



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



Erlan Pereira de Azevedo

**Atomização por Spray Dryer dos extratos de *Aspidosperma pyrifolium* e
*Aspidosperma macrocarpum***

Maceió, AL

2013

Erlan Pereira de Azevedo

**Atomização por Spray Dryer dos extratos de *Aspidosperma pyrifolium* e
*Aspidosperma macrocarpum***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof^o Dr. João Xavier de Araújo Junior

Co-orientador: Prof^o Dr. Irinaldo Diniz Basílio Junior

Maceió, AL

2013

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

A994o Azevedo, Erlan Pereira de.

Atomização por Spray Dryer dos extratos de *Aspidosperma pyrifolium* e
Aspidosperma macrocarpum / Erlan Pereira de Azevedo. – 2013.
89 f. : il.

Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.

Co-orientador: Irinaldo Diniz Basílio Júnior.

Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal
de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2013.

Bibliografia: f. 78-89.

1. *Aspidosperma pyrifolium* – Extratos. 2. *Aspidosperma macrocarpum* –
Extratos. 3. Spray dryer. 4. Extratos vegetais – Atividade antioxidante. I.
Título.

CDU: 543.645.9:615.322



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone/Fax: (82) 3214-1144
email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Erlan Pereira de Azevedo**, intitulada: “**Atomização por Spray Dryer dos Extratos de *Aspidosperma pyrifolium* e *Aspidosperma macrocarpum***”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 28 de março de 2013, às 09:00, na Sala de Aulas do PPGQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

João Xavier de Azevedo
Orientador - (ESEN FAR/PPGQB/UFAL)

Rusiene Monteiro de Almeida
PPGQB/IQB/UFAL

Camila Braga Dornelas
ESEN FAR/UFAL

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, aos meus pais (in memoriam) e especialmente à minha irmã e seu esposo, sem eles nada disso seria possível. Minha gratidão por tudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

sempre presente em minha vida, renovando minhas forças e me guiando pelos Seus caminhos.

Aos meus pais,

que apesar de não estarem mais comigo em corpo, sempre se fizeram presentes nos valores que carrego.

À minha irmã, Katiana,

por mais que eu tentasse agradecer com palavras, não seria possível expor minha gratidão por tudo que você já fez em minha vida.

Ao meu cunhado, Cláudio,

por toda paciência, todo cuidado, toda atenção.

Ao Sr. Manuel e Dona Meilda,

não poderia ter chegado até aqui sem o apoio de vocês.

Aos meus orientadores, Profº João Xavier de Araújo Jr. e Profº Irinaldo Basilio,

Pela confiança e apoio depositados durante a realização desse trabalho.

Ao professor Luciano Grilo por toda ajuda e pelo suporte de seu laboratório.

À professora Rusiene, por toda cooperação e sugestões na elaboração do trabalho.

*Aos meus colegas do PPGQB, Diego, Leo, Nereu, Gabby, Lorena, Lusitaneu,
pelas manhãs, tardes e muitas noites de companheirismo nas aulas.*

*Aos amigos do LabtCon, Janaína, Camilla, Anderson, Rafael, Danilo, Val, Tamires,
Daniel, Thomás, Josiel, Tásssia,
meus experimentos foram importantes, mas o que levo de mais valioso é a memória
de tantos momentos bons com vocês.*

*Ao meu colega de mestrado, Vanderson,
por todos ensinamentos, dicas e amizade durante esse trabalho.*

*Ao Laboratório Industrial Farmacêutico de Alagoas,
pela parceria e disponibilização de equipamentos e funcionários.*

*Ao CNPQ e CAPES,
pelo auxílio financeiro em forma de bolsa de estudos.*

*À Universidade Federal de Alagoas e ao Programa de Pós Graduação em Química e
Biotecnologia, pela oportunidade de estudo e aprendizado.*

*À todos aqueles, que de alguma forma contribuíram para a realização deste
trabalho.*

RESUMO

As espécies *Aspidosperma pyrifolium* Mart., conhecida popularmente como pereiro preto ou pereiro do sertão e *Aspidosperma macrocarpum* Mart, conhecida popularmente como guatambú, peroba-cetin, pertencem à família Apocynaceae. Em estudos científicos foi demonstrado, dentre outras atividades, que extratos de *A. pyrifolium* apresentam atividade contra a bactéria *Bacillus subtilis*, além de atividade antiplasmodial decorrente de alcaloides isolados. Enquanto que extratos de *A. macrocarpum* apresentaram atividade antimalárica. Porém na literatura utilizada não foram verificados registros de trabalhos abordando o desenvolvimento de extratos secos destas espécies. As folhas de *A. macrocarpum* e a casca de caule de *A. pyrifolium* coletadas, submetidas ao processo de secagem em estufa e após isso trituradas. Por processo de percolação, foi obtido o extrato hidroalcoólico, utilizando etanol 90% como solvente. O extrato bruto foi submetido ao processo de secagem em *spray dryer*. O dióxido de silício coloidal foi utilizado como adjuvante neste processo em uma concentração de 10%, obtendo como resultado um rendimento de 48,6% e 77,6% para *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*, respectivamente. A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada com o extrato bruto e com o extrato atomizado obtendo-se o mesmo perfil espectroscópico foi encontrado nas duas formas analisadas. Através da análise termogravimétrica demonstrou-se a estabilidade térmica das amostras, bem como o baixo teor de umidade, abaixo de 10%, confirmada pelo método de Karl Fisher e perda por dessecação. As microfotografias obtidas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostraram que as partículas de ambas as espécies obtidas após a secagem apresentam forma semi-esférica e não demonstraram a presença de fraturas em sua superfície. Além disso, tanto o extrato bruto como o extrato atomizado demonstraram atividade antioxidante. Dessa forma, a produção de extratos secos através da secagem por *spray dryer*, tendo como material de partida os extratos de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*, mostrou-se uma alternativa promissora para a obtenção do pó como produto intermediário.

Palavras-chave: *Aspidosperma pyrifolium*. *Aspidosperma macrocarpum*. *Spray dryer*. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Plants species *Aspidosperma pyrifolium* Mart., popularly known as “pereiro preto” or “pereiro do sertão” and *Aspidosperma macrocarpum* Mart., known as “guatambu”, “peroba-cetim”, both belonging to Apocynaceae family. Scientific studies demonstrates that, through another activities, *A. pyrifolium*'s extracts showed activity against *Bacillus subtilis*, besides antiplasmodial activity due the isolated alkaloids. Whilst extracts of *A. macrocarpum* showed antimalarial activity. However, in reference literature, was not found any data about the development of dry extracts from these plants species. The *A. macrocarpum* leaves and *A. pyrifolia* bark collected, submitted to a drying process in greenhouse and crushed. For percolation process, a hydroalcoholic extract was obtained using 90% ethanol as solvent. The crude extract was subjected to the process of spray dryer. Colloidal silicon dioxide was used as adjuvant in process a concentration of 10%, obtaining a yield of 48.6% and 77.6% for *A. pyrifolium* and *A. macrocarpum* respectively. The infrared spectroscopy was performed with the crude extract and extract atomized obtaining the same spectroscopic profile was found in two forms analyzed. Through thermogravimetric analysis has showed that the thermal stability of the samples, as well the low moisture content below 10%, as confirmed by Karl Fischer method and loss on drying. Photomicrographs obtained by Scanning Electron Microscopy (SEM) showed that the particles of both species obtained after drying feature semi-spherical shape and did not show the presence of fractures on its surface. Moreover, both the crude extract as atomized demonstrated antioxidant activity. Thus, the production of extracts dried by spray drying, using as starting material the extracts of *A. pyrifolium* and *A. macrocarpum* shown to be a promising alternative for obtaining the powder as an intermediate.

Keywords: *Aspidosperma pyrifolium*. *Aspidosperma macrocarpum*. Spray dryer. Antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Aspidosperma pyrifolium</i> : (A) Árvore verde, (B) Árvore seca, (C) flores, (D) Fruto.....	30
Figura 2 - <i>Aspidosperma macrocarpum</i> . (A) Árvore verde, (B) Flores, (C) caule, (D) frutos.	34
Figura 3 - Esquema de um equipamento de <i>spray dryer</i> com atomizador pneumático. (1) Bico pneumático. (2) Aquecedor elétrico. (3) Câmara de secagem. (4) Ciclone e coletor. (5) Filtro. (6) Aspirador para geração do fluxo..	39
Figura 4 - Comparação entre os espectros do extrato bruto (em preto) e do extrato atomizado (em vermelho) de <i>A. macrocarpum</i>	57
Figura 5 - Comparação entre os espectros do extrato bruto (em preto) e do extrato atomizado (em vermelho) de <i>A. pyrifolium</i>	58
Figura 6 - Curvas termogravimétricas dos extratos bruto (preto pontilhado) e atomizado (vermelho) e suas derivadas em destaque no canto superior de <i>A. macrocarpum</i>	61
Figura 7 - Curvas termogravimétricas dos extratos bruto (preto pontilhado) e atomizado (vermelho) e suas derivadas em destaque no canto superior de <i>A. pyrifolium</i>	63
Figura 8 - Determinação da distribuição granulométrica do extrato atomizado de <i>A. macrocarpum</i>	68
Figura 9 - Determinação da distribuição granulométrica do extrato atomizado de <i>A. pyrifolium</i>	68
Figura 10 - Características tecnológicas do extrato atomizado de <i>A. pyrifolium</i>	71
Figura 11 - Características tecnológicas do extrato atomizado de <i>A. macrocarpum</i>	71

Figura 12 - Fotomicrografias do produto seco <i>A. macrocarpum</i> (X500; X1500; X2000; X3500).....	73
Figura 13 - Fotomicrografia do produto seco de <i>A. pyriformium</i> (X500; X1500; X2000; X5000).....	74
Figura 14 - Percentagem de inibição do radical ABTS para <i>A. pyriformium</i> e <i>A. macrocarpum</i>	75

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Estruturas dos Alcaloides isolados de *Aspidosperma pyrifolium*.31
- Quadro 2** - Estruturas dos Alcaloides isolados de *Aspidosperma macrocarpum*.34
- Quadro 3** - Colorações indicativas para a presença de antocianinas e antocianidinas, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flananonóis..44
- Quadro 4** - Colorações indicativas para a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.....44
- Quadro 5** - Prospecção fitoquímica do extrato da casca do caule de *A. pyrifolium*. .52
- Quadro 6** - Prospecção fitoquímica do extrato das folhas de *A. macrocarpum*.53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Classificação taxonômica das espécies do gênero *Aspidosperma*.....26
- Tabela 2** - Rendimento do processo de secagem do extrato de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*.57
- Tabela 3** - Etapas de perda de massa obtidas da curva termogravimétrica dos extratos bruto e atomizado de *A. macrocarpum*.....64
- Tabela 4** - Etapas de perda de massa obtidas da curva termogravimétrica do extrato atomizado de *A. pyrifolium*.66
- Tabela 5** - Valores de pH obtidos para soluções dos extratos atomizado de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*.67
- Tabela 6** - Perda por dessecação do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*.68
- Tabela 7** - Teor de cinzas do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*.68
- Tabela 8** - Características tecnológicas dos produtos secos por Spray drying..72
- Tabela 9** - Comparação dos dados de atividade antioxidante (em mmol de eq. Trolox/g de amostra) com a literatura.....78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A. - *Aspidosperma*

ABTS – 2,2'-Azonobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

AM – *Aspidosperma macrocarpum*

AP - *Aspidosperma pyriformium*

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

EEB – Extrato Etanólico Bruto

EtOH – Etanol

FH – Fator de Hausner

FT-IR – Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform InfraRed*)

IC – Índice de Carr

ID – Índice de Densificação

IQB – Instituto de Química e Biotecnologia

LabTCoM – Laboratório de Tecnologia e Controle de Medicamentos

LPqRN – Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais

MeOH – Metanol

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

TG – Termogravimetria

UV – Ultravioleta

WHO – Organização Mundial da Saúde (do inglês, *World Health Organization*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Plantas Medicinais e Fitoterápicos	19
2.2 Principais Técnicas Utilizadas na Avaliação e Caracterização de Produtos Naturais.	21
2.2.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	21
2.2.2 Análise térmica	22
2.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	24
2.3 O Gênero <i>Aspidosperma</i> (Apocynaceae)	25
2.3.1 Atividades biológicas	27
2.4 <i>Aspidosperma pyrifolium</i>	29
2.5 <i>Aspidosperma macrocarpum</i>	33
2.6 Secagem em Spray Dryer	35
2.7 Atividade Antioxidante	39
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo Geral.....	41
3.2 Objetivos Específicos	41
4 METODOLOGIA	42
4.1 Solventes, Materiais e Equipamentos.....	42
4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal	42
4.3 Obtenção do Extrato	43
4.4 Análise Fitoquímica.....	43
4.4.1 Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonoides	44
4.4.2 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas, Flavanonas	44
4.4.3 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas	45

4.4.4 Teste para esteroides e triterpenos (Lieberman-Burchard).....	45
4.4.5 Teste para saponinas.....	45
4.4.6 Teste com reagente de Dragendorff.....	46
4.4.7 Teste para antraquinonas, antronas e cumarinas	46
4.4.8. Teste para fenóis e taninos	46
4.5 Secagem em Spray Dryer.....	46
4.6 Eficiência de Secagem	47
4.7 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	47
4.8 Análises Térmicas	47
4.9 Determinação do pH.....	47
4.10 Determinação do Teor de Cinzas Totais	48
4.11 Determinação da Perda por Dessecação	48
4.12 Análise Granulométrica	49
4.13 Avaliação do Ângulo de Repouso (Modificado Parthirana; Gupta, 1976)....	49
4.14 Determinação das Densidades Brutas e de Compactação, Fator de Hausner, Índice de Carr e de Densificação (Modificado Voigt, 2005).....	49
4.15 Morfologia das Partículas Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	50
4.16 Determinação da Atividade Antioxidante	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Análise Fitoquímica	52
5.2 Obtenção do Extrato Seco em Spray Dryer	54
5.3 Caracterização do Extrato Seco em Spray Dryer.....	56
5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho	56
5.3.2 Análises térmicas e determinação de umidade residual.....	60
5.3.3 Determinação do pH do extrato atomizado	64
5.3.4 Determinação de perda por dessecação e do teor de cinzas totais	65
5.3.5 Análise Granulométrica	66

5.3.6 Avaliação do ângulo de repouso (Modificado PARTHIRANA; GUPTA, 1976), determinação das densidades brutas e de compactação, fator de Hausner, índice de Carr e de densificação (Modificado VOIGT, 2005).....	68
5.3.7 Microscopia eletrônica de varedura.....	70
5.3.8 Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS.....	74
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos remotos. A medicina popular, principalmente a baseada no uso das plantas tem grande destaque na terapêutica atual, principalmente em regiões em desenvolvimento, onde o acesso aos serviços modernos de saúde são limitados (BARREIRO; BOLZANI; VIEGAS, 2006; BARREIRO; BOLZANI 2009; BARBOSA-FILHO et al., 2007). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2008), em alguns países desenvolvidos, uma boa parcela da população faz uso da medicina popular baseada em plantas, embora tal parcela da população tenha acesso relativamente fácil aos medicamentos modernos, o uso da medicina popular tem razões históricas e familiares. De outro lado, em 65-80% da população de países em desenvolvimento dependem exclusivamente da medicina tradicional.

Por definição, fitoterápico é todo medicamento tecnicamente elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário (BRASIL, 2010b). Os fitoterápicos são obtidos da planta ou de partes dela e caracteristicamente os constituintes ativos são obtidos juntamente com outros constituintes da planta. Dessa forma, um fator fundamental para a qualidade do fitoterápico é a conservação destes princípios ativos após as etapas de processamento da matéria prima vegetal e manufatura do produto final (CARVALHO et al., 2008).

As formas secas apresentam diversas características que são apreciadas pela indústria farmacêutica tais como: precisão na dosagem, manuseio facilitado e melhor estabilidade física, química e biológica. É crescente o número de estudos sobre a produção de extratos secos a partir de extratos vegetais, sendo que a maioria destes utilizam o processo de secagem denominado spray drying (WALTON; MUMFORD, 1999; GEORGETTI et al., 2008). Uma vantagem muito importante que a técnica de *spray dryer* oferece é a possibilidade de utilização tanto em materiais resistentes ao calor como em materiais termo lábeis. Aliado a isso, ela é uma técnica relativamente rápida e de uso contínuo, características que justificam o alto investimento que tal técnica requer (MASTERS, 1985).

Em relação ao uso em produtos naturais, tal processo também vem sendo bastante utilizado na busca de melhores características tecnológicas, obtendo-se bons resultados para esta finalidade (BASSANI; ORTEGA; PETROVICK, 2005). Com base nos pressupostos apresentados, o presente trabalho propõe a verificação do processo de secagem por atomização em *Spray dryer* das espécies *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum* e sua posterior caracterização físico-química, visando a realização de um estudo exploratório sobre o tema.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plantas medicinais e fitoterápicos

Desde os tempos antigos, o ser humano utiliza os produtos naturais com diversas finalidades, desde alimentícia, medicamentosa ou com finalidade cosmética, como por exemplo o uso de *Atropa belladonna* pelas mulheres com finalidades estéticas. Registros anteriores ao nascimento de Cristo já demonstravam o uso de aproximadamente 800 plantas medicinais pela população da época (ELDIN; DUNFORD, 2001).

Além das substâncias diretamente extraídas das plantas, a medicina alopática utiliza as plantas medicinais como precursores para a síntese de outras substâncias. O Brasil, com suas dimensões continentais, detém aproximadamente 1/4 de todas as espécies vegetais catalogadas no planeta. Diante disso, o Brasil assume papel crucial quando analisado o desenvolvimento de produtos naturais (RATES, 2001).

Por definição, medicamento fitoterápico é todo medicamento tecnicamente elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. Ele é caracterizado pelo conhecimento da espécie vegetal, de sua eficácia e riscos, bem como de características como reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BRASIL, 2006; 2010b).

Inicialmente o estudo da fitoterapia teve grande parte de seu desenvolvimento creditado aos farmacêuticos e médicos que se esforçavam em seu estudo, porém com o avanço da química moderna, os grandes laboratórios incorporaram grande parte da mão de obra especializada e a fitoterapia foi dando espaço aos medicamentos sintéticos. O interesse e investimento na potencialidade dos produtos naturais e suas ações farmacológicas tiveram um grande incentivo a partir de 1978, quando tal terapia teve o reconhecimento da Organização Mundial de Saúde (PACHÚ, 2007).

Um marco importante no desenvolvimento dos produtos naturais foi quando seu estudo passou a ser realizado de forma sistemática, estudando-se diversas etapas de sua preparação como: extração, isolamento e identificação dos compostos. Isto foi importante não apenas para fornecer suporte científico para a utilização dos produtos naturais na terapêutica, mas também para enriquecer o arsenal de medicamentos

utilizados, embora ainda permaneça uma ampla parcela destas plantas a serem estudadas sob a óptica química e farmacológica (ELIZABETSKY, 1986).

Cerca de 25% das drogas prescritas no mundo são obtidas de forma direta ou indireta através de plantas (KOEHN; KARTER, 2005). Movimentando mais de 21 bilhões de dólares por ano, o setor de fitoterápicos representa cerca de 15% de todo capital da indústria farmacêutica mundial (NIERO, 2010). No Brasil, a movimentação financeira anual gira em torno dos 160 milhões de dólares, merecendo destaque o fato que o crescimento mercadológico dos fitoterápicos segue um ritmo de mais de 15% ao ano, enquanto que o ritmo dos medicamentos sintéticos é de apenas 4% (FEBRAFARMA, 2010). Considerando a expansão que os produtos de origem natural está apresentando, os países detentores de grande biodiversidade, como o Brasil, apresentam grande potencial de entrar em mercados bilionários (FUNARI; FERRO, 2005).

Diante do favorável quadro atual dos fitoterápicos, as pesquisas e investimentos das indústrias farmacêuticas vêm sendo incrementados, bem como o número de novas patentes relacionadas à novas substâncias naturais e aos processos para obtenção de novas drogas (BRANDÃO; GOMES; NASCIMENTO, 2006).

Os fitoterápicos são produzidos a partir de plantas em seu estado fresco, seco ou através de partes destas plantas. É um processo complexo que envolve diversas áreas do conhecimento. Geralmente os constituintes ativos são extraídos juntamente com outras substâncias presentes. A qualidade do produto fitoterápico é diretamente proporcional à presença desses constituintes após os processos a que a planta é submetida (SCHIMIDT; GONZÁLEZ, 1993).

