

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**ESTUDO DE INTERAÇÕES QUERCETINA-EXCIPIENTES EM AMOSTRAS
OBTIDAS POR MISTURA FÍSICA OU POR *SPRAY DRYING***

Marina da Silva Pinhatti

Porto Alegre, julho de 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**ESTUDO DE INTERAÇÕES QUERCETINA-EXCIPIENTES EM AMOSTRAS
OBTIDAS POR MISTURA FÍSICA OU POR *SPRAY DRYING***

Trabalho apresentado como requisito parcial para aprovação na Disciplina de Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Valquíria Linck Bassani

Co-orientador: MSc. Vanessa Pittol

Porto Alegre, julho de 2017.

RESUMO

A quercetina (QCT) é um constituinte ativo que está presente em diversas espécies vegetais, para a qual têm sido atribuídas distintas atividades farmacológicas como, antioxidante, antiviral, anti-inflamatória e anticâncer. A técnica de secagem por *spray drying* é amplamente empregada na obtenção de produtos pulveréos ou produtos com propriedades tecnológicas específicas. Esta técnica representa um dos métodos mais comumente empregados na indústria farmacêutica para secagem de extratos vegetais aquosos e hidroetanólicos. Contudo, a presença de constituintes higroscópicos em soluções extrativas requer, frequentemente, a adição de adjuvantes, cuja escolha deve repousar em materiais que não interfiram negativamente no produto obtido. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a ocorrência ou não de possíveis interações entre QCT e alguns excipientes utilizados em processos de secagem por *spray drying*. Inicialmente, foram preparadas misturas QCT-excipientes (1:1, m/m) (β -ciclodextrina, lactose monoidratada, Aerosil[®] 200 e HPMC[®] K4M) secas em *spray dryer*. O estudo de compatibilidade destas misturas foi realizado por meio das técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DCS) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Também, realizaram-se os ensaios de solubilidade da QCT e de estresse isotérmico (TEI) para avaliar o impacto dos adjuvantes sobre a solubilidade e degradação da QCT, respectivamente. Os resultados da análise de DSC indicaram a ocorrência de interação entre a QCT e todos excipientes testados, nem todas corroboradas pela análise por FT-IR. O ensaio de solubilidade demonstrou incremento da solubilidade da QCT na presença de β -ciclodextrina e HPMC[®] K4M. O teste de estresse isotérmico revelou que, nas condições testadas (50 °C \pm 2 °C e umidade elevada), ao contrário da degradação observada para a QCT isolada, a presença de todos os adjuvantes testados imprimiu um efeito protetor de sua degradação. Estes estudos, de caráter preliminar, revelam que tais adjuvantes, além de constituírem-se adjuvantes de secagem, promovem um incremento na estabilidade da QCT, o que merece estudos futuros mais aprofundados para sua elucidação.

Palavras-chave: quercetina, excipientes secagem, *spray dryer*, compatibilidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da Quercetina.....	12
Figura 2 - Estrutura química da β -ciclodextrina.....	16
Figura 3 - Estrutura química do HPMC®.....	17
Figura 4 - Estrutura química da Lactose na sua forma anidra.....	18
Figura 5 - Amostras do pó resultante da secagem por <i>spray drying</i> das misturas binárias.....	25
Figura 6 - Termogramas das amostras de quercetina, β -ciclodextrina e misturas binárias.....	27
Figura 7 - Termogramas das amostras de quercetina, lactose e misturas binárias.....	28
Figura 8 - Termogramas das amostras de quercetina, Aerosil® e misturas binárias.....	29
Figura 9 - Termogramas das amostras de quercetina, HPMC® e misturas binárias.....	30
Figura 10 - Espectros de FT-IR das amostras de quercetina, β -ciclodextrina e misturas binárias.....	31
Figura 11 - Espectros de FT-IR das amostras de quercetina, lactose e misturas binárias.....	32
Figura 12 - Espectros de FT-IR das amostras de quercetina, Aerosil® e misturas binárias.....	33
Figura 13 - Espectros de FT-IR das amostras de quercetina, HPMC® e misturas binárias.....	34
Figura 14 - Cromatograma da quercetina e dos excipientes (β CD, Aerosil®, lactose e HPMC®).....	35
Figura 15 - Efeito de adjuvantes sobre a hidrossolubilidade da QCT.....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	5
2	OBJETIVOS	7
2.1	OBJETIVO GERAL	7
2.1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
3.1	PRODUTOS DE ORIGEM NATURAL	8
3.2	CONSTITUINTES BIOATIVOS (FLAVONOIDE QUERCETINA).....	9
3.3	TÉCNICA DE SECAGEM POR ASPERSÃO (<i>SPRAY DRYING</i>) NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA	12
3.4	EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS – ADJUVANTES DE SECAGEM	14
3.5	ESTUDOS DE INTERAÇÕES ENTRE SUBSTÂNCIA ATIVA-EXCIPIENTE .	18
4	METODOLOGIA	21
4.1	MATERIAIS.....	21
4.2	MÉTODOS	21
4.2.1	OBTENÇÃO DE AMOSTRAS QCT-EXCIPIENTE PELAS TÉCNICAS DE MISTURA FÍSICA E SECAGEM POR <i>SPRAY DRYING</i>	21
4.2.2	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	22
4.2.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR).....	22
4.2.4	QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR CLAE-PDA	22
4.2.5	ENSAIO DE SOLUBILIDADE	23
4.2.6	TESTE DE ESTRESSE ISOTÉRMICO (TEI)	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS – CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS E SENSORIAIS	25
5.2	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	26
5.3	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR).....	30
5.4	QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR CLAE-PDA	34
5.5	ENSAIO DE SOLUBILIDADE	35
5.6	TESTE DE ESTRESSE ISOTÉRMICO (TEI)	36
6	CONCLUSÕES	39
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

Produtos de origem natural têm ganhado destaque mundial na prevenção e tratamento de inúmeras doenças (NEWMAN; CRAGG, 2012; BRUSOTTI et al., 2014; DUTRA et al., 2016). Com isso, tem se observado um aumento significativo no interesse da indústria farmacêutica no emprego de plantas medicinais para o desenvolvimento de novos fármacos ou medicamentos, bem como da população por produtos naturais para o atendimento de suas necessidades terapêuticas (LOVKOVA et al., 2001; DUTRA et al., 2016; BRAGA; RATES; SIMÕES, 2017).

O potencial terapêutico das plantas medicinais é atribuído à presença de constituintes bioativos, em sua maioria, metabólitos secundários, e entre eles os constituintes fenólicos (LOVKOVA et al., 2001; AZMIR et al., 2013; BRUSOTTI et al., 2014). A quercetina (QCT) é classificada como um constituinte fenólico, que pode ser isolado a partir do extrato de inúmeras plantas como, por exemplo, das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – compositae, popularmente denominada marcela. São relacionadas à QCT distintas atividades farmacológicas a citar antioxidante, antiviral, anti-inflamatória e anticâncer (BARATA et al., 2009; CARINI; KLAMT; BASSANI, 2014; GUPTA et al., 2016; OSONGA et al., 2017).

A técnica de secagem por *spray drying* é amplamente utilizada pela indústria farmacêutica, tanto para obtenção de produtos na forma de pós, quanto para obtenção de produtos com propriedades tecnológicas específicas, como por exemplo, pós com maior solubilidade e melhor distribuição granulométrica (VEHRING, 2008; SOLLOHUB; CAL, 2010; DAZA et al., 2016). Esta técnica envolve a eliminação do solvente e obtenção de partículas sólidas, a partir de soluções, suspensões ou emulsões. Apresenta diversas vantagens como a possibilidade de secagem de substâncias termolábeis sem ocasionar sua decomposição, obtenção de pós homogêneos com distribuição granulométrica estreita, entre outras. A adição de adjuvantes é quase sempre necessária na secagem de produtos de origem vegetal, tendo em vista a presença de constituintes higroscópicos, sendo determinante para a obtenção de melhores rendimentos (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; SOLLOHUB; CAL, 2010; SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2007; CORTÉS-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2015).

Os adjuvantes são conhecidos como substâncias desprovidas de atividade terapêutica, contudo, estão presentes na maioria das formulações (PIFFERI; RESTANI, 2003). Além de conferir aumento de massa e volume, em geral, constituem a maior parte de uma formulação. Sua utilização também está relacionada com a melhoria da estabilidade e eficácia dos constituintes ativos (BORGHETTI et al., 2009; ARAUJO; BORIN, 2012; XU et al., 2014; DAZA et al., 2016). Os excipientes são classificados de acordo com a sua funcionalidade, e sua escolha deve levar em consideração seus aspectos físico-químicos, químicos e físicos, assim como, considerar as substâncias ativas às quais serão associados, com o objetivo de evitar quaisquer interações quando da mistura dos mesmos (BORGHETTI et al., 2009; XU et al., 2014; DAZA et al., 2016).

As interações entre substâncias ativas-excipientes configuram uma das maiores preocupações no desenvolvimento de uma nova formulação. Tais incompatibilidades (físicas ou químicas) são capazes de gerar efeitos indesejáveis nas formulações, como produtos com estabilidade e eficácia prejudicadas (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010; CHADHA; BHANDARI, 2014). Os estudos de pré-formulação devem, portanto, contemplar a investigação da compatibilidade entre o fármaco e os potenciais excipientes, com vistas na seleção destes últimos (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010; NARANG; DESAI; BADAWI, 2012).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo estudar as possíveis interações da QCT com excipientes frequentemente utilizados na secagem por *spray drying*, tanto de extratos contendo essa substância ativa, quanto na obtenção de dispersões sólidas da molécula isolada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ocorrência de possíveis interações entre QCT e alguns excipientes utilizados no processo de secagem por *spray drying*.

2.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter amostras secas pelo método de *spray drying* a partir de dispersões contendo QCT e diferentes excipientes (β -ciclodextrina, Aerosil[®] 200, lactose monoidratada e HPMC[®] K4M);
- Obter amostras de mistura física da QCT com os diferentes excipientes (β -ciclodextrina, Aerosil[®] 200, lactose monoidratada e HPMC[®] K4M);
- Avaliar por meio das técnicas de DSC e FT-IR o perfil da QCT e dos excipientes separadamente, comparando-os aos perfis da mistura física e das amostras secas por *spray drying*, verificando a presença ou não de interações;
- Avaliar a solubilidade da QCT, isolada, e nas amostras secas por *spray drying*;
- Avaliar a estabilidade da QCT e de amostras de QCT-excipiente obtidas por *spray drying* frente ao teste de estresse isotérmico (TEI).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PRODUTOS DE ORIGEM NATURAL

A prática do uso de produtos provenientes de fontes naturais para profilaxia, tratamento e amenização de diversas doenças e seus sintomas é considerada a mais antiga na Medicina Humana (KOROLKOVAS, 1996; BRUSOTTI et al., 2014; DUTRA et al., 2016). As plantas e as preparações delas derivadas destacam-se entre estas por apresentarem diversas atividades farmacológicas, podendo ser empregadas de diversas formas, desde preparações *in natura* até na forma de medicamentos contendo substâncias ativas isoladas (LOVKOVA et al., 2001; DUTRA et al., 2016; BRAGA; RATES; SIMÕES, 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, as plantas medicinais são a primeira opção de tratamento nos cuidados com a saúde para cerca de 80% da população mundial (OLIVEIRA et al., 2012; BRUSOTTI et al., 2014; GALLO et al., 2015; WHO, 2017). Em 2012 o Brasil figurava entre os dez 10 maiores consumidores de plantas medicinais, no qual observa-se, inclusive, a introdução dos medicamentos fitoterápicos no sistema de saúde pública de vários estados (OLIVEIRA et al., 2012). É o país com a maior biodiversidade vegetal, com mais de 20% das espécies existentes em todo o planeta, que podem ser utilizadas para fins medicinais, aromáticos ou alimentícios (SILVA; FERNANDES, 2010; CARVALHO et al., 2014; DUTRA et al., 2016; BRASIL, 2017). A vasta gama de plantas nativas vem acompanhada do crescente interesse da indústria farmacêutica, juntamente da aceitação da população brasileira, em relação a produtos naturais e àqueles de origem natural, assim, o uso de medicamentos fitoterápicos está bastante difundido (CARVALHO et al., 2014).

