



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

LARISSA MORGANA DOS SANTOS MENDES

**OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA PARA TRATAMENTO DA  
CANDIDÍASE SISTÊMICA A BASE DE *Thuja occidentalis* Linn (CUPRESSACEAE)**

Recife

2019

LARISSA MORGANA DOS SANTOS MENDES

**OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA PARA TRATAMENTO DA  
CANDIDÍASE SISTÊMICA A BASE DE *Thuja occidentalis* Linn (CUPRESSACEAE)**

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

**Área de concentração:** Farmácia

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Recife

2019

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

M538o Mendes, Larissa Morgana dos Santos  
Obtenção de forma farmacêutica sólida para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae) / Larissa Morgana dos Santos Mendes. – 2019.  
101 f. : il. fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2019.  
Inclui referências e apêndices.

1. Fitoterapia. 2. *Thuja*. 3. Tecnologia farmacêutica. 4. Análise fatorial. 5. Extratos vegetais. I. Rolim Neto, Pedro José (orientador). II. Título.

617.6 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2019 - 270)

LARISSA MORGANA DOS SANTOS MENDES

**OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA PARA TRATAMENTO DA  
CANDIDÍASE SISTÊMICA A BASE DE *Thuja occidentalis* Linn (CUPRESSACEAE)**

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

Aprovada em: 13/03/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosali Maria Ferreira da Silva (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Leslie Raphael de Moura Ferraz (Examinador Externo)  
Centro Universitário Maurício de Nassau

---

Prof. Dr. Alexandre Couto Carneiro Vieira (Examinador Externo)  
Universidade do Porto

---

Prof. Dr. José Lourenço de Freitas Neto (Examinador Externo)  
Instituto de Criminalística de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha mãe, irmão e namorada, por, no meio das incertezas, trazerem-me inspiração.

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, pelo seu carinho, amor, paciência e por todos os esforços que ela fez e faz para que eu possa alcançar meus objetivos. Te amo incondicionalmente.

A meu irmão Guilherme, por toda alegria e compreensão que você sempre me deu. Você é meu amorzinho!

A minha namorada, Christianne Moraes, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos de felicidade e adversidade e que sempre traz consigo um coração cheio de amor e bondade para sempre ser fonte de paz.

A minha avó, Maria Olívia, que pode esquecer dos acontecimentos recentes, mas que sempre me dá aquele colinho amoroso de avó.

À toda a minha família por todo o otimismo, todos os bons conselhos e momentos de descontração.

A meu orientador, Prof. Pedro José Rolim Neto, por sempre ser uma fonte de inspiração e por nunca ter desistido de mim, isto foi fundamental.

Ao pessoal da família LTM, em especial, Paulo e Cybelly, vocês sempre me fizeram continuar. A vocês toda a minha gratidão.

Aos meus amigos, Rapha e Sal, obrigada pelo carinho, ensinamentos, amizades, alegria, força e incentivo.

A minha mais que querida, mana K, você é luz a todos que toca.

À FACEPE, pelo apoio financeiro durante a elaboração desse trabalho;

A todos, meus sinceros agradecimentos!

“Meu negócio é a alma, mas ela, sábia, nem sempre e quase nunca se deixa aprisionar”.  
(BISILLIAT, 2010)

## RESUMO

Considerada a principal infecção fúngica oportunista, a candidíase, pode ser causada por diversas espécies de *Candida*. Possuindo uma grande variabilidade entre sua interação com o hospedeiro e a microbiota autóctone, pode expressar desde uma relação de comensalismo a uma doença sistêmica fatal. Entre os principais grupos de antifúngicos utilizados para infecções por *Candida* destacam-se os polienos, os azólicos e as equinocandinas. No entanto, o uso rotineiro de agentes antifúngicos empiricamente tem sido associado ao desenvolvimento de espécies resistentes e aumentado as infecções por espécies de *Candida ssp.* Novos compostos antifúngicos têm sido propostos como alternativas para minimizar a ação tóxica causada pelas drogas convencionais, nesse contexto, a espécie *Thuja occidentalis*, apresenta potencial farmacológico antifúngico comprovado diante de distintas espécies de *Candida*. Desta o trabalho teve por objetivo a obtenção formas farmacêuticas sólidas produzidas com o extrato padronizado de *T. occidentalis*. Foram realizados ensaios obtenção e controle de qualidade, de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, que asseguraram as características do extrato fluido para os demais processos. O extrato fluido foi submetido ao processo de secagem por *spray-dryer* com quantidades diferentes de excipientes de secagem (20 e 30 % de dióxido de silício). Os lotes de extrato seco obtidos exibiram teores frente ao marcador utilizado de  $85,4880 \pm 0,1182$  e  $102,8905 \pm 0,0542$  % e rendimentos de  $12,25 \pm 0,0833$  % e  $17,33 \pm 0,1114$  %, devido ao baixo rendimento o processo foi descontinuado. O extrato fluido foi incorporado em pellets utilizando a técnica de extrusão e esferonização. Utilizando a técnica de planejamento fatorial fracionado, 20 lotes de *pellets* foram obtidos e caracterizados exibindo umidades relativas próximas a 5 % e doseamento entre 80 %. Os demais resultados das técnicas de caracterização foram utilizados para obtenção de uma análise de superfície de resposta e obtenção de formulas que pudessem prever quais os melhores parâmetros da formulação a serem utilizados. Por fim, foi desenvolvido um programa com a linguagem Python para análise e inferência dos melhores parâmetros. Conclui-se que a técnica utilizada demonstrou produzir pellets com boas características, ademais o programa desenvolvido provou ser capaz de prever os parâmetros de uma formulação ideal.

Palavras-chave: Fitoterapia. *Thuja*. Tecnologia farmacêutica. Análise fatorial. Extratos vegetais.

## ABSTRACT

Considered the main opportunistic fungal infection, candidiasis, can be found by several species of *Candida*. A large variation in its interaction with the host and an autochthonous microbiota may be a reason for a commensal relation to a fatal systemic disease. Among the major groups of antifungal agents used for *Candida* infection are polyenes, azole and echinocandins. However, the use of antifungal agents has been empirically associated with the development of resistant and intense species such as infections by species of *Candida ssp.* Anti-allergic antibodies have been proposed as alternatives to minimize the toxic action of causing the conventional drugs, a context, a potential *Thuja occidentalis*, has proven antifungal pharmacological potential before different *Candida* species. In this way, the pharmaceutical forms of production are used with the standardized extract of *T. occidentalis*. The clinical trials were performed and quality controlled, according to the Brazilian Pharmacopoeia 5th edition, which ensured the characteristics of the liquid extract for the other processes. The fluid extract was subjected to the spray drying process with different types of drying excipients (20 and 30% silicon dioxide). The extracting batches are given in accordance with  $85.4880 \pm 0.1182$  and  $102.8905 \pm 0.0542\%$  and recipes of  $12.25 \pm 0.0833\%$  and  $17.33 \pm 0.11114\%$ , the process was discontinued. The fluid extract was incorporated into pellets using an extrusion and spheronization technique. Using a fractional factorial planning technique, 20 batches of pellets were partially exported and 80%. Tool consumption was used to obtain a response analysis and the formulas that could be used for the specification used. Finally, a program was developed with the Python language for analysis and inference of the best parameters. It is concluded that the techniques demonstrated produce pellets with good characteristics, in addition the developed program is able to predict the parameters of an ideal formulation.

Keywords: Phytotherapy. *Thuja*. Pharmaceutical technology. Statistical factor analysis. Plant extracts.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 1</b> - Classificação científica da <i>Thuja occidentalis</i> .....	24
<b>Figura 1</b> - <i>Thuja occidentalis</i> Linn.....	25
<b>Figura 2</b> - Operações do processo de peletização (a) e <i>pellets</i> (b).....	33
<b>Figura 3</b> - Esquema de mecanismo de esferonização segundo Rowe.....	34
<b>Figura 4</b> - Classificação do tamanho de cápsulas.....	37
<b>Quadro 2</b> - Características dos mecanismos de fisissorção e quimissorção.....	40
<b>Figura 5</b> - Classificação da IUPAC dos isoterma de adsorção tipo I ao VI.....	42
<b>Figura 6</b> - Representação do modelo de Langmuir (a) e BET (b).....	46
<b>Figura 7</b> - Representação 3D da função ( 17 ).....	48
<b>Figura 8</b> - Gráfico de contorno de superfície de resposta da função ( 17 ).....	48
<b>Figura 9</b> - Planejamento fatorial de $2^2$ (a); Experimento central composto (b).....	52
<b>Figura 10</b> - Processo de obtenção de <i>pellets</i> .....	56
<b>Figura 11</b> - Cromatograma da quercitrina.....	62
<b>Figura 12</b> - Representação gráfica da curva padrão da quercitrina.....	62
<b>Figura 13</b> - Análise da distribuição granulométrica por tamisação.....	67
<b>Figura 14</b> - Espectro de absorção FTIR-MID da MCC.....	68
<b>Figura 15</b> - Espectro de absorção FTIR-MID dos <i>pellets</i> .....	69
<b>Figura 16</b> - Espectros de FTIR-MID da MCC versus <i>pellets</i> .....	69
<b>Figura 17</b> - Espectro de absorção FTIR-MID da Quercitrina.....	70
<b>Figura 18</b> - Isotermas de adsorção dos lotes de <i>pellets</i> pelo modelo de BET.....	71
<b>Quadro 3</b> - Nível de influência nas variáveis dependentes.....	75
<b>Figura 20</b> - Cubo de densidade para o doseamento.....	76
<b>Figura 21</b> - Cubo de densidade para a umidade.....	76
<b>Figura 22</b> - Cubo de densidade para o tamanho de poro.....	76
<b>Figura 23</b> - Cubo de densidade para a área de superfície.....	77
<b>Figura 24</b> - Cubo de densidade para o tamanho do <i>pellets</i> .....	77
<b>Figura 25</b> - <i>Pellets</i> do extrato de <i>Thuja occidentalis</i> veiculados em cápsula.....	78

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Parâmetros físico-químicos do extrato fluido de <i>Thuja occidentalis</i> .....	60
<b>Tabela 2</b> - Dados das leituras cromatográficas dos extratos fluidos de <i>Thuja occidentalis</i> ..	63
<b>Tabela 3</b> - Análises dos extratos secos com diferentes proporções de SiO <sup>2</sup> .....	63
<b>Tabela 4</b> - Fatores e níveis variados na produção dos lotes de <i>pellets</i> .....	65
<b>Tabela 5</b> - Análise de doseamento dos <i>pellets</i> por CLAE.....	66
<b>Tabela 6</b> - Análise BET lotes de <i>pellets</i> produzidos.....	72
<b>Tabela 7</b> - Análises térmicas.....	74

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
ASCASCASC BET	Brunauer, Emmett e Teller
CIMs	Concentrações inibitórias mínimas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CV	Coefficiente de variação
dp	Desvio-padrão
FAR	Infravermelho distante
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IV	Infravermelho
LA	Líquido de alimentação
MCC	Celulose microcristalina
MID	Infravermelho médio
MSR	Metodologia de superfície de resposta
NIR	Infravermelho próximo
pH	Potencial hidrogeniônico
R <sup>2</sup>	Coefficiente de linearidade
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rt	Tempo de retenção
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SiO <sub>2</sub>	Dióxido de silício
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Termogravimetria

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1	<i>OBJETIVO GERAL.....</i>	16
2.2	<i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</i>	16
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
3.1	<i>CANDIDÍASE.....</i>	17
3.2	<i>PLANTAS MEDICINAIS, FITOTERÁPICOS E REGULAMENTAÇÃO.....</i>	21
3.3	<i>Thuja occidentalis LINN.....</i>	24
3.4	<i>PRODUÇÃO DE FITOTERÁPICOS.....</i>	27
<b>3.4.1</b>	<b>Produção de extratos secos pela técnica de <i>spray-dryer</i>.....</b>	<b>27</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Produção de <i>pellets</i>.....</b>	<b>31</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Cápsulas duras.....</b>	<b>35</b>
3.5	<i>CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS.....</i>	37
<b>3.5.1</b>	<b>Espectroscopia de absorção no Infravermelho.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Termogravimetria.....</b>	<b>38</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Teoria de Adsorção Multimolecular.....</b>	<b>39</b>
3.6	<i>DESING EXPERIMENTAL.....</i>	47
<b>3.6.1</b>	<b>Metodologia de superfície de resposta.....</b>	<b>47</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Método dos mínimos quadrados.....</b>	<b>50</b>
<b>3.6.3</b>	<b>Experimento central composto.....</b>	<b>51</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>54</b>
4.1	<i>MATERIAL VEGETAL.....</i>	54
4.2	<i>PREPARAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCÓLICO DE Thuja occidentalis.....</i>	54
<b>4.2.1</b>	<b>Controles de qualidade do extrato hidroalcoólico.....</b>	<b>54</b>
4.2.1.1	<i>Determinação do pH.....</i>	54
4.2.1.2	<i>Determinação da densidade relativa.....</i>	55
4.2.1.3	<i>Determinação do grau alcoólico.....</i>	55
4.2.1.4	<i>Determinação do resíduo seco.....</i>	55
4.3	<i>OBTENÇÃO DO EXTRATO SECO DE Thuja occidentalis.....</i>	56
<b>4.3.1</b>	<b>Controles de qualidade aplicáveis ao extrato seco.....</b>	<b>56</b>
4.3.1.1	<i>Avaliação do Rendimento do Processo de Secagem.....</i>	56

4.4	<i>OBTENÇÃO DE PELLETS POR EXTRUSÃO E ESFERONIZAÇÃO.....</i>	56
4.5	<i>DOSEAMENTO POR CLAE.....</i>	57
4.5.1	<b>Condições cromatográficas.....</b>	<b>57</b>
4.5.2	<b>Preparação da fase móvel.....</b>	<b>58</b>
4.5.3	<b>Preparação das amostras.....</b>	<b>58</b>
4.5.4	<b>Preparação da solução padrão.....</b>	<b>58</b>
4.6	<i>ANÁLISE GRANULOMÉTRICA POR TAMISAÇÃO.....</i>	59
4.7	<i>ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO FTIR-MID.....</i>	59
4.8	<i>ANÁLISE TÉRMICA.....</i>	59
4.8.1	<b>Perfil térmico.....</b>	<b>59</b>
4.8.2	<b>Teor de umidade.....</b>	<b>59</b>
4.9	<i>MÉTODO DE BET.....</i>	60
4.10	<i>PLANEJAMENTO FATORIAL.....</i>	60
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
5.1	<i>OBTENÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO E CONTROLES APLICÁVEIS.....</i>	61
5.2	<i>SECAGEM DE EXTRATO POR SPRAY-DRYER E CONTROLES APLICÁVEIS.....</i>	64
5.3	<i>OBTENÇÃO DE PELLETS E CONTROLES APLICÁVEIS.....</i>	66
5.3.1	<b>Doseamento dos <i>pellets</i>.....</b>	<b>67</b>
5.3.2	<b>Análise granulométrica.....</b>	<b>68</b>
5.3.3	<b>Análises por espectroscopia FTIR-MID.....</b>	<b>68</b>
5.3.4	<b>Análise de área superficial e poros pelo método de BET.....</b>	<b>72</b>
5.3.5	<b>Análises térmicas.....</b>	<b>74</b>
5.4	<i>MODELAGEM E OTIMIZAÇÃO DE OBTENÇÃO DE PELLETS.....</i>	76
6	<i>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</i>	80
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>81</b>
	<b>APÊNDICE A - CURVAS TG/DTA DOS LOTES DE PELLETS.....</b>	<b>94</b>
	<b>APÊNDICE B - CURVAS TG/DTA DO MCC.....</b>	<b>101</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Considerada a principal infecção fúngica oportunista, a candidíase pode ser causada por diversas espécies de *Candida*. Possuindo uma grande variabilidade entre sua interação com o hospedeiro e a microbiota autóctone, pode expressar desde uma relação de comensalismo a uma doença sistêmica fatal (FURLANETO-MAIA et al., 2007).

Desequilíbrios da microbiota podem favorecer diferentes quadros clínicos de candidíase, especialmente em pacientes acometidos por neoplasias, submetidos a tratamentos quimioterápicos e radioterápicos, transplantados, diabéticos, acometidos pelo vírus da imunodeficiência humana, e ainda internados por um período prolongado, sobretudo em unidades de terapia intensiva (MICHALOPOULOS; GEROULANOS; MENTZELOPOULOS, 2003).

Suas manifestações clínicas podem ser aguda, crônica, superficial, sistêmica ou disseminada em múltiplos órgãos (ANAISSIE; MCGINNIS; PFALLER, 2009). As formas sistêmicas são conhecidas por acometerem as vísceras como resultado de disseminação hematogênica e se restringe a pacientes imunocomprometidos, sobretudo os críticos (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003), relatando-se percentuais de 20 a 30 % de candidíase como causa de morte em pacientes portadores de leucemia aguda, 10 a 15% dos portadores de linfoma, 5% dos com tumores sólidos e 21 a 57% dos pacientes que realizaram transplante de medula e outras condições clínicas graves (KUMAR et al., 2005).

Nesse contexto, a incidência de infecções fúngicas oportunistas tem aumentado concomitantemente com o surgimento de cepas resistentes a terapêutica antifúngica (BALKIS et al., 2002). A resistência clínica frequentemente está associada a concentrações inibitórias mínimas (CIMs) elevadas (SANGLARD, 2002), sendo as principais causas de esquema terapêutico ineficaz a utilização de doses inadequadas, interações medicamentosas e neutropenia grave (CANUTO; RODERO, 2002).

Entre os principais grupos de antifúngicos utilizados na terapêutica, destacam-se os polienos que promovem alterações em nível de membrana interagindo com o ergosterol presente na célula fúngica, sendo representantes desse grupo a nistatina e a anfotericina B com suas formulações lipídicas; os azólicos que inibem a síntese do ergosterol, representados pelo cetoconazol, fluconazol, voriconazol e mais recentemente pelo posaconazol; e as equinocandinas de que fazem parte a caspofungina, anidulafungina e micafungina, atuando na parede celular fúngica (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

No entanto, o uso rotineiro de agentes antifúngicos empiricamente tem sido associado ao desenvolvimento de espécies resistentes e aumentado as infecções por espécies de *Candida ssp.*. Novos compostos antifúngicos têm sido propostos como alternativas para minimizar a ação tóxica causada pelas drogas convencionais, a partir de pesquisas com substâncias popularmente conhecidas por suas propriedades terapêuticas (MENEZES, 2005), as espécies vegetais vigoram como uma das principais fontes de agentes terapêuticos inovadores para diversas condições, incluindo as doenças infecciosas (COS et al., 2006).

Pertencente a um pequeno gênero da família Cupressaceae composta atualmente por cinco espécies (TSIRI et al., 2009), a *Thuja occidentalis* é uma conífera de composição fitoquímica representada por uma série de compostos e na literatura podem ser encontrados relatos de atividade antifúngica *in vitro* contra isolados de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* (GUPTA; SRIVASTAVA, 2002), *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* (TSIRI et al., 2009).

Diante do potencial farmacológico antifúngico apresentado pela *Thuja occidentalis* frente a distintas espécies de *Candida*, esse trabalho visa o desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida, a partir do extrato fluido previamente padronizado da planta, elaboradas de forma racional para aplicação sistêmica, levando em consideração as RDC n° 17/2010 e 14/2010 (ANVISA) que regulamentam a produção e o registro de produtos fitoterápicos, com a estabilidade, eficácia e segurança requerida para sua utilização.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver forma farmacêutica para via oral, empregando o extrato de *Thuja occidentalis*, visando uma alternativa terapêutica para o tratamento de infecções sistêmicas por *Candida*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar levantamento bibliográfico sobre a planta, técnica de secagem e esferonização;
- Obter o extrato etanólico de *Thuja occidentalis* e realizar os controles de qualidade aplicáveis;
- Selecionar e padronizar, através de planejamento fatorial, o processo de extrusão e esferonização, para obtenção de *pellets*;
- Desenvolver um programa em linguagem Python para análise e otimização do processo de obtenção de *pellets*.
- Obter extratos secos através do processo de secagem por *spray dryer*;
- Adaptar a metodologia previamente desenvolvida e validada de doseamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato fluido para o extrato vegetal seco, *pellets* e para as formas farmacêuticas desenvolvidas.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 CANDIDÍASE

Considerada a principal infecção fúngica oportunista, a candidíase ou candidose é uma micose de espectro clínico variável que pode causar manifestações agudas, crônicas, superficiais ou sistêmicas, incluindo desde um comprometimento limitado ao tecido mucocutâneo a infecções invasivas extremamente graves (FURLANETO-MAIA et al., 2007; PEIXOTO et al., 2014).

Seu agente etiológico são fungos do gênero *Candida* e, apesar de existirem mais de 200 espécies relacionadas a esse gênero, somente em torno de 10 espécies encontram-se diretamente correlacionadas à patologia nos seres humanos (BARBEDO; SGARBI, 2010; BARBOSA; FARIA, 2014; CASTRO et al., 2006; PEIXOTO et al., 2014). Segundo Sidrim e Rocha (2004), o gênero *Candida* é o principal entre as leveduras patogênicas, sendo classificadas taxonomicamente no reino *Fungi*, divisão *Eumycota*, subdivisão *Deuteromycotina*, classe *Blastomycetes*, família *Cryptococcaceae*.

Ademais, avanços nas técnicas de diagnóstico, assim como avanços na medicina e farmácia também facilitaram os processos de identificação e ajudaram a aumentar o número de casos de fungemias no mundo (MARTIN et al., 2003).

Para que o diagnóstico correto do agente etiológico seja alcançado de forma eficaz, deve-se garantir a qualidade das amostras que serão submetidas a análise laboratorial. A coleta de material para o diagnóstico é feita de acordo com a sintomatologia clínica, onde são recolhidas amostras de secreção de mucosa oral, vaginal ou anal, fragmentos de pele e unhas, sangue, urina, fezes, entre outros. As amostras devem ser adequadamente coletadas, acondicionadas e processadas garantindo um correto diagnóstico (ANVISA, 2004).

Alguns laboratórios de micologia não fazem a identificação por espécie e limitam seus testes apenas a identificação do gênero do microrganismo em análise, entretanto os principais testes utilizados para o diagnóstico da *Candida* spp., independente da amostra utilizada, são: (i) exame direto; (ii) cultura em ágar Sabouraud e ágar Mycosel; (iii) prova do tubo germinativo; (iv) prova do microcultivo; (v) Chromagar *Candida*; (vi) provas bioquímicas (auxanograma e zimograma); (vii) sistemas manuais e automatizados baseados em provas de assimilação de carboidratos (BARBEDO; SGARBI, 2010).

Possuindo uma grande variabilidade de interação com o hospedeiro e a microbiota autóctone, podem expressar desde relações de comensalismo a uma doença sistêmica fatal MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

(FURLANETO-MAIA et al., 2007). Comumente espécies de *Candida* spp. residem como comensais fazendo parte da microbiota normal de indivíduos saudáveis (PEIXOTO et al., 2014).

Apesar de serem microrganismos normais na flora humana e tipicamente encontrados habitando o trato gastrointestinal, o trato geniturinário e pele (CASTRO et al., 2006), sua patogenicidade é associada a alterações (aumento da quantidade) na pele e mucosas, ou seja, alterações nos sítios normais de colonização de *Candida* (MCCARTY; PAPPAS, 2016).

As leveduras desse gênero possuem grande importância no meio médico, devido à alta frequência com que infectam e colonizam o ser humano, podendo representar 80% das infecções hospitalares causadas por fungos (BARBEDO; SGARBI, 2010; COLOMBO; GUIMARÃES, 2003). Suas manifestações clínicas podem ser divididas em cutâneo-mucosas e sistêmicas.

Apesar das infecções por cândida serem relatadas desde os tempos de Hipócrates, os casos de infecção invasiva por esse gênero eram escassos até metade do século XX (CASTRO et al., 2006), contudo, estudos mostram que nos últimos 10 anos houve um aumento no número de infecções invasivas causadas por agentes fúngicos (YAPAR, 2014).

Em 2008, Zilberberg e colaboradores, relataram que em 2000 a incidência de candidemia na população dos Estados Unidos era de 3,65 por 100.000 habitantes e no ano de 2005 houve um aumento considerado estatisticamente significativo onde os valores passaram a ser de 5,56 por 100.000. Os mesmos autores documentaram um aumento de 50% no número de hospitalizações por candidemia no mesmo período de tempo.

Fungos do gênero *Candida* normalmente possuem baixa virulência e convivem “pacificamente” com o hospedeiro em uma relação de comensalismo, mas em condições favoráveis assumem um papel mais agressivo/patogênico tomando vantagem dos distúrbios do sistema imunológico do hospedeiro (FURLANETO-MAIA et al., 2007).

O aumento na frequência de infecções fúngicas invasivas cresce constantemente devido a fatores como imunossupressão causada pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), indução da imunossupressão em pacientes transplantados ou sob tratamento quimioterápico com antitumorais. Concomitantemente, o uso não racional de antimicrobianos de largo espectro, uso de corticoides, a prática de procedimentos médicos invasivos (cirurgia, nutrição parenteral e hemodiálise), através do uso de cateteres e o envelhecimento populacional também agem como fatores chave para o estabelecimento de infecções por *Candida ssp.*(BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

Desta forma pode-se inferir que a melhoria em técnicas de diagnóstico assim como os avanços obtidos em áreas médicas e farmacêuticas, contribuem abertamente para o aumento no número de casos por infecções oportunistas.

Apesar da *Candida albicans* ser a mais frequente espécie que coloniza e torna patogênica em indivíduos, cepas de *Candida* não-*albicans* são cada vez mais comuns em processos de infecção.

Relatos progressivos de espécies emergentes de *Candida spp.* como patogênicas causando infecções superficiais e/ou sistêmicas são constantes, contudo, as principais espécies de interesse clínico e que representam cerca de 95% das infecções por esse gênero são: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. krusei* (BARBEDO; SGARBI, 2010; BARBOSA; FARIA, 2014; PEIXOTO et al., 2014; YAPAR, 2014).

Segundo Maródi e colaboradores (2012), em um estudo de prevalência com 4504 pacientes para infecções associadas a cuidados em saúde, 4,0% (n = 504) destes apresentaram pelo menos 1 tipo de infecção. As mais comuns foram Pneumonia e infecções associadas ao local da cirurgia, seguidos por infecções do trato gastrointestinal, trato urinário e sanguíneas. Segundo esse mesmo estudo, a *Candida spp.*, encontra-se em sétimo lugar (n = 32) no ranking como agente etiológico associado aos cuidados em saúde, além de representarem os principais agentes na indução de infecções sanguíneas.

Todo o sistema imune encontra-se envolvido na resposta a infecções por *Candida ssp.* Os linfócitos funcionam de forma crucial ao desenvolvimento da imunidade mediada por células e pela prevenção do acometimento das mucosas. Deficiências associadas a células *T-helper* prejudicam a resposta imune levando a um aumento da colonização, resultando em doença. Monócitos e neutrófilos são responsáveis pela destruição das pseudohifas e blastosporos, conseqüentemente, pacientes com disfunção neutrofílica ou leucopenia tem uma propensão ao desenvolvimento de candidemia e outras formas de cândida invasiva. Imunoglobulinas e complementos também são necessários para uma ótima opsonização e morte intracelular de organismos, assim, a deficiência destes componentes pode ser associada a mais complicações (MCCARTY; PAPPAS, 2016).

Desequilíbrios da microbiota podem favorecer diferentes quadros clínicos de candidíase, especialmente em pacientes acometidos por neoplasias, submetidos a tratamentos quimioterápicos e radioterápicos, transplantados, diabéticos, acometidos pelo vírus da imunodeficiência humana, e ainda internados por um período prolongado, sobretudo em unidades de terapia intensiva (MICHALOPOULOS; GEROUANOS; MENTZELOPOULOS, 2003).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

Suas manifestações clínicas podem ser aguda ou crônica, superficial, sistêmica ou disseminada em múltiplos órgãos (ANAISSIE; MCGINNIS; PFALLER, 2009). As formas sistêmicas são conhecidas por acometerem as vísceras como resultado de disseminação hematogênica e, restringe-se a pacientes imunocomprometidos, sobretudo os críticos (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003), relatando-se percentuais de 20 a 30 % de candidíase como causa de morte em pacientes portadores de leucemia aguda, 10 a 15% dos portadores de linfoma, 5% dos com tumores sólidos e 21 a 57% dos pacientes que realizaram transplante de medula e outras condições clínicas graves (KUMAR et al., 2005).

