

OBTENÇÃO DE CÁPSULAS À BASE DE *THUJA OCCIDENTALIS* PARA TERAPIA ANTIOXIDANTE

Carlos Alberto Aquino da Silva¹; Suelen Cristina Lourenço de Barros¹; Áquila Priscilla Ferreira de Mendonça¹; Maria José Cristiane Lima e Silva¹; Débora Vitória Firmino de Lima¹; Maria Fernanda da Silva¹; Luara do Carmo Borges de Almeida¹; Pedro José Rolim Neto¹; Graziella Silvestre Marques¹; Rosali Maria Ferreira da Silva¹



<https://doi.org/10.36557/2674-8169.2025v7n8p798-840>

Artigo recebido em 10 de Julho e publicado em 20 de Agosto de 2025

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

Thuja occidentalis (Cupressaceae), popularmente conhecida como “árvore da vida” ou “cedro branco”, destaca-se pelo seu amplo interesse medicinal. O presente estudo baseia-se no desenvolvimento de cápsulas à base de *T. occidentalis* para atividade antioxidante, devido a presença de flavonoides e polissacarídeos. A droga vegetal foi obtida das partes aéreas, secas e pulverizadas em moinho de facas. Para otimizar o processo de extração dos compostos fitoquímicos, as etapas tecnológicas de estabilidade físico-química, térmica e microbiológica foram padronizadas em experimento unifatorial e planejamento fatorial 3². Foi realizada análise de compatibilidade térmica entre o extrato aquoso de *T. occidentalis* e excipientes para a produção de sete lotes de bancada de 30 cápsulas, utilizando aerosil[®], amido 1500[®] e flowlac[®]. Por meio de testes de fator único, foram selecionadas as condições de extração de temperatura (85-95 °C), tempo (4,0-5,0 h) e relação fitoterápico: água (4 g: 30 mL). Os resultados demonstraram que o aumento simultâneo desses parâmetros ocasionou redução no teor de polissacarídeos, de modo que as condições ótimas para a obtenção da solução extratora foram: temperatura de 95 °C e tempo de 4 h. O extrato seco é caracterizado como um pó fino, higroscópico e com baixa capacidade de fluxo, e a formulação do lote VII foi selecionada e submetida a ensaios físico-químicos.

Palavras-chave: Formulação; Forma farmacêutica sólida; Estabilidade física; Propriedades físico-químicas.

PREPARATION OF THUJA OCCIDENTALIS CAPSULES FOR ANTIOXIDANT THERAPY

ABSTRACT: *Thuja occidentalis* (Cupressaceae), popularly known as the "tree of life" or "white cedar," is notable for its broad medicinal value. This study focuses on the development of *T. occidentalis* capsules for antioxidant activity, due to the presence of flavonoids and polysaccharides. The plant-derived drug was obtained from the aerial parts, dried, and pulverized in a knife mill. To optimize the phytochemical compound extraction process, the technological steps for physical, chemical, thermal, and microbiological stability were standardized in a single-factorial experiment and a factorial design 3². Thermal compatibility analysis was performed between the aqueous extract of *T. occidentalis* and excipients for the production of seven bench batches of 30 capsules, using aerosil®, amido 1500®, and flowlac®. Through single-factor tests, the extraction conditions of temperature (85-95 °C), time (4.0-5.0 h), and herbal medicine:water ratio (4 g: 30 mL) were selected. The results demonstrated that the simultaneous increase in these parameters resulted in a reduction in the polysaccharide content, so the optimal conditions for obtaining the extraction solution were: temperature of 95 °C and time of 4 h. The dry extract is characterized as a fine, hygroscopic powder with low flow capacity, and the formulation of batch VII was selected and subjected to physicochemical testing.

Keywords: Formulation; Solid dosage form; Physical stability; Physicochemical properties.

Instituição afiliada – 1Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

Autor correspondente: Rosali Maria Ferreira da Silva, ROSALI.SILVA@ufpe.br

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



INTRODUÇÃO

Dentro de uma gama de diferentes plantas medicinais com amplo interesse terapêutico pela propriedade de combate aos radicais livres, destaca-se *Thuja occidentalis* (Cupressaceae), popularmente conhecida como árvore da vida ou cedro branco, e cujas principais aplicações tem sido atribuídas às suas propriedades antiviral, antioxidante, imunoestimulante e antimetastásica (Naser *et al.*, 2005; Sunila; Hamsa; Kuttan, 2011). Os radicais livres estão envolvidos em várias reações bioquímicas atuando como mediadores na transferência de elétrons, estando envolvidos na regulação da transdução de sinal e expressão gênica, ativação de receptores, produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Eles desempenham ainda um papel vital na fagocitose (Alves *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2014).

Contudo, ainda que possuam diferentes papéis benéficos ao organismo, radicais livres em excesso são capazes de causar danos a moléculas de DNA, proteínas, carboidratos, lipídios e organelas celulares, provocando alterações nas suas estrutura e funções e, dessa forma, encontram-se diretamente envolvidos nos mecanismos fisiopatológicos de inúmeras patologias, sobretudo, de doenças crônicas não transmissíveis e degenerativas (Alves *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2014; Morais *et al.*, 2013), incluindo câncer, doenças cardiovasculares, aterosclerose (Barbosa, 2008; Shen *et al.*, 2014), asma, artrite reumatoide, perturbações da função imunológica (Chen *et al.*, 2014), demência senil, esclerose múltipla e até o envelhecimento precoce (Barbosa, 2008). Além do mais, a produção excessiva de radicais livres, associada com inflamação, leva a uma condição de estresse oxidativo (Victor; Rocha; De Le Fuente, 2004).

A comercialização e o desenvolvimento de fitoterápicos podem ser realizados em diferentes formas farmacêuticas, podendo estas ser líquidas, semissólidas, e sólidas, porém as indústrias farmacêuticas voltam mais a sua atenção para as formas sólidas, devido algumas vantagens que apresentam no quesito estabilidade físico-química e microbiológica, precisão de dosagem, boa aceitação pela população, facilidade no manuseio, transporte e armazenamento (Da Silva, 2011). Contudo, para uma produção em larga escala através de processos estabelecidos requer o emprego de extratos secos vegetais como produtos intermediários (Silva, 2006; Da Silva, 2011; Silva *et al.*, 2012).

Devido aos extratos secos obtidos, geralmente apresentarem deficientes propriedades reológicas e mecânicas que os tornam inaptos ao processo de compressão Soares *et al.*, 2003; Alves *et al.*, 2011). torna a forma farmacêutica cápsula a mais utilizada para a comercialização de fitoterápicos mesmo diante da preferência da indústria farmacêutica pelos comprimidos (Nascimento *et al.*, 2005; Sá Barreto; Cunha-Filho, 2009).

Compreendendo assim a importância na busca e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas empregando as matérias-primas vegetais como componentes ativos, para o tratamento de condições patológicas cujas terapias ainda sejam precárias, como é o caso das doenças crônicas não transmissíveis. Neste sentido, o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas (cápsulas) à base de *T. occidentalis* tem se mostrado com uma nova alternativa terapêutica, pois é uma espécie que tem se destacado pelas suas propriedades antioxidante, antivirais e imunostimulante, sendo alvo de investigações por pesquisadores em todo o mundo. Contudo, devido à produção de comprimidos pelo processo de compressão direta ter sido um grande desafio para a indústria de fitoterápicos León-Martínez; Méndez-Lagunas; Rodríguez-Ramírez, 2011), este trabalho objetiva desenvolver uma formulação sólida (cápsulas) à base de *T. occidentalis* que cumpra os requisitos de qualidade, efetividade e segurança exigidos em preparações farmacêuticas.

METODOLOGIA

1. OBTENÇÃO E TRATAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas de *T. occidentalis* foram coletadas no município do Cabo de Santo Agostinho – PE. A identificação foi realizada pela pesquisadora e curadora Dra. Rita de Cássia Araújo Pereira e a exsicata depositada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob o nº 87.752. Dentre os parâmetros para a coleta do material, foram selecionadas partes aéreas em igual estágio de desenvolvimento e com ausência de deprecação. O material foi seco em estufa de ar circulante (Fabbe-Primar®) e posteriormente, pulverizadas em moinho de facas (Adamo® modelo 340) com tamis de

20 mesh (0,84 mm).

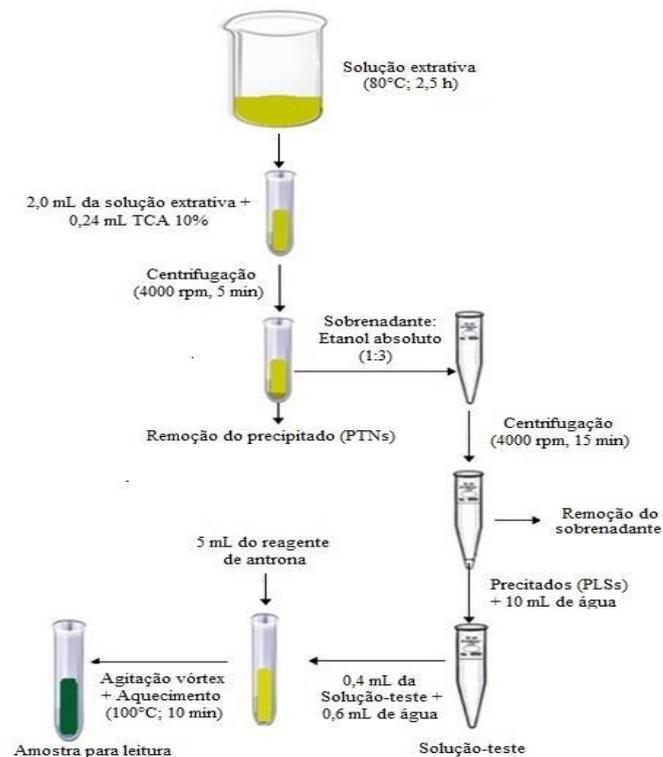
2. OBTERÇÃO DA SOLUÇÃO EXTRATIVA DE *T. occidentalis*

A solução extrativa foi obtida através de extração aquosa sob aquecimento, baseando-se em estudos prévios e nos métodos e parâmetros de extração descritos por Jiang *et al* (2010), Tang *et al* (2011), Tian *et al* (2011); Ye e Jiang (2011), Jin *et al* (2012) e Luo (2012). A extração foi realizada em banho-maria a 80°C, empregando-se uma proporção de 3,0 g de droga vegetal para cada 30 mL de água destilada, durante 2,5 h. A solução extrativa foi resfriada à temperatura ambiente (25°C) e filtrada com o auxílio de algodão.

3. MÉTODO GERAL PARA OBTERÇÃO DE SOLUÇÃO AQUOSA DE POLISSACARÍDEOS (SOLUÇÃO-TESTE)

As soluções-teste foram obtidas conforme os seguintes parâmetros: utilizou-se uma alíquota de 2,0 mL da solução extrativa e de 0,24 mL de TCA 10% (v/v). Logo após, as amostras foram centrifugadas, em Centrífuga Excelsa 2, Fanen[®], a 4000 rpm, durante 5 min para remoção de interferentes proteicos e tratamento do sobrenadante com etanol absoluto, na proporção 1:3. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm, durante 15 min para precipitação dos polissacarídeos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e os polissacarídeos dissolvidos em água destilada (10 mL) (Figura 1).

Figura 1: Método geral para obtenção da solução-teste e doseamento dos polissacarídeos totais (Método de antrona).



Fonte: Autor próprio.

4. OTIMIZAÇÃO DA SOLUÇÃO EXTRATIVA DE *T. occidentalis*

4.1 Experimento de fator-único

O efeito da temperatura, do tempo e da proporção de droga vegetal utilizados na extração foram avaliados através de testes de fator-único, variando cada parâmetro por vez. Os parâmetros foram selecionados com base em estudos prévios e nas condições determinadas em uma série de estudos similares (Jiang *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2011; Tian *et al.*, 2011; Ye e Jiang, 2011; Jin *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2012).

