



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Arthur Luy Tavares Ferreira Borges

**ESTUDOS DE OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS SPRAY-  
DRYER COM EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Uncaria tomentosa***

Maceió, 2021

Arthur Luy Tavares Ferreira Borges

**ESTUDOS DE OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROCÁPSULAS SPRAY-  
DRYER COM EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Uncaria Tomentosa***

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, PPGCF, da Universidade Federal de Alagoas para a obtenção do título de Mestre em Ciências farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento

Maceió, 2021

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

B732e Borges, Arthur Luy Tavares Ferreira.  
Estudos de obtenção e caracterização de microcápsulas *spray-dryer* com extrato hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa* / Arthur Luy Tavares Ferreira Borges. – 2021.  
120 f. : il. color.

Orientador: Ticiano Gomes do Nascimento.

Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 96-104.

Anexos: f. 105-120.

1. Unha-de-gato. 2. Cápsulas. 3. Compostos fenólicos. 4. Cromatografia líquida de alta eficiência. 5. Espectrofotometria ultravioleta. 6. Dissolução. 7. Atividade antibacteriana. I. Título.

CDU: 615.281.9

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, meus queridos pais e familiares que tanto apoiam e incentivam o meu crescimento profissional e aos meus amigos que me acompanharam nessa nova jornada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que esteve ao meu lado e me deu coragem, força, ânimo e toda sua proteção para não desistir e continuar lutando por este meu sonho e objetivo de vida. A Ele eu devo toda a minha gratidão.

A Santíssima Virgem Maria, mãe de Deus, pois é nela que encontro minha calma e fortaleza para não desistir nos momentos difíceis.

A minha mãe Betânia, pois, seu cuidado, amor, amizade e toda dedicação aos seus filhos que deram, em muitos momentos, a esperança para seguir em frente.

Ao meu pai Francisco, pelo incansável apoio, incentivo, coragem, carinho, amizade, amor e dedicação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento, pelo incentivo, paciência, confiança e seu apoio constante que foi fundamental no meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao meu irmão Sávio, por esta comigo em todas as etapas da minha vida, sempre me apoiando e incentivando.

A toda minha família e amigos por todo incentivo e amor.

Aos meus amigos de laboratório por terem me ajudado a realizar este trabalho.

Aos meus amigos, por todo apoio, incentivo e por todos os momentos que passamos juntos, que, certamente, irei levar por toda vida.

A quem não mencionei, mas esteve junto, agradeço essa proximidade, ajuda e incentivo, muito obrigado.

“O Altíssimo deu-lhes a ciência da medicina para ser honrado em suas maravilhas; e dela se serve para acalmar as dores e curá-las; o farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe unguentos úteis à saúde, e seu trabalho não terminará, até que a paz divina se estenda sobre a face da terra.”

Eclesiástico 38, 6-8.

## RESUMO

A planta medicinal *Uncaria tomentosa* vem sendo amplamente utilizada na medicina tradicional, onde, suas decocções, preparadas a partir da sua casca, é usada para o tratamento de diversas doenças e a atividade anti-inflamatória é descrita como principal aplicação farmacológica. O trabalho desenvolveu e caracterizou microcápsulas spray-dryer carregadas com extrato hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa*. O pó das cascas da *Uncaria tomentosa* foram adquiridas pela empresa de e-commerce Kampo de Ervas® e submetidas a extração por infusão (utilizando solução aquosa) ou maceração (usando solução hidroetanólica 70°GL e 92°GL). Os extratos hidroalcoólicos foram particionado usando solventes hexano e diclorometano, seguindo a marcha para extração de alcalóides e, posteriormente, submetido a ensaio de atividade antibacteriano. O extrato etanólico 92°GL foi utilizada para preparação de uma composição de microcápsula de *Uncaria tomentosa* de obtido pela técnica Spray-Dryer. Os extratos por infusão, extratos etanólico 92°GL e microcápsula de *Uncaria tomentosa* foram submetidos a ensaios de caracterização química e físico-química por ensaios de triagem fitoquímica para alcaloides, fenóis totais, flavonoides totais, ensaios de atividade antioxidante, ensaios UV-Vis e UFLC-DAD, ensaio MEV, ensaios de análise térmica, ensaio de infravermelho e ensaios de dissolução. Os resultados de caracterização dos extrato bruto e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* revelam presença de alcaloides usando teste de Dragendorff e compostos fenólicos como ácido gálico, catequina e ácido caféico usando a técnica comparativa de injeções de padrões analíticos por UFLC-DAD. Uma composição físico-quimicamente estável de microcápsulas de *Uncaria tomentosa* foi desenvolvida em escala micrométrica quando analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura, Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Análise térmica. Os ensaios de dissolução *in vitro* demonstrou que as microcápsulas de *Uncaria tomentosa* apresentam características de ser pobremente solúvel em água e adição de adjuvantes farmacotécnicos podem auxiliar na melhor liberação e absorção dos constituintes ativos pelos fluidos gastrointestinais resultando em composições fitoterápicas sólidas atingindo ~ 80% de liberação após 240 min. Os extratos etanólico e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* apresentaram atividade antioxidante com valores de IC<sub>50</sub> de 5,80 e 5,03 µg/mL. Os extratos diclorometano de *Uncaria tomentosa* apresentaram atividade antibacteriana contra cepas de bactérias gram-negativa e gram-positiva, a fração UT-7 obteve o melhor resultado para todas as cepas estudadas, obtendo CIMs inferior a 256 µg/mL, provavelmente devido ao efeito sinérgico entre alcaloides e compostos fenólicos.

**Palavras-chave:** *Uncaria tomentosa*. Microcápsulas. Compostos fenólicos. CLAE-DAD-UV. Dissolução. Atividade Antibacteriana.

## ABSTRACT

The medicinal herbal *Uncaria tomentosa* has been widely used in traditional medicine, where its decoctions, prepared from its bark, are used for the treatment of various diseases and the anti-inflammatory activity is applied as the main pharmacological application. The work developed and characterized spray-dryer microcapsules of hydroalcoholic extract loaded with *Uncaria tomentosa*. The *Uncaria tomentosa* bark powder was acquired by the e-commerce in Kampo de Ervas® and subjected to extraction by infusion (using aqueous solution) or maceration (using 70°GL and 92°GL hydroethanolic solution). The hydroalcoholic extracts were partitioned using hexane and dichloromethane solvents, following the extraction method for alkaloids and, subsequently, submitted to an antibacterial activity test. The 92°GL ethanol extract was used to prepare a microcapsule composition of *Uncaria tomentosa* obtained by the Spray-Dryer technique. The infusion extracts, 92°GL ethanol extracts and *Uncaria tomentosa* microcapsule were subjected to chemical and physicochemical characterization tests by phytochemical screening tests for alkaloids, total phenols, total flavonoids, antioxidant activity tests, UV-Vis and UFLC-tests DAD, SEM test, thermal analysis tests, infrared test and dissolution tests. The characterization ethanol extract and microcapsules from *Uncaria tomentosa* reveal the presence of alkaloids using Dragendorff's test and phenolic compounds such as gallic acid, catechin and caffeic acid using the comparative technique of analytical standard injections by UFLC-DAD. A physicochemically stable composition of *Uncaria tomentosa* microcapsules was developed on a micrometric scale when analyzed by SEM, FTIR and Thermal Analysis. The dissolution tests showed *Uncaria tomentosa* microcapsules poorly water-soluble and pharmacotechnical adjuvants can help improve the release and absorption of active constituents by gastrointestinal fluids resulting in solid herbal compositions reaching ~80% release after 240 min. The *Uncaria tomentosa* ethanol extract and microcapsules showed antioxidant activity with IC<sub>50</sub> values of 5.80 and 5.03 µg/mL, respectively. The *Uncaria tomentosa* dichloromethane fractions showed antibacterial activity against gram-negative and gram-positive bacterial strains, the UT-7 fraction obtained the best result for all strains studied, obtaining MICs below 256 µg/mL, probably due to the synergistic effect between alkaloids and phenolic compounds.

**Keywords:** *Uncaria tomentosa*. Microcapsules. Phenolic compounds. CLAE-DAD-UV. Dissolution. Antibacterial activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica do gênero <i>Uncaria</i> .....	25
Figura 2: Diferenças morfológicas dos tomentos da <i>Uncaria tomentosa</i> (A) e <i>Uncaria guianensis</i> (B).....	27
Figura 3: Distribuição geográfica da espécie <i>Uncaria tomentosa</i> (willd.) DC. ....	27
Figura 4: Alcaloides oxindol tetra e pentaciclicos identificados na espécie <i>Uncaria tomentosa</i> . .....	29
Figura 5: Alcaloides indol tetra e pentaciclicos identificados na espécie <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	30
Figura 6: Exemplos de compostos fenólicos presentes na espécie U. <i>tomentosa</i> . ....	31
Figura 7: Estrutura geral de polifenóis encontrados na espécie U <i>tomentosa</i> . ....	31
Figura 8: Exemplo de triterpenos encontrados na espécie U. <i>Tomentosa</i> . ....	32
Figura 9: esquema de funcionamento do Spray-Dryer .....	39
Figura 10: Estrutura química dos tensoativos polisorbato 80 (A) polisorbato 60 (B) brometo de .....	48
Figura 11: Teste de identificação específico para a presença de alcaloides (Reativo de Dragendorff) .....	62
Figura 12: Comparativo da quantificação de fenóis totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	63
Figura 13: Comparativo da percentagem de flavonoides totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	64
Figura 14: Comparativo da percentagem de flavonoides totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	65
Figura 15: Soluções após reação com cloreto de alumínio no estudo de quantificação de flavonoides totais.....	66
Figura 16: Particionamentos dos extratos de <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	66
Figura 17: Microencapsulados carregados com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> (Formulação UT- F1).....	67
Figura 18: Comparativo da varredura em espectrofotômetro UV-visível do extrato etanólico e microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> solubilizados em etanol. ....	68
Figura 19: Comparativo da varredura em espectrofotômetro UV-visível do extrato etanólico e microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> solubilizados em etanol. ....	69
Figura 20: Cromatograma do extrato aquoso (infusão) no comprimento de onda de 245 nm (A), 355 nm (B), 280 nm (C) e 320 nm (D). ....	70

Figura 21: Cromatograma UT-F1 (infusão) no comprimento de onda de 245 nm (A), 355 nm (B), 266 nm (C) e 280 nm (D).	72
Figura 22: Cromatograma da fração etanol 70% solúvel em diclorometano no comprimento de onda de 245 nm pelo método de identificação de alcalóides.	73
Figura 23: Cromatograma da fração UT-1 no comprimento de onda de 260 nm.	74
Figura 24: Cromatograma da fração UT-4 no comprimento de onda de 245 nm (A) e 355 nm (B) e UT-7 no comprimento de onda de 245 nm (C) e 355 nm (D).	75
Figura 25: Análise Termogravimétrica do extrato bruto etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> .	76
Figura 26: Análise Termogravimétrica das microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> .	77
Figura 27: Curvas DSC do extrato etanólico (1) e microcápsulas (2) de <i>Uncaria tomentosa</i> .	79
Figura 28: Espectro FTIR do extrato etanólico de <i>Uncaria tomentosa</i> .	80
Figura 29: Espectro FTIR das microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> .	81
Figura 30: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das Microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> .	83
Figura 31: Curvas de calibração do padrão analítico catequina (A), Extrato ETOH de <i>U. tomentosa</i> (B) e Extrato UT-F1 de <i>U. tomentosa</i> (C).	85
Figura 32: Perfil de dissolução das cápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> em dois meios (água osmose reversa e Tween 60 1%).	88
Figura 33: Perfil de dissolução das cápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> .	89
Figura 34: Comparativo da porcentagem da atividade antioxidante do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> .	94

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Diferenças morfológicas da <i>Uncaria tomentosa</i> e <i>Uncaria guianensis</i> .....	26
Tabela 2: principais equipamentos utilizados nos ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas.....	41
Tabela 3: Particionamentos dos extratos etanol absoluto (ab.) e etanol 70%.....	52
Tabela 4: Concentrações finais das amostras da curva de calibração da catequina. ....	54
Tabela 5: Concentrações finais das amostras para varredura em espectrofotômetro uv-visível. ....	55
Tabela 6: Percentagem dos solventes utilizados na análise em função do tempo. ....	56
Tabela 7: Concentrações finais das amostras da curva de calibração da catequina. ....	58
Tabela 8: Dados calorimétricos comparativos entre o extrato etanólico e as microcápsulas de <i>Uncaria tomentosa</i> . ....	79
Tabela 9: Análise estatística de exatidão e precisão da curva analítica do padrão catequina. .	84
Tabela 10: Determinação do teor de catequina no Extrato etanólico de <i>U. tomentosa</i> .....	86
Tabela 11: Determinação do teor de catequina no Extrato UT-F1 de <i>U. tomentosa</i> .....	86
Tabela 12: Concentração inibitória mínima dos particionamentos de <i>Uncaria tomentosa</i> .....	91

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Curva analítica do padrão catequina para ensaio de fenóis totais.....	105
Anexo 2: Curva analítica do padrão quercetina para ensaio e flavonoides totais. ....	105
Anexo 3: Identificação de ácido gálico (1) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,05 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,05 min mostrando comprimento de onda máximo de 271 nm. ....	105
Anexo 4: Identificação de catequina (2) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 19,15 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de catequina (2) no tempo de retenção de 19,15 min mostrando comprimento de onda máximo de 279 nm. ....	107
Anexo 5: Identificação de ácido caféico (3) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 325 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,95 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,95 min mostrando comprimento de onda máximo de 325 nm. ....	108
Anexo 6: Identificação de ácido gálico (1) no extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> com identificação ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min mostrando comprimento de onda máximo de 269nm semelhante ao padrão analítico de ácido gálico 271nm.....	109

Anexo 7: Identificação de ácido gálico (1) na microcápsula de <i>Uncaria tomentosa</i> usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de <i>Uncaria tomentosa</i> com identificação ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min mostrando comprimento de onda máximo de 271nm semelhante ao padrão analítico de ácido gálico. ....	110
Anexo 8: Identificação de catequina (2) no Extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> com identificação de catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico da catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min mostrando comprimento de onda máximo de 279nm semelhante ao padrão analítico de catequina. ....	111
Anexo 9: Identificação de catequina (2) na microcápsula de <i>Uncaria tomentosa</i> usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de <i>Uncaria tomentosa</i> com identificação de catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico da catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min mostrando comprimento de onda máximo de 279nm semelhante ao padrão analítico de catequina. ....	112
Anexo 10: Identificação de ácido caféico (3) no extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 325nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de <i>Uncaria tomentosa</i> com identificação de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min mostrando comprimento de onda máximo de 325nm semelhante ao padrão analítico de ácido caféico. ....	113

Anexo 11: Identificação de ácido caféico (3) na microcápsula de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 320nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de *Uncaria tomentosa* com identificação de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min mostrando comprimento de onda máximo de 326nm semelhante ao padrão analítico de ácido caféico. .... 114

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

8-MOP	- 8-metoxi-psoraleno
AR	- Artrite reumatoide
ABS	- Absorbância
AOT	- Alcaloides Oxindol Tetracíclico
AOP	- Alcaloides Oxindol Pentacíclicos
AIT	- Alcaloides Indol Tetracíclico
AIP	- Alcaloide Indol Pentacíclicos
A $\beta$	- Beta-amilóide
BE	- Bioequivalência
CMC	- Celulose microcristalina
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CV	- Coeficiente de variação
Comp.	- Comparativa
DPPH	- 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DP	- Desvio padrão
DSC	- Calorimetria Exploratória Diferencial
FTIR	- Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
HPLC	- Cromatografia líquida de alta eficiência
IFAL	- Instituto Federal de Alagoas
IL-4	- Interleucina-4
IL-5	- Interleucina-5
IL-6	- Interleucina-6
LEC	- Lecitina de soja
min.	- Minutos
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura
NF- $\kappa$ B	- Fator nuclear kappa B
OR	- Osmose Reversa
OMS	- Organização Mundial de Saúde
RDC	- Resolução de Diretoria Colegiada
TTC	- Cloreto de trifetil tetrazolium
TG	- Termogravimetria
TNF- $\alpha$	- Fator de Necrose Tumoral Alfa

UFAL - Universidade Federal de Alagoas  
UVA - Ultravioletas A  
UV-Vis - Ultravioleta visível  
UT-F1 - *Uncaria tomentosa* formulação 1  
UT-C1 - *Uncaria tomentosa* cápsula 1  
UT-C2 - *Uncaria tomentosa* cápsula 2  
UT-C3 - *Uncaria tomentosa* cápsula 3

## LISTA DE SÍMBOLOS

[ ]	- Concentração
μg	- Micrograma
ΔH	- Entalpia
λ	- Lambda
AlCl <sub>3</sub>	- Cloreto de alumínio
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	- Quercetina
C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	- Catequina
CH <sub>3</sub> COOH	- Ácido Acético glacial
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	- Diclorometano
°C	- Grau Célsius
EtOH 92°GL	- Etanol absoluto
EtOH 70°GL	- Etanol 70 %
g	- Grama
J	- Joule
KI	- Iodeto de Potássio
KBr	- Brometo de Potássio
kV	- Quilovolts
mg	- Miligrama
mA	- Miliampere
mL	- Mililitro
nm	- Nanômetro
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	- Carbonato de Sódio

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>25</b>
2.1	<i>Uncaria</i> Schreb. ....	25
<b>2.1.1</b>	<b>Identificação e diferenciação entre <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Schult.) DC e <i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) J.F.Gmel .....</b>	<b>25</b>
2.2	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Schult.) .....	27
2.3	Composição química .....	28
<b>2.3.1</b>	<b>Alcaloides.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Polifenóis.....</b>	<b>30</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Triterpenos .....</b>	<b>32</b>
2.4	Atividades biológicas.....	32
<b>2.4.1</b>	<b>Inflamação .....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Artrite .....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Asma.....</b>	<b>34</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Antioxidante .....</b>	<b>34</b>
<b>2.4.5</b>	<b>Alzheimer.....</b>	<b>35</b>
<b>2.4.6</b>	<b>Câncer .....</b>	<b>36</b>
<b>2.4.7</b>	<b>Antimicrobiana .....</b>	<b>36</b>
2.5	Microencapsulação pela técnica de Spray-Dryer .....	37
2.6	Dissolução.....	40
<b>2.6.1</b>	<b>Fatores que influenciam a dissolução e absorção dos fármacos.....</b>	<b>42</b>
2.6.1.1	<i>Fatores relacionados ao paciente .....</i>	42
2.6.1.2	<i>Fatores relacionados ao fármaco.....</i>	43
2.6.1.2.1	Solubilidade .....	43
2.6.1.2.2	Polimorfismo e amorfismo .....	43
2.6.1.3	<i>Fatores relacionado a formulação .....</i>	44

2.6.1.4	<i>Fatores relacionados ao sistema e ao meio de dissolução</i> .....	45
2.6.1.4.1	Sistema de dissolução .....	46
2.6.1.4.2	Meio de dissolução .....	46
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>49</b>
3.1	Objetivo Geral .....	49
3.2	Objetivos Específicos .....	49
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>50</b>
4.1	Obtenções dos extratos de <i>Uncaria tomentosa</i> .....	50
4.2	TRIAGEM FITOQUÍMICA PARA ALCALÓIDES .....	50
4.3	Desenvolvimento de microcápsulas por secagem em Spray Dryer carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> .....	51
<b>4.3.1</b>	<b>Formulação UT-F1</b> .....	<b>51</b>
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS e microencapsulado DE <i>UNCARIA TOMENTOSA</i> .....	51
<b>4.4.1</b>	<b>Particionamento do extrato de <i>Uncaria tomentosa</i></b> .....	<b>51</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Determinação do Teor de Fenóis Totais Pelo Método de Folin-Ciocalteu</b> ...	<b>52</b>
4.4.2.1	<i>Construção da curva de calibração da catequina</i> .....	52
4.4.2.2	<i>Teor de fenóis totais do extrato e microencapsulado de <i>Uncaria tomentosa</i></i> .....	53
<b>4.4.3</b>	<b>Flavonoides totais</b> .....	<b>53</b>
4.4.3.1	<i>Construção da curva de calibração da quercetina</i> .....	53
4.4.3.2	<i>Teor de flavonoides totais do extrato e microencapsulado de <i>Uncaria tomentosa</i></i> 54	
<b>4.4.4</b>	<b>Varredura em espectrofotômetro UV-visível</b> .....	<b>55</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE</b> .....	<b>55</b>
4.4.5.1	<i>Identificação de alcaloides presentes na <i>U. tomentosa</i></i> .....	55
4.4.5.2	<i>Identificação de compostos fenólicos presentes na <i>U. tomentosa</i></i> .....	56
<b>4.4.6</b>	<b>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR</b> ....	<b>57</b>
<b>4.4.7</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV</b> .....	<b>57</b>

<b>4.4.8</b>	<b>Dissolução</b> .....	<b>58</b>
4.5	Análise térmica .....	58
<b>4.5.1</b>	<b>Termogravimetria (TG)</b> .....	<b>58</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</b> .....	<b>59</b>
4.6	Análises biológicas .....	59
<b>4.6.1</b>	<b>Concentração inibitória mínima (CIM)</b> .....	<b>59</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Análise do potencial antioxidante através do método de sequestro de radicais DPPH</b> .....	<b>60</b>
4.6.2.1	<i>Preparação do DPPH</i> .....	60
4.6.2.2	<i>Preparação dos extratos de <i>Uncaria tomentosa</i></i> .....	60
4.6.2.3	<i>Leitura das medidas da absorvância das amostras</i> .....	60
4.7	Análises estatísticas .....	61
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>62</b>
5.1	TRIAGEM FITOQUÍMICA PARA ALCALÓIDES .....	62
5.2	Determinação do Teor de Fenóis Totais .....	62
5.3	Flavonoides totais .....	64
5.4	Particionamento do extrato de <i>Uncaria tomentosa</i> .....	66
5.5	Desenvolvimento de microcápsulas por secagem em Spray Dryer carregadas com ativos de <i>Uncaria tomentosa</i> .....	67
<b>5.5.1</b>	<b>Formulação UT-F1</b> .....	<b>67</b>
5.6	Varredura em espectrofotômetro uv-visível .....	67
5.7	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE .....	69
5.8	Termogravimetria (TG) .....	76
5.9	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	78
5.10	FTIR.....	79
5.11	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	81
5.12	Dissolução.....	83

<b>5.12.1</b>	<b>Ensaio de teor de catequina .....</b>	<b>83</b>
<b>5.12.2</b>	<b>Perfil de dissolução .....</b>	<b>86</b>
5.13	Analises biológicas <i>in vitro</i> .....	90
<b>5.13.1</b>	<b>Concentração inibitória mínima (CIM).....</b>	<b>90</b>
<b>5.13.2</b>	<b>Análise do potencial antioxidante através do método de sequestro de radicais DPPH .....</b>	<b>93</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>95</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>96</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>105</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais contribuem de maneira significativa no controle terapêutico mundial e, em particular nos países em desenvolvimento devido a sua fácil acessibilidade e baixo custo (BATIHA et al., 2020). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente três bilhões de pessoas em todo o planeta confiam nas chamadas “medicinas tradicionais” para suas necessidades básicas de saúde por muitas vezes serem a única alternativa terapêutica para uma grande porcentagem da população. No Brasil das cento e vinte mil espécies de plantas, dezenas de milhares possuem propriedades medicinais. O uso de plantas é constante no país, pois também são objetos de estudos no desenvolvimento de novos fármacos (WANDERLEY; MOUSINHO; ROCHA, 2018).

A *Uncaria tomentosa*, comumente conhecida como "unha-de-gato", é um arbusto pertencentes a família da Rubiáceas que cresce na região amazônica. No Peru é tradicionalmente usado sua casca para o tratamento de muitas doenças, como infecções virais, câncer, doenças gástricas (úlceras gástricas), artrite e outros distúrbios inflamatórios (AGUILAR et al., 2002). Alguns estudos relatam ainda sua eficácia contra a asma (AZEVEDO et al., 2018) a casca da unha de gato contém uma série de metabólitos secundários, tendo sua constituição química composta principalmente por três frações bioativas, os polifenóis (ácido caféico e ácido quínico, derivados cafeoilquínicos como o ácido clorogênico e alguns flavonóides como catequina, epicatequina e rutina além das antocianidinas), derivados triterpênicos (ácido quinóico, ácido piroquinóico, ácido oleanólico, ácido ursólico e ácido 19 $\alpha$ -hidróxi-ursólico) e alcaloides (alcaloides oxindólicos tetracíclicos: rincofilina, isorrincofilina, corinoxeína e isocorinoxeína; alcaloides oxindólicos pentacíclicos: especiofilina, uncarina F, mitrafiliana, isomitrafilina, pteropodina e isopteropodina ), embora outras classes de compostos como fitoesteróis e cumarinas também tenham sido encontradas (HEITZMAN et al., 2005; LAUS, 2004; ZHANG et al., 2015). As preparações de unha de gato são usadas frequentemente por causa de sua atividade anti-inflamatória, relacionada a mais de um metabólito secundário que agem em sinergia (AGUILAR et al., 2002) tendo como possível mecanismo primário para as ações anti-inflamatórias à imunomodulação via supressão da síntese de TNF- $\alpha$ . (SANDOVAL et al., 2000). Contudo, algumas limitações relacionadas à estabilidade desses compostos podem ser observadas, como por exemplo, a degradação, oxidação, a exposição à luz e ao calor, onde, se joga necessário, para o melhor aproveitamento deste produto, fazer o beneficiamento do mesmo, garantindo por exemplo, a preservação dos

compostos bioativos da oxidação, degradação e reação com outros materiais durante a manipulação, processamento e armazenamento do produto final (CODEVILLA et al., 2015), manutenção da viabilidade dos ativos, um maior tempo de prateleira, consumo racional e seguro, além de amenizar ou dar um sabor agradável ao produto final.

Um processo industrial eficaz e capaz de trazer esses benefícios é a técnica de microencapsulação de partículas que podem variar entre métodos físicos, químicos e físico-químicos. Neste estudo será abordado a microencapsulação por meio físico, utilizando o método por Spray Drying, no qual os compostos bioativos são colocados em contato com uma solução do agente encapsulante e por processo de atomização, dentro do secador, faz com que o líquido seja evaporado ficando um filme sobre o material ativo. A microencapsulação permite prevenir, por exemplo, a perda de substâncias por oxidação ou volatilização, além de controlar a liberação de aromas, perda de nutrientes, preservar a cor e o sabor do agente encapsulado e, de acordo com a necessidade, podem apresentar também um controle no tempo e na liberação do princípio ativo encapsulado.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Uncaria* Schreb.

O gênero *Uncaria*, pertencente à família Rubiaceae, é composto por aproximadamente 34 espécies distribuídas principalmente na África, Ásia e América do sul (Figura 1) (BATIHA et al., 2020; HEITZMAN et al., 2005; LAUS, 2004; ZHANG et al., 2015).

**Figura 1: Distribuição geográfica do gênero *Uncaria*.**



**Fonte:** Plants of the world online.

Este gênero compreende, em sua maioria, arbustos-trepadeiras ou rasteiras ascendentes, possui um par de espinhos utilizados para escalar a copa da árvore (BATIHA et al., 2020; POLLITO; TOMAZELLO, 2006), destaca-se, particularmente, a *Uncaria guianensis* e *Uncaria tomentosa* que ocorre na floresta amazônica, sendo este, um grande fator responsável por equívocos e adulterações botânicas da matéria prima vegetal (QUINTELA; DE UGAZ, 2003). Devido a esse fato se faz necessário diferenciar de forma correta as espécies a fim de evitar possíveis adulterações comprometendo a qualidade do produto ofertado.

#### 2.1.1 Identificação e diferenciação entre *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC e *Uncaria guianensis* (Aubl.) J.F.Gmel

As espécies *Uncaria tomentosa* e *Uncaria guianensis* ganham destaque como plantas medicinais devido principalmente a sua grande atividade anti-inflamatória. A droga vegetal *in natura* e diversos tipos de extratos e formulações são comercializadas pelas indústrias

farmacêuticas em diferentes países, configurando o potencial econômico de ambas as espécies. (HONÓRIO; BERTONI; PEREIRA, 2016).

A *U. tomentosa* ocupa o mesmo habitat de *U. guianensis*, com a qual é constantemente confundida, favorecendo adulterações da matéria-prima (QUINTELA; DE UGAZ, 2003; VALENTE, 2006), além disso, a densidade populacional da *U. tomentosa* é inferior a *U. guianensis* (POLLITO; TOMAZELLO, 2006).

Aspectos morfoanatômicos e microscópicos das folhas e caule das espécies podem ser usados para a diferenciação entre espécies e, conseqüentemente, evitar substituições e adulterações da matéria-prima (Tabela 1) (GATTUSO et al., 2004; POLLITO; TOMAZELLO, 2006).

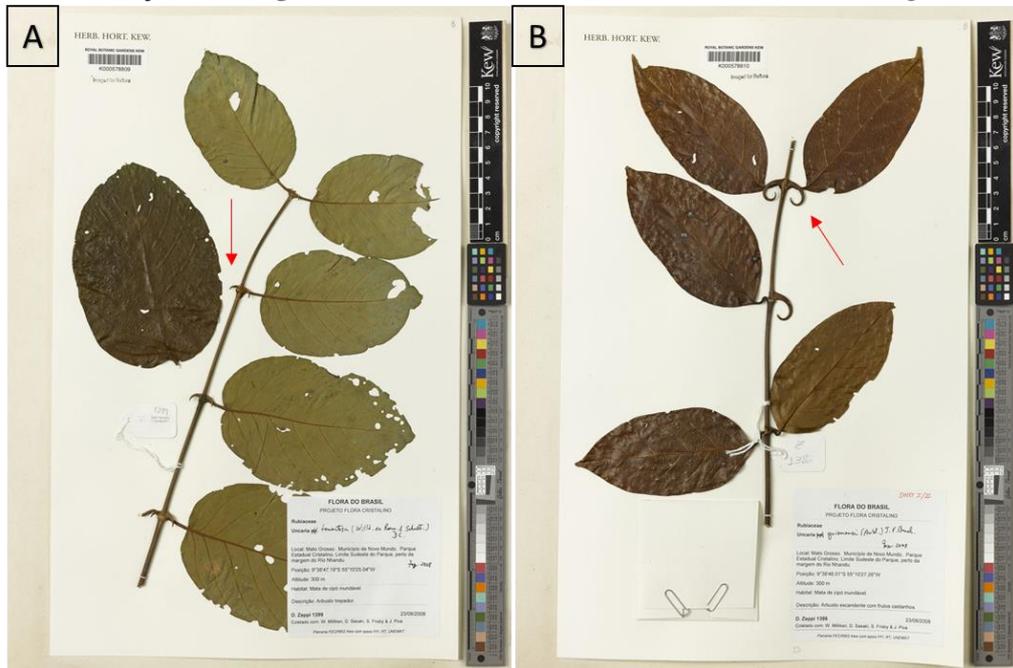
**Tabela 1: Diferenças morfológicas da *Uncaria tomentosa* e *Uncaria guianensis*.**

<b>Estrutura</b>	<b><i>Uncaria tomentosa</i></b>	<b><i>Uncaria guianensis</i></b>
Tomentos	Opostos e pouco curvados (curvatura de 30–90°)	Alternados e curvos (curvatura > 180°)
Estrutura foliar	Ovalada a elíptica. Apresenta tricomas na superfície abaxial.	Elíptica a oblonga. Ausência de tricomas na superfície.
Cascas do caule	Fibras maiores (1500 a 2000 µm de comprimento) com a presença de microcristais de oxalato de cálcio.	Fibras menores (800 a 1500 µm de comprimento) com a presença de macrocristais de oxalato de cálcio (40 a 80 µm).
Inflorescências	Mesclas de amarelo e branco, cinco lobos.	Mesclas de laranja e vermelho, três lobos.
Sementes	Pequenas	Grandes
Dimensões	10 – 30 m de comprimento 5 – 40 cm de diâmetro	4 – 10 m de comprimento 4 – 15 cm de diâmetro

**Fonte:** (KAISER, 2016).

Uma forma simples de identificação e diferenciação são as características morfoanatômicas dos tomentos (espinhos originados de pedúnculos abortivos) de ambas as espécies, onde, a *U. tomentosa* apresenta tomentos com uma curvatura de 30° a 90°, já a *U. guianensis* possui tomentos com curvatura superior a 180° (Figura 2) (KAISER, 2016; POLLITO; TOMAZELLO, 2006).

**Figura 2: Diferenças morfológicas dos tomentos da *Uncaria tomentosa* (A) e *Uncaria guianensis* (B).**



**Fonte:** Plants of the world online.

## 2.2 *Uncaria tomentosa* (WILLD. EX SCHULT.)

A *U. tomentosa*, comumente conhecida como garra de gato derivado dos pequenos espinhos curvos no tronco na junção foliar (SANDOVAL-CHACON et al., 1998), é uma videira encontrada na floresta amazônica em países da América Central e do Sul (Figura 3) (AGUILAR et al., 2002; WHO, 1999 apud BATIHA et al., 2020). Segundo Keplinger et al. (1999), é encontrada na Venezuela, Guatemala, Belize, Peru, Suriname e Trindad Tobago. Encontrada também na Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Nicarágua, Panamá (VALENTE, 2013) e no Brasil (HONÓRIO; BERTONI; PEREIRA, 2016).

**Figura 3: Distribuição geográfica da espécie *Uncaria tomentosa* (willd.) DC.**



**Fonte:** Plants of the world online.

No Brasil, a espécie *U. tomentosa* pode ser encontrada nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e, principalmente, no Acre (POLLITO, 2004).

Na natureza se apresenta como uma liana de grande porte, atingindo 25 a 30 m de altura e 25 cm de diâmetro, possui espinho no decorrer de seu caule (tomentos) usados para galgar a copa de árvores de grande porte, sendo este o motivo de seu nome popular unha-de-gato ou *cat's claw* (GATTUSO et al., 2004; POLLITO; TOMAZELLO, 2006).

### 2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. apresenta em sua composição química mais de 50 compostos bioativos (HEITZMAN et al., 2005; NAVARRO-HOYOS et al., 2018). Desses, aproximadamente 35 marcadores químicos podem ser considerados exclusivos da espécie *U. tomentosa* (NAVARRO-HOYOS et al., 2018). Entre tantos compostos, alguns se apresentam com maior importância na terapêutica (HEITZMAN et al., 2005), entre muitos metabólitos secundários bioativos, podemos destacar os alcaloides oxindólicos: Pteropodine, Isopteropodine, Speciophylline, Uncarine F, Mitraphylline, Isomitraphylline, Rhynchophylline, Isorhynchophylline (LAUS; BROSSNER; KEPLINGER, 1997; LAUS; KEPLINGER, 1994); Terpenoides: Tomentosideos A, tomentosideos B (KITAJIMA et al., 2003), derivados do ácido cinchônico (DINDA et al., 2010) e polifenóis: ácido cafeico e ácido quínico, derivados cafeoilquínicos como o ácido clorogênico e alguns flavonóides como catequina, epicatequina e rutina, além das antocianidinas (HEITZMAN et al., 2005; LAUS, 2004), proantocianidinas (dímeros de epicatequina e seus variantes) (SNOW et al., 2019).

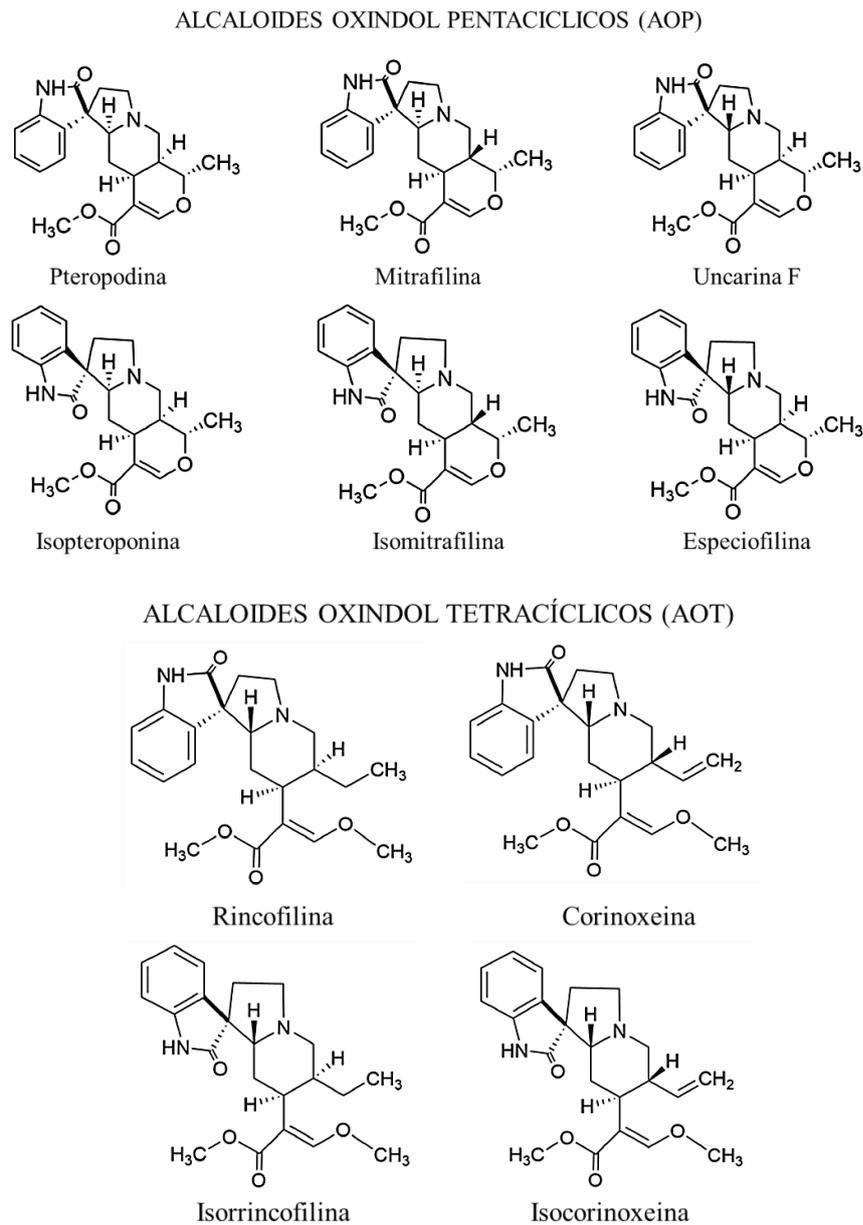
#### 2.3.1 Alcaloides

Phillipson et al. (1978) que analisaram os alcaloides extraídos de aproximadamente 400 pequenas amostras, representando todas as espécies conhecidas de *Uncaria*, obtidas em herbanários. pôde-se identificar 40 alcaloides diferentes (HEITZMAN et al., 2005; PHILLIPSON; HEMINGWAY; RIDSDALE, 1978 apud LAUS, 2004). Entre eles, alcaloides oxindólicos pentacíclicos (AOP): pteropodina, isopteropodina mitrafiliana, isomitrafilina, uncarina F e especiofilina (HEITZMAN et al., 2005; LAUS, 2004; ZHANG et al., 2015). Alcaloides oxindólicos tetracíclicos (AOT): rincofilina, isorrincofilina, corinoxeina e isocorinoxeina (Figura 4) (HEITZMAN et al., 2005; PHILLIPSON; HEMINGWAY; RIDSDALE, 1978 apud LAUS, 2004; KEPLINGER; WAGNER; KREUTZKAMP, 1989).

