



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

POLLYNE AMORIM SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO À
BASE DE *Clarisia racemosa* PARA ESPOROTRICOSE

RECIFE

2021

POLLYNE AMORIM SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO À
BASE DE *Clarisia racemosa* PARA ESPOROTRICOSE

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

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Rosali Maria Ferreira da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel Tarciso Martins Pereira

RECIFE

2021

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S586a	Silva, Pollyne Amorim Avaliação da atividade antifúngica e estudo de pré-formulação à base de <i>Clarisia racemosa</i> para esporotricose / Pollyne Amorim Silva. – 2021. 113 p. Orientador: Rosali Maria Ferreira da Silva. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2021. Inclui referências e anexos. 1. <i>Clarisia racemosa</i>. 2. Extrato vegetal. 3. Leito fluidizado. 4. <i>Sporothrix</i>. 5. Spraydryer. I. Silva, Rosali Maria Ferreira da (Orientadora). II. Título. 610 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023-002)
-------	---

POLLYNE AMORIM SILVA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO À
BASE DE *Clarisia racemosa* PARA ESPOROTRICOSE

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

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Aprovado em: 29/11/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Rosali Maria Ferreira da Silva (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim
Universidade Federal de Pernambuco (Examinador Interno)

Prof.^a Dr.^a Keyla Emanuelle Ramos de Holanda
Universidade Federal do Amazonas (Examinador Externo)

Dedico este trabalho a Deus e em especial ao meu avô Ulisses Correia de Amorim (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela força de todos os dias em seguir em frente, por não me desamparar nos momentos difíceis, por dar coragem de não desistir dos meus sonhos.

À minha família, em especial a minha mãe, uma mulher de força que sempre faz de tudo para que eu caminhe e que eu não desanime nos obstáculos da vida, te amo mãe, obrigada por todos os dias lembrar que eu tenho seu apoio!

Aos meus avôs, Josefa Eduardo e Ulisses Amorim (*in memoriam*) pelo amor e cuidado mesmo que de longe, em especial ao meu vovô que faleceu este ano e não consegui dar a alegria de me ver como mestre. Vovô que sempre se preocupou com meu bem-estar que todas as sextas-feiras ligava pra saber se eu estava bem e ficou extremamente preocupado quando saí do trabalho. Vovô você é meu exemplo, te amo até o infinito!

Agradeço imensamente a Marco Aurélio Ribeiro, pela paciência nos meus momentos de ausência, por acolher meus anseios e por ser tão compreensivo, carinhoso e amoroso, por tantas vezes querer de alguma forma me ajudar.

Aos meus amigos de infância/ colégio, por todos esses anos de amizade, e por fazerem dos nossos raros encontros um motivo de alegria e de saber que posso contar com vocês, Williana Tôrres, Thayse Bezerra, Eduardo Furetti, Henrique Santiago pai de Davizinho e Paloma Maranhão, a todos vocês todo meu carinho e muito obrigada, amo vocês!

À minha orientadora, Rosali Maria Ferreira da Silva, por todos esses anos de parceria, pelo exemplo de profissional e por acreditar em mim.

Ao meu co-orientador, Daniel Tarciso por confiar em mim, pelas palavras de força, pela amizade construída. Eu não tenho palavras para descrever um ser humano com um coração tão grande, um exemplo de mestre, sou muito grata por ter conhecido o senhor!

Ao professor Rafael Ximenes, por topar as análises de uma aluna em desespero, e por ouvir meus desabafos e acolher minhas angústias, obrigada pela atenção e pelas conversas! Também agradeço a Assíria, sua aluna, pela acolhida e pelos ensinamentos.

Ao professor Reginaldo Gonçalves por abrir as portas do seu laboratório para as análises farmacológicas e pela parceria formada.

Ao grupo LTM que foi minha casa por todos esses anos onde fiz muitos amigos e vou levá-los no coração, Natália, Lucas, Victor, Ilka, Larissa Morgana, Larissa Pereira, Clara, Joanellys, Beatriz, Rodrigo, Camila, Laysa, Stefani, Mateus, Demis, Widson, vocês foram essenciais durante todo meu convívio no LTM, obrigada a todos pelos momentos compartilhados, por dividirem o dia-a-dia, por rirem comigo e dividir os anseios.

À Taysa Timóteo, que se não fosse por ela eu não teria conseguido finalizar este trabalho, serei eternamente grata pelas caronas, agradeço também por me ouvir e por acolher meus anseios e compartilhar angústias, por cantar comigo nas viagens o CD de Malhação 1995 -2005 nas voltas da viagem e nas idas os louvores, nossas idas e voltas do Recife dariam um livro. Obrigada de coração!

À banca avaliadora Professora Elba e Professor Pedro, pelos ensinamentos desde a graduação, dois grandes mestres. A Professora Keyla, parceira do Laboratório, agradeço suas contribuições e por ter aceitado avaliar o trabalho e ao Professor Enéas pela contribuição.

Aos Laboratórios parceiros que contribuíram para a realização deste trabalho, Professora Larissa Rolim obrigada por ser tão maravilhosa em todas às vezes que busquei seu laboratório e as suas alunas Isabela Amariz e Nathália. Ao Professor Bolivar pela disponibilidade do seu Laboratório na UFPB.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para este trabalho, muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (CALCUTÁ, [19--]).

RESUMO

Clarisia racemosa, conhecida popularmente como Guariúba, é uma matéria-prima que se destaca no uso da carpintaria, marcenaria e em construções civis em geral. Estudos iniciais com os resíduos do caule de *C. racemosa* demonstraram atividade antimicrobiana deste material vegetal. O objetivo desse trabalho foi realizar uma avaliação da atividade antifúngica e um estudo de pré-formulação à base de *C. racemosa* para esporotricose. Os resíduos de madeira de *C. racemosa* foram coletados no município de Itaquiara - Amazonas, originária da unidade de manejo florestal. Foram obtidos e caracterizados físico-quimicamente, de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição, a droga vegetal, os extratos líquido e seco, obtidos por *spray-dryer* e por leito fluidizado de dois lotes de coleta (abril e novembro de 2019), e avaliada a atividade antifúngica dos extratos para *Sporothrix*. Foram desenvolvidas duas formas farmacêuticas (granulado efervescente e comprimido). Após a pulverização da droga vegetal, esta foi classificada quanto à granulometria, e realizadas as determinações de cinzas totais e perda por dessecação e análise térmica. Para a obtenção do extrato hidroalcoólico, utilizou-se a proporção 1: 10 (p/v) e realizadas as determinações de pH e densidade. Dois tipos de secagem foram utilizados para obtenção do extrato seco, por *spray-dryer* e por leito fluidizado. Houve diferenças significativas entre os resultados obtidos dos dois lotes de coleta. Em relação ao estudo de compatibilidade, foi demonstrado que os excipientes conseguiram proteger os extratos, sendo compatíveis no produto acabado. Ao analisar a microscopia eletrônica de varredura, no extrato seco por *spray-dryer*, foi possível observar o formato esférico das partículas, característico desse método de secagem; já no extrato seco por leito fluidizado o formato foi irregular. Através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, foi encontrada a substância resveratrol nos dois lotes do extrato seco por *spray-dryer* e no lote D do leito fluidizado. Para a atividade antifúngica, diferentes cepas padronizadas, foram testadas para ambos os tipos de extrato assim como para os diferentes lotes, apresentando atividade para *Sporothrix* spp. Para os estudos de pré-formulação, o extrato seco por leito fluidizado foi utilizado. Para a obtenção do granulado efervescente, foram realizados testes de compatibilidade por análise térmica entre os excipientes e o extrato seco por leito fluidizado, mostrando serem compatíveis; suas características organolépticas atenderam às especificações previamente estabelecidas. A umidade residual resultou em 7,09% para o lote I e 6,03 % para o lote II. Em relação aos critérios de desagregação e ponto de efervescência, todos se encontraram conforme a Farmacopeia Brasileira 6ª edição; e a densidade de ambos ficaram próximas a da água e o pH para ambos foi de 5,09. Em relação à

formulação dos comprimidos, o peso médio, a dureza e o ponto de desintegração ficaram conforme os parâmetros da Farmacopeia Brasileira 6ª edição, com exceção da friabilidade, sendo necessários pequenos ajustes na formulação. Os estudos envolvendo *C. racemosa* mostram ser bastante promissores para esporotricose, além de contribuir para o conhecimento da droga vegetal que é pouco estudada para fins terapêuticos.

Palavras-chave: *Clarisia racemosa*; extrato vegetal; leite fluidizado; *Sporothrix*; *spray-dryer*.

ABSTRACT

Clarisia racemosa, popularly known as Guariúba, is a raw material that stands out in carpentry, joinery and civil construction in general. Initial studies with residues from the stem of *C. racemosa* demonstrated an antimicrobial activity of this plant material. The objective of this work was to carry out an evaluation of the antifungal activity and a preformulation study based on *C. racemosa* for sporotrichosis. *C. racemosa* wood residues were collected in the municipality of Itaquatiara - Amazonas, originating from the forest management unit. According to the 6th edition of the Brazilian Pharmacopoeia, the plant drug, liquid and dry extracts, obtained by spray-dryer and fluidized bed of two collection batches (April and November 2019), and evaluated the antifungal activity of the extracts against *Sporothrix*. Two pharmaceutical forms (effervescent granules and tablet) were developed. After spraying the plant drug, it was classified according to particle size, and determinations of total ash and loss by desiccation and thermal analysis were carried out. To obtain the hydroalcoholic extract, the ratio 1:10 (w/v) was used and pH and density determinations were carried out. Two types of drying were used to obtain the dry extract, by spray-dryer and by fluidized bed. There were significant differences between the results obtained from the two collection lots. Regarding the compatibility study, it was demonstrated that the excipients were able to protect the extracts, being compatible in the finished product. By analyzing the scanning electron microscopy, in the dry extract by spray-dryer, it was possible to observe the spherical shape of the particles, characteristic of this drying method; in the fluidized bed dry extract, the shape was irregular. Through High Performance Liquid Chromatography, the substance resveratrol was found in both batches of dry extract by spray-dryer and in batch D of the fluidized bed. For antifungal activity, different standardized strains were tested for both types of extract as well as for different batches, showing activity for *Sporothrix* spp. For the pre-formulation studies, the fluidized bed dry extract was used. To obtain the effervescent granules, compatibility tests were carried out by thermal analysis between the excipients and the fluidized bed dry extract, showing that they are compatible; its organoleptic characteristics met previously established specifications. The residual moisture resulted in 7.09% for lot I and 6.03% for lot II. Regarding the disaggregation and effervescence point criteria, all of them met according to the Brazilian Pharmacopoeia 6th edition; and the density of both were close to that of water and the pH for both was 5.09. Regarding the formulation of the tablets, the average weight, hardness and disintegration point were in accordance with the parameters of the Brazilian Pharmacopoeia 6th edition, with the exception of friability, with small

adjustments in the formulation being necessary. Studies involving *C. racemosa* show to be very promising for sporotrichosis, in addition to contributing to the knowledge of the plant drug that is little studied for therapeutic purposes.

Key words: *Clarisia racemosa*; plant extract; fluidized bed; *Sporothrix*; spray-dryer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura Química do Itraconazol.	28
Figura 2 - Estrutura Química da Anfotericina B.	29
Figura 3 - Estrutura Química da Terbinafina.	29
Figura 4 - Esquema do funcionamento do Spray-dryer.	35
Figura 5 - Esquema do Funcionamento do Leito Fluidizado.	37
Figura 6 - Histograma do perfil granulométrico da droga vegetal pulverizada de <i>Clarisia racemosa</i> - Lote 1.	56
Figura 7 - Histograma do perfil granulométrico da droga vegetal do pulverizada de <i>Clarisia racemosa</i> - Lote 2.	57
Figura 8 - Curva de retenção e passagem da droga vegetal pulverizada - Lote 1 (abril de 2019).	58
Figura 9 - Curva de retenção e passagem da droga vegetal pulverizada - Lote 2 (Novembro de 2019).	59
Figura 10 - Curva Termogravimétrica da droga vegetal <i>Clarisia racemosa</i> dos lotes 1 e 2. ..	61
Figura 11 - Extratos hidroalcoólicos de <i>Clarisia racemosa</i> (À esquerda o lote 1 e à direita o lote 2).	63
Figura 12 - Secagem do Extrato de <i>C. racemosa</i> por <i>spray-dryer</i>	66
Figura 13 - Extrato seco de <i>Clarisia racemosa</i> (À esquerda lote B e à direita o lote A).	67
Figura 14 - Mini Leito Fluidizado em processo de secagem do extrato de <i>Clarisia racemosa</i>	68
Figura 15 - Extratos secos de <i>Clarisia racemosa</i> por Mini Leito Fluidizado, à esquerda lote C e à direita lote D.....	68
Figura 16 - Gráfico de TG dos extratos de <i>Clarisia racemosa</i> com e sem Aerosil® e do Aerosil® isolado.	69
Figura 17 - Gráfico de TG dos extratos (lotes C e D) de <i>Clarisia racemosa</i> por leito fluidizado com excipientes utilizados na secagem.	71
Figura 18 - MEV extrato seco por <i>Spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i> 2µm	75
Figura 19 - MEV extrato seco por <i>Spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i> 20µm.....	75
Figura 20 - MEV extrato seco por <i>Spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i> com Aerosil® 5 µm – Lote A.....	76
Figura 21 - MEV extrato seco por <i>Spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i> com Aerosil® 5 µm – Lote B.....	76

Figura 22 - MEV extrato seco por Leito Fluidizado de <i>Clarisia racemosa</i> com 10µm – Lote C	77
Figura 23 - MEV extrato seco por Leito Fluidizado de <i>Clarisia racemosa</i> com 20 µm – Lote D.....	77
Figura 24 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra <i>C. racemosa</i> – Lote C por Leito Fluidizado.....	80
Figura 25 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra <i>C. racemosa</i> – Lote D por Leito Fluidizado.....	80
Figura 26 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra <i>C. racemosa</i> – Lote A por <i>Spray-dryer</i>	81
Figura 27 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra <i>C. racemosa</i> – Lote B por <i>Spray-dryer</i>	81
Figura 28 - Perfil cromatográfico em 305 nm do SQR resveratrol.	82
Figura 29 - Espectros UV obtidos pelo detector DAD para a. amostra <i>C. racemosa</i> – lote D e b. SQR resveratrol, ambos em 31,91 min.....	82
Figura 30 - Espectros UV obtidos pelo detector DAD para a. SQR resveratrol em 31,91 min e b. amostra <i>C. racemosa</i> – lote A por <i>Spray-dryer</i> em 32,07 min, c. amostra <i>C. racemosa</i> – lote B por <i>spray-dryer</i> em 32,38 min.	83
Figura 31 - Representação gráfica da linearidade da SQRs Resveratrol.	84
Figura 32 - Resveratrol.....	85
Figura 33 - Estrutura molecular da Artocarpina.	87
Figura 34 - Gráficos de TG para teste de Compatibilidade dos excipientes da pré-formulação do granulado efervescente, do lote C.	89
Figura 35 - Gráficos de TG para teste de Compatibilidade dos excipientes da pré-formulação do granulado efervescente, do lote D.....	91
Figura 36 - Granulado Efervescente do LB V – Extrato seco C.	94
Figura 37 - Granulado Efervescente do lote LB V do Extrato Seco D.....	94
Figura 38 - Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i> com extrato seco por Leito Fluidizado Lote C e D.	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistemas e reveladores para a Cromatografia em Camada Delgada.	44
Tabela 2 - Metodologias empregadas na fitoquímica.	45
Tabela 3 - Sistema gradiente de fase móvel utilizado para determinação qualitativa em CLAE-DAD.	49
Tabela 4 - Lotes de bancada do Granulado Efervescente à base do extrato seco de <i>Clarisia racemosa</i>	51
Tabela 5 - Cinzas Totais da droga vegetal <i>Clarisia racemosa</i>	59
Tabela 6 - Principais eventos da Termogravimetria da droga vegetal de <i>Clarisia racemosa</i> . ..	62
Tabela 7 - Prospeção fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos da droga vegetal de <i>Clarisia racemosa</i>	65
Tabela 8 - Percentuais de perda de massa dos extratos de <i>C. racemosa</i> por <i>Spray-dryer</i> com e sem adjuvante de secagem.....	70
Tabela 9 - Percentuais de perda de massa dos extratos de <i>C. racemosa</i> por Leito Fluidizado.	72
Tabela 10 - Análise da área superficial e tamanho de poros do extrato seco por <i>spray-dryer</i> à base de <i>Clarisia racemosa</i>	73
Tabela 11 - Análise da área superficial e tamanho de poros do extrato seco por leito fluidizado à base de <i>Clarisia racemosa</i>	74
Tabela 12 - Densidade Aparente e Compactada do extrato seco por leito fluidizado de <i>Clarisia racemosa</i>	77
Tabela 13 - Resultados obtidos após análises de SQR pelo método cromatográfico por CLAE-DAD.	79
Tabela 14 - Quantificação de resveratrol ($\mu\text{g}/\text{mg}$) das amostras analisadas.	84
Tabela 15 - Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g}/\text{mL}$) dos extratos secos sobre isolados de <i>Sporothrix</i>	86
Tabela 16 - Concentração Mínima Inibitória dos Fármacos Padrões.	86
Tabela 17 - Porcentagem de perda de massa do estudo de compatibilidade de excipientes da pré-formulação do granulado efervescente lote C.	90
Tabela 18 - Porcentagem de perda de massa do estudo de compatibilidade de excipientes da pré-formulação do granulado efervescente lote D.	92
Tabela 19 - Características organolépticas do Granulado Efervescente do Lote de Bancada V.	93
Tabela 20 - Peso médio dos comprimidos à base de <i>Clarsia racemosa</i>	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrômetros
AM	Amazonas
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BDA	Agar Batata Dextrose
BET	<i>Brunauer, Emmett and Teller</i>
BJH	<i>Barret, Joyner and Halenda</i>
C	Carbono
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
cm	Centímetros
da	Densidade Aparente
DAD	Arranjo de Diodos
dc	Densidade Compactada
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTA	Análise Térmica Diferencial
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FH	Fator de <i>Hausner</i>
g	Gramas
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).
IC	Índice de Compressibilidade
ICET	Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia
ID	Índice de densificação
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
Km	Quilômetro
LPAA	Laboratório de Preparo de Amostras e Análises

LTDA	Limitada
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
m ³	Metros cúbicos
máx.	Máximo
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetros
nm	Nanômetros
p/v	Peso Volume
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVP	Polivinilpirrolidona
rpm	Rotações por minuto
RPMI	<i>Roswell Park memorial Institute</i>
S	<i>South</i> (Sul)
SQR	Substância Química de Referência
SQRs	Substâncias Químicas de Referência
TG	Termogravimetria
Th	T Helper
TR	Tempo de Retenção
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	Ultravioleta
W	<i>West</i> (Oeste)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
cm ⁻¹	Centímetro elevado a menos um
±	Mais ou menos
C-18	Carbono 18
Kgf/cm ²	Quilograma-força por centímetro quadrado
mmHg	Milímetros de Mercúrio
g.cm ⁻³	Grama por centímetro cúbico
Céls.mL ⁻¹	Células por mililitro
λ	Lambda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	OBJETIVOS	24
1.1.1	Objetivo Geral	24
1.1.2	Objetivos Específicos.....	24
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	26
2.1	ESPOROTRICOSE - <i>Sporothrix</i> spp.	26
2.1.1	Fármacos Utilizados no Tratamento para Esporotricose	28
2.1.1.1	<u>Itraconazol</u>	<u>28</u>
2.1.1.2	<u>Anfotericina B.....</u>	<u>28</u>
2.1.1.3	<u>Terbinafina.....</u>	<u>29</u>
2.1.2	Controle e Profilaxia da Esporotricose.....	30
2.1.3	Esporotricose no Brasil – um breve relato	30
2.1.4	Esporotricose Humana em Pernambuco	30
2.1.5	Espécies vegetais com ação contra <i>Sporothrix</i> spp.	32
2.2	<i>Clarisia racemosa</i>	32
2.3	INDÚSTRIA MADEIREIRA E RESÍDUOS FLORESTAIS	34
2.4	SECAGEM DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO <i>Spray-dryer</i>	35
2.6	FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS	37
2.6.1	Granulado efervescente.....	37
2.6.2	Comprimidos	38
3	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1	MATERIAL	39
3.2	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA VEGETAL.....	40
3.2.1	Granulometria da Droga Vegetal Pulverizada.....	40
3.2.2	Determinação de Cinzas Totais.....	40
3.2.3	Perda por Dessecação (Determinação de Umidade).....	41
3.2.4	Análise Térmica.....	41
3.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO	42
3.3.1	Obtenção do Extrato Hidroalcoólico	42
3.3.2	Determinação da Densidade Relativa	42
3.3.3	Determinação do pH.....	43
3.3.4	Determinação de Resíduo Seco do Extrato Hidroalcoólico.....	43

3.3.5	Prospecção Fitoquímica	43
3.4	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO	45
3.4.1	Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do <i>Spray-dryer</i>	45
3.4.2	Obtenção do Extrato Seco por Leito Fluidizado	46
3.4.3	Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Extrato Seco.....	46
3.4.4	Perda por Dessecação (Determinação de Umidade).....	47
3.4.5	Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas	47
3.4.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	47
3.4.7	Determinação da Densidade Aparente e de Compactação	48
3.4.8	Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	48
3.5	ATIVIDADE FARMACOLÓGICA – ATIVIDADE ANTIFÚNGICA PARA <i>Sporothrix</i> spp.	50
3.6	DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE GRANULADO EFERVESCENTE À BASE DO EXTRATO SECO DE <i>Clarisia racemosa</i> POR LEITO FLUIDIZADO	50
3.6.1	Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de <i>Clarisia racemosa</i>.....	51
3.6.2	Obtenção do Granulado Efervescente à base de <i>Clarisia racemosa</i>.....	51
3.6.3	Controles de qualidade da pré-formulação de granulado efervescente à base de <i>Clarisia racemosa</i>	52
3.6.3.1	<u>Características Organolépticas</u>	<u>52</u>
3.6.3.2	<u>Umidade residual.....</u>	<u>52</u>
3.6.3.3	<u>Desagregação e ponto de efervescência</u>	<u>52</u>
3.6.3.4	<u>Densidade.....</u>	<u>52</u>
3.6.3.5	<u>Verificação do pH</u>	<u>53</u>
3.7	DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS À BASE DO EXTRATO SECO DE <i>Clarisia racemosa</i> POR LEITO FLUIDIZADO.....	53
3.7.1	Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de <i>Clarisia racemosa</i>.....	53
3.7.2	Obtenção do Comprimido à base de <i>Clarisia racemosa</i>	53
3.7.3	Controles de qualidade da pré-formulação de Comprimido à base de <i>Clarisia racemosa</i>	54
3.7.3.1	<u>Determinação do peso médio dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>54</u>
3.7.3.2	<u>Friabilidade dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>54</u>
3.7.3.3	<u>Dureza dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i>.....</u>	<u>54</u>

3.7.3.4	Tempo de desintegração dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i>	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1	MATERIAL	56
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA VEGETAL	56
4.2.1	Granulometria da Droga Vegetal Pulverizada	56
4.2.2	Determinação de Cinzas Totais.....	59
4.2.3	Perda por Dessecação (Determinação de Umidade).....	60
4.2.4	Análise Térmica.....	61
4.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO FLUIDO	62
4.3.1	Obtenção do Extrato Hidroalcoólico	62
4.3.2	Determinação da Densidade Relativa	63
4.3.3	Determinação do pH.....	64
4.3.4	Determinação de Resíduos Seco do Hidroalcoólico.....	64
4.3.5	Prospecção Fitoquímica	64
4.4	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO	65
4.4.1	Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do <i>Spray-dryer</i>	65
4.4.2	Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do Leito Fluidizado	67
4.4.3	Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Extrato Seco.....	69
4.4.3.1	<u>Estudo de compatibilidade do extrato seco por Aerosil®</u>	<u>69</u>
4.4.3.2	<u>Estudo de compatibilidade do extrato seco por Leito Fluidizado</u>	<u>70</u>
4.4.4	Perda por Dessecação (Determinação de Umidade).....	72
4.4.5	Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas	73
4.4.5.1	<u>Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas do Extrato Seco por <i>spray-dryer</i>.....</u>	<u>73</u>
4.4.5.2	<u>Análise da área Superficial e Porosidade das Partículas do Extrato Seco por Leito Fluidizado</u>	<u>73</u>
4.4.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	74
4.4.6.1	<u>Microscopia Eletrônica de Varredura do Extrato Seco por <i>Spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>74</u>
4.4.6.2	<u>Microscopia Eletrônica de Varredura dos Extratos Secos por <i>spray-dryer</i> de <i>Clarisia racemosa</i> com adjuvante de secagem.....</u>	<u>75</u>
4.4.6.3	<u>Microscopia Eletrônica de Varredura dos Extratos Secos por Leito Fluidizado de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>76</u>
4.4.7	Determinação da Densidade Aparente e de Compactação	77

4.4.8	Análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) dos extratos seco por <i>Spray-dryer</i> e Leito Fluidizado	78
4.5	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS SECOS SOBRE ANTI- <i>Sporothrix</i>	85
4.6	DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE GRANULADO EFERVESCENTE À BASE DO EXTRATO SECO DE <i>Clarisia racemosa</i> POR LEITO FLUIDIZADO	88
4.6.1	Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Granulado Efervescente com Extrato Seco de <i>Clarisia racemosa</i> por Leito Fluidizado.....	88
4.6.2	Obtenção do Granulado Efervescente a base de <i>Clarisia racemosa</i>.....	92
4.6.3	Controles de qualidade da pré-formulação de granulado Efervescente à base de <i>Clarisia racemosa</i>	93
4.6.3.1	<u>Características Organolépticas</u>	<u>93</u>
4.6.3.2	<u>Umidade residual.....</u>	<u>95</u>
4.6.3.3	<u>Desagregação e ponto de efervescência</u>	<u>95</u>
4.6.3.4	<u>Densidade.....</u>	<u>95</u>
4.6.3.5	<u>Verificação do pH</u>	<u>96</u>
4.7	DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS À BASE DO EXTRATO SECO DE <i>Clarisia racemosa</i> POR LEITO FLUIDIZADO.....	96
4.7.1	Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de <i>Clarisia racemosa</i> por Leito Fluidizado	96
4.7.2	Obtenção do Comprimido a base de <i>Clarisia racemosa</i>	96
4.7.3	Controles de qualidade da pré-formulação de Comprimido à base de <i>Clarisia racemosa</i>	97
4.7.3.1	<u>Determinação do peso médio dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>97</u>
4.7.3.2	<u>Friabilidade dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>98</u>
4.7.3.3	<u>Dureza dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i>.....</u>	<u>99</u>
4.7.3.4	<u>Tempo de desintegração dos Comprimidos à base de <i>Clarisia racemosa</i></u>	<u>99</u>
5	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	102
	ANEXO A - LAUDO TÉCNICO DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FLORESTAIS	110

ANEXO B - LAUDO TÉCNICO DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FLORESTAIS CONTENDO <i>Clarisia racemosa</i>	111
ANEXO C - CADASTRO DE <i>Clarisia racemosa</i> NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO.....	112

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma infecção de origem micótica cutânea profunda; seu agente causador é um fungo dimórfico *Sporothrix spp.* Dentre as espécies, pode-se citar: *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* além de *S. schenckii* e *S. luriei* (OLIVEIRA et al., 2017).

É uma doença que vem ganhando importância devido à sua prevalência mundial e é conhecida como micose emergente de vários países tropicais e subtropicais (WALLER et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

Um dos fatores importantes que determinam tanto a disseminação quanto a virulência é a resistência fúngica para as diferentes condições no ambiente em que está presente e as suas adaptações quando está no hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2017).

A infecção é adquirida através de uma lesão traumática onde há a inoculação dos esporos do fungo, geralmente adquiridas por arranhaduras de animais contaminados ou superfícies contaminadas (WALLER et al., 2016).