4.2 Metodologia de Superfície Resposta - Planejamento fatorial 3²

Com base no experimento de fator-único, a Metodologia de Superfície Resposta empregando um planejamento fatorial foi adotado para selecionar as melhores condições tecnológicas de extração dos polissacarídeos de *T. occidentalis*. Para tanto, realizou-se um planejamento 3² (2 variáveis, em 3 níveis de variação) aumentado de 2

pontos centrais para avaliação do efeito da temperatura e do tempo de extração (variáveis independentes), bem como das suas interações sobre o rendimento extrativo dos polissacarídeos (variável dependente). A Tabela 1 apresenta os valores utilizados em cada nível estudado, selecionados com base nos testes de fator único. O tratamento estatístico foi feito pelo software STATISTICA®, e foram fornecidos os gráficos de Pareto e de Superfície de Resposta para a avaliação dos resultados.

Tabela 1 – Níveis das variáveis do planejamento fatorial 3².

Nível	Temperatura (°C)	Tempo (h)
- 1 (Inferior)	85	4
0 (Central)	90	4,5
+ 1 (Superior)	95	5,0

Fonte: Autor próprio

4.3 Determinação do teor de polissacarídeos

O teor de polissacarídeos foi determinado pelo método de antrona previamente avaliado e otimizado, usando a glicose como padrão. O teor foi calculado com base na curva-padrão e expresso em mg/g do peso seco de *T. occidentalis*. Para obtenção da curva, adicionaram-se 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL de uma solução padrão de glicose (100 µg/mL) em tubos de ensaio, completando-os para 1,0 mL de água destilada. Em seguida, adicionaram-se 5,0 mL do reagente de antrona. Os tubos de ensaio foram colocados em um banho com 100°C Nova ética® durante 10 min de aquecimento, e arrefecidos rapidamente à temperatura ambiente. Para obtenção do branco e das amostras da solução extrativa, utilizaram-se, respectivamente, 1,0 mL de água destilada, e 0,4 mL da solução extrativa, completando-se o volume para 1,0 mL com água destilada. Em seguida, o teor de polissacarídeos foi determinado em espectrofotômetro (UV/Vis-mini-1240, Shimadzu®) no comprimento de onda de absorção máxima (625 nm).

Tabela 2 - Obtenção da curva padrão de glicose para determinação do teor de polissacarídeos de *T. occidentalis*.

Glicose (µg)	Solução de glicose 100 µg/mL (mL)	Água destilada (mL)
100	1,0	0,0
80	0,8	0,2



60	0,6	0,4
40	0,4	0,6
20	0,2	0,8

Fonte: Autor próprio

4.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos a partir da média de três determinações. Para constatação da significância estatística foram aplicados os testes de variância *t-Student* ou ANOVA, quando aplicável, considerando um nível de significância de 95%.

5 CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO EXTRATIVA DE *T. occidentalis*

A solução extrativa de *T. occidentalis* obtida pelo método de extração otimizado foi caracterizada conforme ensaios previstos na Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (Brasil, 2010). Os resultados foram expressos pela média de três determinações.

5.1 Determinação do pH

O pH foi medido em potenciômetro Micronal® calibrado, utilizando-se cerca de 20 mL de solução extrativa.

5.2 Determinação da densidade relativa

A solução extrativa foi colocada em picnômetro de 25,0 mL previamente pesado e calibrado com água. O peso da água e da solução extrativa foi obtido através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. O resultado foi determinado pela razão entre a massa da solução extrativa e a massa da água.

5.3 Determinação de resíduo seco

Um alíquota de 2,0 mL da solução extrativa foi transferida para placa de Petri previamente dessecada e pesada, sendo evaporada até a secura em banho maria, sob agitação ocasional. Após evaporação, a placa de Petri contendo a amostra foi dessecada

em estufa a 105°C durante 3 h e transferidos para dessecador para resfriamento. O resíduo seco foi calculado em porcentagem sobre o volume.

5.4 Determinação de polissacarídeos totais

O teor de polissacarídeos totais foi determinado conforme método previamente otimizado (4.3).

6. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO DE *T. occidentalis*

O extrato seco de *T. occidentalis* foi obtido através de liofilização e, em seguida, caracterizado através de diferentes métodos, conforme descrito a seguir:

6.1 Obtenção do extrato seco de *T. occidentalis*

O extrato seco de *T. occidentalis* foi obtido por liofilização a partir da solução extrativa (3.1.1). A solução foi primeiramente congelada em ultrafreezer a $-90^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 24 h, e em seguida, liofilizada (Liotop[®]) sob pressão de 24 μmm de Hg; vácuo 220 ± 2 Vca. por 96 h. O produto foi acondicionado em frascos-ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador de vidro sob vácuo. O rendimento de secagem foi avaliado através da razão entre massa do extrato seco obtido e o volume da solução extrativa utilizada.

6.2 Caracterização do extrato seco de *T. occidentalis*

6.2.1 Descrição macroscópica

O extrato seco de *T. occidentalis* foi visualizado macroscopicamente, sobre uma placa de *Petri* para verificação do aspecto e cor.

6.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada no Centro de Tecnologia Estratégica do Nordeste (CETENE) com o intuito de verificar a forma e estrutura das partículas do extrato seco de *T. occidentalis* após prévia metalização da amostra com filme de ouro. A análise foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura FEI® - modelo QUANTA 200 F; e os valores de aumento escolhidos para a visualização foram de 100, 600 e 1600 vezes.

6.2.3 Determinação do tamanho de partícula por granulometria a laser

A granulometria a laser foi realizada no (CETENE) em analisador de distribuição de tamanho de partícula Microtac® S3500, com módulo de medida SDC, taxa de fluxo 70% e modelo de difração Fraunhofer®. O experimento foi realizado por via úmida, utilizando uma dispersão do extrato seco de *T. occidentalis* em acetona, na proporção de 0,38 mg para 100 mL. A suspensão foi submetida à agitação em banho ultrassônico Unique® mod. USC-1400^a, com potência ultrassônica 135 Watts, durante 1 minuto, antes de ser analisada.

6.2.4 Determinação da área superficial específica e porosidade do extrato seco

O extrato seco de *T. occidentalis* foi pesado (120 mg) e tratado previamente a 100°C por 5 h, em estufa, para otimização do processo de adsorção. Posteriormente, a amostra foi desgaseificada por 12 h a 110°C para remover qualquer material adsorvido no interior dos poros e na superfície do material. As análises foram realizadas obtendo-se as isotermas de adsorção e dessorção, aplicando-se os modelos apropriados para o ajuste dos pontos experimentais. A isoterma de adsorção/dessorção foi obtida pela adsorção física progressiva de nitrogênio a 77 K sobre o material, e subsequente dessorção (SANTOS, 2013). A medida da área superficial específica foi obtida por adsorção física de nitrogênio sobre o material, pelo método *Brunauer-Emmett-Teller* (BET) e a determinação da porosidade (tamanho de poro e volume total de poros) pelo o método de *Barret-Joyner-Halenda* (BJH). Para a realização destes ensaios, foi utilizado

um analisador de área superficial e tamanho de poros ASAP2440 micromeritics®, munido de software para determinar a área superficial e porosidade.

6.2.5 Determinação da higroscopicidade

A determinação da higroscopicidade do líofilo de *T. occidentalis* foi realizada conforme técnica adaptada e descrita por Ferreira (2009). Amostras de 0,5 g, em quadruplicata, foram acondicionadas em pesa-filtros e submetidas à exposição de diferentes condições de umidade relativa (UR): 25, 70 e 100% ($\pm 5\%$) em dessecador, após criação da atmosfera desejada em seu interior, utilizando sílica e soluções saturadas de iodeto de potássio e ureia, respectivamente. Tais condições foram confirmadas através de um termohigrômetro digital J.Prolab® modelo SH 122. As amostras, colocadas no dessecador, foram pesadas sequencialmente durante 13 dias, nas três primeiras 24 h e depois a cada 48 h para verificação do ganho de umidade; sendo a percentagem de água absorvida (% U) calculada em relação ao peso, em gramas, da amostra seca (P_s) e úmida (P_u), através da equação 1:

$$U = [(P_u - P_s) / P_s * 100] \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde: **U** = Percentagem de água absorvida (g); **P_s** = peso da amostra seca (g); **P_u** = peso da amostra úmida (g).

6.2.6 Determinação de polissacarídeos totais

O teor de polissacarídeos totais foi determinado pelo método de antrona otimizado (4.1), usando a glicose como padrão e com a modificação dos seguintes parâmetros: ao invés da solução extrativa foi utilizada uma solução-mãe do extrato seco na concentração de 0,02 g/mL.

6.2.7 Avaliação do ângulo de repouso e tempo de escoamento

O ângulo de repouso foi determinado através do escoamento livre de cerca de

10 g do extrato seco de *T. occidentalis* através de um funil de dimensões padronizadas, cuja abertura de saída encontrava-se a 10 cm de altura sobre uma superfície plana, contendo uma folha de papel milimetrado; onde foi formado um cone de pó. O ângulo formado entre o cone e a superfície é chamado de ângulo de repouso, sendo obtido pelo cálculo de sua tangente através da relação entre a altura (h) e o raio (r) do cone formado. Paralelamente ao ângulo de repouso, foi determinado o tempo necessário para o escoamento livre do extrato através do funil (tempo de escoamento), utilizando-se um cronômetro digital, onde resultados acima de 10s são considerados com tempo de escoamento infinito (Alves *et al.*, 2008).

7 OBTENÇÃO DAS CÁPSULAS

7.1 Estudo de compatibilidade do extrato seco de *T. occidentalis*: excipientes

A seguir, encontra-se descrito o modo de avaliação da compatibilidade do extrato seco de *T. occidentalis* com os diferentes excipientes comumente utilizados na formulação de comprimidos.

7.1.1 Misturas binárias analisadas

As misturas binárias foram preparadas, usando o extrato seco de *T. occidentalis* e os excipientes farmacêuticos escolhidos (Tabela 1). As misturas binárias foram produzidas na proporção de 1:1 (p/p).

Tabela 3 - Relação dos excipientes avaliados no estudo de compatibilidade com o extrato seco de *T. occidentalis*.

Excipiente	Função
Aerosil®	Adsorvente
Estearato de Magnésio	Lubrificante
Starch 1500®	Diluyente
Flowlac®	Diluyente
Talco	Lubrificante

Solutab®

Desintegrante

Fonte: Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2009.

7.1.2 Caracterização térmica

Foi feita a avaliação e comparação do perfil térmico das misturas binárias de *T. occidentalis*: excipientes com os respectivos perfis do extrato seco de *T. occidentalis* e excipientes individualmente. Os perfis térmicos foram obtidos através das técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria/ Termogravimetria derivada (TG/DTG).

7.1.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC do extrato seco e excipientes foram obtidas utilizando Calorímetro Shimadzu®, modelo DSC-60, em atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 25-300°C. As amostras foram colocadas em porta-amostra de alumina hermeticamente fechada com massa de 2 mg ($\pm 0,2$). As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS® (*Thermal Analysis*) versão 2.20 da Shimadzu®

7.1.2.2 Termogravimetria (TG)/ Termogravimetria derivada (DTG)

As curvas de termogravimetria (TG/DTG) foram obtidas por meio de termobalança Shimadzu®, modelo DTG 60H, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa do extrato seco e excipientes, em torno de 3 mg ($\pm 0,2$), acondicionadas em cadinho de alumina, e submetidas à razão de aquecimento 10°C.min⁻¹, na faixa de temperatura de 25-600°C. Antes dos ensaios, a termobalança foi verificada com oxalato de zinco. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software



TA-60WS® (Thermal Analysis) versão 2.20 da Shimadzu®.