De acordo com Alberth e colaboradores (2006), a colonização orofaríngea por espécies de *Candida* aumentam o risco de infecções sistêmicas, principalmente se houverem processos de desenvolvimento de úlceras durante episódios neutropênicos.

O mesmo estudo demonstrou que pacientes com câncer submetidos a tratamentos com quimioterápicos e apresentando quadros de neutropenia desenvolveram colonização patogênica da cavidade oral por cepas de *Candida albicans* e não albicans com proeminente riscos de evolução para infecções sistêmicas (ALBERTH et al., 2006).

A virulência das leveduras de cândida é um fator expresso geneticamente pelo microrganismo, mas pode ser avaliado quando estes são submetidos a condições que favorecem seu desenvolvimento, como teor nutricional e temperatura adequados e a uma atmosfera de oxigênio. Estas condições demonstraram ser específicas para cada microrganismo e podem variar intra e interespecificamente (LACAZ et al., 2002), logo, a epidemiologia de *Candida spp.* varia de acordo com a região demográfica, com as características do grupo de indivíduos estudado e com o sítio e causas da infecção (FURLANETO-MAIA et al., 2007).

Nesse sentido, as leveduras podem formar agregados unicelulares gerando biofilmes multicelulares que se aderem a superfícies em resposta a uma variedade de condições, incluindo alta densidade celular, privação de nutrientes e estresse físico ambiental (O'TOOLE; KAPLAN; KOLTER, 2000).

A formação desse agregado na superfície de dispositivos invasivos como cateteres e sondas estão relacionadas a infecções causadas por cândida, onde as células que constituem o biofilme apresentam características fenotípicas diferentes das células em suspensão, tais como aumento de resistência às defesas do hospedeiro e aos antifúngicos (DOUGLAS, 2003; KUHN et al., 2002; RAMAGE et al., 2001).

Nesse contexto, a incidência de infecções fúngicas oportunistas tem aumentado concomitantemente com o surgimento de cepas resistentes a terapia antifúngica (BALKIS et MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

al., 2002). A resistência clínica frequentemente está associada a concentrações inibitórias mínimas (CIMs) elevadas (SANGLARD, 2002), sendo as principais causas de esquema terapêutico ineficaz a utilização de doses inadequadas, interações medicamentosas e neutropenia grave (CANUTO; RODERO, 2002).

Entre os principais grupos de antifúngicos destacam-se os polienos que promovem alterações em nível de membrana interagindo com o ergosterol presente na célula fúngica. Sendo representantes desse grupo temos a anfotericina B e suas formulações lipídicas e a nistatina; os azólicos que inibem a síntese do ergosterol, representados pelo cetoconazol, fluconazol, voriconazol e, mais recentemente, pelo posaconazol; e as equinocandinas de que fazem parte a caspofungina, anidulafungina e micafungina, atuando na parede celular fúngica (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004).

Apesar do melhor método de tratamento ser a prevenção da colonização e controle de infecções locais, evitando a candidíase sistêmica (ALBERTH et al., 2006), até o momento, anfotericina B e fluconazol são as duas drogas mais comumente utilizadas para o tratamento de infecções invasivas por leveduras do gênero *Candida*. No entanto, o uso rotineiro de agentes antifúngicos empiricamente tem sido associado ao desenvolvimento de espécies resistentes e aumento das infecções por *Candida ssp*. Estimando-se que cerca de 10% dos isolados de *Candida albicans* provenientes de amostras de sangue são resistentes ao fluconazol (FERREIRA; RAGAZZINI; ANDRADE, 2012).

Novos compostos antifúngicos têm sido propostos como alternativas para minimizar a ação tóxica causada pelas drogas convencionais. A partir de pesquisas com substâncias popularmente conhecidas por suas propriedades terapêuticas (MENEZES, 2005), as espécies vegetais vigoram como uma das principais fontes de agentes terapêuticos inovadores para diversas condições, incluindo as doenças infecciosas (COS et al., 2006).

### 3.2 PLANTAS MEDICINAIS, FITOTERÁPICOS E REGULAMENTAÇÃO

A utilização de plantas no tratamento, cura e prevenção de enfermidades é uma prática milenar que possui caráter sociocultural e teve sua construção baseada na prática do senso comum. Sua utilização evoluiu ao longo dos séculos como parte essencial das civilizações e representam um rico patrimônio cultural e científico.

O uso de plantas medicinais no combate a doenças foi revelado as pessoas de forma empírica, através de experimentação, as primeiras civilizações perceberam que algumas plantas, em sua essência, possuíam poderes curativos (BADKE et al., 2011).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

No Brasil, a construção da sabedoria médica popular baseou-se na miscigenação essencialmente de conhecimentos indígenas com influências europeias e africanas, gerando uma diversidade de informações sobre as plantas e suas indicações medicinais que seriam transmitidas através de gerações (REZENDE; COCCO, 2002).

Com os avanços ocorridos no âmbito das ciências da saúde, novas maneiras de tratar e curar doenças foram surgindo, como o uso dos medicamentos industrializados. Como exemplo desde avanço, temos, em 1987, um grande marco no advento da indústria farmacêutica: o surgimento da primeira droga sintética a partir do ácido acetilsalicílico extraído das cascas do salgueiro (*Salix sp.*), a aspirina. Esta criação levou a uma era dominada pela indústria farmacêutica, apesar da utilização medicinal do salgueiro remeter há mais de 6000 anos atrás (CARMONA; PEREIRA, 2013).

Tal criação reduziu a utilização de plantas medicinais por parte da população e os medicamentos industrializados tornaram-se mais comuns na vida das pessoas. Profissionais de saúde e campanhas publicitárias dos grandes laboratórios farmacêuticos contribuíram para uma quebra da conexão entre plantas e saúde humana, tornando a base da medicina moderna a utilização de terapias mono-droga com insumos farmacêuticos ativos (IFAs) essencialmente de origem semissintética ou sintética (BADKE et al., 2012; RASKIN; RIPOLL, 2004).

Além disso, no século XX, houve uma intensa “desqualificação” do saber popular quando comparado ao saber científico. Assim, sua indicação por pessoas leigas, e até mesmo por profissionais de saúde, foi proibida (FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014). Essa desqualificação foi fundamentada na suposta inferioridade da eficácia e segurança da planta medicinal em comparação ao medicamento industrializado, além de representar interesses mercantilistas (FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Em contrapartida, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) entre 70-95 % da população mundial e 80 % dos países em desenvolvimento utilizam a medicina tradicional para o atendimento primário à saúde, onde 85 % se dá através do uso de plantas e de seus extratos (CARMONA; PEREIRA, 2013; XAVIER; KANNAN; AUXILIA, 2015).

Desta forma, a utilização de plantas com fins terapêuticos é uma prática popular que persiste até os dias atuais tanto por opções pessoais quanto pelas ainda existentes dificuldades de acesso ao serviço básico de saúde. Ademais, as plantas medicinais são tidas por uma grande parcela da população como uma alternativa aos medicamentos alopáticos, que são considerados mais caros e “agressivos” ao organismo e, assim, as plantas medicinais se fazem chamativas por trazerem as vantagens do fácil acesso e baixo custo (SANTOS et al., 2011).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

Ao longo dos últimos anos tem-se observado uma alteração no perfil da busca pela saúde por parte da população. Essencialmente, procura-se uma nova maneira de enxergar os modelos de cuidado e, desta forma, os produtos de origem natural passaram a ser tidos como mais saudáveis. Houve, também, uma intensificação na procura dentro do âmbito de saúde por práticas medicinais alternativas e pela utilização de plantas com propriedades medicinais, assim como por fitoterápicos (BADKE et al., 2011).

Consequentemente, essa nova demanda populacional refletiu no mercado, que passou a exigir o aparecimento de medicamentos de maior qualidade e o desenvolvimento de novos produtos de origem vegetal.

Da mesma forma, dentro do meio acadêmico científico também houve modificações nos assuntos de interesse na pesquisa. Uma forte motivação para a retomada do uso de extratos de plantas e substâncias isoladas destas, em pesquisas, e a diversidade estrutural dos produtos naturais que, além de guardar em sua complexidade atividades farmacológicas ainda não exploradas, servem de inspiração para a síntese e semissíntese de moléculas (BARATA, 2005).

Entretanto, possuir origem natural não é algo diretamente relacionado à segurança e eficácia terapêutica, na verdade, este é um pensamento puramente popular. Obviamente, existem fitoterápicos seguros e eficazes, mas isto não é uma premissa.

O aumento da busca popular por esses medicamentos fez dos fitomedicamentos um mercado em expansão. Contudo, todo crescimento de mercado deve ser acompanhado paralelamente pelo aumento da qualidade, e, se tratando de produtos direcionados à saúde, este aumento da qualidade deve estar diretamente relacionado ao aumento da eficácia e eficiência terapêutica e com a instituição de controles de qualidades mais rígidos.

Acompanhando toda essa tendência mercadológica e necessidade do surgimento de novos medicamentos para o tratamento de patologias que possuam “dificuldade” toxicológicas, farmacológicas, técnicas na produção e utilização dos medicamentos, o governo brasileiro na perspectiva de colaborar com o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas e favorecer o uso racional de medicamentos fitoterápicos, promover o uso sustentável da biodiversidade, desenvolvimento da cadeia produtiva da indústria nacional, além de reduzir os custos do Ministério da Saúde juntamente ao Sistema Único de Saúde (SUS) lançou, entre outras medidas, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos que define e pactua com as ações que visam o uso de plantas medicinais e fitoterápicos no processo de atenção à saúde, respeitando desde o conhecimento tradicional até o uso da biodiversidade do país (BRASIL, 2006).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

Portanto, pesquisas que validem as propriedades medicinais de plantas, baseado no conhecimento empírico e científico, possibilitando o desenvolvimento de fitoterápicos nacionais para uso nos programas de saúde pública, são de grande valia para o crescimento científico nacional.

### 3.3 *Thuja occidentalis* LINN

Neste sentido, no reino vegetal, a família Cupressaceae é composta por cerca de 30 gêneros e mais de 140 espécies de plantas, dentre as quais, muitas são, caracteristicamente, utilizadas na marcenaria, para fins ornamentais e medicinais. A esta família pertence os cedros, ciprestes e zimbros.

A espécie *Thuja occidentalis* Linn pertence a um pequeno gênero da família Cupressaceae (Quadro 1) que é composto atualmente por cinco espécies: *Thuja koraiensis*, *Thuja plicata*, *Thuja standishii*, *Thuja sutchuenensis* e *Thuja occidentalis* (TSIRI et al., 2009). Já a espécie *Thuja orientalis*, apesar do nome, constitui um gênero à parte e, atualmente, é designada como *Platyclusorientalis*.

**Quadro 1** - Classificação científica de *Thuja occidentalis*.

Reino	Plantae
Divisão	Pinophyta
Classe	Pinopsida
Ordem	Pinales
Família	Cupressaceae
Gênero	<i>Thuja</i>
Espécie	<i>Thuja occidentalis</i>
Nome binomial	<i>Thuja occidentalis</i> Linn

FONTE: Produção do autor.

Dentro desse contexto, a espécie *Thuja occidentalis*, conhecida popularmente no Brasil por cipreste ou tuia, é uma conífera nativa do leste da América do Norte, originária do sul do Canadá e nordeste dos Estados Unidos, podendo ser conhecida nessas regiões por “árvore da vida” e “cedro branco” (GIBSON et al., 1967; STANGERLIN et al., 2008; YATAGAI; SATE; TAKAHASHI, 1985).

Atualmente, esta espécie é cultivada na Europa e Brasil como árvore ornamental e encontra-se difundida em países como Coréia, China e Japão (JUNG et al., 2013; LEE et al., 2010; NASER et al., 2005; OJESWI et al., 2010; XU et al., 2009). Sua descoberta

farmacológica foi resultado de expedições no século XVI, quando índios nativos canadenses provaram a eficácia da planta para o tratamento do escorbuto (MILLSPAUGH; HARRAR, 1974).

Caracteristicamente, a planta é uma árvore monóica de copa piramidal que atinge entre 15 – 20 metros de altura e possui cerca de 90 cm de diâmetro (Figura 1), possui caule ereto tipo tronco, com casca marrom alaranjada que apresenta sulcos longitudinais quando atinge a vida adulta (NASER et al., 2005; STANGERLIN et al., 2008). Seus ramos horizontais, voltados para cima na porção terminal, encontram-se recobertos por folhas rígidas, escamiformes e verde-escuras, apresentando cones formados por 8 ou mais escamas, e providas de glândulas de óleo com formato cônico em suas extremidades contendo óleo-resina de odor característico, intenso, de sabor picante, balsâmico e canforáceo (BRASIL, 2011).

**Figura 1** - *Thuja occidentalis* Linn



FONTE: Produção do autor.

Na reprodução da *Thuja occidentalis*, as mudas podem ser cultivadas diretamente no campo ou em vasos e são formadas por estaquias ou sementes tendo custo médio de produção no Brasil entre R\$ 2,77 e R\$ 2,79 dependendo da escolha do método de propagação (STANGERLIN et al., 2008).

A planta prefere solos profundos, com pH de 5,2 a 7,0 e demonstra grande tolerância à disponibilidade de água, podendo ser encontrada em habitats diversos, variando de seco a superfícies pantanosas. Evidências indicam que a *Thuja occidentalis*, em resposta ao déficit hídrico, exibe ajuste osmótico, que representa uma resposta comum em algumas herbáceas e espécies lenhosas de plantas (EDWARDS; DIXON, 1995).

A *Thuja occidentalis* possui em sua composição fitoquímica, uma série de compostos, entre esses saponinas, fenóis, taninos, aminas, mucilagens, princípios amargos, compostos lactônicos, carotenos, óleos essenciais, triterpenos, esteróides (CASTELLÓN et al., 2000), açúcares redutores, cumarinas (ácido p-cumárico e umbelliferona), ácido tânico, polissacarídeos, proteínas e minerais (NASER et al., 2005).

Dentro desse variado perfil fitoquímico, destacam-se os óleos essenciais. Em estudos realizados com diferentes espécies do gênero *Thuja*, a presença majoritária do terpeno thujona faz-se evidente (BERLIN et al., 1984; JASUJA et al., 2015; KÉÏTA et al., 2001; SVAJDLENKA et al., 2011; TSIRI et al., 2009; YATAGAI; SATE; TAKAHASHI, 1985), caracterizando o perfil do gênero *Thuja*.

Análises a partir do óleo das folhas de duas variedades de *Thuja occidentalis*, *Thuja globosa* e *Thuja aurea*, foi evidenciada a presença majoritária de  $\alpha$ -thujona, beyereno, sabineno e cânfora, sendo diferenciadas pela presença em maior quantidade das cetonas  $\beta$ -thujona e fenchona na *Thuja occidentalis* “globosa” e a presença do diterpeno rimueno na *Thuja occidentalis* “aurea” (TSIRI et al., 2009).

Dentre outros compostos também considerados comuns e com interesse farmacológico ao gênero *Thuja* podemos citar os flavonóides. Dentre os evidenciados podemos citar a presença de (+/-)-catequina, (-)-galocatequina, mearnsitrina, miricetina, procianidida B-3, prodelfinidina, quercetina, quercitrina, canferol e canferol-3-O- $\alpha$ -ramnosídeo (CASTELLÓN et al., 2000; NASER et al., 2005); mearusitrina e bilobetina, entre outros (HEBER, 2007); e o biflavonóide amentoflavona (GADEK; QUINN, 1985; HEBER, 2007).

Na medicina popular, tem sido utilizada no tratamento de reumatismo, diarreia, cistite, psoríase, carcinomas uterinos, doenças inflamatórias e alérgicas. Estudos recentes demonstram seu uso principalmente na homeopatia como tintura-mãe ou diluição (JUNG et al., 2013; LEE et al., 2010; NASER et al., 2005; OJESWI et al., 2010; XU et al., 2009).

Na literatura, Jung e colaboradores (2013) evidenciam a presença de atividade antifúngica potente contra diferentes cepas de fungos, assim como, também existem relatos de atividade antifúngica *in vitro* reconhecida contra isolados de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus*

*niger* (GUPTA; SRIVASTAVA, 2002), *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* (TSIRI et al., 2009).

### 3.4 PRODUÇÃO DE FITOTERÁPICOS

#### 3.4.1 Produção de extratos secos pela técnica de *spray-dryer*

A produção de fitoterápicos encontra-se em constante evolução e as novas possibilidades tecnológicas para a obtenção de extratos secos é uma realidade decorrente das vantagens apresentadas por estes quando comparados a utilização dos extratos fluidos para produção de medicamentos. Desta forma, a secagem é uma operação farmacêutica usada na remoção da fase líquida de um material por aplicação de calor ou pelo congelamento da amostra sob baixa pressão (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

As matérias-primas vegetais mais utilizadas para a produção de medicamentos fitoterápicos de forma sólida apresentam-se geralmente sob a forma de pó obtido da planta seca pulverizada, extrato seco ou extrato seco padronizado (FELTRIN; CHORILLI, 2010).

Os pós são obtidos a partir da trituração ou moagem da planta previamente seca ou estabilizada. Para a qualidade de sua produção, devem ser empregadas apenas as partes recomendadas da planta, o que garante a maior concentração de substâncias ativas (BRUNETON, 1991).

Os extratos secos são preparações obtidas pela eliminação total da fase líquida através de operação de secagem em pressão atmosférica ou reduzida, por liofilização ou ainda pela incorporação de solução extrativa em matriz sólida, com posterior secagem, devendo apresentar uma umidade residual máxima de 5%. Podem ser obtidos das frações extrativas mais adequadas do vegetal e produzidas com os solventes mais apropriados, que favorece seu conteúdo em substâncias ativas (FELTRIN; CHORILLI, 2010).

No desenvolvimento de fitoterápicos, a obtenção de extratos secos possui um especial interesse para indústria farmacêutica devido as vantagens oferecidas no desenvolvimento farmacotécnico e estabilidade, quando comparados às formas farmacêuticas líquidas ou semissólidas e por serem formas mais facilmente manipuláveis e com estabilidade físico-química e microbiológica elevada. Essas características refletem na obtenção de um produto final com maior precisão das doses, eficácia terapêutica e segurança de utilização (MASTERS, 1991; OLIVEIRA, PETROVICK, 2009).

No Brasil encontram-se registrados 512 medicamentos fitoterápicos, dos quais mais de 70% apresentam-se como formas farmacêuticas sólidas (CARVALHO et al., 2008). A matéria-prima para estes produtos é constituída, majoritariamente, por extratos secos e entre os procedimentos de secagem, destaca-se a técnica de secagem por aspersão por sua capacidade de converter em um pó seco, fluidos como soluções, suspensões, emulsões etc.

A técnica de secagem por aspersão, também conhecida por nebulização ou “*spray drying*” foi inicialmente desenvolvida e teve sua primeira ação patenteada na metade do século 18, mais especificamente no ano de 1865, quando esta foi aplicada na secagem de ovos. Entretanto, sua utilização em escala industrial se deu apenas na década de 20 com a secagem em larga escala de produtos como o leite e sabão em pó (MØLLER; FREDSTED; NIRO, 2009).

O verdadeiro boom na tecnologia de secagem por aspersão foi impulsionado pela Segunda Guerra Mundial. Durante esse período a necessidade de transporte de grandes quantidades de alimentos influenciou na busca por novos métodos para redução de peso e volume dos alimentos, assim como a busca de técnicas melhores de conservação (CAL; SOLLOHUB, 2009)

A grande versatilidade operacional que permite a secagem de amostras da ordem de mililitros até dezenas de tonelada por hora, faz da nebulização uma técnica que pode ser utilizada tanto em escala laboratorial quanto na indústria, ademais, a técnica pode ser utilizada para secagem de uma diversificada gama de materiais da indústria alimentícia (BAZARIA e KUMAR, 2016), farmacêutica (JAYWANT e PURNIMA, 2016; KADOTA et al, 2015), química (AYALA-SOTO, 2016), cerâmica (MICHÁLKOVÁ et al, 2016) e agroindústria (KHUENPET et al, 2015).

Em estudos feitos por Wang e Langrish (2009), estima-se haver mais que 45000 equipamentos de *spray-dryer* espalhados ao redor do mundo, destes, um terço representa aparelhos em operação de tamanho industrial e os outros dois terços correspondem a equipamentos em escala piloto e laboratorial.

Ademais, a técnica permite a obtenção de produtos diretamente na forma de pó, eliminando as etapas posteriores de moagem/processamento de material que são comuns a outros equipamentos de secagem, além permitir o controle de forma eficiente do processo de formação das partículas do pó seco, garantindo propriedades de fluxo, densidade, dispersibilidade, polimorfismo, tamanho e forma do produto final, ou seja, pode-se dizer que a técnica de *spray drying* é um processo que se realiza em etapa única e que produz material seco/pós com características específicas (AMERI; MAA, 2006).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêuticas sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

De forma descritiva, a secagem nesta técnica consiste na pulverização de um líquido de alimentação (LA) em uma câmara de secagem, onde este entrará em contato com uma corrente de ar quente controlada que irá promover a eliminação do solvente do material pulverizado e, posteriormente, essas partículas sólidas serão recolhidas por um sistema coletor.

Apesar de utilizar calor para o processo de secagem, o *spray-dryer* é um dos equipamentos de escolha para a secagem de materiais termossensíveis de origem biológicas (AMARA et al, 2016; KHEM et al, 2016), alimentos (BAZARIA e KUMAR, 2016) e principalmente produtos oriundos de plantas (CHRANIOTI, CHANIOTI e TZIA, 2016). Outro campo de destaque na atual utilização do equipamento é para microencapsulação de substâncias (LI et al, 2010; OLIVEIRA et al, 2013).

Usualmente este processo de secagem se dá através de uma série de três etapas que permitem a conversão de gotículas de um líquido até um pó, em contrapartida, essas etapas são processadas de forma bastante rápida, o que permite a obtenção de um pó seco a partir de um LA de forma bastante rápida, numa escala de 1 – 20 segundos (WOO, 2013).

Uma das mais importantes etapas de secagem funciona como fator determinante para as características de tamanho e forma do material seco obtido. É no processo de atomização que o LA é transformado em um spray, ou seja, ele é convertido a gotículas que irão dar origem ao pó seco quando estas passarem pelo processo de secagem (CAL; SOLLOHUB, 2010b).

Sendo considerada umas das etapas de maior importância, o tamanho da gotícula formada vai disponibilizar uma maior ou menor área superficial para que ocorram as trocas de calor e, conseqüentemente, a secagem do material, assim como uma menor ou maior distância para a saída de umidade do núcleo da partícula até a superfície. Observa-se, desta forma, que existirá uma influência direta na obtenção de partículas com diferentes teores de umidade, tamanhos e formas (AMERI; MAA, 2006).

De acordo com o aparelho de *spray-dryer* adquirido, ele pode vir equipado com três tipos de atomizadores: atomizador de pressão, atomizador duplo fluido e atomizador centrífugo.

O atomizador de pressão funciona através do bombeamento do LA a altas pressões (100 – 600 kgf/cm<sup>2</sup>) para que este passe por um orifício de diâmetro reduzido e forme gotículas. Esse tipo de atomizador, que geralmente forma partículas ocas de tamanhos uniformes, necessita da utilização de materiais resistentes em sua constituição e consome pouca energia, entretanto,

para sua utilização na secagem de materiais viscosos, faz-se necessária a utilização de elevada pressões para formação do spray no aparelho (CAL; SOLLOHUB, 2010a).

Também conhecido por atomizador pneumático, o atomizador duplo fluido possui um sistema em que o “rompimento” do líquido de alimentação é feito pela força de cisalhamento resultante da diferença de velocidades gerada pela passagem de um gás, geralmente o ar, em alta velocidade através de uma abertura anular, onde, concentricamente a esta, é passado o LA por uma abertura circular (CAL; SOLLOHUB, 2010a).

Por fim, o atomizador centrífugo ou disco rotativo é composto por um disco que gira em um eixo onde será injetado o líquido de alimentação próximo ao centro de rotação. O líquido será radialmente acelerado e conseqüentemente será expelido/pulverizado na forma de um spray na câmara de secagem (CAL; SOLLOHUB, 2010a).

Na segunda etapa do processo ocorre a transferência de calor e envolve a dispersão das gotículas no ar para criar a melhor condição de contato entre o produto atomizado e o ar quente que entra na câmara de secagem. O sentido de movimentação dos materiais no interior da câmara de secagem pode ocorrer de três modos distintos: concorrente, contracorrente e misto.

Para alimentos, o ar de secagem é geralmente injetado no mesmo sentido do produto (concorrente), de modo que o ar e o produto entrem no topo da câmara e escoem em direção ao fundo, onde ambos são separados e o produto é removido do secador. Nesta operação, o produto com alta umidade inicial entra em contato com o ar na temperatura mais alta, de tal forma que o solvente é removido do produto, constituindo a terceira etapa do processo de secagem. Quando o produto chega ao seu estado seco, o ar já se resfriou, o que diminui o risco de degradação pela temperatura (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; WOO, 2013).

Apesar de simples, a secagem por *spray-dryer* é influenciada por diversas variáveis que afetam diretamente a qualidade do produto obtido e do processo em si. As variáveis devem ser estudadas e controladas a fim de obter boas características tanto do produto quanto do processo.

As variáveis existentes podem estar relacionadas ao produto de entrada como viscosidade, tensão superficial, presença ou não de excipientes e seu tipo, concentração da amostra e o tipo de solvente da amostra. Além disso, existem variáveis do equipamento que podem influenciar tanto a qualidade do produto final quanto a qualidade do processo como a temperatura de saída e de entrada, a vazão do LA na câmara de secagem, a pressão de atomização, o tipo de bico atomizador, a vazão do gás de secagem (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

O uso de excipientes na secagem é uma prática muito comum para se obter produtos com características diversas: amido, maltodextrina, lactose, sorbitol, manitol, celulose, dióxido de silício coloidal, fosfato tricálcico, gelatinas, gomas, entre outros, são alguns dos excipientes mais utilizados (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

Para a secagem de extratos derivados de plantas, a seleção e o uso adequado de adjuvantes é uma fase suma importância, visto que pode determinar a estabilidade e qualidade dos extratos obtidos. Dentre estes, o dióxido de silício coloidal (SiO<sub>2</sub>) é um dos poucos excipientes inorgânicos que são utilizados como adjuvantes de secagem. Apresenta baixa densidade aparente e boas características de vazão, sendo amplamente utilizado em pós para melhorar o processo de compressão e encapsulação (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

### 3.4.2 Produção de *pellets*

A peletização consiste em um processo de aglomeração de pós, para formação de unidade esféricas que possuem tamanho entre 0,5 e 1,5 mm, com formato esférico, pequena distribuição de tamanho e superfície lisa e uniforme (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016). Esses aglomerados recebem o nome de *pellets*.

Em sua utilização no ramo farmacêutico, podem ser ressaltadas suas vantagens para obtenção de incrementos tecnológicos e terapêuticos, funcionando como ótimas opções para aplicação de recobrimentos funcionais, permitirem a elaboração de medicamentos uni ou multicomponentes com diferentes padrões de liberação, melhora na biodisponibilidade e diminuição de efeitos adversos. Ademais, possuem melhores propriedades de fluxo e menor propensão a friabilidade, somados a uma maior uniformidade no tamanho das partículas e facilidade para recobrimento, visto que possuem alta reprodutibilidade e área superficial constante (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; THOMMES; KLEINEBUDDE, 2017).

Os *pellets* são obtidos pelo envolvimento de diferentes fenômenos. Como exemplo, os eventos de nucleação, coalescência, sobreposição de camadas e transferência de massa por abrasão, que irão promover a formação e crescimento dos *pellets* e, para diminuição, mecanismos de redução de tamanho por atrito, quebra e esmagamento (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016).

