



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO-UFMA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS-CCET**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA-PPGQUIM**

**LIANE MIRANDA CARVALHO**

**OBTENÇÃO DE FILMES A PARTIR DE MESOCARPO DE BABAÇU PARA  
LIBERAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS**

São Luís- MA

2019

**LIANE MIRANDA CARVALHO**

**OBTENÇÃO DE FILMES A PARTIR DE MESOCARPO DE BABAÇU PARA  
LIBERAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS**

Trabalho apresentado ao programa de Pós-graduação  
em Química da Universidade Federal do Maranhão  
como requisito para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Química Analítica

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sirlane Aparecida Abreu  
Santana

São Luís- MA

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo (a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Carvalho, Liane Miranda.

OBTENÇÃO DE FILMES A PARTIR DE MESOCARPO DE BABAÇU PARA  
LIBERAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS / Liane Miranda Carvalho.  
2019.

88 f.

Orientador(a): Sirlane Aparecida Abreu Santana.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São LuísMA,  
2019.

1. Filmes biopoliméricos. 2. Liberação de extratos  
vegetais. 3. Mesocarpo de babaçu. I. Abreu Santana, Sirlane  
Aparecida. II. Título.

**LIANE MIRANDA CARVALHO**

**OBTENÇÃO DE FILMES A PARTIR DE MESOCARPO DE BABAÇU PARA  
LIBERAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS**

Trabalho apresentado ao programa de Pós-graduação  
em Química da Universidade Federal do Maranhão  
como requisito para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Química Analítica

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sirlane Aparecida Abreu Santana (Orientadora)

DEQUI-UFMA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudia Quintino da Rocha

DEQUI-UFMA

---

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho

DEQI- UFPI

*Dedico esta conquista à minha família, por todo carinho,  
apoio e incentivo de sempre.*

## AGRADECIMENTOS

No início somos um papel em branco, e no decorrer da vida vamos nos colorindo com tudo que vivenciamos e aprendemos, e assim, agradeço primeiramente à minha orientadora, professora Sirlane Aparecida Abreu Santana, minha progenitora científica, por ter me permitido conhecer e crescer nesse mundo vasto que é a pesquisa. Agradeço também sua imensa paciência, ajuda e incentivo que foram essenciais para conclusão deste e de outros trabalhos. Além disso, sou grata por todas as conversas, por todos os puxões de orelha e por todos os ensinamentos, muitas vezes passados de forma despretensiosa, mas que foram essenciais para meu crescimento pessoal e profissional. Me sinto muito honrada por ter sido sua aluna, e lavarei por onde eu for tudo que aprendi.

Aos professores Cícero Bezerra e Jaciene Cardoso, agradeço pelas dúvidas esclarecidas, pelos conselhos valiosos e também pela imensa amizade.

À professora Claudia Quintino da Rocha, agradeço pela parceria neste trabalho, pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas e por toda ajuda durante esse caminho.

Aos amigos do Laboratório de Química de Interfaces e Materiais, agradeço pelos ombros emprestados nos momentos de desespero, pelas conversas incentivadoras, pela parceria nas horas necessárias e também por toda alegria proporcionada durante esse percurso. Sou muito grata por ter tido a oportunidade de conhecer todos vocês, e por ter feito grandes amizades.

À minha amiga Chirlene Nascimento Botelho, agradeço pela grande amizade e parceria de todos esses anos, pelas palavras de incentivo, pelo “vai dar tudo certo”, e pelo auxílio e compreensão nos momentos que precisei.

A todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Química, por todas as experiências compartilhadas, em especial aos professores Flávio Damos e Rita Luz, pelas palavras de bom ânimo e incentivo em todos os momentos.

À minha família, em especial minha mãe Maria da Conceição, meu pai Josevaldo e minha avó Teresinha, sou imensamente grata por todo amor, carinho, cuidado e dedicação que tiveram comigo, pelas palavras de incentivo e por toda torcida desde sempre.

À CAPES pela concessão da bolsa, e à FAPEMA pelo auxílio financeiro fundamental na execução deste trabalho. E por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente nesta pesquisa.

## RESUMO

Neste trabalho buscou-se obter um filme biopolimérico a partir do mesocarpo de babaçu (MB), e aplicá-lo como matriz carregadora do extrato hidroetanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* (FAB). O mesocarpo, após tratamento ácido (MTA), básico (MTB) e neutro (MTN), apresentou bandas características de materiais amiláceos (FTIR), padrões de difração condizentes com amidos tipo C (DRX), boa estabilidade térmica (TG), assim como grânulos de amido com características mais homogêneas (MEV). Os filmes foram produzidos pelo método *casting* e o extrato incorporado utilizando uma massa fixa de 0,015 g. Após a incorporação, notou-se diferença nos padrões de difração, com aparecimento de novos picos em 21,91° e 34,57°, e aparecimento de bandas em 584 e 520 cm<sup>-1</sup> (FTIR) correlacionadas à presença do extrato na matriz. Os ensaios de absorção de vapor de água revelaram que os filmes exibiram características menos higroscópicas, mantendo umidade constante mesmo em altos valores de umidade relativa (UR), assim como baixa capacidade de absorção de fluidos, com valores variando de 1,77 ± 0,15 para 1,03 ± 0,02 em tampão fosfato (PBS); de 1,99 ± 0,26 para 0,92 ± 0,03 em FCS e de 2,15 ± 0,08 para 0,99 ± 0,05 em NaCl 0,9%, e baixa solubilidade, com valores em torno de 1% de massa solubilizável. Os ensaios mecânicos evidenciaram que os materiais apresentaram boa resistência à tração, com valores variando entre 9,35 ± 0,82 a 29,16 ± 1,10 MPa. Os valores de  $\epsilon$  em todos os casos não ultrapassou 4,18 ± 0,38 %, evidenciando a baixa elasticidade dos filmes. Os módulos de Young variaram entre 4,00 ± 0,41 para 7,03 ± 0,07 MPa. Os ensaios de liberação mostram que os filmes E-MTB, E-MTA e E-MTN obtiveram um perfil de liberação controlada do extrato FAB por um período de 20 h, com taxas de liberação de 7,24 ± 0,03 %, 6,77 ± 0,30 % e 6,24 ± 0,51 % respectivamente. O acompanhamento do ensaio de liberação por HPLC/Uv-Vis (254 nm) permitiu observar que todos os metabólitos presentes no extrato são liberados para o meio. Por fim os resultados evidenciaram que as matrizes produzidas apresentaram boas características que indicam seu potencial aplicativo para liberação controlada de extratos vegetais.

**Palavras-chave:** *Mesocarpo de babaçu, Filmes biopoliméricos, Liberação de extratos vegetais*

## ABSTRACT

In this work we sought to obtain a biopolymeric film from the babassu mesocarp (MB) and apply it as a loading matrix of the hydroethanolic extract of *Arrabidaea brachypoda* (FAB) leaves. The mesocarp, after acid (MTA), basic (MTB) and neutral (MTN) treatment, presented characteristic bands of starchy materials (FTIR), diffraction patterns consistent with type C starches (XRD), good thermal stability (TG), as well as starch granules with more homogeneous characteristics (SEM). The films were produced by the casting method and the extract incorporated using a fixed mass of 0.015 g. After incorporation, differences in diffraction patterns were observed, with new peaks appearing at 21.91° and 34.57°, and appearance of bands at 584 and 520 cm<sup>-1</sup> (FTIR) correlated to the presence of the extract in the matrix. Water vapor absorption tests revealed that the films exhibited less hygroscopic characteristics, maintaining constant humidity even at high relative humidity (UR), as well as low fluid absorption capacity, with values ranging from 1.77 ± 0.15 to 1.03 ± 0.02 in phosphate buffer (PBS); from 1.99 ± 0.26 to 0.92 ± 0.03 in FCS and from 2.15 ± 0.08 to 0.99 ± 0.05 in 0.9% NaCl, and low solubility, with values around 1% solubilizable mass. Mechanical tests showed that the materials presented good tensile strength, with values ranging from 9.35 ± 0.82 to 29.16 ± 1.10 MPa. The values of  $\epsilon$  in all cases did not exceed 4.18 ± 0.38%, showing the low elasticity of the films. Young's modules ranged from 4.00 ± 0.41 to 7.03 ± 0.07 MPa. The release assays show that the E-MTB, E-MTA and E-MTN films had a controlled release profile of FAB extract for a period of 20 h, with release rates of 7.3 ± 0.1%, 6.7 ± 0.3% and 6.2 ± 0.5% respectively. Following the HPLC / Uv-Vis (254 nm) release assay showed that all metabolites present in the extract are released into the medium. Finally, the results showed that the matrices produced showed good characteristics that indicate their potential application for controlled release of vegetable extracts.

**Keywords:** *Babassu mesocarp, biopolymer films, release of vegetable extracts*



## Lista de Abreviaturas e Siglas

<b>MB</b>	Mesocarpo de Babaçu <i>in natura</i>
<b>MTB</b>	Amido extraído pela rota básica
<b>MTA</b>	Amido extraído pela rota ácida
<b>MTN</b>	Amido extraído pela rota neutra
<b>R-MB</b>	Mesocarpo <i>in natura</i> após incorporação do extrato
<b>R-MTB</b>	Amido extraído pela rota básica após incorporação do extrato
<b>R-MTA</b>	Amido extraído pela rota ácida após incorporação do extrato
<b>R-MTN</b>	Amido extraído pela rota neutra após incorporação do extrato
<b>UR</b>	Umidade Relativa %
<b>AB</b>	<i>Arrabidaea brachypoda</i>
<b>FAB</b>	Extrato das Folhas <i>Arrabidaea brachypoda</i>
<b>RT</b>	Rutina Padrão
<b>S</b>	Solubilidade %
<b>Abs máx</b>	Capacidade máxima de absorção de fluido
<b>ε</b>	Deformação longitudinal %
<b>TR</b>	Tensão à ruptura MPa
<b>E</b>	Módulo de Young Mpa
<b>FCS</b>	Fluido corpóreo simulado
<b>PBS</b>	Tampão fosfato salino

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> (A) Representação da Palmeira e(B) do fruto (coco babaçu) de <i>Orbignya phalerata</i> Mart. ....	19
<b>Figura 2.</b> Ilustração das partes constituintes do coco babaçu (A) Corte esquemático do coco babaçu com os seus principais componentes (B) Legenda: 1 - epicarpo, 2 – mesocarpo, 3- endocarpo e 5 - amêndoa .....	20
<b>Figura 3.</b> Representação das unidades monoméricas presentes no amido, amilose (A) e amilopectina (B). ....	23
<b>Figura 4.</b> Exemplificação dos sistemas de liberação convencional e controlada .....	25
<b>Figura 5.</b> <i>Arrabidaea brachypoda</i> DC. Bureau (A) e suas flores (B) .....	29
<b>Figura 6.</b> Flavonóides isolados das folhas de <i>Arrabidaea brachypoda</i> , 3',4'-dihidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona (1), cirsioliol (2), cirsimaritina (3) e hispidulina (4).....	30
<b>Figura 7.</b> Estrutura da Rutina (3', 4', 5,7-tetrahidroxi-flavona-3-rutinosídeo). ....	32
<b>Figura 8.</b> Esquema referente à extração do amido de mesocarpo de babaçu a partir dos tratamentos ácido, básico e neutro.....	35
<b>Figura 9.</b> Esquema representativo da produção dos filmes MB, MTB, MTA e MTN.....	37
<b>Figura 10.</b> Esquema representativo da produção dos filmes E-MB, E-MTB, E-MTA e E-MTN .....	38
<b>Figura 11.</b> Espectros de Infravermelho (FTIR) do mesocarpo de babaçu <i>in natura</i> (MB) e dos amidos extraídos pelas rotas ácida (MTA), básica (MTB) e neutra (MTN). ....	45
<b>Figura 12.</b> Difratomogramas de Raios-X (DRX) do mesocarpo de babaçu e dos amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra. ....	47
<b>Figura 13.</b> Curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos pelas rotas básica, ácida e neutra. ....	48
<b>Figura 14.</b> Microscopia eletrônica de varredura dos grânulos de amido do mesocarpo de babaçu <i>in natura</i> (A), e dos amidos extraídos pelas rotas básica (B), ácida (C) e neutra (D) com aumento de 1000x. ....	50
<b>Figura 15.</b> Cromatograma obtido por HPLC-Uv/Vis no comprimento de onda de 254nm do extrato bruto das folhas de <i>Arrabidaea brachypoda</i> . Condições da análise: coluna C18 150 x 4.8 mm, 5 micro, 100 °A, eluentes: A (água+ ácido fórmico 0,01%) e B (metanol + ácido fórmico 0,01%), gradiente 5% a 100% de B em 70 min. Vazão: 1mL/min.....	51

<b>Figura 16.</b> Espectros na Região do Ultravioleta do extrato bruto FAB, concentração 100 mg/L(A). <b>Inserção:</b> Espectro na Região do Ultravioleta da Rutina padrão (B), concentração 100 mg/L .....	52
<b>Figura 17.</b> Espectro de Infravermelho do Extrato Bruto das folhas de <i>A. brachypoda</i> (FAB) em comparação com Rutina padrão (RT).....	53
<b>Figura 18.</b> Espectros de Infravermelho das filmes MB, MTB, MTA e MTN.....	54
<b>Figura 19.</b> Espectros de Infravermelho das amostras E-MB, E-MTB, E-MTA e E-MTN, região de 4000 a 400 $\text{cm}^{-1}$ (A), e da região compreendida entre 600 e 400 $\text{cm}^{-1}$ (B).....	55
<b>Figura 20.</b> Difratograma de Raios X das amostras de filmes antes da incorporação do extrato .....	56
<b>Figura 21.</b> Difratogramas de raios X dos filmes após incorporação do extrato FAB .....	57
<b>Figura 22.</b> Curvas termogravimétricas dos filmes antes da incorporação do extrato e suas respectivas derivadas .....	58
<b>Figura 23.</b> Curvas termogravimétricas dos filmes após incorporação do extrato e suas respectivas derivadas .....	59
<b>Figura 24.</b> Absorção de vapor de água dos filmes antes (A) e após incorporação do extrato (B) .....	62
<b>Figura 25.</b> Estabilidade dos filmes em NaCl 0,9 %, FCS e PBS a 37°C por 5 dias, expresso em % de perda de massa das matrizes antes (A) e após incorporação do extrato (B). *dissolução da matriz .....	65
<b>Figura 26.</b> Espectros de absorbância do complexo Flavonóide- $\text{Al}^{3+}$ em função do tempo de reação, FAB 100 mg/L, $\text{AlCl}_3$ 2% m/v .....	68
<b>Figura 27.</b> Formação de complexo Flavonóide- $\text{Al}^{3+}$ (reação de complexação entre Rutina e $\text{AlCl}_3$ ).....	68
<b>Figura 28.</b> Cinética de complexação Flavonoide- $\text{Al}^{3+}$ no comprimento de onda de 422 nm .	69
<b>Figura 29.</b> Sobreposição dos espectros de Absorção Uv-vis das soluções de Rutina padrão e extrato FAB, antes e após complexação com $\text{AlCl}_3$ 2% m/v .....	70
<b>Figura 30.</b> Espectros de absorção do complexo RT- $\text{Al}^{3+}$ em função do tempo, RT 20 mg/L, $\text{AlCl}_3$ 2 % m/v .....	70
<b>Figura 31.</b> Cinética de complexação RT- $\text{Al}^{3+}$ no comprimento de onda de 434 nm .....	71
<b>Figura 32.</b> Curva analítica obtida a partir da resposta RT padrão, faixa linear de 5 a 35 mg/L .....	72
<b>Figura 33.</b> Perfis de liberação do extrato FAB pelos filmes E-MB, E-MTA, E-MTB e E-MTN. Condições: Tampão fosfato salino (PBS), pH 7,4, período de 48 horas .....	73

**Figura 34.** Perfil por HPLC-UV/ Vis no comprimento de onda de 254nm do extrato bruto hidroetanólico de *Arrabidaea brachypoda* em comparação com extraído do filme E-MTA. Condições da análise: coluna C18 150 x 4.8 mm, 5 micro, 100 °A, eluentes: A (água+ ácido fórmico 0,01%) e B (metanol + ácido fórmico 0,01%), gradiente 5% a 100% de B em 70 min. Vazão: 1mL/min. ....75

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Reagentes para preparo de solução de Fluido Corpóreo Simulado (FCS) de acordo com Kokubo,1990. ....	40
<b>Tabela 2.</b> Percentuais de perda de massa em seus respectivos intervalos de temperatura das amostras MB, MTB, MTA e MTN .....	49
<b>Tabela 3.</b> Percentuais de perda de massa obtidos por TG para os filmes antes e após incorporação do extrato. ....	59
<b>Tabela 4.</b> Umidade dos filmes antes em após incorporação do extrato, com UR 58% e UR 75% .....	61
<b>Tabela 5.</b> Capacidade de absorção dos filmes em soluções aquosas (tampão PBS, FCS e NaCl 0,9%) e solubilidade (S %). ....	63
<b>Tabela 6.</b> Propriedades mecânicas dos filmes antes e após incorporação do Extrato .....	66
<b>Tabela 7.</b> Quantificação relativa das espécies presentes no extrato FAB, e extraídas do filme E-MTA .....	76

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1.</b>	<b>Babaçu (<i>Orbignya phalerata</i> Mart.)</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2.</b>	<b>Mesocarpo de Babaçu</b> .....	<b>21</b>
<b>2.3.</b>	<b>Amido</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4.</b>	<b>Sistema de Liberação Controlada</b> .....	<b>24</b>
2.4.1.	<i>Filmes como matriz nos sistemas de liberação controlada de fármacos</i> .....	26
2.4.2.	<i>Filmes de amido empregados na liberação controlada de fármacos</i> .....	27
<b>2.5.</b>	<b><i>Arrabidaea brachypoda</i> DC Bureau</b> .....	<b>29</b>
2.5.1	<i>Rutina: marcador químico presente nas folhas da espécie <i>Arrabidaea brachypoda</i></i> .....	31
<b>3.</b>	<b>OBEJTIVOS</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1.</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2.</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>33</b>
<b>4.</b>	<b>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1.</b>	<b>Materiais e Reagentes</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2.</b>	<b>Denominação das amostras</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3.</b>	<b>Extração do amido de mesocarpo de babaçu</b> .....	<b>34</b>
<b>4.4.</b>	<b>Caracterização do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos</b> .....	<b>35</b>
4.4.1.	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	35
4.4.2.	<i>Difração de Raios X (DRX)</i> .....	35
4.4.3.	<i>Análise Termogravimétrica</i> .....	36
4.4.4.	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i> .....	36
<b>4.5.</b>	<b>Obtenção e identificação do extrato hidroetanólico das folhas de <i>Arrabidaea brachypoda</i></b> .....	<b>36</b>
<b>4.6.</b>	<b>Elaboração dos filmes de mesocarpo de babaçu e amidos extraídos</b> .....	<b>37</b>

4.6.1.	<i>Incorporação do extrato hidroetanólico das folhas de Arrabidaea brachypoda na matriz de mesocarpo de babaçu</i> .....	38
<b>4.7.</b>	<b>Caracterização dos filmes antes e após incorporação do extrato</b> .....	<b>38</b>
4.7.1.	<i>Umidade <math>\omega</math> [%]</i> .....	38
4.7.2.	<i>Solubilidade S [%]</i> .....	39
4.7.3.	<i>Teste de absorção de água</i> .....	39
4.7.4.	<i>Capacidade de absorção de fluidos e estabilidade dos filmes em soluções aquosas</i>	40
4.7.5.	<i>Propriedades Mecânicas</i> .....	41
<b>4.8.</b>	<b>Avaliação da capacidade de liberação do extrato FAB incorporado aos filmes</b> ...	<b>42</b>
4.8.1.	<i>Ensaio de Liberação in vitro</i> .....	42
4.8.2.	<i>Quantificação de Extrato FAB liberado por espectrofotometria Uv-vis</i> .....	43
4.8.3.	<i>Determinação do tempo de complexação para leitura</i> .....	43
4.8.4.	<i>Acompanhamento do perfil cromatográfico por HPLC UV/Vis do extrato bruto das folhas de Arrabidaea brachypoda e da solução extratora após ensaio de liberação in vitro.</i>	44
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>45</b>
<b>5.1.</b>	<b>Caracterização do mesocarpo de babaçu e dos amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra</b> .....	<b>45</b>
5.1.1.	<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho</i> .....	45
5.1.2.	<i>Difratogramas de Raios X</i> .....	46
5.1.3.	<i>Análise Termogravimétrica</i> .....	47
5.1.4.	<i>Morfologia dos grânulos de amido dos materiais MB, MTB, MTA e MTN</i> .....	50
<b>5.2.</b>	<b>Identificação do extrato hidroetanólico das folhas de Arrabidaea brachypoda (FAB)</b> .....	<b>51</b>
5.2.1.	<i>Perfil cromatográfico do extrato FAB por HPLC-UV/Vis</i> .....	51
5.2.2.	<i>Espectroscopia de Infravermelho do extrato bruto das folhas de Arrabidaea brachypoda e Rutina Padrão</i> .....	53
<b>5.3.</b>	<b>Caracterização dos filmes após incorporação do Extrato FAB</b> .....	<b>54</b>
5.3.1.	<i>Espectroscopia de Infravermelho dos filmes antes e após incorporação do extrato</i>	54

5.3.2.	<i>Difratogramas de Raios X dos filmes de mesocarpo de babaçu.....</i>	55
5.3.3	<i>Análise termogravimétrica dos filmes antes e após incorporação do extrato.....</i>	57
5.3.4	<i>Umidade <math>\omega</math> [%].....</i>	60
5.3.5	<i>Absorção de Vapor de água.....</i>	61
5.3.6	<i>Capacidade de Absorção em soluções aquosas e solubilidade.....</i>	63
5.3.7	<i>Estabilidade dos filmes em soluções aquosas.....</i>	64
5.3.8	<i>Propriedades Mecânicas.....</i>	66
<b>5.4</b>	<b>Determinação do melhor tempo de complexação do extrato FAB e RT padrão ..</b>	<b>67</b>
5.4.1	<i>Seletividade do método.....</i>	69
5.4.2	<i>Curva de Calibração Externa- RT padrão.....</i>	71
<b>5.5</b>	<b>Liberação in vitro do extrato FAB incorporado aos filmes.....</b>	<b>72</b>
5.5.1	<i>Acompanhamento por HPLC-Uv/Vis do ensaio de liberação in vitro do extrato FAB.....</i>	74
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>77</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>80</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação controlada de medicamentos vêm ganhando espaço devido aos grandes benefícios terapêuticos e vantagens econômicas associadas ao seu emprego. Nesse tipo de sistema, a administração do medicamento é menos frequente quando comparado à forma convencional, o que aumenta sua eficiência, favorecendo ações terapêuticas mais seletivas e de longo prazo, minimizando assim, possíveis efeitos colaterais (BHAGYASHREE *et al.*, 2019; BOEHLER *et al.*, 2019; GAJENDIRAN *et al.*, 2019; LEAL *et al.*, 2018; MARÍN *et al.*, 2018;).