As plantas são fontes de constituintes químicos com uma grande variedade estrutural, em sua grande maioria metabólitos secundários, os quais são responsáveis por respostas de defesa da planta e pelas atividades farmacológicas a eles atribuídos (LOVKOVA et al., 2001; AZMIR et al., 2013; BRUSOTTI et al., 2014). Estes constituintes bioativos dividem-se em três classes principais: terpenos e terpenoides, alcaloides e fenóis (WINK, M., 2003; AZMIR et al., 2013). As propriedades terapêuticas das plantas medicinais estão intimamente relacionadas com suas particularidades químicas e sua complexidade de constituição apresenta

vantagens e desvantagens. A maior vantagem está relacionada com a possibilidade de diferentes constituintes ligarem-se a diferentes alvos terapêuticos, podendo ou não apresentar efeito terapêutico mesmo em baixas concentrações (GERTSCH, 2011).

Assim, muito embora os estudos realizados têm contribuído de forma importante para a prospecção das atividades farmacológicas das espécies e para descoberta, desenvolvimento e produção de novos medicamentos, ainda há muito que se investigar (BRUSOTTI et al., 2014).

3.2 CONSTITUINTES BIOATIVOS (FLAVONOIDE QUERCETINA)

Pertencentes à classe dos constituintes fenólicos, os flavonoides são metabólitos secundários cuja biossíntese ocorre pela via dos fenilpropanoides. Ocorrem em inúmeras espécies vegetais distribuindo-se por todas as partes da planta (KUMAR; PANDEY, 2013; KARABIN et al., 2015; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Devido às suas diversas propriedades, é grande o interesse econômico pelos flavonoides, principalmente para a indústria alimentícia por imprimir cor e valor nutricional para alguns alimentos (AHMAD et al., 2015; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Também, possuem considerável importância farmacológica por apresentar uma série de efeitos biológicos como antioxidantes, antitumorais, anti-inflamatórios e antivirais, resultando no aumento do interesse científico e terapêutico pelos representantes da classe (BARATA et al., 2009; AHMAD et al., 2015; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

Muitos flavonoides já foram identificados e estudados, caracterizando diferentes fórmulas e estruturas químicas. No entanto, a estrutura química básica da maioria das substâncias dessa classe possui um esqueleto com 15 átomos de carbono, consistindo em um anel heterocíclico pirano (C) ligando dois anéis fenólicos (A e B) (KUMAR; PANDEY, 2013; KARABIN et al., 2015). A diferença entre os representantes do grupo está nos substituintes das posições 3, 5, 7, 3', 4', 5' de sua estrutura básica (BEHLING et al., 2004; KARABIN et al., 2015; KARABIN et al., 2015). Nesse sentido, o padrão de substituição e o estado de oxidação do núcleo pirano são responsáveis pela subdivisão dos flavonoides em classes, e, dentro destas, é o padrão de substituição dos anéis benzênicos que os diferencia (KUMAR; PANDEY, 2013; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Assim, com base

nas diferenças no anel C, os flavonoides são classificados em seis principais grupos: flavonas, isoflavanonas, flavanonas, flavonóis, flavan-3-óis e antocianidinas (KARABIN et al., 2015; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

Os flavonóis são uma das três principais subclasses dos flavonoides. Em termos estruturais, pode-se dizer que os flavonóis são flavonas, ambos apresentam uma ligação dupla na posição C2-C3, que são substituídas por uma hidroxila na posição C3 (HOLLMAN; ARTS, 2000; KARABIN et al., 2015). Na natureza, grande parte desses constituintes ocorre sob a forma conjugada com uma ou mais moléculas de açúcar, ligadas aos grupamentos hidroxila por uma ligação hemiacetal, e são conhecidos como heterosídeos flavonoídicos. Os principais representantes da classe encontrados em vegetais são a quercetina, o canferol, a miricetina e a galangina (HOLLMAN; ARTS, 2000; KARABIN et al., 2015; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

A QCT (3, 5, 7, 3' – 4' – pentahidroxi flavona) (Figura 1), polifenol com fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$ e massa molecular equivalente a 302,24 g/mol na sua forma anidra e 338,24 g/mol na sua forma diidratada (cristalizada), é encontrada em diversos alimentos e plantas (BEHLING et al., 2004; BORGHETTI et al., 2012). Caracteriza-se como pó amarelo-alaranjado com sabor amargo e, como a maioria dos flavonoides, apresenta fotossensibilidade (DREWNOWSKI; GOMEZ-CARNEROS, 2000; SRINIVAS et al., 2010; BAGHEL et al, 2012). Essa substância é praticamente insolúvel em água, o que limita sua biodisponibilidade quando administrada por via oral (SRINIVAS et al., 2010; GHANEM et al., 2013; GUPTA et al., 2016).

A absorção da QCT e demais flavonoides decorre de diversos fatores como, por exemplo, tamanho molecular, lipofilia, solubilidade e pKa (KUMAR; PANDEY, 2013; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Nesse sentido, a estrutura da substância, aglicona ou heterosídica, tem papel fundamental na farmacocinética da mesma, principalmente porque a presença de açúcares pode alterar a polaridade da molécula (SRINIVAS et al., 2010; GUPTA et al., 2016). Comumente encontrada sob a forma glicosilada, a QCT é a aglicona de diversos glicosídeos, como rutina e quercitrina (BAGHEL et al, 2012; GUPTA et al., 2016). A absorção da QCT na forma de glicosídeo ou rutenosídeo ocorre a partir do intestino delgado e no cólon, respectivamente (BAGHEL et al, 2012; KUMAR; PANDEY, 2013). Alguns estudos demonstram que apenas 2% são absorvidos após ingestão pela via oral, contudo

ressaltam que a baixa solubilidade aquosa da substância na sua forma aglicona também possa estar interferindo de modo importante no processo (MUROTA; TERAQ, 2003; GUPTA et al., 2016).

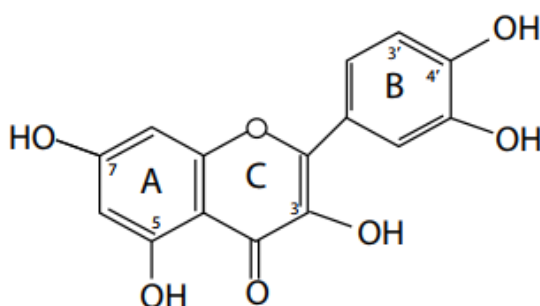
Do ponto de vista terapêutico, são inúmeros os efeitos biológicos benéficos da QCT contra diversas doenças, incluindo seu alto poder como antioxidante, antiviral, anti-inflamatório e anticancerígeno (DAVID; ARULMOLI; PARASURAMAN, 2016; OSONGA et al., 2017). Parte dos efeitos atribuídos a este constituinte vegetal está relacionada com sua atividade antioxidante, devido à capacidade de eliminar os radicais livres e quelar íons metálicos, permitindo a inibição da peroxidação lipídica (ROSS; KASUM, 2002; BEHLING et al., 2004; BAGHEL et al., 2012). A eliminação de radicais livres pode reduzir a inflamação, principalmente em pacientes com doenças inflamatórias crônicas, e a inibição da peroxidação lipídica contribui para evitar doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (BAGHEL et al., 2012; GUPTA et al., 2016). Quanto ao efeito anticâncer, a QCT mostrou-se efetiva contra diversos tipos de linhagens celulares e cânceres. Por exemplo, estudo efetuado com QCT incorporada em nanolipossomas demonstrou potencial inibição do câncer cervical do tipo U14 em ratos (CARINI; KLAMT; BASSANI, 2014; LI et al., 2017).

Este flavonol é um dos principais componentes presente nas inflorescências da *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – compositae, popularmente conhecida como Marcela ou Macela, sendo um marcador químico da espécie. Popularmente, a marcela é utilizada na forma de chá com o intuito de se obter, por exemplo, ação sedativa, anti-inflamatória, analgésica, antiemética e antiespasmódica (HNATYSZYN, 2004; BARATA et al., 2009). Contudo, ao longo dos anos, os estudos de avaliação da potencialidade terapêutica de extratos, frações e constituintes isolados a partir de material vegetal têm crescido de maneira significativa, tanto para a marcela quanto para demais espécies vegetais (BASSANI; SCHAPOVAL, 2007; CARINI et al., 2015; BERNARDES et al., 2017).

Por meio de técnicas específicas pode-se extrair os constituintes responsáveis pela atividade farmacológica de determinada planta, obtendo-se extratos, que possuem um conjunto de constituintes bioativos presentes na espécie vegetal em questão; frações enriquecidas, contendo majoritariamente uma classe específica; e as substâncias ativas isoladas (BRUSOTTI et al., 2014). Estas técnicas aumentam o rendimento dos constituintes para que, então, possam ser empregados no desenvolvimento de novos produtos padronizados, auxiliando estudos que objetivem

a escolha da melhor forma farmacêutica, como pós, líquidos e extratos (MARTINS et al., 2011; AZMIR et al., 2013). Nessa perspectiva, ressalta-se a importância de garantir aspectos como segurança, eficácia e qualidade das preparações fitofarmacêuticas. Assim, o processo de secagem e padronização de extratos, frações e substâncias bioativas emerge como estratégia com vistas a melhorar a estabilidade, manuseio, transporte e armazenamento do produto. Além disso, possibilita a formulação de formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos, que são as formas de dosagem oral mais comuns e apresentam vantagens tanto para a indústria, quanto para o paciente (CÓRTEZ-ROJAS; OLIVEIRA, 2012; GALLO et al., 2015).

Figura 1 - Estrutura química da Quercetina.



Fonte: ALVES, et al., 2010.

3.3 TÉCNICA DE SECAGEM POR ASPERSÃO (*SPRAY DRYING*) NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

A técnica de secagem por *spray drying* vem sendo amplamente empregada na indústria farmacêutica para a secagem de diversos materiais, visando à obtenção de substâncias secas com as propriedades específicas para diferentes formulações (VEHRING, 2008; SOLLOHUB; CAL, 2010; DAZA et al., 2016). Também, destaca-se o fato de possibilitar a obtenção de produtos com qualidade e estabilidade, permitindo o controle de características tecnológicas do produto como distribuição de tamanho da partícula, fluxo, densidade aparente e umidade. Entre as principais vantagens da utilização da secagem por *spray drying* estão alta produtividade e curto tempo de exposição do produto ao calor, este último possibilitando a secagem

de algumas substâncias termossensíveis (MARRETO; FREIRE; FREITAS, 2006; VEHRING, 2008; OLIVEIRA e PETROVICK, 2010; DAZA et al., 2016).

O processo de secagem por *spray drying* consiste na retirada do solvente e obtenção de uma forma particulada sólida a partir, por exemplo, de uma solução, suspensão ou emulsão (BASSANI, 1990; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). O método pode ser dividido em três etapas fundamentais: dispersão do fluido de alimentação em gotículas, ocorrendo aumento da área superficial; contato do líquido com o ar aquecido na câmara de secagem, havendo transferência de calor; evaporação do solvente e obtenção da partícula sólida, separação das partículas sólidas do vapor (MASTERS, 1985; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; DAZA et al., 2016).

Este processo tem sido bastante empregado devido a vantagens como a possibilidade de seleção de variáveis do processo; ampla aplicabilidade; rapidez de produção, evaporação rápida, em segundos; continuidade do processo, podendo ser alteradas condições de processo sem interrupção do mesmo; baixa agressividade ao produto; possibilidade de transposição para escala industrial; entre outras, que quando somadas conferem um baixo custo ao produto (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; DAZA et al., 2016). Também, esta técnica tem sido utilizada visando melhorar aspectos físico-químicos das substâncias como a baixa solubilidade aquosa. Esse é um grande problema a ser contornado no desenvolvimento de novos medicamentos, pois a maioria dos novos fármacos apresenta baixa solubilidade em água, interferindo negativamente nos aspectos tecnológicos e biológicos da formulação (VEHRING, 2008; SOLLOHUB; CAL, 2010).

Relatos indicam que a primeira aplicação da técnica de *spray drying* em nível industrial foi para obtenção de extratos secos a partir de plantas e mesmo, atualmente, representa um dos métodos mais comumente empregados na indústria farmacêutica para secagem de extratos hidroetanólicos (SOLLOHUB; CAL, 2010; BALLESTEROS et al., 2017). A escolha da técnica se tornou popular nesse meio devido a sua capacidade de secar extratos cujas substâncias apresentem características termolábeis, sem ocasionar sua decomposição, e à melhoria das propriedades físico-químicas quando comparados a outros métodos de secagem (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; SOLLOHUB; CAL, 2010). A viabilidade da utilização dessa técnica para secagem de extratos vegetais vem sendo amplamente estudada e tem sido evidenciada em diversos estudos, por exemplo, com *Achyrocline satureioides* e outras espécies vegetais (BASSANI, 1990; SENNA et al., 1997,

SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2007; BORGHETTI et al., 2009; GHANEM et al., 2013; BALLESTEROS et al., 2017; LI et al., 2017).

