e cromatografia para caracterização físico-química dos extratos fluido e seco da espécie *Symphytum officinale* L.; Stulzer et al. (2007) utilizou a espectrometria no infravermelho para caracterização físico-química de micropartículas de aciclovir/ quitosana, obtidas pelo método *spray dryer*. Os resultados mostraram que não houve interação química entre o fármaco e a quitosana; Verones (2010) desenvolveu micropartículas gastro-resistentes de azitromicina por *spray dryer* e usou a espectroscopia no infravermelho para caracterização física das mesmas.

## 3. Objetivo

---

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar um extrato por aspersão à partir da tintura padronizada de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verlot. através da técnica de secagem por *spray dryer*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a matéria prima vegetal e a tintura de *A. chica* através de parâmetros físicos, químicos e físico-químicos;
- Avaliar a eficiência do processo de secagem por *spray dryer*;
- Obter o perfil cromatográfico da tintura e das micropartículas em função de marcadores químicos por cromatografia em camada delgada (CCD);
- Caracterizar as micropartículas através de parâmetros físicos e físico-químicos;
- Avaliar a influência do processo de secagem nas perdas de marcadores químicos;

## 4. Material e Métodos

---

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 MATÉRIA-PRIMA VEGETAL

Parte utilizada: folhas;

Família botânica: Bignoniaceae;

Nomenclatura botânica: *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

#### 4.1.2 REAGENTES, PADRÕES ANALÍTICOS E EQUIPAMENTOS

##### 4.1.2.1 Reagentes

Acetona; Acetato de Etila; Acetonitrila (Sigma-Aldrich); Ácido Acético Glacial (LabSynth); Ácido Clorídrico P.A.; Diclorometano; Ác. Fórmico; Solução de Ácido Clorídrico 5%; Ácido sulfúrico P.A; Solução Hidroetanólica 70%; Anidrido Acético; Clorofórmio; Metanol P.A.; Metanol grau HPLC; Tolueno; Hexano; Água Milli-Q; Solução de Hidróxido de Amônio 10%; Raspas de magnésio; Reativo de Bouchardat; Reativo de Dragendorff; Reativo de Fehling A e B; Reativo de Mayer; Reativo de Bertrand; Solução alcoólica de Cloreto Férrico a 1%; Solução de Hidróxido de Sódio 1%; Revelador NP/PEG; Solução de  $AlCl_3$  a 0,5%; Solução de Etanol a 40%; Reativo de Folin-Denis; Solução de  $Na_2CO_3$ ; Caseína; Álcool Etílico Absoluto (LabSynth); Solução Tampão Acetato (0,1M) pH= 5.5; Solução alcoólica de DPPH $\cdot$  (250 $\mu$ M); Solução tampão glicina (0,1 M) pH 9.4; Xantina 6nM; Solução de Luminol 0,6nM; Solução de Xantina Oxidase (20 mU/mL); Solução anidra de iodo e dióxido de enxofre.

Adjuvantes de secagem: Maltodextrina - DE10 (Corn Products do Brasil); Goma Arábica (Instantgum BB, Colloides Naturels Brasil).

##### 4.1.2.2 Padrões analíticos

Luteolina (Sigma-Aldrich); Canferol (Sigma-Aldrich).



#### 4.1.2.3 Equipamentos

Agitador de peneiras eletromagnético BERTEL; Moinho de facas e martelo de aço inoxidável DPM Júnior; estufa BIOMATIC; mufla ENGRO modelo 3551; Analisador de umidade por infravermelho IV 2000 GEHAKA; Potenciômetro HANNA modelo pH 21; Balança GEHAKA BK500; Alcoômetro Gay Lussac INCOTERM; Estufa incubadora microprocessada QUIMIS, modelo Q315M16; Capela com fluxo laminar VECO, modelo Bioseg 09 Classe II Tipo A1 série F1: 15808; Estufa incubadora microprocessada de cultura bacteriológica QUIMIS, modelo Q316M4; Viscosímetro DV-II + Pro BROOKFIELD; Luminômetro Autolumat LB 953; Medidor de atividade de água Aqua Lab 4TEV- Decagon Devices; Balança determinadora de umidade (SARTORIUS - MA 35); Titulador Karl Fisher modelo 870 KF Titrino plus (Metrohm); Microscópio óptico Olympus<sup>®</sup> BX60MIV operando o *software* Image Pro-Plus<sup>®</sup>; Bomba de vácuo; Microscópio eletrônico de varredura (MEV) de alto vácuo Zeiss EVO50; Paquímetro digital; Espectrofotômetro UV-Vis HP 8453 operando o *software* HP *Chem-Station*; BAL-TEC SCD 050 Sputter Coater; Evaporador rotatório (Fisatom, mod. 802); Homogeneizador de alta rotação ultra-turrax IKA mod. T18 basic (6000 a 24000 rpm/min); Agitador mecânico e magnético; Ultrassom (Ultrasonic Cleaner - Odontobrás 2840D); Colorímetro Colorquest XE (HunterLab, Reston Virginia, EUA).

Outros: placa TLC sílica gel 60 F254 10 cm x 9 cm; funil de metal; filtros.

##### 4.1.2.3.1 *Spray Dryer*

Foi utilizado um *spray dryer* (SD 05), modelo de bancada, fabricado pela LAB-PLANT, Reino Unido, cujo diagrama esquemático e foto encontram-se apresentados na Figura 3. A câmara de secagem possui diâmetro de 215 mm e altura de 500 mm. Os principais componentes do sistema são: sistema de alimentação de suspensão, que é composto por uma bomba peristáltica, e um atomizador de duplo fluido a ar comprimido; sistema de alimentação do ar de secagem, constituído por um compressor e filtro de ar; sistema de controle de temperatura do gás de secagem e sistema coletor do produto seco (ciclone).

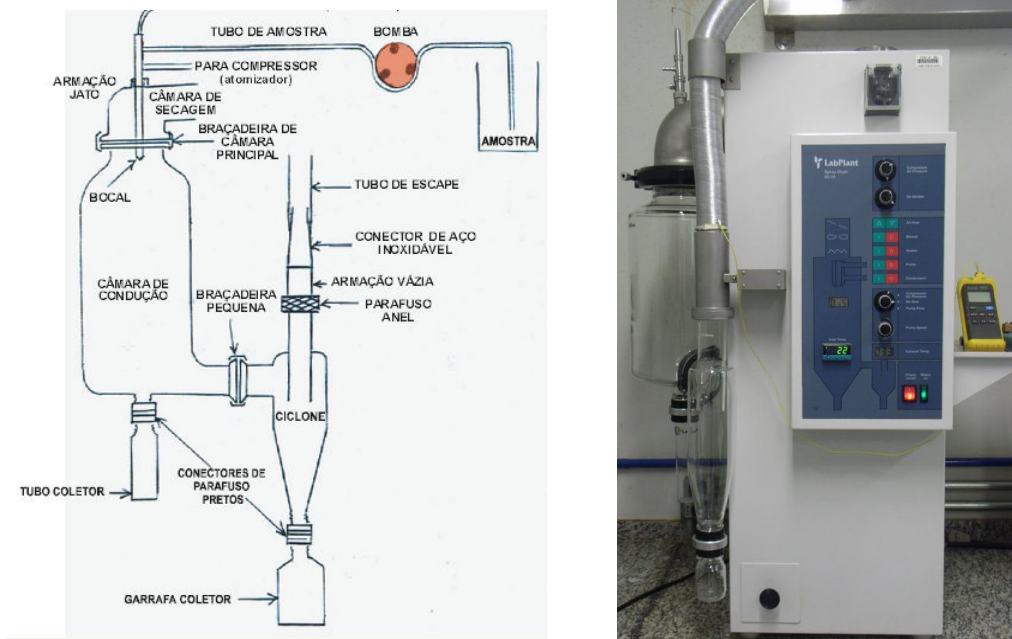


Figura 3: Diagrama esquemático e foto do *spray dryer* utilizado.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi adquirido junto à Associação dos Vendedores de Ervas do Mercado Ver-o-Peso (Ver-a-Erva), procedente da região metropolitana de Belém, distrito de Icoaraci, Estado do Pará, coletada no mês de março de 2010.

#### 4.2.1.1 Identificação botânica do material vegetal

A identificação da espécie foi realizada pelo Doutor Mário Augusto Gonçalves Jardim, botânico do Museu Paraense Emílio Goeldi e foi depositada em exsicata sob o nº MG: 132453.

#### 4.2.1.2 Processamento do material vegetal

O material vegetal foi primeiramente lavado em água corrente para a retirada de sujidades. Em seguida, foi ligeiramente lavado em solução etanol : água (70:30, v/v) para estabilizar o metabolismo vegetal. Após este procedimento, as folhas foram dispostas sobre bancadas, previamente limpas e sanitizadas, do laboratório de Processamento de Material Vegetal da Faculdade de Farmácia (UFPA), para a evaporação do álcool e da água presentes no material. Após aproximadamente 10 dias, o material foi levado à secagem em estufa de ar circulante a uma temperatura em torno de 40°C a 45°C, na Central de Extração da Faculdade de Química (UFPA). Este processo durou aproximadamente 4 dias, até peso constante, o qual foi aferido através de uma alíquota do material, que teve o seu peso monitorado. Finalmente, as folhas secas foram levadas ao moinho de facas e martelo para serem trituradas a pó fino.

#### 4.2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO PÓ DAS FOLHAS DE *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

##### 4.2.2.1 Determinação da distribuição granulométrica

Para a determinação da distribuição granulométrica do pó, foi pesado 5g do material vegetal, em triplicata, submetendo as amostras a um conjunto de tamises sobrepostos em ordem decrescente de tamanhos de malhas (1700, 710, 355, 250, 180 e 125  $\mu\text{m}$ ), durante 20 minutos, utilizando um agitador de peneiras eletromagnético. Realizou-se a quantificação percentual da fração retida em cada tamis, para posteriormente caracterizá-lo quanto à sua granulometria (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

##### 4.2.2.2 Determinação do teor de cinzas totais

Para a determinação da quantidade de substância residual não volátil, 3g do pó foram pesados, em triplicata, e transferidos para cadinhos de porcelana previamente calcinados, resfriados e pesados. As amostras foram levadas à mufla, durante 2 horas, a temperatura de aproximadamente 450°C. Após este período, as amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas. Repetiu-se este procedimento até peso constante. O teor de cinzas foi calculado em relação à droga seca (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

##### 4.2.2.3 Determinação da perda por dessecação

Amostras de 1 g do material vegetal foram exatamente pesadas e transferidas para pesa-filtros, previamente dessecados por 30 minutos, nas mesmas condições empregadas na determinação. As amostras foram levadas à estufa, por duas horas a 105°C. Após este período, foram resfriadas em dessecador e pesadas. Este procedimento foi feito até peso constante (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

Os resultados de três determinações foram avaliados em termos de porcentagem ponderal sobre a quantidade da amostra, conforme a Equação 1:

---

$$\% \text{ perda} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

$P_a$  = peso da amostra (g)

$P_u$  = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação(g)

$P_s$  = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação(g)

#### 4.2.2.4 Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho

Para a determinação do teor de umidade do material vegetal, exatamente 2g do material vegetal foi pesado e submetido à temperatura de 105°C em Analisador de umidade IV 2000 GEHAKA, durante 1 hora. Após o equipamento estar previamente tarado, fez-se a leitura da massa inicial, e leituras posteriores em intervalos de 1 hora até que a massa das amostras não variasse mais do que 0,25%. O resultado foi obtido pela média de três determinações e expressos em porcentagem (% p/p).

#### 4.2.2.5 Obtenção do perfil térmico por TG/DTG e DTA

As curvas TG/DTG e DTA, da droga vegetal foram obtidas em analisador térmico DTG-60, Shimadzu®, usando cadinho de platina com aproximadamente 5mg de amostras, sob atmosfera de nitrogênio e fluxo de 25 mL.min<sup>-1</sup>. Os experimentos foram conduzidos na faixa de temperatura de 25 a 600°C e razão de aquecimento de 5°C.min<sup>-1</sup>. Os dados foram analisados usando o software TA-60W da Shimadzu®.

#### 4.2.2.6 Obtenção do perfil espectroscópico na região do infravermelho (IV)

O pó das folhas de *A. chica* foi analisado e os espectros foram obtidos por meio de um aparelho de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de marca Shimadzu IRPrestige-21. As leituras foram realizadas na faixa de absorção de número de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. Quantidades apropriadas das amostras foram comprimidas com KBr.

#### 4.2.2.7 Controle de qualidade microbiológico

O controle de qualidade microbiológico do pó das folhas de *A. chica*, foi realizado conforme os ensaios para produtos não-estéreis (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010; PINTO, KANEKO, PINTO, 2010).

##### 4.2.2.7.1 *Contagem de microorganismos em meio sólido, com semeadura da amostra em superfície*

Para o preparo das amostras transferiu-se, assepticamente, 10 g do material vegetal para 90 ml de Caldo Caseína-Soja (1:10). Diluições seriadas foram realizadas utilizando-se o mesmo meio (1:100 e 1:1000). Pipetou-se 0,5 ml de cada diluição, em duplicata, para a superfície de placas com os meios Ágar Nutriente, contendo Anfotericina B, e Ágar Sabouraud-dextrose, contendo Cloranfenicol, para a pesquisa de bactérias e fungos totais, respectivamente. As placas com Ágar Nutriente foram incubadas a 35°C por um período de 24-72 horas, e as placas com Ágar Sabouraud-dextrose a 25°C por 5-7 dias. Após este período, efetuou-se a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) que tiveram crescimento visível.

##### 4.2.2.7.2 *Contagem de microorganismos através do número mais provável (NMP)*

Para o preparo das amostras transferiu-se, assepticamente, 10 g do material vegetal para 90 ml de Caldo Caseína-Soja (1:10). Diluições seriadas foram realizadas utilizando-se o mesmo meio (1:100 e 1:1000).

Os meios líquidos, Caldo Nutriente e o Caldo Sabouraud-dextrose, foram preparados e distribuídos em tubos de ensaio com 5 ml cada. Alíquotas de 500 µL de todas as diluições foram inoculadas nos mesmos, em triplicata. Os tubos com Caldo Nutriente foram incubados em estufa a 35°C por um período de 24-72 horas, e os tubos com Caldo Sabouraud-dextrose a 25°C por 5-7 dias. Os resultados fornecem o número mais provável de microorganismos/g ou ml, através do número de tubos positivos (turvação do meio) e negativos (ausência de turvação).

#### 4.2.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DA SOLUÇÃO EXTRATIVA (TINTURA) DE *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

##### 4.2.3.1 Obtenção da tintura

A tintura foi obtida pelo método da percolação (FARMACOPÉIA BRASILEIRA I, 1926), no qual 1 Kg do pó das folhas foi colocado em contato com solução etanol: água (70:30, v/v), na razão 1:10, totalizando 10L de tintura.

##### 4.2.3.2 Avaliação da eficiência da extração

A eficiência da extração foi monitorada pela análise do teor de sólidos da tintura. Foram retiradas amostras de 3g, em triplicata, de cada frasco obtido durante o processo extrativo e colocado à temperatura de 105°C, por 30 minutos, em balança com infravermelho (modelo IV 2000 GEHAKA).

##### 4.2.3.3 Determinação do teor de sólidos

Após a etapa anterior, o conteúdo dos frascos com a solução extrativa foi misturado e o teor de sólidos foi determinado através de método gravimétrico, utilizando-se balança com sistema de aquecimento por resistências (SARTORIUS - MA 35). Os resultados expressos em percentual ponderal representam a média de três determinações. Essa etapa é importante para o planejamento da secagem em *spray dryer*.

##### 4.2.3.4 Determinação do teor alcoólico

O teor alcoólico foi determinado pelo uso de um Alcoômetro Gay Lussac INCOTERM (SOUZA, 2007).

##### 4.2.3.5 Determinação do pH

A determinação do pH da tintura foi realizada em potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. O resultado corresponde à média de três determinações (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

#### 4.2.3.6 Determinação da densidade

Para a determinação da densidade aparente da tintura, utilizou-se o método do picnômetro. Um picnômetro, com capacidade de 25 ml foi previamente tarado, preenchido com água recém-destilada e fervida (líquido padrão) e pesado. Em seguida, o picnômetro foi preenchido com a amostra e pesado. O resultado foi calculado pelo quociente entre a massa da amostra e a massa do líquido padrão, em um volume fixo (ambos a 20°C), pela média de três determinações (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

#### 4.2.3.7 Avaliação do perfil reológico

A tintura foi avaliada quanto ao comportamento reológico em Viscosímetro DV-II, spindle DIN-85, e o experimento foi realizado à temperatura de 37°C. As leituras foram realizadas a velocidade crescente e decrescente numa faixa de 10 a 180 rpm para obtenção das curvas ascendentes e descendentes. As curvas de escoamento geradas, a partir dos dados experimentais, relacionam a velocidade *versus* tensão de cisalhamento e viscosidade aparente *versus* velocidade de cisalhamento.

#### 4.2.3.8 Prospecção química

O objetivo dessa etapa é analisar qualitativamente a tintura e identificar a presença de grupos de metabólitos secundários através de reações químicas específicas (BARBOSA, 2001). Para desenvolver essas metodologias obteve-se, primeiramente o extrato concentrado a partir da tintura, a qual foi colocada em balão de fundo redondo acoplado ao evaporador rotativo para concentrar, eliminando parte do solvente utilizado na extração. Em seguida, o extrato concentrado foi levado à estufa em temperatura média de 40°C até a total evaporação de resíduos de solvente.

#### Açúcares Redutores

Dissolveram-se 5 mg do extrato concentrado em 5 ml de água destilada e em seguida filtrou-se. Adicionou-se 2 mL do Reativo de Fehling A e 2 mL do Reativo de



Fehling B. Em seguida, foi aquecido em banho-maria em ebulição durante 5 minutos. O aparecimento de um precipitado vermelho tijolo indicou reação positiva.

### Alcalóides

Cinco miligramas do extrato concentrado foram dissolvidos em 5 mL de solução de HCl a 5%, filtrou-se e separou-se quatro porções de 1mL em tubos de ensaio e adicionou-se gotas dos reativos abaixo:

- Reativo de Bouchardat: precipitado laranja avermelhado indica reação positiva;
- Reativo de Dragendorff: precipitado vermelho tijolo indica reação positiva;
- Reativo de Mayer: precipitado branco indica reação positiva;
- Reativo de Bertrand: precipitado branco indica reação positiva;

### Antraquinonas

Cinco miligramas do extrato concentrado foram dissolvidos em 5 mL de tolueno, filtrou-se e adicionou-se 2 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 10% e agitou-se suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

### Esteróides e Triterpenóides

Cinco miligramas de extrato concentrado foram dissolvidos em 10 mL de clorofórmio. Filtrou-se sobre carvão ativado. O filtrado foi transferido para um tubo de ensaio completamente seco. Adicionou-se 1 mL de Anidrido Acético e agitou-se suavemente, em seguida adicionou-se cuidadosamente, 3 gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Tornou-se a agitar suavemente. Se for observado o rápido aparecimento de cores, que vão do azul evanescente ao verde persistente indicam resultado positivo.

### Fenóis e Taninos

Cinco miligramas de extrato concentrado foram dissolvidos em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionou-se 2 gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  a 1%.

Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + solução de  $\text{FeCl}_3$ ). Coloração inicial entre o azul e o vermelho, é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo. Precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (hidrolisáveis) e verde, presença de taninos catéquicos.

### Flavonóides

Geral:

Cinco miligramas de extrato concentrado foram dissolvidos em 10 mL de Metanol, filtrou-se e adicionou-se 5 gotas de HCl concentrado e raspas de Magnésio. O surgimento de coloração rósea na solução indica reação positiva.

Por classes:

a) Antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas e flavononóis:

Dissolveu-se 5 mg do extrato concentrado em 20 mL de água destilada. Transferiu-se para três tubos de ensaio, 3 mL da solução para cada tubo. Acidulou-se um a pH 3,0 e os dois restantes foram alcalinizados a pH 8,5 e 11.

- Antocianinas e antocianidinas: a reação será considerada positiva se em pH 3, pH 8,5 e pH 11, a coloração apresentada for vermelha, lilás e azul púrpura, respectivamente.

- Flavonas, flavonóis e xantonas: em pH 11 a coloração deverá apresentar-se amarela.

- Chalconas e auronas: em pH 3,0 e pH 11 a coloração deverá ser vermelho e vermelho púrpura, respectivamente.

- Flavononóis: a coloração deverá ser vermelho laranja em pH 11.

b) Leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas:

Em dois tubos adicionou-se 3 mL da solução preparada anteriormente, acidulou-se o primeiro com solução de HCl, a pH 1-3, e alcalinizou-se o outro a pH

11 com solução de NaOH. Os tubos foram aquecidos com o auxílio de uma lâmpada de álcool, durante 2 a 3 minutos. As modificações na coloração foram observadas comparando-se com os tubos utilizados no teste anterior.

- Leucoantocianidinas: em pH ácido a coloração fica vermelha.
- Catequinas (taninos catéquicos): em pH ácido a coloração fica pardo-amarela.
- Flavanonas: em pH alcalino a coloração fica vermelho - alaranjada.

c) Flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas:

Transferiu-se para um tubo de ensaio, 3 mL da mesma solução extrativa usada no teste anterior e acrescentou-se raspas de Magnésio e 0,5 ml de HCl concentrado. Aguardou-se até o término da efervescência e observou-se por comparação a mudança de coloração em relação aos tubos acidificados dos testes anteriores. O aparecimento ou intensificação da coloração vermelha indica reação positiva.

#### Saponina espumídica

Cinco miligramas do extrato concentrado foram dissolvidos em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 minutos em tubo fechado. A camada de espuma permanecendo estável por mais de meia hora, considera-se o resultado positivo.

#### 4.2.3.9 Determinação dos flavonoides totais

O teor de flavonoides totais na solução extrativa (tintura) foi determinado segundo metodologia descrita e validada por Souza (2007), utilizando-se solução de  $\text{AlCl}_3$  a 0,5% (p/v) como reagente de deslocamento batocrômico. Para a quantificação dos flavonóides totais foram pesadas amostras de 500 mg (em base de teor de sólidos) as quais foram diluídas em solução etanol : água (40:30, v/v) em balão volumétrico de 100 mL (solução mãe). Em outro balão volumétrico de 100 mL foi adicionado 10 mL da solução mãe, filtrada, e o volume completado com solução etanol : água (40:30, v/v). Para o preparo do branco, 10 mL da solução anterior (segunda diluição) foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e o volume

completado com solução etanol : água (40:30, v/v). Para o preparo das amostras, transferiu-se 10 mL da solução (segunda diluição) para balão volumétrico de 25 mL e acrescentou-se 2 mL de solução de  $\text{AlCl}_3$  0,5% (p/v), posteriormente o volume foi completado com solução etanol : água (40:30, v/v). Essa etapa foi realizada em triplicata. Após 30 minutos de reação a absorvância foi medida em espectrofotômetro UV-Vis HP 8453, operando o *software* HP *Chem-Station* em comprimento de onda de 425 nm.