Tanto os AOP quanto os AOT são diastereoisômeros diferenciando-se pelas configurações de C-3, C-7, C-15 e C-20, apresentando com isso, diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas (LIMA, 1997 *apud* KAISER, 2016).

Além destes, também foram descritos, alcaloides indol pentacíclicos: acuamigina, tetraidroalstonina e isoajmalicina; alcaloides indol tetracíclico: hirsutina, hirsuteina e seus N-óxidos, corinanteína, diidrocorinateína e seus N-óxidos (Figura 5) (DE MATTA et al., 1976).

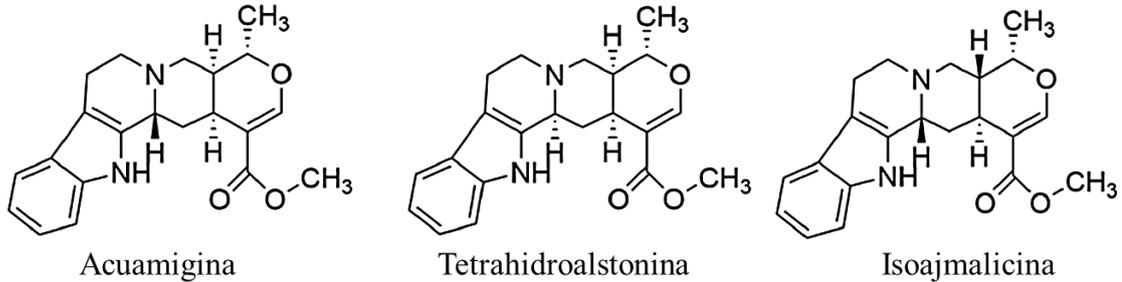
**Figura 4: Alcaloides oxindol tetra e pentacíclicos identificados na espécie *Uncaria tomentosa*.**



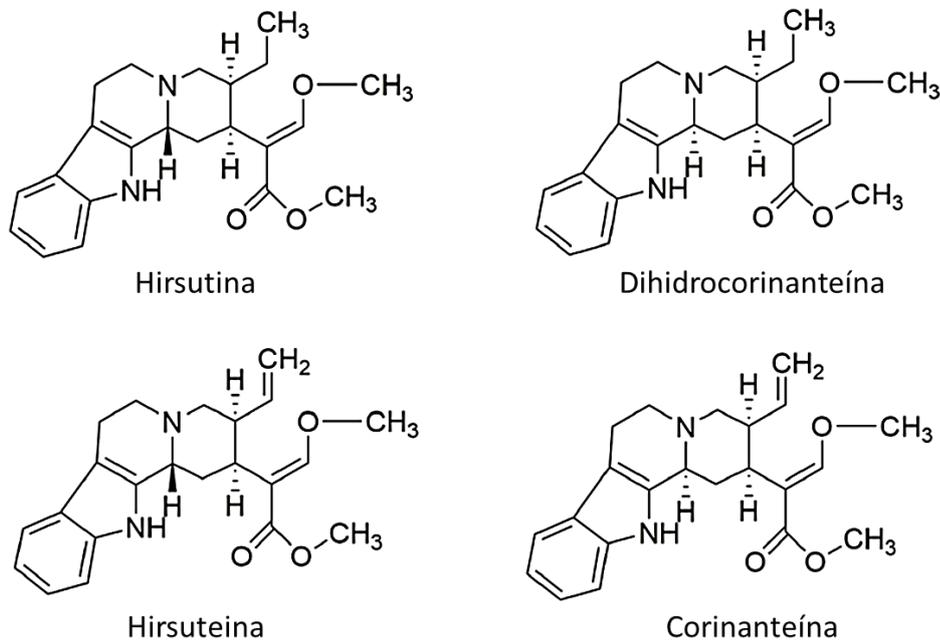
Fonte: (VALDIVIEZO-CAMPOS et al., 2020).

**Figura 5: Alcaloides indol tetra e pentacíclicos identificados na espécie *Uncaria tomentosa*.**

ALCALOIDES INDOL PENTACÍCLICOS (AIP)



ALCALOIDES INDOL TETRACÍCLICO (AIT)



Fonte: (VALDIVIEZO-CAMPOS et al., 2020).

### 2.3.2 Polifenóis

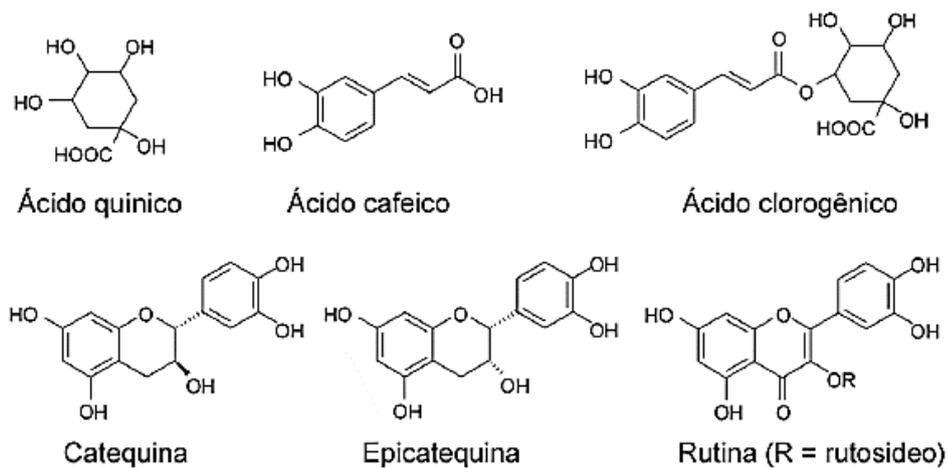
São poucos os estudos de polifenóis em *U. tomentosa* focados principalmente em uma subclasse particular como por exemplo os ácidos hidroxicinâmicos e flavonóis (NAVARRO-HOYOS et al., 2018).

Um grande número de polifenóis já foi relatado na espécie *U. tomentosa* como o ácido caféico e ácido quínico, derivados cafeoilquínicos como o ácido clorogênico e alguns flavonóides como catequina, epicatequina e rutina (Figura 6) além das antocianidinas (HEITZMAN et al., 2005; LAUS, 2004), proantocianidinas (dímeros de epicatequina e seus variantes) (SNOW et al., 2019).

Um estudo recente de SNOW et al. (2019) apontam os polifenóis, em especial, as proantocianidinas tendo a proantocianidina B2 (epicatequina-4 $\beta$ -8-epicatequina) como um dos principais compostos identificados, sendo estes utilizados na prevenção e tratamento da doença de Alzheimer onde o estudo demonstrou a redução da carga de placas cerebrais e melhorou a memória de curto prazo de camundongos além de inibir a inflamação cerebral.

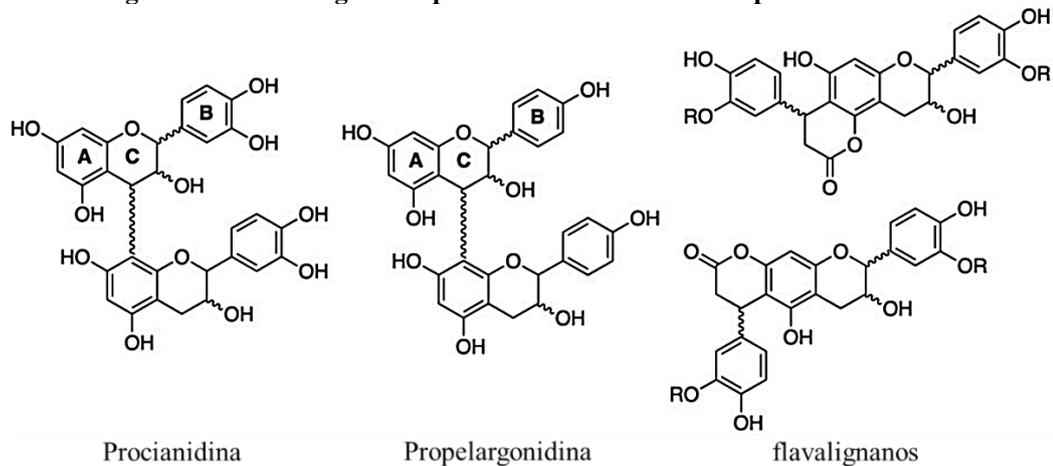
NAVARRO-HOYOS et al., (2015) identificaram um total de 32 compostos fenólicos em um estudo com 22 extratos de *U. tomentosa*, incluindo os ácidos hidroxibenzoico (ácidos benzoico, salicílico, 4-hidroxibenzoico, protocatequético, gálico, vanílico e siríngico), ácidos hidroxicinâmicos (ácidos p-cumárico, caféico, ferúlico e isoferúlico), flavan-3-ols (monômeros, dímeros e trímeros de procianidina e dímeros de propelargonidina) e flavalignanos (cinchonainas) (Figura 7).

**Figura 6: Exemplos de compostos fenólicos presentes na espécie *U. tomentosa*.**



Fonte: (KAISER, 2016).

**Figura 7: Estrutura geral de polifenóis encontrados na espécie *U. tomentosa*.**

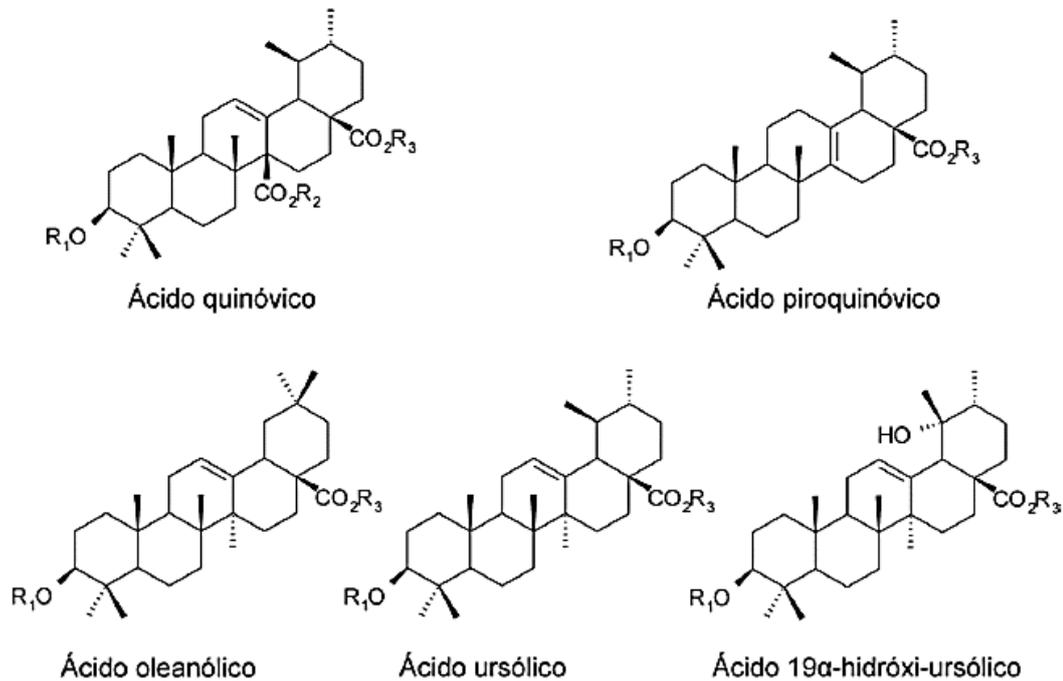


Fonte: (NAVARRO-HOYOS et al., 2018).

### 2.3.3 Triterpenos

Ao longo do tempo já foram isolados diversos triterpenos da *U. tomentosa*, entre eles: heterosídeos derivados do ácido quinóvico, podendo ser mono- di- ou triglicosilados em função do número de açúcares ligados ao núcleo triterpênico, (AQUINO et al., 1997 *apud* KAISER, 2016) derivados do ácido oleanólico, ursólico, 19 $\alpha$ -hidróxi-ursólico e piroquinóvico também foram relatados (HEITZMAN et al., 2005; KITAJIMA et al., 2003, 2004) (Figura 8).

**Figura 8: Exemplo de triterpenos encontrados na espécie *U. Tomentosa*.**



Fonte:(KAISER, 2016).

### 2.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Vários estudos demonstram diversas atividades biológicas desempenhadas pela *U. tomentosa*, sendo estas, imunomoduladoras (KEPLINGER; WAGNER; KREUTZKAMP, 1989), anti-amiloidose (doença de Alzheimer) (SNOW et al., 2019), um potente antioxidante (GONÇALVES; DINIS; BATISTA, 2005; SANDOVAL et al., 2000, 2002), anti-inflamatório (SANDOVAL-CHACON et al., 1998; SANDOVAL et al., 2000, 2002) e ações antitumorais (SHENG et al., 1998). Utilizada ainda para o tratamento de gastrite, artrite (SANDOVAL-CHACON et al., 1998), úlcera gástrica, asma, reumatismo, câncer e doenças de pele (AZEVEDO et al., 2018; CASTILHOS et al., 2015). Contudo, será abordado as mais relevantes utilizações da *U. tomentosa* observadas na literatura científica.

### 2.4.1 Inflamação

*U. tomentosa* vem sendo amplamente utilizada na medicina tradicional peruana, onde, suas decocções, preparadas a partir da sua casca, são usadas para o tratamento de diversas doenças, em particular como um potente agente anti-inflamatório (SANDOVAL et al., 2000).

Estudos *in vitro* apontam que a atividade anti-inflamatória do extrato de *U. tomentosa* está relacionada à prevenção da produção do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (fator nuclear kappa B) em nível molecular inibindo assim a transcrição de genes associados ao processo inflamatório (SANDOVAL-CHACON et al., 1998; SANDOVAL et al., 2000).

AGUILAR et al. (2002) realizaram um estudo *in vivo*, induzindo edema na pata de camundongos, comprovando a ação anti-inflamatória de dois tipos de extratos de unha-de-gato (hidroalcolico e aquoso) mediante diminuição do edema.

176 indivíduos foram incluídos no estudo que avaliaram a eficácia do spray contendo extratos de mudas de aveia e *Uncaria tomentosa* no alívio da dor associada a doenças inflamatórias crônicas da pele e procedimentos dermatológicos, onde, a tolerância dermatológica do produto de foi avaliada como boa a excelente. Todos os estudos mostraram melhorias significativas nos sinais físicos, redução na coceira e sensação de dor tendo seu efeito calmante evidente após a primeira aplicação (REICH et al., 2020).

### 2.4.2 Artrite

A artrite reumatoide (AR) é uma patologia inflamatória crônica sistêmica de origem autoimune que acomete principalmente as articulações assim como vasos, pele, pulmões e coração dentre outros órgãos e tecidos. Entre as manifestações clínicas mais acentuadas da AR nas articulações estão a destruição da cartilagem articular, devida à sinovite não supurativa (inflamação da membrana sinovial das articulações sem formação de pus) e inflamatória, tal como anquilose articular (PALLADINO; BAHJAT; THEODORAKIS, 2003).

Globalmente a AR acomete aproximadamente 1% da população mundial, sendo a população feminina a mais afetada (cerca de cinco vezes mais que a masculina), o que torna tal enfermidade um relevante problema de saúde mundial (PALLADINO; BAHJAT; THEODORAKIS, 2003).

Dentre as estratégias terapêuticas para o tratamento de AR está a inibição do TNF- $\alpha$ , que é uma citocina pró-inflamatória que, em concentrações elevadas está associada à artrite reumatoide (PALLADINO; BAHJAT; THEODORAKIS, 2003).

O NF $\kappa$ B é também um importante fator de transcrição que atua como mediador da indução de genes pró-inflamatórios, que contribuem negativamente com a AR.

Neste contexto, a *Uncaria tomentosa* demonstra-se promissora no tratamento da artrite reumatoide, pois segundo demonstrado por ALLEN-HALL *et al.*, 2010, os extratos hidroetanólicos demonstraram inibir de TNF- $\alpha$  e NF $\kappa$ B.

### 2.4.3 Asma

Um estudo realizado por Azevedo *et al.* (2018) demonstrou a atividade anti-inflamatória de *U. tomentosa* em um modelo murino de asma, onde, os extratos (casca e folha) inibiram a produção de citocinas pró-inflamatórias *in vitro*, propondo que os extratos estudados poderiam ter aplicações promissoras na fitoterapia da asma alérgica.

Os mecanismos propostos foram a inibição da transcrição do fator nuclear kappa-B em culturas celulares, redução da produção de interleucina-6 (IL-6) e redução da produção do fator de necrose tumoral alfa proporcionado pela presença da mitrafilina nos extratos estudados (AZEVEDO *et al.*, 2018).

O tratamento com os extratos (casca e folha) reduziu a inflamação peribrônquica, a elastância respiratória, o amortecimento e elastância tecidual, reduziram o número de eosinófilos, foi observado ainda que o extrato de folhas reduziu os níveis de IL-4 e IL-5 no homogenato pulmonar (AZEVEDO *et al.*, 2018).

### 2.4.4 Antioxidante

Os radicais são espécies químicas geralmente formadas pela fragmentação de moléculas, cuja característica fundamental é a de possuírem um elétron desemparelhado na camada de valência, o que lhes confere grande reatividade, podendo os mesmos oxidar moléculas importantes presentes nas células levando a danos ou morte celular ou tecidual.

Essas espécies reativas são formadas durante o metabolismo celular normal a partir de oxigênio, peróxido de hidrogênio e metais de transição, havendo, por isso mecanismos enzimáticos endógenos de defesa contra os radicais que mantêm o organismo livre dos mesmos (CHEESEMAN; SLATER, 1993). Porém, na situação denominada estresse oxidativo os mecanismos endógenos de neutralização de radicais não são suficientes para extingui-los, permitindo, assim que os mesmos promovam danos ao organismo (LOBO *et al.*, 2010).

Diante das consequências do estresse oxidativo faz-se necessária a utilização de moléculas com atividade antioxidante a fim de preveni-las. As plantas que possuem compostos com atividade antioxidante são uma importante alternativa aos antioxidantes sintéticos (geralmente tóxicos) por possuírem poucos efeitos adversos devidos à sua ingestão.

Neste contexto a *Uncaria tomentosa* demonstra-se uma boa opção para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos com atividade antioxidante, pois segundo OSTRAKHOVICH, 1997, os extratos lipídicos da mesma demonstraram atividade antioxidante, demonstrando, também, ser capaz de inibir a produção de oxigênio nas células fagocitárias pela inativação da NADPH-oxidase e influência na expressão de receptores.

Um estudo feito por GONÇALVES; DINIS; BATISTA em 2005 demonstrou que a atividade antioxidante do decocto de *U. tomentosa* deve-se, em grande parte à presença de proantocianidinas, que são compostos fenólicos, portanto com conhecida atividade antioxidante.

A *U. tomentosa* demonstrou inibir o crescimento de células B16-BL6 em camundongos C57/bl *in vivo* (tendo o tratamento com extrato etanólico muito mais eficaz do que com extrato aquoso). Os camundongos injetados com os extratos etanólico e aquoso de *U. tomentosa* mostraram uma redução de  $59 \pm 13\%$  no peso do tumor e uma redução de  $40 \pm 9\%$  no seu tamanho. A análise histoquímica mostrou, ainda, uma forte redução no marcador de proliferação celular Ki-67 em camundongos tratados com *U. tomentosa* (ZARI et al., 2021).

#### **2.4.5 Alzheimer**

Duas principais características caracterizam o envelhecimento cerebral e a doença de Alzheimer: o acúmulo de placas beta-amilóides (A $\beta$ ) e a proteína tau contendo emaranhados neurofibrilares, contribuindo assim, para a perda acelerada de memória e o declínio cognitivo. Além deste acúmulo em áreas cerebrais específicas, acredita-se que a inflamação acentuada do cérebro contribua para a morte neuronal e a interrupção das sinapses (SNOW et al., 2019).

O estudo realizado por Snow et al. (2019) mostrou que o extrato de *Uncaria tomentosa* é um potente inibidor e redutor de fibrilas beta-amilóides e filamentos (fibrilas helicoidais emparelhadas com proteínas tau). A unha de gato impediu a agregação e desagregou as fibrilas A $\beta$  pré-formadas e filamentos de proteínas tau, a desagregação das fibrilas A $\beta$  ocorreu quase instantaneamente quando em contato com o extrato de unha de gato.

O principal composto responsável pelas atividades descritas acima são os compostos polifenólicos, mais especificamente as proantocianidinas tendo a proantocianidina B2 (epicatequina-4 $\beta$ -8-epicatequina) como um dos principais polifenóis identificados tendo, este, reduzido a carga de placas cerebrais e melhorado a memória de curto prazo de camundongos além de inibir a inflamação cerebral (demonstrado pela redução na astrocitose e gliose em camundongo) (BATIHA et al., 2020; SNOW et al., 2019).

#### 2.4.6 Câncer

Há diversos relatos na literatura de extratos, e suas frações cromatográficas, de *U. tomentosa* apresentando atividade antimutagênica.

O estudo realizado por RIZZI et al. (1993), que avaliou possíveis efeitos mutagênicos e antimutagênicos da *U. tomentosa* em cepas de *Salmonella typhimurium*, mostraram que os extratos não apresentaram efeito mutagênico com ou sem ativação metabólica. Apresentando, no entanto, um efeito antimutagênico *in vitro* contra a fotomutagênese induzida por 8-metoxipsoraleno (8-MOP) combinado com raios ultravioletas A (UVA).

Trabalho realizado por DIETRICH et al. (2014) demonstraram que frações purificadas de *U. tomentosa* obtiveram efeitos inibitório potente sobre o crescimento de linhagens de células de câncer de bexiga humana induzindo apoptose através da modulação de NF- $\kappa$ B.

A unha de gato mostrou, ainda, atividade antiproliferativa contra várias linhagens celulares, entre elas, glioma, leucemia pré-mielocítica, leucemia linfoblástica aguda, neuroblastoma (CHENG et al., 2007 *apud* BATIHA et al., 2020) e câncer de mama MCF7 (BUSTILLOS; CORTEZ, 2021).

#### 2.4.7 Antimicrobiana

Como uma alternativa com baixa toxicidade para a prevenção e tratamento de doenças infecciosas, as propriedades antimicrobianas de diversas plantas têm sido investigadas (CCAHUANA-VASQUEZ et al., 2007), entre muitas, a *U. tomentosa* tem sido alvo desses estudos.

Esta planta medicinal foi considerada muito promissora no combate do *Staphylococcus aureus* (microrganismo envolvido em infecções hospitalares e que tem revelado resistência a diversos agentes antimicrobianos), tendo ainda eficácia verificada contra

*Enterobacteriaceae* que têm sido implicadas em graves doenças periodontais (CCAHUANA-VASQUEZ et al., 2007).

Kloucek et al., (2005) realizou o estudo da ação antibacteriana de algumas plantas medicinais peruana, onde, o extrato etanólico de *U. tomentosa* apresentou atividade antibacteriana contra: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* em concentração de 0,25 a 1 mg/mL com exceção da *E. coli* em 8 mg/mL.

A *Uncaria tomentosa* apresenta compostos que podem estar relacionados à sua atividade microbiana como, alcaloides, triterpenos, esteroides vegetais, compostos fenólicos, glicosídeos, taninos e flavonoides (CCAHUANA-VASQUEZ et al., 2007).

## 2.5 MICROENCAPSULAÇÃO PELA TÉCNICA DE SPRAY-DRYER

Cada vez mais a produção de medicamentos fitoterápicos tem utilizado extratos secos como matérias-primas devido suas vantagens como: maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, maior facilidade de manuseio, transporte, padronização, exatidão de dosagem, e mais elevada capacidade de transformação em outras formas farmacêuticas (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; PACHÚ, 2007).

Uma técnica que tem sido de grande emprego para obtenção de medicamentos é a secagem pela técnica de Spray-Dryer (conhecida como: secagem por aspersão, nebulização ou por pulverização) pode ser aplicada para secagens de soluções, pastas, emulsões ou suspensões, que são atomizadas em finas gotículas em uma câmara onde circula ar quente, com o propósito de eliminar o(s) solvente(s) (por evaporação) e obter um produto seco particulado (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Uma grande vantagem desta técnica é a eliminação da necessidade de etapas de moagem, típicas de outros processos de secagem, possibilitando a obtenção de produtos diretamente na forma de pó (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Há, ainda, outras vantagens da técnica descritas na literatura, incluindo características físico-químicas mais adequadas, tais como valores de higroscopicidade reduzidos e melhor integridade química que demais formas de secagem (CHRANIOTI; CHANIOTI; TZIA, 2016), maior estabilidade de produtos de natureza química, enzimática ou microbiológica, maior concentração de substâncias bioativas, padronização da forma farmacêutica, melhorias no controle da qualidade, agregação de valor ao produto final, maior facilidade de transporte e armazenamento (RUNHA et al., 2001), além

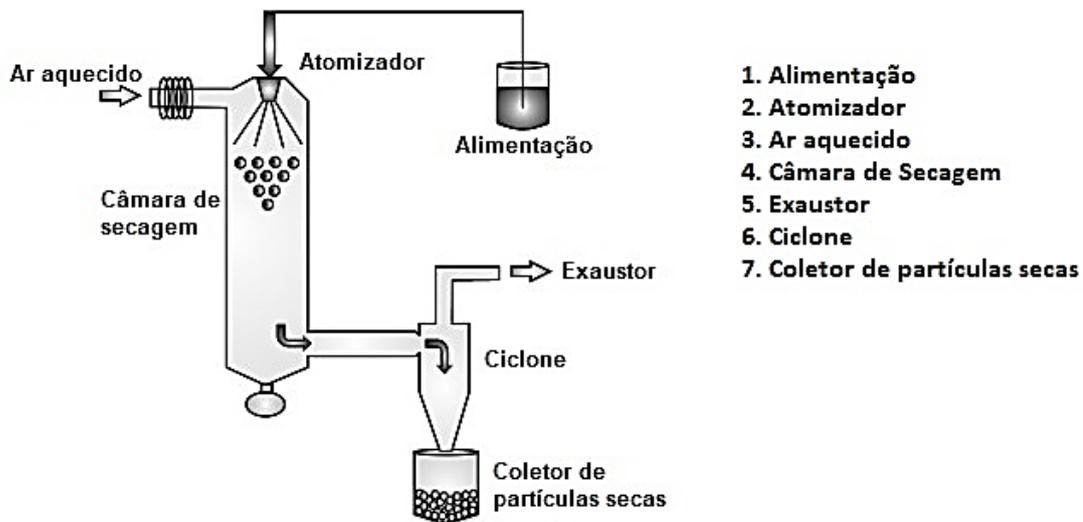
disso, o tempo que o material permanece dentro da câmara de secagem é curto, tornando-a adequada para a secagem de produtos termossensíveis, como algumas substâncias contidas nos extratos vegetais (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; MUJUMDAR, 2014 *apud* PAIVA REIS, 2017).

A seleção da melhor metodologia e do(s) excipiente(s) utilizados para o processo de secagem depende, principalmente, das características da matéria prima e das propriedades desejáveis do produto final (MUJUMDAR, 2006 *apud* PAIVA REIS, 2017). Dentre os parâmetros a se observar, em relação ao processo de otimização da secagem, pode-se destacar a temperatura de entrada e de saída, velocidade de fluxo de alimentação, teores de resíduos seco, concentração e tipo de adjuvantes tecnológicos. (VASCONCELOS et al., 2005)

Nesse sentido, a secagem pela técnica de spray-dryer é uma das técnicas industriais com grande versatilidade, possibilitando a manipulação das variáveis operacionais, e assim, alterar as propriedades farmacotécnicas da partícula, tais como: morfologia, tamanho de partícula, conteúdo de umidade, fluxo, dentre outros (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; MUJUMDAR, 2014 *apud* PAIVA REIS, 2017).

De forma simplificada, a formulação é bombeada para a câmara de atomização ou câmara de secagem, onde se torna um aerossol de gotículas finas que perdem umidade da camada mais externa ao entrar em contato com o ar quente pressurizado gerado na câmara de secagem (ENGEL et al., 2017; PERINELLI et al., 2020). As microcápsulas entram na camada mais interna e fazem com que o material se solidifique, de forma que a substância a ser protegida fica completamente aprisionada (SILVA, 2016) (Figura 9). As características das microcápsulas obtidas pelo processo de secagem por pulverização são geralmente características do tipo matricial, em que o “núcleo” a ser encapsulado é distribuído no agente encapsulante, e o mecanismo de liberação é geralmente controlado pela ação do solvente ou por difusão (AZEREDO, 2005).

Figura 9: esquema de funcionamento do Spray-Dryer



Fonte: (SOSNIK; SEREMETA, 2015)

Contudo, a literatura descreve poucos desenvolvimentos de microcápsulas de extratos de *U. tomentosa* a partir de secagem por spray-dryer, entre elas, Um método para isolar o componente bioativo do extrato aquoso de *Uncaria tomentosa* conhecido como C-MED-100<sup>®</sup>, um produto rico em ácido quínico, possuem patente vinculada à promoção da atividade do sistema imune e reparação da estrutura do DNA, tal fração, foi obtida por ultrafiltração e submetida à secagem por aspersão, imediatamente, usando maltodextrina como adjuvante de secagem (PERO, 2003)

Lima (2018) descreve em sua pesquisa a obtenção de um pó a partir de extratos hidroetanólico e aquoso de *U. tomentosa* e *Endopleura uchi* (separadas e associada) com e sem a adição de excipiente (20% de Aerosil) obtendo um pó fino, sem aglomerações, marrom claro e com odor característico para os extratos etanólicos já, o extrato aquoso, obteve os mesmos aspectos exceto que, o pó adquirido, apresentou aglomerações.

Recentemente, Rodrigues et al. (2020) avaliaram a importância das possíveis variáveis do equipamento (velocidade da bomba, diâmetro do bico de pulverização, temperatura de entrada de ar e taxa de fluxo de ar de atomização) utilizando a maltodextrina e a goma acácia como carreadores na proporção de 1:1 (m/m), considerando o teor de resíduos sólidos do extrato de *U. tomentosa*, onde um maior fluxo de ar de atomização levou a um maior rendimento do processo para os extratos secos com maltodextrina, com temperatura mais elevada levou a menores teores de umidade em relação aos extratos secos com goma acácia e nenhuma variável, para qualquer portador, foi considerada significativa para higroscopicidade.

## 2.6 DISSOLUÇÃO

Em termos simples, a dissolução pode ser definida como o processo que se dissolvem as partículas do fármaco. As partículas do fármaco no estado sólido são liberadas da forma farmacêutica de administração e as moléculas da superfície entram primeiro na solução. Na interface fármaco-solução, forma-se uma chamada camada de estagnação, cujas moléculas se difundem através do solvente líquido e entram em contato com as membranas biológicas, onde ocorre a absorção (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Para formas farmacêuticas sólidas convencionais, a liberação do fármaco, envolve duas etapas sequenciais, a desintegração e dissolução, contudo, para as cápsulas, a etapa de desintegração implica na dissolução do invólucro e na desagregação de seu conteúdo (LEAL, 2010).

O teste de dissolução de medicamentos tem sido usado como uma excelente ferramenta para detectar problemas de formulação que podem alterar a liberação do fármaco no corpo, garantindo assim a qualidade lote a lote, orientando o desenvolvimento de novas formulações e garantindo qualidade e desempenho uniformes de certos medicamentos após determinadas modificações (BRASIL, 2003).

Hoje, a importância do teste de dissolução está mais compreendida, pois um comprimido tecnicamente perfeito não garante sua eficácia, pois antes da fase farmacocinética (absorção, distribuição, biotransformação e excreção) e na farmacodinâmica (interação fármaco-receptor), houve a fase da tecnologia farmacotécnica cujo objetivo era liberar o fármaco do medicamento para que pudesse ser absorvido (STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995 apud BAPTISTA, 2005). Devido a este fato, em 1969, a Farmacopeia dos Estados Unidos (USP) 18 lançou oficialmente o primeiro teste de dissolução (JAMZAD; FASSIHI, 2006). No Brasil, só passou a vigorar oficialmente na 4ª edição da Farmacopeia Brasileira, em 1988 (BAPTISTA, 2005).

Portanto, as especificações de dissolução *in vitro* foram estabelecidas para indicar possíveis problemas de biodisponibilidade (BD). Para novos medicamentos, as especificações de dissolução devem ser baseadas em dados obtidos em estudos de BD, e para medicamentos genéricos seguir as recomendações de medicamentos de referência (BRASIL, 2003).

São descritas três categorias de ensaio de dissolução para medicamentos de liberação imediata, sendo, especificação de um único ponto: para testes de controle de qualidade de rotina (para medicamentos contendo fármacos altamente solúveis); O ensaio de dois pontos: para

caracterizar a qualidade do medicamento ou controle de qualidade de rotina de fármacos pouco solúveis que se dissolvem lentamente (BRASIL, 2003); Perfil de dissolução: é obtido pela realização de várias coletas do meio de dissolução, no mínimo em cinco pontos em tempos adequados, determinando-se a percentagem de fármaco dissolvida em cada tempo, sendo esta, uma importante ferramenta no desenvolvimento de novas formulações, evidenciando diferenças na dissolução causadas por fatores relacionados ao fármaco, excipientes e à técnica de fabricação utilizada, permitindo assim uma análise mais conclusiva, contudo a grande dificuldade está na comparação dos perfis (LEAL, 2010).

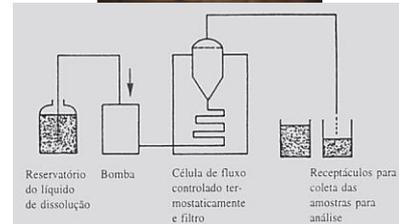
Para a realização do ensaio de dissolução para formas sólidas, os equipamentos oficializados pelas principais farmacopeias são descritos brevemente na tabela 2. (BAPTISTA, 2005; BRASIL, 2019).

Os ensaios de dissolução podem, ainda, ser empregados para evitar a exigência da realização de estudos de bioequivalência (BE) para dosagens menores de um certo medicamento (BRASIL, 2003).

**Tabela 2: principais equipamentos utilizados nos ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas.**

Métodos	Descrição	Exemplos dos tipos de aparatos
1	Cuba de precipitação e cesta rotatória: geralmente utilizado para formas farmacêuticas sólidas, formas de baixa densidade ou de desintegração lenta, grânulos ou formas de liberação imediata.	 <p>Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2021)</p>
2	Cuba de precipitação e pá rotatória: recomendado para forma farmacêuticas sólidas e forma de liberação imediata; pode-se usar "sinkers", que é um acessório projetado para segurar formas de baixa densidade (como as cápsulas).	 <p>Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2021)</p>
3	Cilindros alternantes: Foi inspirado no aparelho de desintegração, composto por uma série de frascos de fundo plano e tubos cilíndricos, com tela de polipropileno nas faces superior e inferior, permitindo que o cilindro oscile vertical e horizontalmente entre os frascos, geralmente utilizado para perfil de liberação/dissolução com alteração de pH e para grânulos de liberação modificada.	 <p>Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2021)</p>

- 4 Célula de fluxo: este método pode ser utilizado para diversas formas farmacêuticas (exceto gomas de mascar e adesivos transdérmicos). Tem grande utilidade em ensaios com mudança de pH do meio de dissolução (formas de liberação prolongada). Pode, ainda ser usado para fármacos com baixa solubilidade em meio aquoso (o aparelho possibilita modificações permitindo a circulação de 3 litros por 22 hora). Pode ser modificado também para volumes muito pequenos de meio, para avaliação de formulações com baixas concentrações de fármaco.



Fonte: (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002)

Fonte: (BRASIL, 2019; OLIVEIRA, 2019)

## 2.6.1 Fatores que influenciam a dissolução e absorção dos fármacos

### 2.6.1.1 Fatores relacionados ao paciente

As membranas funcionam como uma barreira pela qual o fármaco atravessa por meio de duas maneiras, por difusão passiva e por meio de mecanismos de transporte especializado (transportes ativos) (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013), e devido a composição ou natureza lipoproteica dessas membranas, determinados fármacos podem ter uma menor ou maior facilidade de transporte, além da fisiologia da membrana, a fisiologia do trato gastrointestinal (TGI) exerce papel fundamental na absorção de moléculas (BAPTISTA, 2005), por isso, a fisiologia e anatomia do TGI devem ser conhecidas, tendo em vista que um teste de dissolução deve simular ao máximo as condições fisiológicas (JAMZAD; FASSIHI, 2006).

A velocidade que ocorre a dissolução e absorção de fármacos são influenciados por diferentes parâmetros encontrados na fisiologia do TGI, como: motilidade gastrointestinal, fluxo sanguíneo, pH, capacidade tamponante, presença de tensoativos e volume luminal. Fatores, esses, que podem ser alterados de acordo com o estado alimentado ou jejum do indivíduo (BROWN et al., 2004).