Contudo, não se pode deixar de avaliar o impacto do método sobre o material a ser submetido ao processo. Há relatos sobre a dependência da qualidade do produto às condições do processo (temperaturas de entrada e saída, taxa de fluxo de ar de secagem e do líquido) e com os adjuvantes empregados (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; CORTÉS-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2015). Diversos pesquisadores apontam a necessidade do uso de adjuvantes de secagem afim de aumentar o rendimento da técnica, melhorar as características físico-químicas e a estabilidade do pó. Assim, é de fundamental importância avaliar o excipiente a ser utilizado, bem como sua interação com as substâncias ativas de interesse (SOLLOHUB; CAL, 2010; SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2007).

3.4 EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS – ADJUVANTES DE SECAGEM

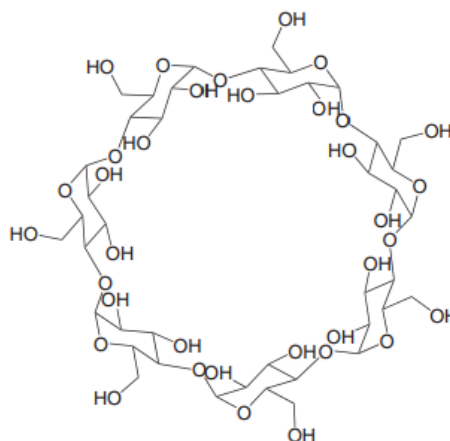
Os excipientes farmacêuticos, em geral, são conhecidos como substâncias desprovidas de atividade terapêutica e que auxiliam em diversas composições de formulações farmacêuticas (PIFFERI; RESTANI, 2003). Essas substâncias destacam-se por constituir a maior parte de uma formulação, possibilitando um aumento de massa ou volume e garantindo o sucesso na obtenção de uma forma farmacêutica adequada para uso (KALASZ; ANTAL, 2006).

Os excipientes apresentam inúmeras funções, além da de dar corpo às formulações, sendo utilizados, principalmente, com intuito de conferir estabilidade e eficácia as mesmas (KALASZ; ANTAL, 2006; ARAUJO; BORIN, 2012). Também, podem ser usados para contornar problemas de solubilidade e/ou biodisponibilidade, dando origem a medicamentos modernos, muitas vezes adquiridos por processos tecnológicos que visam à otimização das propriedades do fármaco (XU et al., 2014). Assim, os adjuvantes farmacêuticos podem ser classificados de acordo com a sua finalidade, por exemplo, em conservantes, corantes, aromatizantes (flavorizantes), adoçantes (edulcorantes), estabilizantes, antioxidantes, umectantes e promotores de absorção (PIFFERI; RESTANI, 2003; KALASZ; ANTAL, 2006).

Os adjuvantes de secagem são comumente empregados no processo de *spray drying* a fim de minimizar possíveis problemas tecnológicos, pois são agentes determinantes para a melhoria das propriedades físico-químicas do pó obtido. Eles

podem promover o aumento da solubilidade, taxa de dissolução e estabilidade física do produto seco, além de proporcionar um aumento no rendimento da técnica (BORGHETTI et al., 2009; XU et al., 2014; DAZA et al., 2016). Assim, todos esses aspectos devem ser considerados no momento da escolha do adjuvante apropriado. Dentre as substâncias que desempenham esse papel, estão as ciclodextrinas, a hidroxipropilmetilcelulose, o dióxido de silício coloidal e a lactose (BORGHETTI et al., 2009; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; XU et al., 2014).

As ciclodextrinas (CDs) (Figura 2) são oligossacarídeos cíclicos constituídos por unidades de glicose que se unem por ligações α -(1,4), podendo ter origem natural ou semi-sintética. As principais ciclodextrinas naturais são a α -CD, β -CD e γ -CD, que possuem respectivamente 6, 7 e 8 unidades de glicose (ROWE, 2009; LOFTSSON; BREWSTER, 2011; LOFTSSON; BREWSTER, 2012). É caracterizada por sua estrutura conter uma cavidade interna hidrofóbica, constituída de átomos de carbono e oxigênio, e uma face externa hidrofílica, composta por hidroxilas. Essas características conferem-lhe a capacidade de formar complexos de inclusão com outras substâncias, modificando propriedades físico-químicas e químicas das moléculas hóspedes como solubilidade, dissolução, estabilidade e biodisponibilidade (SINGH et al., 2002; TOMMASINI et al., 2004; DEL VALLE, 2004; LOFTSSON; BREWSTER, 2011; PINHO et al., 2014). Também, os complexos de inclusão já foram utilizados para mascarar o sabor desagradável de certas substâncias ativas; diminuir a irritação gástrica, dérmica ou ocular causada por determinados fármacos; prevenir interações entre diferentes fármacos ou entre fármacos e excipientes (PRALHAD; RAJENDRAKUMAR, 2004; BORGHETTI et al, 2009; ROWE, 2009). Entre as CDs naturais, a β -CD é a mais usada, embora seja a menos solúvel, devido ao seu menor custo e facilidade de aquisição no mercado, tamanho da cavidade central, o que a torna um adequado complexante para anéis aromáticos e heterocíclicos (BORGHETTI et al, 2009; ROWE, 2009; LOFTSSON & BREWSTER, 2011).

Figura 2- Estrutura química da β -ciclodextrina.

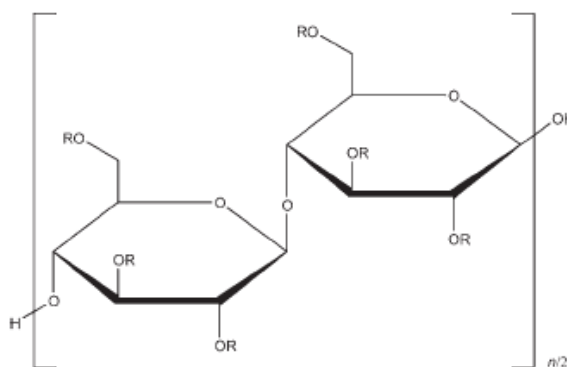
Fonte: ANDREAUS, 2010.

A sílica coloidal ou dióxido de silício coloidal, sob a marca comercial de Aerosil[®] 200, é um produto branco, inodoro, insípido e submicroscópico (aproximadamente 15 nm) produzido a partir da fórmula química SiO_2 , onde o composto de silício sofre hidrólise sob altas temperaturas (ROWE, 2009; THOMPSON; DAVIDOW, 2016). Entre algumas das aplicabilidades como adjuvante farmacêutico estão agente desintegrante para comprimidos, agente dispersante e, principalmente, agente deslizante (VASCONCELOS et al., 2005; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; LU; FASSIHI, 2014). Além disso, este excipiente apresenta uma elevada superfície específica e um alto poder de sorção, sendo muito empregado na obtenção de produtos secos por *spray drying*, apresentando excelentes resultados (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Suas características de baixo diâmetro de partícula e elevada superfície específica propiciam a obtenção de pós com boa fluidez e manutenção de características pulveréas, mesmo em presença de umidade. Desse modo, garante uma boa estabilidade física e um aumento significativo no rendimento do processo (VASCONCELOS et al., 2005; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). Em relação à secagem de produtos naturais, estudos demonstraram que o dióxido de silício coloidal proporcionou a obtenção de um pó a partir do extrato hidroetanólico de *Achyrocline satureioides* com elevado rendimento, estabilidade e recuperação dos flavonoides (BASSANI, 1990, TEIXEIRA et al., 1996; SENNA et al., 1997; SOUZA et al., 2007).

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC[®] K4M) ou hipromelose (Figura 3) é um pó fibroso ou granular, insípido, inodoro, branco, não tóxico e de fácil manipulação. O

HPMC[®] é um derivado da celulose disponível em diferentes graus de substituição e viscosidade, em que os grupos hidroxila são substituídos por grupo hidroxipropil e hidroximetil (HERDER et al., 2006; ROWE, 2009). Como adjuvante farmacêutico é amplamente usado como polímero de revestimento, agente de liberação controlada, dispersante, amplificador de dissolução, emulsificante, estabilizador de suspensão e emulsão, formador de filme, entre outros (ROWE, 2009). Wang e colaboradores (2014) relatam a aplicação de HPMC[®] E3 como adjuvante de secagem, sendo capaz de reduzir a adesão das partículas e assim melhorar o rendimento do processo de secagem por *spray drying*.

Figura 3 - Estrutura química da HPMC[®], onde R = H, CH₃, ou CH₃CH(OH)CH₂.

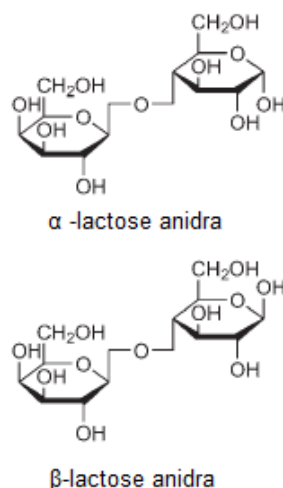


Fonte: ROWE, 2009.

A Lactose (Figura 4), carboidrato primário, é um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e uma galactose, sendo comumente conhecida como o açúcar do leite. Este excipiente é disponível na forma de lactose anidra, monoidratada ou lactose obtida por *spray drying*, as quais diferem entre si pela morfologia, pureza e tamanho de partícula (ROWE, 2009; CHANDRAPALA; VASILJEVIC, 2016). Em sua forma anidra, apresenta duas porções, geralmente dividida em 70-80% de β -lactose e 20-30% de α -lactose (ROWE, 2009). Como adjuvante tecnológico, apresenta inúmeras aplicações, podendo ser empregada para compressão direta de comprimidos, adjuvante de enchimento para cápsulas e aglutinante. A lactose anidra pode ser usada com substâncias sensíveis à umidade e em produtos para administração intravenosa. Já a lactose seca pelo método de *spray drying* é usualmente utilizada para preparações de alimentos e medicamentos, apresentando

ótimos resultados na compressão direta e biodisponibilidade de fármacos (ROWE, 2009; SOLLOHUB; CAL, 2010).

Figura 4 - Estrutura química da Lactose na sua forma anidra.



Fonte: ROWE, 2009.

Durante muito tempo, os excipientes foram descritos como substâncias inertes incapazes de gerar ação farmacológica e toxicológica (PIFFERI; RESTANI, 2003; SENA et al., 2014). Atualmente, sabe-se que estes possuem suas próprias características termodinâmicas, podendo apresentar interações com fármacos e outros excipientes e, conseqüentemente, podendo causar alterações nas características biofarmacêuticas e até mesmo na segurança de medicamentos (ARAÚJO; BORIN, 2012; SENA et al., 2014). Assim, a escolha adequada do excipiente para determinada função ou formulação deve considerar a via de administração, características do fármaco e o efeito adjuvante pretendido. Nesse sentido, os estudos de compatibilidade química excipiente-substância ativa constituem etapa fundamental no âmbito dos estudos de pré-formulação.

3.5 ESTUDOS DE INTERAÇÕES ENTRE SUBSTÂNCIA ATIVA-EXCIPIENTE

A segurança, a eficácia e a reprodutibilidade são características centrais a serem consideradas no desenvolvimento de novos medicamentos. Na produção a estabilidade assume papel primordial para a garantia destes quesitos (NARANG; DESAI; BADAWI, 2012). Enquanto a estabilidade química de uma molécula isolada

é uma propriedade inerente a suas próprias características, a estabilidade de um produto farmacêutico, em sua forma intermediária ou final, depende de características como presença de outros componentes, processos envolvidos na fabricação, embalagem e armazenamento (NARANG; DESAI; BADAWI, 2012; CHADHA e BHANDARI, 2014).

Diante do exposto, estudos de compatibilidade têm papel fundamental para a identificação de possíveis interações entre substância ativa/excipiente, avaliando as propriedades físico-químicas da substância isolada e em combinação com outros componentes (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010; NARANG; DESAI; BADAWI, 2012). Os ensaios realizados têm como objetivo primário verificar a presença de incompatibilidades entre os componentes utilizados, devido às consequências que estas podem gerar, pois certas interações acabam resultando em produtos com estabilidade e eficácia prejudicadas (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010; CHADHA; BHANDARI, 2014). Contudo, cabe ressaltar que nem sempre as interações são consideradas prejudiciais às formulações, como no caso da interação reversível fármaco-ciclodextrina que é desejada e visa aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade do ativo.

Entende-se por incompatibilidades todas as interações existentes entre componentes de uma formulação em estudo que provocam mudanças indesejadas nas propriedades físicas, químicas e terapêuticas (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010; NARANG; DESAI; BADAWI, 2012). Os fatores que podem afetar a compatibilidade fármaco-excipientes podem ser tanto de natureza intrínseca quanto extrínseca, sendo as incompatibilidades classificadas em físicas e químicas (FATHIMA et al., 2011; NARANG; DESAI; BADAWI, 2012).