Diante do interesse crescente que gira em torno dos fitoterápicos, se fez necessária a elaboração de uma legislação que regulamentasse seu uso, produção e comercialização, dentre outros aspectos. A portaria SVS nº6 de 31/01/1995 trouxe o conceito de fitoterapia, padronizou conceitos técnicos na área, tratou de termos relacionados à segurança na produção e ao controle de qualidade (BRASIL, 1995). A portaria SVS nº6 foi aprimorada pela Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC-ANVISA nº48, esta resolução redefiniu o termo aplicado aos fitoterápicos, que antes eram chamados de produtos fitoterápicos e agora são medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2004).

O Ministério da Saúde, através do Departamento de Assistência Farmacêutica, vêm desenvolvendo diversas ações destinadas ao desenvolvimento da produção de

fitoterápicos. Um exemplo dessas ações foi a aprovação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos através do Decreto nº 5.813 de 22 de julho de 2006, bem como da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, publicada através da portaria nº 971, de 3 de maio de 2006, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006a e 2006b). Em 2009, outra ação de incentivo à produção e uso dos fitoterápicos foi realizada com o lançamento da RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS).

O uso popular e a tradição não garantem a eficácia e qualidade do medicamento fitoterápico, nisso ele não difere em nada em relação aos produtos sintéticos, necessitando de comprovação de sua eficácia através de testes submissão ao controle de qualidade em todas as etapas de produção. Aliado a isso deve-se ter em mente a diferença na composição entre as plantas decorrente de fatores ambientais, climáticos, genéticos, qualidade do solo, entre outros (IHRIG; BLUME, 1992; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Uma das formas que possibilitam a garantia da eficácia do produto final é a padronização do extrato bruto. Uma vez que a eficácia terapêutica não é decorrente de apenas uma substância ou por uma classe de compostos (BASSANI; ORTEGA; PETROVICK, 2005).

2.2 Principais técnicas utilizadas na avaliação e caracterização de produtos naturais.

2.2.1 Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A radiação infravermelha (IR) corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das micro-ondas. Boa parte dos compostos que possuem ligações covalentes absorvem frequências eletromagnéticas, que se encontram na região do infravermelho. Essa radiação quando absorvida é convertida em energia vibracional e decorrente disso as ligações químicas sofrem um processo de deformação, o qual pode ser axial ou angular. Como resultado desse processo, um espectro é obtido com a presença de bandas de absorção. Para os estudos com compostos orgânicos, a porção do espectro de maior interesse é a que fica compreendida na região entre 4000 e 400 cm^{-1} , conhecida como infravermelho médio (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica que permite a identificação de moléculas bem como a identificação de grupos funcionais. Relativamente simples e de fácil preparação, é uma técnica que tem sido bastante utilizada na caracterização e elucidação estrutural, área de produtos naturais e controle de qualidade de medicamentos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

Quando a radiação infravermelha incide sobre uma molécula, ela causa o aumento de vibração das ligações entre átomos e grupos de átomos, desta forma, a resposta de cada molécula frente à absorção da radiação infravermelha vai ser distinta das demais (SOLOMONS; FRYHLE, 2001). As absorções são expressas em formas de bandas no espectro. A intensidade de tais bandas é expressa como transmitância ou como absorbância, a transmitância pode ser definida como a razão entre a energia radiante e a energia incidente na amostra, enquanto que a absorbância é o logaritmo decimal do inverso da transmitância (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

O espectro, propriamente dito, é obtido através da utilização do recurso matemático da transformada de Fourier. O interferograma obtido a partir das interferências construtivas e destrutivas resultantes da interação da radiação com a amostra analisada é convertido no espectro visualizado. O uso da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier apresenta a vantagem de não se trabalhar com monocromadores, possibilitando assim que uma ampla faixa de radiação da região do infravermelho seja utilizada na análise da amostra, aumentando dessa forma a resolução da análise (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

Diversos estudos vêm utilizando a técnica de FTIR como ferramenta na análise de produtos naturais (STULZER et al., 2007; MAZURKIEWICZ, 2006; CARBALHO et al., 2008).

2.2.2 Análise térmica

A análise térmica consiste basicamente de um grupo de técnicas que analisam uma propriedade física de uma substância através do uso da temperatura controlada. Os resultados são obtidos em formas de curvas decorrentes do comportamento da amostra frente à temperatura. Na indústria farmacêutica, esse conjunto de técnicas têm sido bastante utilizado principalmente no controle de qualidade dos produtos e no processo de produção, bem como na análise da estabilidade e nos estudos de interação entre produtos (WENDLANDT, 1986).

Em grande parte dos casos, não é utilizado apenas uma técnica analítica na análise. Sendo que na maioria dos casos envolvendo a análise das características físico-químicas das substâncias, são realizadas outras análises físico-químicas, como a espectroscopia na região do infravermelho, a microscopia eletrônica, cromatografia, entre outras (CARBALHO et al., 2008).

As principais técnicas de análise térmica utilizadas na análise de medicamentos e produtos naturais são a Análise Térmica Diferencial (DTA), a Termogravimetria (TG) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

A Termogravimetria (TG) se baseia na medida de massa perdida pela amostra decorrente da variação na temperatura. Para isso é utilizada uma termo balança. O equipamento utilizado consiste basicamente de uma micro balança, um forno aquecedor, termopares e um sistema de fluxo de gás (GABBOTT, 2008).

Os resultados são obtidos em forma de curvas, essas fornecem informações relativas à estabilidade da amostra e sua composição, bem como de algum intermediário que possa se formar e dos resíduos. Fatores relacionados aos instrumentos, bem como relacionados à amostra devem ser cuidadosamente controlados, uma vez que o comportamento da amostra frente à variação da temperatura é extremamente sensível (BROWN, 1998). Como fatores inerentes ao equipamento podemos citar a razão de aquecimento utilizada, o gás utilizado na atmosfera e sua vazão, a composição do cadinho, o tamanho e a forma do forno aquecedor. Já como exemplos de fatores relacionados à amostra podemos citar a sua quantidade, forma, condutividade térmica, entre outros (BROWN, 1998, GABBOTT, 2008).

A Análise Térmica Diferencial (DTA) utiliza o mecanismo de submeter a amostra e um material de referência à um controle de temperatura. Sensores ficam conectados aos suportes contendo as amostras e a temperatura é medida. A variação dessa temperatura é decorrente de transições de entalpia, podendo ocorrer reações endotérmicas ou exotérmicas. Seus resultados são obtidos em formas de picos (WENDLANDT, 1986; SILVA; PAOLA; MATOS, 2007). A curva obtida no DTA é registrada com a temperatura ou o tempo na abscissa, e μV na ordenada. Isso se deve ao fato do uso de termopares como instrumentos de medida. O principal uso da DTA é na detecção da temperatura inicial dos processos térmicos e de forma geral classificá-los como endotérmicos ou exotérmicos (WENDLANDT, 1986).

O DSC pode ser realizado basicamente por dois modos: DSC de compensação de energia e DSC de fluxo de calor. No DSC por compensação de energia, a amostra e a referência permanecem em compartimentos distintos durante a análise, com fontes de aquecimento individuais. A depender do processo, energia é fornecida à amostra ou à referência, com o intuito de que ambos permanecem com a mesma temperatura. Ao final do processo, um gráfico é gerado a partir dos dados dos aquecedores, o que possibilita quantificar as transformações envolvidas. (BROWN, 1998).

No DSC de fluxo de calor, apenas uma fonte de aquecimento é envolvido no processo. Ambos os cadinhos contendo a amostra e a referência ficam acondicionados sobre uma base de platina, e a depender da resposta da amostra em relação à temperatura, um fluxo de energia se estabelece entre os cadinhos através da base de platina. Sendo assim, os dados são obtidos na forma de potencial elétrico. (BROWN, 1998).

Os dados obtidos através de TG e DSC fornecem informações importantes sobre a estabilidade dos compostos, cinética de degradação, fase de transição entre estados físicos, polimorfismo entre outros (RODRIGUES et al., 2005).

Alguns fatores tornam tais técnicas muito atrativas e cada vez mais utilizadas nas análises químicas e ensaios de padronização de matérias primas vegetais, tais como: quantidade reduzida de amostra a ser utilizada, rapidez nas análises e custo relativamente barato da técnica (ARAUJO et al., 2006; LI; TAYLOR; MAUER, 2011; STULZER et al., 2007; SAHOO et al., 2011; GALLO et al., 2011; BRINGAS-LATINGUA; VALDÉS; PINO, 2012).

2.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A principal função de um microscópio é tornar visível aquilo que era invisível ao olho humano. Uma vez que o microscópio óptico apresenta certa limitação em relação à resolução, foi desenvolvido o microscópio eletrônica de varredura (MEV), que utiliza por sua vez um feixe de elétrons em detrimento dos fótons utilizados na microscopia óptica convencional, aumentando assim a resolução do microscópio. O MEV pode fornecer informações de forma relativamente rápida em relação à morfologia e

identificação de compostos químicos de uma amostra sólida (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

A microscopia eletrônica de varredura consiste na utilização de um feixe de elétrons para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto. O sinal da imagem é resultado da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra. Uma das fontes mais comuns de elétrons é a utilização de um filamento de tungstênio aquecido. (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

O MEV pode ser utilizada como uma importante ferramenta na caracterização morfológica dos materiais obtidos pela secagem por atomização. As diversas formas que podem ser obtidas através do processo podem ser diferenciadas pela utilização do MEV (WALTON; MUNFORD, 1999).

2.3 O gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae)

Este gênero faz parte da família Apocynaceae, a qual compreende entre 3700 a 5100 espécies, as quais são divididas entre 250 a 550 gêneros (ROCHA; LUZ; RODRIGUEZ, 1982). É encontrado nos trópicos e subtropicais e nas regiões temperadas (STRUWE; ALBERT; BREMER, 1994). No território brasileiro, são encontradas em torno de 400 espécies. A tabela 1 representa a classificação taxonômica do gênero (PEREIRA et al., 2007).

Tabela 1. Classificação taxonômica das espécies do gênero *Aspidosperma*.

Série	Espécies
Rígida	<i>A. rigidum</i> Rusby; <i>A. laxiflorum</i>
Nitida	<i>A. Auriculatum</i> Mgf.; <i>A. carapanauba</i> M. Pichon; <i>A. compactinervium</i> Kuhlmann; <i>A. discolor</i> A. DC.; <i>A. eburneum</i> F. Allem; <i>A. excelsum</i> Benth; <i>A. marcgravianum</i> Woodson; <i>A. nitidum</i> Benth ex Müll.-Arg., <i>A. oblongum</i> A. DC.; <i>A. spegazzinii</i> Molf. Ex Meyer
Quebranchines	<i>A. chakensis</i> Spegazzini; e <i>A. quebracho-blanco</i> Schlecht
Polyneura	<i>A. cuspa</i> Blake; <i>A. cylindrocarpon</i> Müell.-Arg.; <i>A. dispersum</i> , <i>A. peroba</i> , <i>A. polyneuron</i> Müll.-Arg.; e <i>A. sessiliflorum</i>
Pyricolla	<i>A. australe</i> Müll.-Arg.; <i>A. campus-belus</i> A. P. Duarte; <i>A. gomesianum</i> A. DC.; <i>A. multiflorum</i> A. DC.; <i>A. nigricans</i> Handro; <i>A. olivaceum</i> Müll.-Arg.; <i>A. parvifolium</i> ; <i>A. populifolium</i> A. DC.; <i>A. pyricollum</i> Muell.-Arg.; <i>A. pyrifolium</i> Mart.; <i>A. quirandy</i> ; <i>A. refractum</i> Mart.; <i>A. rhombeosignatum</i> ; <i>A. subincanum</i> Mart.; <i>A. tomentosum</i> Mart.; <i>A. ulei</i> Mgf.; e <i>A. Vargasii</i>
Nobile	<i>A. album</i> (Vahl) R. Bent.; <i>A. desmanthum</i> Benth ex. Müll.-Arg.; <i>A. exalatum</i> Monachino; <i>A. fendleri</i> ; <i>A. limae</i> Woodson; <i>A. megalocarpon</i> Müll.-Arg.; <i>A. melanocalyx</i> Müll.-Arg.; <i>A. neblinae</i> Monachino; <i>A. obscurinervium</i> Azembuja; <i>A. sandwithianum</i> ; e <i>A. spruceanum</i> Benth
Macrocarpa	<i>A. duckei</i> ; <i>A. macrocarpon</i> Mart.; e <i>A. verbascifolium</i> Müll.-Arg.
Tometosa	<i>A. formosanum</i> ; e <i>A. daysycarpum</i> A. DC.

Fonte: PEREIRA et al., 2007

O gênero *Aspidosperma* é encontrado apenas na América, na faixa entre o México e Argentina. A atual classificação taxonômica das espécies deste gênero foi proposta por Bolzani em 1987, na qual as 48 espécies são divididas em 7 séries (BOLZANI et al., 1987). Diversas espécies deste gênero são conhecidos como perobas, pereiro, guatambus e quina. São espécies arbóreas tropicais de porte elevado, variando de 2 a 60 metros de altura (CORREA, 1978). Elas apresentam flores e sementes abundantes, copas amplas, folhas que podem apresentar látex

abundante, sendo que uma característica deste gênero é que elas não apresentam látex no tronco, ao contrário dos outros gêneros desta família (CORREA, 1978).

Tais plantas apresentam grande importância não só pela qualidade da madeira, muito utilizada na carpintaria, mas também pela grande utilização em pesquisas, onde se almeja a descoberta de novas substâncias com potencial terapêutico (OLIVEIRA et al., 2009).

A presença de alcaloides é uma característica das espécies desta família. Em especial, o gênero *Aspidosperma* apresenta as estruturas de alcaloides indólicos como marca característica (PEREIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009). É importante ressaltar que embora os alcaloides sejam as substâncias de maior abundância no gênero *Aspidosperma*, outras substâncias já foram isoladas e identificadas neste mesmo gênero (PEREIRA et al., 2006).

2.3.1 Atividades biológicas

Diversas atividades biológicas vêm sendo atribuídas ao gênero *Aspidosperma* ao longo dos anos. Estudos utilizando tanto extratos como frações procuram demonstrar o potencial terapêutico dos mesmos. Oliveira e colaboradores realizando um levantamento bibliográfico em 2003 verificaram que a espécie *A. nitidum* é uma das espécies mais recomendadas para o tratamento da malária através da etnomedicina (OLIVEIRA et al., 2003).

Estudos demonstraram que a fração alcaloídica básica, bem como o alcaloide ramiflorina, isolado da *A. ramiflorum* demonstraram atividade contra as formas extracelulares (promastigotas) de *Leishmania braziliensis* e *L. amazonensis*, causadoras da Leishmaniose. (FERREIRA et al., 2004; TANAKA et al., 2007).

Estudos utilizando os extratos etanólicos de *A. quebracho - blanco*, realizados na Bolívia demonstraram sua atividade contra o *Plasmodium falciparum* (BOURDY et al., 2004). Foi verificado ainda, em outro estudo, que o extrato da *A. megalocarpum* também apresentou atividade antimalárica, (WENIGER et al., 2001) corroborando os achados de pesquisas anteriores que mostraram que alguns alcaloides isolados desta mesma espécie apresentavam atividade antimalárica (MITAINE et al., 1998). Outro estudo realizado para averiguar a atividade antimalárica foi realizado com plantas tradicionalmente utilizadas pela população do cerrado brasileiro. Nesse estudo foi

verificado que o extrato etanólico da casca do caule do *A. macrocarpum* foi um dos mais eficazes no combate ao *P. falciparum* (MESQUITA et al., 2007).

Em relação à atividade microbiológica dos extratos e substâncias isoladas do gênero, diversos estudos também foram realizados. Tanaka e colaboradores, realizaram uma avaliação da atividade antibacteriana de extratos e substâncias isoladas da casca do caule da *A. ramiflorum* e verificaram que o extrato metanólico apresentou moderada atividade frente à bactéria Gram-positiva *B. subtilis* e contra *S. aureus* (TANAKA et al, 2007). Dados semelhantes foram obtidos por Suffredini e colaboradores que verificaram que o extrato obtido a partir do caule da *A. pachypterum* também apresentou atividade contra *S. aureus* (SUFFREDINI et al., 2002). Outros estudos demonstraram que diversos alcaloides obtidos da *A. excelsun* bem como de *A. marcgravianum* apresentaram atividade contra a bactéria *B. subtilis* (VERPOORTE; RUIGROK; SVENDSEN, 1982; VERPOORTE et al, 1983).

A. pyricolum e *A. olivaceum* exibiram atividade moderada frente a *B. subtilis*. *A. ramiflorum* apresentou atividade baixa contra a bactéria Gram negativa *Escherichia coli* (OLIVEIRA et al., 2009; AGRIPINO et al., 2004), moderada, contra o *Staphylococcus aureus* e alta, contra o *B. subtilis* (OLIVEIRA et al., 2009), e se mostrou ativa também contra o fungo *Cryptococcus neoformans* (DE SOUZA et al., 2006).

Sperling et al. (2002) demonstraram o efeito do extrato rico em alcaloides de *A. quebracho-blanco* sobre receptores α -adrenérgicos em pênis humanos. Tal atividade está relacionada à presença de ioimbina nos extratos analisados, os quais são tradicionalmente conhecidos pelo uso no tratamento da disfunção erétil (SPERLING et al., 2002). Resultados semelhantes foram obtidos por Campos e colaboradores, quando analisaram os alcaloides presentes na *A. ulei* (CAMPOS et al., 2006).

Foi verificada também a atividade antiproliferativa nos extratos de *A. tomentosum* utilizando o extrato do caule da espécie bem como algumas frações do mesmo (KOHN et al., 2006).

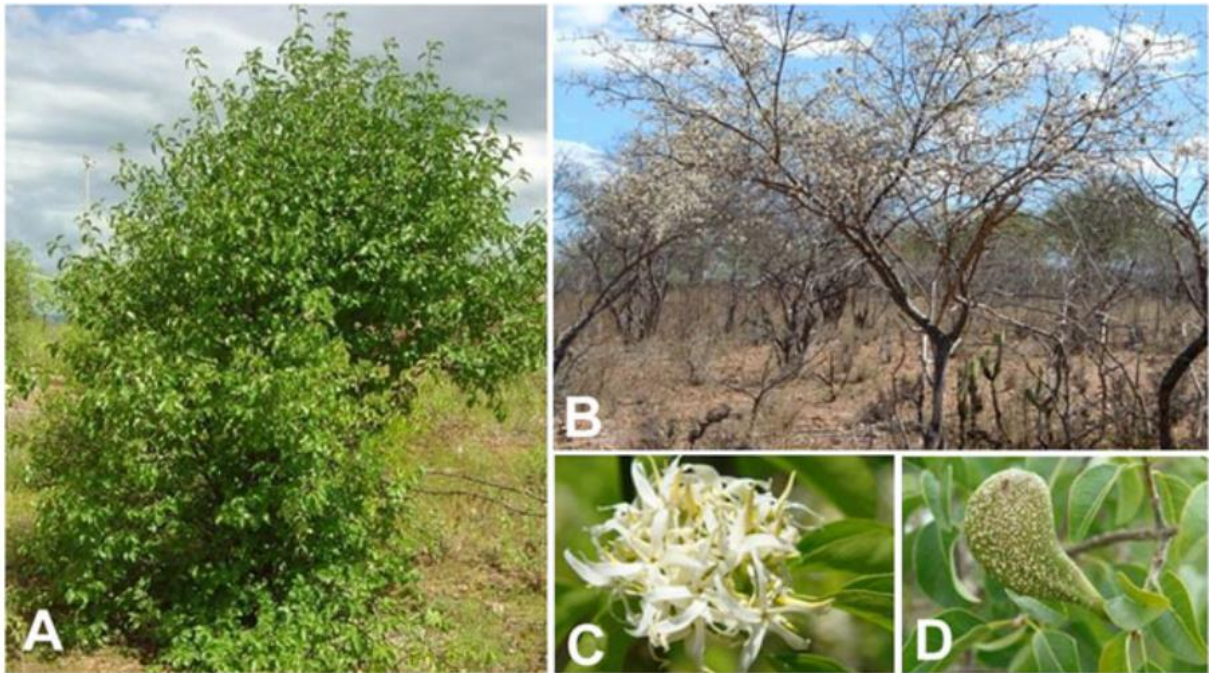
Seu uso como antiinflamatório também é relatado na literatura. Foi demonstrado que a casca do caule de *A. pyriformium* é usada pela população em inflamações do trato urinário e em dermatites (AGRA; FRANÇA; BARBOSA FILHO, 2007). Pereira e colaboradores, em 2006 relataram a atividade anti inflamatória do extrato do caule de *A. nitidum in vivo*, usando o teste de edema induzido por carragenina em camundongos (PEREIRA et al., 2006).

