

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RÚBIA D'ARC MACHADO

Desenvolvimento tecnológico e caracterização de extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae)

Goiânia
2014

RÚBIA D'ARC MACHADO

Desenvolvimento tecnológico e caracterização de extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás como requisito necessário à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Profa. Dra. Kênnia Rocha Rezende

Co-orientador: Prof. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição

Goiânia
2014

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Machado, Rúbia Darc

Desenvolvimento tecnológico e caracterização de extratos vegetais
obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae)
[manuscrito] / Rúbia Darc Machado. - 2014.

95 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Kênnia Rocha Rezende; co-orientador Dr.
Edemilson Cardoso da Conceição.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade
Farmácia (FF) , Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Goiânia, 2014.

Bibliografia. Apêndice.

Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas,
lista de figuras, lista de tabelas.

1. 4-nerolidilcatecol. 2. Atividade antioxidante. 3. Extratos secos. 4.
Spray drying. I. Rezende, Kênnia Rocha, orient. II. Conceição,
Edemilson Cardoso da, co-orient. III. Título.

RÚBIA D'ARC MACHADO

Desenvolvimento tecnológico e caracterização de extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito necessário à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Profa. Dra. Kênnia Rocha Rezende

Co-orientador: Prof. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição

Aprovada em Goiânia em ____/____/____

Banca examinadora:

Profa. Dra. Kênnia Rocha Rezende

Prof. Dra. Maria Teresa Freitas Bara

Prof. Dr. Anselmo Elcana de Oliveira

Aos meus pais, Rubens e Joana, e ao meu irmão Anderson (*in memorian*).

AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre presente nas minhas escolhas.

Aos meus pais, Rubens Machado Fernandes e Joana D'Arc Siqueira Fernandes, meus maiores incentivadores.

À minha família pela compreensão e suporte durante a realização deste trabalho.

Aos meus orientadores, Profa. Dra Kênnia Rocha Rezende e prof. Dr Edemilson Cardoso da Conceição, pela oportunidade, pelo apoio profissional e pelos importantes ensinamentos.

À equipe de professores e colaboradores do LPPN-UFG e LPD&I-UFG pelos ensinamentos e incentivo.

À todos os colegas dos laboratórios LPPN-UFG, LPD&I-UFG e BioPk-UFG pelo companheirismo e por compartilharem suas experiências e amizade.

À Leandra de Almeida Ribeiro Oliveira pela amizade, confiança, pelo incentivo e apoio ao meu ingresso no LPD&I-UFG.

Ao Prof. Dr Leonardo Luiz Borges pelo auxílio no planejamento e análise estatística.

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic-UFG), na pessoa da Dra. Tatiane Oliveira dos Santos, pela análise de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Laboratório de Métodos de Extração e Separação (LAMES-UFG), na pessoa da Profa. Dra Maria Inês Gonçalves Leles, pela análise termogravimétrica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

A todos vocês meus sinceros agradecimentos!!!

“O essencial é invisível aos olhos.”

Antoine Saint-Exupér

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da técnica de *spray drying* no desenvolvimento tecnológico de extratos das raízes de *P. umbellatum*, bem como investigar suas propriedades físico-químicas e antioxidante. O trabalho foi executado em três etapas: A) processamento e caracterização físico-química da droga vegetal; B) obtenção e caracterização físico-química do extrato fluido e; C) avaliação da técnica de *spray drying* para obtenção de extratos secos de *P. umbellatum*. A droga vegetal e o extrato fluido foram obtidos e caracterizados por métodos farmacopeicos gerais. Para a obtenção dos extratos secos, Aerosil® (dióxido de silício coloidal) foi utilizado como adjuvante de secagem. Fatores como temperatura do ar de secagem, vazão de alimentação do extrato, proporção de adjuvante assim como a interação destes fatores sobre propriedades físico-químicas, atividade de água (A_w), teor de 4-NRC (T_{4-NRC}) determinado por CLAE-DAD e atividade antioxidante (AAO) dos extratos secos de *P. umbellatum* foram avaliados por metodologia de superfície de resposta (RSM) a partir de um planejamento fatorial do tipo Box-Behnken. Avaliou-se o rendimento do processo de secagem e a morfologia das partículas foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O extrato fluido obtido apresentou T_{4-NRC} de $43,81\% \pm 0,42$ (p/p), EC_{50} de $6,28 \pm 0,11$ mg/L para AAO na presença do radical livre DPPH e demonstrou características físico-químicas adequadas à obtenção do extrato seco. Dentro dos níveis estabelecidos para os fatores estudados, a secagem por *spray drying* resultou em um alto rendimento de processo (até 74,17%, p/p), com A_w e T_U adequados à manutenção da estabilidade química e microbiológica dos extratos secos e em pós com partículas de morfologia predominantemente oval com superfície irregular e porosa. Os extratos de *P. umbellatum* secos por *spray drying* com a menor proporção de adjuvante avaliada (50%, p/p) e uma vazão de alimentação do extrato no maior nível (5mL/min) ou com a maior proporção de adjuvante (70%, p/p) e o menor nível de vazão de alimentação (3mL/min) resultaram em extratos com maior AAO. Maiores T_{4-NRC} foram verificados ao se utilizar menor temperatura do ar de secagem (110 °C) e uma maior proporção de Aerosil® (70%, p/p). A técnica de *spray drying* mostrou-se viável para a obtenção de extratos secos de *P. umbellatum*. Os resultados obtidos contribuem para a valorização do potencial terapêutico e abre novas perspectivas de investigação para agregar ainda mais valor a matérias-primas obtidas a partir desta espécie vegetal.

Palavras-chave: 4-nerolidilcatecol. Atividade antioxidante. Extratos secos. *Spray drying*.

ABSTRACT

In this work, the impacts of the spray drying technique were evaluated over technological development of *P. umbellatum* root's extracts besides assessing their physicochemical and antioxidant properties. The work was performed in three steps: A) processing and physicochemical characterization of the plant raw material; B) obtain and physicochemical characterization of the fluid extract and; C) assessment of the spray drying technique for obtaining dry extracts of *P. umbellatum*. The herbal drug and fluid extract were obtained and characterized by general Pharmacopeia methods. Dried extracts were obtained using Aerosil® (colloidal silicon dioxide) as adjuvant. Several physicochemical features were analyzed such as, drying air temperature, extract feed flow rate and adjuvant: plant extract ratio. Interaction of all these factors on the water activity (A_w) of *P. umbellatum* dried extracts as well as the overall content of 4-NRC (T_{4-NRC}) were determined by HPLC- PDA, in addition to its antioxidant activity (AAO). Response surface methodology (RSM) from a factorial design Box-Behnken was used to evaluate all together. Performance of the drying process and particles morphology were also assessed by scanning (SEM) electron microscopy. Moreover, the assayed fluid extract showed T_{4-NRC} of $43.81 \pm 0.42\%$ (w/w) and EC_{50} of 6.28 ± 0.11 mg/L for AAO in the presence of free radical DPPH thus, displaying suitable physicochemical characteristics to achieve dry extracts. Hence, all studied physicochemical factors agreed to general quality control standards for spray drying process. Dry extracts showed high yields (up to 74.17%, w/w) with A_w and T_U levels assuring chemical and microbiological stability. Powders showed particles predominantly with oval morphology and irregular porous surface. The higher AAO for dried *P. umbellatum* extracts were seen at the smallest adjuvant ratio (50% w / w) combined to the highest extract's feed flow rate (5 mL / min) or, alternatively, at the highest proportion of adjuvant (70% w / w) and lowest feed flow rate (3 mL / min). Accordingly, T_{4-NRC} was larger when using lower temperature air drying (110 °C) and a higher proportion of Aerosil® (70%, w/w). As a result, spray drying technique was feasible to obtain *P. umbellatum* dry extract's adding value on its therapeutical potential besides opening new research perspectives to raw materials obtained from this plant.

Key-words: 4-nerolidylcatechol. Antioxidant activity. Dried extracts. Spray drying.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ramo florido de <i>P. umbellatum</i> mostrando a folha cordada e a inflorescência em forma de falsa umbela.....	22
Figura 2	Estrutura química do 4-nerolidilcatecol (4-NRC)	25
Figura 3	Esquema dos principais componentes e passos da secagem em <i>spray dryer</i>	28
Figura 4	Fotomicrografia do pó das raízes de <i>P. umbellatum</i>	48
Figura 5	Distribuição granulométrica do pó da raiz de <i>P. umbellatum</i>	50
Figura 6	CCD do extrato da raiz de <i>P. umbellatum</i>	52
Figura 7	Perfil cromatográfico por CCD da droga vegetal.....	53
Figura 8	Cromatogramas do padrão 4-NRC (A), do extrato fluido de <i>P. umbellatum</i> (B) e do diluente (MeOH) (C).....	58
Figura 9	Espectros de absorção UV no início, meio e fim do pico do 4-NRC padrão (A) e do 4-NRC presente no extrato fluido de <i>P. umbellatum</i> (B).....	59
Figura 10	Curvas analíticas médias expressas pela área (AU) em função da concentração (µg/mL) do padrão 4-NRC e da amostra (extrato fluido)	60
Figura 11	Perfil cromatográfico por CCD do extrato fluido.....	63
Figura 12	Frascos coletores nos ensaios preliminares de secagem utilizando Aerosil® e maltodextrina como adjuvantes de secagem.	65
Figura 13	Termograma do 4-NRC	66
Figura 14	Temperatura (°C) do ar de secagem de entrada e saída dos experimentos de secagem.....	69
Figura 15	Diagrama de Pareto dos efeitos da secagem dos extratos de <i>P. umbellatum</i> sobre a A_w	70
Figura 16	Gráfico de superfície de resposta da Atividade de água (A_w) em função da temperatura do ar de secagem e da proporção de adjuvante	71