Matrizes de origem polimérica tem chamado atenção por apresentarem características interessantes, tais como biocompatibilidade, disponibilidade, atoxicidade e biodegradabilidade (ABUREESH *et al.*, 2018; BHAGYASHREE *et al.*, 2019; GHORPADE *et al.*, 2019; ZELOMKE *et al.*, 2019;). Além disso, matrizes desse tipo ajudam a aumentar a estabilidade do fármaco, tornando-se assim úteis nos sistemas de liberação controlada (BASU *et al.*, 2018).

Polímeros de origem natural ou sintética, tais como os derivados de celulose (DONG *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018), quitosana (LUO *et al.*, 2019; TAGHIZADEH *et al.*, 2019), alginato (BONILLA *et al.*, 2018; FREITAS *et al.*, 2018), gelatina (GARCÍA *et al.*, 2018; PAL *et al.*, 2018), amido (FARRAG *et al.*, 2018; QUADRADO e FAJARDO 2018), ácido polilático (THAUVIN *et al.*, 2018; ZHENG *et al.*, 2018), poliácido lático e glicólico (WANG *et al.*, 2019), polihidroxialcanoatos (EVANGELINE e SRIDHARAN 2019) tem sido amplamente empregados para este fim.

Dentre esses, o amido por apresentar-se como o segundo biopolímero mais abundante na natureza, vem se destacando principalmente devido às suas propriedades químicas, que possibilitam inúmeras aplicações, desde o desenvolvimento de hidrogéis até filmes biodegradáveis (FARRAG *et al.*, 2018; DONG *et al.*, 2019; TÁPIA-BLÁCIDO *et al.*, 2017; TÁPIA-BLÁCIDO e MANIGLIA, 2016).

A capacidade do amido de formar filmes e géis está intrinsecamente relacionada à presença de amilose em seus grânulos. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre as hidroxilas dos polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (MALI *et al.*, 2010).

Materiais formadores de filmes apresentam-se como formas de entrega versáteis, pois oferecem uma alternativa aos sistemas convencionais e possuem a vantagem de tornar o tratamento mais confortável e funcional (CHAN *et al.*, 2019; OSHIRO JÚNIOR *et al.*, 2014). Além disso, filmes de amido podem ser produzidos a partir de fontes renováveis, tornando-se assim facilmente biodegradáveis e compatíveis com outros materiais, o que facilita sua elaboração e aplicação (MALI *et al.*, 2010).

Uma fonte de amido pouco explorada é o mesocarpo de babaçu, considerado como insumo da exploração do coco babaçu (*Orbignya phareolata* Mart.), nativo da região norte e nordeste do Brasil. O mesocarpo representa cerca de 20 % do fruto, e é considerado a parte amilácea do coco, tendo em sua composição cerca de 70% de amido com alto teor de amilose, sendo assim promissor na produção de filmes com boas propriedades mecânicas e hidrofílicas (LEAL, 2018; TÁPIA-BLÁCIDO *et al.*, 2017). Há relatos na literatura da utilização de filmes de amido de fontes variadas como matriz de liberação controlada de fármacos (CHAN *et al.*, 2019; BISHARAT *et al.*, 2019; FARRAG *et al.*, 2018; MULLER *et al.*, 2017), entretanto pouco se fala em liberação de extratos vegetais.

O estudo de espécies vegetais com potencial poder farmacológico tem crescido e se difundido, devido principalmente à enorme biodiversidade de plantas no país (KLEIN *et al.*, 2009). Os extratos obtidos de plantas medicinais preservam seus diversos componentes ativos, sendo eles: alcalóides, taninos, flavonóides, saponinas, entre outros, que apresentam alto poder farmacológico, e acabam servindo como parâmetros para a sua identificação e caracterização.

O gênero *Arrabidaea* tem chamado atenção por sua crescente aplicação no desenvolvimento de novos fitoterápicos, baseados em substâncias isoladas de suas espécies. Pertencente à família Bignoniaceae contém aproximadamente 70 variedades que ocorrem desde o México até a Argentina (RESENDE *et al.*, 2017). Entre essas, a *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau, ganha destaque. Planta nativa do cerrado, conhecida popularmente como “cipó-una”, “tintureiro” ou “cervejinha do campo”, usada no Sudeste e Nordeste do Brasil para tratamento de cálculos renais e inflamações nas articulações (artrite). Estudos demonstraram efeitos antifúngicos (ALCERITO *et al.*, 2002), anti-inflamatórios e antinociceptivos (ROCHA *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2011), ação anti - *Trypanosoma cruzi* *in vitro* e *in vivo* (ROCHA *et al.*, 2014) além de efeitos gastroprotetores *in vivo* (ROCHA *et al.*, 2017) do extrato e de substâncias isoladas de seus caules, folhas e raízes.

É importante que além da caracterização e identificação de suas substâncias ativas, se desenvolva formas de entrega que preservem sua integridade e que liberem seus princípios ativos de forma controlada. Isto porque a maioria dos extratos vegetais apresenta instabilidade à degradação física e química, podendo chegar a níveis abaixo da concentração eficiente ao paciente, resultando em menos ou nenhum efeito terapêutico. Portanto é necessário que se desenvolva sistemas de liberação que protejam as moléculas presentes nos extratos da degradação, e por consequência aumentem sua biodisponibilidade e atividade farmacológica (KLEIN *et al.*, 2009).

Pensando nisso, este estudo buscou o desenvolvimento de filmes de mesocarpo de babaçu por este ser um produto natural, abundante e pouco explorado para aplicações mais refinadas, como matriz para liberação do extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda* D.C Bureau, visando um sistema de alta eficiência e baixo custo, tendo em vista que ambos se apresentam como recursos naturais, renováveis e disponíveis.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.)

O Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) é uma palmeira nativa que cresce nos estados do norte e nordeste do Brasil. Recebeu dos indígenas, na linguagem tupi, a denominação de *uauaçú* de onde derivou o seu conhecido nome, babaçu. A planta é tipicamente brasileira, de grande porte com tronco alcançando até 20 metros de altura e 25 a 44 centímetros de diâmetro, com 7 a 22 folhas medindo de 4 a 8 metros de comprimento. O babaçu pode possuir até 6 cachos por planta ou mais, sustentados por um pêndulo de 70 a 90 centímetros, cada cacho possui de 240 a 720 frutos, com aspecto lenhoso, ovais alongados, de polpa fibrosa-farinácea, podendo atingir de 5 a 15 centímetros por 3 a 8 centímetros de diâmetro, chegando a pesar de 90 a 240 gramas (BORGES *et al.*, 2019; SILVA, 2011).

No Brasil, comumente encontram-se vastos babaçuais espalhados ao sul da bacia amazônica, onde a floresta úmida cede lugar à vegetação típica dos cerrados. A palmeira é nativa da região Centro-Norte brasileira, onde se localiza sua maior ocorrência, constituindo-se em espécie altamente dominante, formando grandes matas. É nos estados do Piauí, Tocantins e principalmente Maranhão, que o babaçu assume importante expressão econômica, com ênfase para as regiões de cerrado, cocais e baixada (SILVA, 2011).

**Figura 1.**(A) Representação da Palmeira e(B) do fruto (coco babaçu) de *Orbignya phalerata* Mart.



Fonte: <http://pinheiroempauta.blogspot.com/2014/09/o-babacu-no-maranhao-1-parte.html>

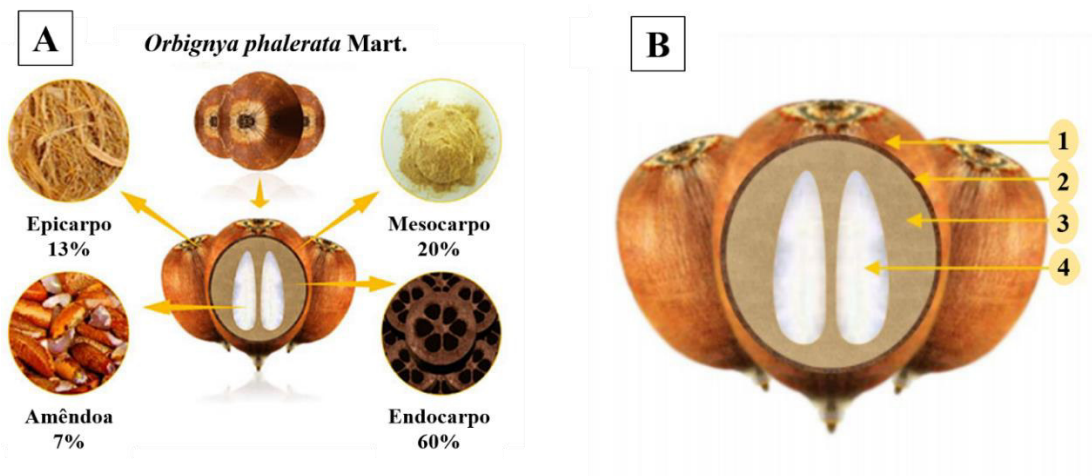
No Maranhão, o potencial do babaçu é ainda maior do que nas demais regiões do Brasil, sendo o Estado responsável por produzir 90% da safra de coco babaçu do país. O clima quente e úmido do Maranhão, zona intermediária entre a região da floresta amazônica,

predominantemente equatorial e o tipo de vegetação do Nordeste, com transição para o planalto central, favorece a conservação e a multiplicação da palmeira babaçu e contribui para que sua frutificação comece, frequentemente, ainda abaixo dos 10 anos (SILVA, 2011).

No Estado, a exploração do babaçu é uma atividade alternativa e complementar à agricultura de subsistência para cerca de 300.000 pessoas. Os produtos derivados do babaçu são comumente produzidos por extração manual. Essas atividades extrativistas proporcionam meios de subsistência para numerosas famílias e comunidades que dependem da comercialização de frutos de babaçu. Pelo menos 64 aplicações foram catalogadas para esta planta e cerca de uma dúzia pode ser economicamente viável. As atividades relacionadas ao coco babaçu geram cerca de 300 mil empregos, que vão desde a coleta realizada por quebradeiras de coco, até o refinamento do óleo extraído (SOUZA *et al.*, 2011).

A exploração do coco babaçu acontece de forma manual, a extração da amêndoa é realizada pelas famílias rurais de baixa renda, que encontram nessa atividade um complemento à renda familiar. Este método de extração tem sido responsável pela baixa taxa de aproveitamento das demais partes do coco, sendo elas: Epicarpo, Mesocarpo, Endocarpo e Amêndoas (Figura 2). Um destaque especial deve ser dado às amêndoas, parte mais explorada do coco, sendo responsáveis pelo fornecimento de óleo, e representando apenas 7 % do total do fruto.

**Figura 2.** Ilustração das partes constituintes do coco babaçu (A) Corte esquemático do coco babaçu com os seus principais componentes (B) Legenda: 1 - epicarpo, 2 – mesocarpo, 3- endocarpo e 5 - amêndoa



Fonte: Adaptado SILVA, 2011

O processamento do coco babaçu gera um quantitativo de “insumos”, denominados passivos ambientais, caracterizados como as demais partes do coco. Entretanto, a casca do coco

babaçu possui um grande potencial para diversas aplicações. As demais partes do coco, como epicarpo, endocarpo e mesocarpo têm potencial considerável para produção de carvão, alcatrão, gás combustível, amido e álcool (TAPIA-BLÁCIDO e MANIGLIA, 2016). Sendo relatado também sua utilização como remediador ambiental, na sorção de íons metálicos e corantes em meio aquoso (VIEIRA *et al.*, 2009; VIEIRA *et al.*, 2011; SANTANA *et al.*, 2010)

O **Epicarpo** situa-se na camada externa do fruto, tem característica fibrosa e rígida. Utilizado na fabricação de xaxim, estofados de bancos de carros, vasos, placas e embalagens em substituição ao isopor. É muitas vezes empregado na queima em fornos caseiros e comerciais, e como adubo orgânico (SILVA, 2011; BARROS, 2011).

O **Endocarpo**, camada interna lenhosa, resistente com cerca de 2 a 3 cm de espessura, onde ficam alojadas as amêndoas, tem em sua composição majoritária as fibras, possui alto poder calorífico, podendo ser usado para a fabricação de carvão como substituto alternativo à lenha. Quando adequadamente obtido, o carvão do babaçu apresenta excelente qualidade, considerando a pureza, o poder calorífico e a ausência de substâncias indesejáveis, como por exemplo o enxofre (CARRAZZA, 2012; MANIGLIA, 2017).

Já o **Mesocarpo** apresenta em sua composição cerca de 70 % de amido, denominado por isso, como sendo a parte amilácea do coco. Este é produzido durante a separação das amêndoas, considerado assim como subproduto da indústria de extração do óleo de babaçu. É largamente utilizado na produção de rações para animais ou na produção de etanol. É extraído em pó e dissolvido em água para uso da população como suplemento alimentar. O conhecimento popular indica o seu uso também para fins terapêuticos, tais como: atividade anti-inflamatória, antitumoral, cicatrizante e antimicrobiana (CARRAZZA, 2012; MANIGLIA, 2017; SOUZA, 2011, BARROS, 2016).

## 2.2. Mesocarpo de Babaçu

O mesocarpo consiste em 20-23% do peso total do coco babaçu e, além de possuir um teor muito baixo de cinzas, possui alta porcentagem de amido e celulose em sua composição, o que o torna atrativo no desenvolvimento de novos produtos com valor agregado. É vastamente utilizado na produção de farinha que serve de suplemento alimentar (AZEVEDO *et al.*, 2006).

A farinha de mesocarpo de babaçu possui em sua composição amido, lípideos, fibras e proteínas que evidenciam seu poder energético. Além disso, estudos etnofarmacológicos indicaram o uso do mesocarpo de babaçu para o tratamento de feridas crônicas, ulcerações,

cólicas, constipação, obesidade, reumatismo, doenças inflamatórias e venosas (NASCIMENTO *et al.*, 2006).

O conhecimento e utilização popular do mesocarpo de babaçu para o tratamento de certas doenças despertou interesse na comunidade científica, assim pesquisas foram desenvolvidas a fim de avaliar a funcionalidade desse material para esses fins.

Os indicativos intuitivos dos efeitos do mesocarpo de babaçu corroboram com estudos desenvolvidos por Silva e Perene (2001), onde o extrato aquoso do mesocarpo de babaçu demonstrou ações anti-inflamatórias e imunomoduladoras. Batista *et al.*, (2006) avaliaram o efeito do extrato aquoso de mesocarpo de babaçu na cicatrização de ulcerações estomacais de camundongos. O extrato foi obtido a partir de 10 g de mesocarpo de babaçu diluído em 400 mL de água. Os animais passaram por cirurgia abdominal e foram divididos em dois grupos, recebendo injeção intraperitoneal de extrato aquoso do mesocarpo de babaçu. Os estudos revelaram que o extrato foi capaz de estimular a produção de anticorpos auto-reativos nos camundongos. O acompanhamento dos ferimentos sugeriu boa evolução nos processos cicatriciais das suturas gástricas.

Baldez *et al.*, (2006) estudaram os efeitos anti-inflamatórios do extrato aquoso de mesocarpo de babaçu em camundongos após cirurgia de cólon. Os resultados evidenciaram que após tratamento, os animais obtiveram boa recuperação e cicatrização. Esta eficácia no tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas está relacionada à presença de taninos e flavonóides no mesocarpo.

Caetano *et al.*, (2002) estudaram a atividade antimicrobiana de cinco plantas populares, sendo elas: babaçu (*Orbignya sp*), cardo santo (*Argemone mexicana*), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), cavalinha (*Equisetum yeamalis*) e terramicina (*Alternanthera brasiliana*), usadas comumente pela medicina popular como anti-inflamatórias. Das cinco plantas em estudo, apresentaram atividade antimicrobiana o extrato de babaçu (*Orbigiaya sp*), o extrato bruto de cardo santo (*Argemone mexicana*) e o extrato bruto de terramicina (*Alternanthera brasiliana*).

Dessa forma, os estudos científicos comprovam as características farmacológicas atribuídas pelo conhecimento popular ao mesocarpo de babaçu.

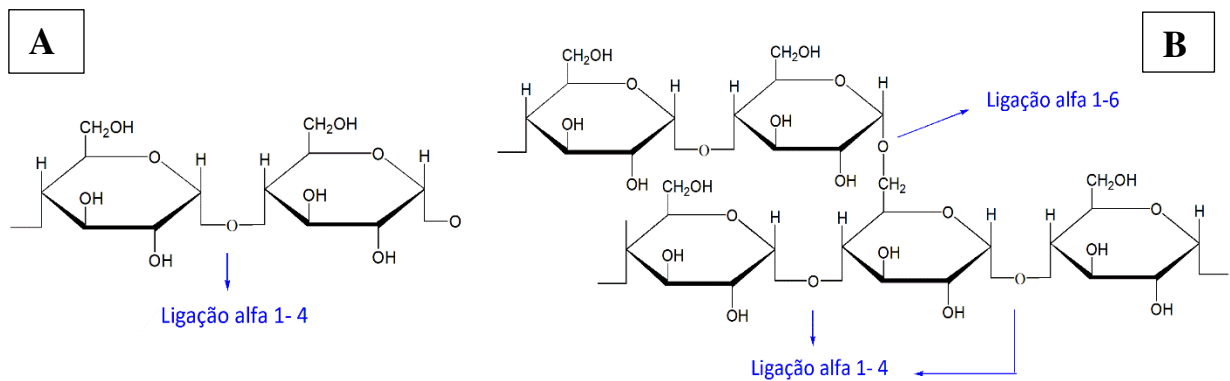
### **2.3. Amido**

O amido pode ser obtido de diversas fontes vegetais, tais como: cereais, raízes, tubérculos, frutas e legumes. É um polissacarídeo de reserva dos vegetais e está armazenado sob a forma de grânulos, que apresentam um certo grau de organização molecular, conferindo

caráter parcialmente cristalino, ou semicristalino, com graus de cristalinidade que variam de 20 a 47% (MALI *et al.*, 2010).