#### 4.2.3.10 Determinação dos polifenóis totais

O teor de polifenóis totais na solução extrativa (tintura) foi determinado empregando o método de Folin-Denis que consiste na redução do ácido fosfomolibídico- fosfotungico pelos compostos fenólicos em meio básico produzindo uma coloração azul intensa a qual é mensurada por espectrofotometria de UV, em comprimento de onda de 750 nm (BOTT, 2008). As amostras foram preparadas pesando-se 100 mg (base em teor de sólidos) e solubilizando em água destilada em balão volumétrico de 100 mL. Filtrou-se e transferiu-se 5 mL para um balão volumétrico de 25 mL, completando o mesmo com água destilada. Em tubos de ensaio, foi adicionado 2 mL do reagente Folin-Denis, 2 mL da amostra filtrada e 16 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Os tubos foram agitados e após 2 minutos de reação foi medida a absorvância em comprimento de onda de 750 nm, utilizando-se a água destilada como branco. As análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.2.3.11 Determinação dos taninos totais

O teor de taninos totais na solução extrativa (tintura) foi determinado empregando o método de Folin-Denis através da determinação relativa entre o teor de polifenóis nas amostras antes e após reação de precipitação dos taninos com a caseína (BOTT, 2008). As amostras foram preparadas pesando-se 100 mg (base em teor de sólidos) e solubilizando em água destilada em balão volumétrico de 100 mL. Filtrou-se e transferiu-se 20 mL para um Becker, ao qual adicionou-se 0,3 g de caseína. Essa mistura foi colocada sob agitação durante 60 minutos e em seguida filtrada. Transferiu-se 5 mL dessa solução filtrada a um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com água destilada. Em tubos de ensaio, foi adicionado 2

mL do reagente Folin-Denis, 2 mL da amostra filtrada e 16 mL de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Os tubos foram agitados e após 2 minutos de reação foi medida a absorbância em comprimento de onda de 750 nm, utilizando-se a água destilada como branco. As análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.2.3.12 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A tintura foi avaliada quanto ao perfil cromatográfico em CCD como controle qualitativo visando verificar a presença de compostos marcadores por meio de padrões presentes na espécie vegetal (luteolina e canferol).

Foi desenvolvida em placa CCD de sílica gel 60 F254 10 cm x 9 cm, na qual foram aplicados 3  $\mu\text{L}$  da amostra e dos padrões luteolina e canferol. Os padrões foram solubilizados em metanol na concentração de 0,05 mg/mL. O sistema eluente utilizado foi acetato de etila : acetona : diclorometano : ácido fórmico (7:6:6:1). As placas cromatográficas foram reveladas com NP-PEG e levadas ao UV para análise (NASCIMENTO et al., 2011).

#### 4.2.3.13 Controle de qualidade microbiológico

O controle de qualidade microbiológico da tintura de *A. chica* foi realizado conforme os ensaios para produtos não-estéreis (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010; PINTO, KANEKO, PINTO, 2010).

##### 4.2.3.13.1 *Contagem de microorganismos em meio sólido, com semeadura da amostra em superfície*

Para o preparo das amostras transferiu-se, assepticamente, 10 ml do material vegetal para 90 ml de Caldo Caseína-Soja (1:10). Diluições seriadas foram realizadas utilizando-se o mesmo meio (1:100 e 1:1000). Pipetou-se 0,5 ml de cada diluição, em duplicata, para a superfície de placas com os meios Ágar Nutriente, contendo Anfotericina B, e Ágar Sabouraud-dextrose, contendo Cloranfenicol, para a pesquisa de bactérias e fungos totais, respectivamente. As placas com Ágar Nutriente foram incubadas a 35°C por um período de 24-72 horas, e as placas com

Ágar Sabouraud-dextrose a 25°C por 5-7 dias. Após este período, efetuou-se a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) que tiveram crescimento visível.

#### 4.2.3.13.2 Contagem de microorganismos através do número mais provável (NMP)

Para o preparo das amostras transferiu-se, assepticamente, 10 ml do material vegetal para 90 ml de Caldo Caseína-Soja (1:10). Diluições seriadas foram realizadas utilizando-se o mesmo meio (1:100 e 1:1000).

Os meios líquidos, Caldo Nutriente e o Caldo Sabouraud-dextrose, foram preparados e distribuídos em tubos de ensaio com 5 ml cada. Alíquotas de 500 µL de todas as diluições foram inoculadas nos mesmos, em triplicata. Os tubos com Caldo Nutriente foram incubados em estufa a 35°C por um período de 24-72 horas, e os tubos com Caldo Sabouraud-dextrose a 25°C por 5-7 dias. Os resultados fornecem o número mais provável de microorganismos/ g ou ml, através do número de tubos positivos (turbacão do meio) e negativos (ausência de turbacão).

#### 4.2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA TINTURA DE *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

A atividade antioxidante da tintura foi avaliada através de dois métodos: capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH. e através da atividade antioxidante pelo sistema xantina/ XOD/ luminol. As metodologias utilizadas estão descritas a seguir.

##### 4.2.4.1 Avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH.

Para avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) pela tintura de *A. chica*, foram feitas diluições seriadas em álcool etílico absoluto e foi construída uma curva dose/ resposta com essas diluições. Em seguida, em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de tampão acetato (0,1M) pH 5,5, 1 mL de álcool etílico absoluto, 10 µL de amostra e 500 µL de solução

metanólica do radical DPPH (250  $\mu$ M). Para o preparo do branco foram adicionados 1.5 mL de álcool etílico absoluto e 1 mL de tampão e para o controle positivo, 1 mL de álcool etílico absoluto, 1 mL de tampão e 500  $\mu$ L de solução metanólica do radical DPPH (250  $\mu$ M). Após 20 minutos a absorbância foi medida em espectrofotômetro ( $\lambda = 517$  nm) e a porcentagem de atividade antiradical calculada (GEORGETTI, 2004).

As medidas da atividade sequestradora do radical DPPH foram expressas por IC<sub>50</sub>. Os valores do IC<sub>50</sub> representam a concentração de extrato na qual se obtém 50 % da inibição máxima teórica de 100 %.

Os resultados foram expressos pela média, mais desvio padrão e analisados como auxílio do *software* Prisma<sup>®</sup> versão 4.0 (GraphPad).

#### 4.2.4.2 Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/ XOD/ luminol

Este método foi usado para avaliar a atividade sequestradora de radical superóxido pela espécie *A. chica*. Nesse sistema, a reação xantina/ xantina oxidase, produz o radical superóxido que por sua vez oxida o luminol. A oxidação do luminol emite luz que é detectada por luminômetro, sendo que o sequestro do radical superóxido leva a diminuição desta quimioluminescência.

As amostras de tintura foram preparadas diluindo previamente em solução etanol : água (50:50, v/v) na concentração de 10  $\mu$ L/ mL e posteriormente foram preparadas diluições seriadas em solução tampão glicina (0,1 M), pH 9.4.

Em tubos de ensaio foi pipetado 400  $\mu$ L de solução tampão glicina (0,1 M)- EDTA (1 mM), pH 9.4. Em seguida, foram adicionados 150  $\mu$ L de xantina (6 mM), 10  $\mu$ L da tintura de *A. chica* e 10  $\mu$ L de solução de luminol (0,6 mM). A reação foi iniciada com a adição de 100  $\mu$ L de solução recém- preparada de xantina oxidase- XOD (20 mU/ mL) (mantida resfriada no gelo). A medida da atividade sequestradora foi realizada durante 5 minutos a 25 °C em luminômetro Autolumat LB 953 (HIRAYAMA, et al., 1997; PASCUAL; GONZÁLEZ; TORRICELLA, 1994; OLIVEIRA, 2007).

#### 4.2.5 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO CONCENTRADO (EC) DE *A. chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

##### 4.2.5.1 Obtenção do extrato concentrado (EC)

Nessa etapa, a tintura foi concentrada em evaporador rotativo para aumentar o teor de sólidos e melhorar o rendimento do processo de secagem por *spray dryer*. O EC foi avaliado quanto aos parâmetros físico-químicos, entre os quais, teor de sólidos, teor alcoólico, pH, densidade aparente, flavonoides totais, polifenóis totais e taninos totais. A atividade antioxidante do EC também foi determinada por medição da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH. e através do sistema xantina/ XOD/ luminol.

##### 4.2.5.2 Determinação do teor de sólidos

O teor de sólidos do EC foi determinado através de método gravimétrico, utilizando-se balança com sistema de aquecimento por resistências (SARTORIUS - MA 35). Os resultados expressos em percentual ponderal representam a média de três determinações.

##### 4.2.5.3 Determinação do teor alcoólico

O teor alcoólico do EC foi determinado pelo uso de um Alcoômetro Gay Lussac INCOTERM (SOUZA, 2007).

##### 4.2.5.4 Determinação do pH

A determinação do pH do EC foi realizada em potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. O resultado corresponde à média de três determinações (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).



#### 4.2.5.5 Determinação da densidade

Para a determinação da densidade aparente do EC, utilizou-se o método do picnômetro. Um picnômetro, com capacidade de 25 ml foi previamente tarado, preenchido com água recém-destilada e fervida (líquido padrão) e pesado. Em seguida, o picnômetro foi preenchido com a amostra e pesado. O resultado foi calculado pelo quociente entre a massa da amostra e a massa do líquido padrão, em um volume fixo (ambos a 20°C), pela média de três determinações (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

#### 4.2.5.6 Determinação dos flavonoides totais

O teor de flavonoides totais no EC foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.9, utilizando uma amostra de extrato equivalente a 500 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.5.7 Determinação dos polifenóis totais

O teor de polifenóis totais no EC foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.10, utilizando uma amostra de extrato equivalente a 100 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.5.8 Determinação dos taninos totais

O teor de taninos totais no EC foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.11, utilizando uma amostra de extrato equivalente a 100 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.5.9 Cromatografia em camada delgada (CCD)

O EC foi avaliado quanto ao perfil cromatográfico em CCD como controle qualitativo visando verificar a presença de compostos marcadores por meio de padrões presentes na espécie vegetal (luteolina e canferol).

O perfil cromatográfico por CCD foi determinado conforme metodologia descrita na seção 4.2.3.12 (NASCIMENTO et al., 2011).

#### 4.2.5.10 Avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH.

Para avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) pelo EC de *A. chica*, foram feitas diluições seriadas em álcool etílico absoluto e foi construída uma curva dose/resposta com essas diluições. Para essa determinação foi usada a metodologia descrita na seção 4.2.4.1 (GEORGETTI, 2004).

#### 4.2.5.11 Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/ XOD/ luminol

Este método foi usado para avaliar a atividade sequestradora de radical superóxido pelo EC de *A. chica*. Neste sistema, a reação xantina/xantina oxidase, produz o radical superóxido que por sua vez oxida o luminol. A oxidação do luminol emite luz que é detectada por luminômetro, sendo que o sequestro do radical superóxido leva a diminuição desta quimioluminescência. A metodologia seguiu conforme descrito na seção 4.2.4.2 (HIRAYAMA, et al., 1997; PASCUAL; GONZÁLEZ; TORRICELLA, 1994; OLIVEIRA, 2007).

### 4.2.6 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS EXTRATOS SECOS DE *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl. OBTIDAS POR SPRAY DRYER

#### 4.2.6.1 Obtenção dos extratos secos (ES)

Para a obtenção dos ES foram utilizados como adjuvantes tecnológicos a maltodextrina (MOR REX 1910, Corn Products Brasil) e a goma arábica (Instantgum BB, Colloides Naturels Brasil). Os adjuvantes foram primeiramente solubilizados em água e posteriormente adicionados ao extrato concentrado (EC) de *A. chica* sob agitação por 30 minutos. A secagem foi realizada em *spray dryer* (LabPlant SD-05). Foram usadas diferentes concentrações dos adjuvantes para o preparo de quatro extratos secos cuja fórmula está demonstrada na Tabela 1. As formulações de

secagem e seus respectivos produtos secos foram denominados de: ES1, ES2, ES3 e ES4.

Tabela 1: Composição percentual das formulações de secagem e extratos secos de *A. chica*.

Amostra	Formulação para secagem (% base seca)		
	Extrato Concentrado	Goma Arábica	Maltodextrina
ES1	25	-	75
ES2	25	50	25
ES3	25	75	-
ES4	25	25	50

Os parâmetros operacionais foram fixados em: Temperatura do ar de secagem,  $T_{ge} = 100 \text{ }^\circ\text{C}$ , vazão de alimentação do extrato,  $W_{susp} = 4 \text{ g/min}$ , pressão do ar de atomização,  $P_{atm} = 1,5 \text{ bar}$ , vazão do ar de atomização,  $W_{atm} = 20 \text{ lpm}$ , e vazão do ar de secagem de  $60 \text{ m}^3/\text{h}$ .

O extrato concentrado (EC) foi mantido sob agitação durante todo o processo de secagem para garantir a homogeneidade dos produtos secos. Os extratos secos obtidos foram armazenados em frascos âmbar herméticos e em dessecador.

#### 4.2.6.2 Avaliação do desempenho do *spray dryer*

O desempenho do *spray dryer* foi medido pela recuperação do produto (Rec) calculada por balanço de massa (SOUZA, 2003) e pelo cálculo da eficiência térmica do secador (GOULA; ADAMOPOULOS, 2003) determinada como sendo a fração de calor usada na evaporação em relação ao calor total fornecido ao sistema e expresso em porcentagem ponderal, utilizando a Equação 2:

$$\eta = \frac{(T_{ge} - T_{gs})}{(T_{ge} - T_{amb})} \cdot 100 \quad \text{Equação (2)}$$

onde:

$T_{ge}$ ,  $T_{gs}$  = temperatura do ar de secagem na entrada e na saída ( $^{\circ}\text{C}$ ) e,  
 $T_{amb}$  = temperatura ambiente ( $^{\circ}\text{C}$ ).

#### 4.2.6.3 Caracterização físico-química dos extratos secos (ES) obtidos por *spray dryer*

Os ES obtidos foram caracterizados quanto à umidade residual, atividade de água, teor de flavonoides totais, polifenóis totais e taninos totais e distribuição granulométrica. Os ES foram avaliados quanto ao perfil cromatográfico em CCD como controle qualitativo visando verificar a presença de compostos marcadores por meio de padrões presentes na espécie vegetal (luteolina e canferol). As micropartículas também foram submetidas a ensaios de fluidez e acomodamento do pó (ângulo de repouso, densidade bruta, densidade de compactação, índice de Carr e fator de Hausner) e análise morfológica e de superfície das micropartículas geradas. A atividade antioxidante dos extratos secos foi determinada pela avaliação da capacidade doadora de  $\text{H}^+$  ao radical DPPH. (GEORGETTI, 2004) e pelo sistema xantina/ XOD/ luminol (HIRAYAMA, et al., 1997; PASCUAL; OLIVEIRA, 2007). As metodologias utilizadas para as caracterizações físicas e químicas das micropartículas estão apresentadas a seguir.

##### 4.2.6.3.1 Determinação de umidade pelo método de Karl Fischer (Ukf)

A determinação da umidade dos ES de *A. chica* foi feita por titulação, utilizando o aparelho de Karl Fischer (Titrimo plus 870 da Methron). As análises foram realizadas em triplicata.

##### 4.2.6.3.2 Atividade de água ( $A_w$ )

A atividade de água foi determinada em um analisador de atividade de água Aqua Lab 4TEV- Decagon Devices. A atividade de água ( $A_w$ ) é a medida da disponibilidade de água ativa em um produto, sendo determinada de acordo com a

Equação 3:

$$A_w = \frac{\% \text{ umidade relativa}}{100} \quad \text{Equação (3)}$$

#### 4.2.6.3.3 *Determinação do teor de flavonoides totais*

O teor de flavonoides totais nos ES foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.9, utilizando uma amostra equivalente a 500 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.6.3.4 *Determinação do teor de polifenóis totais*

O teor de polifenóis totais nos ES foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.10, utilizando uma amostra equivalente a 100 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.6.3.5 *Determinação do teor de taninos totais*

O teor de taninos totais nos ES foi determinado segundo metodologia descrita na seção 4.2.3.11, utilizando uma amostra equivalente a 100 mg de sólidos em base de extrato.

#### 4.2.6.3.6 *Cromatografia em camada delgada (CCD)*

Os extratos secos foram primeiramente solubilizados em metanol, na concentração de 160 mg/mL. A metodologia seguiu conforme descrita na seção 4.2.3.12 (NASCIMENTO et al., 2011).

#### 4.2.6.3.7 *Determinação da distribuição granulométrica*

A distribuição granulométrica dos ES foi determinada dispersando-se uma quantidade de pó sobre uma lâmina de vidro e obtendo-se imagens com a ajuda de

um microscópio óptico (Olympus – modelo BX60MIV), segundo metodologia descrita em Souza (2007). As fotos obtidas foram analisadas por um sistema de análise de Imagens (IMAGE PRO-PLUS, 1999).

#### 4.2.6.3.8 Determinação do ângulo de repouso ( $A_r$ )

A determinação do ângulo de repouso estático foi realizada conforme método proposto por Prista *et al.* (1995). Para essa determinação, cinco gramas da amostra foram colocadas em funil de alumínio e depois, deixou-se cair sobre uma folha de papel. A altura e o diâmetro do cone formado foram medidos, com o auxílio de um paquímetro sendo calculado o valor médio de três determinações. O ângulo de repouso ( $\alpha$ ) foi determinado pela sua tangente, conforme a Equação 4:

$$\operatorname{tg}\alpha = \frac{h}{r} \quad \text{Equação (4)}$$

onde:

$\alpha$  = ângulo de repouso ( $^\circ$ ),  $\operatorname{tg} \alpha$  = quociente entre os catetos oposto (h) e adjacente (r) do triângulo;

#### 4.2.6.3.9 Densidade bruta ( $\rho_b$ ) e de compactação ( $\rho_c$ )

Dez gramas dos extratos secos foram pesados, separadamente, e transferidos para proveta de 50 ml para medida do volume ocupado pelo pó e determinação de sua densidade bruta. O pó contido na proveta foi submetido a 1250 quedas. O ensaio foi repetido até que a diferença entre duas leituras subsequentes fosse inferior a 2 ml (PRISTA *et al.*, 1995). As densidades, bruta e de compactação, foram determinadas em triplicata.

#### 4.2.6.3.10 Determinação do Fator de Hausner (FH)

O fator de Hausner (FH) foi determinado através do quociente entre as densidades de compactação e bruta dos extratos secos, conforme Equação 5 (PRISTA *et al.*, 1995):

---

$$FH = \frac{\rho_c}{\rho_b} \quad \text{Equação (5)}$$

onde:

$\rho_c$  = densidade de compactação (g/mL) e  $\rho_b$  = densidade bruta (g/mL).

#### 4.2.6.3.11 Determinação do índice de compressibilidade (IC)

O índice de compressibilidade (IC) dos extratos secos foi determinado segundo (PRISTA et al., 1995):

$$IC = \frac{\rho_c - \rho_b}{\rho_c} \cdot 100 \quad \text{Equação (6)}$$

onde:

$\rho_c$  = densidade de compactação (g/mL) e  $\rho_b$  = densidade bruta (g/mL).

#### 4.2.6.3.12 Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Análises da forma e das características superficiais dos ES foram realizadas empregando-se microscópio eletrônico de varredura (Zeiss mod. EVO50), com atmosfera de vácuo de  $10^{-5}$  torr. Inicialmente as amostras foram metalizadas através de pulverização com ouro. Em seguida, foram colocadas sobre um porta-amostras de alumínio, presas por fita dupla face a base de carbono, da marca Nisshin. Posteriormente, foram introduzidas no Sputer coater Bal-Tech, modelo SCD 050 para recobrimento com ouro (120 segundos, vácuo  $2 \cdot 10^{-2}$  mbar, corrente 40 mA). Todas as imagens foram geradas no modo topográfico a 20 kV (detector de elétrons secundário).

#### 4.2.6.3.13 *Obtenção do perfil térmico por TG/DTG e DTA dos adjuvantes e extratos secos de A. chica*

As curvas TG/DTG e DTA, dos adjuvantes goma arábica e maltodextrina e dos extratos secos de *A. chica*, foram obtidas conforme metodologia descrita na seção 4.2.2.5.

#### 4.2.6.3.14 *Obtenção do perfil espectroscópico na região do infravermelho (IV)*

O perfil espectroscópico foi obtido conforme metodologia descrita na seção 4.2.2.6.

#### 4.2.6.3.15 *Avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH*

Para avaliação da capacidade doadora de H<sup>+</sup> ao radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) pelos ES de *A. chica*, os mesmos foram diluídos em álcool etílico absoluto na concentração de 160 µg/ mL. Em seguida, foram feitas novas diluições seriadas com o mesmo solvente. Construiu-se uma curva dose/resposta com essas diluições. A metodologia empregada nas análises está descrita na seção 4.2.4.1.

#### 4.2.6.3.16 *Avaliação da atividade antioxidante pelo sistema xantina/ XOD/ luminol*

Este método foi usado para avaliar a atividade sequestradora de radical superóxido pelos ES de *A. chica*. Neste sistema, a reação xantina/ xantina oxidase, produz o radical superóxido que por sua vez oxida o luminol. A oxidação do luminol emite luz que é detectada por luminômetro, sendo que o sequestro do radical superóxido leva a diminuição desta quimioluminescência.

Para isso, foram preparadas amostras dos ES, diluindo-se em solução tampão glicina (0,1 M) pH 9,4, na concentração de 2 mg/mL (solução mãe). Diluições subsequentes foram preparadas a partir da solução mãe.

A metodologia empregada nas análises está descrita na seção 4.2. 4. 2.



#### 4.2.6.3.17 Análise colorimétrica

Para a realização da análise colorimétrica dos ES de *A. chica*, as amostras diluídas em solução etanol : água (40:30, v/v) foram submetidas à leitura em colorímetro Colorquest XE (HunterLab, Reston Virginia, EUA) em modo transmitância (TTRAN), com um ângulo de  $10^\circ$  e iluminante D65, obtendo-se desta maneira os valores de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (índice de saturação vermelho) e  $b^*$  (índice de saturação amarelo) conforme descrito em Zampiér (2012). A Figura 4 apresenta um digrama de cores do sistema CIELAB.

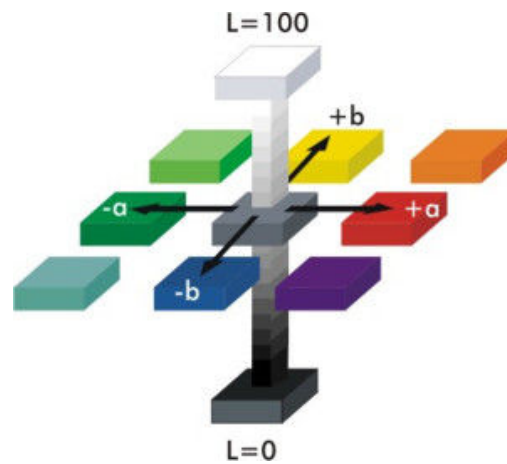


Figura 4: Diagrama de cores do sistema CIELAB.