Figura 17 Taxa de degradação dos extratos secos de <i>P. umbellatum</i> obtidos por <i>spray Drying</i>	72
Figura 18 Diagrama de Pareto dos efeitos da secagem dos extratos de <i>P. umbellatum</i> sobre o T _{4-NRC}	73
Figura 19 Gráfico de superfície de resposta do teor de 4-NRC (T-4NRC) em função da temperatura do ar de secagem e da proporção de adjuvante.	74
Figura 20 Cromatogramas obtidos com a injeção do extrato seco de <i>P. umbellatum</i> (2700 µg/mL) (A) e Aerosil [®] (1000 µg/mL) em metanol (B) com monitoramento 282 nm.	75
Figura 21 Espectros de absorção UV do início, meio e fim do pico de 4-NRC presente no extrato seco de <i>P. umbellatum</i>	76
Figura 22 Curva analítica média expressa pela área (AU) do marcador em função da concentração (µg/mL) de extrato seco	76
Figura 23 Perfil cromatográfico por CCD dos extratos secos obtidos por <i>spay drying</i>	78
Figura 24 Perfil cromatográfico por CCD do extrato seco 2 (ES 2)	79
Figura 25 Diagrama de Pareto dos efeitos da secagem dos extratos de <i>P. umbellatum</i> sobre a atividade antioxidante expressa como EC ₅₀	80
Figura 26 Gráfico de superfície de resposta da AAO expressa com EC ₅₀ mg/L em função da vazão de alimentação do extrato e da proporção de adjuvante de secagem.....	81
Figura 27 Fotomicrografias de varredura dos extratos ES2, ES5 e ES7. Aumento de 800x à esquerda e 3.000x à direita.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Ensaios preliminares realizados para a seleção dos fatores e níveis do planejamento fatorial.....	41
Tabela 2 Fatores codificados e decodificados e seus níveis no planejamento fatorial Box-Behnken para obtenção dos extratos secos de <i>P. umbellatum</i>	42
Tabela 3 Matriz dos experimentos para obtenção dos extratos secos de <i>P. umbellatum</i>	42
Tabela 4 Fases móveis utilizadas em CCD para o 4-NRC e seus derivados e para extratos de <i>P. umbellatum</i> descritas na literatura	51
Tabela 5 Fases móveis avaliadas para CCD da droga vegetal e extratos de <i>P. umbellatum</i>	52
Tabela 6 Valores estimados de polaridade e força de eluição dos reagentes, tendo sílica gel como fase estacionária, utilizados na otimização da fase móvel para CCD da droga vegetal e extratos de <i>P. umbellatum</i>	53
Tabela 7 Resultados da conformidade do sistema (n=6) para amostras do padrão 4-NRC isolado e no extrato de <i>P. umbellatum</i> em comparação com o preconizado na literatura antes da validação parcial do método	57
Tabela 8 Precisão do método analítico, no nível de repetibilidade, para o padrão 4-NRC.....	61
Tabela 9 Precisão do método analítico, no nível de repetibilidade, para o extrato fluido	61
Tabela 10 Precisão do método analítico, no nível de precisão intermediária, para o extrato fluido.....	61
Tabela 11 Resultados da exatidão do método para o 4-NRC durante dois dias de análise... ..	62

Tabela 12 Resultados sumarizados das respostas obtidas para os extratos ES1 a ES17 resultantes do planejamento fatorial Box-Behnken	67
Tabela 13 Precisão do método analítico, no nível de repetibilidade, para o extrato seco.....	77
Tabela 14 Precisão do método analítico, no nível de precisão intermediária, para o extrato seco.....	77

ABREVIATURAS E SIGLAS

4-NRC – 4-nerolidilcatecol

A_w – Atividade de água

AAO – Atividade antioxidante

CCD – Cromatografia em camada delgada

Aerosil[®] – Dióxido de silício coloidal

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilahidrazila

EC₅₀ – Concentração necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH.

FB – Farmacopeia Brasileira

FB 5 – Farmacopeia Brasileira 5ª edição

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

CIM – Concentração inibitória mínima

N – Número de pratos teóricos

OMS – Organização Mundial da Saúde

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

R_f – Fator de retenção

R_p – Rendimento do processo de secagem

R_s – Resolução

T – Fator de cauda

T_{4-NRC} – Teor de 4-NRC

TD_{4NRC} – Taxa de degradação do 4-NRC

TG – Termogravimetria

T_U – Teor de umidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	<i>Piper umbellatum</i>	20
1.2	EXTRATOS SECOS.....	26
1.3	<i>SPRAY DRYING</i>	27
1.4	PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS POR <i>SPRAY DRYING</i>	29
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	OBJETIVO GERAL.....	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	DROGA VEGETAL	32
3.1.1	Obtenção e processamento	32
3.1.2	Determinação de matéria estranha	32
3.1.3	Microscopia do pó	32
3.1.4	Determinação do teor de umidade	33
3.1.5	Determinação do índice de intumescência.....	33
3.1.6	Determinação da distribuição granulométrica do pó.....	33
3.1.7	Determinação das cinzas totais	34
3.1.8	Determinação das cinzas insolúveis em ácido.....	34
3.1.9	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	34
3.1.9.1	Otimização da fase móvel.....	34
3.2	EXTRATO FLUIDO	35
3.2.1	Obtenção do extrato vegetal.....	35
3.2.2	Determinação do resíduo seco.....	35
3.2.3	Determinação da viscosidade	36
3.2.4	Determinação do pH.....	36
3.2.5	Determinação da densidade relativa e densidade de massa	36

3.2.6	Determinação do teor do 4-NRC.....	37
3.2.6.1	Seletividade.....	37
3.2.6.2	Linearidade	38
3.2.6.3	Precisão.....	38
3.2.6.4	Exatidão	39
3.2.7	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	39
3.2.8	Avaliação da atividade antioxidante.....	40
3.3	SECAGEM EM <i>SPRAY DRYER</i>.....	40
3.3.1	Condições instrumentais e seleção dos parâmetros de secagem	40
3.3.1.1	Análise termogravimétrica do 4-NRC.....	41
3.3.2	Delineamento experimental.....	41
3.3.3	Obtenção dos extratos secos.....	43
3.3.4	Determinação do rendimento do processo de secagem (R_p)	43
3.3.5	Determinação do teor de umidade (T_U)	43
3.3.6	Determinação da atividade de água (A_w).....	44
3.3.7	Determinação do teor de 4-NRC (T_{4-NRC}).....	44
3.3.7.1	Seletividade.....	44
3.3.7.2	Curva de calibração do extrato seco.....	44
3.3.7.3	Precisão.....	45
3.3.8	Determinação da taxa de degradação do 4-NRC	45
3.3.9	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	45
3.3.10	Avaliação da atividade antioxidante (AAO).....	45
3.3.11	Determinação da morfologia.....	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1	DROGA VEGETAL	47
4.1.1	Determinação de matéria estranha.....	47
4.1.2	Microscopia do pó	47
4.1.3	Determinação do teor de umidade	48
4.1.4	Determinação do índice de intumescência.....	49

4.1.5	Determinação da distribuição granulométrica do pó.....	49
4.1.6	Determinação das cinzas totais	50
4.1.7	Determinação das cinzas insolúveis em ácido.....	50
4.1.8	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	51
4.1.8.1	Otimização da fase móvel.....	51
4.2	EXTRATO FLUIDO	54
4.2.1	Determinação do resíduo seco	54
4.2.2	Determinação da viscosidade	55
4.2.3	Determinação do pH.....	55
4.2.4	Determinação da densidade relativa e densidade de massa	56
4.2.5	Determinação do teor do 4-NRC.....	56
4.2.6	Validação parcial do método analítico.....	57
4.2.6.1	Seletividade	57
4.2.6.2	Linearidade	59
4.2.6.3	Precisão	61
4.2.6.4	Exatidão	62
4.2.7	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	62
4.2.8	Avaliação da atividade antioxidante	63
4.3	SECAGEM EM <i>SPRAY DRYER</i>	64
4.3.1	Seleção dos parâmetros de secagem.....	64
4.3.1.1	Análise termogravimétrica do 4-NRC.....	65
4.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS EXTRATOS SECOS E AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM.....	66
4.4.1	Determinação do rendimento do processo de secagem (R_P)	67
4.4.2	Determinação do teor de umidade (T_U)	68
4.4.3	Determinação da atividade de água (A_W)	69
4.4.4	Determinação do teor de 4-NRC (T_{4-NRC}).....	72
4.4.5	Validação parcial do método analítico.....	75
4.4.4.1	Seletividade.....	75

4.4.4.2	Curva de calibração do extrato seco.....	76
4.4.4.3	Precisão.....	77
4.4.5	Determinação do perfil cromatográfico por CCD.....	77
4.4.6	Avaliação da atividade antioxidante (AAO).....	79
4.4.7	Avaliação da morfologia.....	82
5	CONCLUSÕES	84
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
	APÊNDICES.....	95

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais fazem parte da evolução humana e provavelmente foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados pelos povos. Indistintamente, a obtenção de extratos vegetais perde-se no tempo como método de preparo destes “remédios” caseiros. Nos dias atuais o uso de materiais vegetais continua tendo grande expressão, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, tanto na produção de preparações caseiras para tratar as mais diversas doenças quanto como matéria-prima para a indústria farmacêutica. Fato este verificado, principalmente, a partir da segunda metade dos anos 70 e década de 80, quando houve um crescimento das “medicinas alternativas” e, dentre elas, a fitoterapia (DI STASI, 2007; VIEGAS; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

A fitoterapia é um importante recurso terapêutico, disponível em todo o mundo, recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em seu documento “Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002–2005” (OMS, 2002) e inserido no Sistema Único de Saúde Brasileiro (SUS) por meio da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS publicada no ano de 2006 (ANTONIO; TESSER; MORETTI-PIRES, 2014; BRASIL, 2014a).