Atualmente, dentre as técnicas utilizadas para peletização, o processo de extrusão-esferonização pode ser classificado como o mais amplamente utilizado pela indústria farmacêutica para obtenção de *pellets* (THOMMES; KLEINEBUDDE, 2017). Nele, a

obtenção do produto final, se dará pela aplicação de diferentes excipientes, operações unitárias e equipamentos, que deverão ser selecionados adequadamente durante as etapas de pré-formulação farmacêutica.

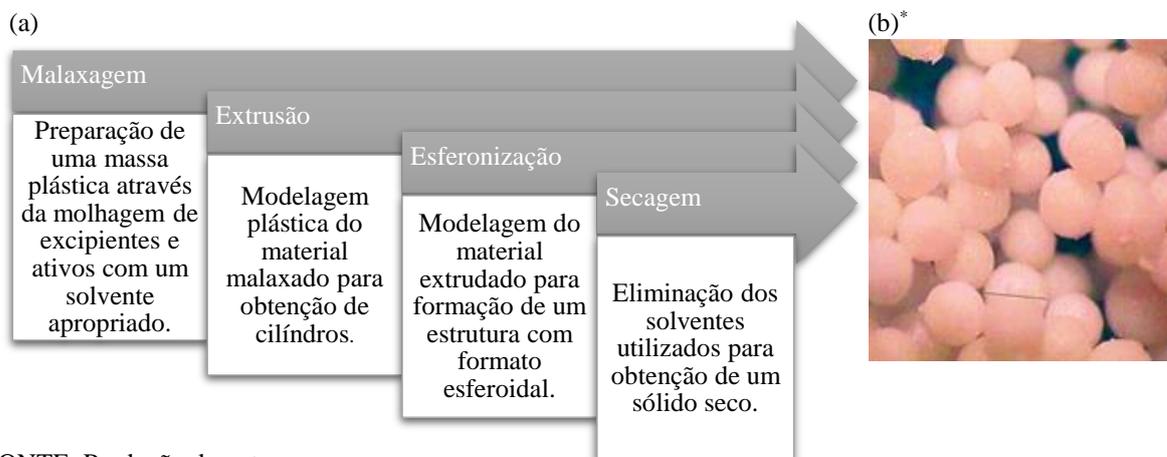
Primeiramente descrita em 1970 (VERVAET; BAERT; REMON, 1995), a técnica de extrusão-esferonização tornou-se um dos processos mais populares para obtenção de *pellets* devido a sua ampla gama de habilidades fornecidas (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016), sendo capaz de:

- Produzir partículas elevada dosagem ativos sem gerar partículas grandes (incorporação  $\geq 80\%$  (m/m));
- Combinar mais de um tipo de ativo em diferentes proporções na mesma unidade;
- Gerar partículas com alta densidade e baixa higroscopicidade;
- Baixa disseminação de pós;
- Produzir *pellets* de elevada esfericidade com superfície mais uniforme e estreita distribuição de tamanho;
- Partículas com baixa friabilidade e elevada resistência a tensão;
- Ausência de solventes orgânicos;
- Processo contínuo;
- Robustez e reprodutibilidade de processo.

De forma geral, a obtenção de *pellets* por extrusão-esferonização, consiste em um processo que envolve uma sequência básica de quatro operações: (i) molhagem dos pós da formulação; (ii) modelagem da massa úmida para uma forma cilíndrica; (iii) fragmentação dos cilindros e modelagem destes a um formato esférico; (iv) eliminação do líquido de molhagem. Essas etapas consistem, respectivamente, nas operações chamadas de malaxagem, extrusão, esferonização e secagem (Figura 2). Entretanto, podem ser incorporados outros passos ao processo com a finalidade de agregar características adicionais aos *pellets*.

Após a granulação o processo de extrusão deve ser iniciado. Este consiste na aplicação de uma pressão sobre o granulado, forçando sua passagem por orifícios que irão dar a massa a forma desejada e promover uma maior coesão das partículas (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; THOMMES; KLEINEBUDDE, 2017).

**Figura 2** - Operações do processo de peletização (a) e *pellets* (b).



FONTE: Produção do autor.

LEGENDA:

\*Imagem de domínio público.

Apesar de vários anos terem se passado desde a criação do processo de extrusão-esferonização, os requisitos essenciais para obtenção de um pellet ideal ainda não mudaram. De acordo com Reynolds (1970):

*“Good extrusion requires the production of a cohesive plastic mass, non-adhesive to the feed screws and to itself after extrusion, and homogeneous during extrusion. The mass must have self-lubricating properties as it passes through the screw and die. The requirements for spheronization of the cylindrical extrudates are: (i) the extrudate must be broken into uniform lengths equal to their diameter; (ii) absence of friability in these lengths; (iii) inherent or induced plasticity in the cylindrical pellets; (iv) non-adhesion between the pellets when these are rolled together.”*

A operação de extrusão pode ser realizada por quatro classes de extrusores, que são diferenciados pelo tipo de mecanismo utilizado para a formação do extrudado. As características do material obtido vão depender de propriedades físicas e do tipo de extrusora (parafuso, peneira ou cesta, rolo e pressão) em ação.

Para a produção de *pellets*, os orifícios da extrusora devem possuir dimensão definida, o que irá permitir a formação de extrudados com diâmetro fixo, mas o comprimento destes poderá variar de acordo com o processamento. Adicionalmente, os orifícios, para aplicação farmacêutica, devem possuir formato circular para permitir a produção de uma massa com formato cilíndrico (THOMMES; KLEINEBUDDE, 2017). Estes cilindros são popularmente chamados de macarrões e a importância deste formato será discutida posteriormente.

Dentre os fatores elementares para obtenção dos macarrões, encontra-se a utilização de um líquido de molhagem quantidade ideal, afim de se obter uma massa molhada com propriedades de fluxo e plasticidade adequadas. Se o extrudado obtido for muito seco, a

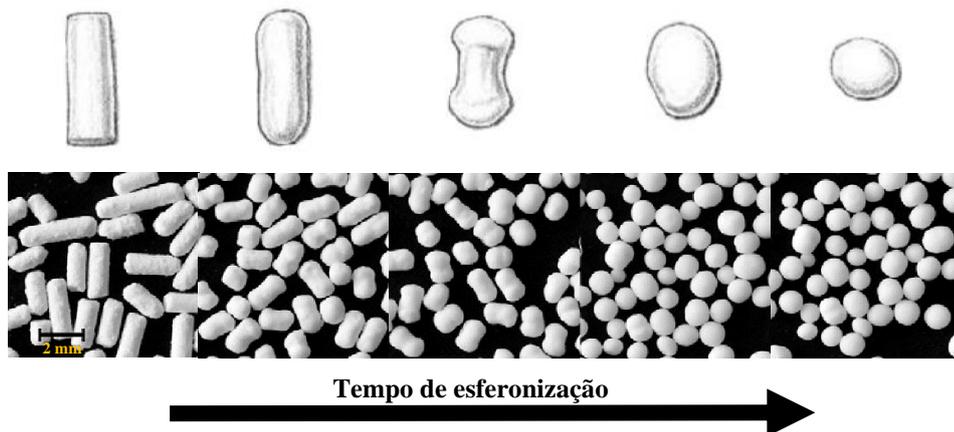
deformação plástica durante a esferonização irá gerar a formação de partículas finas, pós. Em contrapartida, se muito úmidos, a colisão entre as partículas resultará na coalescência da massa, gerando pellets com diâmetro elevado.

Gao e colaboradores (2013), estruturaram um protocolo para classificação da massa molhada a ser utilizada na técnica de extrusão-esferonização. Segundo os autores, a utilização desse protocolo permite prever a formação e qualidade dos pellets, ajudando na redução de tempo, entre outros gastos, nas etapas de pré-formulação e otimização de processo.

Podemos inferir, como a molhagem da massa deve conferir aos extrudados características de resistência (para as forças de cisalhamento) e plasticidade (para conferir seu formato esférico), que a escolha de excipientes adequados também é um aspecto crítico.

A operação de esferonização, como o próprio nome da técnica já evidencia, é um processo que irá transformar um material, o extrudado, em partículas com o formato esférico (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016). De acordo com Rowe (1985), o mecanismo de formação das esferas se dá através de diferentes estágios, com a quebra do extrudado, seguido por uma deformação plástica e transferência de massa entre os grânulos, como pode ser observado na **Figura 3**. Contudo outros pesquisadores sugeriram diferentes modelos com a passagem do material por estágios intermediários antes de chegar ao formato esférico final (BAERT et al., 1993; LIEW; CHUA; HENG, 2007).

**Figura 3** - Esquema de mecanismo de esferonização segundo Rowe.



FONTE: Adaptado de Koester e Thommes (2010) e Muley, Nandgude e Poddar (2016).

De forma geral, a esferonização baseia-se no mecanismo de mobilidade toroidal de partículas. Para tal, um esferonizador convencional consiste em um recipiente cilíndrico estático, que possui em sua parte inferior interna uma placa de fricção rotativa, esta placa é

chamada de disco frisado e é dotada de ranhuras em sua superfície. Este disco entra em rotação e, através da energia cinética fornecida, promove a quebra do extrudado em segmentos menores pelo estresse mecânico gerado por colisões intra-partículas e entre estas e o disco frisado. Gradualmente, as colisões também promovem a aglomeração e deformação/modelagem dos *pellets* (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; THOMMES; KLEINEBUDDE, 2017).

O entendimento do mecanismo de formação dos *pellets* durante a esferonização ilustra como é possível alcançar as características do processo de pequena distribuição de tamanho, formato esférico, superfície uniforme e baixa porosidade, por exemplo, o diâmetro do *pellet* é determinado pelo tamanho da quebra inicial dos cilindros, devido ao estresse mecânico durante a esferonização e ao formato cilíndrico bem definido dos extrudado, a quebra do material ocorre de forma espontânea fornecendo *pellets* com diâmetros entre 1,2 – 2,5 vezes maiores que os macarrões.

Outros fatores também podem influenciar nas características físicas dos *pellets*, a velocidade de rotação e o tempo de permanência no esferonizador, por exemplo, quanto maior a quantidade de material usado para carregar o aparelho, maior deverá ser o tempo de residência.

Por fim, os *pellets* formados são submetidos a um processo de secagem que pode ser realizado em temperatura ambiente, para materiais termosensíveis, ou sob aplicação de calor em estufa ou leito fluidizado e, posteriormente, submetidos as análises de controle de qualidade aplicáveis e direcionados para processos de compressão, enchimento de cápsulas, aplicação de recobrimento polimérico, entre outros, até que seja obtida a forma farmacêutica final.

Por fim, os *pellets* formados são submetidos a um processo de secagem que pode ser realizado em temperatura ambiente, para materiais termosensíveis, ou sob aplicação de calor em estufa ou leito fluidizado. Alguns líquidos de molhagem, como o etanol, podem conferir menor resistência proporcionando a formação de *pellets* com maior porosidade e menor resistência a tensão, entretanto, sua utilização pode facilitar o processo de secagem.

Já em posse dos *pellets* secos, estes serão submetidos as análises de controle de qualidade aplicáveis e direcionados para processos de compressão, enchimento de cápsulas, aplicação de recobrimento polimérico, entre outros, até que seja obtida a forma farmacêutica final.

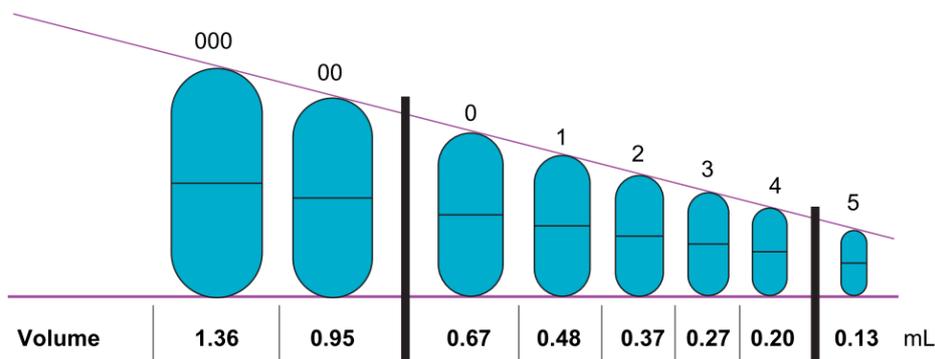
### 3.4.3 Cápsulas duras

As cápsulas constituem umas das formas farmacêuticas mais frequentes de administração oral, podendo ser definidas como formas farmacêuticas sólidas que formam um recipiente composto por duas partes, tampa e corpo, em que o IFA e excipientes estarão contidos para serem disponibilizados principalmente pela via oral. Este invólucro é comumente composto por gelatina solúvel, de formatos, cores e tamanhos variados (AULTON, 2016; BRAZIL, 2010).

Em relação a outras formas farmacêuticas sólidas de administração oral, a cápsula apresenta como vantagens sua capacidade de proteção ao IFA, mascaramento de características organolépticas indesejáveis e melhor biodisponibilidade. Sua versatilidade também permite a personalização da formulação para o paciente quando preparadas em farmácias de manipulação, se diferenciando da estratégia do “*one size fits all*” da indústria farmacêutica (D’HONDT et al., 2014). Entretanto, algumas das desvantagens associadas estão relacionadas ao seu armazenamento e produção, devido à sua sensibilidade a variações de temperatura e umidade relativa (AULTON, 2016).

Do ponto de vista tecnológico farmacêutico, as cápsulas constituem uma das formas farmacêuticas ideais para liberação imediata, pois a “quebra” de seu invólucro ocorre rapidamente quando não existem problemas relacionados a compatibilidade deste com o conteúdo do enchimento. Além disso, as cápsulas podem ser preenchidas com materiais na forma de pós secos, grânulos multiparticulados, *pellets*, entre outros, e também permitem a obtenção de diferentes perfis de liberação (QIU et al., 2017a).

Para preparar uma cápsula, faz-se essencial selecionar sua capacidade adequada relacionada ao volume ocupado pelo IFA e, quando necessário, os excipientes a serem acondicionados, pois os invólucros apresentam diâmetros e comprimentos diferentes e são classificados com uma numeração correlacionada a sua capacidade de acondicionamento (em unidades de volume) que pode variar de 000, 00, 0, 1, até 5 (**Figura 4**).

**Figura 4 - Classificação do tamanho de cápsulas.**

FONTE: Qui e colaboradores (2017b)

Dentre as características do produto a ser encapsulado, as substâncias que apresentam alta densidade, estreita distribuição de tamanho de partículas, diâmetro médio maior que 20  $\mu\text{m}$  e baixas forças de atração entre suas partículas são tidas como ideais para o encapsulamento, pois possuem boas propriedades de fluxo, facilitando o processo de enchimento e, conseqüentemente a uniformidade de conteúdo (AULTON, 2016). Entretanto, para as substâncias que não apresentam essas propriedades, pode-se utilizar a adição de substâncias lubrificantes, ou promover o processamento deste material para obter partículas com maior densidade, como, por exemplo, os *pellets* (LACHMAN, L. LIEBERMAN, H. KANIG, 2001).

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS FARMACÊUTICOS

Considerando-se que os medicamentos sólidos de uso oral são aqueles que podem apresentar maiores problemas em relação à biodisponibilidade, torna-se importante avaliar e caracterizar fatores físico-químicos que podem interferir na qualidade das formas farmacêuticas (CHORILLI et al., 2010).

Para tal, a ANVISA, preconiza através de compêndio oficial, Farmacopeia Brasileira, quais os testes específicos a serem realizados em IFAs e produtos acabados para determinação de parâmetros de qualidade mínimos a serem obtidos (BRAZIL, 2010). Ademais, outros testes de caracterização não oficiais, também podem ser realizados para obtenção de informações físico-químicas relevantes no desenvolvimento de produtos farmacêuticos (LACHMAN, L. LIEBERMAN, H. KANIG, 2001).

Dentre os métodos mais utilizados para a caracterização de materiais sólidos, podemos destacar a espectroscopia de absorção na região do infravermelho, análise de área superficial específica, análises termogravimétricas, entre outros.

### 3.5.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho

De forma geral, a espectroscopia é a área do conhecimento que estuda o comportamento e interação da incidência de energia radiante sob um material. Fundamenta-se na teoria de dualidade da luz e utiliza a natureza de propagação ondulatória e eletromagnética desta no espaço na forma de energia. Essa interação pode ser quantizada e, a depender de qual região do espectro eletromagnético da luz que for utilizada, diferentes tipos de respostas serão obtidas.

A região do espectro da luz correspondente a zona do infravermelho (IV) vai do intervalo de  $3 \times 10^{11}$  Hz até aproximadamente os  $4 \times 10^{14}$  Hz, podendo ser subdividido em infravermelho próximo (NIR – do inglês, *Near Infrared*), médio (MID – do inglês, *Middle Infrared*) e distante (FAR – do inglês, *Far Infrared*) (MOHAMED et al., 2017).

A luz na região do IV, quando incidida sobre uma molécula, promove excitação eletrônica, maiores estados energéticos são alcançados, mas a energia fornecida não é suficiente para que possa ocorrer a quebra de ligações. Dependendo dos átomos e tipo de ligação molecular existente no analito, são gerados diferentes padrões de absorção de energia.

A análise dessas mudanças pode ser observada através de uma série de bandas apresentadas em gráficos de espectro de absorção no IV, onde cada frequência ou comprimento de onda de absorção corresponde a uma vibração de uma parte da molécula em análise e dependerá das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos na estrutura do composto. Desta forma esses dados são utilizados para obtenção de informações de natureza qualitativa e/ou quantitativa (LUYPAERT; MASSART; VANDER HEYDEN, 2007).

A região do MID situa-se entre as bandas do vermelho na luz visível e da região do MID no espectro eletromagnético da luz, com comprimentos de onda entre 200 e 4000 nm. Esta região do IV é utilizada para na indústria farmacêutica para análises de matérias primas e formas farmacêuticas sólidas em qualquer estágio do desenvolvimento industrial pois, juntamente com os aparelhos de espectrofotometria que permitem a aplicação da técnica de espectroscopia de absorção na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR),

possibilitam análises em tempo real com rápida obtenção de resultados, além de ser uma técnica não destrutiva e com mínima preparação de amostra, diminuindo os erros de processamento de material (MARSHALL; RICH, 2009; MOHAMED et al., 2017).

Em contrapartida, a técnica de FTIR-MIR não permite a análise de elementos traços e, devido à complexidade dos espectros obtidos, podem ocorrer sobreposição e combinação de bandas, quando são analisadas matrizes complexas. Ademais, a natureza física do material em análise também pode contribuir para modificações no espectro de absorção (LUYPAERT; MASSART; VANDER HEYDEN, 2007).

Por fim, a técnica de FTIR-MIR representa uma metodologia de análise aceita como padrão em análises tecnológicas de produtos farmacêuticos, além de estar descrita em farmacopeias regionais e nacionais e ser aprovada por diversos órgãos regulamentadores como um método rápido, de baixo custo, reproduzível e eficiente (BRAZIL, 2010).

### **3.5.2 Termogravimetria**

A análise térmica se refere a um conjunto de técnicas em que as propriedades físicas da substância e/ou seus produtos de reação são medidos em função da temperatura enquanto a substância é submetida a um programa de temperatura controlada. Técnicas frequentemente usadas são termogravimetria/ termogravimetria derivada (TG/DTG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) (ARAÚJO et al., 2003). É importante considerar ainda que o resultado do teste é dependente de muitos fatores. Alguns fatores importantes a serem considerados são a massa da amostra, taxa de aquecimento, atmosfera e tipo de cadinho (ROY; RIGA; ALEXANDER, 2002).

A termogravimetria (TG) é uma técnica de análise térmica em que a variação da massa da amostra é determinada em função da temperatura enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de aquecimento, possibilitando a verificação das alterações provocadas pela perda ou ganho de massa (MANSUR, 2007).

Por meio da TG podem-se avaliar fenômenos físico-químicos, além de possibilitarem a obtenção de informações de natureza qualitativa e/ou quantitativa como estabilidade e composição de amostras (FLEMMING; PICKER-FREYER, 2008; TOMASSETTI et al., 2005)

### 3.5.3 Teoria de Adsorção Multimolecular

A Teoria de Adsorção Multimolecular, mais conhecida por Método de Brunauer, Emmett e Teller (BET), consiste em uma técnica de análise para medição de área superficial específica e tamanho de poros de um material e utiliza uma teoria matemática que descreve a adsorção física de moléculas de gás sobre uma superfície sólida (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938).

O processo de adsorção consiste na retenção de um fluido, gás ou líquido, sobre um sólido e encontra-se diretamente ligado a área de superfície disponível para a interação entre esses materiais, ou seja, o meio pelo qual um sólido interage diretamente com o ambiente. Neste processo de acumulação, o sólido é chamado de adsorvente, o fluido, substância que fica retida, é chamada de adsorvato e o processo inverso da adsorção é chamado de dessorção (ROUQUEROL et al., 2013).

Uma vez que os componentes adsorvidos concentram-se sobre a superfície externa, quanto maior for esta, mais favorável será a adsorção, por exemplo, materiais porosos irão demonstrar especialmente essa interação, contudo, a redução do tamanho de partículas através de técnicas de trituração e moagem, também podem aumentar a área de superfície de um material.

Alguns adsorventes são utilizados industrialmente como dessecantes (OSAKA et al., 2019; RAJAMANI; MALIYEKKAL, 2018), catalisadores ou suportes catalíticos (GUO; DING; YU, 2018; MISKOLCZI; JUZSAKOVA; SÓJA, 2019; ŠARIĆ; ROSSMEISL; MOSES, 2018), separadores e armazenadores de gases (GUO; WANG, 2016), purificadores de líquidos (AHMED, 2017; ÁLVAREZ-TORRELLAS et al., 2016; SPALTRO et al., 2018), adjuvantes farmacêuticos (LAPHAM; LAPHAM, 2019; SOTNIKOV et al., 2019), entre outros, demonstrando sua importância tecnológica em diversas áreas do conhecimento (DĄBROWSKI, 2001).

Como citado anteriormente, a adsorção é provocada pelas interações entre um sólido e moléculas na fase fluida, desta forma, podemos classificar qual o tipo de força envolvida no processo. Quando ocorre a formação de ligações químicas (troca ou partilha de elétrons), chamamos de quimissorção e para os casos onde o adsorvato fica retido apenas por interações intermoleculares relativamente fracas que podem ser atribuídas às forças de Van der Waals, fisissorção (ROUQUEROL et al., 2013). As principais diferenças entre os dois mecanismos estão evidenciados no **Quadro 2**, entretanto, pode-se encontrar mecanismos simultâneos de

sorção em um material devido à natureza heterogênea e anisotrópica dos sólidos reais (NADERI, 2015).

**Quadro 2** - Características dos mecanismos de fisissorção e quimissorção.

<b>Fisissorção</b>	<b>Quimissorção</b>
Baixa especificidade	Alta especificidade (ligações entre partes reativas das moléculas)
Multicamadas (altas pressões relativas)	Monocamada
Moléculas mantem sua identidade na dessorção.	Moléculas perdem sua identidade na dessorção por sofrerem transformações químicas
Ocorre em toda a superfície do sólido	Ocorre em sítios ativos do sólido
Baixa energia de ativação (exotérmica)	Elevada energia de ativação

FONTE: Adaptado de (ROUQUEROL et al., 2013);

Termodinamicamente, podemos descrever a adsorção como um processo espontâneo por possuir energia livre de Gibbs negativa, as moléculas do líquido adsorvido ficam limitadas ao sólido, por isso, existe uma redução do grau de liberdade do líquido, acarretando uma variação de entropia negativa e, segundo a fórmula ( 1 ), podemos perceber que a adsorção é um processo exotérmico.

$$\Delta H = \Delta G - T\Delta S \quad (1)$$

Onde:

$\Delta H$ : Variação de entalpia;

$\Delta G$ : Variação da energia livre de Gibbs;

T: Temperatura;

$\Delta S$ : Variação da entropia.

Quando a adsorção atinge o equilíbrio a uma certa temperatura e pressão, o potencial químico das moléculas na fase gasosa é igual ao das moléculas adsorvidas e a energia livre de Gibbs torna-se zero (NADERI, 2015), demonstrando que além da temperatura e forças intermoleculares, a tendência para que ocorra esse processo é amplamente ligada a “velocidade” com que o fluido irá se difundir em direção ao sólido, logo ela será dependente da pressão de vapor (GUO; WANG, 2016).

Desta forma, é possível descrever a quantidade de material adsorvido sobre uma superfície analisando-se seu grau de recobrimento ( $\theta$ ) pela fórmula ( 2 ) e, a partir desta, obtendo um isoterma de adsorção, que é um gráfico que irá expressar a variação  $\theta$  em relação

à pressão de equilíbrio e temperatura constante, que também pode ser representado de acordo com a fórmula ( 3 ) (GELB; GUBBINS, 1998).

$$\theta = \frac{\text{Volume de gás adsorvido}}{\text{Volume de gás necessário para recobrir todo o sólido}} \quad (2)$$

$$n^a / m^s = f(p/p^0)T \quad (3)$$

Onde:

$n^a$ : Quantidade de gás adsorvido;

$m^s$ : Massa do gás adsorvido;

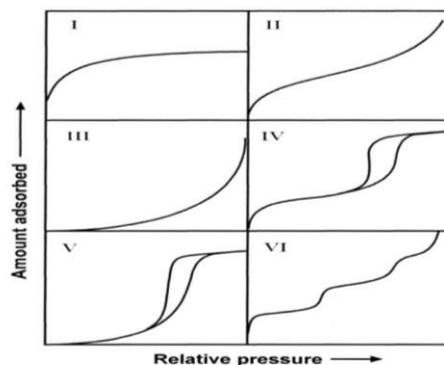
$p$ : Pressão de equilíbrio;

$p^0$ : Pressão de saturação;

$T$ : Temperatura.

Como normalmente os isotermas de adsorção são escritos de forma gráfica, eles podem possuir diversos formatos representativos desses sistemas gás-sólido (Figura 5). Cada gráfico irá fornecer informações sobre a área de superfície e estruturas dos poros do adsorvente, podendo ser classificados em seis principais tipos (BRUNAUER; EMMETT; TELLER, 1938).

**Figura 5** - Classificação da IUPAC dos isotermas de adsorção tipo I ao VI.



FONTE: Adaptado de (ALOTHMAN, 2012)

Quando o estudo do fenômeno de adsorção é feito com o objetivo de se obter informações sobre a área específica e a estrutura porosa de um sólido, a construção de uma isoterma de adsorção é de fundamental importância, pois sua forma revela muitos detalhes MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêuticas sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

sobre as características do material. A isoterma mostra a relação entre a quantidade molar de gás  $n$  adsorvida ou dessorvida por um sólido, a uma temperatura constante, em função da pressão do gás (ALOTHMAN, 2012).

O formato da isoterma é função do tipo de porosidade do sólido. Várias são as formas de isotermas conhecidas até hoje, porém, todas são variações de seis tipos principais. Os cinco primeiros tipos foram primeiramente sugeridos por Brunauer em 1938, sendo o sexto tipo proposto mais tarde.

A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade. As isotermas do tipo II e IV são típicas de sólidos não porosos e de sólidos com poros razoavelmente grandes, respectivamente. As isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre si do que com o sólido, o que representa um caso muito raro entre os materiais mais comuns (NADERI, 2015).

Devido ao fenômeno de histerese, a isoterma do tipo IV e V apresentam dois valores de pressão relativa para cada valor de quantidade adsorvida. A ocorrência disso é função do formato do poro e do menisco do líquido. Para poro de formato cilíndrico fechado em uma das extremidades a condensação capilar começa no fundo do poro, formando um menisco hemisférico. A evaporação se inicia a partir desse menisco na mesma pressão que a condensação ocorreu, gerando uma isoterma sem histerese (NADERI, 2015).

Langmuir apresentou uma teoria para entender a adsorção sobre uma superfície uniforme, simples, infinita e não porosa.

O exemplo resume-se em uma hipótese de atividade das moléculas adsorvidas pela superfície do adsorvente: assim que as moléculas são adsorvidas, existe uma divisão uniforme gerando uma monocamada que recobre completamente a superfície. Neste modelo, utiliza-se o conceito dinâmico de equilíbrio de adsorção que determina a igualdade das velocidades de adsorção e dessorção (SALVADOR et al., 2002).