As interações de natureza física são bastante comuns e podem ser observadas por meio de mudanças de cor, odor, sabor, forma polimórfica ou cristalização do fármaco, quando em contato com um excipiente (FATHIMA et al., 2011). Essas modificações podem ser observadas macroscopicamente ou por análises que comprovem alterações nas propriedades físicas ou físico-químicas das substâncias ativas, tais como solubilidade e taxa de dissolução (MORETON, 2006; FATHIMA et al., 2011; CHADHA; BHANDARI, 2014).

As interações químicas decorrem de reações químicas entre o excipiente e o fármaco, sendo que as mais comuns são: hidrólise, isomerização, desidratação, oxidação, fotodegradação e ciclização (MORETON, 2006; FATHIMA et al., 2011).

Essas reações químicas podem ser desencadeadas ou aceleradas por diversos fatores como pH, luz, umidade, oxigênio e tamanho de partícula. Além disso, pode haver reações entre o fármaco e os vestígios de impurezas presentes nos excipientes ou com outros excipientes funcionais. Tais eventos são prejudiciais ao medicamento, pois produzem produtos de degradação responsáveis por efeitos tóxicos indesejáveis e prejudicam sua eficácia clínica (BHARATE; BAJAJ, 2010; FATHIMA et al., 2011; NARANG; DESAI; BADAWI, 2012; CHADHA; BHANDARI, 2014).

Testes de compatibilidade são comumente realizados com misturas binárias fármaco-excipiente em concentrações elevadas de ambos (1:1, m/m) com o intuito de viabilizar a visualização das incompatibilidades. Entre as principais análises utilizadas para avaliar as alterações provocadas pela interação entre os componentes podemos citar as técnicas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) associadas com o teste de estresse isotérmico (TEI) (VERMA; GARG, 2004; CHADHA; BANDHARI, 2014).

Em suma, os estudos de compatibilidade representam o ponto de partida nos estudos de pré-formulação e desenvolvimento de um medicamento. Nessa fase é acumulado o máximo de informações possíveis sobre as características físicas e químicas do ativo isolado, e deste quando em conjunto com os diversos adjuvantes farmacêuticos (VERMA; GARG, 2004; LAVOR, 2010; MAXIMIANO et al., 2010). Também, destaca-se a relevância da seleção adequada dos excipientes, essa deve ser realizada de acordo com sua qualidade e funcionalidade, a fim de ser compatível com os objetivos propostos para a forma farmacêutica final.

No presente trabalho, propomos um estudo preliminar de compatibilidade entre diversos adjuvantes farmacêuticos e a QCT, substância ativa que apresenta inúmeras atividades farmacológicas, presença abundante na natureza e disponibilidade no mercado para aquisição com baixo custo.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

A QCT anidra (95% de pureza) foi adquirida de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos), a lactose monoidratada e o dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200) foram adquiridos de Labsynth[®] (Diadema, SP, Brasil). A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC[®] K4M) e a β -ciclodextrina foram, respectivamente, doadas por Colorcon (Stoughton, WI, Estados Unidos) e Roquette et Frères (Lestrem, França). Acetonitrila (Tedia, Fairfield, Estados Unidos), metanol (Tedia, Fairfield, Estados Unidos), ácido fosfórico (Labsynth[®], Diadema, SP, Brasil) e água ultrapura obtida de sistema Milli-Q[®] (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) foram utilizados como fase móvel nas análises por CLAE-PDA. Todos os reagentes utilizados foram de grau CLAE.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS QCT-EXCIPIENTE PELAS TÉCNICAS DE MISTURA FÍSICA E SECAGEM POR *SPRAY DRYING*

As misturas pulveréas binárias QCT-excipiente obtidas por *spray drying* foram preparadas pesando-se 1 g de cada um dos constituintes, adicionando-os a 100 mL de solução hidroetanólica 20% (v/v) e mantendo sob agitação constante por 30 minutos. A seguir, essas suspensões foram submetidas à atomização em Mini-Spray Buchi B290, em sistema aberto, utilizando-se temperatura de entrada de 160 °C, fluxo de 3 mL/min e pressão de pulverização de 2 bar como condições de secagem. Para a mistura contendo HPMC[®] K4M foi utilizado volume de 200 mL de solução hidroetanólica a fim de evitar que a suspensão ficasse com elevada viscosidade, prejudicando o funcionamento do equipamento.

Para obtenção das misturas binárias QCT-excipiente pelo método de mistura física foi pesada a massa individual de cada componente, também respeitando-se a proporção 1:1 (m/m). Essas massas foram transferidas para gral de vidro e misturadas com simples movimento com espátula por aproximadamente 20 minutos.

4.2.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

As análises de calorimetria exploratória diferencial das amostras foram realizadas em calorímetro DSC-60 (Shimadzu, Tóquio, Japão) e os dados analisados por meio do Software TA-60 Analysis (Shimadzu, Tóquio, Japão). Foram avaliadas amostras de: QCT, excipientes (Aerosil[®] 200, HPMC[®] K4M, β-ciclodextrina e lactose monoidratada), misturas físicas QCT-excipiente (1:1, m/m) e misturas QCT-excipiente (1:1, m/m) obtidas pelo método de *spray drying*. Entre 1 e 2 mg de cada amostra foram cuidadosamente pesados e analisados, utilizando painéis de alumínio, fluxo de nitrogênio de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min (25 a 400 °C).

4.2.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

Espectros de amostras de QCT, excipientes (Aerosil[®] 200, HPMC[®] K4M, β-ciclodextrina e lactose monoidratada), misturas físicas QCT-excipiente (1:1, m/m) e misturas QCT-excipiente (1:1, m/m) secas pelo método de *spray drying* foram obtidos na faixa de 4000 – 600 cm⁻¹, com uma resolução de 4 cm⁻¹, após 40 acumulações. Foi utilizado espectrômetro Spectrum BX FTIR equipado com acessório ATR MIRacle (PerkinElmer, Waltham, Estados Unidos).

4.2.4 QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR CLAE-PDA

Todas as amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com método previamente validado (BIDONE et al., 2014). Foi utilizado CLAE (Prominence, Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com controlador de sistema FCV-AL 10, sistema de bomba LC-20 AT, injetor automático SIL-20 A e detector de arranjo de fotodiodos SPD-M20A (Shimadzu, Tóquio, Japão). Os dados obtidos foram processados por Software LC-Solution Multi-PDA. A fase estacionária foi coluna Agilent ZORBAX Eclipse XDB Phenyl (4,6 x 150 mm i.d., 3,5 μm) (California, EUA) acoplada à pré-coluna Phenomenex RP-18 (4,6 mm DI, sub-2 μm). O sistema utilizado foi isocrático, constituído por uma mistura de acetonitrila:metanol:ácido fosfórico 0,16 M (10:44:46, v/v) como fase móvel. O fluxo de 0,8 mL/min e a temperatura do forno de 30 ± 1 °C foram mantidos constantes

durante todas as análises. A detecção foi realizada em 362 nm. Antes da injeção, as amostras foram adequadamente diluídas na fase móvel e filtradas em membrana com abertura nominal de poro de 0,45 µm Millipore® (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha).

4.2.5 ENSAIO DE SOLUBILIDADE

Dispersões aquosas das amostras QCT-excipiente secas em *spray dryer* foram preparadas adicionando-se excesso do pó a frascos contendo 2 mL de água purificada Milli Q® (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). As misturas resultantes foram submetidas à agitação utilizando-se barra magnética e agitador MULTISTIRRER (Velp, Alemanha), durante 24 h a 37 ± 1 °C. Cada mistura foi centrifugada durante 30 min, a 9000 rpm, e filtrada através de membrana 0,45 µm de abertura nominal de poro (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). Alíquotas das soluções foram transferidas e diluídas para subsequente análise por CLAE-PDA. A solubilidade intrínseca da QCT foi determinada concomitantemente, utilizando água purificada Milli Q® (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha), procedendo conforme descrito acima. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra e a análise estatística foi realizada por teste *t*.

4.2.6 TESTE DE ESTRESSE ISOTÉRMICO (TEI)

O ensaio de estresse isotérmico foi realizado com a amostra de QCT, isoladamente, e com todas amostras QCT-excipiente secas por *spray dryer*. Transferiu-se cerca de 40 mg de cada um dos pós para frascos de vidro de 4 mL ($n=3$), foram adicionados 20% (p/v) de água Milli Q® e os frascos selados. Dois lotes de amostras foram produzidos, sendo que um destes foi armazenado em estufa em temperatura constante de 50 °C (± 2 °C), enquanto o outro foi transferido para geladeira com temperatura de 4°C (± 2 °C). Paralelamente, armazenaram-se amostras em dessecador, sem a presença de água, e em temperatura ambiente para fins de controle. As misturas QCT-excipiente foram mantidas sob essas condições por duas semanas, avaliando-se periodicamente os aspectos visuais para verificar qualquer mudança de cor. Após esse período, adicionou-se aproximadamente 2 mL de metanol aos frascos, realizou-se extração em agitador tipo vórtex durante 1 minuto e o conteúdo foi transferido para balão volumétrico,

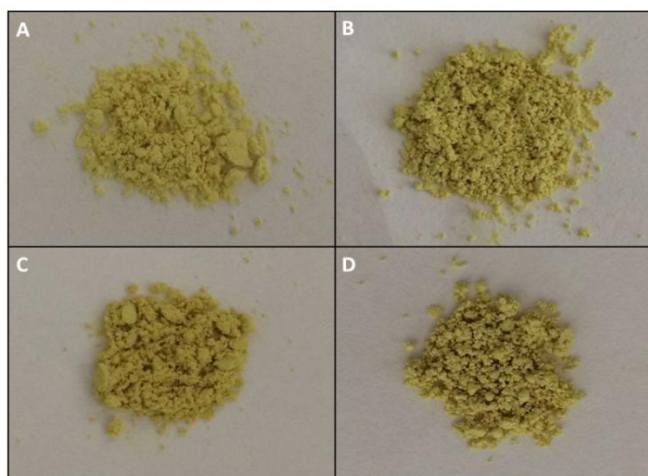
prossequindo-se com as diluições necessárias. Antes da injeção, as amostras foram filtradas em membrana com abertura nominal de poro de 0,45 µm Millipore® (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) para frascos tipo *vials* e analisadas em CLAE-PDA. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra e todas as etapas foram realizadas ao abrigo da luz.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS – CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS E SENSORIAIS

O método de *spray drying* mostrou-se efetivo para a secagem das misturas binárias de QCT com os excipientes selecionados, obtendo-se pós com coloração amarelo-alaranjado, característica da QCT. A análise macroscópica do pó resultante da secagem da mistura QCT-HPMC[®] (Figura 5A) revelou a presença de alguns aglomerados, e coloração levemente mais clara que os demais. Já a secagem da mistura QCT-Aerosil[®] (Figura 5B) resultou num pó mais homogêneo, com menor quantidade de aglomerados, e com uma coloração intermediária. As amostras QCT-lactose (Figura 5C) e QCT-βCD (Figura 5D) apresentaram pós com coloração mais escura, aspecto mais grosseiro e heterogêneo. Contudo, a primeira mistura apresentou aglomerados em maiores quantidade e tamanho. Mesmo utilizando-se condições de secagem idênticas para todas as misturas QCT-excipientes, a presença desses aglomerados pode indicar umidade residual variável. Os resultados encontrados na análise térmica por DSC revelam que os próprios excipientes continham diferentes quantidades de água, observadas por meio das bandas endotérmicas em torno de 100 °C.

Figura 5 - Amostras do pó resultante da secagem por *spray drying* de misturas (1:1, m/m): A) QCT-HPMC[®]; B) QCT-Aerosil[®]; C) QCT-Lactose; D) QCT-βCD.