Por definição, fitoterápico é o produto obtido exclusivamente de matéria-prima ativa vegetal com propósito profilático, curativo ou paliativo. Caracteriza-se por não incluir na sua composição substâncias ativas isoladas ou altamente purificadas, de qualquer origem, nem as associações dessas com outros extratos. Atualmente, para fins de registro, o termo fitoterápico refere-se tanto ao medicamento fitoterápico quanto ao produto tradicional fitoterápico (BRASIL, 2014b). A principal diferença entre as duas classes de fitoterápicos referidas é baseada na forma de determinação da segurança e eficácia destes produtos. A segurança e eficácia dos “medicamentos fitoterápicos” são fundamentadas em evidências clínicas enquanto que, para os “produtos tradicionais fitoterápicos” baseiam-se em dados de uso seguro e efetivo (tradicionalidade de uso) publicados em literatura técnico-científica (BRASIL, 2014b).

Sabendo-se da natureza complexa dos fitoterápicos, cuja totalidade dos princípios ativos na maioria das vezes é desconhecida, entende-se que a base para assegurar a eficácia e segurança destes produtos seja um controle de qualidade que abranja todas as etapas da produção, ou seja, desde aspectos agrônômicos relacionados à matéria-prima até o produto final. Desta forma, os requisitos de qualidade aplicam-se igualmente a todos os tipos de fitoterápicos (BRASIL, 2014a; KROES, 2014).

A padronização é uma ferramenta do controle de qualidade utilizada no mundo todo. Porém, por se tratar de uma tarefa complexa, ainda não há um consenso de como ela deve ser realizada (FOLASHADE; OMOREGIE; OCHOGU, 2012; SAHOO; MANCHIKANTI; DEY, 2010). Em fitoterapia, considera-se como “princípio ativo” de um medicamento o extrato total e não apenas uma substância ou fração isolada de uma espécie vegetal. Levando-se em consideração a relação entre os constituintes químicos e a atividade terapêutica, na Europa, os extratos são classificados como extratos padronizados, extratos quantificados e em uma terceira categoria dita como “outros extratos” (EMA, 2010).

Os extratos em que se conhecem os constituintes químicos responsáveis pela atividade terapêutica são chamados de padronizados. Quando for possível atribuir parte da atividade terapêutica da espécie a algum de seus constituintes químicos por meio de comprovação por ensaios farmacológicos ou clínicos o extrato é classificado como quantificado. Os demais extratos, cuja atividade terapêutica dos seus constituintes ou marcadores ativos é desconhecida, são incluídos no grupo de “outros extratos”. A partir desta classificação é que se determina a forma com que estes insumos farmacêuticos serão trabalhados para garantir a segurança e eficácia do produto final (EMA, 2010; MARTINO BUFAINO, 2013).

A constância química em todas as fases do processo de fabricação do fitoterápico é de extrema importância para garantir a eficácia terapêutica e a segurança do consumidor. A verificação deste parâmetro geralmente é realizada com base no teor de uma substância ou classe de substâncias, presente no extrato, utilizada como marcador que pode ou não ter relação com o efeito terapêutico da espécie. No Brasil, o teor dos marcadores no produto acabado pode variar em até 15% para marcadores que possuem relação com o efeito terapêutico da espécie (marcador ativo) ou em até 20% para marcadores que ainda não tiveram sua relação demonstrada com o efeito terapêutico do fitocomplexo (marcador analítico) (BRASIL, 2014b).

No entanto, somente a quantificação do marcador é insuficiente para representar a identidade química da espécie vegetal, desta forma, recomenda-se também a utilização de métodos qualitativos como *fingerprint* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou cromatografia em camada delgada (CCD) (MARTINO BUFAINO, 2013).

O perfil químico de plantas medicinais pode ser afetado pelas condições de cultivo, manufatura, comercialização e distribuição. A biossíntese dos metabólitos secundários sofre variações em função de diferenças fisiológicas, genéticas e do ambiente (disponibilidade de luz, nutrientes, umidade e condições climáticas) no qual se encontra o vegetal. Cita-se ainda como fatores que podem promover diferenças na constituição química de plantas medicinais o

horário de colheita, condições de armazenagem, secagem, métodos de extração, a forma como é feito o processamento e o tipo embalagem final utilizada (FOLASHADE; OMOREGIE; OCHOGU, 2012; SAHOO; MANCHIKANTI; DEY, 2010).

A manutenção da estabilidade química do produto final obtido a partir de plantas medicinais, durante o período de armazenagem, pode ser afetada por fatores como pH, temperatura, reações enzimáticas, presença de luz e íons metálicos. Na maioria das vezes, as reações de degradação que ocorrem ou são reações de hidrólise ou de oxidação que são favorecidas pela presença de água em extratos líquidos (GAFNER; BERGERON, 2005).

Neste contexto, é necessário estabelecer critérios de qualidade para a droga vegetal assim como desenvolver e avaliar parâmetros de processos, como *spray drying*, que permitam a obtenção de derivados vegetais sólidos com características físico-químicas desejáveis, uma quantidade mínima de água e uma maior estabilidade durante o período de armazenagem de forma a assegurar a eficácia e a segurança destes produtos.

Além dos princípios de segurança e eficácia associados à qualidade dos medicamentos, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), aprovada em 2006, estimula o desenvolvimento de tecnologias e inovações nas diversas fases da cadeia produtiva de forma a obter produtos de maior valor agregado, valorizar e promover o uso sustentável da biodiversidade brasileira (BRASIL, 2006).

Desta forma, este trabalho visou desenvolver tecnologicamente e caracterizar os extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae) empregando a técnica de *spray drying*.

1.1 *Piper umbellatum*

Espécies da família Piperaceae têm despertado grande interesse seja em função da importância econômica de algumas espécies que fazem parte do mercado mundial como condimento (ex. *Piper nigrum* L.) ou em função da variedade das propriedades biológicas exibida por seus constituintes químicos (KATO; FURLAN, 2007; GUIMARÃES; MONTEIRO, 2005). No contexto medicinal, pode-se destacar nesta família a espécie *Piper umbellatum* por ser utilizada para fins terapêuticos por populações de aproximadamente 24 países que se distribuem em três continentes (ROERSCH, 2010).

A espécie *P. umbellatum*, classificada anteriormente como *Pothomorphe umbellata*, pertence ao gênero *Piper* um dos maiores gêneros de plantas com flores englobando aproximadamente 2000 mil espécies (WANKE et al., 2007). A taxonomia do gênero *Piper* é

considerada complexa devido à uniformidade de suas pequenas flores e a grande extensão do gênero. Neste sentido, *P. umbellatum* já foi classificada nos gêneros *Lepianthes* por Rafinesque, *Heckeria* por Kunth e *Pothomorphe* por Miquel (TEBBS, 1923). Recentemente, análises filogenéticas das inflorescências da espécie trouxeram evidências para que a mesma fosse novamente incluída no gênero *Piper* (JARAMILLO et al., 2008; JARAMILLO; MANOS, 2001). Desta forma, devido ao desafio taxonômico enfrentado, *P. umbellatum* é referenciada com diferentes sinonímias botânicas como *Pothomorphe umbellata* L. Miq., *Heckeria umbellata* (L.) Kunth., *Peperomia umbellata* (L.) Kunth., *Pothomorphe sidaefolia* Miq., *Lepianthes umbellatum* (L.) Raf., dentre outras (LORENZI; MATOS, 2002).

A *P. umbellatum* é uma espécie neotropical distribuída na América do Sul, América Central, México e Caribe. Além disso, foi introduzida na África e no Sudeste da Ásia onde se encontra bem adaptada e se desenvolve naturalmente (LORENZI; MATOS, 2002; ROERSCH, 2010). No Brasil, é nativa em quase todo o país, principalmente do sul da Bahia até Minas Gerais e São Paulo. Nas diversas regiões onde se desenvolve, é conhecida pela população como pariparoba, aguaxima, caapeba, caapeba-do-norte, caapeba verdadeira, caena, cabeba, capeua, capeva, catajé, malvaíscio, malvarisco e lençol-de-santa-bárbara (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2003; LORENZI; MATOS, 2002; MORAIS, 1986).