É um dos biopolímeros mais abundantes na natureza. Tem em sua constituição duas unidades básicas, a amilose e a amilopectina, com estruturas e funcionalidade diferentes. A amilose é um polímero linear composto por unidades de D-glicose ligadas por ligações  $\alpha$ - (1 $\rightarrow$ 4), com grau de polimerização de 200 a 3000, dependendo da fonte do amido. A amilopectina é um polímero altamente ramificado, com unidades de D-glicose ligadas através de ligações  $\alpha$ - (1 $\rightarrow$ 4) e ramificações em  $\alpha$ - (1 $\rightarrow$ 6). A Figura 3 mostra a estrutura dos constituintes do amido.

**Figura 3.** Representação das unidades monoméricas presentes no amido, amilose (A) e amilopectina (B).



Fonte : autor

Variações nas proporções entre estes componentes, podem resultar em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais muito diferentes, afetando assim suas aplicações industriais (MALI *et al.*, 2010).

A parte linear das moléculas de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por ligações de hidrogênio entre grupamentos hidroxila, dando origem às regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina. As regiões cristalinas dos grânulos proporcionam padrões específicos de difração de raios X, definidos com base nos espaços interplanares e na intensidade relativa das linhas de difração, que variam de acordo com a fonte botânica do grânulo. O padrão A é característico de amidos de cereais, o padrão B de amidos de tubérculos e, o padrão C, intermediário entre o A e o B, característico de amido de leguminosas (BARROS 2011; MALI *et al.*, 2010; MANIGLIA 2017; SILVA 2011).



As características físicas e funcionais da amilose possibilitam a formação de géis e filmes. As moléculas de amilose em solução, devido à sua linearidade, tendem a se orientar paralelamente, aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes. Como resultado, a afinidade do polímero por água é reduzida, favorecendo a formação de pastas opacas e filmes resistentes (MALI *et al.*, 2010).

Por ter alta disponibilidade, ser de fácil acesso, baixo custo e propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade, tem sido amplamente utilizado não apenas na indústria alimentícia, mas também na indústria farmacêutica, biomédica e de polímeros. Alguns trabalhos reportados na literatura relatam a utilização de amido no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos.

Recife *et al.*, (2017) utilizaram amido retrogradado e uma blenda deste com pectina como excipiente na liberação controlada de diclofenaco sódico. Os ensaios de liberação *in vitro* foram conduzidos em meios com diferentes valores de pH (1,2 e 7,4). Os perfis de dissolução demonstraram que quando se utiliza a blenda amido retrogradado/Pectina o período de liberação é estendido principalmente em meio ácido, permitindo um controle maior da disponibilidade do princípio ativo. Os resultados evidenciaram que a utilização de blendas potencializa a capacidade de utilização do material como excipiente, possibilitando assim a sua aplicabilidade em vários sistemas de liberação controlada.

Lefnaoui e Moulai-Mostefa (2015) estudaram amido gelatinizado como excipiente de liberação controlada *in vitro* tendo como fármaco modelo o Ibuprofeno. O material foi caracterizado por FTIR, DRX e MEV. Os testes de dissolução foram conduzidos em pH 6,8 (tampão fosfato) e acompanhadas por UV/vis. Os ensaios de liberação demonstraram que o fármaco teve liberação completa em 6 horas, indicando a possibilidade de sua utilização em sistemas de liberação controlada.

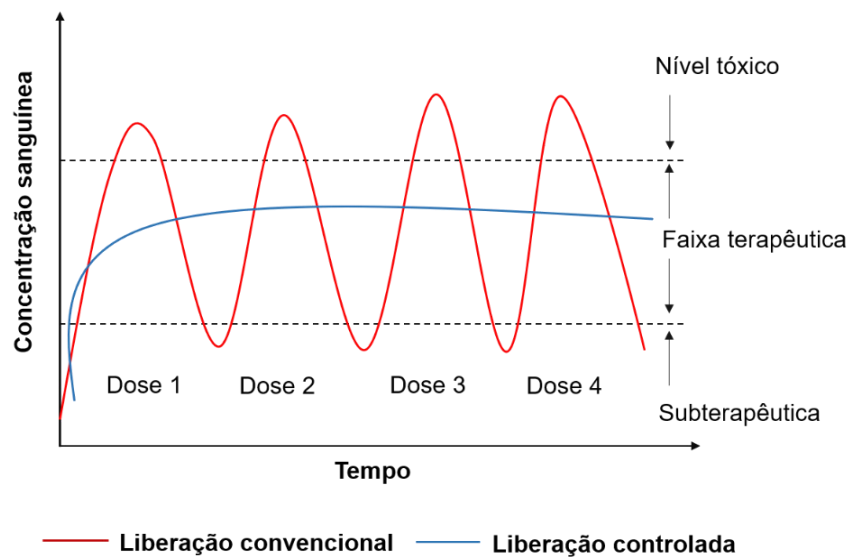
#### **2.4. Sistema de Liberação Controlada**

Os sistemas de liberação controlada de fármacos vêm ganhando espaço, devido ao fato de que muitas vezes, a substância ativa não consegue atingir um alvo específico no organismo em concentrações adequadas. Isso porque os métodos convencionais de administração são desenvolvidos para liberar rapidamente o princípio ativo (ABRANTES, 2016; BISHARAT *et al.*, 2019). Além disso, alguns fármacos têm uma vida curta e são rapidamente consumidos pelo

organismo, resultando em níveis plasmáticos mais baixos. Por consequência, uma quantidade maior do medicamento é necessária para manter o nível de plasma em concentração efetiva, que, em última análise, aumenta a dosagem e, conseqüentemente, resulta em risco para o paciente (ABRANTES, 2016).

Em terapias convencionais de administração, a concentração do agente ativo (fármaco/ droga/molécula) na corrente sanguínea aumenta até atingir o nível máximo de dissolução (pico) e então declina, sendo requerida a administração de nova dose para manter os níveis de concentração. Concentrações acima da faixa terapêutica podem conduzir a toxicidade, concentrações subterapêuticas são ineficazes, e podem em alguns casos, causar resistência ao fármaco (BIZERRA e SILVA, 2016). A Figura 4 exemplifica os mecanismos de liberação de um fármaco.

**Figura 4.** Exemplificação dos sistemas de liberação convencional e controlada



Fonte : Adaptado BIZERRA e SILVA 2016

Com o propósito de minimizar esse efeito, tem-se desenvolvido sistemas de liberação controlada baseados em matrizes diversas, sejam naturais ou sintéticas, com o objetivo de modular a liberação do fármaco na faixa terapêutica por tempo prolongado utilizando-se apenas uma dosagem única (BIZERRA e SILVA, 2016).

No desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação controlada, as matrizes de origem polimérica apresentam-se como opção interessante, devido a algumas vantagens associadas ao seu emprego, como versatilidade, eficácia e baixo custo. Além disso, esses sistemas possibilitam maior controle da liberação do princípio ativo, assim como redução de

doses com concentrações elevadas e subterapêuticas. Permitem também o monitoramento dos níveis de fármaco no sítio de aplicação, possibilitando concentrações efetivas no local a ser tratado (BIZERRA e SILVA, 2016).

Os polímeros mais empregados como matrizes de liberação controlada de fármacos são da classe dos polissacarídeos, como por exemplo: alginato, gelatina, pectina, quitosana e amido. Esses tipos de matrizes têm chamado atenção por serem altamente disponíveis, biodegradáveis, biocompatíveis, apresentarem baixa densidade além de grande versatilidade, pois podem ser processados nas mais diferentes formas como filmes, microesferas, espumas e outros. Os filmes tornam-se atrativos pois apresentam-se como método menos invasivo, podendo ser utilizado também como mecanismo de liberação por via tópica (BUENO *et al.*, 2014).

#### ***2.4.1. Filmes como matriz nos sistemas de liberação controlada de fármacos***

Os filmes apresentam-se como alternativa promissora no desenvolvimento de novas formas de entrega de medicamentos. Podem ser formados a partir de biopolímeros como proteínas (caseína, proteínas do soro do leite, proteína do milho (zeína), proteína do trigo (glúten), colágeno e gelatina), polissacarídeos e seus derivados (celulose, quitosana, amido, alginato, pectinas e gomas) que são capazes de formar uma rede tridimensional semirrígida que retém o solvente. Essa rede tridimensional é formada a partir de associações inter e intramoleculares ou ligações cruzadas de cadeias dos polímeros (KHATE e KATHPALIA, 2017; BISHARAT, 2019).

O princípio de formação dos filmes baseia-se na dispersão de macromoléculas em um solvente ou mistura de solventes adequados, com posterior adição de aditivos (plastificantes, reticulantes) para melhorias em suas propriedades mecânicas e protetoras, obtendo assim uma solução filmogênica que após secagem, forma o filme. Para tanto, é comumente empregado o método *casting*, no qual a solução filmogênica é depositada sobre um molde não adesivo, seja ele teflon, acrílico, poliestireno ou vidro, e em seguida levado à secagem, em estufa ou a temperatura ambiente para evaporação do solvente (MALI *et al.*, 2010; SANTANA, 2010). Podem ser formados a partir de um único composto isolado, por blendas naturais (sejam elas de origem vegetal ou animal) ou blendas mistas, nas quais um dos componentes da mistura terá natureza inorgânica (MANIGLIA, 2017)

Tavares *et al.*, (2017) estudaram a liberação controlada de Ibuprofeno a partir de filmes de Quitosana/Montmorilonita. Na produção do compósito quitosana/ montmorilonita foi usada, inicialmente, uma dispersão 1% m/v de argila: água. A quitosana foi adicionada à mistura de forma que se obtivesse uma relação 5:1 quitosana: argila. A incorporação do Ibuprofeno ocorreu dissolvendo uma massa correspondente à 10% da massa da quitosana, e então dissolvido em álcool e adicionado à mistura. Ao término da reação a solução filmogênica foi vertida em placas de teflon e secas, empregando o método *casting*. Os ensaios de liberação foram conduzidos em tampão PBS pH 7,2 e demonstraram que as blendas liberam o fármaco de forma controlada no período de 8 horas.

Kilicarslan *et al.*, (2018), avaliaram os perfis de liberação controlada do Fosfato de Clindamicina a partir de filmes de quitosa e alginato. As soluções de quitosana e alginato na concentração 1:1 foram preparadas em solução água: ácido acético (1,5% v/v), à temperatura ambiente. Foi adicionado CaCl<sub>2</sub> como reticulante (0,1% m/v) e propilenoglicol (5% v/v) como plastificante. A incorporação do Fosfato de Clindamicina foi feita na concentração de 1% (m/v) em relação à solução total. A reação se processou inicialmente em sonificador em banho de gelo por 20 min. Após foi homogeneizada por 10 min, a solução filmogênica foi vertida em placas de petri e seca à temperatura ambiente. Os materiais foram caracterizados por FTIR e MEV. Os ensaios de liberação foram conduzidos em tampão PBS e as blendas obtiveram resultados significativos, liberando 60% do fármaco de forma controlada por 10 horas.

#### 2.4.2. *Filmes de amido empregados na liberação controlada de fármacos*

O uso do amido na produção de filmes está relacionado às propriedades químicas e funcionais da amilose. Os amidos nativos são semicristalinos, contendo regiões cristalinas e amorfas alternadas por ligação de hidrogênio entre as estruturas de amilose e amilopectina. Por conseguinte, a dispersão de amido requer aquecimento em água ou outro solvente, o que perturba sua estrutura cristalina e permite que as moléculas de solvente interajam com os grupos hidroxila da amilose e amilopectina, levando à solubilização parcial do polímero. Assim, quando os grânulos se incham em presença de água, abrem-se e hidratam dando início ao processo de gelatinização ou perda de ordenamento molecular e granular (DENARDIN e SILVA, 2008).

A estrutura do grânulo de amido destruída durante o aquecimento forma um gel. No entanto, por não estar em equilíbrio termodinâmico, sua estrutura cristalina pode ser retomada

com o resfriamento, esse processo denomina-se retrogradação. Em geral, filmes de amido são fáceis de processar, facilmente biodegradáveis e compatíveis com outros materiais, o que facilita sua elaboração (MALI *et al.*, 2010).

A literatura reporta trabalhos em que se empregou amido na produção de filmes como matriz de liberação controlada de fármacos. Bisharat *et al.*, (2018) relataram em seu trabalho a liberação *in vitro* de um fármaco a partir de filmes de zeína e amido de alta amilose para administração oral. Na produção dos filmes utilizou-se duas soluções iniciais, a solução de zeína foi preparada numa concentração 10 % m/v , tendo como plastificante polietilenoglicol 30% m/m em relação ao peso da zeína seco. A solução de amido de alta amilose foi preparada na concentração de 15% m/v a 80°C por 30 min. Decorrido o tempo, as soluções precursoras foram misturadas em proporções 1: 3, 1: 5 e 1: 7, considerando o peso de ambos os polímeros, secos. Ao fim da reação os filmes foram vertidos em placas de petri plasticas e secos pelo método casting. Estes foram então usados no revestimento de comprimidos de paracetamol. Os ensaios de liberação foram conduzidos em pHs 1,2 e 6,8. Os resultados mostraram que os filmes conseguiram um perfil de liberação controlada por 8 horas, com 60 % do fármaco liberado durante o período do ensaio.

Marín *et al.*, (2016) estudaram a produção de filmes de magnetita e zeína para liberação do fármaco modelo acetaminofeno. Para isso, uma dispersão de 5% m/v de zeína foi preparada utilizando como solvente uma mistura etanol: água (80:20). A solução permaneceu em agitação a 60°C por 1 h, após as nanopartículas de magnetita dispersas no mesmo solvente, foram adicionadas à mistura na proporção de 10 % m/m em relação ao peso da zeína seco. Glicerina e polietilenoglicol foram usados como plastificantes, cada um com teor final de 5% m/m em relação aos precursores. A incorporação do fármaco deu-se adicionando à mistura soluções fármaco de 10%, 18,7% e 20% m/m em relação às nanopartículas de zeína. Os ensaios de liberação foram conduzidos na ausência e na presença de campos magnéticos externos. Os resultados mostraram que a variação da magnitude do campo magnético resultava em perfis de liberação diferentes podendo ser controlado remotamente. Os experimentos revelaram que os sistemas podem ser usados para liberação controlada, sendo sensíveis à estímulos externos, podendo liberar o fármaco em concentrações adequadas por um período determinado.

Leal *et al.*, (2018) relataram em seu trabalho a obtenção de filmes de mesocarpo de babaçu e carboximetilcelulose para liberação de Ácido Tânico. Os filmes foram preparados a partir de duas soluções precursoras. Para isso uma suspensão 5 % m/v de mesocarpo de babaçu foi levada à aquecimento a 90°C até a formação do gel, logo em seguida o plastificante foi

adicionado (glicerol 2% m/v). A solução de carboximetilcelulose foi preparada numa concentração 2% m/v sob agitação e temperatura constante durante 60 min. Por fim, as blendas foram preparadas usando as soluções percussoras nas proporções 0: 100, 50:50 e 100: 0 (CMC: MB) (v/v). Em seguida o ácido tânico foi incorporado (5 mg/mL), e a solução filmogênica vertida em placas de petri para evaporação do solvente. O material foi caracterizado e os ensaios de liberação conduzidos *in vitro* em tampão PBS (pH 7,4). Os ensaios de liberação demonstraram que as blendas conseguiram liberar o ácido tânico de forma controlada por um período de 24 horas, mostrando a eficiência da matriz para este fim.

### 2.5. *Arrabidaea brachypoda* DC Bureau

*Arrabidaea brachypoda* (Figura 5) é uma planta nativa do cerrado brasileiro, conhecida popularmente como “cipó-una” ou “tintureiro”. O gênero *Arrabidaea* pode ser encontrado na América tropical do México à Argentina, incluindo o Cerrado brasileiro. Espécies desse gênero têm sido amplamente utilizadas na medicina tradicional para fins adstringentes, antioxidantes, antifúngicas, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antitumorais e cicatrizantes.

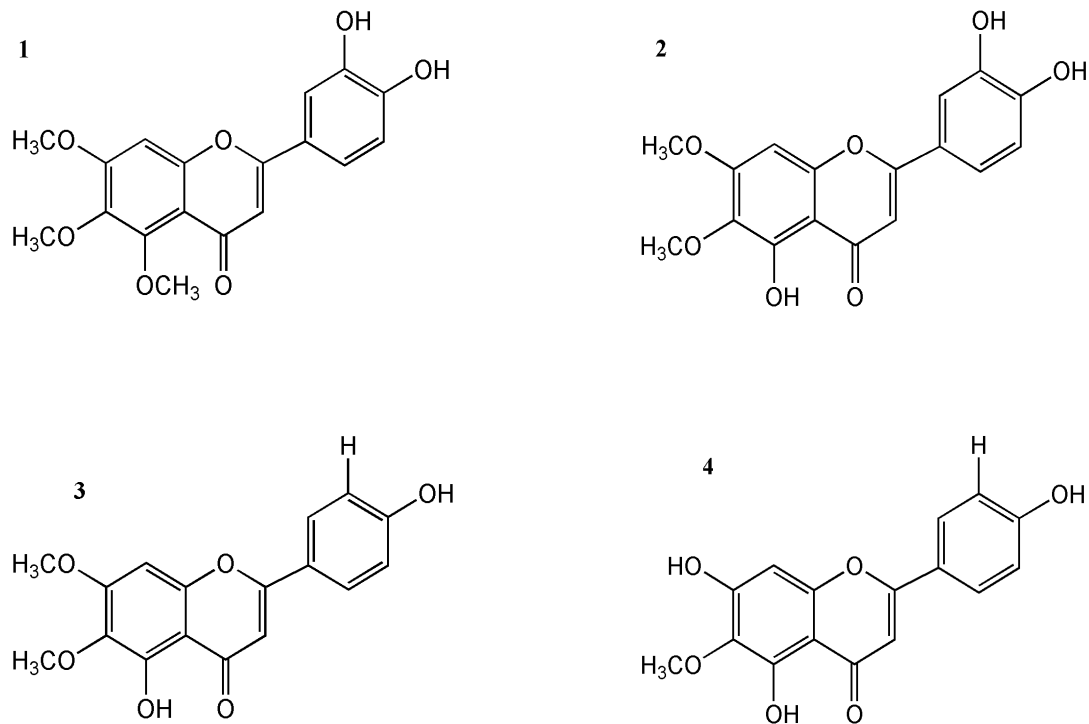
**Figura 5.** *Arrabidaea brachypoda* DC. Bureau (A) e suas flores (B)



Fonte: <http://arboretto.blogspot.com/2007/11/arrabidea.html>

Suas raízes são amplamente utilizadas na medicina tradicional no Sudeste e no Nordeste do Brasil para tratamento de cálculos renais e desconforto nas articulações (artrite). As folhas de *A. brachypoda* apresentaram certa quantidade de flavonóides e destes, 04 compostos foram isolados, sendo eles: 3',4'-dihidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona (1), cirsiolol (2), cirsimarina (3) e hispidulina (4) e demonstraram atividade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum* (ALCERITO, 2002).

**Figura 6.** Flavonóides isolados das folhas de *Arrabidaea brachypoda*, 3',4'-dihidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona (1), cirsioliol (2), cirsimaritina (3) e hispidulina (4)



Fonte: ALCERITO, 2002

Rocha *et al.*, (2011) estudaram os efeitos do extrato etanólico das raízes de *A. brachypoda*. Este apresentou atividade anti-inflamatória e anti-nociceptiva. Ainda em outro trabalho, Rocha *et al.*, (2015) avaliaram a ação anti-inflamatória do triterpeno 3-estearioxi-olean-12-eno do tipo oleanano isolado das raízes de *A. brachypoda*. O teste foi conduzido em linhagens de camundongos que tiveram um edema na pata induzido por carragenina. A aplicação de doses de 5, 10 e 15 mg/kg do triterpeno demonstrou efeito anti-inflamatório em diferentes testes, podendo este ser útil no tratamento de desordens inflamatórias.

Em outro estudo, Rocha *et al.*, (2017) investigaram os efeitos gastroprotetores do extrato etanólico das raízes de *A. brachypoda*. O extrato foi investigado e deste extraído flavonóides diméricos glicosilados incomuns. O estudo foi conduzido de forma a investigar os efeitos gastroprotetores do extrato em vários modelos de úlceras gástricas induzidas. Os resultados demonstraram que concentrações de 300 mg/kg apresentaram atividade antiulcerogênica equivalente ao fármaco lansopazol.