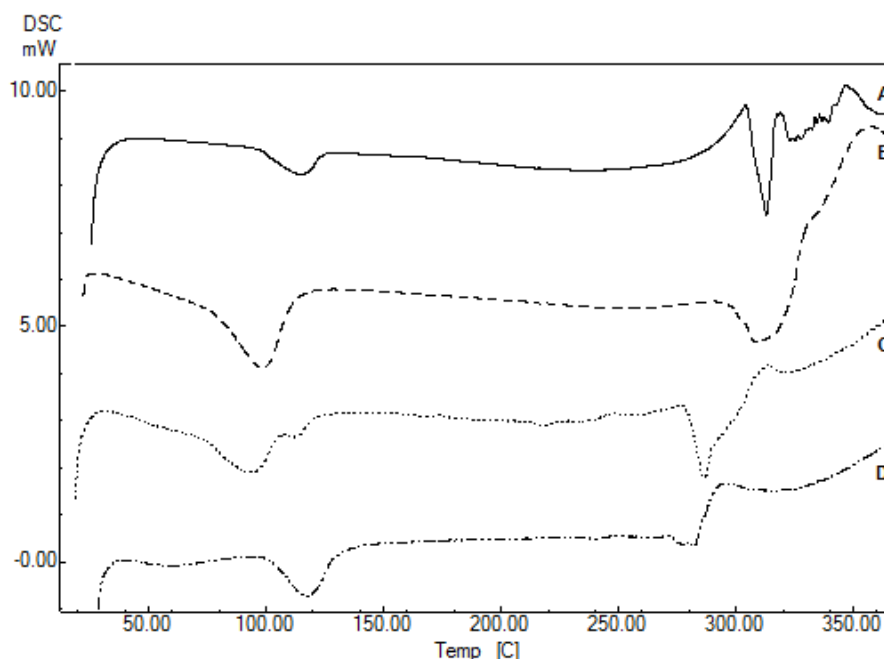


5.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A avaliação dos termogramas obtidos na análise térmica utilizada nesse trabalho, é realizada em função das alterações, possivelmente causadas pelas interações/incompatibilidades entre os excipientes e a QCT isolada. Portanto, nesse primeiro momento, analisou-se o perfil do termograma da QCT (item A das figuras abaixo), onde se pode observar a presença de dois picos endotérmicos. O primeiro pico, com T_{onset} em 100,04 °C, está relacionado com a perda de moléculas da água de hidratação. Já o segundo, apresentou valor de T_{onset} igual a 305,02 °C, representando a temperatura de fusão da QCT, o que corrobora com dados encontrados na literatura (BORGHETTI et al., 2012).

A figura 6 apresenta, além da análise da QCT (6A), os termogramas obtidos para β CD (6B), mistura física QCT- β CD (6C) e amostra de QCT- β CD seca por atomização (6D). O termograma da β CD revelou a ocorrência de dois eventos endotérmicos distintos, o primeiro com T_{onset} em 81,00 °C decorrente da perda de moléculas de água e o segundo em T_{onset} 301,74 °C atribuído ao seu ponto de fusão, estando de acordo com os dados especificados na literatura. Na análise da mistura física podemos observar uma sobreposição parcial tanto das bandas referentes à eliminação da água de hidratação, quanto dos picos relativos à fusão das substâncias, juntamente com o deslocamento dos últimos para 281,45 °C. Por fim, analisando o resultado obtido para a mistura seca por *spray drying*, foram observados os mesmos eventos ocorridos para a mistura física, porém com um maior deslocamento da sobreposição dos picos e o desaparecimento do pico referente ao ponto de fusão da QCT. A comparação entre as curvas sugere a ocorrência de interação entre os constituintes. Não se pode, no entanto, afirmar pela análise, se esta interação ocorre por inclusão da QCT na cavidade da β CD, ou por interações externas à cavidade. A reversibilidade desta interação, como se espera para os complexos com ciclodextrinas deve ser testada para verificar a perspectiva de efeito biofarmacêutico benéfico.

Figura 6 - Termogramas das amostras de: (A) QCT, (B) β CD, (C) mistura física binária QCT- β CD (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT- β CD (1:1, m/m) seca por *spray drying*.

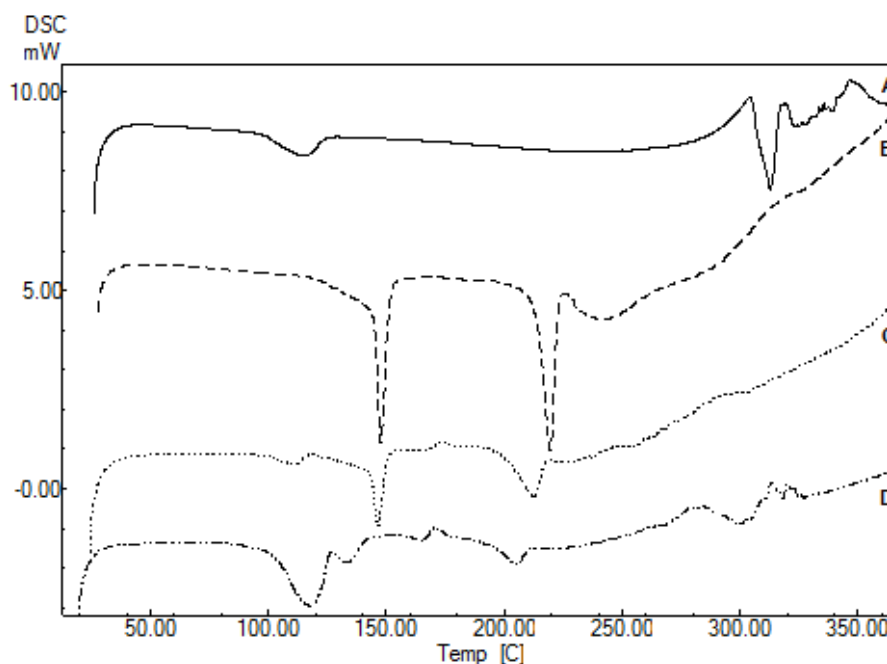


Fonte: Autor

Na figura 7 são apresentados os resultados das termoanálises referentes ao excipiente lactose e suas misturas com a QCT. A lactose monoidratada (7B) apresentou dois picos endotérmicos, o primeiro com T_{onset} em 144,84 °C e o segundo em 214,27 °C, e um sutil pico exotérmico em aproximadamente 160,00 °C. O primeiro pico endotérmico está associado à desidratação da lactose, enquanto que o segundo representa a fusão da lactose em sua forma β . O evento exotérmico, por sua vez, é decorrente da transição cristalina da lactose anidra de sua forma α para a forma β . A partir dos termogramas das misturas física (7C) e seca por *spray drying* (7D) fica evidente a ocorrência de algum tipo de evento, pois ocorre desaparecimento total do pico de fusão da QCT. Também, pode-se observar que os eventos endotérmicos do excipiente aparecem alterados em ambos os casos, sendo de forma mais sutil no primeiro e mais acentuada no segundo. Essa alteração evidenciada na amostra seca em *spray dryer* está relacionada com o efeito do processo sobre a lactose, sendo que ocorre amorfização da estrutura cristalina em conglomerados amorfos (SOLLOHUB; CAL, 2010). Cabe destacar, ainda, que na análise da amostra seca por *spray drying* é observada uma banda intensa referente à perda de água de hidratação, podendo indicar elevada umidade residual. Esse

dado estaria de acordo com o exposto na análise visual dos pós, na qual é observada a presença de diversos aglomerados.

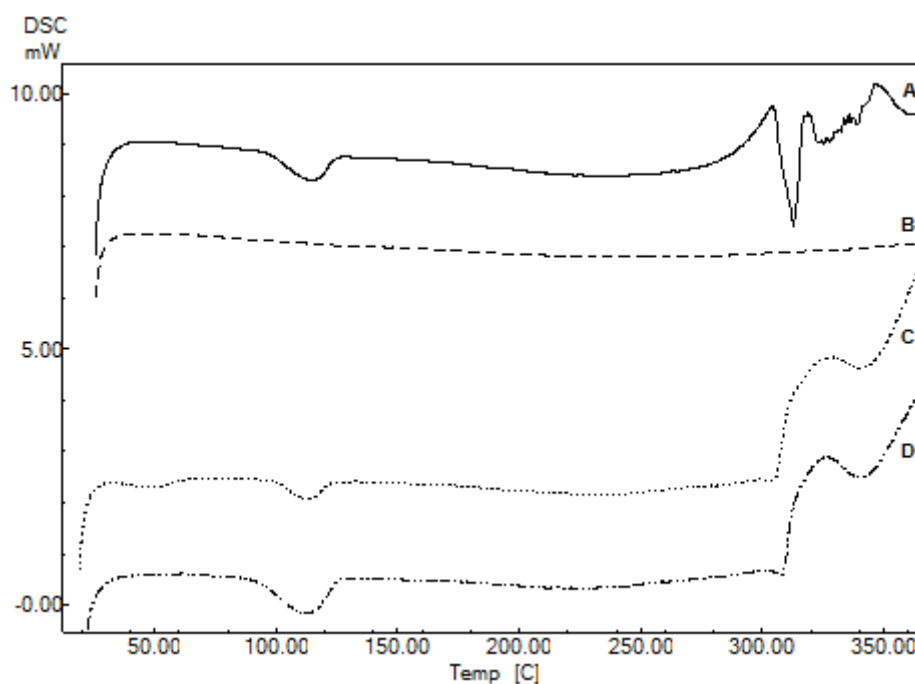
Figura 7 - Termogramas das amostras de: (A) QCT, (B) Lactose, (C) mistura física binária QCT-lactose (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT-lactose (1:1, m/m) seca por *spray drying*.



Fonte: Autor

Os termogramas obtidos para as amostras que utilizaram dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200) como excipiente são apresentados na figura 8. O resultado observado para o Aerosil[®] (8B) não apresentou nenhum evento térmico dentro da faixa de temperatura empregada, o que pode ser explicado por sua natureza inorgânica. Ambas as misturas, representadas em 8C e 8D, apresentaram um perfil muito semelhante com uma sutil banda endotérmica entre 98,00 e 102,00 °C, que se deve à umidade oriunda da QCT, e ausência do pico relativo à fusão da QCT. Esses dados sugerem uma possível interação entre QCT e Aerosil[®], sendo que tal evento pode ser relacionado com a alta capacidade de adsorção do Aerosil[®]. A alta capacidade de adsorção de água pelo Aerosil[®], sem comprometimento de suas características pulveréas, tem feito deste um adjuvante de escolha para a secagem de substâncias higroscópicas por *spray drying*. No entanto, há necessidade de verificação da reversibilidade das possíveis interações que ocorrem entre este e as moléculas bioativas de interesse nos produtos secos.

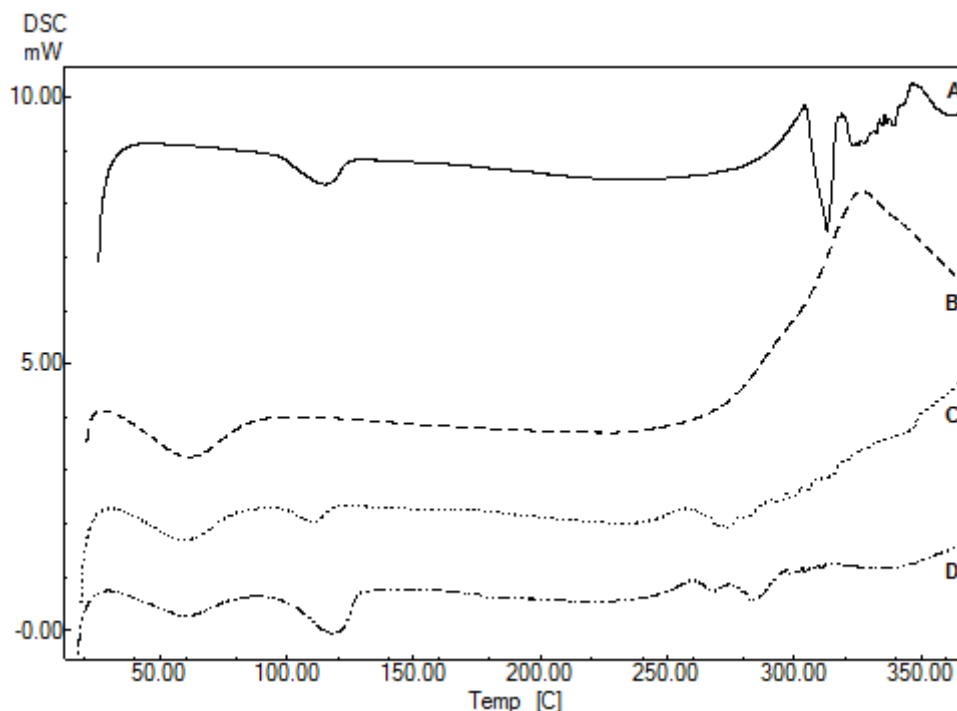
Figura 8 - Termogramas das amostras de: (A) QCT, (B) Aerosil[®], (C) mistura física binária QCT- Aerosil[®] (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT- Aerosil[®] (1:1, m/m) seca por *spray drying*.