Logo, assume-se os seguintes pressupostos:

- Existe um número definido de sítios;
- Os sítios têm energia equivalente e as moléculas adsorvidas não interagem umas com as outras;
- A adsorção ocorre em uma monocamada;
- Cada sítio pode comportar apenas uma molécula adsorvida.

A fórmula a seguir ( 4 ) representa a isoterma de Langmuir:

$$q = \frac{q_{max} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (4)$$

Onde:

q: quantidade do soluto adsorvido por grama de adsorvente no equilíbrio ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );

$q_{max}$ : capacidade máxima de adsorção ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ );

$K_L$ : constante de interação adsorvato/adsorvente ( $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$ );

$C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Quando uma solução é posta em contato com o adsorvente e o sistema atinge o equilíbrio, este estado de equilíbrio nada mais é do que a igualdade da velocidade em que as moléculas ou íons são adsorvidos/dessorvidos na superfície do adsorvente (GELB; GUBBINS, 1998). Assim, se a velocidade de adsorção é proporcional à concentração do adsorvato no líquido ( $C_e$ ), e para a fração da área de superfície do adsorvente que está vazia ( $1 - \theta$ ), onde  $\theta$  é a fração da superfície coberta, pode-se escrever a fórmula (5):

$$\text{Taxa de adsorção} = k_1 C_e (1 - \theta) \quad (5)$$

Onde:

$k_1$ : constante para adsorção.

Admitindo-se que todos os sítios da superfície do adsorvente possuem a mesma energia, ou seja, são de tal forma homogêneos,  $k_1$  assume o mesmo valor para todos os sítios. Além disso, admite-se que a cobertura da superfície se dá de maneira mono (molecular ou elementar), isto é, somente é possível a formação de uma monocamada (GELB; GUBBINS, 1998). Então, a taxa de adsorção é proporcional a  $(1 - \theta)$ , isto é, a total cobertura (adsorção) estará completa quando  $\theta$  for igual a 1.

Da mesma forma como considerado com a taxa de adsorção, considerando que o sistema se encontra em equilíbrio, tem-se para a taxa de dessorção, portanto a fórmula (6):

$$\text{Taxa de dessorção} = k_2 \theta \quad (6)$$

Onde:

$k_2$ : constante para a dessorção.

Como o sistema encontra-se em estado de equilíbrio, pode-se igualar as duas taxas, fórmula ( 7 ):

$$k_1 C_e (1 - \theta) = k_2 \theta \quad (7)$$

ou, resolvendo para  $\theta$  e adotando  $K_L = \frac{k_1}{k_2}$ , tem-se a seguinte fórmula ( 8 ):

$$\theta = \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (8)$$

Em geral, é preferível trabalhar em termos da quantidade  $q$ , a quantidade de soluto adsorvido por massa de adsorvente, em vez de  $\theta$ . A equação da isoterma de Langmuir é frequentemente rearranjada para outras formas lineares para determinar os valores de  $K_L$  e  $q_{max}$ , como mostrado nas fórmulas ( 9 - 12 ) abaixo:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{K_L q_{max} C_e} \quad (9)$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} C_e + \frac{1}{K_L q_{max}} \quad (10)$$

$$q_e = q_{max} - \left( \frac{1}{K_L} \right) \frac{q_e}{C_e} \quad (11)$$

$$\frac{q_e}{C_e} = K_L q_{max} - K_L q_e \quad (12)$$

Geralmente, as duas primeiras formas são mais utilizadas. Portanto, tomando como base a primeira delas, a construção do gráfico  $\frac{1}{q}$  versus  $\frac{1}{C_e}$  irá produzir uma linha reta (a qual é geralmente obtida por um procedimento de ajuste linear por mínimos quadrados) com inclinação  $\frac{1}{K_L q_{max}}$  e intersecção  $\frac{1}{q_{max}}$ . Conhecendo-se esses valores, pode-se facilmente calcular os dois parâmetros  $K_L$  e  $q_{max}$ .

A medida de equilíbrio  $R_l$  permite prever a configuração da isoterma de adsorção (favorável, desfavorável) e pode ser calculada pela fórmula ( 13 ):

$$a) \quad R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (13)$$

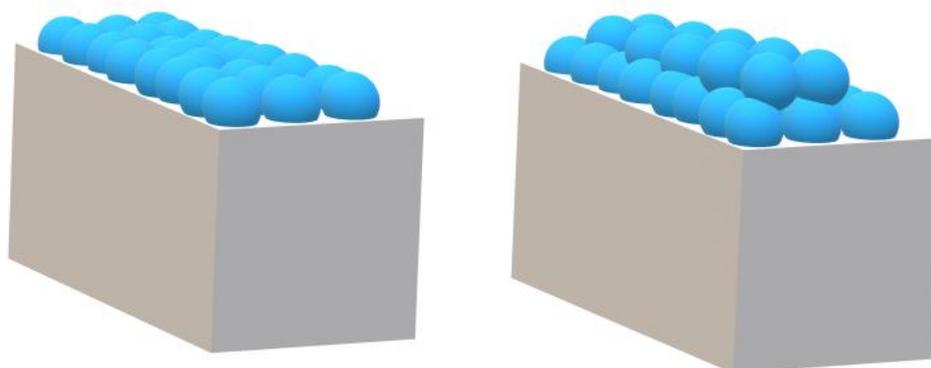
Onde:

$C_0$ : concentração inicial na fase líquida ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

Na maioria das situações de adsorção, o adsorvato prefere a fase sólida à líquida e a adsorção é dita favorável,  $0 < R_L < 1$ . Quando  $R_L > 1$ , há o indicativo de que o soluto prefere a fase líquida à sólida.  $R_L = 1$  corresponde a uma isoterma linear e  $R_L = 0$  corresponde a uma isoterma irreversível.

Assim como outros métodos já existentes, o BET é utilizado para interpretar ou prever isotermas de adsorção. Além disso, possibilita a obtenção de outras informações sobre o processo estudado (FIGUEIREDO; RIBEIRO, 1989). Em 1938, Brunauer, Emmett e Teller, propuseram uma teoria para o fenômeno de adsorção assumindo o mesmo mecanismo de adsorção da teoria de Langmuir e introduzindo algumas hipóteses simplificadoras, que admitem a possibilidade de que uma camada tenha a capacidade de produzir sítios de adsorção gerando a deposição de uma camada sobre outra (Figura 6) (SCHONS, 2010).

**Figura 6** - Representação do modelo de Langmuir (a) e BET (b).



FONTE: Produção do autor.

A teoria de Brunauer, Emmett e Teller é uma extensão dos fundamentos da teoria de Langmuir para permitir uma adsorção maior, para a formação de duas ou mais camadas na superfície. A teoria leva em consideração que as forças envolvidas na adsorção física são similares àquelas envolvidas na liquefação, ou seja, força de Van der Waals, e que a adsorção física não está limitada à formação de monocamada, mas pode continuar e formar multicamadas sobre a superfície do adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014).

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêuticas sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

A equação, denominada BET (letras iniciais dos nomes dos três autores), se baseia na hipótese de que as forças responsáveis pela condensação do gás são também responsáveis pela atração de várias moléculas para a formação de multicamadas. Brunauer, Emmett e Teller generalizaram a equação de Langmuir considerando que a velocidade de condensação das moléculas da fase gasosa sobre a primeira camada é igual à velocidade de evaporação da segunda camada (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001).

O modelo BET pode ser representado pelas equações ( 14 - 16 ):

$$V_A = \frac{V_m \cdot C_t \cdot P}{(P_0 - P) \left[ 1 + (C_t - 1) \frac{P}{P_0} \right]} \quad (14)$$

Em que:

$C_t$ : constante relacionada com o tamanho do poro;

P: pressão;

$P_0$ : pressão de saturação do gás;

$V_A$ : quantidade de gás adsorvido (mL);

$V_m$ : capacidade de adsorção na monocamada.

$$C = e^{\frac{q_1 - q_L}{R_L}} \quad (15)$$

Em que:

C: concentração da espécie adsorvente;

$q_1$ : calor de adsorção da primeira camada;

$q_L$ : calor de liquefação do gás adsorvente.

Na forma linear, pode-se obter a equação abaixo.

$$\frac{P}{V_a(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{C - 1}{V_m C} \left( \frac{P}{P_0} \right) \quad (16)$$

O modelo BET segue algumas considerações como a homogeneidade da superfície do sólido, não contando com possíveis imperfeições geradas por impurezas e defeitos, causando distorções no potencial da superfície. Não são consideradas também as forças horizontais entre moléculas de uma mesma camada, somente interações verticais entre o adsorvente e a

molécula adsorvida. Além disso, todas as camadas, exceto a primeira, são tratadas de modo equivalente, não tratando de um possível declínio do potencial atrativo gerado na superfície. A entalpia de adsorção é igual à entalpia de condensação (SCHONS, 2010).

Com os principais conceitos de adsorção e isothermas descritos, o entendimento do funcionamento da técnica de BET se torna mais claro, pois esta opera através da indução da adsorção do gás nitrogênio, a pressão controlada e baixa temperatura, a um material previamente pulverizado e tratado a vácuo.

### 3.6 DESIGN EXPERIMENTAL

#### 3.6.1 Metodologia de superfície de resposta

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica para a otimização de processos cuja resposta depende de uma série de variáveis, aqui chamadas de fatores, controláveis pelo experimentador (MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016).

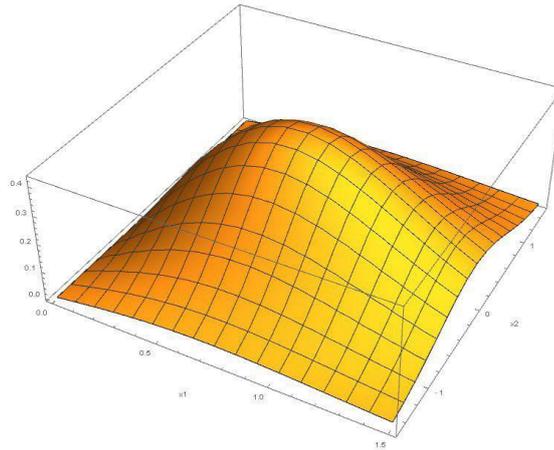
Denominando de  $\{\xi\} = (\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_k)$  (onde  $k$  é a quantidade de fatores), o conjunto de fatores relevantes no experimento, a função resposta do processo será representada por  $y(\{\xi\})$ . E, caso esta função seja conhecida, pode-se facilmente plotá-la e determinar um ponto  $(\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_n)$  onde há a resposta máxima.

Para dois fatores,  $x_1$  e  $x_2$ , a função resposta pode sempre ser representada como uma superfície em três dimensões. Na Figura 7 é apresentado um exemplo de superfície 3D gerado pela função ( 17 ):

$$y(x_1, x_2) = x_1 / e^{[x_1^2 + x_2^2]}, \quad ( 17 )$$

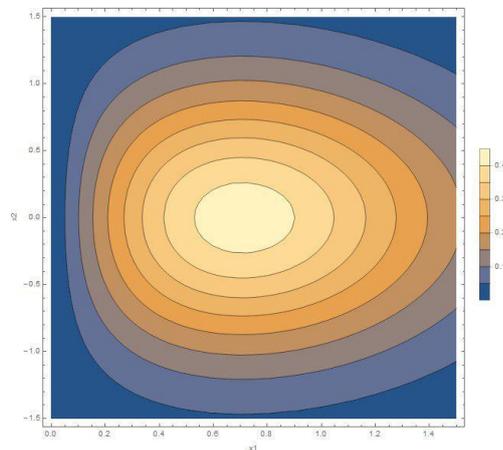
que também pode ser representado como um gráfico de contorno da superfície (Figura 8). Verifica-se que  $x_1 = 0,707$  e  $x_2 = -3,56 \cdot 10^{-10}$  é o ponto que corresponde à maior resposta,  $y = 0,428882$ .

**Figura 7** - Representação 3D da função ( 17 ).



FONTE: Produção do autor.

**Figura 8** - Gráfico de contorno de superfície de resposta da função ( 17 ).



FONTE: Produção do autor.

A forma geral da função resposta pode ser escrita como (MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016; SADHUKHAN; MONDAL; CHATTORAJ, 2016),

$$y = f(\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_k) + \epsilon, \quad (18)$$

onde  $\epsilon$  representa erros gaussianos de média zero e variância  $\sigma^2$ . Tem-se,

$$E\{y\} = E\{f(\xi)\} + E\{\epsilon\} \quad (19)$$

como  $\epsilon = 0$ ,

$$E\{y\} = E\{f(\xi)\} = f(\xi). \quad (20)$$

Assim, verifica-se que o valor esperado da resposta  $y$  é a própria função  $f(\xi)$ . Entretanto, na maior parte dos casos, esta função não é conhecida e pode ser bem complicada, assim, deve-se estimá-la (MÄKELÄ, 2017).

Os fatores  $\xi$  são chamados de naturais, pois são expressos em unidades naturais do experimento (como graus Celsius, quilogramas, segundos, entre outros). Para evitar uma MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

confusão de unidades, é conveniente transformar todos os fatores em unidades adimensionais (ou codificadas), isto é, mapear todos no intervalo  $[1, -1]$ , da seguinte forma (MÄKELÄ, 2017; MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016),

$$x_{ij} = 2 \left( \frac{\xi_{ij} - \bar{\xi}_i}{\Delta \xi_i} \right), \quad (21)$$

onde o índice  $i$  identifica o fator e o  $j$  um valor específico do fator  $\xi_i$ . O termo  $\bar{\xi}_i$  é a média dos valores da variável  $\xi_i$  e  $\Delta \xi_i$  é o intervalo de  $\xi_i$ ,  $\Delta \xi_i = \xi_{max} - \xi_{min}$ .

Assim, a estimação de  $f(\xi)$  será feita usando as novas variáveis  $x$ . A estimação leva em consideração a expansão de Taylor, pois esta afirma que, nos arredores de um certo ponto  $x_0$ , toda função pode ser aproximada por um polinômio. O modelo mais usado é o de um polinômio de segunda ordem (AHMADI et al., 2005; MÄKELÄ, 2017; MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016),

$$y(x_1, x_2, \dots, x_k) = \beta_0 + \sum_{n=1}^k \beta_n x_n + \sum_{n=1}^k \beta_{(n+k)} x_n^2 + \sum_{n=1}^k \sum_{m \neq n} \beta_{(m-1+2k)} x_n x_m \quad (22)$$

Nota-se que este modelo introduz novas variáveis, os coeficientes  $\beta$ , ao problema. Assim sendo, é necessário estimá-los.

Entretanto, é importante lembrar que o polinômio de segunda ordem é uma aproximação da função resposta real e, portanto, somente válido em uma pequena região em torno do ponto de máximo.

Para achar essa região, é comum primeiro fazer alguns experimentos de varredura para, tanto selecionar os fatores relevantes como determinar esta região (MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016). Estes experimentos são habitualmente feitos com um planejamento fatorial de dois níveis e as respostas são modeladas segundo um polinômio do primeiro grau,

$$y(x) = \beta_0 + \sum_i \beta_i x_i + \sum_{i \neq j} \beta_{ij} x_i x_j \quad (23)$$

Caso algum parâmetro  $\beta$  seja muito próximo a zero, pode-se considerar que o fator associado a ele não tem uma grande relevância no processo e nos próximos experimentos não é preciso incluí-lo na análise.

Para os fatores relevantes é necessário achar o domínio cuja imagem está próxima ao ponto de máximo e, para isto, move-se o ponto de mínimo do fator (isto é, o nível -). Este passo é dado da seguinte forma, primeiro o  $\beta$  de maior valor absoluto é identificado e então, se  $\max(\beta) = |\beta_i|$  então  $x_{i(min)} \rightarrow x_{i(min)} + \Delta x_i$  onde  $\Delta x_i$  normalmente é 1. Para os outros fatores,  $x_{j(min)} \rightarrow \Delta x_i \frac{\beta_j}{\beta_i}$  e assim por diante até a resposta começar a decair.

### 3.6.2

Como a função  $y_1, x_2, \dots, x_k$   $\hat{y} = \beta_0 + \sum_{n=1}^k \beta_n x_n + \sum_{n=1}^k \beta_{(n+k)} x_n^2 + \sum_{n=1}^k \sum_{m \neq n} \beta_{(m-1+2k)} x_n x_m$  (22) é linear nos  $\beta_s$ , o método dos mínimos quadrados pode ser usado para calcular esses coeficientes.

Seja  $Y$  um vetor  $px1$ , onde as entradas são os resultados obtidos em cada um dos  $p$  experimentos,

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_p \end{bmatrix}_{px1} \quad (24)$$

e  $X$  a matriz planejamento com dimensão  $pxb$ , na qual cada linha representa um arranjo experimental,

$$X = \begin{bmatrix} 1 & x_{11} & \dots & x_{1b} \\ 1 & x_{21} & \dots & x_{2b} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & x_{p1} & \dots & x_{pb} \end{bmatrix}_{pxb} \quad (25)$$

onde  $b$  é a quantidade total de coeficientes  $\beta$ . O vetor  $\beta$  dos coeficientes, é dados por:

$$\beta = \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_b \end{bmatrix}_{bx1} \quad (26)$$

e, assim, pode-se escrever a função (27) de forma matricial:

$$Y = X\beta. \quad (27)$$

Sendo assim, o método, que visa minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre os pontos teóricos e experimentais, resulta na seguinte estimativa para os coeficientes (HELENE, 2006):

$$\hat{\beta} = (X^T V^{-1} X)^{-1} X^T V^{-1} Y, \quad (28)$$

Aqui, a notação do chapéu serve para diferenciar os valores estimados dos reais (representados o sem chapéu). A matriz covariância  $V$  desses resultados, com dimensão  $pxp$ , é,

$$V = \begin{bmatrix} \sigma_{y_1}^2 & \text{cov}(y_1, y_2) & \dots & \text{cov}(y_1, y_p) \\ \text{cov}(y_2, y_1) & \sigma_{y_2}^2 & \dots & \text{cov}(y_2, y_p) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \text{cov}(y_p, y_1) & \text{cov}(y_p, y_2) & \dots & \sigma_{y_p}^2 \end{bmatrix}_{p \times p} \quad (29)$$

Finalmente, a função resposta estimada é dada por, em notação matricial,

$$\hat{Y} = X\hat{\beta}. \quad (30)$$

Este método também apresenta uma estimativa para a matriz covariância dos parâmetros estimados (HELENE, 2006),

$$\hat{V}(\hat{\beta}) = (X^T V^{-1} X)^{-1}. \quad (31)$$

Entretanto, para estes cálculos são necessários dados experimentais e, conseqüentemente, faz-se necessário um planejamento para os realizar de forma eficiente.

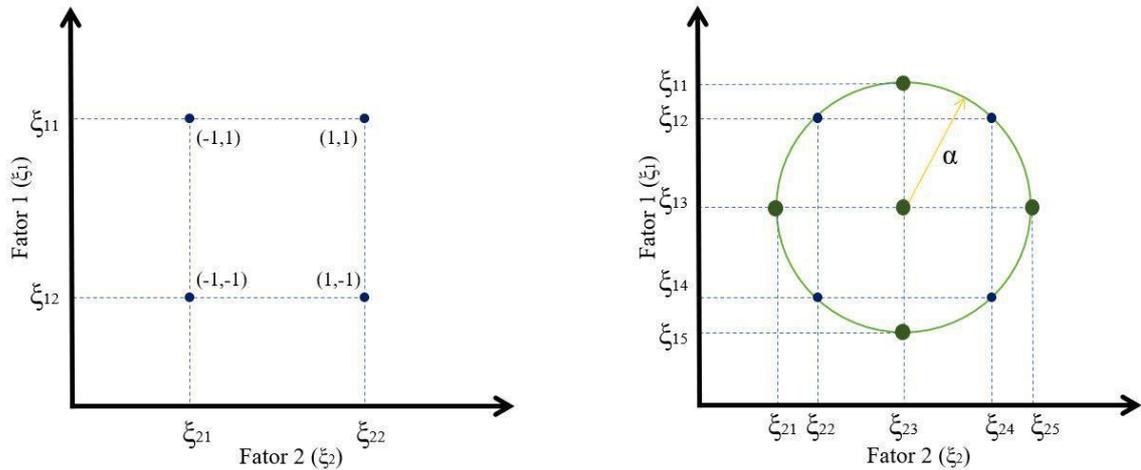
### 3.6.3 Experimento central composto

O método do experimento central composto é comumente usado para MSR, sendo eficiente para estimar termos de primeira e segunda ordem (MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016).

Este tipo de *design* é derivado de um planejamento fatorial ou fatorial fracionado, pois a conversão consiste somente na adição de um ponto central (que será executado várias vezes para dar uma estimativa interna do erro puro) e um grupo de pontos axiais que servem para a estimativa da curvatura da superfície (MÄKELÄ, 2017).

Para 2 fatores o planejamento fatorial completo de dois níveis usaria os pontos (1, 1), (1, -1), (-1, -1) e (-1, 1), em azul, nos experimentos, como mostrado na Figura 9a. Para o experimento central composto, estes pontos são usados como guias para o desenho de um círculo de raio  $\alpha$  ( $\alpha = \sqrt{2}$ ) caso os fatores estejam em unidades adimensionais em torno do domínio experimental (MÄKELÄ, 2017; MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, 2016; SADHUKHAN; MONDAL; CHATTORAJ, 2016). Já na Figura 9b mostra os novos pontos axiais a serem usados no arranjo experimental em verde. Importante notar que o ponto central também é incluído.

**Figura 9** - Planejamento fatorial de  $2^2$  (a); Experimento central composto (b).



FONTE: Produção do autor.

A quantidade de pontos usados no experimento para o planejamento fatorial de  $n$  níveis é  $n^k$ , onde  $k$  é a quantidade de fatores. Para dois níveis temos  $2^k$ , contudo, para o experimento composto central, essa quantidade é  $2^k + 2k + c$  (SADHUKHAN; MONDAL; CHATTORAJ, 2016), onde  $c$  representa a quantidade de repetições do ponto central. Pode-se verificar na figura b que  $k = 2$  resulta em  $2^2 + 2 \cdot 2 + 1 = 9$  pontos experimentais.

Inicialmente parece desvantajoso o uso deste *design*, pois, para ele, mais pontos são necessários, entretanto, vale notar que agora cada fator tem 5 níveis diferentes, não mais dois e um planejamento fatorial com 5 níveis necessitaria de  $5^2 = 25$  arranjos. Portanto, o experimento central composto fornece melhores resultados com menos esforço.

Uma vez que se tem os resultados dos experimentos, pode-se usar a MSR, descrita acima, para estudar o processo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Foram coletadas as partes aéreas de *Thuja occidentalis* obtidas a partir de mudas cultivadas no município do Cabo de Santo Augustinho - PE (8°29'86,07"S e 35°06'45,29"W). A identificação da espécie foi realizada pela pesquisadora e curadora Dra. Rita de Cássia Araújo Pereira e a exsicata depositada no Herbário Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), sob o nº 87.752. Após coleta, o material vegetal fresco foi lavado com água destilada, aspergido com álcool etílico a 70 % (v/v) e seco em estufa de ar circulante por 120 horas à temperatura de 40 °C. O material seco obtido foi triturado em moinho de facas, obtendo-se um pó seco que foi acondicionado em recipientes de vidro vedado e sob ausência de luz.

### 4.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCÓLICO DE *Thuja occidentalis*.

Para preparação dos extratos, utilizou-se o pó seco da planta na proporção de 10 % (m/v) e, como líquido extrator, foi empregada uma solução hidroalcoólica a 70 % previamente preparada e verificada em relação à graduação em graus Gay-Lussac (°GL). O processo de digestão foi realizado a aquecimento a 40 °C e sob agitação mecânica a 200 rpm por 60 minutos. Após a digestão, o extrato obtido foi filtrado e armazenado em frasco âmbar até o momento da utilização.

#### 4.2.1 Controles de qualidade do extrato hidroalcoólico.

O extrato selecionado foi submetido aos controles de qualidade aplicáveis, de acordo com os métodos gerais da Farmacopeia Brasileira 5ª ed (2010).

##### 4.2.1.1 Determinação do pH

O pH das formulações foi verificado utilizando um pHmetro digital (Micronal®) previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

Foi realizada uma análise de pH direta, sem diluição da amostra, em triplicata, à temperatura de 25 °C.

#### 4.2.1.2 Determinação da densidade relativa

Para determinação da densidade relativa foi utilizado um picnômetro limpo e seco com capacidade para 25 mL, previamente tarado, foi preenchido com o líquido padrão (água destilada a 20 °C) e pesado, mantendo o cuidado durante o manuseio de tocar na vidaria apenas com o papel absorvente e eliminando as bolhas presentes no líquido. Em seguida, o picnômetro foi lavado com a amostra na mesma temperatura e pesado. A relação entre o peso do padrão e da amostra, em um volume fixo, forneceu o valor da densidade relativa do extrato

através das equações  $32d_{20}^{20} = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{água}}}$  ( 32 ) e 33.

$$d_{20}^{20} = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{água}}} \quad ( 32 )$$

$$p_{20} = 0,99820 \cdot d_{20}^{20} + 0,0012 \quad ( 33 )$$

Em que:

$m_{\text{extrato}}$  = massa do extrato que ocupa o volume V do picnômetro;

$m_{\text{água}}$  = massa de água pura que ocupa o mesmo volume V do picnômetro.

#### 4.2.1.3 Determinação do grau alcoólico

O grau alcoólico foi determinado colocando-se o extrato a 20 °C em uma proveta, seguido pela imersão do alcoômetro neste líquido. Quando o alcoômetro atingiu a posição de equilíbrio, verificou-se o ponto de afloramento da haste, observando tangencialmente o nível do líquido. O número correspondente ao ponto de afloramento indicou o teor alcoólico expresso pela sua unidade de medida, grau Gay-Lussac (°G.L.).

#### 4.2.1.4 Determinação do resíduo seco

Em pesa-filtros foram pesadas amostras de 2 mL do extrato hidroalcoólico e em seguida evaporadas em banho-maria até seca. Os resíduos foram colocados em estufa, à 105 ±2 °C por 3 horas, resfriados em dessecador e pesados. O resultado foi expresso em relação a

100 mL do extrato, obtendo-se o percentual massa/volume referente a média de três determinações.

#### 4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO SECO DE *Thuja occidentalis*.

Para avaliação dos parâmetros de secagem e escolha da concentração ideal de adjuvante, foram preparados extratos secos pela técnica de *spray-dryer* a partir dos extratos fluidos com adição de Aerosil®200 (Dióxido de Silício Coloidal) nas concentrações de 20 e 30 % em relação ao resíduo seco. A secagem foi realizada em Mini *Spray-dryer* (BÜCHI B-290). Antes da secagem, os extratos fluidos foram previamente diluídos em água destilada de forma a diminuir a concentração de solventes na amostra para um percentual de 20 % e, desta forma, permitindo a utilização do aparelho de *spray-dryer* no modo de sistema aberto. Os parâmetros de secagem foram mantidos constantes durante todo o processo de secagem, para as duas formulações de extratos secos produzidos. São esses, temperatura de admissão: 140 °C, temperatura de saída: 107 °C, velocidade de fluxo: 4,0 mL/min e pressão de 600 mmHg. As soluções extrativas adicionadas dos adjuvantes tecnológicos foram mantidas sob agitação durante todo processo de secagem.