7.2 Cálculos para o desenvolvimento farmacotécnico

Para o desenvolvimento farmacotécnico foram feitos cálculos da dosagem necessária da solução extrativa para atividade antioxidante, assim como o seu rendimento. Cálculos para descobrir a quantidade em gramas de extrato seco e excipientes, e seus respectivos percentuais, que serão necessários para o preenchimento das cápsulas também foram realizados. Foram feitos experimentos em lotes de bancada I, II, III, IV, V, VI, VII para 30 cápsulas.

8. AVALIAÇÃO DAS CÁPSULAS À BASE DE *T. occidentalis*

As análises do controle de qualidade físico-químico das cápsulas (peso médio, densidade e desintegração) serão baseadas nas metodologias padronizadas na Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (Brasil, 2010) e o doseamento dos polissacarídeos se baseará em estudos prévios e nos métodos e parâmetros descritos por Jiang *et al* (2010), Tang *et al* (2011), Tian *et al* (2011); Ye e Jiang (2011), Jin *et al* (2012) e Luo *et al* (2012).

8.1 Ensaio de controle de qualidade físico-químicos

O controle de qualidade físico-químico (Farmacopéia Brasileira, 1988; Guedes, 1987) dos Lotes de Bancada foram realizados utilizando os seguintes equipamentos: balança analítica (Mettler®); desintegrador (Nova Ética) determinador de umidade por infravermelho (Top Ray). Tanto para o peso médio das cápsulas, como para o peso médio do conteúdo foram utilizadas cinco cápsulas de cada lote para pesagem e calculada a média. Para a determinação de umidade foram utilizados cinco cápsulas de cada lote e verificado o percentual de perda de água. Já para o teste de desintegração avaliaram-se seis cápsulas da formulação do lote de bancada VII, nas seguintes condições: meio (água), temperatura ($37 \pm 2^\circ\text{C}$), tempo máximo (45 minutos) (Farmacopeia Brasileira, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO EXTRATIVA DE *T. occidentalis*

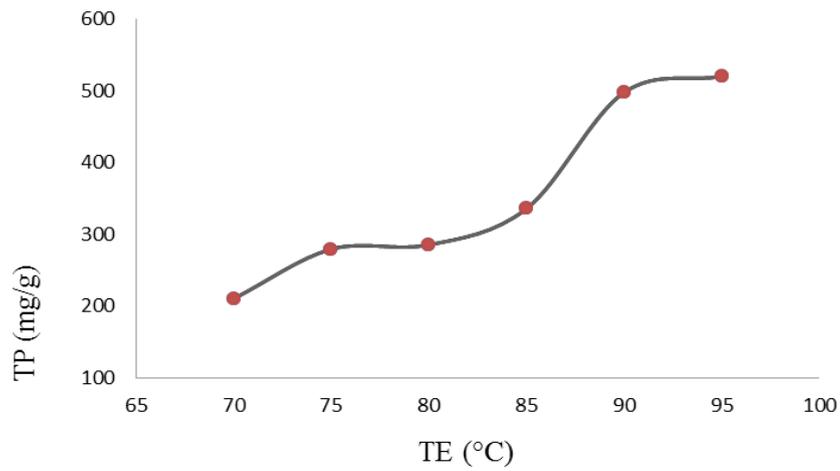
1.1 Otimização da solução extrativa de *T. occidentalis*

1.1.1 Experimento de fator-único

Para avaliação do efeito da temperatura sobre a extração dos polissacarídeos de *T. occidentalis*, foram selecionados os seguintes pontos 70, 75, 80, 85, 90 e 95°C, enquanto as outras condições foram mantidas constantes (tempo de 2,5 h e proporção de droga vegetal: água de 3 g para 30 mL). Na Figura 2, pode ser observado que, com o aumento da temperatura, o teor polissacarídeos aumentou gradualmente de 70 até 95°C. Possivelmente, em virtude de sua maior solubilidade em temperaturas elevadas. (Wu *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2011). Contudo, entre 90 e 95°C o aumento não foi estatisticamente significativo [t calculado (1,73) < t tabelado (2,78)]. Portanto, a temperatura de 90°C foi selecionada como ponto central para o planejamento fatorial.

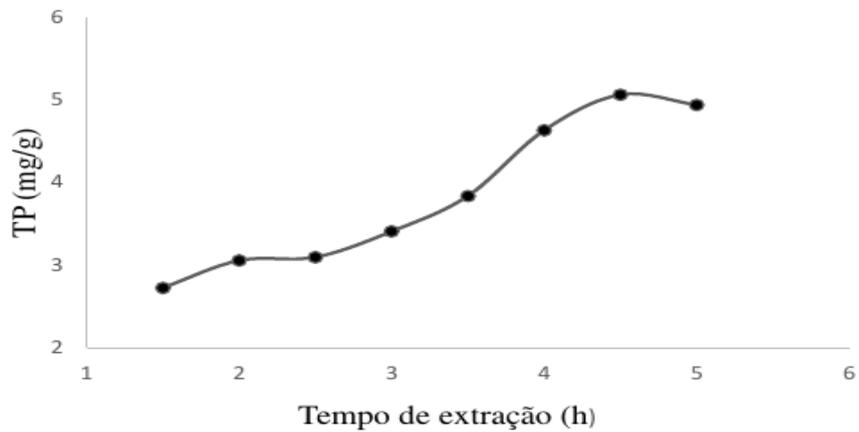
Por sua vez, o tempo de extração é um importante fator que afeta a eficiência de extração (Sun *et al.*, 2011), de modo que o efeito de diferentes intervalos (1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 e 5,0 h) foram avaliados, enquanto as demais condições foram mantidas constantes (temperatura de 80°C e proporção de droga vegetal: água de 3 g para 30 mL). Conforme demonstrado na Figura 3, o teor de polissacarídeos acompanhou o aumento do tempo de extração até 4,5 h, tendo em vista, que quanto maior a duração da extração, maior a tendência de solubilização dos polissacarídeos em água devido ao tempo requerido para sua liberação a partir do material vegetal (Ye e Jiang, 2011). No entanto, após 4,5 h a solubilização dos polissacarídeos atingiu um equilíbrio, havendo ainda um leve decréscimo no intervalo de 4,5 a 5,0 h. Embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa [t calculado (1,73) < t tabelado (2,78)], é possível presumir que, a partir de 5,0 h, esteja havendo um possível início de degradação térmica dos polissacarídeos. Portanto, o tempo de extração escolhido como ponto central para o planejamento fatorial foi de 4,5 h.

Figura 2: Efeito de diferentes temperaturas sobre a extração dos polissacarídeos de *T. occidentalis*.



Fonte: Autor próprio

Figura 3: Efeito de diferentes tempos sobre a extração dos polissacarídeos totais de *T. occidentalis*.

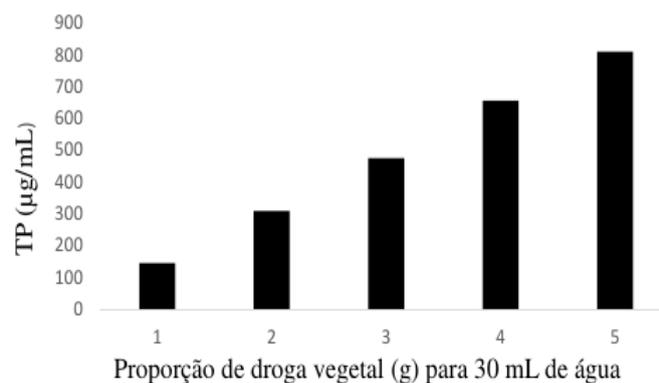


Fonte: Autor próprio

Com base em estudos prévios, o efeito de diferentes proporções de droga vegetal: água (1; 2; 3; 4 e 5 g para 30 mL) sobre a extração dos polissacarídeos de *T. occidentalis*, foi avaliado, empregando-se as condições ótimas de temperatura (90°C) e

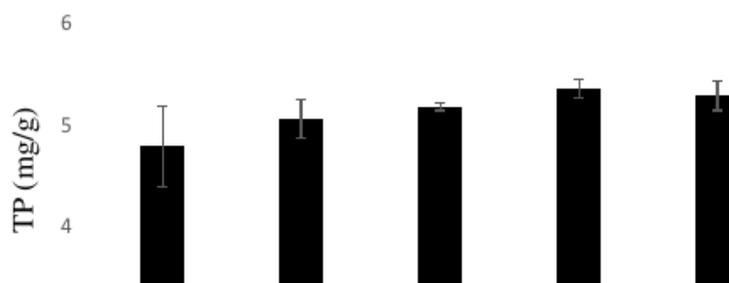
tempo (4,5 h) de extração. Enquanto que na Figura 4, observa-se uma tendência crescente da extração, com o aumento da proporção de droga vegetal empregada e na Figura 5, é possível verificar que o melhor rendimento de extração, conforme o peso seco de *T. occidentalis*, foi obtido com a proporção de 4 g de droga vegetal para 30 mL de água, embora não tenha sido demonstrada uma diferença estatisticamente significativa entre 4 a 5 g para 30 mL, através do teste ANOVA [$F_{\text{calculado}} (2,26) < F_{\text{tabelado}} (5,14)$]. Levando-se isto em consideração e sabendo-se que o efeito da proporção de droga vegetal torna-se fraco quando a dissolução dos polissacarídeos alcança um certo grau (Tan et al., 2011), somado ao fato de que amostras mais concentradas apresentam menor molhabilidade pela água, escolheu-se a proporção de 4 g de droga vegetal para cada 30 mL de água, para obtenção das soluções extrativas empregadas no planejamento fatorial.

Figura 4: Efeito de diferentes proporções de droga vegetal sobre a extração dos polissacarídeos de *T. occidentalis*.



Fonte: Autor próprio

Figura 5: Efeito de diferentes proporções de droga vegetal sobre a extração dos polissacarídeos, considerando o peso seco de *T. occidentalis*.



Fonte: Autor próprio

1.1.2 Metodologia de Superfície Resposta - Planejamento fatorial 3²

A Metodologia de Superfície Resposta, empregando o planejamento fatorial 3², aumentado de 2 pontos centrais, foi utilizada para determinação dos níveis ótimos de temperatura e tempo da extração aquosa de *T. occidentalis*; através da avaliação das possíveis interações existentes entre os fatores tempo e temperatura de extração (variáveis independentes), sobre a variável resposta (variável dependente) teor de polissacarídeos.

A matriz de planejamento experimental está apresentada na Tabela 4, juntamente com os resultados experimentais encontrados. Os níveis de tempo (4,0; 4,5; 5,0 h) e temperatura (85; 90; 95°C) foram selecionados com base nos resultados dos experimentos de fator-único. Sendo empregada a proporção de droga vegetal: água de 4 g para 30 mL, por ser a proporção mais viável para obtenção da solução extrativa nas condições supracitadas.

Os resultados experimentais, dispostos na Tabela 4, apontam que a temperatura de 95°C e tempo de 4,0 h foram as melhores condições para extração aquosa dos polissacarídeos de *T. occidentalis*. Contudo para uma observação mais apropriada sobre os efeitos exercidos pelos fatores temperatura e tempo e suas interações sobre o teor de polissacarídeos; os dados foram analisados através do gráfico de Superfície de Resposta (Figura 6).

Tabela 4 - Matriz do planejamento experimental 3² para avaliação das variáveis influentes na extração de polissacarídeos de *T. occidentalis*.