O fluxo e o tempo de residência total de um medicamento no TGI dependem de sua forma farmacêutica, pois o fármaco atinge rapidamente o estômago após a ingestão e chega ao intestino delgado, mas o tempo de esvaziamento gástrico pode acelerar ou atrasar a taxa e o grau de absorção da droga no intestino delgado. O tempo total de passagem no TGI dependerá de fatores inerentes ao medicamento, volume do estômago, temperatura corporal, etc., bem como da diversidade do indivíduo, como alimentação ou jejum, idade e integridade do TGI (FONSECA, 2007).

O pH é um parâmetro muito importante para a absorção dos fármacos, pois são absorvidos apenas na forma não iônica, e a fração de cada forma depende do pH do meio dissolvente e do pKa da substância ativa, portanto, o pH do estômago pode facilitar a absorção de fármacos ácidos. Dependendo das características do fármaco e do local onde ele se encontra, o mesmo tende a ter uma maior ou menor absorção, pois, os segmentos do trato gastrointestinal diferem entre si em relação a valores de pH (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; FONSECA, 2007)

Outro fator que facilita a absorção é o efeito dos tensoativos endógenos, representados pelos sais biliares presentes no intestino delgado, estes, variam de 0,0 a 14,0 mM no estado de jejum e 3,0 a 35,0 mM no estado de alimentação, promovendo principalmente a absorção de drogas pouco solúveis (MITHANI et al., 1996).

### *2.6.1.2 Fatores relacionados ao fármaco*

#### *2.6.1.2.1 Solubilidade*

A solubilidade é um dos fatores mais importantes porque apenas os medicamentos que estão dissolvidos no fluido do TGI serão absorvidos. A solubilidade é afetada por fatores fisiológicos, como o pH que afeta o grau de ionização molecular (FONSECA, 2007).

A relação solubilidade-pH pode ser explicada pelo grau de ionização molecular, que depende do pH da solução. Devido às propriedades lipídicas das membranas celulares, substâncias com propriedades lipossolúveis (neste caso a forma não iônica) são mais facilmente permeadas. Além disso, a natureza carregada das membranas celulares pode levar à atração ou repulsão do fármaco ionizados (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; BAPTISTA, 2005)

#### *2.6.1.2.2 Polimorfismo e amorfismo*

Polimorfismo refere-se à característica de que uma substância química pode existir em mais de uma forma cristalina, o que depende das condições (temperatura, solvente, tempo) que induzem a cristalização (BAPTISTA, 2005). Os polimorfos geralmente exibem diferentes propriedades físico-químicas, incluindo ponto de fusão e solubilidade. Apresentações polimórficas são relativamente comuns; estima-se que pelo menos um terço de todos os compostos apresentam polimorfismo (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Além de ser polimórfico, o composto pode ser cristalino ou amorfo, sendo que, a energia necessária para que as moléculas do fármaco escapem do cristal é muito maior do que

a energia necessária para escapar do pó amorfo, logo, a apresentação amorfa do composto é sempre mais solúvel do que a forma cristalina correspondente, portanto, um fator importante na formulação é a forma cristalina ou amorfa do fármaco. (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A explicação para a diferença de solubilidade citada acima é que o cristal possui menor energia livre, já na forma amorfa, por não haver uma rede cristalina tridimensional, a mobilidade molecular é maior (SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Além de importantes para a preparação de formas farmacêuticas, alterações nas características dos cristais também podem interferir na biodisponibilidade e estabilidade química e física do fármaco (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Por exemplo, devido a mudanças nas propriedades de fluxo, compressão e etc., as mudanças no polimorfismo podem afetar a formação dos comprimidos (SINGHAL; CURATOLO, 2004), por isso, muitas técnicas são usadas para determinar as características dos cristais; as mais utilizadas são: microscopia *hot stage*, análise térmica, espectroscopia em infravermelho e difração de raios X (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

#### 2.6.1.3 Fatores relacionado a formulação

O conceito de excipientes evoluiu de simples transportadores químicos e farmacologicamente inertes para importantes adjuvantes para garantir e otimizar o desempenho dos medicamentos (PIFFERI; SANTORO; PEDRANI, 1999), assim, fármacos física ou quimicamente instáveis podem exigir excipientes especiais, revestimentos ou certos procedimentos técnicos para protegê-los da degradação (BAPTISTA, 2005). Portanto, o sucesso do medicamento depende não apenas das características e do processo de produção do medicamento, mas também da qualidade dos excipientes (PIFFERI; SANTORO; PEDRANI, 1999).

Devido às propriedades funcionais dos excipientes (melhorar a preservação da formulação, reduzir a irritação gástrica e promover o processo de preparação, etc.) os excipientes são selecionados para compor a formulação, podendo, também, afetar as propriedades físico-químicas do medicamento, como a dissolução (FONSECA, 2007). De acordo com a Resolução nº 48 de 2009, toda alteração feita em uma determinada fórmula após o registro deve ser avaliada por um ensaio de perfil de dissolução comparativo entre o pré-

registro e a nova fórmula pós-registro. Todos estes são necessários devido a possíveis alterações na biodisponibilidade (BRASIL, 2009).

A interação de excipientes e fármacos pode produzir produtos mais solúveis ou menos solúveis como, por exemplo, fármacos com baixa solubilidade, a adição de um desintegrante pode acelerar a desintegração da formulação e promover o aumento da liberação de partículas, assim como a adição de tensoativos que diminuem a tensão superficial aumentando a dissolução, contudo, a quantidade adicionada deve ser controlada pois em altas concentrações podem interagir com o fármaco, gerando micelas, reduzindo a área superficial, aumentando a interface, levando a uma dissolução mais lenta (FONSECA, 2007).

De acordo com as propriedades físico-químicas da substância ativa, os excipientes podem desempenhar diferentes funções: alguns excipientes podem alterar o pH do meio, onde o fármaco se dissolverá, fazendo com que sua solubilidade aumente ou diminua (FONSECA, 2007), podem estender o tempo de retenção da droga no trato gastrointestinal, aumentando assim a absorção total. Outros podem atuar como carreadores através da parede intestinal, portanto, se usados inadequadamente nas preparações, eles afetarão a taxa e a extensão da absorção do fármaco (BAPTISTA, 2005).

Na mesma classe de excipientes, diferentes efeitos podem ocorrer de acordo com as propriedades físico-químicas da substância. Por exemplo, estudos mostraram que o estearato de magnésio, como um lubrificante hidrofóbico, muitas vezes retarda a dissolução de comprimidos de ácido salicílico, diminuindo a área interfacial fármaco-solvente através de mudanças nas características da superfície dos comprimidos, resultando na diminuição da molhabilidade, assim, prolongando o tempo de desintegração e diminuição da área da interface entre o ativo e o solvente. Outros lubrificantes, como laurilsulfato de sódio, podem aumentar significativamente a dissolução (BAPTISTA, 2005).

Portanto, está claro que os excipientes desempenham um papel importante na liberação do fármaco de sua forma farmacêutica e na eficácia da formulação, e devem ser cuidadosamente selecionados para incorporação na formulação, pois afetarão a taxa e a extensão da absorção do fármaco (FONSECA, 2007).

#### *2.6.1.4 Fatores relacionados ao sistema e ao meio de dissolução*

Para o desenvolvimento do teste de dissolução as condições devem ser os mais relevantes possíveis, ou seja, próximas da situação fisiológica, para que os dados obtidos no

teste de dissolução *in vitro* sejam semelhantes ao desempenho do medicamento no organismo (AULTON; TAYLOR, 2016).

#### 2.6.1.4.1 Sistema de dissolução

Para que o teste de dissolução seja bem sucedido, a intensidade de agitação deve ser consistente com o aparato utilizado e a velocidade de dissolução esperada, para evitar assim, turbulências no sistema e manter o fluxo laminar reprodutível, característica básica para resultados confiáveis. A velocidade de agitação e o fluxo devem ser mantidos em níveis mais baixos (BAPTISTA, 2005).

A temperatura e agitação do meio são fatores que afetam a dissolução do fármaco, por isso, é muito importante manter a temperatura a 37 °C com variação máxima de  $\pm 0,5$  °C, e é um fator cuidadosamente controlado devido à sua relação com a solubilidade do fármaco (BAPTISTA, 2005). Um aumento na temperatura leva a um aumento na energia cinética molecular (AULTON; TAYLOR, 2016; BAPTISTA, 2005) e um aumento na constante de difusão D (coeficiente de difusão). Já a agitação pode ser definida como o movimento peristáltico do TGI no corpo e deve ser mantido constante pois o seu aumento pode refletir na diminuição da espessura da camada estagnante gerando em um maior percentual dissolvido (BAPTISTA, 2005).

#### 2.6.1.4.2 Meio de dissolução

A escolha do meio de dissolução é baseada na solubilidade do fármaco em relação à dose do produto, e é necessário fornecer a condição *sink* tanto quanto possível, sem envolver um grande volume do meio ou mecanismos de substituições constantes. Quando o volume do meio utilizado é superior a 3 vezes a concentração de saturação do fármaco, atinge-se a condição *sink*, ou seja, o distanciamento da condição de saturação do meio com o fármaco; portanto, o objetivo é garantir que a taxa de dissolução não diminuirá devido à proximidade da concentração saturada. O volume do meio de dissolução é geralmente de 500, 900 e 1000 mL. Recomenda-se usar a condição *sink*, mas não é obrigatório (FONSECA, 2007).

O meio usado deve simular as condições *in vivo*, controlando o pH, a viscosidade e a tensão superficial. No caso do pH, recomenda-se a utilização de meio dentro da faixa fisiologicamente relevante, ou seja, entre 1,2 e 6,8 (BAPTISTA, 2005). Para formas farmacêuticas de liberação modificada pode ser estendida até pH 7,5, tendo os meios habituais:

água, meio gástrico simulado, meio entérico simulado e ou tampão com pH na faixa de 4,5 a 7,5 (FONSECA, 2007). Quanto a viscosidade, sua importância está relacionada a fase de difusão que ocorre posteriormente a solubilização, em meios muito viscoso, a velocidade de difusão tende a diminuir. (BAPTISTA, 2005).

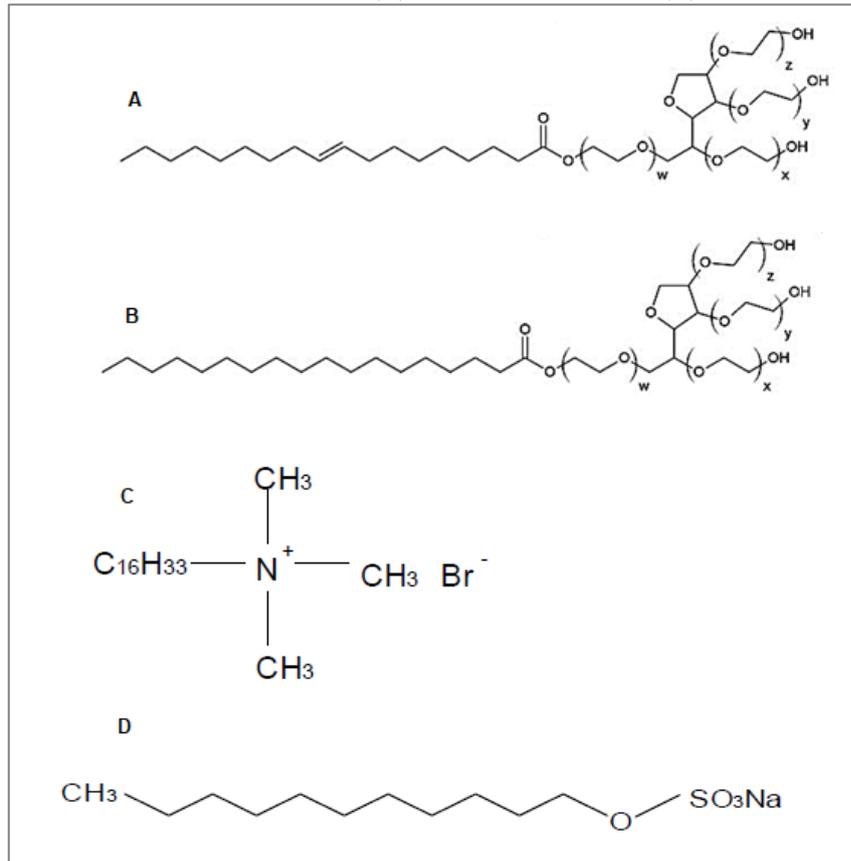
Outro fator importante a ser considerado no preparo dos meios é a remoção dos gases dissolvidos no meio (FLISZAR et al., 2005), pois, pequenas bolhas de ar podem alterar o ensaio de dissolução, se associando com partículas agregadas, impedindo o contato na interface sólido-líquido e alterando o processo de desintegração e desagregação pela redução da área de superfície exposta ao solvente. Podem alterar a porosidade da malha da cesta ao se aderir na mesma, com consequências no fluxo do meio de dissolução (FONSECA, 2007). Além do mais, os gases dissolvidos podem causar mudança de pH, formando bolhas na forma farmacêutica ou alterando a interação do meio e o ingrediente farmacêutico ativo (FLISZAR et al., 2005).

Os tensoativos são normalmente usados em meios de dissolução para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis, tendo como estrutura típica, uma cadeia de hidrocarbonetos (8 a 18 átomos) ligada a um grupo que define a natureza não-iônica, catiônica, aniônica ou anfótera do surfactante (MANIASSO, 2001).

Os tensoativos têm a função de reduzir a tensão interfacial entre o soluto e o solvente no qual ele está presente. Alguns mecanismos podem estar relacionados a esta função como à molhabilidade das partículas, ou seja, o tensoativo facilita o contato entre as partículas e o solvente. Outro mecanismo é a solubilização micelar, onde o tensoativo podem aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis por meio desse mecanismo (AULTON; TAYLOR, 2016; FONSECA, 2007).

A quantidade de tensoativos necessária para solubilizar completamente o fármaco depende da concentração micelar crítica do tensoativo e do coeficiente de partição do ativo entre o meio e a micela. A concentração micelar crítica é a concentração na qual o tensoativo não está mais na solução verdadeira, mas está disperso na forma de micelas. Quando esse estágio é atingido, a capacidade dessas soluções em dissolver substâncias hidrofóbicas aumenta, pois, os fármacos insolúveis se dissolvem na parte apolar das micelas do tensoativo. Os tensoativos mais utilizados são laurilsulfato de sódio, polissorbato 80 e brometo de cetiltrimetilamônio (Figura 10) (FONSECA, 2007).

**Figura 10: Estrutura química dos tensoativos polisorbato 80 (A) polisorbato 60 (B) brometo de cetilmetilamônio (C) laurilsulfato de sódio (D)**



**Fonte:** A e B (SZYMCZYK; ZDZIENNICKA; JAŃCZUK, 2018); C e D (FONSECA, 2007).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O projeto se propõe a desenvolver e caracterizar microcápsulas spray-dryer de extrato de *Uncaria tomentosa*

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção de microencapsulados de *Uncaria tomentosa* (unha de gato) na forma de microcápsulas contendo matriz de amido/aerosil usando a técnica de spray-drying;
- Avaliação da estabilidade física, físico-química e química das composições obtidas por spray-drying;
- Estudos de caracterização físico-química da composição microcápsula usando diferentes técnicas como, análises térmicas, perfil cromatográfico por HPLC-UV, FTIR e UV-vis;
- Avaliação da morfologia das microcápsulas carregadas com extrato de *Uncaria tomentosa*;
- Avaliação do grau de encapsulação dos compostos fenólicos e outros metabólitos, polifenóis, procianidinas, glicosídeos e triterpenos do ácido quinóico, fitosteróis e ácido oleânico presentes no extrato de *Uncaria tomentosa* nos complexos de amido/aerosil;
- Avaliar a atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical de DPPH;
- Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) pelo método microdiluição em caldo;
- Avaliação do mecanismo de dissolução e cinética de dissolução dos complexos amido/gelatina contendo *Uncaria tomentosa*;
- Propor uma composição final sólida contendo *Uncaria tomentosa*.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 OBTENÇÕES DOS EXTRATOS DE *UNCARIA TOMENTOSA*

A casca de *Uncaria tomentosa* foi adquirida no comércio on-line pela empresa Kampo de ervas®, na forma de pó das cascas 40g (disponível em: <https://www.kampodeervas.com.br/unha-de-gato/>). O estudo foi cadastrado com o título “Pesquisa científica, desenvolvimento de produtos tecnológicos e produção de conhecimento científicos com plantas medicinais e frutas tropicais brasileiras” em 27/08/2018 no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen), com o código AAB446A e com primeira retificação em 09/07/2021 para adição de novas plantas medicinais.

Para a obtenção dos extratos de *U. tomentosa* foi utilizado o métodos extrativo de maceração e de infusão, segundo a 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010) onde:

Pesou-se 120 g do pó fino proveniente. Após a obtenção do pó, o mesmo foi mantido sob maceração em 600 mL de etanol 92% (EtOH 92°GL) à temperatura ambiente. Logo após, a mistura preparada foi deixada em repouso durante 48 h a temperatura ambiente para permitir a extração de suas substâncias bioativas. O sobrenadante foi retirado e realizado uma nova extração com a adição de mais 400 ml de etanol, tendo seus extratos reunidos no fim desse processo. O extrato resultante foi filtrado usando papel filtro qualitativo Whatman Nº 1 e concentrado por um evaporador rotativo à vácuo, tendo uma massa sólida (35 g) foi recuperada e armazenada sob refrigeração, utilizada para preparação de produtos padronizados de *Uncaria tomentosa*. O mesmo processo foi realizado com a utilização de etanol 70% (EtOH 70°GL) para uma possível obtenção de ativos diferenciados em sua composição.

Um segundo método de extração foi pesando uma quantidade de 5 g do pó das cascas de *Uncaria tomentosa* e submetendo a extração por infusão por 30 minutos. A água osmose reversa foi submetida a aquecimento no micro-ondas por 3 minutos e, em seguida, o recipiente foi fechado e mantido em repouso por tempo de 30 minutos. O infuso obtido foi filtrado usando papel filtro qualitativo Whatman Nº 1 e submetido a análise HPLC. O mesmo processo foi realizado com 500 mg das microcápsulas de *Uncaria tomentosa* em 10 ml de água osmose reversa.

### 4.2 TRIAGEM FITOQUÍMICA PARA ALCALÓIDES

Os extratos foram submetidos a reação de caracterização fotoquímica para a presença de alcaloides utilizando o reativo de Dragendorff de acordo com 6ª edição da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019).

A preparação do reagente de Dragendorff foi preparado como segue: misturar volumes iguais de solução aquosa de iodeto de potássio (KI) a 40% (p/v) e de solução preparada dissolvendo 0,85 g de subnitrato de bismuto em mistura de 10 mL de ácido acético glacial e 40 mL de água. Diluir 1 volume dessa mistura com 2 volumes de ácido acético glacial (CH<sub>3</sub>COOH) e 10 volumes de água imediatamente antes do uso.

Em um tubo de ensaio adicionou-se 2 mL da amostra previamente solubilizada em etanol absoluto ou em sistema aquoso, em seguida adicionou-se de 200 a 500 µL do reagente Dragendorff, agitou levemente a amostra. Deixou-se em repouso por até 120 minutos. A precipitação ocorreu de forma lenta de acordo com a quantidade de alcaloides na amostra. A detecção de alcaloides ocorreu com um precipitado de coloração que varia do amarelo alaranjado ao laranja amarronzado. Da mesma forma foi realizado para a amostra branco onde adicionou-se o reagente em sistema de solvente aquoso ou etanólico.

#### 4.3 DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS POR SECAGEM EM SPRAY DRYER CARREGADAS COM ATIVOS DE *UNCARIA TOMENTOSA*

##### 4.3.1 Formulação UT-F1

As microcápsulas foram obtidas a partir do método de secagem por spray dryer, onde, em um agitador magnético foi solubilizado 5,64 g (43,33 % da formulação) do agente encapsulante (am-ido) em água destilada e lentamente incorporado 6,51 g (50 % da formulação) do extrato etanólico de *Uncaria tomentosa* resolubilizado em etanol abs. Então, adicionou-se ainda 0,87 g (6,66 % da formulação) de dióxido de silício coloidal (Aerosil®) para melhorar a fluidez do pó no spray-dryer resultante da secagem desta formulação.

A formulação foi seca em um Mini Spray Dryer B-290 tendo uma temperatura de entrada de 180°C e temperatura de saída de 100°C com vazão de alimentação de 10,7 mL/min, a formulação foi mantida em agitação constante por todo o decorrer do processo.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS E MICROENCAPSULADO DE *UNCARIA TOMENTOSA*

##### 4.4.1 Particionamento do extrato de *Uncaria tomentosa*

O particionamento foi realizado com o auxílio de um funil de separação, ocorrido por meio de extração líquido: líquido, onde, o extrato etanólico bruto foi pesado (10g) e solubilizado em etanol 40%, esta solução foi adicionada ao funil de separação e posteriormente adicionado

diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), sendo estes imiscíveis, ocorre a separação dos alcaloides para a fração de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , esta foi separada e rotaevaporado. Outro método utilizado foi a adição de KOH para basificar o extrato etanólico, em seguida adicionou-se hexano:n-butanol na proporção de 1:1 coletando esta fração antes e depois de um período de 1:30h. Após a secagem foi realizado mais uma separação por meio da solubilização da fração seca de acordo com a tabela 3.

Os produtos desse particionamento passam para o processo de cromatografia líquida de alta eficiência pra identificar seus marcadores de qualidade e concentração inibitória mínima (CIM) para avaliar a possível inibição de algumas cepas de bactérias.

**Tabela 3: Particionamentos dos extratos etanol absoluto (ab.) e etanol 70%.**

Fração	Extrato	Obtenção da fração
UT-1	Etanol ab.	Fração diclorometano
UT-2	Etanol ab.	Fração diclorometano solúvel em metanol
UT-3	Etanol 70%	Fração diclorometano solúvel em Metanol
UT-4	Etanol ab.	Precipitado da fração UT-6
UT-5	Etanol ab.	Fração hexano : n-butanol 1:1 basificado com KOH 0,5 M (reação com menos de 1:30 h) solúvel em metanol
UT-6	Etanol ab.	Fração hexano : n-butanol 1:1 basificado com KOH 0,5 M (reação com mais de 1:30 h) solúvel em metanol
UT-7	Etanol 70%	Fração diclorometano solúvel em clorofórmio

Fonte: Autor, 2021.

#### 4.4.2 Determinação do Teor de Fenóis Totais Pelo Método de Folin-Ciocalteu

##### 4.4.2.1 Construção da curva de calibração da catequina

Primeiramente foi preparado as soluções necessárias para o experimento, sendo elas, o carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 15% (p/v) em água osmose reversa (OR), uma solução de catequina ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ) com concentração final 1 mg/mL (padrão analítico) em etanol 70%.

Após essas preparações, em um balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se 250  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu, 3 mL de água OR a catequina em diferentes concentrações (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) agitando a solução por 1 minuto, posteriormente transferiu-se 600  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) agitou-se por mais 30 segundos, aferindo o balão com água OR.

A solução foi mantida protegida da luz por 2 horas para que ocorresse a oxidação dos fenóis. O ensaio foi realizado em triplicata. Observou-se a mudança de coloração, de esverdeado para azul. A leitura foi realizada no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 750 nm.

A quantificação de fenóis totais foi previamente validada atendendo aos parâmetros de curva de calibração, precisão, precisão intermediária e exatidão. Atendendo aos requisitos mínimos de validação de metodologias analíticas descritas na resolução RDC 166/2017 (ANVISA, 2017).

#### *4.4.2.2 Teor de fenóis totais do extrato e microencapsulado de *Uncaria tomentosa**

Preparou-se duas soluções estoque provenientes do extrato bruto e microencapsulado 50% de *U. tomentosa* (UT-F1), este, faz-se necessário pesar quantidade correspondente de extrato bruto na formulação (50%), obtendo assim duas soluções estoque com 1 mg/mL.

Posteriormente para o método de fenóis totais, transferiu-se para um balão de 10 mL 250  $\mu$ L de Folin-Ciocalteu e adicionou-se 3mL de água destilada retirou-se uma alíquota da solução estoque, para se alcançar diferentes concentrações do extrato bruto ou microencapsulado (8, 12, 16 e 20  $\mu$ g/mL) agitando por 1 minuto, após esse processo, adicionou-se 600  $\mu$ L de solução de carbonato de cálcio 15% e agitou-se por 30 segundos e aferiu-se com água OR, a reação permaneceu no escuro por 2 horas para que ocorresse a reação. A análise foi realizada da mesma forma para ambos os extratos, em triplicata, a leitura foi realizada no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 750 nm (NASCIMENTO et al., 2018).

Calculou-se a concentração de fenóis totais nas amostras do extrato bruto ou microencapsulado, transformando-se os dados de absorvância em concentração pela equação da reta ( $y = a + bx$ ). Estimou-se a variabilidade do método pelos dados de precisão e exatidão durante a validação do método analítico. A concentração de fenóis totais foi estabelecida em termos de percentagem (%) de catequina no extrato (bruto ou microencapsulado) determinadas pela média  $\pm$  desvio padrão (DP) das quatro concentrações (8, 12, 16 e 20  $\mu$ g/mL) ensaiadas do extrato bruto ou microencapsulado após estimar a concentração de catequina em  $\mu$ g/mL nas amostras.

### **4.4.3 Flavonoides totais**

#### *4.4.3.1 Construção da curva de calibração da quercetina*

A curva de calibração foi construída a partir do padrão analítico da quercetina em diferentes concentrações. Inicialmente preparou-se as soluções necessárias para o experimento, sendo elas: cloreto de alumínio ( $AlCl_3$ ) a 5% em metanol, solução de quercetina ( $C_{15}H_{10}O_7$ ) com concentração final de 1 mg/ml em etanol 70%. A curva de calibração foi estabelecida em

sete concentrações diferentes (1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 µg/mL), onde foi colocado em cada balão o volume suficiente para atingir tais concentrações e, posteriormente, 100 µL de cloreto de alumínio a 5%, completando-se o volume do balão (5 mL) com metanol, agitou-se levemente por alguns segundos e a solução final foi protegida da luz por 30 min., a leitura foi realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda de 425 nm (NASCIMENTO et al., 2018).

A quantificação de flavonoides totais foi previamente validada atendendo aos parâmetros de curva de calibração, precisão e exatidão. Atendendo aos requisitos mínimos de validação de metodologias analíticas descritas na resolução RDC 166/2017 (ANVISA, 2017).

#### 4.4.3.2 Teor de flavonoides totais do extrato e microencapsulado de *Uncaria tomentosa*

Foram preparadas as 4 soluções de trabalho sendo estas: microencapsulado e extrato bruto preparados em etanol absoluto com concentração final de 2,5 e 5 mg/mL respectivamente, também foi preparado duas infusões, casca de *U. tomentosa* pulverizada e microencapsulados, onde foi pesado 5 g e 500 mg e colocados em 100 e 10 mL de água em temperatura de fervura, respectivamente, resultando em duas concentrações de trabalho com concentrações finais de 3 mg/mL e 6,7 mg/mL (avaliadas em balança de umidade).

Posteriormente foi estabelecido quatro concentrações diferentes para as soluções de trabalho (Tabela 4) onde foi colocado em cada balão o volume suficiente para atingir tais concentrações e, posteriormente, 100 µL de cloreto de alumínio a 5%, completando-se o volume do balão (5 mL) com metanol, agitou-se levemente por alguns segundos e a solução final foi protegida da luz por 30 min. A leitura foi realizada no espectrofotômetro com comprimento de onda de 425 nm.

**Tabela 4: Concentrações finais das amostras da curva de calibração da catequina.**

Amostra	Concentração µg/mL			
Extrato bruto EtOH	300	400	500	600
UT-F1 EtOH	250	300	400	500
Extrato bruto infusão	300	400	500	600
UT-F1 infusão	150	200	300	400

**Fonte:** Autor, 2021.

Calculou-se a concentração de flavonoides totais nas amostras do extrato bruto EtOH, UT-F1 EtOH, extrato bruto infusão e UT-F1 infusão transformando-se os dados de absorvância em concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) pela equação da reta ( $y = a + bx$ ). Estimou-se a variabilidade do método pelos dados de precisão e exatidão durante a validação do método analítico. A concentração de flavonoides totais foi estabelecida em termos de percentagem (%) de quercetina nos extratos mencionados e determinado pela média  $\pm$  desvio padrão (DP) das quatro concentrações, de acordo com a tabela acima, ensaiadas dos extratos após estimar a concentração de quercetina em  $\mu\text{g/mL}$  dividido pela concentração do extrato em  $\mu\text{g/mL}$  nas amostras multiplicado por 100.

#### 4.4.4 Varredura em espectrofotômetro UV-visível

As amostras dos extratos foram pesadas e solubilizadas em etanol ou água OR e diluídos para concentrações de acordo com a tabela 5. Em seguida, as soluções foram submetidas a espectro de varredura em equipamento de ultravioleta da marca Shimadzu®, modelo UV-1280, usando como parâmetro absorvância de 3,000 e comprimento de onda na faixa de 200 nm a 600 nm, sendo considerados os valores de nanômetros de 5 em 5, para plotar gráfico com o auxílio dos softwares Graphpad Prism®.

**Tabela 5: Concentrações finais das amostras para varredura em espectrofotômetro uv-visível.**

<b>Amostra</b>	<b>Concentração <math>\mu\text{g/mL}</math></b>
Extrato bruto EtOH	30
UT-F1 EtOH	30
Extrato bruto infusão	18
UT-F1 infusão	30

**Fonte:** Autor, 2021.

#### 4.4.5 Cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE

##### 4.4.5.1 Identificação de alcaloides presentes na *U. tomentosa*

Os marcadores de qualidade da *Uncaria tomentosa* foram identificados por CLAE acoplada a um detector de ultra-violeta (Shimadzu). O extrato de *Uncaria tomentosa* para a injeção foi preparado à 200  $\mu\text{g/mL}$  em metanol. As condições cromatográficas como

comprimento de onda de 242; 291; 283 nm, fase móvel utilizada ácido fórmico 0,1% como solvente A e acetonitrila como solvente B em modo gradiente, coluna C18 (Phenomenex® - Kinetex XB C18 100Å, 250 x 4.6 mm; 5µm), tempo de análise de 35 min., volume de injeção 2 µL.

#### 4.4.5.2 Identificação de compostos fenólicos presentes na *U. tomentosa*

Os extratos de *Uncaria tomentosa* para a injeção foi: Extrato bruto, Extrato aquoso (infusão), partições UT1, UT4 e UT7. Os diversos compostos fenólicos presentes na *Uncaria tomentosa*, alguns foram identificados por *Ultra Fast Liquid Chromatography* (UFLC) Nexera XR do tipo UFLC-DAD acoplada a um detector de arranjos de diodo (Shimadzu). As condições cromatográficas foram definidas com um sistema de degaseificação (DGU-20A-3R), bomba de ultra-pressão LC-20AD XR (Nexera XR, Shimadzu), auto-injetor (SIL 20A XR), forno para controle de temperatura (CTO-20A), detector DAD (SPD-M20A), uma controladora (CBM-20A) e um software Labsolution® da Shimadzu.

O equipamento apresentou uma fase móvel que consistia de ácido fórmico 0,1% (solvente A) e metanol (solvente B) com de fluxo de fase móvel de 0,6 mL/min, temperatura do forno de 33°C, pré-coluna C<sub>18</sub> Phenomenex (4,0 x 3,0 mm, 5µm) e uma coluna C<sub>18</sub> Phenomenex – Kinetex (250 x 4,6 mm; 5 µm), detector de arranjos de diodo operando nos comprimentos de onda de 245, 260, 280, 320 e 355 nm, tempo de análise de 54 min. e volume de injeção 2 µL. O modo de separação utilizada foi no modo gradiente (Tabela 6).

**Tabela 6: Percentagem dos solventes utilizados na análise em função do tempo.**

<b>Tempo (Min.)</b>	<b>Solvente A (%)</b>	<b>Solvente B (%)</b>
0	90	10
3	90	10
8	83	17
13	75	25
18	65	35
23	59	41
28	51	49
33	43	57
35	32	68
42	20	80
46	40	60

48	62	38
50	84	16
52	90	10
54	90	10

**Fonte:** Autor, 2021.

O pó das cascas (5 g do pó das cascas) foi submetido a extração por infusão, no qual as cascas foram suspensas em 100 mL de água fervente e deixado em repouso por 30 minutos, e em seguida filtrado em unidade filtrante de 0,22 $\mu$ m e diretamente injetado no UFLC-DAD-UV. Microcápsulas de UT-F1 foi pesado (correspondente a 500 mg de extrato bruto na microcápsula solubilizado em água 10 mL submetido a extração por infusão em água fervente e deixado em repouso por 30 minutos e em seguida filtrado em unidade filtrante de 0,22 $\mu$ m e diretamente injetado no UFLC-DAD-UV.

#### **4.4.6 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR**

Foi utilizado o espectrofotômetro Shimadzu e FTIR – IRAffinity-1 - Shimadzu, com faixa de comprimento de onda entre 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , 64 scans. Foram adicionados aproximadamente 3mg do extrato sobre a pastilha de KBr com o auxílio de uma espátula, cuja pastilha foi preparada após a pesagem de 100 miligrama de brometo de potássio (KBr) com o auxílio de uma balança analítica, após a pesagem do sal o mesmo foi previamente moído em um almofariz de ágata, e em seguida realizada a leitura no equipamento.

#### **4.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV**

A morfologia das micropartículas de *Uncaria tomentosa* foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura, microscópio modelo TESCAN VEGA 3. As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* foram metalizadas em suporte metálico com auxílio de fita dupla-face de carbono e recobertas com fina camada de ouro. A distância de trabalho foi de 15,97 mm. A amostra foi fixada. Uma corrente de 45 mA foi aplicada por 200 segundos e uma aceleração de tensão igual a 20 kV. As análises foram realizadas no departamento de química do Instituto Federal de Alagoas (IFAL).

#### 4.4.8 Dissolução

O estudo de dissolução foi realizado utilizando dissolutor Agilent Technologies 708 - DS de oito cubas. Para dissolução foram utilizados dois meios (água osmose reversa e Tween 60 1%), temperatura das cubas de 37 °C com aparato pá sob agitação constante. Os estudos utilizaram, para os dois meios testados, rotações de 150 rpm e cubas contendo 500 mL da solução. As cápsulas foram pesadas em balança analítica Shimadzu AX 200 comportavam o pó correspondente a 100 mg de microcápsulas de *U. tomentosa* e das demais formulações (Tabela 7). Foram realizadas coletas de 5,0 mL do meio de dissolução a cada hora por um período de 4 horas, a solução coletada foi filtrada em papel de filtro analítico e submetidas a espectroscopia UV-Vis com comprimento de onda de 280 nm. Curva de calibração do padrão analítico Catequina foi realizada nas mesmas condições.

**Tabela 7: Concentrações finais das amostras da curva de calibração da catequina.**

<b>Cápsulas</b>	<b>Pré-formulação</b>
UT-F1	100 mg Microcápsulas de <i>U. tomentosa</i>
UT-C1	100 mg Microcápsulas <i>U. tomentosa</i> + CMC 5% + Explocel® 5%
UT-C2	100 mg Microcápsulas <i>U. tomentosa</i> + CMC 5% + Explocel®5% + LEC 5%
UT-C3	100 mg Microcápsulas <i>U. tomentosa</i> +CMC 7,5%+Explocel®7,5%+LEC 7,5%

CMC – Celulose microcristalina; LEC – Lecitina de soja; Explocel® – Croscarmelose sódica.

**Fonte:** Autor, 2021.

#### 4.5 ANALISE TÉRMICA

##### 4.5.1 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica é uma técnica termo analítica que acompanha a perda e/ou ganho de massa da amostra em função do tempo ou temperatura. A análise térmica do extrato e do microencapsulado de *U. tomentosa* foi realizada em um analisador termogravimétrico TGA-SHIMADZU, usando 16 a 18 mg de amostra. O peso inicial foi estabilizado a 25 °C e sua taxa de aquecimento foi de 10 °C/min até 900 °C sob atmosfera de nitrogênio com vazão de 50 mL/min. O procedimento obteve um tempo médio de 90 minutos para o aquecimento e 30 minutos para o período necessário para o resfriamento do aparelho. As curvas de termo decomposição foram adquiridas por um microcomputador acoplado ao instrumento, utilizado o programa TA-60 WS (SHIMADZU), a uma razão de um ponto a cada 0,5 segundos.

#### 4.5.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi realizada para o extrato bruto e microcápsulas de *U. tomentosa* em um calorímetro modelo DSC-60 da Shimadzu, onde, foi pesado 6,2 e 2,2 mg, respectivamente, em um cadinho de alumínio hermeticamente fechado. A taxa de aquecimento foi de 10 °C/min na faixa de temperatura de 25 a 600 °C sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

### 4.6 ANALISES BIOLÓGICAS

#### 4.6.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada por meio da técnica de microdiluição em caldo de acordo com as recomendações estabelecidas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012).

Para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos foram utilizadas cepas de referência de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 31488) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 25922). Os inóculos foram preparados em solução salina tamponada estéril e a suspensão bacteriana, ao atingir uma turvação correspondente a 0,5 da escala de Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL), foi diluída em uma proporção de 1:10 para se obter uma concentração final de  $5 \times 10^4$  UFC/poço.

Para o teste de microdiluição em caldo foram utilizadas microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços, com 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Todos os poços, exceto aqueles da coluna 1 contendo 200 µL do extrato a 4096 µg/mL, foram inicialmente preenchidos com 100 µL de caldo Mueller Hinton (MH). Subsequentemente, um volume de 100 µL das frações do extrato a 4096 µg/mL foi inoculado na coluna 2 e, após homogeneização, o mesmo volume foi transferido para a coluna 3, repetindo-se esse procedimento até a coluna 11, obtendo-se assim concentrações decrescentes dos extratos (4096 µg/mL; 2048 µg/mL; 1024 µg/mL; 512 µg/mL; 256 µg/mL; 128 µg/mL e assim por diante até 0,25 µg/mL). Posteriormente em cada poço adicionou-se 5 µL do inóculo bacteriano previamente diluído. Os poços da coluna 12, sem adição do extrato, foram destinados para os testes de controle do crescimento bacteriano. Alguns poços foram reservados para a verificação da esterilidade da placa e do caldo MH, portanto, nesses não foram inoculados a suspensão bacteriana nem o extrato. Cada amostra foi testada em triplicata.