## 5. Resultados

---

## 5 RESULTADOS

Neste item são apresentados todos os resultados experimentais obtidos durante o desenvolvimento do trabalho.

### 5.1 Caracterização física e físico-química do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

#### 5.1.1 DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA

Na determinação da distribuição granulométrica observou-se que as partículas do pó da *A. chica*, passaram em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha 1700  $\mu\text{m}$  e aproximadamente 40% pelo tamis com abertura nominal de malha 355  $\mu\text{m}$ . De acordo com a Farmacopéia Brasileira V (2010), o material vegetal foi classificado como pó grosso. A Figura 5 apresenta o perfil de distribuição granulométrica de partículas.

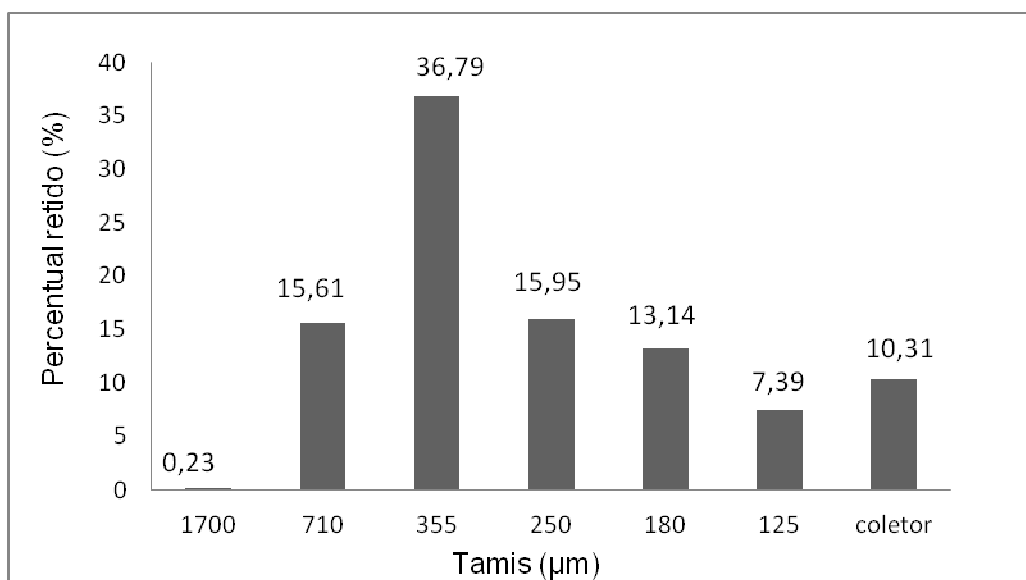


Figura 5: Distribuição granulométrica do pó das folhas de *A. chica*.

### 5.1.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS TOTAIS, PERDA POR DESSECAÇÃO EM ESTUFA E TEOR DE UMIDADE EM BALANÇA COM INFRAVERMELHO

O teor de cinzas totais mede o grau de impurezas presentes na droga vegetal e fornece informações relacionadas ao cultivo, coleta e adulterações do material vegetal, como restos de talo, caule e outras partes da planta. A perda por dessecação de matérias-primas com baixo conteúdo de voláteis, por sua vez, nos dá informações indiretas a respeito da umidade residual de drogas vegetais. A análise da umidade por gravimetria em balança com infravermelho foi executada como parâmetro de comparação com o método em estufa, por tratar-se de um método simples e rápido em relação ao método clássico em estufa. Os resultados dessas análises são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Determinação do teor de cinzas totais, perda por dessecação em estufa e perda por em balança com infravermelho do pó das folhas de *A. chica*.

Testes	$\eta$	X ( % ) $\pm$ DP
Teor de cinzas totais	3	9,4 $\pm$ 0,179
Perda por dessecação em estufa	3	9,7 $\pm$ 0,288
Perda por dessecação em balança com IV	3	9,86 $\pm$ 1,011

$\eta$ : n° de amostras/ X: média dos resultados independentes/ DP: desvio padrão

### 5.1.3 OBTENÇÃO DO PERFIL TÉRMICO TG/DTG E DTA

A Figura 6 mostra os eventos térmicos do pó das folhas da *A. chica*. Através da curva TG verifica-se que a perda de massa ocorreu em três eventos. A curva DTA mostra três reações endotérmicas. Os eventos de perda de massa são evidenciados pela curva DTG, onde no intervalo de 41-85°C, ocorreu uma perda de massa de 8%. O segundo evento é onde se destaca a maior perda de massa (51%), evidenciada pelo pico da DTG no intervalo 265-350°C. A terceira etapa de

degradação ocorreu entre 442-556°C até a formação de resíduos não degradáveis. A perda de massa observada nesse intervalo é de 30%.

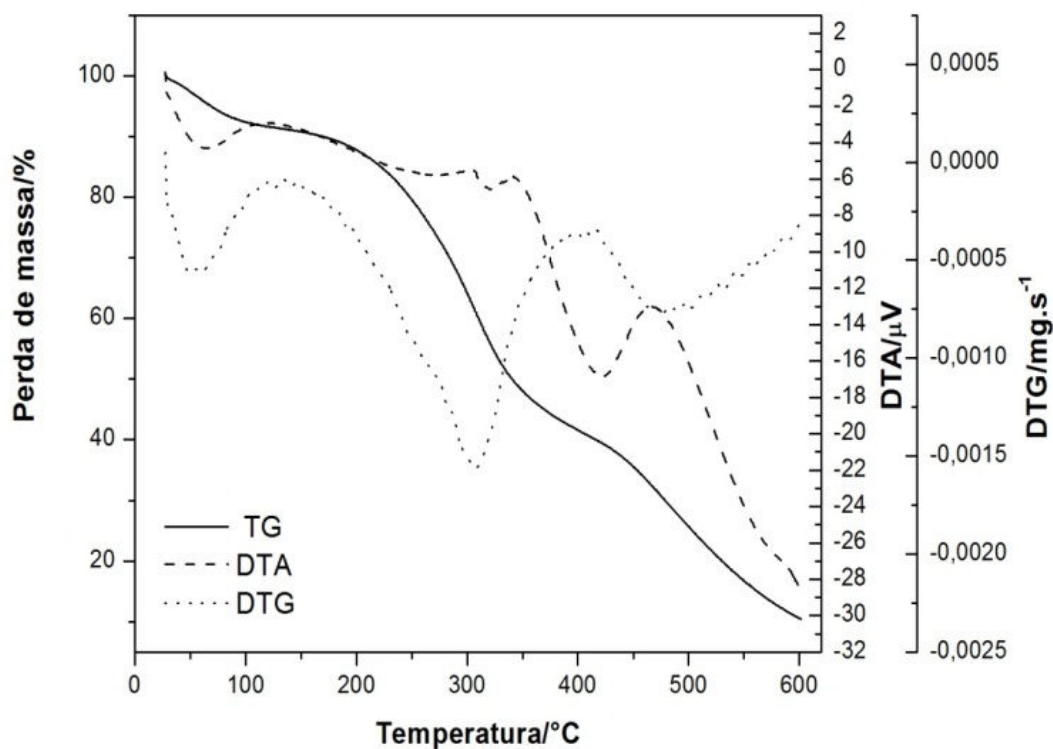


Figura 6: Curva TG/DTG e DTA do pó das folhas de *A. chica*.

#### 5.1.4. OBTENÇÃO DO PERFIL ESPECTROSCÓPICO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

Os resultados para essa análise são mostrados na seção 5.5.3, Figura 24, e Tabela 14, onde se compara os perfis espectroscópicos na região do infravermelho da droga vegetal e do extrato seco ES4.

## 5.2 Obtenção e caracterização físico-química da tintura e extrato concentrado (EC) de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

A obtenção da solução extrativa (tintura) foi feita conforme descrito na seção 4.2.3.1. A eficiência da extração foi analisada através do teor de sólidos em balança com infravermelho e os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Determinação do resíduo seco da tintura de *A. chica* durante o processo extrativo por percolação.

Frascos	$\eta$	X (%) $\pm$ DP
Frasco 01	3	3,53 $\pm$ 0,351
Frasco 02	3	2,70 $\pm$ 0,346
Frasco 03	3	1,36 $\pm$ 0,152
Frasco 04	3	1,03 $\pm$ 0,251
Frasco 05	3	0,73 $\pm$ 0,152
Frasco 06	3	0,56 $\pm$ 0,057
Frasco 07	3	0,26 $\pm$ 0,288
Frasco 08	3	0,20 $\pm$ 0,264
Frasco 09	3	0,00 $\pm$ 0,000
Frasco 10	3	0,00 $\pm$ 0,000

$\eta$ : n° de amostras/ X: média dos resultados independentes/ DP: desvio padrão

Após análise da eficiência da extração, os frascos foram misturados obtendo uma única tintura, a qual foi concentrada em evaporador rotativo, onde o produto foi denominado extrato concentrado (EC). Essa etapa teve como objetivo, elevar o teor de sólidos da tintura para melhorar o rendimento do processo de secagem em *spray dryer*.

A tintura e o EC foram caracterizados quanto ao teor de sólidos, teor alcoólico, pH e densidade aparente (Tabela 4). Foram determinados os teores de flavonoides totais, polifenóis totais e taninos totais, como monitoramento químico para a avaliação das perdas desses compostos na etapa de concentração.

Avaliou-se o perfil reológico e a prospecção química da tintura, através da qual, foi verificada a presença das principais classes de compostos bioativos.

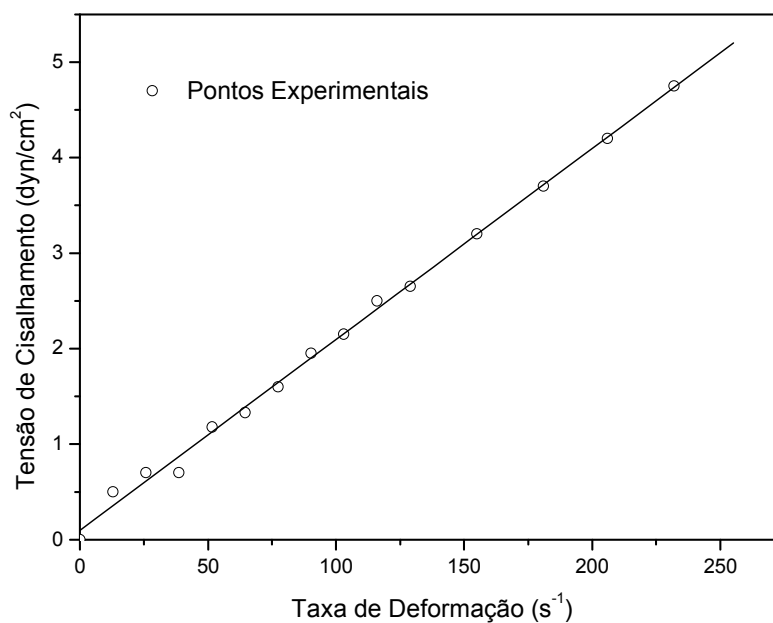
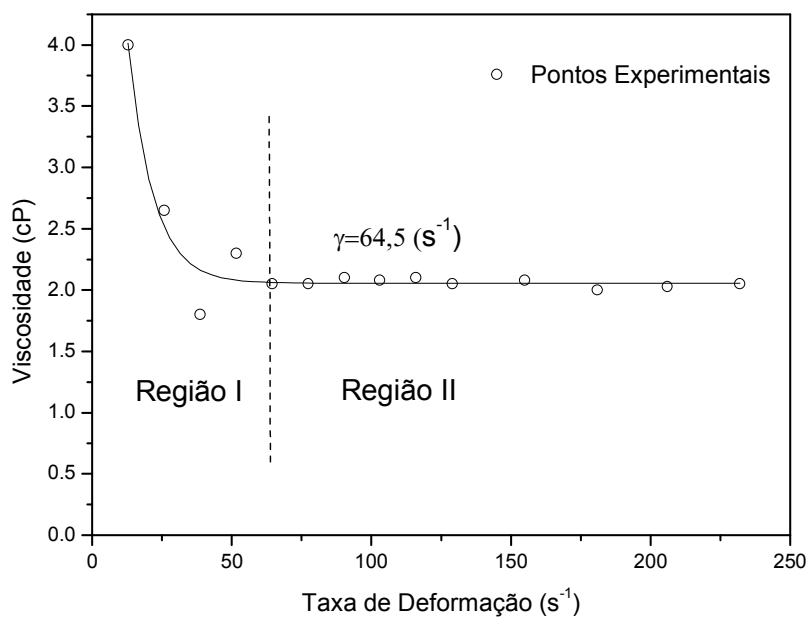
Tabela 4: Determinação do pH, densidade aparente, teor de sólidos e teor alcoólico da tintura e do extrato concentrado (EC) de *A. chica*.

	<b>Ensaio</b>	<b><math>\eta</math></b>	<b>X (%) <math>\pm</math> DP</b>
Tintura	pH ( - )	3	5,89 $\pm$ 0,04
	Densidade aparente ( g/cm <sup>3</sup> )	3	0,89 $\pm$ 0,00
	Teor de sólidos ( % )	3	1,78 $\pm$ 0,38
	Teor alcoólico ( ° GL )	3	70 $\pm$ 0,01
Extrato concentrado	pH ( - )	3	5,74 $\pm$ 0,05
	Densidade aparente ( g/cm <sup>3</sup> )	3	0,91 $\pm$ 0,01
	Teor de sólidos ( % )	3	3,94 $\pm$ 0,09
	Teor alcoólico ( ° GL )	3	49 $\pm$ 0,01

D: n° de amostras/ X: média dos resultados independentes/ DP: desvio padrão

### 5.2.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL REOLÓGICO DA TINTURA

De acordo o perfil reológico (Figura 7) e das características de viscosidade (Figura 8) a tintura apresenta comportamento de fluido Newtoniano, pois a viscosidade permaneceu constante independente da taxa de deformação aplicada.

Figura 7: Perfil reológico da tintura de *A. chica*.Figura 8: Características de viscosidade da tintura de *A. chica*.

### 5.2.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DA TINTURA DE *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

O perfil químico indicou a presença das seguintes classes químicas: açúcares redutores, alcalóides, antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, esteróides e



triterpenóides, fenóis, flavanonas, flavanonóis, flavonóis, saponinas e taninos catéquicos (Tabela 5).

Tabela 5: Prospecção fitoquímica da tintura de *A. chica*.

<b>Metabólitos Secundários</b>	<b>Resultado</b>
Açúcares Redutores	+
Alcalóides	+
Antocianidinas	+
Antocianinas	+
Antraquinonas	+
Esteróides e Triterpenóides	+
Fenóis	+
Flavanonas	+
Flavanonóis	+
Flavonóis	+
Saponinas	+
Taninos Catéquicos	+

### 5.2.3 DETERMINAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS, POLIFENOIS TOTAIS E TANINOS TOTAIS NA TINTURA E EXTRATO CONCENTRADO (EC)

A tintura e o EC de *A. chica* foram analisados quimicamente através da determinação dos teores de flavonoides totais (Ft), polifenois totais (Pt) e taninos totais (Tt) utilizando-se as metodologias descritas nas seções 4.2.3.9 a 4.2.3.11. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos (resultados expressos em base de sólidos).

Tabela 6: Determinação dos teores de flavonoides totais (Ft), polifenóis totais (Pt) e taninos totais (Tt) para a tintura e extrato concentrado (EC) de *A. chica*.

<b>Amostras</b>	<b>Ft ( % mg/g<sub>ext</sub> )</b>	<b>Pt ( % mg/g<sub>ext</sub> )</b>	<b>Tt ( % mg/g<sub>ext</sub> )</b>
Tintura	5,16 ± 0,08	22,11 ± 0,18	13,40 ± 0,37
EC	2,55 ± 0,07	15,21 ± 0,19	7,70 ± 0,22

### 5.3. Controle de qualidade microbiológico do pó das folhas e da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

#### 5.3.1 CONTAGEM DE MICROORGANISMOS EM MEIO SÓLIDO, COM SEMEADURA DA AMOSTRA EM SUPERFÍCIE

O resultado da contagem do número total de bactérias e fungos em amostras do pó e da tintura de *A. chica* pelo método da semeadura em superfície é demonstrado na Tabela 7. Observou-se que houve crescimento de fungos e bactérias em todas as amostras do pó analisadas. Entretanto, observou-se que nas amostras da tintura não houve crescimento de fungos e bactérias pelo método utilizado (Figuras 9 e 10).

Tabela 7: Número total de bactérias e fungos no pó das folhas e na tintura de *A. chica* pelo método da semeadura em superfície.

<b>Microorganismo</b>	<b>Amostras do Pó</b>	<b>Amostras da tintura</b>
Bactérias totais	$1,3 \times 10^5$	Ausência
Fungos totais	$1,7 \times 10^3$	Ausência

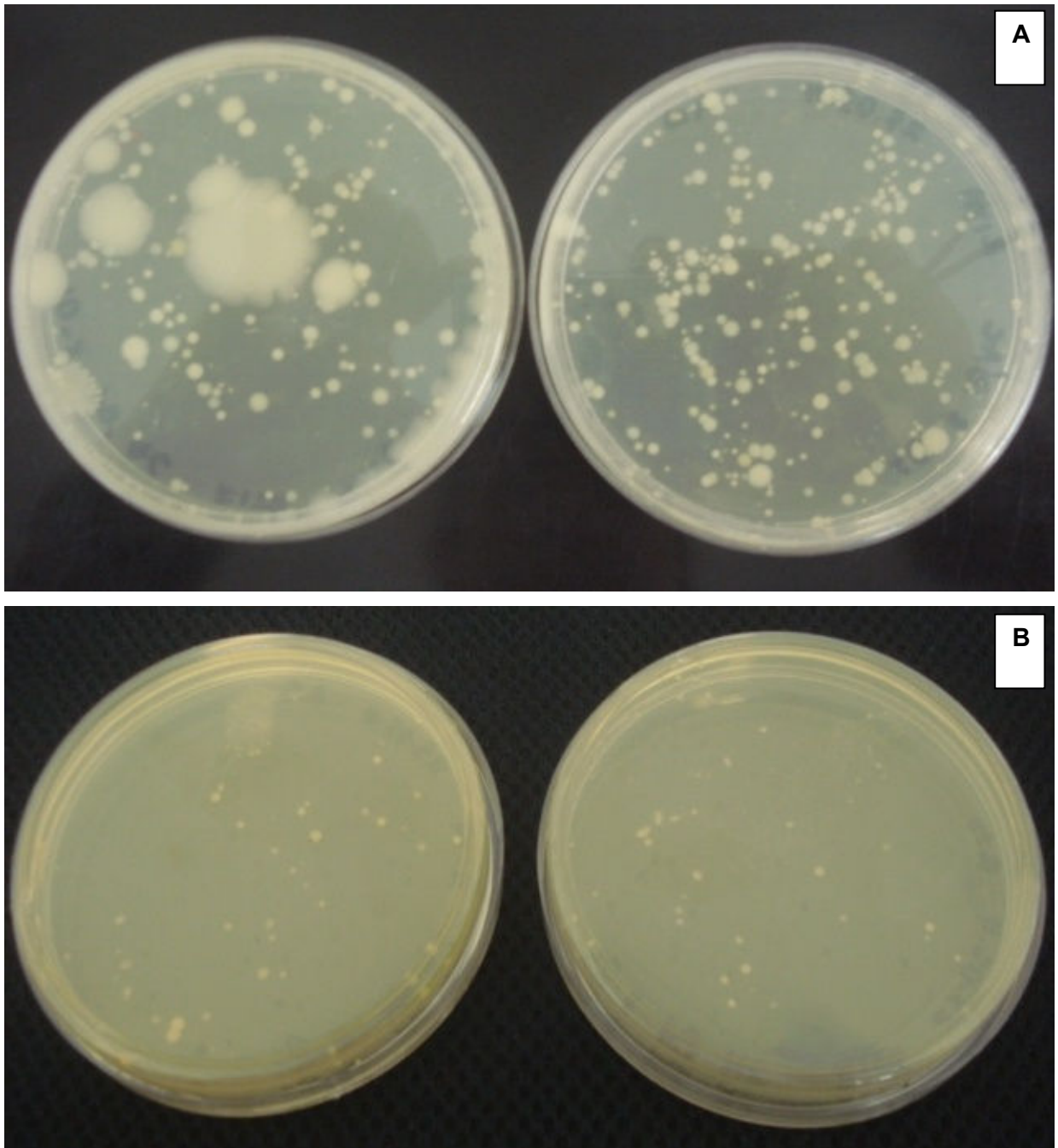


Figura 9: Placas com amostras do pó das folhas de *A. chica* mostrando o crescimento de bactérias (A) e fungos (B) em diluição 1:1000.

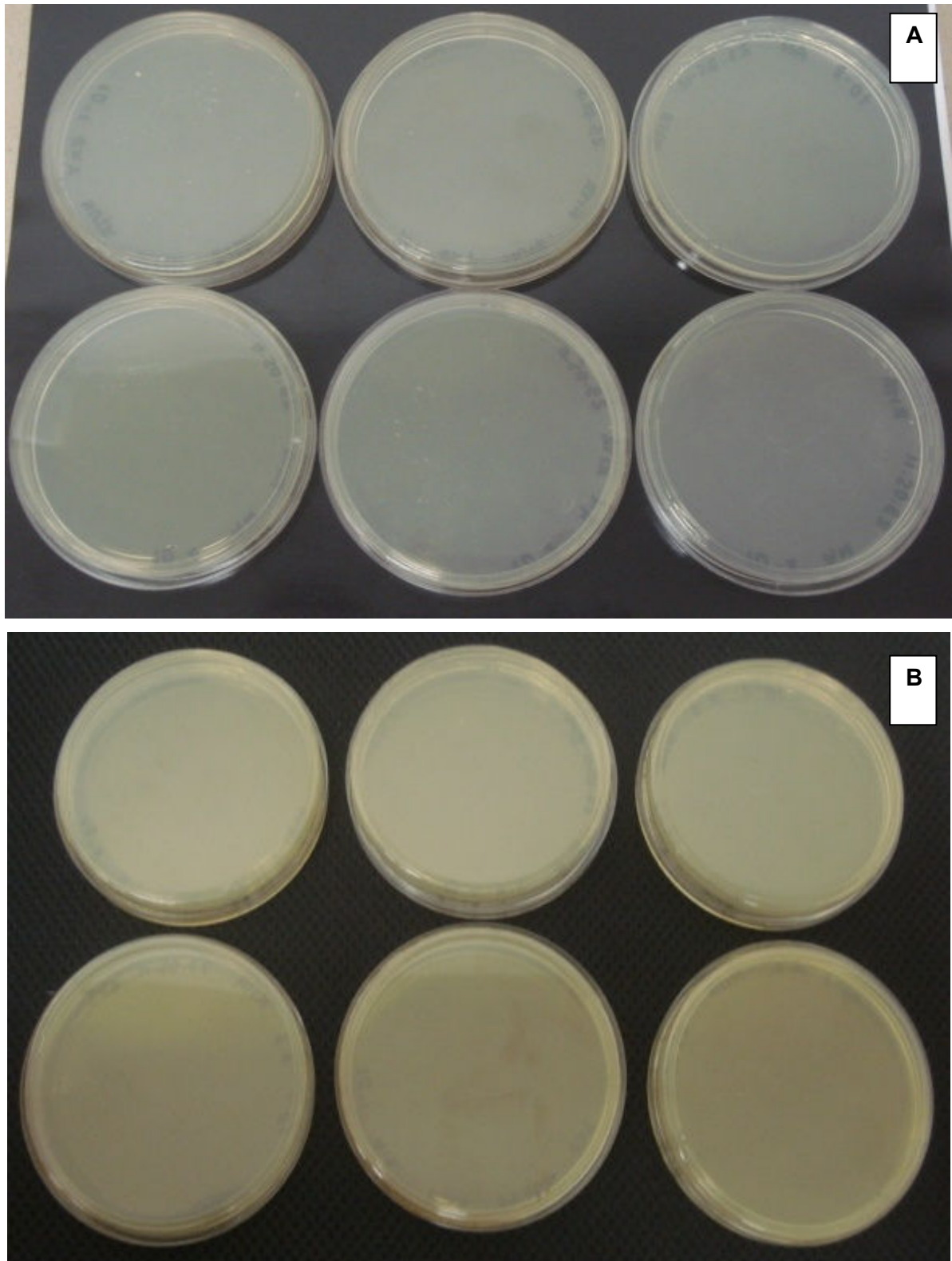


Figura 10: Placas com amostras da tintura de *A. chica* mostrando ausência de crescimento de bactérias (A) e fungos (B). Da esquerda para a direita estão as diluições 1:10, 1:100 e 1:1000.