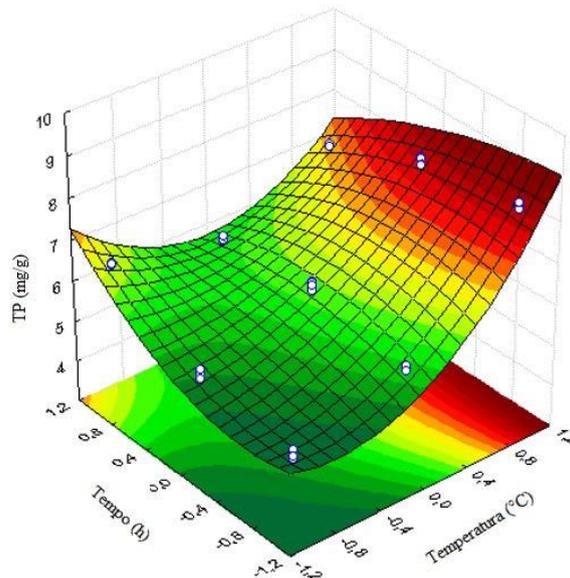
Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis naturais		Variável resposta
	Temp (°C)	Tempo (h)	Temp (°C)	Tempo (h)	TP (mg/g) ± dp

1	-1,00000	-1,00000	85	4,0	4,88 ± 0,12
2	-1,00000	0,00000	85	4,5	5,27 ± 0,10
3	-1,00000	1,00000	85	5,0	6,46 ± 0,02
4	0,00000	-1,00000	90	4,0	5,65 ± 0,05
5	0,00000	0,00000	90	4,5	6,21 ± 0,06
6	0,00000	1,00000	90	5,0	5,90 ± 0,06
7	1,00000	-1,00000	95	4,0	8,30 ± 0,08
8	1,00000	0,00000	95	4,5	8,06 ± 0,10
9	1,00000	1,00000	95	5,0	7,10 ± 0,03
10	0,00000	0,00000	90	4,5	6,12 ± 0,06
11	0,00000	0,00000	90	4,5	6,17 ± 0,09

Legenda: Temp – Temperatura; TP – Teor de polissacarídeos; dp – Desvio padrão.

Fonte: Autor próprio

Figura 6 – Gráfico de Superfície Resposta obtido pelo planejamento fatorial 3^2 , tendo como fatores a temperatura e o tempo de extração e, como variável resposta o teor de polissacarídeos de *T. occidentalis*.



Legenda: TP – Teor de polissacarídeos.

*O grau de significância de cada efeito é visualizado através da inclinação da reta.

Fonte: Autor próprio

Através do Gráfico de Superfície de Resposta (Figura 6), foi possível verificar, o efeito positivo que o tempo e a temperatura exercem isoladamente sobre a extração de polissacarídeos de *T. occidentalis*, através da inclinação da reta para cada um dos parâmetros, sendo a temperatura o fator mais significativo. Já no que diz respeito a interação desses fatores, foi possível constatar que o longo tempo de extração em temperaturas elevadas propiciou uma redução do teor de polissacarídeos, possivelmente devido aos processos de degradação (Tan et al., 2011; Tang et al., 2011;

Chen *et al.*, 2012a). Portanto, levando-se em consideração os resultados apresentados, e que o método de extração ideal deve ser capaz de produzir grandes quantidades de polissacarídeos e não ser destrutivo, com um menor tempo de extração; as condições ótimas evidenciadas pelo modelo foram: temperatura de 95°C e tempo de 4,0 h; com teor médio de 8,30 ± 0,08 mg/g.

1.2 Caracterização da solução extrativa

Os resultados da caracterização da solução extrativa de *T. occidentalis* encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização físico-química da solução extrativa de *T. occidentalis*.

Propriedade	Média
pH	5,12
Densidade relativa	0,91 g/mL
Resíduo seco	2,89 %
Polissacarídeos totais	8,30 mg/g (p/p)

Fonte: Autor próprio

Property	Average
pH	5,12
Relative density	0,91 g/mL
Dry residue	2,89%
Total polysaccharides	8,30 mg/g (p/p)

2. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO DE *T. occidentalis*

A partir do processo de secagem por liofilização da solução extrativa de *T. occidentalis*, foi possível obter extrato seco com rendimento de secagem aproximado de 9%. Em seguida, foram realizados ensaios de caracterização, cujos resultados e discussão encontram-se descritos a seguir.

2.1 Descrição macroscópica

O extrato seco de *T. occidentalis* apresentou-se visualmente como pó marrom

claro, com aspecto brilhoso e odor característico (Figura 7). Além disso, de leve e facilmente aglomerável, devido à higroscopicidade.

Figura 7 - Aspectos macroscópicos do extrato seco de *T. occidentalis*.

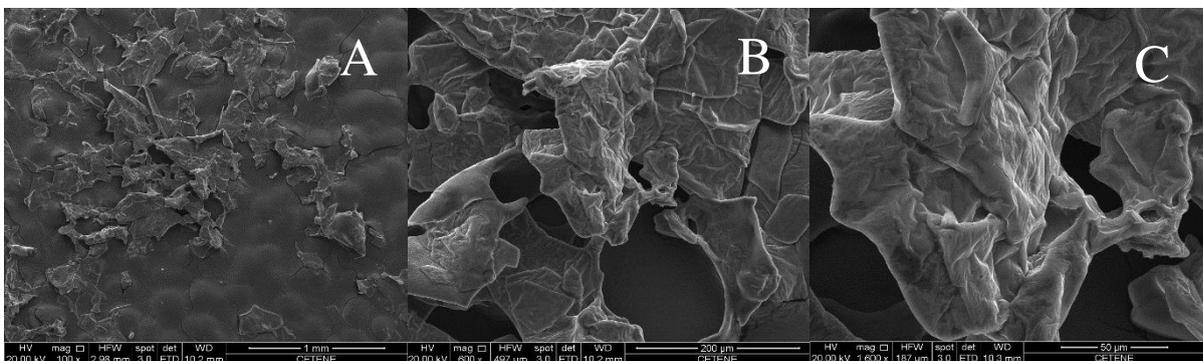


Fonte: Autoria própria

2.2 Análise em MEV

O extrato seco de *T. occidentalis* apresentou superfície irregular, aglomerados contínuos e ausência de partículas definidas, conforme demonstrado nas fotomicrografias obtidas por MEV (Figura 8).

Figura 8 - Fotomicrografia, por microscopia eletrônica de varredura, do extrato seco de *T. occidentalis*, sob aumento de 100 (A), 600 (B) e 1600 vezes (C).



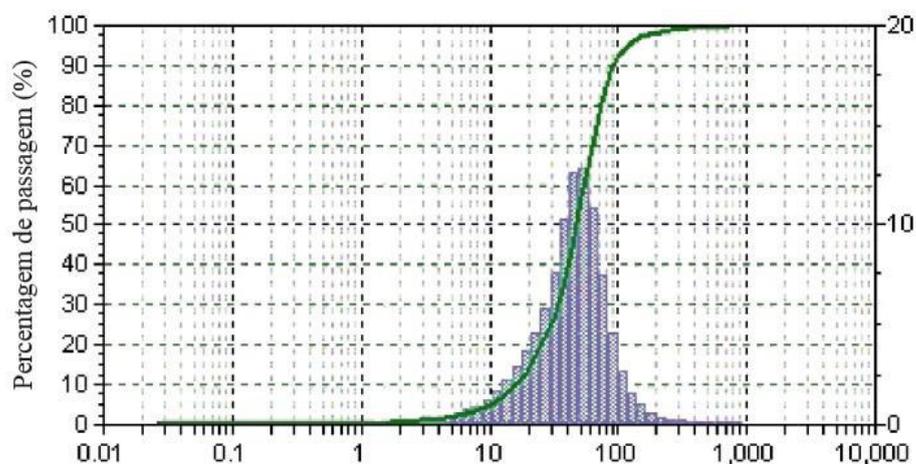
A avaliação do tamanho de partículas é de extrema importância para a caracterização de insumos farmacêuticos ativos (IFAs) utilizados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, tais como cápsulas, tendo em vista que o tamanho dos pós pode interferir nas suas propriedades de fluxo, sendo então um fator crítico para os processos de mistura, e enchimento durante o processamento industrial (Sarraguça, 2010; Ong, 2014).

Conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (2010), a determinação de tamanho de partículas deve ser obtida a partir da retenção destas em tamises com aberturas de malhas distintas, utilizando-se em torno de 25 g de material. No entanto, nota-se que este procedimento é inviável quando dispõe-se de quantidade de amostra inferior ao exigido, sendo possível utilizar alternativamente a granulometria a laser, uma técnica já aplicada e difundida na literatura para caracterização de IFAs (Vieira *et al.*, 2013), e eleita como padrão internacional (ISO 13.320-1, 1999), tendo demonstrado correlação com o método farmacopeico supracitado, tal como avaliado por Byung-Man e colaboradores (2008).

Desta forma, o tamanho de partículas do extrato seco de *T. occidentalis* foi determinado por granulometria a laser, sendo observado, através da figura 8, que houve uma maior concentração de pós correspondentes aos tamanhos de partícula de 87,99 μm (7,4%), 73,99 μm (10,8%), 62,22 μm (12,8%), 52,32 μm (12,6%), 44,00 μm (10,2%), 37,00 μm (7,6%) e 31,11 μm (5,8%); sendo o diâmetro médio das partículas de 56,95 μm . Se for tomado como base a classificação de tamanho de partícula presente na Farmacopeia Brasileira (2010), o extrato seco de *T. occidentalis* pode ser classificado como um pó fino, uma vez que passou quase em sua totalidade (97,9%) pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μm .

Levando em consideração que partículas finas apresentam maior propensão à adsorção de umidade e, por conseguinte, podem levar à formação de aglomerados de partículas (Bellamy; Nordon; Littlejohn, 2008); e que ainda promovem uma maior coesividade dos pós diminuindo suas propriedades de fluxo, e promovendo uma maior fricção entre as partículas (Ong, 2014), verifica-se a necessidade da utilização de excipientes capazes de anular ou mesmo minimizar estas características, para um emprego viável do extrato seco de *T. occidentalis* como IFA no desenvolvimento de medicamentos.

Figura 9 - Distribuição do tamanho de partículas do extrato seco de *T. occidentalis*.



Fonte: Autoria própria

2.4 Determinação da área superficial específica e porosidade do extrato seco

A determinação da área superficial específica, tamanho e volume de poros é bastante relevante para caracterização física dos materiais particulados (Santana *et al.*, 2012). Na indústria farmacêutica, por exemplo, o controle da área superficial de fármacos é importante para obtenção de misturas homogêneas de grânulos e pós, assim como para obtenção das propriedades de fluxo necessárias para produção de cápsulas e comprimidos (Silva, 2010). Por sua vez, a porosidade também exerce um grande efeito nas propriedades mecânicas dos materiais particulados (resistência à tensão, dureza e deformação); assim como influencia as suas características de dissolução e capacidade de retenção de água (Santana *et al.*, 2012).

Levando em consideração a classificação dos poros da IUPAC [microporos (< 20 Å), mesoporos (entre 20 Å e 500 Å) e macroporos (> 500 Å)] (Santana *et al.*, 2012), os resultados obtidos neste estudo para o extrato seco de *T. occidentalis* demonstram que o produto analisado possui mesoporos, com área superficial definida de 75,62 m²/g; e volume e tamanho de poro de 0,066 cm³/g e 35,18 Å, respectivamente.