Espécies de *Aspidosperma* também foram avaliadas quanto a seu potencial no controle de pragas. O extrato hexânico da raiz de *A. macrocarpum* inibiu totalmente a atividade de α -amilases de *Zabrotes subfasciatus*, conhecido como caruncho do feijão mexicano, e reduziu a atividade enzimática de outro caruncho do feijão, *Acanthoscelides obtectusem* (SILVA et al., 2009). O extrato bruto da casca do caule de *A. pyrifolium* foi ativo contra larvas da mariposa *Plutella xylostella*. A atividade larvicida foi associada à presença dos alcaloides monoterpenoindólicos: aspidofractinina, 15-demetoxipirifolina e N-formilaspido-fractinina (TRINDADE et al., 2008).

2.4 *Aspidosperma pyrifolium*

Aspidosperma pyrifolium é uma espécie que é encontrada na caatinga nordestina e no pantanal. É uma árvore de porte médio, com aproximadamente 7 metros de altura. Sua casca apresenta sabor amargo característico, de coloração acinzentada, textura lisa quando jovem e rugosa quando idosa. Suas folhas são de forma oval, pequenas (em torno de 10 cm de comprimento) e também apresentam sabor amargo assim como o caule. Seus frutos são em forma de gota, apresentando cerca de 5 cm de comprimento, quando velhos eles se dividem em dois, deixando cair suas sementes, o que facilita sua propagação, pois podem ser levadas à longas distâncias. (MAIA, 2004).

Figura 1 - *Aspidosperma pyrifolium*: (A) Árvore verde, (B) Árvore seca, (C) flores, (D) fruto.

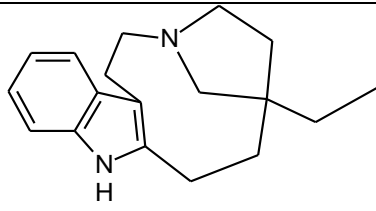


Fonte: RIET-CORREA; SCHILD, 2012

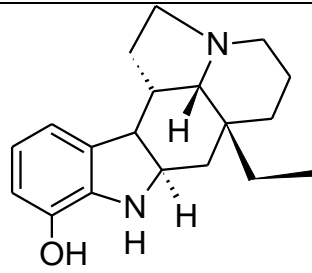
Dentre os nomes populares que ela é conhecida, podemos citar os seguintes nomes: pereiro, pereiro-branco, pereiro-preto, peroba-rosa, trevo, pereiro-de-saia (REDE DE SEMENTES DO PANTANAL, 2012).

Diversos alcaloides já foram isolados da *A. pyrifolium*: (+)- Quebrachamina (1); Aspidospermidina (2); N-formilaspidofractinina (3); Desmetoxivalesina (4); Vincadiformina (5); 10-Metoxiaspidospermidina (6); Desacetilaspidospermina (7); Acuamicina (8); Des-N-metoxiaspidospermina (9); N-formilaspidospermidina (10); Aspidofilina (11); Desidroxiaplocidina (12); Refractidina (13); 15-desmetoxipirifolina(14); Desmetoxipirifolina(15); Aspidospermina (16); Des-desmetilpalosina (17); Diidrocondilocarpina (18); Aspidofractina (19); Haplocina (20); Palosina (21); Pirifolina (22); Pirifolidina (23); Aspidofractinina (24). CRAVEIRO; MATOS; SERUR, 1983; MITAINE et al., 1996 *apud* PEREIRA et al., 2007; ARAUJO-JUNIOR et al., 2007; GILBERT et al., 1965; WALSER; DJERASSI, 1961; DJERASSI et al., 1962 *apud* PEREIRA et al., 2007. Segue no quadro 1, as estruturas das substâncias citadas.

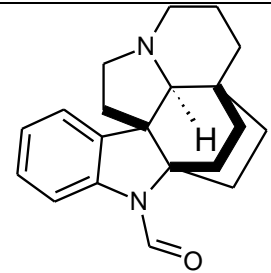
Quadro 1 - Estruturas dos Alcaloides isolados de *Aspidosperma pyriformium*.



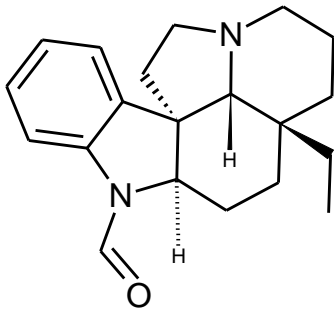
(1) (+)-Quebrachamina



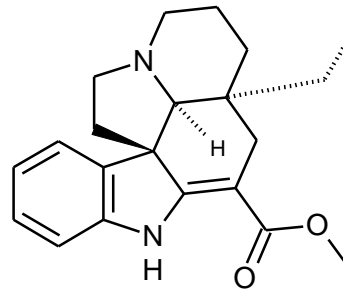
(2) Aspidospermidina



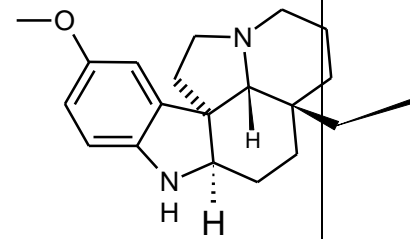
(3) N-formilaspidofractinin
a



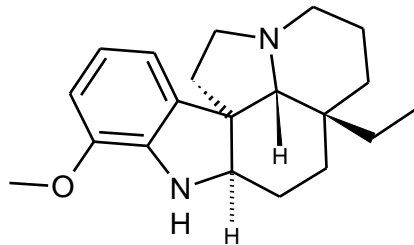
(4) Desmetoxivalesina



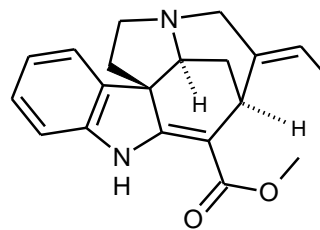
(5) Vincadiformina



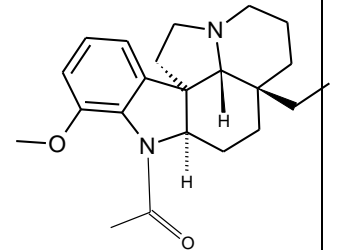
(6) 10-Metoxiaspidospermidina



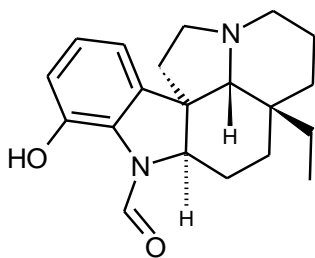
(7) Desacetilaspidospermina



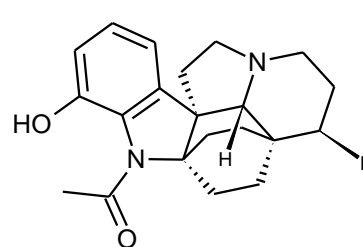
(8) Acuamicina



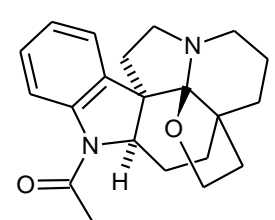
(9) Des-N-metoxiaspidospermina



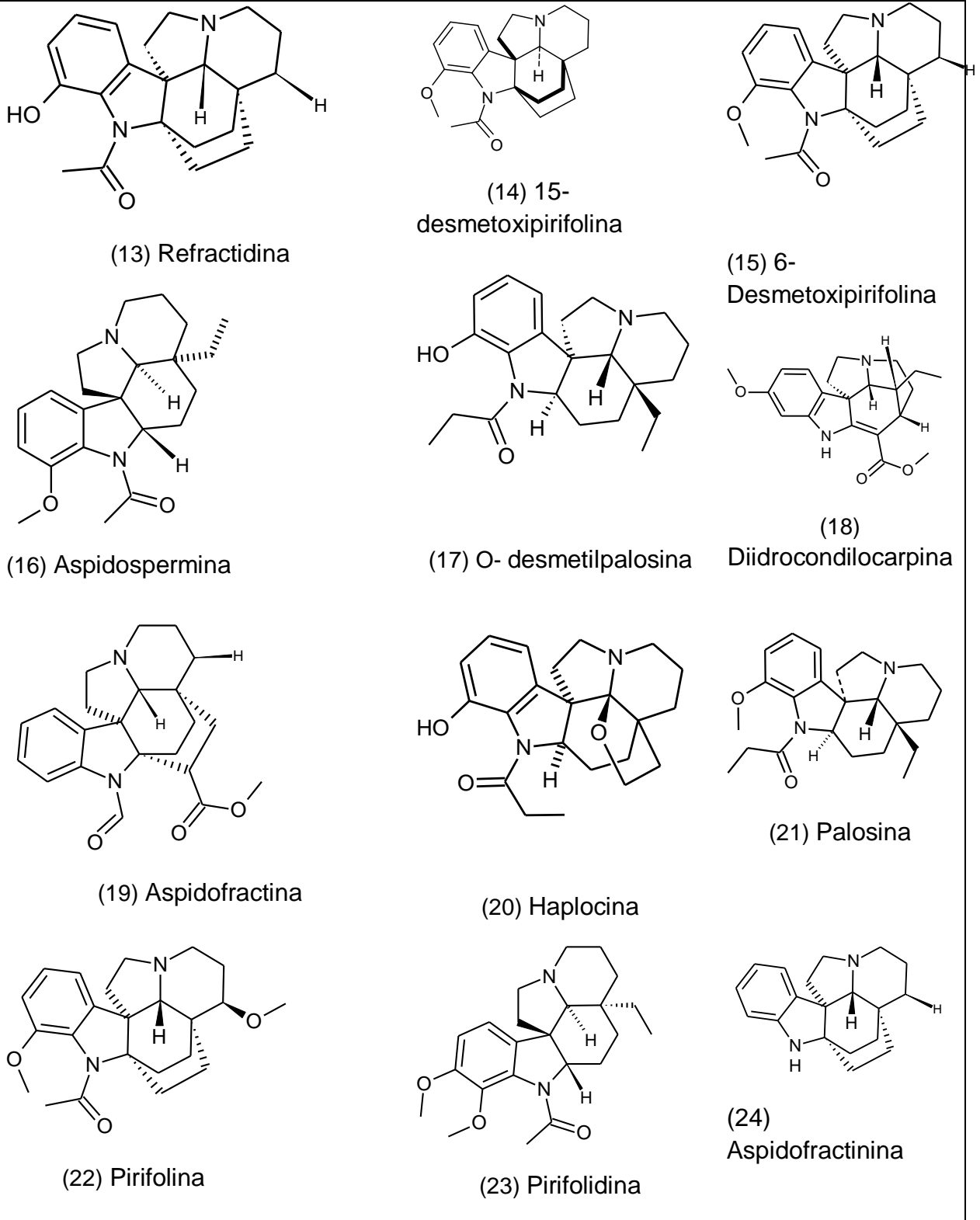
(10) N-formilaspidospermidina



(11) Aspidofilina



(12) Desidroxiaplocidina



Fonte: Autor, 2013

Poucos estudos envolvendo esta espécie são relatados na literatura. O extrato etanólico da casca do caule demonstrou atividade *in vitro* contra a bactéria *B. subtilis*

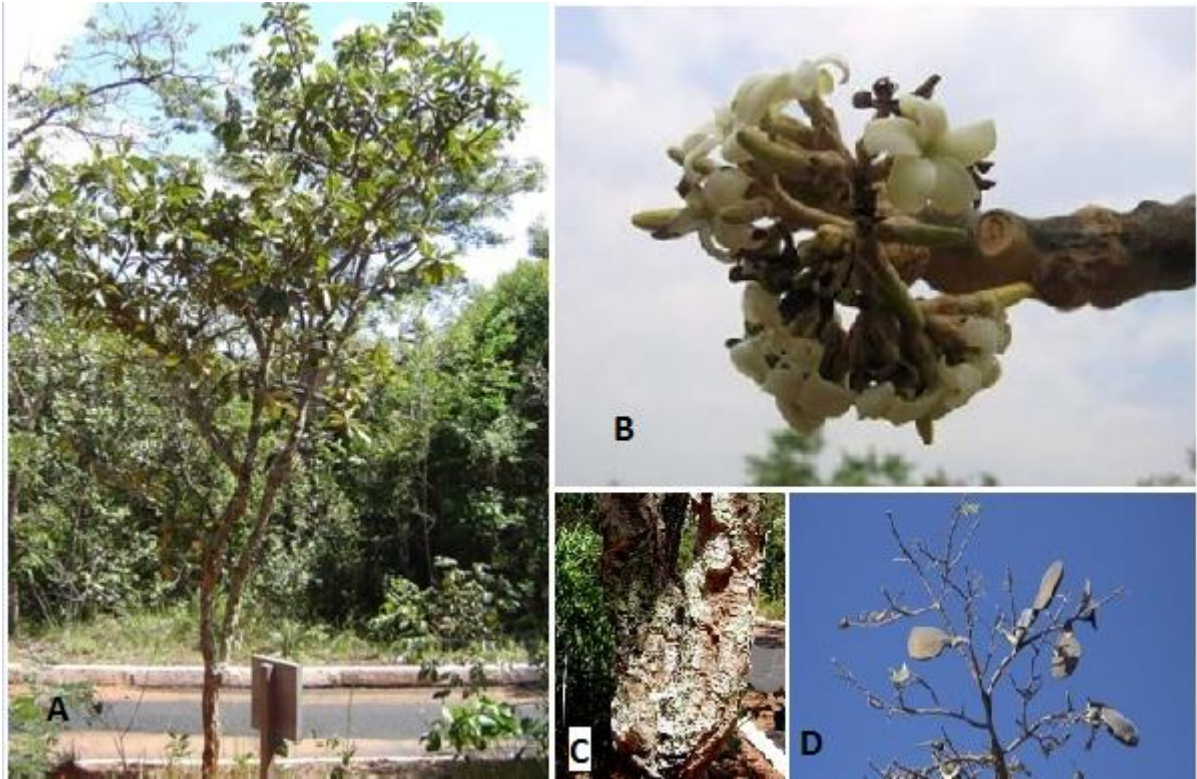
(OLIVEIRA et al., 2009). O extrato etanólico também foi eficaz quando testado contra larvas de *Plutella xylostella*. Nesse estudo de Trindade e colaboradores, foi verificada a toxicidade de extratos hidroetanólicos da casca de caule, frutos e folhas da *A. pyriformis* contra *P. xylostella* e foi constatado que o extrato da casca de caule foi o mais eficaz no controle da larva (TRINDADE et al., 2008). Em estudos para verificar a atividade antiplasmodial foi verificado que alcaloides indólicos extraídos desta planta demonstraram atividade (MITAINE-OFFER et al., 2002).

2.5 *Aspidosperma macrocarpum*

Aspidosperma macrocarpum é uma planta pertencente à família Apocynaceae. Como principais características pode-se dizer que ela é uma planta lactescente, sua altura pode variar desde 8-18 metros, apresentando o diâmetro do tronco entre 25-35 cm. Suas folhas são denso-tomentosas, apresentando tamanho aproximado de cerca de 20 cm. Os principais locais de ocorrência são os estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo e em áreas de cerrado (ÁRVORES BRASILEIRAS, 2012).

Ela é uma planta moderadamente pesada, resistente ao apodrecimento. Bastante utilizada na construção civil e naval. Também é utilizada em ornamentações, principalmente quando a folhagem é nova. (ÁRVORES BRASILEIRAS, 2012). Apresenta diversos nomes populares: Guatambu, Guatambu-do-cerrado, Moela-de-ema, Pau-pereira, Pereira, Pereiro-do-campo, Peroba, (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, 2012).

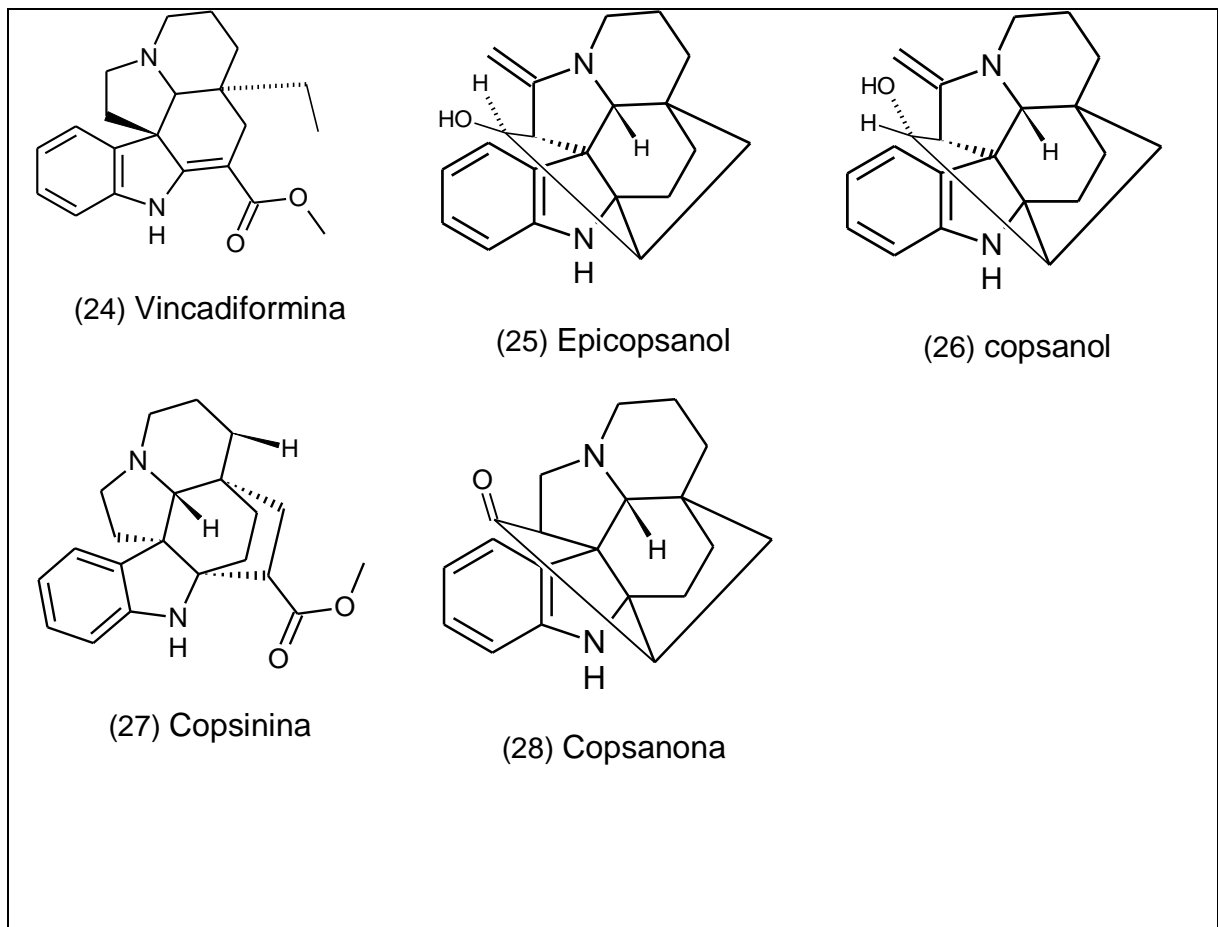
Figura 2 - *Aspidosperma macrocarpum*. (A) Árvore verde, (B) Flores, (C) caule, (D) frutos.



Fonte: VIRBOCA, 2012 (Adaptado)

Dentre alguns alcaloides que já foram isolados da *A. macrocarpum*, podemos citar: Vincadiformina (24); Epicopsanol (25); copsanol (26); Copsinina (27); Copsanona (28) (MITAINE et al., 1996.). Segue no quadro 2, as estruturas de tais substâncias.

Quadro 2 - Estruturas dos alcaloides isolados de *A. macrocarpum*.



Fonte: Autor, 2013

Em 2007, Mesquita e colaboradores realizaram testes com extratos hexânicos e hidroetanólicos de diversas partes de *A. macrocarpum* para a verificação da atividade antimalárica. Sendo que os melhores resultados foram encontrados com o extrato hidroetanólico das cascas das raízes, as quais também não apresentaram efeitos citotóxicos (MITAINE et al., 1996 *apud* PEREIRA et al., 2007).

2.6 Secagem em *Spray dryer*

Um dos métodos para extração dos princípios ativos da planta mais utilizado é a percolação, sendo um processo onde ocorre a extração exaustiva das substâncias presentes na planta (VASCONCELOS et al., 2005). Os extratos obtidos necessitam perder o máximo de umidade, para isso um dos métodos utilizados é a secagem por atomização ou *spray drying* (SOUZA et al., 2007).

Extratos secos demonstram várias vantagens em relação às formas tradicionais do extrato, como por exemplo: maior estabilidade e facilidade de padronização, aumentando conseqüentemente a eficácia do produto e seu valor no mercado (CHAVES; DA COSTA; FREITAS, 2009). Além do mais, os extratos secos podem ser manipulados em formas sólidas bastante utilizadas na indústria farmacêutica, como tabletes e cápsulas (COUTO et al., 2012; GOHEL et al., 2009).