### 5.3.2 CONTAGEM DE MICROORGANISMOS ATRAVÉS DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

Nas amostras do pó, pelo método do NMP, os resultados mostraram que nos tubos com Caldo Nutriente e Caldo Sabouraud, para a pesquisa de bactérias e fungos, respectivamente, houve crescimento em todos os tubos das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000 (ocorreu a turvação do meio). Entretanto, para as amostras da tintura, não houve crescimento em nenhum dos tubos (não houve turvação do meio).

Considerando que houve crescimento nos três tubos de todas as diluições analisadas, o resultado do número mais provável de bactérias totais é  $> 2 \times 10^4$  UFC/g (ml). O mesmo resultado vale para a contagem de fungos totais, de acordo com Pinto; Kaneko; Pinto (2010).

Nas amostras de tintura, ao contrário do que foi observado no pó das folhas de *A. chica*, não houve turvação do meio para bactérias e para fungos. De acordo com Pinto; Kaneko; Pinto (2010), o resultado do número mais provável de bactérias totais é  $< 3$  UFC/g (ml). O mesmo resultado vale para a contagem de fungos totais.

### 5.4 Avaliação da atividade antioxidante da tintura e do extrato concentrado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

A atividade antioxidante da tintura e do extrato concentrado de *A. chica* foi determinada pelo método de sequestro do radical DPPH. de acordo com a metodologia descrita em 4.2.4.1.

Como parâmetro de comparação foram determinados os valores de atividade antioxidante para substâncias padrão reconhecidas por seu potencial antioxidante e presentes na planta em estudo. A Tabela 8 apresenta os resultados de atividade antioxidante obtidos para substâncias padrão (quercetina e luteolina).

Tabela 8: Atividade antioxidante e inibição máxima da tintura, do extrato concentrado (EC) de *A. chica* e das substâncias - padrões quercetina e luteolina.

Amostras	IC <sub>50</sub> ( µg/mL )	Inibição Máxima ( % )
Tintura	16,61 ± 1,63	81,51 ± 3,55
EC	32,75 ± 1,67	84,61 ± 0,59
Quercetina	0,96 ± 0,01	86,20 ± 0,90
Luteolina	0,87 ± 0,03	83,38 ± 0,36

### 5.5 Obtenção e caracterização físico-química dos extratos secos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl.

Os extratos secos (ES) de *A. chica* foram obtidos em condições operacionais fixadas visando à identificação da influência da formulação de secagem nas propriedades físico-químicas do produto seco obtido e no desempenho do secador.

Os parâmetros operacionais foram fixados em: Temperatura do ar de secagem,  $T_{ge} = 100 \text{ }^\circ\text{C}$ , vazão de alimentação do extrato,  $W_{susp} = 4 \text{ g/min}$ , pressão do ar de atomização,  $P_{atm} = 1,5 \text{ bar}$ , vazão do ar de atomização,  $W_{atm} = 20 \text{ lpm}$ , e vazão do ar de secagem de  $60 \text{ m}^3/\text{h}$ . As formulações de secagem avaliadas foram preparadas a partir da adição dos adjuvantes de secagem maltodextrina DE10 e goma arábica, isolados ou em blendas, conforme descrito na Tabela 1 seção 4.2.6.1. A seguir serão apresentados os resultados para a caracterização físico-química e dos extratos secos obtidos e do desempenho do secador.

#### 5.5.1 DESEMPENHO DO PROCESSO DE SECAGEM POR *SPRAY DRYER*

O desempenho do processo de secagem por *spray dryer* foi avaliado quanto à temperatura de saída do ar de secagem ( $T_g$ s), recuperação do produto seco (Rec) e à porcentagem de elutriação e acúmulo (perdas durante o processo).

Os resultados obtidos quanto ao desempenho do processo de secagem estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da avaliação de desempenho do *spray dryer*.

<b>Amostras</b>	<b>T<sub>gs</sub></b> <b>( °C )</b>	<b>T<sub>amb</sub></b> <b>( °C )</b>	<b>UR</b> <b>( % )</b>	<b>Rec</b> <b>( % )</b>	<b>Perdas</b> <b>( % )</b>	<b>E<sub>term</sub></b> <b>( % )</b>
ES1	71,8	28,3	30	59,19	40,81	39,33
ES2	73,7	27,2	23	34,94	65,06	36,13
ES3	72,0	27,9	22	48,62	51,38	38,83
ES4	73,4	26,3	25	65,06	34,94	36,09

T<sub>gs</sub>: temperatura do ar de saída; T<sub>amb</sub>: temperatura ambiente; UR: umidade relativa; Rec: recuperação de produto; Perdas ocorridas durante o processo (adesão na câmara de secagem e arraste com o ar de exaustão); E<sub>term</sub>: eficiência térmica do secador

A taxa de recuperação do produto (Rec) foi definida pela relação percentual entre a massa de pó total coletada pelo ciclone e a massa de sólidos alimentada ao sistema (SOUZA, 2003). O extrato seco ES4 composto de extrato concentrado e dos adjuvantes goma arábica e maltodextrina na proporção de 25:50 (base de sólidos) foi o que apresentou a melhor taxa de recuperação 65,06 %, seguido do extrato seco ES1 composto de extrato concentrado e do adjuvante maltodextrina na proporção de 25:75 (base de sólidos) que apresentou valores de recuperação de 59,19 %. Quando utilizou-se blendas destes dois adjuvantes (ES2) e a goma arábica pura (ES3) observou-se uma queda na eficiência de produção do pó e maior aderência deste nas paredes da câmara de secagem. Para estas duas formulações (ES2 e ES3), obteve-se elevados valores de perdas do produto, respectivamente 65,06% e 51,38 %.

Altos valores de perdas de produto durante o processo de secagem por *spray drying* estão relacionados a aderência do material as paredes do secador ou por arraste com o ar de exaustão do pó fino que não consegue ser coletado pelo ciclone (diâmetro de corte do ciclone).

A eficiência térmica é um parâmetro usualmente empregado para a otimização do secador *spray dryer* (Beveridge e Lyne, 1976). Maiores valores de eficiência térmica são obtidos quando mais próximo da temperatura de saturação for o valor da temperatura de saída do gás de secagem. Porém, na maioria das vezes o processo é limitado não pela eficiência térmica, mas pela habilidade de adequadamente secar o produto. Os valores de eficiência térmica calculados para a

secagem das quatro formulações ficou entre 36,09 % a 39,33%, os valores encontram-se bem próximos, o que é esperado visto que as variáveis operacionais de secagem foram fixadas para todos os experimentos.

Os ES de *A. chica* foram analisados quanto a umidade residual por Karl Fischer (Ukf), atividade de água (Aw), teor de flavonoides totais (Ft), polifenóis totais (Pt) e taninos totais (Tt). Os resultados obtidos para essas determinações estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados da caracterização físico-química dos extratos secos de *A. chica*.

Amostras	Ukf ( % )	Aw ( - )	Ft ( % mg/g <sub>ext</sub> )	Pt ( % mg/g <sub>ext</sub> )	Tt ( % mg/g <sub>ext</sub> )
ES1	3,43 ± 0,07	0,1904 ± 0,016	1,36 ± 0,02	6,75 ± 0,03	3,46 ± 0,05
ES2	2,77 ± 0,40	0,1549 ± 0,013	1,41 ± 0,17	6,80 ± 0,15	2,08 ± 0,07
ES3	4,69 ± 0,17	0,1688 ± 0,047	1,84 ± 0,19	7,94 ± 0,01	3,65 ± 0,03
ES4	4,08 ± 0,32	0,1814 ± 0,054	1,94 ± 0,07	7,39 ± 0,04	3,07 ± 0,01

Ukf: umidade residual (Karl Fischer); Aw: atividade de água; Ft: teor de flavonoides totais; Pt: teor de polifenóis totais; Tt: teor de taninos totais.

Determinou-se também a distribuição granulométrica dos ES, ângulo de repouso, densidade bruta e de compactação, fator de Hausner e índice de compressibilidade. As partículas foram analisadas quanto a sua morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A distribuição granulométrica dos extratos secos foi obtida segundo o procedimento descrito na seção 4.2.6.3.7.

A partir das imagens obtidas para todas as formulações de secagem e, utilizando-se o *software* analisador de imagens (Image Pro-Plus<sup>®</sup>) foi possível determinar a distribuição granulométrica do produto e seu diâmetro médio. As imagens obtidas em microscópio óptico com aumento de 50 vezes estão apresentadas na Figura 11.



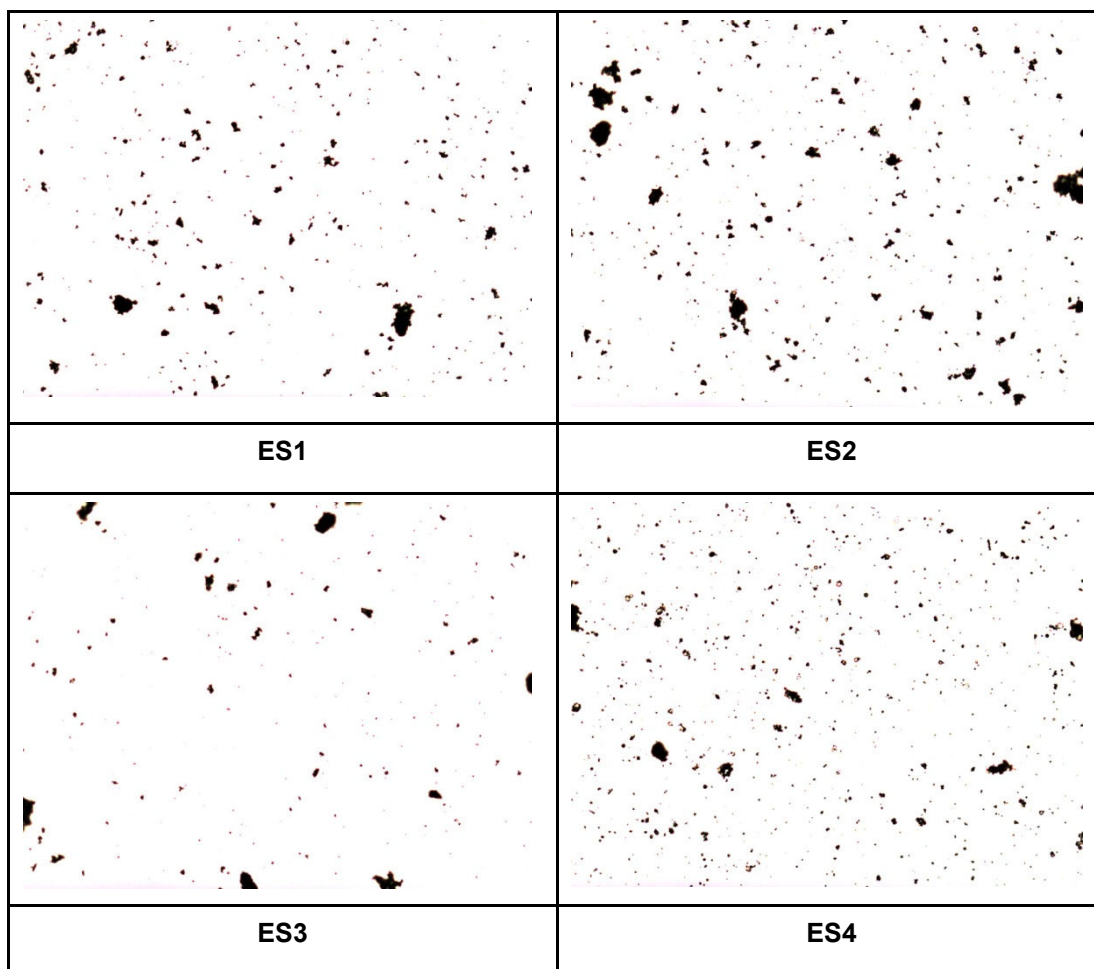


Figura 11: Fotografias dos extratos secos obtidos em microscópio óptico com aumento de 50 vezes.

A Figura 12 apresenta os histogramas da distribuição granulométrica diferencial dos extratos secos de *A. chica* obtidos em função da formulação de secagem avaliada.

Os extratos secos obtidos possuem uma ampla distribuição granulométrica, ficando a maior concentração de partículas em torno de 5 a 15  $\mu\text{m}$ . A Tabela 12 apresenta os valores de diâmetro médio das partículas de extrato seco obtidas onde pode-se observar que todos os extratos secos apresentaram diâmetro médio em torno de 10  $\mu\text{m}$ .

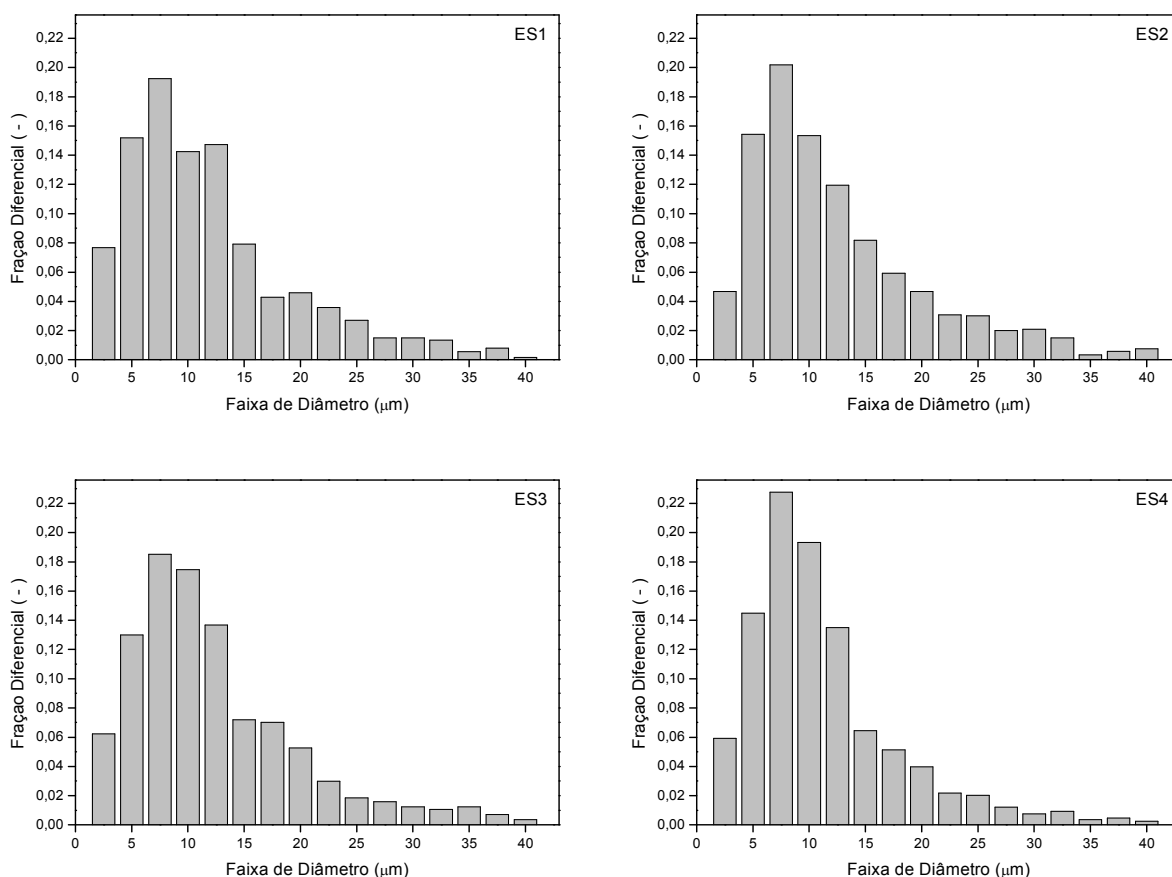


Figura 12: Histogramas da distribuição granulométrica dos extratos secos por *spray dryer* de *A. chica* em função das formulações de secagem analisadas.

A cromatografia em camada delgada foi realizada como controle qualitativo de todas as etapas envolvidas na produção dos extratos secos de *A. chica*. Como padrões analíticos foram escolhidos os flavonoides luteolina e canferol.

O fator de retenção ( $R_f$ ), o qual é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a distância percorrida pela fase móvel, foi calculado e empregado como parâmetro de comparação. Os resultados podem ser visualizados na Figura 13 onde a foto da placa cromatográfica está apresentada, assim como os respectivos  $R_f$  (marcados a lápis em cima das manchas e apresentados na Tabela 11).

A observação das eluições dos padrões luteolina e canferol, da tintura, do extrato concentrado e dos extratos secos de *A. chica* (ES1, ES2, ES3 e ES4) mostra que, todas as amostras analisadas apresentam a luteolina e o canferol o que é um indício que o processo de secagem não causou a perda qualitativa destes compostos.

A técnica de CCD se mostrou valiosa para o controle da qualidade das diferentes etapas de produção do extrato seco. É uma análise rápida, simples e relativamente barata e que propicia o acesso ao resultado em poucos minutos.

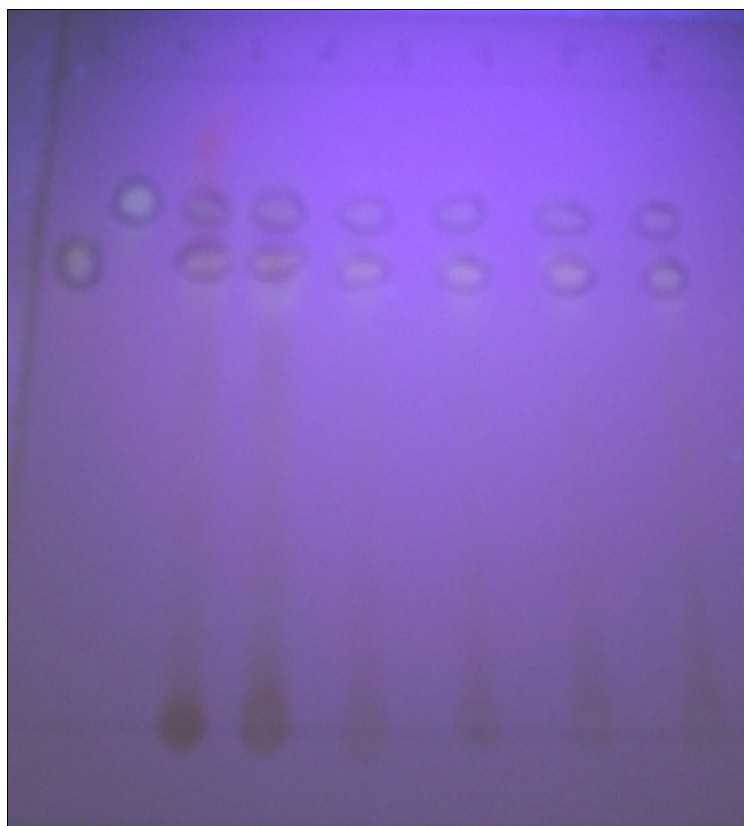


Figura 13: Fotografia da placa de CCD após a corrida. Da esquerda para a direita, padrão luteolina, padrão canferol, tintura, EC, ES1, ES2, ES3 e ES4.

Tabela 11: Valores de fator de retenção (Rf) obtidos na análise por CCD dos padrões luteolina e canferol, da tintura, extrato concentrado (EC) e extratos secos de *A. chica*.

Amostras	Fator de retenção (Rf)	
	Rf <sub>1</sub>	Rf <sub>2</sub>
Luteolina	0,67	-
Canferol	0,77	-
Solução extrativa (tintura)	0,67	0,76
Extrato concentrado	0,67	0,76
ES1	0,67	0,76
ES2	0,67	0,76
ES3	0,67	0,76
ES4	0,67	0,76

De forma a visualizar a aparência dos extratos secos de *A. chica*, foram obtidas fotografias que estão apresentadas na Figura 14. Pode-se observar que todos os extratos secos obtidos apresentaram coloração vermelho-acastanhada característica da tintura de *A. chica*.

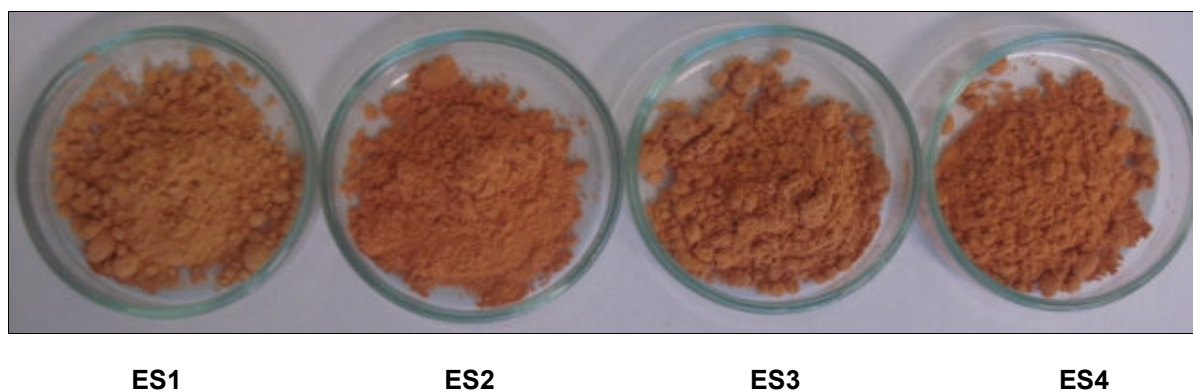


Figura 14: Aspecto macroscópico dos extratos secos de *A. chica* obtidos por *spray dryer* preparados com diferentes concentrações dos adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).