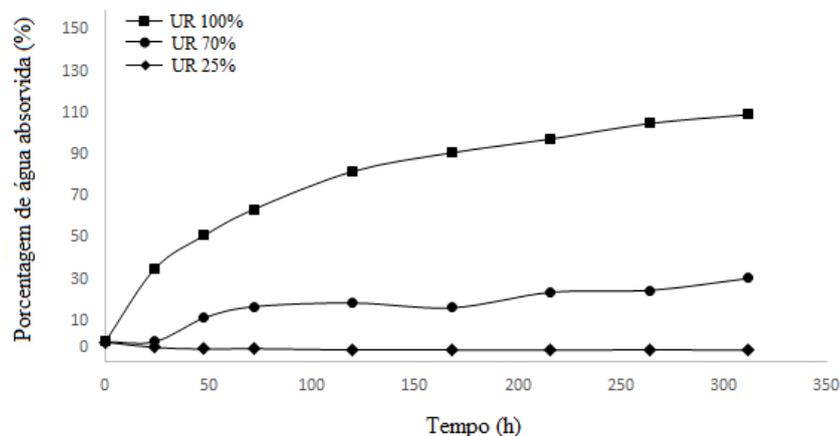
No que diz respeito à molhabilidade, o extrato seco de *T. occidentalis* apresentou características adequadas para ser utilizado como insumo vegetal na obtenção de formas farmacêuticas sólidas (Santos, 2010), devido ao tamanho dos poros e elevada área superficial, serem fatores contribuintes para o aumento de sua solubilidade, e consequentemente, biodisponibilidade (Silva, 2010; Santos, 2013).

2.5 Determinação da higroscopicidade

Os extratos secos vegetais geralmente são higroscópicos e apresentam baixas propriedades reológicas, de compressibilidade e compactabilidade, fazendo-se

necessário o uso de adjuvantes de secagem, a fim de aumentar sua estabilidade físico-química e características tecnológicas (Tuyen; Nguyen & Roach, 2010; Gallo *et al.*, 2011). Isto porque teores de umidade acima do especificado podem possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias, a deterioração de constituintes químicos através de reações químicas hidrolíticas e/ou enzimáticas (Marques *et al.*, 2012) e alteração das características reológicas do produto que são essenciais no desenvolvimento de uma formulação farmacêutica sólida (Santos, 2013). Por estes motivos, as propriedades higroscópicas do extrato seco de *T. occidentalis* foram avaliadas pela sorção de água em diferentes condições de umidade (UR de 25, 70 e 100 \pm 5 %) e em função do tempo (Figura 10).

Figura 10 – Perfil de higroscopicidade do extrato seco de *T. occidentalis*.



Fonte: Autoria própria.

Conforme demonstrado na Figura 10, foi observado que a absorção de água pelas amostras submetidas aos ambientes com UR controlada de 70 e 100 \pm 5%, aumentou em função do teor de umidade e do tempo de exposição, tal como demonstrado por Santos (2013). Enquanto que no ambiente com UR 70 \pm 5%, o aumento de massa foi mais 11% nas primeiras 48 h, subindo até 30 % nos dias subsequentes; no ambiente com UR 100 \pm 5, o aumento foi de 35% nas primeiras 24 h, subindo até 109% (Figura 10). Além do aumento de massa, observou-se formação de grumos e leves alterações de cor a partir das primeiras 48 e 24 h para as amostras submetidas à UR de 70 e 100 \pm 5%, respectivamente, reforçando que a absorção de água foi bastante

significativa e a necessidade dos adjuvantes de secagem para obtenção de uma matéria-prima padronizada a base de *T. occidentalis*.

Quanto ao ambiente com UR de 25%, houve uma leve redução do peso das amostras, devido à capacidade de sorção de água pela sílica, demonstrando a importância do armazenamento dos extratos seco nessas condições (Santos, 2013). Vale salientar, contudo, que os valores de higroscopicidade obtidos não devem ser considerados absolutos, visto que as amostras não estavam acondicionadas em embalagem primária, conforme descrito por Santos (2013).

2.6 Determinação de polissacarídeos totais

O teor de polissacarídeos do extrato seco de *T. occidentalis* determinado pelo método de antrona foi de $501,02 \pm 11,77 \mu\text{g/g}$.

2.7 Propriedades reológicas

O extrato seco de *T. occidentalis* apresentou capacidade de compactação de 11 mL, indicando que o mesmo encontra-se adequado para manipulação de formas sólidas. Isto porque valores acima de 20 mL dificultam enchimento de câmaras ou de cápsulas. Em contrapartida, os índices, FH e IC, avaliados a partir da d_{AP} e d_{CP} (Tabela 6) demonstraram as deficientes propriedades reológicas do extrato seco. Pois para o FH, valores menores que 1,25 indicam bom fluxo; valores maiores que 1,5 indicam fluxo ruim; e valores entre 1,25 e 1,5 exigem a adição de lubrificantes para melhorar o escoamento (Alves et al., 2008). Já em relação ao IC, a interpretação de seus valores é mostrada na Tabela 7.

Tabela 6 - Propriedade de compactação do extrato seco de *T. occidentalis*.

Propriedade	Média
Densidade aparente	0,250 g/ mL
Densidade compactada	0,345 g/mL
Fator de Hausner (FH)	1,38
Índice de Carr (IC)	27,54 %

Fonte: Autor próprio

Tabela 7 - Interpretação do Índice de Carr (IC) para a fluidez de pós (WELLS, apud Andrade, 2009).

IC (%)	Fluidez
05 a 15	Excelente
12 a 16	Boa
18 a 21	Moderada
23 a 35	Pobre
33 a 38	Muito pobre
> 40	Muito muito pobre

Legenda: IC = Índice de Carr.

Fonte: Andrade, 2009.

É importante destacar que estes índices são determinações pontuais, exprimindo apenas o potencial de fluidez, e não a facilidade ou velocidade de escoamento com que estas ocorrem. Para este tipo de avaliação, analisamos o ângulo de repouso e o tempo de escoamento. O ângulo de repouso é um parâmetro que tem como finalidade avaliar a dificuldade que um pó tem para fluir livremente através de um orifício para uma superfície livre. O resultado encontrado para a tangente entre altura e raio formado pelo escoamento do pó formou um ângulo de 35,18°, com tempo de escoamento infinito. Estes valores indicam que o extrato apresenta baixa propriedade de fluxo para desenvolvimento farmacotécnico. Pois, considera-se que um pó tem boas propriedades de escoamento quando possui ângulo de repouso igual ou inferior a 30°. Enquanto ângulos superiores a 40° sugerem difícil fluxo (Alves et al., 2008).

3. OBTENÇÃO DAS CÁPSULAS

3.1 Estudo de compatibilidade do extrato seco de *T. occidentalis*: excipientes

O estudo de compatibilidade foi conduzido através da obtenção e comparação das curvas DSC e TG/DTG do extrato seco de *T. occidentalis*, dos excipientes descritos na Tabela 8 e das respectivas misturas binárias na proporção 1:1. Pela análise por DSC, os valores referentes à temperatura inicial de degradação ($T_{on\ set}$) do extrato seco de *T. occidentalis* foram adotados como indicadores de interação extrato-excipiente. Complementarmente, também foram avaliados os respectivos valores de energia de ativação. Deste modo, foi possível que os resultados obtidos pelo DSC (Tabela 8)

apontaram uma maior probabilidade de existência de incompatibilidade do extrato seco com o Estearato de Magnésio devido à variação bastante significativa tanto da $T_{on\ set}$ e das respectivas energias de ativação. Além disso, também observou-se uma variação significativa da $T_{on\ set}$ da mistura binária com Solutab®, embora não tenha havido variação significativa da respectiva energia de ativação. Portanto, visando à realização de um estudo de compatibilidade mais completo, também foram analisados os perfis térmicos de todas as amostras por TG/DTG.

Tabela 8 - Resultados do Estudo de compatibilidade do extrato seco de *T. occidentalis*: excipientes por DSC.

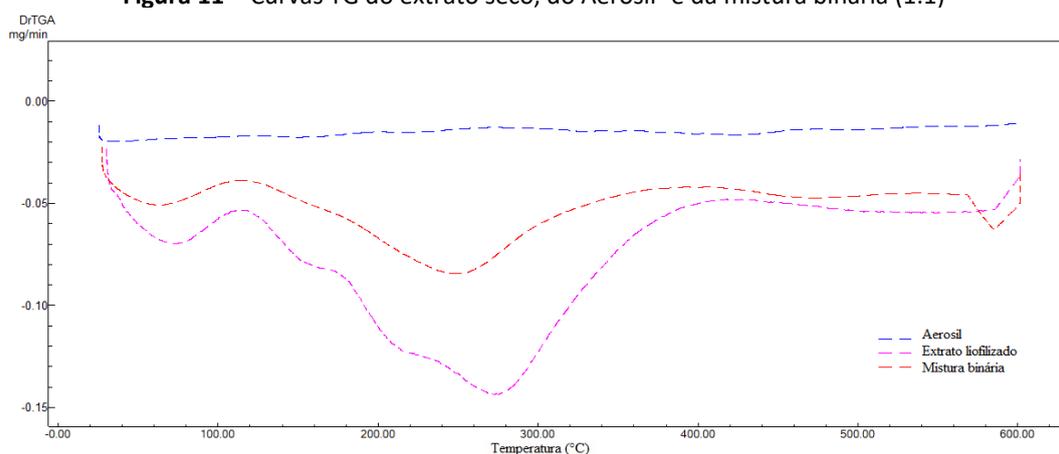
Amostra	On set	Off set	Pico	Energia (J/g)
Extrato seco	194,83	199,23	195,91	114,19
Extrato seco: Aerosil®	191,06	195,30	192,32	84,87
Estearato de Magnésio	179,19	184,98	180,39	199,30
Extrato seco: Starch 1500®	190,63	195,67	192,10	137,60
Extrato seco: Flowlac®	199,47	204,07	200,43	134,45
Extrato seco: Talco	190,46	195,55	191,87	96,58
Extrato seco: Solutab®	185,90	191,70	187,04	119,46

Legenda: On set: Temp. inicial de fusão. Off set: Temp. final de fusão.

Fonte: Autor próprio

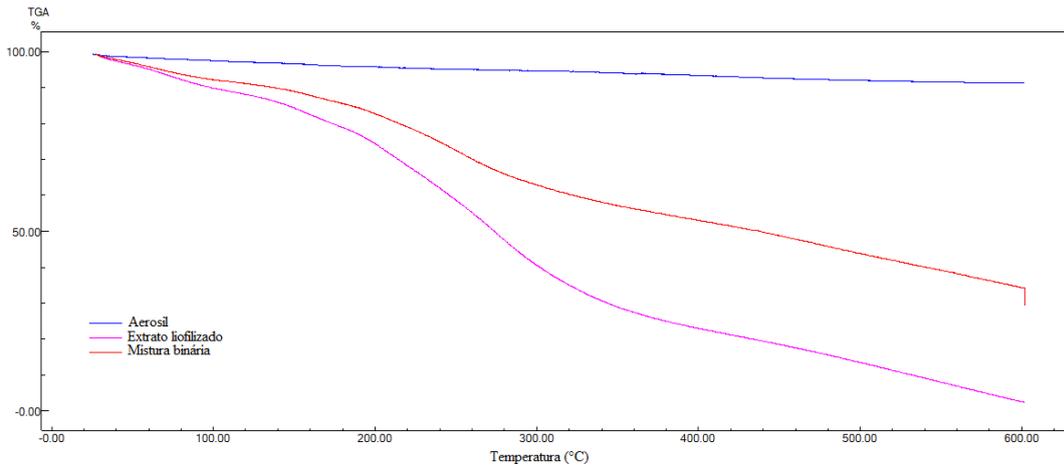
As curvas TG (Figura 11) e DTG (Figura 12) do Aerosil, do extrato seco de *T. occidentalis* e da mistura binária do extrato seco com o Aerosil demonstraram que não ocorreram mudanças significativas nos eventos térmicos da mistura binária 1:1, que como se observa apresentou um comportamento térmico que representa o somatório das amostras isoladas. Vale ressaltar que o aumento na linha de base da mistura deve-se à ausência de eventos térmicos para o Aerosil®, na faixa de temperatura analisada. Estes resultados confirmaram então a inexistência de incompatibilidades entre o extrato seco e o Aerosil já demonstrada por DSC (Tabela 8).