Extratos secos podem ser preparados através da desidratação dos extratos de diversas partes da planta como folhas, raízes, sementes, frutas, etc. Para isso diversas técnicas podem ser utilizadas, como por exemplo a secagem por congelamento e secagem por atomização, também conhecida por *spray dryer*.

Apesar das diversas vantagens destas técnicas, significativas perdas de compostos presentes na amostra podem ocorrer em consequência do processo utilizado na secagem. Geralmente associado a fatores como temperatura, pH e presença de oxigênio. Para minimizar tal inconveniente, alguns adjuvantes podem ser usados para otimizar o processo de secagem e reduzir as perdas de compostos. Dentre os adjuvantes geralmente utilizados podemos citar a maltodextrina, sílica coloidal, goma arábica, celulose microcristalina. A escolha do adjuvante vai depender do material de partida a ser seco bem como das características esperadas do produto final. Eles podem ser usados de forma conjugada ou isolados (ALAMILLA-BELTRÁN et al., 2005).

Vasconcelos e colaboradores (2005) realizaram um estudo investigando a influência da utilização do dióxido de silício coloidal (aerosil), bem como sua concentração, como adjuvante no processo de secagem. Extratos de *Schinus terebinthifolium* foram utilizados no processo, uma planta utilizada comumente como antimicrobiana, cicatrizante e anti inflamatória. Foi demonstrado um incremento no rendimento do processo quando utilizado tal adjuvante no processo, além de considerável diminuição da umidade residual (VASCONCELOS et al., 2005). Em um estudo semelhante, utilizando uma solução extrativa de *Ilex paraguariensis* como material de partida no processo de secagem, Da silva e colaboradores (2007) também verificaram a otimização do rendimento do processo quando utilizado o aerosil como adjuvante.

A utilização do aerosil na secagem de extratos de *Passiflora edulis* e posterior utilização deste material para a produção de comprimidos por via direta, resultou em

um aumento proporcional da dureza da forma farmacêutica obtida (LINDEN et al., 2000).

Análises físico-químicas como análise térmica, perfil espectrofotométrico, distribuição e tamanho de partículas são importantes para garantir o controle de qualidade do produto final obtido. Das diversas técnicas que são utilizadas para a obtenção do extrato seco, a técnica de spray drying é a mais utilizadas na indústria farmacêutica quando se trabalha com produtos naturais (SOUZA; OLIVEIRA, 2012).

A primeira descrição de secagem de produtos na forma de *spray* foi feita em uma patente ainda no século XIX, mas o processo só encontrou aplicação significativa a partir da década de 1920 (WALTON; MUMFORD, 1999; ÇELIK.; WENDEL, 2005). Atualmente, a técnica é usada em grande variedade de indústrias, como a alimentícia, de produtos farmacêuticos, cosméticos e químicos, têxtil e eletrônica. Na indústria farmacêutica, uma das primeiras aplicações da técnica foi a obtenção de extratos secos de matérias primas ativas a partir de plantas (ÇELIK.; WENDEL, 2005; VASCONCELOS et al., 2005; PATEL; PATEL; SUTHAR, 2009; SOLLOHUB; CAL, 2010; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Na secagem por aspersão, também chamada de *spray dryer*, o material a ser seco deve estar no estado líquido ou pastoso. Como ocorre a redução de solvente, tal processo é bastante utilizado em indústrias alimentícias para diminuir a possibilidade de contaminação biológica, aumentando sua estabilidade e diminuindo os riscos de degradação química e biológica, reduzindo assim os custos com transporte e armazenamento.

A amostra é inserida na câmara de secagem através de um sistema de aspersão, que tem a finalidade de diminuir o tamanho das partículas e assim, aumentar a superfície de contato entre a amostra e a fonte de calor. As temperaturas de entrada e saída do equipamento são escolhidas de acordo com a sensibilidade das amostras, sendo que de forma geral a temperatura de entrada deve ser a mais alta possível, enquanto que a temperatura de saída deve ser a mais baixa possível (DEGASPARINI et al., 2002).

O processo pode ser dividido em algumas fases principais:

Durante a atomização, o líquido é atomizado em pequenas partículas. Ela pode ser feita através de pressão ou de energia centrífuga. O objetivo desta etapa é aumentar a superfície de contato da partícula com o ar, e dessa forma otimizar a transferência de calor entre eles. A configuração do atomizador, bem como a escolha

de seu tipo, vai variar de acordo com as características da amostra e do objetivo que se almeja com a secagem, que vão refletir nas características do produto final. Os principais tipos de atomizadores são os de pressão, pneumáticos e de disco giratório (ÇELIK; WENDEL, 2005; GOHEL et al., 2009; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; NANDIYANTO; OKUYAMA, 2011).

Após a atomização, ocorre o contato da amostra com o ar quente. E então inicia-se a secagem de propriamente dita. Pode-se ter dois tipos principais de processo: co-corrente e contra-corrente. Quando o líquido é pulverizado na mesma direção que o ar quente, tem-se o processo co-corrente. Nesse tipo de processo, a evaporação ocorre de forma instantânea e o produto final é exposto a temperaturas não tão altas, o que favorece a não degradação de compostos termo lábeis (GHARSALLAOUI et al., 2007; NANDIYANTO; OKUYAMA, 2011).

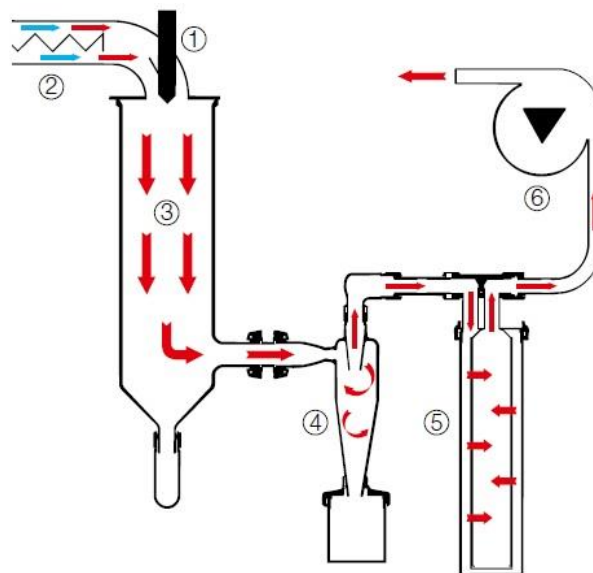
Já no processo onde o líquido a ser seco é pulverizado na direção oposto ao fluxo do ar quente, temos o processo chamado de contra-corrente. Nesse tipo de processo o produto é exposto à temperaturas bem mais elevadas que o processo co-corrente, favorecendo assim a degradação de compostos, limitando assim tal técnica aos compostos não termo sensíveis. Usa-se ainda um sistema misto de secagem, acoplando componentes dos dois tipos anteriormente citados. (ÇELIK; WENDEL, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007; NANDIYANTO; OKUYAMA, 2011).

A evaporação do solvente contido na partícula é a próxima etapa do processo de secagem. Durante a formação da partícula seca ocorre um balanço entre temperatura e pressão parcial de vapor envolvendo os estados líquido e gasoso. Diante disso, a transferência de calor ocorre no sentido do ar para a partícula, devido ao fato que o ar está mais quente que a partícula, enquanto que a água segue o fluxo contrário decorrente da diferença de pressão de vapor. O processo de secagem é considerado finalizado quando a temperatura da partícula se iguala à temperatura do ar utilizado na secagem. (ÇELIK. WENDEL, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007; NANDIYANTO; OKUYAMA, 2011).

Finalizando o processo, ocorre a separação entre o produto seco e o ar úmido. Esta separação geralmente ocorre através de um ciclone acoplado ao sistema de secagem, ao passar por este ciclone, as partículas mais densas são recolhidas na base do ciclone, enquanto as partículas mais leves são separadas do ar úmido. Em adição a isso, os ciclones utilizados no processo de secagem são conectados a filtros, que removem possíveis poluentes voláteis. A depender da composição da partícula,

do teor de água e gás, a partícula final pode ser compacta ou oca (GHARSALLAOUI et al., 2007; OOMAH; MAZZA, 2001). A figura 3 ilustra as partes do equipamento *spray dryer* utilizado no presente trabalho.

Figura 3 - Esquema de um equipamento de *spray dryer* com atomizador pneumático. (1) Bico pneumático. (2) Aquecedor elétrico. (3) Câmara de secagem. (4) Ciclone e coletor. (5) Filtro. (6) Aspirador para geração do fluxo.



Fonte: (Modificado do Manual do fabricante. Mini *Spray dryer* B-290).

2.7 Atividade Antioxidante

O estudo dos radicais livres e de seus efeitos sobre o corpo humano está em evidência. Decorrente principalmente ao aumento das patologias relacionadas com seu aumento e de sua relação com o envelhecimento precoce. As substâncias que podem neutralizar tais radicais se tornam alvos importantes na descoberta de ferramenta terapêutica que possa ser usada contra a ação destes radicais (VELLOSA et al., 2006).

Os radicais livres podem ser chamados também de espécies redoxi-ativas. Podem ser definidos como átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons não pareados em sua camada externa. Quando formados, os radicais livres podem causar efeitos fisiológicos e patológicos. Podem se apresentar sob a forma de espécies reativas de oxigênio (ERO) bem como espécies reativas de nitrogênio (ERN). De forma geral, podemos dizer que os radicais livres são formados a partir da redução parcial do oxigênio, por meio de diversas reações sucessivas (COUTO et al., 2012; PIETTA, 2000).

Nos sistemas biológicos, as espécies redox-ativas (radicais livres) podem ser gerados através de várias reações bioquímicas, onde podemos citar o sistema de oxidação peroxissomal, reações do sistema citocromo P450, geração do radical NO e principalmente a cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria. Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias com a capacidade de inibir ou atenuar a ação dos radicais livres, podem ser substâncias enzimáticas ou não enzimáticas, como a vitamina C e diversos compostos fenólicos. Dentre os efeitos decorrentes de níveis elevados de radicais livres no organismo, podemos citar o envelhecimento precoce e danos à macromoléculas decorrente do stress oxidativo (GERGETTI et al., 2008; PIETTA, 2000).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Obter extrato seco padronizado da *Aspidosperma pyrifolium* e da *Aspidosperma macrocarpum*.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter extrato hidroalcoólico das folhas de *A. pyrifolium* e da casca do caule da *A. macrocarpum*;
- Secar o extrato hidroalcoólico de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium* por atomização em *Spray dryer*;
- Caracterizar os extratos seco e atomizado através de espectroscopia na região do infravermelho;
- Obter o perfil termo analítico por Termogravimetria (TG);
- Determinar a uniformidade das partículas secas através da avaliação da distribuição, do tamanho e da morfologia;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico e do pó atomizado das espécies estudadas.

4. METODOLOGIA

O estudo fitoquímico e a avaliação da atividade antioxidante foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) e o processo de atomização por *Spray dryer*, no Laboratório de Tecnologia e Controle de Medicamentos (LabTCoM).

4.1 Solventes, Materiais e Equipamentos

- Os extratos foram preparados em percolador de aço inoxidável;
- Os solventes utilizados (hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol e metanol) apresentavam grau P. A. ou grau comercial, sendo estes destilados no laboratório;
- Para a concentração das soluções de grande volume usou-se evaporador rotatório (BÜCHI, Modelo R-210) e para as de pequeno volume, capela de exaustão (Permutation), à temperatura;
- Nas cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se cromatofolhas de sílica gel 60 F₂₅₄ da Merck;
- As placas cromatográficas foram reveladas sob irradiação de luz ultravioleta em comprimentos de onda 254 e 356 nm ou borrifadas com solução ácida de sulfato cérico;
- As pesagens foram efetuadas em balança eletrônica analítica (Modelo AX 200) e semianalítica, das marcas Shimadzu e Bel, respectivamente.

4.2 Coleta e identificação do material vegetal

A espécie *A. macrocarpum* foi coletada em novembro de 2007, na cidade de Planaltina-GO e identificada pelo botânico Dr. José Elias de Paula, da Universidade de Brasília, onde uma exsicata [No. JEP 3767 (UnB)] encontra-se depositada. Enquanto que a *A. pyriformium* foi coletada em outubro de 2001, na cidade de São José da Tapera-AL e identificada pelo botânico Dr. José Elias de Paula, da Universidade de Brasília, onde uma exsicata [No. JEP 3686 (UnB)] também encontra-se depositada.

4.3 Obtenção do extrato

Para a obtenção do material atomizado por *Spray dryer* foram selecionadas as folhas de *A. macrocarpum* e a casca de caule de *A. pyrifolium*. Tal escolha foi motivada devido à estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa que demonstraram atividades biológicas, como foi demonstrado com as folhas de *A. macrocarpum* (AQUINO, 2012), ou ainda estão em fase de avaliação em relação à casca do caule de *A. pyrifolium*.

As folhas de *A. macrocarpum* foram secas utilizando estufa com circulação de ar mantida a 40°C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas, utilizando moinho de facas. Em seguida o pó obtido foi submetido à 3 ciclos de 72 horas em percolador, utilizando etanol 90% e temperatura ambiente. Após isso ele foi levado ao rota-evaporador à 40°C de onde obtivemos o extrato bruto hidroetanólico.

A casca do caule da *A. pyrifolium* foi submetida à secagem em estufa a 40°C por 72 horas e posteriormente à trituração. O material foi submetido à extração com 20 L de etanol 90% em percolador, à temperatura ambiente por 96 h. O extrato obtido foi concentrado sob pressão reduzida, em evaporador rotatório, fornecendo o extrato bruto hidroetanólico.

4.4 Análise fitoquímica (MATOS, 1997).

A prospecção fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Matos (1997), com a finalidade de identificar as classes dos componentes presentes na planta e possibilitar uma possível comparação com os dados presentes na literatura. Os testes qualitativos e semi-quantitativos realizados abrangeram ensaios para antocianinas, antocianidinas, flavanoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas, esteroides, triterpernos, saponinas, alcaloides, antraquinonas, antronas, cumarinas, fenóis e taninos.

4.4.1 Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonoides

O extrato bruto foi avaliado quanto a presença de antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Solubilizou-se 3 mg do material em 3 mL de EtOH. Preparou-se três tubos de ensaio para cada amostra. O pH do tubo 1 foi ajustado para 3 com HCl 3 M. Os tubos 2 e 3 foram alcalinizados a pH 8,5 e pH 11 com NaOH 1 M. As mudanças de coloração observadas foram interpretadas segundo o quadro 3, onde as colorações demonstradas em cada pH representam o aspecto a ser observado quando ocorre positividade para o metabólito secundário.

Quadro 3. Colorações indicativas para a presença de antocianinas e antocianidinas, flavonas, flavonóis e xantonas, chalconas e auronas, flananonóis.

Metabólitos	Coloração observada		
	pH 3	pH 8,5	pH 11
Antocianinas e antocianidinas	Vermelho	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-		Amarela
Chalconas e auronas	Vermelho		Vermelho purpúreo
Flananonóis	-		Vermelho alaranjado

Fonte: (Modificado de MATOS, 1997)

4.4.2 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas, Flavanonas

Dois tubos foram numerados. O pH do primeiro foi ajustado para pH 2 pela adição de HCl 1M e o segundo tubo foi alcalinizado com NaOH 1M até pH 11. Os tubos foram aquecidos por 3 minutos. As mudanças de coloração observadas foram interpretadas segundo o quadro 4.

Quadros 4. Colorações indicativas para a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.

Metabólitos	Coloração observada	
	pH 2	pH 11
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas	Pardo-amarelada	-
Flavanonas	-	Vermelho alaranjado

Fonte: Modificado de MATOS, 1997

4.4.3 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Adicionou-se magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado a um tubo contendo a amostra. Aguardou-se o fim da reação indicada pelo fim da efervescência e observou-se a mudança da coloração da mistura reacional. O aparecimento ou a intensificação de cor vermelha indica a presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou na forma de heterosídeos.

4.4.4 Teste para esteroides e triterpenos (Lieberman-Burchard)

Uma alíquota do extrato foi diluída em 2 mL de CHCl_3 e filtrada em funil coberto com NaSO_4 anidro para retirada da água residual. Ao tubo de ensaio contendo esta solução foi adicionado 1 mL de anidrido acético e, depois de agitação branda, adicionou-se H_2SO_4 concentrado. Depois de nova agitação se observou o aparecimento de coloração. Coloração azul evanescente seguida de verde permanente indica a presença de esteroides livres. Coloração de parda até vermelha indica triterpenos pentacíclicos livres.

4.4.5 Teste para saponinas

O resíduo insolúvel em clorofórmio do teste anterior foi separado, dissolvido em 10 mL de água destilada e filtrado para um tubo de ensaio. O tubo foi vigorosamente

agitado e foi observado se ocorreu a formação de espuma. Aparecimento de espuma persistente e abundante é indicativo da presença de saponinas.

4.4.6 Teste com reagente de Dragendorff

O extrato foi submetido ao teste com reagente de Dragendorff para avaliação da presença de alcaloides. O teste é qualitativo e indica a presença de alcaloides pela formação de um precipitado vermelho-alaranjado.

4.4.7 Teste para antraquinonas, antronas e cumarinas

Os testes para antraquinonas, antronas e cumarinas foram realizados em placa de CCD. Os extratos foram solubilizados em metanol, aplicados na placa de CCD e eluídos com uma mistura $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1). Após a eluição, borrifou-se KOH a 10%, esperou-se secar e observou-se a presença das cores indicativas em luz ultravioleta no comprimento de onda de 365 nm. O surgimento de coloração azul é indicativo de cumarina, enquanto que a coloração vermelha é indicativa de antraquinona e cor amarela indica a presença de antronas.

4.4.8. Teste para fenóis e taninos

A um tubo contendo 3 mL da solução extrativa adicionou-se três gotas de uma solução alcoólica de FeCl_3 . Após agitação, foi observado se houve variação de cor ou formação de precipitado. Coloração variável entre azul e vermelho indica a presença de fenóis. A formação de precipitado azul escuro indica a presença de taninos hidrolisáveis e de precipitado verde, a presença de taninos condensados.

4.5 Secagem em *Spray dryer*

O extrato bruto das folhas de *A. macrocarpum*, pesando 70,3g foi suspenso em erlenmeyer em uma solução etanólica a 50%. À esta suspensão foi adicionado 10%

de dióxido de silício coloidal (Aerosil®). O extrato bruto da casca de caule da *A. pyrifolium* (29,5g) foi submetido ao mesmo procedimento.

Para obtenção dos extratos secos foi utilizado *spray dryer* de escala laboratorial, o mini *spray dryer*, modelo B-290 (Buchi, Brasil) com regime de fluxo co-corrente e equipado com: sistema de alimentação de extrato, composto por bomba peristáltica e atomizador pneumático aquecido eletricamente e com temperatura regulada digitalmente, câmara de secagem cilíndrica de vidro, ciclone de vidro e frasco coletor de vidro. Os parâmetros utilizados para a realização da secagem foram: Temperatura de entrada: 160°C; Temperatura de saída 80°C; Aspirador: 80%; Alimentação: 33%.

4.6 Eficiência de secagem

A eficiência de secagem foi determinada dividindo-se a massa obtida no processo de secagem por nebulização pelo valor da massa do extrato hidroalcoólico somado à massa do adjuvante acrescentado e multiplicando o resultado por 100.

4.7 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em aparelho Varian 660-IR/FT-IR pela técnica de ATR.

4.8 Análises térmicas

Para obtenção da curva termogravimétrica (TG) e de sua derivada do extrato atomizado e do extrato bruto das espécies de *Aspidosperma* estudadas, as amostras foram transferidas para um cadinho de platina e submetidas ao aquecimento na faixa de 20-800 °C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio de 20 mL/min e utilizando a taxa de aquecimento de 20 °C/min, sendo utilizado para isto o analisador térmico Shimadzu, modelo DTG-60, localizado no Laboratório de Síntese e Catálise (LsCAT) da Universidade Federal de Alagoas.

4.9 Determinação do pH

A determinação do pH das amostras foi realizado através de amostras de 10,0 ml em dispersões em água destilada na proporção 1:10 em triplicata. O equipamento foi calibrado com padrões de pH 4 e 7 a 25 ± 1 °C. O eletrodo foi submerso nas soluções até a estabilização do valor de pH. O equipamento pHmeter, modelo PHS-3B, da PHTEK foi utilizado para as análises.

4.10 Determinação do teor de cinzas totais

Cerca de 3 g do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium* foram pesados em cadinhos de porcelana, previamente calcinados em forno mufla, resfriados e pesados. As amostras foram incineradas seguindo o seguinte processo de aquecimento: 200 °C por 30 min, 400 °C por 60 min e 600 °C por 90 min, após isso foram resfriadas em dessecador sob vácuo e pesadas. A operação foi repetida até a obtenção de pesos constantes (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988). O teor de cinzas totais (Ct) foi calculado como percentual pela média de três determinações segundo a equação 1;

Equação 1:

$$Ct (\%m/m) = mra_2/mra_1 \times 100$$

onde:

mra_2 = massa do recipiente mais amostra pós aquecimento; mra_1 = massa do recipiente mais amostra antes do aquecimento.