As microplacas foram então incubadas em estufa bacteriológica a 36-37°C por 18-24 horas. Decorrido esse tempo acrescentou-se a cada um dos poços 20 µL de uma solução aquosa de resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido) a 0,1%, com nova incubação por 1-2 horas a 36-37°C. Para o preparo da resazurina, 0,1g foi solubilizado em 100 mL de hidróxido de sódio 0,02 M. Após incubação foi realizada a leitura das placas sendo o aparecimento de coloração vermelha considerado como prova positiva do efeito inibitório do particionado, e a coloração azul, prova da ineficácia do particionado frente ao microrganismo testado.

A interpretação dos resultados seguiu os critérios estabelecidos por Tanaka et al. (2005): CIM ≤ 100 µg/mL (ativa), CIM entre 100-500 µg/mL (atividade inibitória moderada), CIM entre 500-1000 µg/mL (atividade fraca) e CIM ≥ 1000 µg/mL (inativa).

#### **4.6.2 Análise do potencial antioxidante através do método de sequestro de radicais**

##### **DPPH**

###### *4.6.2.1 Preparação do DPPH*

A avaliação do potencial antioxidante foi realizado segundo Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), onde, inicialmente, foi pesado em uma balança analítica (Shimadzu AX 200) 0,004 g de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), posteriormente, solubilizado, com o auxílio de um balão âmbar de 100 ml, em etanol absoluto para preparação de uma solução estoque de 100 mL de DPPH na concentração de 0,04 mg/mL mantida sob refrigeração e protegida da luz.

###### *4.6.2.2 Preparação dos extratos de *Uncaria tomentosa**

Foi solubilizado 12,5 mg da massa sólida obtido através do evaporador rotativo a vácuo em 5,0 mL do meio extrator (etanol absoluto) resultando em uma solução estoque com concentração de 2,5 mg/mL.

###### *4.6.2.3 Leitura das medidas da absorbância das amostras*

Foi retirado a partir da solução estoque alíquotas com o volume suficiente para atingir as concentrações finais de 20, 10, 5, 2,5, 1 e 0,5 µg/mL do extrato de *U. tomentosa*, adicionou-se 2 mL da solução de DPPH e completou-se o volume do balão (5 mL) com etanol.

A quantificação da descoloração foi obtida, após 30 minutos protegido da luz, mediante leitura no espectrofotômetro UV-Mini da marca Shimadzu em modo fotometria com

comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 518 nm. A partir desses resultados, conseguiu-se avaliar a porcentagem da atividade antioxidante através da seguinte equação:

$$\% \text{ Atividade antioxidante} = (100 - ((A \text{ amostra} - A \text{ branco}) \times 100)) / (A \text{ controle})$$

Onde:

A amostra = absorbância da solução DPPH (amostras);

A branco = absorbância da solução das amostras sem adição de DPPH;

A controle = absorbância da solução referência de DPPH (etanol).

#### 4.7 ANALISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prism versão 5.0.

Para os ensaios de flavonoides totais (extrato bruto e microcápsulas), fenóis totais (extrato bruto etanólico e extrato bruto aquoso por infusão) e atividade antioxidante (extrato bruto e microcápsulas) foram realizadas pela estatística do teste-t pareado com nível de significância 0.05 e valor de  $P < 0.05$ .

Outro teste de flavonoides totais com quatro grupos de amostras (extrato bruto etanólico, extrato bruto aquoso por infusão, microcápsulas etanólica e microcápsulas aquoso por infusão) foi realizado pelo teste de comparação múltipla de Tukey com nível de significância 0.05 e valor de  $P < 0.05$ .

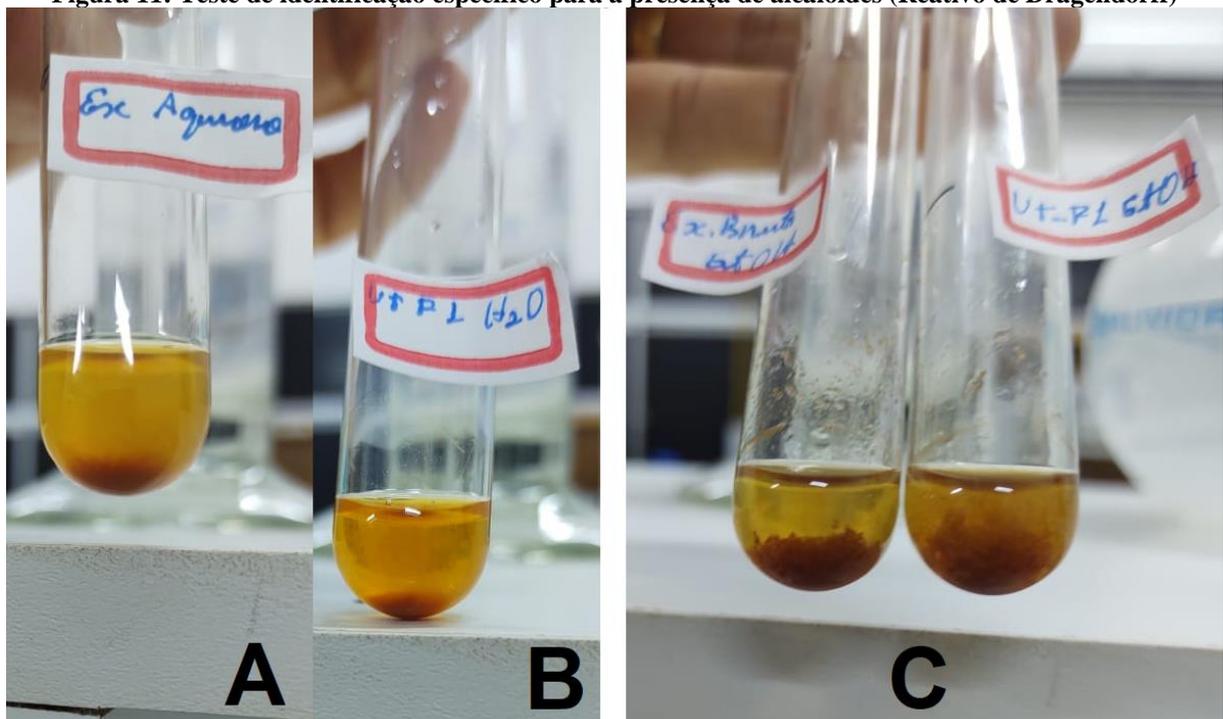
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TRIAGEM FITOQUÍMICA PARA ALCALÓIDES

A figura 11 apresenta os resultados de identificação de alcaloides pelo Reativo de Dragendorff para as amostras de Extrato Bruto de *Uncaria tomentosa* e microcápsula Spray dryer de *Uncaria tomentosa*.

As amostras apresentaram reação positiva para a presença de alcaloides, porem as amostras que foram extraídas com solventes aquoso, pelo método de infusão, mostraram-se notadamente com uma menor quantidade de precipitados amarronzados no fundo do tubo de ensaio (Figura 11 A e B), enquanto que os extratos etanólicos, os quais foram submetidos a uma extração alcoólica por maceração, apresentaram mais enriquecidos com a presença de alcaloides (Figura 11 C).

**Figura 11: Teste de identificação específico para a presença de alcaloides (Reativo de Dragendorff)**



A: Extrato Bruto da casca de *Uncaria tomentosa* em solução aquosa; B: Microcápsulas UT-F1 de *U. tomentosa* em solução aquosa; C: Extrato bruto de *U. tomentosa* em solução etanólica (lado esquerdo) e microcápsulas UT-F1 de *U. tomentosa* em solução etanólica (lado direito).

**Fonte:** Autor, 2021.

### 5.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS

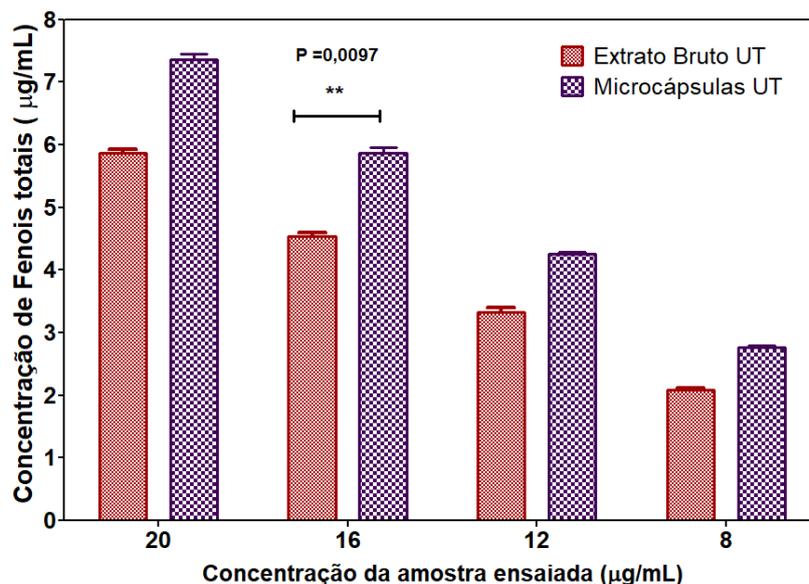
A figura 12 apresenta a comparação na quantificação de fenóis totais presente no extrato bruto e nas microcápsulas produzidas, onde, podemos observar na concentração de 20

$\mu\text{g/mL}$ , obteve-se  $5,86 \mu\text{g/mL} \pm 0,96\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) e  $7,36 \mu\text{g/mL} \pm 1,08\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) de compostos fenólicos para o extrato bruto e microcápsulas de *U. tomentosa* respectivamente assim como na menor concentração ( $8 \mu\text{g/mL}$ ) podemos verificar a presença de  $2,09 \mu\text{g/mL} \pm 1,41\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) e  $2,76 \mu\text{g/mL} \pm 1,04\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) de fenóis totais.

Contudo, podemos obter a percentagem de fenóis totais presentes no extrato e nas microcápsulas, onde, obteve-se  $27,90\% \pm 0,31\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) de fenóis totais na amostra do extrato bruto e  $35,89\% \pm 0,50\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) de fenóis nas microcápsulas, tendo um valor superior aos extratos da casca demonstrados por Navarro-Hoyos et al., (2015) que obteve uma média de  $5,40\%$ , assim como, Navarro-Hoyos et al., (2018) obtendo  $2,54\%$  de fenóis totais em seus extratos etanólicos de casca de *U. tomentosa*. Navarro et al., (2019) avaliaram a porcentagem de fenóis totais em 18 extratos de *U. tomentosa* (provenientes da Costa Rica e Espanha), onde, o valor mais baixo adquirido foi  $2,86 \text{ mg/g}$  entre todas as 18 amostras, enquanto o valor mais alto foi de  $31,70 \text{ mg/g}$ . Evidenciado assim, um método extrativo mais eficiente para os compostos fenólicos de *U. tomentosa*.

Para se obter os dados quantitativos de flavonoides totais no extrato bruto e microcápsulas de *U. tomentosa*, foi construída uma curva analítica da catequina com  $R^2$  maior que  $0,99$  (Anexo 1) segundo estabelecido na RDC 166/2017 (ANVISA, 2017).

**Figura 12: Comparativo da quantificação de fenóis totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de *Uncaria tomentosa*.**

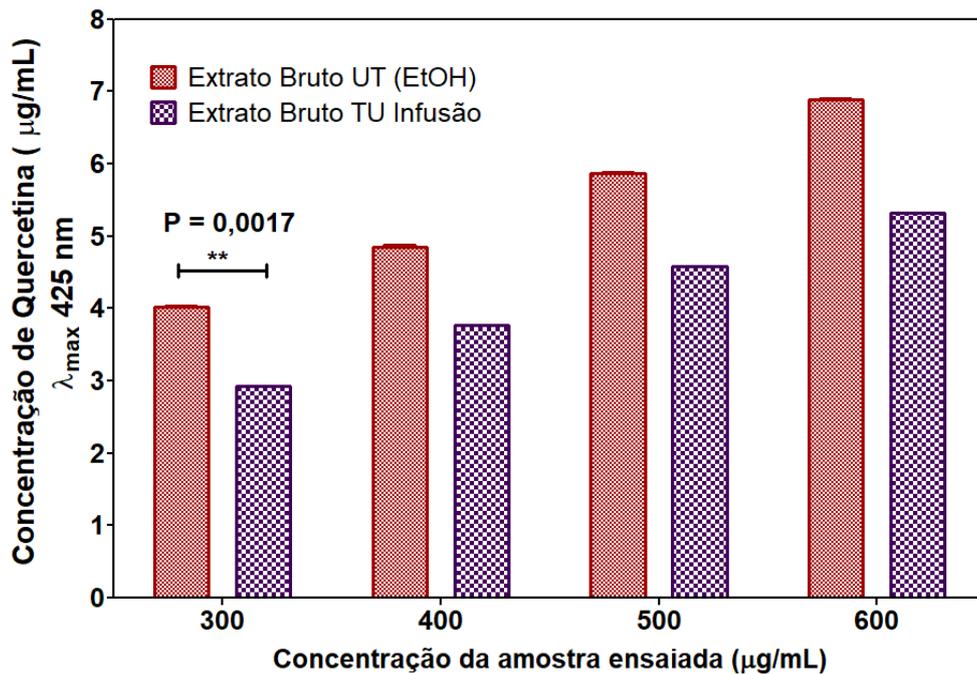


Fonte: Autor, 2021.

### 5.3 FLAVONOIDES TOTAIS

Na figura 13 nós temos a comparação entre a quantificação de flavonoides presentes no extrato bruto etanólico e do extrato proveniente da infusão da casca de *U. tomentosa* em água fervente (chá na forma de infusão). Os resultados expressos mostram uma maior quantidade de flavonoides presentes no extrato bruto etanólico onde na maior concentração analisada (600  $\mu\text{g/mL}$ ) obteve 6,89  $\mu\text{g/mL} \pm 0,20\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) de flavonoides totais enquanto o extrato aquoso obteve 5,31  $\mu\text{g/mL} \pm 0,26\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV). Na concentração de 300  $\mu\text{g/mL}$  o extrato bruto obtido por infusão teve uma concentração de 2,93  $\mu\text{g/mL} \pm 0,72\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV) e o extrato bruto etanólico 4,02  $\mu\text{g/mL} \pm 0,34\%$  (MÉDIA $\pm\%$ CV). Obtendo diferenças significativas para os extratos estudados, obtendo valor de  $P = 0,0017$  utilizando t-Student pareado.

**Figura 13: Comparativo da percentagem de flavonoides totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de *Uncaria tomentosa*.**



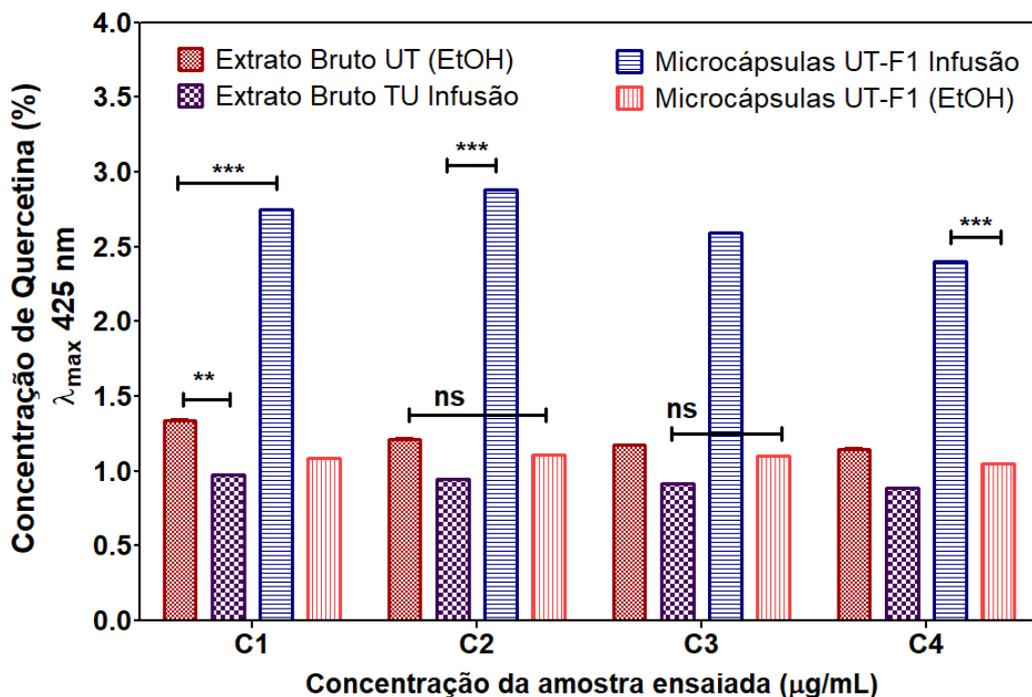
Fonte: Autor, 2021.

Comparando as percentagens de flavonoides totais de acordo com as quatro concentrações estudadas pôde-se construir o gráfico presente na figura 14 onde, a percentagem das microcápsulas submetidas ao processo de infusão em água fervente foi estatisticamente significativo e superior as demais amostras com valor  $P < 0,0001$  utilizando teste comparativo múltiplo de Tukey, tendo percentagem média de 2,65%  $\pm$  7,80% (MÉDIA $\pm\%$ CV) de flavonoides totais. As microcápsulas e extrato bruto solubilizadas em etanol apresentaram uma

percentagem média de  $1,08\% \pm 2,34\%$  (MÉDIA $\pm$ %CV) e  $1,22\% \pm 6,95\%$  (MÉDIA $\pm$ %CV), respectivamente, e o extrato proveniente da infusão obteve o pior desempenho tendo percentagens em média de  $0,93\% \pm 4,10\%$ .

Para se obter os dados quantitativos de flavonóides totais no extrato bruto e microcápsulas de *U. tomentosa*, foi construída uma curva analítica da catequina com  $R^2$  maior que 0,99 (Anexo 2) segundo estabelecido na RDC 166/2017 (ANVISA, 2017).

**Figura 14: Comparativo da percentagem de flavonoides totais do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de *Uncaria tomentosa*.**

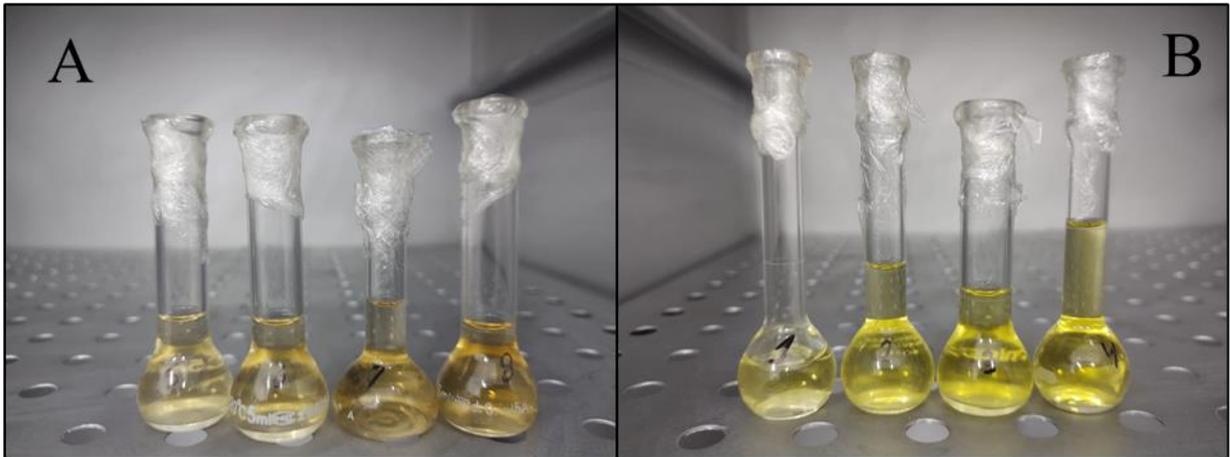


Fonte: Autor, 2021.

Possivelmente, a diferença significativa para a quantificação de flavonoides totais na microcápsulas (UT-F1 e infusão) deve-se aos diferentes solventes utilizados para a solubilização (álcool absoluto e água osmose reversa) tendo a infusão um meio mais propicio a extrair de forma mais seletiva flavonoides e outros compostos mais fenólicos presentes nas microcápsulas nos primeiros 30 minutos, tendo assim, esses compostos mais concentrados em solução, assim como a extração com etanol além dos flavonoides propicia a extração de compostos, como os alcaloides, que podem estar interferindo na análise quantitativa de flavonoides totais em espectroscopia UV-vis. A figura 10 nos mostra as soluções após reação com cloreto de alumínio para a quantificação de flavonoides totais onde podemos observar visivelmente a diferente coloração nas amostras das microcápsulas UT-F1 solubilizados em

etanol (Figura 15 A) e água (Figura 15 B), sendo possível a presença de interferentes que estão causando uma coloração alaranjado ao invés do amarelo-esverdeado característico desta análise, causando deslocamento do comprimento de onda, mudando assim a absorbância da amostra em questão.

**Figura 15: Soluções após reação com cloreto de alumínio no estudo de quantificação de flavonoides totais.**



A: Solução das microcápsulas UT-F1 EtOH após reação com cloreto de alumínio; B: Solução das microcápsulas UT-F1 Infusão após reação com cloreto de alumínio.

Fonte: Autor, 2021.

#### 5.4 PARTICIONAMENTO DO EXTRATO DE *UNCARIA TOMENTOSA*

Os particionamentos obtidos apresentaram colorações diferentes, tendo tons amarelados (UT-7 e UT-2), avermelhados (UT-4, UT-5 e UT-6), marrom (UT-1) e esbranquiçados (UT-3) (Figura 16).

Após a identificação foram separadas as frações UT-1, UT-2 e UT-3 (partições com maior concentração em alcaloides) para identificação dos marcadores de *Uncaria tomentosa* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a um detector ultravioleta UV-vis, do mesmo modo foi separado as frações mais límpidas para testes microbiológicos, sendo estas as frações UT-1, UT-4, UT-6 e UT-7.

**Figura 16: Particionamentos dos extratos de *Uncaria tomentosa*.**



Fonte: Autor, 2021.

## 5.5 DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS POR SECAGEM EM SPRAY DRYER CARREGADAS COM ATIVOS DE *UNCARIA TOMENTOSA*

### 5.5.1 Formulação UT-F1

Pode-se observar a olho nu que o pó resultante possui aspecto leve, fino, desprendido e homogêneo apresentando coloração avermelhada e aroma característico do extrato da espécie *Uncaria tomentosa*.

A formulação UT-F1 (figura 17) apresentou um rendimento de 52,7% percentual esperado, considerando a perda natural provocada pelo equipamento. Esta perda pode ser minimizada com ajustes nos parâmetros de operação do equipamento (pressão do sistema de atomização por exemplo) de forma a diminuir a deposição de partículas sobre a câmara de secagem do equipamento (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

**Figura 17:** Microencapsulados carregados com ativos de *Uncaria tomentosa* (Formulação UT-F1).

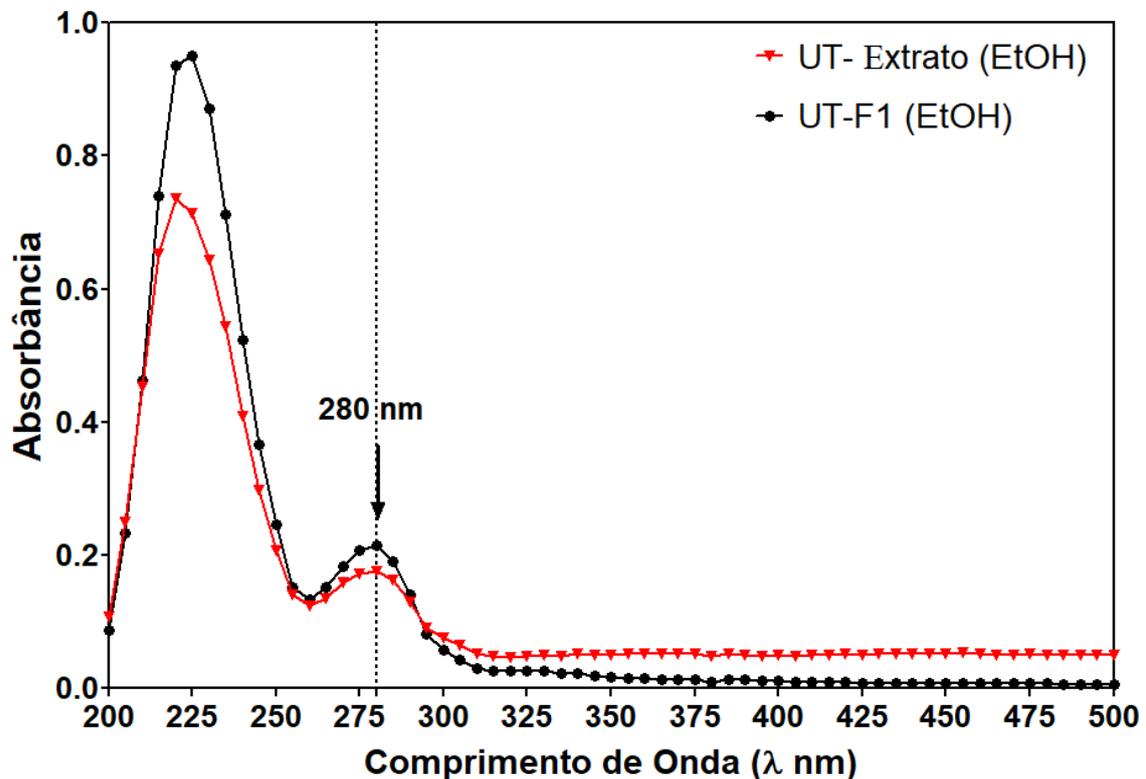


**Fonte:** Autor, 2021.

## 5.6 VARREDURA EM ESPECTROFOTÔMETRO UV-VISÍVEL

A figura 18 representa um perfil espectro UV-vis dos extratos de *Uncaria tomentosa* através da varredura em espectrofotômetro UV-visível, onde, podemos observar a comparação do extrato bruto (UT-Extrato) e microcápsulas (UT-F1) solubilizadas em álcool, tendo assim uma banda com comprimento de onda máximo de 280 nm, região características de catequinas (OGAWA, 2016). Pode-se verificar um leve aumento na absorbância das microcápsulas em comparação com o extrato bruto corroborando com os resultados apresentados na figura 12 tendo uma maior concentração de fenóis totais presentes nas microcápsulas.

Figura 18: Comparativo da varredura em espectrofotômetro UV-visível do extrato etanólico e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* solubilizados em etanol.



Fonte: Autor, 2021.

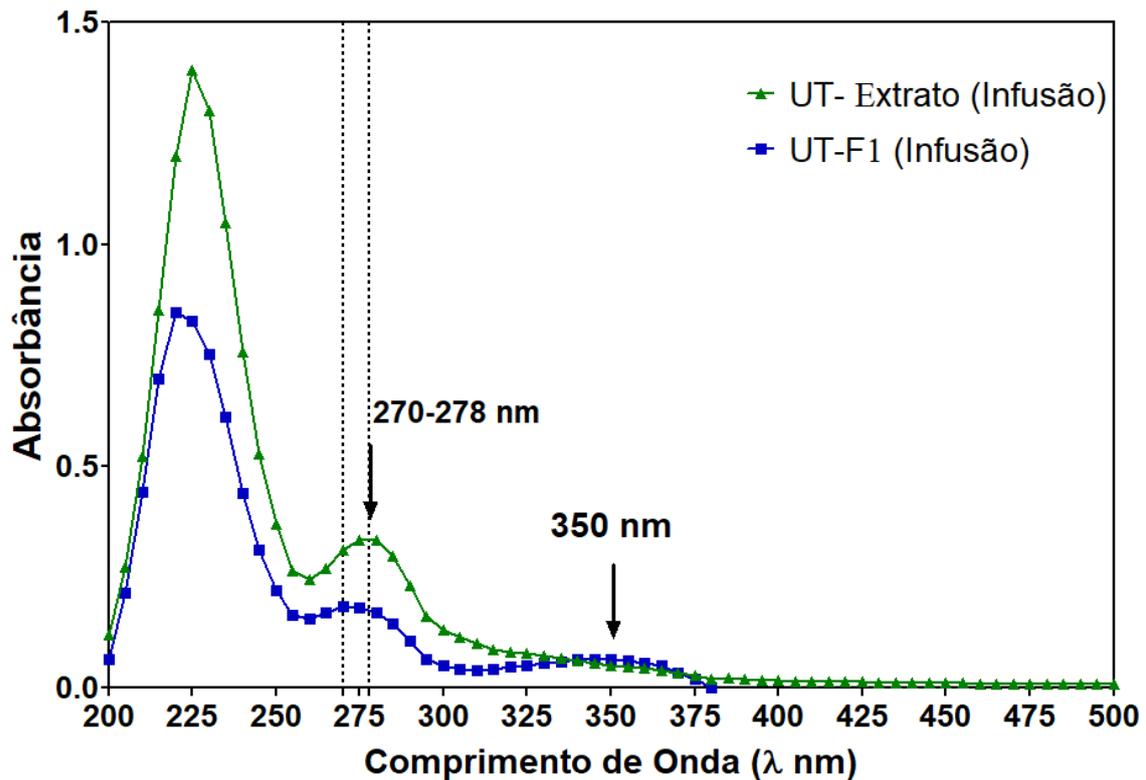
No perfil espectro UV-vis do extrato bruto (UT-Extrato) e microcápsulas (UT-F1) (obtidos por meio de infusões) descritos na figura 19 temos uma banda de 270 nm para UT-F1 e 278 nm para UT-Extrato, segundo Menezes Filho (2020), comprimentos de onda entre 200 e 300 nm correspondem a compostos fenólicos, assim como achados de Ogawa (2016) que descreve em seu estudo comprimentos de onda do ácido gálico e catequina tendo comprimentos de onda máximo de 271 e 278 nm respectivamente.

O extrato e as microcápsulas quando submetidos à extração por infusão demonstraram uma banda na região de 350 nm característica de alguns tipos de flavonoides (flavonas e flavonóis) (FENG; HAO; LI, 2017), além disso, observou-se um aumento de absorvância na banda de 278 nm, provavelmente devido à presença de outros compostos fenólicos tipo ácidos fenólicos (ácido gálico), aldeídos fenólicos (seringaldeído) e fenóis (catecol) (GONÇALVES; DINIS; BATISTA, 2005).

Outra possibilidade do aparecimento da banda em 350 nm e o aumento da banda em 278 nm pode estar relacionado a maior solubilidade de compostos fenólicos e flavonoides

penta-hidroxilados em água em relação a compostos alcaloídicos, podendo assim extrair de forma mais seletiva e em maior quantidade estes compostos fenólicos solúveis na água, tendo assim, esses uma maior concentração em solução podendo ser identificado na varredura em espectroscópio UV-vis.

**Figura 19: Comparativo da varredura em espectrofotômetro UV-visível do extrato etanólico e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* solubilizados em etanol.**

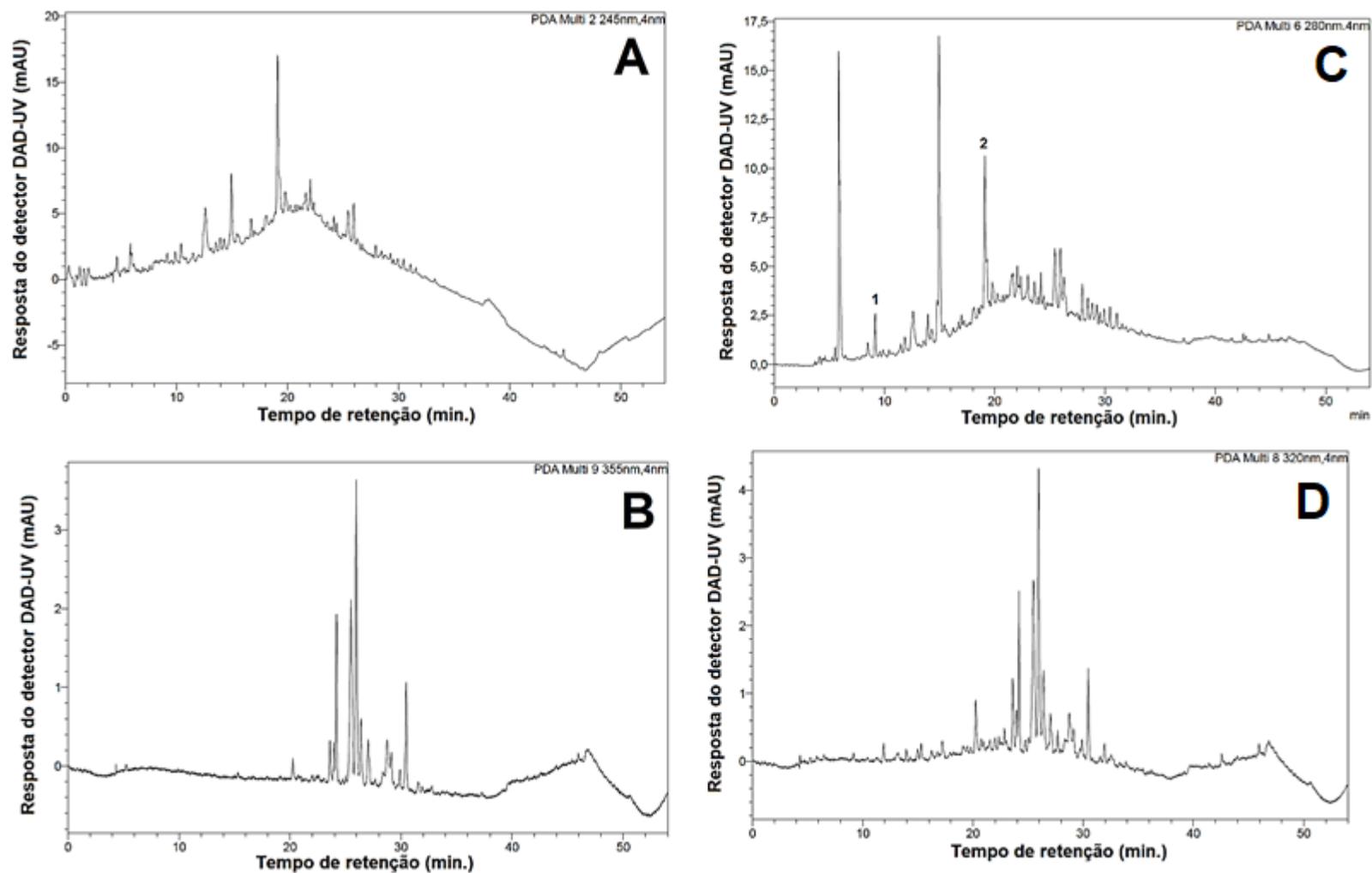


Fonte: Autor, 2021.

### 5.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE

Os dados de espectrofotometria do UV-Vis foram bastante úteis para monitoramento dos picos cromatográficos dos extratos da casca de *U. tomentosa*, frações diclorometano e microcápsulas UT-F1. A casca do caule de *U. tomentosa* foi submetida à extração por infusão, filtrada e monitorada por UFLC-DAD em diferentes comprimentos de onda no DAD (245, 355, 280 e 320 nm) demonstraram picos cromatográficos intensos em 245 nm (comprimento de onda específico para alcaloides) entre 12 e 20 minutos e para catequinas e compostos fenólicos entre 5 e 20 minutos (incluindo ácido gálico (1), catequina (2) e ácido caféico (3) (Figura 20).

Figura 20: Cromatograma do extrato aquoso (infusão) no comprimento de onda de 245 nm (A), 355 nm (B), 280 nm (C) e 320 nm (D).



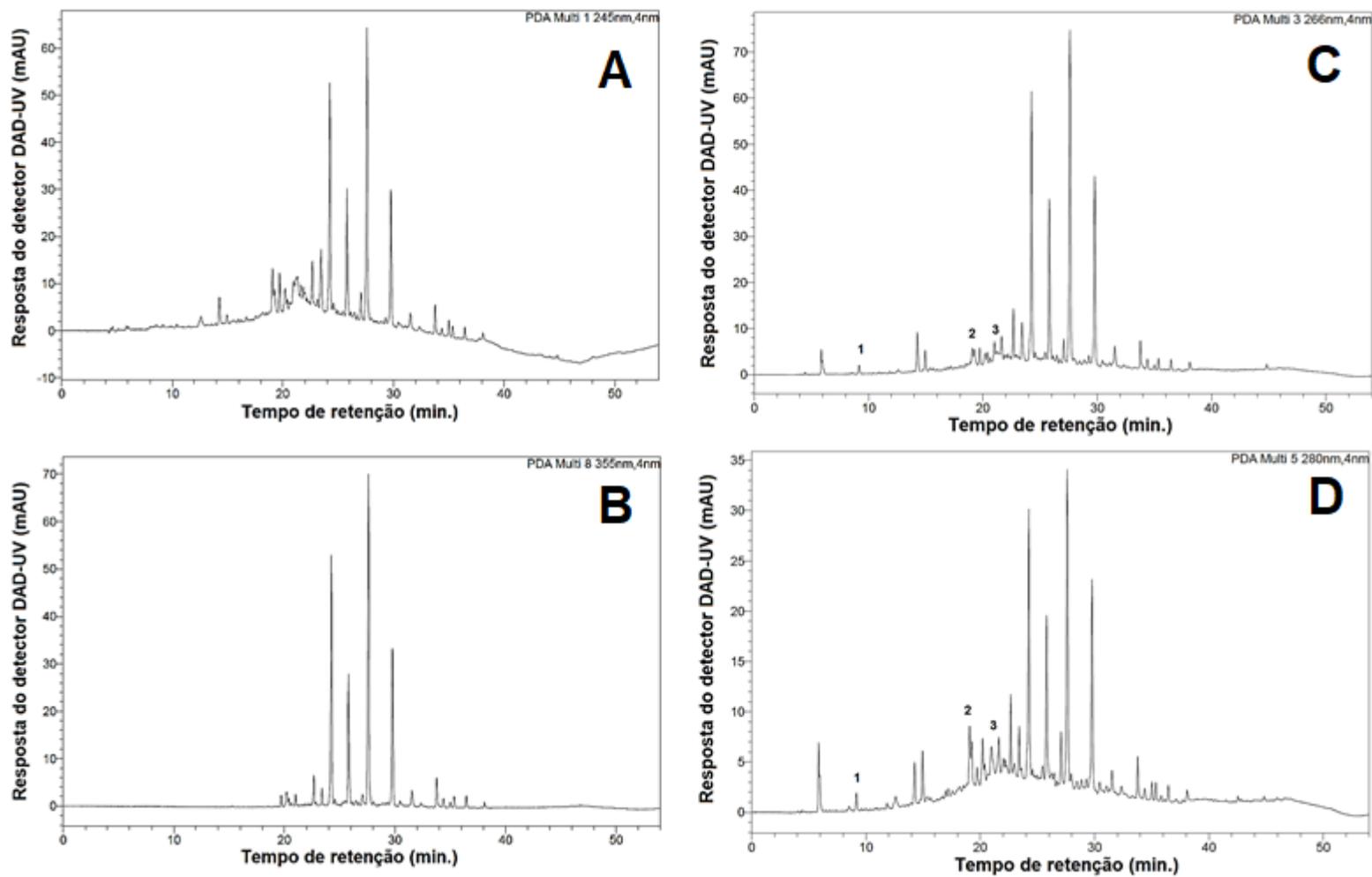
Também demonstrou presença de vários picos cromatográficos pouco intensos entre 23 e 31 minutos nos comprimentos de onda em 355 nm e 320 nm referente a compostos tipo flavonoides ou até mesmo alguns tipos de alcaloides (Figura 20).