Figura 11 – Curvas TG do extrato seco, do Aerosil® e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

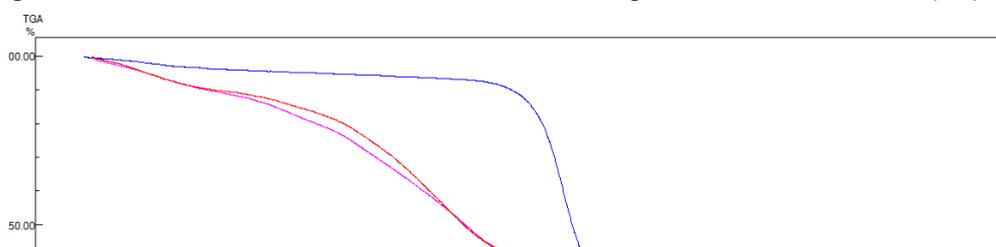
Figura 12 – Curvas DTG do extrato seco, do Aerosil® e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

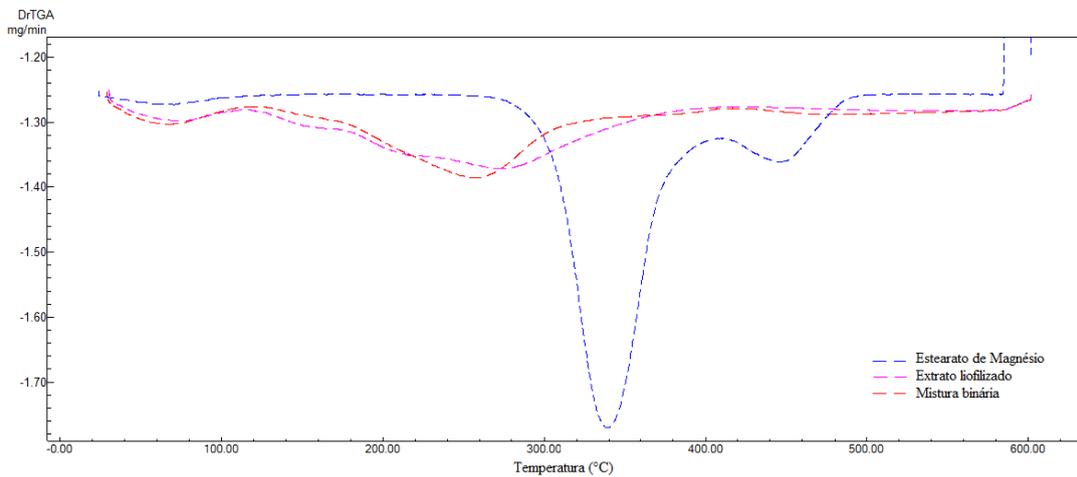
Por sua vez, as curvas TG (Figura 13) e DTG (Figura 14) do Estearato de magnésio, do extrato seco de *T. occidentalis* e da mistura binária 1:1 do extrato seco com o Estearato de magnésio demonstraram uma possível existência de incompatibilidade entre as amostras, tendo em vista que a mistura binária não apresentou à soma dos eventos térmicos do extrato seco e do excipiente, tendo sido evidenciado uma antecipação bastante significativa do início da degradação do estearato de magnésio de 265°C para 166°C, juntamente com a antecipação do quarto evento de perda de massa do extrato seco de 220°C para a mesma temperatura de 166°C. Estes resultados confirmam então a possibilidade da incompatibilidade já apontada pela análise de DSC. Contudo, é importante mencionar que a quantidade de estearato de magnésio utilizada em formulações sólidas, geralmente é muito pequena, em torno de 1,0%, e poderia não comprometer a estabilidade do extrato.

Figura 13 – Curvas TG do extrato seco, do Estearato de magnésio e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

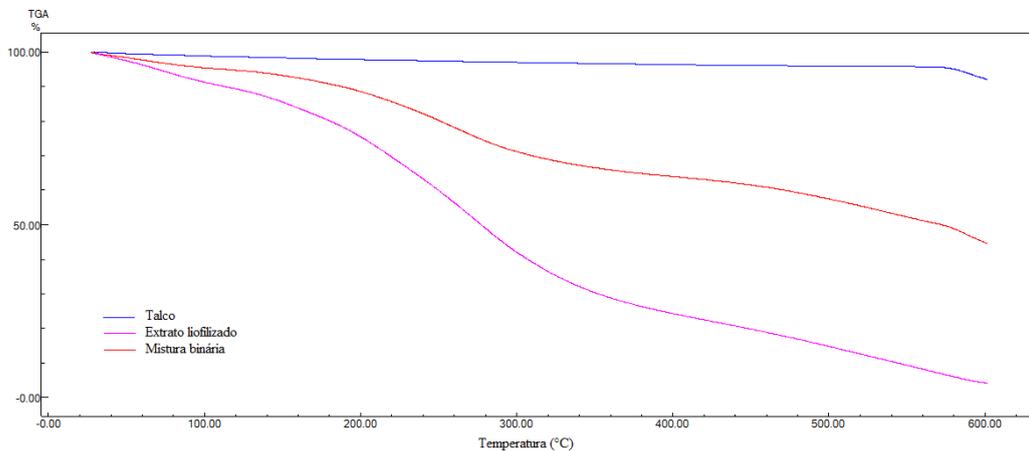
Figura 14 – Curvas DTG do extrato seco, do Estearato de magnésio e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

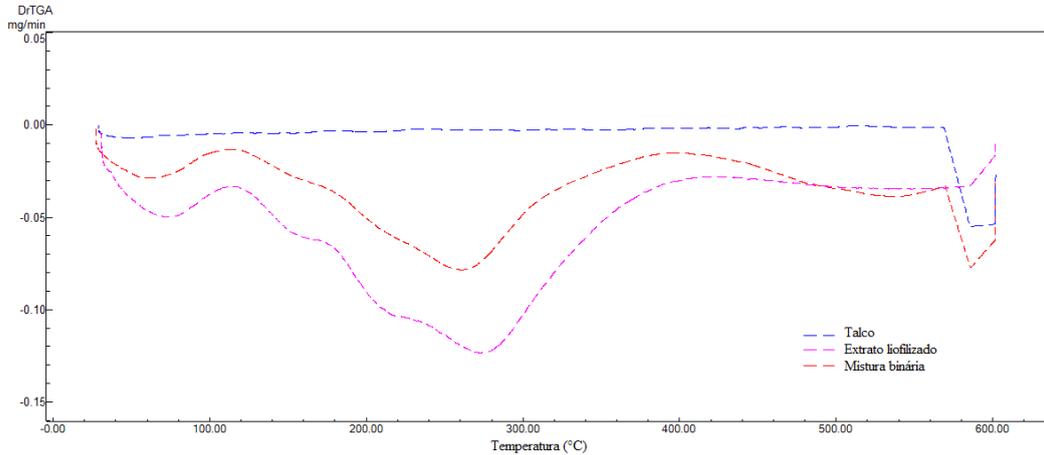
Da mesma forma que para o Aerosil, as curvas TG (Figura 15) e DTG (Figura 16) do Talco, do extrato seco de *T. occidentalis* e da mistura binária 1:1 do extrato seco com o Talco também demonstraram a ausência de incompatibilidades entre as amostras; resultado igualmente concordante com a análise realizada por DSC.

Figura 15 – Curvas TG do extrato seco, do Talco e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

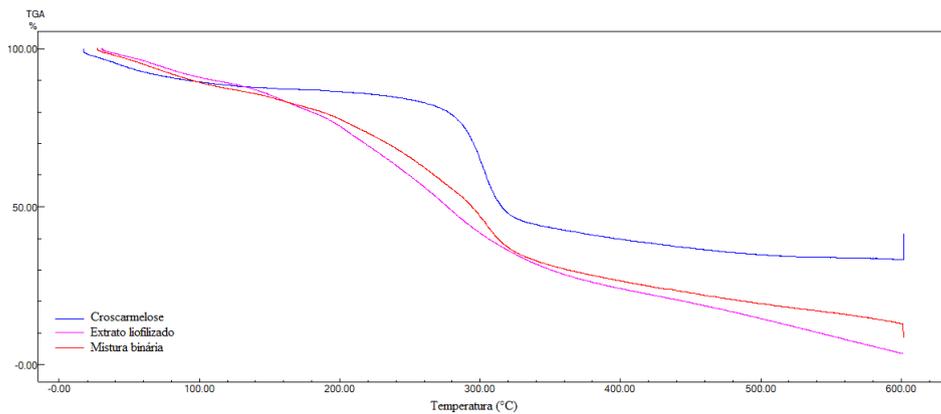
Figura 16 – Curvas DTG do extrato seco, do Talco e da mistura binária (1:1)



T.

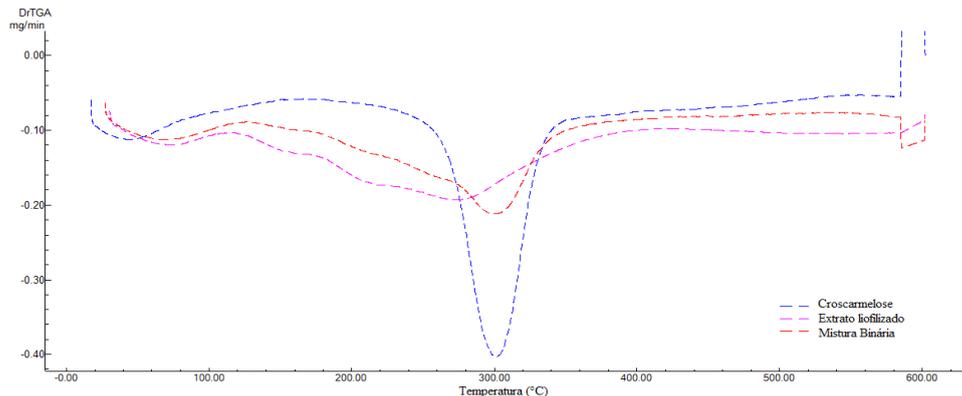
occidentalis e da mistura binária 1:1 do extrato seco com o Solutab® demonstraram a ausência de incompatibilidades entre extrato e o excipiente; apesar dos resultados obtidos por DSC terem evidenciado um deslocamento do pico de degradação do extrato.