4.11 Determinação da perda por dessecação

O teor de umidade baseou-se na perda por dessecação, onde cerca de 3 g de pó das amostras de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium* foram pesados em pesa-filtros, previamente dessecados por 30 min em estufa a 105° C, utilizando-se balança analítica. As amostras foram submetidas a aquecimento em estufa a 105° C durante três horas, seguidos de resfriamento em dessecador e pesagem. A operação foi repetida até a que foi obtido um peso constante. O resíduo seco foi calculado como percentagem de massa (BRASIL, 2010).

4.12 Análise Granulométrica

Para a determinação da granulometria foram utilizados tamises de aço inoxidável de numerações 42 (355 μm), 60 (250 μm), 80 (180 μm), 100 (149 μm), 120 (125 μm) e 200 (74 μm). O conjunto de tamises foi montado com o de maior abertura sobre o de menor. A agitação foi feita em equipamento em agitador eletromagnético Produtest. O reostato foi ajustado para a vibração máxima (10). A agitação ocorreu por 15 minutos a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. O percentual retido em cada tamis foi calculado segunda à equação 1.

Equação 1

$$\% \text{ Retida} = \text{Mr}/\text{Mt} \times 100$$

onde:

Mr = Massa da amostra retida em cada tamis (em gramas);

Mt = Massa total depositada no tamis de maior abertura (em gramas);

100 = Fator de porcentagem.

4.13 Avaliação do ângulo de repouso (Modificado PARTHIRANA; GUPTA, 1976)

A determinação do ângulo de repouso ocorreu através do escoamento dinâmico das amostras analisadas. Após o escoamento total do pó, foram realizadas as medidas e o ângulo de repouso (α) foi calculado através de sua tangente, conforme a equação 2 demonstrada abaixo. Os resultados expressam a média de três determinações, utilizando-se 10 ml de cada amostra.

$$\text{Equação 2} \quad \text{tg } \alpha = \frac{h}{r}$$

onde, α = ângulo de repouso; tg = tangente; h = cateto oposto; r = cateto adjacente do triângulo.

4.14 Determinação das densidades brutas e de compactação, fator de Hausner, índice de Carr e de densificação (Modificado VOIGT, 2005)

As densidades brutas e de compactação foram determinadas por compactação, onde 10g do pó, pesados previamente, foram vertidos em uma proveta e submetidos à quedas sequenciais (10 e 500). Com os dados obtidos, foram calculados o fator de Hausner, índices de Carr e de densificação, segundo as equações 3, 4 e 5, respectivamente.

$$FH = \frac{dc}{db} \quad (3) \qquad IC = \frac{db-dc}{dc} \times 100 \quad (4) \qquad ID = V_{10} - V_{500} \quad (5)$$

onde, FH = fator de Hausner; db = densidade bruta (g/ml); dc = densidade de compactação (g/ml); IC = índice de compressibilidade; ID = índice de densificação; V_{10} = volume do pó, após 10 quedas; V_{500} = volume do pó, após 500 quedas.

4.15 Morfologia das Partículas através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia e aparência da superfície das partículas foram obtidas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV; Jeol, Modelo JSM-6460, Japão).. As amostras foram pulverizadas com o auxílio de um pincel para um molde metálico, que contém um carbono de duas faces adesivas ligado a ele. Posteriormente, as amostras foram recobertas com partículas de ouro. As amostras foram então analisadas utilizando o MEV, que foi operado em uma voltagem acelerante de 30 kV e as correspondentes imagens foram obtidas.

4.16 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos bruto e atomizado na concentração de 4,95 µg/mL foi determinada pelo método de captura do radical ABTS. O preparo do radical ABTS [2,2'- Azonobis (3-etilbenzotiazolina -6- ácido sulfônico)] foi realizado a partir da mistura de 5 mL de uma solução de ABTS 7 mM com 88 µL de persulfato de potássio 140 mM, que foi mantida no escuro, por 16 horas. Em seguida, a mistura reacional foi diluída com álcool etílico até atingir a absorvância de 0,70nm ± 0,05. O trolox foi utilizado como padrão. Diferentes concentrações foram usadas (100-4000 µM) para se obter a curva de calibração e a leitura foi realizada em λ 734 nm, usando etanol como branco para calibrar o espectrofotômetro (RUFINO et al., 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise fitoquímica

A partir do extrato bruto de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum* realizou-se uma análise fitoquímica preliminar a fim de avaliar, de forma qualitativa, as classes de metabólitos secundários presentes. Os quadro 5 e 6 apresentam os resultados obtidos na prospecção das espécies *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*, respectivamente.

Quadro 5. Prospecção fitoquímica do extrato da casca do caule de *A. pyrifolium*.

Teste	Resultado encontrado
Antocianinas	- Negativo
Antocianidinas	- Negativo
Flavonoides	- Negativo
Leucoantocianidinas	- Negativo
Catequinas	- Negativo
Flavononas	Variação de cor para laranja
Flavonóis	- Negativo
Xantonas	- Negativo
Esteroides e Triterpenos	+ Esteroides livres
Saponinas	- Negativo
Alcaloides	+Positivo
Antraquinonas	- Negativo
Antronas	- Negativo
Cumarinas	- Negativo
Fenóis e Taninos	+Positivo

Fonte: Autor, 2013

Quadro 6. Prospecção fitoquímica do extrato da casca do caule de *A. macrocarpum*.

Teste	Resultado encontrado
Antocianinas	- Negativo
Antocianidinas	- Negativo
Flavonoides	- Negativo
Leucoantocianidinas	- Negativo
Catequinas	- Negativo
Flavononas	-Negativo
Flavonóis	- Negativo
Xantonas	- Negativo
Esteroides e Triterpenos	+ Esteroides livres
Saponinas	+Positivo
Alcaloides	+Positivo
Antraquinonas	- Negativo
Antronas	- Negativo
Cumarinas	- Negativo
Fenóis e Taninos	+Positivo

Fonte: Autor, 2013

Estas análises fitoquímicas preliminares tiveram como objetivo o estabelecimento de quais metabólitos secundários estavam presentes no material vegetal intermediário, usando para isso reações de identificação.

Os resultados que foram obtidos através da abordagem fitoquímica para a detecção dos constituintes químicos dos extratos de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum* demonstraram a presença de alcaloides, taninos, flavononas, esteróides e triterpenos e saponinas conforme os quadros 3 e 4. A positividade para alcaloides e taninos na espécie *A. pyrifolium* corrobora os dados encontrados por outros estudos (GILBERT et al., 1965; WALSER; DJERASSI, 1961; PIACENT et al., 1999). Alcaloides do tipo monoterpenoindólico também foram isolados da casca de caule da *A. pyrifolium* (ARAÚJO-JUNIOR et al., 2007). Estudos com a casca do caule de *A. ramiflorum* (TANAKA et al., 2006) também demonstraram a presença de alcaloides do mesmo tipo de esqueleto.

Diversos alcaloides também já foram isolados a partir da espécie *A. macrocarpum*, corroborando os dados da prospecção (MITAINE et al., 1996 *apud* PEREIRA et al., 2007). A presença de esteroides e triterpenos também é confirmada pelo trabalho de Aquino em 2012, que estudando as folhas de *A. macrocarpum*, demonstrou a presença de tais metabólitos secundários (AQUINO, 2012).

5.2 Obtenção do extrato seco em *spray dryer*

Os extratos brutos de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum* foram utilizados para a obtenção de um produto farmacêutico intermediário na forma de pó através secagem por aspersão em *spray dryer*. O dióxido de silício coloidal (Aerosil®) foi escolhido nas duas formulações como adjuvante a ser adicionado durante o processo de secagem devido às características tecnológicas que confere ao produto, como o aumento no rendimento de secagem, diminuição da umidade residual e tendência à formação de partículas com tamanho uniforme (VASCONCELOS et al., 2005; CHAVES; DA COSTA; FREITAS, 2008; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Nas duas formulações os extratos foram solubilizados em uma solução etanólica a 50%, embora o extrato bruto de ambas as espécies tenha sido preparado utilizando etanol a 90%. Tal redução na concentração de etanol se faz necessário, uma vez que as temperaturas utilizadas no processo de secagem são elevadas. A tabela 2 descreve os rendimentos obtidos nas secagens dos extratos.

Tabela 2. Rendimento do processo de secagem dos extratos de *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*

Amostra				
<i>A. pyrifolium</i>	Extrato bruto	Dióxido de silício	Extrato seco	Rendimento
	(g)	coloidal (g)	(g)	(%)
	29,52	2,952	15,75	48,62
<i>A. macrocarpum</i>	Extrato	Dióxido de silício	Extrato seco	Rendimento
	bruto (g)	coloidal (g)	(g)	(%)
	70,3	7,03	60,03	77,62

O rendimento do processo de secagem apresenta grande variação, a depender do tipo da amostra e dos parâmetros estabelecidos. O rendimento elevado da *A. macrocarpum* pode ser explicado pelas características da amostra como pelo baixo teor de sólidos encontrado na amostra de *A. pyrifolium*. O teor de sólidos solúveis da amostra de *A. macrocarpum* foi elevado, o que explica parcialmente uma maior porcentagem de partículas maiores, como verificado pela distribuição granulométrica. O maior diâmetro das partículas também pode explicar o alto rendimento da secagem, pois a perda de material pelo processo de exaustão no *Spray dryer* é reduzido, aumentando assim o rendimento do processo como um todo (SENNA et al., 1997).

Ambos os resultados encontram-se de acordo com os dados obtidos na literatura em amostras de produtos naturais secos por *spray dryer*. Bassani e colaboradores realizaram a secagem de extratos de *Achyrocline satureioides* (Lam.), utilizando parâmetros semelhantes aos utilizados no presente trabalho obtendo-se um rendimento médio de 76% (BASSANI et al., 1997); Gallo e colaboradores, por sua vez, obtiveram rendimentos que variaram desde 55,45% a 85,70% quando realizaram a secagem de extratos de *Rhamnus purshiana* (GALLO et al., 2011). Vuong e colaboradores obtiveram rendimentos que variaram de 26.7 à 48.4 %, a depender das temperaturas de saída de secagem utilizadas (VUONG et al., 2012).

Em estudo recente, Yatsu e colaboradores obtiveram um rendimento de 67% na secagem de extratos de *Ilex paraguariensis* (YATSU; BORRHETTI; BASSANI, 2011). Vasconcelos e colaboradores (2005), realizando a secagem por aspersão de

extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), obtiveram rendimentos variados, desde 43,70% até 89,30% (VASCONCELOS et al., 2005).

5.3 Caracterização dos extratos atomizados em *spray dryer*

5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho é muito útil na caracterização dos grupos funcionais de compostos orgânicos, sejam puros ou em misturas complexas. Além desta função, esta técnica pode auxiliar na avaliação da qualidade do produto obtido na secagem por aspersão. As figuras 4 e 5 comparam o espectro do extrato bruto (preto) e do extrato atomizado (vermelho) das espécies *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*, respectivamente.

Figura 4: Comparação entre os espectros do extrato bruto (em preto) e do extrato atomizado (em vermelho) de *A. macrocarpum*.

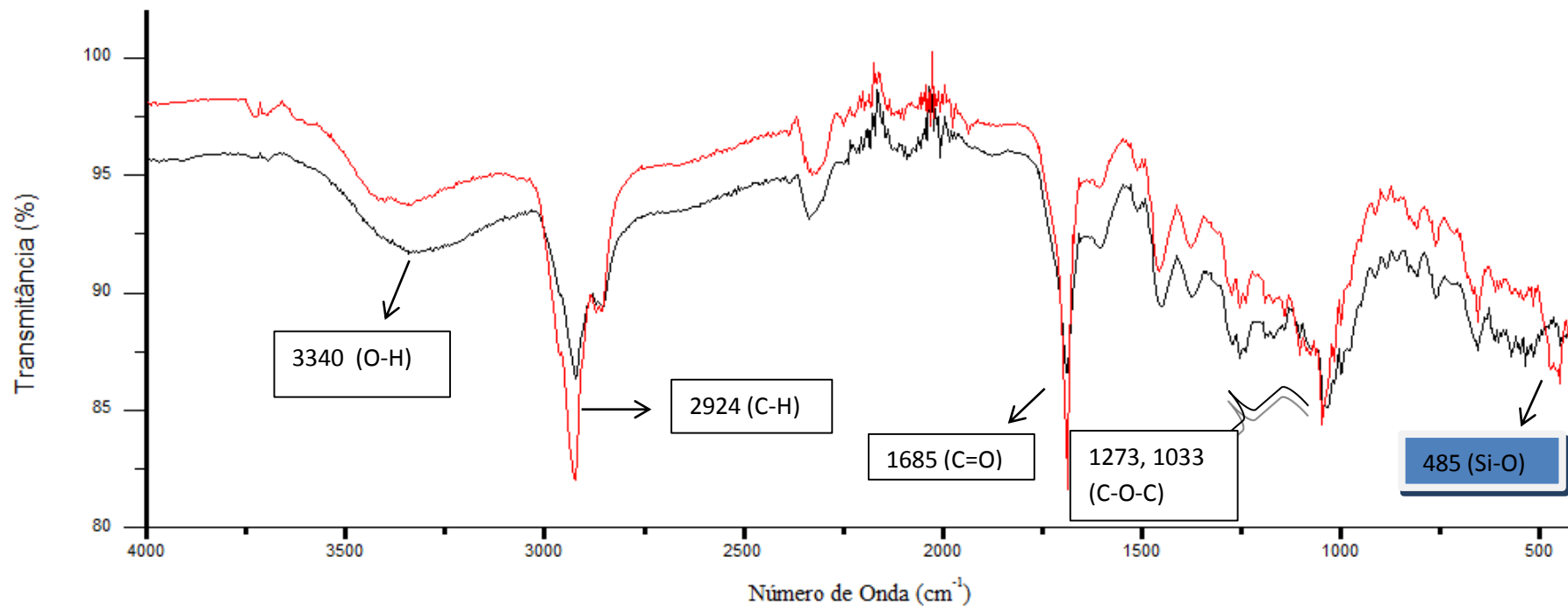
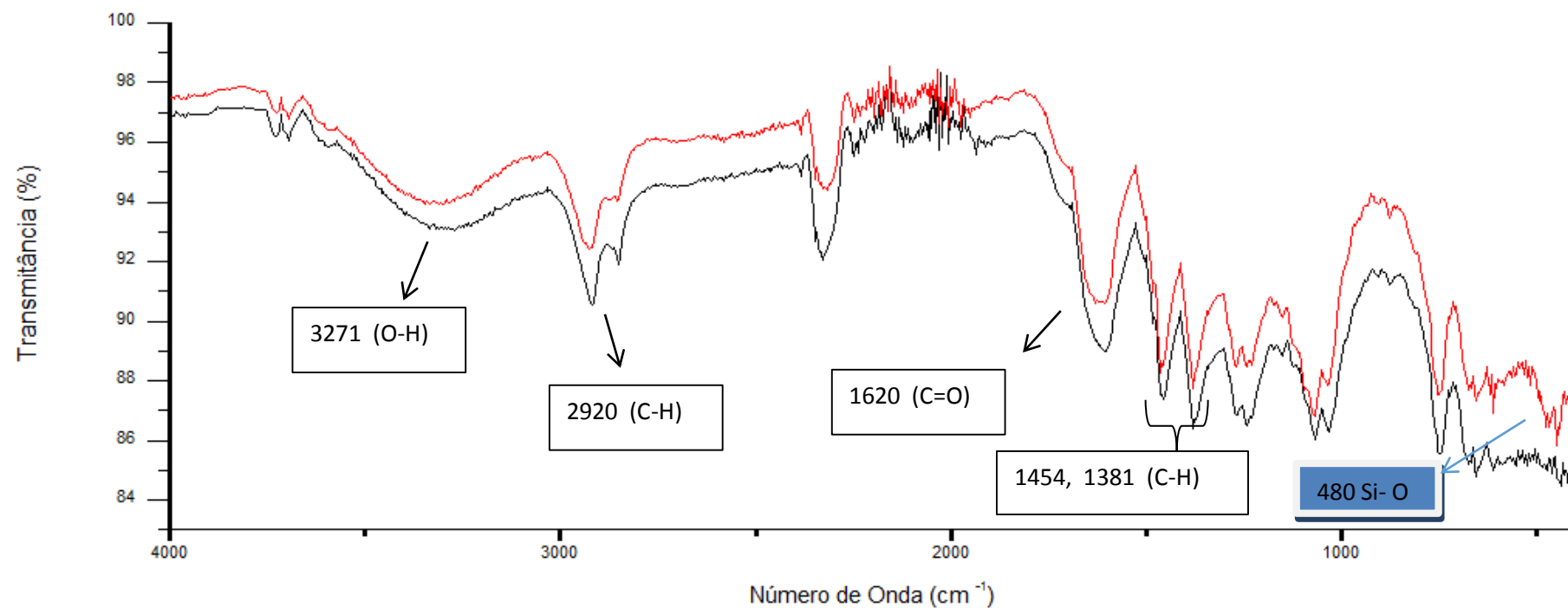


Figura 5: Comparação entre os espectros do extrato bruto (em preto) e do extrato atomizado (em vermelho) de *A. pyrifolium*.



O infravermelho contribuiu como uma técnica de caracterização dos extratos brutos e das formas atomizadas, bem como na comprovação de que não houve degradação ou interferência dos excipientes na preparação da forma seca por *Spray dryer*. Uma vez que os extratos analisados são constituídos de inúmeras substâncias, as absorções apresentadas nos espectros não são características de uma estrutura em especial ou de um grupo de metabólitos secundários, mas servem como indícios da presença dos tais nas amostras analisadas.

De forma geral, os espectros dos extratos fluidos e secos foram semelhantes, demonstrando desta forma a estabilidade da amostra após o processo de secagem. Ambos os espectros das duas amostras apresentaram absorções na região de 3500 - 3200 cm^{-1} , fato este que indica a presença de ligações de hidrogênio presentes nos grupamentos OH nas amostras. Embora os espectros sejam originados de uma mistura de compostos, algumas absorções na região entre 1260-1030, podem ser atribuídas às ligações C-O e C-O-C. Absorções entre 1700-1600 também foram verificadas em ambas as amostras, sugerindo assim a presença de carbonilas. As absorções encontradas na região de 1100 - 1300 cm^{-1} , que são características de éteres, sugerem a presença de uma variada classe de metabólitos secundários. (LOPES; FASCIO, 2004; SILVA et al., 2006).

Quando analisado os espectros da espécie *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium* verificamos a presença de um estiramento na região de 3323 e 3307 cm^{-1} nos extratos brutos de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*, respectivamente. E 3364 e 3328 cm^{-1} nos extratos atomizados de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*, respectivamente. Tal estiramento é decorrente da presença de grupamentos hidroxila nas amostras. As vibrações de deformação axial de hidroxilas livres ocorrem entre 3650 - 3584 cm^{-1} , ocorrendo o aparecimento de tais bandas em frequências mais baixas quando existem ligações de hidrogênio (3550 - 3200 cm^{-1}), corroborando os valores encontrados (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

Em relação à espécie *A. macrocarpum*, tais estiramentos podem pertencer às estruturas dos esteroides campesterol, stigmasterol e sitosterol, compostos que já foram isolados desta espécie (AQUINO, 2012). Podem ainda pertencer à estruturas de alcaloides como o capsanol, que também já foi isolado desta mesma espécie (MITAINE et al., 1996). Os dados da prospecção química corroboram esta possibilidade, uma vez que indicaram a presença desses metabólitos secundários.

Quando analisamos a espécie *A. pyriformium*, os estiramentos citados podem ser decorrentes da presença de alcaloides na amostra, o que também é sustentado pela positividade na prospecção química para estes compostos. O alcaloide indólico refractidina foi isolado desta espécie (GILBERT et al., 1965).