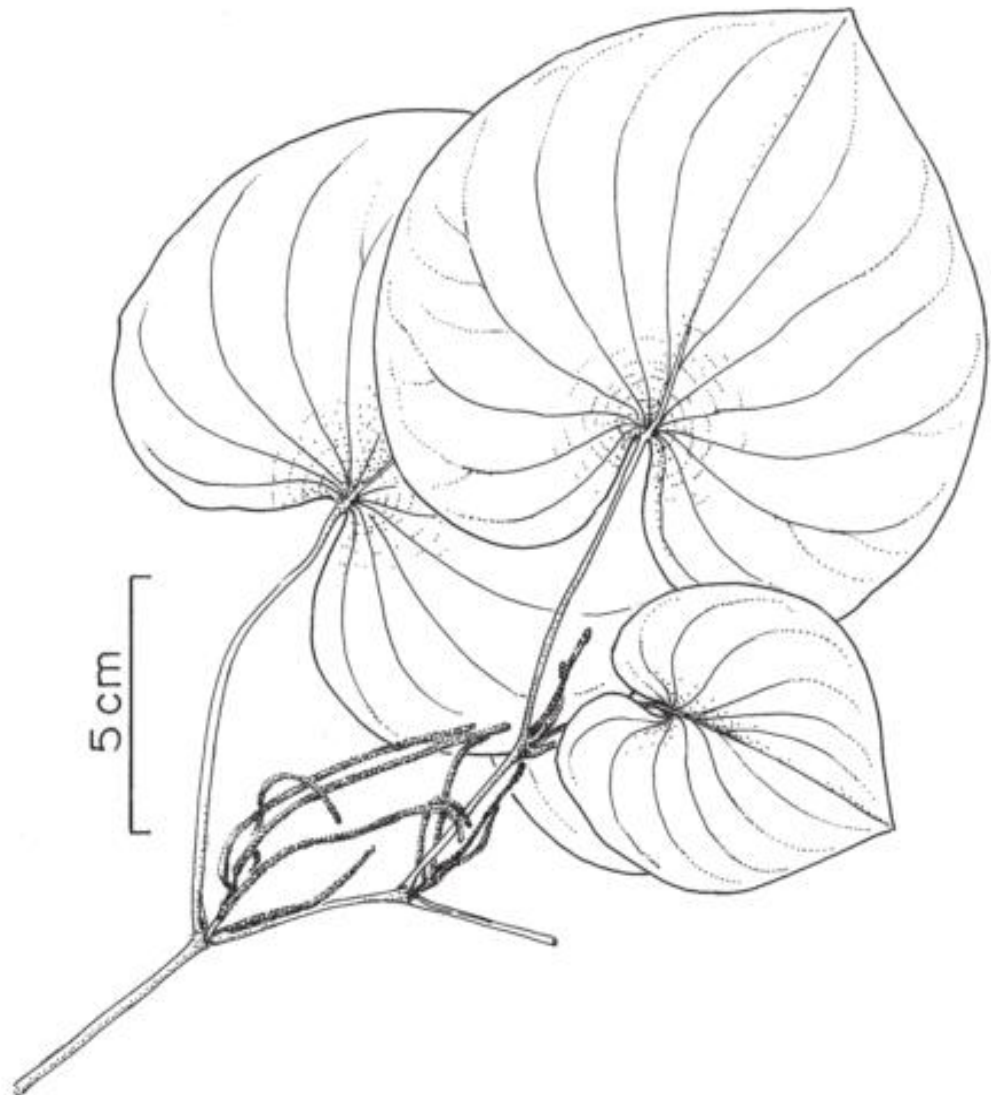
Ainda no século XIX, naturalistas europeus descreveram o uso tradicional das raízes de *P. umbellatum* por ameríndios de Minas Gerais como imunoestimulante, diurético, sudorífico, para o tratamento de feridas, queimaduras, astenia e dor no estômago (BRANDÃO et al., 2008). No ano de 1926, seu uso foi formalizado na medicina convencional pela inclusão da espécie na primeira edição da Farmacopeia Brasileira (FB) sob a sinonímia de *Heckeria umbellata*. Nesta publicação a monografia recebeu a denominação oficial de pariparoba e as raízes foram oficializadas como droga vegetal (SILVA, 1926).

Em função da crescente expansão da produção de medicamentos contendo fármacos de origem sintética após a segunda guerra mundial e a introdução de indústrias farmacêuticas multinacionais no Brasil, houve uma redução significativa do número de monografias de plantas medicinais, principalmente nativas, nas edições seguintes da FB das quais a *P. umbellatum* deixou de fazer parte (BRANDÃO et al., 2006).

Do ponto de vista macroscópico botânico a espécie é considerada um subarbusto ou arbusto de 1 a 3 m de altura e caule de 0,6 a 2,2 cm de diâmetro com folhas longo-pecioladas, cordada, ovado-arredondadas, membranosas, com ápice agudo, nervação peltinérvea e bainha desenvolvida. Foi nomeada como “*P. umbellata*” pelas características de suas minúsculas flores que se arranjam em inflorescências compostas por várias espigas reunidas por um

pedúnculo comum que formam uma falsa umbela (Figura 1) (BARDELLI; KIRIZAWA; SOUSA, 2008; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2003; GUIMARÃES; MONTEIRO, 2005).

Figura 1 – Ramo florido de *P. umbellatum* mostrando a folha cordada e a inflorescência em forma de falsa umbela.



Fonte: Adaptado de Bardelli; Kirizawa; Sousa (2008).

Suas folhas, hastes e raízes são utilizadas na medicina popular de quase todo o Brasil como diurética, antiepiléptica, antipirética, contra doenças do fígado, erisipela, filariose, inchaços e inflamações das pernas. Ao decocto e ao chá das raízes são atribuídas atividades diurética, estimulante das funções estomacais, hepáticas, pancreáticas e do baço (LORENZI; MATOS, 2002).

Algumas das indicações, tradicional e popular, desta espécie foram verificadas também em estudos farmacológicos. Isobe, Ohsaki e Nagata (2002) evidenciaram uma significativa atividade antibacteriana contra *Helicobacter pylori* para o alcalóide N-benzoilmescalina presente nas partes aéreas de *P. umbellatum*, indicando um possível efeito protetor contra úlceras gástricas. A atividade antiinflamatória ($ED_{50}=550\text{mg/kg}$), propriedades analgésicas e a segurança ($LD_{50}>2\text{g/kg}$) da administração oral do extrato hidroetanólico bruto das partes aéreas de *P. umbellatum* foram confirmadas por Perazzo et al. (2005) utilizando um modelo de experimentação animal.

Vários outros estudos foram realizados com extratos, frações e substâncias isoladas de *P. umbellatum* evidenciando que a espécie possui um amplo espectro de atividades farmacológicas, dentre elas: antileishmania frente à forma promastigota de *Leishmania amazonensis* ($IC_{50}=39\mu\text{g/mL}$) (BRAGA et al., 2007); tripanocida frente *Trypanosoma brucei rhodesiense* ($IC_{50}=2\mu\text{g/mL}$) e antiplasmódica frente *Plasmodium falciparum* ($IC_{50} = 3,74\mu\text{g/mL}$) (KAMANZI ATINDEHOU et al., 2004); antifúngica frente cepas resistentes do dermatófito *Trichophyton rubrum* (RODRIGUES et al., 2012); antibacteriana sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, e *Enterococcus faecalis* (CIM na faixa de 12.5 a $25\mu\text{g/mL}$) (DA SILVA et al., 2014); fotoprotetora (DA SILVA et al., 2005; 2009; ROPKE et al., 2005, 2006); antiofídica (NÚÑEZ et al., 2005); antiaterogênica (AGBOR et al., 2012); antineoplásica frente a linhagens celulares de câncer de mama, melanoma, pulmão, ovário, ovário resistente a múltiplos fármacos, próstata, cólon, rim e leucemia (BROHEM et al., 2009, 2012; SACOMAN et al., 2008) e uma significativa atividade antioxidante (BARROS, 1996; FERNANDES et al., 2013; LOPES et al., 2013; MENDANHA DA CUNHA et al., 2012; ROPKE, 2000; ROPKE et al., 2002) (Quadro 1).

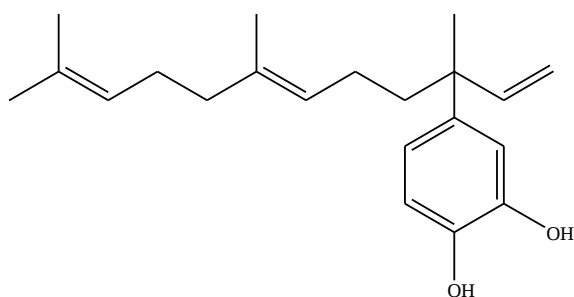
Quadro 1 – Atividades biológicas e farmacológicas de extratos, frações e substâncias puras de *P. umbellatum*.