Figura 17 – Curvas TG do extrato seco, do Solutab® e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

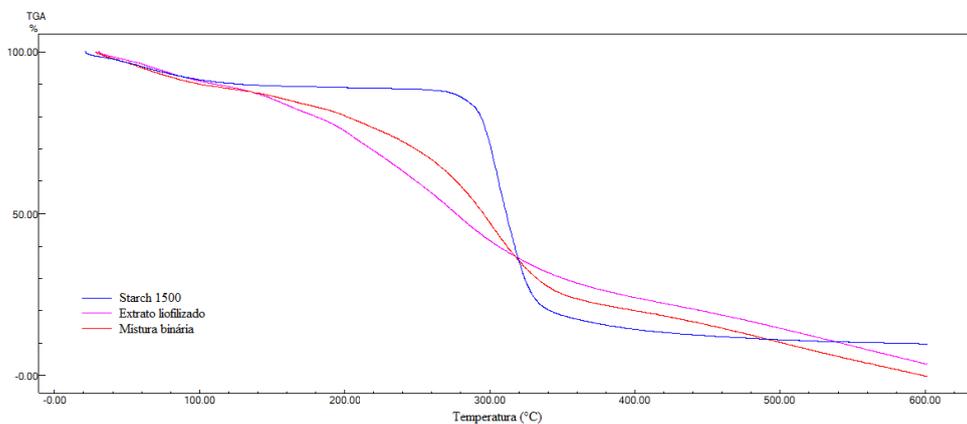
Figura 18 – Curvas DTG do extrato seco, Solutab® e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

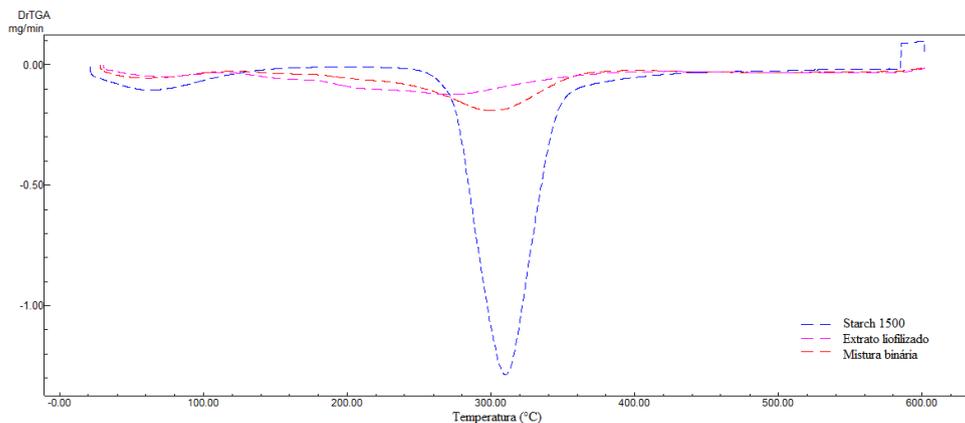
As curvas TG (Figura 19) e DTG (Figura 20) do Starch 1500[®], do extrato seco de *T. occidentalis* e da mistura binária 1:1 do extrato seco com o Starch 1500[®], demonstraram a inexistência de incompatibilidade entre as amostras, tendo em vista que o perfil do extrato seco e do excipiente mantiveram-se nas curvas mistura binária. Além disso, a diminuição da intensidade do pico (Figura 20) do Starch 1500[®] em 310°C é decorrente da diminuição da quantidade deste em relação a amostra pura. Estes resultados reforçam então a ausência de incompatibilidade das amostras já demonstrada por DSC.

Figura 19 – Curvas TG do extrato seco, do Starch 1500[®] e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

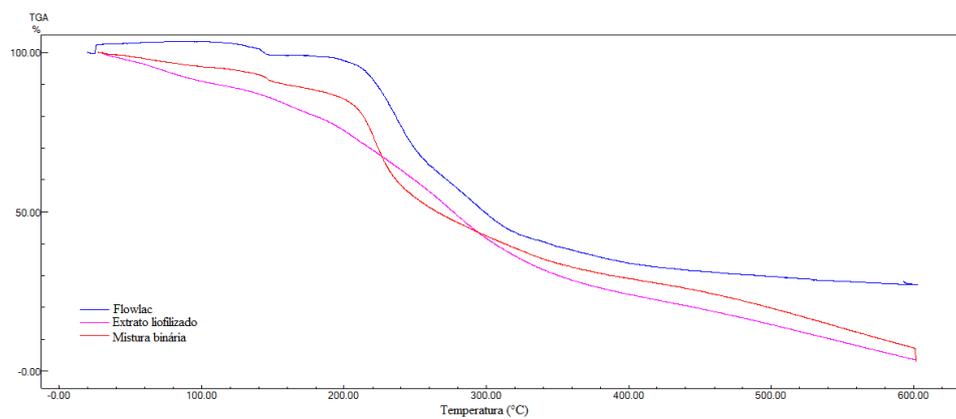
Figura 20 – Curvas DTG do extrato seco, do Starch 1500[®] e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

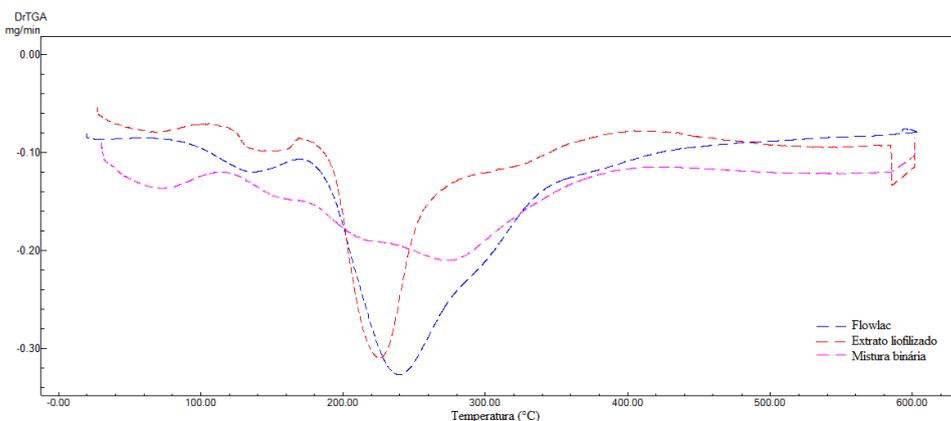
A partir da análise das curvas TG (Figura 21) e DTG (Figura 22) do Flowlac[®], do extrato seco de *T. occidentalis* e da mistura binária 1:1 do extrato seco com o Flowlac[®] foi possível verificar que o perfil térmico da mistura binária foi bastante similar ao dos compostos isolados, embora tenha havido uma antecipação da quarta etapa de perda de massa do extrato seco de 232°C para 170°C (Figura 22), que passou a ocorrer em uma única etapa, juntamente com a degradação do excipiente e da terceira etapa do extrato seco. Apesar desta alteração, vale ressaltar que na análise por DSC não foi evidenciada nenhuma incompatibilidade entre as amostras.

Figura 21 – Curvas TG do extrato seco, do Flowlac[®] e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

Figura 22 – Curvas DTG do extrato seco, do Flowlac[®] e da mistura binária (1:1)



Fonte: Autor próprio

Em virtude das evidências de existência de incompatibilidade entre o extrato seco de *T. occidentalis* e o Estearato de Magnésio, este excipiente foi excluído das demais etapas do estudo de pré-formulação, embora novos estudos possam ser realizados para avaliação de compatibilidade por outras técnicas, como a difração de Raios-X e IV-TF.

3.2 Cálculos para desenvolvimento farmacotécnico das cápsulas à base de *T. occidentalis*

Foram utilizados 72 gramas da droga e 540 mL de água. Posteriormente essa solução foi filtrada, obtendo-se 208 mL de extrato bruto. Após liofilização do extrato bruto, foi obtido 1,838 gramas de extrato seco.

3.2.1 Cálculo do volume do extrato e excipiente para preenchimento das cápsulas

0,0088 g é a massa de extrato seco utilizada em uma cápsula, multiplicando esse valor por 30, foi obtida a massa suficiente para 30 cápsulas ($0,0088 \times 30 = 0,264$ gramas). Pesando essa massa em uma balança de precisão e transferindo-a para uma proveta graduada (Martins, 2013), achou-se o volume aparente de 2,55 mL. Dividindo esse volume de 2,55 mL por 30, ($2,55 / 30 = 0,085$ mL) foi encontrado o volume aparente de extrato seco para cada cápsula.

Para a preparação das cápsulas foram utilizados invólucros de número 3 que possuem um volume teórico de 0,3 mL. Esse volume de valor 0,3 subtraindo do volume aparente de extrato seco que é 0,085 encontrou-se o valor 0,215 mL que corresponde ao volume de excipientes que será necessário para o preenchimento total das cápsulas. Calculando assim $0,215 \times 30 = 6,45$ mL, obteve-se o volume teórico para 30 cápsulas. Posteriormente somando os volumes de extrato seco e excipientes (2,55 mL + 6,45 mL), respectivamente, foi obtido o valor de 9 mL que corresponde ao volume total da mistura para 30 cápsulas.

LOTE DE BANCADA I

No lote de bancada I, foram pesados os excipientes citados na Tabela 9 com suas respectivas massas. Porém, a quantidade (extrato seco + excipiente) não foi suficiente para o preenchimento total dos invólucros, rendendo apenas 12 cápsulas.

Tabela 9 - Lote de bancada I de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA I			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 Cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	28,30	0,0088	0,2640
Starch 1500 [®]	70,70	0,0220	0,6596
Aerosil [®]	1,00	0,0003	0,0093
TOTAL	100,00	0,0311	0,9329

Fonte: Autor próprio

LOTE DE BANCADA II

Para o lote de bancada II foi alterado apenas o diluente, passando de Starch 1500[®] (Densidade 0,61 g/mL) para Flowlac[®] (Densidade 0,56 g/mL) devido à diferença de densidade, e foram utilizadas as mesmas massas. Contudo, a quantidade da mistura (extrato seco + excipiente) ainda não foi suficiente para o preenchimento total dos invólucros, rendendo apenas 15 cápsulas.

Tabela 10 - Lote de bancada II de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA II			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 Cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	28,30	0,0088	0,2640
Flowlac [®]	70,70	0,0220	0,6596
Aerosil [®]	1,00	0,0003	0,0093
TOTAL	100,00	0,0311	0,9329

Fonte: Autor próprio

LOTE DE BANCADA III

No lote de bancada III o percentual de Aerosil[®] foi aumentado de 1% para 10% a fim de se obter uma melhor fluidez, e o de Starch 1500[®] diminuiu para 61,7% para manter as proporções. Nesse lote foi levada em consideração a densidade aparente do Aerosil[®] e a densidade do Starch 1500[®]. Contudo, a quantidade da mistura (extrato seco + excipiente) ainda não foi suficiente para o preenchimento total dos invólucros,

rendendo apenas 12 cápsulas.

Tabela 11 - Lote de bancada III de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA III			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 Cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	7,18	0,0088	0,2640
Starch 1500®	92,08	0,1130	3,3873
Aerosil®	0,74	0,0009	0,0270
TOTAL	100,00	0,1227	3,6783

Fonte: Autor próprio

LOTE DE BANCADA IV

No lote de bancada IV mantiveram-se os mesmos percentuais da banca III, porém, além da densidade dos excipientes, também foi levado em consideração à densidade do extrato seco. Contudo, a massa total da mistura (excipiente + extrato seco) resultou em um volume muito grande, rendendo 54 cápsulas.

Tabela 12 - Lote de bancada IV de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA IV			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 cápsulas
Extrato de <i>Thuja</i>	15,73	0,0212	0,6375
Starch 1500®	74,27	0,1003	3,0093
Aerosil®	10,00	0,0135	0,4052
TOTAL	100,00	0,1350	4,0520

Fonte: Autor próprio

LOTE DE BANCADA V

No lote de bancada V não foi feita a correção da massa de Aerosil® para 10% como foi calculado no lote IV, utilizou-se a massa de 0,027 gramas que já estava corrigida quando foi calculada pela densidade do mesmo. Entretanto essa massa de Aerosil® corresponde a menos de 1% da massa total (4,052 gramas), fazendo necessário aumentar o percentual de Starch 1500® para completar os 100% uma vez que a quantidade de extrato seco se manteve constante. Contudo, a quantidade da mistura (extrato seco + excipiente) ainda não foi suficiente para o preenchimento total dos invólucros, rendendo apenas 25 cápsulas.

Tabela 13 - Lote de bancada V de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA V			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	15,73	0,0212	0,6375
Starch 1500®	83,60	0,1130	3,3875
Aerosil®	0,67	0,0009	0,0270
TOTAL	100,00	0,1351	4,0520

Fonte: Autor próprio

LOTE DE BANCADA VI

No lote de bancada VI a quantidade de Aerosil® foi dobrada a fim de se completar o volume total da cápsula, uma vez que esse excipiente é bastante leve e ocupa um bom espaço. Contudo, a quantidade da mistura (extrato seco + excipiente) ainda não foi suficiente para o preenchimento total dos invólucros, rendendo apenas 29 cápsulas.