##### 4.3.1 Controles de qualidade aplicáveis ao extrato seco.

###### 4.3.1.1 Avaliação do Rendimento do Processo de Secagem.

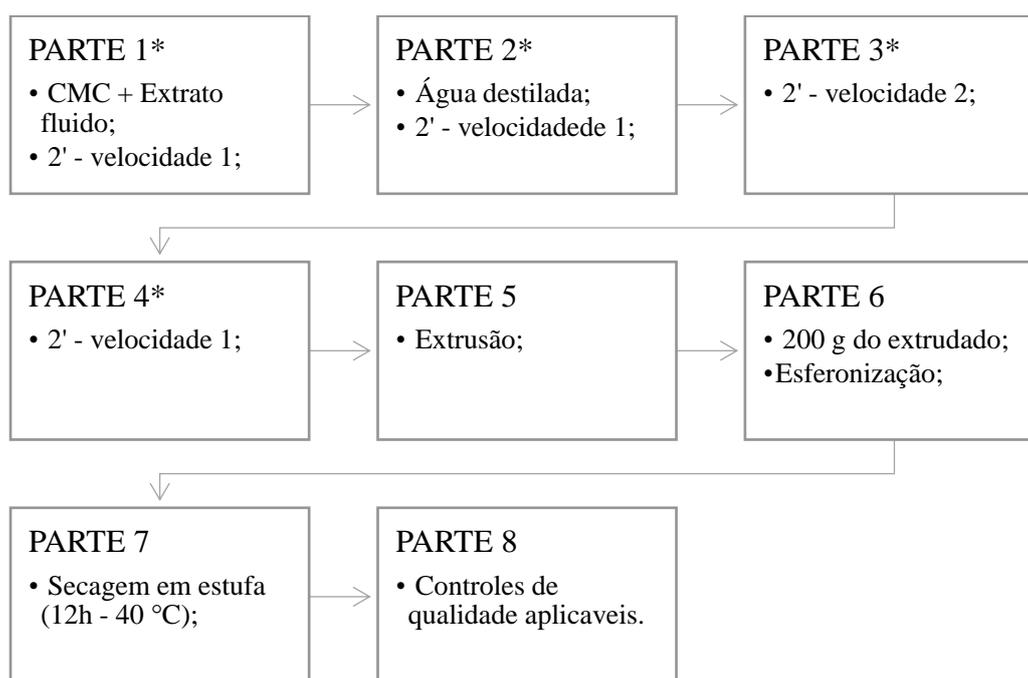
O rendimento bruto da operação de secagem dos extratos secos foi calculado em relação à massa teórica de sólidos totais presente nas soluções extrativas. Os sólidos totais correspondem ao teor de resíduo seco da solução extrativa, somada ao peso do adjuvante adicionado.

#### 4.4 OBTENÇÃO DE PELLETS POR EXTRUSÃO E ESFERONIZAÇÃO.

Para preparação da massa a ser extrudada foi utilizado 150 g de **Erro! Fonte de referência não encontrada.** (avicel), 150 mL de extrato fluido de *Thuja occidentalis* e cinco níveis de água destilada. O processo de molhagem e mistura da massa foi realizado dentro de um tempo total de 8 minutos, onde, em primeiro lugar, foi adicionada MCC e extrato fluido e se deu o início ao processo de mistura em batedeira planetária (Arno®) durante 2 minutos na

velocidade 1. Posteriormente a água foi adicionada e seguiu-se um esquema de mistura com mais 6 minutos de duração onde a cada 2 minutos o nível de velocidade da bateadeira era modificado de acordo com a sequência de 1, 2 e 1 velocidades até totalização do tempo da mistura. Durante todo o processo, a cada 1 minuto foi realizada uma pausa para homogeneização e retirada do material aderido as paredes da bateadeira. Por fim, a massa obtida foi submetida ao processo de extrusão em granulador Fabber-Primar (Modelo 17901) em malha de diâmetro adequado e, 200 g do extrudado foi submetido a esferonização em esferonizador Zelus (Modelo ES-230) com parâmetros determinados através de planejamento fatorial fracionado com análise do componente central. Como última parte do processo produtivo, todos os lotes de *pellets* obtidos foram submetidos a secagem em estufa de circulação de ar a temperatura de 40 °C por um período de 12 horas. O processo de obtenção foi sumarizado na figura abaixo (Figura 10).

**Figura 10** - Processo de obtenção de *pellets*



FONTE: Produção do autor.

LEGENDA:

\* Foi realizada uma pausa para homogeneização e retirada do material aderido as paredes da bateadeira planetária a cada 1' de agitação.

#### 4.5 DOSEAMENTO POR CLAE

##### 4.5.1 Condições cromatográficas

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

As amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido Shimadzu® (Prominence LC-20 AT), equipado com detector de arranjo de diodo (DAD). Utilizou-se uma coluna de fase reversa Ascentis® C18 (250 x 4,6 mm x 5µm), mantida a 32 °C. A fase móvel foi composta por ácido acético 0,5% (v/v) (pH = 3,1) (A) e metanol (B) a um fluxo de 0,8 mL/min, utilizando o seguinte gradiente de solvente: 0,01-5,00 min (75-25% B); 5,01-20,00 min (50-50% B); 20,01-29,00 min (5-95% B); 29,01-35,00 min (75-25% B). O volume de injeção foi de 20 µL e os picos detectados a 255 nm.

#### 4.5.2 Preparação da fase móvel

A fase móvel foi preparada por adição cuidadosa do ácido acético (J. B. Baker® 99,7%) em água ultrapurificada em um balão volumétrico, de forma que foi obtida uma solução final de 0,3% com pH = 3,1. A solução, assim preparada, foi desgaseificada com auxílio do ultrassom (Unique® USC-700) por alguns minutos.

#### 4.5.3 Preparação das amostras

Para a avaliação dos extratos por CLAE, foi obtida uma solução 01 a partir da diluição de uma alíquota de 1 mL do extrato fluido da planta para um balão volumétrico de 10 mL, tendo seu volume completado com metanol grau HPLC. Em seguida uma alíquota de 1,5 mL da solução 01 foi transferida para balão volumétrico de 5 mL e teve seu volume novamente completado com metanol grau HPLC. As amostras preparadas foram filtradas com filtro Millipore® com tamanho poro de 0,22 µm.

Para a avaliação do extrato seco e *pellets*, foram calculados, utilizados, respectivamente, os dados de resíduo seco e quantidade de extrato utilizada para garantir concentrações de avaliação iguais às do extrato fluido.

#### 4.5.4 Preparação da solução padrão

A solução estoque do padrão de quercitrina (pureza 98,5%, Extrasynthese) foi preparada por pesagem em balança Bioprecisa FA2104N e dissolução adequada da substância em metanol seguida de sonicação em banho de ultrassom (Limp Sonic) até completa homogeneidade. A solução mãe do padrão teve concentração final de 200 µg/ml. Partindo

dessa solução mais concentrada, foram feitas as diluições necessárias para obter os pontos da curva de calibração nas seguintes concentrações 5, 10, 20, 25, 30 e 40 µg/mL.

#### 4.6 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA POR TAMISAÇÃO

Os lotes de *pellets* foram submetidos ao ensaio de determinação granulométrica pelo método de tamisação segundo os procedimentos descritos na Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010). Para determinação da distribuição granulométrica, pesou-se cerca de 25 g do *pellet*, submetida à vibração (Agitador de peneiras Bertel®) por 30 min em tamises com as seguintes malhas: 20, 30, 40, 60, 100 e 170 mesh. Através das curvas de passagem e retenção, calculou-se o tamanho médio de partículas.

#### 4.7 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO FTIR-MID

Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer® (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada e cristal de selênio. As amostras a serem analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo e os resultados foram obtidos por meio de varreduras de 4500 a 600 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.8 ANÁLISE TÉRMICA

##### 4.8.1 Perfil térmico

Nos ensaios de Termogravimetria foi empregada uma termobalança, modelo TGA-60 da Shimadzu®. As curvas foram obtidas a uma razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL.min<sup>-1</sup>), intervalo máximo de temperatura de 30 °C a 600 °C. Para a realização dos ensaios foram utilizadas massas de amostras de 5,00 ± 0,5 mg em suportes de amostra de platina. Antes dos ensaios foram obtidas curvas em branco para avaliar a linha de base do sistema. A calibração dos equipamentos foi realizada na razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, com o padrão de oxalato de cálcio.

##### 4.8.2 Teor de umidade

Afim de realizar a análise de umidade, foi realizada uma análise isotérmica pelo método termogravimétrico com os valores percentuais extraídos diretamente das curvas termogravimétricas. O teor de umidade foi obtido a partir da primeira etapa de perda de massa, melhor visualizada pela curva da derivada de TGA (DTA) entre a temperatura inicial de análise e 105 °C.

#### 4.9 MÉTODO DE BET

A área de superfície específica e tamanho de poros foi calculada com base no método de BET. Foram utilizadas amostras do material previamente pesadas, pulverizadas e submetidas a uma estação de vácuo. Foi utilizado o analisador de superfície e tamanho de poros modelo ASAP 2420 da Micromeritics<sup>®</sup>, munido de software próprio para determinação dos resultados.

#### 4.10 PLANEJAMENTO FATORIAL

Para avaliar o processo de preparação dos *pellets* obtidos por incorporação do extrato fluido de *Thuja occidentalis*, foi realizado um planejamento fatorial fracionado com análise do componente central. Na construção da matriz de ensaios, foram consideradas três variáveis independentes: quantidade de água de molhagem, velocidade de rotação e tempo de permanência, enquanto as variáveis dependentes analisadas foram: teor, umidade, tamanho e área de superfície específica.

A análise estatística dos dados experimentais foi realizada por análise de variância (ANOVA) usando a metodologia de superfície de resposta, empregando o software Minitab<sup>®</sup> (versão 18). Os gráficos foram obtidos empregando o software Mathematica<sup>®</sup> (versão 11).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 OBTENÇÃO DE EXTRATO HIDROALCÓLICO E CONTROLES APLICÁVEIS.

Um dos problemas atribuídos a obtenção de extratos vegetais está relacionado ao controle de qualidade. As plantas medicinais produzem diferentes substâncias químicas, sendo que algumas são produzidas em maior quantidade que outras, e podem variar de acordo com condições de clima e solo (SIMÕES et al., 2010). Dessa forma, a qualidade da matéria-prima vegetal pode variar dependendo da sua procedência e período de coleta, o que torna o estudo dos parâmetros físico-químicos essenciais para avaliação primária dos extratos obtidos.

Com o propósito de avaliar através de parâmetros de qualidade o extrato hidroalcolico de *Thuja occidentalis*, foram realizados os testes de densidade relativa, pH, teor alcoólico e resíduo seco, os resultados estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** - Parâmetros físico-químicos do extrato fluido de *Thuja occidentalis*.

Parâmetro avaliado	Resultado $\pm$ dp	CV (%)
pH	5,55 $\pm$ 0,0306	0,5501
Densidade relativa (g/mL)	0,94 $\pm$ 0,0009	0,0905
Teor alcoólico ( $^{\circ}$ GL)	64,33 $\pm$ 0,5774	0,8974
Resíduo seco (% m/v)	2,31 $\pm$ 0,0153	0,6603

FONTE: Dados da pesquisa.

LEGENDA:

CV = Coeficiente de variação.

dp = Desvio padrão.

Os dados obtidos evidenciaram que o extrato possui densidade relativa em torno de 0,94 $\pm$ 0,0009 g/mL, encontrando-se com valor superior ao etanol absoluto (0,79 g/mL) e inferior ao da água destilada (1,0 g/mL), estando em consonância com o líquido extrator utilizado.

Na determinação do pH, que informa quão ácida ou alcalina é a amostra analisada, a média dos valores obtidos foi de 5,55  $\pm$  0,0306, determinando um caráter ácido para o extrato, resultado que pode ser explicado devido a presença de flavonoides na espécie vegetal em estudo, além destes serem os constituintes químicos majoritariamente extraídos pelo processo digestivo utilizado neste trabalho.

O teor alcoólico das análises, tiveram em média, valores próximos ao líquido extrator utilizado (70 °GL), a diferença obtida entre os valores iniciais e finais do processo extrativo pode ser explicada pela temperatura utilizada no processo de digestão, possibilitando a evaporação de parte do etanol.

O teste de resíduo seco permitiu visualizar o potencial de extração do líquido extrator, analisando a quantidade de substâncias tornadas solúveis pelo seu contato com a espécie vegetal, sendo obtido valores na escala de  $2,31 \pm 0,0153$  % (m/v).

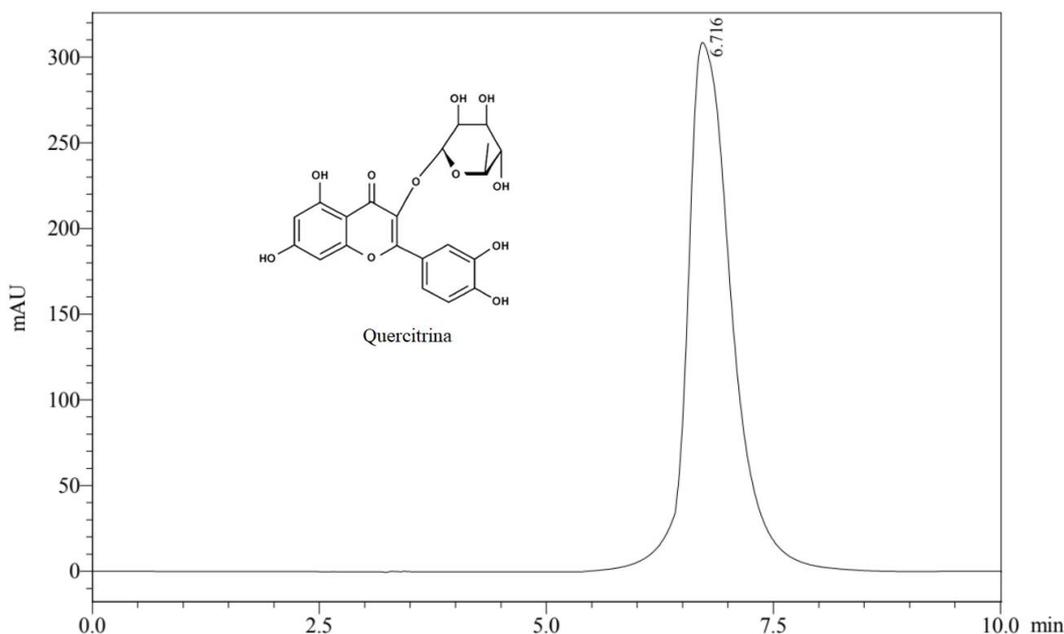
Sabe-se que os extratos vegetais representam manipulações farmacêuticas que têm como objetivo diminuir o volume, concentrar substâncias, reduzir posologias, aumentar o prazo de validade e conservação das amostras. Adicionalmente, outro objetivo essencial a ser atingido ao se preparar uma solução extrativa é separar os metabólitos de maior importância para uma determinada atividade terapêutica, e isso depende fundamentalmente da seletividade do solvente e/ou mistura de solventes utilizados para separação dos constituintes de interesse no material vegetal (MARQUES, 2005).

Fundamentalmente, análises de que possam verificar a constituição e presença de marcadores biológicos como a CLAE são essenciais para que se possa realizar o doseamento da amostra.

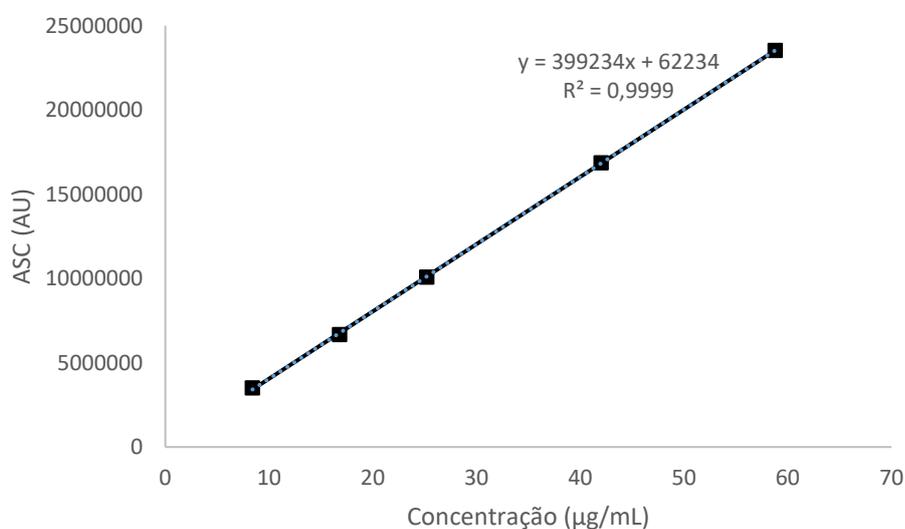
Desta forma, para análise dos dados cromatográficos dos extratos de *Thuja occidentalis* foi obtida a curva padrão referente ao marcador de referência, a quercitrina. O marcador foi determinado através do isolamento e identificação dessa substância a partir da análise do perfil cromatográfico do extrato fluido de *Thuja occidentalis*, resultado obtido em trabalho prévio desenvolvido neste grupo de pesquisa (ALVES, 2014).

A quercitrina apresentou tempo de retenção ( $R_t$ ) em 6,7 minutos para o método aplicado (Figura 11). Este foi utilizado para comparação com a área sob a curva (ASC) e construção da curva padrão (Figura 12). A partir da análise pelo método dos mínimos quadrados, obtido a partir da média de três curvas autênticas, determinou-se um coeficiente de linearidade ( $R^2$ ) de 0,9999 com a equação ( 34 ) proposta para os doseamentos.

$$y = 399234x - 62234 \quad (34)$$

**Figura 11 - Cromatograma da quercitrina.**

FONTE: Dados da pesquisa.

**Figura 12 - Representação gráfica da curva padrão da quercitrina.**

FONTE: Dados da pesquisa.

Para os extratos hidroalcoólicos analisados foram obtidos  $R_t$  semelhantes ao padrão, caracterizando a ausência de alterações significativas. Em seguida, foi determinada a concentração de quercitrina presente nos extratos fluidos, utilizando a equação proposta na curva padrão. O extrato demonstrou possuir uma concentração média de  $4,69 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$  em relação ao padrão referência (Tabela 2), estes dados serão usados posteriormente para determinação do teor das formas farmacêuticas produzidas.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêuticas sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

**Tabela 2** - Dados das leituras cromatográficas dos extratos fluidos de *Thuja occidentalis*.

ASC (mAU)			Média	dp	CV (%)	Concentração de quercetrina (µg/mL)
Extrato 01*	Extrato 02*	Extrato 03*				
1810168	1806632	1816409	1811069	4950,43	0,27	4,69±0,1

FONTE: Dados da pesquisa.

LEGENDA:

\* Média de três leituras;

Todas as análises mencionadas tiveram coeficientes de variação inferiores 5 % e não possuem valores fixos preconizados pela Farmacopeia Brasileira, adicionalmente todos os resultados estão em consonância estudos prévios realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (ALVES, 2014), indicando que o extrato fluido encontra-se adequado para realização dos demais experimentos previstos para esse projeto, assegurando a qualidade do material obtido perante o processo extrativo aplicado a *Thuja occidentalis*.

## 5.2 SECAGEM DE EXTRATO POR SPRAY-DRYER E CONTROLES APLICÁVEIS.

Na análise macroscópica foi possível observar que ambos os extratos secos obtidos se apresentaram na forma de um pó fino, verde claro e com odor característico da espécie vegetal.

O rendimento e doseamento dos extratos secos estão apresentados na Tabela 3. A análise dos dados do rendimento permitiu observar que melhores rendimentos foram obtidos nos extratos com maiores concentrações de aerossol. Esses resultados corroboram com os obtidos por Oliveira e Petrovick (2010) e Vasconcelos e colaboradores (2005).

**Tabela 3** - Análises dos extratos secos com diferentes proporções de SiO<sub>2</sub>.

Composição do extrato seco	Rendimento (%)		Doseamento (%)	
	Resultado ± dp*	CV	Resultado ± dp*	CV
20% de Dióxido de silício	12,25±0,0833	0,6799	85,4980±0,1182	0,1382
30% de Dióxido de silício	17,33±0,1114	0,6426	102,8905±0,0542	0,0527

FONTE: Dados da pesquisa.

LEGENDA:

dp\* = Desvio padrão de análises realizadas em triplicata;

O SiO<sub>2</sub> vem sendo amplamente empregado na secagem de produtos farmacêuticos devido à sua grande capacidade de adsorção, reduzindo a aderência do extrato as paredes do equipamento durante a secagem. Também permite a obtenção de partículas esféricas e homogêneas, aumentando o rendimento (RUNHA et al., 2001).

Entretanto, durante a secagem, observou-se a aderência das partículas dos extratos secos nas paredes da torre de coleta e a perda de parte das partículas em suspensão no ar pelo sistema de exaustão. A aderência às paredes pode estar relacionada as condições de secagem utilizadas, aos excipientes de secagem ou à baixa eficiência do sistema de coleta utilizado para recolhimento do pó (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010), justificando o baixo rendimento do processo de secagem.

A adição de água ao extrato hidroalcoólico antes do processo de secagem teve como objetivo reduzir o conteúdo de álcool presente na amostra, prevenindo o risco de explosão. Desta forma, a adição de água a amostra fez necessária a utilização de uma maior temperatura de secagem no aparelho de *spray dryer*, com o objetivo de permitir a total secagem da amostra e obtenção de um extrato seco com baixo teor de umidade.

Entretanto, sugere-se que a utilização de uma maior temperatura de secagem pode ter uma influência direta no rendimento e eficiência final do processo. O uso de solventes orgânicos com percentuais superiores a 20 % no LA, apesar da influência positiva na eficiência do processo de secagem quando solventes como etanol, metanol e isopropanol são empregados, o risco de explosão torna a utilização muito perigosa. Para se evitar esse processo, um gás inerte, geralmente o nitrogênio, é utilizado em vez de ar, sendo para tanto necessário a utilização de um sistema de ciclo fechado (WELDEL; ÇELIK, 1998).

Ademais, o alto teor alcoólico encontrado inicialmente no extrato hidroalcoólico de *Thuja occidentalis* permitiria a utilização de temperaturas menores de secagem, permitindo a não degradação de produtos termolábeis, gerando conseqüentemente um menor gasto de produção (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Para as análises foram obtidos tempos de retenção de aproximadamente 6,7 minutos para o extrato hidroalcoólico *Thuja occidentalis* e para ambos os extratos secos, permitindo a análise de doseamento e, apesar dos extratos secos terem obtidos resultados com coeficiente de variação inferior a 5 %, o baixo rendimento do processo inviabilizou a produção de um extrato em quantidades suficientes para incorporação em uma cápsula. Desta forma, outros métodos produtivos foram utilizados.

### 5.3 OBTENÇÃO DE PELLETS E CONTROLES APLICÁVEIS.

No desenvolvimento dos *pellets* foi utilizado um planejamento fatorial fracionado com análise do componente central para obtenção de uma superfície de resposta, utilizando três fatores em cinco níveis diferentes, pois o processo ainda avalia seis pontos centrais.

Os fatores avaliados foram quantidade de líquido de molhagem, velocidade de rotação e tempo de permanência, visto que esses são, em geral, os considerados mais críticos no processo de obtenção dos *pellets* pelo método de extrusão e esferonização (SANTOS et al., 2006). Os demais fatores que poderiam causar alterações nas respostas foram mantidos constantes afim de evitar desvios nos resultados das análises.

Desta forma, foi estabelecida a produção de vinte lotes, com as variações dos fatores e níveis apresentadas na Tabela 4. Após a obtenção dos lotes foram analisadas as respostas das variáveis de dependentes.

**Tabela 4** - Fatores e níveis variados na produção dos lotes de *pellets*.

Lotes de <i>Pellets</i>	Água de molhagem (mL)	Rotação do esferonizador (rpm)	Tempo de esferonização (segundos)
01	75	1200	60
02	75	1200	20
03	87,5	1000	40
04	100	800	20
05	87,5	1000	40
06	108	1000	40
07	100	1200	60
08	87,5	1336	40
09	75	800	60
10	87,5	1000	6,3
11	87,5	1000	40
12	87,5	1000	40
13	100	800	60
14	100	1200	20
15	87,5	1000	73,6
16	87,5	1000	40
17	87,5	1000	40
18	87,5	664	40
19	75	800	20
20	66,5	1000	40

FONTE: Dados da pesquisa.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

### 5.3.1 Doseamento dos *pellets*

De acordo com as condições cromatográficas estabelecidas para o marcador quercitrina, foram obtidos perfis cromatográficos semelhantes aos do extrato hidroalcoólico de *Thuja occidentalis* com tempos de retenção de todos os *pellets* produzidos em torno de 6,7 minutos. Os dados de teor calculados em comparação a quantidade de extrato inicialmente utilizado na preparação são evidenciados na Tabela 5, juntamente com os dados de leituras de área sob a curva (ASC).

**Tabela 5** - Análise de doseamento dos *pellets* por CLAE.

Lote	ASC (mAU)			Concentração de quercitrina (µg/mL)	Teor (%)**
	Média*	dp	CV		
1	1581750	11792,85	0,75	411,78	87,80
2	1560331	30553,72	1,96	406,42	86,66
3	1392743	19653,54	1,41	364,44	77,71
4	1460595	16183,68	1,11	381,44	81,33
5	1538606	24351,02	1,58	400,98	85,50
6	1578276	30508,81	1,93	410,91	87,61
7	1542041	20503,13	1,33	401,84	85,68
8	1562912	31055,91	1,99	407,07	86,79
9	1503797	40809,29	2,71	392,26	83,64
10	1520470	10209,00	0,67	396,44	84,53
11	1538416	27858,51	1,81	400,93	85,49
12	1550283	23810,49	1,54	403,90	86,12
13	1534599	11689,42	0,76	399,97	85,28
14	1619543	43800,36	2,70	421,25	89,82
15	1579622	30196,34	1,91	411,25	87,69
16	1658548	10784,84	0,65	431,02	91,90
17	1611963	7230,97	0,45	419,35	89,41
18	1519079	32355,59	2,13	396,09	84,45
19	1518253	42825,65	2,82	395,88	84,41
20	1505107	3446,79	0,23	392,59	83,71

FONTE: Dados da pesquisa.

LEGENDA:

\* Média referente a três leituras;

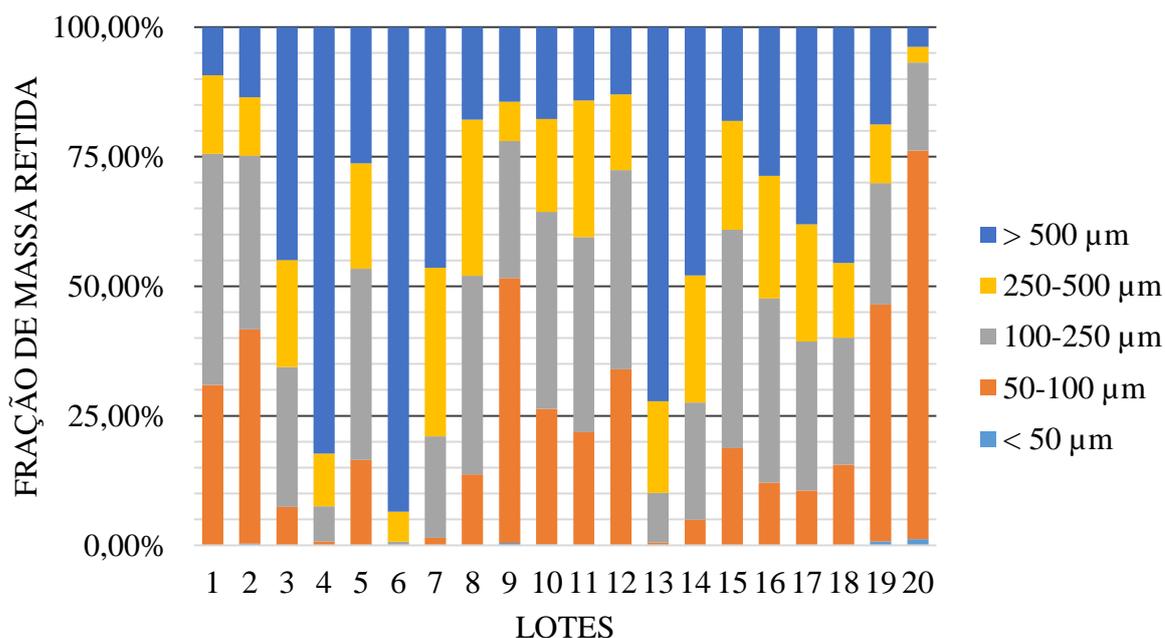
\*\* Teor referente ao extrato hidroalcoólico utilizado na preparação do *pellet*.

De acordo com os resultados obtidos, as amostras apresentaram, em sua maioria, teor superior a 80 %, além de coeficientes de variação menores que 5 %.