A forma clínica apresentada vai depender da imunidade do hospedeiro. Ela pode se expressar em diferentes formas clínicas. As mais comuns são desde lesões localizadas principalmente nas mãos a nódulos localizados na pele, onde segue o trajeto do sistema linfático, e a extracutânea comprometendo os ossos e por fim a disseminada, onde já atinge outros órgãos e/ ou sistemas (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012; OLIVEIRA et al., 2017).

As plantas medicinais vêm sendo utilizadas pela humanidade desde o início da civilização com finalidades curativas, alimentícias e cosméticas. Cerca de 60% das plantas apresentam substâncias terapêuticas, com valores medicinais que são utilizadas tanto na prevenção, quanto no tratamento de doenças (HAO; XIAO, 2018).

A utilização de plantas como fontes de medicamentos vem aumentando gradativamente, e muitas destas plantas são estudadas e avaliadas a sua capacidade devido aos seus metabólitos secundários, sendo de grande importância o estudo destas plantas para que se possam descobrir candidatos a novos fármacos, esperando que possam atingir alvos diferentes (ALBUQUERQUE; SOARES; OLIVEIRA, 2017).

Diante da diversidade da Floresta Amazônica, pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco e da Universidade Federal do Amazonas selecionaram algumas espécies típicas da região de forma aleatória para estudo, onde obteve destaque a espécie *Clarisia racemosa*, a qual em estudos iniciais demonstrou uma promissora capacidade antimicrobiana.

C. racemosa, conhecida popularmente como Guariúba, destaca-se no uso da carpintaria, marcenaria e em construções civis em geral. Seu uso popular na medicina é através da infusão de casca para combater doenças de pele. Geralmente encontrada em florestas úmidas, destacando do Sul do México ao Sul do Brasil, sendo mais abundante na região Amazônica (INPA, 2008).

Como a terapia antifúngica, em alguns casos, pode gerar toxicidade e resistência a fungos, no caso em que terapias são de longa duração (OLIVEIRA et al., 2017), o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica e realizar um estudo de pré-formulação de comprimidos e granulado efervescente à base de *C. racemosa* para tratar esporotricose.

1.1 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão descritos a seguir:

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antifúngica e realizar um estudo de pré-formulação de comprimidos e granulado efervescente à base de *Clarisia racemosa* para tratar esporotricose.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obter e caracterizar físico-quimicamente a droga vegetal *Clarisia racemosa*;
- Obter e caracterizar físico-quimicamente o extrato hidroalcoólico à base de *C. racemosa*;
- Obter e caracterizar físico-quimicamente o extrato seco por *Spray-dryer* à base de *C. racemosa*;
- Obter e caracterizar físico-quimicamente o extrato seco por leite fluidizado à base de *C. racemosa*;
- Analisar por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência compostos que caracterizem as amostras de extrato seco por *spray-dryer* e por leite fluidizado;
- Realizar estudo microbiológico para atividade anti-*Sporothrix* spp., a partir dos extratos secos por *spray-dryer* e do leite fluidizado;

- Realizar estudo de compatibilidade entre os excipientes e extratos secos por *spray-dryer* e por leite fluidizado à base de *C. racemosa*;
- Obter lotes de bancada das formas farmacêuticas, granulado efervescente e comprimido, a partir do extrato seco por leite fluidizado de *C. racemosa* e realizar os controles de qualidade físico-químicos aplicáveis.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESPOROTRICOSE - *Sporothrix* spp.

Segundo Vásquez-del-Mercado e colaboradores (2012), *Sporothrix* teve sua primeira descrição e isolamento no Hospital Johns Hopkins, nos Estados Unidos, por Benjamin Schenck. Mas só, posteriormente, foi classificado como *Sporothrix* (SELLERA; LARSSON, 2019).

Considerada uma micose subcutânea, a esporotricose é causada por espécies de fungos dimórficos do complexo *Sporothrix schenckii* que inclui mais de 6 espécies de fungos, e que podem ser encontrados no solo ou em matéria em decomposição. As principais espécies da região tropical e subtropical são *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. luriei* e *S. schenckii sensu stricto* (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012; SELLERA; LARSSON, 2019; BARROS; PESSOA; BROTAS, 2020).

Este agente etiológico é inserido no reino Fungi, caracterizado por ser um organismo eucariótico e heterotrófico, que pode ser encontrado no meio ambiente na sua forma filamentosa, sem mobilidade própria com sua parede celular quitinosa e também rígida (OLIVEIRA, 2009).

Conhecida inicialmente como a doença do Jardineiro, pois era relacionada aos trabalhadores agrícolas que, devido ao seu trabalho contraíam com cortes ou abrasões, posteriormente por arranhões ou mordidas de animais em sua grande maioria por gatos devido ao fato do seu comportamento de amolar as unhas em árvores e enterrar suas fezes, entrando em contato com materiais que podem estar contaminados (SELLERA; LARSSON, 2019; BRIZENO; SILVA; BASSOLI, 2020).

Uma das principais formas de transmissão se dá por animais, atuando como vetores através da inoculação pós-traumática de esporos, ou de superfícies contaminadas, como madeiras, espinhos, farpas, entre outros (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012; VETTORATO et al., 2018; SELLERA; LARSSON, 2019).

Embora a predominância da doença seja em regiões com climas quentes e úmidos, sendo eles tropicais e subtropicais, possui distribuição mundial (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012).

Em relação à fisiopatologia da infecção, o fungo *Sporothrix spp.* ao atingir o órgão-alvo, ele induz uma resposta granulomatosa no hospedeiro. O fator de virulência é variável. O ergosterol que faz parte da parede celular e exoantígenos estão ligados a este fator e são eles responsáveis pela resposta da ativação de Th1 (fase inicial da doença) e Th2 (sugere a imunidade humoral, ou seja, em estágio mais avançado da doença) (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012).

Além disso, os lipídios relacionados ao fungo podem atuar como ligantes e acabam ativando receptores que induzem os fatores que sinalizam as células do complexo imunológico a desencadear o processo inflamatório (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012).

Para o diagnóstico quando há suspeita de esporotricose, é imprescindível fazer um histórico do paciente, relatos do dia-dia, viagens, trabalho, outros tipos de ocupação, criação de animais domésticos, entres outros detalhes (BRASIL, 2020).

É considerado como padrão-ouro para o diagnóstico da esporotricose o próprio isolamento do fungo no meio ágar Sabouraud. As principais características para identificação do fungo é a forma de crescimento da colônia, radiado, membranoso e pigmentado. Microscopicamente, os conídios lembram flores de margarida. Com essas características, é possível a identificação dos gêneros (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012).

Segundo o Ministério da Saúde a Esporotricose Humana é classificada em Esporotricose Cutânea, Esporotricose Linfocutânea, Esporotricose Extracutânea e Esporotricose Disseminada (BRASIL, 2020).

A Esporotricose Cutânea é bem característica ao apresentar de uma a diversas lesões na pele, principalmente nos locais como mão e braços. A Linfocutânea tem maior frequência de aparecimento, caracterizada pelos nódulos nas camadas profundas da pele onde segue o trajeto do sistema linfático, geralmente também nos membros (WALLER et al., 2016; BRASIL, 2020).

Em relação à Esporotricose Extracutânea, também conhecida com Osteoarticular, esta se espalha para diversos outros locais, principalmente para os ossos onde, além da dor, há presença de edemas e dificuldades de locomoção (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012; BRASIL, 2020).

Já a Esporotricose Disseminada, como o próprio nome diz, ela dissemina e compromete outros órgãos até sistemas, geralmente ocorre com imunocomprometidos, considerando uma doença oportunista. Quando ela é cutânea disseminada, significa que há

inúmeras lesões, porém não é sistêmica (VÁSQUEZ-DEL-MERCADO; ARENAS; PADILLA-DESGARENES, 2012; BRASIL, 2020).

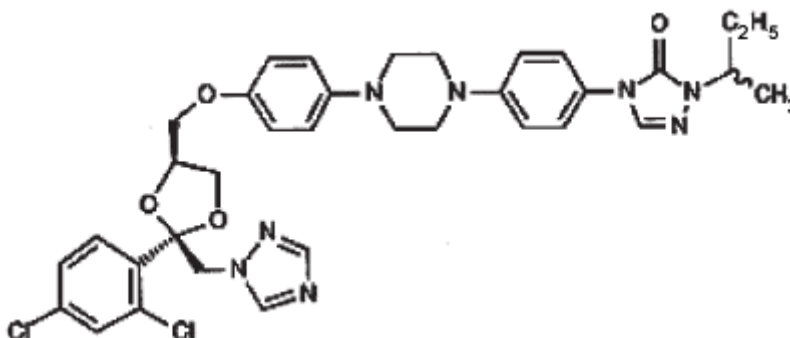
2.1.1 Fármacos Utilizados no Tratamento para Esporotricose

Os fármacos listados abaixo são os utilizados na terapia contra Esporotricose Humana:

2.1.1.1 Itraconazol

O itraconazol (figura 1) é um agente antifúngico sintético da classe dos azóis, que é de amplo espectro. Em geral, os azóis inibem a enzima fúngica responsável pela conversão do lanosterol em ergosterol, que é o principal esteroide das membranas das células fúngicas. Essa inibição resulta na não replicação do fungo (RANG; DALE, 2016).

Figura 1 - Estrutura Química do Itraconazol.



Fonte: CAZEDEY et al., 2007.

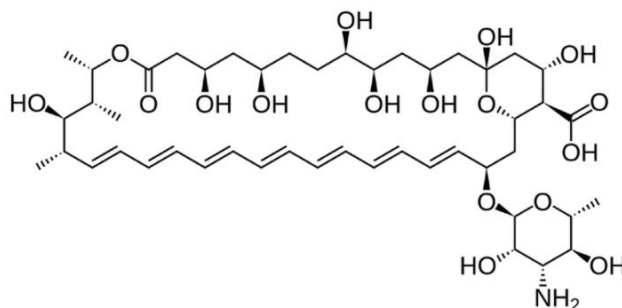
Em muitos países, em especial no Brasil, o tratamento de primeira escolha para esporotricose tanto cutânea quanto a linfocutânea é o itraconazol 200 mg por dia, em um período de três a seis meses de tratamento (VETTORATO et al., 2018).

2.1.1.2 Anfotericina B

Dentre as classificações de antifúngicos, a Anfotericina B (figura 2) é classificada como antibiótico antifúngico, composta por uma mistura de substâncias que foram advindas

de uma cultura de *Streptomyces*. Esses macrolídeos pertencem ao grupo poliênico da classificação dos agentes antifúngicos (RANG; DALE, 2016).

Figura 2 - Estrutura Química da Anfotericina B.



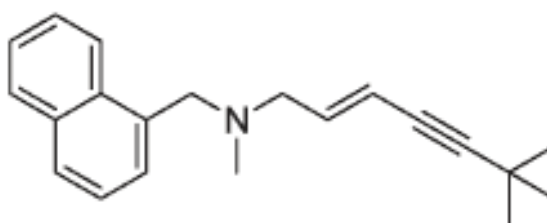
Fonte: Google imagens.

A ação da Anfotericina B é na membrana do fungo, onde ela altera a permeabilidade e também as funções de transporte da membrana, pois ela forma poros na membrana fúngica (RANG; DALE, 2016). A anfoterecina B é usualmente utilizada para terapias de esporotricose disseminada (KAUFFMAN, 2006).

2.1.1.3 Terbinafina

A terbinafina (figura 3) é um fármaco fungicida queratinofílico, recomendado para ampla gama de patógenos relacionado à pele, altamente lipofílico e indicado para infecções nas unhas. Sua ação é a inibição de uma enzima responsável pela síntese do ergosterol a partir do esqualeno. O acúmulo dessa substância é tóxico para o fungo (RANG; DALE, 2016).

Figura 3 - Estrutura Química da Terbinafina.



Fonte: Google Imagens.

2.1.2 Controle e Profilaxia da Esporotricose

A principal forma de prevenção da esporotricose e medida de controle é evitar a exposição diretamente ao fungo. Por isso, ao manusear materiais advindos do solo e plantas, é importante o uso de luvas e camisas de manga longa, assim como calçados (BRASIL, 2020).

Nos casos em que os animais estejam doentes e necessitam ser manuseados pelos donos ou por um veterinário, é de suma importância a utilização de equipamentos de proteção individual (EPIs) (BRASIL, 2020).

Importante lembrar que nenhum animal doente deve ser abandonado, ou morto. Em casos de ocorrer a morte do animal, não deve ser jogado no lixo ou enterrado em terrenos baldios, pois esta atitude ajudará a manutenção da contaminação do solo (BRASIL, 2020).

O recomendado em casos de morte do animal é a incineração, para minimizar os danos ao ambiente e interromper o ciclo de contaminação. Os indivíduos com suspeita da doença devem procurar atendimento médico para diagnóstico e rápido tratamento (BRASIL, 2020).

2.1.3 Esporotricose no Brasil – um breve relato

Um breve histórico sobre a esporotricose no Brasil mostra que a doença não era comumente descrita, porém devido a um surto no Rio de Janeiro, no final da década de 90, em proporções epidêmicas, então começou as Notificações Compulsórias dos casos (BRIZENO; SILVA; BASSOLI, 2020).

Os casos a nível Brasil ficam difíceis de analisar, pois as notificações compulsórias em casos de esporotricose humana só ocorrem em poucos estados como Rio de Janeiro, Pernambuco e Paraíba, fora esses estados, as cidades de Guarulhos, em São Paulo, e Salvador, na Bahia, fazem estas notificações (BRIZENO; SILVA; BASSOLI, 2020).

2.1.4 Esporotricose Humana em Pernambuco

Em Pernambuco, segundo Silva (2018), os dados epidemiológicos sobre a esporotricose ainda é pouco escasso na região. Porém devido às observações realizadas pelo estado, foram visto que a doença vinha crescendo nos últimos anos, isso fez com que a Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco emitisse uma portaria (PORTARIA 23 SES/PE

279 DE 23/07/2015), para incluir a esporotricose humana na lista de Notificações Compulsórias (SILVA 2018).

Segundo o Boletim Epidemiológico de Pernambuco do ano de 2021, identificou-se que dos 454 exames que foram solicitados com suspeita de esporotricose humana, 150 destes deram positivo. O estudo indica que nos últimos três anos foi o período com mais solicitações, sendo 2019, 2020 e 2018, respectivamente (PERNAMBUCO, 2021).

Desde o início das notificações, o ano de 2016 apresentou maior percentual de positividade em relação aos exames. Todavia, devido às baixas solicitações e tendo a maioria ter sido positivo (57,1 %), isto favoreceu a ter um percentual maior. Seguindo este mesmo preceito, o ano de 2018 vem logo em seguida, de acordo com essa proporção com 55,6 % (PERNAMBUCO, 2021).

Em relação ao maior número de casos, destaca-se o ano de 2019 que, com 179 solicitações de exames, 55 casos positivaram, resultando 30,7 % de casos positivos em relação à solicitação de exame. Para o ano de 2021, o Boletim só oferece dados até o mês de maio. Dos 56 exames solicitados para este ano, 12 exames positivaram, ou seja, 21,4 % dos casos positivaram para esporotricose humana (PERNAMBUCO, 2021).

Quando se observa a quantidade e o percentual de exames solicitados e aqueles que positivaram para esporotricose humana, segundo cada regional de saúde em Pernambuco, pode-se concluir que a Gerência Regional de Saúde I (Geres I), composta por 20 municípios pernambucanos, se destaca por ser responsável de ter 90,3% dos exames solicitados do estado. Segundo os anos de 2016 a maio de 2021, dos 410 exames solicitados ao todo, 142 deles positivaram, ou seja, 34,6% de casos confirmados (PERNAMBUCO, 2021).

Em segundo lugar em percentual de casos confirmados encontra-se a Geres IV que é composta por 32 municípios do estado de Pernambuco. Dos 7 exames solicitados pela regional, 3 casos foram confirmados, resultando 42,9% de casos positivos no estado (PERNAMBUCO, 2021).

Dentre as cidades do estado de Pernambuco, as cidades da Geres I lidera com maior quantidade de casos da doença, dentre elas: Recife, Olinda, Camaragibe, Jaboatão, respectivamente (PERNAMBUCO, 2021).

Em relação ao material biológico coletado para os exames em Pernambuco, com o objetivo de diagnosticar a esporotricose, a secreção das lesões foram as amostras mais coletadas. O Boletim Epidemiológico cita diversos tipos de amostras coletadas como soro, exsudado, a própria lesão, linfa, raspado, sangue entre outros. Houve uma coleta de escarro,

porém sabe-se que este tipo de amostra não é indicado para análise do agente etiológico (PERNAMBUCO, 2021).

2.1.5 Espécies vegetais com ação contra *Sporothrix* spp.

Algumas espécies vegetais foram avaliadas para ação antifúngicas, e algumas preparações foram estudadas como tratamento alternativo para esporotricose (OLIVEIRA et al., 2017).

Dentre as espécies, pode-se citar um estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2017), onde foi avaliado o efeito da espécie *Vismia guianensis* contra *S. schenckii*, conhecida popularmente como pau de lacre ou árvore da febre, encontrada em diversos países e nas regiões tropicais da América.

Estudo realizado com o extrato da espécie *Vismia guianensis* mostrou efeito antifúngico contra *S. schenckii* *in vitro* e *in vivo*, e também com efeito anti-inflamatório, auxiliando na infecção fúngica (OLIVEIRA et al., 2017).

Outro estudo encontrado sobre os efeitos contra *Sporothrix brasiliensis* foi de Waller e colaboradores (2016), que avaliou a atividade do óleo de *Origanum majorana*, conhecida popularmente por manjerona e utilizada para tratar asma, indigestão, cólicas, dor de cabeça, entre outros.

O óleo essencial de *O. majorana* apresentou propriedade antiviral, antibacteriana e antifúngica. Os testes realizados também demonstraram atividade *in vitro* para anti-*Sporothrix* spp.. Neste mesmo estudo, foram citadas algumas plantas que seus extratos foram sensíveis à ação antifúngica para *Sporothrix* spp., são elas: *Pterocaulon genus* e *Camellia sinensis* (WALLER et al., 2016).

Muitas plantas com atividades antifúngicas podem ainda ser estudadas para seu potencial anti-*Sporothrix* spp., auxiliando nos novos potenciais candidatos a fármaco, principalmente para cepas resistentes à terapia atual.

2.2 *Clarisia racemosa*

Clarisia racemosa é uma espécie de planta da família *Moreaceae*, tipicamente conhecida como guariúba, guariúba amarela, entre outros. É uma árvore considerada de porte

médio a grande, podendo chegar a 40 metros de altura. Seu tronco é característico ser delgado e retilíneo, com seu interior rico em tubos lactíferos (INPA, 2008).

Geograficamente, *Clarisia racemosa* é distribuída por florestas úmidas, podendo ser encontradas do Sul do México até o Sul do Brasil, perpassando pelas florestas de países como Bolívia, Equador, Peru, Colômbia, Venezuela, entre outros (INPA, 2008).

No Brasil é encontrada de forma majoritária na Região Amazônica. Sua floração, em Manaus, por exemplo, tem início por volta de setembro, estendendo até o mês de dezembro (INPA, 2008).

O principal uso de *Clarisia racemosa* é a exploração da madeira, cuja principal área comercial é a marcenaria, carpintaria, usada tanto na construção civil, quanto na naval (SILVA et al., 2002 STAGEGAARD; SORENSEN; KVIST, 2002; INPA, 2008).

Devido à alta dureza da madeira, ela apresenta um baixo rendimento comercial, tendo grandes dificuldades na picagem da madeira, com índice de aproveitamento de 46,8% e tem sua madeira uma alta resistência a cupins. No seu córtex, exsuda um tipo de látex branco que, ao secar, transforma-se em uma resina, útil para formação de ceras (INPA, 2008).

Um estudo realizado por Cailleau e colaboradores (2014), de mineralogia nos tecidos vegetais, *C. racemosa* em suas folhas frescas, apresentou o mineral *whewellite*, cuja composição química é o oxalato de cálcio monohidratado, já na madeira fresca, além do *whewellite*, foi detectada calcita de alto magnésio.

Popularmente, o uso medicinal é a utilização do produto da decocção do córtex, para tratar problemas relacionados à pele, e também apresenta uma alta toxicidade em relação aos fungos de madeira em estado de apodrecimento (INPA, 2008).

Em um levantamento etnofarmacobotânico na Amazônia peruana, através de entrevistas com a população que utilizavam a planta medicinal em especial para doenças parasitárias, porém com pouca validade de cunho científico, relataram a utilização da *C. racemosa* com o uso tradicional de sua casca, através do processo de maceração com aguardente, para auxiliar no combate à gripe comum, febre, reumatismo e artrite, dor no corpo e tratamento de hérnia. Neste mesmo estudo, foram testados o seu extrato etanólico para parasitas como *P. falciparum*, *Trypanosoma brucei gambiense*, *L. donovani* (forma amastigota), *L. donovani* (amastigota intramacrofágico). Neste último ensaio antileishmania, em amastigotas intramacrofágicos de *L. donovani*, *C. racemosa* se mostrou um IC₅₀ <10 µg / mL (1,63 ± 0.08), mostrando-se um resultado significativo (VÁSQUEZ-OCMÍN et al., 2018).

Outro estudo etnofarmacobotânico de grupos étnicos da Amazônia peruana nos mostra o uso medicinal da casca de *C. racemosa*, através do processo de decocção para processos diarréicos (ODONNE et al., 2013).

2.3 INDÚSTRIA MADEIREIRA E RESÍDUOS FLORESTAIS

A indústria madeireira destaca-se no âmbito mundial com um dos setores econômicos mais importantes, o Brasil com sua imensa diversidade destaca-se neste setor econômico. A construção civil é um dos setores que utiliza a madeira como matéria-prima e o que mais gera resíduo (VASCONCELLOS; OLIVEIRA, 2020).

Os resíduos florestais são classificados como aqueles que foram gerados através do processo de operação da extração da madeira, que podem ser galhos, a própria copa da árvore, pedaços de madeira, as árvores mortas, pedaços que são considerados sobras, árvores consideradas de pequeno porte ou espécies que não são comercializadas (KIZHA; HAN, 2016).

Todos esses resíduos são considerados produtos de baixo custo pela indústria. Devido ao fato de aproveitá-los como matéria-prima na geração de energia, eles são considerados subprodutos industriais e acabam sendo usados para compensar o uso de combustíveis fósseis (KIZHA; HAN, 2016).

O relatório da Indústria Brasileira de Árvores, em 2020, mostra o interesse e o investimento em pesquisa, em inovação, desenvolvimento na cadeia de produção, desde a matéria-prima, seu produto final e a gestão de resíduos (IBA, 2020).

Estes resíduos ou subprodutos podem servir como matéria-prima para diversos produtos que podem ser já estabelecidos no mercado ou aqueles que estão em fases de teste ou estudo inicial. O exemplo que pode ser citado é o uso da celulose na fabricação do papel, ou produtos para compor produtos cosméticos, tecidos ou produtos para estudo de novos medicamentos (IBA, 2020).

Sabe-se que no Brasil, o setor madeireiro é de grande importância na economia do país, em especial na Região Amazônica, onde há uma riqueza em matéria-prima madeireira e geração de empregos, porém do outro lado, existem os grandes impactos que esta atividade traz para essa Região (MELLO; ARTAXO, 2017; RAMOS et al., 2018).

Os resíduos gerados pela indústria madeireira no Brasil chegam a 91 % de 30 milhões de toneladas de resíduos por ano, onde sua maioria é gerada no processamento primário da madeira (RAMOS et al., 2018).

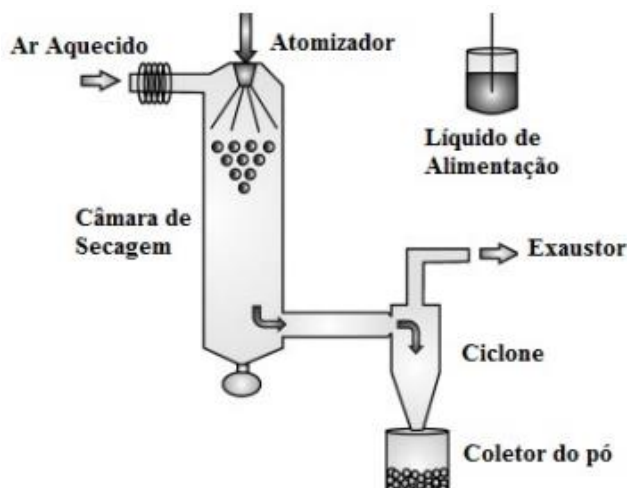
As medidas que podem ser utilizadas para diminuir os impactos ambientais, diminuindo os resíduos de madeira pela indústria madeireira, e também que proporcione credibilidade ao setor são os investimentos, por exemplo, em equipamentos adequados e eficientes que se adéquem ao diâmetro da tora de madeira, evitando desperdício, além da mão de obra qualificada, e reaproveitar os resíduos para atividades que não gerem impactos negativos ao ambiente (RAMOS et al., 2018).

2.4 SECAGEM DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO *Spray-dryer*

Nas indústrias para a produção de pós, a técnica por aspersão, conhecida por nebulização ou *spray-dryer* é bastante utilizada possibilitando a secagem de diversos materiais, com vantagem de diminuição de umidade no produto final, gerando uma melhor conservação do produto final (LANGRISH; PREMARAJAH, 2013; MENDES, 2019).

O princípio da secagem por *spray-dryer* consiste em uma técnica de pulverização de um líquido de alimentação, em uma câmara de secagem para eliminação do solvente do material que será pulverizado, quando este líquido entra em contato com uma corrente de ar que é controlada. Após este processo, o pó é direcionado para um sistema coletor, na figura 4 mostra de forma simples o processo de secagem por *spray-dryer* (MENDES, 2019).

Figura 4 - Esquema do funcionamento do Spray-dryer.



Fonte: SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P., 2015.

Essa técnica de secagem apresenta amplas vantagens como: flexibilidade operacional; aplicabilidade aos materiais que são sensíveis ao calor; melhor qualidade no produto final, resultando num produto mais seguro e com doses mais precisas; e maior estabilidade físico-química e microbiológica (BACCARIN et al., 2016; MENDES, 2019).

De uma maneira geral, os pós secos pela técnica de *spray-dryer* são mais fáceis de manusear, padronizar, transportar e armazenar (BACCARIN et al., 2016).

Com o aumento da produção de fitoterápicos, novas tecnologias são empregadas para a obtenção desses extratos secos, sendo assim a forma de secagem é de grande importância para estes produtos (MENDES, 2019).

2.5 SECAGEM DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO LEITO FLUIDIZADO

Os extratos secos padronizados destacam-se na indústria devido às suas vantagens, em comparação com o extrato líquido. Possuem uma maior estabilidade e maior facilidade de padronização (BENELLI; SOUZA; OLIVEIRA, 2013).

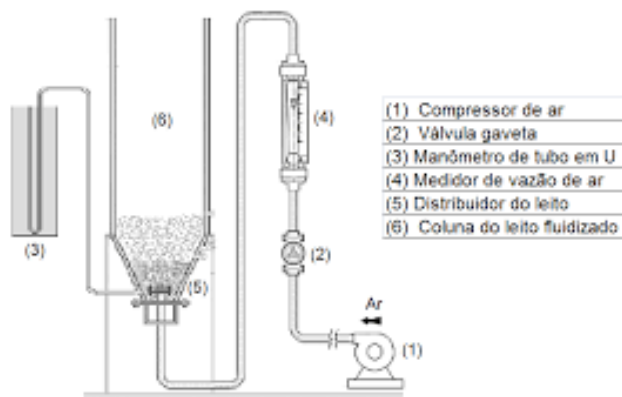
O leito fluidizado foi um método de secagem desenvolvido, à princípio, para secagem de trigo e, posteriormente, esse processo de secagem se estendeu para diversos outros processos. A técnica tem se destacado para secagem de pastas e suspensões e se apresenta também como alternativa à secagem por *spray-dryer* (BENELLI; SOUZA; OLIVEIRA, 2013; SOARES, 2018).