Pereira *et al.*, (2012) avaliaram por ensaio bioguiado, a atividade leishmanicida do extrato hidroetanólico de diferentes partes (folhas, caule e raiz) da *Arrabidaea brachypoda*. Os extratos foram utilizados no intervalo de concentração de 0,125 a 40,0 µg / mL em culturas de

promastigotas, utilizando Anfotericina B como fármaco de referência. Os resultados demonstraram que o extrato obtido a partir das folhas apresentou valores de IC<sub>50</sub> próximos aos obtidos pela droga padrão, evidenciando a potencialidade do mesmo.

Rocha *et al.*, (2019) estudaram a atividade leishmanicida de três flavonoides diméricos incomuns isolados das raízes da *Arrabidaea brachypoda*, denominados de Brachydina A, Brachydina B e Brachydina C, frente a três espécies de *Leishmania*, sendo elas: *L. amazonensis*, *L. infantum* e *L. braziliensis*. As formas promastigotas foram tratadas usando intervalo de concentração 0,25 a 20 µM por 72 h, o fármaco de referência utilizado foi a Anfotericina B. Dois dos compostos isolados apresentaram potência similar frente às três espécies de leishmania. As formas amastigotas de *L. amazonensis*, apresentaram resultados mais significativos, com um dos compostos obtendo resultados melhores que o fármaco de referência, mostrando assim, o potencial biofarmacológico das espécies isoladas dessa planta.

O extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda* é composto principalmente por uma série de flavonóides glicosilados, como por exemplo: rutina, quercetina e catequina. Que são responsáveis por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais. Sendo a rutina, um dos compostos majoritários presente nas folhas da *Arrabidaea brachypoda*.

### **2.5.1 Rutina: marcador químico presente nas folhas da espécie *Arrabidaea brachypoda***

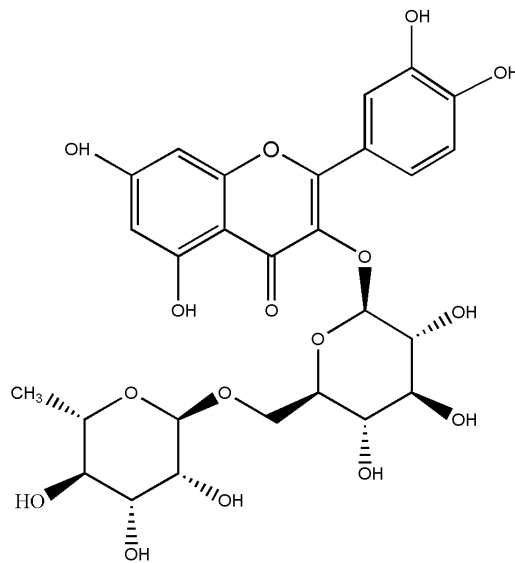
A rutina (Figura 7), também conhecida como vitamina P, é um flavonóide glicosídeo caracterizado como um importante metabólito secundário, presente em diversas plantas. Possui como estrutura básica uma molécula de quercetina ligada a duas moléculas de glicose, sendo elas respectivamente, uma glicose e uma rhamnose, substituintes na posição 3 do anel pirano. Pode ser encontrada em diversas fontes vegetais tais como trigo sarraceno, folhas de coloração escura, e em algumas frutas, tais como laranja, amoras silvestres, cerejas e em algumas bebidas, como vinhos e chás (FRUTOS *et al.*, 2019; BECHO, 2009).

Entre as atividades terapêuticas da rutina, está a melhora nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos associados com algumas doenças hemorrágicas ou de hipertensão. Estes efeitos são observados quando se aplica esse flavonóide isoladamente, ou associado ao ácido ascórbico, cuja absorção melhora quando administrado junto com a rutina. A literatura reporta algumas pesquisas relacionadas aos efeitos da rutina, entre os quais pode-



se citar o efeito gastroprotetivo *in vivo* para úlceras (ABDEL- RAHEEM, 2010) e lesões gástricas (LA CASA *et al.*, 2000), potencial anti-diabético (CERVANTES-LAUREAN *et al.*, 2006; HAO *et al.*, 2012), neuroprotetivo (CHOI *et al.*, 2006; GULPINAR *et al.*, 2012), anticarcinogênico (DESCHNER *et al.*, 1991), antioxidante (YANG *et al.*, 2008; KORKMAZ e KOLANKAYA, 2010; MAHMOUD, 2012) e anti-inflamatório (SHEN *et al.*, 2002; HAN, 2009; LEE *et al.*, 2012).

**Figura 7.** Estrutura da Rutina (3', 4', 5,7-tetrahidroxi-flavona-3-rutinosídeo).



Fonte: autor

Uma desvantagem associada à rutina é a sua baixa biodisponibilidade, causada principalmente pela sua baixa solubilidade em solução aquosa e baixa estabilidade, tornando assim desafiador um sistema de entrega que mantenha suas propriedades íntegras.

De acordo com o exposto, este trabalho visa desenvolver um filme a partir do mesocarpo de babaçu, como matriz carregadora do extrato hidroetanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda*, contendo o flavonóide rutina como marcador químico biológico, estudar sua capacidade de liberação controlada, assim como seu potencial como matriz carregadora do extrato mantendo suas características químicas inalteradas.

### 3. OBEJTIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo principal obter um filme biopolimérico a partir do mesocarpo de babaçu, como matriz carregadora do extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda*, e estudar sua capacidade de liberação controlada.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- ✓ Extrair amido de mesocarpo de babaçu a partir de três tratamentos: ácido, básico e neutro;
- ✓ Caracterizar os materiais pelas técnicas de Espectroscopia na Região do Infravermelho, Difratomia de Raios X, Análise Termogravimétrica e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- ✓ Imobilizar o extrato na nova matriz em forma de filme;
- ✓ Caracterizar o filme contendo o extrato através de análises físico-químicas, e propriedades funcionais: solubilidade, umidade, estabilidade em meio aquoso, absorção de vapor de água e propriedades mecânicas;
- ✓ Avaliar a capacidade do novo material em relação à liberação controlada do extrato.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nessa seção serão descritos os materiais e reagentes, bem como os procedimentos empregados para realização deste estudo.

### 4.1. Materiais e Reagentes

O mesocarpo de babaçu utilizado neste estudo foi adquirido em comércio local, inicialmente pulverizado e peneirado visando obter a faixa granulométrica compreendida entre 88 e 177  $\mu\text{m}$ . Os reagentes NaOH (Merck), Ácido ascórbico (Merck), glicerol (Isofar), metanol (Isofar), foram todos de grau analítico. O tampão PBS 0,1 mol/L foi preparado empregando-se  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Synth) e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Synth), e HCl (Isofar) 0,1 mol/L para ajuste. O extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda*, foi gentilmente fornecido pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Quintino da Rocha, do Laboratório de Produtos Naturais – UFMA, apresentando como marcador químico biológico o flavonóide Rutina, obtido pelo método de maceração exaustiva, utilizando uma solução EtOH:H<sub>2</sub>O (7:3). A Rutina, fornecida pela Fagron BR com 70% de pureza foi utilizada neste estudo como padrão de referência. Todos os demais reagentes empregados neste estudo foram de natureza analítica.

### 4.2. Denominação das amostras

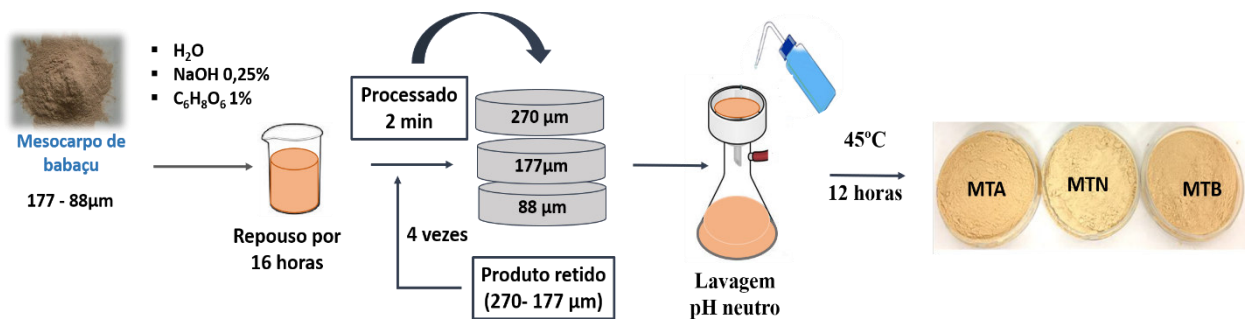
Neste estudo denominou-se MB o mesocarpo de babaçu *in natura*; MTA, MTB e MTN os amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra, respectivamente. Os biofilmes carregados com o extrato foram denominados E-MB, E-MTA, E-MTB e E-MTN para Mesocarpo *in natura*, e amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra, respectivamente.

### 4.3. Extração do amido de mesocarpo de babaçu

O processo de obtenção de amido foi baseado em experimentos desenvolvidos por TAPIA-BLÁCIDO e MANIGLIA (2016), para isso utilizou-se três métodos diferentes: extração em água (MTN), extração alcalina (MTB) e extração ácida (MTA). Para tanto, a farinha de mesocarpo de babaçu foi embebida em água destilada, em solução de hidróxido de sódio a 0,25% (pH alcalino), e em solução de ácido ascórbico a 1% (pH ácido), respectivamente, na proporção de 1:2, e deixada em repouso por 16 h. Em seguida, a farinha úmida de babaçu foi moída por aproximadamente 2 min com auxílio de um processador de

alimentos operando na potência máxima. O material obtido passou por um conjunto de peneiras de malha 80, 200 e 270 mesh. O produto retido foi reprocessado e peneirado novamente quatro vezes adicionais. O líquido resultante foi filtrado em funil de Buckner, o sobrenadante descartado, e o amido ressuspense em água. Este processo foi repetido até o sobrenadante atingisse pH constante para todos os métodos. O sólido foi então seco em estufa a 45 ° C por 12 h e, posteriormente, moído e peneirado a 80 mesh. A Figura 8 mostra as etapas empregadas na extração do amido de mesocarpo de babaçu.

**Figura 8.** Esquema referente à extração do amido de mesocarpo de babaçu a partir dos tratamentos ácido, básico e neutro



Fonte: autor

#### 4.4. Caracterização do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos

##### 4.4.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na caracterização por infravermelho empregou-se a técnica de pastilha (disco prensado) de KBr. Cerca de 1,0 mg de cada amostra foi misturada com cerca de 100,0 mg de KBr previamente seco e pulverizado, a mistura foi então prensada sob pressão de 10 a 15 kPsi até obtenção de um disco transparente, que foi levado a um espectrômetro Shimizu, modelo IRPrestige-21, que permite a obtenção do espectro de absorção dos grupos funcionais na faixa compreendida entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup>.

##### 4.4.2. Difração de Raios X (DRX)

Foi utilizado o método de varredura, que consiste na incidência de raios X sobre uma amostra compactada sob a forma de pó, compactado sob suporte. Empregou-se um difratômetro da marca Bruker, modelo D8 Advance, com radiação de K $\alpha$  de  $\lambda$  0,015405 nm, produzida por

tubo de cobre, 40 kv e 40 mA, com amplitude de varredura igual a  $2\theta$  por minuto ( $0,04^\circ \text{ s}^{-1}$ ) percorrido de  $3^\circ$  a  $70^\circ$ .

#### 4.4.3. Análise Termogravimétrica

As perdas de massa foram determinadas empregando-se um equipamento da TA Instruments modelo SDT-Q600. Para isso uma pequena quantidade das amostras do mesocarpo *in natura*, dos amidos extraídos, bem como dos filmes antes e após incorporação do extrato foram colocados em um porta amostra de alumínio, com uma taxa de aquecimento de  $10^\circ \text{ C min}^{-1}$ , em temperatura inicial ambiente até  $900^\circ \text{ C}$  sob atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de gás de  $50 \text{ mL/min}$ .

#### 4.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada com intuito de identificar possíveis alterações na morfologia dos grânulos de amido após os tratamentos ácido, básico e neutro. As micrografias foram obtidas em um microscópio HITACHI, modelo TM3030. Para isso, amostras de pó foram depositadas em fitas de carbono sob suporte de metal e fixadas com nitrogênio.

### 4.5. Obtenção e identificação do extrato hidroetanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda*

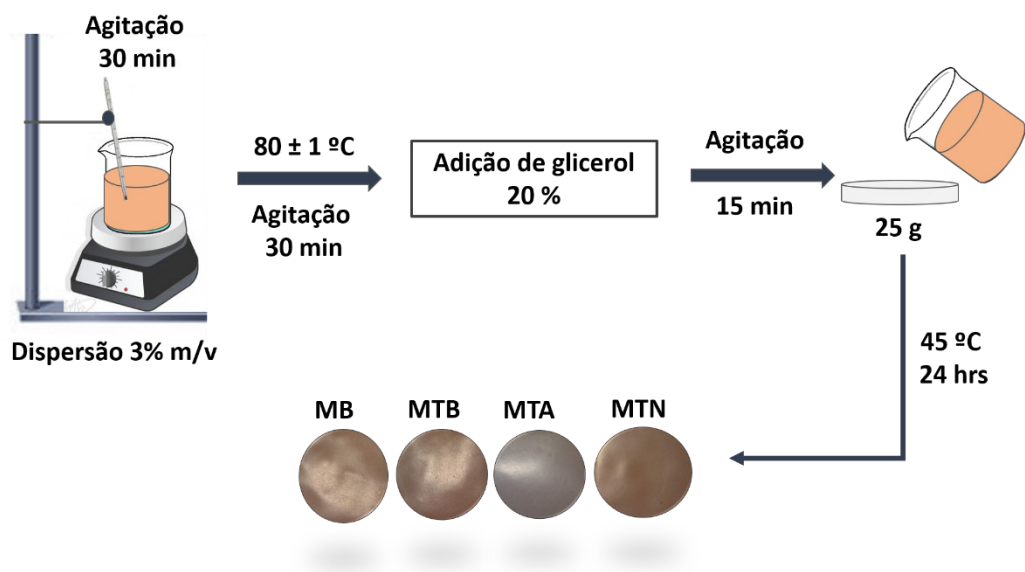
O extrato FAB foi obtido a partir das folhas secas de *A. brachypoda* (FAB), inicialmente as folhas foram secas e pulverizadas. O extrato foi obtido opor percolação sucessiva à temperatura ambiente, utilizando como solvente uma mistura de EtOH:H<sub>2</sub>O 70 % (RESENDE *et al.*, 2017). O solvente foi seco com auxílio de evaporador rotativo e o material obtido, liofilizado. O extrato foi então caracterizado por cromatografia líquida de alta eficiência HPLC/Uv-Vis. Para obtenção do perfil cromatográfico 30 mg da amostra passou pelo processo de clean-up com cartuchos C18 (SPE) usando MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1). Em seguida o solvente foi evaporado e 10 mg da amostra ressuspenso em MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1). Após, 10  $\mu\text{L}$  foram injetados em um equipamento HPLC/UV/Vis, da Shimadzu constituído de um módulo de fornecimento

de solvente com uma bomba de pistão duplo, com detector UV SPA – 10A. A análise foi conduzida mantendo-se o fluxo de solvente em 1 mL/ min, com evolução de gradiente de 5 a 100% de B em 70 minutos. Os solventes empregados foram A: H<sub>2</sub>O + ácido fórmico 0,01% e B: MeOH + ácido fórmico 0,01%. Os dados foram coletados e processados usando o software Shimadzu LC Solution v.4.0

#### 4.6. Elaboração dos filmes de mesocarpo de babaçu e amidos extraídos

Os filmes de mesocarpo de babaçu e dos amidos extraídos foram preparados pelo método *casting* segundo metodologias estabelecidas na literatura (TAPIA-BLÁCIDO *et al.*, 2017; MUKURUMBIRA *et al.*, 2017; MORENO *et al.*, 2017). Para isso, uma suspensão do sólido (mesocarpo de babaçu, ou amido extraído pelas rotas já citadas) numa concentração 3% (m/m) em água destilada, foi homogeneizada em agitador magnético por 30 min, seguida de aquecimento sob agitação constante até a temperatura de  $80 \pm 1$  °C durante 30 min. Em seguida o plastificante glicerol foi adicionado (proporção 20g de plastificante/100g de sólido), e a mistura permaneceu em aquecimento por mais 15 min. Ao fim, a suspensão foi vertida em placas de poliestireno, utilizando 25 g da solução filmogênica. O material foi então seco em estufa a 45° C por 24 horas. Decorrido esse tempo, os filmes foram destacados da superfície e armazenados longe de umidade excessiva para análises posteriores. A Figura 9 exemplifica o processo de obtenção dos filmes.

**Figura 9.** Esquema representativo da produção dos filmes MB, MTB, MTA e MTN.

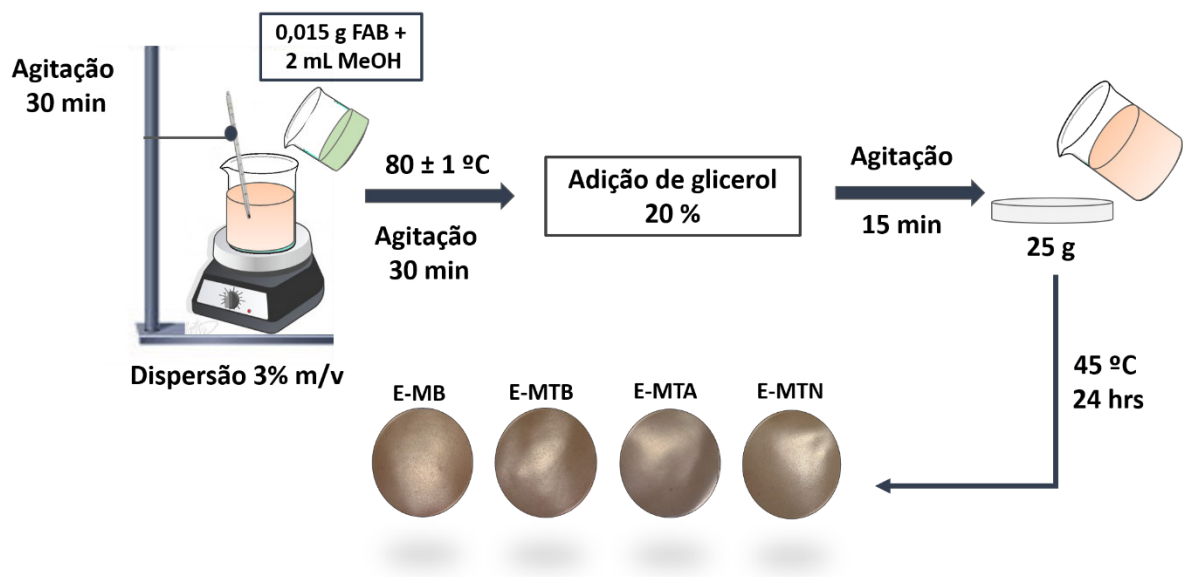


Fonte: autor

#### 4.6.1. Incorporação do extrato hidroetanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* na matriz de mesocarpo de babaçu

Os filmes foram preparados conforme descrito em 4.6. Para a incorporação utilizou-se concentração inicial de extrato de 0,5% (m/m) em relação ao peso do mesocarpo seco. Para tanto, 0,015 g do extrato foi solubilizado em 2 mL de metanol e adicionado à mistura, após etapa inicial de homogeneização sólido/água. Em seguida a suspensão foi aquecida à  $80 \pm 1$  °C por 30 min, acrescentou-se o plastificante glicerol, permanecendo a mistura em agitação por mais 15 min. Em seguida verteu-se o conteúdo resultante sobre placas de poliestireno. Após secagem em estufa a 45° C por 24 horas, os filmes foram destacados da superfície, pesados e armazenados para testes futuros. A Figura 10 mostra o esquema empregado na preparação dos filmes com extrato incorporado.

**Figura 10.** Esquema representativo da produção dos filmes E-MB, E-MTB, E-MTA e E-MTN



Fonte: autor

### 4.7. Caracterização dos filmes antes e após incorporação do extrato

#### 4.7.1. Umidade $\omega$ [%]

O teor de umidade dos filmes foi determinado segundo AOAC 930.04 (AOAC 1991). Para isso cortes de prova de 2,5x2,5 cm foram inicialmente pesados e equilibrados em ambientes a 58% UR (Solução NaBr saturada) e 75% UR (solução Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturada) a 25°C

por 24 horas, posteriormente secos em estufa a 105°C por 24 horas. O cálculo de  $\omega$  foi realizado segundo a Equação 1 e os dados expressos em fração de massa.

$$\text{Umidade } (\omega\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:  $\omega$  é a fração de massa de umidade do filme;  $m_i$  é a massa total inicial da amostra de filme (g);  $m_f$  é a massa seca do filme (g).