Até o momento foi possível identificar ácido gálico (1) (Anexo 3), catequina (2) (Anexo 4) e ácido caféico (3) (Anexo 5) nos extratos e formulações de microcápsulas e algumas frações diclorometano de *U. tomentosa*.

As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* (UT-F1) submetidas à análise UFLC-DAD-UV-Vis apresentaram os mesmos picos cromatográficos para alcaloide entre 12 e 20 minutos, porém com maior intensificação dos picos para flavonoides e compostos fenólicos entre 23 e 31 minutos. Além da identificação de ácido gálico (1), catequina (2) e ácido caféico (3) (Figura 21). Problemas de padronização de método de preparação de amostra ainda necessitam ser resolvidos. A extração por infusão seguido por injeção direta no UFLC-DAD é uma prática que deve ser revista pois os metabólitos de interesse são eluidos de forma bastante diluída. Faz-necessário a extração com concentração da amostra em rotaevaporador seguido da pesagem do extrato com solubilização e diluição para concentração conhecida como foi realizado para as microcápsulas de *U. tomentosa* (UT-F1).

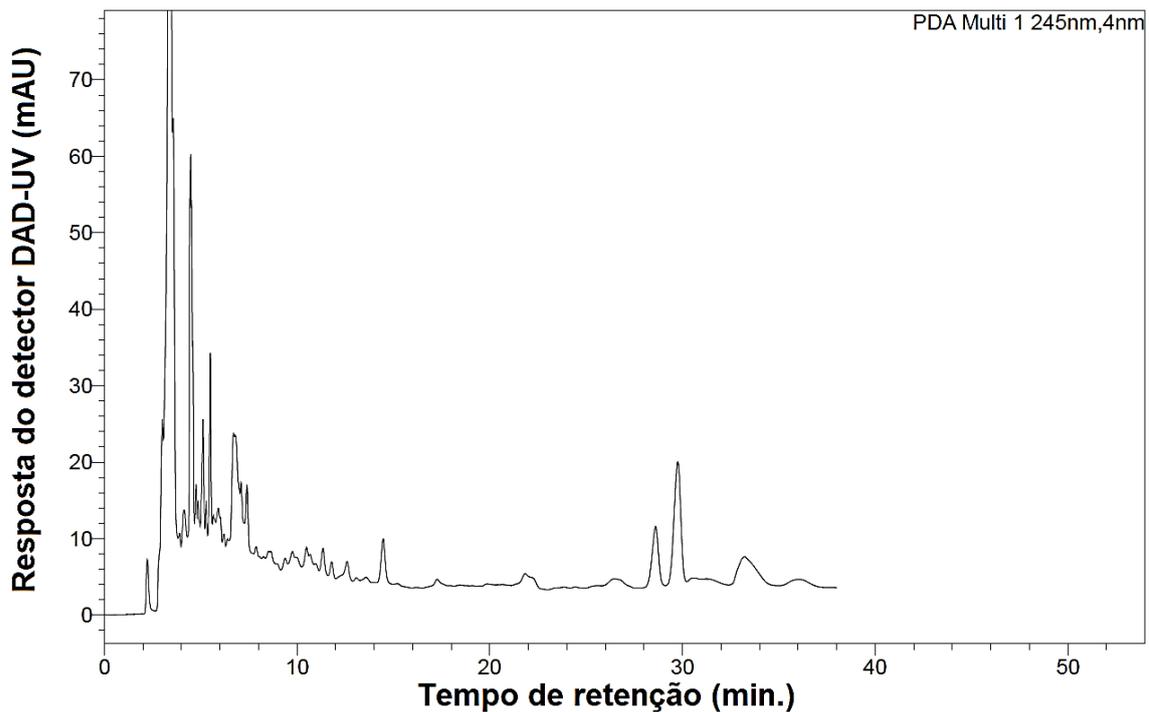
Gonçalves, Dinis e Batista (2005) realizaram o perfil cromatográfico em um HPLC-DAD, coluna ODS-2 (5 $\mu$ m, 250 mm  $\times$  4,6 mm id) utilizando como fase móvel metanol (A) e ácido fórmico 5% (B) em modo gradiente (5–15% A, por 10 min, 15–35% A por mais 25 min, então de 35% a 50% A, por 15 min e finalmente 50–100% A por 10 min) com tempo total de análise de 60 minutos a uma taxa de fluxo de 1 ml/min. A leitura foi realizada e 280 e 320 nm. Conseguindo assim, a identificação de 17 compostos fenólicos, entre eles, catequina e o ácido caféico também identificados neste trabalho.

Figura 21: Cromatograma UT-F1 (infusão) no comprimento de onda de 245 nm (A), 355 nm (B), 266 nm (C) e 280 nm (D).



A figura 22 refere-se a um método descrito na literatura científica por Kuraś et al., (2009) para ensaios de identificação de alcaloides da *U. tomentosa* pelo particionamento de extrato hidroalcoólico alcalino seguido de particionamento com diclorometano, evaporação e eluição de alcaloides entre 5 e 30 minutos com detecção em 245 nm. Picos em 30 minutos refere-se a alcalóides da *U. tomentosa*.

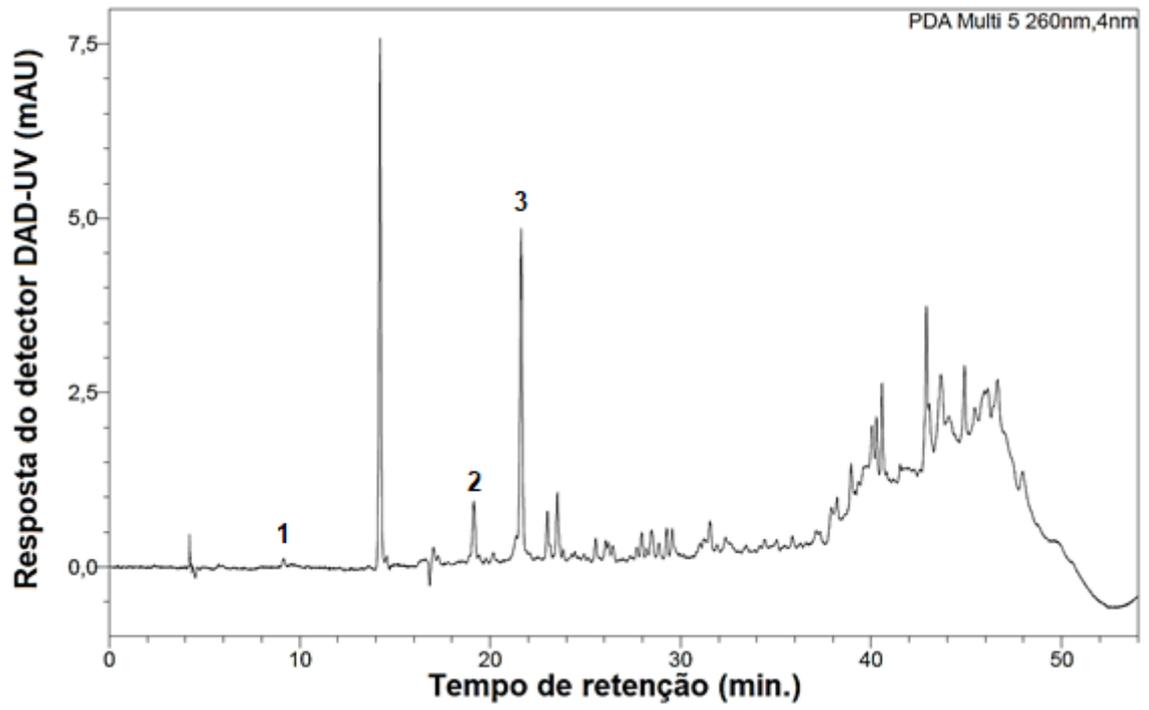
**Figura 22: Cromatograma da fração etanol 70% solúvel em diclorometano no comprimento de onda de 245 nm pelo método de identificação de alcalóides.**



**Fonte:** Autor, 2021.

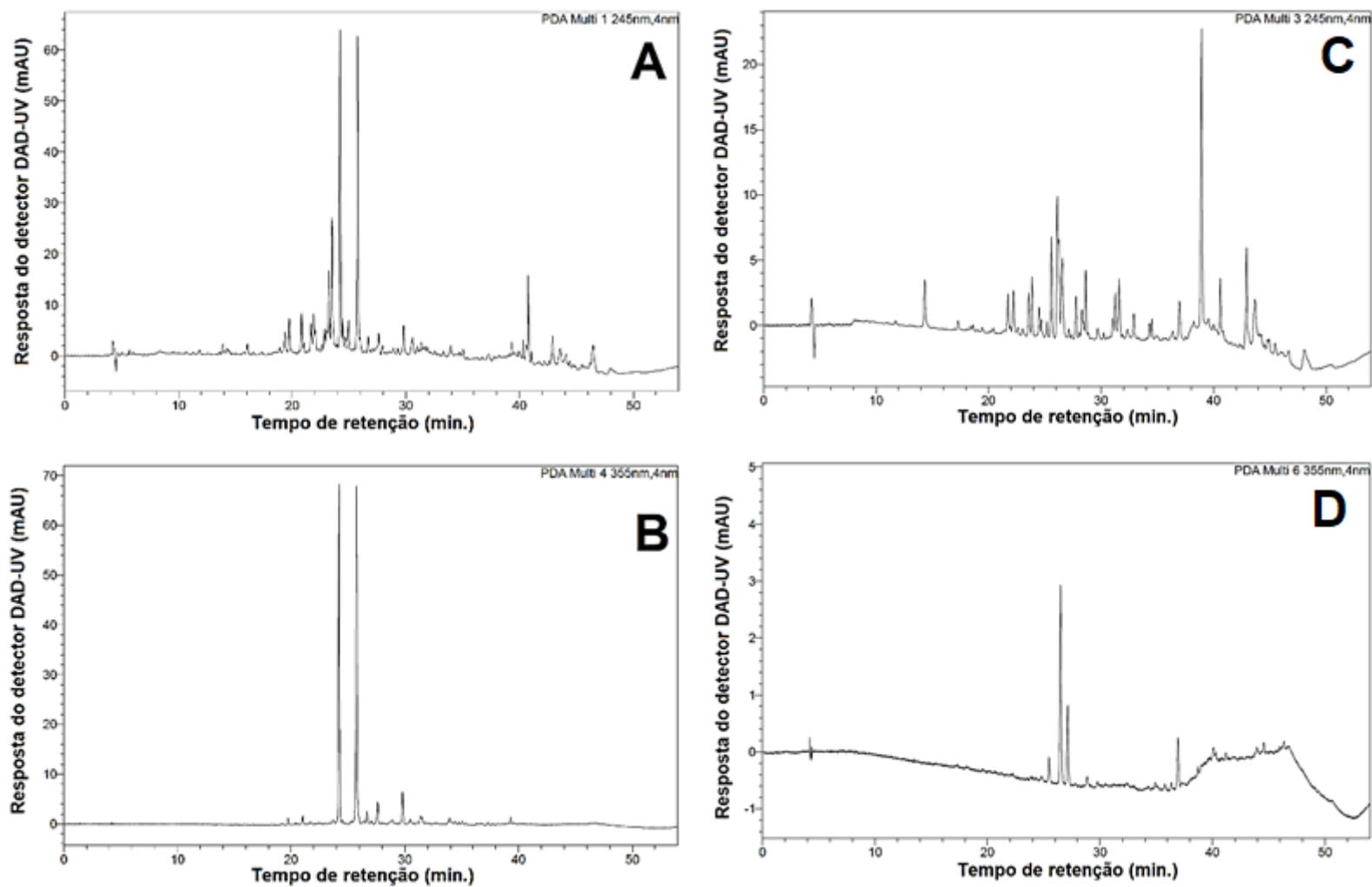
Outras frações diclorometano foram realizadas UT-1, UT-4 e UT-7 e submetidas à análise UFLC-DAD pelo método desenvolvido e ensaios microbiológicos. A fração UT-1 apresentou picos cromatográficos apenas no comprimento de onda de 260 nm (Figura 23), enquanto as frações UT-4 e UT-7 apresentaram picos cromatográficos a 245 nm (identificação de alcaloides) e 355 nm (identificação de flavonoides) (Figura 24).

Figura 23: Cromatograma da fração UT-1 no comprimento de onda de 260 nm.



Fonte: Autor, 2021.

Figura 24: Cromatograma da fração UT-4 no comprimento de onda de 245 nm (A) e 355 nm (B) e UT-7 no comprimento de onda de 245 nm (C) e 355 nm (D).

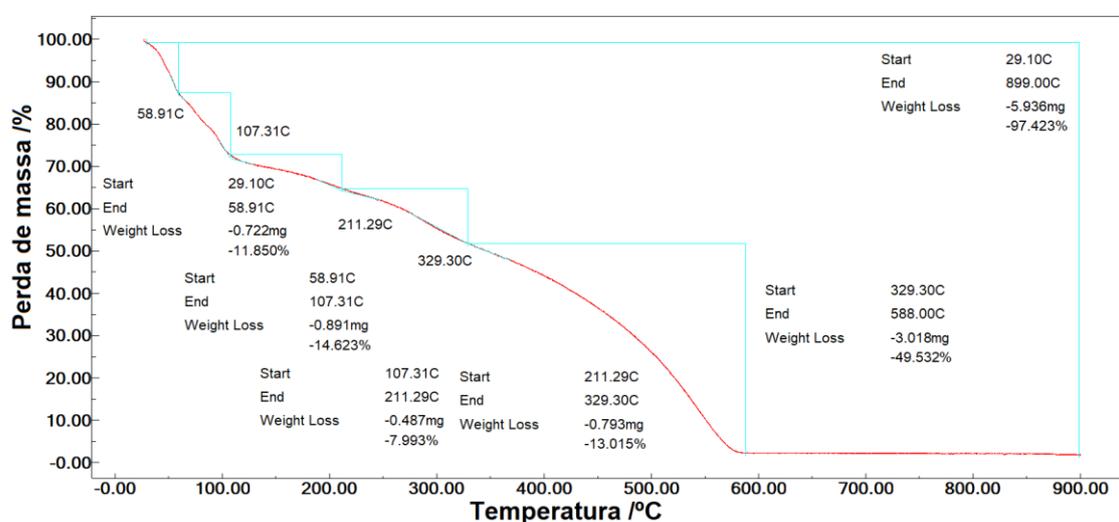


Fonte: Autor, 2021.

## 5.8 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A figura 25 representa a perda de massa do extrato bruto etanólico de *U. tomentosa* de acordo com o aumento da temperatura, tendo sua primeira perda de massa em dois eventos consecutivos entre 29°C e 58°C e 58°C e 107°C sendo a perda de resquícios do solvente utilizado na extração e decomposição térmica de compostos sensíveis a temperatura, respectivamente. O segundo evento característico da decomposição térmica ocorreu em dois eventos, sendo estes, entre 107 °C e 211 °C com perda de massa de 14,62% e 211 °C e 329 °C com perda de massa de 13,01%, respectivamente. O terceiro evento foi caracterizado pela termodegradação da amostra ocorrendo entre 330°C e 588°C tendo um percentual de perda de 49,53%. O resíduo final foi de 2,58%. As perdas de massa do segundo e terceiro eventos representam da termodegradação dos constituintes bioativos da *U. tomentosa* no extrato hidroetanólico.

**Figura 25: Análise Termogravimétrica do extrato bruto etanólico de *Uncaria tomentosa*.**



Fonte: Autor, 2021.

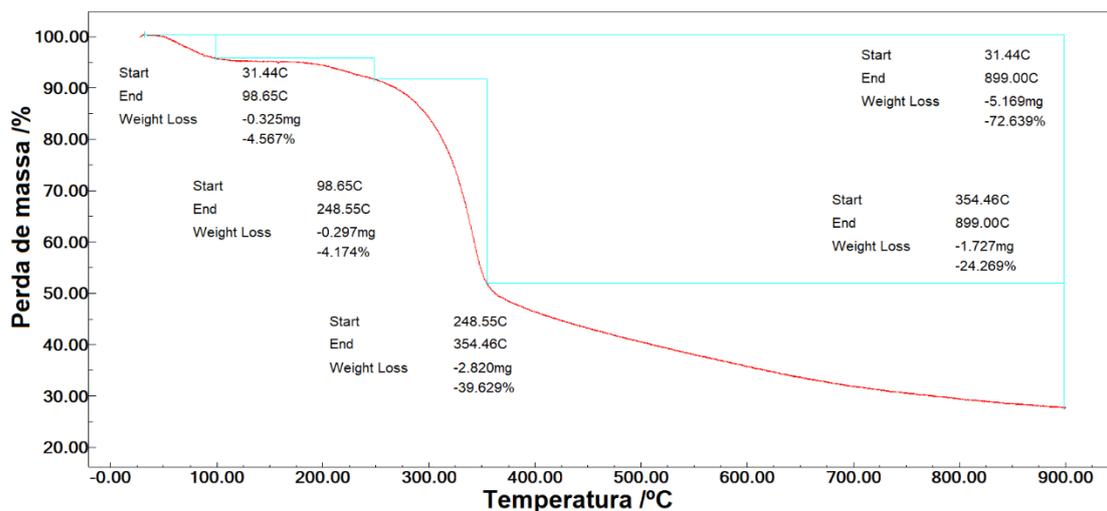
A figura 26 mostra a termodegradação das microcápsulas de *U. tomentosa*, ocorrendo em quatro grandes eventos, o primeiro evento de perda de massa simultânea entre 31 e 98°C com perda de massa de 4,56 corresponde à perda de água presente na formulação, o segundo evento, sendo, a decomposição térmica da amostra ocorre entre 98 e 248°C, o terceiro evento onde ocorre a degradação termo-oxidativa ocorre entre 248 e 354°C. O quarto evento entre 348 e 899°C. As microcápsulas apresentaram um resíduo carbonáceo e mineral não degradado correspondente a 37,57%.

As microcápsulas obtiveram seu primeiro evento (perda de água) na variação de temperatura de 31 °C e 98 °C. Neste evento, pode ser considerado a perda de compostos voláteis e de umidade das microcápsulas (TOLEDO HIJO et al., 2015).

O segundo evento (decomposição térmica) ocorreu em temperatura entre 98 e 248 °C ocorre a decomposição do amido (material encapsulante). Alguns estudos pirolíticos do amido com liberação de CO<sub>2</sub>, CO, água, acetaldeído, furano e 2-metil furano foram demonstrado por Guinesi et al., (2006). Relatos de pesquisa indicam que o amido em sua forma amorfa começa a se degradar mais rápido e em temperaturas mais baixas do que o amido em sua forma semicristalina, demonstrando que quanto maior o grau de semi-cristalinidade do amido e seu teor de amilopectina, maior a estabilidade térmica do amido (LEMONS et al., 2018). O terceiro evento (degradação termo-oxidativa) ocorreu em temperaturas acima de 248 °C com perda média de massa de 39,63%, o que pode ser atribuído à oxidação da matéria orgânica (JANKOVIĆ, 2013). O quarto evento se destaca pela carbonização do material residual, segundo Aggarwal e Dollimore (1998) um resíduo carbonáceo permanece após a perda de produtos voláteis.

Observa-se modificação do perfil de termodecomposição nas microcápsulas de *Uncaria tomentosa*. O perfil de termodecomposição passa a assumir comportamento térmico do amido, sendo um forte indicativo da microencapsulação do extrato etanólico pela matriz adjuvante utilizada nesta preparação sólida.

**Figura 26: Análise Termogravimétrica das microcápsulas de *Uncaria tomentosa*.**



**Fonte:** Autor, 2021.

### 5.9 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

O extrato etanólico de *Uncaria tomentosa* apresentou 6 eventos calorimétricos principais que a partir do terceiro evento observa-se a termodecomposição do extrato etanólico caracterizados por eventos exotérmicos. Um evento endotérmico na faixa de temperatura de 30,28 ° C a 74,02 ° C e pico de gelatinização a 60,7 ° C ( $\Delta H = -17,36 \text{ J / g}$ ). Pode-se observar um evento endotérmico entre 67 a 127 °C, correspondente à perda de compostos voláteis ou evaporação de solventes, apresentando valor de entalpia ( $\Delta H$ ) de -78,90 J/g.

As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* apresentaram a presença de 5 eventos calorimétricos, sendo os dois primeiros referentes ao pico de gelatinização do amido (60,7°C) utilizado durante o processo de encapsulamento de *Uncaria tomentosa* por spray-dryer, seguido de segundo evento térmico com volatilização de água (93,2°C), que está relacionado caracterização de forma semi-cristalina do amido e à perda de umidade e líquidos residuais remanescentes do processo de desenvolvimento da formulação. (STULZER et al., 2007).

Os três últimos eventos calorimétricos foram eventos exotérmicos correspondentes à decomposição do microencapsulado de *U. tomentosa*. Vale destacar que os eventos calorimétricos diferenciaram do extrato etanólico que pode estar fortemente influenciado pela formação dos compósitos de extrato encapsulados com o adjuvante farmacêutico.

Pesquisa avaliou por DSC o pico de gelatinização do amido de milho em diferentes tempos de processamento, mostrando que, após a hidrólise enzimática (alfa-amilase), a temperatura do pico de gelatinização variou entre 64-66 °C e houve aumento da entalpia de gelatinização de 10 J/g para 29 J/g, como consequência do aumento da cristalinidade do amido (LACERDA et al., 2008).

A enzima alfa-amilase decompõe os sítios de amilose do amido, que são responsáveis pelas características amorfas do amido, mas não se degrada como sítios de amilopectina responsáveis pela cristalinidade do amido. Os laudos avaliaram por DSC o grau de semicristalinidade de diferentes tipos de amido, entre eles: Amido de batata, amido de milho, amido de banana, amido de mandioca, e demonstraram que a temperatura de pico de gelatinização ocorreu na faixa entre 65 e 76°C com entalpia de gelatinização entre 8,1 e 11,7 J/g (Lemos et al (2018).

Achados avaliaram por DSC a temperatura de pico de gelatinização (68,9°C) e entalpia de gelatinização (12,46 J/g) do amido de batata-doce e concluíram que altas temperaturas de gelatinização podem estar relacionadas a altas forças de ligação no grânulo de amido com alto

grau de cristalinidade (SANTOS et al., 2019). Da mesma forma, as entalpias de alta gelatinização estão relacionadas à estrutura molecular cristalina mais forte e mais ordenada do amido (ROCHA et al., 2011).

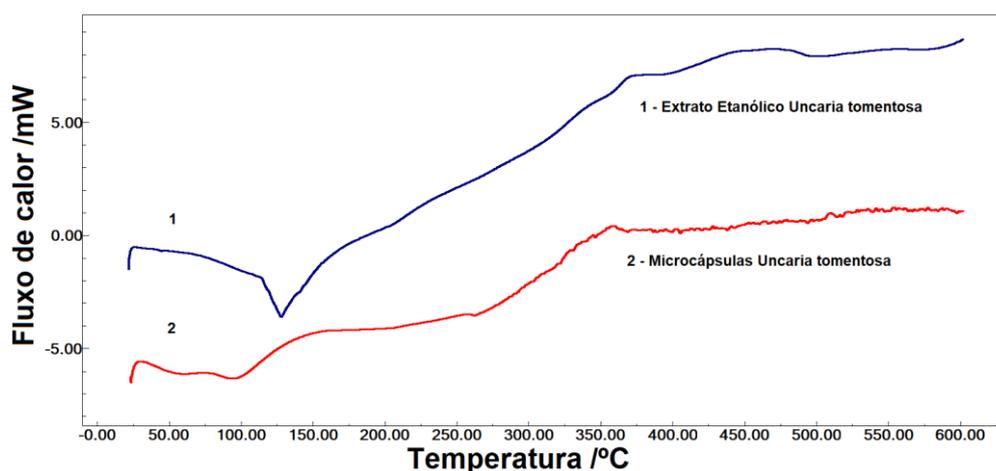
**Tabela 8: Dados calorimétricos comparativos entre o extrato etanólico e as microcápsulas de *Uncaria tomentosa*.**

Eventos calorimétricos	Extrato Etanólico		Microcápsulas	
	Faixa temperatura (°C)	Calor (J/g)	Faixa temperatura (°C)	Calor (J/g)
1º Evento	67 - 127	-78,9	30 – 74	-17,36
2º Evento	127 - 136	-15,2	74 – 116	-40,25
3º Evento	156-203	5,95	119 – 198	77,91
4º Evento	203-297	5,98	198 – 262	5,95
5º Evento	313-406	40,28	262 – 369	80,63
6º Evento	406-494	32,11	-	-

Fonte: Autor, 2021.

A figura 27 demonstra a curva de DSC das micropartículas de *Uncaria tomentosa* onde pode-se observar um evento endotérmico na faixa de temperatura de 30,28 ° C a 74,02 ° C e pico de gelatinização a 60,7 ° C ( $\Delta H = -17,36$  J/g). Pode-se observar um evento endotérmico entre 67 a 127 °C, correspondente à perda de compostos voláteis ou evaporação de solventes, apresentando valor de entalpia ( $\Delta H$ ) de -78,90 J/g.

**Figura 27: Curvas DSC do extrato etanólico (1) e microcápsulas (2) de *Uncaria tomentosa*.**



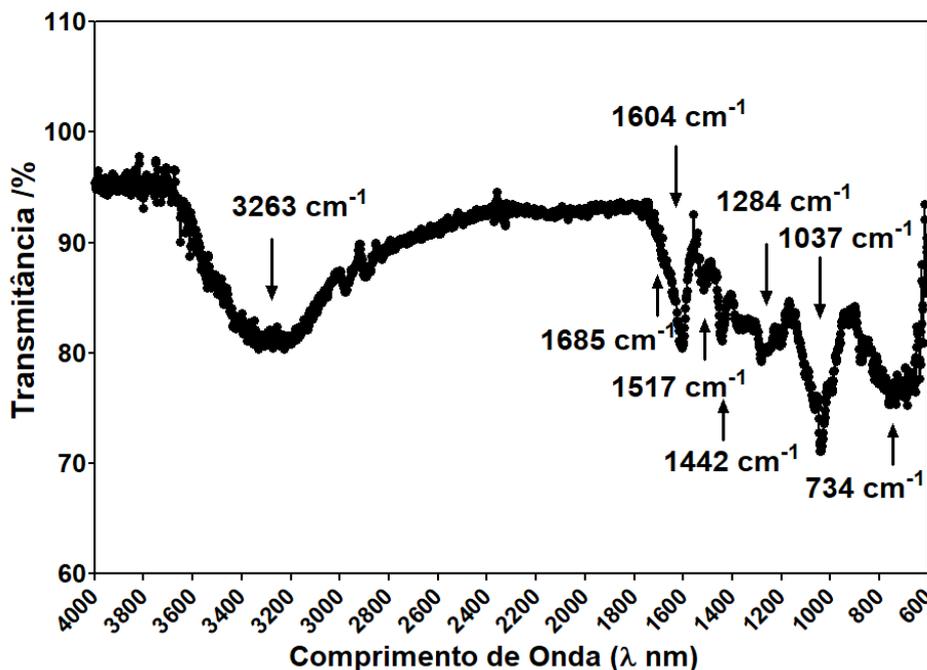
Fonte: Autor, 2021.

### 5.10 FTIR

Os espectros de FTIR das amostras do extrato etanol de *U. tomentosa* (Figura 28) apresentaram alguns estiramentos na região entre 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ . Foram observados

estiramentos provavelmente de deformações axiais de OH em 3331 e 3263  $\text{cm}^{-1}$  de hidroxilas podendo ser atribuídas a umidade do extrato e até das hidroxilas fenólicas. Estiramentos em 1604  $\text{cm}^{-1}$ , 1517 e 1442  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída a deformações axiais de C=C de esqueleto de anel aromático de flavonoides e aromáticos para-substituídos que podem estar sobrepostos com deformações C-N de alcalóides entre 1650-1580  $\text{cm}^{-1}$  de intensidade média a forte. Deformações de éteres aromáticos na região de 1284  $\text{cm}^{-1}$  presentes em sistemas flavonoídicos tipo catequinas. Deformações em 1037  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação de C-N de amins alcaloídicas que podem acontecer em 1073  $\text{cm}^{-1}$  para amins alifáticas primárias, além de deformações em 871, 823 e 734  $\text{cm}^{-1}$  de deformação angular N-H com picos largos referente a amins. Os dados FTIR vêm provando presença de alcalóides e compostos fenólicos na amostra de extrato etanólico de *Uncaria tomentosa*.

Figura 28: Espectro FTIR do extrato etanólico de *Uncaria tomentosa*.

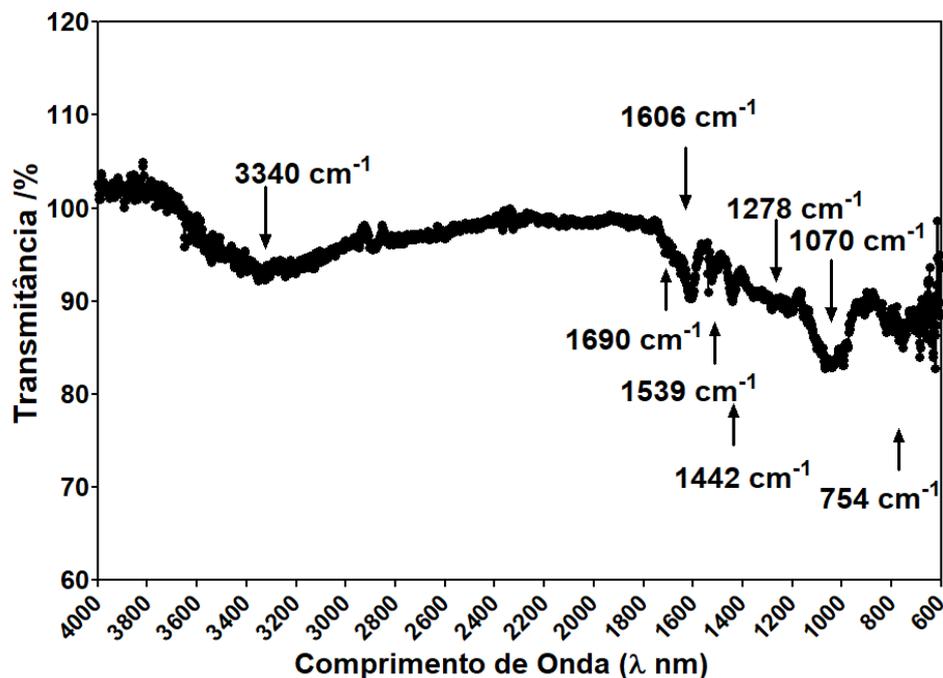


Fonte: Autor, 2021.

O espectro FTIR de microcápsulas de *Uncaria tomentosa* (UT-F1) (Figura 29) apresentou semelhança com o espectro FTIR do extrato hidroetanólico de *Uncaria tomentosa* o qual lhe deu origem. Alguns picos apresentaram-se deslocados devido à presença do carboidrato na composição. Deformações em 3351 e 3340  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo às deformações O-H de hidroxilas de álcool presentes nos carboidratos. Deformações em 2974 e 2891  $\text{cm}^{-1}$  refere-se à deformação axial de C-H de alifáticos C-H de CH<sub>2</sub> e C-H de grupos

metínicos, provavelmente dos carboidratos. Deformações angular em  $1442\text{ cm}^{-1}$  também confirma presença C-H de  $\text{CH}_2$  de cicloalcanos. Deformações em  $1606$  e  $1539$ ,  $1442\text{ cm}^{-1}$  sobreposição de esqueleto de aromático bem como deformação de  $1606\text{ cm}^{-1}$  correspondente a deformação C-N de amins. Deformação em  $1278\text{ cm}^{-1}$  referente a éter aromático de flavonoides. Deformações em  $1070\text{ cm}^{-1}$  e  $1037\text{ cm}^{-1}$  correspondente a estiramentos de C-N e C-O, respectivamente, para amins e compostos aromáticos tipo álcool. Deformações em  $819$  e  $754\text{ cm}^{-1}$  larga correspondente à deformação angular de N-H de amins.

**Figura 29:** Espectro FTIR das microcápsulas de *Uncaria tomentosa*.



Fonte: Autor, 2021.

As intensidades dos estiramentos foram reduzidas provavelmente devida à presença do sistema encapsulante utilizado para preparação das microcápsulas de *Uncaria tomentosa*.

### 5.11 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A figura 30 mostra a morfologia das microcápsulas carregadas com o extrato de *Uncaria tomentosa*. As microcápsulas UT-F1 apresentaram micropartículas de superfície esférica, mas algumas micropartículas apresentam geometria poligonal ou poliédrica com bordas irregulares (RAMOS et al., 2019; SANTOS et al., 2019). As partículas apresentam-se predominantemente lisas, algumas com depressões sem rugas em sua superfície (YAN; ZHENGBIAO, 2010). Observou-se também forma externa arredondada, porém com bordas,

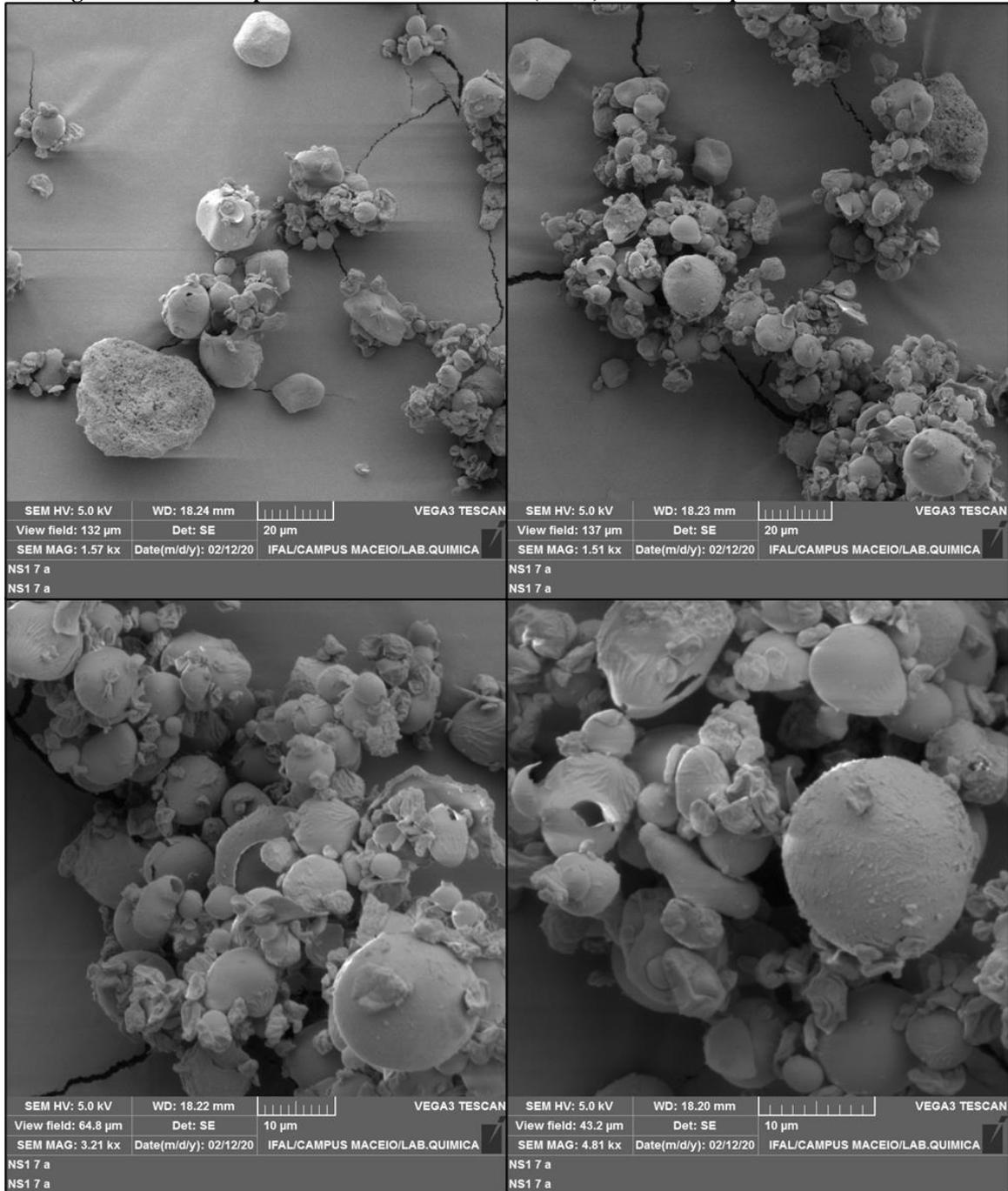
podendo estar associada à conversão parcial de grânulos de amido nativo em grânulos de amido spray-dried, algumas cavidades ou orifícios devido à agitação, temperatura e secagem rápida ao final do processo (LACERDA et al., 2008) ou mesmo para resfriamento após inchaço com volatilização de vapor de água (ROCHA et al., 2011).