Dentre as vantagens da técnica, podem-se citar as altas taxas de transferência de calor e massa, o pó obtido tem aspecto granulométrico fino e uniforme, além do baixo custo de produção (SOARES, 2018).

Em relação às desvantagens do processo de secagem de extratos, pode-se citar a instabilidade do próprio sistema, acúmulo de produtos, aglomerados, perda de compostos voláteis, entre outros (BENELLI; SOUZA; OLIVEIRA, 2013).

O funcionamento do leito fluidizado se dá por uma coluna de forma cilíndrica, onde o fluido é injetado, e o movimento dos sólidos se dá de modo ascendente com a entrada da corrente de ar, onde as partículas interagem com o fluido injetado, na figura 5 mostra o esquema de funcionamento do leito fluidizado. No processo de secagem pelo leito, três tipos de força são aplicadas no processo, as de arraste, empuxo e gravitacional (SOARES, 2018).

Figura 5 - Esquema do Funcionamento do Leito Fluidizado.



Fonte: Google Imagens.

De modo geral, a secagem se dá pela formação do pulverizado de um material que está no seu estado líquido sobre a superfície de um leito de materiais inertes que ficam suspensos, graças à corrente de ar aquecido (BENELLI; SOUZA; OLIVEIRA, 2013).

A primeira etapa do processo é o revestimento do material inerte que, devido ao aquecimento, vai formando uma camada seca na superfície desses materiais (BENELLI; SOUZA; OLIVEIRA, 2013).

2.6 FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

As formas farmacêuticas sólidas são as mais comuns de serem comercializadas. Dentre as formas mais comuns estão drágeas, comprimidos, pós, cápsulas, granulados, entre outras. Cada forma farmacêutica apresenta suas vantagens e desvantagens e controles de qualidade inerentes a elas (DORDIO, 2012).

2.6.1 Granulado efervescente

Os granulados efervescentes são definidos como pós grossos a muito grosso ou grânulos que contêm o insumo farmacêutico ativo em uma mistura de pós promotores da efervescência, que geralmente é composta de bicarbonato de sódio, ácido cítrico e ácido tartárico (DORDIO, 2012; ADI-DAKO et al., 2021).

Ao entrar em contato com a água, a formulação reage e libera dióxido de carbono, e resulta no que chamamos em efervescência. Já a solução carbonatada final tende a mascarar o sabor indesejável do ativo medicinal (DORDIO, 2012; ADI-DAKO et al., 2021).

Os métodos de preparação para obtenção dos granulados efervescentes podem ser de duas formas: uma granulação por via seca, ou seja, há apenas uma mistura direta dos excipientes, e o segundo método é a via úmida, onde há a formação do granulado com a molhagem dos excipientes (DORDIO, 2012; ADI-DAKO et al., 2021).

Uma vantagem na utilização dessa forma farmacêutica é o fato de que, devido à sua capacidade de dissolver rapidamente os grânulos, o granulado efervescente pode ser usado para ajudar a melhorar o sabor de produtos que não são palatáveis (DORDIO, 2012; ADI-DAKO et al., 2021).

2.6.2 Comprimidos

A forma farmacêutica mais difundida é o comprimido. Para sua formação, tradicionalmente, usa-se a compressão de pós. O comprimido é formado por uma mistura de diversos excipientes com suas diversas características e de natureza inerte e um ou mais insumos farmacêuticos ativos (IFAs) (MARKL, et al., 2018).

A forma, a dimensão, o peso e a dureza são realizados da forma desejada. Para conseguir a etapa desejada do produto final acabado, pode-se usar granulação úmida ou seca, antes do processo de compactação, obtendo-se assim o comprimido (LEANE; PITT; REYNOLDS, 2015; MARKL, et al., 2018).

O processo de escolha dos excipientes leva em consideração as necessidades do produto final, que podem estar inerentes as propriedades do IFA e/ ou necessitar de incrementos para sua atividade final (MARKL, et al., 2018).

As partículas ativas geralmente são menores que os excipientes, que podem resultar numa baixa fluidez do pó, alta segregação, ou adesão indesejada às superfícies no momento da compressão (MARKL, et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O material botânico coletado refere-se aos resíduos da madeira, advindos do tronco da espécie vegetal *Clarisia racemosa*, que foram coletados no município de Itaquatiara - Amazonas, originária da unidade de manejo florestal (Anexos A e B) e em seguida, transportados para a Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

A identificação da espécie *C. racemosa* foi realizada pelo engenheiro florestal responsável pela empresa Mil Madeira Preciosa Ltda (*Precious Woods Amazon* Ltda), situada na cidade de Itacoatiara/Amazonas (latitude 3°03'00.6"S e longitude 58°43'04.1"W), mas precisamente localizada na estrada AM 010, no Km 38.

O laudo técnico de identificação da espécie se encontra nos Anexos A e B. A identificação oficial foi realizada pelo Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). Já seu cadastro no Sistema Nacional do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, teve como seu código cadastral AAF588D, conforme consta no Anexo C.

As amostras dos resíduos de *Clarisia racemosa* foram advindas da coleta, durante o processo de beneficiamento da madeira originária da Unidade de Manejo Florestal. A linha de produção da empresa funciona com 5 linhas; cada uma faz o corte de lote de uma única espécie por semana. A madeira utilizada para o corte vem com uma numeração, além de todas as informações inerentes a ela com relação ao manejo, por exemplo, ano de plantio, diâmetro e altura, ano e mês que foi realizado a coleta.

O tratamento das amostras se deu pela disposição em finas camadas que, posteriormente, foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 45°C, sendo esta controlada através de um termostato, garantindo assim a homogeneidade da temperatura do processo de secagem do material.

A finalização do processo de secagem ocorreu pela monitorização da perda de água, através de consecutivas pesagens em balança analítica, até peso constante, após três pesagens consecutivas.

Após o processo de secagem, o material foi triturado em um moinho de facas, pesado e armazenado em sacos plásticos previamente identificados, com todos os cuidados para que o material mantivesse seco e livre de umidade. Posteriormente, o material foi transferido para a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para que fosse realizado este estudo.

Foram realizadas coletas em duas épocas do ano (abril e novembro de 2019). A coleta em abril foi designada como lote 1 e a coleta em novembro foi designada como lote 2.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA VEGETAL

3.2.1 Granulometria da Droga Vegetal Pulverizada

Para a determinação da Granulometria de pós da droga vegetal dos dois lotes seguiu-se uma adaptação da Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019) de acordo com a disponibilidade dos tamanhos dos tamises.

Foram separados tamises com os seguintes tamanhos de abertura de malha: 850 μm , 600 μm , 425 μm , 250 μm , 150 μm e 75 μm . O conjunto de tamises foi sobreposto há um coletor, na sequência de maior abertura sobre o de menor abertura de malha (BRASIL, 2019).

Cerca de 25 g da amostra de cada lote foram pesadas e transferidas e distribuídos de forma uniforme para o tamis superior, tampados e o aparelho de agitação eletromagnética (Bertel®) foi ligado para vibrar adequadamente por cerca de 15 minutos (BRASIL, 2019).

Após o tempo de vibração, com auxílio de um pincel, as amostras retidas em cada tamis e também no coletor, foram retiradas e pesadas para verificação de quanto cada malha conseguiu reter de material (BRASIL, 2019).

Para os dois lotes de coleta, foram feitas triplicatas, para melhor visualização dos resultados.

3.2.2 Determinação de Cinzas Totais

Para a realização da determinação de Cinzas Totais foram seguidas as orientações descritas na Farmacopeia 6ª edição (2019). Assim, foram pesadas de cada lote de coleta, 3 gramas do pulverizado da droga vegetal e transferidos para cadinhos de porcelana que foram previamente pesados, anotados seu peso e tarados para que não houvesse interferência de peso.

As amostras ao serem transferidas, foram cuidadosamente uniformizadas na sua distribuição no cadinho, posteriormente foram colocados na mufla Quimis® Q318M21. Foi

iniciada a incineração do material, aumentando de forma gradativa até a temperatura máxima em que todo carvão seja eliminado, $\pm 600\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2019).

O gradiente de temperatura seguiu o padrão sugerido pela Farmacopeia 6ª edição (2019): 30 minutos a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 60 minutos a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 90 minutos a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após a finalização os cadinhos foram colocados em um dessecador para resfriamento e pesagem dos mesmos. Após pesagem foi calculado a porcentagem de cinzas em relação à droga seca de cada lote (BRASIL, 2019).

O procedimento foi realizado em triplicata e calculado o desvio-padrão.

3.2.3 Perda por Dessecação (Determinação de Umidade)

Através do método gravimétrico utilizado seguindo as determinações da Farmacopeia Brasileira 6ª edição, foram pesados aproximadamente 2 g da droga vegetal pulverizada dos dois lotes, e transferidos para pesa-filtros previamente dessecados por 30 minutos e resfriados até temperatura ambiente em um dessecador.

As amostras foram distribuídas o mais uniformemente possível, de modo que se forme uma camada fina entre 5 mm e no máximo 10 mm. Posteriormente, os pesa-filtros contendo as amostras foram colocados, de forma destampada, juntamente com suas tampas à parte, em uma estufa Ethiktechnology®, com temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas.

Após este procedimento todos os pesa-filtros foram colocados no dessecador até resfriar e, ao chegar à temperatura ambiente, foram pesados. Esta operação foi realizada até se obter o peso constante das amostras e então a porcentagem equivalente a perda por dessecação foi calculada.

O procedimento foi realizado em triplicata para ambos os lotes coletados e calculado o desvio-padrão.

3.2.4 Análise Térmica

Para obtenção das curvas Termogravimétricas e da Análise Térmica Diferencial (TG/DTA), foi utilizada uma termobalança simultânea (TG/DTA) do equipamento do fabricante Shimadzu® (DTG-60H), disponibilizado pelo LTM/ UFPE. O material com peso de $5\text{ mg} \pm$

0,1 foi colocado em um cadinho de platina, que foi submetido a um intervalo de temperatura de 25 a 600°C com razão de aquecimento de 10°C/ min, submetido sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 100 mL/min. Este teste foi realizado para a droga vegetal pulverizada, para o extrato seco, com e sem a associação do dióxido de silício coloidal, para o extrato seco por leito fluidizado e para os excipientes utilizados na secagem, a lactose e a celulose microcristalina 102.

3.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO

3.3.1 Obtenção do Extrato Hidroalcoólico

Para obtenção o extrato hidroalcoólico, a metodologia empregada foi a de maceração na proporção droga vegetal/ solução extrativa de 1: 10 (p/v). Este procedimento foi realizado com os dois lotes de coleta obtidos.

Foram pesados 50 g da droga vegetal, onde foi colocado em um recipiente com tampa e adicionado 500 mL de álcool a 70 %. Após fechamento do recipiente, houve a homogeneização da mistura, para que houvesse maior contato do líquido extrator com a droga vegetal.

O tempo de duração da maceração foi de 7 dias. Após este tempo, foi realizada uma filtragem com algodão para obtenção do extrato. Em seguida, foi calculada uma média de rendimento do extrato.

3.3.2 Determinação da Densidade Relativa

Para determinação da densidade relativa do extrato hidroalcoólico, seguiu-se o método do picnômetro descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019).

Foi utilizado um picnômetro de 25 mL, previamente seco, limpo e calibrado. Sua calibração consiste em pesar o picnômetro vazio e preenchido com água destilada a 20 °C, obtendo assim as respectivas massas (BRASIL, 2019).

Posteriormente, foi adicionada a amostra homogeneizada para o picnômetro, também previamente resfriada a 20 °C, obtendo-se através da diferença de massa do picnômetro vazio, o valor do peso da amostra. Esta análise foi feita em triplicata para os dois lotes utilizados (BRASIL, 2019).

3.3.3 Determinação do pH

Para determinação do pH do extrato hidroalcolico de ambos os lotes, utilizou-se um medidor de pH Micronal[®] (modelo B474), previamente calibrado, através da leitura de um eletrodo, para obtenção dos resultados (BRASIL, 2019).

3.3.4 Determinação de Resíduo Seco do Extrato Hidroalcolico

Para a determinação do resíduo seco, foram utilizados pesa-filtros previamente limpos e secos, sendo o teste realizado em triplicata com os dois lotes, seguindo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019).

Foram adicionados a cada pesa-filtro 2 mL do extrato hidroalcolico e pesados. Posteriormente, foram levados a banho-maria até evaporar todo líquido levando-o à secura, em seguida, foram colocados em uma estufa (Ethiktechnology[®]), a uma temperatura de 105 °C durante 3 horas (BRASIL, 2019).

Os pesa-filtros foram retirados da estufa e aguardaram resfriamento em um dessecador e pesados, sendo o resultado expressos em porcentagem g/ mL (BRASIL, 2019).

3.3.5 Prospecção Fitoquímica

Para a caracterização do Perfil Fitoquímico do extrato hidroalcolico de *Clarisia racemosa*, foi necessário a secagem do material em Estufa de Circulação de ar (Ethiktechnology[®]), e após secagem foi adicionado metanol para que quando fosse aplicado nas placas de sílica em gel, a secagem seria mais rápida.

A técnica empregada foi a Cromatografia em Camada Delgada (CCD), que seguiram as metodologias das referências descritas na tabela 1 abaixo, além disso, pode-se observar na tabela 1 a classe de metabólitos e os sistemas de eluição com os respectivos reveladores.

Tabela 1 - Sistemas e reveladores para a Cromatografia em Camada Delgada.

CLASSE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	PADRÕES	SISTEMA DE ELUIÇÃO	REVELADOR
Flavonoides e fenilpropanoides	Quercetina, rutina e ácido cafeico	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	NEU
Triterpenos e esteroides	β -sitosterol	Tolueno:AcOEt (90:10 v/v)	Lieberman &Burchard
Mono e sesquiterpenos	Timol e nerolidol	Tolueno:AcOEt (97:3 v/v)	Anisaldeído sulfúrico
Cumarinas	Cumarina	Tolueno:Éterdietílico:AcOH 10% (1:1:1 v/v)	KOH
Alcaloides	Pilocarpina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Dragendorff
Proantocianidinas	Catequina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Vanilina clorídrica
Taninos hidrolisáveis	Ácido gálico e ácido tânico	AcOEt-Tolueno-HCOOH (10:3:1 v/v)	Alúmen de ferro

Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 2 - Metodologias empregadas na fitoquímica.

CLASSE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	REFERÊNCIAS
Flavonoides e fenilpropanoides	Wagner & Bladt, 1996 Brasseur & Angenot, 1986
Triterpenos e esteroides	Harborne, 1998
Mono e sesquiterpenos	Harborne, 1998
Cumarinas	Wagner & Bladt, 1996
Alcaloides	Wagner & Bladt, 1996
Proantocianidinas	Roberts et al. 1957
Taninos hidrolisáveis	Metz, 1961

Fonte: Dados da pesquisa

3.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO

Para obtenção do Extrato seco, duas técnicas foram empregadas: *Spray-dryer* e Leito Fluidizado, utilizando os extratos com diferentes lotes de coleta da droga vegetal.

3.4.1 Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do *Spray-dryer*

A primeira técnica utilizada foi a secagem por *Spray-dryer*. Utilizou-se como adjuvante de secagem o Aerosil® 200 (Dióxido de Silício Coloidal) na concentração de 30 %, em relação ao resíduo seco dos extratos hidroalcoólicos.

A secagem foi realizada em um Mini *Spray-dryer* BÜCHI B290. Para a preparação das amostras, os extratos hidroalcoólicos foram diluídos em água destilada, para diminuir a concentração de álcool para um percentual de 15 %, permitindo assim a utilização do equipamento no modo sistema aberto.

Os parâmetros utilizados para a secagem foram: temperatura de admissão: 120 °C, temperatura de saída: 100 °C, velocidade de fluxo: 7,0 mL/min e pressão de 600 mmHg.

Todos os parâmetros se mantiveram constantes durante a secagem. Durante todo o processo os extratos hidroalcoólicos, com a adição do adjuvante, mantiveram-se sob agitação (MENDES, 2019).

Foram obtidos dois lotes de bancada (A e B).

O lote A, por *spray-dryer*, foi obtido utilizando o extrato hidroalcoólico resultante do lote de coleta 1 da droga vegetal. E o lote B, por *spray-dryer*, foi obtido utilizando o extrato hidroalcoólico resultante do lote de coleta 2 da droga vegetal.

3.4.2 Obtenção do Extrato Seco por Leito Fluidizado

A preparação das amostras se deu através da mistura de pós sendo a matriz para o extrato hidroalcoólico. Foram pesados 10 g de lactose anidra e 20 g de celulose microcristalina 102. Em seguida, foram adicionados 20 mL do extrato hidroalcoólico a esta mistura de pós.

Após a mistura, em seguida a massa obtida foi colocada no cilindro de vidro na parte superior do leito fluidizado (LabMiq modelo MLF 100). Os parâmetros adotados no equipamento foram: a velocidade inicial da vazão do ar de secagem em 1,0 m³/min, a temperatura ajustada em 60 °C, a vazão do ar comprimido 40 L/min, e com o sistema de vibração a 50 %.

Durante o processo de secagem foram injetadas mais 130 mL de extrato hidroalcoólico, a uma velocidade de 1 mL/ min, totalizando 150 mL de extrato. Após este procedimento, aguardaram-se 20 minutos com o equipamento ligado para secar por completo a última injeção de extrato.

O lote C, por leito fluidizado, foi obtido utilizando o extrato hidroalcoólico resultante do lote de coleta 1 da droga vegetal. E o lote D, por leito fluidizado, foi obtido utilizando o extrato hidroalcoólico resultante do lote de coleta 2 da droga vegetal.

3.4.3 Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Extrato Seco

O estudo de compatibilidade dos excipientes se deu através da Análise Térmica e sua metodologia está descrita no subtópico 3.2.4. As análises foram feitas tanto para a secagem por *spray-dryer* quanto para a secagem por leito fluidizado, de ambos os lotes de coleta, para verificação e análise de incompatibilidades.

3.4.4 Perda por Dessecação (Determinação de Umidade)

Para avaliação de umidade dos extratos secos pelos dois métodos de secagem utilizados (Lotes A, B, C e D), seguiu-se a metodologia já descrita no subtópico 3.2.3 (BRASIL, 2019).

3.4.5 Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas

Para análise da área superficial específica foi utilizado o método BET (*Brunauer, Emmett and Teller*). Já para determinação do volume e diâmetro médio foi usado o método BJH (*Barret, Joyner and Halenda*).

Foram pesados aproximadamente 0,1320 g de cada amostra obtida por *spray-dryer* (Lotes A e B) e 0,3828 g do lote C e 0,3145 g do lote D, obtidos através da secagem do leite fluidizado. As análises foram realizadas no CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste), onde para eliminação de possíveis contaminantes, as amostras foram submetidas a uma temperatura constante de 180 °C, no vácuo para desgaseificação, por duas horas (SILVA, 2010).

Posteriormente as amostras foram submetidas a um fluxo de nitrogênio gasoso. Durante toda análise a célula que contém a amostra foi imersa em nitrogênio líquido a uma temperatura de aproximadamente -196°C (SILVA, 2010).

3.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura ambiental FEI, Quanta[®] 200 FEG, onde foram comparadas as amostras dos extratos secos por *spray-dyer* (Lotes A e B) e os extratos secos por leite fluidizado (lotes C e D), para avaliar a morfologia de ambos.

3.4.7 Determinação da Densidade Aparente e de Compactação

Para a realização do ensaio, utilizaram-se 10 g de cada amostra dos dois lotes do extrato seco por leito fluidizado, onde foram colocados em uma proveta de 100 mL. A densidade compactada foi obtida através do equipamento *Tap density*[®] (ALVES, et al., 2008).

Após o preenchimento das provetas com as amostras, estas foram submetidas inicialmente com 10, 500 e 1250 quedas repetidas vezes, até que a diferença entre as batidas não fossem superiores a 2 % (ALVES, et al., 2008).

Assim para a determinação da densidade aparente (*da*) e densidade compactada (*dc*), utilizou-se a relação entre as massas e o volume, antes e após o processo de compactação utilizado (ALVES, et al., 2008).

A partir dos valores encontrados para as densidades, foram calculados o fator de Hausner (FH), Índice de Compressibilidade (IC) e Índice de densificação (ID) (ALVES, et al., 2008).

3.4.8 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD) foram realizadas utilizando um cromatógrafo líquido Shimadzu[®] equipado com um sistema quaternário de bombas (LC – 20AT), degaseificador (DGU – 20A), injetor automático (SIL - 20A), forno (CTO - 20A), detector DAD (SPD - M20) e controlador (CBM – 20A), e os dados foram analisados usando software Shimadzu[®] LC solution 1.0 (Japão).

O método utilizado foi adaptado de Ferreira e colaboradores (2016), com as seguintes condições cromatográficas: como fase estacionária coluna C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm, Thermo Scientific[®] C18) com pré-coluna, e fase móvel composta de 2 solventes: solvente A- metanol e solvente B – água ultra pura, ambos acidificados com ácido trifluoroacético 0,05 % com fluxo de 0,6 mL/min, em gradiente de acordo com a Tabela 3. A temperatura foi mantida constante a 24 °C, com volume de injeção de 25 µL e sendo monitoradas de 190 a 400 nm.

Tabela 3 - Sistema gradiente de fase móvel utilizado para determinação qualitativa em CLAE-DAD.

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0 -10	12,5-25	87,5-75
10-15	25-40	75-60
15-30	40-75	60-25
30-40	75	25
40-43	75-12,5	25-87,5
43-55	12,5	87,5

Legenda: Solvente A - metanol e Solvente B – água ultra pura, ambos acidificados com ácido trifluoroacético 0,05 %

Fonte: Dados da pesquisa.

As amostras de *Clarisia racemosa*, lotes A e B do extrato seco por *spray-dryer* e lotes C e D para do extrato seco por leito fluidizado, foram solubilizadas, separadamente, em metanol na concentração de 5 mg/ mL. Todas as soluções foram filtradas, através de membrana filtrante de 0,22 μ m de poro, antes de serem analisadas no cromatógrafo. A detecção foi realizada em DAD no comprimento de onda de 305 nm.

• Substâncias químicas de referência

Para determinação qualitativa foram analisadas soluções das substâncias químicas de referência (SQRs) adquiridas comercialmente da Sigma Aldrich®: ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido protocatecuico, ácido tânico, apigenina, crisina, cumarina, epigallocatequina, fisetina, galocatequina, harmina, hesperedina, hesperetina, isoorientina, kaempfenol, narigenina, quercetina di-hidratado, quercetina 3 beta, resveratrol, rutina, evitexinana na concentração de 200 μ g/mL.

A SQR identificada na amostra *C. racemosa* foi avaliada em uma série de concentrações, variando nos intervalos de 40 a 200 μ g/mL. Os testes foram realizados em triplicata, para obter a curva de calibração, a partir da média desses valores.

• Identificação dos compostos por CLAE-DAD

As SQRs foram preparadas em metanol, analisadas individualmente com volume de injeção de 5 μ L. Após as análises, os cromatogramas das amostras e das SQRs foram analisados e confirmados por comparação do tempo de retenção (TR) e pelos espectros de DAD ($\lambda_{\text{máx}}$), ambos avaliados no comprimento de onda 305 nm.

3.5 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA – ATIVIDADE ANTIFÚNGICA PARA *Sporothrix* spp.

O material vegetal utilizado para o teste antifúngico para *Sporothrix* spp. foram os extratos secos tanto por *Spray-dryer* (Lotes A e B), quanto por leite fluidizado (Lotes C e D). Foram pesados 100 mg dos extratos, adicionados a um balão de 10 mL e completados com água deionizada.

As soluções foram repassadas para um tubo falcon cada uma. Posteriormente, passou por um processo de esterilização através da autoclavagem. E, por conter partículas grandes e o material ser turvo, as amostras também passaram pelo processo de filtração (esterilização física).

Tanto os antifúngicos (itraconazol e anfotericina B) quanto os extratos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO). Sete cepas de *Sporothrix* spp. foram utilizadas para verificação da atividade anti-*Sporothrix* desses extratos.

Os isolados de *Sporothrix* spp. foram mantidos em meio ágar batata dextrose (BDA) e incubadas a 35 °C durante 7 dias. A cepa de referência utilizada para validação do teste foi a ATCC 22019 de *Candida parapsolosis*.

As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina (0,85 g/ L), e sua densidade foi ajustada de acordo com a escala 0,5 MacFarland de 80 % a 82 % da transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530 nm. O volume do inóculo foi posteriormente diluído em RPMI 1640 para uma concentração de $2-5 \times 10^3$ céls. mL⁻¹.

Para os testes de sensibilidade, foram utilizadas placas de microtitulação planas de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços com os antifúngicos e as placas foram incubadas a 35°C, durante 48h, antes da leitura dos resultados para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às drogas e aos extratos.

A leitura do teste feito com os fármacos foi feita de acordo com o pré-estabelecido pelo documento M38-A2 (CLSI, 2008), enquanto a leitura do teste feito com os compostos foi feita a 100% da inibição.

3.6 DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE GRANULADO EFERVESCENTE À BASE DO EXTRATO SECO DE *Clarisia racemosa* POR LEITO FLUIDIZADO

3.6.1 Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de *Clarisia racemosa*

Os estudos realizados se basearam na metodologia empregada no item 3.2.4., utilizando o extrato seco pelo leite fluidizado (3.4.2), para verificação de compatibilidade do extrato com os excipientes utilizados.

3.6.2 Obtenção do Granulado Efervescente à base de *Clarisia racemosa*

Para o estudo de pré-formulação, cinco lotes foram manipulados, ambos para que fosse obtido o peso final com média de $\pm 5,5$ g. Em ambos os lotes, o peso do extrato seco por leite fluidizado se manteve constante. Em cada lote, foi pesados 1 g do extrato e adicionado aos excipientes da formulação.

O método escolhido para formulação foi por via úmida. Em um gral foram adicionados os excipientes promotores da efervescência e homogeneizados. Os excipientes foram: o ácido cítrico, ácido tartárico e bicarbonato de sódio e, posteriormente, os outros excipientes e o extrato seco por leite fluidizado e homogeneizou-se.

A tabela 4 demonstra todo o planejamento das formulações aplicadas em ambos os lotes, com as respectivas variações. Em todos os casos, manteve-se fixo o valor do extrato seco e também foram respeitadas as proporções entre o bicarbonato de sódio, ácido cítrico e ácido tartárico, para que se obtivesse a efervescência.

Tabela 4 - Lotes de bancada do Granulado Efervescente à base do extrato seco de *Clarisia racemosa*.

Componentes	LB I (%)	LB II (%)	LB III (%)	LB IV (%)	LB V (%)
Extrato seco por Leite Fluidizado de <i>C. racemosa</i>	20,00	20,2959	18,6915	18,0180	17,8573
Sucralose	8,020	9,1575	5,6075	11,5315	10,7141
Ácido Cítrico	10,6960	10,2454	13,0841	10,8109	10,7143
Ácido Tartárico	21,3920	22,8552	22,4299	21,6216	21,6071
Bicarbonato de Sódio	32,0920	32,3517	35,5140	32,6126	32,1430
PVP K30	7,8000	5,0943	4,6730	5,4054	6,9642
TOTAL	100,0000	100,0000	100,0000	100,0000	100,0000

Legenda: LB – Lote de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.3 Controles de qualidade da pré-formulação de granulado efervescente à base de *Clarisia racemosa*

3.6.3.1 Características Organolépticas

O granulado efervescente inicialmente foi solubilizado em 100 mL de água destilada para a realização da caracterização organoléptica. Foram analisados o odor, cor e sabor da formulação final solubilizada.

3.6.3.2 Umidade residual

Para análise de umidade residual do granulado efervescente, o método utilizado foi o mesmo utilizado no subtópico 3.2.3, descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), para a formulação que apresentou um lote considerado melhor tecnologicamente (BRASIL, 2019).

3.6.3.3 Desagregação e ponto de efervescência

Para este ensaio, o granulado foi colocado em um béquer de vidro e em seguida foi adicionado água destilada que estava em uma proveta, sendo observado o quanto de água foi suficiente para que se conseguisse promover total dissolução do granulado efervescente.