Os extratos secos de *A. chica* foram avaliados quanto a suas características farmacotécnicas através dos índices de fluidez e de acomodação dos pós. A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para estas determinações.

Tabela 12: Resultados dos índices de fluidez e acomodação dos pós dos extratos secos de *A. chica*.

Amostras	Dm ( $\mu\text{m}$ )	$\rho_b$ (g/mL)	$\rho_c$ (g/mL)	IC (%)	FH (-)	Ar (°)
ES1	10,61 $\pm$ 7,44	0,21 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	25,74 $\pm$ 0,07	1,35 $\pm$ 3,73	46,61 $\pm$ 5,44
ES2	11,44 $\pm$ 8,14	0,25 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,00	26,19 $\pm$ 0,04	1,35 $\pm$ 2,06	46,42 $\pm$ 0,53
ES3	11,23 $\pm$ 7,90	0,22 $\pm$ 0,00	0,29 $\pm$ 0,00	26,09 $\pm$ 0,00	1,35 $\pm$ 0,00	44,91 $\pm$ 1,86
ES4	10,02 $\pm$ 6,93	0,29 $\pm$ 0,01	0,38 $\pm$ 0,02	23,11 $\pm$ 0,09	1,30 $\pm$ 3,00	44,66 $\pm$ 2,04

$\rho_b$ : densidade bruta;  $\rho_c$ : densidade compactada; IC:Índice de compressibilidade; FH: Razão de Hausner; Ar: Ângulo de repouso.

Fotomicrografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foram obtidas para os extratos secos de *A. chica*. O objetivo desta análise foi observar as características intrínsecas ao pó seco em *spray dryer* como a forma e a superfície das partículas em função dos adjuvantes utilizados nas formulações de secagem.

As Figuras 15 e 16 apresentam as fotomicrografias obtidas em MEV, para os extratos secos obtidos, com aumentos de 2000, 5000 e 10000 vezes, respectivamente para os extratos ES1 e ES2 (Figura 15) e ES3 e ES4 (Figura 16).

As imagens evidenciam a heterogeneidade dos extratos produzidos, apresentando partículas de diferentes dimensões e formas. Os extratos secos produzidos em *spray dryer* em geral apresentam partículas de formato mais arredondado.

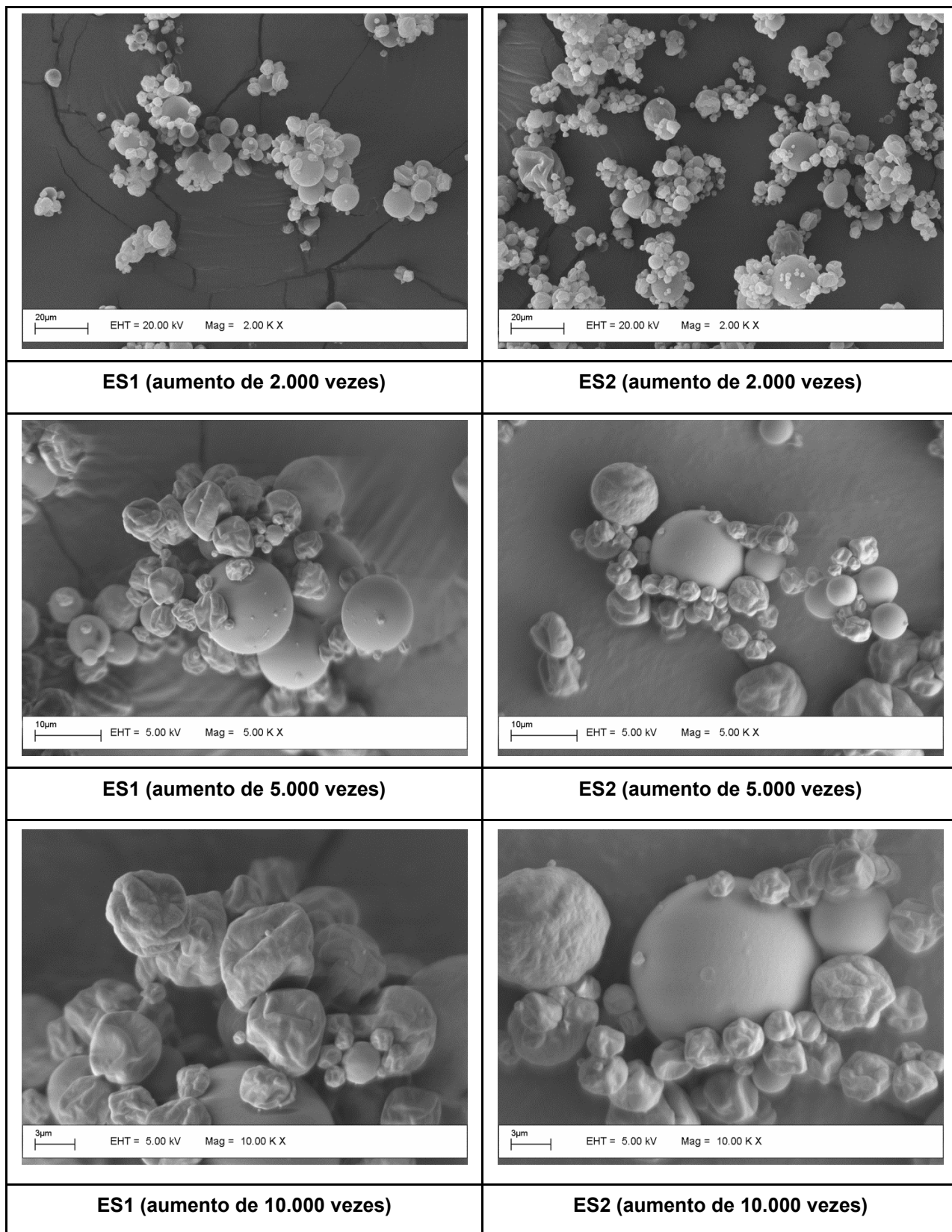


Figura 15: Fotomicrografias obtidas em MEV para extratos secos obtidos a partir de *A. chica* com aumentos de 2000, 5000 e 10000 vezes para as formulações ES1 e ES2.

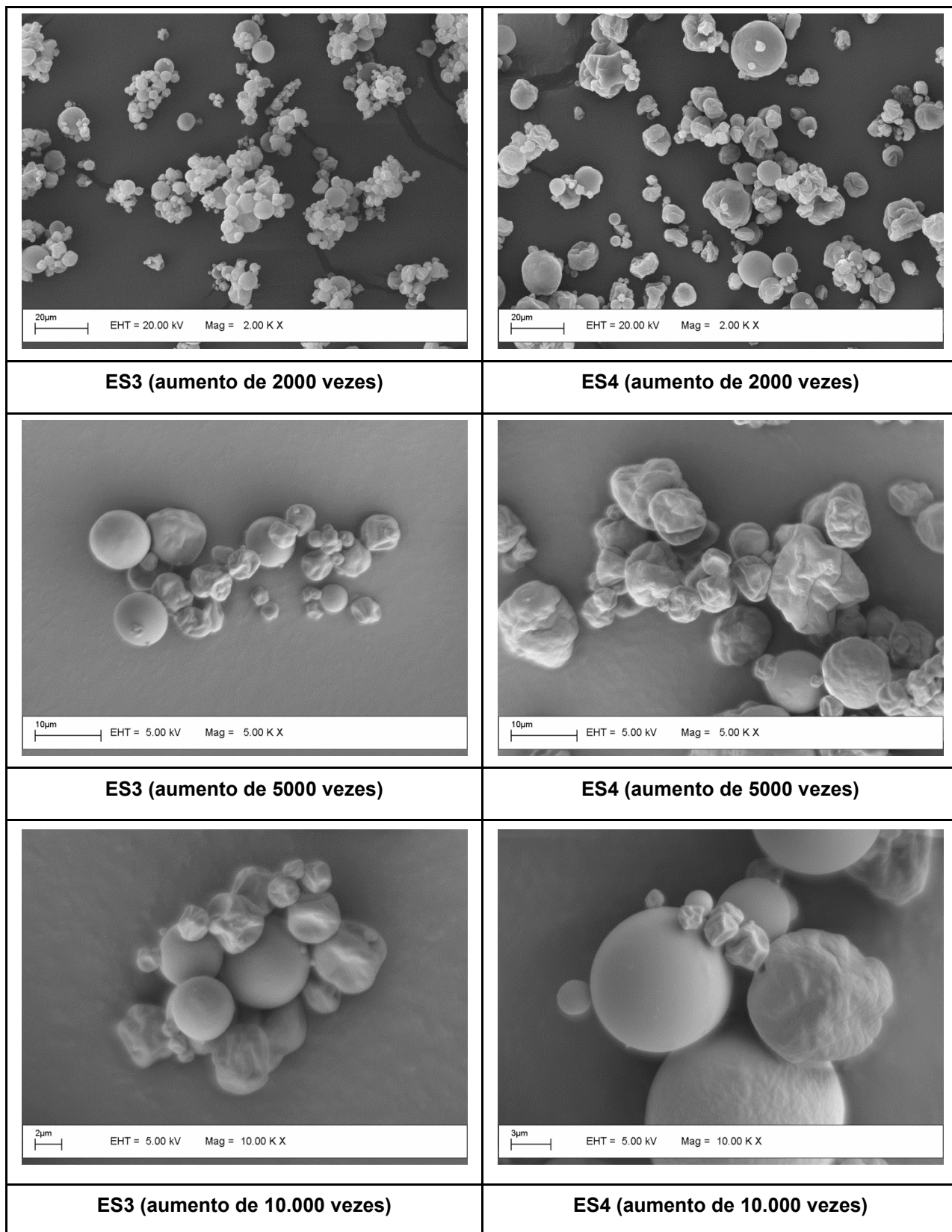


Figura 16: Fotomicrografias obtidas em MEV para extratos secos obtidos a partir de *A. chica* com aumentos de 2000, 5000 e 10000 vezes para as formulações ES3 e ES4.



### 5.5.2 OBTENÇÃO DO PERFIL TÉRMICO POR TG/DTG E DTA DOS ADJUVANTES E EXTRATOS SECOS DE *A. CHICA*

A Figura 17 mostra os eventos térmicos do adjuvante goma arábica (GA). A curva TG, mostra que a perda de massa ocorreu em três eventos. A curva DTA apresenta três eventos, um endotérmico e dois sucessivos eventos exotérmicos. Através da DTG, são evidenciadas as reações de perda de massa, onde no intervalo de 36-94°C, o percentual de degradação foi de 14%. No segundo evento ocorre a perda de massa correspondente a 51%, como pode ser observada através do pico da DTG, no intervalo 294-319°C. No último evento ocorrido entre 428-577°C a perda de massa observada é de 31% relativa à degradação final do material, confirmada pela liberação de energia nesse estágio decorrente da reação exotérmica.

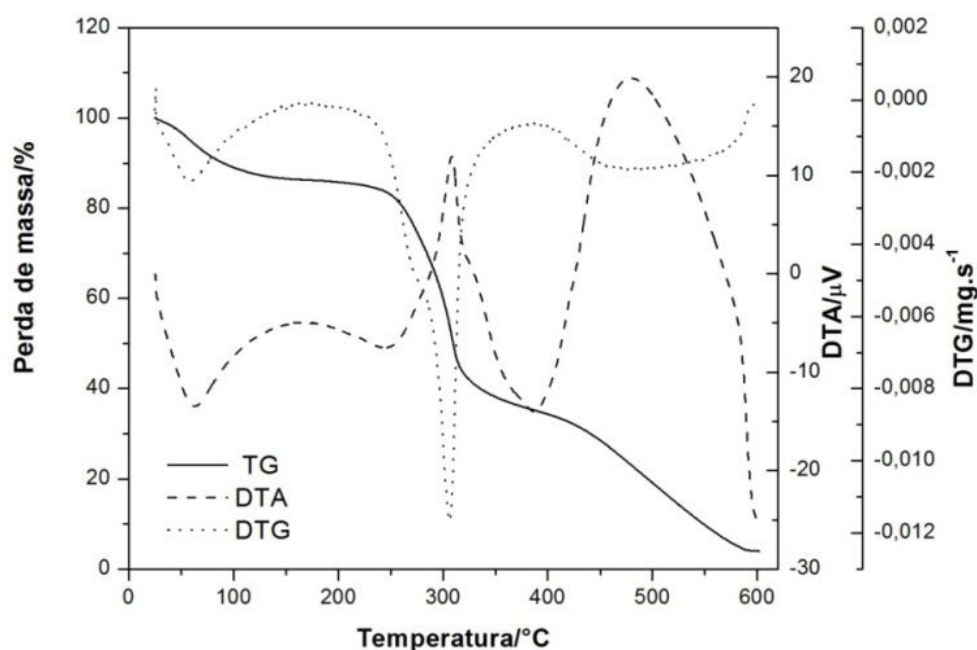


Figura 17: Curvas TG/DTG e DTA do adjuvante goma arábica (GA)

De acordo com a curva TG do adjuvante maltodextrina (MD), observam-se três eventos de perda de massa. A curva DTA mostra três eventos endotérmicos. Através da DTG, são evidenciados os eventos de perda de massa, onde o primeiro ocorre na faixa de temperatura entre 43-105°C, com perda de massa desse intervalo de 7%. No intervalo de 268-308°C, correspondente ao segundo evento, evidencia-se



uma perda de massa igual a 67%. No último evento ocorrido entre 476-532°C a perda de massa observada é de 24% (Figura 18).

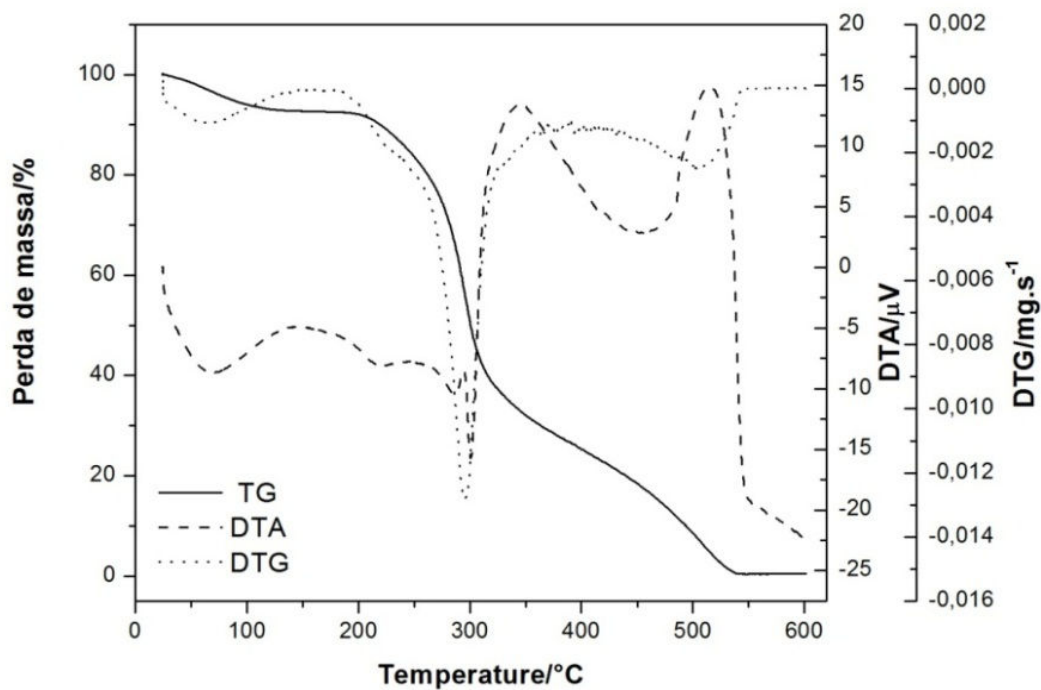


Figura 18: Curvas TG/DTG e DTA do adjuvante maltodextrina (MD)

Na Figura 19, a curva TG do ES1 apresenta três eventos de degradação térmica. No intervalo entre 36-73°C, a perda de massa foi de 8%. A decomposição térmica do ES1 ocorre a 184°C evidenciando uma perda de massa igual a 20% ao final do intervalo, a uma temperatura de 217°C. No último evento ocorrido entre 401-511°C a perda de massa observada é de 17%. A curva DTA mostra três reações endotérmicas.

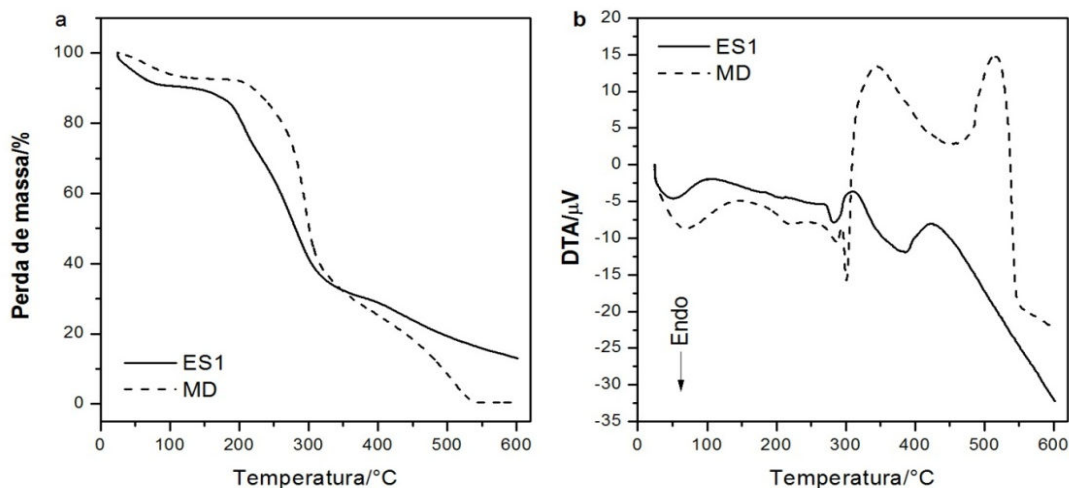


Figura 19: Curvas TG (a) e DTA (b) do ES1 (75% de MD) comparando com o adjuvante maltodextrina (MD).

Conforme a Figura 20, a curva TG do ES2 mostra três eventos de perda de massa. No intervalo entre 25-45°C, a degradação é de 10%. No intervalo de 186-214°C, referente ao segundo evento, evidencia-se uma perda de massa igual a 11%. No último evento ocorrido entre 252-319°C o percentual de degradação é de 48%. A curva DTA mostra três reações endotérmicas. Observa-se que o extrato ES2 possui a repetição das reações exotérmicas tanto da MD, como da GA, porém em menor intensidade. Dessa forma, pode-se dizer que houve uma boa interação entre os adjuvantes e o extrato de *A. chica*.

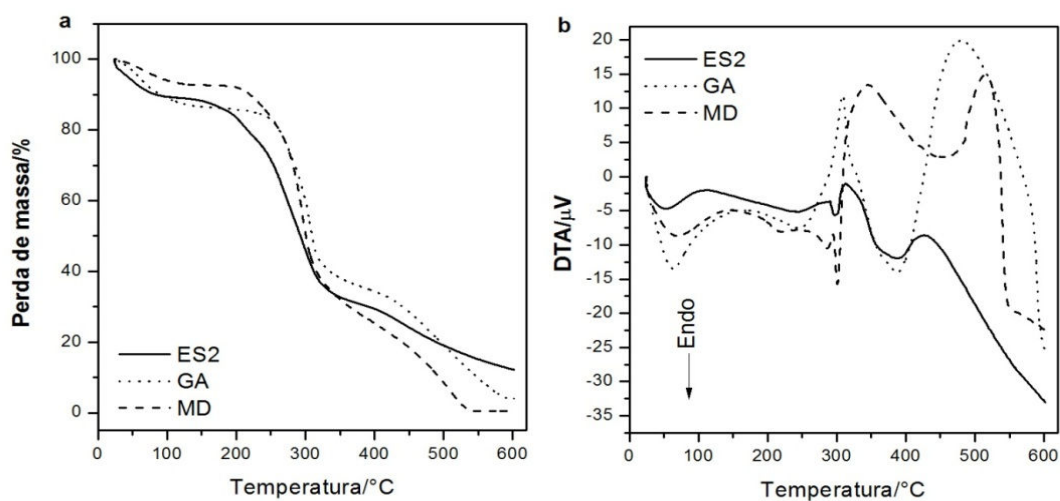


Figura 20: Curvas TG (a) e DTA (b) do ES2 (50% de GA e 25% de MD) comparando com os adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).

A degradação térmica do ES3 ocorre em três etapas como mostra a Figura 21. A curva DTA evidencia três reações, sendo a primeira endotérmica, a segunda e a terceira exotérmicas. Na faixa de temperatura de 43-73°C, a perda de massa corresponde à 11%. No intervalo de 268-319°C, o percentual de perda é de 62% e entre 422-456°C, de 21%. Nessa figura é possível visualizar que a interação da GA na formulação do extrato vegetal determinou a maior intensidade das reações exotérmicas.

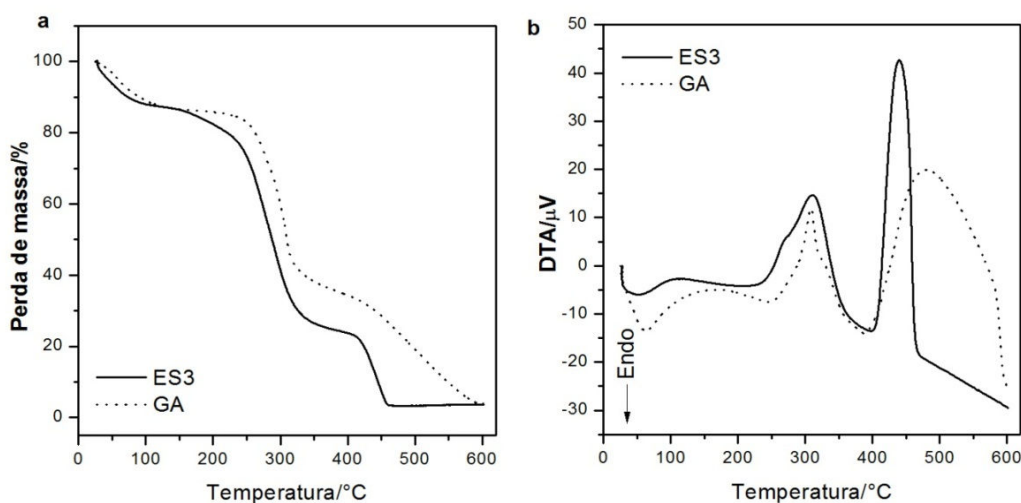


Figura 21: Curvas TG (a) e DTA (b) do ES3 (75% de GA) comparando com o adjuvante goma arábica (GA).