### 5.3.2 Análise granulométrica

Para as análises de distribuição de tamanho por tamisação, foram considerados ideais os *pellets* que apresentaram percentuais de distribuição granulométrica superiores a 50% dentro da escala de famílias entre 100 e 500  $\mu\text{m}$  (Figura 13), pois estes apresentam tamanhos ideais para a veiculação em cápsulas (AULTON, 2016), além de maior rendimento no processo.

**Figura 13** - Análise da distribuição granulométrica por tamisação.



FONTE: Dados da pesquisa.

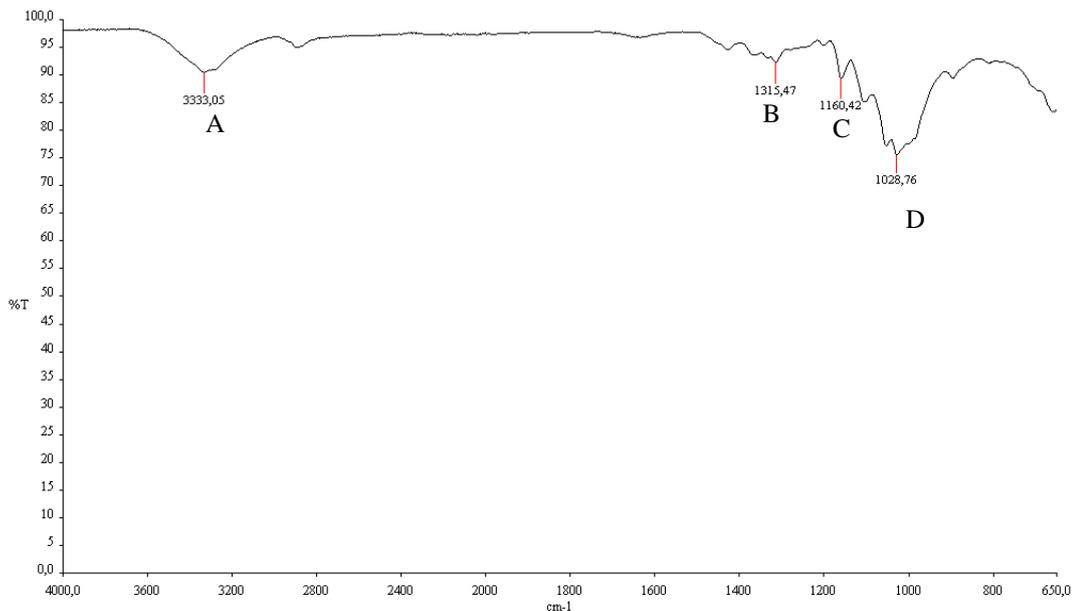
### 5.3.3 Análises por espectroscopia FTIR-MID

No espectros de absorção da MCC (Figura 14), podem ser visualizados quatro picos e/ou bandas representados por A, B, C e D.

A banda “A” existente no intervalo de 3645 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  aproximadamente, representa estiramentos O-H característicos de hidroxilas livres (que estão presentes na MCC) e água

adsorvida fracamente ligada; “B” indica a vibração de flexão das ligações C-H e C-O nos anéis aromáticos do polissacarídeo; “C” representa vibração de valência assimétrica (C-O-C); “D” estiramentos da ligação C-O como as presentes na ligação  $\beta$ -1,4 (SCHWANNINGER et al., 2004).

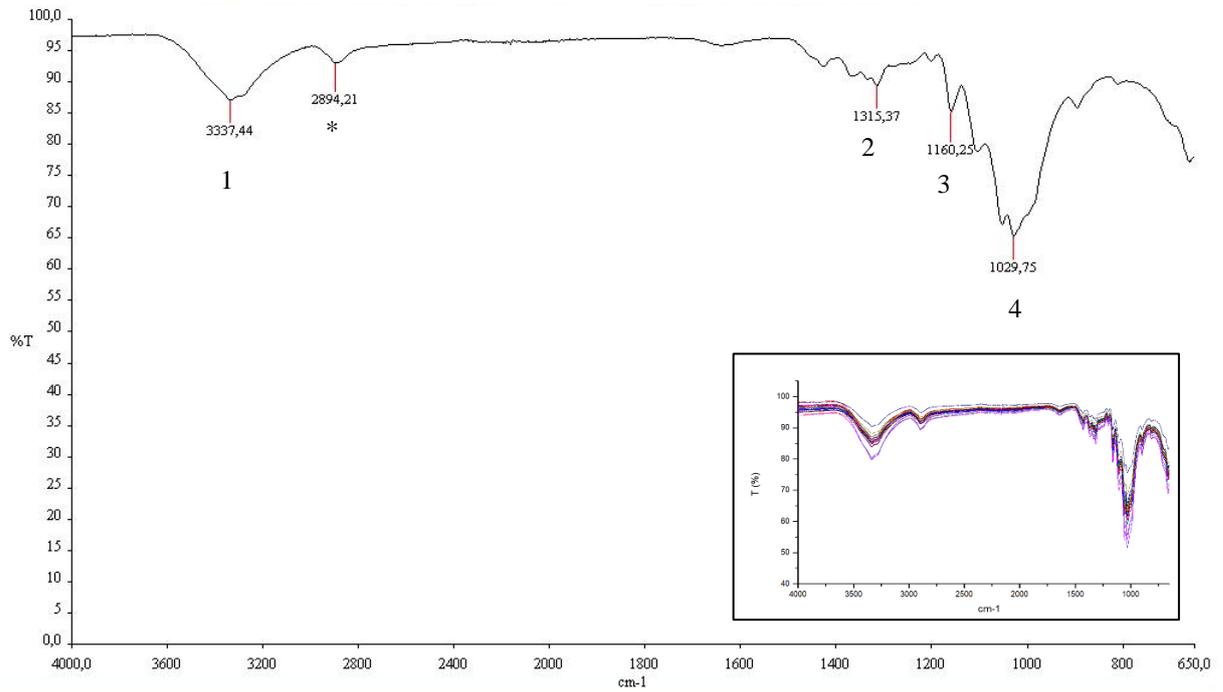
**Figura 14** - Espectro de absorção FTIR-MID da MCC.



FONTE: Dados da pesquisa.

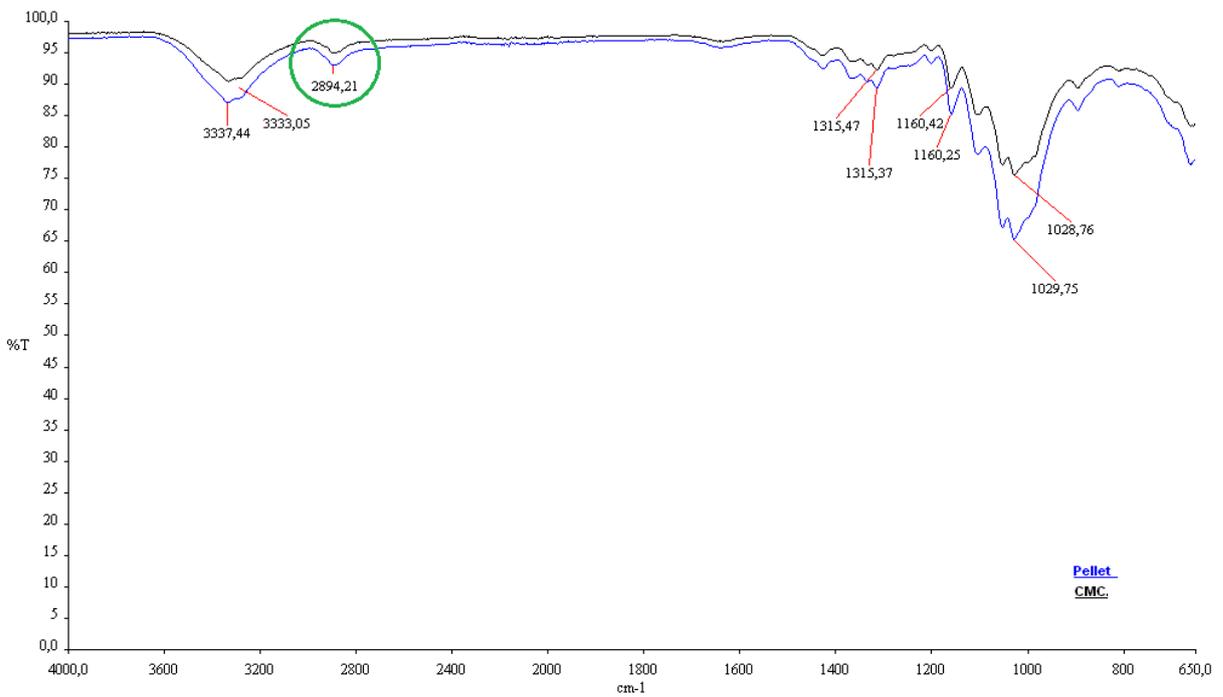
O espectro do *pellets* lote 1 juntamente com a miniaturização dos espectros dos demais lotes (Figura 15), exibiu cinco picos (1, 2, 3, 4 e \*) que quando analisados comparativamente ao espectro de absorção da MCC, verifica-se que os picos A, B, C e D da MCC são respectivamente correspondentes aos 1, 2, 3 e 4 do *pellet*. Já o pico adicional representado por “\*” na região próxima aos 2890 cm<sup>-1</sup>, representam estiramentos assimétricos C-H e também pode ser observado no espectro da MCC, contudo, ele não se encontra evidenciado na figura devido a sua pequena definição, ocasionada pelos baixos valores de transmitância atingidos. A presença desse pico pode ser melhor observada na região circulada da Figura 16.

**Figura 15 - Espectro de absorção FTIR-MID dos pellets.**



FONTE: Dados da pesquisa.

**Figura 16 - Espectros de FTIR-MID da MCC versus pellets.**



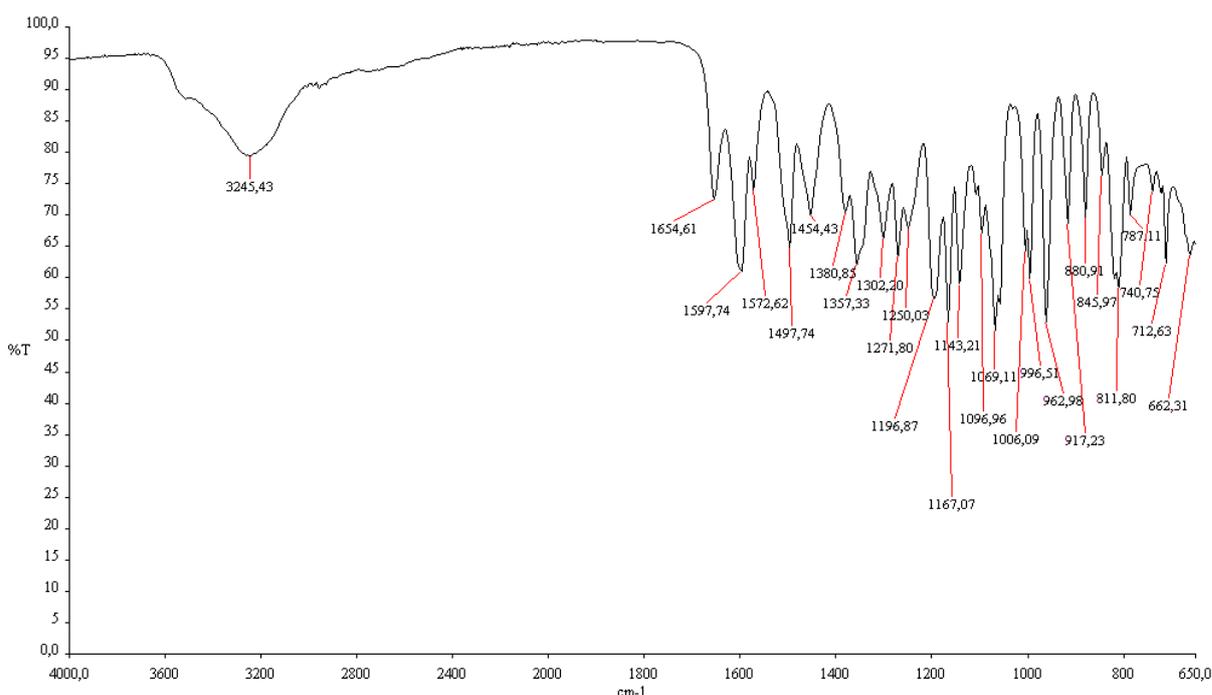
FONTE: Dados da pesquisa.

Este tipo de estiramento assimétrico da ligação C-H é normalmente encontrado nos espectros de infravermelho das moléculas de celulose. Sabendo que a MCC é obtida a partir da hidrólise ácida da celulose, sua presença pode ser observada em pequenas quantidades na amostra do excipiente utilizado.

A análise de FTIR é uma técnica que pode ser utilizada para avaliação e caracterização de diferentes graus de cristalinidade de moléculas, assim, podemos supor que o processo de obtenção dos *pellets* pode ter influenciado na mudança da organização cristalina da MCC, promovendo a intensificação dos valores de transmitância por aumento da presença desses constituintes. Estudos realizados com a celulose por Lengowski (2012), evidenciam que uma alteração na organização cristalina faz com que o perfil espectral das amostras seja alterado através da redução ou aumento da intensidade ou mesmo o desaparecimento e surgimento de picos característicos das regiões cristalinas das amostras.

Por fim, o espectro do marcador padrão de quercitrina foi obtido (Figura 17), para comprovar que, apesar de sua presença em quantidades superiores no extrato fluido de *Thuja occidentalis*, seus picos característicos não se encontram presentes no espectro FTIR-MID dos *pellets*. Entretanto, isso pode ser uma evidência tanto da boa incorporação dos extratos nos *pellets*, quanto também a ausência de sensibilidade do aparelho para verificar pequenas quantidades de substâncias.

**Figura 17 - Espectro de absorção FTIR-MID da Quercitrina.**



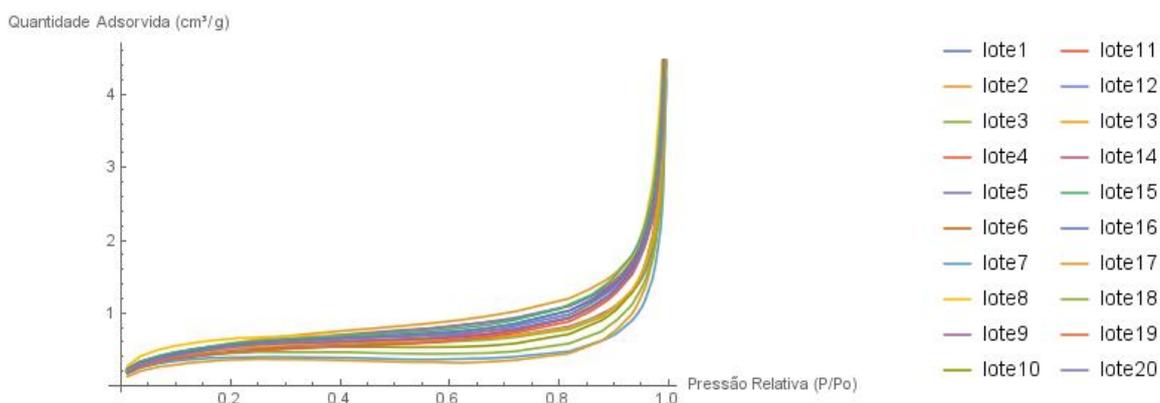
FONTE: Dados da pesquisa.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

### 5.3.4 Análise de área superficial e poros pelo método de BET

Todos os lotes 20 lotes analisados demonstraram possuir um perfil de adsorção similar, como pode ser observado na Figura 18. Tais perfis levam a conclusão inicial que os modelos de adsorção poderão ser classificados, segundo a descrição da IUPAC, como isotermas do tipo III ou IV (WEBB; ORR, 1997).

**Figura 18** - Isotermas de adsorção dos lotes de *pellets* pelo modelo de BET.



FONTE: Dados da pesquisa.

A isoterma tipo III é caracterizada pela convexidade em direção ao eixo de pressão parcial, começando na origem, ocorre em casos em que a interação entre as moléculas de adsorvato se aproxima da entre o adsorvente, ou seja, onde o calor de adsorção é similar ao calor de condensação. Podemos observar esse evento pela elevada pressão parcial necessária para que se dê início o processo de adsorção, seguida de súbita elevação na quantidade de material adsorvido (DAŁBROWSKI, 2001; NADERI, 2015).

Já a isoterma tipo V é comumente observada em adsorventes planos e homogêneos e possui uma trajetória inicial semelhante ao tipo III. Neste caso, o adsorvato interage preferencialmente com a monocamada do que com a superfície adsorvente, devido ao menor calor de adsorção comparado ao calor de liquefação. Na isoterma este efeito é observado por uma discreta elevação inicial na quantidade de material adsorvido, seguida de uma posterior e súbita elevação deste, semelhante ao observado na isoterma tipo III (DAŁBROWSKI, 2001; GELB; GUBBINS, 1998; NADERI, 2015).

De acordo com os dados apresentados na (Tabela 6), podemos observar valores das pressões parciais ( $P/P_0$ ) alcançados para o início do processo de sorção permitindo a confirmação da classificação da isoterma.

Com e esta classificação, podemos notar que existe uma baixa interação entre as moléculas de adsorvente e adsorvato, o que pode ser observado através da elevada pressão parcial alcançada para que possa ocorrer o processo de adsorção (GELB; GUBBINS, 1998). Após alcançada a pressão parcial necessária, irá ocorrer uma súbita elevação na quantidade de material adsorvido, este processo se dá, pois, o calor de adsorção é similar ao calor de condensação e uma maior pressão parcial é necessária para o processo de sorção ocorra.

**Tabela 6 - Análise BET lotes de *pellets* produzidos.**

<b>Lotes</b>	<b>Pressão relativa (P/P<sub>0</sub>)</b>	<b>Área de Superfície Específica (m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Volume de Poro (cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Tamanho do Poro (Å)</b>
1	0,20009	1,577	0,005	77,191
2	0,20019	2,030	0,006	61,687
3	0,19986	1,815	0,005	87,696
4	0,20009	1,950	0,006	66,633
5	0,19973	1,944	0,005	67,387
6	0,19979	1,819	0,006	118,108
7	0,20008	1,352	0,004	151,450
8	0,21948	2,227	0,007	132,230
9	0,19977	1,958	0,006	95,183
10	0,19969	1,739	0,005	124,567
11	0,20012	1,754	0,006	96,096
12	0,19990	1,744	0,006	91,331
13	0,19984	1,785	0,005	83,191
14	0,19992	1,900	0,006	105,233
15	0,20000	2,014	0,007	88,044
16	0,20001	1,939	0,006	82,824
17	0,20025	1,241	0,005	141,861
18	0,20005	1,553	0,004	131,974
19	0,20017	1,607	0,006	105,970
20	0,20004	1,869	0,006	78,259

FONTE: Dados da pesquisa.

Por fim, os resultados da análises de BET determinaram áreas de superfície específica entre 1,241 e 2,227 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>, lotes 17 e 8 respectivamente, dado importante para a definição de uma formulação que permita um rápido perfil de dissolução das amostras, já que elevadas MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

área de superfície iram permitir um maior contato entre o medicamento e os fluidos corporais (AULTON, 2016). Entretanto, os dados de área não possuem uma correlação direta com o tamanho dos poros, como podemos observar que os lotes 2 e 7 foram os que apresentaram o menor e o maior valor na análise, mas ainda assim todos os pellets obtidos se enquadram na classificação de mesoporos segundo a IUPAC (WEBB; ORR, 1997). Estes dados encontram-se sumarizados na Tabela 6 **Tabela 1**.

### 5.3.5 Análises térmicas

A termogravimetria é uma técnica de elevada sensibilidade, reprodutibilidade e resposta rápida às variações de massa, obtendo-se resultados relativos à composição e estabilidade térmica da amostra, importantes para a caracterização de matérias-primas (CLEMENTINO DA SILVA et al., 2007).

A decomposição térmica de todos os lotes de *pellets* se dá em um processo de duas etapas que tem início por volta de  $36,88 \pm 3,36$  °C e vai até  $68,24 \pm 3,11$  °C com um percentual de perda  $3,77 \pm 0,45$  %, para o segundo evento vai de  $333,67 \pm 5,01$  °C a  $366,59 \pm 3,47$  °C com perda de massa total  $73,14 \pm 3,41$  %, estes eventos estão sumarizados na Tabela 7, contudo eles podem ser melhores visualizados nas curvas de TG/DTA presentes no apêndice A do trabalho.

Para as análises de umidade/produtos voláteis e cinzas dos extratos, tendo em vista que não existe uma monografia específica designada para a planta, foram obtidas curvas isotérmicas para análise destes parâmetros.

De acordo com as curvas termogravimétricas, observou-se perda de massa referente a temperatura inicial do processo até 105 °C. Exceto os lotes de *pellets* 10, 12, 16, 18, 19 e 20, todos os outros apresentaram um percentual de perda de massa referente a umidade 5 % estando em consonância com os valores preconizados pela Farmacopeia (BRAZIL, 2010).

Estes valores são importantes pois, a determinação da umidade residual é um ensaio de grande relevância na produção de medicamentos, ademais serve de parâmetro para avaliação da metodologia de secagem empregada, pois alto teor de água propicia a proliferação de micro-organismos; possibilita a degradação de princípios ativos pelos processos de hidrólise e influencia a qualidade farmacotécnica dos materiais, podendo afetar, em especial, suas características reológicas e a estabilidade físico-química (BORGES et al., 2005; GARCIA-AMOEDO; ALMEIDA-MURADIAN, 2002).

Tabela 7 - Análises térmicas.

Amostra	Etapas	$T_i$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta m$ (%)	$T_{max}^{DTA}$ (°C)	$\Delta H$ (J.g <sup>-1</sup> )
Lote 1	1	39,83	69,33	3,199	107,78	-2,3
	2	331,2	368,02	73,266	319,67	-16,71
Lote2	1	41,91	71	3,61	99,57	-8,5
	2	330,24	368,12	76,05	357,29	-169,41
Lote 3	1	38,19	70,59	4,033	99,75	-10,43
	2	334,87	368,96	-74,41	359,03	-232,83
Lote 4	1	32,66	68,88	3,66	91,07	-26,47
	2	336,12	363,34	67,34	316,13	-594,86
Lote 5	1	36,86	70,23	3,79	102,37	1,65
	2	329,76	366,98	73,85	359,72	-421,42
Lote 6	1	36,65	68,08	3,91	90,76	-26,41
	2	332,15	362,6	70	370,9	849,36
Lote 7	1	38,58	72,01	3,95	91,83	-13,28
	2	328,99	364,77	74,25	357,16	-204,66
Lote 8	1	39,49	64,16	3,35	83,69	-28,09
	2	330,77	364,51	71,04	369,8	702,42
Lote 9	1	36,9	73,26	3,3	96,35	-27,11
	2	333,8	368,92	76,02	360,44	-285,88
Lote 10	1	37,24	72,71	3,6	102,73	-3,36
	2	342,38	369,63	78,54	360,47	-193,3
Lote 11	1	35,56	63,08	3,02	91,55	-20,15
	2	330,89	364,09	67,45	374,16	768,11
Lote 12	1	37,97	66,13	3,71	91,86	-0,78
	2	332,25	368,67	-75,38	360,15	-303,85
Lote 13	1	38,65	63,97	3,26	95,43	-2,05
	2	332,49	369,94	74,74	361,2	-94,75
Lote 14	1	36,61	68,93	4,71	104,18	9,94
	2	324,76	357,24	66,91	362,52	1150
Lote 15	1	35,43	65,11	3,91	97,72	-3,49
	2	339,09	363,35	69,62	372,36	668,14
Lote 16	1	32,53	69,99	4,46	97,19	-1,34
	2	331,66	369,96	76,06	359,83	-226,08
Lote 17	1	30,46	66,59	4,59	79,07	-16,33
	2	332,48	363,56	71,07	367,03	659,11
Lote 18	1	44,1	64,97	3,67	80,47	-6,74
	2	341,09	369,7	74,61	356,06	-240,65
Lote 19	1	36,74	65,33	3,92	91,7	-1,87
	2	345,79	369,92	76,26	360,69	-425,14
Lote 20	1	31,33	70,47	3,66	79,81	-0,98
	2	332,52	369,54	75,85	361,49	-270,26

FONTE: Dados da pesquisa.

#### 5.4 MODELAGEM E OTIMIZAÇÃO DE OBTENÇÃO DE PELLETS.

A partir da análise das variáveis dependentes do processo (teor, umidade, área de superfície específica e tamanho do poro) e usando o software Minitab®, foram obtidas as funções interpoladas para cada variável independente em função dos fatores, onde  $c$  representa a quantidade de água de molhagem,  $r$  a velocidade de rotação e o  $t$ , o tempo:

- Doseamento

$$D(c, r, t) = 0,57 - 1,9c - 0,0056r + 0,0001t + 0,000138r^2 + 0,000001t^2 - 0,0142ct + 0,00005rt$$

- Umidade

$$U(c, r, t) = 9,36 - 32,6c - 0,095r - 0,0714t + 0,00107r^2 + 0,00026t^2 + 0,448ct + 0,00059rt$$

- Tamanho do poro

$$T(c, r, t) = 41,1 - 38c - 3,13r - 0,431t + 0,0843r^2 + 0,00006t^2 + 2,9ct + 0,0105rt$$

- Área da superfície

$$A(c, r, t) = -0,04 + 10,6c + 0,017r + 0,0577t + 0,00261r^2 + 0,00006t^2 - 0,306ct - 0,00223rt$$

Com as funções interpoladas foi possível obter as análises e construção dos gráficos de cubos de densidade de resposta para uma visualização mais didática sobre a influência de cada fator sob as variáveis dependentes. Os níveis de influência sobre as respostas encontram-se sumarizados no Quadro 3, juntamente com as referências as figuras dos cubos de densidade.

**Quadro 3** - Nível de influência nas variáveis dependentes.

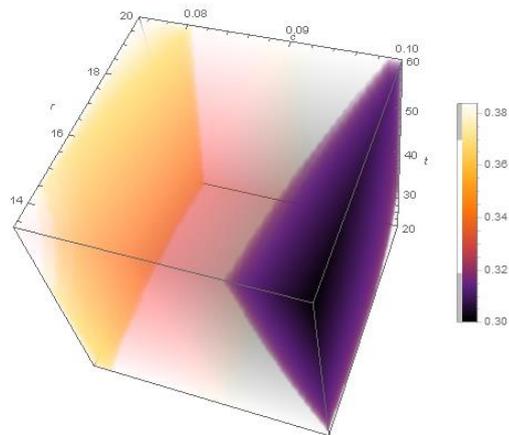
Variáveis dependentes Superfície de nível	Doseamento	Umidade	Tamanho de poro	Área de superfície	Tamanho dos pellets
Tempo	-	+ -	+	+	-
Rotação	-	-	+	+	+ -
Composição	+	+	+	+ -	-
Cubos de densidade de resposta	Figura 19	Figura 20	Figura 21	Figura 22	Figura 23

FONTE: Dados da pesquisa.

LEGENDA:

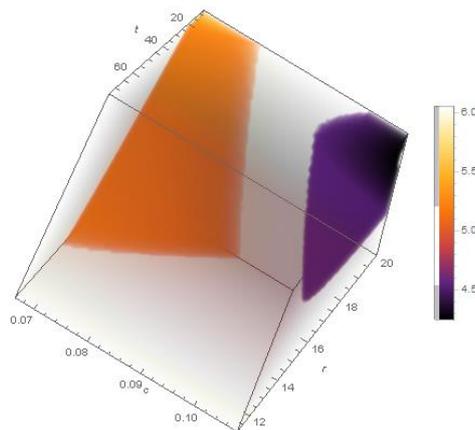
+ Nível elevado de alterações; + - Nível médio de alterações; - Nível inferior de alterações.