3.6.3.4 Densidade

Para a análise da densidade do granulado efervescente, primeiramente, ele foi dissolvido por completo e resfriado a temperatura de 20 °C e posteriormente seguiu a metodologia do subtópico 3.3.2 já descrita.

3.6.3.5 Verificação do pH

Após o granulado efervescente ser dissolvido completamente, foi possível verificar o pH através do equipamento Micronal® (modelo B474), previamente calibrado (BRASIL, 2019).

3.7 DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS À BASE DO EXTRATO SECO DE *Clarisia racemosa* POR LEITO FLUIDIZADO

3.7.1 Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de *Clarisia racemosa*

Para o estudo de compatibilidade dos excipientes, a metodologia empregada está descrita no subtópico 3.2.4 e os resultados utilizados foram baseados no subtópico 3.4.3.

3.7.2 Obtenção do Comprimido à base de *Clarisia racemosa*

Para obtenção dos comprimidos, foi utilizada a compressora rotativa de 16 punções circulares de aço inoxidável (*Neuberger*, MN-16). Para formação do comprimido, foram utilizados punções de 13 mm de diâmetro. Os comprimidos foram acondicionados em recipientes hermeticamente fechados.

Como o extrato seco por leito fluidizado continha, além do extrato hidroalcoólico, lactose e celulose microcristalina 102, optou-se, inicialmente, por utilizar o próprio extrato seco para compressão direta e formação dos comprimidos, simulando uma pré-compressão.

Foram manipulados 15 comprimidos de cada lote (C e D), para obtenção de peso médio de 500 mg.

3.7.3 Controles de qualidade da pré-formulação de Comprimido à base de *Clarisia racemosa*

Para a determinação e caracterização dos controles físicos da pré-formulação dos comprimidos à base de *Clarisia racemosa*, foram realizados os seguintes testes: determinação do peso médio, friabilidade, dureza e tempo de desintegração (BRASIL, 2019).

3.7.3.1 Determinação do peso médio dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

Para determinação do peso médio, os comprimidos manipulados foram pesados individualmente em uma balança analítica Shimadzu® e, posteriormente, foi calculada a média entre os pesos, aceitando como limite de variação de $\pm 5 \%$ (BRASIL, 2019).

3.7.3.2 Friabilidade dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

Devido à baixa quantidade de comprimidos obtidos, para o ensaio de friabilidade dos comprimidos dos dois lotes, foram separados e pesados 3 comprimidos de cada e submetidos ao equipamento Priss Test® (BRASIL, 2019).

Após 100 rotações, os resíduos de pó foram removidos e os comprimidos foram submetidos à outra pesagem. O valor da friabilidade dos comprimidos foi calculada pela diferença do peso inicial e o peso final em que é medida em função do pó que foi perdido no processo de rotações (BRASIL, 2019).

3.7.3.3 Dureza dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

O teste teve uma modificação quanto ao número de comprimidos que é solicitado na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), que são 10 comprimidos para o ensaio. Devido à baixa quantidade de comprimidos obtidos, foram separados 3 comprimidos de cada lote, que foram submetidos à ação do durômetro da Varian®, no qual foi possível medir a força necessária para esmagá-lo ou rompê-lo, através de uma pressão radial (BRASIL, 2019).

O resultado foi expresso por meio da média dos valores obtidos dos comprimidos, utilizados para o ensaio e a força aplicada foi medida em kgf/cm^2 (BRASIL, 2019).

3.7.3.4 Tempo de desintegração dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

Para avaliação do tempo de desintegração, utilizou-se o desintegrador Nova Ética[®], contendo duas cestas com 6 tubos cada. Em cada cesta, foram colocados comprimidos de lotes diferentes para avaliação do tempo de desintegração (BRASIL, 2019).

Após acionar o equipamento, esperou-se que a temperatura da água de imersão chegasse a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (± 1). Posteriormente os comprimidos foram colocados nos tubos das cestas e observados o tempo que levou para se desintegrar por completo (BRASIL, 2019). O limite de tempo para desintegração de comprimidos não revestido segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019) é de 30 minutos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MATERIAL

Foram recebidos aproximadamente 500 gramas do lote 1, e do lote 2, os quais foram coletados em abril e novembro de 2019, respectivamente.

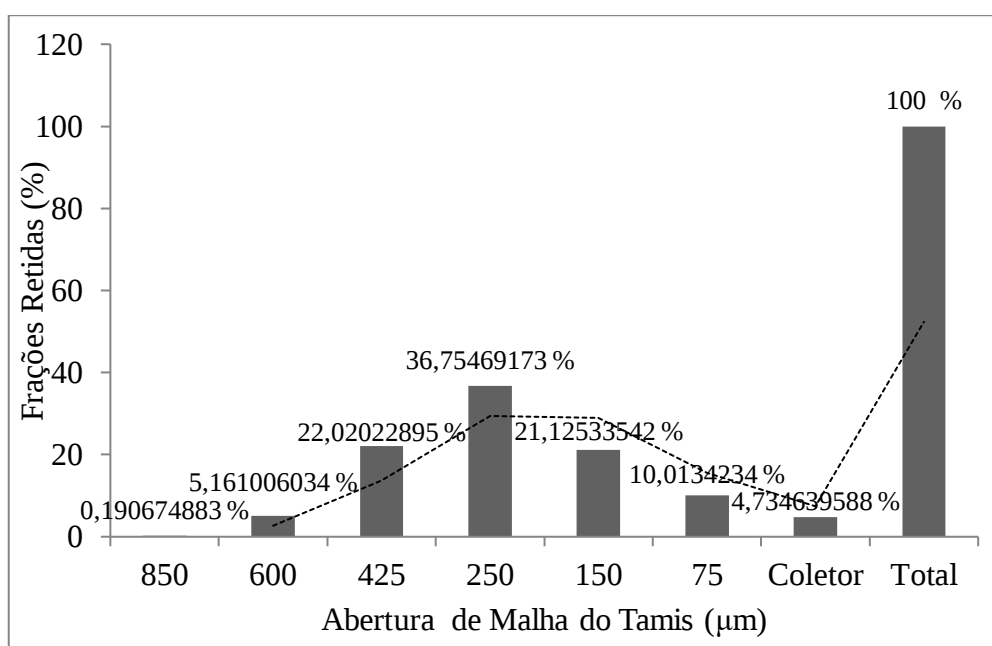
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA VEGETAL

4.2.1 Granulometria da Droga Vegetal Pulverizada

Após o processo de moagem da droga vegetal, foi possível analisar a granulometria, avaliando a distribuição do tamanho das partículas e dados para verificação do tamanho médio do material vegetal.

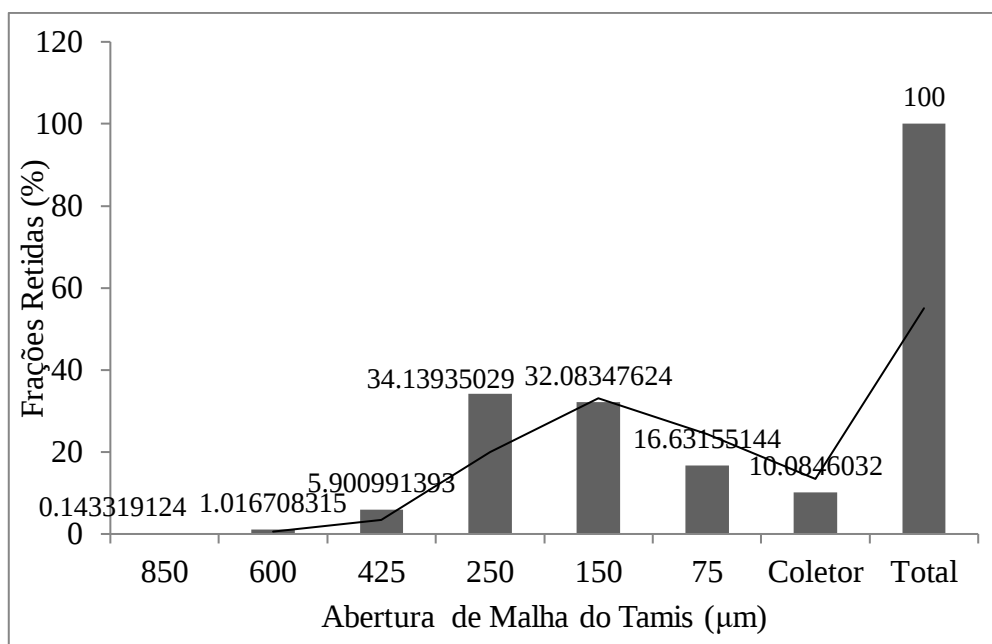
Os resultados que foram obtidos após o processo experimental estão dispostos em forma de porcentagem na Figura 6 para o lote 1 e na Figura 7 para o lote 2. Foi indicado o percentual retido em cada tamis e também no coletor.

Figura 6 - Histograma do perfil granulométrico da droga vegetal pulverizada de *Clarisia racemosa* - Lote 1.



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 7 - Histograma do perfil granulométrico da droga vegetal do pulverizada de *Clarisia racemosa* - Lote 2.



Fonte: Dados da pesquisa.

Vale ressaltar a importância do tamanho das partículas, devido à forte influência que se tem em relação ao processo de extração dos compostos da droga vegetal, visto que, quanto menor o tamanho das partículas, maior será a superfície de contato com líquido extrator, possibilitando uma melhor eficiência no processo de extração (ALENCAR-FILHO et al., 2020).

Foi possível ser observado que em sua maioria as partículas da droga vegetal pulverizada de *Clarisia racemosa* do lote 1 ficaram retidas nos tamises de abertura de malha 425 µm (22,0202 %) e 250 µm (36,7546 %), totalizando 58,7748 % de retenção da droga vegetal nestes tamises.

Já no lote 2 as partículas do pulverizado ficaram em sua maioria retidas nos tamises de abertura de malha 250 µm (34,1393 %) e 150 µm (32,0834 %), totalizando a retenção de 66,2227 % da droga vegetal nestes tamises.

Baseando-se na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019) e avaliando as especificações descritas nela sobre a retenção de pós após tamisação, pode-se concluir que a droga vegetal pulverizada *C. racemosa* do lote 1 pode ser classificada como moderadamente grosso. Para a classificação do pó como moderadamente grosso, foi visto que, no máximo, 40 % do pó deveria passa pelo tamis com abertura de malha de 250 µm (BRASIL, 2019).

Já no caso do lote 2, por critérios de exclusão, já que seu perfil não se encaixa no moderadamente grosso e nem no grosso, foi assim classificado como pó semifino. Como a moagem do material vegetal foi realizada em períodos diferentes, pode ter ocorrido uma não padronização de malha em relação ao processo.

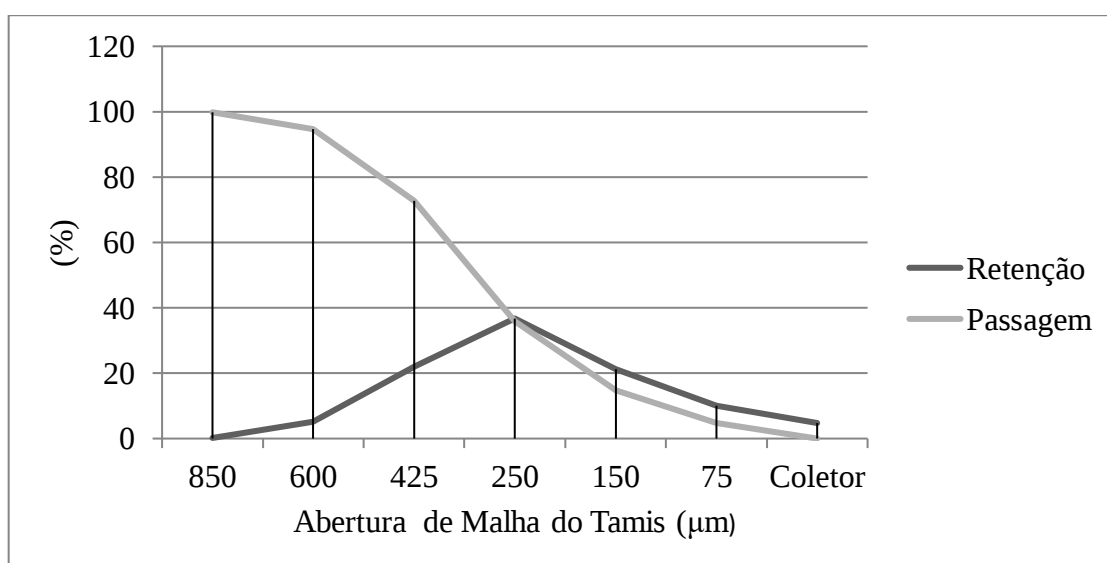
Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), a classificação para pó semifino se dá quando, no máximo, a droga vegetal pulverizada passa 40% pelo tamis de malha com abertura de 180 μm . Como a malha utilizada, neste estudo, foi a de 150 μm , foi contabilizado o que ficou retido a partir de 150 μm .

Os dados são bastante escassos sobre essa espécie vegetal. Não foram encontrados, na literatura, dados comparativos que dessem uma maior consistência aos resultados obtidos. Entretanto, como este ensaio foi realizado em triplicata, foi possível calcular o desvio-padrão e o coeficiente de variação.

Os resultados do desvio padrão dos lotes 1 e 2 são respectivamente 0,07518 e 0,06025, e o coeficiente de variação, 0,3 % para o lote 1 e 2,5 % para o lote 2, sendo ambos menores que 5 %, por tanto aceitáveis.

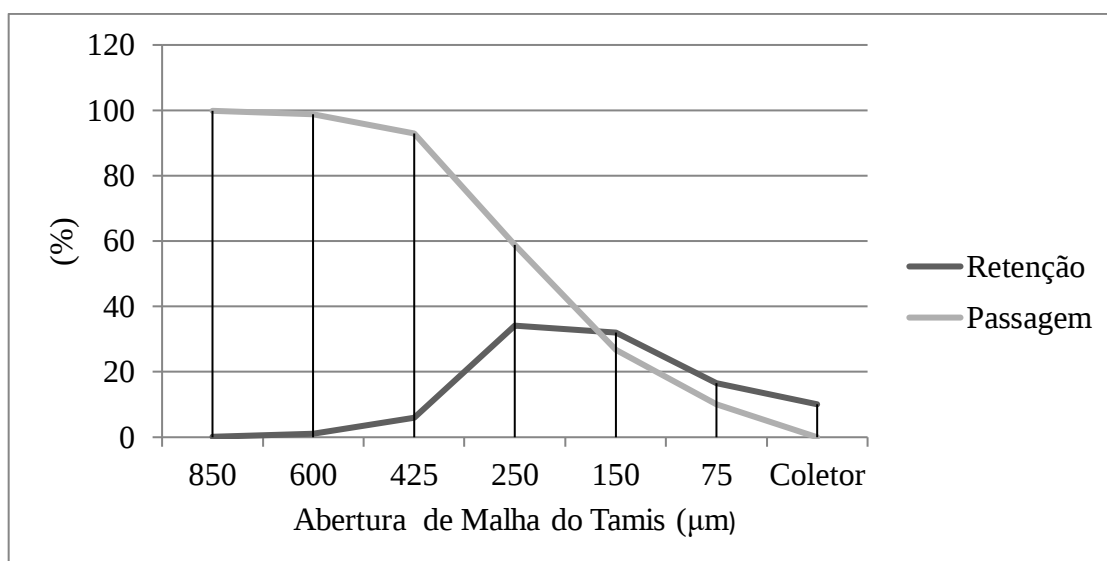
A partir do gráfico de intersecção, pode-se encontrar o tamanho médio das partículas, através do ponto de equilíbrio entre ambos. Nas Figuras 8 e 9, é possível estipular o tamanho médio das partículas do lote 1 ser aproximadamente 250 μm e do lote 2 ser por volta de 167 μm .

Figura 8 - Curva de retenção e passagem da droga vegetal pulverizada - Lote 1 (abril de 2019).



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 9 - Curva de retenção e passagem da droga vegetal pulverizada - Lote 2 (Novembro de 2019).



Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.2 Determinação de Cinzas Totais

Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), as cinzas totais são compostas por cinzas fisiológicas e não fisiológicas. Dado à sua importância no processo de controle de qualidade da droga vegetal, onde se torna possível observar diante dos resultados se há indícios de contaminação pela presença de impurezas inorgânicas não voláteis (SILVA; SILVA; LINHARES, 2020).

Os resultados obtidos para porcentagem de cinzas totais encontradas na droga vegetal estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Cinzas Totais da droga vegetal *Clarisia racemosa*.

Droga Vegetal	Média do teor de Cinzas Totais (%)	Coefficiente de Variação (%)
Lote 1	0,8261	0,03
Lote 2	1,504	0,17

Fonte: Dados da pesquisa.

O relato encontrado no estudo de Machado (2015) mostrou que o teor de cinzas de *C. racemosa* foi de 1,82 %, diferindo dos valores encontrados neste trabalho.

Porém devido aos escassos estudos sobre a caracterização desta espécie, necessita-se de uma maior padronização dos resultados, aprofundando assim os estudos e delimitando o máximo percentual aceito para a espécie em questão.

Outro ponto a ser discutido é a relação que, os dois lotes são de estações de ano diferentes, a primeira sendo um período de transição entre os períodos chuvosos e seco na Amazônia e a segunda um período chuvoso na região (FISCH; MARENGO; NOBRE, 1998).

As constituições das plantas devido à sazonalidade, além da localidade de coleta, a forma de preparo das amostras, podem influenciar nos aspectos físico-químicos da droga vegetal (TANNUS, 2020).

4.2.3 Perda por Dessecação (Determinação de Umidade)

De acordo com a análise realizada para perda por dessecação, o resultado obtido para a droga vegetal de lote 1 foi de $7,13 \pm 2,4\%$ e do lote 2, o resultado encontrado foi de $8,7 \pm 0,31\%$.

Na literatura faltam relatos para confrontar os dados encontrados neste estudo, porém Zanuncio (2013), no seu estudo sobre a “Influência da Secagem da Madeira de *Eucalyptus* e *Corymbia* na Produção e Qualidade do Carvão”, cita que a umidade da madeira de *Clarisia racemosa* é de 7,7 a 14,09 %.

Portanto, os dados encontrados tanto se aproximam quanto também se encontram dentro da faixa citada por Zanuncio (2013). Já os limites empregados pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009), de forma geral, são de 8 % a 14% de água.

O ensaio de perda por dessecação está descrito na Farmacopéia Brasileira 6ª edição (2019), para determinar a quantidade de qualquer substância volátil. Sabe-se que, na madeira, pode-se encontrar água em diversas formas: água que está no interior sendo ela livre ou de capilaridade, água que está adsorvida e água que faz parte propriamente dita da constituição da madeira (ZANUNCIO, 2013).

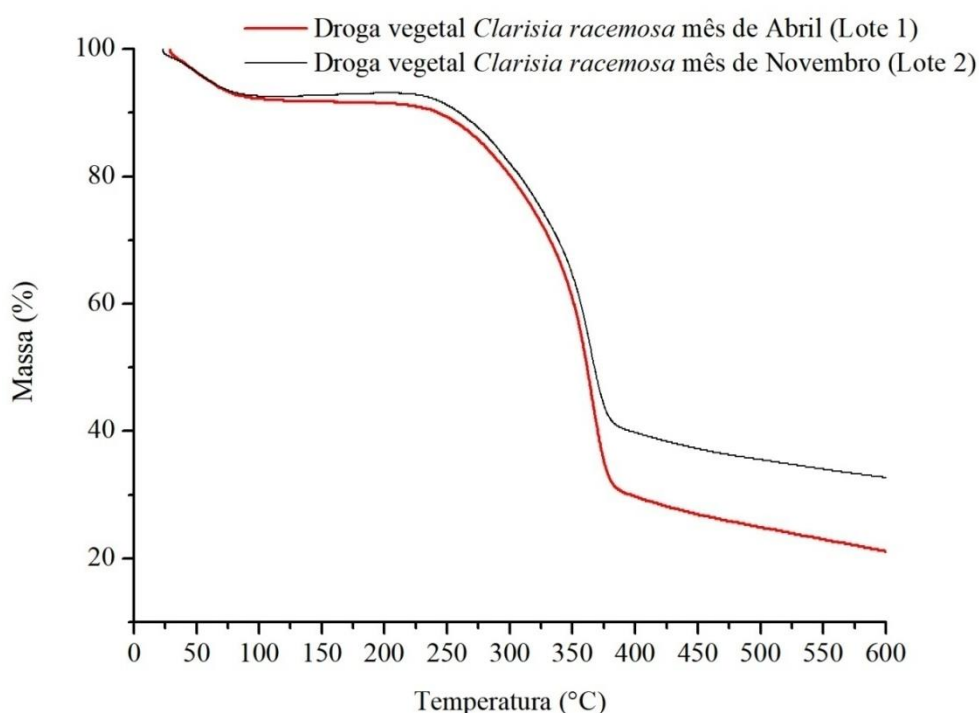
Outro ponto importante em relação à variação da umidade das drogas vegetais é a influência sofrida das condições do ambiente onde estão localizadas, com mudanças na temperatura e na umidade relativa do ambiente (ZANUNCIO, 2013).

4.2.4 Análise Térmica

Conforme apresentado na Figura 10, o perfil entre os dois lotes da coleta assemelha-se em relação à análise termogravimétrica, podendo assim caracterizar a espécie em relação aos resíduos de madeira. Na literatura não foi possível encontrar o perfil térmico da espécie em estudo, para compararmos ao resultado encontrado.

A representação do gráfico na figura 10 equivale à porcentagem de massa perdida, ao longo do aumento da temperatura com o passar do tempo, para a droga vegetal pulverizada dos resíduos de madeira de *Clarisia racemosa*.

Figura 10 - Curva Termogravimétrica da droga vegetal *Clarisia racemosa* dos lotes 1 e 2.



Fonte: Dados da pesquisa.

Foi possível identificar dois eventos bem característicos entre eles. Inicialmente, uma perda de água livre e a água relacionada com o aumento da temperatura e, posteriormente, o segundo evento relacionado a uma perda maior de massa.

Na Tabela 6 é possível observar que, para o lote 1 (coletado em abril de 2019), inicialmente há uma perda de massa, referente à perda de umidade totalizando aproximadamente 7,04 % com o ponto médio de temperatura de 51,79 °C; já o segundo evento tem seu ponto médio em 349,49°C, equivalente a 60 % de perda de massa.

Em relação ao lote 2 (coletado em novembro de 2019), também se pode observar na Tabela 6, dois eventos característicos assim como o lote anterior. No primeiro evento com ponto médio de 51,52°C há uma perda de umidade de 4,64 % e, posteriormente, o segundo evento apresentou um ponto médio em 345,27 °C, com perda de massa de 36,54%.

Tabela 6 - Principais eventos da Termogravimetria da droga vegetal de *Clarisia racemosa*.

Amostra	Evento	Temperatura Inicial (°C)	Temperatura Final (°C)	Perda de Massa (%)
Lote 1	1º Evento	38,88	73,52	7,04
	2º Evento	335,48	376,57	60,0
Lote 2	1º Evento	40,07	74,54	4,64
	2º Evento	325,97	375,32	36,54

Fonte: Dados da pesquisa.

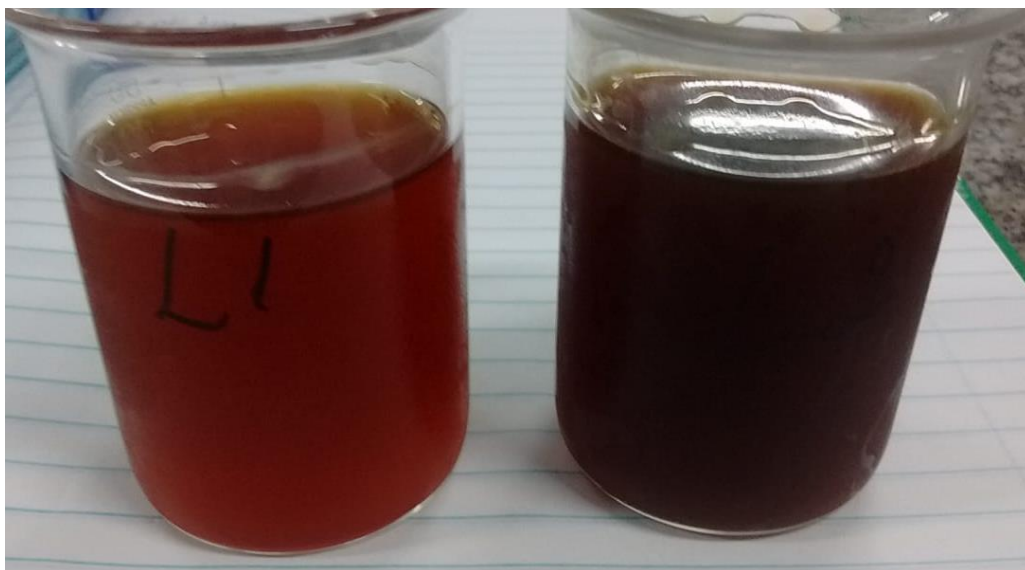
4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO FLUIDO

4.3.1 Obtenção do Extrato Hidroalcoólico

Através do processo de maceração, foi obtido o extrato hidroalcoólico de *Clarisia racemosa*. A cada 500 mL de solução extrativa, foram obtidos aproximadamente 329,8 mL $\pm$ 2,8 % de extrato hidroalcoólico. A porcentagem de álcool foi escolhida a 70 %, tendo em vista o interesse da extração de possíveis fenóis que são passíveis de extração com teor alcoólico entre 60 e 80 % (SPAGOLLA et al., 2009).

Na Figura 11, pode-se observar o aspecto final do extrato hidroalcoólico, tal como sua coloração, após filtração, mostrando o aspecto após extração dos resíduos de madeira de *Clarisia racemosa*.

Figura 11 - Extratos hidroalcoólicos de *Clarisia racemosa* (À esquerda o lote 1 e à direita o lote 2).



Fonte: Dados da pesquisa.

4.3.2 Determinação da Densidade Relativa

Em relação à determinação da densidade relativa do extrato hidroalcoólico, a média do resultado obtido para o lote 1 foi de 0,8858 g/ mL e do lote 2 foi de 0,8768 g/ mL.

No estudo de Silveira, Rezende e Vale (2013), foi utilizada outra técnica para verificação da densidade básica da madeira de *Clarisia racemosa*. Utilizou-se o método de determinação de máximo teor de umidade. As variáveis dele é a determinação da massa saturada e da massa seca da madeira, admitindo a densidade da “substância madeira”, sendo constante no valor de 1,53 g cm⁻³.

Neste mesmo estudo de Silveira, Rezende e Vale (2013), o valor encontrado foi de 0,720 g cm⁻³. Segundo os autores, a importância da verificação da densidade básica da madeira, deve-se ao fato de avaliar a qualidade da madeira, que é resultado de diversos fatores associados como os arranjos dos elementos anatômicos, dimensão das fibras, espessura de parede celular, em relação ao volume dos vasos e parênquimas, entre outros fatores.

Na literatura, não foi possível encontrar dados para especificar e comparar com os valores encontrados neste estudo. Porém, a importância desse parâmetro se dá pelo fato de facilidade de possíveis operações industriais, como a conversão do valor de massa em volume, possibilitando os trabalhos com a amostra líquida (ALENCAR-FILHO et al. 2020).

4.3.3 Determinação do pH

O extrato hidroalcoólico, obtido a partir do lote de coleta 1, apresentou o valor de aproximadamente 5,93; e o extrato obtido a partir do lote de coleta 2, apresentou o valor de aproximadamente 5,54, caracterizando um caráter ácido para o extrato líquido.

4.3.4 Determinação de Resíduos Seco do Hidroalcoólico

Através do estudo para determinar a quantidade de resíduo seco de uma solução extrativa, é possível quantificar as substâncias que foram solubilizadas pelo solvente utilizado no processo de extração. Esse parâmetro é de grande importância, pois determina a qualidade de extração que foi realizada (TOMASI, 2021).