Fonte: Autor

Por fim, foram analisados os termogramas obtidos em relação ao excipiente HPMC[®] K4M, ilustrados na figura 9. A HPMC[®] (9B) apresentou resultado de acordo com o relatado na literatura, com evento endotérmico em 64,39 °C referente à perda das moléculas de água do composto. Também, observou-se um evento exotérmico em T_{onset} 307,07 °C provavelmente associado ao início de sua decomposição, devido à exposição a elevadas temperaturas. Novamente, ambas as misturas – física (9C) e seca por *spray drying* (9D) – tiveram ocultado o pico de fusão característico da QCT, apresentando apenas os eventos endotérmicos associados à desidratação das moléculas. Portanto, também nesse caso, sugere-se a ocorrência de interação ativo-excipientes.

Figura 9 - Termogramas das amostras de: (A) QCT, (B) HPMC[®], (C) mistura física binária QCT-HPMC[®] (1:1, p/p); (D) mistura binária QCT-HPMC[®] (1:1, p/p) seca por *spray drying*.



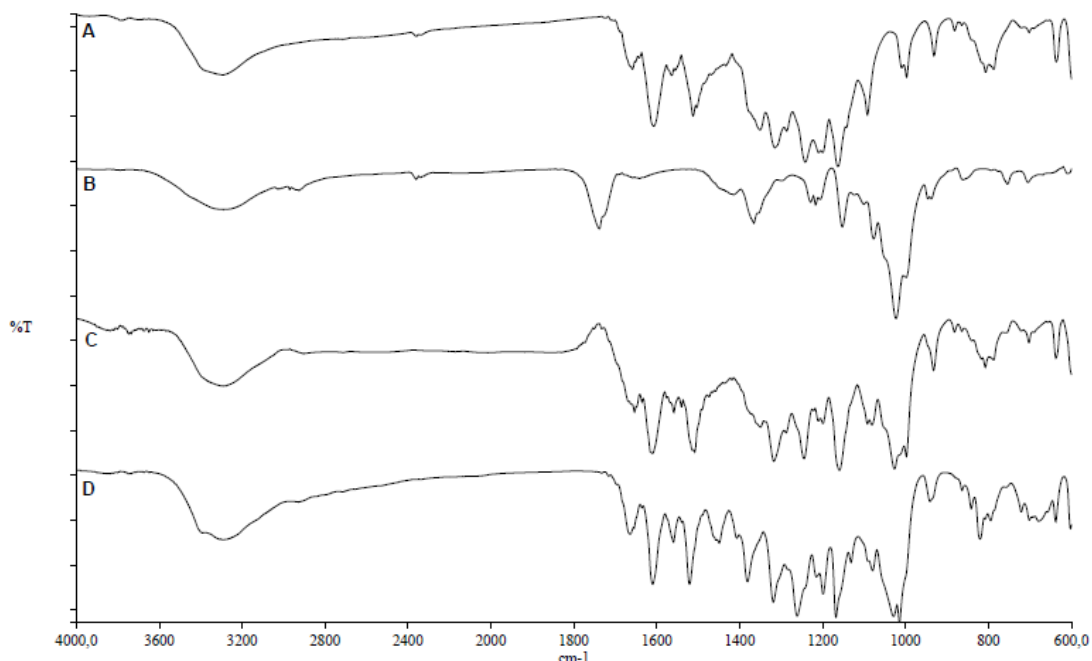
Fonte: Autor

5.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR)

Foram obtidos espectros no infravermelho (FT-IR) para a QCT, excipientes (Aerosil[®] 200, HPMC[®] K4M, β CD e lactose monoidratada), as misturas físicas QCT-excipiente (1:1, m/m) e para as misturas QCT-excipiente (1:1, m/m) secas pelo método de *spray drying*. Esses espectros foram analisados e comparados entre si.

Inicialmente, analisou-se o resultado encontrado para a QCT (item A das figuras abaixo) e verificou-se que está de acordo com o esperado para a substância. Foi possível observar bandas características da molécula como: banda alargada entre 3400 – 3200 cm^{-1} , o que caracteriza estiramento O-H; banda aguda em 1661 cm^{-1} típico de cetona (C=O); banda contendo picos distintos entre 1600 – 1500 cm^{-1} , caracterizando presença de núcleos aromáticos; banda em 1378 cm^{-1} de estiramento C-OH ligado a fenol; banda em 1258 cm^{-1} de estiramento C-O-C; e bandas numa faixa de 900 – 675 cm^{-1} condizentes com C-H aromático.

Figura 10 - Espectros de FT-IR das amostras de: (A) QCT, (B) β CD, (C) mistura física binária QCT- β CD (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT- β CD (1:1, m/m) seca por *spray drying*.

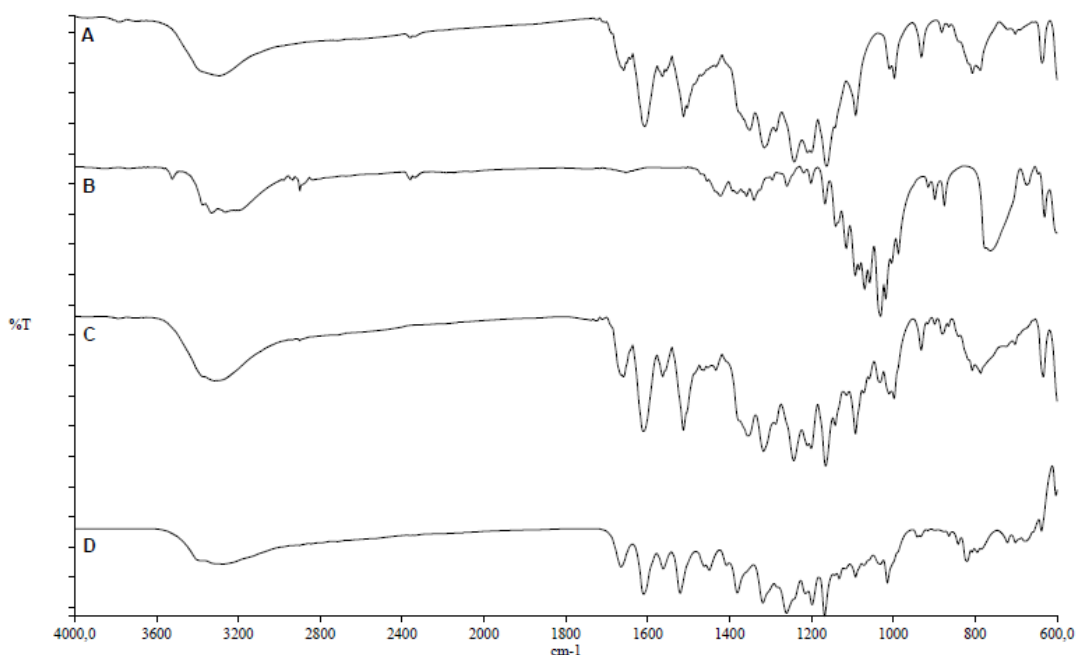


Fonte: Autor

O espectro de FT-IR referente à β CD (10B) apresentou bandas típicas da molécula em: 3292 cm^{-1} , referente ao estiramento OH; 1022 cm^{-1} , estiramento C-O; e uma banda acentuada na região de $3000 - 2800\text{ cm}^{-1}$, característico dos estiramentos CH e CH_2 . Para a mistura física (10C), foi possível observar sobreposição das bandas dos dois componentes, contudo, com algumas alterações quanto aos seus formatos e/ou intensidades. Verificou-se, por exemplo, que houve alteração de formato e deslocamento das bandas entre $1600 - 1500\text{ cm}^{-1}$, da QCT, e da banda em 1022 cm^{-1} , da β CD. A amostra QCT- β CD de *spray drying* (10D) apresentou um perfil muito semelhante ao espectro da mistura física, como o leve deslocamento e alteração nas intensidades das bandas acima mencionadas. Contudo, além disso, observou-se o surgimento de novas bandas na região de $900 - 675\text{ cm}^{-1}$ do espectro. Portanto, os dados obtidos a partir desses espectros corroboram a suspeita de interação entre os constituintes, porém de forma menos evidente que os resultados encontrados para DSC.

Os espectros obtidos para a lactose e suas misturas com a QCT estão representados na figura 11.

Figura 11 - Espectros de FT-IR das amostras de: (A) QCT, (B) lactose, (C) mistura física binária QCT-lactose (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT-lactose (1:1, m/m) seca por *spray drying*.



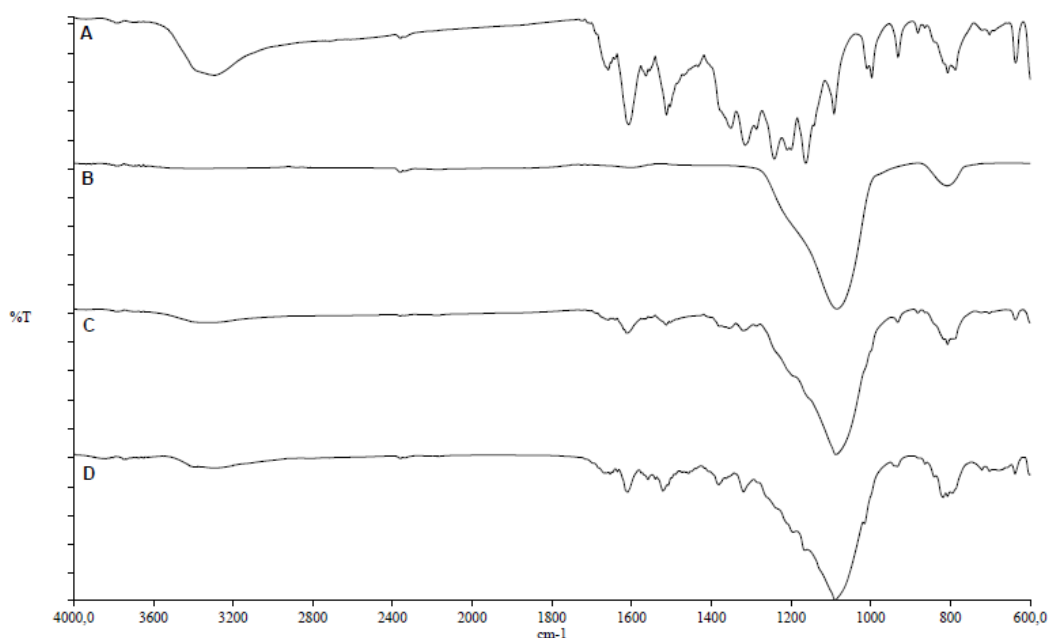
Fonte: Autor

Conforme demonstrado em 11B, pode-se observar que o espectro da lactose apresentou bandas em: 3331 cm^{-1} - decorrente de estiramento OH ($3400 - 3200\text{ cm}^{-1}$); 1422 e 1339 cm^{-1} - deformações das ligações OH e OH de álcool primário; próximo a 1660 cm^{-1} - presença de carbonila/aldoexose - próprio da molécula; $1100 - 990\text{ cm}^{-1}$ - deformações assimétricas das ligações C-O-C. O resultado do FT-IR da mistura física QCT-lactose (11C) exibiu predomínio de bandas pertencentes à QCT, diminuição na intensidade da banda mais evidente no espectro da lactose (1031 cm^{-1}), desaparecimento e sobreposição de suas bandas tanto na região de $900 - 675\text{ cm}^{-1}$, assim como na região de $1400 - 1200\text{ cm}^{-1}$. Para a mistura seca por *spray drying* (11D) foi evidenciado o mesmo perfil relatado acima, no entanto, com uma acentuada diminuição nas intensidades das bandas. Tal fato pode sugerir que há interação entre os constituintes e, além disso, que as diferentes técnicas de preparo podem contribuir para os resultados distintos.

Também, avaliaram-se os espectros de absorção no infravermelho utilizando dióxido de silício coloidal como excipiente (Figura 12). Conforme dados da literatura, o espectro do Aerosil® (12B) revelou apenas uma banda, referente à ligação de Si-O, em aproximadamente 1000 cm^{-1} . A análise do espectro de infravermelho da mistura

física (12C) mostrou majoritariamente a banda característica do Aerosil[®] e pequenos sinais que representariam as bandas referentes à QCT, entre 1661 – 1378 cm⁻¹ e 900 - 675 cm⁻¹. A mistura QCT–Aerosil[®] seca por *spray drying* (12D) apresentou perfil bastante semelhante ao da mistura física, onde a banda correspondente ao Aerosil[®] mostra-se mais evidente, ocultando as bandas características da QCT, e com seu formato alterado (alargado). Assim, a análise de FT-IR permite que seja sugerida interação entre os constituintes, confirmando o resultado de DSC.