Tabela 14 - Lote de bancada VI de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA VI			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	18,06	0,0212	0,6375
Starch 1500®	80,41	0,0946	2,8385
Aerosil®	1,53	0,0018	0,0540
TOTAL	100,00	0,1176	3,5300

Fonte: Autor próprio

Tabela 15 - Lote de bancada VII de cápsulas à base de *Thuja occidentalis*

LOTE DE BANCADA VII			
Amostras	%	Peso por cápsula(g)	Para 30 cápsulas(g)
Extrato de <i>Thuja</i>	19,50	0,0212	0,6375
Starch 1500®	78,40	0,0855	2,5638
Aerosil®	2,10	0,0022	0,0675
TOTAL	100,00	0,1089	3,2688

Fonte: Autor próprio

3.2.5 Ensaios Físico-químicos

Tabela 16 - Valores relativos aos ensaios físico-químicos efetuados nos lotes de bancada (I a VII).

Testes	LB I	LB II	LB III	LB IV	LB V	LB VI	LB VII	Fonte:
Peso médio da cápsula (g)	0,106	0,103	0,204	0,121	0,181	0,165	0,161	Autor
Peso médio do conteúdo (g)	0,058	0,055	0,156	0,073	0,133	0,117	0,113	
Umidade (%)	1,07	0,37	0,13	0,29	0,15	0,18	0,19	
Desintegração	-	-	-	-	-	-	12 min	

próprio

A determinação de peso médio tem com objetivo informar a homogeneidade por

unidade do lote e constitui-se numa ferramenta essencial para o controle de qualidade, podendo indicar a ineficiência do processo de pesagem e enchimento (Paludetti, 2005). Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), a variação de peso aceitável para cápsula de gelatina dura, contendo doses inferiores a 300mg, é de $\pm 10\%$, não sendo permitidas mais do que duas unidades fora dos limites especificados e nenhuma unidade acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas nos limites de variação. O peso médio do conteúdo encontrado para o LB VII (0,113g) atendeu às especificações ($0,10896g \pm 10\%$).

A desintegração é definida como o estado no qual nenhum resíduo da unidade (cápsula), salvo fragmentos da matriz de cápsulas insolúveis, permanece na tela metálica do aparelho de desintegração. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), o tempo máximo permitido para a desintegração de cápsulas duras é de 45 minutos. Este teste foi realizado apenas com o lote de bancada VII, devido a esta formulação ter sido a única a preencher corretamente todos os invólucros durante o encapsulamento. As amostras do lote VII cumpriram com as especificações do teste, sendo aprovadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, é possível concluir que o extrato seco de *T. occidentalis* possui atividade antioxidante significativa justificada por seus polissacarídeos, embora outros componentes possam ter atuado sinergicamente. O extrato seco obtido por liofilização apresentou, de forma geral, propriedades reológicas e características deficientes que dificultam sua utilização como ingrediente farmacêutico ativo no desenvolvimento de fitoterápicos; evidenciando, assim, a necessidade de intervenção tecnológica para obtenção de uma matéria-prima padronizada a partir da utilização de excipientes capazes de anular ou mesmo minimizar essas características, como o uso de adjuvantes secantes para reduzir sua alta higroscopicidade. Além disso, verificou-se também a necessidade de controle de temperatura, até aproximadamente 120°C , no processamento dessa matéria-prima vegetal; para que sua qualidade, eficácia e segurança não sejam comprometidas. Os estudos de pré-formulação levaram à definição da forma farmacêutica cápsula para tratamento antioxidante. Os resultados do controle de qualidade demonstraram que a formulação selecionada atende aos

parâmetros pré-estabelecidos, além de ser economicamente viável.

REFERÊNCIAS

ALVES, C. Q., et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>

ALVES, G. M. C. et al. Purificação e caracterização da β -lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 413-416, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000200039>

ALVES, V. M. L. et al. Co-processed extracts of *Cassia angustifolia* and *Maytenus ilicifolia* for production of high load tablets. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 510-517, May./Jun, 2011. DOI: 10.1590/S0102-695X2011005000038

ANDRADE, T. C. **Estudo de granulação por solidificação de materiais fundidos em Leito fluidizado utilizando dispersão sólida de indometacina**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2009, 92p.

BARBOSA, D. B. Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e análise preliminar da mutagenicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae). Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Programa de Pós Graduação em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, São Paulo, 2008, 64p.

BELLAMY, L. J.; NORDON, A.; LITTLEJOHN, D. Effects of particle size and cohesive properties on mixing studied by non-contact NIR. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 361, n. 1-2, p. 87-91, 2008. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.05.030

BYUNG-MAN, K.; LEE, J. E.; JANG-HYUK, A.; TAE-HONG, J. Laser diffraction particle sizing by wet dispersion method for spray-dried infant formula. **Journal of Food Engineering**, Reino Unido, v. 92, p. 324-330, 2008. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2008.12.005

CHEN, Y. An effective method for deproteinization of bioactive polysaccharides extracted from *Lingzhi* (*Ganoderma atrum*). **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 21, n. 1, p. 191-198, 2012a.

CHEN, Y. et al. Acetylation and carboxymethylation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities. **Food Chemistry**, Barking, v. 156, p. 279-288, 2014. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.01.111



DA SILVA, M. N. Desenvolvimento de comprimidos e isolamento de marcadores a partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Copaifera lagnsdorffii* Desf. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2011.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª ed. Rio de Janeiro: Editora Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 546 p.

GALLO, L., et al. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract physical properties. **Powder Technology**, Holanda, v. 208, p. 205-214, 2011. DOI:10.1016/j.powtec.2010.12.021

JIANG, B. et al. Extraction of water-soluble polysaccharide and the antioxidant activity from *Ginkgo biloba* leaves. **Medicinal Chemistry Research, Cambridge**, v. 19, p. 262-270, 2010. DOI: 10.1007/s00044-009-9189-5

JIN, L. et al. Characterization and antioxidant activity of a polysaccharide extracted from *Sarcandra glabra*. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 90, n. 1, p. 524– 532, 2012. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.05.074

LEÓN-MARTÍNEZ, F. M.; MÉNDEZ-LAGUNAS, L. L.; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, J. Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): Effects on powder properties and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 864–870, 2011. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.03.061

LUO, D. Optimization of total polysaccharide extraction from *Dioscorea nipponica* Makino using response surface methodology and uniform design. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 90, n. 1, p. 284– 288, 2012. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.05.036

MARQUES, G, S. et al. Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Bauhinia forficata* Link coletada em duas regiões brasileiras. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 33, n. 1, p. 57-62, 2012.

MARTINS, H. Impactos da densidade do excipiente padrão na formulação magistral. **Revista técnica do farmacêutico**, 2013.

MORAIS, M. L. et al. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do cerrado brasileiro. **Revista brasileira de fruticultura**, Cruz das Almas, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000200004>

NASCIMENTO, J. E. et al. Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco - Nordeste do Brasil. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 113-122, 2005.

NASER, B. et al. *Thuja occidentalis* (Arbor vitae): A Review of its Pharmaceutical, Pharmacological and Clinical Properties. **Evidence-based complementary and alternative medicine (eCAM)**, v. 2, n. 1, p. 69-78, 2005. DOI: 10.1093/ecam/neh065



ONG, M.Y. et al. Characterisation of fast dispersible fruit tablets made from green and ripe mango fruit powders. **Journal of Food Engineering**, Reino Unido, v. 125, p. 17-23, 2014. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.10.014

PALUDETTI, L. A. Controle de qualidade de cápsulas: apenas o peso médio é suficiente? **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v. 7, n. 5, p. 234-235, 2005. DOI:10.55905/cuadv16n4-025

SÁ BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Excipientes Co-processados para Compressão Direta de Comprimidos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 2, p. 304-312, 2009.

SANTANA, M. F. S., et al. Área superficial e porosidade da fibra alimentar do albedo de laranja. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 14, n. 3, p. 261-273, 2012. DOI:10.15871/1517-8595/rbpa.v14n3p261-273

SANTOS, F. L. A. Caracterização Físico-Química do Extrato Seco de *Baccharis trimera* (LESS.) DC. e do antirreumático sulfato de hidroxocloroquina como etapa de um estudo de pré-formulação. 2013. Qualificação (Doutorado acadêmico em Ciência Farmacêuticas) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2013.

SANTOS, P. B. dos. **Efeito imunomodulatório do resveratrol em células do sistema imune in vitro e na administração via oral de ovalbumina em camundongos**. 2010. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2010.

SARRAGUÇA, M. C. et al. Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Londres, v. 52, p. 484-492, 2010. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.01.038

SHEN, S. et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from leaves of *Paris polyphylla*. **Carbohydrate Polymers**, Londres, v. 104, p. 80-86, 2014. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.01.006

SILVA, A. A. Otimização do pré-tratamento ácido de torta de caroço de algodão e bagaço de malte com farinha de pupunha para produção de bioetanol de segunda geração. 2012. 99p. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, 2012.

SILVA, J. O. et al. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Sympytm officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 2, n. 16, p. 671-677, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000500014>

SILVA, R. M. F. *Peperomia pelúcida* L. (H.b.k.): obtenção tecnológica de formas



farmacêuticas. 2010. 186p. Tese (Doutorado acadêmico em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2010.

SOARES, L. A. L. et al. Efeito da Força e da Velocidade de Compressão sobre as Propriedades de Comprimidos contendo alta Concentração de Extrato Seco Vegetal. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, p. 147-154, 2003.

SUNILA, E. S.; HAMSA, T. P.; KUTTAN, G. Effect of *Thuja occidentalis* and its polysaccharide on cell-mediated immune responses and cytokine levels of metastatic tumor-bearing animals. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, n. 10, p. 1065-1073, 2011. DOI: 10.3109/13880209.2011.565351

TAN, S. et al. Inquiry of Water-Soluble Polysaccharide Extraction Conditions from Grapefruit Skin. **Engineering**, v. 3, p. 1090-1094, 2011. DOI:10.4236/eng.2011.311135

TANG Z. et al. Optimization of the technology of extracting water-soluble polysaccharides from *Morus alba* L. leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 12684-12690, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2203>

TIAN, S. et al. Orthogonal test design for optimization of the extraction of polysaccharide from *Paeonia sinjiangensis* K.Y. Pan. **Pharmacognosy Magazine**, Bangalore, v. 7, n. 25, p. 4-8, 2011. DOI:10.4103/0973-1296.75874

TUYEN, C. K.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidante properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, Londres, v. 98, p. 385–392, 2010. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2010.01.016

VICTOR, V. M.,; ROCHA, M.; DE LA FUENTE, M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. **Int Immunopharmacol**, 4: 327–347, 2004. DOI: 10.1016/j.intimp.2004.01.020

VIEIRA, A. C. Q. M. et al. Physical–chemical characterization of new anti-inflammatory agent (LPSF/GQ-130) and evaluation of its thermal compatibility with pharmaceutical excipients. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, Dordrecht, v.115, n.3, p. 2339-2349, 2013. DOI:10.1007/s10973-013-3358-y

WU, C. H. et al. Enhanced production of caftaric acid, chlorogenic acid and cichoric acid in suspension cultures of *Echinacea purpurea* by the manipulation of incubation temperature and photoperiod. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 36, n. 3, p. 301–303, 2007. DOI:10.1016/j.bej.2007.02.024

YE, C. L.; JIANG, C. J. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L. by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 84, n.1, p. 495–502, 2011. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.12.014



Conflitos de Interesse

Os autores declaram que não houve conflitos de interesse durante a realização do presente estudo.