Diante do exposto, foi possível resultar que o extrato obtido a partir do lote de coleta 1 da droga vegetal, apresentou obteve a porcentagem de $1,76 \pm 1,7\%$ de resíduo seco. Já o extrato, obtido a partir do lote de coleta 2 da droga vegetal, apresentou a porcentagem de $2,793 \pm 2,6\%$.

4.3.5 Prospecção Fitoquímica

A Prospecção Fitoquímica foi realizada com a finalidade de identificar os principais metabólitos presentes em *Clarisia racemosa* nos dois lotes de extratos hidroalcoólicos. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Prospecção fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos da droga vegetal de *Clarisia racemosa*.

CLASSE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	LOTE 1	LOTE 2
Flavonoides	+ ¹	+ ¹
Fenilpropanoides	-	-
Saponinas	-	-
Alcaloides	-	-
Triterpenos e Esteroides	+	+
Monoterpenos e Sesquiterpenos	-	-
Cumarinas	-	-
Proantocianidinas	+ ²	+ ²
Taninos hidrolisáveis	-	-

¹Agliconas livres de flavonoides 4'-OH (compatível com derivados de morina); ²Proantocianidinas poliméricas

Legenda: (+) presente; (-) ausente.

Fonte: Dados da pesquisa.

Existem poucos trabalhos que podemos comparar os metabólitos secundários identificados. Entretanto, no estudo de Cunha, Pinto e Braz-Filho (1994), através da cromatografia em coluna de gel de sílica, foi possível isolar flavonoides e esteróides, evidenciando assim a presença destes compostos na *Clarisia racemosa*.

4.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO

O extrato seco foi obtido de duas formas (por *spray-dryer* e por leito fluidizado). Inicialmente, foi obtido por *spray-dryer* mas, devido aos problemas técnicos que surgiram no equipamento, não foi possível obter material suficiente para caracterização do pó por este tipo de secagem, então se pensou em iniciar outro tipo de secagem.

A segunda forma de secagem utilizada foi por meio do Leito Fluidizado, onde foi possível obter uma quantidade suficiente para dar continuidade aos estudos sobre *Clarisia racemosa*.

4.4.1 Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do *Spray-dryer*

Para os testes iniciais para obtenção de um padrão de secagem em relação aos parâmetros do equipamento, testou-se a secagem do extrato sem adjuvante de secagem.

Entretanto, devido à dificuldade observada do escoamento do pó, houve perda do pó seco dentro do equipamento.

Então, o adjuvante de secagem foi de suma importância, quando se levou em consideração o rendimento do extrato seco. A cada 100 mL, eram obtidos aproximadamente 330 mg de extrato seco. Na Figura 12, pode-se observar o equipamento do *spray-dryer* em processo de secagem do extrato de *C. racemosa*.

Figura 12 - Secagem do Extrato de *C. racemosa* por *spray-dryer*.

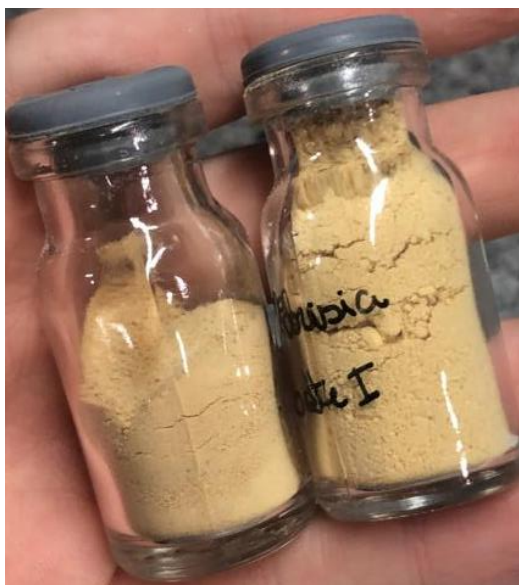


Fonte: Dados da pesquisa.

Foram obtidos aproximadamente 1,650 gramas dos lotes A e B, por *spray-dryer*, correspondendo a um rendimento de 0,37 % e 0,38 % respectivamente.

Os extratos secos, obtidos nos dois lotes (A e B), têm coloração levemente castanho claro, como mostra a Figura 13.

Figura 13 - Extrato seco de *Clarisia racemosa* (À esquerda lote B e à direita o lote A).



Fonte: Dados da pesquisa.

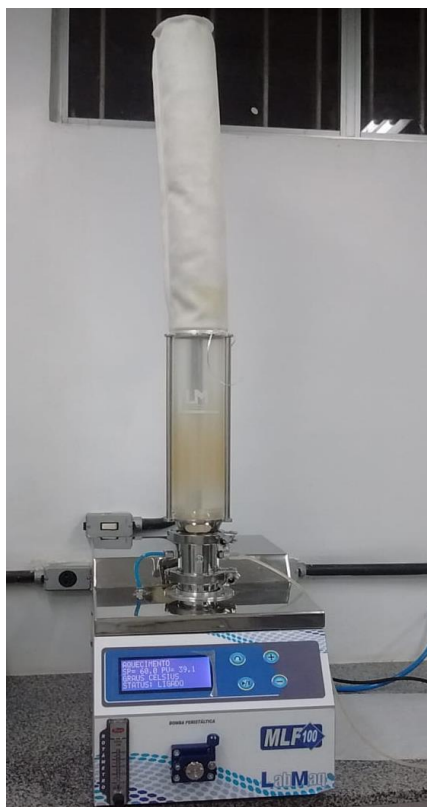
4.4.2 Obtenção do Extrato Seco pela Técnica do Leito Fluidizado

Em relação à obtenção do extrato seco pela técnica de leito fluidizado para a secagem do material, necessitou-se de adjuvantes que servissem de matriz para o processo de secagem. Foram adicionados celulose microcristalina 102 e lactose anidra. Na figura 14, é possível observar o equipamento em processo de funcionamento.

A quantidade desses adjuvantes foram superiores à quantidade de extrato líquido resultante após injeções de extrato. Porque, para secagem dentro do cilindro, foi necessária a formação inicial de uma massa que, quando seca, aos poucos, através do fluxo de ar do equipamento, era adicionado mais extrato, com a intenção de obter uma maior quantidade possível de extrato dentro da mistura.

Diante do exposto, o objetivo das injeções de extrato aos poucos era observar até quanto era possível ser adicionado à massa que o equipamento conseguisse secar junto dos adjuvantes, através disso chegou-se ao total de 150 mL por secagem. Acima deste valor, o extrato não seco começava a impregnar nas paredes do cilindro do equipamento.

Figura 14 - Mini Leito Fluidizado em processo de secagem do extrato de *Clarisia racemosa*.



Fonte: Dados da pesquisa.

O rendimento por secagem foi entre 77,46 % a 81,42 % em relação à massa dos adjuvantes que foram as matrizes de secagem do extrato. O pó obtido tem coloração amarela, próximo de um castanho claro como mostra a Figura 15.

Figura 15 - Extratos secos de *Clarisia racemosa* por Mini Leito Fluidizado, à esquerda lote C e à direita lote D.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.4.3 Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Extrato Seco

Os resultados dos estudos de compatibilidade em relação aos excipientes utilizados no processo de secagem do extrato de *Clarisia racemosa* estão descritos a seguir.

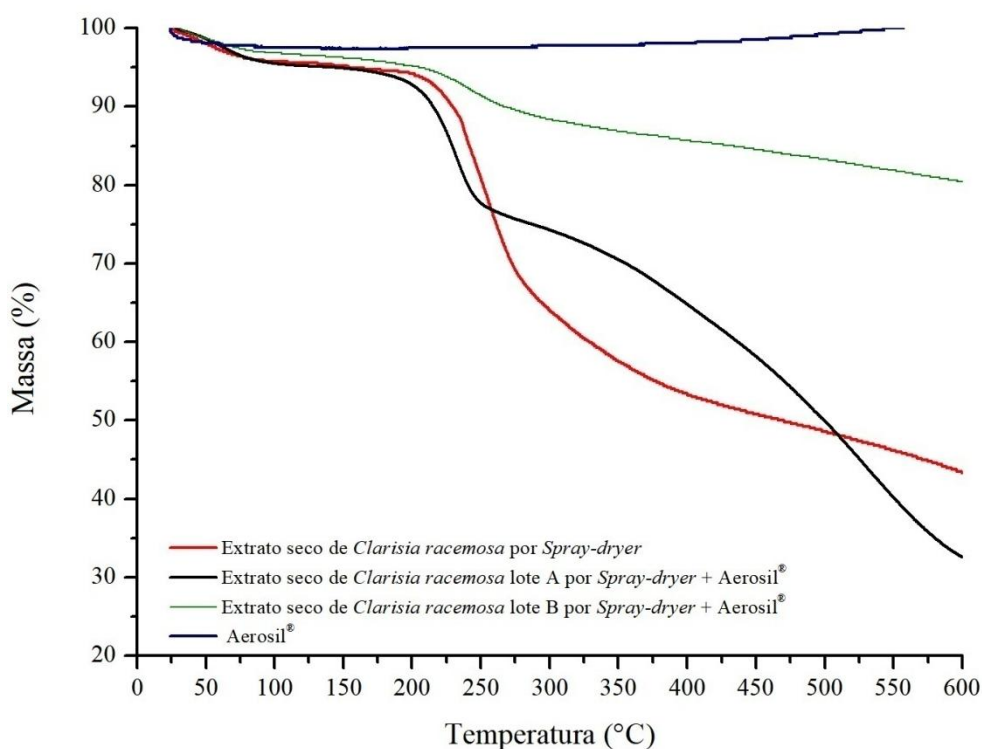
4.4.3.1 Estudo de compatibilidade do extrato seco por Aerosil®

A escolha do Aerosil® como adjuvante de secagem deve-se ao fato da sua propriedade de agente carreador no processo de secagem por aspersão e também por já ser bastante utilizado na indústria farmacêutica (SOARES, 2018).

Dentre as vantagens da utilização de adjuvantes tecnológicos no processo de secagem por aspersão *spray-dryer*, é o fato do aumento do rendimento e no auxílio para recomposição de água do produto (VASCONCELOS et. al, 2005).

Na Figura 16, podem ser observadas as curvas de termogravimetria (TG), dos extratos secos por *spray-dryer* de *Clarisia racemosa* dos dois lotes com o adjuvante de secagem, o Aerosil®, além do extrato seco de *Clarisia racemosa* sem o Aerosil® e também apenas o Aerosil®.

Figura 16 - Gráfico de TG dos extratos de *Clarisia racemosa* com e sem Aerosil® e do Aerosil® isolado.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na tabela 8, os dados referem-se aos percentuais de perda de massa nos primeiros eventos da termogravimetria, tanto do extrato seco da *Clarisia racemosa* sem o Aerosil® e do extrato acompanhado com o adjuvante de secagem quanto do Aerosil® sozinho, para avaliação da compatibilidade entre eles.

Tabela 8 - Percentuais de perda de massa dos extratos de *C. racemosa* por *Spray-dryer* com e sem adjuvante de secagem.

Compostos	Intervalo de temperaturas (°C)	Perda de Massa (%)
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> por <i>Spray-dryer</i>	252,64 – 273,47	34,792
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> lote 1 por <i>Spray-dryer</i> + Aerosil®	228,36 – 245,30	18,443
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> lote 2 por <i>Spray-dryer</i> + Aerosil®	238,41 – 264,18	6,537

Fonte: Dados da pesquisa

O que se pode concluir diante do exposto da tabela é que o adjuvante de secagem consegue proteger o extrato à medida que pode ser observada a diminuição de massa perdida durante os eventos mostrados.

4.4.3.2 Estudo de compatibilidade do extrato seco por Leito Fluidizado

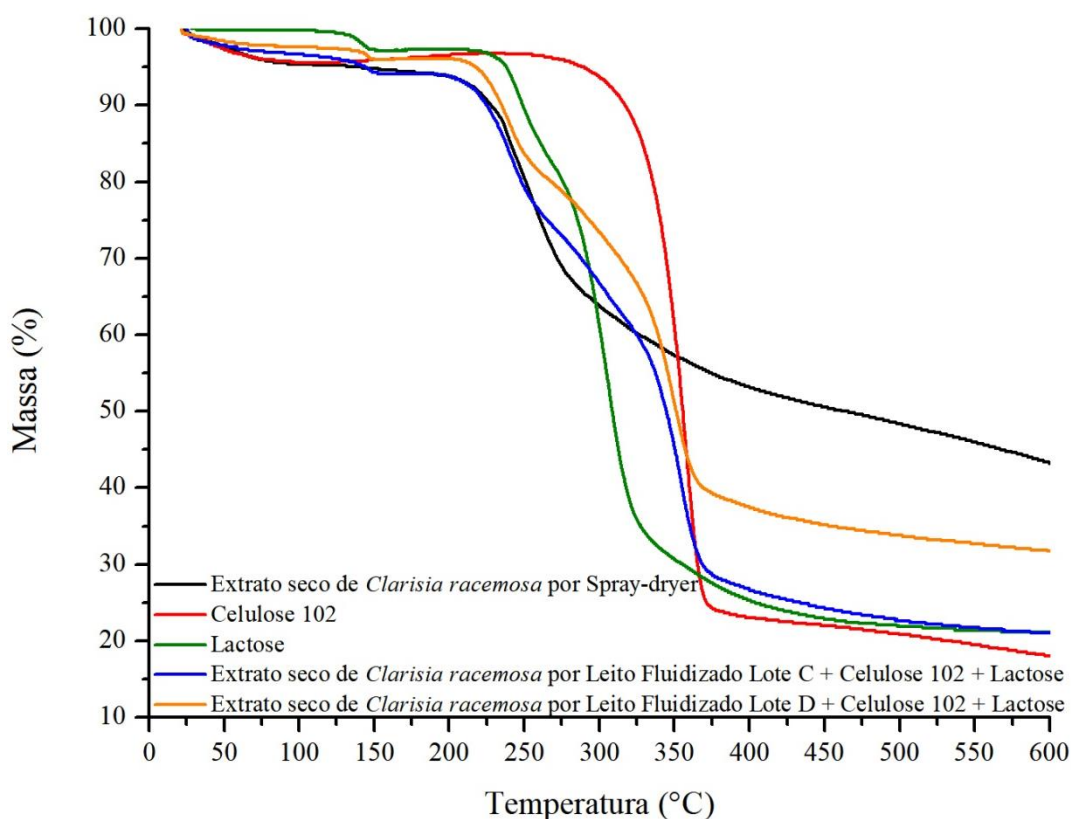
Para a secagem por leito fluidizado, obteve-se a formação inicial de uma pasta com excipientes inertes para iniciar o processo de secagem. Devido à grande área superficial desses excipientes e de sua fluidificação, a umidade é removida e as partículas sólidas do extrato permanecem na superfície dessas partículas inertes (MARTINELLI, 2008).

Na Figura 17 é possível observar o gráfico de TG, onde mostra o comparativo entre os extratos secos por leito fluidizado, dos dois lotes (C e D) em comparação com os excipientes utilizados (partículas inertes), celulose microcristalina 102 e lactose.

Não foi possível obter extratos puros sem os excipientes utilizados na secagem, devido à necessidade deles para a formação da pasta que, posteriormente, servirá como produtos de

adsorção para as partículas secas através do leito fluidizado. Então para a comparação do extrato seco sem adjuvantes, utilizou-se no gráfico o extrato seco através do *spray-dryer*.

Figura 17 - Gráfico de TG dos extratos (lotes C e D) de *Clarisia racemosa* por leito fluidizado com excipientes utilizados na secagem.



Fonte: Dados da pesquisa

O que se pode observar na figura 17 é um perfil inicial dos extratos secos por leito fluidizado semelhante ao perfil termogravimétrico da lactose, em relação à perda de massa.

Os primeiros eventos em relação à perda de massa estão expostos na tabela 9. Os eventos de termogravimetria são dos extratos secos pela técnica do leito fluidizado com os excipientes de secagem e estão sendo comparados com o extrato seco sem excipientes seco pela técnica do *spray-dryer*.

Na Tabela 9, é possível visualizar o segundo evento significativo de perda de massa dos extratos secos por leito fluidizado.

Tabela 9 - Percentuais de perda de massa dos extratos de *C. racemosa* por Leito Fluidizado.

Compostos	Eventos	Intervalo de temperaturas (°C)	Perda de Massa (%)
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> por <i>Spray-dryer</i>	1º	180,97 – 210,08	2,309
	2º	252,64 – 273,47	34,792
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> lote C (1) por Leito Fluidizado	1º	145,33 – 149,09	1,383
	2º	221,21 – 251,78	18,577
Extrato seco de <i>C. racemosa</i> lote D (2) por Leito Fluidizado	1º	145,17 – 148,14	1,136
	2º	224,25 – 238,70	26,837

Fonte: Dados da pesquisa

De acordo com os resultados exposto como primeiro evento na tabela 9, os eventos iniciais podem ser relacionados à água ligada aos compostos analisados devido às temperaturas referentes ao extrato seco por leito fluidizado.

Seus perfis termogravimétricos se assemelham quando comparamos com os perfis dos excipientes utilizados. Vale ressaltar que a proporção utilizada de excipiente foi bem maior, já que o extrato precisou de partículas inertes para se associar no processo de secagem.

4.4.4 Perda por Dessecação (Determinação de Umidade)

Devido aos problemas enfrentados em relação ao equipamento do *spray-dryer*, não foi possível obter quantidade suficiente para fazer o teste de perda por dessecação. Então, para este teste só foi possível analisar o extrato feito pelo método de leito fluidizado.

Para o lote C do extrato seco por leito fluidizado a perda por dessecação resultou em 4,15 % com coeficiente de variação de 1%. Já em relação ao extrato de lote D o resultado obtido foi de 4,08% com coeficiente de variação de 1%.

Os resultados entre eles são muito próximos, porém não foram encontrados dados que pudessem ser comparados com os resultados demonstrados neste estudo.

4.4.5 Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas

4.4.5.1 Análise da Área Superficial e Porosidade das Partículas do Extrato Seco por *spray-dryer*

Os resultados que expressam a área superficial, volume do poro diâmetro do poro, através dos métodos de BET (*Brunauer, Emmett and Teller*) e BJH (*Barret, Joyner and Halenda*), para o extrato seco por *spray-dryer* estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Análise da área superficial e tamanho de poros do extrato seco por *spray-dryer* à base de *Clarisia racemosa*.

Parâmetros	RESULTADO LOTE A	RESULTADO LOTE B
Área Superficial BET	91,2822 m ² /g	134,8264 m ² /g
Volume do poro	0,003495 cm ³ /g	0,003614 cm ³ /g
Diâmetro do poro	481,4867 Å	426,1079 Å

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com a classificação estabelecida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), o tamanho de poros avaliados através do ensaio de adsorção de nitrogênio para o extrato seco por *spray-dryer* tanto para o lote A quanto para o lote B, são classificados como mesoporos, onde a largura do poro é entre 2 nm e 50 nm (IUPAC, 1985). Conferindo características de melhor molhabilidade, e consequentemente uma melhor solubilidade (LIMA, 2019).

4.4.5.2 Análise da área Superficial e Porosidade das Partículas do Extrato Seco por Leito Fluidizado

Na Tabela 11, podem ser observados os resultados obtidos em relação à área superficial, volume do poro diâmetro do poro, através dos métodos de BET (*Brunauer, Emmett and Teller*) e BJH (*Barret, Joyner and Halenda*), para o extrato seco por Leito Fluidizado para os dois lotes utilizados:

Tabela 11 - Análise da área superficial e tamanho de poros do extrato seco por leito fluidizado à base de *Clarisia racemosa*.

Parâmetros	RESULTADO LOTE C	RESULTADO LOTE D
Área Superficial BET	0.7653 m ² /g	1.6659 m ² /g
Volume do poro	0.000106 cm ³ /g	0.000053 cm ³ /g
Diâmetro do poro	-----	-----

Fonte: Dados da pesquisa.

No teste realizado, o equipamento não forneceu dados sobre o tamanho do poro para que fosse possível classificá-lo em macroporo, mesoporo e microporo. O que pode ser sugerido é que os poros, por serem tão pequenos, acabam sendo preenchidos totalmente, levando à formação de uma região plana, por causa da pequena adsorção ou adsorção nula (REIS, 2013).

Em relação a sua solubilidade, pode-se destacar que os microporos dificultam a solubilização do material, diminuindo sua molhabilidade (FERRAZ, 2014).

4.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens resultantes da Microscopia Eletrônica de Varredura serão divididas em seções, para melhor visualização e entendimento.

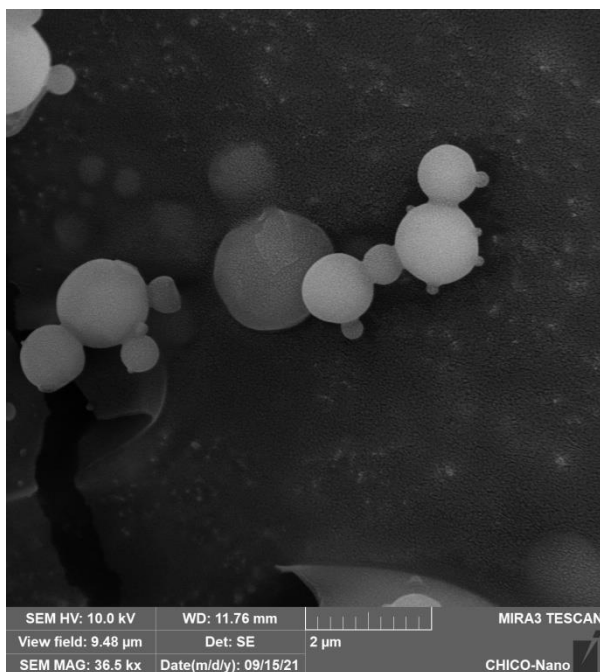
4.4.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura do Extrato Seco por *Spray-dryer* de *Clarisia racemosa*

Nas Figuras 18 e 19, pode-se observar o MEV do extrato seco por *spray-dryer* de *Clarisia racemosa* sem adjuvante de secagem advindo do lote 1 do extrato hidroalcoólico.

Através da análise do MEV, pode-se destacar que o extrato seco apresentou formato esférico e a sua superfície mostrou-se lisa, ou seja, sem a presença de poros na superfície das esferas. Estas características descrevem como é um pó produzido por este processo de secagem utilizado, através da aspersão (LOCH-NECKEL *et al.*, 2018).

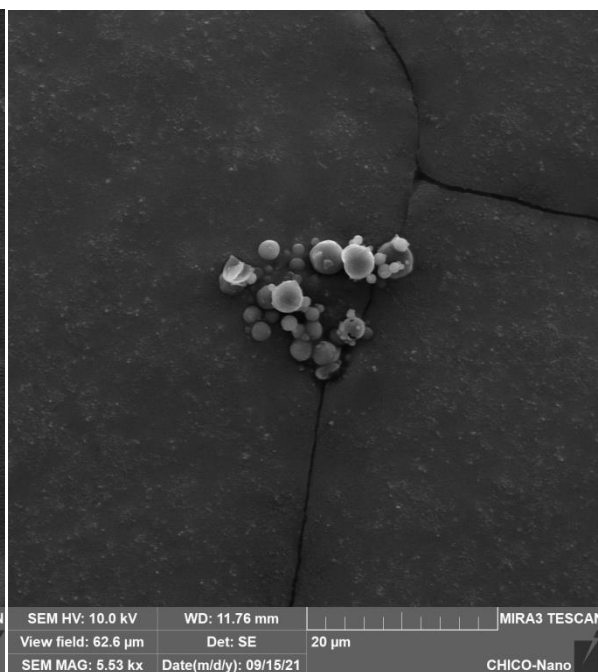
Outro parâmetro importante que a morfologia do extrato pode mostrar é que a temperatura empregada no processo de secagem foi eficiente; sendo ela suficientemente alta a tal ponto de retirar a umidade rapidamente e a superfície do material tornar-se seca e dura, permanecendo no formato adequado e não murcham, nem se tornam quebradiças (LOCH-NECKEL *et al.*, 2018).

Figura 18 - MEV extrato seco por *Spray-dryer* de *Clarisia racemosa* 2µm



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 19 - MEV extrato seco por *Spray-dryer* de *Clarisia racemosa* 20µm



Fonte: Dados da pesquisa

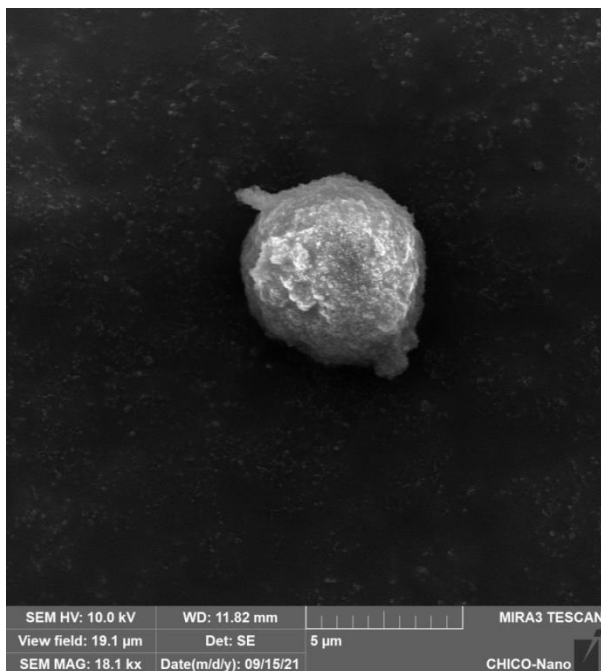
4.4.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura dos Extratos Secos por *spray-dryer* de *Clarisia racemosa* com adjuvante de secagem

Nas Figuras 20 e 21, pode-se observar o MEV dos extratos secos por *spray-dryer* de *C. racemosa* conjuntamente com auxílio de um adjuvante de secagem, o Aerosil®.

As estruturas formadas também são esféricas, porém de aspecto rugoso na superfície, diferente do apresentado anteriormente sem o Aerosil®. Tal característica pode estar associada ao adjuvante empregado para o auxílio da secagem (AZEVEDO, 2013).

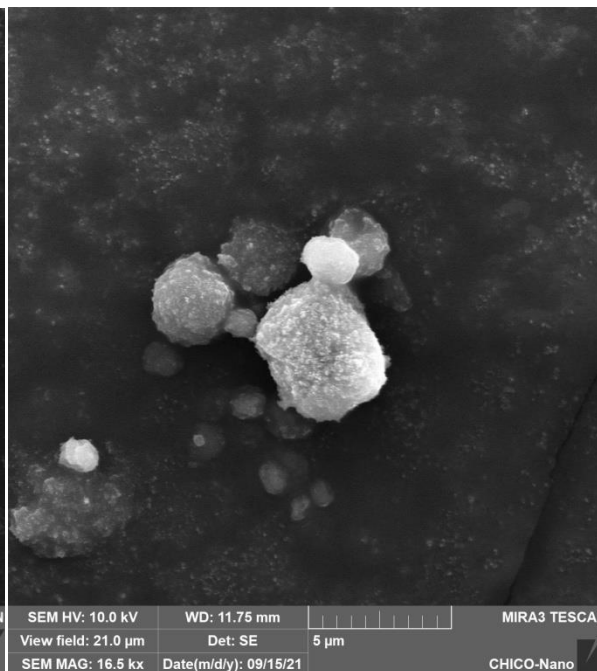
A rugosidade da superfície das partículas pode ser desejável quando se pretende que o material apresente melhor dispersibilidade e reidratação do pó. Uma alternativa de testagem para tentar solucionar o problema de irregularidade seria tentar regular uma temperatura maior ou diminuir a porcentagem de excipiente (AZEVEDO, 2013).

Figura 20 - MEV extrato seco por *Spray-dryer* de *Clarisia racemosa* com Aerosil® 5 µm – Lote A.



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 21 - MEV extrato seco por *Spray-dryer* de *Clarisia racemosa* com Aerosil® 5 µm – Lote B.