**Figura 19** - Cubo de densidade para o doseamento.



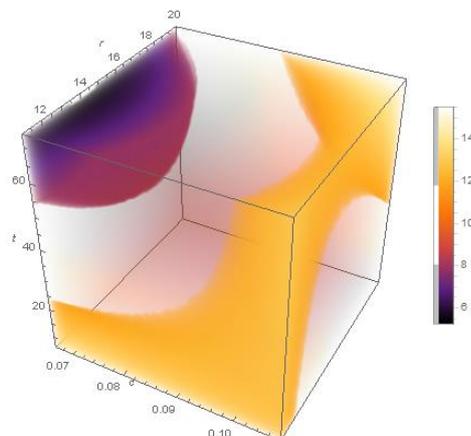
FONTE: Dados da pesquisa.

**Figura 20** - Cubo de densidade para a umidade.



FONTE: Dados da pesquisa.

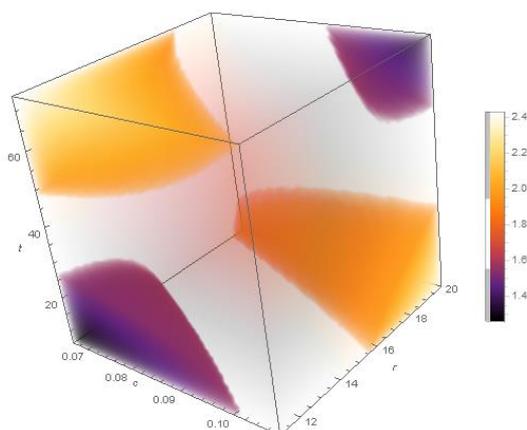
**Figura 21** - Cubo de densidade para o tamanho de poro.



FONTE: Dados da pesquisa.

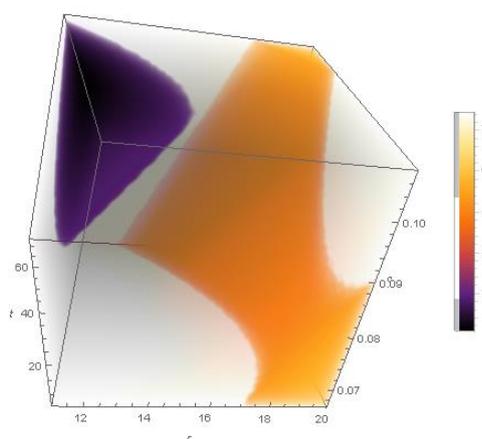
MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

**Figura 22** - Cubo de densidade para a área de superfície.



FONTE: Dados da pesquisa.

**Figura 23** - Cubo de densidade para o tamanho do *pellets*.



FONTE: Dados da pesquisa.

Desta forma, com todos dados obtidos foi possível escrever um código na linguagem de programação Python para a otimização do processo produtivo dos *pellets*. Seu funcionamento se baseia nas equações interpoladas descritas anteriormente nesta seção para o doseamento, umidade, tamanho dos *pellets* e área.

O algoritmo funciona da seguinte maneira: A função doseamento é calculada para todos os conjuntos (c, r, t) com os valores dos fatores distribuídos uniformemente entre os valores extremos apresentados pela Tabela 1 do *design* do experimento e somente aqueles cuja resposta exhibe uma dosagem dentro do intervalo de 0,39 a 0,49 são armazenados.

O mesmo procedimento é realizado com a equação para a umidade, ela é calculada em todos os pontos do subconjunto (c, r, t) selecionado no passo anterior e somente os que resultam em umidades menores que 5% são novamente armazenados. Logo, este novo subconjunto (c, r, t) selecionado pela umidade é utilizado no cálculo do tamanho dos *pellets* e armazenados caso resultem em porcentagens maiores que 60 % de tamanhos aceitáveis. Posteriormente, a função área é calculada nestes pontos (c, r, t) e dentre todas as respostas, seleciona-se a maior.

Deste modo, podemos achar um único valor para a composição, rotação e o tempo que apresentará uma maior área superficial também respeitando os intervalos restritivos apresentados e descritos anteriormente para dosagem, umidade e tamanho.

Por fim, os dados previstos pelo programa para obtenção dos melhores parâmetros para obtenção de uma formulação de *pellets* ideal foram:

- Composição = 94 mL de água de molhagem;
- Rotação = 1200 rpm;
- Tempo = 20 segundos.

Estes parâmetros serão posteriormente testados experimentalmente para obtenção de *pellets* a serem veiculados na forma farmacêutica cápsula, conforme simulação de produção da formulação das cápsulas apresentadas na Figura 25.



FONTE: Produção do autor.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados expostos, podemos inferir que:

- Foram produzidos extratos fluidos padronizados frente ao método extrativo empregado, aos testes farmacopeicos requeridos e com características que permitiram sua utilização na produção de formas farmacêuticas sólidas;
- As técnicas de análise térmica e BET demonstraram ser ferramentas úteis para auxiliarem na caracterização e produzindo informações importantes acerca do controle de qualidade dos pellets produzidos;
- A utilização do planejamento fatorial demonstrou ser uma análise útil no desenvolvimento de formas farmacêuticas, desde que fatores e intervalos sejam cuidadosamente selecionados e os demais parâmetros que podem vir a interferir nos resultados, devidamente controlados.
- Foi possível o desenvolvimento de um programa para prever os parâmetros que proporcionam uma resposta otimizada do processo proposto.

Como perspectivas, a partir das avaliações dos resultados obtidos, almeja-se:

- Realizar análises da morfologia dos *pellets* obtidos através de Microscopia Eletrônica de Varredura para visualização da superfície dos lotes obtidos;
- Obter o lote com as condições de processo previstas pelo modelo matemático e realizar as caracterizações necessárias afim de analisar o quão eficiente é o programa desenvolvido;
- Obter e realizar os controles de qualidade referentes a forma farmacêutica cápsula com o lote otimizado pelo programa;
- Investigar, *in vitro*, a atividade antifúngica da melhor forma farmacêuticas obtidas frente a diferentes cepas de *Candida* com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rejane Pereira Neves do Laboratório de Micologia Médica – UFPE;
- Realizar estudo toxicológico agudo e subcrônico das formulações selecionadas;

## REFERÊNCIAS

AHMADI, M. et al. Application of the central composite design and response surface methodology to the advanced treatment of olive oil processing wastewater using Fenton's peroxidation. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 123, p. 187–195, 2005. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S0304389405001615/1-s2.0-S0304389405001615-main.pdf?\\_tid=66ef0c05-a148-40b3-9efa-1412531b95b1&acdnat=1550756194\\_6479b13aaa09b6793f9c7ec5bad05f99](https://ac.els-cdn.com/S0304389405001615/1-s2.0-S0304389405001615-main.pdf?_tid=66ef0c05-a148-40b3-9efa-1412531b95b1&acdnat=1550756194_6479b13aaa09b6793f9c7ec5bad05f99)>

AHMED, Muthanna J. Adsorption of quinolone, tetracycline, and penicillin antibiotics from aqueous solution using activated carbons: Review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 50, p. 1–10, 2017. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668917300042?dgcid=raven\\_sd\\_recommender\\_email](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668917300042?dgcid=raven_sd_recommender_email)>. Acesso em: 27 fev. 2019.

ALBERTH, Márta et al. Significance of oral Candida infections in children with cancer. **Pathology and Oncology Research**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 237–241, 2006.

ALOTHMAN, Zeid A. A review: Fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 2874–2902, 2012.

ÁLVAREZ-TORRELLAS, S. et al. Removal of antibiotic compounds by adsorption using glycerol-based carbon materials. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 296, p. 277–288, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894716303655>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

ALVES, Lariza Darlene Santos. **Thuja occidentalis Linn (Cupressaceae): da droga vegetal a forma farmacêutica semissólida para o tratamento HPV**. 2014. Universidade Federal de Pernambuco, [s. l.], 2014.

ANAISIE, Elias J.; MCGINNIS, Michael R.; PFALLER, Michael A. **Clinical mycology**. [s.l.] : Churchill Livingstone, 2009.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica. 1. Infecção hospitalar - controle. 2. Infecção em serviços de saúde. 3. Microbiologia clínica. 4. Vigilância sanitária em serviços de saúde. 5. Resistência microbiana. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**, 2004. Seção 2, p. 24. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf)>

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

ARAÚJO, Adriano A. S. et al. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International journal of pharmaceutics**, [s. l.], v. 260, n. 2, p. 303–314, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12842349>>

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 4. ed. [s.l.] : Elsevier Editora Ltda, 2016.

BADKE, Marcio Rossato et al. Medicinal plants : the knowledge sustained by daily life practice. **Esc Anna Nery**, [s. l.], v. 15, n. March, p. 132–139, 2011.

BADKE, Marcio Rossato et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto Contexto Enfermagem**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 363–370, 2012.

BAERT, L. et al. Study of parameters important in the spheronisation process. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 96, n. 1–3, p. 225–229, 1993. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378517393902314>>. Acesso em: 9 jan. 2019.

BALKIS, Maher M. et al. Mechanisms of Fungal Resistance. **Drugs**, [s. l.], v. 62, n. 7, p. 1025–1040, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11985489>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

BARATA, Lauro. Empirismo e Ciência: Fonte de Novos Fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, [s. l.], v. 57, n. 4, p. 4–5, 2005.

BARBEDO, Leonardo S.; SGARBI, Diana B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 22–38, 2010.

BARBOSA, Mariana Britto; FARIA, Maria Graciela Iecher. Produtos Naturais Como Nova Alternativaterapêutica Para O Tratamentode Candidíase Bucal. **Revista Uningá**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 103–107, 2014. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1558/1169>>

BERGOLD, Ana Maria; GEORGIADIS, Sofia. Novidades em Fármacos Antifúngicos: Uma Revisão. **Visão Acadêmica**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 159–172, 2004. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/562/470>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

BERLIN, Jochen et al. Determination and Quantification of Monoterpenoids Secreted into the Medium of Cell Cultures of *Thuja occidentalis*. [s. l.], v. 23, n. 6, p. 1277–1279, 1984.

BISILLIAT, Maureen. A fotógrafa de almas. **Revista Veja**, [s. l.], 2010.

BORGES, D. B. et al. Comparação das metodologias da Farmacopéia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 229–236, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2005000300013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2005000300013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 18 mar. 2019.

BRASIL. Farmacopeia Homeopática Brasileira, 3ª edição **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasil, 2011. p. 364.

BRASIL, Ministério das Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos Brasil, 2006. p. 60. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf)>

BRAZIL. Farmacopeia Brasileira, volume 1 **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasil, 2010. p. 1–546.

BRUNAUER, Stephen; EMMETT, P. H.; TELLER, Edward. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 60, n. 2, p. 309–319, 1938. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01269a023>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

CANUTO, Mar Masiá; RODERO, Félix Gutiérrez. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. **The Lancet Infectious diseases**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 550–63, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12206971>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

CARMONA, Fabio; PEREIRA, Ana Maria Soares. Herbal medicines : old and new concepts , truths and misunderstandings. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 379–385, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000018>>

CARVALHO, A. C. B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 314–319, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2008000200028&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000200028&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

CASTELLÓN, Margarita Acosta et al. Obtenção e controle de qualidade da tintura-mãe de *Thuja occidentalis*. **Pesquisa Homeopática**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 67–75, 2000.

CASTRO, Tito Lívio et al. Mecanismos de resistência da *Candida sp wwa* antifúngicos. **Infarma**, [s. l.], v. 18, n. 9, p. 30–35, 2006.

CHORILLI, M. et al. Estudo de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e similar contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 69–73, 2010. Disponível em: <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/1296/936](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/1296/936)>

CLEMENTINO DA SILVA, Elton et al. **Análise térmica aplicada à cosmetologia** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v43n3/a04v43n3.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARÃES, Thaís. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida spp* - Epidemiology of hematogenous infections due to *Candida spp*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 599–607, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822003000500010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000500010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>

COS, Paul et al. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 106, n. 3, p. 290–302, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106001851>>. Acesso em: 7 jan. 2019.

D’HONDT, Matthias et al. Investigation of active pharmaceutical ingredient loss in pharmaceutical compounding of capsules. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS**, [s. l.], v. 96, p. 68–76, 2014. Disponível em: <<https://biblio.ugent.be/publication/4343839>>

DĄBROWSKI, A. Adsorption — from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 93, n. 1–3, p. 135–224, 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868600000828>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

DOUGLAS, L. Julia. *Candida* biofilms and their role in infection. **Trends in microbiology**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 30–6, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12526852>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

EDWARDS, D. R.; DIXON, M. A. Mechanisms of drought response in *Thuja occidentalis* L. I. Water stress conditioning and osmotic adjustment. **Tree Physiology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 121–127, 1995. Disponível em: <<https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/15.2.121>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

FERREIRA, Bruna Fernanda Fernandes; RAGAZZINI, Ligia Junqueira; ANDRADE, Marileia Chaves. Investigação da Sensibilidade ao Fluconazol e Produção de Enzimas Hidrolíticas por *Candida* sp. Isoladas do Trato Respiratório de Pacientes Internados em um Hospital no Sul de Minas Gerais. **Revista Ciências em Saúde** **REVISTA CIÊNCIAS EM SAÚDE**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 48–56, 2012. Disponível em: <[http://rcs.fmit.edu.br/index.php/rcsfmit\\_zero/article/view/78/77](http://rcs.fmit.edu.br/index.php/rcsfmit_zero/article/view/78/77)>. Acesso em: 8 jan. 2019.

FIGUEREDO, Climério Avelino De; GURGEL, Idê Gomes Dantas; GURGEL JUNIOR, Garibaldi Dantas. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014.

FLEMMING, Anett; PICKER-FREYER, Katharina M. Compaction of lactose drug mixtures: Quantification of the extent of incompatibility by FT-Raman spectroscopy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 68, n. 3, p. 802–810, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939641107002846>>

FURLANETO-MAIA, Luciana et al. Estudo da incidência de amostras clínicas do gênero *Candida* em diversos sítios anatômicos. **Acta Scientiarum. Health Science**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 33–37, 2007. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/view/104>>. Acesso em: 7 jan. 2019.

GAO, Ya et al. A protocol for the classification of wet mass in extrusion-spheronization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 85, n. 3 PART B, p. 996–1005, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.03.016>>

GARCIA-AMOEDO, Luis Henrique; ALMEIDA-MURADIAN, Ligia Bicudo De. Comparação de metodologias para a determinação de umidade em geléia real. **Química Nova**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 676–679, 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422002000400024&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000400024&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 18 mar. 2019.

GELB, L. D.; GUBBINS, K. E. Characterization of Porous Glasses: Simulation Models, Adsorption Isotherms, and the Brunauer–Emmett–Teller Analysis Method. **Langmuir**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 2097–2111, 1998. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la9710379>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

MENDES, L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

GIBSON, D. M. et al. Thuja , a study. **The British Homeopathic Journal**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 34–38, 1967.

GUO, Kun; DING, Yi; YU, Zhixin. One-step synthesis of ultrafine MoNiS and MoCoS monolayers as high-performance catalysts for hydrodesulfurization and hydrodenitrogenation. **Applied Catalysis B: Environmental**, [s. l.], v. 239, p. 433–440, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092633731830780X>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

GUO, Yangyu; WANG, Moran. Thermodynamic analysis of gas flow and heat transfer in microchannels. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, [s. l.], v. 103, p. 773–782, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001793101631537X>>. Acesso em: 25 fev. 2019.

GUPTA, Girish; SRIVASTAVA, A. K. In-vitro activity of Thuja occidentalis Linn . against human pathogenic aspergilli. **The Homoeopathic Heritage**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 5–12, 2002.

HELENE, Otaviano Augusto Marcondes. **Método dos mínimos quadrados com formalismo matricial**. 1. ed. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2006. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=O3bYk8Qc8rQC&pg=PP4&lpg=PP4&dq=otaviano+minimos+quadrados&source=bl&ots=N6R9RLYqQW&sig=ACfU3U24R97XVyG7IvKpZfTklIEi5r1\\_Iw&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwiV1r3t8MzgAhViHrkGHWuQAIkQ6AEwCHoECAUQAQ#v=onepage&q=otaviano](https://books.google.com.br/books?id=O3bYk8Qc8rQC&pg=PP4&lpg=PP4&dq=otaviano+minimos+quadrados&source=bl&ots=N6R9RLYqQW&sig=ACfU3U24R97XVyG7IvKpZfTklIEi5r1_Iw&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwiV1r3t8MzgAhViHrkGHWuQAIkQ6AEwCHoECAUQAQ#v=onepage&q=otaviano)>

JASUJA, Nakuleshwar Dut et al. Essential Oil and Important Activities of Thuja orientalis and Thuja occidentalis. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 931–949, 2015.

JUNG, Hyo Won et al. Effect of the Semen Extract of Thuja orientalis on Inflammatory Responses in Transient Focal Cerebral Ischemia Rat Model and LPS-Stimulated BV-2 Microglia. **The American Journal of Chinese Medicine**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 99–117, 2013.

KÉÏTA, Sékou Moussa et al. Insecticidal effects of Thuja occidentalis ( Cupressaceae ) essential oil on Callosobruchus maculatus [ Coleoptera : Bruchidae ]. **Canadian Journal of Plant Science**, [s. l.], v. 81, p. 173–177, 2001.

KOESTER, Martin; THOMMES, Markus. New Insights into the Pelletization Mechanism by Extrusion/Spheronization. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 1549–1551, 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1208/s12249-010-9532-7>>. Acesso em: 9 jan. MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

2019.

KUHN, D. M. et al. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 70, n. 2, p. 878–88, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11796623>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

KUMAR, Chethrapilly Purushothaman Girish et al. Candidosis in children with onco-hematological diseases in Chennai, south India. **Japanese journal of infectious diseases**, [s. l.], v. 58, n. 4, p. 218–21, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16116254>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

LACAZ, C. S. et al. **Tratado de Micologia Médica**. 9. ed. São Paulo. v. 44

LACHMAN, L. LIEBERMAN, H. KANIG, J. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. [s.l: s.n.].

LAPHAM, Darren P.; LAPHAM, Julie L. Gas adsorption on commercial magnesium stearate: The origin of atypical isotherms and BET transform data. **Powder Technology**, [s. l.], v. 342, p. 676–689, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032591018308799>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

LEE, Yun Jung et al. Inhibitory Effect of *Thuja orientalis* on TNF- $\alpha$ - induced Vascular Inflammation. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 24, p. 1489–1495, 2010.

LENGOWSKI, Elaine Cristina. Caracterização e predição da cristalinidade da celulose. [s. l.], 2012.

LIEW, Celine V.; CHUA, Siang Meng; HENG, Paul W. S. Elucidation of spheroid formation with and without the extrusion step. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. E70–E81, 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1208/pt0801010>>. Acesso em: 9 jan. 2019.

LUYPAERT, J.; MASSART, D. L.; VANDER HEYDEN, Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 865–883, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991400600823X>>

MÄKELÄ, Mikko. Experimental design and response surface methodology in energy

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

applications: A tutorial review. **Energy Conversion and Management**, [s. l.], v. 151, p. 630–640, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196890417308361>>

MARÓDI, László et al. Molecular mechanisms of mucocutaneous immunity against *Candida* and *Staphylococcus* species. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, [s. l.], v. 130, n. 5, p. 1019–1027, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674912015060>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

MARSHALL, Douglas; RICH, Peter R. Studies of Complex I by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: **Methods in Enzymology**. [s.l.] : Academic Press, 2009. v. 456p. 53–74.

MARTIN, Greg S. et al. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 348, n. 16, p. 1546–1554, 2003. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa022139>>

MCCARTY, Todd P.; PAPPAS, Peter G. Invasive Candidiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 103–124, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.013>>. Acesso em: 7 jan. 2019.

MENEZES, H. **PRÓPOLIS: UMA REVISÃO DOS RECENTES ESTUDOS DE SUAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS** Arq. Inst. Biol. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V72\\_3/menezes.PDF](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V72_3/menezes.PDF)>. Acesso em: 8 jan. 2019.

MICHALOPOULOS, Argyris S.; GEROULANOS, Stefanos; MENTZELOPOULOS, Spyros D. Determinants of Candidemia and Candidemia-Related Death in Cardiothoracic ICU Patients. **Chest**, [s. l.], v. 124, n. 6, p. 2244–2255, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369215316858>>. Acesso em: 7 jan. 2019.

MILLSPAUGH, Charles Frederick; HARRAR, Ellwood Scott. **American medicinal plants : an illustrated and descriptive guide to plants indigenous to and naturalized in the United States which are used in medicine**. [s.l.] : Dover Publications, Inc, 1974. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Wt9rxymDv8C&oi=fnd&pg=PR8&dq=American+Medicinal+Plants.+Thuja.+Dover+Publications,&ots=K3GxVrAQx-&sig=SNzqGaycoafz2XV3i2FunBCEzJs#v=onepage&q&f=false>>

MISKOLCZI, N.; JUZSAKOVA, T.; SÓJA, J. Preparation and application of metal loaded ZSM-5 and y-zeolite catalysts for thermo-catalytic pyrolysis of real end of life vehicle plastics  
MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

waste. **Journal of the Energy Institute**, [s. l.], v. 92, n. 1, p. 118–127, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743967117305585>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

MOHAMED, M. A. et al. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In: **Membrane Characterization**. [s.l.] : Elsevier, 2017. p. 3–29.

MULEY, Sagar; NANDGUDE, Tanaji; PODDAR, Sushilkumar. Extrusion–spheronization a promising pelletization technique: In-depth review. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 684–699, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2016.08.001>>

MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C.; ANDERSON-COOK, C. M. **Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments**. 4. ed. [s.l.] : Wiley, 2016.

NADERI, Majid. Surface Area: Brunauer–Emmett–Teller (BET). In: **Progress in Filtration and Separation**. [s.l.] : Academic Press, 2015. p. 585–608.

NASER, Belal et al. Thuja occidentalis ( Arbor vitae ): A Review of its Pharmaceutical , Pharmacological and Clinical Properties. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 69–78, 2005.

O'TOOLE, George; KAPLAN, Heidi B.; KOLTER, Roberto. Biofilm Formation as Microbial Development. **Annual Review of Microbiology**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 49–79, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11018124>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

OJESWI, BK et al. Human & Experimental Toxicology Protective effect of Thuja occidentalis. **Human & Experimental Toxology**, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 369–375, 2010.

OLIVEIRA, Olivia Werner; PETROVICK, Pedro Ros. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: Bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010.

OSAKA, Yugo et al. Experimental investigation on the adsorption kinetics of silica-gel layer enhanced thermal conductivity. **Applied Thermal Engineering**, [s. l.], v. 148, p. 324–330, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359431118343400>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

PEIXOTO, Juliana Vieira et al. Candidíase - Uma Revisão De Literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 75–82, 2014.

QIU, Yihong et al. **Developing solid oral dosage forms: Pharmaceutical theory & practice**. 2. ed. London: Academic Press, 2017. a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/book/9780128024478/developing-solid-oral-dosage-forms>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

QIU, Yihong et al. **Developing Solid Oral Dosage Formas**. 2. ed. London: Haley, Mica, 2017. b.

RAJAMANI, Manju; MALIYEKKAL, Shihabudheen M. Chitosan reinforced boehmite nanocomposite desiccant: A promising alternative to silica gel. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 194, p. 245–251, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861718304375>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

RAMAGE, G. et al. Biofilm Formation by *Candida dubliniensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 39, n. 9, p. 3234–3240, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11526156>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

RASKIN, Ilya; RIPOLL, Christophe. Can an Apple a Day Keep the Doctor Away? **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 10, p. 3419–3429, 2004.

REZENDE, Helena Aparecida De; COCCO, Maria Inês Monteiro. A Utilização de Fitoterapia no Cotidiano de uma População Rural. **Reviste Escola de Enfermagem USP**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 282–288, 2002.

ROUQUEROL, J. et al. **Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications**. [s.l.] : Elsevier Science, 2013.

ROWE, Raymond. Spheronization: A novel pill-making process? **Pharmacy International**, [s. l.], v. 6, p. 119–123, 1985.

ROY, S.; RIGA, A. T.; ALEXANDER, K. S. Experimental design aids the development of a differential scanning calorimetry standard test procedure for pharmaceuticals. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 392–393, p. 399–404, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040603102003179>>

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

RUNHA, F. P. et al. Production of Dry Extracts of Medicinal Brazilian Plants by Spouted Bed Process: Development of the Process and Evaluation of Thermal Degradation During the Drying Operation. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 160–168, 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096030850170257X>>. Acesso em: 18 mar. 2019.

SADHUKHAN, Bikash; MONDAL, Naba K.; CHATTORAJ, Soumya. Optimisation using central composite design (CCD) and the desirability function for sorption of methylene blue from aqueous solution onto Lemna major-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). **Journal of Taibah University for Science**, [s. l.], v. 10, p. 797–804, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.kijoms.2016.03.005>>

SALVADOR, F. et al. A review of the application of the BET equation to experimental data: the C parameter. **Studies in Surface Science and Catalysis**, [s. l.], v. 144, p. 379–386, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167299102801586>>. Acesso em: 19 fev. 2019.

SANGLARD, Dominique. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 462–470, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X02728425>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

SANTOS, Helton Max Massaranduba et al. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica: parte II. Avaliação das características físicas de pellets. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 309–318, 2006.

SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 486–491, 2011.

ŠARIĆ, Manuel; ROSSMEISL, Jan; MOSES, Poul Georg. Modeling the adsorption of sulfur containing molecules and their hydrodesulfurization intermediates on the Co-promoted MoS<sub>2</sub> catalyst by DFT. **Journal of Catalysis**, [s. l.], v. 358, p. 131–140, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021951717304293>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

SCHWANNINGER, M. et al. Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. **Vibrational Spectroscopy**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 23–40, 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092420310400030X>>. Acesso em:

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

19 mar. 2019.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica À Luz De Autores Contemporâneos**. Rio de Janeiro: GUANABARA, 2004. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=5hTsGwAACAAJ>>

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis.

SOTNIKOV, Dmitriy V. et al. Adsorption of proteins on gold nanoparticles: One or more layers? **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 173, p. 557–563, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776518307227>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

SPALTRO, Agustín et al. Adsorption and removal of phenoxy acetic herbicides from water by using commercial activated carbons: experimental and computational studies. **Journal of Contaminant Hydrology**, [s. l.], v. 218, p. 84–93, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169772218302614>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

STANGERLIN, Diego Martins et al. Sistemas de Cultivo e Custos de Produção de Thuja occidentalis L. e Thuja orientalis L. em Quatro Municípios do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista SBAU**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 98–109, 2008.

SVAJDLENKA, Emil et al. Essential Oil Composition of Thuja occidentalis L. Samples from Slovakia. **Journal of Essential Oil Research**, [s. l.], n. October 2014, p. 37–41, 2011.

THOMMES, Markus; KLEINEBUDDE, Peter. The Science and Practice of Extrusion-Spheronization. In: RAJABI-SIAHBOOMI, Ali R. (Ed.). **Multiparticulate Drug Delivery**. 1. ed. New York: Springer, New York, NY, 2017. p. 37–63.

TOMASSETTI, M. et al. Thermal analysis study of the interactions between acetaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 37, n. 5, p. 949–955, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15862672>>

TSIRI, Dimitroula et al. Chemosystematic Value of the Essential Oil Composition of Thuja species Cultivated in Poland - Antimicrobial Activity. **Molecules**, [s. l.], v. 14, p. 4707–4715, 2009.

MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

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

VERVAET, Chris; BAERT, Lieven; REMON, Jean Paul. Extrusion-spheronisation A literature review. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 116, n. 2, p. 131–146, 1995. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037851739400311R>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

WEBB, Paul A.; ORR, Clyde. **Analytical Methods in Fine Particle Technology**. [s.l: s.n.].

WELDEL, S.; ÇELIK, M. Uma visão geral sobre o uso da tecnologia de spray-drying. **Pharmaceutical Technology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 31–35, 1998.