O estiramento correspondente à ligação C=O ocorre de forma geral na em uma frequência de absorção de 1715 cm^{-1} , quando analisada uma cetona livre. Porém alguns fatores podem levar à uma redução desta frequência de absorção. Tais como, o uso de solventes polares, a presença de heteroátomos próximos à ligação C=O e a conjugação com ligações duplas (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

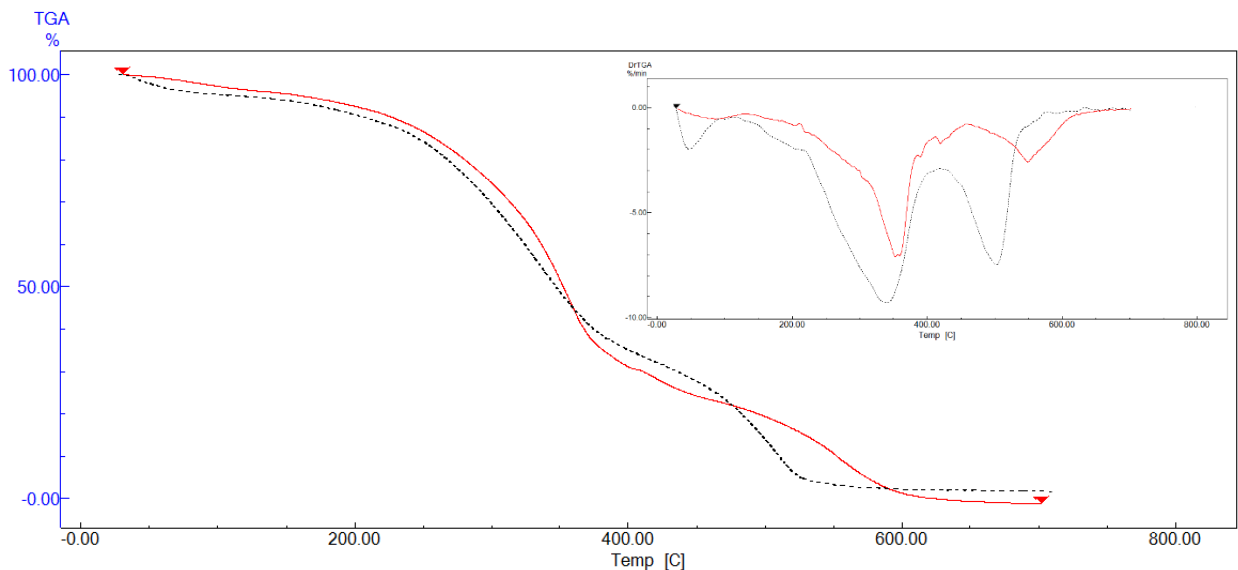
Nas amostras analisadas, foram observados valores de 1685 e 1620 cm^{-1} nas frequências de absorção dos extratos bruto de *A. macrocarpum* e *A. pyriformium*, respectivamente. Valores estes que praticamente se repetiram quando analisado o espectro dos extratos atomizados destas espécies. Em relação à *A. macrocarpum*, é relatado na literatura o isolamento dos alcaloides vincadiformina (estrutura 5, Quadro. 1) e copsonona (estrutura 28, Quadro. 1), (MITAINE et al., 1996) os quais apresentam a presença de ligação dupla conjugada com a carbonila e presença de heteroátomo, respectivamente, justificando o menor valor de absorção de frequência na amostra *A. macrocarpum*. De forma semelhante, o alcaloide N-formilaspidofractinina (estrutura 3, Quadro 1) e a acumicina (estrutura 8, Quadro 1), que já foram isolados da espécie *A. pyriformium* (MITAINE et al., 1996) demonstram a presença de heteroátomo próximo ao grupamento carbonila e de dupla ligação conjugada.

A absorção verificada em 450 cm^{-1} apenas nas amostras dos extratos atomizados é decorrente da utilização do dióxido de silício coloidal nestas amostras. A absorção verificada na região de 3200 cm^{-1} demonstra a não interferência do dióxido de silício, nesta concentração de 10%, na caracterização do extrato por esta técnica. Uma vez que o dióxido de silício coloidal apresenta uma banda larga em $3700\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ (Si–O–H), uma banda de baixa intensidade em $1740\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ (Si=O) e uma banda larga e de alta intensidade próximo a 1100 cm^{-1} (LONGHINI, 2006; LOPES; FASCIO, 2004; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

5.3.2 Análises térmicas

Com o objetivo de analisar a estabilidade térmica dos extratos brutos em comparação com seus extratos atomizados, foi realizada a termogravimetria dos mesmos. Uma vez que a temperatura influência de forma significativa nos métodos de extração e manipulação dos produtos naturais, interferindo bastante na estabilidade química e física do produto obtido, é importante fazer uso de técnicas térmicas analíticas como ferramenta de caracterização, bem como avaliação de sua estabilidade térmica (SU et al., 2008). O comportamento térmico do extrato bruto e do extrato atomizado de *A. macrocarpum* obtido através da análise termogravimétrica segue abaixo (Figura 6, Tabela 3).

Figura 6: Curvas termogravimétricas dos extratos bruto (preto pontilhado) e atomizado (vermelho) e suas derivadas em destaque no canto superior de *A. macrocarpum*



Fonte: Autor, 2013

Tabela 3. Etapas de perda de massa obtidas da curva termogravimétricas dos extratos bruto e atomizado de *A. macrocarpum*

Amostra					
Extrato atomizado	Etapas de decomposição térmica	1 ^a	2 ^a	3 ^a	Resíduos
	Temperatura (°C)	31-133	158-457	460-615	615-700
	Perda de massa (%)	3,9	71,6	23,0	1,5
Extrato bruto	Etapas de decomposição térmica	1 ^a	2 ^a	3 ^a	Resíduos
	Temperatura (°C)	27-114	118-415	422-600	600-700
	Perda de massa (%)	5,034	62,056	30,076	2,834

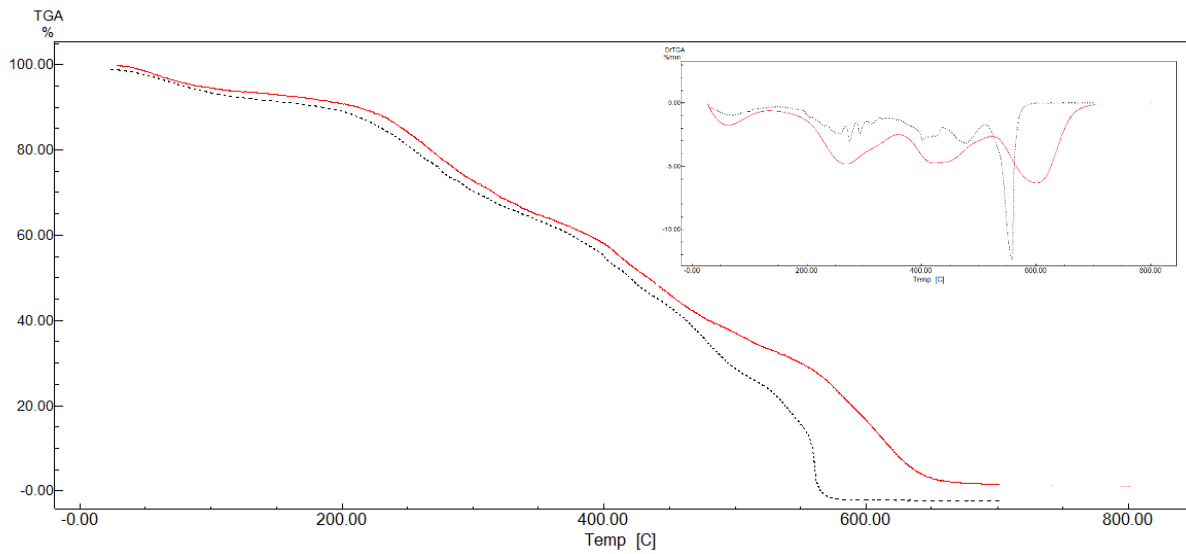
Fonte: Autor, 2013

Pela sobreposição das duas curvas termogravimétricas na figura 10, podemos notar uma maior estabilidade térmica referente à amostra atomizada, uma vez que a terceira etapa de degradação é prolongada em relação ao extrato bruto. Nas etapas anteriores, as duas curvas se comportaram de maneira semelhante, corroborando a tese que não ocorreu degradação dos metabólitos secundários durante a secagem em *Spray dryer*.

Foram verificadas três etapas de degradação térmica. A primeira perda de massa é referente à eliminação de água superficial e ocorre entre (27°C e 114°C) no extrato bruto e (31°C e 133°C) no extrato atomizado, com perda de massa de 5,0% e 3,92% nos extratos brutos e atomizado, respectivamente. Após esta etapa, a curva TG mostrou dois eventos térmicos distintos. O primeiro ocorreu entre 118-415°C (Extrato bruto) e 158-457°C (Extrato atomizado) com perda de massa de 62,0% e 71,6%, respectivamente. Aqui também pode ser verificada uma maior estabilidade do extrato atomizado, uma vez que sua degradação teve início após a degradação do extrato bruto e teve término de forma semelhante. Etapa esta que está relacionada à decomposição térmica dos metabólitos secundários e demais compostos orgânicos presentes na amostra.

A segunda etapa de decomposição térmica, que ocorreu entre 422-600°C no extrato bruto e 455-615°C no extrato atomizado, envolveu a perda de 36,0% e 23,0 % e correspondeu à queima do material carbonáceo formado na etapa anterior. A amostra residual corresponde ao dióxido de sílicio coloidal restante na amostra e ao conteúdo de minerais. No extrato bruto, o valor percentual de resíduos encontrado foi de 2,8. Enquanto que no extrato atomizado esse valor foi de 1,46%. Da mesma forma que realizado com os extratos de *A. macrocarpum*, a análise do comportamento térmico através de termogravimetria também foi realizada nos extratos brutos e atomizado de *A. pyriformium* (Figura 7, tabela 4).

Figura 7: Curvas termogravimétricas dos extratos bruto (preto pontilhado) e atomizado (vermelho) e suas derivadas em destaque no canto superior de *A. pyriformium*



Fonte: Autor, 2013

Tabela 4. Etapas de perda de massa obtidas da curva termogravimétrica dos extratos bruto e atomizado de *A. pyrifolium*.

Amostra							
Extrato bruto	Etapas de decomposição térmica	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	Resíduos
	Temperatura (°C)	25-130	175-346	358-440	441-511	511-594	600-700
	Perda de massa (%)	6,8	26,5	17,3	18,3	28,9	2,1
Extrato atomizado	Etapas de decomposição térmica	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	Resíduos	
	Temperatura (°C)	30-134	145-357	363-523	528-684	684-700	
	Perda de massa (%)	6,4	29,1	29,9	31,1	3,2	

Fonte: Autor, 2013

A diferença entre os comportamentos térmicos dos extratos bruto e atomizado podem ser atribuídas à presença do dióxido de silício coloidal presente no extrato atomizado.

De maneira semelhante, foram obtidas as curvas TG/DTG para a espécie *A. pyriformis*, em seu extrato bruto e atomizado. No caso do extrato bruto, a decomposição térmica ocorreu em cinco estágios. Enquanto que no extrato atomizado ocorreram quatro etapas de decomposição, onde a terceira etapa corresponde às etapas 3 e 4 do extrato bruto, ocorrendo uma estabilidade térmica, uma vez que essa degradação, correspondente à degradação do material carbonáceo, termina em torno de 15 C° a mais que o extrato bruto. O primeiro estágio (25-130°C) com $\Delta m = 6,8\%$ no extrato bruto e (30-134°C) com $\Delta m = 6,3\%$ no extrato atomizado é referente também à eliminação de água. Após tal etapa, as curvas TG/DTG demonstraram quatro eventos térmicos no extrato bruto e três etapas no extrato atomizado. As faixas de temperatura bem como as variações de massa obtidas em cada um dos estágios está demonstrada na tabela 4. Os estágios 2-4 (extrato bruto) e 2-3 (extrato atomizado) são referentes à decomposição térmica dos compostos presentes nos extratos, como os metabólitos secundários e materiais orgânicos, enquanto que a quinta etapa (extrato bruto) e quarta etapa (extrato atomizado) correspondem à queima do material carbonáceo formado nas etapas anteriores. No extrato bruto, o valor residual foi de 2,117%, enquanto que no extrato atomizado este valor foi de 3,209%.

Quando comparados os perfis termo analíticos, pode ser verificado que ocorre uma estabilidade térmica do extrato atomizado, uma vez que a última etapa de degradação é finalizada em torno de 100°C a mais quando comparado ao extrato bruto. Nas demais etapas de degradação analisadas, os extratos apresentaram perfis termo analíticos semelhantes. Tal similaridade sugere que elas possuam a mesma composição característica.

5.3.3 Determinação do pH do extrato atomizado

O pH é um fator de grande importância para a qualidade de medicamentos, influenciando na velocidade de reações químicas e no crescimento microbológico

(LIU et al., 2011). O pH do extrato atomizado foi determinado em solução a 10%. A tabela 5 relaciona os valores de pH avaliados.

Tabela 5. Valores de pH obtidos para soluções dos extratos atomizado de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*.

Ensaio	Amostra	Resultado; $\bar{X} \pm s$
pH (n=3)	<i>A. pyrifolium</i>	4,91 \pm 0,01
	<i>A. macrocarpum</i>	4,76 \pm 0,02

Fonte: Autor, 2013

O pH das duas amostras se mostrou levemente ácido. Este resultado é de fundamental importância para seu uso em uma futura formulação, bem como na escolha dos adjuvantes que possam ser utilizados, além de influenciar em sua estabilidade.

5.3.4 Determinação de perda por dessecação e do teor de cinzas totais

Os resultados obtidos para a perda por dessecação e teor de cinzas totais do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium* estão apresentados nas tabela 6 e 7 abaixo apresentadas.

Tabela 6: Perda por dessecação do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyrifolium*.

Teste	Amostra	Determinação %
Perda por dessecação	<i>A. macrocarpum</i>	5,01
	<i>A. pyrifolium</i>	6.56

Fonte: Autor, 2013

Tabela 7: Teor de cinzas do pó de *A. macrocarpum* e *A. pyriformium*.

Teste	Amostra	Determinação %
Teor de cinzas	<i>A. macrocarpum</i>	6,3
	<i>A. pyriformium</i>	8,2

Fonte: Autor, 2013

A análise da perda por dessecação é importante pois ele é um método que determina o teor de material volátil da planta à 105°C, sendo uma ferramenta fundamental na obtenção de informações relacionadas ao armazenamento da droga.

O resultado obtido no teste de perda por dessecação para as duas amostras ficaram abaixo de 7%, resultado adequado para produtos secos armazenados em condições não herméticas (LIST; SHMIDT, 1989). A variação entre as duas espécies é decorrente das próprias características individuais das espécies bem como ao comportamento das mesmas frente às condições de armazenamento. Este resultado é relevante pois fornece segurança frente à possibilidade de estabilidade microbiológica bem como à estabilidade química do produto

Na análise do teor de cinzas, verifica-se a presença de prováveis impurezas não orgânicas e não voláteis, caso seu valor seja maior que o preconizado pode ser indício de falhas no processamento pós-colheita ou na própria colheita em si. Os valores encontrados na avaliação do teor de cinzas ficaram bem acima dos valores de resíduos verificado pela termogravimetria, o que pode ter ocorrido em decorrência de limitações na própria técnica, uma vez que a termogravimetria é uma técnica mais sensível e específica.

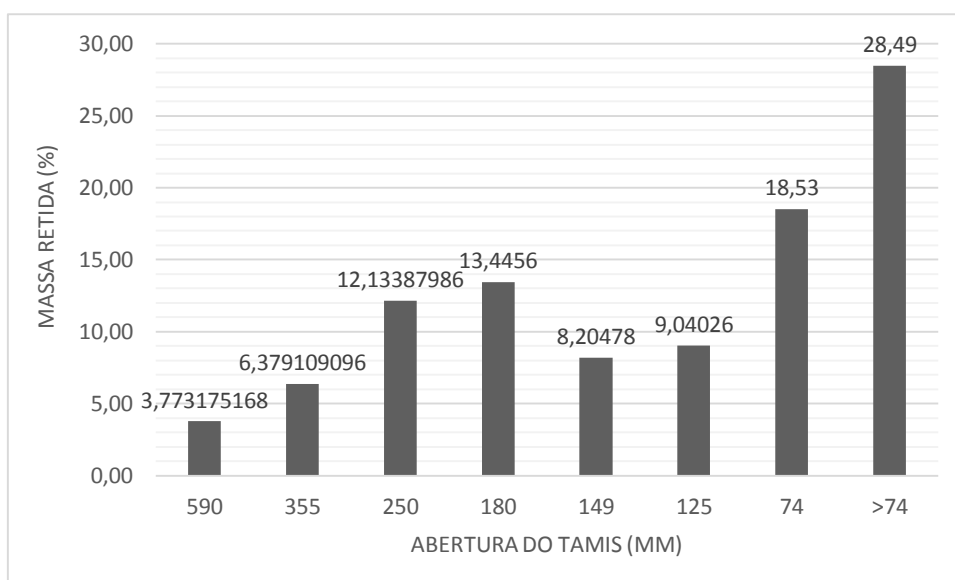
5.3.5 Análise Granulométrica

Como demonstrado na figura 8, a distribuição granulométrica das partículas de *A. macrocarpum* demonstrou que quase sua totalidade passou pelos tamises com abertura de 590 e 335 µm. Enquanto que cerca de 20% ficou retido no tamis de abertura de 74 µm e aproximadamente 30% do pó analisado passou pelo tamis mais fino utilizado (74 µm de abertura). A análise granulométrica do extrato atomizado de *A. pyriformium* (figura 9), demonstrou que uma quantidade de 5% ficou retida nos

tamises de abertura de 590 e 335 μm , enquanto que mais da metade do material seco ficou retido no tamis de menor abertura ou passou pelo mesmo, demonstrando assim uma característica esperada para pós que possam ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas. Nos dois extratos analisados, os perfis de distribuição granulométrica apresentaram um perfil bimodal de distribuição de partículas. O perfil bimodal de distribuição é de ocorrência esperada, dentre outras situações, quando trabalha-se com materiais de constituição diversa (ALTON, 2005). O fato de que os extratos analisados são constituídos por diversos metabólitos secundários, componentes estruturais e impurezas, justifica o perfil bimodal de distribuição.

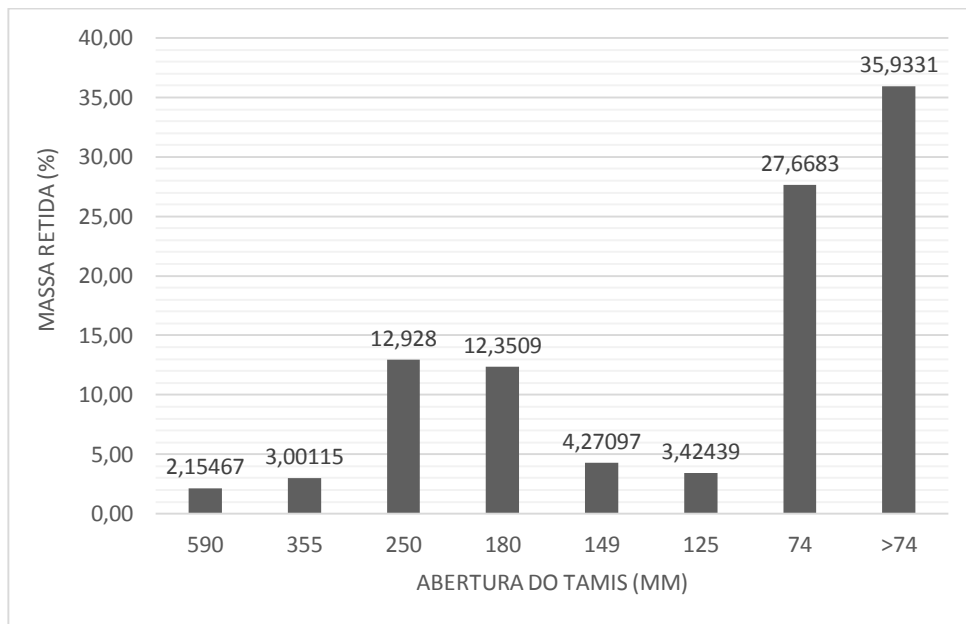
O fato de que, em ambas as espécies, uma boa quantidade, acima dos 30%, tenha passado pelo tamis com diâmetro de 74 μm encontra respaldo na literatura. Segundo Senna e colaboradores, quando utilizado atomização pneumática, aliado à adição de dióxido de silício coloidal como adjuvante, é esperado que o tamanho de partícula das amostras fique em torno de 60 μm (SENNA et al., 1997). Os dados obtidos através da análise granulométrica são importantes pois revelam aspectos sobre a superfície de contato do pó, sendo um aspecto essencial na escolha do solvente a ser usado em processos de extração (SANTOS et al., 2000). Além do mais, o tamanho reduzido apresentado pelos extratos é uma característica apreciável para futuras formulações terapêuticas.

Figura 8: Determinação da distribuição granulométrica do extrato atomizado de *A. macrocarpum*.



Fonte: Autor, 2013

Figura 9: Determinação da distribuição granulométrica do extrato atomizado de *A. pyrifolium*.



Fonte: Autor, 2013

5.3.6 Avaliação do ângulo de repouso (Modificado PARTHIRANA; GUPTA, 1976), determinação das densidades brutas e de compactação, fator de Hausner, índice de Carr e de densificação (Modificado VOIGT, 2005).