Fonte: Dados da pesquisa

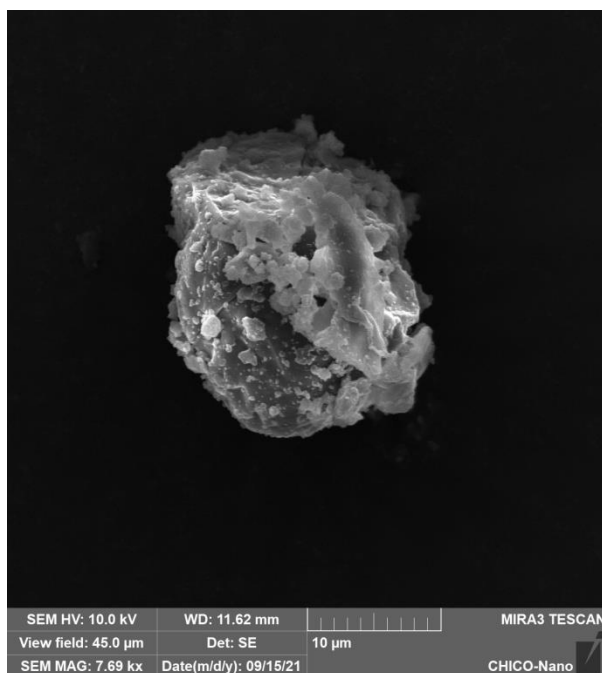
4.4.6.3 Microscopia Eletrônica de Varredura dos Extratos Secos por Leito Fluidizado de *Clarisia racemosa*

As imagens 22 e 23 mostraram os resultados obtidos pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), dos extratos secos pela técnica de Leito Fluidizado (lotes C e D) de *Clarisia racemosa*.

Através das fotomicrografias, foi possível observar que o material é heterogêneo em sua morfologia. As partículas são apresentadas em diferentes formas e dimensões. E sua superfície é totalmente irregular, tratando-se de partículas porosas.

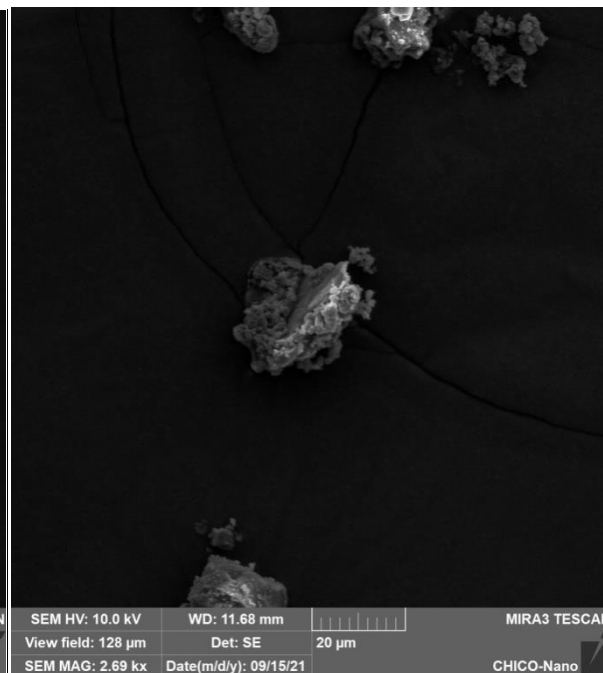
Os formatos de partículas descritos, como irregulares, em formatos de flocos e lascas, já são esperados pela técnica de secagem empregada. Essas características devem-se ao fato de que, no processo de secagem, há um grande atrito entre as partículas inertes e os adjuvantes de secagem, conseqüentemente quebrando as partículas referentes ao extrato (TEIXEIRA, 2013).

Figura 22 - MEV extrato seco por Leito Fluidizado de *Clarisia racemosa* com 10 μ m – Lote C



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 23 - MEV extrato seco por Leito Fluidizado de *Clarisia racemosa* com 20 μ m – Lote D.



Fonte: Dados da pesquisa

4.4.7 Determinação da Densidade Aparente e de Compactação

Para o teste de Densidade Aparente e de Compactação, devido à pequena quantidade obtida do extrato seco por *spray-dryer*, devido a problemas no equipamento durante o período do estudo, o experimento foi realizado apenas com o extrato seco por leito fluidizado.

Na tabela 12, segue os dados do ensaio com os lotes C e D do extrato seco de *Clarisia racemosa* com as respectivas especificações. Os resultados foram os mesmos para ambos os lotes estudados.

Tabela 12 - Densidade Aparente e Compactada do extrato seco por leito fluidizado de *Clarisia racemosa*.

Parâmetros	Especificações	Resultados	
		Lote C	Lote D
Densidade Aparente	-----	0,4761	0,4761
Densidade Compactada	-----	0,7692	0,7692
Fator de <i>Hausner</i>	<1,25	0,6189	0,6189
Índice de <i>Carr</i>	5 – 15 %	38,10 %	38,10 %

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com os resultados obtidos o que se pode concluir é que o extrato seco por leito fluidizado em ambos os lotes têm uma capacidade de compactibilidade e compressibilidade considerada deficiente de acordo com o índice de *Carr* que, para um pó ser considerado excelente, teria que estar na faixa de 5-15 % (VALENTE, 2010).

Porém, em relação ao índice de Hausner, sendo ele menor que 1,25 indica que o pó (extrato seco) é considerado sendo de bom fluxo, tendo assim um bom escoamento (VALENTE, 2010).

4.4.8 Análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) dos extratos seco por *Spray-dryer* e Leito Fluidizado

Para identificação do marcador nas amostras levou-se em consideração os picos dos cromatogramas, tempo de retenção (TR) e espectro de Ultravioleta (UV) sendo comparado com as obtidas das Substâncias Químicas de Referência (SQRs) que foram analisadas sob as mesmas condições (Tabela 13).

Tabela 13 - Resultados obtidos após análises de SQR pelo método cromatográfico por CLAE-DAD.

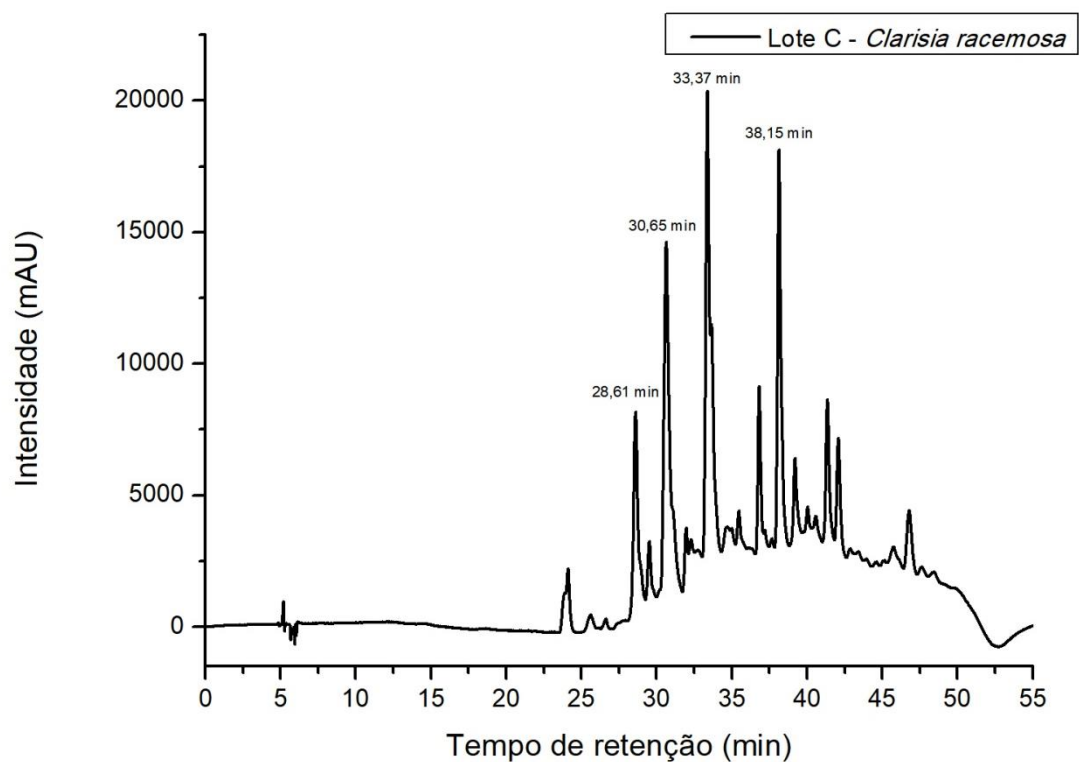
SQR	TR (min)	λ máx (nm)
Ácido Cafeico	25,19	217/234/323
Ácido Clorogênico	24,06	217/240/326
Ácido Elágico	33,57	199/253/366
Ácido Gálico	10,45	215/271
Ácido <i>p</i> -cumárico	28,30	225/309
Ácido protocatecuico	16,13	217/259/293
Ácido tânico	10,39	215/270
Apigenina	38,53	267/337
Crisina	41,87	200/267/313
Cumarina	30,15	197/276/309
Epigallocatequina	27,54	199/274
Fisetina	33,89	199/246/320/361
Galocatequina	28,07	199/274/365
Harmina	47,42	246/323
Hesperedina	30,52	200/284/326
Hesperetina	35,70	200/287
Isoorientina	29,07	200/257/269/351
Kaempfenol	33,12	199/265/347
Narigenina	35,07	212/289
Quercetina di-hidratado	35,89	200/255/368
Quercetina 3 beta	31,68	255/355
Resveratrol	31,91	216/305
Rutina	31,54	256/355
Vitexina	29,21	268/335

Legenda: λ máx= Comprimento de onda máximo.

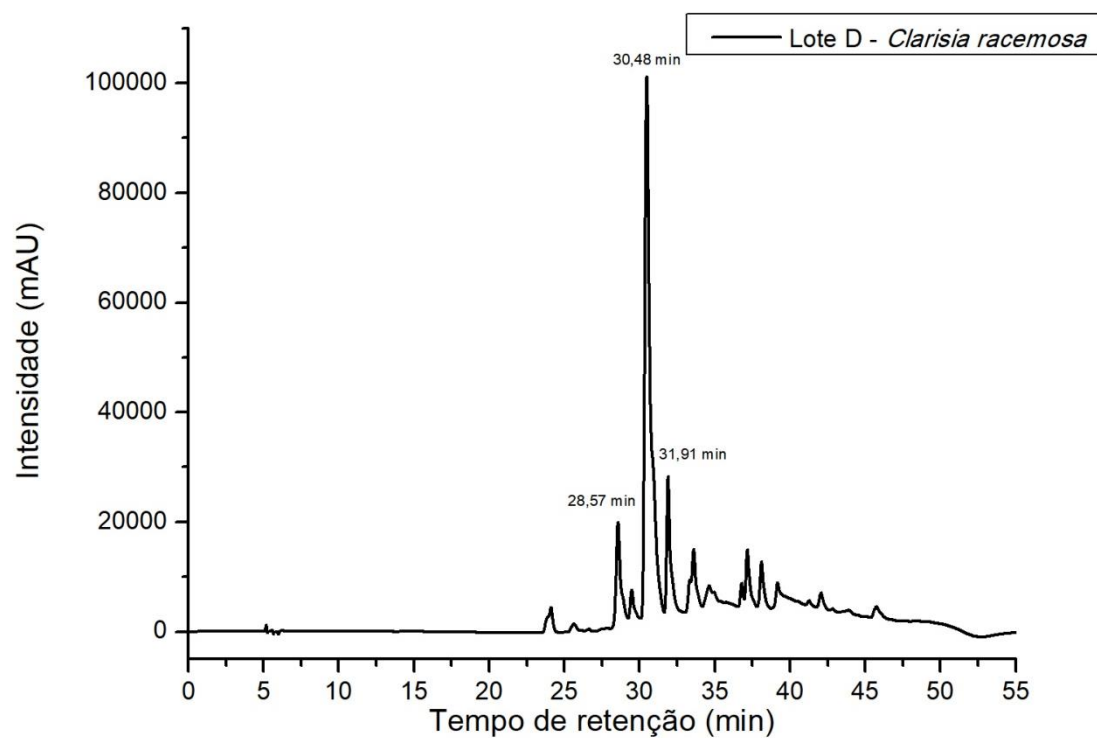
Fonte: Autoria própria

A análise por CLAE-DAD das amostras do extrato seco de *Clarisia racemosa* por *spray-dryer* e leite fluidizado permitiu determinar seu perfil cromatográfico, além de identificar e quantificar o marcador analítico. As amostras do extrato seco por leite fluidizado *C. racemosa* — Lote C (Figura 24) e *C. racemosa* — Lote D (Figura 25), e as amostras do extrato seco por *spray-dryer* *C. racemosa* — Lote A (Figura 26) e Lote B (Figura 27) obtiveram um perfil cromatográfico distintos entre elas.

Após análise e comparação entre as amostras e as SQRs foi possível identificar o resveratrol no TR 31.91 min (Figura 28) na amostra *C. racemosa* — Lote D por leite fluidizado e em ambos os lote do *spray-dryer*.

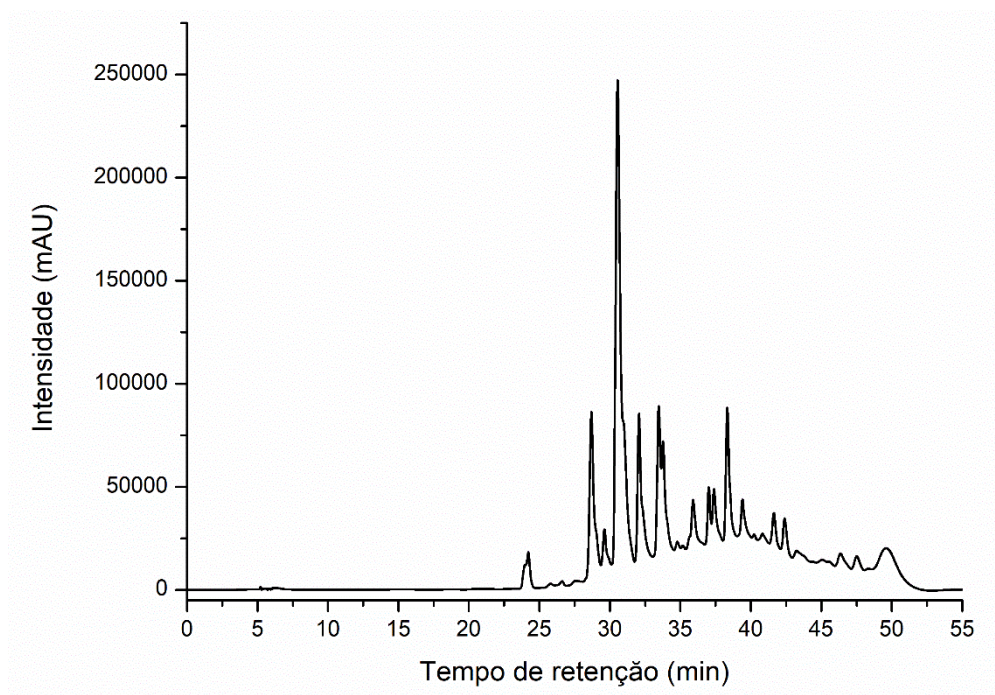
Figura 24 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra *C. racemosa* – Lote C por Leito Fluidizado.

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 25 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra *C. racemosa* – Lote D por Leito Fluidizado.

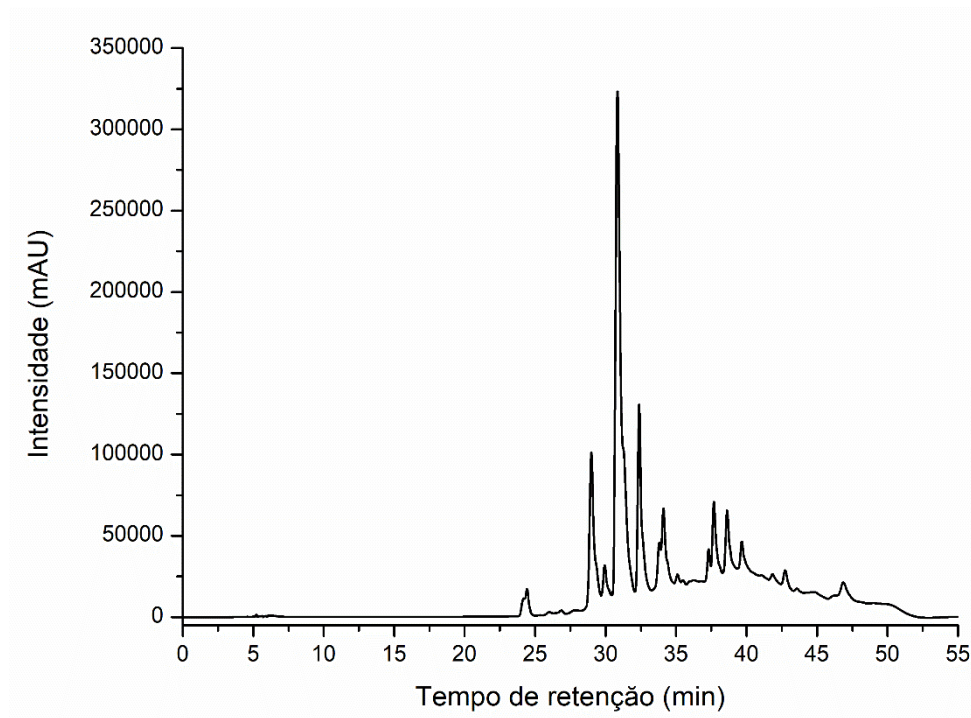
Fonte: Dados da pesquisa

Figura 26 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra *C. racemosa* – Lote A por *Spray-dryer*.



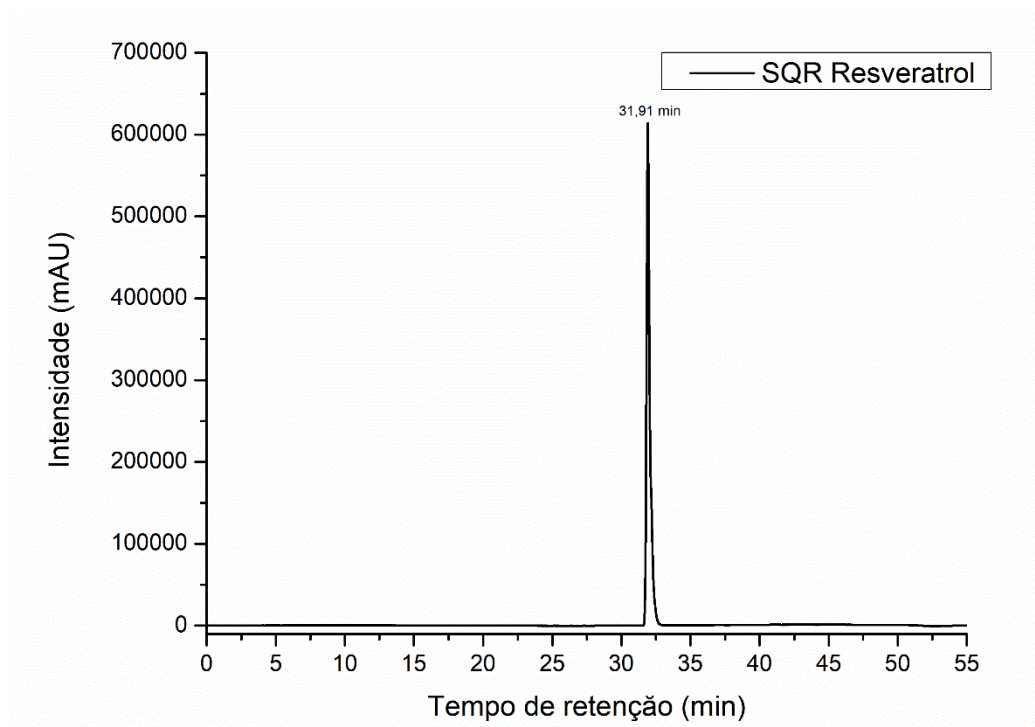
Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 27 - Perfil cromatográfico em 305 nm da amostra *C. racemosa* – Lote B por *Spray-dryer*.



Fonte: Dados da pesquisa.

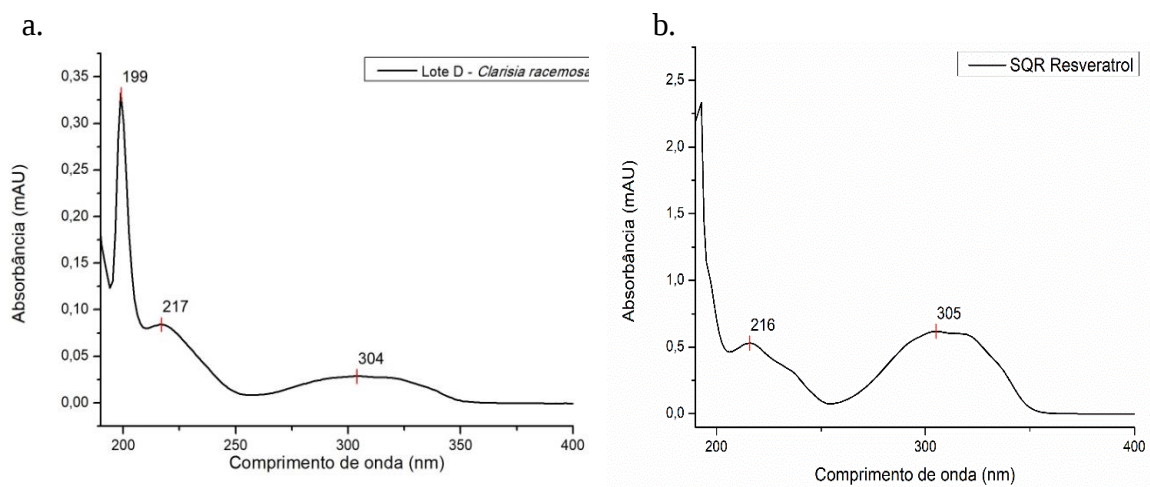
Figura 28 - Perfil cromatográfico em 305 nm do SQR resveratrol.



Fonte: Dados da pesquisa

O perfil cromatográfico da *C. racemosa* – lote D por leito fluidizado demonstrou a presença de pico com TR de 31,91 minutos e espectro de UV 216 e 305 nm equivalente ao resveratrol (Figura 29).

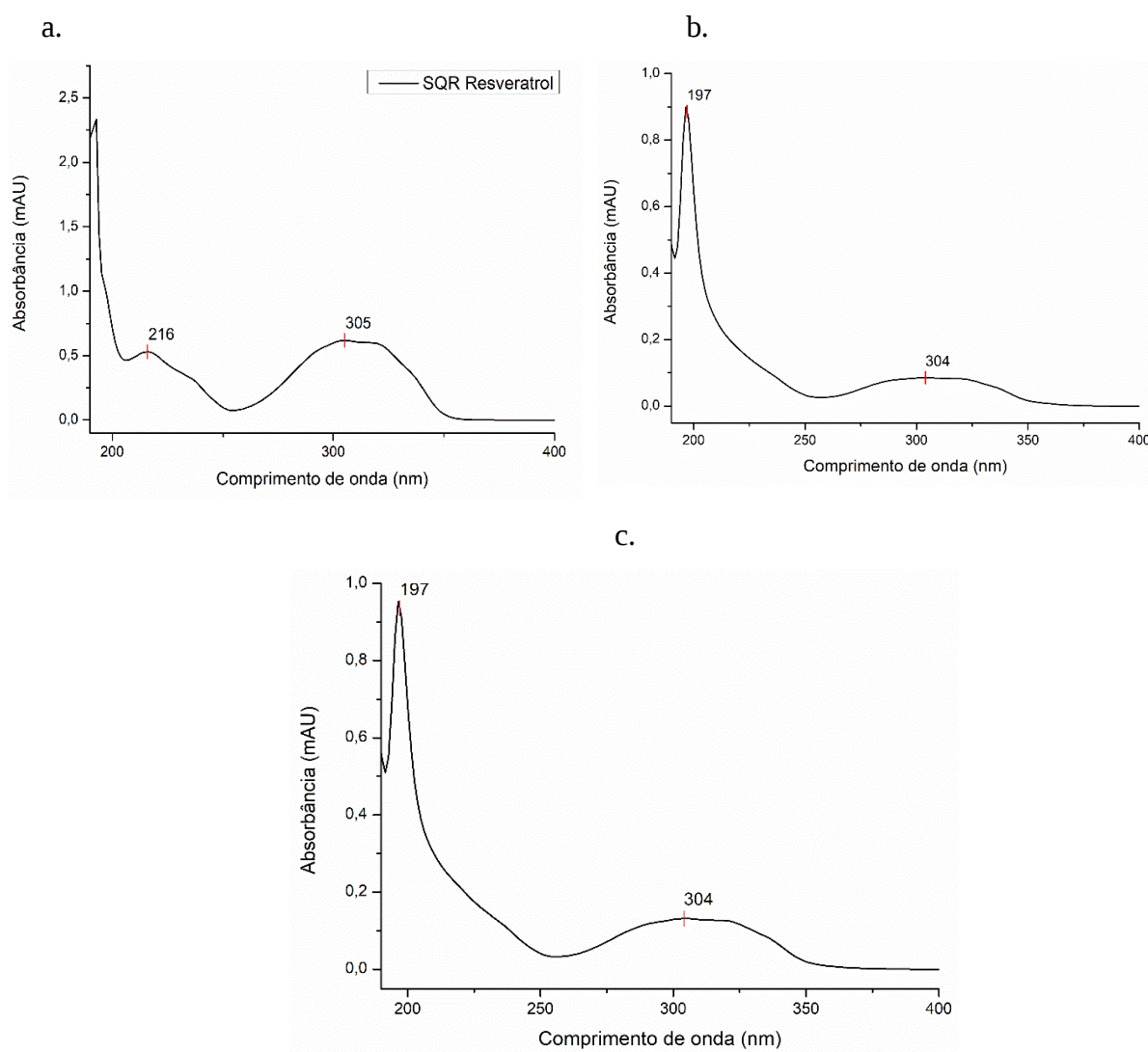
Figura 29 - Espectros UV obtidos pelo detector DAD para a. amostra *C. racemosa* – lote D e b. SQR resveratrol, ambos em 31,91 min.



Fonte: Dados da pesquisa

Os cromatogramas das amostras de *C. racemosa* por *Spray-dryer* demonstram a presença de pico com TR cerca de 32 min. Apesar da variação no TR quando comparadas as amostras analisadas ao resveratrol, observa-se a semelhança no perfil e bandas de UV (Figura 30).

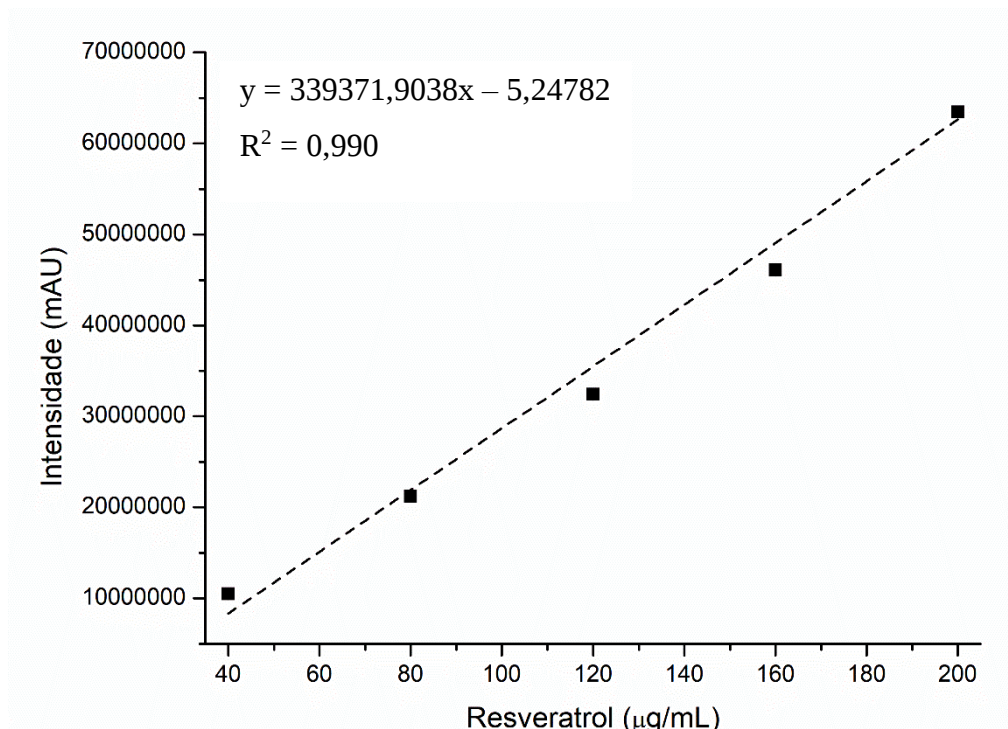
Figura 30 - Espectros UV obtidos pelo detector DAD para a. SQR resveratrol em 31,91 min e b. amostra *C. racemosa* – lote A por *Spray-dryer* em 32,07 min, c. amostra *C. racemosa* – lote B por *spray-dryer* em 32,38 min.