Atividade biológica	Parte da planta/substância	País de origem do espécime	Referência
Antileishmania (IC ₅₀ =39µg/mL)	Extrato metanólico das folhas	Brasil	BRAGA et al., 2007
Tripanocida (IC ₅₀ =2 µg/mL) e antimalárica (IC ₅₀ = 3,74 µg/mL)	Extrato hidroetanólico das follhas	Costa do Marfim	KAMANZI ATINDEHOU et al., 2004
Antifúngica	Extrato hidroetanólico das partes aéreas, frações hexânica e diclorometano	Brasil	RODRIGUES et al., 2012
Antibacteriana (CIM na faixa de 12.5 a 25µg/mL)	Extrato hidroetanólico das folhas	Brasil	DA SILVA et al., 2014
Fotoprotetora	Extrato hidroetanólico das raízes	Brasil	DA SILVA et al., 2005; 2009; ROPKE et al., 2005, 2006
Antiofídica	4-NRC	Costa Rica	NÚÑEZ et al., 2005
Antiaterogênica	Extrato metanólico das folhas	Camarão	AGBOR et al., 2012
Antineoplásica	4-NRC; extrato diclorometano e frações das folhas	Brasil	BROHEM et al., 2009, 2012; SACOMAN et al., 2008
Antioxidante	4-NRC; frações; extrato das partes aéreas e raízes	Brasil	BARROS, 1996; FERNANDES et al., 2013; LOPES et al., 2013; MENDANHA DA CUNHA et al., 2012; ROPKE, 2000; ROPKE et al., 2002

Parte das atividades biológicas observadas para a espécie é atribuída ao seu metabólito secundário majoritário, 4-nerolidilcatecol (4-NRC), isolado primeiramente por Kijjoa (1980) das raízes da *P. umbellatum* (Figura 2). Trata-se de um catecol prenilado de biossíntese mista cujas unidades isoprênicas são derivadas tanto do ácido mevalônico, quanto da via

triose/piruvato (BERGAMO et al., 2005). Dentre as propriedades atribuídas ao 4-NRC, destaca-se a atividade antioxidante (BARROS, 1996; ROPKE, 2000; ROPKE et al., 2002). No entanto, em estudo feito por ROPKE et al. (2006) esta atividade se mostrou ainda mais pronunciada no extrato das raízes da espécie o que sugere a presença de outros metabólitos secundários com ação antioxidante nesta planta. Outras substâncias isoladas de *P. umbellatum* pertencem à classe dos terpenos, alcaloides, flavonoides e esteróis (ROERSCH, 2010).

Figura 2 – Estrutura química do 4-nerolidilcatecol (4-NRC).



Fonte: Kijjoa (1980)

A ausência de toxicidade oral, aguda e subcrônica, foi demonstrada *in vivo* para o extrato hidroetanólico liofilizado das raízes de *P. umbellatum* quantificado em 6,5% de 4-NRC. O extrato também não apresentou atividade mutagênica de acordo com os resultados encontrados para o teste do micronúcleo em medula óssea de roedores (BARROS et al., 2005). Adicionalmente, Valadares et al. (2007) demonstraram que além da ausência de mutagenicidade, o extrato hidroetanólico das raízes de *P. umbellatum* quantificado em 21,5% de 4-NRC (50, 100 e 200mg/kg/dia, oral) e o 4-NRC isolado (12,5, 25 e 50mg/kg/dia, oral) apresentaram um efeito protetor dose dependente contra a genotoxicidade induzida por ciclofosfamida, um clássico agente genotóxico.

Cardoso (2008) demonstrou que quando isolado, o 4-NRC se degrada rapidamente na presença de luz. Frente aos inúmeros atributos e ao potencial de comercialização de produtos contendo extratos de *P. umbellatum*, vários trabalhos foram realizados a fim de aumentar a estabilidade do 4-NRC, isolado ou presente em extratos, incluindo a produção de *pellets* (ARAÚJO-JÚNIOR et al., 2013); géis (DA SILVA et al., 2005); inclusão do 4-NRC em complexo de 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (SOARES et al., 2009) e métodos de extração

por ultra-som e percolação foram investigados a fim de se obter derivados vegetais mais estáveis (COSTA et al., 2011).

Além disso, visando aplicação industrial, pedidos de patentes também foram depositados para proteger produtos ou processos desenvolvidos a partir de *P. umbellatum* (BARROS; ROPKE, 2006; BOLZANI, 2008; DA SILVA PINTO et al., 2009).

1.2 EXTRATOS SECOS

Os extratos são as mais simples e tradicionais formas de derivados de plantas medicinais, a partir dos quais é possível a obtenção e desenvolvimento de um medicamento fitoterápico (SOARES; SOUZA, 2012). Dentre os fitoterápicos, mais de 70% apresentam-se como formas farmacêuticas sólidas constituídas principalmente de extratos secos (CARVALHO et al., 2008). Por definição, extrato seco é a preparação sólida obtida pela evaporação do líquido extrator utilizado na obtenção do derivado vegetal, adicionado ou não de adjuvantes, que apresenta no mínimo 95% de resíduo seco calculado como porcentagem de massa (BRASIL, 2010).

Na produção de um fitoterápico, os extratos secos podem ser considerados matéria-prima, produto intermediário ou final. Como produto intermediário, podem ser utilizados na preparação de comprimidos, cápsulas, granulados, pomadas, dentre outras formas farmacêuticas e apresentam vantagens práticas como simplicidade para manipulação; homogeneidade dos constituintes ativos o que confere uma maior garantia da dose empregada; e facilidade de armazenamento e transporte uma vez que ocupam menor volume do que preparações líquidas (SOARES; SOUZA, 2012).

Além disso, a produção de extratos secos é uma alternativa tecnologicamente viável por proporcionar produção em larga escala de produtos mais concentrados, com maior estabilidade química, física e microbiológica e com uma maior facilidade de padronização dos compostos ativos (SILVA et al., 2012; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A maior estabilidade é alcançada com a retirada da água responsável por fornecer um meio reacional propício para reações químicas, fenômenos físicos e proliferação microbiana (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010). A padronização do fitoterápico, na última etapa de sua produção, se dá pelo ajuste do teor dos constituintes químicos do medicamento pela adição de materiais inertes adequados ou pela adição de extratos secos da mesma espécie vegetal. Esta operação é facilitada quando o derivado vegetal está na forma sólida (BRASIL, 2010; KLEIN et al., 2010; MARQUES; VIGO, 2009).

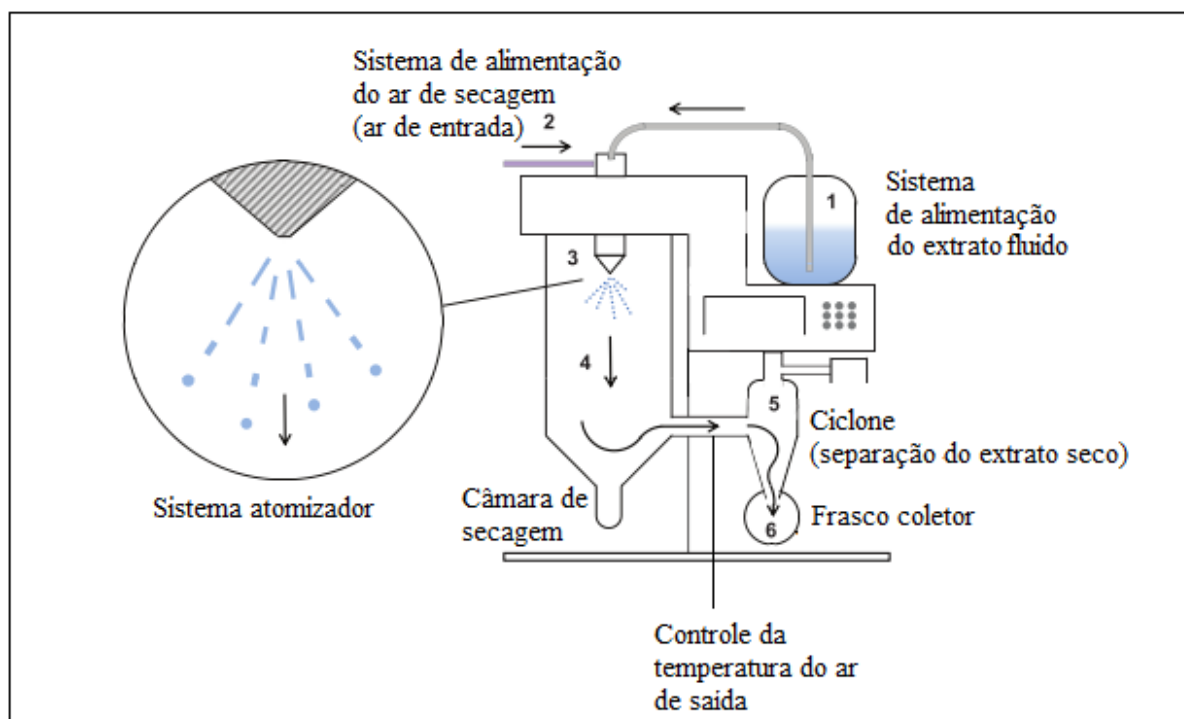
1.3 SPRAY DRYING

Dentre as técnicas de secagem, destaca-se a secagem por aspersão ou nebulização mais conhecida como *spray drying* (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; ROSA; TSUKADA; FREITAS, [200-]). Trata-se de um método trivial de secagem que consiste na transformação de um produto líquido na forma de solução, emulsão ou suspensão em um produto sólido. Neste método, o líquido é bombeado e atomizado em gotículas com elevada área superficial em um meio contendo um gás com temperatura elevada. A evaporação do solvente ocorre rapidamente e o material fluido é transformado em partículas secas em um processo contínuo que envolve uma única etapa de secagem (AMERI; MAA, 2006; BOHR et al., 2014; CAL; SOLLOHUB, 2010; HUANG; FILCOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

A evolução dos secadores por nebulização, ou *spray dryers*, esteve intimamente relacionada à demanda da indústria de alimentos sendo utilizados em escala industrial desde 1850 para produção de leite em pó. No entanto, atualmente estima-se que existam mais de 25 mil *spray dryers* disponíveis comercialmente com aplicações nas indústrias de agroquímicos, produtos biotecnológicos, corantes, cerâmicas e produtos farmacêuticos cujas capacidades de evaporação variam de poucos kg/h a mais de 50 toneladas/h (FILCOVÁ; HUANG; MUJUMDAR, 2006).