A curva TG do ES4 apresenta três eventos de degradação. A curva DTA mostra três reações, sendo a primeira endotérmica, a segunda e a terceira exotérmicas. Na faixa de temperatura entre 40-80°C, a perda de massa é de 8%. No intervalo de 202-216°C, referente ao segundo evento, evidencia-se uma perda de massa igual a 15% e no último evento, 406-495°C, 14% (Figura 22). A mesma figura mostra que houve uma maior interação nas proporções dos adjuvantes nesta formulação, pois as reações exotérmicas estão contemplando aproximadamente 50% do que observado nos adjuvantes isolados, dessa forma a interação foi realizada com sucesso e não suprimiu o evento.

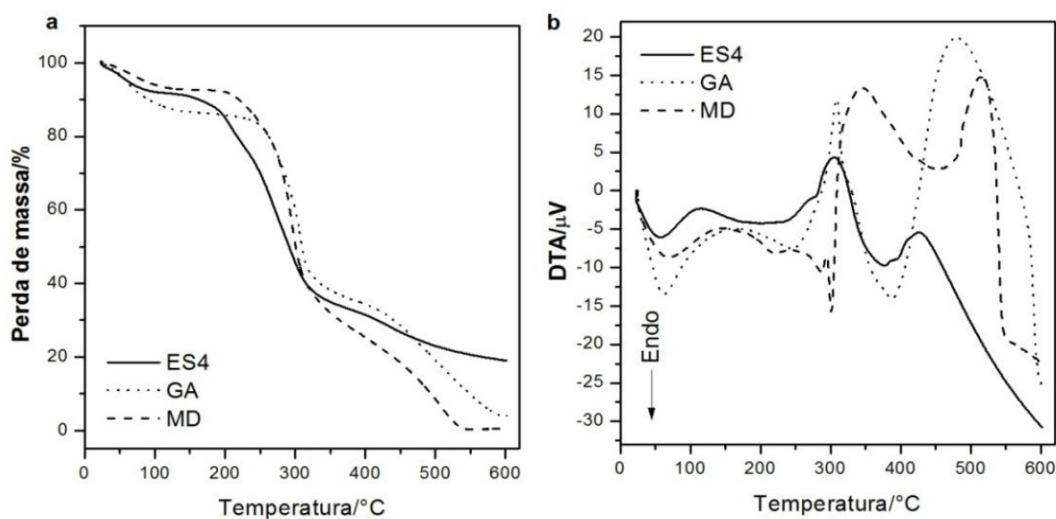


Figura 22: Curvas TG (a) e DTA (b) do ES4 (25% de GA e 50% de MD) comparando com os adjuvantes maltodextrina (MD) e goma arábica (GA).

### 5.5.3 OBTENÇÃO DO PERFIL ESPECTROSCÓPICO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

O espectro obtido na região do IV forneceu um agregado rico de bandas de absorção (Figura 23). A análise das bandas características de determinados grupos funcionais de uma molécula fornece, através de um simples exame do espectro e consulta a tabelas de dados, um conjunto valioso de informações sobre a estrutura da molécula (BARBETTA; MAGINI, 2006).

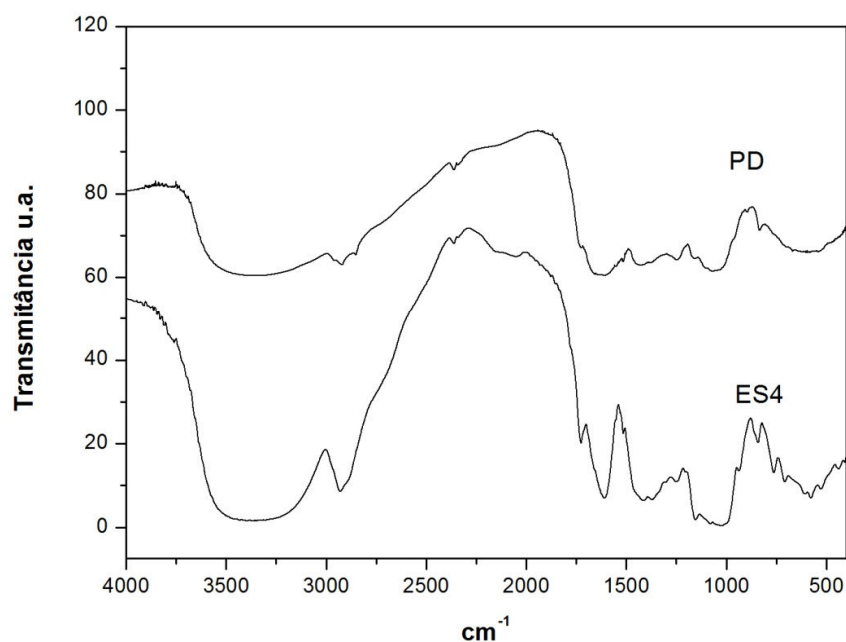


Figura 23: Espectros na região do infravermelho do ES4 e do pó das folhas de *A. chica*.

Os espectros na região do IV para o pó e para o ES4 apresentaram bandas de absorção forte e arredondada na região de  $3238\text{ cm}^{-1}$  característica da vibração de deformação axial O-H (de alcoóis e fenóis). Uma banda de absorção forte e dupla na faixa de  $2922\text{ cm}^{-1}$  que pode ser relacionada a vibrações de estiramento C-H. Uma banda de absorção na região de  $1605\text{ cm}^{-1}$  que pode ser relacionada a nitratos ou vibrações de estiramentos cetonas (diacetonas enólicas) e nota-se também na região de  $1038\text{ cm}^{-1}$  relacionada a compostos de enxofre, característica de ácidos sulfônicos. Por fim, há uma banda de absorção na região próxima de  $541\text{ cm}^{-1}$  característica de compostos halogenados, mais especificamente de vibrações de estiramento C-I. A Tabela 13 apresenta as regiões de absorção e os respectivos tipos de ligações encontradas nessas regiões.

Tabela 13: Regiões de absorção de ligações das moléculas do pó das folhas de *A. chica*

Região de absorção (cm <sup>-1</sup> )	Tipo de ligação
3238	O-H
2926	C-H
1605	NO <sub>2</sub>
1038	C-S
541	C-I

### 5.6 Atividade antioxidante dos extratos secos pelos métodos de DPPH e sistema xantina/ XOD/ luminol

Os extratos secos de *A. chica* foram analisados quanto a atividade antioxidante pelos métodos de sequestro do radical DPPH. e pela atividade sequestradora de radical superóxido pelo extrato de *A. chica* por medida de inibição da quimioluminescência. A Tabela 14 apresenta os resultados de atividade antioxidante obtidos pelos dois métodos.

Tabela 14: Resultados de atividade antioxidante obtidos para os extratos secos de *A. chica* pelos métodos DPPH e quimioluminescência.

Amostras	Sequestro do radical DPPH		Sistema xantina/XOD/luminol
	IC <sub>50</sub> ( µg/mL )	Inib. Max. ( % )	IC <sub>50</sub> ( µg/mL )
ES1	32,17 ± 3,37	88,09 ± 0,99	1,85 ± 0,12
ES2	32,36 ± 1,78	84,49 ± 1,72	1,08 ± 0,11
ES3	35,53 ± 1,21	71,11 ± 1,08	1,61 ± 0,07
ES4	44,53 ± 0,55	76,83 ± 1,77	1,34 ± 0,21

A atividade antioxidante (expressa por  $IC_{50}$ ) dos extratos secos pelo método DPPH, apresentou valores entre 32,17 a 44,53  $\mu\text{g/mL}$  (Tabela 14). Os extratos secos ES1, ES2 e ES3 apresentaram valores de  $IC_{50}$  bem próximos aos encontrados para o extrato concentrado, que foi de 32,75  $\mu\text{g/mL}$  (Tabela 8). O extrato seco ES4, que foi obtido com a mistura de adjuvantes goma arábica e maltodextrina (25:50), apresentou um maior valor de  $IC_{50}$  de 44,53  $\mu\text{g/mL}$ .

### 5.7 Análise colorimétrica

Para análise colorimétrica dos extratos secos de *A. chica* foi utilizado o sistema CIE  $L^*a^*b^*$  (também conhecido como CIELAB), que se baseiam na teoria das cores opostas com três dimensões: verde / vermelho, azul / amarelo e preto / branco.

O sistema desenvolvido pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE), conhecido como CIELAB determina parâmetros de cor e iluminação que se localizam dentro de uma área de cor definida por três eixos perpendiculares: a luminosidade ( $L^*$ ),  $a^*$  índice de saturação vermelho e  $b^*$  índice de saturação amarelo) e tonalidade (*Hue*).

A Tabela 15 apresenta os resultados da análise colorimétrica dos extratos secos de *A. chica* e a Figura 24 apresenta o espectro de cor dos extratos secos analisados.

Tabela 15: Resultados da análise colorimétrica dos extratos secos de *A. chica*.

Amostra	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$H^0$
ES1	80,92	14,24	55,9	57,68	1,00
ES2	77,21	20,73	60,94	64,38	-4,89
ES3	76,51	20,76	62,69	66,02	-8,07
ES4	78,91	17,72	59,23	61,85	4,92

$L^*$ : luminosidade,  $a^*$  e  $b^*$ : cromaticidade,  $C^*$ : croma,  $H^0$ : ângulo de tom (*Hue*).

Todas as amostras apresentam valores positivos de  $a^*$ , indicando prevalência da tonalidade avermelhada, e valores positivos de  $b^*$ , que apontam para tonalidades

amareladas. Em relação à cor, as amostras se apresentam bastante homogêneas, visto que o croma  $C^*$  varia de principalmente de 58 a 66. Esta tonalidade vermelho-amarelada remete à coloração natural dos extratos (tintura) de *A. chica* que apresentam coloração vermelha intensa, o que torna o produto comercialmente apresentável.

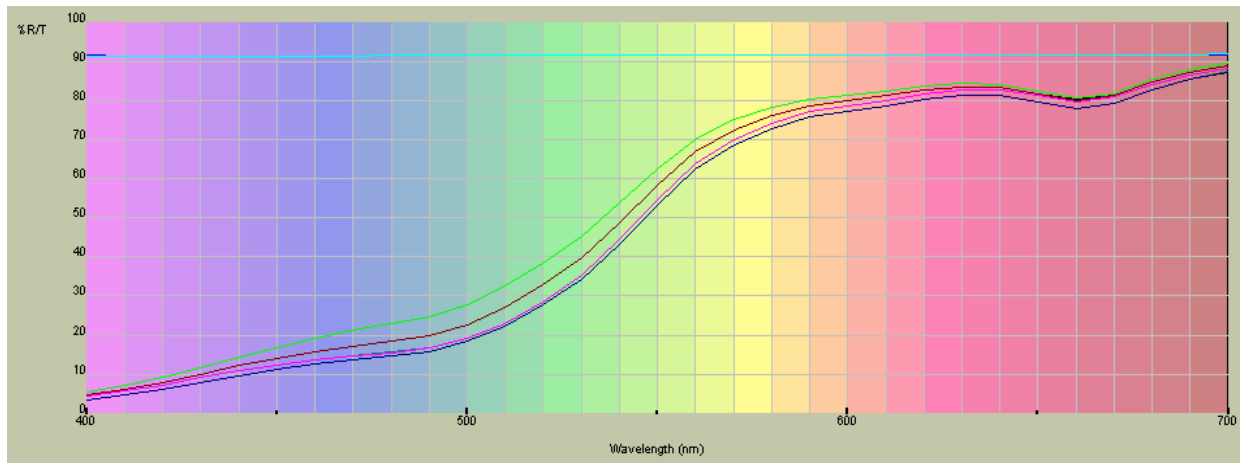


Figura 24: Espectro de cor dos extratos secos de *A. chica* obtidos por *spray dryer*.



## 6. Discussão

---

## 6 DISCUSSÃO

Inicialmente, fez-se a identificação botânica da droga vegetal, cujas partes adquiridas foram as folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl. Essa etapa é essencial na fundamentação científica para o desenvolvimento de fitoterápicos e assegura a identidade correta de espécies vegetais. Simões et al. (1999) mencionam que, os estudos botânicos têm como objetivo a identificação inequívoca de uma espécie vegetal, através da análise de características anatômicas e morfológicas procurando destacar aquelas consideradas peculiares de uma determinada espécie. Esse processo visa, também, identificar a presença de espécies vegetais adulterantes e cumpre com as exigências iniciais do processo de registro de fitoterápicos (BRASIL, 2010).

As folhas de *A. chica* foram lavadas em água corrente com a finalidade de retirar as impurezas aderidas à superfície da droga vegetal. Farias (1999) comenta que as drogas vegetais, mesmo quando cultivadas e tratadas adequadamente, apresentam certas impurezas, que podem representar órgãos da própria planta, como restos de caule em flores e folhas, fragmentos de outras plantas, como gramíneas e ervas daninhas, bem como materiais de outra origem, como areia ou terra em raízes ou caules. Desde que esses elementos não caracterizem falsificação ou adulteração do material, são considerados como impurezas.

Após a lavagem em água corrente, o material vegetal foi lavado ligeiramente com solução etanol:água (70:30 v/v), a qual foi usada para estabilizar o metabolismo vegetal, que de acordo com Fonseca (2005), a estabilização serve para neutralizar a ação enzimática a que estão sujeitos os princípios ativos de drogas vegetais, tornando-os, muitas vezes, inativos. O etanol tem função desidratante, atuando na desnaturação protéica das enzimas celulares, através da destruição das estruturas terciárias e quaternárias (COSTA, 2010).

Após a lavagem, efetuou-se a secagem das folhas de *Arrabidaea chica* a temperatura ambiente e, posteriormente, em estufa de ar circulante. Fonseca (2005) ressalta que, a secagem ou dessecação tem por finalidade reduzir a umidade do material vegetal, de modo que o mesmo possa ser estocado sem risco de proliferação microbiana, facilitando o processo de trituração e diminuindo a ação enzimática. A presença de umidade no material vegetal, fora dos limites

preconizados pela Farmacopéia Brasileira, pode alterar a composição qualitativa e quantitativa de seus metabólitos secundários e propiciar contaminação por microorganismos, sobretudo fungos e bactérias, podendo levar a ineficácia biológica e a perda do material.

Ainda nas etapas de preparo da droga vegetal, as folhas secas foram trituradas em moinho de facas e martelo, para obter partículas de tamanho reduzido. De acordo com Fonseca (2005) este equipamento é dotado de cortadores para a redução grosseira do tamanho da droga, seguindo-se a ação de moinhos que em sua maioria tem como acessório, malhas de diferentes aberturas. A trituração ou moagem visa, primordialmente, a obtenção de matérias-primas vegetais para a produção de intermediários, favorecendo o contato com o líquido extrator ou como insumos diretos para a fabricação de fitoterápicos. Segundo Costa et al. (2009), é necessário que o material de partida se encontre suficientemente pulverizado, para que se consiga um rendimento ótimo no processo de extração dos constituintes químicos de interesse farmacêutico. Farias (2005) afirma que, a qualidade de tudo o que vier a ser produzido a partir da droga triturada, vai depender das condições em que esta foi processada.

Dentre os parâmetros de Controle de Qualidade analisados na droga vegetal, foi determinada a granulometria do pó das folhas da *A. chica*. Essa análise tem por finalidade determinar o grau de divisão da droga vegetal. A análise demonstrou que a maior parte das partículas ficou retida no tamis com abertura nominal de malha 355  $\mu\text{m}$  que, de acordo com a Farmacopéia Brasileira V (2010), o material vegetal foi classificado como pó grosso, semelhante ao relatado por Alves (2008) (Figura 5). Os resultados da análise granulométrica podem prever a eficiência da extração. Partículas muito finas impedem a absorção do líquido extrator, assim como partículas com alta granulometria não apresentam grande superfície de contato (COSTA et al. 2009). Em ambos os casos a eficiência da extração é reduzida. Migliato et al. (2007) reforçam que a análise granulométrica é um parâmetro preliminar importante para a escolha do processo extrativo e solvente adequados.

O teor de cinzas totais no pó da espécie vegetal foi analisado para quantificar as substâncias residuais não voláteis no processo de incineração. O resultado encontrado foi de 9,4 % (Tabela 2), não sendo encontrada monografia para essa espécie vegetal que mencionasse o valor aceitável.

De acordo com a Farmacopéia Brasileira V (2010), as cinzas podem ser fisiológicas (derivadas do tecido vegetal) e não fisiológicas (areia e terra aderidas à superfície da droga). As drogas vegetais apresentam em sua composição elementos orgânicos e componentes de natureza inorgânica como os carbonatos, fosfatos, cloretos e óxidos de silício, magnésio, cálcio, potássio, alumínio, ferro e sódio. Esses componentes inorgânicos, intrínsecos a composição da droga vegetal, diferem daqueles de origem externa, como areia, terra, pedra, gesso, que podem ser originários de más preparações e falsificações. O teor de cinzas totais indica o cuidado no preparo e armazenamento da droga vegetal, bem como adulteração e condições de cultivo.

A perda por dessecação é um parâmetro de qualidade, indicativo do conteúdo de substâncias voláteis presentes no material vegetal e indiretamente da água residual (COSTA, 2009). Através de seus resultados pode-se avaliar também, se o material foi devidamente armazenado e conservado. O percentual de perda por dessecação encontrado foi de 9,7% (Tabela 2) e está de acordo com o que preconiza a Farmacopéia Brasileira V (2010) que estabelece os limites de 8 a 14% de teor de umidade em drogas vegetais. Farias (2003) ressalta que, o excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias.

Na análise do teor de umidade do pó das folhas de *A. chica*, utilizando balança com infravermelho, obteve-se um resultado de 9,86%, o que mostra conformidade tanto com os limites estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira V (2010) quanto com o teor de umidade obtido pelo método em estufa (Tabela 2). Segundo Borges et al. (2005), estudos estão sendo realizados sobre o uso de balanças acopladas a sistemas de secagem por radiação infravermelha (analisador de umidade) para a determinação de água, tanto na área de alimentos quanto na área de medicamentos, o que é explicável em função do longo período de tempo requerido para a realização das análises através das técnicas clássicas. A energia térmica gerada pela radiação infravermelha fornece quantidade de calor suficiente para que a liberação das moléculas de água ocorra mais rapidamente, em contraste com a transferência de calor por convecção na secagem em estufa.

Seguindo na caracterização da droga vegetal, foi determinado o perfil térmico do pó das folhas de *A. chica*, por meio da termogravimetria (TG/DTG) e análise

térmica diferencial (DTA). Correia et al., (2012) afirmam que as técnicas termoanalíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. A utilização dessa metodologia foi favorecida pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer informações quanto ao comportamento térmico dos materiais de forma precisa e num tempo relativamente curto.

Essas análises têm sido utilizadas na área farmacêutica como ferramenta útil para avaliar rapidamente uma possível interação entre os componentes ativos e os excipientes em estudos de compatibilidade na pré-formulação (CORREIA et al., 2012).

A Figura 6 mostra os eventos térmicos do pó das folhas da *A. chica*. Através da curva TG verifica-se que a perda de massa ocorreu em três eventos. A curva DTA mostra três eventos endotérmicos. Os eventos de perda de massa são evidenciados pela curva DTG, onde no intervalo de 41-85°C, ocorreu uma perda de massa de 8%, que corresponde à perda de voláteis, majoritariamente a água presente no material vegetal. Esse valor equivale ao obtido na análise da perda por dessecação em estufa que foi de 9.7% a 105°C, mostrando que a termogravimetria pode fornecer uma estimativa da água residual presente no material após seu preparo. O segundo evento é quando acontece o início da decomposição do material propriamente dito, onde se destaca a maior perda de massa (51%), evidenciada pelo pico da DTG no intervalo 265-350°C. Em relação a outros materiais de mesma origem essa faixa está dentro do esperado, pois é nela que ocorre a degradação da maioria dos compostos orgânicos presentes na mistura complexa da droga vegetal. A terceira etapa de degradação ocorreu entre 442-556°C até a formação de resíduos não degradáveis. A perda de massa observada nesse intervalo é de 30% e esse percentual é relativo à degradação dos grupos químicos que são mais estáveis ou que possuem a força de ligação entre as moléculas maior do que as observadas no segundo evento desta figura.

Após a caracterização do pó das folhas de *A. chica*, preparou-se a tintura usando como líquido extrator uma solução etanol : água (70:30, v/v). O método utilizado para a obtenção da tintura foi a percolação, pois permite a extração dos seus constituintes até a exaustão.

Para avaliar a eficiência do método extrativo utilizado, foi determinado o teor de sólidos por litro de tintura obtido durante a extração. Observou-se uma redução

no teor de sólidos, e nos frascos 9 e 10, ausência de sólidos suspensos nas amostras de tintura analisadas mostrando que houve um esgotamento no conteúdo de sólidos pelo método utilizado (Tabela 3).

A aplicação das tinturas obtidas a partir de drogas vegetais pode ser diretamente como produto terapêutico, ou como intermediário para a fabricação de produtos secos por aspersão, sendo estes bastante utilizados na produção de fitoterápicos. As tinturas devem passar por vários ensaios, dentre eles: identificação, características organolépticas, densidade, resíduo seco, determinação do teor alcoólico e doseamento de marcadores químicos, como taninos, flavonóides, entre outros (FONSECA, LIBRANDI, 2008).

Nas etapas de caracterização físico-química da tintura de *A. chica*, foram determinados o pH, densidade aparente, teor de sólidos e teor alcoólico (Tabela 4). Segundo Maciel et al. (2006), o pH é um dos fatores que determina a estabilidade de formulações e o valor encontrado para a tintura de *A. chica* foi de 5.89. O valor da densidade aparente da tintura foi 0.89, o qual encontra-se dentro dos limites preconizados para tinturas fitoterápicas (0,87 a 0,98 g/cm<sup>3</sup>) (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1990).

O valor obtido para o teor de sólidos da tintura de *A. chica* foi de 1.78%. A concentração de sólidos presentes no líquido de alimentação exerce grande impacto sobre a eficiência da operação de secagem. A concentração de sólidos tem importância sobre vários aspectos, como a utilização adequada do calor no processo de secagem e o uso de adjuvantes visando a formação de partículas maiores e para melhorar o rendimento do processo. O aumento no conteúdo de sólidos eleva a viscosidade, resultando em pós com maior densidade (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Nas etapas de caracterização da tintura foi determinado o perfil reológico. Uma compreensão adequada das propriedades reológicas de materiais farmacêuticos é essencial à preparação, ao desenvolvimento, à avaliação e ao desempenho das formas farmacêuticas (MARRIOT, 2005).

O perfil reológico da tintura de *A. chica* demonstrou características de fluido Newtoniano, que independente da velocidade de deformação aplicada sobre o fluido, a viscosidade permanece constante (Figuras 7 e 8).

Na prospecção química da tintura de *A. chica* foi detectada a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: açúcares redutores, alcalóides,

antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, esteróides e triterpenóides, fenóis, flavanonas, flavanonóis, flavonóis, saponinas e taninos catéquicos (Tabela 5). Os metabólitos encontrados corroboram com os estudos de Alves (2008).

Na etapa de caracterização química da tintura e do EC, foram determinados os teores de flavonoides, polifenóis e taninos totais para estabelecer parâmetros de controle químico de todas as etapas do processo de secagem por *spray dryer*.