#### 4.7.2. Solubilidade $S$ [%]

A massa solubilizável em água dos filmes ( $S$ ) foi determinada baseada em metodologia descrita por MUKURUMBIRA *et al.*, (2017) com algumas modificações. Para isso, a massa inicial ( $m_i$ ) de filmes de 2,5 x 2,5 cm foi quantificada e imersa em 50 mL de água destilada sob agitação (100 rpm) à 25 °C por 24 h. Após esse tratamento o filme foi levado à estufa para a determinação da massa seca final,  $m_f$ . A matéria solubilizada foi expressa em função da massa seca inicial, sendo os valores obtidos por aplicação da Equação 2:

$$\text{Solubilidade } (S) = \frac{[m_i(1-\omega) - m_f]}{m_i(1-\omega)} \quad \text{Equação 2}$$

Onde  $m_i$  é a massa inicial do filme,  $\omega$  é a umidade e  $m_f$  é massa final após a secagem.

#### 4.7.3. Teste de absorção de água

O teste de absorção de água foi realizado de acordo com MANIGLIA (2017). Amostras de filmes (2,5x2,5 cm) foram armazenadas em recipiente contendo solução saturada de NaCl (UR = 95%) a 25° C. Nas primeiras 12 horas as amostras foram pesadas a cada 1 hora. Após esse tempo a pesagem foi a cada 12 horas. O cálculo de absorção foi feito segundo a Equação 3:

$$\text{Absorção de água}(\%) = \frac{m_f - m_0}{m_0} \cdot 100 \quad \text{Equação 3}$$

Sendo  $m_0$ , a massa seca inicial e  $m_f$  é a massa final, após o equilíbrio com a solução.



#### 4.7.4. Capacidade de absorção de fluidos e estabilidade dos filmes em soluções aquosas

A capacidade de absorção e a estabilidade dos filmes foi avaliada em diferentes soluções aquosas de modo a simular as suas condições de aplicação. Nestes ensaios utilizou-se: água deionizada, solução salina (NaCl a 0,9% m/v), a qual seria potencialmente empregada para a hidratação dos filmes antes de seu uso *in vivo*, fluido corpóreo simulado (FCS), preparado de acordo com Kokubo *et al.*, (1990), e tampão fosfato salino (PBS), os quais são soluções isotônicas com concentração de sais próxima à do corpo humano. A Tabela 1 mostra a relação de reagentes bem como as quantidades empregadas para preparo da solução FCS.

**Tabela 1.** Reagentes para preparo de solução de Fluido Corpóreo Simulado (FCS) de acordo com Kokubo, 1990.

Reagente	Quantidade
NaCl	7,996 g
NaHCO <sub>3</sub>	0,350 g
KCl	0,224g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3 H <sub>2</sub> O	0,174 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,305 g
HCl 1M	40 mL
CaCl <sub>2</sub>	0,368g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,071g
Tris	6,057g
HCl 1M	0-5 mL para ajuste pH 7,25

Após o preparo a solução foi armazenada sob refrigeração, até o momento do teste. Para o ensaio de absorção de fluidos simulados, amostras de filmes de 2,5 x 2,5 cm foram imersos em 20 mL das referidas soluções a 37°C por 24 horas, de forma a atingir o equilíbrio de absorção. Após este período o excesso de solvente foi removido levemente com papel toalha por cerca de 5 segundos e a massa final foi imediatamente determinada em balança analítica. A capacidade máxima de absorção ( $Abs_{m\acute{a}x}$ ) foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$Abs_{m\acute{a}x} = \frac{(M_u - M_s)}{M_s} \quad \text{Equação 4}$$

Onde  $M_u$  representa a massa do filme enquanto úmido e  $M_s$  a massa do filme seco.

Para a determinação da estabilidade dos filmes, expressa como perda de massa, amostras dos filmes de 2,5x 2,5 cm foram imersas em 20 mL de PBS, FCS e NaCl 0,9% a 37°C por um período de 5 dias sob agitação constante. Após esse período, os filmes foram rapidamente lavados com água destilada, e levados à estufa para secagem à 40° C por 24 horas. Após esse tempo, as amostras foram pesadas e a perda de massa calculada de acordo com a Equação 5.

$$pm = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} * 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde  $m_i$  representa a massa do filme antes do ensaio, e  $m_f$  a massa do filme seco após o período de incubação.

#### 4.7.5. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas pelo ensaio de tração utilizando-se uma máquina universal de ensaios da marca Biopdi, modelo MBIO II. Amostras com 8,0 cm de comprimento e 2,5 cm de largura foram fixadas nas garras do equipamento (separação inicial das garras de 50 mm em média), com velocidade fixada em 20 mm/min. A deformação ou alongamento à ruptura ( $\epsilon$ ), a tensão à ruptura (TR) e o módulo de Young (E) foram determinados de acordo com as normas ASTM D882-8. Os ensaios foram realizados em triplicata, possibilitando as médias e desvios-padrão para cada ensaio.

A tensão à ruptura (TR) é calculada utilizando-se a Equação 6, onde a força máxima de rompimento do filme é dividida pela área da seção transversal inicial da amostra de filme. A TR em Mpa foi determinada segundo a Equação 6:

$$TR = \frac{FM}{A} \quad \text{Equação 6}$$

Onde: TR é a tensão na ruptura (Mpa); FM é a força máxima no momento da ruptura (N); A é a área da seção transversal do filme (m<sup>2</sup>).

A deformação ou alongamento na ruptura ( $\epsilon$ ) foi determinada pela Equação 7, na qual a distância final de separação da garra é dividida pela distância inicial de separação.

Para determinar a deformação elástica longitudinal (%) utilizou-se a Equação 7:

$$\epsilon = (\Delta l / l_0) \cdot 100 \quad \text{Equação 7}$$

Onde:  $\varepsilon$  é a deformação elástica longitudinal (%);  $\Delta l$  é a distância final da separação da garra (mm);  $l_0$  é a distância inicial de separação (mm).

O módulo de elasticidade ou módulo de Young (E) é uma grandeza que é proporcional à rigidez de um material quando este é submetido a uma tensão externa de tração ou compressão. Basicamente, é a razão entre tensão aplicada e a deformação sofrida pelo corpo, quando o comportamento é linear, como mostra a Equação 8.

Para determinar o módulo de Young (MPa) utilizou-se a Equação 8.

$$E = \frac{TR}{\varepsilon} \quad \text{Equação 8}$$

Onde:  $E$  é o módulo de elasticidade ou módulo de Young (MPa);  $TR$  é a tensão na ruptura (MPa);  $\varepsilon$  é a deformação elástica longitudinal (%).

#### **4.8. Avaliação da capacidade de liberação do extrato FAB incorporado aos filmes**

A liberação de fármacos ou agentes ativos incorporados à filmes podem ser analisada através da determinação de sua concentração em um meio líquido extrator de composição apropriada. O tampão fosfato salino (PBS) foi utilizado por possuir pH igual a 7,4, simulando condições fisiológicas, muito próximas à de vários fluidos corporais. Para a realização deste ensaio, corpos de prova de massas conhecidas, contendo ou não extrato FAB, foram colocados em um volume pré-estabelecido de PBS. O ensaio foi conduzido conforme descrito nos itens posteriores.

##### *4.8.1. Ensaio de Liberação in vitro*

Nesse ensaio, filmes de 5x5 cm, foram colocados em contato com 50 mL do tampão PBS, a uma temperatura de 37 °C sob agitação de 100 rpm constante por um período de até 48 horas. Durante todo o ensaio, em intervalos de tempo pré-definidos, alíquotas de 2 mL da solução foram retiradas e a quantidade de extrato liberada quantificada. A cada alíquota retirada, igual volume da solução de PBS fresco era adicionado ao meio de maneira a manter o volume inicial do ensaio constante.

#### 4.8.2. *Quantificação de Extrato FAB liberado por espectrofotometria Uv-vis*

A quantificação de extrato liberado foi feita através do método colorimétrico de complexação com  $\text{AlCl}_3$  (ANDRADE *et al.*, 2018). Na determinação das absorbâncias utilizou-se um espectrofotômetro Uv-vis da marca KASUAKI, modelo IL-592-BI. Para isso 2 mL da solução PBS obtida em 4.8.1 foi transferida para um balão volumétrico de 5 mL, em seguida igual volume de solução metanólica de  $\text{AlCl}_3$  2% m/v foi adicionado ao frasco. O tempo de leitura foi estimado conforme descrito nos itens a seguir. Utilizou-se como branco uma solução PBS e  $\text{AlCl}_3$  preparada nas mesmas condições da amostra.

#### 4.8.3. *Determinação do tempo de complexação para leitura*

Visando determinar o melhor tempo para leitura, fez-se uma cinética de complexação do extrato FAB ou RT com  $\text{AlCl}_3$ . Para isso soluções estoque de FAB e Rutina foram preparadas na concentração de 1000 mg/L utilizando metanol como solvente. Alíquotas de 1 mL de cada solução estoque, foram transferidas para balões de 10 mL, acrescidas de 2 mL da solução  $\text{AlCl}_3$  2% m/v, e o volume final ajustado com metanol P.A. A leitura foi feita em intervalos de tempo de 5, 10, 15, 30, 45 e 60 min após a adição da solução de  $\text{AlCl}_3$ , o melhor tempo foi escolhido considerando o maior valor de absorbância obtido para ambos os casos.

##### 4.8.3.1. *Curva de calibração externa- Rutina Padrão*

Como o extrato FAB tem como marcador químico a Rutina, na quantificação do mesmo utilizou-se uma curva de calibração externa preparada a partir de uma solução estoque de RT na concentração de 100 mg/L. Para isso alíquotas dessa solução foram transferidas para balões de 10 mL, em seguida a cada balão foi adicionado 2 mL da solução metanólica de  $\text{AlCl}_3$  2% m/v, o volume final foi ajustado com metanol P.A e as leituras foram feitas no melhor tempo, determinado em 4.8.3. Ao final foram obtidas soluções de concentrações 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 mg/L. As medidas foram feitas em triplicata e a curva obtida a partir da média das absorbâncias em cada ponto. Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base nos dados obtidos na curva analítica.

*4.8.4 Acompanhamento do perfil cromatográfico por HPLC UV/Vis do extrato bruto das folhas de Arrabidaea brachypoda e da solução extratora após ensaio de liberação in vitro.*

O ensaio foi conduzido como relatado em 4.8.1. Cortes dos filmes foram colocados em contato com 50 mL da solução extratora (PBS), durante um período de 48 horas sob agitação constante à 37 °C. Ao final do ensaio, 25 mL da solução foi coletado e congelado para que em seguida, fosse liofilizado. O material seco obtido (extraído do filme), foi então pesado e ressuspenso em MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1). Em seguida 10 µL da amostra foi injetado em HPLC/Uv-Vis Shimadzu com detector UV SPA – 10. As condições da análise foram as mesmas relatadas no item 4.5

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

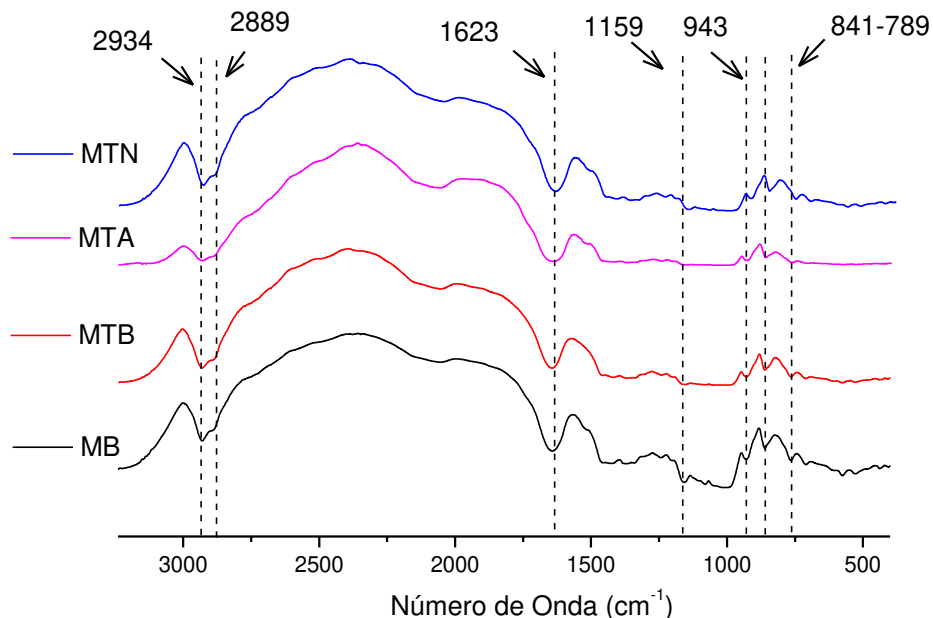
Nessa seção serão relatados os achados dessa pesquisa, buscando-se elucidar e esclarecer os pontos relevantes encontrados

### 5.1. Caracterização do mesocarpo de babaçu e dos amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra

#### 5.1.1. Espectroscopia na Região do Infravermelho

A avaliação de grupos presentes no mesocarpo antes e após os tratamentos foi investigada através dos espectros de infravermelho apresentados na Figura 11. Analisando os espectros de FTIR nota-se o aparecimento de banda em 2934 e 2889  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuída as vibrações simétricas e assimétricas das ligações C-H e  $\text{CH}_2$  (TÁPIA-BLACIDO, *et al.*, 2010).

**Figura 11.** Espectros de Infravermelho (FTIR) do mesocarpo de babaçu *in natura* (MB) e dos amidos extraídos pelas rotas ácida (MTA), básica (MTB) e neutra (MTN).



Segundo Kizil *et al.*, (2002) a intensidade das bandas em 2900  $\text{cm}^{-1}$  e 2800  $\text{cm}^{-1}$  pode estar relacionada também às variações de amilose e amilopectina presentes nos amidos. Um menor teor de amilose resulta numa maior intensidade dessas bandas. Em 1623  $\text{cm}^{-1}$  tem-se a banda atribuída à flexão de H-O-H, referente a água adsorvida nas regiões amorfas do material.

Em espectros de amidos é comum observar algumas bandas entre 950 e 1200  $\text{cm}^{-1}$  devido a estiramentos de ligações C-O. A banda em 1159  $\text{cm}^{-1}$  é resultante das vibrações de estiramento da ligação  $\alpha$  1-4 C-O-C. As bandas em 856 e 775  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às vibrações fora do plano das ligações =C-H do anel pirano (VIEIRA *et al.*, 2010).

### 5.1.2. Difratoformas de Raios X

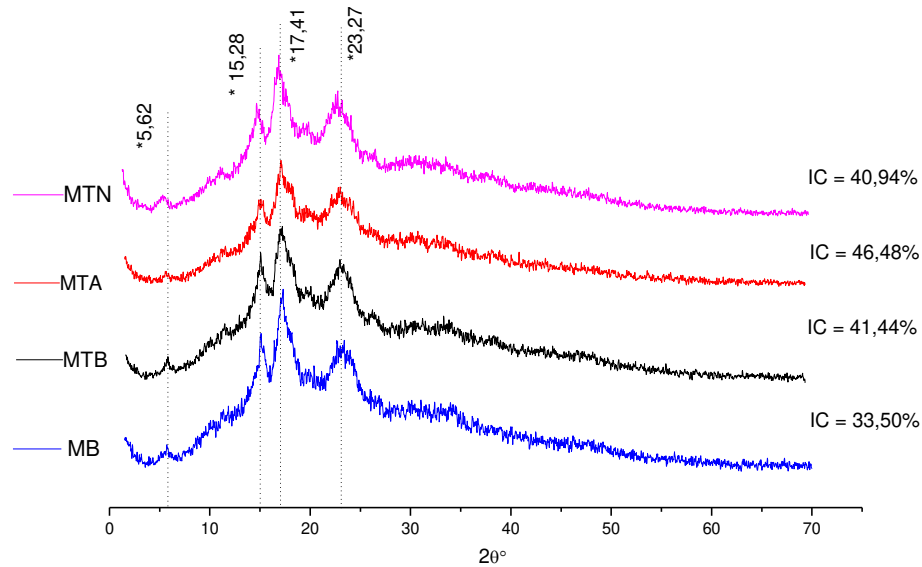
A Figura 12 mostra os difratogramas de raios X do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra. Os índices de cristalinidade foram calculados segundo a Equação 9:

$$\%CrI = 100 \cdot \left( \frac{I_o - I_{am}}{I_o} \right) \quad \text{Equação 9}$$

Onde  $I_o$  e  $I_{am}$  representam as áreas dos picos de maiores e menores intensidades, respectivamente. Em todos os casos, os índices de cristalinidade não ultrapassaram 47%. Nota-se que inicialmente o mesocarpo de babaçu, apresentou índice de cristalinidade de 33,50%, com aumento após os tratamentos ácido, básico e neutro. Nos grânulos de amido, a cristalinidade está associada com as duplas hélices presentes na amilopectina ramificada (TUKOMANE *et al.*, 2007). Sendo o amido, o principal componente desses materiais, pode-se então associar o índice de cristalinidade essencialmente à essa estrutura. Dessa forma, o amido extraído pela rota ácida teve maior índice de cristalinidade (46,48%), em comparação ao amido extraído pela rota básica (41,44%) e neutra (40,94%), o que pode indicar que este possui maior teor de amilopectina.

Se percebe que em todos os casos, os mesmos picos de difração característicos foram mantidos. Os picos próximos a 5°, 17° e 22° são característicos de amido tipo B, normalmente encontrado em tubérculos. Picos próximos a 15° são característicos de amido tipo A, geralmente encontrado em cereais. Portanto, os materiais apresentaram características de uma mistura de amido tipo A e B, denominado de amido tipo C.

**Figura 12.** Difratomogramas de Raios-X (DRX) do mesocarpo de babaçu e dos amidos extraídos pelas rotas ácida, básica e neutra.



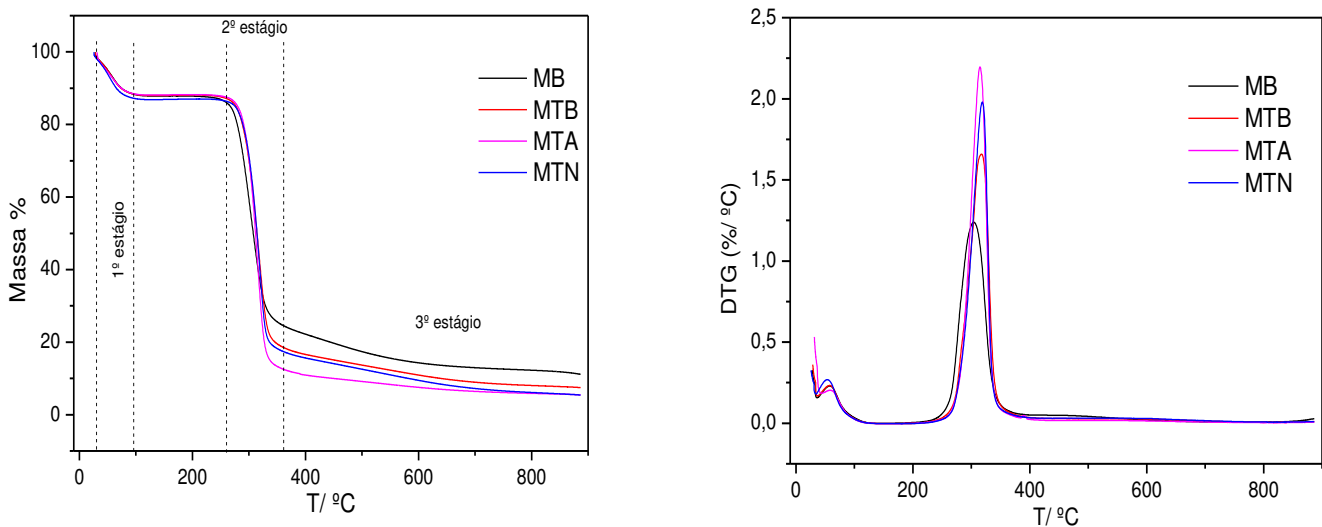
De acordo com Lin *et al.*, (2016) a intensidade do pico próximo a 20° é típica da presença de complexos amilose-lipídeo e sua intensidade é relativa com o teor de amilose. Este apareceu em todos os casos.