Figura 12 - Espectros de FT-IR das amostras de: (A) QCT, (B) Aerosil[®], (C) mistura física binária QCT-Aerosil[®] (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT-Aerosil[®] (1:1, m/m) seca por *spray drying*.

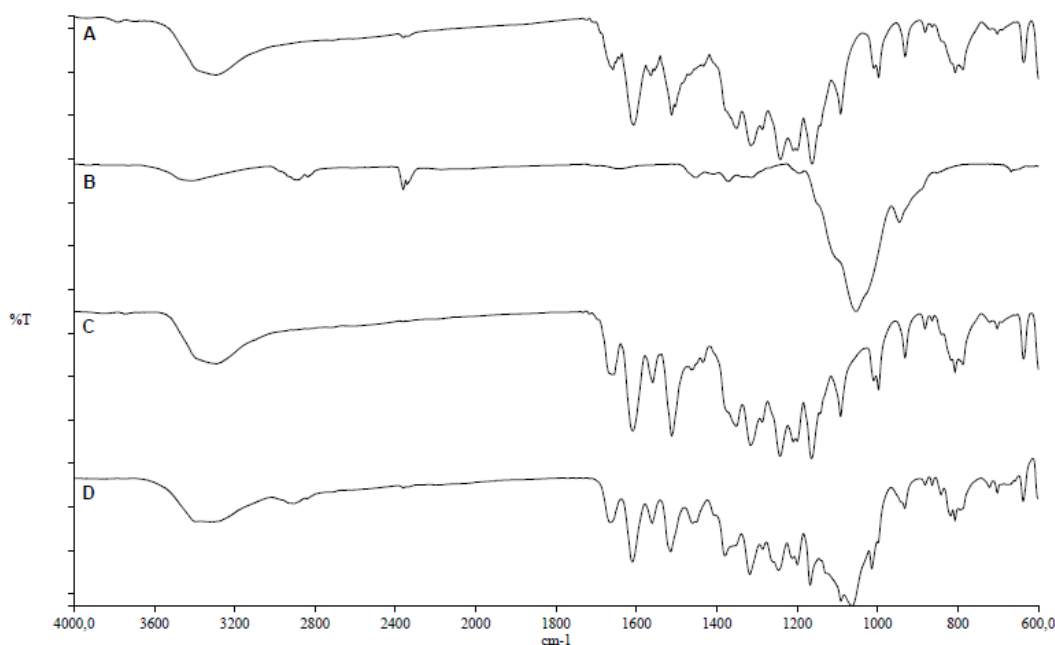


Fonte: Autor

Por fim, os espectros das amostras nas quais HPMC[®] era o excipiente foram estudados (Figura 13). O espectro da HPMC[®] (13B) apresentou duas regiões de bandas características da molécula: na faixa de 3400 – 3200 cm⁻¹ - estiramento OH e em 1053 cm⁻¹ - banda aguda majoritária referente à ligação C-O-C. A mistura física (13C) apresentou espectro bastante semelhante ao da QCT isolada, com a presença de bandas características da molécula e desaparecimento da banda em 1053 cm⁻¹ da HPMC[®]. No entanto, apresentou um leve aumento na intensidade e alteração no formato das bandas na região entre 1600 – 1500 cm⁻¹. Na mistura obtida por secagem (13D), o espectro apresentou bandas características da QCT e

diferentemente da mistura física, a banda referente à HPMC[®] encontra-se bem evidenciada, apenas parcialmente sobreposta. Os resultados obtidos com essa técnica diferiram do esperado, pois os dados evidenciados para a mistura física demonstraram que apenas o excipiente sofre alterações no espectro. Nesse sentido, esses dados não são claros quanto à compatibilidade das substâncias envolvidas, mas levam ao questionamento sobre os processos de obtenção das amostras, que poderiam interferir no resultado final.

Figura 13 - Espectros de FT-IR das amostras de: (A) QCT, (B) HPMC[®], (C) mistura física binária QCT-HPMC[®] (1:1, m/m); (D) mistura binária QCT-HPMC[®] (1:1, m/m) seca por *spray drying*.

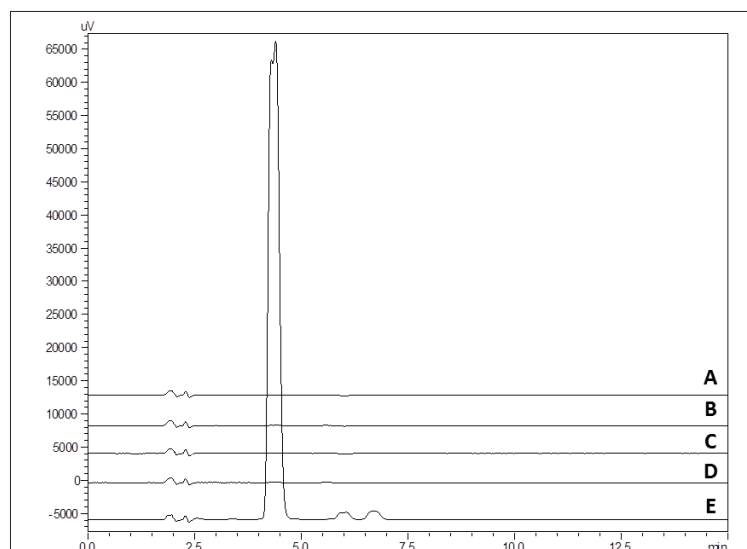


Fonte: Autor

5.4 QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR CLAE-PDA

Com o intuito de garantir que os excipientes não estivessem interferindo na avaliação quantitativa do ativo, verificou-se seus comportamentos nas análises por CLAE. Na figura 14 pode ser observado o cromatograma da QCT e de cada um dos adjuvantes utilizados. Como demonstrado, estes não apresentam picos no mesmo tempo de retenção da substância e, conseqüentemente, não devem interferir na análise.

Figura 14 - Cromatograma de (A) β CD; (B) Aerosil[®]; (C) lactose, (D) HPMC[®] e (E) QCT.



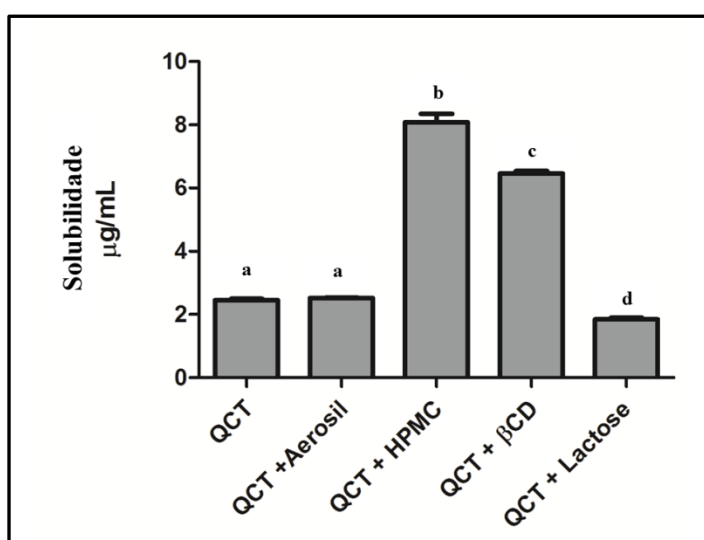
Fonte: Autor

5.5 ENSAIO DE SOLUBILIDADE

A QCT, assim como demais flavonoides, caracterizam-se pela reduzida hidrossolubilidade, o que pode comprometer seu potencial terapêutico (MOHAN; NANDHAKUMAR, 2014). Assim, destaca-se a importância de utilização de estratégias tecnológicas que contornem essa limitação. São controversos os valores exatos apresentados pelos vários estudos que abordam o assunto (SRINIVAS et al., 2010; GHANEM et al., 2013; GUPTA et al., 2016). O presente ensaio teve como objetivo avaliar possíveis alterações na hidrossolubilidade da QCT na presença dos excipientes. A hidrossolubilidade intrínseca da QCT foi de $2,45 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ (37 ± 1 °C). Na figura 15, pode-se observar que a solubilidade mostrou-se variável de acordo com o excipiente utilizado. Na presença de Aerosil[®] 200 o valor manteve-se praticamente inalterado, não sendo observada diferença estatística ($p > 0,05$). Tal resultado pode estar relacionado com o poder adsorvente do adjuvante. A lactose, por sua vez, afetou negativamente a solubilidade da QCT e resultou na diminuição desta de forma estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Uma possível explicação para o resultado pode ser a associação QCT-lactose e sedimentação da mistura no momento da centrifugação da amostra. Já os excipientes β CD e HPMC[®] demonstraram atuar positivamente na solubilização da QCT, ambos de maneira

estatisticamente significativa ($p < 0,05$), sendo a HPMC[®] mais efetiva. A β CD é um adjuvante amplamente empregado com a finalidade de alterar as propriedades de hidrossolubilidade de diversas moléculas lipossolúveis, por meio da complexação e inclusão em sua cavidade hidrofóbica. A HPMC[®], quando em solução, forma redes tridimensionais nas quais a QCT pode estar inserida, resultando no incremento observado neste ensaio (ZHU et al., 2012). A análise estatística foi realizada por teste *t*.

Figura 15 - Efeito de adjuvantes sobre a hidrossolubilidade da QCT (em agitação constante e temperatura de 37 ± 1 °C por 24 h).



^aLetras iguais caracterizam resultados estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$). ^{a, b, c, d}Letras diferentes caracterizam resultados estatisticamente distintos ($p < 0,05$).

Fonte: Autor

5.6 TESTE DE ESTRESSE ISOTÉRMICO (TEI)

O teste de estresse isotérmico (TEI) é proposto utilizando-se armazenamento de misturas fármaco-excipientes, com ou sem umidade, em temperatura elevada, por determinado tempo, com o intuito de acelerar o envelhecimento da substância ativa e sua interação com os excipientes. No presente estudo, foi avaliado, adicionalmente, o comportamento das amostras frente a condições de umidade e baixa temperatura e, também, baixa umidade e temperatura ambiente. Esta última foi considerada a condição controle, por simular as possíveis condições de armazenamento de amostras em ambiente industrial, por exemplo. Os ensaios foram realizados com amostras secas em *spray dryer*, que são de interesse para trabalhos futuros, e a QCT isoladamente, para fins de comparação.

A avaliação macroscópica das amostras contidas nos frascos foi realizada após uma semana de armazenamento e no último dia, não se observando alterações significativas quanto aos aspectos de aparência do pó. Os resultados quantitativos do teste são expressos por meio do valor de recuperação da QCT em porcentagem e estão apresentados na Tabela 1. Todos os valores foram corrigidos em função do doseamento da QCT presente na mistura.

Tabela 1 - Tabela de valores do teste TEI para amostras armazenadas em diferentes condições de temperatura e umidade.

Amostra	Controle (%)*	Amostra estufa (%)*	Amostra geladeira (%)*
QCT	96,42 ± 2,62	88,7 ± 0,94	93,04 ± 4,37
QCT+βCD	96,43 ± 1,96	97,67 ± 0,88	97,21 ± 1,68
QCT+Aerosil®	95,36 ± 2,52	101,83 ± 3,76	105,04 ± 4,53
QCT+lactose	96,84 ± 1,97	98,78 ± 4,92	97,52 ± 6,73
QCT+HPMC®	98,99 ± 2,11	94,03 ± 2,03	94,89 ± 3,15

*Resultados expressos em média ± desvio padrão

Fonte: Autor

Inicialmente, avaliando a QCT isoladamente, verificou-se que tanto a amostra armazenada na estufa quanto a de geladeira apresentaram valores inferiores de recuperação, em comparação com o controle. Contudo, essa diminuição fica mais evidente no primeiro caso, o qual tem associados fatores de temperatura e umidade elevadas.

No caso das amostras secas em *spray dryer*, de um modo geral, não ocorreram alterações significativas no teor de QCT recuperado em todas as condições avaliadas. Ainda, nas condições de temperatura e umidade elevadas, os excipientes de escolha demonstraram um aparente efeito protetor em relação ao ativo quando comparado com a QCT isoladamente. Desse modo, a possível interação fármaco-excipiente sugerida nos ensaios anteriores, não afeta negativamente a estabilidade da substância. Contudo, esses dados devem ser analisados com cautela, pois o

ensaio foi realizado em caráter preliminar, necessitando de aperfeiçoamento e mais análises. Alguns relatos encontrados na literatura contribuem para reforçar a necessidade de mais estudos, principalmente em relação ao comportamento da QCT em condições de elevadas temperatura e umidade. Holschuh e colaboradores (2007), por exemplo, descreveram que a QCT presente em amostra de extrato hidroetanólico seco por *spray drying* apresentou comportamento distinto do esperado quando submetido a essas condições, tendo um aumento inicial de seu teor e posterior decréscimo.