De uma maneira simplificada, o processo de secagem de extratos vegetais, assim como de outros produtos, por *spray drying* consiste da etapa de atomização do líquido, desidratação ou evaporação do solvente e coleta do pó. O processo tem início quando o extrato líquido é bombeado, geralmente por uma bomba peristáltica, até o atomizador. Durante a atomização o líquido é transformado em gotículas com uma grande área superficial. O processo de secagem se inicia ainda na etapa de atomização quando a gota entra em contato com o gás de secagem, em geral ar atmosférico filtrado aquecido a uma elevada temperatura. A grande área superficial das gotículas formadas permite uma maior transferência de calor entre as partículas e o ar de secagem o que promove a evaporação do solvente em questão de segundos na câmara de secagem. O extrato seco é então separado do gás circundante, em um compartimento conhecido como ciclone, por meio da força centrífuga criada pelo ajuste do ar a rápidos movimentos rotacionais. Em seguida o extrato seco deixa o ciclone e se deposita no frasco coletor enquanto que o ar de secagem é, em geral, filtrado e lançado na atmosfera por um sistema exaustor (Figura 3) (AMERI; MAA, 2006; BOHR et al., 2014; CAL; SOLLOHUB, 2010).

Figura 3 – Esquema dos principais componentes e passos da secagem em *spray dryer*.



Fonte: adaptado de BOHR et al. (2014).

Cada uma das etapas acima descritas, assim como as condições sob as quais elas são conduzidas, influencia as características dos produtos secos obtidos por *spray drying*. Dentre as variáveis do processo que exercem influência e podem ser controladas a fim de se obter pós com características físico-químicas desejáveis podemos citar o tipo e diâmetro do bico aspersor, velocidade ou vazão de alimentação do extrato, vazão do ar de secagem, vazão do ar comprimido e a temperatura de entrada do ar de secagem (CAL; SOLLOHUB, 2010; ROSA; TSUKADA; FREITAS, [200-]; SILVA et al., 2012).

As propriedades do extrato seco obtido por *spray drying* relacionam-se também com as características do material de entrada (extrato fluido) como viscosidade, tensão superficial, teor de sólidos, uso e escolha do adjuvante de secagem (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; ROSA; TSUKADA; FREITAS, [200-]).

Desta forma, vários trabalhos foram realizados nos últimos anos a fim de se avaliar as influências do processo de *spray drying* sobre características físico-químicas de extratos secos obtidos a partir de diferentes espécies vegetais dentre elas *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (COUTO et al., 2012); *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm., (Fabaceae) (ARARUNA et al., 2013); *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) (CALISKAN; NUR DIRIM, 2013); *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) (CORTÉS-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2011);

Rhamnus purshiana (Rhamnaceae) (GALLO et al., 2011); *Satureja montana* L. (Lamiaceae) (VIDOVIĆ et al., 2014); *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) (OLIVEIRA et al., 2012); *Vernonanthura ferruginea* (Less.) (OLIVEIRA et al., 2011) e *Eugenia dysenterica* DC., (Myrtaceae) (COUTO et al., 2013). No entanto, a análise experimental é imprescindível, uma vez que, as condições ótimas da secagem por *spray drying* para uma dada espécie de planta não pode ser extrapolada de outros trabalhos (GALLO et al., 2011).

1.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS SECOS POR *SPRAY DRYING*

Frente à complexidade e aos inúmeros fatores que afetam as propriedades dos produtos secos por *spray drying*, a seleção das condições mais adequadas das variáveis do processo de secagem assim como a escolha dos adjuvantes é realizada frequentemente em ensaios de “tentativa e erro” em escala laboratorial. Esses ensaios, entretanto, podem ser conduzidos empregando-se planejamentos estatísticos com o objetivo de minimizar perdas e maximizar as respostas de interesse por meio de um menor número de experimentos.

Em estatística, normalmente, a propriedade de interesse é denominada resposta, as variáveis que influenciam a resposta são chamadas de fatores e os valores atribuídos aos fatores são conhecidos como níveis (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001)

Um planejamento fatorial do tipo Box-Behnken irá requerer a realização de um número de experimentos, N , de acordo com a expressão $N = 2k(k - 1) + c_p$, onde “ k ” é o número de fatores e “ c_p ” é o número de pontos centrais. Neste tipo de planejamento, os fatores devem ser ajustados somente em três níveis (-1, 0, +1) com espaço de intervalo igual entre os valores de cada um deles (BEZERRA et al., 2008)

A função que descreve a influência dos fatores na resposta é conhecida como superfície de resposta. A fim de se encontrar uma região ótima na superfície investigada podem ser empregadas diversas técnicas de estatística multivariada, dentre as quais destaca-se a metodologia de superfície de resposta (ou RSM, de *Response Surface Methodology*). Trata-se de uma técnica de otimização, baseada em planejamentos fatoriais, amplamente difundida e consolidada devido à possibilidade de geração de uma grande quantidade de informações a partir de um pequeno número de experimentos. Porém, sua característica mais relevante é a possibilidade de avaliar o efeito de interação das variáveis sobre a resposta analisada, uma vez que, as variáveis podem se influenciar mutuamente e o valor ideal para uma delas pode

depende do valor da outra (BEZERRA et al., 2008; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Dessa forma, diante da importância medicinal e comercial de *P. umbellatum* e frente à necessidade da obtenção de produtos de origem vegetal tecnicamente elaborados, esse trabalho visou contribuir com a investigação de processos de produção de extrato seco por *spray drying*, a partir das raízes de *P. umbellatum*, a fim de se obter uma matéria-prima ativa de qualidade que possa ser utilizada no desenvolvimento de um fitoterápico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver tecnologicamente extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *P. umbellatum*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Processar a droga vegetal a partir das raízes de *P. umbellatum* e avaliar sua qualidade físico-química por métodos farmacopeicos gerais aplicados a drogas vegetais;
- Realizar a caracterização físico-química do extrato fluido obtido a partir da droga vegetal;
- Realizar a validação parcial da metodologia analítica para quantificação do 4-NRC quanto a seletividade, linearidade, precisão e exatidão;
- Obter extratos secos por *spray drying* e investigar o potencial tecnológico da técnica de secagem para obtenção de extratos secos de *P. umbellatum*;
- Avaliar a influência das variáveis do processo de secagem sobre as propriedades físico-químicas; teor de 4-NRC e sobre a atividade antioxidante dos extratos secos obtidos por *spray drying*.

5 CONCLUSÕES

O processamento da droga vegetal possibilitou obter pós com teor de umidade favorável a uma maior estabilidade química e microbiológica para armazenagem. A ausência de matéria estranha, os valores encontrados para cinzas totais e insolúveis em ácido, índice de intumescência, e a presença de estruturas características da raiz de *P. umbellatum* evidenciadas pela análise microscópica forneceram subsídios para comprovação da autenticidade e pureza do material vegetal.

A otimização da fase móvel para CCD resultou em uma metodologia que permite a identificação do 4-NRC no material vegetal por comparação com Rf do padrão quando se utiliza como reveladores luz UV₂₅₄ nm, vanilina sulfúrica ou iodo. Além disso, quando luz UV₃₆₅ nm é utilizada como revelador, tem-se um perfil cromatográfico para 10 constituintes químicos que pode ser utilizado tanto para auxiliar na identificação química da espécie quanto para o controle de qualidade durante as etapas de produção e armazenamento da droga vegetal.

A percolação da droga vegetal utilizando etanol 96 % (v/v) como líquido extrator resultou em um derivado vegetal com teor de 4-NRC de $43,81\% \pm 0,42$ em relação a sua base seca. O perfil cromatográfico do extrato fluido obtido por CCD evidenciou a ausência de duas substâncias antes verificadas na droga vegetal. A não manutenção dos constituintes químicos da espécie no derivado vegetal pode estar relacionada a diferenças nos princípios de extração dos métodos utilizados. Estudos adicionais são necessários para uma conclusão segura.

A determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH no extrato fluido ($EC_{50} = 6,28 \pm 0,11$ mg/L) possibilitou uma triagem da manutenção desta atividade biológica após a secagem do extrato. A caracterização físico-química do extrato fluido quanto ao resíduo seco, viscosidade, pH e densidade relativa forneceram dados para o monitoramento da qualidade de extratos de *P. umbellatum* obtidos nas condições desse trabalho. Além disso, evidenciou-se que as características físico-químicas do extrato fluido foram adequadas à obtenção de extratos secos por *spray drying*.

A metodologia analítica por CLAE-DAD utilizada para a quantificação do 4-NRC demonstrou seletividade, linearidade, precisão intra e inter-corridas e exatidão de acordo com o preconizado pela RE 899/2003.

Os 17 extratos secos obtidos por *spray drying*, utilizando dióxido de silício coloidal como adjuvante e diferentes condições de secagem, apresentaram teor de umidade e atividade

de água dentro do recomendado para a manutenção da estabilidade química e microbiológica tendo em vista a armazenagem destes produtos.

O rendimento do processo foi considerado alto para *spray dryer* de escala laboratorial com recuperação do produto de até 74,17% (p/p). Destaca-se a possibilidade de se obter maior rendimento em escala industrial, mantendo-se a qualidade dos extratos secos semelhante à investigada em bancada. O perfil cromatográfico por CCD foi mantido em todos os extratos secos, demonstrando a manutenção da identidade química do extrato fluido de *P. umbellatum* após a secagem. Morfologicamente, evidenciou-se que as partículas dos extratos secos obtidos são de diferentes tamanhos, com formato predominantemente oval e superfície irregular e porosa.