### 5.1.3. Análise Termogravimétrica

A Figura 13 mostra as curvas TG, bem como suas respectivas derivadas dos materiais MB, MTB, MTA e MTN. O primeiro estágio de degradação inicia em 28° C e vai até 95° C, com todos os materiais perdendo, em média, 13,0 % em massa. Essa perda está relacionada à saída de água das amostras, uma vez que as cadeias de glicose que constituem o amido são interligadas e enroladas sobre si mesmas e apresentam diferentes graus de hidratação.



**Figura 13.** Curvas termogravimétricas e suas respectivas derivadas do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos pelas rotas básica, ácida e neutra.



De 95°C a 261 °C a massa dos compostos permanece constante. O segundo estágio de decomposição inicia em 261 °C e vai até 337 °C, e está relacionado ao evento de degradação do polissacarídeo que ocorre por despolimerização quando a temperatura aplicada excede 260°C.

Nesse estágio as perdas de massa foram de 58,0 % para MB, 62,0 % para MTB, 67,0 % para MTN e 72,0 % para MTA e correspondem à processos de degradação envolvendo reações como a condensação das hidroxilas. No terceiro estágio, que inicia em 337°C e vai até a temperatura final de 900 °C, a perda de massa foi de 17,0 % para MB, 13,2 % para MTB, 12,9% para MTN e 8,4 % para MTA. Esse último estágio está relacionado decomposição do material.

Como se observa nas curvas de DTG, em todos os casos há dois picos exotérmicos, condizentes com as duas etapas de perda de massa observadas nos materiais. Dados semelhantes foram encontrados por Lima *et al.*, (2012), que em seu trabalho investigaram as características físico-químicas de amidos extraídos de diversas matrizes comestíveis. Os eventos de degradação atribuídos à despolimerização de amido foram em aproximadamente 292 °C para amido de milho, em 286 °C para fécula de batata, 256 °C para farinha de banana e em 282 °C para farinha de trigo.

Yaozhong *et al.*, (2019) observaram que no intervalo de temperatura entre 240° C e 350 °C ocorria o estágio de degradação do amido de batata. Ainda em outro estudo, Cruz-Tirado

*et al.*, (2019), também observaram perfil semelhante ao avaliarem e estabilidade térmica de amido de batata-doce, com estágio de degradação acentuado iniciado em 256°C.

Amidos de diferentes fontes apresentarão características próprias quanto à estabilidade térmica, isto está relacionado às quantidades de amilose e amilopectina presente em cada matriz. Entretanto, nos trabalhos relatados, todos tiveram degradação compreendida entre 250 °C e 350 °C. Condizente com os dados encontrados nesse estudo.

Na Tabela 2 estão apresentadas as perdas de massa, bem como os intervalos de temperatura correspondentes, para cada evento observado.

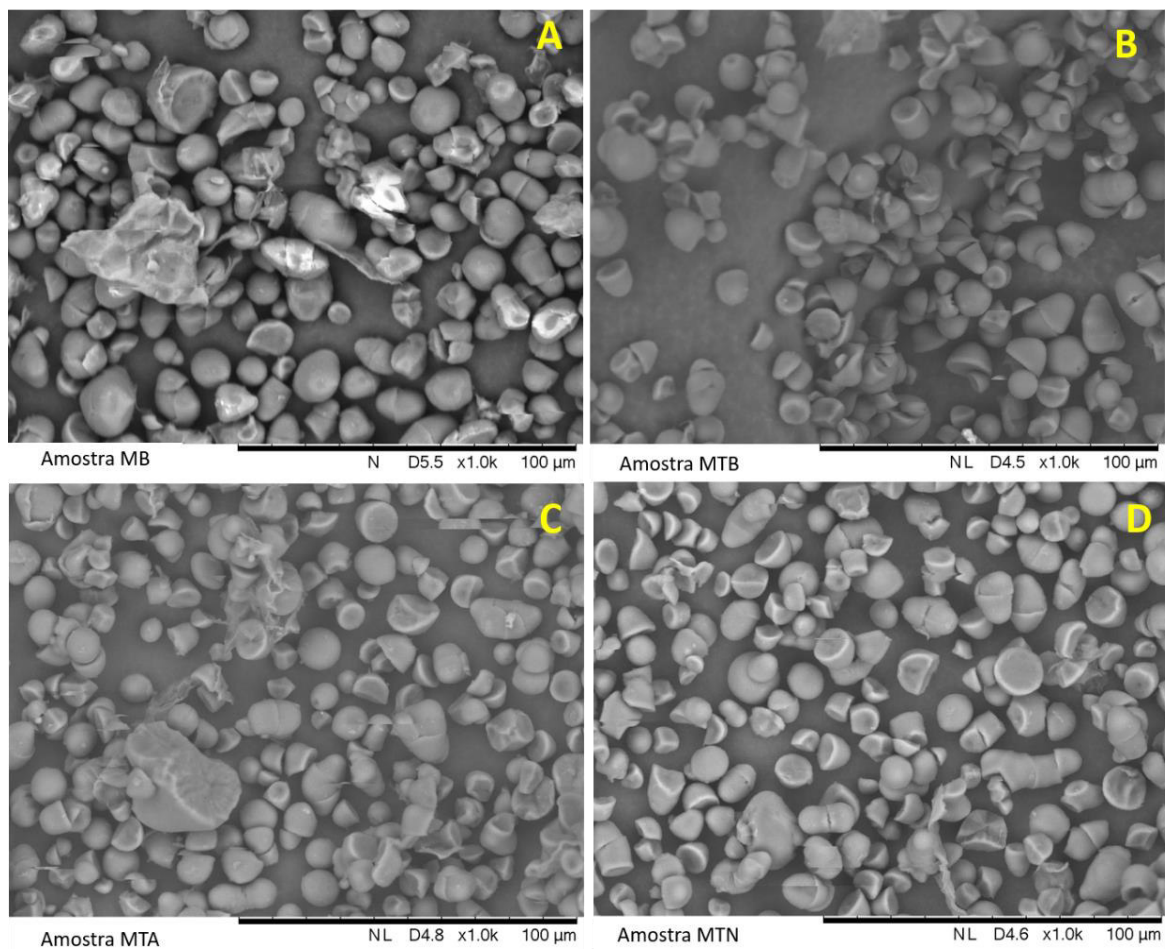
**Tabela 2.** Percentuais de perda de massa em seus respectivos intervalos de temperatura das amostras MB, MTB, MTA e MTN

<b>Amostra</b>	<b><math>\Delta T</math> / °C</b>	<b><math>\Delta\%</math> Perda de Massa</b>
<b>MB</b>	1° estágio 28- 95	12,5
	2° estágio 261-337	58,0
	3° estágio 337-900	17,0
<b>MTB</b>	1° estágio 28- 95	13,0
	2° estágio 261-337	62,0
	3° estágio 337-900	13,2
<b>MTA</b>	1° estágio 28- 95	13,0
	2° estágio 261-337	72,0
	3° estágio 337-900	8,4
<b>MTN</b>	1° estágio 28- 95	13,0
	2° estágio 261-337	67,0
	3° estágio 337-900	12,9

#### 5.1.4 Morfologia dos grânulos de amido dos materiais MB, MTB, MTA e MTN

Na Figura 14 estão apresentadas as micrografias do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos por diferentes rotas. Observando-se a figura 14 (a), referente ao mesocarpo *in natura*, é possível notar estruturas mais aglomeradas, com grânulos de amido maiores quando comparados aos demais.

**Figura 14.** Microscopia eletrônica de varredura dos grânulos de amido do mesocarpo de babaçu *in natura* (A), e dos amidos extraídos pelas rotas básica (B), ácida (C) e neutra (D) com aumento de 1000x.



Nas figuras 14 (b), 14 (c) e 14 (d), as quais são referentes aos amidos extraídos pelas rotas básica, ácida e neutra, respectivamente. Nota-se uma diferença na morfologia quando comparados à figura 14 (a). O amido de mesocarpo de babaçu *in natura* apresentou grânulos com formato ovalado, já nos amidos produzidos após os tratamentos os grânulos assumiram forma semiesférica, como se tivessem sofrido rompimento de sua estrutura. Além disso, é

possível notar também que os materiais apresentaram morfologia mais homogênea, com ausência de formação de grandes aglomerados, principalmente nos amidos MTB e MTN.

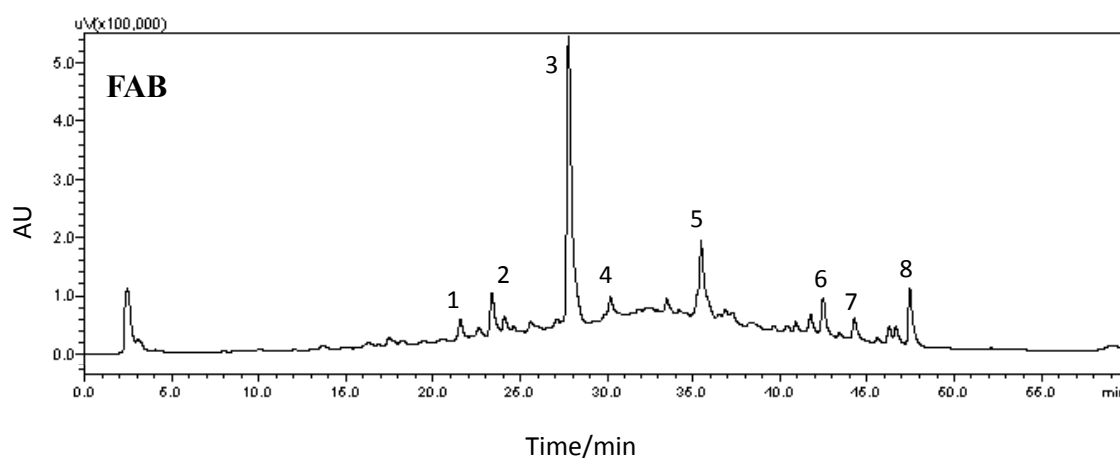
Comportamento semelhante foi observado por Maniglia e Tápia- Blácido (2016), que após isolamento de amido de mesocarpo de babaçu por diferentes rotas, observaram que no mesocarpo *in natura* os grânulos eram mais aglomerados que nos amidos extraídos, devido à presença de proteínas, fibras e lipídeos. A diferença observada na morfologia dos grânulos sugere que após os tratamentos, esses compostos foram removidos, produzindo assim, amidos mais puros.

## 5.2. Identificação do extrato hidroetanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* (FAB)

### 5.2.1. Perfil cromatográfico do extrato FAB por HPLC-UV/Vis

A Figura 15 mostra o perfil cromatográfico do extrato hidroetanólico das folhas de *A. brachypoda*. Observando o cromatograma, nota-se a presença de compostos de alta e média polaridade, sendo o extrato rico em compostos fenólicos, principalmente em flavonóides. Os compostos de 1 a 5 são classificados em flavonóides comuns, tais como apigenina, quercetina, rutina, luteolina e kaempferol (ROCHA, 2013), e os compostos 6 a 8 classificados como flavonóides incomuns, denominados de braquidinas A, B e C (ROCHA, *et al.*, 2019)

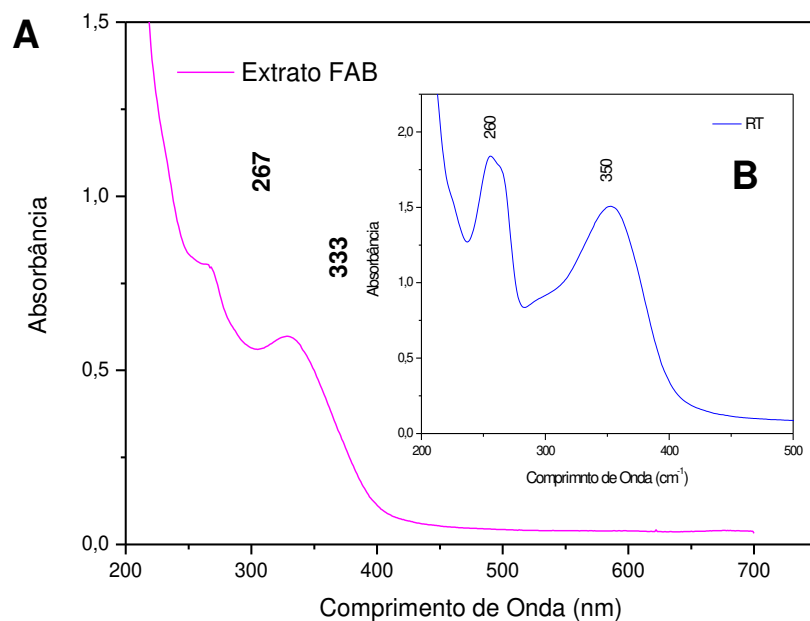
**Figura 15.** Cromatograma obtido por HPLC-Uv/Vis no comprimento de onda de 254nm do extrato bruto das folhas de *Arrabidaea brachypoda*. Condições da análise: coluna C18 150 x 4.8 mm, 5 micro, 100 °A, eluentes: A (água+ ácido fórmico 0,01%) e B (metanol + ácido fórmico 0,01%), gradiente 5% a 100% de B em 70 min. Vazão: 1mL/min.



O pico 3 com área extensa e acentuada corresponde ao flavonoide rutina, que nesse caso, por ser o componente majoritário, foi utilizado como marcador químico biológico desse

extrato. Dourado e Ladeira (2008), identificaram flavonóides dos extratos metanólicos de caules e folhas da espécie *Hypericum cordatum*. Uma planta nativa do cerrado. Nesse estudo a rutina foi identificada com tempo de retenção próximo a 28 minutos, condizente com dados encontrados neste trabalho. O extrato e a rutina padrão também foram acompanhados quanto ao perfil de Absorção Molecular no Ultravioleta/ Visível, apresentado na Figura 16.

**Figura 16.** Espectros na Região do Ultravioleta do extrato bruto FAB, concentração 100 mg/L (A). **Inserção:** Espectro na Região do Ultravioleta da Rutina padrão (B), concentração 100 mg/L

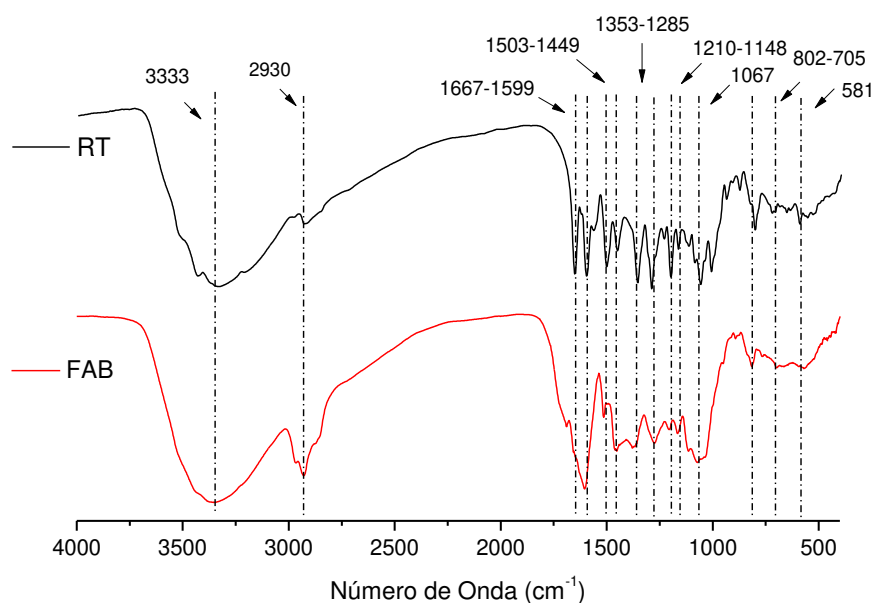


Os métodos espectrofotométricos são auxiliares na identificação e quantificação de flavonóides. Os fenóis absorvem em duas regiões no Ultravioleta, com máximos de absorção entre 240-285 nm, e 300-550 nm. Assim, flavonas, flavonóis e flavonóis glicosilados, classe à qual se enquadra a Rutina, serão usualmente detectados nesses comprimentos de onda (HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). O extrato bruto das folhas de *Arrabidaea brachypoda* apresentou dois máximos de absorção, em 267 nm e 333 nm, próximos àqueles encontrados para a Rutina utilizada como padrão, que apresentou máximos de absorção em 260 nm e 350 nm. Essa diferença está relacionada ao fato de que o extrato apresenta em sua composição, uma mistura de flavonóides, além do componente majoritário que é a rutina.

### 5.2.2. Espectroscopia de Infravermelho do extrato bruto das folhas de *Arrabidaea brachypoda* e Rutina Padrão

Na Figura 17 tem-se o espectro de infravermelho do extrato hidroetanólico das folhas de *A. brachypoda*, e do padrão rutina. A banda observada em 3333  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento da hidroxila fenólica. Em 2930  $\text{cm}^{-1}$  tem-se a deformação axial da ligação C-H de aromáticos. A banda em 1667  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento da carbonila (C=O), as bandas em 1599  $\text{cm}^{-1}$ , 1503  $\text{cm}^{-1}$  e 1449  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento do anel fenil (C=C). A banda em 1353-1285  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento das ligações -C-CO-C- e em 1067  $\text{cm}^{-1}$  é decorrente das vibrações de estiramento do grupo C-O em álcoois e fenóis. As bandas em 1210  $\text{cm}^{-1}$  e 1148  $\text{cm}^{-1}$ , correspondem ao estiramento de C-O-C e deformação dos grupos O-H das unidades glicosídicas. A banda em 802  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à vibração fora do plano das ligações  $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ . Em 705  $\text{cm}^{-1}$  têm-se as deformações angulares de anéis aromáticos monossustituídos. Em 581  $\text{cm}^{-1}$  tem-se banda característica das deformações dos grupamentos CH=CH fora do plano (OLIVEIRA, 2014).

**Figura 17.** Espectro de Infravermelho do Extrato Bruto das folhas de *A. brachypoda* (FAB) em comparação com Rutina padrão (RT)



A similaridade entre os espectros FTIR do extrato FAB e rutina padrão, indica a presença de grupos semelhantes em ambos. Assim, em associação aos dados encontrados por HPLC/UV-Vis pode-se concluir que a rutina é o componente majoritário no extrato, sendo, portanto, utilizada como marcador químico do mesmo. Os filmes foram produzidos

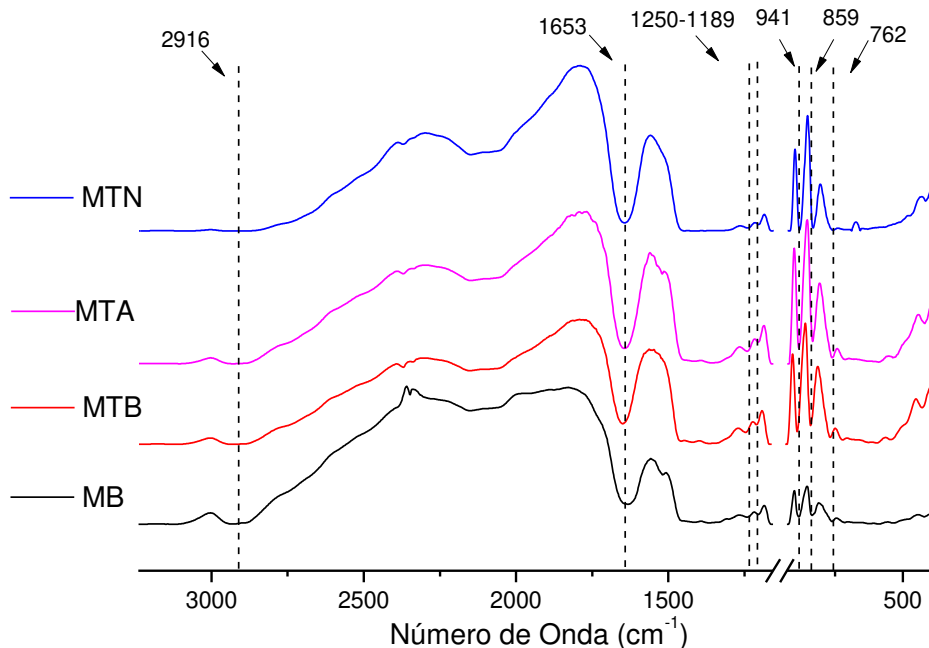
empregando-se uma massa fixa de 0,015 g de extrato FAB e foram caracterizados conforme explicitado a seguir.