6 CONCLUSÕES

A secagem dos pós pela técnica de *spray drying* mostrou-se viável, com o uso dos excipientes selecionados, resultando em pó amarelo-alaranjado, coloração característica da QCT. A análise de DSC demonstrou a ocorrência de interação entre a QCT e os adjuvantes testados. A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier corroborou essas interações de forma evidente para o Aerosil[®], mas não foi conclusiva para interações com os demais adjuvantes. No ensaio de solubilização ficou evidente que os excipientes β CD e HPMC[®], além de atuar como adjuvante de secagem, interferiram positivamente na solubilização da QCT em água. O ensaio de estresse isotérmico demonstrou que os excipientes selecionados atuaram de forma a proteger a QCT das condições de temperatura e umidade elevadas. Assim, não foram observadas incompatibilidades ativo-excipiente, que promovessem a degradação do ativo. Esses resultados promissores apontam para a necessidade de aprofundamento dos estudos dos fenômenos de interação QCT-excipiente observados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, A. et al. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections - A review. **Food Research International**. v. 77, p. 221 – 235, 2015.
- ALVES, A. M. P. et al. Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 2, p. 179-186, 2010.
- ANDREAUS, J. et al. Aplicação de ciclodextrinas em processos têxteis. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 929-937, 2010.
- ARAUJO, C. F.; BORIN, M. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. **Brasília Médica**. v. 49 (4), p. 167 – 278, 2012.
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**. v. 117, p. 426 – 436, 2013.
- BAGHEL, S. S. et al. A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v. 1 (1), p. 146 – 160, 2012.
- BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**. v. 237, p. 623 – 631, 2017.
- BARATA, L. E. S. et al. Plantas Medicinais Brasileiras. I. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela). **Revista Fitos**. v. 4, n. 4, p. 120 – 125, 2009.
- BASSANI, V. L. Valorisation de formes galéniques végétales. Désalcoolisation et concentration de solutions extractives sur membrane d'osmose inverse. 1990. Tese (Doutorado em Bases Físico-químicas/Inovação terapêutica). Université de Montpellier I, UMI, França. 1990.
- BEHLING, E. B. et al. Flavonoide Quercetina: Aspectos gerais e Ações Biológicas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara. v. 15 (3), p. 285 – 292, 2004.
- BERNARDES, L. S. C.; LANG, K. L.; PETROVICK, P. R.; SCHENKEL, E. P. Produtos naturais e o desenvolvimento de fármacos. In: **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 107 – 128.
- BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **Journal Excipients and Food Chemistry**. v. 1 (3), p. 3 – 26, 2010.
- BORGHETTI, G. S. et al. Physicochemical Properties and Thermal Stability of Quercetin Hydrates in the Solid State. **Thermochemica Acta**. v. 539, p. 109 – 114, 2012.
- BORGHETTI, G. S. et al. Quercetin/ β -Cyclodextrin Solid Complexes Prepared in Aqueous Solution Followed by *Spray-drying* or by Physical Mixture. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v. 10 (1), p. 235 – 242, 2009.

BRAGA, F. C.; RATES, S. M. K.; SIMÕES, C. M. O. Avaliação da eficácia e segurança de produtos naturais candidatos a fármacos e medicamentos. In: **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 53 – 68.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. MMA em números (Biodiversidade – Flora). 2017. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/mma-em-numeros/biodiversidade-flora>>. Acessado em: 06/07/2017.

BRUSOTTI, G. et al. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 87, p. 218 – 228, 2014.

CARINI, J. P.; KLAMT, F.; BASSANI, V. L. Flavonoids from *Achyrocline satureioides*: promising biomolecules for anticancer therapy. **Royal Society Chemistry Advances**. v. 4, p. 3131 – 3144, 2014.

CARINI, J. P. et al. Isolation of Achyrobichalcone from *Achyrocline satureioides* by High-Speed Countercurrent Chromatography. **Current Pharmaceutical Biotechnology**. V. 16, p. 66-71, 2015.

CARVALHO, A. C. B. et al. Regulation of herbal medicines in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 158, p. 503 – 506, 2014.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 87, p. 82 – 97, 2014.

CHANDRAPALA, J.; VASILJEVIC, T. Properties of spray dried lactose powders influenced by presence of lactic acid and calcium. **Journal of Food Engineering**. v. 198, p. 63 – 71, 2016.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; OLIVEIRA, W. P. Physicochemical Properties of Phytopharmaceutical Preparations as Affected by Drying Methods and Carriers. **Drying Technology**. v. 30, p. 921 – 934, 2012.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Optimization of spray drying conditions for production of *Bidens pilosa* L. dried extract. **Chemical Engineering Research and Design**. v. 93, p. 366 – 376, 2015.

DAVID, A. V. A.; ARULMOLI, R.; PARASURAMAN, S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. **Pharmacognosy Reviews**. v. 10 (20), p. 84 – 89, 2016.

DAZA, L. D. et al. Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. **Food and Bioproducts Processing**. v. 97, p. 20 – 29, 2016.

DEL VALLE, E. M. Cyclodextrins and their uses: a review. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1033-1046, 2004.

DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. **American Journal Clinical Nutrition**. v.72, p. 1424 – 1435, 2000.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**. v. 112, p. 4 – 29, 2016.

FATHIMA, N. et al. Drug-excipient interaction and its importance in dosage form development. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. v. 01 (06), p. 66 – 71, 2011.

GALLO, L. et al. A comparative study of spray-dried medicinal plant aqueous extracts. Drying performance and product quality. **Chemical Engineering Research and Design**. v. 1 (4), p. 681-694, 2015.

GERTSCH, A. S. Botanical Drugs, Synergy, and Network Pharmacology: Forth and Back to Intelligent Mixtures. **Planta Medica**. v. 77 (11), p. 1086-1098, 2011.

GHANEM, A. S. M. et al. Solubility and Dissolution enhancement of quercetin via preparation of *spray dried* microstructured solid dispersions. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 37, p. 12 – 24, 2013.

GUPTA, A. et al. Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v. 6, n. 3, p. 248 – 252, 2016.

HNATYSZYN, O. et al. Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of guinea pig corpus cavernosum. **Phytomedicine**. V. 11, p. 366-369, 2004.

HERDER, J.; ADOLFSSON, A.; LARSSON, A. Initial studies of water granulation of eight grades of hypromellose (HPMC). **International Journal of Pharmaceutics**. v. 313, p. 57 – 65, 2006.

HOLLMAN, P. C. H.; ARTS, I. C. W. Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 80, p. 1081 – 1093, 2000.

HOLZSCHUH, M. H. et al. Thermal and photo stability of phenolic constituents of an *Achyrocline satureioides* spray-dried powder. **Die Pharmazie (Berlin)**. v. 62, p. 902-906, 2007.

KALASZ, H.; ANTAL, I. Drug Excipients. **Current Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 2535-2563, 2006

KARABIN, M. et al. Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. **Biotechnology Advances**. v. 33, p. 1063 – 1090, 2015.

KOROLKOVAS, A. A riqueza potencial de nossa flora. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 1 (1), p. 1 – 7, 1996.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**. p. 1 – 16. 2013.

LAVOR, E. P. **Estudo de pré-formulação para dose fixa combinada com tuberculostáticos – Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol (4 em 1)**. 122p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas na Área de Bioanálises e Medicamentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

LI, J. et al. Antitumor activity and safety evaluation of nanoparticle-based delivery of quercetin through intravenous administration in mice. **Materials Science and Engineering**. v. 77, p. 803 – 810, 2017.

LOFTSSON, T.; BREWSTER, M. E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: effects on drug permeation through biological membranes. **Journal Pharmacy and Pharmacology**., V. 63, p. 1119-1135, 2011.

LOFTSSON, T., BREWSTER, M. E. Cyclodextrins as functional excipients: methods to enhance complexation efficiency. **Journal Pharmaceutical Sciences**. V. 101, p. 3019-3032, 2012.

LOVKOVA, M. Y. et al. Chemical Features of Medicinal Plants (Review). **Biochemistry and Microbiology**. v. 37, n. 3, p. 229 – 237, 2001.

LU, Z.; FASSIHI, R. Influence of Colloidal Silicon Dioxide on Gel Strength, Robustness, and Adhesive Properties of Diclofenac Gel Formulation for Topical Application. **AAPS PharmSciTech**. v. 16 (3), p. 636 – 644, 2014.

MARRETO, R. N.; FREIRE, J. T.; FREITAS, L. A. P. Drying of Pharmaceuticals: The Applicability of Spouted Beds. **Drying Technology**. v. 24, p. 327–338, 2006.

MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**. v. 29, p. 365 – 373, 2011.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 4^a ed. Londres: George Godwing, 1985. 696 p.

MAXIMIANO, F. P. et al. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico Benznidazol. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714 – 1719, 2010.

MOHAN, S.; NANDHAKUMAR, L. Role of various flavonoids: Hypotheses on novel approach to treat diabetes. **Journal of Medical Hypotheses and Ideas**. V. 8, p. 1-6, 2014.

MORETON, R. C. Excipients interactions. **In: Excipients Development for Pharmaceutical, Biotechnology and Drug Delivery System**. New York: Informa Health Care, 2006. p. 93 – 108.

MUROTA, K.; TERAQ, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolismo. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 417, p. 12 -17, 2003.

NARANG, A. S.; DESAI, D.; BADAWEY, S. Impact of Excipient Interactions on Solid Dosage Form Stability. **Pharmaceutical Research**. v. 29, p. 2660 – 2683, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**. v. 75 (3), p. 311 – 335, 2012.

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

OLIVEIRA, S. G. D. et al. An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 140, p. 428-437, 2012.

OSONGA, F. J. et al. Synthesis and Characterization of novel flavonoid derivatives via sequential phosphorylation of quercetin. **Tetrahedron Letters**. v. 58, p. 1474 – 1479, 2017.

PIFFERI, G.; RESTANI, P. The safety of pharmaceutical excipients. **Il Farmaco**. v. 58, p. 541 – 550, 2003.

PINHO, E. et al. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 121-135, 2014.

PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin–cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 34, p. 333 – 339, 2004.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. (Ed.) **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6th ed. London: Pharmaceutical, 2009.

SENA, L. C. S. EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS E SEUS RISCOS À SAÚDE: UMA REVISÃO DA LITERATURA. **Revista Brasileira Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. v. 5 (4). p. 25-34, 2014.

SENN, E.L.; et al. Preparation of spray-dried powders from Achyrocline satureioides (LAM) D.C.. **Phytotherapy Research**. v. 11, p. 123-127, 1997.

SILVA, N.C.C.; FERNANDES, JÚNIOR A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. V. 16, p. 402-413, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 502 p.

SINGH, M.; SHARMA, R.; BANERJEE, U. C. Biotechnological applications of cyclodextrins. **Biotechnology Advances**. V. 20, p. 341-59, 2002.

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

SOUZA, K.C.B. ; BASSANI, V. L. ; SCHAPOVAL, E. E. S. . Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and Achyrocline satureioides (Lam.) D.C. extracts by oral route. **Phytomedicine**. v. 14, p. 102 V – 108, 2007.

SRINIVAS, K. et al. Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water. **Journal of Food Engineering**. v. 100, p. 208 – 218, 2010.

TEIXEIRA, H. F. Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., *Asteraceae* – Marcela. 1996. 146 p.. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

THOMPSON, J. E.; DAVIDOW, L. W. **A Prática Farmacêutica na Manipulação de Medicamentos**. 3rd ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 265p.

TOMMASINI, S. et al. Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. V. 35, p. 379-387, 2004.

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 (3), p.243 – 249, 2005.

VEHRING, R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. **Pharmaceutical Research**. v. 25 (5), p. 999 – 1022, 2008.

VERMA, R. K.; GARG, S. Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 35, p. 449 – 458, 2004.

XU, E. Y. et al. Influence of excipients on spray-dried powders for inhalation. **Powder technology**. v. 256, p. 217 – 223, 2014.

WANG, S. et al. Novel coprocessed excipients composed of lactose, HPMC, and PVPP for tableting and its application. **Internacional Journal of Pharmaceutics**. v. 486, p. 370 – 379, 2014.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**. v. 64, p. 3 – 19, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Disponível em: <www.who.int> Acessado em: 06/07/2017.

ZHU, W. et al. Atomistic simulations of aqueous griseofulvin crystals in the presence of individual and multiple additives. **Chemical Engineering Science**. v. 73, p. 218 – 230, 2012.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.; ZUCOLOTTO, S. M. Flavonoides. In: **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 209 – 234.