Os flavonoides são compostos da classe dos polifenóis comumente encontrados em várias espécies vegetais como a *A. chica* e responsáveis pela atividade biológica e antioxidante dessas espécies. Foi feita a quantificação dos Flavonóides Totais por espectrometria no UV, utilizando o  $\text{AlCl}_3$  como agente de deslocamento batocrômico (SOUZA, 2007). O cátion Alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides, ocorrendo, na análise espectrofotométrica, um desvio para maiores comprimentos de onda e um aumento na absorção.

Os resultados foram expressos em base seca e mostram os valores para flavonoides totais de 5.16 % ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) na tintura e 2.55 % ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) no EC (Tabela 6). Portanto, houve uma redução no teor desses metabólitos no EC em relação à tintura.

O teor de polifenóis totais foi determinado empregando o método de Folin-Denis que consiste na redução do ácido fosfomolibídico-fosfotungico pelos compostos fenólicos em meio básico produzindo uma coloração azul intensa a qual é mensurada por espectrofotometria em comprimento de onda de 750 nm (BOTT, 2008).

Os resultados (expressos em base seca) mostram os valores para polifenóis totais de 22.11% ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) na tintura e 15.21% ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) no EC, evidenciando a degradação desses metabólitos no EC em relação à tintura (Tabela 6).

O teor de taninos totais na tintura foi determinado empregando o método de Folin-Denis através da determinação relativa entre o teor de polifenóis nas amostras antes e após reação de precipitação dos taninos com a caseína (BOTT, 2008).

Os resultados para os taninos totais mostram os valores de 13.40% ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) na tintura e 7.70% ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ) no EC, apresentando uma perda desses compostos na etapa de concentração (Tabela 6).

A etapa de concentração dos princípios ativos em evaporador rotativo com temperatura em torno de 50°C e pressão reduzida (750 mmHg) leva a degradação de 50% para Ft, 31% para Pt e 42% para Tt. Esta degradação pode estar

relacionada a perdas de substâncias que são sensíveis ao calor pelo qual a amostra é submetida ao longo do tempo de concentração. Pode também estar acontecendo reações de oxidação de substâncias.

O controle de qualidade microbiológico é outro aspecto relevante durante o processo de produção de extratos secos. Uma grande vantagem do processo *spray dryer* é que a secagem ocorre em condições assépticas evitando possíveis contaminações durante o processamento, podendo-se assumir que uma contaminação bacteriana final procede essencialmente da planta original ou após o processamento, pela manipulação humana (REMILI et al., 1994). Fatores como poluição na água de irrigação, atmosfera, solo, condições de coleta, manipulação, secagem e estocagem são importantes a serem considerados no controle de produtos naturais, por permitirem altos níveis de contaminação microbiana, por vezes patogênica (BUGNO et al, 2005).

A análise microbiológica do pó e da tintura de *A. chica* foi feita para verificar se o método extrativo e o solvente utilizado produziram uma solução extrativa isenta dos contaminantes previstos nos compêndios oficiais. Os experimentos seguiram conforme a metodologia empregada para produtos não-estéreis (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010; PINTO, KANEKO, PINTO, 2010).

Nas amostras do pó e da tintura de *A. chica*, efetuou-se a contagem de bactérias e fungos totais pela técnica da semeadura em superfície. Após o período determinado de incubação, nas amostras do pó das folhas, observou-se que o número de bactérias totais foi maior que  $10^5$  e de fungos totais, maior que  $10^3$ , conforme demonstrado na Tabela 7 e Figura 9. Esses resultados encontram-se acima dos limites estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde, que é de no máximo  $10^5$  UFC/g e  $10^3$  UFC/g, para bactérias e fungos, respectivamente (WHO, 1998).

Nas amostras da tintura, entretanto, observou-se que não houve crescimento de fungos e bactérias, mostrando as vantagens do método extrativo e do uso da solução etanol : água (70:30 v/v) como solução extrativa na produção de tinturas (Tabela 7 e Figura 10).

Outro método utilizado para a contagem de microrganismos foi a do número mais provável (NMP), que baseia-se em estimativa, fundamentada em probabilidade. Assim, indica o valor dentro de uma faixa que reflete o número de microrganismos presentes. Embora apresente imprecisão maior que os outros métodos descritos,



ainda recomenda-se inclusive como método oficial no controle microbiológico de medicamentos, cosméticos, alimentos e águas (PINTO, KANEKO, PINTO, 2010).

Os resultados pelo método do NMP mostram que, nas amostras do pó das folhas houve turvação do meio em todos os tubos, nas condições analisadas, tanto para fungos quanto para bactérias. No entanto, nas amostras de tintura de *A. chica*, não houve turvação em nenhum dos tubos.

Considerando que houve turvação nos três tubos de todas as diluições analisadas com amostras do pó das folhas, o resultado do número mais provável de bactérias totais é  $> 2 \times 10^4$  UFC/g (mL). O mesmo resultado vale para a contagem de fungos totais.

Nas amostras de tintura, ao contrário do que foi observado no pó das folhas de *A. chica*, não houve turvação do meio para bactérias e para fungos. Nesse caso, o resultado do número mais provável de bactérias totais é  $< 3$  UFC/g (ml). O mesmo resultado vale para a contagem de fungos totais.

O método do NMP é uma técnica indicada para amostras com baixa carga microbiana e foi limitado pela tabela estatística utilizada (3 tubos e 3 diluições), não correspondendo ao total de microrganismos viáveis presentes nas amostras do pó das folhas de *A. chica*, conforme indicam os resultados observados pela técnica de semeadura da amostra em superfície ( $> 10^5$ ).

A técnica de secagem por aspersão ou *spray drying* é bastante difundida na área de produção de fitoterápicos por gerar produtos com alta qualidade física, físico-química e microbiológica. A técnica envolve a retirada de água e solventes presentes no material de entrada, diminuindo os riscos de reações químicas e microbiológicas. Outras vantagens são produtos de mais fácil padronização, maior concentração de compostos ativos e mais elevada capacidade de transformação em diferentes tipos de formas farmacêuticas sólidas (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Os extratos secos por *spray dryer* de *A. chica* foram obtidos em condições operacionais fixadas otimizadas em trabalho anterior desenvolvido por Souza (2003), visando a identificação da influência da formulação de secagem nas propriedades físico-químicas do produto seco obtido e no desempenho do secador.

Foram obtidos quatro extratos secos por *spray dryer*, a partir do extrato concentrado de *A. chica* (EC), contendo diferentes proporções dos adjuvantes de secagem, maltodextrina (MD) e goma arábica (GA), calculados em base seca. Os produtos secos foram denominados de ES1, ES2, ES3 e ES4 e as formulações de

secagem empregadas foram as seguintes: ES1 (25%EC : 75% MD); ES2 (25%EC : 50%GA : 25%MD); ES3 (25%EC : 75%GA); ES4 (25%EC : 25%GA : 50%MD).

O desempenho do processo de secagem por *spray dryer* foi avaliado quanto à temperatura de saída do ar de secagem (Tgs), recuperação do produto seco (Rec) e à porcentagem de elutriação e acúmulo (perdas durante o processo).

Os resultados obtidos quanto ao desempenho do processo de *spray dryer* estão apresentados na Tabela 15.

A taxa de recuperação do produto (Rec) foi definida pela relação percentual entre a massa de pó total coletada pelo ciclone e a massa de sólidos alimentada ao sistema (SOUZA, 2003). O extrato seco ES4 (25% EC : 25% GA : 50% MD) foi o que apresentou a melhor taxa de recuperação 65,06 %, seguido do extrato seco ES1 (25% EC : 75% MD) que apresentou valores de recuperação de 59,19 %. Quando utilizou-se blendas destes dois adjuvantes (ES2) e a goma arábica pura (ES3) observou-se uma queda na eficiência de produção do pó e maior aderência deste nas paredes da câmara de secagem. Para estas duas formulações (ES2 e ES3), obteve-se elevados valores de perdas do produto, respectivamente 65,06% e 51,38 %.

Elevados valores de perdas de produto durante o processo de secagem por *spray drying* estão relacionados a aderência do material as paredes do secador ou por arraste com o ar de exaustão do pó fino que não consegue ser coletado pelo ciclone (diâmetro de corte do ciclone).

A eficiência térmica é um parâmetro usualmente empregado para a otimização do secador *spray dryer* (BEVERIDGE, LYNE, 1976). Maiores valores de eficiência térmica são obtidos quando mais próximo da temperatura de saturação for o valor da temperatura de saída do gás de secagem. Porém, na maioria das vezes o processo é limitado não pela eficiência térmica, mas pela habilidade de adequadamente secar o produto. Os valores de eficiência térmica calculados para a secagem das quatro formulações ficou entre 36,13 % a 39,33%, os valores encontram-se bem próximos, o que é esperado visto que as variáveis operacionais de secagem foram fixadas para todos os experimentos.

Inicialmente, os extratos secos obtidos foram caracterizados quanto a umidade residual por Karl Fischer (Ukf), atividade de água (Aw), teor de flavonoides totais (Ft), polifenóis totais (Pt) e taninos totais (Tt). Os resultados obtidos para estas determinações estão apresentados na Tabela 10.

O teor de umidade residual é um parâmetro importante a ser determinado nas formas farmacêuticas sólidas, uma vez que, altos teores de umidade podem favorecer o crescimento microbiológico e a degradação química de constituintes reduzindo sua atividade biológica. O uso de adjuvantes tecnológicos é uma prática muito comum no âmbito da secagem por *spray dryer*, pois interfere nas propriedades dos produtos obtidos, inclusive na umidade residual. A temperatura de saída é outro fator que pode interferir na umidade residual e está relacionada ao processo de secagem. A umidade e as temperaturas do processo também estão relacionadas às diferenças morfológicas do produto final seco.

Os métodos Karl Fischer (UKf) e atividade de água ( $A_w$ ) são bastante utilizados e precisos na medição da água livre em produtos farmacêuticos. Os extratos secos apresentaram valores de umidade na faixa de 2,77 a 4,69 % estando dentro do especificado para extratos secos que deve ser menor que 10 % (SOUZA, 2003).

A atividade de água no produto é um parâmetro de grande importância, pois relaciona-se com a água presente no material que está disponível para o crescimento de microorganismos (fungos, bolor) e para ocorrência de reações de degradação enzimática e outras. A atividade de água de todos os extratos secos ficou abaixo de 0,2. Este excelente resultado encontrado não se enquadra nas condições ótimas para o crescimento de fungos e bactérias visto que um valor de atividade de água inferior a 0,5 pode evitar o crescimento microbiano.

Adicionalmente, foram analisados os flavonoides totais, polifenóis e taninos totais como controle químico do processo. Os valores de flavonoides totais determinados para os extratos secos foram de 1,36 a 1,94 % ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ). Já para os polifenóis totais na faixa de 6,75 a 7,94 % ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ). Para a quantificação dos taninos totais os valores ficaram em torno de 2,08 a 3,65 % ( $\text{mg/g}_{\text{ext}}$ ).

Comparando os valores das substâncias marcadoras dos ES em relação ao EC, observa-se um percentual de degradação de flavonoides totais na faixa de 24 a 46%, de polifenóis totais na faixa de 48 a 56%, e de taninos totais de 53 a 72%. Essas perdas podem estar associadas à degradação térmica quando submetidas ao processo de secagem, o qual utiliza temperaturas em torno de 100 a 200°C. Além disso, os compostos ativos podem sofrer oxidação por ficar em contato com a corrente de ar durante o secagem no *spray dryer*.

A observação das corridas dos padrões, da tintura, do EC e dos ES de *A. chica* mostra que todas as amostras analisadas apresentam os padrões luteolina e canferol, o que é um indício que o processo de secagem não causou a perda destes compostos (Figura 13). Isso demonstra também a eficiência do processo e das condições selecionadas. A técnica de CCD se mostrou valiosa para o controle da qualidade das diferentes etapas de produção do extrato seco. É uma análise rápida, simples e relativamente barata e que propicia o acesso ao resultado em poucos minutos.

A análise dos histogramas dos extratos secos por *spray dryer* revela que eles possuem uma ampla distribuição granulométrica, ficando a maior concentração de partículas em torno de 5 a 15  $\mu\text{m}$  (Figura 12). A Tabela 12 apresenta os valores de diâmetro médio das partículas e pode-se observar que todos os extratos secos apresentaram valores em torno de 10  $\mu\text{m}$ . Os resultados de distribuição granulométrica mostram que, a maior parte das partículas estão concentradas em uma estreita faixa de distribuição. Alguns aspectos relacionados ao material de entrada influenciam diretamente no tamanho das partículas, como a viscosidade, o teor de sólidos, a tensão superficial do fluido a secar, além do fluxo de alimentação.

O aspecto macroscópico dos extratos secos revelou pós finos de coloração vermelho-acastanhada, característica da tintura de *Arrabidaea chica*. Todos os extratos mostraram-se com tendência a aglomeração e ao empacotamento (Figura 14).

Os extratos secos de *A. chica* foram avaliados quanto a suas características farmacotécnicas através dos índices de fluidez e de acomodação dos pós (Tabela 12).

A fluidez do extrato seco influencia no comportamento do produto durante o empacotamento, manipulação, e posterior processamento, tornando sua medida importante. Vários fatores influenciam a fluidez como forças friccionais, forças eletrostáticas, forma da partícula (forças mecânicas), tensão superficial, entre outras (RAMOS, 2011).

A densidade bruta depende da forma, tamanho médio das partículas, de sua distribuição granulométrica e permite determinar o tamanho de recipiente de estocagem e transporte. Os extratos apresentaram valores de densidade bruta entre 0.21 e 0.29 g/mL (Tabela 12).

A densidade de compactação além do tamanho médio das partículas e de sua distribuição granulométrica, também depende do adjuvante utilizado e da morfologia do pó (RAMOS, 2011). Os valores para todos os extratos secos ficaram entre 0.29 e 0.38 g/mL.

O fator de Hausner é determinado pelo quociente entre as densidades de compactação e a densidade bruta. Ele está relacionado com o atrito entre as partículas e, portanto, depende da fricção interpartículas e do seu tamanho e forma. Para valores menores de 1,25, o fator de Hausner indica bom escoamento, enquanto que para valores acima disto indica um material que apresenta dificuldade para escoar e não apresenta boas características de compressibilidade, o que acontece com todos os extratos secos obtidos que se encontram acima do valor limite (entre 1,30 a 1,35) (Tabela 12).

O índice de Carr (ou de compressibilidade) é uma medida indireta de fluidez e compactação, sendo influenciado pelo diâmetro médio das partículas e dos adjuvantes utilizados. Valores abaixo de 15 % indicam escoamento adequado, ou seja, boa fluidez, proporcionando maior reprodutibilidade durante o enchimento de máquinas de compressão e invólucros de cápsulas, enquanto que valores acima de 25 % caracterizam pós de baixa fluidez. O extrato ES4 teve um valor de 23% indicando uma característica intermediária de fluidez, enquanto que o ES1, ES2 e ES3 tiveram valores compreendidos entre 25,74 e 26,19 encontrando-se acima do limite de 25%, indicando pós de baixa fluidez (AULTON, 2006) (Tabela 12).

As propriedades de fluidez de pós podem ser facilmente alteradas pela seleção e adição racional de excipientes farmacotécnicos visando alcançar as características desejadas.

O ângulo de repouso ( $\alpha$ ) fornece dados de fluxo dos pós, e depende essencialmente da fricção interparticular. Valores menores que 25° caracterizam um fluxo excelente; entre 25° e 30°, fluxo bom; entre 30° e 40°, fluxo aceitável e acima de 40°, fluxo pobre (HEBERLÉ et al., 2000). Os valores de ângulo de repouso encontrados, compreendidos entre 44,66 e 46,61, caracterizam os extratos secos como de fluxo pobre e grande fricção interparticular (Tabela 12).

Analisando os resultados dos índices de fluidez e de acomodação dos pós dos extratos secos de *A. chica*, pode-se observar que são pós de baixa fluidez, não apresentam bom escoamento e características de compressibilidade.

Fotomicrografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foram obtidas para os extratos secos de *A. chica* em diferentes resoluções (2000, 5000 e 10000x). O objetivo desta análise foi observar as características intrínsecas ao pó seco em *spray drying*, como a forma e a superfície das partículas, em função dos adjuvantes utilizados nas formulações de secagem.

As fotomicrografias obtidas evidenciaram a heterogeneidade dos extratos produzidos, apresentando partículas de diferentes dimensões e formas (Figuras 15 e 16). As partículas dos extratos secos de *A. chica* apresentaram superfície heterogênea, lisa e rugosa, embora os extratos secos produzidos em *spray dryer*, em geral, apresentem partículas de formato mais arredondado.

A Figura 17 mostra os eventos térmicos do adjuvante goma arábica (GA). A curva TG, mostra que a perda de massa ocorreu em três eventos. A curva DTA apresenta três reações, uma endotérmica e duas sucessivas reações exotérmicas. Através da DTG, são evidenciadas as reações de perda de massa, onde no intervalo de 36-94°C, o percentual de degradação foi de 14%. No segundo evento ocorre a perda de massa propriamente dita, que corresponde a 51%, como pode ser observada através do pico da DTG, no intervalo 294-319°C. No último evento ocorrido entre 428-577°C a perda de massa observada é de 31% relativa à degradação final do material, confirmada pela liberação de energia nesse estágio decorrente da reação exotérmica.

De acordo com a curva TG do adjuvante maltodextrina (MD), observam-se três eventos de perda de massa. A curva DTA mostra três reações endotérmicas. Através da DTG, são evidenciados os eventos de perda de massa, onde o primeiro ocorre na faixa de temperatura entre 43-105°C, com perda de massa desse intervalo de 7%. No intervalo de 268-308°C, correspondente ao segundo evento, evidencia-se uma perda de massa igual a 67%. No último evento ocorrido entre 476-532°C a perda de massa observada é de 24% (Figura 18).

Na Figura 19, a curva TG do ES1 apresenta três eventos de degradação térmica. No intervalo entre 36-73°C, a perda de massa foi de 8%. A decomposição térmica do ES1 ocorre a 184°C evidenciando uma perda de massa igual a 20% ao final do intervalo, a uma temperatura de 217°C. No último evento ocorrido entre 401-511°C a perda de massa observada é de 17%. A curva DTA mostra três reações endotérmicas.

Conforme a Figura 20, a curva TG do ES2 mostra três eventos de perda de massa. No intervalo entre 25-45°C, a degradação é de 10%. No intervalo de 186-214°C, referente ao segundo evento, evidencia-se uma perda de massa igual a 11%. No último evento ocorrido entre 252-319°C o percentual de degradação é de 48%. A curva DTA mostra três reações endotérmicas. Observa-se que o extrato ES2 possui a repetição das reações exotérmicas tanto da MD, como da GA, porém em menor intensidade. Dessa forma, pode-se dizer que houve uma boa interação entre os adjuvantes e o extrato de *A. chica*.

A degradação térmica do ES3 ocorre em três etapas como mostra a Figura 21. A curva DTA evidencia três reações, sendo a primeira endotérmica, a segunda e a terceira exotérmicas. Na faixa de temperatura de 43-73°C, a perda de massa corresponde à 11%. No intervalo de 268-319°C, o percentual de perda é de 62% e entre 422-456°C, de 21%. Nessa figura é possível visualizar que a interação da GA na formulação do extrato vegetal determinou a maior intensidade das reações exotérmicas.

A curva TG do ES4 apresenta três eventos de degradação. A curva DTA mostra três reações, sendo a primeira endotérmica, a segunda e a terceira exotérmicas. Na faixa de temperatura entre 40-80°C, a perda de massa é de 8%. No intervalo de 202-216°C, referente ao segundo evento, evidencia-se uma perda de massa igual a 15% e no último evento, 406-495°C, 14% (Figura 22). A mesma figura mostra que houve uma maior interação nas proporções dos adjuvantes nesta formulação, pois as reações exotérmicas estão contemplando aproximadamente 50% do que observado nos adjuvantes isolados, dessa forma a interação foi realizada com sucesso e não suprimiu o evento.

O perfil espectroscópico na região do infravermelho (IV) do pó das folhas de *A. chica*, foi obtido com o objetivo de inferir sobre a composição química da planta. O espectro obtido na região do IV forneceu um agregado rico de bandas de absorção (Figura 23). A análise das bandas características de determinados grupos funcionais de uma molécula fornece, através de um simples exame do espectro e consulta a tabelas de dados, um conjunto valioso de informações sobre a estrutura da molécula (BARBETTA; MAGINI, 2006).

Os espectros na região do IV para o pó e para o ES4 apresentaram bandas de absorção forte e redonda na região de 3238 cm<sup>-1</sup> característica da vibração de deformação axial O-H (de alcoóis e fenóis). Uma banda de absorção forte e dupla na

faixa de  $2922,09\text{cm}^{-1}$  que pode ser relacionada a vibrações de estiramento C-H. Uma banda de absorção na região de  $1605\text{cm}^{-1}$  que pode ser relacionada a nitratos ou vibrações de estiramentos cetonas (diacetonas enólicas) e nota-se também na região de  $1038\text{cm}^{-1}$  relacionada a compostos de enxofre, característica de ácidos sulfônicos. Por fim, há uma banda de absorção na região próxima de  $541\text{cm}^{-1}$  característica de compostos halogenados, mais especificamente de vibrações de estiramento C-I (Tabela 13).

Dessa forma acredita-se que os grupos funcionais como aldeídos, nitratos, ácidos sulfônicos, alcoóis e fenóis correlacionados pelas suas regiões de absorção correspondentes à deformação axial de vários tipos de ligação, anteriormente citados como possivelmente presentes no pó do vegetal, manteve-se no ES4 (extrato seco por *spray dryer*). O que mostra que o método de análise é válido no auxílio do controle de qualidade de produtos obtidos por secagem em aspersão (*spray dryer*).

As propriedades antioxidantes do extrato concentrado (usado como controle) e dos extratos secos de *A. chica* foram analisadas pelos métodos DPPH e Quimioluminescência.

O método DPPH mede a habilidade que uma substância tem de sequestrar o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), doando um átomo de hidrogênio. Essa reação provoca o descoloramento de uma solução composta pelo radical estável, de cor violeta, na presença dessa substância.

O método da quimioluminescência foi usado para avaliar a atividade sequestradora de radical superóxido pelos extratos de *A. chica*. Neste sistema, a reação xantina/xantina oxidase, produz o radical superóxido que por sua vez oxida o luminol. A oxidação do luminol emite luz que é detectada por luminômetro, sendo que o sequestro do radical superóxido pelos extratos de *A. chica*, leva a uma diminuição da luz emitida.

Os resultados foram expressos em  $\text{IC}_{50}$  (concentração necessária para inibir a oxidação em 50%) e em percentual de inibição máxima e utilizados para interpretar os dados experimentais. Foram usados como padrões de referência os flavonoides Luteolina e Quercetina, antioxidantes naturais.

A Tabela 8 mostra os resultados da inibição do radical DPPH para a tintura, extrato concentrado (EC) e para os padrões Quercetina e Luteolina. O valor de  $\text{IC}_{50}$  para a tintura,  $16,61\text{ }\mu\text{g/mL}$ , correspondeu praticamente à metade do valor do extrato



concentrado, 32,75 µg/mL. Esse valor pode estar relacionado diretamente com a perda significativa de compostos antioxidantes durante o processo de desidratação da tintura, etapa que antecedeu a secagem por *spray dryer*.