### 5.3. Caracterização dos filmes após incorporação do Extrato FAB

#### 5.3.1. Espectroscopia de Infravermelho dos filmes antes e após incorporação do extrato

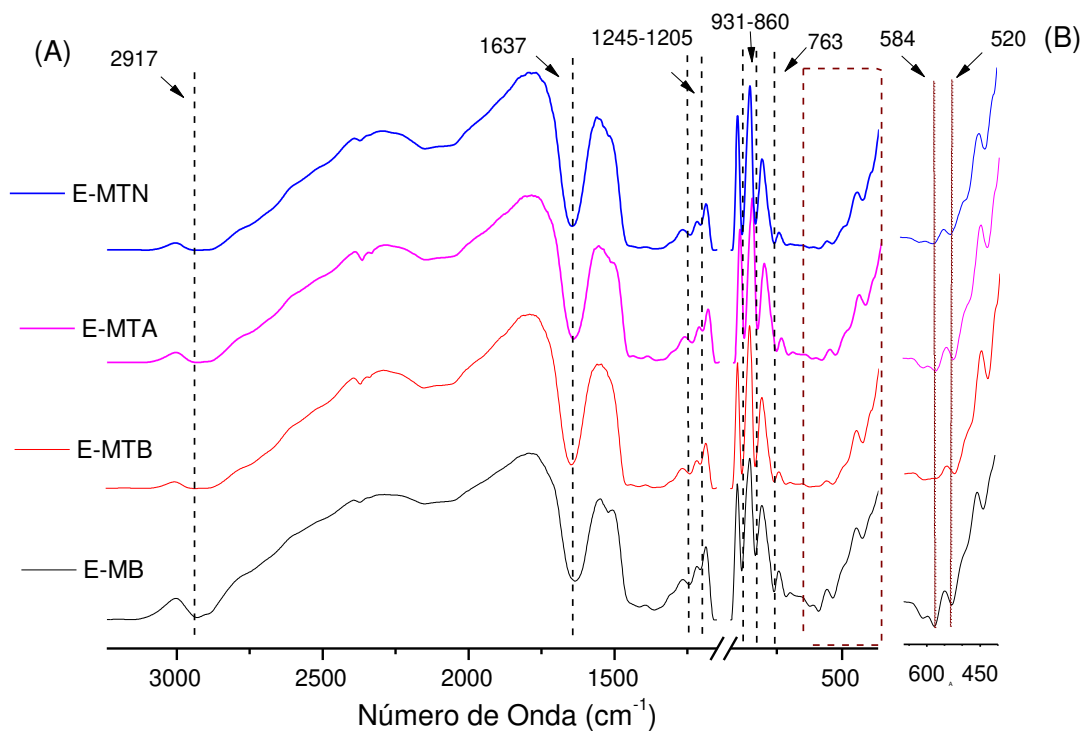
A fim de identificar possíveis interações entre matriz e extrato, fez-se as análises de espectroscopia na região do infravermelho das amostras. A Figura 18 mostra os resultados referentes aos filmes produzidos a partir do mesocarpo de babaçu e amidos extraídos. Em  $2916\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda de pequena intensidade, relacionada às vibrações simétricas e assimétricas das ligações C-H e  $\text{CH}_2$ . Em  $1653\text{ cm}^{-1}$  tem-se banda associada à deformação axial do grupo OH proveniente de água adsorvida. Observa-se uma maior intensidade dessa banda devido a adição de glicerol (plastificante), que contribui na retenção de moléculas de água na superfície do filme. Em  $1250, 1189$  e  $941\text{ cm}^{-1}$  tem-se bandas relacionadas à estiramento das ligações C-O. As bandas em  $869$  e  $762\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às vibrações fora do plano das ligações  $=\text{C}-\text{CH}$ . Os filmes, como de se esperar, apresentaram as mesmas bandas observadas na Figura 11, referente aos amidos precursores.

**Figura 18.** Espectros de Infravermelho dos filmes MB, MTB, MTA e MTN



A Figura 19 mostra o espectro de infravermelho dos filmes após incorporação do extrato. Nota-se que os filmes apresentaram as mesmas bandas características relatadas na figura 14, entretanto observou-se aparecimento de duas bandas compreendidas na região de 584 – 520  $\text{cm}^{-1}$  que estão relacionadas às deformações dos grupamentos  $\text{CH}=\text{CH}$  fora do plano. Essa banda não foi observada nos amidos precursores, nem nos filmes. Entretanto, foi observada no espectro do extrato FAB, corroborando com a hipótese de que houve interação entre matriz e extrato.

**Figura 19.** Espectros de Infravermelho das amostras E-MB, E-MTB, E-MTA e E-MTN, região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ (A), e da região compreendida entre 600 e 400  $\text{cm}^{-1}$  (B).



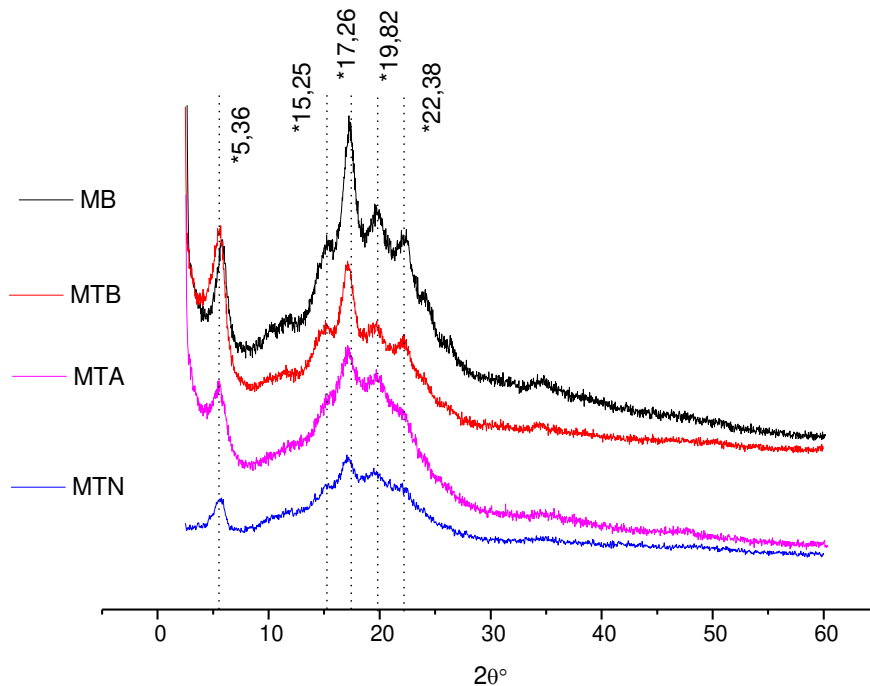
### 5.3.2. Difractogramas de Raios X dos filmes de mesocarpo de babaçu

Os padrões de difração foram usados a nível de comparação para identificar quaisquer alterações dos materiais após incorporação do extrato na matriz. A Figura 20 mostra o padrão de difração dos filmes dos amidos precursores. Nota-se um perfil de difração muito parecido ao apresentado na Figura 12. Os filmes também apresentaram picos em ângulos próximos à 5°, 15°, 17° e 20°. Contudo, pode-se observar um pico novo, em 19,82°, isso ocorre porque após o processo de gelatinização e retrogradação, as moléculas de amido tem a tendência a se



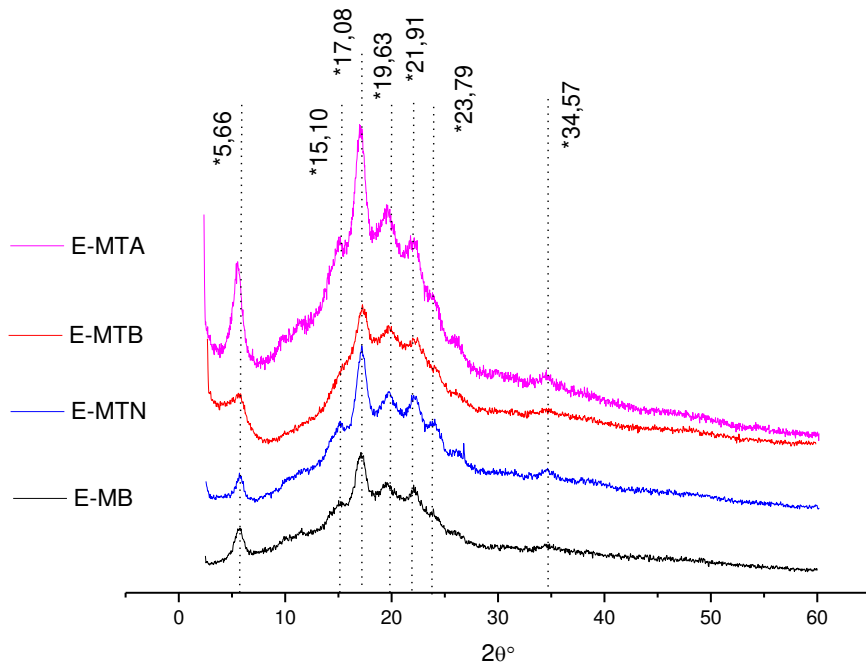
rearranjar de forma mais organizada, favorecendo o aumento da cristalinidade, e por consequência, definindo melhor os padrões de difração.

**Figura 20.** Difratoograma de Raios X das amostras de filmes antes da incorporação do extrato



Na Figura 21, estão dispostos os difratogramas dos filmes após incorporação do extrato. Nota-se que os padrões de difração foram mantidos, entretanto em alguns casos, como E-MTN, E-MTA as intensidades foram maiores; com maior evidência em E-MTA. Nota-se também o aparecimento de novos picos em  $21,91^\circ$  e em  $34,57^\circ$  nos padrões de difração de todos os filmes. Isso pode estar relacionado à presença do extrato FAB nos filmes. No processo de gelatinização, os grânulos de amido tendem a inchar, como este possui duas unidades básicas, a amilose e amilopectina, sendo a segunda ramificada, durante o inchamento as moléculas de água tendem a se alojar entre essas unidades, formando um material gelatinoso (MALI *et al.*, 2010). No caso da incorporação do extrato, além das moléculas de água, o extrato FAB também acaba exercendo esse papel. Mesmo o extrato FAB tendo características amorfas, sua presença na matriz após a retrogradação, ajuda na reorganização do material, produzindo estruturas mais firmes e cristalinas, modificando assim, os perfis de difração. A diferença entre as figuras 20 e 21 sugere que o extrato foi incorporado ao filme.

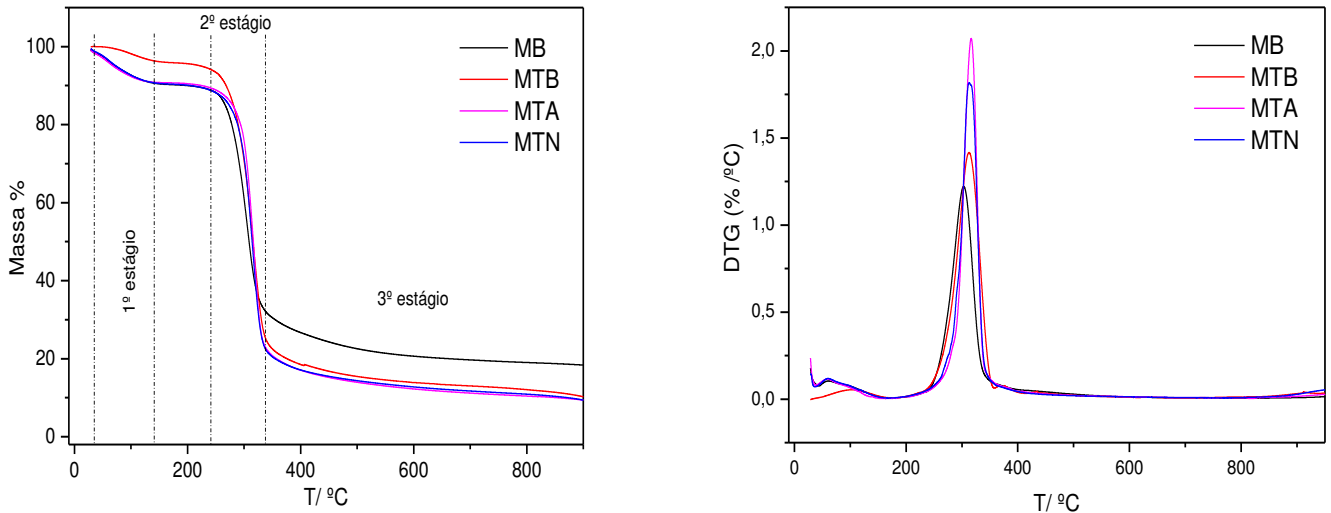
**Figura 21.** Difrátogramas de raios X dos filmes após incorporação do extrato FAB



### 5.3.3 Análise termogravimétrica dos filmes antes e após incorporação do extrato

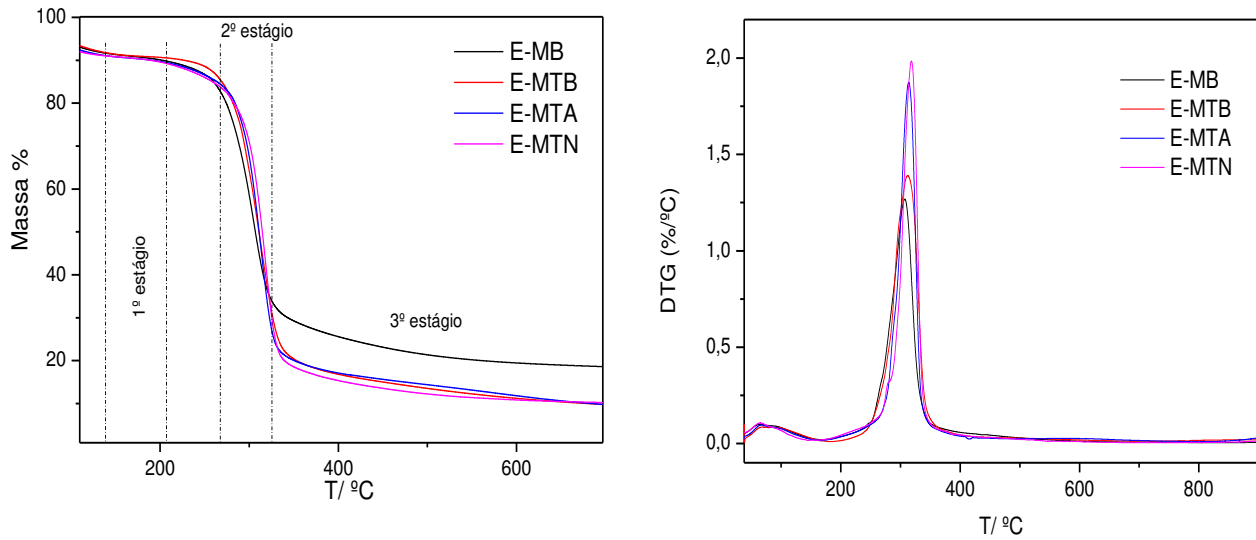
Os filmes foram avaliados também quanto às suas propriedades térmicas, a Figura 22 mostra as curvas TG dos filmes antes da incorporação do extrato. Assim como ocorrido nos sólidos precursores, os filmes apresentaram três estágios significativos de perda de massa. No primeiro estágio, que vai de 35 °C a 140 °C, todos os materiais tiveram uma perda de massa de 9,0 %, referente à saída de moléculas de água da superfície. No segundo estágio, compreendido entre 250 °C e 341 °C houve perda mais significativa, relacionada à degradação do polissacarídeo que ocorre por despolimerização a altas temperaturas. Nesse estágio as perdas de massa foram de 57,0 % para MB, 70,0 % para MTB, 67,0 % para MTA e 69,0 % para MTN. No último estágio, que inicia em 345 °C e vai até 900 °C, as perdas foram de massa foram de aproximadamente 10,0 % em todos os filmes. Este último estágio está relacionado à decomposição do material. Como era de se esperar, o comportamento dos filmes foi semelhante ao observado para os sólidos precursores. As etapas de degradação, e as porcentagens de perda de massa foram muito próximas aquelas relatadas na Figura 13.

**Figura 22.** Curvas termogravimétricas dos filmes antes da incorporação do extrato e suas respectivas derivadas



As curvas termogravimétricas dos filmes após incorporação do extrato estão apresentadas na Figura 23. No primeiro estágio de degradação, que teve início em aproximadamente 35 °C e se estende até 130 °C, todos os filmes apresentaram perda de massa de 8,0 %. Como já foi relatado, essa etapa inicial corresponde a saída de água da superfície do material. Os filmes com extrato incorporado apresentaram valores menores de perda, indicando que possivelmente, a presença do extrato na matriz reduz sua afinidade por água. O segundo estágio de perda teve início em 210 °C e se estendeu até 335 °C, nessa etapa os filmes apresentaram valores de perda de 61,0 % para E-MB, 71,0 % para E-MTB, 72,0 % para E-MTA e 72,5 % para E-MTN. Como já foi relatado, essa etapa corresponde à despolimerização do polissacarídeo, entretanto, os filmes apresentaram perda de massa um pouco maior do que os precursores, isso ocorre porque nessa região também ocorre degradação dos metabólitos presentes no extrato FAB, o que significa que a perda de massa um pouco mais acentuada dessas matrizes, ocorrem também pela degradação do extrato em altas temperaturas. No último estágio, compreendido entre 340 °C e 900 °C, as perdas de massa foram de 14,0 % para E-MB e 9,0 % para os demais filmes. Analisando as perdas de massa, pode-se inferir que de fato o extrato foi incorporado na matriz.

**Figura 23.** Curvas termogravimétricas dos filmes após incorporação do extrato e suas respectivas derivadas



Na Tabela 3 apresenta-se o percentual de perda de massa, assim como os intervalos de temperatura correspondentes para cada evento observado.

**Tabela 3.** Percentuais de perda de massa obtidos por TG para os filmes antes e após incorporação do extrato.

Amostra	$\Delta$ Perda de Massa (%)	Amostra	$\Delta\%$ Perda de Massa
<b>1º Estágio 35 °C- 140° C</b>			
<b>MB</b>	9,0%	<b>E-MB</b>	8,0%
<b>MTB</b>	9,0%	<b>E-MTB</b>	8,0%
<b>MTA</b>	9,0%	<b>E-MTA</b>	8,0%
<b>MTN</b>	10,0%	<b>E-MTN</b>	8,0%
<b>2 ° Estágio 210 °C- 341 °C</b>			
<b>MB</b>	57,0%	<b>E-MB</b>	61,0%
<b>MTB</b>	70,0%	<b>E-MTB</b>	71,0%
<b>MTA</b>	67,0%	<b>E-MTA</b>	72,0%

<b>MTN</b>	69,0%	<b>E-MTN</b>	72,5%
<b>3 ° Estágio 341 °C- 900 °C</b>			
<b>MB</b>	10,0%	<b>E-MB</b>	14,0%
<b>MTB</b>	9,0%	<b>E-MTB</b>	9,0%
<b>MTA</b>	9,0%	<b>E-MTA</b>	9,0%
<b>MTN</b>	10,0%	<b>E-MTN</b>	9,0%

Visando identificar algumas características funcionais, os filmes foram caracterizados quanto à umidade, solubilidade, absorção de vapor de água, absorção máxima de fluidos e ensaios mecânicos.

#### 5.3.4 Umidade $\omega$ [%]

A variação nas respostas dos filmes antes e após incorporação do extrato em umidades relativas ( $\omega$ ) diferentes estão apresentadas na Tabela 4. Nota-se que, quando os materiais foram equilibrados em UR 58%, apresentaram valores de  $\omega$  próximos entre si, com teores variando entre aproximadamente 10 e 12 %. Observa-se que, nesse caso, a inserção do extrato não ocasionou diferença significativa quanto aos valores obtidos. Quando a umidade relativa é aumentada para UR 75%, os filmes sem extrato (MB, MTB, MTA e MTN) tiveram um teor de  $\omega$  um pouco maior quando comparados ao ambiente com UR 58%. Em contrapartida, os filmes com extrato incorporado (E-MB, E-MTB, E-MTA e E-MTN) mantiveram o mesmo perfil, com valores muito próximos àqueles obtidos em UR 58%.