Fonte: Dados da pesquisa.

Foi realizada uma curva de calibração do resveratrol nas concentrações do intervalo de 40 a 200 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 31), esse intervalo se deu pelo fato do processo de desenvolvimento analítico, obtendo-se $R^2 = 0,990$, demonstrando relação linear entre a área do pico e a concentração da SQR nas diferentes soluções padrão testadas na faixa de trabalho.

Figura 31 - Representação gráfica da linearidade da SQRs Resveratrol.



Fonte: Dados da pesquisa

A quantificação do marcador das amostras dos extratos secos de *C. racemosa* por leito fluidizado e *spray-dryer* foram obtidas a partir da equação da reta obtida na curva de calibração, apresentando como resultado a quantidade de resveratrol em micrograma (µg) por miligrama (mg) da amostra dos extratos seco de *C. racemosa* como mostra a Tabela 14.

Tabela 14 - Quantificação de resveratrol (µg/mg) das amostras analisadas.

Amostra	Quantificação de Resveratrol (µg/mg)
<i>C. racemosa</i> – Lote A por <i>Spray-dryer</i>	0,295 ± 0,007 µg/mg
<i>C. racemosa</i> – Lote B por <i>Spray-dryer</i>	0,329 ± 0,050 µg/mg
<i>C. racemosa</i> – Lote D por Leito Fluidizado	0,069 ± 0,012 µg/mg

Fonte: Dados da pesquisa.

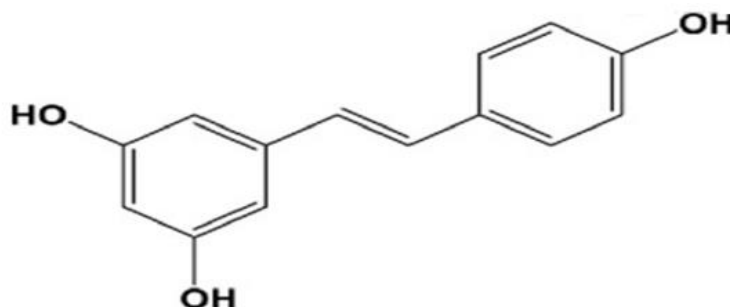
O resveratrol é um composto antioxidante polifenólico, que é encontrado em diversas frutas e plantas, e vem chamando atenção devido aos seus benefícios como a prevenção de doenças cardiovasculares, imunomoduladores, antimicrobiano, anticancerígeno,

antiangiogênico, para atividades neurológicas, entre outros (VESTERGAARD; INGMER, 2019; ZHANG et al., 2021).

Este composto é produzido pelas plantas como forma de proteção de danos ou problemas relacionados ao calor e radiação ultravioleta, além dos insetos, bactérias e fungos (XIAO et al., 2015).

O resveratrol está presente em vários alimentos naturais, incluindo uvas, framboesas, amora, em concentrações que variam bastante. Em relação a sua estrutura como pode ser observada na Figura 32. O resveratrol é composto por dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de metileno e pode se apresentar na natureza das formas *trans* e *cis*, sendo a forma *trans* a responsável pelas atividades biológicas atribuídas ao resveratrol (NAWAZ et al., 2017).

Figura 32 - Resveratrol.



Fonte: ZHANG et al., 2021.

4.5 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS SECOS SOBRE ANTI-*Sporothrix*

Na tabela 15, pode-se observar os resultados referentes ao teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) com os extratos seco por *spray-dryer* (lotes A e B) e leite fluidizado (C e D) dos dois lotes referentes a cada um.

Foram previamente identificadas a genotipagem das cepas de *Sporothrix* utilizadas neste teste, e atribuídas uma codificação para elas, conforme descrito na Tabela 16. Todas elas foram isoladas de pacientes advindos do Hospital das Clínicas/ UFPE.

Tabela 15 - Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/ mL}$) dos extratos secos sobre isolados de *Sporothrix*.

ISOLADO	<i>Spray-dryer</i> Lote A	<i>Spray-dryer</i> Lote B	Leito Fluidizado Lote C	Leito Fluidizado Lote D
43	312,5	312,5	> 2500	>2500
51	156,25	312,5	>2500	2500
117	625	625	625	>2500
131	312,5	2500	2500	2500
245	156,25	2500	2500	2500
HC 170	>2500	2500	>2500	>2500
HC 1030	>2500	2500	>2500	>2500

Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados das concentrações mostrados acima demonstram que nestas concentrações, 50 % das cepas foram inibidas em relação aos fármacos de referência descritos na Tabela 16 como os respectivos resultados.

Tabela 16 - Concentração Mínima Inibitória dos Fármacos Padrões.

ISOLADO	Anfotericina B	Itraconazol	Terbinafina	Fluconazol
43	0,06	1	0,125	32
51	2	0,03	0,125	32
117	4	1	0,125	64
131	0,5	0,06	0,125	32
245	0,06	0,25	0,125	64
HC 170	0,5	0,125	0,125	64
HC 1030	0,5	0,06	0,125	64

Fonte: Dados da pesquisa.

O estudo de Bostanghadiri e colaboradores (2017), sobre o resveratrol, mostra a atividade desse polifenol frente a diversos fungos, em especial a *Candida albicans*, o que poderia explicar os resultados deste estudo, sendo esta molécula fazendo parte do resultado encontrado na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Vestergaard e Ingmer (2019) mostraram, em seu estudo, que o resveratrol tem maior capacidade antifúngica que antibacteriana, conforme as análises realizadas através das observações da concentração inibitória mínima para os patógenos estudados. Em destaque, esse estudo também mostra que a atividade inibitória do resveratrol foi de aproximadamente 25-50 $\mu\text{g/ mL}$ para fungos dematófitos, como *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*.

Contudo, não existem estudos que definam o mecanismo de ação do resveratrol frente à atividade antifúngica. O que se sabe sobre um estudo realizado com *Candida albicans* é que

ele consegue penetrar na célula sem causar danos e induzir a apoptose através da ativação da metacaspase, promovendo liberação do citocromo C em baixas concentrações (BOSTANGHADIRI, 2017).

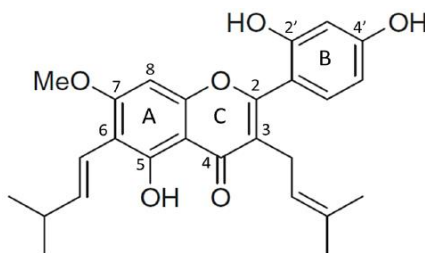
Na revisão mostrada por Caruso e colaboradores (2011) demonstra que o resveratrol se converte em um composto considerado fungitóxico por uma lacase que é responsável pela catalisação da oxidação de compostos fenólicos além de reduzir o oxigênio molecular na presença de água.

Muitas pesquisas precisam ser realizadas para confirmar a eficácia terapêutica e a concentração, além de ser analisado também frente à toxicidade humana, sendo ele um agente promissor (ZHANG et al., 2021).

Outra vertente para explicar a atividade farmacológica é a presença de flavonoides, metabólito secundário identificado no estudo fitoquímico onde, segundo Cunha, Pinto e Braz-Filho (1994), existe em *Clarisia racemosa* dois flavonoides: artocarpina e isoartocarpina.

A artocarpina (Figura 33) é um dos metabólitos que também é encontrado em espécies da família Moraceae, que tem diversas ações farmacológicas. Entre elas, pode-se citar atividade anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, antibacteriana, entre outras (CHAN et al., 2018).

Figura 33 - Estrutura molecular da Artocarpina.



Fonte: CHAN et al., 2018.

As flavonas preniladas são uma classe de flavonóides que são caracterizadas pela presença de uma cadeia lateral prenilada (CHEN et al, 2014). A figura 33 mostra artocarpina prenilada em C-6 e C3, que é um exemplo no que ocorre em *Clarisia racemosa*.

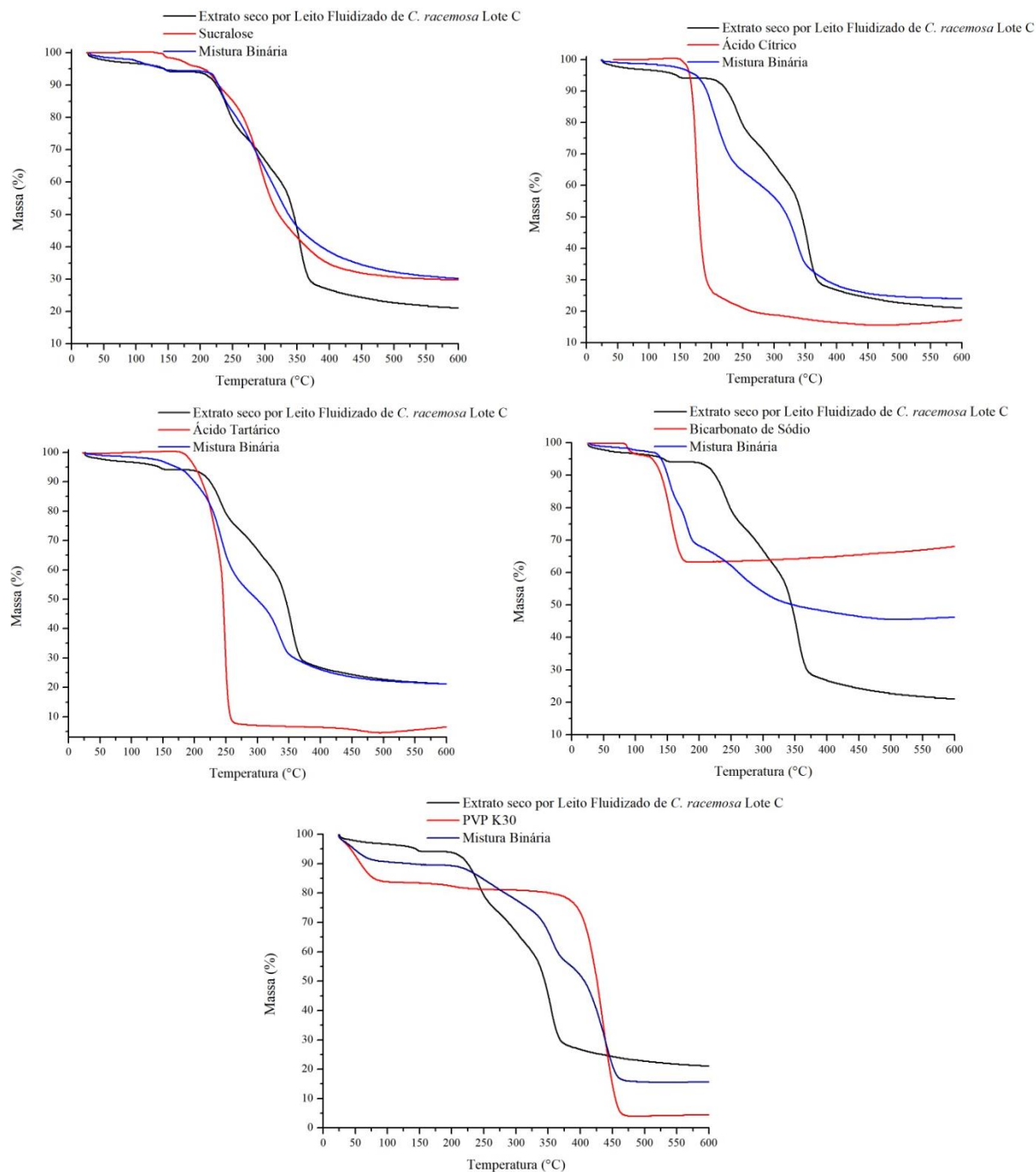
Estudos demonstram potente atividade antifúngica associada a uma série de flavonas preniladas, sendo elas purificadas da família Moraceae. O aumento de substituições no conjunto de anéis dos flavonoides aumenta a lipofilicidade e, conseqüentemente, aumenta a interação com as membranas celulares com o agente infeccioso desempenhando sua ação farmacológica (FLAMBÓ, 2013).

4.6 DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE GRANULADO EFERVESCENTE À BASE DO EXTRATO SECO DE *Clarisia racemosa* POR LEITO FLUIDIZADO

4.6.1 Estudo de Compatibilidade dos Excipientes do Granulado Efervescente com Extrato Seco de *Clarisia racemosa* por Leito Fluidizado

Para a análise de compatibilidade dos excipientes da pré-formulação do granulado efervescente utilizou-se, conforme demonstrado nas Figuras 34 e 35 a técnica de análise térmica por Termogravimetria (TG). Os gráficos apresentados, na Figura 34 se referem ao extrato seco por leito fluidizado do lote C isolado, o excipiente utilizado e a mistura binária entre ambos.

Figura 34 - Gráficos de TG para teste de Compatibilidade dos excipientes da pré-formulação do granulado efervescente, do lote C.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na tabela 17, estão representados tanto as temperaturas, como os respectivos percentuais de perda de massa relativos aos primeiros principais eventos do extrato seco de *Clarisia racemosa* do lote C, e dos excipientes estudado para a pré-formulação e da mistura binária entre eles.

Tabela 17 - Porcentagem de perda de massa do estudo de compatibilidade de excipientes da pré-formulação do granulado efervescente lote C.

Componentes	Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)
Extrato seco por Leito Fluidizado de <i>C. racemosa</i>	221,21 – 251,78	18,577
Mistura Binária: Sucralose + <i>C. racemosa</i>	219,41 – 237,97	12,395
Mistura Binária: Ácido Cítrico + <i>C. racemosa</i>	188,00 – 224,78	29,747
Mistura Binária: Ácido Tartárico + <i>C. racemosa</i>	218,17 – 253,51	36,773
Mistura Binária: Bicarbonato de Sódio + <i>C. racemosa</i>	141,36 – 158,53	15,510
Mistura Binária: PVP K30 + <i>C. racemosa</i>	245,05 – 303,05	15,171

Legenda: PVP-Polivinilpirrolidona

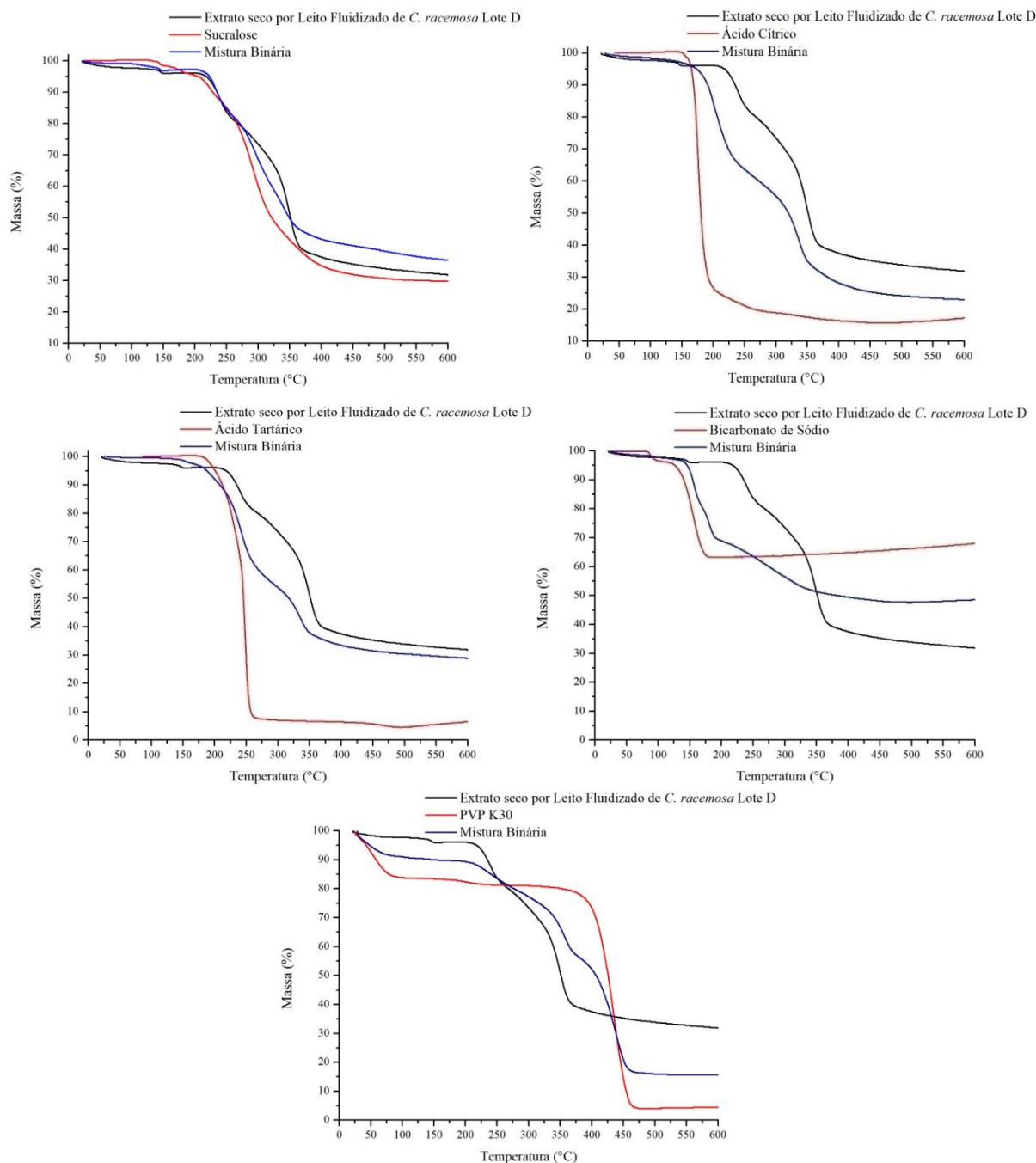
Fonte: Dados da pesquisa.

Os excipientes selecionados para a formulação do granulado efervescente não interferiram no extrato. As temperaturas, onde acontece perda significativa de massa, ficaram próximas ou maiores do que o extrato, sinalizando que não há interação dos excipientes com o extrato.

Em relação à mistura binária do bicarbonato de sódio com o extrato seco por leito Fluidizado, a porcentagem de perda de massa em temperaturas menores que a do extrato seco pode-se referir ao fato que o bicarbonato de sódio inicia sua decomposição em temperaturas relativamente baixas, em torno de 100 °C, com sua reação de decomposição mais rápida por volta de 140 °C (MAIA; OSORIO, 2003), caracterizando o perfil apresentado no gráfico, podendo significar que a massa perdida em menores temperaturas pode ser do bicarbonato de sódio.

Na figura 35, é possível observar o comportamento termogravimétrico do extrato seco do lote D por Leito Fluidizado com os excipientes escolhidos para compor o granulado efervescente do lote D.

Figura 35 - Gráficos de TG para teste de Compatibilidade dos excipientes da pré-formulação do granulado efervescente, do lote D.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na tabela 18 estão expostos os primeiros principais eventos de perda de massa da mistura binária dos excipientes escolhidos para a pré-formulação, com suas respectivas temperatura, que podem ser comparadas com o extrato seco de *C. racemosa* do lote D, por leito fluidizado.

Tabela 18 - Porcentagem de perda de massa do estudo de compatibilidade de excipientes da pré-formulação do granulado efervescente lote D.

Componentes	Intervalo de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)
Extrato seco por Leito Fluidizado de <i>C. racemosa</i>	224,25 – 238,70	26,837
Mistura Binária: Sucralose + <i>C. racemosa</i>	224,72 – 242,91	13,749
Mistura Binária: Ácido Cítrico + <i>C. racemosa</i>	186,83 – 219,97	28,763
Mistura Binária: Ácido Tartárico + <i>C. racemosa</i>	187,50 – 216,11	11,097
Mistura Binária: Bicarbonato de Sódio + <i>C. racemosa</i>	151,28 – 162,49	16,610
Mistura Binária: PVP K30 + <i>C. racemosa</i>	261,67 – 264,35	15,451

Legenda: PVP-Polivinilpirrolidona

Fonte: Dados da pesquisa.

Assim como o lote anterior, os excipientes que compõem a pré-formulação do lote D foram compatíveis com o extrato, as temperaturas de perda significativa de massa da mistura binária ou foram próximas a do extrato ou foram superiores, demonstrando também que a relação excipiente e extrato não há interação de incompatibilidade.

Da mesma forma do extrato C, a mistura binária do bicarbonato de sódio com o extrato seco por leito fluidizado do lote D, apresentou uma perda de massa em uma temperatura menor que o extrato isolado, porém devido às características do bicarbonato de sódio que começa sua degradação em temperaturas por volta de 100 °C (MAIA; OSORIO, 2003) e através do perfil das curvas mostradas no gráfico da Figura 35, pode-se interpretar que a massa perdida inicialmente pode se referir ao bicarbonato de sódio.

4.6.2 Obtenção do Granulado Efervescente a base de *Clarisia racemosa*

Para obtenção do granulado efervescente, foi utilizado o extrato seco à base de *Clarisia racemosa* por leito fluidizado, devido à quantidade obtida por esta técnica de secagem ter sido maior que a obtida por *spary-dryer*, e aos problemas enfrentados durante a execução do projeto.

Ainda não existem estudos para ajuste de doses *in vivo*, porém, para a pré-formulação proposta foi estabelecido o valor de 1 g por dose, sabendo-se que, para um valor real ou aproximado para uma dose em humanos, deve ser realizado um estudo farmacológico prévio.

Diante do comportamento de efervescência e de estabilidade após a saída de gás, foi visto que quanto mais promotores da efervescência maior a capacidade dos componentes se estabilizarem na formulação e não precipitarem com maior rapidez. Por estes motivos o lote intermediário escolhido para prosseguir com os controles de qualidade foi o lote de bancada V.

4.6.3 Controles de qualidade da pré-formulação de granulado Efervescente à base de *Clarisia racemosa*

4.6.3.1 Características Organolépticas

Na tabela 19 estão descritos as características organolépticas, antes e após o granulado efervescente (Lote de Bancada V) ser solubilizado, em ambos os lotes (C e D) do extrato seco por leito fluidizado.

Tabela 19 - Características organolépticas do Granulado Efervescente do Lote de Bancada V.

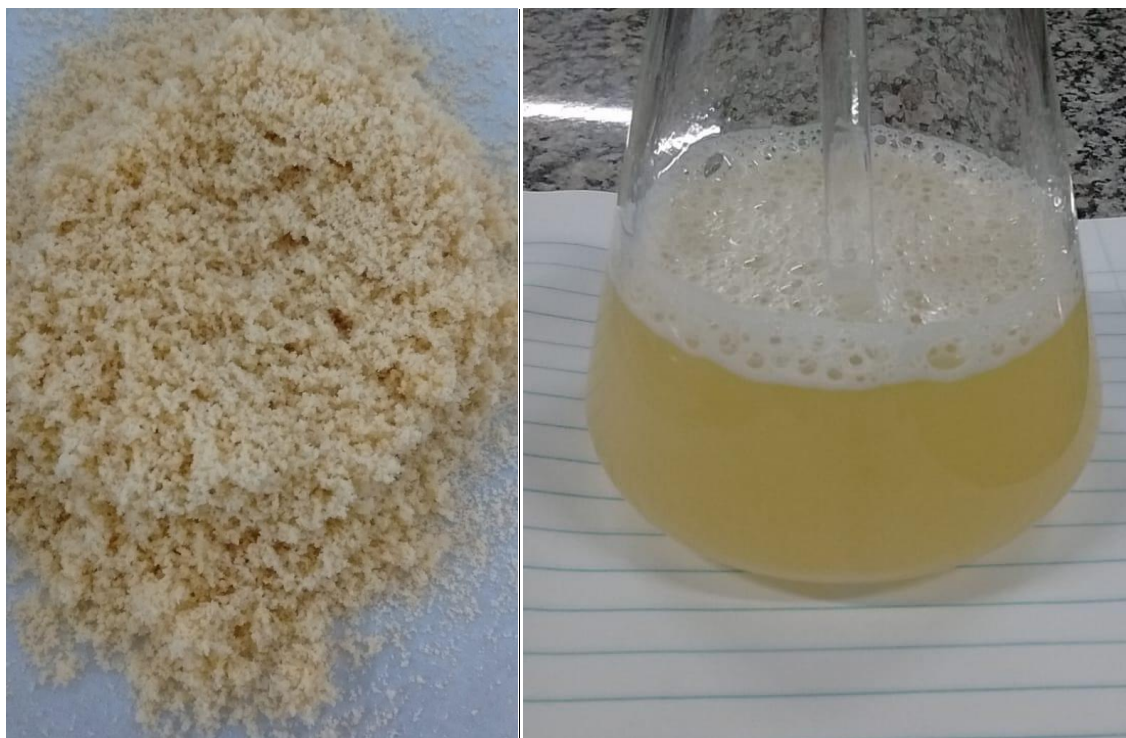
	Especificações	Resultados LB V com extrato C	Resultados LB V com extrato D
Granulado Efervescente	Cor Odor Sabor	Amarelo Claro ----- -----	Castanho Claro ----- -----
Granulado pós solubilização	Cor Odor Sabor	Amarelo Característico Adstringente	Amarelo Citrino Característico Adstringente

Legenda: LB - Lote de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa.

Nas imagens 36 e 37 podemos observar a diferença entre os lotes, tanto do granulado efervescente quanto após a sua solubilização. Como mostra as imagens, as características de cor final do granulado, refletem nas cores do pós do extrato seco de cada lote.

Figura 36 - Granulado Efervescente do LB V – Extrato seco C.



Legenda: LB – Lote de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 37 - Granulado Efervescente do lote LB V do Extrato Seco D.



Legenda: LB – Lote de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa.

4.6.3.2 Umidade residual

Em relação ao teste de determinação de umidade do lote V do extrato seco C, do granulado efervescente resultou 7,09 % de perda de umidade com coeficiente de variação de $\pm 2,7$ %.

Para o lote V com o extrato seco D, obteve-se o valor de perda de umidade de 6,03 %, já seu coeficiente de variação foi de $\pm 3,2$ %.

4.6.3.3 Desagregação e ponto de efervescência

Através do teste de desagregação e efervescência do granulado efervescente para ambos os lotes manipulados (Lote de Bancada V com os extratos secos C e D), no volume de 100 a 150 mL, há uma completa liberação de bolhas de gás, advindas do processo de efervescência.

Outra observação que pode ser constatada é que, após o desprendimento de gás, todos os componentes do granulado desagregaram, sendo eles dispersos no líquido, em um tempo menor que 5 minutos que, segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), estabelece limite.

4.6.3.4 Densidade

Após a solubilização do granulado efervescente de ambos os lotes (Lote de Bancada V com os extratos secos C e D), e repouso em geladeira para atingir a temperatura ideal para o teste de densidade no picnômetro, foram calculadas as densidades relativas de ambos.

Para o lote bancada V com o extrato seco C do granulado efervescente obteve como densidade relativa 1,0124 g/ mL. O lote de bancada V com o extrato seco D, obteve densidade de 1,0140 g/mL. Ambos os lotes apresentaram densidades próxima da água a 20° C. Não houve diferenças significativas entre os lotes analisados.