A Tabela 14 apresenta os resultados de atividade antioxidante obtidos para os extratos secos de *A. chica* pelos dois métodos.

A atividade antioxidante dos extratos secos de *A. chica*, medida pelo método DPPH, apresentou valores entre 32,17 a 44,53 µg/mL. Os extratos secos ES1, ES2 e ES3 apresentaram valores de IC<sub>50</sub> bem próximos aos encontrados para o extrato concentrado (32,75 µg/mL), mostrando que o processo de secagem por *spray dryer* não afetou as propriedades antioxidantes dos extratos. O ES4 (25% EC : 25% GA :50% MD) apresentou um maior valor de IC<sub>50</sub> de 44,53 µg/mL, mostrando uma possível influência da formulação de secagem na atividade antioxidante já que os parâmetros operacionais se mantiveram fixados. Os cálculos de IC<sub>50</sub> tiveram os valores corrigidos devido à presença dos adjuvantes.

Os extratos secos de *A. chica* inibiram a quimioluminescência apresentando valores de IC<sub>50</sub> de 1,08 a 1,85 (µg.mL<sup>-1</sup>). Esses resultados podem estar relacionados com a presença de compostos fenólicos, entre eles os flavonoides luteolina e canferol, presentes na espécie *A. chica* e que apresentam atividade antioxidante (AMARAL et al., 2006).

Na análise colorimétrica, todas as amostras apresentam valores positivos de a\*, indicando prevalência da tonalidade avermelhada, e valores positivos de b\*, que apontam para tonalidades amareladas. Em relação à cor, as amostras se apresentam bastante homogêneas, visto que o croma C\* varia de 58 a 66. Esta tonalidade vermelho-amarelada remete à coloração natural dos extratos (tintura) de *A. chica* que apresentam coloração vermelha intensa, o que torna o produto comercialmente apresentável.

## 7. Conclusões

---

## 7 CONCLUSÕES

A análise dos resultados experimentais obtidos permite a obtenção de várias conclusões abordando os aspectos de seleção e controle de qualidade da amostra vegetal que apresenta maior teor de ativos, o processo extrativo, avaliação da atividade antioxidante e o processamento e obtenção de extratos secos padronizados. A seguir apresentam-se as conclusões obtidas nas condições experimentais analisadas.

- O material vegetal estabilizado foi caracterizado quanto a distribuição granulométrica obtendo-se valores de tamanho médio de partículas de 355  $\mu\text{m}$ , sendo classificado como pó grosso de acordo com a Farmacopéia Brasileira V (2010).

- O percentual de perda por dessecação encontrado para a droga vegetal foi de 9,7%  $\pm$  0,28 e está de acordo com o que preconiza a Farmacopéia Brasileira V (2010) que estabelece o limite de 8 a 14% de teor de umidade em drogas vegetais.

- O controle de qualidade microbiológico do material vegetal mostrou que houve crescimento de fungos e bactérias em todas as amostras do pó analisadas, com valores de  $1,3 \times 10^5$  para bactérias totais e  $1,7 \times 10^3$  para fungos totais.

- As metodologias empregadas na determinação do teor de princípios ativos (flavonoides totais, polifenóis totais e taninos) da solução extrativa, extrato concentrado e extratos secos se mostraram eficientes proporcionando a determinação do teor com um baixo nível de erro estimado.

- A tintura de *A. chica* obtida por percolação foi caracterizada obtendo-se valores de pH de 5,89 e densidade aparente 0,89  $\text{g/cm}^3$ .

- Na abordagem fitoquímica da tintura foi detectado a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: açúcares redutores, alcalóides, antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, esteróides e triterpenóides, fenóis, flavanonas, flavanonóis, flavonóis, saponinas e taninos catéquicos.

- A etapa de concentração da solução extrativa utilizando evaporador rotativo levou ao aumento do teor de sólidos de  $1,78 \% \pm 0,38 \%$  para  $3,94 \% \pm 0,09 \%$ . Como o método se utiliza de calor e pressão pode ocorrer degradação dos princípios ativos, fato que não foi observado para todos os marcadores químicos.

- A taxa de degradação térmica para os flavonoides totais, polifenóis totais e taninos totais foi determinada através da relação percentual entre o teor de ativo na solução extrativa pelo teor de ativos no extrato concentrado. Para o teor de flavonoides totais obteve-se uma degradação da ordem de 50,58%. Já para os polifenóis totais e taninos totais obteve-se valores de 31,20% e 42,54%, respectivamente.

- O resultado da contagem do número total de bactérias e fungos em amostras da tintura de *A. chica* pelo método da semeadura em superfície mostrou que nas amostras da tintura não houve crescimento de fungos e bactéria.

- A atividade antioxidante da tintura e do extrato concentrado de *A. chica* foi determinada pelo método de seqüestro do radical DPPH e expressas pelo  $IC_{50}$  sendo os valores obtidos de  $16,61 \pm 1,63 \mu\text{g/mL}$  para a tintura e  $32,75 \pm 1,67 \mu\text{g/mL}$  para o extrato concentrado. Observa-se que a etapa de concentração fez com que o extrato concentrado perdesse aproximadamente 50% da sua atividade antioxidante.

- Os extratos foram secos em *spray drying* na presença de maltodextrina, goma arábica e de blendas destes dois adjuvantes.

- Os extratos secos apresentaram valores de umidade na faixa de 2,77 a 4,69 % estando dentro do especificado para extratos secos que deve ser menor que 10 %.

- Os valores de atividade de água para todos os extratos secos ficou abaixo de 0,2 um resultado favorável à estabilidade, já que nesse valor o crescimento de organismos fica impossibilitado e a velocidade de reações de escurecimento não-enzimático é baixa.

- Os valores de flavonoides totais determinados para os extratos secos foram de 13,61 a 19,44 % (mg/g<sub>ext</sub>). Já para os polifenóis totais obteve-se valores na faixa de 6,75 a 7,94 % (mg/g<sub>ext</sub>). E para a quantificação dos taninos totais obteve-se valores entre 2,08 a 3,65 % (mg/g<sub>ext</sub>).

- Os extratos secos foram analisados por CCD onde a observação das corridas do padrão, da tintura e dos extratos secos de *A. chica* mostram que todas as amostras analisadas apresentam o padrão luteolina e o padrão canferol o que é um indicio que o processo de secagem não causou a perda destes compostos. A técnica de CCD se mostrou valiosa para o controle da qualidade das diferentes etapas de produção do extrato seco. É uma análise rápida, simples e relativamente barata e que propicia o acesso ao resultado em poucos minutos.

- A distribuição granulométrica mostra que os extratos secos obtidos possuem uma ampla distribuição granulométrica, ficando a maior concentração de partículas em torno de 5 a 15  $\mu\text{m}$  sendo que todos os extratos secos apresentaram diâmetro médio em torno de 10  $\mu\text{m}$ .

- Em geral os extratos secos apresentam características intermediárias de fluidez e compressibilidade. As propriedades de fluidez de pós podem ser facilmente alteradas pela adição de aditivos farmacotécnicos visando alcançar as características de fluxo desejadas.

- Para valores menores de 1,25, o fator de Hausner indica bom escoamento, enquanto que para valores acima disto indicando um material que apresenta dificuldade para escoar e não apresenta boas características de compressibilidade, o que acontece com todos os extratos secos obtidos (entre 1,30 a 1,35), que se encontram acima do valor limite 1,25.

- A fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciam a heterogeneidade dos extratos produzidos, apresentando partículas de diferentes dimensões e formas. Os extratos secos produzidos em *spray dryer* em geral apresentam partículas de formato mais arredondado.

- A atividade antioxidante (expressa por IC<sub>50</sub>) dos extratos secos apresentou valores entre 32,17 a 44,53 µg/mL. Os extratos secos ES1, ES2 e ES3 apresentaram valores de IC<sub>50</sub> bem próximos aos encontrados para o extrato concentrado (32,75 ± 1,67 µg/mL). O extrato seco ES4 que foi obtido com a mistura de adjuvantes goma arábica e maltodextrina (25:50) apresentou um maior valor de IC<sub>50</sub> de 44,53 µg/mL.

- O extrato seco ES4 composto de extrato concentrado e dos adjuvantes goma arábica e maltodextrina na proporção de 25:50 (base de sólidos) foi o que apresentou a melhor taxa de recuperação 65,06 %, seguido do extrato seco ES1 composto de extrato concentrado e do adjuvante maltodextrina na proporção de 25:75 (base de sólidos) que apresentou valores de recuperação de 59,19 %. Quando utilizou-se blendas destes dois adjuvantes (extrato seco ES2) e a goma arábica pura (extrato seco ES3) observou-se uma queda na eficiência de produção do pó e maior aderência deste nas paredes da câmara de secagem. Para estas duas formulações (ES2 e ES3), obteve-se elevados valores perdas do produto, respectivamente 65,06% e 51,38 %.

- A análise colorimétrica pode ser uma importante ferramenta para a avaliação da qualidade (aparência visual) e da estabilidade de extratos secos padronizados, visto que os extratos apresentam substâncias coloridas que podem sofrer processos de degradação levando a alterações significativas no aspecto do produto. A partir da análise colorimétrica realizada para os extratos secos de *A. chica* pode-se observar pequena variação nos parâmetros avaliados (L, a\*, b\*). Esses parâmetros comprovaram a coloração vermelha-amarelada.

- A eficiência térmica é um parâmetro usualmente empregado para a otimização do secador *spray dryer*. Os valores de eficiência térmica calculados para a secagem das quatro formulações ficou entre 36,13 % a 39,33%, os valores encontram-se bem próximos, o que é esperado visto que as variáveis operacionais de secagem foram fixadas para todos os experimentos.

## Referências

---

## REFERÊNCIAS

ALVES, M.S.M. **Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré-formulação da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verlt.** 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém. 2008.

AMARAL, R. R. et al. **Estudo Fitoquímico e Atividade Antioxidante em extratos de folhas de *Arrabidaea chica*** In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 29<sup>a</sup>. 2006. Águas de Lindóia- SP. Resumos.

ARAÚJO, A. A. S., et al. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 42 (2): Abr/Jun. 2006.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2<sup>a</sup> edição, Editora Artmed, 2006.

BARBETTA, C.M.; MAGINI, M.R. Espectros eletromagnéticos na região do infravermelho: utilização na caracterização de novos materiais. In: **X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**. São José dos Campos. Universidade Vale do Paraíba. v 13, p. 304-307, 2006.

BARBOSA, W.L. R. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais, Belém-PA: Revista Científica da UFPA, 2001. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/rcientifica>> v. 4, 2004. Acesso em: Novembro, 2010.

\_\_\_\_\_. et al. *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18 (4): 544-548, Out/Dez, 2008.

BEVERIDGE, G.S.G.; LYNE, C.W. Continuous Vacuum Band Dryer, Chem. Eng., Vol 311, p. 531, 1976.

BORGES, D. B., et al. Comparação das metodologias da Farmacopéia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 15(3): 229-236. Jul./Set.2005.

BORGES,L.; SCILIAR, M.; ALMEIDA,S. Biodiversidade Brasileira e Produtos Industriais, Belo Horizonte: UFMG, 2003. Disponível em: <<http://www.icb.ufmg.br/~ibem/aulas/grad/tge/biodiv/2002/prodindust/>>. Acesso em: 22 Abril 2011.

BOTT, R.F. **Influência do processo de obtenção, das condições de armazenamento e das propriedades físico-químicas sobre a estabilidade de extratos secos padronizados de plantas medicinais**. 2008. Tese de Doutorado (PPGCF- FCFRP). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo. 182 p.



BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RE nº 899 de 29 de Maio de 2003. **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**. Diário Oficial da União. Brasília, 02 de Junho de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RDC nº 88 de 16 de Março de 2004. **Dispõe sobre a Lista de Referências Bibliográficas para Avaliação de Segurança e Eficácia de Fitoterápicos**. Diário Oficial da União. Brasília, 18 de Março de 2004a.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RDC nº 89 de 16 de Março de 2004. **Dispõe sobre a Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos**. Diário Oficial da União. Brasília, 18 de Março de 2004b.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RDC nº 90 de 16 de Março de 2004. **Dispõe sobre o Guia para os Estudos de Toxicidade de Medicamentos Fitoterápicos**. Diário Oficial da União. Brasília, 18 de Março de 2004c.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria, nº 971 de 3, de Maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde**. Diário Oficial da União. Brasília, 4 Maio, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Decreto 5.813, de 22 de Junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Diário Oficial da União. Brasília, 23 Junho, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RDC nº 14, de 31 de Março de 2010. **Dispõe sobre o Registro de Medicamentos Fitoterápicos**. Diário Oficial da União. Brasília, nº 63, 5 de Abril de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **O que é RENISUS?** Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=30780](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30780)>. Acesso em: 09 Maio 2011.

BRASIL. Resolução CIPLAN nº 8/88. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 11 de março de 1988. nº 48, p.3999-4000.

BUGNO, A., et al. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 41(4). Out./Dez. 2005.

CAMELO, S. R. P. **Estudos de pré-formulação e formulação de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy**. 2009. 163f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém. 2009.

CARTÁGENES, M. S. S. **Investigação dos efeitos tóxico e anti-hipertensivo de *Arrabidaea chica* Verlot (Bignoniaceae)**. 2009. 147f. Tese de Doutorado

(Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, 2009.

CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Ministério da Agricultura, IBDF, vol. 1, 1984.

CORREIA, L. P., et al. Estudo do comportamento térmico e da atividade farmacológica de pós das folhas de *Passiflora edulis sims* em diferentes tamanhos de partículas. VIII Congresso Brasileiro e III Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria 01 a 04 de Abril de 2012 – Campos do Jordão – SP – Brasil.

COSTA, R. S. **Estudos de pré-formulação e formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae)**. 2010. 139f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém.

COSTA, R. S. et al. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (*spray-drying*) de *Cynara Scolymus* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmácia**. 90 (3): 169-174, 2009.

DE PAULA, I.C. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. Compositae – Marcela**.1996. 194p. Dissertação (PPGCF), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

DEVIA, B. et al. New 3-deoxyanthocyanidins from leaves of *Arrabidaea chica*. **Phytochemical Analysis**. 13(2):114-120. March/April.2002.

**Diretrizes para Elaboração e Apresentação de Dissertações**. Universidade Federal do Pará. 2009

ESTRELA, E. Tratado de Cooperacion Amazonica – Secretaria Protempore, Plantas Medicinales Amazônicas: Realidad Y Perspectivas. Lima: TCA, 1995, 302p.

FARIAS, M. R. Avaliação da Qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, M. A. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1ª Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 1999.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 2ª ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.1265p.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4ª ed. São Paulo. Atheneu. 1988.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5ª ed. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. Vol. 1, 546p.

FONSECA, P., LIBRANDI, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 44(2). Abr/Jun. 2008.

FONSÊCA, S. G. C. Farmacotécnica de Fitoterápicos. 2005. Disponível em: <[http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/farmacot\\_fitoterapicos.pdf](http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/farmacot_fitoterapicos.pdf). Acessado em: 04 de Maio de 2011.

GARRIDO, J. L. T. **Toxicidade córneo-conjuntival e eficácia do extrato de *Arrabidaea chica* (Crajiu) instilado em olhos de coelhos com queimadura química da córnea.** 2005. 156f. Tese de Doutorado (Programa Multinstitucional de Pós-Graduação em Biotecnologia), Universidade Federal do Amazonas, 2005.

GEORGETTI, S.R. **Desenvolvimento de formulações tópicas contendo isoflavonóides (Isoflavin Beta<sup>®</sup>): estabilidade física, química e permeação cutânea.** 2004. 156f. Dissertação (PPGCF-FCFRP). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, São Paulo.

GOULA, A.; ADAMOPOULOS, K.G. Spray drying performance of a laboratory spray dryer for tomato powder preparation. **Drying Technology**. 21 (7). 1273-1289. 2003.

HEBERLÉ, G. et al. Caracterização do produto seco por aspersão de *Cecropia glazioui* Sneth. (Cecropiaceae). **Acta Farm. Bonaerense**. 19(3):203-10. 2000.

HIRAYAMA, O., et al. Evaluation of antioxidant activity by chemiluminescence. **Anal Biochem**. 247:237-241. 1997.

IONASHIRO, M., GIOLITO, I. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial.** GIZ Editorial. São Paulo. 98p. 2005.

JORGE, M. P. **Atividade cicatrizante do extrato bruto de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl. ) Verlot.** 2008. 145f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica), Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

LOPES, W. A., FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**. 27(4), 670-673, 2004.

MACEDO, E. V., GEMAL, A. L. A produção de fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmácia**. 90(4): 290-297, 2009.

MACIEL, R. L. et al. Características físico-químicas e químicas e estudo preliminar de estabilidade de tinturas preparadas com espécies de arnica *Lychnophora* em comparação com *Arnica Montana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 16(1): 99-104, Jan./Mar. 2006.

MARRIOT, C. Reologia. In: AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2ª Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 4, p. 56-73.

MARTINS, A. S. et al. Avaliação de minerais em plantas medicinais amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19 (2B), 621-625, Abr/Jun, 2009.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. New York: Longman, 1991.

MIGLIATO, K. F. et al. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. 2007. In: ALVES, M.S.M. **Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré-formulação da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verlt.** 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém. 2008.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, G. O. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. São Paulo: Robe, 1999.

NASCIMENTO, M. V., et al. Antinociceptive effect of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. Independent of anti-inflammatory activity of ellagic acid. **J. Nat. Med.** 2011.

NUNES, K. M. **Caracterização química e físico-química e estudos preliminares de planejamento da formulação fitoterápica semi-sólida contendo tintura de *Calendula officinalis* L.** 2009. 141f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém. 2009.

OLIVEIRA, D. P. C. et al. Atividade Antiinflamatória do extrato aquoso de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl. sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19 (2B), 643-649, Abr/Jun, 2009.

OLIVEIRA, F. M. **Desenvolvimento de formulações tópicas fotoquimioprotetoras contendo extrato de própolis: estudos de estabilidade, permeação e retenção cutânea *in vitro* e de eficácia *in vivo*.** 2007. 155f. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto.

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

PASCUAL, C., GONZALEZ, R., TORRICELLA, R.G. Scavenging action of própolis extract against oxygen radicals. **Journal of Ethnopharmacology**. Clare. v. 41. p. 9-13. 1994.

PAULETTI, P. M., BOLZANI, V. S., YUNG, M. C. M. Constituintes químicos da *Arrabidaea samyoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**. 26 (5): 641-643, Set/Out, 2003.

PINTO, T. J. A., KANEKO, T. M., PINTO, A. F. **Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu. 2010.

PRISTA, L. N. *et al.* **Tecnologia Farmacêutica**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1995.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnicas farmacêuticas e farmácia galênica**. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa. 3ª Ed, v. II, p. 183-207, 1990.

PUHL, M. C. M. N. et al. Morfoanatomia das folhas e dos caules jovens de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bompl.) B. Verl. (Bignoniaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. 26 (2): 224-9 (2007).

RAMOS, D.N. **Desenvolvimento de produtos particulados a partir de *Maytenus ilicifolia* por spray drying: Influencia de adjuvantes tecnológicos e condições de processo nas propriedades físicas, químicas e biológica do produto**. Relatório de Iniciação Científica apresentado ao Programa PIBIC CNPq/USP. FCFRP/USP. Ribeirão Preto, São Paulo, 2011.

REMILI, H., BOUSSARD, P., DEVLEESCHOUWER, M., Microbiological Quality of Spray-dried Pharmaceutical Plants Extracts. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. I, p. 265-268, 1994.

RIBEIRO, C. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia**. 2008. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Pará. Belém, 2008.

RODRIGUES, E. A parceria Universidade – Empresa privada na produção de fitoterápicos no Brasil. **Revista Fármacos e Medicamentos**. São Paulo, n. 37, Ano IV, p. 30-39, 2005.

RUNHA, F.P., et al. Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: development of the process and evaluation of thermal degradation during drying operation. **Trans Ichem**. 79- part C. 160-168. September. 2001.

SANTOS, J. E., et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. 13 (4). p. 242-249. 2003.

SILVA JÚNIOR, J.O.C. et al. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 16 (supl.): 671-677, Dez, 2006.

SILVA, E. C., PAOLA, M. V. R. V., MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 43 (3). Jul/Set. 2007.

SILVA, I. D. D., ARAGÃO, C. F. S. Avaliação de parâmetros de extração da *Cinchona* Vahl por métodos farmacopéicos e não farmacopéicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19(3): 776-780. Jul/Set. 2009.

SIMÕES, M. A. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1ª Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 1999.

SOUZA, A. P. T. B., et al. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas hidroetanólicas das flores de *Calendula officinalis* L. empregando planejamento fatorial. **Latin American Journal of Pharmacy**. 29 (1): 13-21. 2010.

SOUZA, C.R.F. **Estudo comparativo da produção de extrato seco de *Bauhinia forficata* Link pelos processos *spray dryer* e leito de jorro**. Dissertação (PPG-FCFRP). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2003, 179p.

SOUZA, C.R.F. **Produção de extratos secos padronizados de plantas medicinais brasileiras: estudo da viabilidade técnica e econômica do processo em leito de jorro**. 2007. 219p. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto.

STULZER, H. K. et al. Desenvolvimento, avaliação e caracterização físico- química de micropartículas constituídas de Aciclovir/Quitossana desenvolvidas pela Técnica de *Spray-drying*. **Latin American Journal of Pharmacy**. 26 (6): 866-71. 2007.

TAKEMURA, O. S. et al. A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. *cuprea*. **Phytochemistry**. 38(5):1299-1300, Mar, 1995.

TEIXEIRA, H.F. **Avaliação da Influência de Adjuvantes Farmacêuticos sobre as Características Físicas, Químicas, Tecnológicas e Farmacológicas de Extratos Secos Nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – Marcela**. Dissertação (CPGCF/UFRGS). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 1996.

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**. 15(3): 243-249, Jul./Set. 2005.

VEIGA JÚNIOR, V.F., PINTO, A. C., MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? **Química Nova**. 28(3): 519-528, 2005.

VERONES, D. A. G.. **Desenvolvimento de micropartículas gastro-resistentes contendo azitromicina por *spray-drying***. 2010. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-17112010-232035/>>. Acesso em: 02-02-2012.

WESTPHAL, F. L., et al. Estudo experimental dos efeitos do óleo resina de copaíba, extrato aquoso de crajiru e polivinilpirrolidona iodado (pvpi) na pleura e parênquima pulmonar de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. 34(3), 2007.

World Health Organization, 1998. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneve:WHO.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e Fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**. 24 (1), 147-152, 2001.

ZAMPIER, M.N. **Desenvolvimento, padronização e avaliação biológica de extratos nebulizados de *Dalbergia ecastaphyllum***. 2012.172f. Dissertação. PPGCF. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

ZORN, B. et al. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**. 56 (8), 831-835. April, 2001.