As microcápsulas apresentaram tamanhos variados entre 11 e 16  $\mu\text{m}$ , algumas fissuras ou poros, o que é extremamente importante na liberação de material ativo do material encapsulado. Essas imperfeições podem estar associadas às características do agente encapsulante ou condições do processo (FERNANDES et al., 2013 *apud* TOLEDO HIJO et al., 2015), o processo de spray-drying resultou no aumento da proporção de grânulos de amido de batata com tamanho entre 6 e 15  $\mu\text{m}$  e diminuição nos grânulos com tamanho entre 16 e 60  $\mu\text{m}$  de acordo com Santos et al. (2019). Além disso as microcápsulas se apresentaram em forma de aglomerados, que é uma tendência relativamente comum em pós produzidos por secagem por spray, contudo, esse fenômeno é importante pois fornece maior proteção ao material de seu núcleo (TOLEDO HIJO et al., 2015).

A secagem por pulverização do amido diminuiu ligeiramente o peso molecular da amilopectina, como consequência a secagem por pulverização causou mudanças na estrutura do amido. A alta temperatura e a taxa de cisalhamento intensa podem quebrar as ligações glicosídicas  $\alpha(1,4)$  e  $\alpha(1,6)$ , bem como a estrutura ordenada do amido, como cristalitos e hélices duplas (SANTOS et al., 2019).

FU et al., (2012) relataram uma diminuição na porcentagem de cristalinidade do amido de milho após a secagem por atomização e observaram um aumento em sua degradação com o aumento da temperatura de aquecimento. O processo de secagem por spray leva à conversão parcial de amido em uma massa amorfa, respectivamente. Essa diferença pode ser observada pela menor degradação molecular e estrutural, bem como pela manutenção da fração cristalina após o processo de spray-drying.

**Figura 30: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das Microcápsulas de *Uncaria tomentosa*.**



Fonte: Autor, 2021.

## 5.12 DISSOLUÇÃO

### 5.12.1 Ensaio de teor de catequina

Para se obter os dados quantitativos das cápsulas de *U. tomentosa* no estudo do perfil de dissolução foi construída uma curva analítica da catequina com  $R^2$  maior que 0,99 (Figura 31) segundo estabelecido na RDC 166/2017 (ANVISA, 2017) (Figura 31A).

A partir da curva analítica da catequina (Figura 31A) foram realizados os cálculos estatísticos necessários para verificar a precisão e exatidão do método (Tabela 9). O método apresentou baixa variabilidade na precisão e exatidão com valores de variação de 0,25% e - 5,13%, respectivamente. O método também apresentou boa linearidade na faixa de 4 a 50  $\mu\text{g/mL}$  e faixa quantificável entre 6 e 50  $\mu\text{g/mL}$ . O limite de quantificação aceitável foi de 4  $\mu\text{g/mL}$  com variação menor que 10,53%. A partir desses dados pode-se verificar que o método está dentro dos parâmetros estabelecidos pela 6ª ed. da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019) e RDC 166/2017 (ANVISA, 2017).

**Tabela 9: Análise estatística de precisão e exatidão da curva analítica do padrão catequina.**

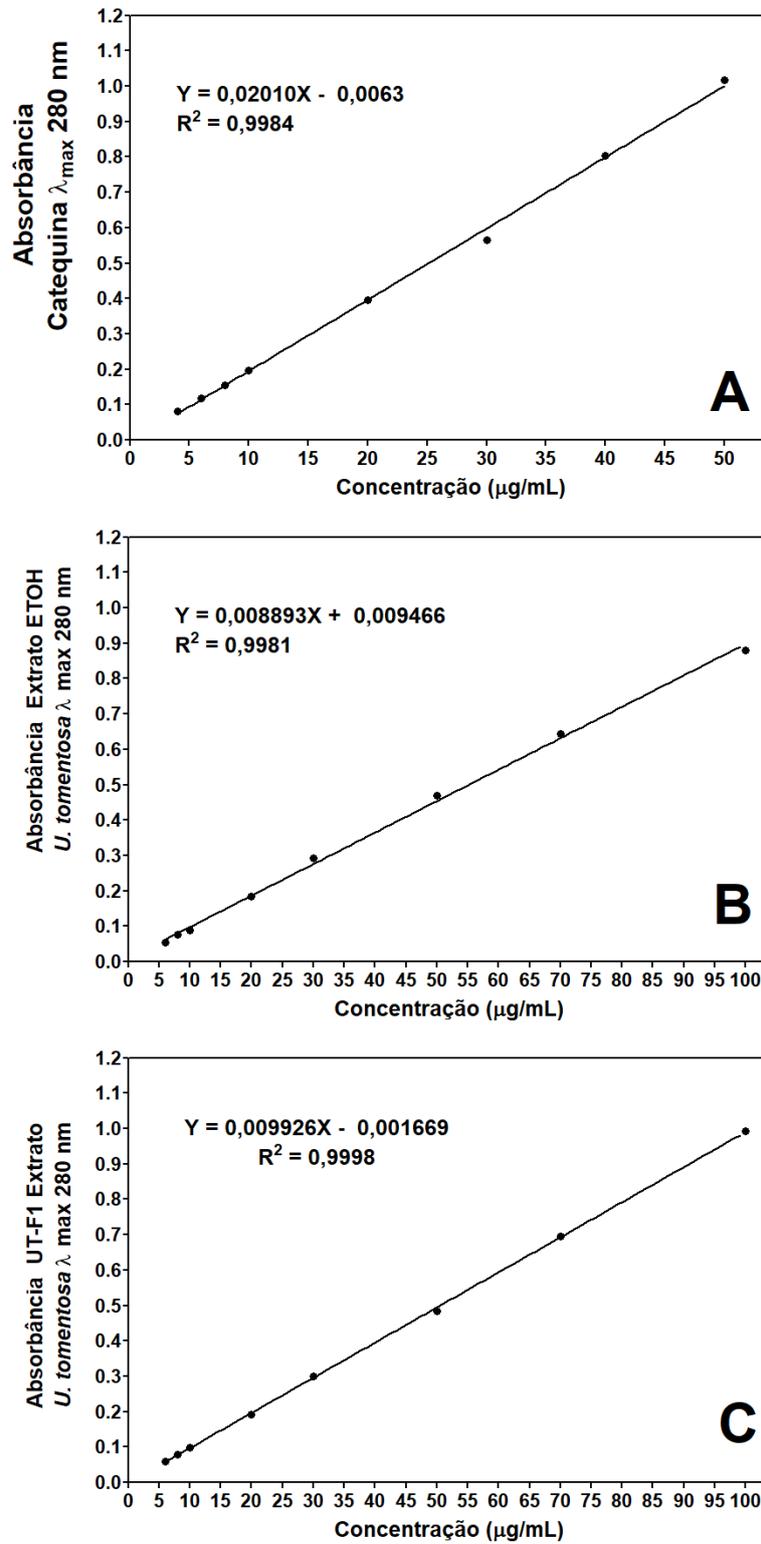
Catequina													
[ ] $\mu\text{g/mL}$	ABS			Precisão ( $\mu\text{g/mL}$ )						Exatidão (%)			
	1	2	3	Média	1	2	3	Média	DP	%CV	Bias (%)	Comp. (%)	
6	0,1170	0,1173	0,1173	<b>0,1172</b>	6,13	6,15	6,15	<b>6,14</b>	0,009	0,140	2,333	102,33	
8	0,1560	0,1565	0,1557	<b>0,1561</b>	8,07	8,10	8,06	<b>8,08</b>	0,020	0,249	1,000	101,00	
10	0,1973	0,1977	0,1975	<b>0,1975</b>	10,13	10,15	10,14	<b>10,14</b>	0,010	0,098	1,400	101,40	
20	0,3960	0,3957	0,3961	<b>0,3959</b>	20,01	20,00	20,02	<b>20,01</b>	0,010	0,052	0,050	100,05	
30	0,5654	0,5656	0,5660	<b>0,5657</b>	28,44	28,45	28,47	<b>28,46</b>	0,015	0,053	-5,133	94,86	
40	0,8032	0,8031	0,8028	<b>0,8030</b>	40,27	40,27	40,25	<b>40,27</b>	0,010	0,026	0,675	100,67	
50	1,0167	1,0161	1,0163	<b>1,0164</b>	50,90	50,87	50,88	<b>50,88</b>	0,015	0,030	1,760	101,76	

[ ]= Concentração; ABS= Absorbância; DP= Desvio Padrão; CV= Coeficiente de variação; Bias% = [(valor medido - valor verdadeiro) / valor verdadeiro]  $\times$  100. % Comp. da concentração nominal = (valor médio medido / valor nominal)  $\times$  100; Comp.= compatibilidade.

Fonte: Autor, 2021.

O extrato ETOH de *U. tomentosa* e as cápsulas de Extrato Spray-Dryer de *U. tomentosa* (UT-F1) foram submetidos a ensaio de curva de linearidade na faixa de 6 a 100  $\mu\text{g/mL}$  e determinou-se a concentração de catequina nos extratos de *U. tomentosa*. Observou-se concentração de 47,95%  $\pm$  4.90% no extrato ETOH de *U. tomentosa* (Tabela 10) e concentração de 51,15%  $\pm$  4.20% nas microcápsulas de *U. tomentosa* (UT-F1) (Tabela 11). Os dados de fenóis totais e teor de catequina pelo método UV-Vis demonstram o alto teor de compostos fenólicos presentes nestas preparações do pó da casca de *U. tomentosa*.

Figura 31: Curvas de calibração do padrão analítico catequina (A), Extrato ETOH de *U. tomentosa* (B) e Extrato UT-F1 de *U. tomentosa* (C).



Fonte: Autor, 2021.

**Tabela 10: Determinação do teor de catequina no Extrato etanólico de *U. tomentosa***  
**Determinação de teor de catequina no Extrato ETOH de *U. tomentosa* em  $\lambda$  280nm**

[ ] $\mu\text{g/mL}$	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )						Concentração (%)					
	1	2	3	Média	DP	%CV	Média	DP	%CV	Média	DP	%CV
6	3,02	3,03	3,02	<b>3,03</b>	0,00	0,09	50,50	50,41	50,44	<b>50,44</b>	0,042	0,084
8	4,08	4,09	4,11	<b>4,10</b>	0,01	0,31	51,18	51,37	51,20	<b>51,20</b>	0,102	0,200
10	4,73	4,72	4,73	<b>4,73</b>	0,00	0,11	47,21	47,26	47,26	<b>47,26</b>	0,029	0,061
20	9,49	9,47	9,48	<b>9,48</b>	0,01	0,13	47,34	47,41	47,40	<b>47,40</b>	0,041	0,086
40	14,89	14,89	14,88	<b>14,88</b>	0,01	0,05	49,62	49,59	49,61	<b>49,61</b>	0,018	0,036
50	23,70	23,66	23,63	<b>23,66</b>	0,04	0,15	47,31	47,26	47,33	<b>47,33</b>	0,033	0,070
70	32,42	32,40	32,40	<b>32,40</b>	0,01	0,04	46,28	46,28	46,29	<b>46,29</b>	0,005	0,012
100	44,07	44,07	44,06	<b>44,07</b>	0,01	0,01	44,07	44,06	44,07	<b>44,07</b>	0,005	0,011

[ ] = Concentração; DP= Desvio Padrão; CV= Coeficiente de variação.

Fonte: Autor, 2021.

**Tabela 11: Determinação do teor de catequina no Extrato UT-F1 de *U. tomentosa***  
**Determinação de teor de catequina no Extrato UT-F1 de *U. tomentosa* em  $\lambda$  280nm**

[ ] $\mu\text{g/mL}$	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )						Concentração (%)					
	1	2	3	Média	DP	%CV	Média	DP	%CV	Média	DP	%CV
6	3,31	3,30	3,32	<b>3,31</b>	0,01	0,38	54,98	55,39	55,17	<b>55,17</b>	0,207	0,376
8	4,22	4,20	4,21	<b>4,21</b>	0,01	0,18	52,55	52,67	52,65	<b>52,65</b>	0,067	0,127
10	5,26	5,25	5,25	<b>5,25</b>	0,00	0,09	52,54	52,49	52,54	<b>52,54</b>	0,029	0,055
20	9,88	9,88	9,88	<b>9,88</b>	0,00	0,03	49,40	49,38	49,39	<b>49,39</b>	0,013	0,026
40	15,30	15,29	15,29	<b>15,30</b>	0,00	0,02	50,98	50,98	50,98	<b>50,98</b>	0,003	0,006
50	24,44	24,43	24,42	<b>24,43</b>	0,01	0,05	48,86	48,84	48,86	<b>48,86</b>	0,013	0,026
70	34,94	34,92	34,96	<b>34,94</b>	0,02	0,05	49,89	49,94	49,91	<b>49,91</b>	0,025	0,050
100	49,74	49,71	49,71	<b>49,72</b>	0,02	0,04	49,71	49,71	49,72	<b>49,72</b>	0,007	0,013

[ ] = Concentração; DP= Desvio Padrão; CV= Coeficiente de variação.

Fonte: Autor, 2021.

### 5.12.2 Perfil de dissolução

Observa-se na figura 32 o perfil de dissolução das cápsulas UT-F1 (100 mg Microcápsulas de *U. tomentosa*) e UT-C1 (100 mg Microcápsulas de *U. tomentosa* + Celulose microcristalina 5% + Croscarmelose sódica 5%) em dois meios de dissolução (água osmose reversa e 1% de Tween 60) para avaliar a dissolução dos compostos fenólicos presentes nas microcápsulas em função da concentração de catequina presente que apresenta comprimento de onda máximo próximo a 280 nm.

As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* (UT-F1) sem auxílio de adjuvantes farmacêuticos apresentaram comportamento de dissolução de microcápsulas pobremente

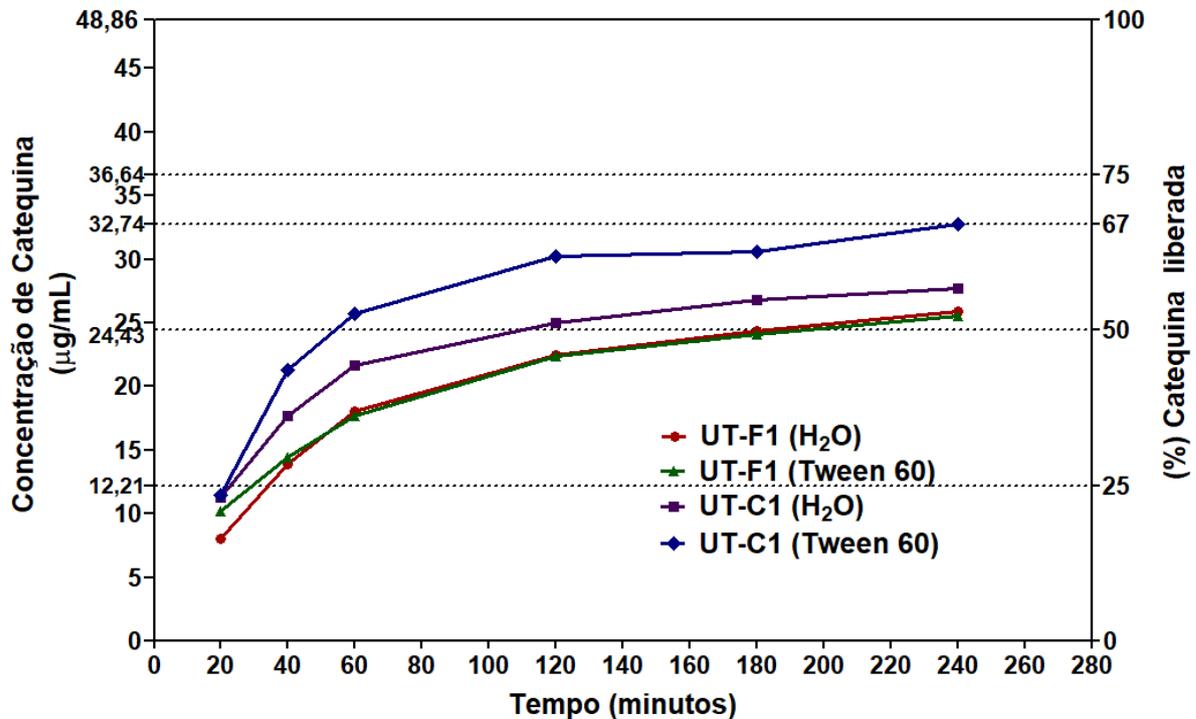
solúvel em água. Com dissolução máxima de 52,28 e 52,97%, respectivamente nos dois meios de dissolução utilizados (água osmose reversa ou água contendo 1% de Tween 60). Comparando os resultados obtidos das cápsulas UT-F1 nos dois meios de dissolução observamos que não se obteve diferenças significativas, mesmo tendo uma ligeira melhora na dissolução no primeiro ponto avaliado (20 min.). Ambas apresentam 50% de dissolução no tempo de 180 min. alcançando a concentração máxima de 25,88 µg/mL (52,98%) e 25,54 µg/mL (52,28%) em água osmose reversa e Tween 60, respectivamente.

Observou-se uma concentração máxima liberada de 32,74 µg/mL de catequina representando 67% de seu conteúdo total de fenóis na dissolução da UT-C1 usando meio de dissolução contendo 1% de Tween 60 e concentração mínima de 27,70 µg/mL representando 56,70 % para a UT-F1 em água.

As cápsulas UT-C1 obtiveram diferenças estatisticamente significativas em comparação com a UT-F1 nos dois diferentes meios, atingindo 50 % de liberação pouco antes da primeira hora do ensaio de dissolução em 1% de Tween 60 e em 120 minutos em água, com liberação máxima de 61,91% e 51,1% respectivamente, obtendo assim uma liberação mais rápida e maior devido ao acréscimo da Celulose microcristalina (CMC) e do Croscarmelose sódica (Explocel®) que estão atuando como agentes desintegrantes (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Contudo, comparando as cápsulas UT-C1 nos dois diferentes meios podemos observar uma grande melhora em seu perfil de dissolução, tendo o melhor perfil em meio Tween 60 atingindo 67% de dissolução no final da análise, evidenciando eficiência dos excipientes desintegrantes em favorecer, assim a dissolução dos ativos presentes nas microcápsulas.

Figura 32: Perfil de dissolução das cápsulas de *Uncaria tomentosa* em dois meios (água osmose reversa e Tween 60 1%).



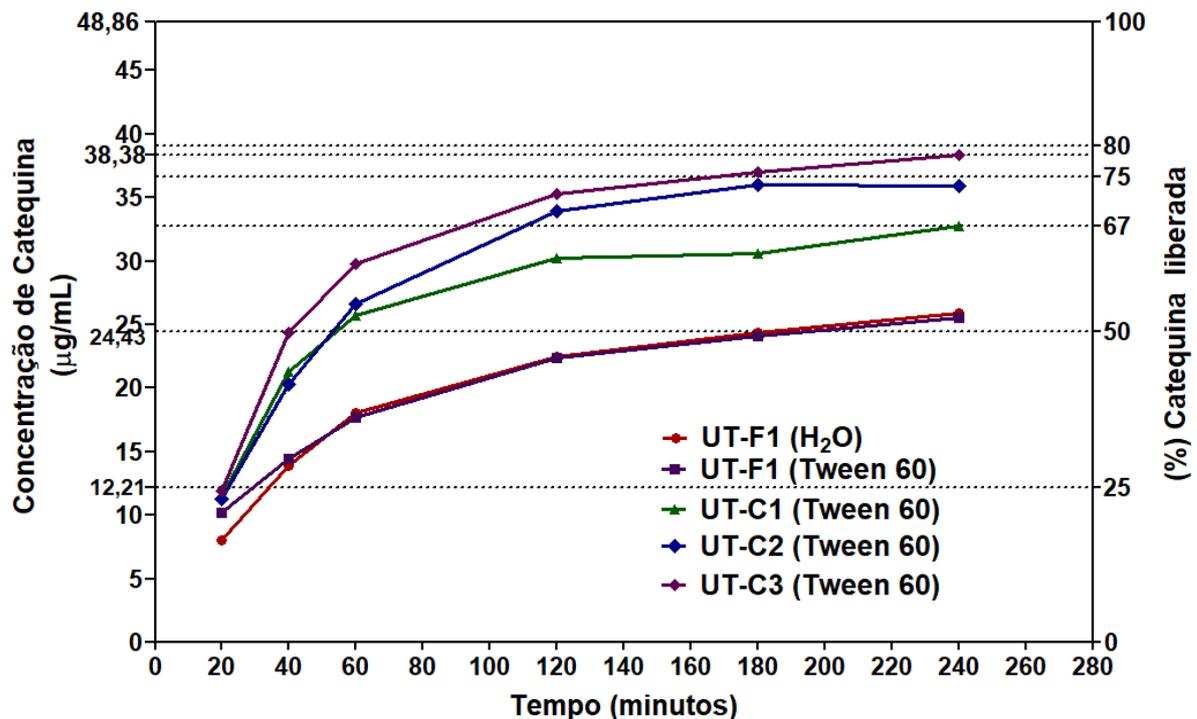
Fonte: Autor, 2021.

A figura 33 mostra a comparação do perfil de dissolução das cápsulas UT-F1, UT-C1, UT-C2 (100 mg Microcápsulas de *U. tomentosa* + CMC 5% + Explocel® 5% + Lecitina de soja 5%), UT-C3 (100 mg Microcápsulas de *U. tomentosa* + CMC 7,5% + Explocel® 7,5% + Lecitina de soja 7,5%), tendo a UT-C3 como a formulação com melhor dissolução, obtendo 78,60% de catequina liberada. Em comparação com a UT-F1 podemos destacar o tempo de liberação de 50% dos ativos, onde a formulação UT-C3 obteve liberação entre 50 e 50 minutos. Já a formulação UT-F1 só alcançou os 50% dissolvido em tempo de 180 min. de análise tanto em água como em Tween 60, ou seja, a formulação UT-C3 apresenta-se 3 vezes mais veloz em dissolver o mesmo conteúdo de catequina.

Se avaliarmos a formulação UT-C1 e UT-C2 onde, foi acrescentado a lecitina de soja (LEC) como emulsificante, percebemos um ligeiro aumento na percentagem de liberação, 73,6% e 78,6%, respectivamente, assim como na comparação da UT-C2 e UT-C3, tendo o aumento da percentagem de seus excipientes de 2,5% para cada excipiente, obteve um incremento de sua liberação em 5%, mostrando assim um aumento proporcional com o aumento de agentes desintegrantes (CMC e Explocel®) e emulsificante (Lecitina).

As propriedades tensoativas desempenhada pela lecitina são provenientes da estrutura molecular dos fosfolipídios, formados por uma porção lipofílica (apolar) e uma hidrofílica (polar) que desempenham sua característica química mais importante, seu poder emulsificante, responsável pela capacidade de reduzir a tensão interfacial entre uma mistura óleo/água (FANI, 2016) função importante também para facilitar a solubilização de compostos pobremente solúveis em água (terpenos, alcaloides e alguns protocatequêuticos e biflavonóides) presentes nas microcápsulas de *U. tomentosa*.

Figura 33: Perfil de dissolução das cápsulas de *Uncaria tomentosa*.



Fonte: Autor, 2021.

Os desintegrantes combinados com tensoativos naturais como a lecitina de soja apresentam vantagens, pois a porcentagem de excipientes adicionais na composição não ultrapassa 25% do valor da massa final da cápsula de *uncaria tomentosa*. Dependendo da necessidade e da estratégia de liberação imediata em menos tempo, pode ser aumentado em até 50% do valor da massa final da cápsula de *Uncaria tomentosa*.

Apesar das estratégias de uso dos desintegrantes combinados com surfactantes para melhorar a solubilidade de fitoquímicos presentes em microcápsulas carregadas com extrato de *Uncaria tomentosa*, não foi possível provar uma solubilidade de 100% de compostos polares fenólicos pentahidroxilados, como catequina, um composto de flavan-3-ol. Portanto, outro fator que pode estar impedindo a máxima solubilidade dos fitoquímicos polares da *Uncaria*

*tomentosa* é o efeito do sistema matricial na forma de um compósito de *U. tomentosa* incorporado ao polímero polissacarídeo natural, o amido.

Gomes; Mendes da Silva; Ricardo, (2005) demonstraram a maior capacidade de intumescimento (60,25 g água / g amido) e solubilidade (58,0%) para amido seco por pulverização em comparação ao amido nativo (38,47 g água / g amido; 25,0%). A capacidade de expansão de um polímero indica a capacidade de permitir que a água penetre nos grânulos de amido. Então, as áreas amorfas (amilose) dos grânulos de amido absorvem rapidamente a água, permitindo que ela inche. Enquanto isso, as áreas cristalinas (amilopectina) do grânulo de amido mantêm sua integridade, permitindo o inchaço, mas evitando a dispersão completa de moléculas e macromoléculas (SANTOS et al., 2019).

Os resultados da caracterização até agora demonstram que sua estrutura de polímero hidrofílico semicristalina pode estar resultando em liberação retardada, bem como uma redução na extensão (quantidade) de catequina liberada no meio de dissolução. Assim, o amido de secagem por pulverização é útil para drogas solúveis, partículas de liberação controlada, microcápsulas como aromatizantes e ingredientes funcionais (SANTOS et al., 2019).

### 5.13 ANÁLISES BIOLÓGICAS *in vitro*

#### 5.13.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

Todas as frações apresentaram concentrações menores que 128 µg/mL para inibição de *Escherichia coli* (ATCC 25922). A fração UT-4 apresentou um melhor resultado para as cepas gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 27853 e *Escherichia coli* - ATCC 25922)

O particionamento UT-7 apresentou o melhor resultado, tendo concentrações inibitórias mínimas de 256 µg/ml para *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 31488) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); e de 128 µg/mL para *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Tabela 12).

Estudos realizados por Ccahuana-Vasquez et al., (2007) avaliaram a atividade microbiana da *U. tomentosa* sobre patógenos da cavidade bucal, e observaram atividade em isolados da família *Enterobacteriaceae*, *S. mutans* e *Staphylococcus spp.* no entanto, não inibiram cepas de *P. aeruginosa* e *C. albicans*, diferente do presente estudo que apresentou inibição para *P. aeruginosa* com a fração UT7. Assim como Herrera et al., (2010) demonstraram que a espécie *U. tomentosa* apresentou atividade contra cepas de *E. faecalis* (ATCC 29212), e *C. albicans* (ATCC 29212) e *S. aureus* (ATCC 29212).

Tabela 12: Concentração inibitória mínima dos particionamentos de *Uncaria tomentosa*

<i>Uncaria tomentosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	CIM ( $\mu\text{g/ml}$ )			
UT1 (20 mg/ml)	512	1024	<128	512
UT4 (20 mg/ml)	2048	1024	<128	512
UT6 (25 mg/ml)	1024	1024	<128	1024
UT7 (5 mg/ml)	<128	256	<128	256

Fonte: Próprio autor.

Alcaloides antibacterianos de ocorrência natural são descritos em estudos desde a década de 1940, pesquisas posteriores, foram mais completas determinando as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de vários monômeros alcaloides potentemente antibacterianos (CIMs  $\leq 10 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) foram identificados na aaptamina, indolizidina, isoquinolina, piperazina, quinolina, quinolona, agelasina, poliamina e indol. Com níveis semelhantes de atividade, foram encontrados ainda, dímeros alcaloides na aaptamina-indol, bisindol, indol-quinolina, piridoacridina, bispirrol e pirrol-imidazol (CUSHNIE; CUSHNIE; LAMB, 2014).

Analisando os dados cromatográficos, observa-se que as frações UT-7 apresentaram uma maior quantidade de picos cromatográficos em 245 nm (presença de diferentes alcaloides) em relação a fração UT-4.

García et al., (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana dos extratos de *U. tomentosa* (extratos de diclorometano e metanol) e da isopteropodina (alcaloide oxidol pentacíclico) onde os extratos mostraram atividade antimicrobiana contra *M. flavus* (ATCC 10290) e *B. subtilis* (ATCC 6633) e foi inativo contra *C. albicans* e *S. cerevisiae*, tendo o extrato obtido por extração com metanol uma maior atividade antibacteriana nas concentrações de 100  $\mu\text{g/mL}$  e 200  $\mu\text{g/mL}$ . A isopteropodina foi inativo, da mesma forma que os extratos de *Uncaria*, contra o *C. albicans* e *S. cerevisiae*, e foi ativo apenas contra bactérias Gram positivas. *S. aureus* (ATCC 6538P), *B. subtilis*, com um valor de CIM 150  $\mu\text{g/mL}$  e 250  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

Contudo, foi demonstrado que várias classes de alcaloides aumentam a atividade antibacteriana, incluindo os alcaloides com porção indol (MOHTAR et al., 2009; ÖZÇELIK et al., 2011) este fato se explica, possivelmente, pela sinergia ao inibir as bombas de efluxo bacteriano, bombas que atuam em uma ampla gama de compostos estruturalmente não relacionados (CUSHNIE; CUSHNIE; LAMB, 2014; MARKHAM et al., 1999; MOHTAR et

al., 2009). Lee et al., (2009) avaliaram a influência de Indol e 7-hidroindol (7HI) sobre a virulência de *P. aeruginosa*, demonstrando assim, que o Indol e 7HI regulam genes *quorum-sensing* em *P. aeruginosa*. Indol e 7HI resultou em um padrão oposto de expressão gênica dos genes de efluxo de múltiplas drogas mexGHI-opmD e muitos genes de virulência, tendo, os genes que codificam a bomba de efluxo (MexGHI-OpmD) os mais altamente reprimidos em *P. aeruginosa* após a adição de indol e 7H.

A sinergia descrita acima pode esta, possivelmente, ocorrendo com flavonoides presentes na amostra que demonstra sua atividade antibacteriana direta de três maneiras diferentes: efeito inibitório no metabolismo energético, pela inibição da síntese de ácidos nucleicos e danos da membrana citoplasmática por mecanismo de perfuração (AHMAD et al., 2015) e diminuição da fluidez da membrana (tendo a D-alanina-D-alanina ligase como alvo) (WU et al., 2008).

Os compostos fenólicos identificados nos extratos de *U. tomentosa* e na fração UT-1, pode-se destacar, também, suas atividades antimicrobianas descritas na literatura, onde, as catequinas apresentam diversas atividades antimicrobianas, tendo como uma de suas principais propriedades a capacidade de se ligar às membranas celulares bacterianas podendo interferir em vários processos bacterianos, podendo ainda, danificar a membrana celular levando ao aumento da permeabilidade causando lise celular. Outro mecanismo relevante é a inibição da biossíntese de ácidos graxos bacterianos por meio da inibição de enzimas envolvidas em sua via Biosintética (REYGAERT, 2018).

Perumal; Mahmud; Ismail (2017) avaliaram os prováveis mecanismos de ação do ácido caféico e epicatequina 3-galato contra *P. aeruginosa* (ATCC 27853), onde apresentaram notáveis capacidades bactericidas ao aumentar a membrana externa e a permeabilidade da membrana plasmática do patógeno. Facilitaram a entrada de antibióticos hidrofóbicos devido a desintegração da camada lipopolissacarídica da membrana externa. Com o aumento do tempo causaram, ainda, o vazamento consistente do conteúdo de nucleotídeos intracelulares. A epicatequina 3-galato induziu, também, o efluxo de potássio (com eficiência próxima à obtida com cefepima), sugerindo modo de ação através do rompimento da membrana.

Já Kwpa et al., (2018) avaliaram a atividade antibacteriana do ácido caféico contra vinte estirpes de *S. aureus* de origem clínicas (isolados a partir de feridas infectadas de pacientes hospitalizados), e 3 estirpes de *S. aureus* de referência (ATCC 25923, ATCC 43300 e ATCC 6538). A atividade antibacteriana foi observada em todas as cepas analisadas obtendo valores

de CIMs variando de 256 à 1.024  $\mu\text{g/mL}$ , tendo todas as cepas de referência com valores abaixo de 256  $\mu\text{g/mL}$ .

O ácido gálico, ácidos caféico e ácidos clorogênico foram estudados para se determinar as propriedades antimicrobianas e antibiofilme e seus respectivos mecanismos de ação contra *S. aureus*. Tendo o ácido gálico capaz de influenciar as propriedades de adesão de *S. aureus*. Os ácidos gálico e caféico também foram capazes de inibir a produção de  $\alpha$ -hemolisina e, em relação ao seu mecanismo de ação, o ácido cafeico interfere na estabilidade da membrana celular e na atividade metabólica das células de *S. aureus* (LUÍS et al., 2013).

Os dados ainda não conclusivos sugerem que os alcaloides presentes na fração UT-7 podem estar aumentando a atividade antibacteriana das frações UT-7 de *U. tomentosa*.

### **5.13.2 Análise do potencial antioxidante através do método de sequestro de radicais**

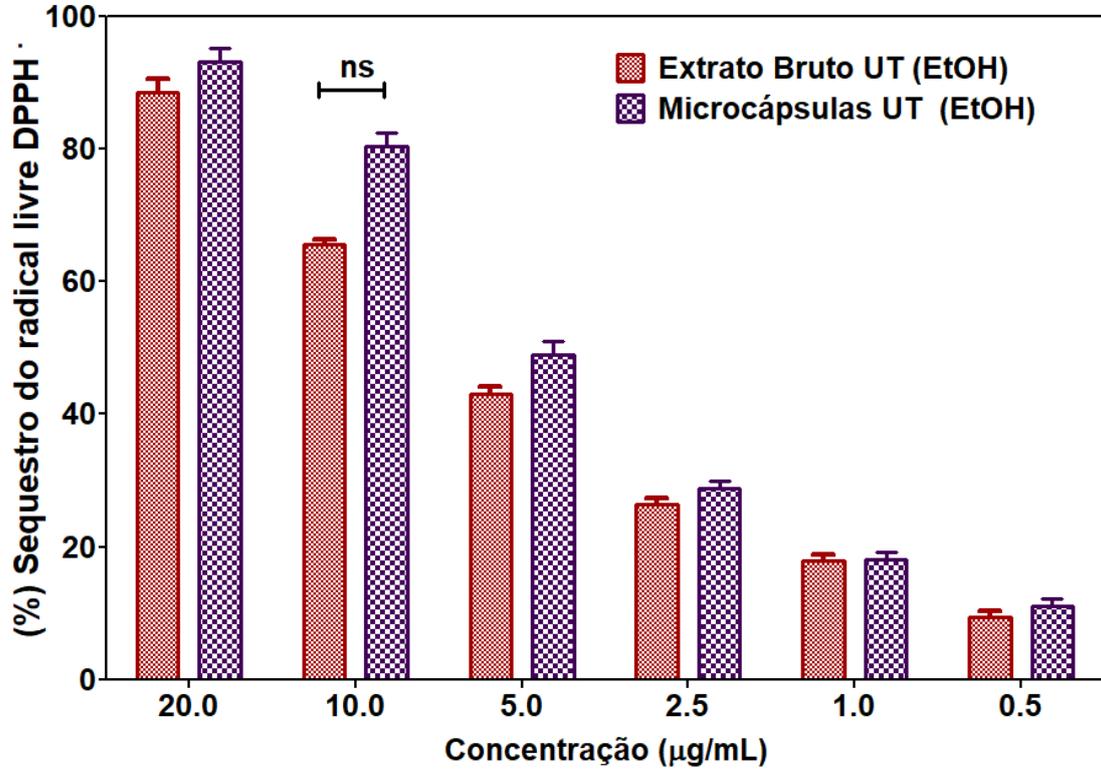
#### **DPPH**

O extrato etanólico de *Uncaria tomentosa* apresentou percentual de sequestro de radical DPPH de 88,47% na concentração de 20  $\mu\text{g/ml}$  tendo sua atividade diminuída proporcionalmente com a diminuição da concentração atingindo atividade de 9,35% na menor concentração avaliada (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Já os microencapsulados apresentaram um aumento na porcentagem de atividade antioxidante em todas as concentrações, apresentando um percentual de 93,08% de sequestro do radical na maior concentração (20  $\mu\text{g/ml}$ ) (Figura 34), contudo estatisticamente não obteve diferenças significativas ( $P=0,0666$  teste t-Student pareado), demonstrando assim o grande potencial antioxidante da espécie *U. tomentosa* tanto na forma de extrato quanto nas microcápsulas.

Estudos de Navarro-Hoyos et al., (2018) realizaram atividades antioxidante em vários extratos etanólicos de *U. tomentosa* onde, os extratos tiveram resultados uma  $\text{IC}_{50}$  de 6,34  $\mu\text{g/ml}$  para o menor valor da  $\text{IC}_{50}$  de 11,52  $\mu\text{g/ml}$  para o extrato com pior desempenho. Esses valores corroboram aos produzidos neste trabalho, tendo valores de  $\text{IC}_{50}$  de 5,8 e 5,03  $\mu\text{g/ml}$  para os extratos bruto e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* respectivamente.

Segundo (GONÇALVES; DINIS; BATISTA, 2005) a atividade antioxidantes de extratos de *U. tomentosa* está relacionada à presença de compostos fenólicos, incluindo catequinas, ácidos protocatequêuticos e compostos fenólicos simples.

Figura 34: Comparativo da porcentagem da atividade antioxidante do extrato etanólico e microcápsulas carregadas com ativos de *Uncaria tomentosa*.