Todos os parâmetros de secagem por *spray drying* avaliados (proporção de Aerosil® em relação ao resíduo seco do extrato líquido; temperatura do ar de secagem e vazão de alimentação do extrato), com ou sem interação entre eles, influenciaram de alguma maneira as características físico-químicas dos extratos secos obtidos. O teor de 4-NRC foi afetado linearmente pela temperatura e pela proporção de Aerosil®, enquanto que os valores encontrados para atividade antioxidante foram influenciados pela vazão de alimentação do extrato e pela interação linear entre a vazão de alimentação do extrato e a proporção de adjuvante.

Aparentemente não há uma relação entre o conteúdo de 4-NRC e a atividade antioxidante dos extratos secos, corroborando dados da literatura que sugerem a presença de outras substâncias com atividade antioxidante no extrato de *P. umbellatum*. Dentro dos níveis estudados, maiores AAO podem ser observadas para extratos secos obtidos com a menor proporção de adjuvante avaliada (50%, p/p) e uma vazão de alimentação do extrato no maior nível (5mL/min) ou com a maior proporção de adjuvante (70%, p/p) e o menor nível de vazão de alimentação estudado (3mL/min). O maior conteúdo de 4-NRC, por sua vez, foi encontrado quando a maior proporção do adjuvante (70%, p/p) e menor temperatura do ar de secagem foram utilizados.

Em suma, sugere-se que a técnica de *spray drying* é viável para a obtenção de extratos secos de *P. umbellatum* de qualidade, com alto teor de 4-NRC e atividade antioxidante contribuindo, desta forma, para a valorização do potencial terapêutico da espécie. Além disso, este trabalho abre várias perspectivas de investigação com vista a otimizar a obtenção de extratos secos a partir desta espécie vegetal e adicionar novas características tecnológicas de forma a agregar valor a um produto com potencial como ingrediente ativo no desenvolvimento de um medicamento fitoterápico ou formulações cosméticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMIEC, J. et al. Microencapsulation of Kaffir Lime Oil and Its Functional Properties. **Drying Technology**, v. 30, n. 9, p. 914-920, 2012.
- AGBOR, G. A. et al. Antioxidant and anti-atherogenic activities of three *Piper* species on atherogenic diet fed hamsters. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 4, p. 387-391, 2012.
- AHMAD, F. B.; TAWAN, C. Phytochemical studies on *Piper umbellatum* L. **ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)**, v. 1, p. 1-4, 2002.
- AMERI, M.; MAA, Y.-F. Spray drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n. 6, p. 763-768, 2006.
- ANTONIO, G. D.; TESSER, C. D.; MORETTI-PIRES, R. O. Phytotherapy in primary health care. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 541-553, 2014.
- ARARUNA, S. M. et al. Influence of process conditions on the physicochemical characteristics of cumaru (*Amburana cearensis*) powder produced by spray drying. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 132-137, 2013.
- ARAÚJO-JÚNIOR, C. A. et al. Preparation of pellets containing *Pothomorphe umbellata* extracts by extrusion-spheronization: improvement of 4-nerolidylcatechol photostability. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 169-174, 2013.
- AULTON, M. E. **Pharmaceutics: the science of dosage form design**. 2 ed. Philadelphia: Elsevier's Health Sciences, 2001.
- BALDOQUI, D. C. et al. Flavonoid, lignan and terpenoid compounds of *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1107-1109, 2009.
- BARDELLI, K. C.; KIRIZAWA, M.; SOUSA, G. A. V. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) da Mata Atlântica da Microbacia do Sítio Cabuçu-Proguaru, Guarulhos, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 35, n. 4, p. 553-561, 2008.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da Unicamp, 2001. 401 p.
- BARROS, S. et al. Assessment of acute and subchronic oral toxicity of ethanolic extract of *Pothomorphe umbellata* L. Miq (Pariparoba). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 53-61, 2005.
- BARROS, S. B. M.; ROPKE, C. D. **Use of *Pothomorphe umbellata* extract and gel composition on basis of *Pothomorphe umbellata* extract**. US2006/0062858, 19 Sept. 2003, 23 Mar. 2006.

BARROS, S. B. M.; TEIXEIRA, D. S.; AZNAR, A. E.; MOREIRA JÚNIOR.; J. A.; ISHII, I.; FREITAS, P. C. D. Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Pothomorphe umbellata* L. Miq. **Ciência e Cultura**, v. 48, p. 114-116, 1996.

BERGAMO, D. C. B. et al. Biosynthetic origins of the isoprene units of 4-nerolidylcatechol in *Potomorphe umbellata*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6b, p. 1406-1409, 2005.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965-977, 2008.

BOLZANI, V. S. et al. **Method for the obtainment of the enzymatic extract of *Potomorphe umbellata*, and its use for obtaining catechol derivatives**. WO 2008/095273 A2, 7 Feb. 2008, 14 Aug. 2008.

BOHR, A. et al. Application of spray-drying and electrospraying/electrospinning for poorly water-soluble drugs: a particle engineering approach. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 3, p. 325-348, 2014.

BOX, M.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experimenters**. John Wiley & Sons, New York, 1978.

BRAGA, F. G. et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 396-402, 2007.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 408-420, 2006.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 141-148, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, 02 de julho de 2003.

BRASIL. Ministério da saúde - Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos - Departamento de Assistência Farmacêutica. Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010. 2v.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº. 31 de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 12 de agosto de 2010b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 4, de 18 de junho de 2014. **Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico**. Brasília: Anvisa, 2014a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 14 de maio de 2014b.

BROHEM, C. A et al. Apoptosis induction by 4-nerolidylcatechol in melanoma cell lines. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 1, p. 111-119, 2009.

BROHEM, C. A. et al. Proteasome inhibition and ROS generation by 4-nerolidylcatechol induces melanoma cell death. **Pigment Cell & Melanoma Research**, v. 25, n. 3, p. 354-369, 2012.

CALISKAN, G.; NUR DIRIM, S. The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 539-548, 2013.

CAL, K.; SOLLOHUB, K. Spray drying technique. I: hardware and process parameters. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 2, p. 575-586, 2010.

CARDOSO, F. F. S. **Desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica, em CLAE-PDA, para avaliação da estabilidade do 4-nerolidilcatecol na presença de seus produtos de degradação**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

CARVALHO A. C. B.; BALBINO E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 18, n. 2, p. 314–319, 2008.

CHEGINI, G. R.; GHOBADIAN, B. Spray dryer parameters for fruit juice drying. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 3, n. 2, p. 230-236, 2007.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Optimisation of the extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from aerial parts of *Bidens pilosa* L. using response surface methodology. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 11, p. 2420-2427, 2011.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 3. ed., v.3, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, 1032p.

COSTA, F. S. D. O. et al. Impact of ultrasound-assisted extraction on quality and photostability of the *Pothomorphe umbellata* extracts. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 5, p. 1002-1007, 2011.

COUTO, R. O. et al. Development of a phytopharmaceutical intermediate product via spray drying. **Drying Technology**, v. 29, n. 6, p. 709-718, 2011.

COUTO, R. O. et al. Spray-dried rosemary extracts: physicochemical and antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 99-105, 2012.

COUTO, R. O. et al. Spray drying of *Eugenia dysenterica* extract: effects of in-process parameters on product quality. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 115-123, 2013.

DA SILVA, I. F. et al. Evaluation of acute toxicity, antibacterial activity, and mode of action of the hydroethanolic extract of *Piper umbellatum* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 137-143, 2014.

DA SILVA PINTO, A. C. et al. **Derivatives of 4-nerolidylcatechol, pharmaceutical compositions comprising them and process for producing the same**. WO 2009/082795 A1, 28 Dec. 2007, 9 July. 2009.

DA SILVA, V. V. et al. Chemical stability and SPF determination of *Pothomorphe umbellata* extract gel and photostability of 4-nerolidylcatechol. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, n. 1-2, p. 125-31, 2005.

DA SILVA, V. V. et al. Photoprotective effect of *Pothomorphe umbellata* on UVB radiation-induced biomarkers involved in carcinogenesis of hairless mouse epidermis. **Cutaneous and Ocular Toxicology**, v. 28, n. 2, p. 54-60, 2009.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras** – O que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber. São Paulo: UNESP, 2007. 136p.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2003. 604p.

EMA. European Medicines Agency. Science Medicines Health. **Guideline on declaration of herbal substances and herbal preparations in herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products**. 2010. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003272.pdf>. Acesso em: set. 2014.

FERNANDES, K. S. et al. Antioxidant effect of 4-nerolidylcatechol and α -tocopherol in erythrocyte ghost membranes and phospholipid bilayers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 9, p. 780-788, 2013.

FERNANDES, M. R. V. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spray dried extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 39-44, 2014.

FILCOVÁ, I.; HUANG, L. X.; MUJUMDAR, A. S. Industrial spray drying systems. In: MUJUMDAR, A. S. (Org.). **Handbook of industrial drying**. 3. ed, New York: CRC Press, 2006. p. 215-254.

FOLASHADE, O.; OMOREGIE, H.; OCHOGU, P. Standardization of herbal medicines: a review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 4, n. 3, p. 101-112, 2012.