4.6.3.5 Verificação do pH

No teste de verificação de pH para as soluções obtidas, após a solubilização do extrato em água (150 mL), foram obtidos pontos hidrogeniônicos semelhantes entre os granulados de do Lote de Bancada V com os extratos secos C e D, apresentando um resultado de 5,09; constatando um pH de característica ácida, mantendo o mesmo padrão de acidez próxima ao extrato hidroalcoólico.

A permanência do mesmo caráter de acidez, também pode ter relação ao fato da associação de excipientes de características ácidas, mantendo-se na mesma faixa de pH.

4.7 DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE PRÉ-FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDOS À BASE DO EXTRATO SECO DE *Clarisia racemosa* POR LEITO FLUIDIZADO

4.7.1 Estudo de Compatibilidade do Extrato Seco de *Clarisia racemosa* por Leito Fluidizado

O estudo de compatibilidade se baseou no estudo anteriormente mostrado neste trabalho, no subitem 4.4.3.2, onde o próprio extrato obtido com seus respectivos adjuvantes de secagem foi comprimido através da compressão direta por via seca.

4.7.2 Obtenção do Comprimido a base de *Clarisia racemosa*

Para obtenção dos comprimidos do extrato seco por leito fluidizado, utilizou-se da técnica de compressão direta por via seca, partindo das características de um dos excipientes utilizados para a formação do extrato, a celulose microcristalina 102.

A celulose microcristalina 102 tem como uma de suas aplicações para a compressão direta por via seca, além da sua característica de ser porosa em sua superfície; auxilia no carregamento, por exemplo, de extratos, ficando bem adsorvidos; além de manter um bom fluxo garantido as qualidades de compactação e baixa necessidade de lubrificação (DASTJERDI et al., 2021).

Por todas as características citadas sobre a celulose microcristalina escolheu-se comprimir o extrato da forma em que foi seco para a formação dos comprimidos, na Figura 38 mostra os comprimidos à base do extrato seco de *Clarasia racemosa* por leite fluidizado dos dois lotes (C e D) utilizados.

Figura 38 - Comprimidos à base de *Clarisia racemosa* com extrato seco por Leite Fluidizado Lote C e D.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.7.3 Controles de qualidade da pré-formulação de Comprimido à base de *Clarisia racemosa*

Para o controle de qualidade dos comprimidos à base de *Clarisia racemosa*, foram utilizados os controles de qualidade básicos: peso médio, friabilidade, dureza e tempo de desintegração dos comprimidos.

4.7.3.1 Determinação do peso médio dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

Na tabela 20 seguem os valores do peso médio de ambos os lotes de Bancada V com os extratos secos C e D à base de *Clarisia racemosa* utilizados, além dos valores de coeficiente de variação e desvio-padrão. Ao todo, foram obtidos 15 comprimidos por lote, para obtenção final de 500 mg por comprimido.

Tabela 20 - Peso médio dos comprimidos à base de *Clarsia racemosa*.

Lotes dos Comprimidos	Peso médio (g)	Coefficiente de Variação (%)	Desvio Padrão
LB V (extrato seco C)	0,5009	0,5	0,028
LB V (extrato seco D)	0,5068	0,4	0,021

Legenda: LB – Lote de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa.

O que pode ser observado diante do exposto é que os limites médios de ambos os lotes estão dentro do é preconizado pela Farmacopeia Brasileira 6^a edição (2019). Para comprimidos não-revestidos, com peso médio acima de 250 mg, o limite de variação é $\pm 0,5\%$.

4.7.3.2 Friabilidade dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

A friabilidade é o teste aplicado em comprimidos não-revestidos e possibilita visualizar a determinação de resistência dos comprimidos em relação à abrasão (BRASIL, 2019).

Para o Lote de Bancada V com o extrato seco C, o resultado em porcentagem foi de 69,28% e para o Lote de Bancada V com o extrato seco D foi de 55,86%. Estes resultados demonstram que os comprimidos apresentam uma alta friabilidade, com pouca resistência, visto que o aceitável para este parâmetro é igual inferior a 1,5 % (BRASIL, 2019).

Estes resultados mostram a necessidade de avaliação tanto no ajuste da força de compressão quanto na formulação. Em relação à força de compressão, quanto maior a força de compressão, maior a possibilidade de se obter comprimidos com baixa friabilidade, por serem mais compactados (JUVONEN et al., 2021).

Em relação à avaliação da formulação, a junção de um aglutinante seco com um lubrificante são fundamentais na compressão direta. Esta combinação auxiliaria em uma menor friabilidade dos comprimidos, visto que aumenta a compactação das partículas que envolvem a formulação (TRANOVÁ et al., 2022).

4.7.3.3 Dureza dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), o teste de dureza é apenas informativo, utilizado em comprimidos não-revestidos, que é o caso dos comprimidos à base do extrato seco por leito fluidizado de *Clarisia racemosa*.

A média dos resultados para a dureza dos comprimidos do lote de bancada V com o extrato seco C foi de 1,6 Kgf/ cm² e para o lote de bancada V com o extrato seco D foi de 1,7 Kgf/ cm². Devido à dureza ser proporcional à força de compressão, reforça a ideia de aumentar a força de compressão no processo de desenvolvimento do comprimido.

A dureza em si é um dado que mostra a resistência do comprimido ao processo de esmagamento ou a ruptura, quando aplicado uma força radial nele (BRASIL, 2019).

4.7.3.4 Tempo de desintegração dos Comprimidos à base de *Clarisia racemosa*

O tempo de desintegração de comprimidos é um teste que permite verificar a desintegração, dentro de um tempo limite em uma aparelhagem específica (BRASIL, 2019).

O resultado da média para o lote de bancada V com o extrato seco C, foi de 15 segundos e para o lote de bancada V com o extrato seco D, foi de 19 segundos. Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019) o limite esperado é de até 30 minutos, sendo assim os comprimidos estão dentro dos valores estabelecidos.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos tanto da caracterização da droga vegetal como para seu extrato fluido através da técnica de maceração contribuíram para o conhecimento da espécie *Clarisia racemosa*, visto se tratar de um material vegetal pouco descrito na literatura e que sua utilização se restringe apenas à construção civil.

As técnicas utilizadas como granulometria, perda por dessecação, cinzas totais, resíduo seco, determinações de pH e de densidade relativa, microscopia eletrônica de varredura e análise térmica, auxiliaram na compreensão e caracterização da droga vegetal e seu extrato hidroalcoólico.

Além desses fatores, as secagens por *spray-dryer* e leito fluidizado possibilitaram ter uma visão de possíveis ajustes no processo de secagem para melhoria do resultado final, além de observar o resultado de rendimento dos extratos nos dois processos.

Através da atividade antifúngica foi possível concluir que os extratos secos pelos dois tipos de secagem apresentam uma boa atividade anti-*Sporothrix*, com destaque para o lote B do *Spray-dryer* onde foi possível inibir uma cepa resistente à terapia convencional.

A análise por Cromatografia Líquida por Alta Eficiência (HPLC) teve uma grande importância ao identificar a molécula de resveratrol, que na literatura vem se destacando como uma molécula promissora com boa atividade antifúngica. Estudos sobre sazonalidade seriam necessários para verificação de qual período há maior produção de resveratrol em *C. racemosa*.

Além de realizar um estudo para verificação da molécula de resveratrol frente ao *Sporothrix*, para conhecer e determinar se há atividade, e se essa molécula é responsável pela atividade farmacológica, para assim virar um marcador do extrato de *Clarisia racemosa*, diante disso seria necessário reavaliar o ensaio por HPLC para o extrato que não foi identificado o resveratrol.

Da mesma forma do resveratrol se faz necessário analisar o concentrado de flavonoides, para verificar se existe atividade frente ao *Sporothrix*.

Em relação ao granulado efervescente, o melhor lote escolhido foi o lote de bancada V onde, ao longo das observações realizadas em relação à efervescência e à homogeneidade do sistema, ao ser dissolvido se comportou de forma melhor.

Sobre a obtenção dos comprimidos, através dos controles de qualidade realizados nos mesmos observou-se a necessidade de adicionar mais excipientes para melhorar a friabilidade dos comprimidos. A força de compressão precisa ser avaliada no processo de manipulação.

Em resumo, por ser tratar de um resíduo de madeira, ou seja, é algo que é desprezado pela indústria, *Clarisia racemosa* mostra um enorme potencial para se torna um fitoterápico, de baixo custo e de altos benefícios para uma nova alternativa de tratamento da esporotricose.

REFERÊNCIAS

- ADI-DAKO, O. et al. Strategies for formulation of effervescent granules of an herbal product for the management of typhoid fever. **Heliyon**, v. 7, p.1-8, 2021.
- ALBUQUERQUE, F. H. C.; SOARES, K.S.; OLIVEIRA, M.A.S. Antimicrobial activity in vitro of aqueous extracts, hydroalcoholic and spirits of Myrtaceae family species leaves front of the strains of interest of bactéria. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 16, n. 2, p. 139-145, 2017.
- ALENCAR-FILHO, J. M. T. et al. Flavonoid enriched extract of *Alternanthera brasiliana* with photoprotective effect: Formulation development and evaluation of quality. **Industrial Crops and Products**, v.149, p.1-8, 2020.
- ALVES, G. M. C. et al. Purificação e caracterização da β -lapachonae estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 413-416, 2008.
- AZEVEDO, E. P. Atomização por *Spray-dryer* dos extratos de *Aspidosperma pyrifolium* e *Aspidosperma macrocarpum*. 2013. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, 89f., 2013.
- BACCARIN, T. et al. Influence of process conditions on physicochemical properties and antinociceptive activity *in vivo* of spray-dried *Rapanea ferruginea* Mez. stem bark extract. **Powder Technology**, v. 291, p. 66-74, 2016.
- BARROS, N. M.; PESSOA, A.S.; BROTAS, A.M. Systemic sporotrichosis in an alcoholic patient. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 95, n.3, p. 376 – 378.
- BENELLI, L.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Spouted bed performance on drying of an aromatic plant extract. **Powder Technology**, v. 239, p.59-71, 2013.
- BOSTANGHADIRI, N. et al. Comprehensive review on the antimicrobial potency of the plant polyphenol Resveratrol. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 95, p. 1588-1595, 2017.
- BRASIL, Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, v.2, 6ª Ed. Brasília, 2019.

BRASIL – Ministério da Saúde. Esporotricose Humana: sintomas, causas, prevenção, diagnóstico e tratamento. 2020. Disponível em : <<https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/esporotricose-humana>> Acesso em: 07/11/2021.

BRASSEUR & ANGENOT. Un reactif de choix pour la revelation des flavonoïdes: le melange diphenylborate d'aminoethanol -PEG 400. **Journal Chromatography**, p.,351-355, 1986.

BRIZENO, M. C., SILVA, E. C.; BASSOLI, A. C. D. G. The public health problem of feline sporotrichosis in the state of Pernambuco, Brazil: a narrative review. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.12, p.93845-93855, 2020.

CAILLEAU, G. et al. Detection of active oxalate–carbonate pathway ecosystems in the Amazon Basin: Global implications of a natural potential C sink. **Catena**, v.116, p. 132-141, 2014.

CARUSO, F. et al. Antifungal Activity of Resveratrol against *botrytis cinerea* is improved using 2-furyl derivatives. *Plos one*, v. 6, p. 1-10, 2011

CAZEDEY, E. C. L. et al. Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para Determinação de Itraconazol em Produtos Farmacêuticos por CLAE. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 774-776, 2007.

CHAN, E. W. C. et al. Chemistry and Pharmacology of Artocarpin: An Isoprenyl Flavone from *Artocarpus* Species. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 9, p. 58-63, 2018.

CHEN, X. et al. A systematic review on biological activities of prenylated flavonoids. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 5, 2014.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals: Approved Standard M31-A3 3ed, 2008.

CUNHA, M. P. S. C.; PINTO, A. C.; BRAZ-FILHO, R. Two Flavonoids from *Clarisia racemosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 5, n. 2, p. 101-105, 1994.

DASTJERDI, S. et al. On the mechanical analysis of microcrystalline cellulose sheets. **International Journal of Engineering Science**, v. 166, p. 1- 17, 2021.

DORDIO, H. C. P. Formas Farmacêuticas Efervescentes uma Abordagem Alternativa. 2012. Dissertação (Mestrado em Farmacotécnica Avançada) – Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 95f., 2012.

FERRAZ, L. R. M. Aplicação de *Quality by design* no estudo de pré-formulação Farmacêutica do Sulfato de Hidroxicloroquina. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 200 f., 2014.

FERREIRA, M. R. et al. A. Chromatographic and spectrophotometric analysis of phenolic compounds from fruits of *Libidibia ferrea* Martius. **Pharmacognosy Magazine**, v. 12, n. Suppl 2, p. S285, 2016.

FISCH, G.; MARENGO, J. A.; NOBRE, C. A. Uma Revisão Geral Sobre o Clima da Amazônia. **Acta Amazônica**, v.28, n. 2, p. 101-126, 1998.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 43f., 2013.

HAO, D.-C.; XIAO, P.-G. Deep in shadows: Epigenetic and epigenomic regulations of medicinal plants. **Chinese Herbal Medicines**, v.10 p.239-248, 2018.

HARBORNE J.B., Phytochemical Methods. 3^a Ed. Londres: Chapman & Hall, 1998.
IBA – **Indústria Brasileira de Árvores**. Relatório Anual da Indústria Brasileira de Árvores 2020. 2020. Disponível em: <<https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>> Acesso em: 31/10/2021.

INPA – INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**. 2008. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/sementes/iT/17_Guariuba.pdf> Acessado em 08/12/2020.

IUPAC – INTERNACIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Reporting Physisorption Data for Gas/ Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity. **Pure & Applied Chemistry**, v. 57, p. 603-619, 1985.

JUVONEN, H. et al. The effect of relative humidity and formulation variables on chewable xylitol-sorbitol tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 601, p 1-17, 2021.

KAUFFMAN, C.A. Endemic Mycoses: Blastomycosis, Histoplasmosis, and Sporotrichosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 20, p. 645-662, 2006.

KIZHA, A. R.; HAN, H.S. Processing and sorting forest residues: Cost, productivity and managerial impacts. **Biomass and Bioenergy**, v. 93, p. 97-106, 2016.

LANGRISH, T. A. G.; PREMARAJAH, R. Antioxidant capacity of spray-dried plant extracts: Experiments and simulations. **Advanced Powder Technology**, v. 24, p. 771-779, 2013.

LEANE, M.; PITT, K.; REYNOLDS, G. A proposal for a drug product Manufacturing Classification System (MCS) for oral solid dosage forms. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 20, n. 1, p. 1-10, 2015.

LIMA, M. J. S. Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas à base do Extrato Seco da casca do caule de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) como alternativa no tratamento do Diabetes *mellitus*. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 111 f., 2019.

LOCH-NECKEL, G. et al. Obtaining dried extracts from the biomass of the microalga *Haematococcus pluvialis* by spray drying. **Revista Matéria**, v. 23, n. 4, p. 1-16, 2018.

MACHADO, M. P. O. Quantificação de Resíduos do Processamento de Cinco Espécies Comerciais Amazônicas e Análise do Potencial Energético. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, Brasília, 58f., 2015.

MAIA, A. S.; OSORIO, V. K. I. Thermal Decomposition of Sodium Bicarbonate: From Solvay Process to an Ellingham Type Diagram. **Química Nova**, v. 26, n. 4, 2003.

MARKL, D. et al. Characterisation of Pore Structures of Pharmaceutical Tablets: A Review. **Indian Journal of Pharmacology**, v.538, p. 188-214, 2018.

MARTINELLI, L. Construção e desenvolvimento de um secador de leite pulso-fluidizado para secagem de pastas e polpas. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, São José do Rio Preto, 148p., 2008

MELLO, N. G. R.; ARTAXO, P. Evolution of the action plan for prevention and control of deforestation in the Brazilian Amazon. **Revista do Instituto de Estudos Brasileiros**, São Paulo, n. 66, p. 108-129, 2017.

METZ, H. *Naturwissenschaften*, v. 48, p. 596, 1961.

NAWAZ, W. et al. Therapeutic Versatility of Resveratrol Derivatives. **Nutrients**, v. 9, p. 1-26, 2017.

ODONNE et al. Medical ethnobotany of the Chayahuita of the Paranapura basin (Peruvian Amazon). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 127-153, 2013.

OLIVEIRA, A. H. et al. Anti-inflammatory activity of *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. extracts and antifungal activity against *Sporothrix schenckii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 195, p. 266-274, 2017.

OLIVEIRA, M. M. E. Identificação e análise filogenética de espécies do gênero *Sporothrix* isoladas em área endêmica de esporotricose no estado do Rio de Janeiro. 2009. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 67f., 2009.

PERNAMBUCO. **Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde (Cievs/PE)**. Boletim Epidemiológico Esporotricose Humana | Nº 01/2021. 2021. Disponível em: <https://12ad4c92-89c7-4218-9e11-0ee136fa4b92.filesusr.com/ugd/3293a8_7c6f315e94e04669adcf587b3c6ea944.pdf> Acessado em: 01/11/2021.

RAMOS, W. F. et al. Generation of Wood Waste from the Forest based Sector in the Metropolitan Region of Belém, Pará State. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 4, p. 1823-1830, 2018.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Farmacologia**. Editora Elsevier, 8ª edição, 2016.

REIS, D. C. N. S. P. Importância do Estudo da Área Superficial Específica e Porosidade do Estearato de Magnésio para o Setor Farmacêutico. 2013. Monografia (Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) – Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 59p., 2013.

ROBERTS, E. A. H.; CARTWRIGHT, R. A.; Oldschool, M. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 8, p. 72-80, 1957.

SELLERA, F. P.; LARSSON, C. E. Etymologia: *Sporothrix schenckii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 9, 2019.

SILVA, C. E. F. Esporotricose humana em Pernambuco: apresentação clínica, identificação e sensibilidade das espécies, avaliação dos testes diagnósticos e resposta terapêutica. 2018.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 196p., 2018.

SILVA, R. M. F. *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.): Obtenção Tecnológica de Formas Farmacêuticas. 2010. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 186 f., 2010.

SILVA, R. P. et al. Diameter increment and growth patterns for individual tree growing in Central Amazon, Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 166, p. 295–301, 2002.

SILVA, R. S.; SILVA, A. C.; LINHARES, J. F. P. Determinação dos teores de umidade e cinzas totais em erva-cidreira (*Lippia alba*) coletada na zona rural de São Luís – MA. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p.73800-73808, 2020.

SILVEIRA, L. H. C.; REZENDE, A. V.; VALE, A. T. Moisture content and basic wood density of nine commercial Amazonian tree species. **Acta Amazônica**, v.43, n. 2, p. 179-184, 2013.

SOARES, A. C. Secagem da Polpa de Jambolão (*Syzygium cumini*) em Secador de Leito de Jorro: Efeito da Clara de Ovo como Agente Carreador de Secagem na Qualidade do Produto. 2018. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes, 69p., 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA – **SBFgnosia**.2009. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/cq_materia_prima_vegetal.html> Acesso em: 15/09/2021.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40-54, 2015

SPAGOLLA, L. C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 59-64, 2009.

STAGEGAARD, J.; SORENSEN, M.; KIVIST, L.P. Estimations of the importance of plant resources extracted by inhabitants of the Peruvian Amazon flood plains. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 5, p. 103-122, 2002.

TANNUS, C. A. Ensaios de Qualidade e Determinação Multielementar em Medicamentos Fitoterápicos Usando Espectrometria de Emissão Atômica. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do estado da Bahia, Salvador, Bahia, 153f., 2020.

TEIXEIRA, A. G. Extrato Seco em Leito de Jorro das Folhas de *Maytenus ilicifolia*: Elaboração de Formulação Tópica, Caracterização Química e Avaliação da Atividade Antioxidante. 2013. Dissertação (Mestrado em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos na área de Fármacos, Medicamentos e Insumos para Saúde) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 88f., 2013.

TOMASI, M. L. M. Aspectos relacionados ao desenvolvimento de um medicamento fitoterápico: preparação e avaliação biológica de extrato seco padronizado de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 60p., 2021.

TRANOVÁ, T. et al. Study of rheological and tableting properties of lubricated mixtures of co-processed dry binders for orally disintegrating tablets. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 601, p. 1-10, 2022.

VALENTE, B. R. Desenvolvimento de comprimidos de liberação entérica contendo omeprazol. 2010. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 111p., 2010.

VASCONCELLOS, M. S.; OLIVEIRA, E. C. Timber Solid Waste Management: Study in Timber Companies in the Municipality of Buri – SP. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78118-78146, 2020.

VASCONCELOS, E. A. F. et al. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n. 3, p.243-249, 2005.

VÁSQUEZ-DEL-MERCADO, E.; ARENAS, R.; PADILLA-DESGARENES C. Sporotrichosis. **Clinics in Dermatology**, v.30, p. 437- 443, 2012.

VÁSQUEZ-OCMÍN, P. et al. Antiprotozoal activity of medicinal plants used by Iquitos-Nauta roadcommunities in Loreto (Peru). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p.372-385, 2018.

VESTERGAARD, M.; INGMER, H. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.53, p.716-723, 2019.

VETTORATO, R. et al. Sporotrichosis by *Sporothrix schenckii* sensu stricto with itraconazole resistance and terbinafine sensitivity observed in vitro and in vivo: Case report. **Medical Mycology Case Reports**, v.19, p. 18-20, 2018.

WAGNER H. & BLADT S. Plant drug analysis -A thin layer chromatography atlas. Springer. 2.ed. Munich. 1996.

WALLER, S. B. et al. Cytotoxicity and anti-*Sporothrix brasiliensis* activity of the *Origanum majorana* Linn. Oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 896-901, 2016.

XIAO Y. et al. Pharmacological activities and structure-modification of resveratrol analogues. **Pharmazie**, v. 70, p. 765-771, 2015.

ZANUNCIO, A. J. V. Influência da Secagem da Madeira de *Eucalyptus* e *Corymbia* na Produção e Qualidade do Carvão. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia da Madeira) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 69p., 2013.

ZHANG, L. X. et al. Resveratrol (RV): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.143, p.1-20, 2021.

ANEXO A - LAUDO TÉCNICO DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FLORESTAIS.



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÃO.
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Coordenação de Tecnologia e Inovação
LABORATÓRIO DE ANATOMIA E IDENTIFICAÇÃO DE MADEIRA / XILOTECA

Resultado da Análise**Laudo Técnico Nº 10/2018.**

Solicitante: "Mil Madeiras Preciosas Ltda" Atividade de Manejo Florestal Sustentável.
AM 363, Km 1,5 – Zona Rural, CEP: 69100-970 Itacoatiara / AM.
CNPJ:04193033000156 / Inscrição Estadual: 06.200.220-1.
João da Cruz Rodrigues – Diretor. 55 (92) 9136 5024; 3521 3331
Joao.cruz@preciouswoods.com.br – www.preciouswoods.com
INPA-Diretoria protocolo Nº 198 / 2018.
CAPCON/INPA – Protocolo Nº 042 / 2018.

Número de amostras: Sessenta e nove (69) amostras de madeiras manejáveis, para fins de colaboração Técnica/Científica de interesse público.

Procedência: "Mil Madeiras Preciosas Ltda" Atividade de Manejo Florestal Sustentável.
AM 363, Km 1,5 – Zona Rural, CEP: 69100-970 Itacoatiara / AM.

Tipo de Material: Amostras de madeira maciça, segundo solicitação de análise, com dimensões adequadas para os procedimentos de laboratório, em forma de cunha, com dimensões.....

Número/Nome Vulgar da Amostra: As amostras em questão estão relacionadas por ordem numérica crescente (1;2;3;4;5;6;7;69), acrescidas das iniciais da denominação comercial e o referido nome (ACAR) Acariquara, o nome científico e respectiva família.

Recebido no laboratório por: Jorge Alves de Freitas, no Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras da Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI / INPA.
Em:

Ministério da
Ciência, Tecnologia
e Inovação



Av. André Araújo, nº 2.936 – Petrópolis, CEP 69.060-001, Manaus – Amazonas – Brasil.
Tel. + 55 92 3643-3078 / 3079, Caixa Postal 2223, CEP 69.080-971
<http://www.inpa.gov.br>, e-mail: coti@inpa.gov.br.

ANEXO B - LAUDO TÉCNICO DE IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES FLORESTAIS
CONTENDO *Clarisia racemosa*.

Laudo Técnico Nº 10/2018.

Nº 23 GUAR - Família: **Moraceae**

Nome Científico: *Clarisia racemosa* Ruiz. et Pavon.

Nome Vulgar: Guariúba; Gameleiro; Guariúba-amarela; Janitá; Oiticica.

Nº 24 IPE - Família: Bignoniaceae

Nome Científico: *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nichols.

Nome Vulgar: Ipê; Pau-d'arco.

Nº 25 JACA - Família: **Clusiaceae**

Nome Científico: *Calophyllum brasiliensis* Cambess.

Nome Vulgar: Jacareúba; Balsamo-jacareúba; Casca-de-anta; Guanandi;
Guanandi-cedro;

Nº 26 JARA - Família: Lecythidaceae

Nome Científico: *Lecythis poiteaui* O. Berg.

Nome Vulgar: Jarana; Sapucaia.

Nº 27 JATO - Família: **Caesalpiniaceae**

Nome Científico: *Hymenaea courbaril* L.

Nome Vulgar: Jatobá; Jatobá-curuba; Jutai; Jutai-açu; Jutai-grande.

Nº 28 JUPO - Família: **Caesalpiniaceae**

Nome Científico: *Martiodendron elatum* Gleason.

Nome Vulgar: Jutai-pororoca; Jutai-cica; Tamarindo.

Nº 29 LOAM - Família: **Lauraceae**

Nome Científico: *Licaria rigida* Kosterm.

Nome Vulgar: Louro-amarelo; Louro; Louro-canela.

Nº 30 LOAR - Família: Lauraceae

Nome Científico: *Licaria aritu* Ducke.

Nome Vulgar: Louro-aritu; Louro-aritó.

Nº 31 LOCH - Família: **Lauraceae**

Nome Científico: *Licaria canella* (Meisn.) Kosterm.

Nome Vulgar: Louro-chumbo; Louro-canela; Louro-cumarú; Louro-preto.

ANEXO C - CADASTRO DE *Clarisia racemosa* NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO.



Ministério do Meio Ambiente CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão

Cadastro nº AAF588D

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AAF588D**
 Usuário: **Universidade Federal do Amazonas**
 CPF/CNPJ: **04.378.626/0001-97**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

Espécie

Mezilaurus itauba
Caryocar villosum
Iryanthera paraensis
Protium puncticulatum
Aspidosperma desmanthum
Scleronema micranthum
Clarisia racemosa

Título da Atividade: **Estudo Fitoquímico e Avaliação Biológica de Extratos de Madeiras Tropicais da Floresta Amazônica**

Equipe

Daniel Tarciso Martins Pereira	Universidade Federal do Amazonas
Alcicley da Silva Abreu	Universidade Federal do Oeste do Pará
Simey de Souza Leão Pereira Magnata	Universidade Federal de Pernambuco
Marcos Antônio Silva de Souza	Mil Madeiras Preciosas Ltda (PRECIOUS WOODS)
Maria do Carmo Alves de Lima	Universidade Federal de Pernambuco

Parceiras Nacionais

11.118.393/0001-59 / Universidade Federal do Oeste do Pará
24.134.488/0001-08 / Universidade Federal de Pernambuco
04.193.033/0001-56 / Mil Madeiras Preciosas Ltda (PRECIOUS WOODS)

Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

Identificação do meio onde foi divulgado: **Determinação do perfil fitoquímico e avaliação**

Identificação do meio onde foi divulgado:	. Determinação do perfil fitoquímico e avaliação
Identificação do meio onde foi divulgado:	67ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para
Identificação do meio onde foi divulgado:	II Encontro Regional da Sociedade Brasileira de

Data do Cadastro:	03/09/2018 11:45:13
Situação do Cadastro:	Concluído



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 10:05 de 11/04/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - SISGEN