Fonte: Autor, 2021.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos até o presente momento no estudo de obtenção e caracterização dos extratos bruto e microencapsulado de *Uncaria tomentosa* revelam que:

- ✓ A preparação de microcápsulas carregadas com extrato de *Uncaria tomentosa* em sistema de matriz com biopolímero de amido natural pelo processo de spray-dryer mostrou-se eficiente para encapsular o extrato de *Uncaria tomentosa*.
- ✓ O extrato de *Uncaria tomentosa* quando microencapsulado em um sistema de matriz com o biopolímero de amido mostrou-se termicamente estável utilizando um polímero de amido modificado termicamente que mantém as mesmas características do extrato de *Uncaria tomentosa*. As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* não apresentaram incompatibilidades químicas, nem dificuldades na liberação de fitoquímicos e na manutenção do conteúdo de compostos fenólicos ativos como polifenóis e flavonóides, bem como, atividade antioxidante.
- ✓ O uso do biopolímero de amido combinado com a técnica de spray-dryer promove certas alterações em suas propriedades físico-químicas, principalmente em suas características semicristalinas, contribuindo e promovendo melhorias no sistema de liberação de compostos fenólicos presentes no extrato de *Uncaria tomentosa*.
- ✓ Os extratos etanólico e microcápsulas de *Uncaria tomentosa* apresentaram presença de alcaloides e compostos fenólicos usando dados de cromatografia líquida de alta eficiência, ensaios químicos e triagem fitoquímica;
- ✓ Os extratos etanólicos e frações diclorometano de *Uncaria tomentosa* apresentaram atividade antibacteriana, provavelmente, devido ao efeito sinérgico entre alcaloides e compostos fenólicos.
- ✓ Foi possível obter uma composição físico-quimicamente estável de microcápsulas de *Uncaria tomentosa* na forma de micropartícula quando avaliadas por FTIR e Análise térmica;
- ✓ As microcápsulas de *Uncaria tomentosa* demonstraram ser pobremente solúvel em água que podem melhorar sua dissolução *in vitro* e posteriormente sua absorção pelos fluidos gastrointestinais com adição de adjuvantes farmacotécnicos para aumentar sua eficácia de liberação *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, n. 1–2, p. 17–25, 1998.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **Superior Pharmaceutical Research and Testing with Dissolution Technology**. Disponível em: <<https://www.agilent.com/en/product/dissolution-testing>>. Acesso em: 9 jul. 2021.
- AGUILAR, J. L. et al. Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 271–276, 2002.
- AHMAD, A. et al. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections — A review. **Food Research International journal**, v. 77, p. 221–235, 2015.
- ALLEN-HALL, L. et al. *Uncaria tomentosa* acts as a potent TNF- $\alpha$  inhibitor through NF $\kappa$ B. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 685–693, 2010.
- ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9. ed. [s.l.: s.n.].
- ANVISA, A. N. DE V. S.-M. DA S. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União nº141, de 25 de julho de 2017**, v. 2017, p. 1–21, 2017.
- AQUINO, R. et al. Triterpenes and quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 5, p. 1035–1040, 1997.
- AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 4. ed. [s.l.: s.n.].
- AZEREDO, H. M. C. DE. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alim. Nutr.**, v. 16, p. 89–97, 2005.
- AZEVEDO, B. C. et al. Aqueous extracts from *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC. reduce bronchial hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of asthma. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, n. February, p. 76–89, 2018.
- BAPTISTA, E. B. **Estudo da Correlação in vitro-in vivo empregando comprimidos de glibenclâmida não bioequivalentes**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, 2005.
- BATIHA, G. E. S. et al. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC.: A review on chemical constituents and biological activities. **Applied Sciences**, v. 10, n. 8, 2020.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. **Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI)** Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), , 2003.

BRASIL. **Dispõe sobre realização de alteração, inclusão, suspensão, reativação, e cancelamento pós-registro de medicamentos e dá outras providências.** Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), , 2009.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.** [s.l: s.n.]. v. 1

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6a Edição. **ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde**, v. 1, p. 874, 2019.

BROWN, C. K. et al. Acceptable Analytical Practices for Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. **Pharmaceutical Technology**, v. 12, p. 56, 2004.

BUSTILLOS, A.; CORTEZ, J. C. Actividad anti-metastásica y anti- proliferativa de Ilex guayusa, Uncaria tomentosa y Croton lechleri, en la línea celular MCF7. **Investigación Clínica**, v. 62, p. 86–94, 2021.

CASTILHOS, L. G. et al. Effect of Uncaria tomentosa extract on purinergic enzyme activities in lymphocytes of rats submitted to experimental adjuvant arthritis model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2015.

CCAHUANA-VASQUEZ, R. A. et al. Antimicrobial activity of Uncaria tomentosa against oral human pathogens. **Brazilian Oral Research**, v. 21, n. 1, p. 46–50, 2007.

CHEESEMAN, K. H.; SLATER, T. F. An introduction to free radical biochemistry. **British Medical Bulletin**, v. 49, n. 3, p. 481–493, 1993.

CHENG, A. et al. Induction of apoptosis by Uncaria tomentosa through reactive oxygen species production , cytochrome c release , and caspases activation in human leukemia cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 2206–2218, 2007.

CHRANIOTI, C.; CHANIOTI, S.; TZIA, C. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from Stevia rebaudiana Bertoni plant) - Evaluation of the final products. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1151–1158, 2016.

CLSI. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico : Norma Aprovada - Sexta Edição. **ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde**, v. 23, n. 2, p. 81, 2012.

CODEVILLA, C. F. et al. Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 142–151, 2015.

CUSHNIE, T. P. T.; CUSHNIE, B.; LAMB, A. J. Alkaloids : An overview of their antibacterial , antibiotic-enhancing and antivirulence activities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 44, n. 5, p. 377–386, 2014.

DE MATTA, S. M. et al. Alkaloids and procyanidins of an Uncaria sp. from Peru. **II Farmaco; edizione scientifica**, v. 31, n. 7, p. 527—535, 1976.

DIETRICH, F. et al. Quinovic acid glycosides purified fraction from Uncaria tomentosa induces cell death by apoptosis in the T24 human bladder cancer cell line. **Food and Chemical Toxicology**, v. 67, p. 222–229, 2014.

DINDA, B. et al. Naturally occurring triterpenoid saponins. **Chemistry and Biodiversity**, v.

7, n. 10, p. 2327–2580, 2010.

ENGEL, B. et al. Emprego de Spray Dryer na indústria de alimentos: uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 2, p. 11, 2017.

FANI, M. Lecitina: Emulsionante E Lubrificante. **Aditivos & Ingredientes**, p. 34–39, 2016.

FENG, W.; HAO, Z.; LI, M. **Isolation and Structure Identification of Flavonoids**. [s.l: s.n.].

FERNANDES, R. V. DE B. et al. Microencapsulation of Rosemary Essential Oil: Characterization of Particles. **Drying Technology**, v. 31, n. 11, p. 1245–1254, 18 ago. 2013.

FLISZAR, K. A. et al. Effects of dissolved gases in surfactant dissolution media. **Dissolution Technologies**, v. 12, n. 3, p. 6–10, 2005.

FONSECA, L. B. **Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida**. [s.l: s.n.].

FU, Z. Q. et al. Effects of partial gelatinization on structure and thermal properties of corn starch after spray drying. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1319–1325, 2012.

GARCÍA, R. et al. Antimicrobial activity of isopteropodine. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 60, n. 5–6, p. 385–388, 2005.

GATTUSO, M. et al. Morphoanatomical studies of *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* bark and leaves. **Phytomedicine**, v. 11, n. 2–3, p. 213–223, 2004.

GOMES, A. M. M.; MENDES DA SILVA, C. E.; RICARDO, N. M. P. S. Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (polvilho azedo). **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 1, p. 1–6, 2005.

GONÇALVES, C.; DINIS, T.; BATISTA, M. T. Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: A mechanism for anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, v. 66, n. 1, p. 89–98, 2005.

GUINESI, L. S. et al. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. **Thermochimica Acta**, v. 447, n. 2, p. 190–196, 2006.

HEITZMAN, M. E. et al. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, v. 66, n. 1, p. 5–29, 2005.

HERRERA, D. R. et al. In vitro antimicrobial activity of phytotherapeutic *Uncaria tomentosa* against endodontic pathogens. **Journal of oral science**, v. 52, n. 3, p. 473–476, 2010.

HONÓRIO, I. C. G.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S. *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* an agronomic history to be written. **Ciência Rural**, v. 46, n. 8, p. 1401–1410, 2016.

JAMZAD, S.; FASSIHI, R. Role of Surfactant and pH on Dissolution Properties of Fenofibrate and Glipizide — A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**, p. 6, 2006.

JANKOVIĆ, B. Thermal characterization and detailed kinetic analysis of Cassava starch thermo-oxidative degradation. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 2, p. 621–629, 2013.

KAISER, S. **Relevância dos alcaloides oxindólicos em *Uncaria tomentosa* ( Willd .) DC . ( Unha-de-gato ) : adulteração , quimiotipos e isomerização.** [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2016.

KEPLINGER, K.; WAGNER, H.; KREUTZKAMP, B. **Oxindole Alkaloids Having Properties Stimulating the Immunologic System and Preparation Containing the Same Background of the Invention** United States Patent, , 1989.

KITAJIMA, M. et al. Two new nor-triterpene glycosides from Peruvian “Uña de Gato” (*Uncaria tomentosa*). **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 2, p. 320–323, 2003.

KITAJIMA, M. et al. New oleanan-type triterpene and cincholic acid glycosides from Peruvian “Uña de Gato” (*Uncaria tomentosa*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 10, p. 1258–1261, 2004.

KLOUCEK, P. et al. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 2, p. 309–312, 2005.

KURASÍ, M. et al. Effect of Alkaloid-Free and Alkaloid-Rich preparations from *Uncaria tomentosa* bark on mitotic activity and chromosome morphology evaluated by Allium Test. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 140–147, 2009.

KWPA, M. et al. Antimicrobial Potential of Caffeic Acid against *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. **BioMed Research International**, p. 9, 2018.

LACERDA, L. G. et al. Thermal behaviour of corn starch granules under action of fungal  $\alpha$ -amylase. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 2, p. 445–449, 2008.

LAUS, G. Advances in Chemistry and Bioactivity of the Genus *Uncaria*. **Phytotherapy Research**, v. 274, p. 259–274, 2004.

LAUS, G.; BROSSNER, D.; KEPLINGER, K. ALKALOIDS OF PERUVIAN UNCARIA T O M E N T O S A. v. 45, n. 4, p. 855–860, 1997.

LAUS, G.; KEPLINGER, D. Separation of stereoisomeric oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 662, n. 2, p. 243–249, 1994.

LEAL, A. F. V. B. **ENSAIO DE DISSOLUÇÃO DE FITOTERÁPICOS CONTENDO *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reiss (Celastraceae): VALIDAÇÃO DE MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE CATEQUINA E EPICATEQUINA.** [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 2010.

LEE, J. et al. Indole and 7-hydroxyindole diminish *Pseudomonas aeruginosa* virulence. **Microbial Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 75–90, 2009.

LEMOIS, P. V. F. et al. The important role of crystallinity and amylose ratio in thermal stability of starches. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 3, p. 2555–2567, 2018.

LIMA, R. Q. DE. **ESTUDOS TECNOLÓGICOS PARA A OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA A PARTIR DE *Endopleura uchi* e *Uncaria tomentosa*.** [s.l.: s.n.].

LIMA, V. L. E. OS FÁRMACOS E A QUIRALIDADE: UMA BREVE ABORDAGEM. v. 20, n. 6, p. 657–663, 1997.

LOBO, V. et al. Free radicals , antioxidants and functional foods : Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, 2010.

LUÍS, Â. et al. Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of gallic , caffeic , and chlorogenic acids. **The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v. 30, n. 1, p. 1–5, 2013.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 4, p. 375–399, 2002.

MANIASSO, N. Micellar media in analytical chemistry. **Quimica Nova**, v. 24, n. 1, p. 87–93, 2001.

MARKHAM, P. N. et al. Multiple Novel Inhibitors of the NorA Multidrug Transporter of Staphylococcus aureus. **ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY**, v. 43, n. 10, p. 2404–2408, 1999.

MENEZES FILHO, A. C. P.; SANTOS, M. C.; CASTRO, C. F. DE SOUZA. Estudo fitoquímico, bioativo, fotoprotetor e físico-químico do extrato floral de algodãozinho do Cerrado [*Cochlospermum regium* Schrank. (Pilg.)] – Bixaceae. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, p. 59–71, 2020.

MITHANI, S. D. et al. **Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration** **Pharmaceutical Research**, 1996.

MOHTAR, M. et al. Inhibitory and Resistance-Modifying Potential of Plant-Based Alkaloids Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus ( MRSA ). **Current Microbiology**, p. 181–186, 2009.

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 3<sup>a</sup> ed. [s.l: s.n.].

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 4<sup>a</sup> ed. [s.l: s.n.].

NASCIMENTO, T. G. et al. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extract of propolis. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 2, p. 246–254, 2018.

NAVARRO-HOYOS, M. et al. Phenolic assesment of *Uncaria tomentosa* L. (cat's claw): Leaves, stem, bark and wood extracts. **Molecules**, v. 20, n. 12, 2015.

NAVARRO-HOYOS, M. et al. Polyphenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts from *uncaria tomentosa* bark and leaves. **Antioxidants**, v. 7, n. 5, 2018.

NAVARRO, M. et al. Polyphenolic composition and antioxidant activity of *Uncaria tomentosa* commercial bark products. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, 2019.

OGAWA, C. Y. L. **Técnicas espectroscópicas para identificação e quantificação de compostos fenólicos sólidos**. [s.l.] Universidade Estadual de Maringá, 2016.

OLIVEIRA, C. DE L. **TESTE DE DISSOLUÇÃO: CONCEITOS, APLICAÇÕES E**

**RELEVÂNCIA NO DESENVOLVIMENTO E CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS.** [s.l: s.n.].

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

OSTRAKHOVICH, E. A. MEDICINAL PLANTS ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE EXTRACT FROM *Uncaria Tomentosa*. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 31, n. 6, p. 326–329, 1997.

ÖZÇELİK, B. et al. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. **Pharmaceutical Biology**, v. 0209, 2011.

**PACHÚ, C. O. PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS E LÍQUIDOS.** [s.l: s.n.].

PAIVA REIS, R. A. DA S. **Obtenção de produtos a partir das cascas de *Uncaria tomentosa* (Willdernow ex Roemer & Schultes) D.C: otimização da extração e secagem em spray dryer utilizando planejamentos experimentais e avaliação da atividade anti-inflamatória.** [s.l: s.n.].

PALLADINO, M. A.; BAHJAT, F. R.; THEODORAKIS, E. A. ANTI-TNF- $\alpha$  THERAPIES : THE NEXT GENERATION. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. September, p. 736–746, 2003.

PERINELLI, D. R. et al. Encapsulation of Flavours and Fragrances into Polymeric Capsules and Cyclodextrins Inclusion Complexes: An Update. **Molecules**, v. 25, p. 33, 2020.

PERO, R. W. **ISOLATION, PURIFICATION AND STRUCTURAL IDENTIFICATION OF A BIOACTIVE COMPONENT OF A WATER SOLUBLE EXTRACT OF A BOTANICAL SPECIES FOR ENHANCING IMMUNE, ANTI-INFLAMMATORY, ANTI-TUMOR AND DNA REPAIR PROCESSES OF WARM BLOODED ANIMALS,** 2003.

PERUMAL, S.; MAHMUD, R.; ISMAIL, S. Mechanism of Action of Isolated Caffeic Acid and Epicatechin 3 - gallate from *Euphorbia hirta* against *Pseudomonas aeruginosa*. **Pharmacognosy Magazine**, p. 311–315, 2017.

PHILLIPSON, J. D.; HEMINGWAY, S. R.; RIDSDALE, C. E. **Alkaloids of *Uncaria*. V. Their occurrence and chemotaxonomy.** *Lloydia*, 1978.

PIFFERI, G.; SANTORO, P.; PEDRANI, M. Quality and functionality of excipients. **Farmaco**, v. 54, n. 1–2, p. 1–14, 1999.

POLLITO, P. A. Z. **DENDROLOGIA , ANATOMIA DO LENHO E “ STATUS ” DE CONSERVAÇÃO DAS ESPÉCIES LENHOSAS DOS GÊNEROS *Cinchona* , *Croton* e *Uncaria* NO ESTADO DO ACRE , BRASIL Estado de São Paulo - Brasil CONSERVAÇÃO DAS ESPÉCIES LENHOSAS DOS GÊNEROS *Cinchona* , *Croton* e *Uncaria* NO.** [s.l: s.n.].

POLLITO, P. A. Z.; TOMAZELLO, M. Anatomia do lenho de *Uncaria guianensis* e *U . tomentosa* ( *Rubiaceae* ) do Estado do Acre , Brasil Wood anatomy of *Uncaria guianensis* e *U*

. tomentosa ( Rubiaceae ) from the State of Acre , Brazil. v. 36, n. 2, p. 169–175, 2006.

QUINTELA, J. C.; DE UGAZ, O. L. Uña de gato. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. n. March 2003, 2003.

RAMOS, A. H. et al. Characteristics of Flour and Starch Isolated from Red Rice Subjected to Different Drying Conditions. **Starch/Staerke**, v. 71, n. 7–8, p. 1–8, 2019.

REICH, A. et al. A spray containing extracts of oat plantlets and *Uncaria tomentosa* relieves pain associated with chronic inflammatory skin diseases and dermatological procedures. **JEADV**, v. 34, p. 3–11, 2020.

REYGAERT, W. C. Green Tea Catechins : Their Use in Treating and Preventing Infectious Diseases. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 9, 2018.

RIZZI, R. et al. Mutagenic and antimutagenic activities of *Uncaria tomentosa* and its extracts. v. 38, p. 63–77, 1993.

ROCHA, T. S. et al. Structural characterization of peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch and the effect of annealing on its semicrystalline structure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 4208–4216, 2011.

RODRIGUES, L. O. et al. Effect of spray drying process parameters on *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC. dried extracts. **Revista Fitos**, v. 14, n. 4, p. 469–475, 2020.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. In: **pharmaceutical press**. [s.l: s.n.]. v. 6p. 917.

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 the drying operation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 79, n. 3, p. 160–168, 2001.

SANDOVAL-CHACON, M. et al. Antiinflammatory actions of cat ' s claw : the role of NF- $\kappa$ B. **Aliment Pharmacol Ther**, p. 1279–1289, 1998.

SANDOVAL, M. et al. CAT'S CLAW INHIBITS TNF $\alpha$  PRODUCTION AND SCAVENGES FREE RADICALS: ROLE IN CYTOPROTECTION. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 1, p. 71–78, 2000.

SANDOVAL, M. et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. **Phytomedicine**, v. 9, n. 4, p. 325–337, 2002.

SANTOS, T. P. R. et al. Effect of spray-drying and extrusion on physicochemical characteristics of sweet potato starch. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 376–383, 2019.

SHENG, Y. et al. Induction of apoptosis and inhibition of proliferation in human tumor cells treated with extracts of *Uncaria tomentosa*. **Anticancer Research**, v. 18, n. 5 A, p. 3363–3368, 1998.

SILVA, V. D. C. **DESENVOLVIMENTO DE CÁPSULAS DE MICROENCAPSULADOS DA PRÓPOLIS VERMELHA OBTIDOS POR SECAGEM EM SPRAY-DRYING**, 2016.

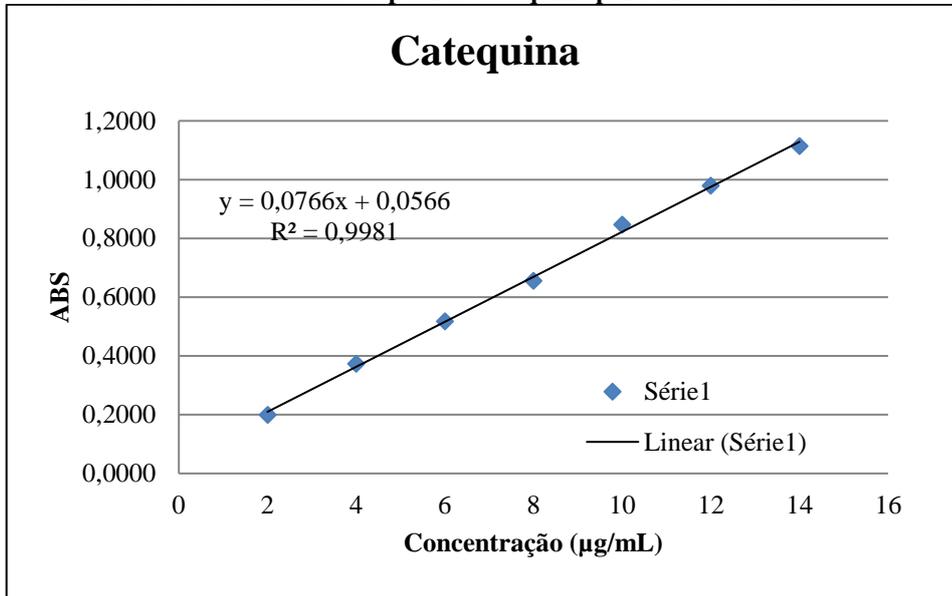
- SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: A practical perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 335–347, 2004.
- SNOW, A. D. et al. The Amazon rain forest plant *Uncaria tomentosa* (cat's claw) and its specific proanthocyanidin constituents are potent inhibitors and reducers of both brain plaques and tangles. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–28, 2019.
- SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40–54, 2015.
- STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalencia de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execucao de estudos. **Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo**, v. 31, n. 2, p. 63–70, 1995.
- 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**, v. 26, n. 6, p. 866–871, 2007.
- SZYMCZYK, K.; ZDZIENNICKA, A.; JAŃCZUK, B. Adsorption and Aggregation Properties of Some Polysorbates at Different Temperatures. **Journal of Solution Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 1824–1840, 2018.
- TANAKA, J. C. A. et al. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 834–837, 2005.
- TOLEDO HIJO, A. A. C. et al. Physical and thermal properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil microparticles. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 1, p. 1–10, 2015.
- VALDIVIEZO-CAMPOS, J. E. et al. *Uncaria tomentosa* (Willd.) dc. (rubiaceae): Especie nativa del Perú, medicamento herbolario reconocido por la medicina tradicional. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 19, 2020.
- VALENTE, L. M. M. Unha-de-gato [ *Uncaria tomentosa* ( Willd .) DC . e *Uncaria guianensis* ( Aubl .) Gmel .]: Um P anorama Sobre e Panorama Sobre seus Aspectos mais Relevantes Cat ' s claw [ *Uncaria tomentosa* ( Willd .) Relevant Aspects. 2006.
- VASCONCELOS, E. A. F. et al. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 243–249, 2005.
- WANDERLEY, A. B.; MOUSINHO, K. C.; ROCHA, T. J. M. MEDICINAL PLANTS COMMERCIALY AVAILABLE IN PUBLIC MARKETS OF AL-MACEIÓ FOR VERMINOSIS TREATMENT. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v. 3, n. 1, p. 922–934, 2018.
- WU, D. et al. d-Alanine:d-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, p. 421–426, 2008.
- YAN, H.; ZHENG BIAO, G. U. Morphology of modified starches prepared by different methods. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 767–772, 2010.
- ZARI, A. et al. Treatment with *Uncaria tomentosa* Promotes Apoptosis in B16-BL6 Mouse

Melanoma Cells and Inhibits the Growth of. **molecules**, v. 26, p. 22, 2021.

ZHANG, Q. et al. Medicinal uses , phytochemistry and pharmacology of the genus Uncaria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 48–80, 2015.

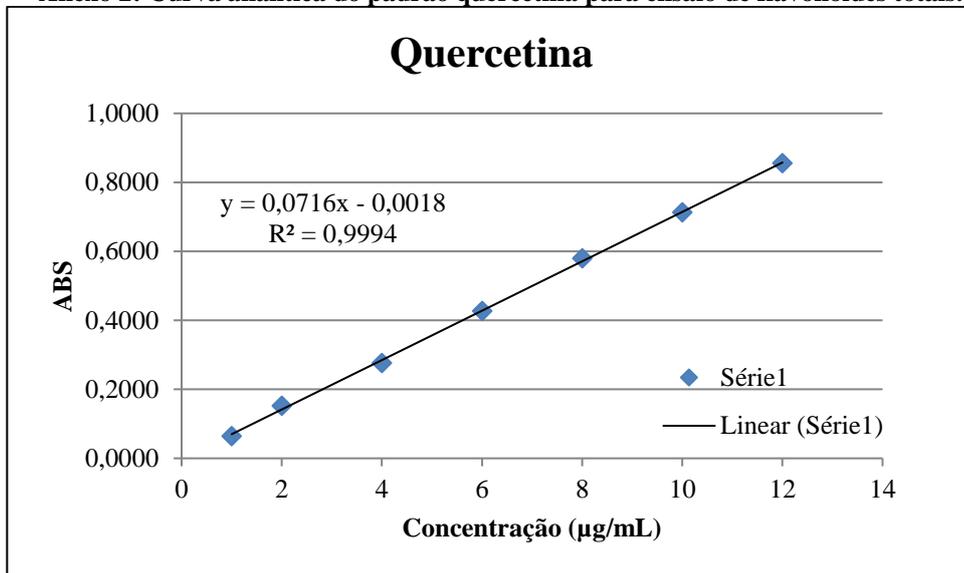
## ANEXOS

Anexo 1: Curva analítica do padrão catequina para ensaio de fenóis totais.



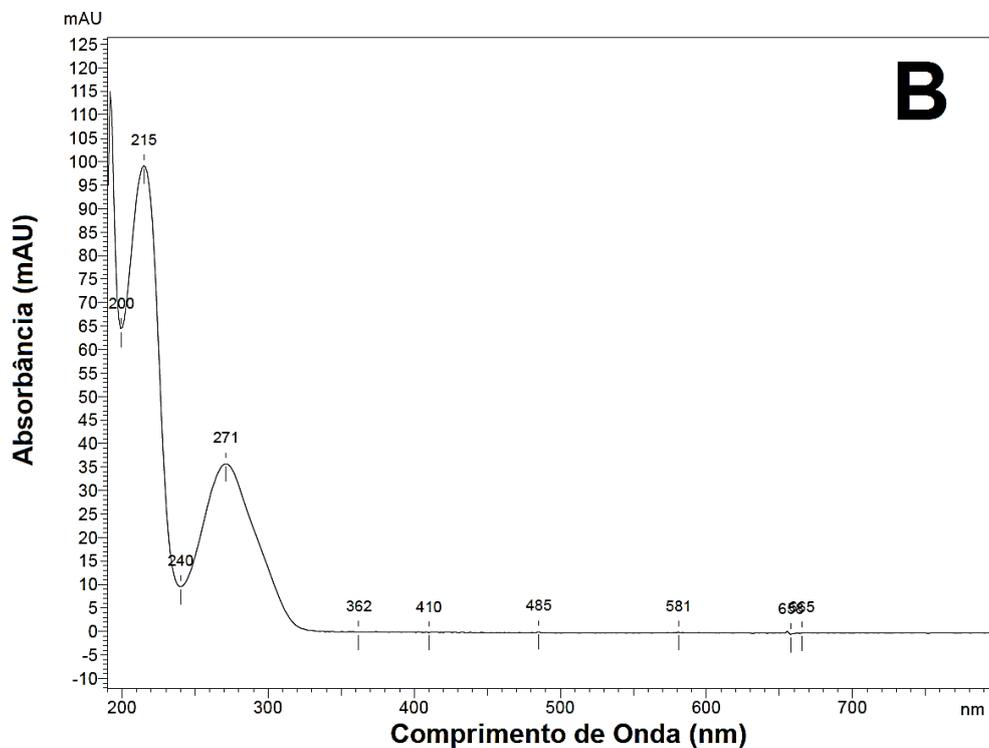
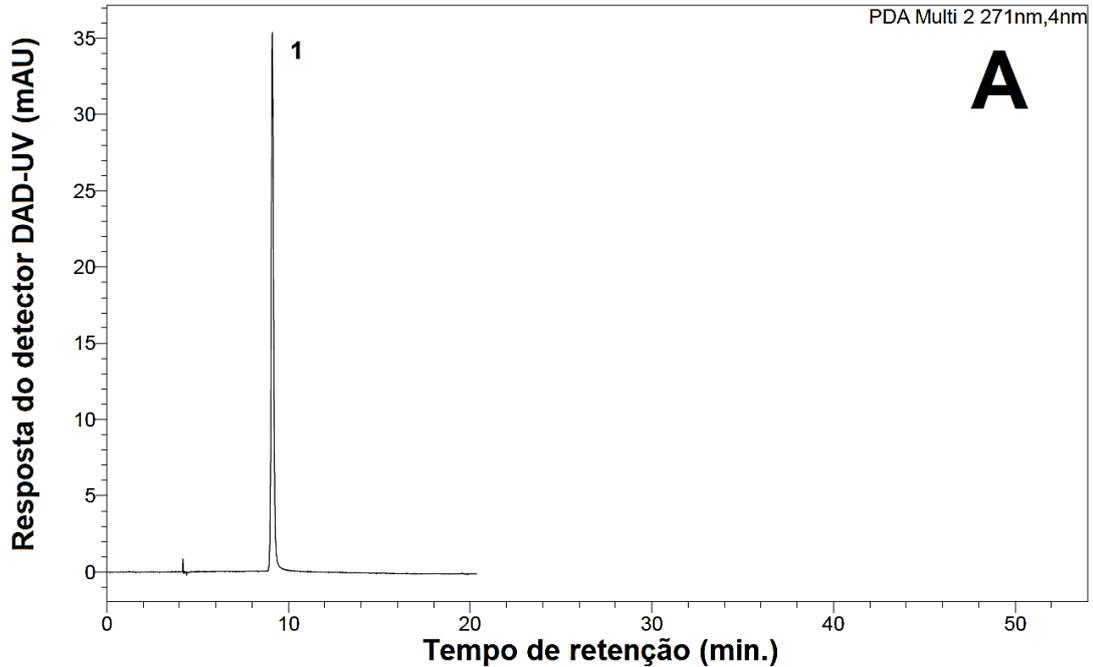
Fonte: Autor, 2021.

Anexo 2: Curva analítica do padrão quercetina para ensaio de flavonoides totais.



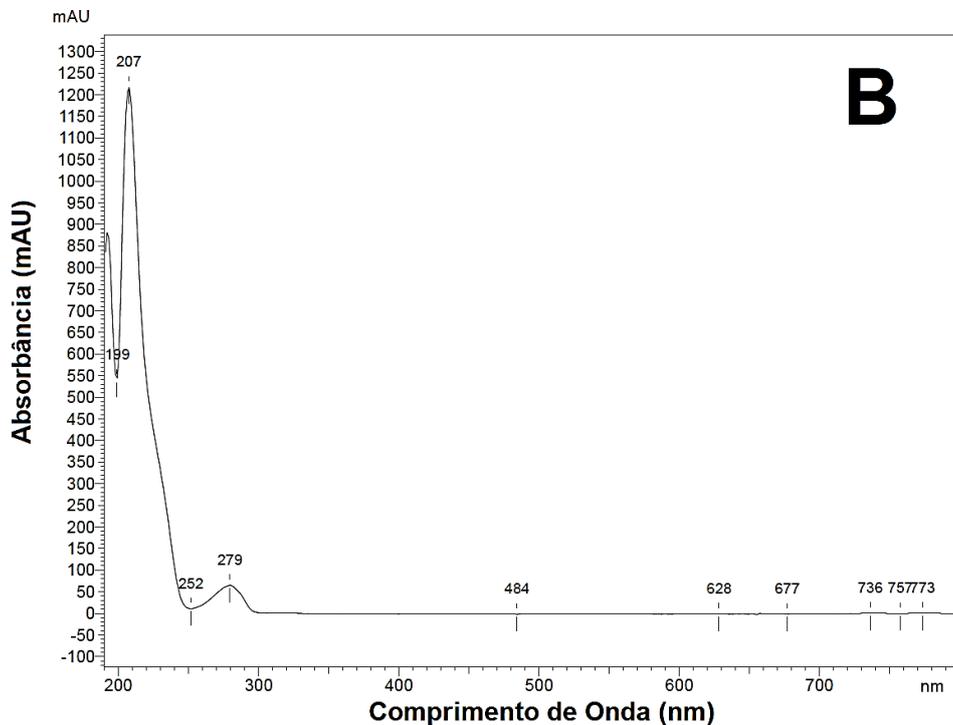
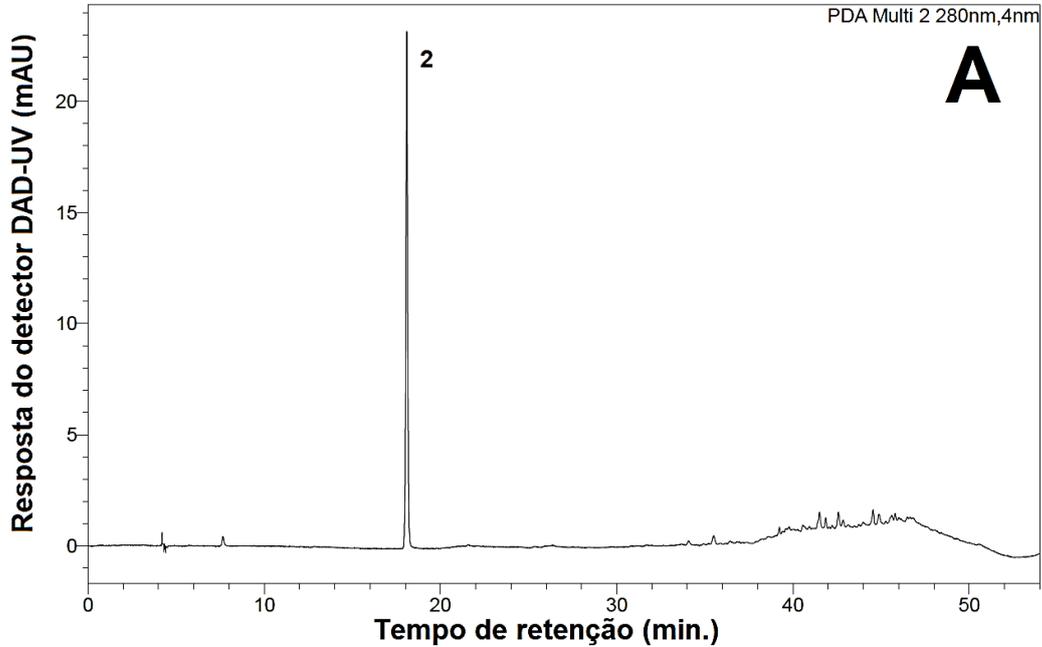
Fonte: Autor, 2021.

Anexo 3: Identificação de ácido gálico (1) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,05 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,05 min mostrando comprimento de onda máximo de 271 nm.



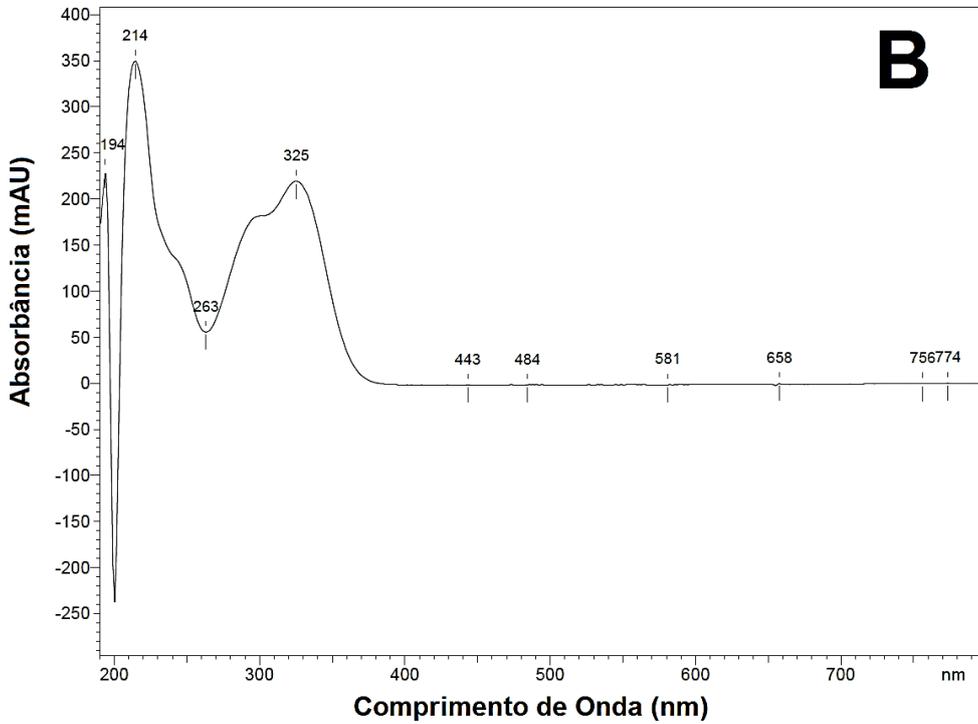
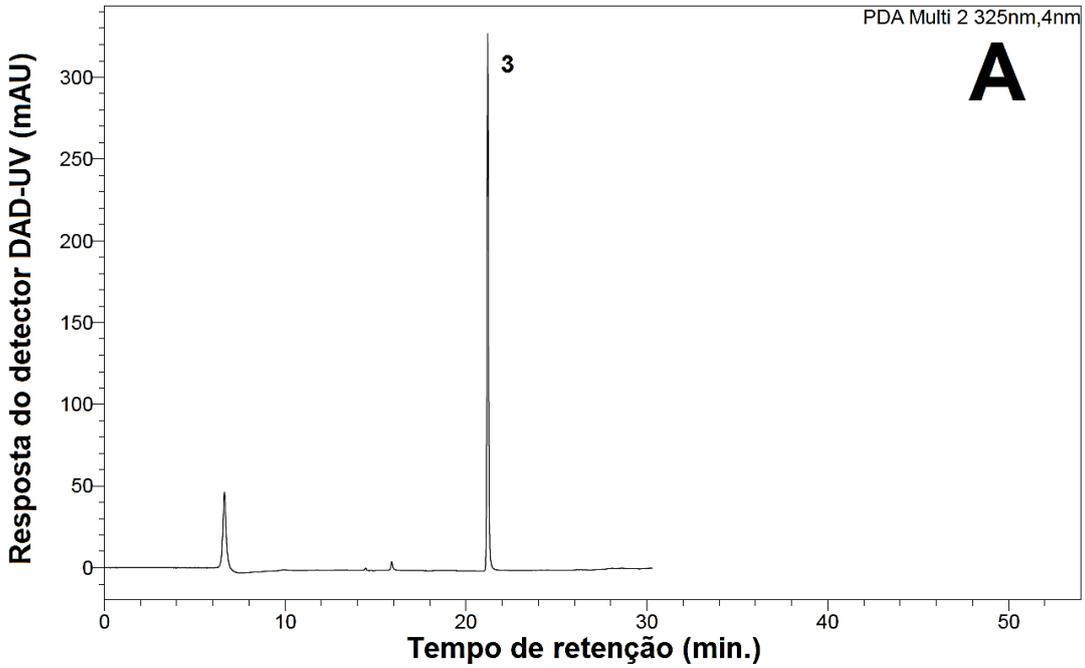
Fonte: Autor, 2021.