XAVIER, Thangaraj Francis; KANNAN, Moorthy; AUXILIA, Anthonysamy. Observation on the traditional phytotherapy among the Malayali tribes in Eastern Ghats of Tamil Nadu , South India. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 165, p. 198–214, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.045>>

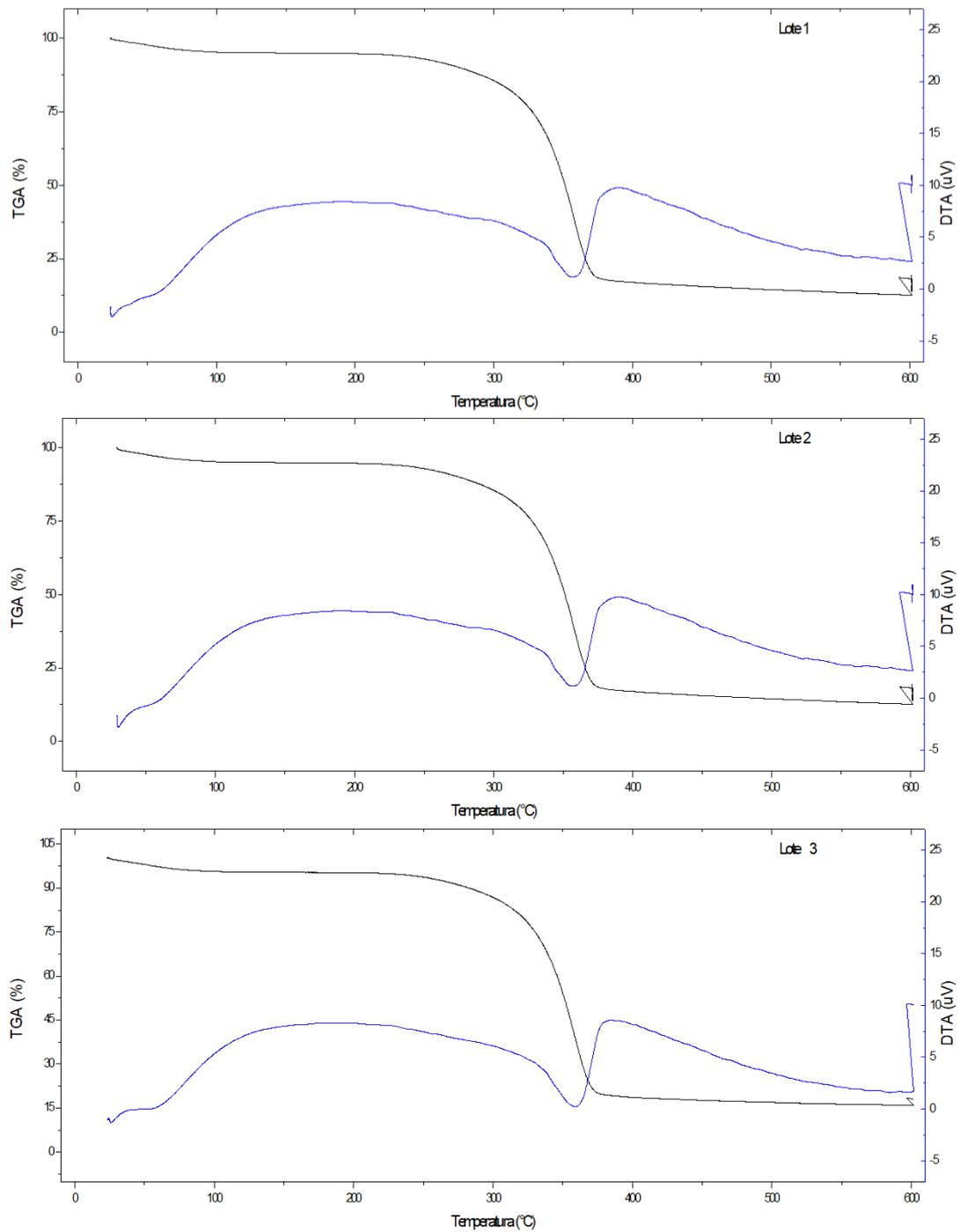
XU, Guang-hua et al. Free Radical Scavenging and Antielastase Activities of Flavonoids from the Fruits of *Thuja orientalis*. **Archives of Pharmacal Research**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 275–282, 2009.

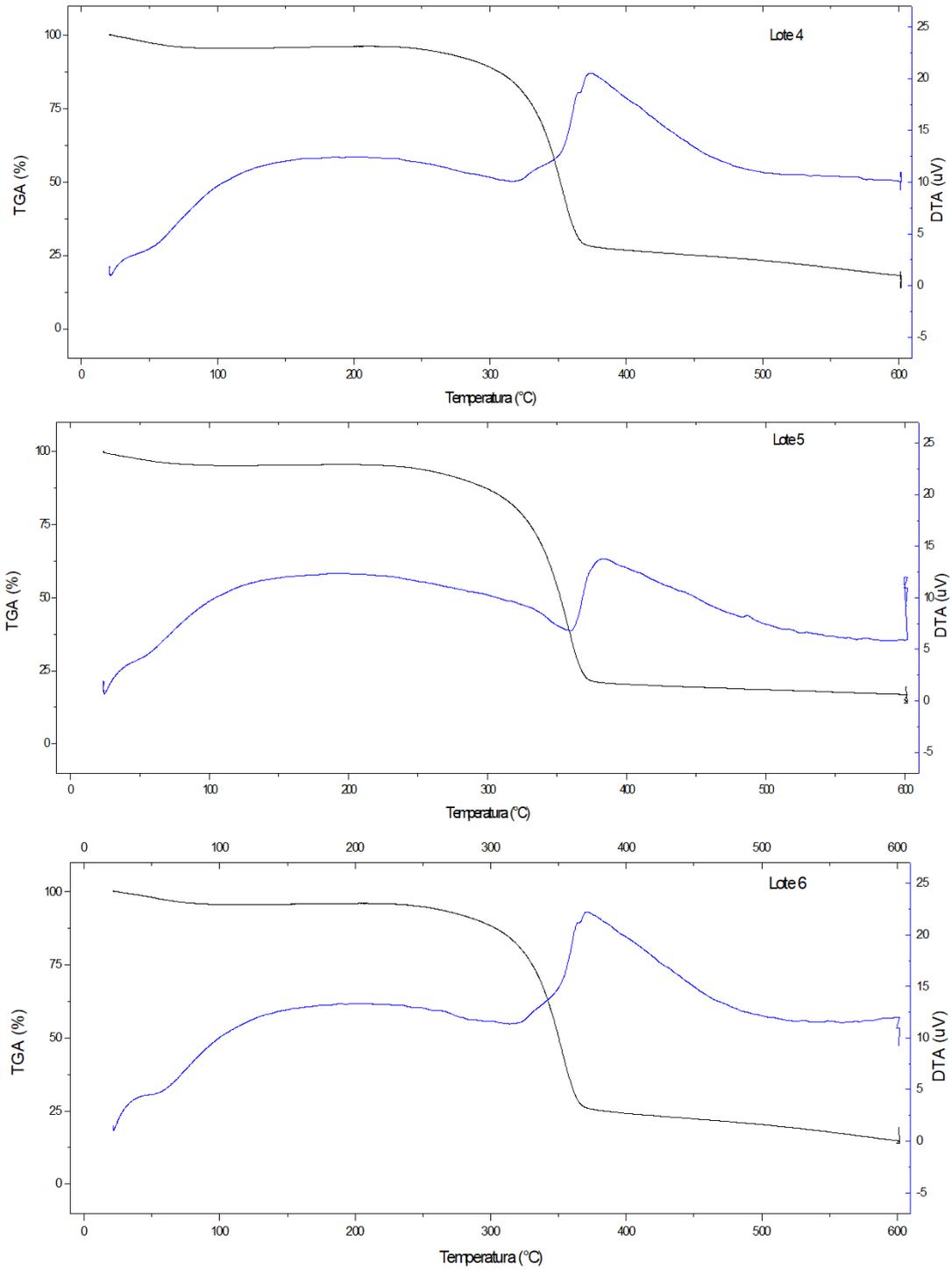
YAPAR, Nur. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 95–105, 2014.

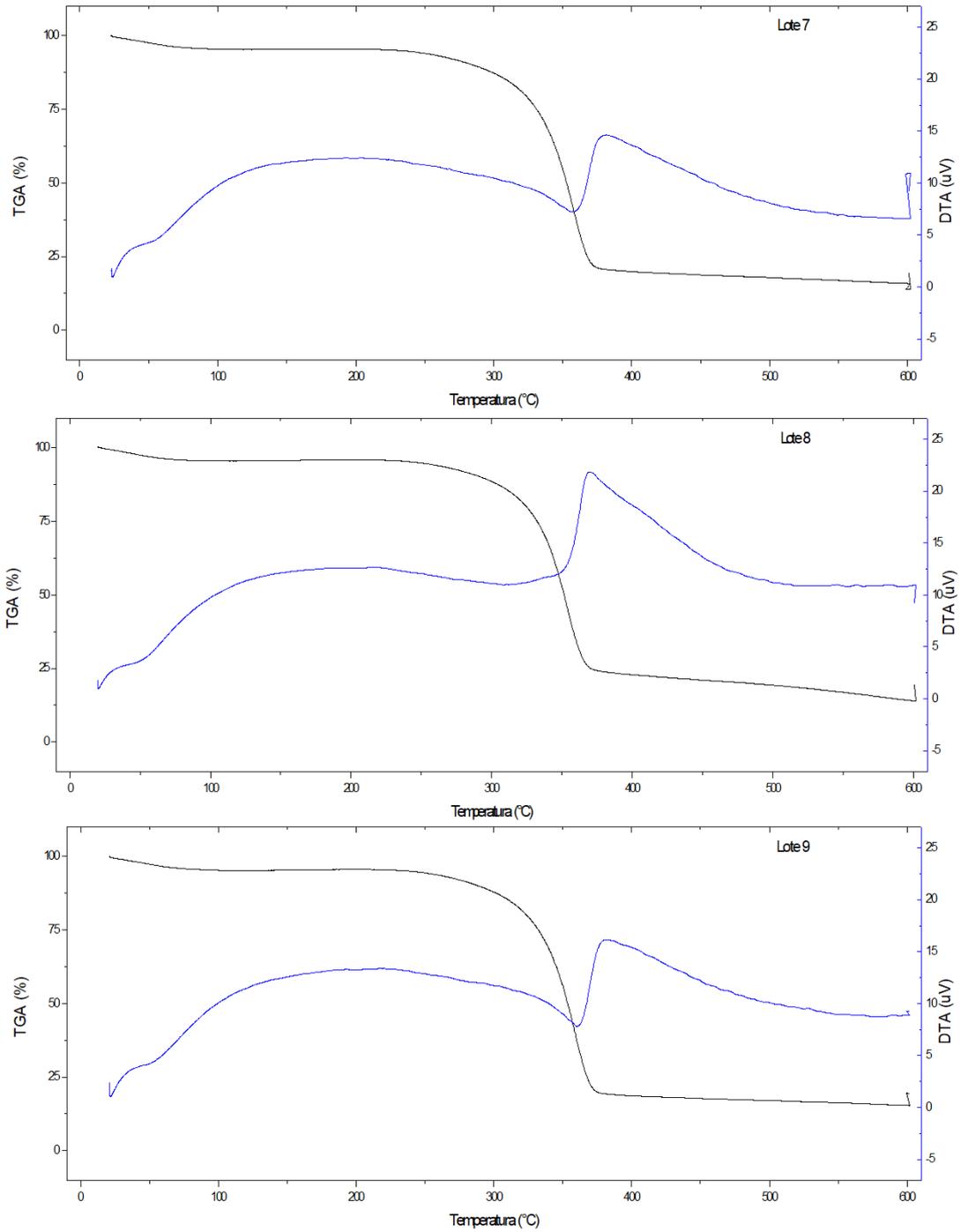
YATAGAI, Mitsuyoshi; SATE, Toshiya; TAKAHASHI, Toshio. Terpenes of Leaf Oils from Cupressaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 377–385, 1985.

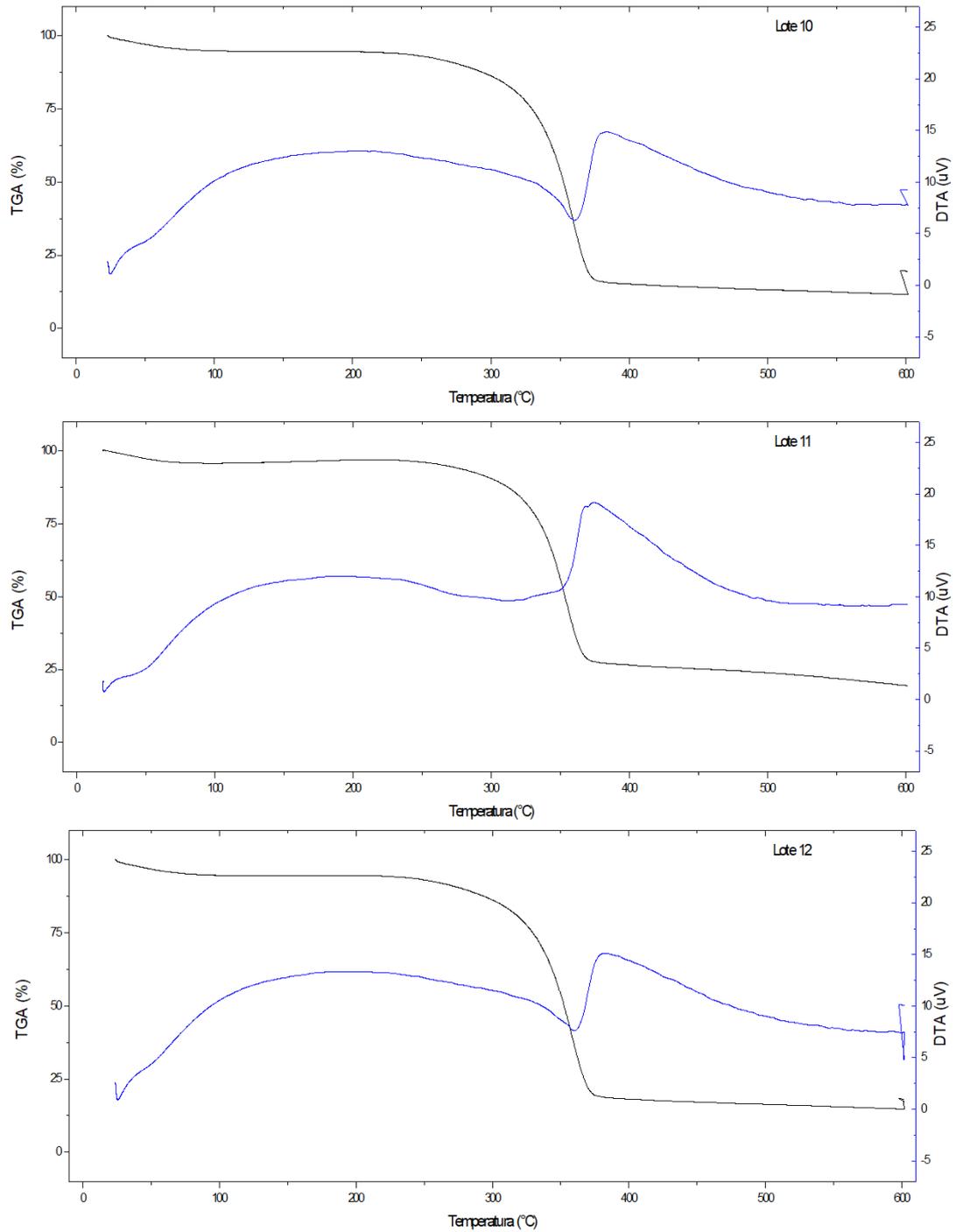
ZILBERBERG, Marya D.; SHORR, Andrew F.; KOLLEF, Marin H. Secular Trends in Candidemia-Related Hospitalization in the United States, 2000–2005. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s. l.], v. 29, n. 10, p. 978–980, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18715153>>. Acesso em: 8 jan. 2019.

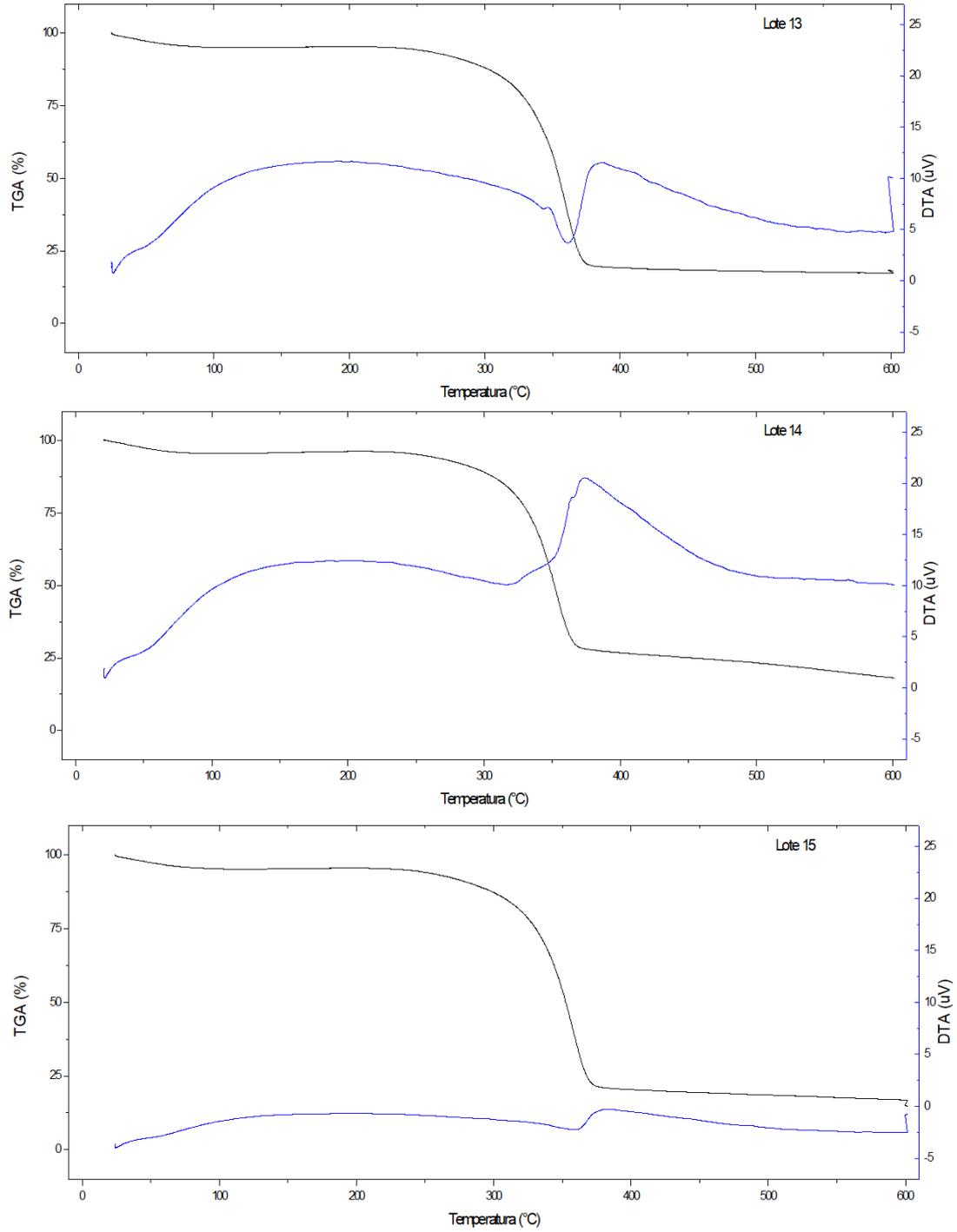
MENDES. L.M.S. Obtenção de formas farmacêutica sólidas para tratamento da candidíase sistêmica a base de *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae).

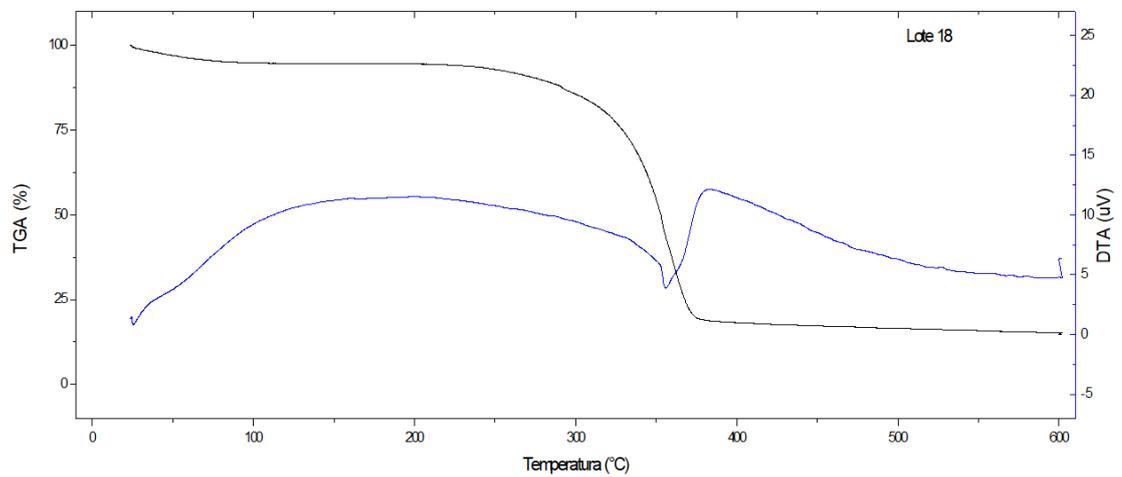
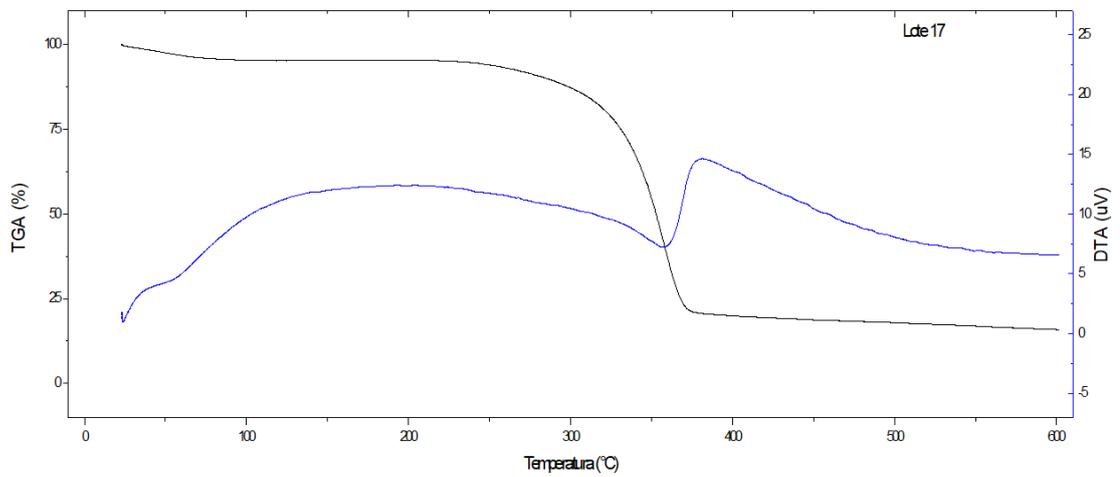
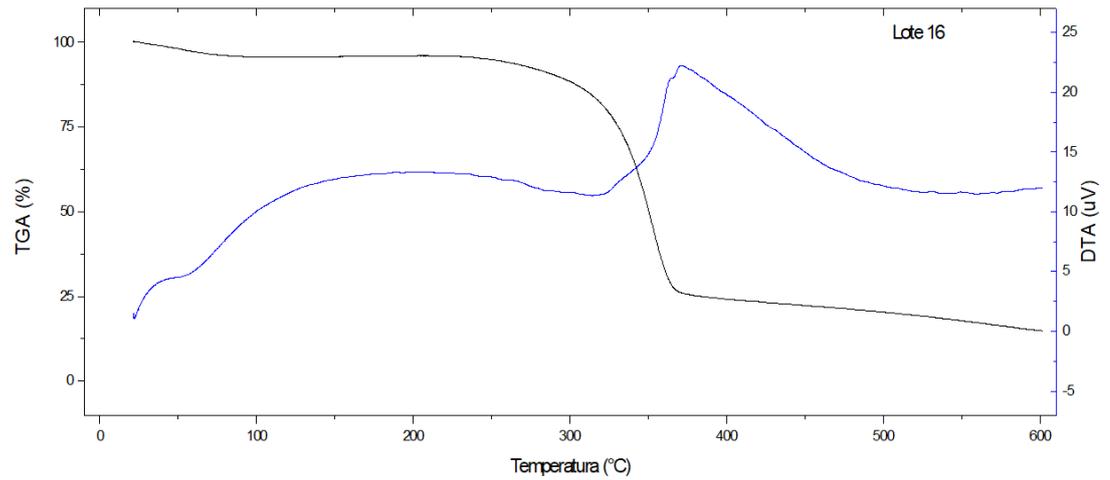
**APÊNDICE A – CURVAS TG/DTA DOS LOTES DE PELLETS**

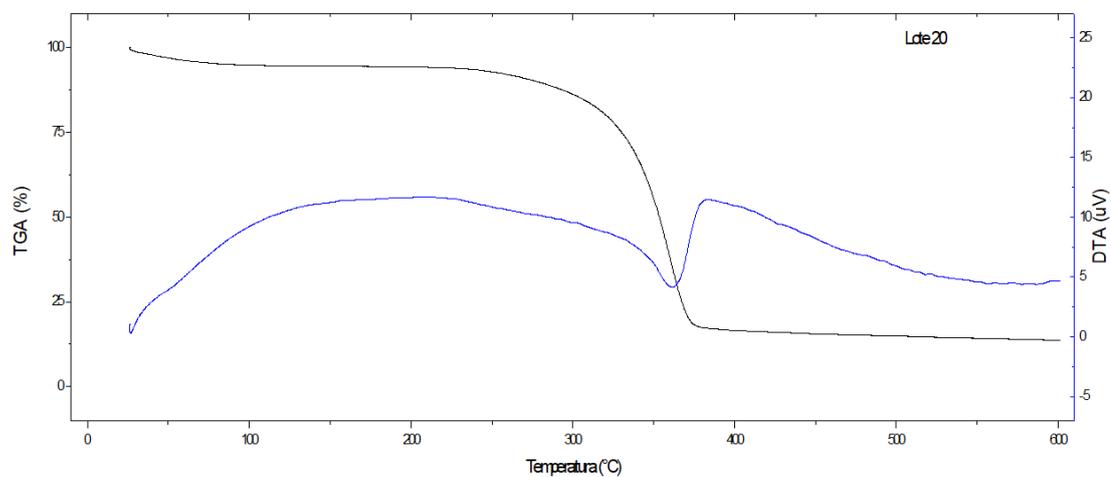
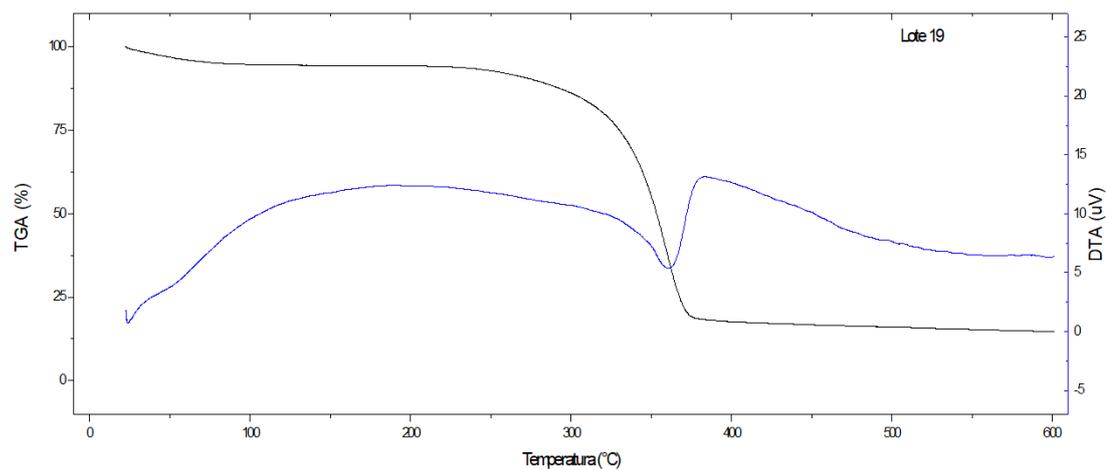












**APÊNDICE B - CURVAS TG/DTA DO MCC**