O Fator de Hausner (FH), Índice de Carr (IC) e índice de Densificação são parâmetros que se referem ao empacotamento do material analisado. De forma que o Fator de Hausner é caracterizado como um indicador indireto da estabilidade do empacotamento das partículas. A medida que o valor de tal parâmetro se aproxima de 1, a maior estabilidade do sistema é alcançada (THOMAS; POURCELOT, 1991). O índice de Carr, por sua vez, oferece informações referentes ao fluxo e ao empacotamento dos pós. Quanto menor seu valor, melhores são as características de fluxo e empacotamento do pó analisado. Enquanto que o Índice de Densificação se refere ao comportamento da amostra quando submetido ao movimento. Amostras com valores acima de 20 ml são caracterizadas como de boa fluidez (VOIGT, 2005).

A determinação do ângulo de repouso oferece informações de forma direta sobre o escoamento das amostras. Para fins de avaliação de resultado, as amostras que apresentam ângulo de repouso abaixo de 30° são caracterizadas como materiais de fluxo livre (HERZFELDT; SCHERER, 1987). A avaliação do ângulo de repouso só

foi possível para a amostra do extrato atomizado de *A. pyrifolium*, devido à inexistência de escoamento livre na amostra de pó atomizado de *A. macrocarpum*.

Os resultados dos extratos atomizados analisados estão representados na tabela 10:

Tabela 8. Características tecnológicas dos produtos secos por Spray drying.

Característica	A. <i>Pyrifolium</i>	A. <i>Macrocarpum</i>
Rendimento de secagem (%)	48,62	77,62
Características físicas	Pó vermelho, pouco aderente	Pó verde, aderente
Teor de umidade (%)*	3,92	6,37
Resíduos (%)*	3,02	1,5
Densidade bruta (g/ml)	0,52	0,26
Densidade de compactação (g/ml)	0,66	0,33
Fator de Hausner	1,26	1,26
Índice de Carr (%)	26,4	26,9
Índice de Densificação (ml)	1,2	1,7
Ângulo de repouso	23	nm**

* **Dados obtidos pela Termogravimetria (TG)**

**nm = não mensurável

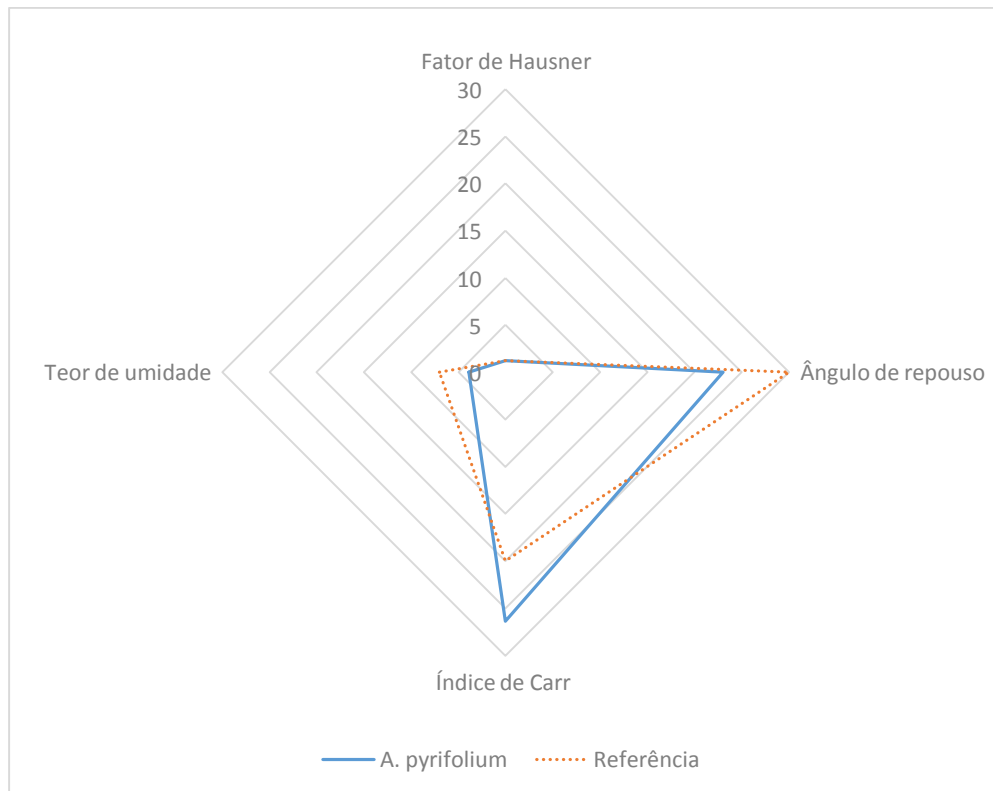
Fonte: Autor, 2013.

As figuras 10 e 11 demonstram os valores de diversas características das amostras em função dos valores esperados ou ideais para materiais particulados. O teor de umidade admitido para materiais secos acondicionados em condições não heméticas (7%) foi utilizado como referência (LIST; SHMIDT, 1989).

A partir dos dados demonstrados, as duas amostras podem ser classificadas como materiais de pobre empacotamento. Sendo que a amostra de *A. pyrifolium* demonstrou uma boa característica de fluxo, como pode ser verificado pelo ângulo de repouso. Chaves e colaboradores, realizando a secagem de *Tanacetum parthenium*, uma erva comercializada em todo o mundo para o tratamento da enxaqueca, obteve

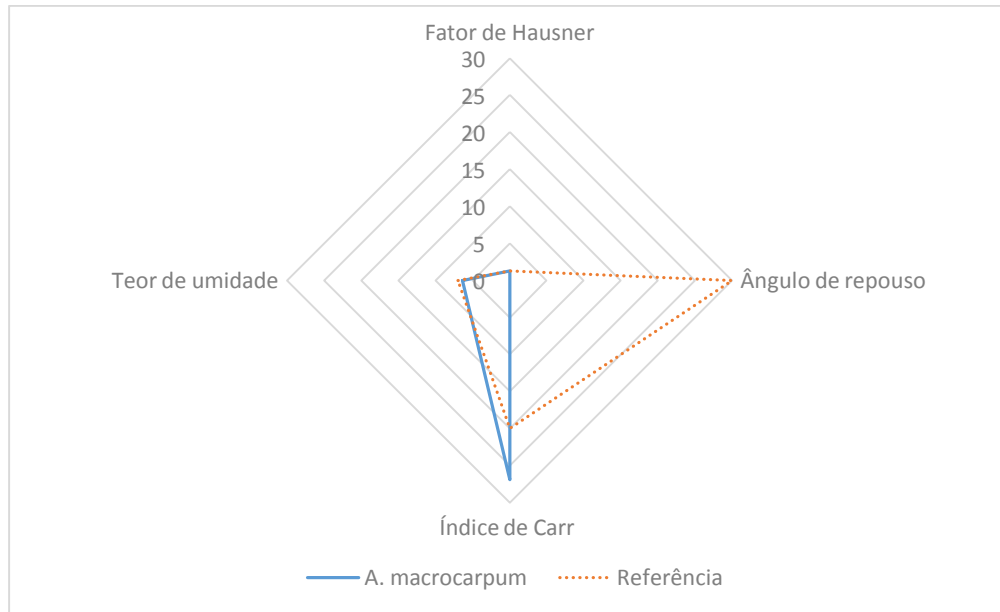
um ângulo de repouso de $35,7^\circ$ (CHAVES; DA COSTA; FREITAS, 2005). Em um estudo que teve como objetivo a preparação de micropartículas de diclofenaco de sódio, os parâmetros IC, FH e ângulo de repouso foram superiores aos encontrados com as espécies de *Aspidosperma* do presente estudo (RATTES; OLIVEIRA, 2007).

Figura 10. Características tecnológicas do extrato atomizado de *A. pyrifolium*



Fonte: Autor, 2013

Figura 11. Características tecnológicas do extrato atomizado de *A. macrocarpum*.



Fonte: Autor, 2013

5.3.7 Microscopia eletrônica de varedura

As amostras foram examinadas por MEV para determinar a presença de fraturas, rachaduras ou outros possíveis defeitos nas partículas que podem expor à degradação e oxidação do material. Nas figuras 12 e 13, pode ser verificado a presença de partículas semi esféricas, que mostraram dentes e superfícies rugosas, mas sem a evidencia de fraturas nos aumentos analisados. A obtenção de partículas com formas irregulares é esperada quando o material de partida é um produto natural (GALLO et al, 2011).

A existência de morfologias diversas e superfície irregular das amostras é decorrente da alimentação no equipamento, tamanho das gotas e a temperatura durante o processo de secagem das partículas (HANDSCOMB; KRAFT, 2010). Em algumas situações a contração da partícula seguida de expansão pode induzir mudanças no tamanho e forma da partícula, formando partículas em forma de concha quebrada (ALAMILLA-BELTRÁN ET AL., 2005). A forma típica das partículas submetidas a secagem por *spray dryer* é a forma esférica, com tamanho médio entre 10-100 μm (FANG; BHANDARI, 2010). No presente caso não foi verificado a presença de fraturas extensas nas amostras analisadas e nos aumentos ópticos obtidos pelo MEV, o que pode ser devido à baixa temperatura utilizada na secagem

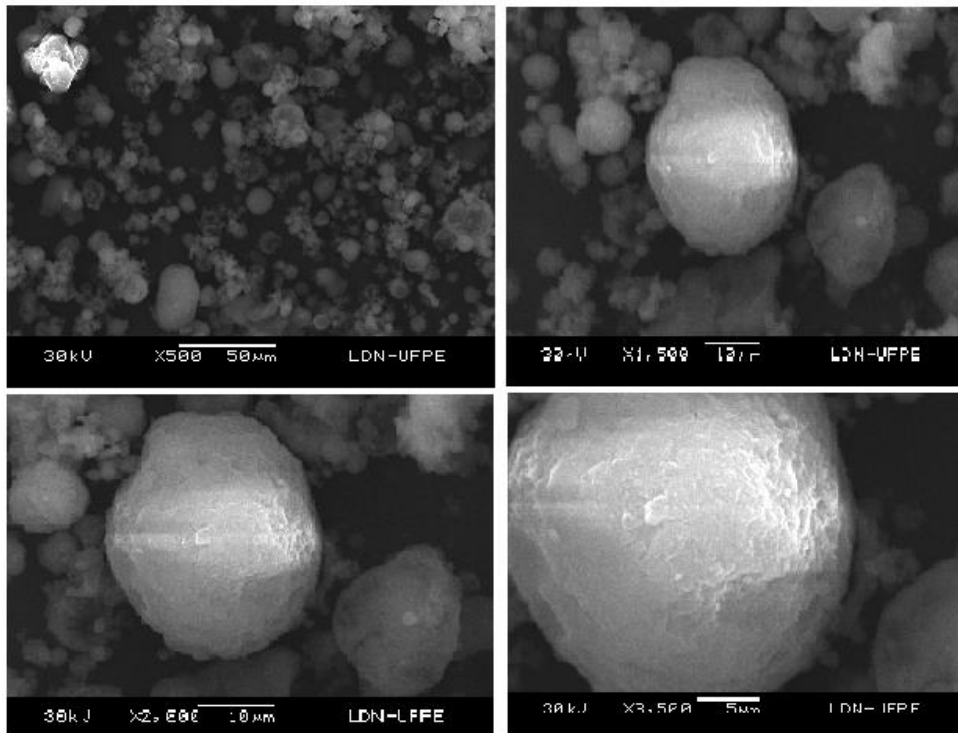
(JIMENES-AVALOS; RAMOS-RAMÍREZ; MONTOYA-SALAZAR, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Senna e colaboradores, realizando a caracterização do pó obtido através do extrato de *Achyrocline satureioides* (Lam.), utilizando condições de secagem semelhantes ao do presente estudo e o mesmo adjuvante, verificaram através de microscopia eletrônica de varredura a presença de partículas em forma esférica (SENNA et al., 1997). De forma semelhante, Chaves e colaboradores, realizando a secagem em *spray dryer* de extratos de *Tanacetum parthenium* L., utilizando condições operacionais semelhantes e o dióxido de silício coloidal como adjuvante obtiveram partículas em forma esférica (CHAVES; DA COSTA, FREITAS, 2009).

Oliveira, realizando a secagem por atomização de *Maytenus ilicifolia*, verificou que as partículas obtidas na secagem apresentavam aspecto rugoso (OLIVEIRA, O. W, 2009), tal diferença pode ser decorrente do tipo de adjuvante utilizado e dos parâmetros utilizados no processo de secagem. Por outro lado, a irregularidade na forma das partículas pode ser desejável em termos de dispersibilidade e melhor reidratação do pó seco (PEREZ-ALONSO et al., 2009).

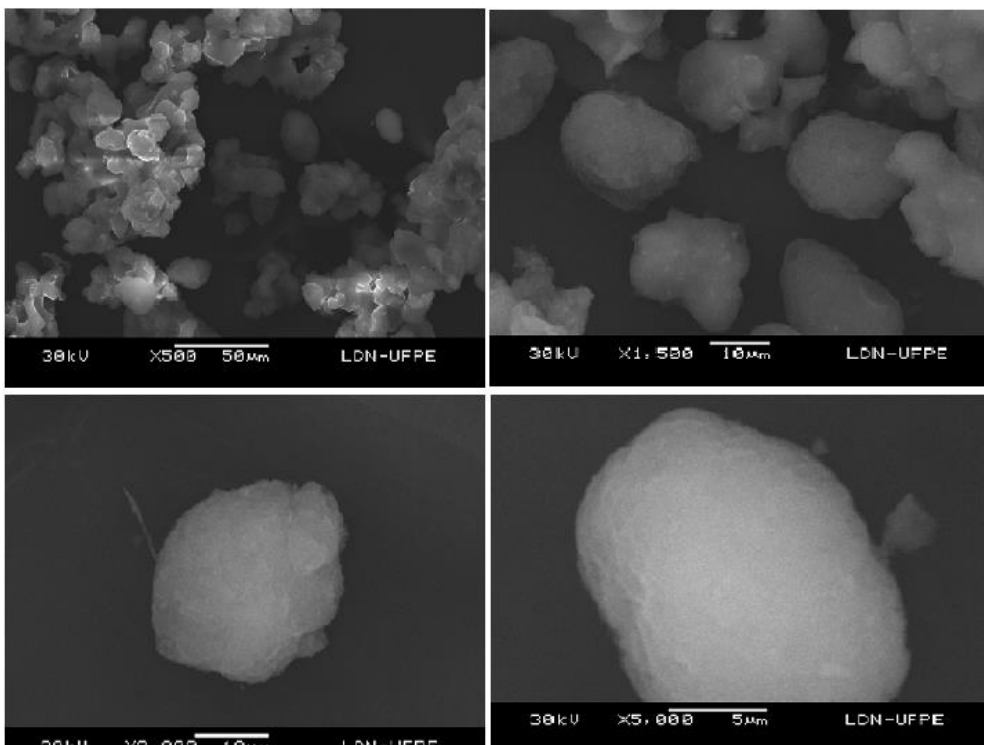
ALAMILLA-BELTRAN e colaboradores verificaram que a presença de poros e rachaduras nas amostras é mais frequente quando utilizadas temperaturas próximas à 100°C no parâmetro temperatura de entrada. As melhores condições de secagem foram verificadas (170°C de entrada e 145°C de saída) originaram partículas sem tais deformações em sua superfície (ALAMILLA-BELTRÁN et al, 2005).

Figura 12: Fotomicrografias do produto seco *A. macrocarpum* (X500; X1500; X 2000; X3500).



Fonte: Autor, 2013

Figura 13: Fotomicrografia do produto seco de *A. pyrifolium* (X500; X1500; X 2000; X5000).



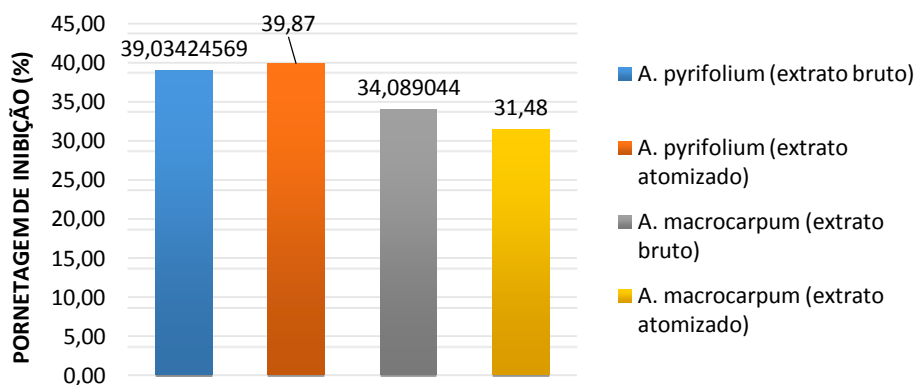
Fonte: Autor, 2013

5.3.8 Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS (RUFINO et al., 2007)

A figura 14 mostra a percentagem de inibição equivalente a cada uma das amostras.

Os extratos bruto ($39,03 \pm 1,8\%$) e atomizado ($39,87 \pm 2,3\%$) de *A. pyrifolium* apresentaram atividade antioxidante semelhantes, como pode ser verificado pelo percentual de inibição do radical ABTS mostrado no gráfico 14, com o extrato atomizado apresentando percentual um pouco maior que o do extrato bruto, demonstrando assim que não houve degradação considerável dos compostos responsáveis pela atividade antioxidante durante o processo de secagem. Dados semelhantes foram obtidos em relação à *A. macrocarpum*, porém com o extrato bruto ($34,09 \pm 1,5\%$) apresentando o percentual de inibição levemente superior que o extrato atomizado ($31,48 \pm 1,7\%$), corroborando a idéia de que o processo de secagem não gera uma degradação dos princípios ativos da planta.

Figura 14: Percentagem de inibição do radical ABTS para *A. pyrifolium* e *A. macrocarpum*.



Fonte: Autor, 2013

Em um estudo verificando a microencapsulação de *Capsicum annuum L.*, através da técnica de *spray dryer*, foi demonstrado que a atividade antioxidante do produto final permanecia com 76-80% da atividade antioxidante do extrato inicial. Sendo também demonstrado que a perda da atividade antioxidante foi proporcional

ao tempo e temperatura utilizados no processo de extração dos óleos essenciais do extrato (GUADARRAMA-LEZEMA, et al., 2012).

Além da percentagem de inibição, os dados foram aplicados à curva de calibração do padrão e a atividade foi avaliada em função deste, como μmol de trolox por grama de extrato (Tabela 11).

Tabela 9. Comparação dos dados de atividade antioxidante (em mmol de eq. Trolox/g de amostra) com a literatura.

<i>A. pyrifolium</i>		<i>A. macrocarpum</i>		Literatura
Extrato Bruto	Extrato Atomizado	Extrato Bruto	Extrato Atomizado	Quercetina ¹
3,06	3,13	2,66	2,45	4,7

¹ PIETTA, 2000

A tabela 11 evidencia os valores encontrados para as amostras estudadas. Comparando-as com a quercetina, que avaliada em relação ao seu potencial antioxidante, por Pietta e colaboradores (2000) apresentou um valor de 4,7 mmol de equivalente trolox por grama de amostra. No mesmo estudo, Pietta demonstrou a atividade antioxidante do campeferol, o qual foi de 1,34 em equivalente de trolox (PIETTA, 2000). Dessa forma, nossas amostras apresentaram um potencial superior ao da campeferol, o qual conhecidamente apresenta um alto potencial antioxidante. Tal resultado pode ser explicado pela presença de metabólitos que apresentam atividade antioxidante, como polifenóis.

Vellosa e colaboradores analisando o potencial antioxidante de extratos de *Maytenus ilicifolia*, verificou que os mesmos apresentaram valores superiores ao do padrão trolox, resultado esse atribuído à possível presença de polifenóis e flavonoides nas amostras estudadas (VELLOSA et al., 2006).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O produto seco apresentou rendimento de valor intermediário à alto, estabilidade térmica adequada, com baixa umidade residual e tamanho de partícula reduzido;
- A espectroscopia na região do infravermelho indicou que as mesmas bandas características do extrato permaneceram após o processo de secagem;
- Os perfis obtido através da análise térmica demonstram que as modificações no extrato bruto, almejando a obtenção do extrato atomizado, levaram à uma maior estabilidade térmica no composto;
- As imagens obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura demonstraram que as partículas não apresentam rachaduras nem fraturas em sua superfície nos aumentos ópticos analisados;
- Os extratos bruto e atomizado exibiram atividade antioxidante pelo método de ABTS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTON, M. **Delineamento de formas farmacêuticas**, Ed. Artmed. p. 242 2005.

AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AGRIPINO, D.G.; LIMA, M.E.L.; SILVA, M.R.; MEDA, C.I.; BOLZANI, V.S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M.; MORENO, P.R.H. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and DNA-damaging activities. I. Atlantic rain forest - Ecological station Juréia-Itatins. **Biota neotropica**. v. 4, n. 2, p. 1-15, 2004.

ALAMILLA-BELTRÁN, L.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. R.; GUTIÉRREZ-LOPEZ, G.F. Description of morphological changes of particles along spray drying. **Journal of Food Engineering**. v. 67, p. 179-184, 2005.

AQUINO, P. G. V. Estudo químico e atividades anti-hipertensiva e antioxidante de *Aspidosperma macrocarpum* Mart. (Apocynaceae) Dissertação (Mestrado). Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.

ARAÚJO-JUNIOR., J. X.; ANTHEAUME, C.; TRINDADE, R. C. P.; SCHMITT, M.; BOURGUIGNON, J. J.; SANT'ANA, A. E. G. Isolation and characterisation of the monoterpenoid indole alkaloids of *Aspidosperma pyriformium*. **Phytochemistry Reviews**, v. 6, p. 183-188, 2007.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S.; VIEGAS JR, C. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 326-337, 2006.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: Fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 678-688, 2009.

BASSANI, V.L.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R. Desenvolvimento tecnológico de produtos fitoterápicos. **Revista Fitos**. São Paulo, v.1, n.1, p. 14-17, 2005.

BOURDY, G.; OPORTO, P.; GIMENEZ, A.; DEHARO, E. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part VI. Evaluation of the

antimalarial activity of plants used by Isoceño-Guaraní Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 269–277, 2004.

BOLZANI, V. S.; SERUR, L. M.; MATOS, F. J. A.; GOTTLIEB, O. R. Indole Alkaloid Evolution in Aspidosperma. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 15, n. 2, p. 187-200, 1987.

BRANDÃO, M. G. L.; GOMES, C. G.; NASCIMENTO, A. M. Medicinal Plants from Brazilian Traditional Medicine: Use and Need of Protection. **Revista Fitos**, v. 2, n. 3, p. 173-178, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Saúde. **Portaria nº 6/MS/SNVS, de 31 de Janeiro de 1995**. Brasília, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos - PNPMF**. Brasília, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde**. Brasília, 2006b.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010a.

BRASIL. Resolução - RDC N° 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União** - Seção 1, N° 63, 5 de Abril de 2010b.

BRASIL. Portaria N° 533, de 28 Março de 2012. Estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essencias (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Ministério da Saúde, **Diário Oficial da União** - Seção 1 N° 62, 29 de Março de 2012.

BRASIL. **Resolução da diretoria colegiada - RDC N°48, de 31 de Agosto de 2012**. Dispõe sobre a suspensão de exigências previstas na Resolução da Diretoria Colegiada n° 81 de 05 de Novembro de 2008. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012.

BRINGAS-LANTIGUA, M.; VALDÉS, D.; PINO, J. A.; Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated lime essential oil. **International Journal of Food and Technology**, v. 47, 2012.

BROWN, M. E. **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 1: Principles and Practice, 1998.

CAMPOS, A. R.; LIMA JR, R. C. P.; UCHOA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Pro-erectile effects of an alkaloidal rich fraction from *Aspidosperma ulei* root bark in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 240-244, 2006.

CARBALHO, T.; GIL, M. V.; GÓMEZ, X.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; MORÁN, A. Characterization of different compost extracts using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis. **Biodegradation**, v. 19, p. 815-830, 2008.

CARVALHO, A. C. B., BALBINO, E. E., MACIEL, A., PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 2. p. 314-318, 2008.

ÇELIK, M.; WENDEL, S. C. Spray Drying and Pharmaceutical Applications. In: PARIKH, D. M. **Pharmaceutical Granulation Technology**, 2ª ed., Boca Raton: Taylor & Francis Group, p. 129-158, 2005.

CHANFRAU, J. E. R.; LÓPEZ, O. D.; NÚÑES, Y.; RODRÍGUEZ, C.; CARRILLO, C.; APAN, J. M. G.; ECHEVARRIA, I. Obtención de una Materia Prima de Calidad Farmacéutica a partir de Extractos de *Justicia pectoralis* Jacq., mediante Secado por Aspersión. Desarrollo Tecnológico a partir de Extracto Hidroalcohólico al 30%. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 3, p. 333-338, 2008.

CHARNVANICH, D.; VARDHANABHUTI, N.; KULVANICH, P. Effect of cholesterol on the properties of spray-dried lysozyme-loaded liposomal powders. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 11, n. 2, p. 832-842, 2010.

CHAVES, J. S.; DA COSTA, F. B.; FREITAS, L. A. P. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 45, n. 3, p. 573-584, 2009.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: IBDF, v. 5, 1978.

COUTO, R. O. Obtenção e caracterização do extrato seco padronizado da *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae). Dissertação (Mestrado). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

COUTO, R. O.; CONCEIÇÃO, E. C.; CHAUL, L. T.; OLIVEIRA, E. M. S.; MARTINS, F. S.; BARA, M. T. F.; REZENDE, K. R.; ALVES, S. F.; PAULA, J. R. Spray-dried rosemary extracts: Physicochemical and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 131, p. 99-105, 2012.

CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; SERUR, L. M. Alkalóides of *Aspidosperma pyrifolium* (aspidospermine and 6-demethoxypyrifoline). **Phytochemistry**, vol. 22, n. 6, p. 1526-1528, 1983.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras**. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2007.

DEGÁSPARI, C. H.; LEITE, B. Z.; BALSINI, I. D.; GUERRA, A. S. Obtenção de extrato de carqueija (*Baccharis articulata* (Lam.) Pers.) por diferentes processos de concentração. **Tuiuti: Ciência e cultura**, n, 29, p. 121-130, 2002.

DJERASSI, C.; BREWER, H. W.; BUDZIKIEWICZ, H.; ORAZI, O. O.; CORRAL, R. A. **Journal of American Chemical Society**. v. 84, p. 3480, 1962. *apud* PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 970-983, 2007.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. Editora Malone Ltda. São Paulo. 2001.

ELIZABETSKY, Y. New directions in ethnopharmacology. **J. Etnobiol.** v. 6, p. 121-126, 1986.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 510-523, 2010.

FERREIRA, I. C. P.; LONARDONI, M. V. C.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L.; GOBBI FILHO, L. PINTO, L. H. B.; OLIVEIRA, A. J. B. Anti-leishmanial Activity of Alkaloidal Extract from *Aspidosperma ramiflorum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p. 325-327, 2004.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 178-182, 2005.

GALLO, L.; LLABOT, JUAN M.; ALLEMANDI, D.; BUCALÁ, V.; PIÑA, J. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. **Powder Technology** 208, 205–214, 2011.

GEORGETTI, S.R.; CASAGRANDE, R.; SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P.; FONSECA, M.J.V. Spray Drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1521-1527, 2008.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL. Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

GILBERT, B.; DUARTE, A. P.; NAKAGAWA, Y.; JOULE, J. A.; FLORES, S. E.; BRISSELESE, J. A.; CAMPELLO, J.; CARRAZZONI, E. P.; OWELLEN, R. J.; BLOSSEY, E. C.; BROWN JR, K. S.; DJERASSI, C. The alkaloids of twelve *Aspidosperma* species. **Tetrahedron**, v. 21, p. 1141-1166, 1965.

GOHEL, M. C.; PARIKH, R. K.; NAGORI, S. A.; BARIYA, S. H.; GANDHI, A. V.; SHROFF, S.; PATEL, P. K.; GANDHI, C. S.; PATEL, V. P.; BHAGAT, N. Y.; POOTANI, S. D.; KHARADI, S. R.; PANDYA, R. B.; PATEL, T. C. Spray Drying: A review. *Pharmainfo*, 2009. Disponível em: <http://www.pharmainfo.net/reviews/spray-drying-review>. Acesso em: 12/01/2013.

GUADARRAMA-LEZEMA, A. Y.; DORANTES-ALVAREZ, L.; JARAMILLO-FLORES, M. E.; PÉREZ-ALONSO, C.; NIRANJAN, K.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F.; ALAMILA-BELTRÁN, L. Preparation and characterization of non-aqueous extracts from chilli (*Capsicum annum* L.) and their microencapsulates obtained by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, v. 112, p. 29-37, 2012.

HANDSCOMB, C. S.; KRAFT, M. Simulating the structural evolution of droplets following shell formation. **Chemical Engineering Science**. v. 65, p. 713-725, 2010.

HERSFELDT, C.D.; SCHERER, D. Herstellung von Harthgelatin Kapseln in der Apotheke. **Acta Pharmaceutica Technologica**, v. 33, n. 3, p. 1-3, 1987.

IHRIG, M.; BLUME, H. Zur Beurteilung von Phytopharmaka aus pharmazeutischer Sicht. **pharm. ztg**, v. 36, p. 2715-2725, 1992.

Informação de produto. Mini Spray dryer B-290. Disponível em: http://www.buchi.com/Mini_Spray_Dryer_B-290.179.0.html. Acesso em: 12/11/2012.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA - Madeiras Brasileiras, Banco de dados on line: acesso em 12/01;2013.

JI, H-F; LI, X-J; ZHANG, H-Y. Natural products and drug Discovery. **European Molecular Biology Organization Reports**. v. 10, n. 3, p. 114-121, 2009.

JIMÉNEZ-AVALOS, H. A.; RAMOS-RAMÍREZ, E. G.; MONTOYA-SALAZAR, J. A. Viscoelastic Characterization of gum arabic and maize starch mixture using the Maxwell model. **Carbohydrate Polymers**. v. 62, p. 11-18, 2005.

KASPAR, O.; JAKUBEC, M.; STEPANEK, F. Characterization of spray dried chitosan - TPP microptarticles formed by two and three fluid nozzles. **Powder Technology**, 2012.

KOHN, L. K.; PIZÃO, P. E.; FOGLIO, M. A.; ANTÔNIO, M. A.; AMARAL, M. C. E.; BITTRIC, V.; CARVALHO, J. E. Antiproliferative activity of crude extract and fractions obtained from *Aspidosperma tomentosum* Mart. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, p.110-115, 2006.

KOEHN, F. E.; CARTER, G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nature Reviews**. v. 4, p. 205-220, 2005.

LIU, X.; QIU, Z.; WANG, L.; CHEN, YONG. Quality evaluation of *Panax notoginseng* extract dried by different drying methods. **Food and Bioproducts Processing** v. 89, p. 10–14, 2011.

LINDEN, R.; GONZÁLEZ, O. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Response surface analysis applied to the preparation of tablets containing a high concentration of vegetable spray-dried extract. **Drug Development Industry Pharmaceutical**. v. 26, p. 441-446, 2000.

LIST, P. H.; SCHMIDT. Phytopharmaceutical Technology. **Science**, 1989.

LONGHINI, R. Avaliação de interações do ácido gálico frente a adjuvantes empregados em formas farmacêuticas sólidas. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

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

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação, 2004.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza, EUFC, 1997.

MASTERS, K. **Spray Drying Handbook**. 4. ed. Londres: George Godwin, 1985.

MAZURKIEWICZ, W. Analysis of aqueous extract of *Inonotus obliquus*. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**. v. 63, n. 6, p. 497-501, 2006.

MESQUITA, M.L.; GRELLIER, P.; MAMBU, L.; PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S. In vitro astiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. **Journal of Ethenopharmacology**, v. 110, p. 165-170, 2007.

MITAINE, A. C.; MESBAH, K.; RICHARD, B.; PETERMANN, C.; ARRAZOLA, S.; MORETTI, C.; HANROT, M. Z.; OLIVER, L. L. M. **Planta Med.** v. 62, p. 458, 1996. *apud* PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 970-983, 2007.

MITAINE, A.C.; WENIGER, B.; SAUVAIN, M.; LUCUMI, E.; ARAGO ´N,R.; ZECHES-HANROT, M.Z. Indole alkaloids from the trunk bark of *Aspidosperma megalocarpon*. **Planta Medica**. v. 64, p. 487, 1998.

MITAINE-OFFER, A. C.; SAUVAIN, M.; VALENTIN, A.; CALLAPA, J.; MALLIÉ, M; ZÉCHES-HANROT, M. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. **Phytomedicine**, v. 9, p. 142-145, 2002.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKUYAMA, K. O. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: From the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 1-19, 2011.

NIERO, R. Fármacos, fitofármacos e fitoterápicos: abordagem econômica e de mercado. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, F. Q.; JUNQUEIRA, R. G.; STEHMANN, J. R.; BRANDÃO, M. G. L. Potencial das plantas medicinais como fonte de novos antimaláricos: espécies indicadas na bibliografia etnomédica brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 2, p. 23-31, 2003.

OLIVEIRA, A. J. B.; KOIKE, L.; REIS, F. A. M.; EGUCHI, S. Y.; ENDO, E. H.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Preliminary Studies on the Antibacterial Activity of Ethanol Crude Extracts and Alkaloids from Species of *Aspidosperma*. *Pharmaceutical Biology*, **Pharmaceutical Biology**, v. 47, p. 1085-1089, 2009.

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

OOMAH, B. D.; MAZZA, G. Optimization of a spray drying process for flaxseed gum. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 135-143, 2001.

PACHÚ, C.O. Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos. Tese (doutorado). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia. 2007.

PATEL, R. P.; PATEL, M. P.; SUTHAR, A. M. Spray drying technology: an overview. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 10, p. 44-47, 2009.

PARTHIRANA, M.G.M.; GUPTA, B.K. Determination of angle of repose by shadow tracing method. **Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 30-32, 1976.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**: A guide for students of organic chemistry, 3^a ed, Thomson Learning, 2001.

PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 970-983, 2007.

PEREIRA, M. M.; SOUZA-JÚNIOR, S. N.; ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALVES, R. B.; MACHADO, P. O.; AZEVEDO, A. O.; MOREIRA, F. H.; CASTRO, M. S. A.; RASLAN, D. S. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2006.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RATTES, A. L. R.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying conditions and encapsulating composition on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. **Powder Technology**, v. 171, p. 7-14, 2007.

REDE DE SEMENTES DO CERRADO. Disponível em <http://www.rededesementesdocerrado.com.br/> Acesso em: 12/01/2013.

RIET-CORREA, F.; MADEIROS, R. M. T.; SHILD, A. L. A review of poisonous plants cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. **Journal of Applied Toxicology**. v. 32, p. 245-254, 2012.

ROCHA, A. I.; LUZ, A. I. R.; RODRIGUES, W. A. A presença de alcaloides em espécies botânicas da Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, n. 2, p. 381-387, 1982.

RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. F. M.; SILVA, M. A. S.; MATOS, J. R. Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização, determinação da pureza e cinética de degradação da zidovudina (AZT). **Acta Farmaceutica Bonaerense**. v. 24, n. 3, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 4p, Comunicado Técnico on-line: 128, 2007.

SAHOO, N. G.; KAKRAN, M.; ABBAS, A.; JUDESH, Z.; LI, L. Preparation, characterization and dissolution behavior of artemisinin microparticles. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 453-463, 2011.

SANTOS, E. V. M. Extração de matérias-primas vegetais. In: SHARAPIN, N. **Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos**. Cyted, Santafé de Bogotá, p. 27-60, 2000.

SENNA, E. L.; PETROVICK, P. R.; GONZALES ORTEGA, G.; BASSANI, V. L. Preparation and Characterization of Spray-dried Powders from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC Extracts. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 123-127, 1997.

SCHIMIDT, P.C.; GONZÁLEZ, O.G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutscher Apotheker Zeitung**. v. 47, p. 17-26, 1993.

SILVA, J. O.; VIEIRA, J. L.; BARBOSA, W. L.; PEREIRA, N. L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symptum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 2, n. 16, p. 671-677, 2006.

SILVA, E. C.; PAOLA, M.V.R.V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 3, 2007.

SILVA, E. M.; VALENCIA, A.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; ROCHA, T. L.; FREIRE, E.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S. Inhibitory action of Cerrado plants against mammalian and insect α -amylases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, p. 141–146, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6^a ed. Ed. LTC, 2000.

SOLLOHUB, K.; CAL, K. Spray Drying Technique: II. Current Applications in Pharmaceutical Technology. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, V. 99, N. 2, p. 587-597, 2010.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**, 7. ed, Rio de Janeiro, 2001.

SOUZA, T. P.; PACHECO, R. M.; AMOZA, J. L. G.; PETROVICK, P. R. Eudragit E as Excipient for Production of Granules and Tablets From *Phyllanthus niruri* L Spray-Dried Extract. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, 2007.

SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Drying of phitochemical preparations in a spouted bed: Perspectives and Challenges. **Drying Technology**, v. 30, p. 1209-1226, 2012.

SU, Y. L.; FU, Z. Y.; ZHANG, J. Y.; WANG, W. M.; WANG, H.; WANG, Y. C.; ZHANG, Q. J. Microencapsulation of *Radix salvia miltiorrhiza* nanoparticles by spray-drying. **Powder Technology**, v. 184, n. 1, p. 114-121, 2008.

SUFFREDINI, I.B.; BACCHI, E.M.; SAKUDA, T.M.K.; OHARA, M.T.; YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D. Antibacterial activity of Apocynaceae extracts and MIC of *Tabernaemontana angulata* stem organic extract. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n. 1, 2002.

SPERLING, H.; LORENZ, A.; KREGE, S. ARNDT, R. MICHEL, M. C. An extract from the bark of *Aspidosperma quebracho blanco* binds to human penile α -adrenoceptors. **The Journal of Urology**, v. 168, p 160-163, 2002.

STRUWE, L.; ALBERT, V. A.; BREMER, B. Cladistics And Family Level Classification Of The Gentianales. **Cladistics**, v. 10, 1994.

TANAKA, J. C. A.; DA SILVA, C. C.; DE OLIVEIRA, A. J. B.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Antibacterial activity of indole alkaloids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 387-391, 2006.

TANAKA, J. C. A.; DA SILVA, C. C.; FERREIRA, I. C. P.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L.; OLIVEIRA, A. J. B. Antileishmanial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. **Phytomedicine**, v. 14, p. 377-380, 2007.

THOMAS, C.; POURCELOT, Y. Perforulation of five commercial celluloses in drug development: rheological and mechanical behavior. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 5, p. 1947-1964, 1991.

TRINDADE, R. C. P.; SILVA, P. P.; ARAÚJO-JUNIOR, J. X.; LIMA, I. S.; DE PAULA, J. E.; SANT'ANA, A. E. G. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyrifolium* ethanol extracts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1813-1816, 2008.

VASCONCELOS, E. A. F.; MEDEIROS, M. G. F.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. L. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15 (3), p. 243-249, 2005.

VELLOSA, J.C.R.; KHALIL, N.M.; FORMENTON, V.A.F.; XIMENES, V.F.; FONSECA, L.M.; FURLAN, M.; BRUNETTI, I.L.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Antioxidant activity of *Maytenus ilicifolia* root bark. **Fitoterapia**, v. 77, p. 243-244, 2006.

VERPOORTE, R.; RUIGROK, C.L.; SVENDSEN, A.B. Medicinal plants of Surinam. **Planta Medicinal**. v. 46, n. 11, p. 149-152, 1982.

VERPOORTE, R.; KOS-KUYCK, E.; TSOI, A. T. A.; RUIGROK, C. L. M.; JONG, G.; SVENDSEN, A. B. Medicinal Plants of Surinam III: Antimicrobially Active Alkaloids from *Aspidosperma excelsum*. **Planta Medicinal**, v. 48, n.8, p. 283-289, 1983.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326- 337, 2006.

VOIGT, R. **Pharmazeustische Technologie**. Ed. 9, Uberarb. Aufl., Stuttgart, 2005.

VUONG, Q. V.; GOLDING, J. B.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Preparation of decaffeinated and rich caffeine powders from green tea. **Powder technology**, 2012.
WALTON, D. E.; MUMFORD, C. J.; Spray dried products - Characterization of particle morphology. **Trans IChemE**, v. 77, p. 20-38, 1999.

WALSER, A.; DJERASSI, C. Alkcaloid-Studien LII. Die Alkcaloide aus *Vallesia dichotoma* RUIZet PAV. **Helvetica Chimica Acta**, v. 48, Issue 2, p. 391-404, 1965.
WENDLANT, W. W. Thermal analysis. **Anal. Chem**, v. 58, 1986.

WENIGER, B.; ROBLEDO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGÓN, R.; MUÑOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 193-200, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fact Sheets: Fact Sheet N° 134 – Traditional Medicine. 2008. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Acesso em: 12/04/2012.

YATSU, F. K. J.; BORHHETTI, G. S.; BASSANI, V. L. Technological Characterization and Stability of *Ilex paraguariensis* St. Hil. Aquifoliaceae (Maté) Spray-Dried Powder. **Journal of Medicinal Food**. v. 14. n. 4, p. 413-419, 2011.