**Anexo 4: Identificação de catequina (2) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido gálico (1) no tempo de retenção de 19,15 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de catequina (2) no tempo de retenção de 19,15 min mostrando comprimento de onda máximo de 279 nm.**



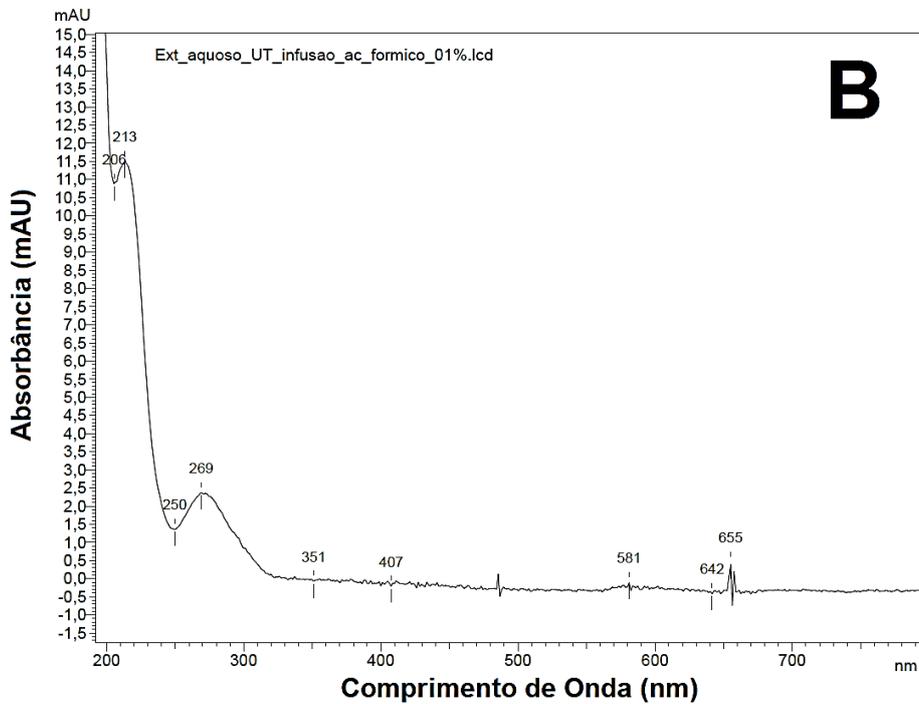
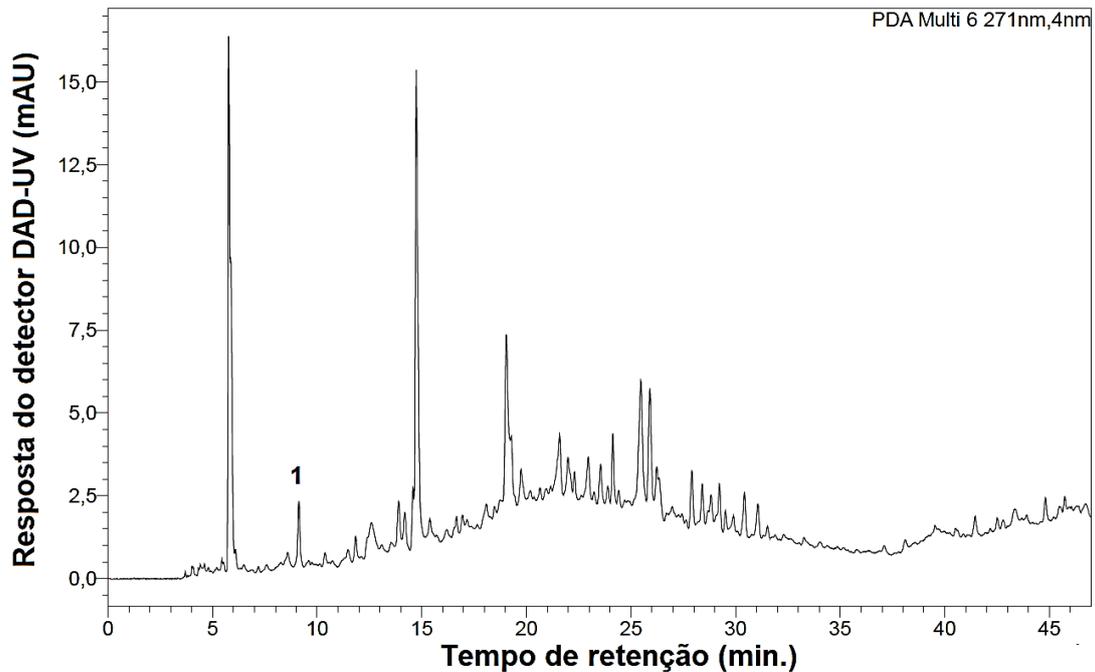
Fonte: Autor, 2021.

Anexo 5: Identificação de ácido caféico (3) usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 325 nm. (A) Cromatograma do padrão analítico de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,95 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do padrão analítico de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,95 min mostrando comprimento de onda máximo de 325 nm.



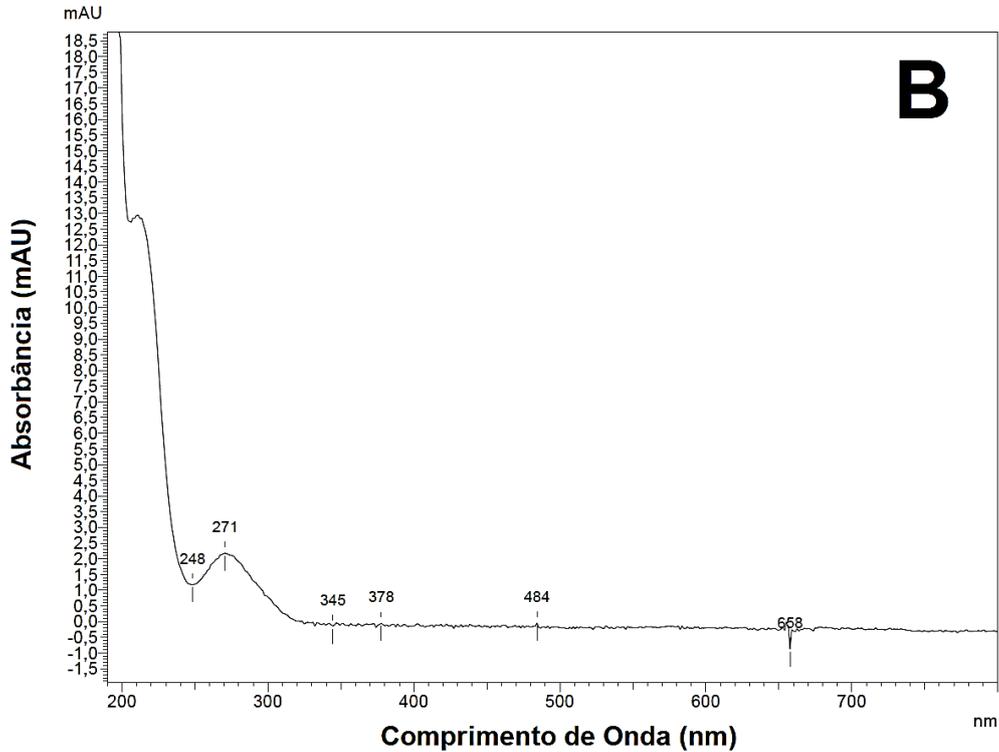
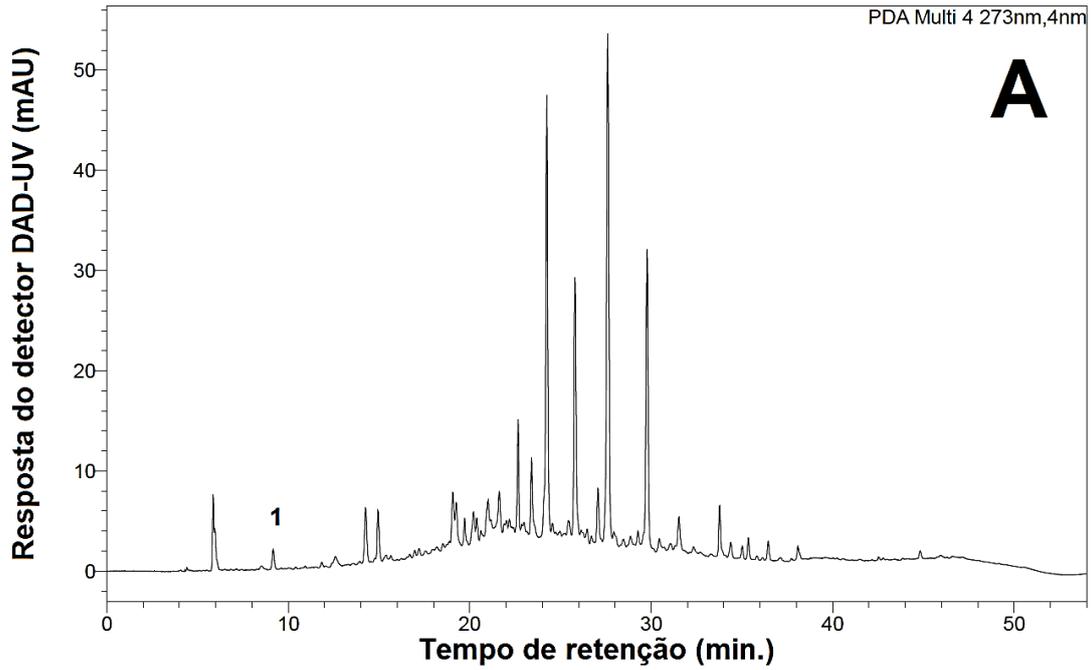
Fonte: Autor, 2021.

**Anexo 6: Identificação de ácido gálico (1) no extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* com identificação ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min mostrando comprimento de onda máximo de 269nm semelhante ao padrão analítico de ácido gálico 271nm.**

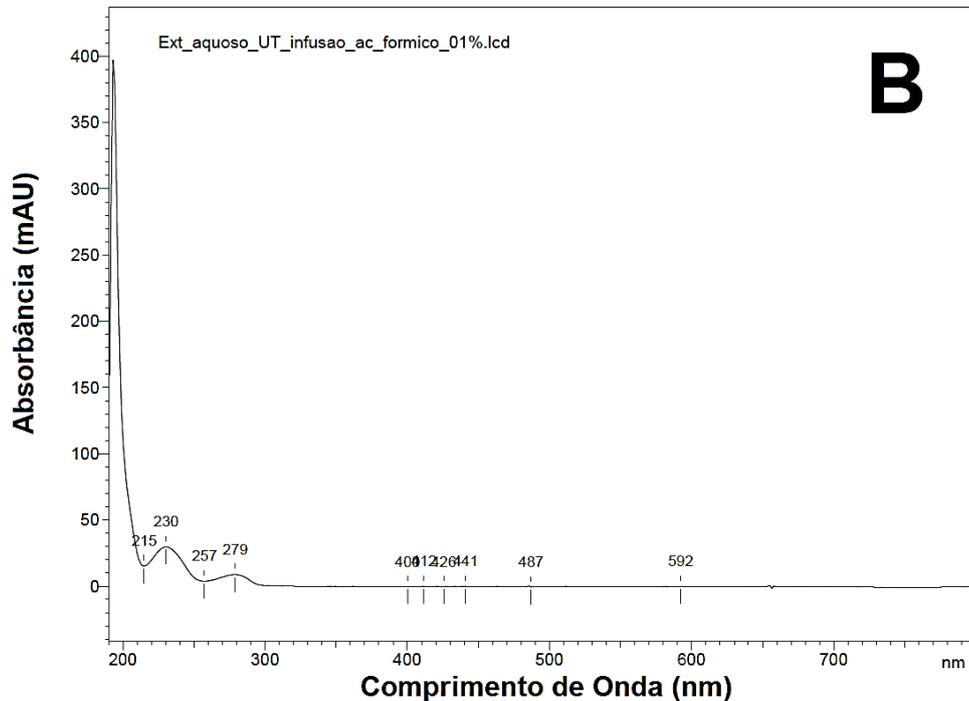
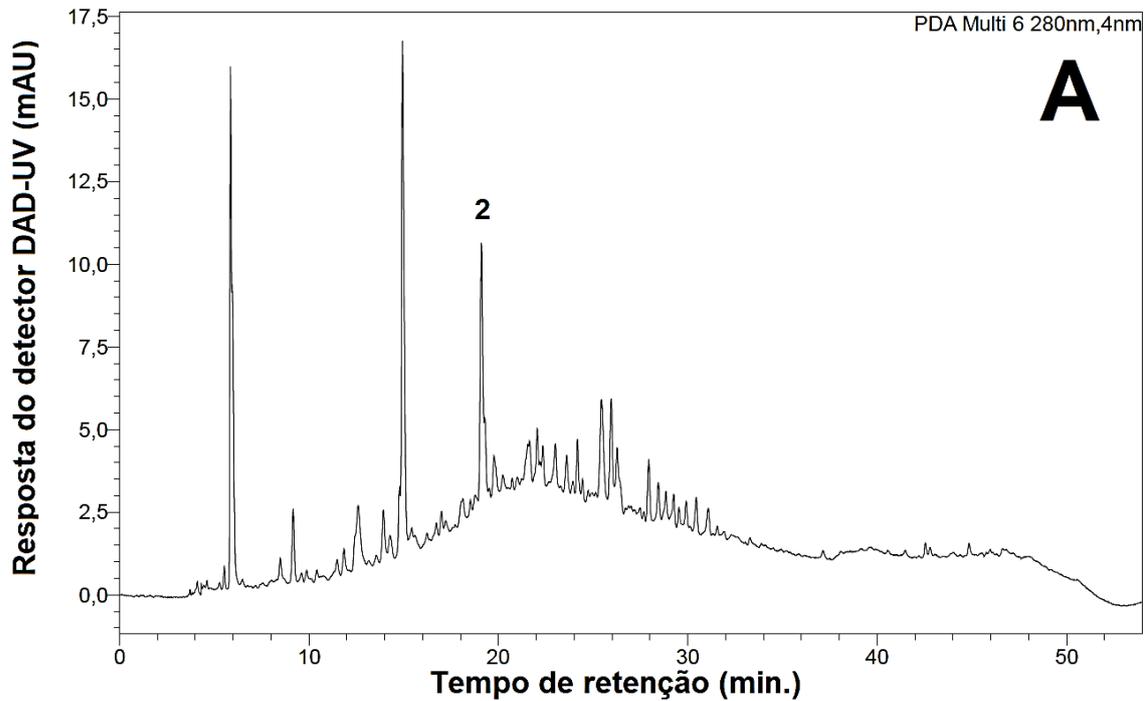


Fonte: Autor, 2021.

**Anexo 7: Identificação de ácido gálico (1) na microcápsula de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 271nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de *Uncaria tomentosa* com identificação ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido gálico (1) no tempo de retenção de 9,1 min mostrando comprimento de onda máximo de 271nm semelhante ao padrão analítico de ácido gálico.**

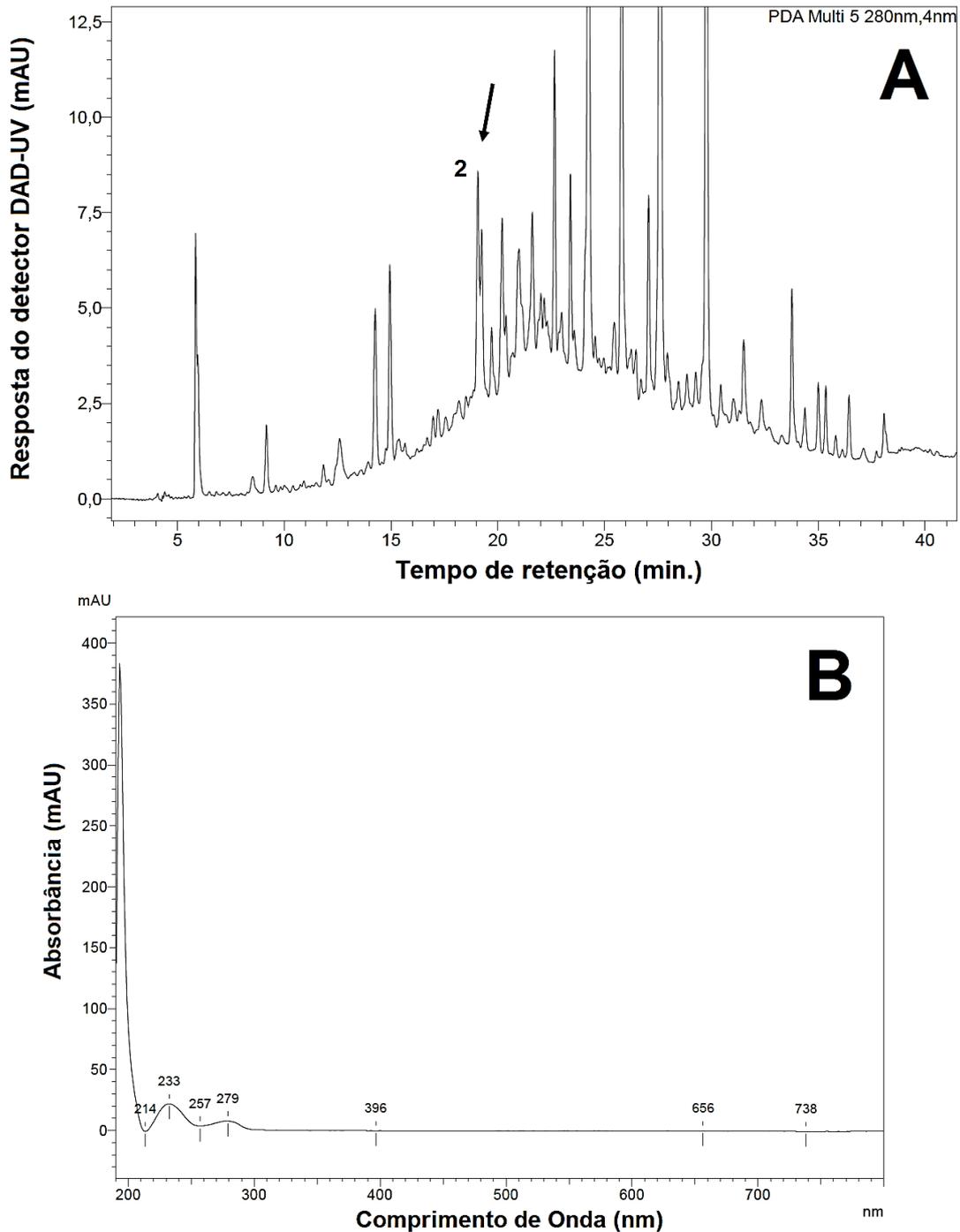


**Anexo 8: Identificação de catequina (2) no Extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* com identificação de catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico da catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min mostrando comprimento de onda máximo de 279nm semelhante ao padrão analítico de catequina.**

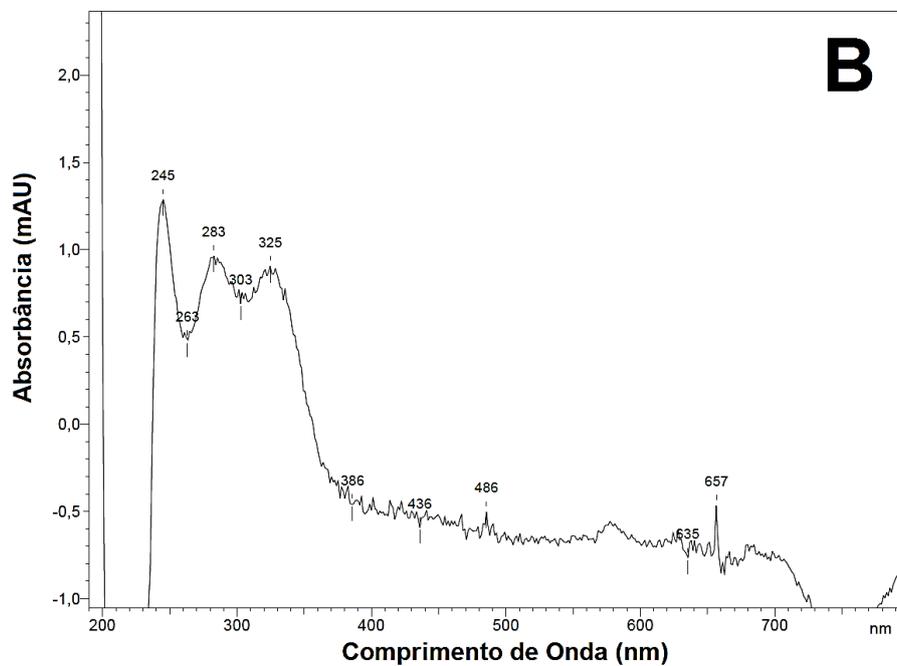
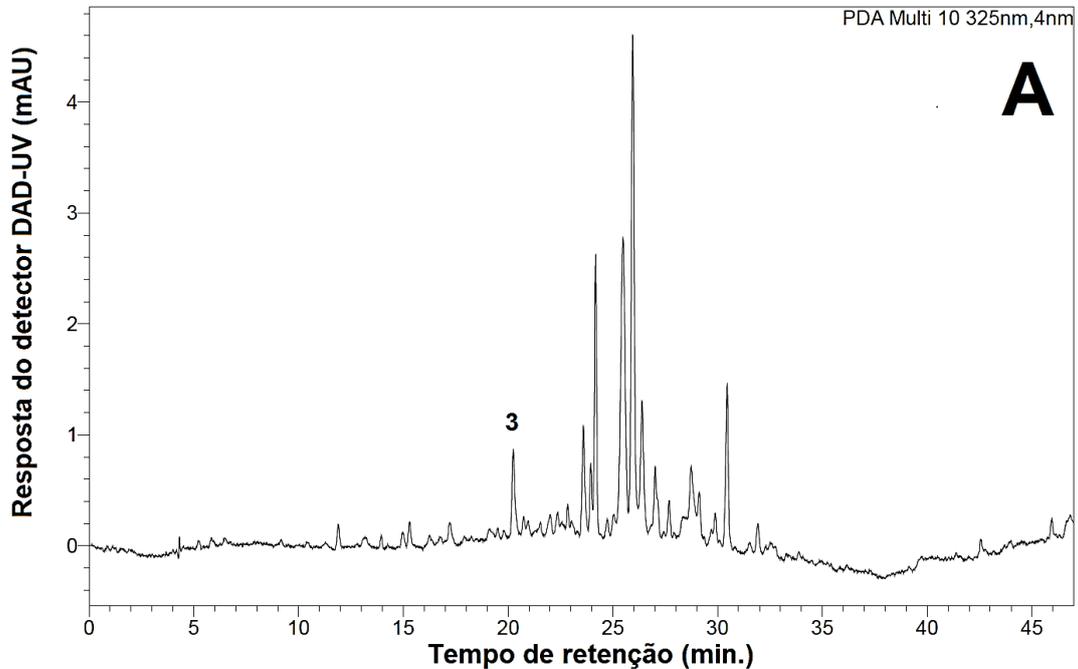


Fonte: Autor, 2021.

**Anexo 9: Identificação de catequina (2) na microcápsula de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 280nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de *Uncaria tomentosa* com identificação de catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico da catequina (2) no tempo de retenção de 19,0 min mostrando comprimento de onda máximo de 279nm semelhante ao padrão analítico de catequina.**

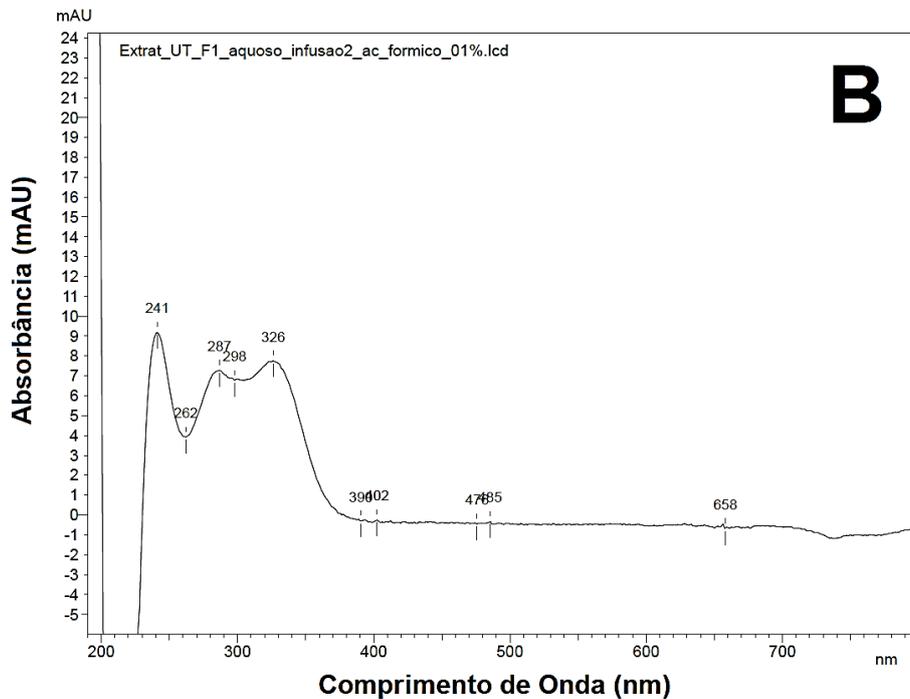
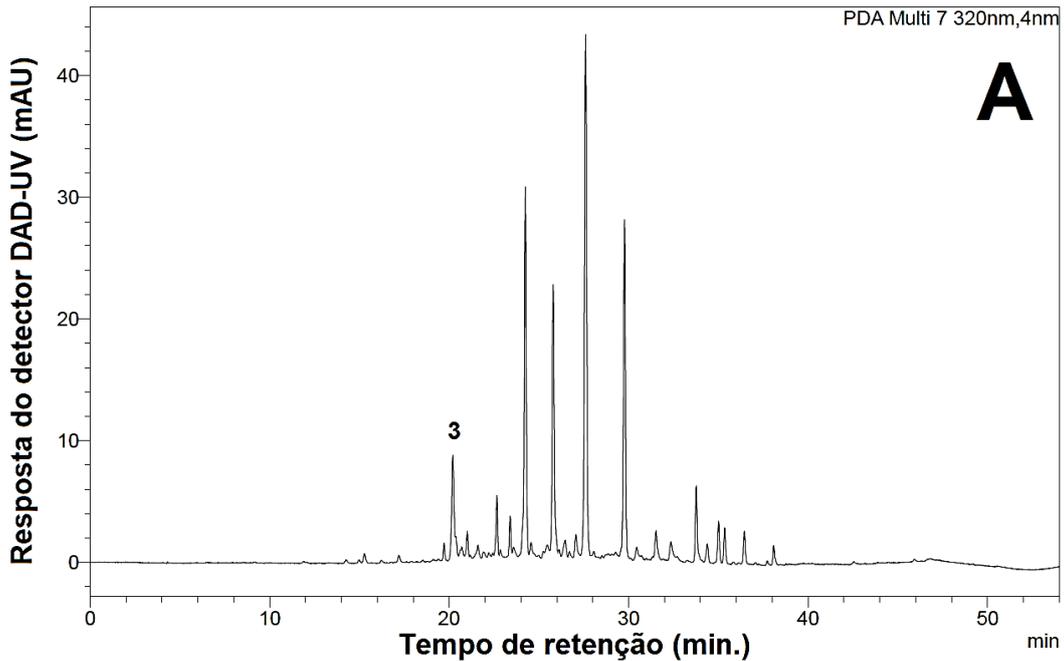


**Anexo 10: Identificação de ácido caféico (3) no extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 325nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão de *Uncaria tomentosa* com identificação de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min mostrando comprimento de onda máximo de 325nm semelhante ao padrão analítico de ácido caféico.**



Fonte: Autor, 2021.

**Anexo 11: Identificação de ácido caféico (3) na microcápsula de *Uncaria tomentosa* usando Cromatografia líquida de ultra-eficiência com detector de Arranjos de Diodo e espectro UV-VIS (UFLC-DAD-UV-Vis) no comprimento de onda 320nm. (A) Cromatograma do extrato aquoso obtido por infusão da microcápsula de *Uncaria tomentosa* com identificação de ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min. (B) Espectro de varredura UV-Vis usando detector DAD-UV-Vis do pico cromatográfico do ácido caféico (3) no tempo de retenção de 20,35 min mostrando comprimento de onda máximo de 326nm semelhante ao padrão analítico de ácido caféico.**



Fonte: Autor, 2021.

**Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**  
**Preparation and characterization of microcapsules loaded with polyphenols of the**  
**Uncaria tomentosa extract using spray-dryer technique**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Preparation and characterization of microcapsules loaded with polyphenols of the Uncaria tomentosa extract using spray-dryer technique
<b>Article Type:</b>	Research Paper
<b>Corresponding Author:</b>	Ticiano Gomes do Nascimento, P.h.D. Universidade Federal de Alagoas Maceió, Alagoas BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidade Federal de Alagoas
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Ticiano Gomes do Nascimento, P.h.D.
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Ticiano Gomes do Nascimento, P.h.D. Arthur Luy Tavares Ferreira Borges, Master in Pharmaceutical Sciences Lara Mendes de Almeida, pHD Éurica Adélia Nogueira Ribeiro, pHD Fernanda Geny Calheiros Silva, Master in Nutrition Valdemir da Costa Silva, pHD Student Ana Paula do Nascimento Prata, pHD Irialdo Diniz Basílio-Júnior, pHD Marília Oliveira Fonseca Goulart, pHD Demetrius Peireira Morilla, pHD Student Johnnatan Duarte de Freitas, pHD Cícero Flávio Soares Aragão, pHD
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	CNPq (446630/2014-4) Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento FAPEAL (600 30 000431/2017) Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento
<b>Abstract:</b>	Uncaria tomentosa (UT) has been widely used in traditional medicine, where the decoctions of its bark are used for various treatments, mainly due to its anti-inflammatory activity. This work developed and characterized spray-dryer microcapsules loaded with Uncaria tomentosa extract. The UT bark powder was subjected to extraction by maceration using hydro-ethanol solution. The Uncaria tomentosa extract was used to prepare the Spray-Dryer microcapsules UT-F1 composition using pharmaceutical adjuvants. The UT extract and microcapsules UT-F1 were submitted to chemical and physicochemical characterization tests. The Phytochemical tests revealed presence of alkaloids and phenolic compounds like as catechin. The SEM, FTIR and thermal analysis demonstrated microcapsules UT-F1 physicochemical stable. The Uncaria tomentosa extract and microcapsules showed high total phenols content (28.48% ± 0.76 and 36.34% ± 0.22), catechin content

	<p>(47.95% ± 4.90 and 51.15% ± 4.20) and antioxidant activity with IC<sub>50</sub> values of 5.80 and 5.03 µg.cm<sup>-3</sup>, respectively. The SEM, thermal analysis and dissolution tests showed the technological influence of spray-dried starch combined with water-poorly soluble characteristic of the UT extract in the <i>in vitro</i> release (52.9%) of polyphenolic compounds from <i>Uncaria tomentosa</i> microcapsules. The presence of desintegrants and natural surfactant in the UT microcapsules has improved the release of polyphenols (catechin) from solid herbal composition reaching a release 80% of catechin after 240 min.</p>
Suggested Reviewers:	<p>Ana Claudia Dantas Medeiros, PhD  Researcher, State University of Paraiba: Universidade Estadual da Paraiba  anacaludia@uepb.edu.br  Specialist in Herbal medicine and Thermal Analysis</p> <hr/> <p>Ana Paula Barreto Gomes, PhD  Researcher, Federal University of Rio Grande do Norte: Universidade Federal do Rio Grande do Norte  ana.pbgomes@gmail.com  Specialist in Pharmaceuticals and Thermal Analysis</p> <hr/> <p>Lidiane P Correia, PhD  PHD researcher, State University of Paraiba: Universidade Estadual da Paraiba  li.correia@gmail.com  Thermal Analysis and Pharmaceutical specialist</p> <hr/> <p>Marta Maria Conceição, PhD  Researcher, Paraiba Federal University: Universidade Federal da Paraiba  martamaria8@yahoo.com  Especialist in Thermal Analysis in Foods, Biofuels and Medicines</p> <hr/> <p>Roseane Maria Ribeiro Costa, PhD  Researcher, Federal University of Para: Universidade Federal do Para  mrc@ufpa.br  Especialist in Pharmaceutical microcapsules and nanocapsules</p> <hr/> <p>Jose Otavio Carrera Silva Júnior, PhD  Researcher, Federal University of Para: Universidade Federal do Para  carrera@ufpa.br  Especialist in Pharmaceuticals excipients and herbal medicines</p>

04/11/2021 870210101527  
11:58

29409161940107244

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2021 022111 9

**Dados do Depositante (71)**

---

Depositante 1 de 2

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 24464109000148

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

**Cidade:** Maceió

**Estado:** AL

**CEP:** 57072-970

**País:** Brasil

**Telefone:** 82-3214-1064

**Fax:** 82-3214-1035

**Email:** nit@propep.ufal.br

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 04/11/2021 às 11:58, Petição 870210101527

**Depositante 2 de 2**

**Nome ou Razão Social:** INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALAGOAS  
**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica  
**CPF/CNPJ:** 10825373000155  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa  
**Endereço:** Rua Doutor Odilon Vasconcelos, 103, Jatiúca  
**Cidade:** Maceió  
**Estado:** AL  
**CEP:** 57035-660  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (82) 319 41174  
**Fax:**  
**Email:** nit@ifal.edu.br

**PETICIONAMENTO ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 04/11/2021 às 11:58, Petição 870210101527

Petição 870210101527, de 04/11/2021, pág. 2/72

**Dados do Pedido**

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** Composição de microcápsulas de *Uncaria tomentosa*, Processos de obtenção e caracterização de microcápsulas de *Uncaria tomentosa* e Usos da mesma

**Resumo:** A presente invenção pertence ao campo de preparação de produtos fitoterápicos para a saúde, mais especificamente, desenvolvimento de composições farmacêuticas contendo microcápsulas spray-dryer de *Uncaria tomentosa* (MUT). A invenção diz respeito ao processo de obtenção de microcápsulas carregadas com extrato hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa* e processo de caracterização das mesmas para uso na área de medicamentos fitoterápicos. O extrato hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa* e as MUT apresentaram alto teor de fenóis totais ( $28.48\% \pm 0.76$  and  $36.34\% \pm 0.22$ ), catequinas totais ( $47.95\% \pm 4.90$  and  $51.15\% \pm 4.20$ ), e atividade antioxidante com IC50 de 5.80 and 5.03  $\mu\text{g/mL}$ . O extrato do hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa* apresentou atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas para tratamento de infecções bacteriana. As microcápsulas spray-dryer carregadas com extrato de hidroalcoólico de *Uncaria tomentosa* foram utilizadas para preparação de cápsulas farmacêuticas com perfil de dissolução definido. As MUT apresentaram perfil de dissolução com liberação do teor de catequinas entre 52 a 79% durante período de 240 minutos. A presença de adjuvantes farmacêuticos na composição auxiliou no aumento da liberação dos compostos fenólicos das composições fitoterápicos de *Uncaria tomentosa*.

**Figura a publicar:** 1

**PETICIONAMENTO ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 04/11/2021 às 11:58, Petição 870210101527

Petição 870210101527, de 04/11/2021, pág. 3/72

**Dados do Inventor (72)**

---

**Inventor 1 de 19****Nome:** TICIANO GOMES DO NASCIMENTO**CPF:** 79772650444**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** R. Hugo Corrêa Paes, 441 Ed. Singeleza apt 204**Cidade:** Maceió**Estado:** AL**CEP:** 57052-827**País:** BRASIL**Telefone:** (82) 998 440617**Fax:****Email:** ticianogn@yahoo.com.br**Inventor 2 de 19****Nome:** GUSTAVO ANTONIO LIMA ANTUNES**CPF:** 67964753487**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente**Endereço:** R. JORNALISTA AUGUSTO VAZ FILHO, 888**Cidade:** Maceió**Estado:** AL**CEP:** 57057-150**País:** BRASIL**Telefone:** (82) 333 81276**Fax:****Email:** gustavo@goldcafes.com.br**Inventor 3 de 19****PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 04/11/2021 às 11:58, Petição 870210101527

**Nome:** ARTHUR LUY TAVARES FERREIRA BORGES

**CPF:** 07475880400

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Antônio Luiz dos Santos, Nº 112

**Cidade:** Maceió

**Estado:** AL

**CEP:** 57230-000

**País:** BRASIL

**Telefone:** (82) 995 78764

**Fax:**

**Email:** arthurlfb@gmail.com

**Inventor 4 de 19**

**Nome:** VALDEMIR DA COSTA SILVA

**CPF:** 07724874484

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua sergipe, nº 8

**Cidade:** Maceió

**Estado:** AL

**CEP:** 57045-855

**País:** BRASIL

**Telefone:** (82) 980 18794

**Fax:**

**Email:** valdemir14@gmail.com

**Inventor 5 de 19**

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 04/11/2021 às 11:58. Petição 870210101527