GALLO, L. et al. Influence of spray-drying operating conditions on *Rhamnus purshiana* (Cáscara sagrada) extract powder physical properties. **Powder Technology**, v. 208, n. 1, p. 205-214, 2011.

GAFNER, S.; BERGERON, C. The challenges of chemical stability testing of herbal extracts in finished products using state-of-the-art analytical methodologies. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 1, n. 2, p. 203-215, 2005.

GEORGETTI, S. R. et al. Spray drying of the soybean extract: effects on chemical properties and antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1521-1527, 2008.

GIBBONS, S. An introduction to planar chromatography. In: SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. **Natural products isolation**. 2 ed. New Jersey: Humana Press, 2006, p. 77-116.

GOGOSZ, A. M. et al. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero *Piper* (Piperaceae). **Rodriguésia**, v. 63, n. 2, p. 405-417, 2012.

GUIMARÃES, E. F.; MONTEIRO, D. Piperaceae na reserva biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 3, n. 57, p. 567-587, 2005.

GUSTAFSON, K. R. et al. The peltatols, novel HIV-inhibitory catechol derivatives from *Pothomorphe peltata*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 57, n. 10, p. 2809-2811, 1992.

ISOBE, T.; OHSAKI, A.; NAGATA, K. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, Pariparoba. **Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan**, v. 122, n. 4, p. 291-4, 2002.

JARAMILLO, M. A; MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, n. 4, p. 706-716, 2001.

JARAMILLO, M. A. et al. A Phylogeny of the tropical genus *Piper* using ITS and the chloroplast intron psbJ–petA. **Systematic Botany**, v. 33, n. 4, p. 647-660, 2008.

KAMANZI ATINDEHOU, K. et al. Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Côte d'Ivoire. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2-3, p. 221-227, 2004.

KATO, M. J.; FURLAN, M. Chemistry and evolution of the Piperaceae. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 4, p. 529-538, 2007.

KLEIN, T. et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2010.

KIJJOA, A. et al. 4-Nerolidylcatechol from *Pothomorphe umbellata*. **Planta Medica.**, v.39, n. 5, p.85-87, 1980.

KROES, B. H. The legal framework governing the quality of (traditional) herbal medicinal products in the European Union. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 1-5, 2014. No prelo.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Campinas (SP): Editora Átomo, 2009. 384p.

LOPES, A. P. et al. Antioxidant and cytotoxic effects of crude extract, fractions and 4-nerolidylcatechol from aerial parts of *Pothomorphe umbellata* L. (Piperaceae). **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 1-19, 2008.

MARQUES, L. G.; FERREIRA, M. C.; FREIRE, J. T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n. 5, p. 451-457, 2007.

MARQUES, L.C.; VIGO, C.L.S. Preparação e padronização de extratos vegetais. In: LEITE, J.P.V. (Ed.). **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 169-204, 2009.

MARTINO BUFAINO, E. Phytotherapy in Brazil: recovering the concepts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2013.

MARTINS, R. M. et al. Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 657-663, 2013.

MELO, C. N. DE. In vitro cytotoxicity of *Pothomorphe peltata* (L .) Miquel (Piperaceae), isolated 4- nerolidylcatechol and its semi-sythetic diacetyl derivative. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, p. 205-211, 2006.

MENDANHA DA CUNHA, C. R. et al. 4-nerolidylcatechol and its synthetic analogues: antioxidant activity and toxicity evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62C, p. 371-378, 2012.

MISHRA, P.; MISHRA, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, n. 3, p. 252-258, 2014.

MORAES, MARLENE SILVA. Considerações sobre a pariparoba oficial *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** [online], v.1, n. 1, 1986.

NORIEGA, P. et al. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). Miq. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 261-269, 2005.

NÚÑEZ, V. et al. Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A2 from Bothrops snake venoms: isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. **Phytochemistry**, v. 66, n. 9, p. 1017-1025, 2005.

OLIVEIRA, E. M. S. et al. Influence of spray-dryer operating variables on the quality of *Vernonanthura ferruginea* (Less.) H. Rob. extracts with antiulcer potential. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 10, p. 3251-3255, 2011.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

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

OLIVEIRA, P. C. et al. Obtaining a Dry Extract of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) fruits by spray-drying. **Journal of Pharmacy Research**, v. 5, n. 1, p. 641-645, 2012.

OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005**. Ginebra, 2002.

OZDIKICIERLER, O.; DIRIM, S. N.; PAZIR, F. The effects of spray drying process parameters on the characteristic process indices and rheological powder properties of microencapsulated plant (*Gypsophila*) extract powder. **Powder Technology**, v. 253, p. 474-480, 2014.

PATIL, V.; CHAUHAN, A. K.; SINGH, R. P. Optimization of the spray-drying process for developing guava powder using response surface methodology. **Powder Technology**, v. 253, p. 230-236, 2014.

PAUDEL, A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 253-84, 2013.

PERAZZO, F. F. et al. Anti-inflammatory and analgesic properties of water-ethanolic extract from *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) aerial parts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 2, p. 215-220, 2005.

PINTO, A. C. D. S. et al. New antimalarial and cytotoxic 4-nerolidylcatechol derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 6, p. 2731-2735, 2009.

PHISUT, N. Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 4, p. 1297-1306, 2012.

POSER, G.L.V-P. Polissacarídeos. In. SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004. p. 498-517.

RAMOS, C. S. et al. Biotransformation of 4-nerolidylcatechol by *Heraclides brasiliensis* (Lepidoptera: Papilionidae) reduces the toxicity of *Piper umbellata* (Piperaceae). **Chemoecology**, v. 22, n. 1, p. 39-45, 2011.

REZENDE, K.R.; BARROS, S.B.M. Quantification of 4-nerolydylchatecol of *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) in rat plasma samples by HPLC UV. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 373–380, 2004.

RODRIGUES, E. R. et al. *Pothomorphe umbellata*: antifungal activity against strains of *Trichophyton rubrum*. **Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology**, v. 22, n. 3, p. 265-269, 2012.

ROERSCH, C. M. F. B. *Piper umbellatum* L.: a comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 3, p. 522-537, 2010.

ROPKE, C. D. Avaliação da atividade antioxidante de *Pothomorphe umbellata* na pele. CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA DA ABC, 14., São Paulo, 2000. **Anais**. São Paulo: Tec Art Editora, 2000.

ROPKE, C. D. et al. Evaluation of percutaneous absorption of 4-nerolidylcathecol from four topical formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, p. 107-114, 2002.

ROPKE, C. D. et al. Photoprotective effect of *Pothomorphe umbellata* root extract against ultraviolet radiation induced chronic skin damage in the hairless mouse. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.30, n. 3, p. 272-276, 2005.

ROPKE, C. D. et al. In vitro and in vivo inhibition of skin matrix metalloproteinases by *Pothomorphe umbellata* root extract. **Photochemistry and Photobiology**, v. 82, n. 2, p. 439-42, 2006.

ROSA, E.D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L.A.P. **Secagem por atomização na indústria alimentícia**: fundamentos e aplicações. Ribeirão Preto: Labmaq do Brasil, 200-. 12p.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, E. M. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London, UK: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009. 888p.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa. Comunicado Técnico on line, 2007. 4p.

SACOMAN, J. L. et al. Cytotoxicity and antitumoral activity of dichloromethane extract and its fractions from *Pothomorphe umbellata*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, n. 5, p. 411-415, 2008.

SAHOO, N.; MANCHIKANTI, P.; DEY, S. Herbal drugs: standards and regulation. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 462-671, 2010.

SILVA, R. A. D. **Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo: Cia Ed. Nacional, 1926.

SILVA, R. M. F. et al. Abordagem sobre os diferentes processos de secagem empregados na obtenção de extratos secos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 1, p. 103-109, 2012.

SINGH, R. P.; HELDMAN, D. R. **Introduction to food engineering**. 5 ed. London: Academic Press is an imprint of Elsevier, 2014. 867p.

SOARES L. A. **Preparação e caracterização do complexo de inclusão do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) em 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

SOARES, L. A. et al. Host-guest system of 4-nerolidylcatechol in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation, characterization and molecular modeling. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 64, n. 1-2, p. 23-35, 2009.

SOARES, L. A. L., SOUZA, T. P. Extrato seco vegetal e produtos derivados. In: SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPE, N. P (Org.). **Farmacognosia**: coletânea científica. Ouro Preto: UFOP, 2012. p. 339- 357.

TALAMONA, A. **Laboratory chromatography guide**. Büchi Labortechnik, 2005, 128p.

TABOPDA, T. K. et al. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1726-1731, 2008.

TEBBS, M. C. Revision of *Piper* (Piperaceae) in the new world 3: the taxonomy of *Piper* sections *Lepianthes* and *Radula*. **Bulletin of the British Museum (Natural History). Botany**, v. 23, n. 1, p. 1-50, 1923.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP) CONVENTION; **US Pharmacopeia 27**, Rockville, 2004.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US-FDA). **Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation**. Center for Drug Evaluation and Reserach, 2001.

VALADARES, M. C. et al. Protective effects of 4-nerolidylcatechol against genotoxicity induced by cyclophosphamide. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 10, p. 1975-1978, 2007.

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

VIDOVIĆ, S. S. et al. Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique. **Powder Technology**, v. 258, p. 209-215, 2014.

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

WANKE, S. et al. Evolution of Piperales--matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, n. 2, p. 477-497, 2007.