A umidade está relacionada às propriedades de barreira dos filmes. Em filmes de amido pode-se justificar essa característica com base no conteúdo de amilose e amilopectina nos materiais. Amidos com menor teor de amilose formam uma rede menos linear na matriz, com menos interações entre os polímeros (Maniglia *et al.*, 2017). Consequentemente, mais sítios estariam disponíveis para interagir com moléculas de água, o que justificaria os maiores valores de umidade. Nessa perspectiva o extrato FAB também estaria interagindo com a matriz, ocupando os sítios e dificultando a interação dos filmes com as moléculas de água. Por essa razão, mesmo em umidade relativa maior, os materiais tendem a manter o mesmo perfil.

**Tabela 4.** Umidade dos filmes antes em após incorporação do extrato, com UR 58% e UR 75%

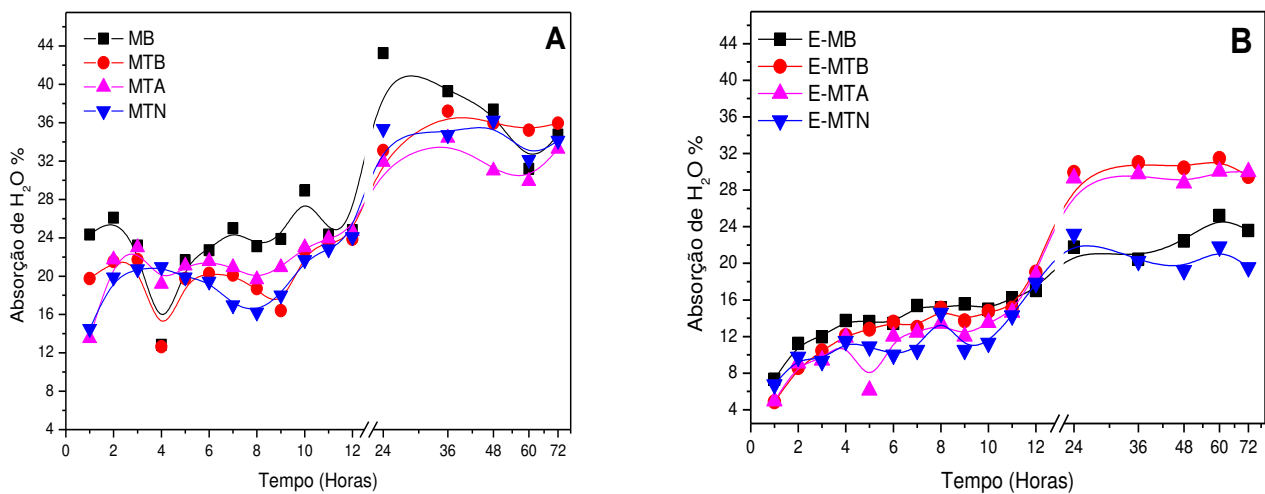
<b>Amostras</b>	<b><math>\omega</math> [%] UR: 58%</b>	<b><math>\omega</math> [%] UR: 75%</b>
<b>MB</b>	11,10 $\pm$ 6,38	12,71 $\pm$ 1,12
<b>MTB</b>	10,30 $\pm$ 0,10	9,26 $\pm$ 0,91
<b>MTA</b>	10,80 $\pm$ 0,64	13,60 $\pm$ 1,09
<b>MTN</b>	9,92 $\pm$ 0,48	11,66 $\pm$ 0,64
<b>E-MB</b>	11,30 $\pm$ 1,18	12,96 $\pm$ 0,41
<b>E-MTB</b>	12,51 $\pm$ 0,44	12,25 $\pm$ 0,44
<b>E-MTA</b>	11,78 $\pm$ 1,46	11,78 $\pm$ 1,62
<b>E-MTN</b>	10,39 $\pm$ 0,77	10,26 $\pm$ 0,91

Visando avaliar e elucidar melhor o comportamento dos filmes em relação às suas propriedades de barreira na presença de umidade excessiva, fez-se o ensaio de absorção de vapor de água, descrito a seguir.

### 5.3.5 *Absorção de Vapor de água*

O ensaio de absorção de vapor de água foi conduzido em umidade relativa de 95% (NaCl saturada), apresentado na Figura 24. Nas primeiras 12 horas, os filmes foram pesados a cada 1 hora e depois, a cada 12 horas. Observando a Figura 24 (A), nota-se uma variação das porcentagens de absorção nas primeiras 12 horas do experimento, indicando que os filmes precisam de um tempo maior para atingir o equilíbrio. É possível inferir também que a absorção de vapor de água nessas matrizes, é proporcional ao tempo de contato. No decorrer do ensaio houve aumento da capacidade de absorção, com valores variando de 13 % para cerca de 20 %. As capacidades máximas de absorção para os filmes antes da incorporação do extrato foram de 39%, 36%, 35% e 33% para MB, MTB, MTN e MTA respectivamente.

**Figura 24.** Absorção de vapor de água dos filmes antes (A) e após incorporação do extrato (B)



Analisando a Figura 24 (B), que mostra os resultados referentes às matrizes com extrato incorporado, nota-se que nas primeiras 12 horas a absorção de água acontece de forma mais constante, quando comparada à Figura 24 (A). Isso pode estar relacionado ao fato de que os filmes após incorporação do extrato tendem a ser menos higroscópicos.

A capacidade de absorção de água está relacionada à disponibilidade dos grupos -OH do amido. O comportamento observado, pode ser então explicado com base nas interações entre extrato e matriz. Após a incorporação, o número de grupos -OH ativos para a ligação com água diminui devido à formação de ligações de hidrogênio entre a matriz e o extrato, o que acaba tornando os materiais menos hidrofílicos. Nas primeiras 12 horas as capacidades máximas de absorção, mesmo em umidade relativa maior, apresentaram resultados semelhantes àqueles relatados na Tabela 3, com valores variando entre 24 %, 30%, 22% e 29 % para E-MB, E-MTB, E-MTN e E-MTA, respectivamente. A partir de 24 horas nota-se uma tendência ao equilíbrio em todas as matrizes, indicando a saturação de sua superfície. Segundo Bueno *et al.*, (2016) o comportamento dos filmes na presença de umidade pode indicar também seu tipo de aplicação. Matrizes que mantêm a umidade do meio constante, podem ser aplicadas em sistemas de uso tópico, bem como de cicatrização de ferimentos, pois por reterem umidade em níveis adequados, não dessecam a área afetada, nem promovem a maceração do ferimento por umidade excessiva. Dessa forma pode-se inferir que as matrizes produzidas neste estudo podem ser aplicadas em sistemas de uso tópico.

### 5.3.6 Capacidade de Absorção em soluções aquosas e solubilidade

Para avaliar o comportamento dos filmes em soluções isotônicas aquosas de pH próximo ao dos fluidos corporais, fez-se o ensaio de capacidade de absorção dos filmes conforme metodologia descrita por Bueno (2014).

A capacidade de absorção de fluidos e a estabilidade dos filmes foi avaliada em diferentes soluções aquosas de modo a simular as suas possíveis condições de aplicação. Nestes ensaios utilizou-se solução salina (NaCl a 0,9% m/v), a qual pode ser potencialmente empregada para a hidratação dos filmes antes de seu uso *in vivo*; fluido corpóreo simulado (FCS) e tampão fosfato salino (PBS), que são soluções isotônicas com concentração de sais próxima à do corpo humano. Os dados estão mostrados na Tabela 5. Analisando os dados referentes às capacidades máximas de absorção nas soluções PBS, FCS e NaCl 0,9% nota-se que os filmes tiveram comportamento semelhante, com baixas capacidades de absorção. Nota-se também uma menor capacidade de absorção quando se avalia os filmes com extrato incorporado, e ainda que os tratamentos ácido, básico e neutro não influenciam nesse parâmetro.

**Tabela 5.** Capacidade de absorção dos filmes em soluções aquosas (tampão PBS, FCS e NaCl 0,9%) e solubilidade (S %).

Amostra	Tampão PBS	FCS	NaCl 0,9 %	S[%]
	Abs <sub>máx</sub> 37°C			
<b>MB</b>	1,43±0,19	1,42±0,26	1,28±0,01	1,09±0,01
<b>MTB</b>	1,76±0,48	1,26±0,13	1,46±0,02	1,10±0,01
<b>MTA</b>	1,62±0,01	1,99±0,26	2,15±0,08	1,10±0,01
<b>MTN</b>	1,77±0,15	1,69±0,09	1,62±0,04	1,11±0,01
<b>E-MB</b>	1,04±0,01	1,06±0,02	1,11±0,04	1,10± 1·10 <sup>-2</sup>
<b>E-MTB</b>	1,06±0,08	0,92±0,04	1,21±0,03	1,08± 9·10 <sup>-2</sup>
<b>E-MTA</b>	1,22±0,01	1,34±0,20	1,49±0,17	1,09±0,05
<b>E-MTN</b>	1,03±0,02	1,04±0,02	0,99±0,05	1,10 ± 3·10 <sup>-2</sup>

Os resultados de solubilidade evidenciaram que as matrizes apresentaram grande estabilidade em meio aquoso, mantendo-se íntegras com cerca de 1% de massa solubilizável.



Assim como a umidade relativa, a capacidade de absorção de fluidos e a solubilidade estão relacionadas aos teores de amilose e amilopectina do material, e das interações entre essas cadeias. As moléculas de amilose e amilopectina interagem entre si no processo de reorganização da cadeia polimérica que acontece durante a formação do filme. De acordo com Mali *et al.*, (2010) as moléculas de amilose por terem cadeia linear, tendem a se orientar paralelamente aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas dos polímeros adjacentes, por essa razão, no processo de retrogradação, há formação de uma estrutura mais ordenada, e por consequência mais firme.

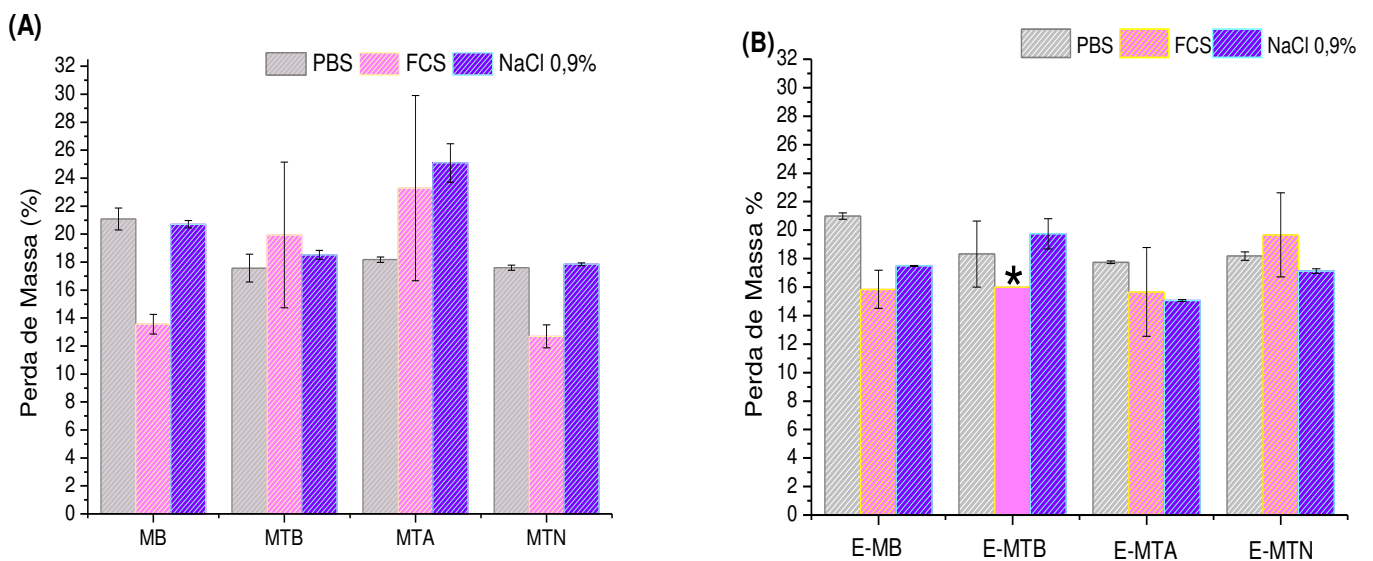
Com base nisso, quantidades menores de amilose, e interações mais fracas entre os polímeros, facilitariam a difusão de água no filme, fazendo com que este sofra desgaste, perdendo massa com muita facilidade e por consequência, quando se fala de matrizes carregadoras de substâncias ativas, esse processo de difusão lixiviaria com mais facilidade o princípio ativo, fazendo com que fosse liberado de forma imediata. Dessa forma, pelo exposto, pode-se inferir que os tratamentos empregados na purificação do mesocarpo foram eficientes para se obter amidos mais puros, e por consequência, filmes com boas propriedades. Os filmes com extrato incorporado também apresentaram baixos valores de solubilidade, indicando que as interações entre extrato e matriz se dão através de ligações mais fortes, além disso a incorporação não altera a organização dos filmes, mas contribui para melhoria de suas propriedades. Dado o exposto, pode inferir que as matrizes produzidas apresentaram boas características para serem aplicadas em sistemas de liberação controlada.

### 5.3.7 Estabilidade dos filmes em soluções aquosas

A estabilidade dos filmes, expressa em função da perda de massa, está apresentada na Figura 25. Nota-se que, de maneira geral, os filmes apresentaram boa estabilidade durante o período do ensaio. Na Figura 25 (A) pode-se observar que, nas três soluções, os filmes antes da incorporação do extrato apresentaram boa estabilidade, com perdas de massa variando de  $13,0 \pm 0,7 \%$  a  $26,0 \pm 1,3 \%$ . Em PBS as matrizes produzidas pelos amidos extraídos apresentaram valores menores de perda de massa quando comparadas ao mesocarpo *in natura*. Como já foi discutido anteriormente, essas propriedades estão relacionadas às porcentagens de amilose e amilopectina dos materiais, e as interações entre elas. Esse comportamento sugere que os filmes MTB, MTA e MTN, possuem estruturas mais bem organizadas e por consequência, são mais resistentes à dissolução. Curiosamente, em FCS e NaCl 0,9% esse perfil não foi mantido.

Observa-se que em ambas as soluções, o filme MTA apresentou maiores valores de perda de massa quando comparado aos demais. Segundo Bueno *et al.*, (2014) a presença de íons nas soluções testadas poderia induzir à blindagem de cargas dos polissacarídeos, reduzindo a repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas, e por consequência, originando estruturas mais empacotadas e menos solubilizáveis. No filme MTA pode ter acontecido o contrário, e por essa razão, este apresentou maior perda de massa.

**Figura 25.** Estabilidade dos filmes em NaCl 0,9 %, FCS e PBS a 37°C por 5 dias, expresso em % de perda de massa das matrizes antes (A) e após incorporação do extrato (B). \*dissolução da matriz



Na Figura 25 (B), observa-se que os filmes após incorporação do extrato apresentaram comportamento semelhante aos precursores. Assim como observado na Figura 25 (A), em PBS os filmes E-MTB, E-MTA e E-MTN foram mais estáveis que o filme E-MB, apresentando valores muito próximos aos precursores, o que indica que nesse caso, a presença do extrato na matriz não influencia no comportamento dos materiais. Já em FCS, os filmes apresentaram comportamento semelhante entre si, com valores perdas de massa entre  $16,0 \pm 1,3$  % e  $19,0 \pm 2,5$  %. Como já foi relatado anteriormente, isso se deve à presença do extrato na matriz. As interações entre extrato e matriz podem estar ocorrendo por ponte de hidrogênio, dessa forma, fica mais difícil sua difusão em meio aquoso, e por consequência, tornam-se mais estáveis. Curiosamente, o filme E-MTB não seguiu esse perfil, de todas as matrizes, esta foi a única que se dissolveu por completo, não resistindo ao ensaio. Em NaCl 0,9% as perdas de massa variaram entre  $17,0 \pm 0,3$  % e  $21,0 \pm 1,1$  %. Um destaque pode ser dado para o filme E-MTA, nas soluções FCS e NaCl, este apresentou uma perda de massa menor quando comparado aos demais, e

também quando comparado ao filme precursor. Imagina-se que nessa matriz, as interações com extrato são mais fortes que nas demais, por essa razão este apresenta menor perda de massa. Este ensaio também permitiu avaliar a viabilidade dos filmes para possíveis aplicações tópicas. O FCS é uma solução de concentração isotônica semelhante ao plasma sanguíneo, materiais que potencialmente podem ser aplicados por via tópica ou para cicatrização de ferimentos devem ser resistentes nesse fluido (BUENO *et al.*, 2014), pois em um possível rompimento da pele as matrizes não podem sofrer erosão com facilidade, nesse sentido, pode-se concluir que além de apresentarem boa estabilidade, as matrizes podem ser potencialmente empregadas em sistemas de uso tópico. Entretanto apenas o filme E-MTB não seria indicado para essa finalidade, pois nesse caso, os íons presentes na solução podem estar quebrando as ligações entre extrato e matriz, e por consequência, ocasionando sua desintegração.

### 5.3.8 Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes antes e após incorporação do extrato são mostradas na Tabela 6. É claramente observado que os valores de TR tendem a aumentar nas matrizes com extrato (E-MB, E-MTB e E-MTN), curiosamente, o filme E-MTN quando comparado ao precursor (MTN) não apresentou variação significativa.

**Tabela 6.** Propriedades mecânicas dos filmes antes e após incorporação do Extrato

Amostra	Tensão TR (MPa)	Deformação	Módulo de Elasticidade
		$\epsilon$ (%)	E (MPa)
MB	9,35±0,82	2,44±0,20	4,00±0,42
MTB	12,31±2,29	2,80±0,15	4,46±1,03
MTA	20,30±5,16	4,70±1,08	4,31±0,48
MTN	29,24±2,20	4,12±0,21	7,10±0,44
E-MB	15,46±3,15	3,28±0,05	4,73±1,03
E-MTB	26,92±4,55	3,33±0,47	8,08±1,02
E-MTA	23,22±2,43	3,68±0,26	6,32±0,63
E-MTN	29,16±1,10	4,18±0,38	7,03±0,07

É sabido que os valores de TR estão relacionados com a força das ligações entre as moléculas que compõem o filme (MALI *et al.*, 2010). Polímeros mais fortemente ligados, tem a tendência a serem mais resistentes a forças externas. Analisando os dados de TR dos materiais

precursores nota-se, comparados ao mesocarpo *in natura*, esses se mostraram mais resistentes, com destaque para os amidos extraídos pela rota ácida e neutra. Após a incorporação do extrato os valores aumentaram sutilmente, com exceção do filme E-MTN que não apresentou diferença em relação ao filme precursor.

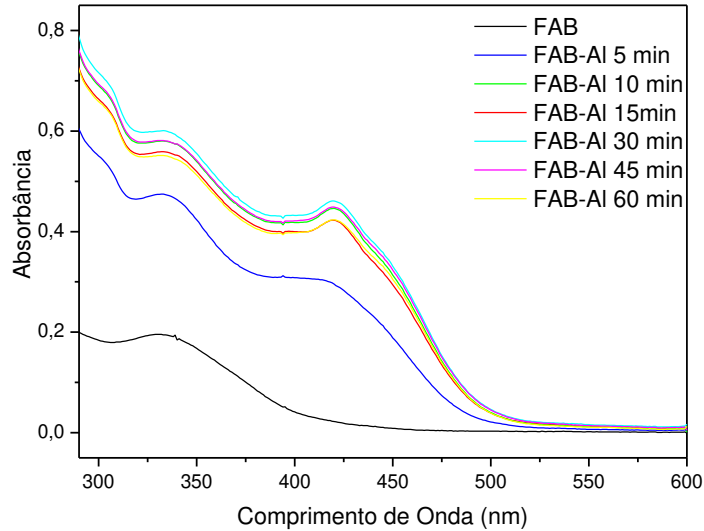
Devi e Dutta (2019) relataram em seu trabalho que o aumento a resistência à tração dos compósitos de amido por eles desenvolvidos, estavam relacionados a interações de hidrogênio entre o polímero e a substância incorporada, dessa maneira pode-se inferir que o mesmo poderia ter acontecido no presente estudo, significando que nas matrizes amido-extrato as moléculas estão mais bem organizadas e mais fortemente ligadas.

Analisando os módulos de elasticidade (E) nota-se um comportamento muito semelhante ao ocorrido com os valores de TR. Os filmes com extrato incorporado apresentam valores de E maiores que os precursores. Com exceção do filme E-MTN, que assim como relatado anteriormente, manteve o mesmo perfil, sem diferenças significativas. Um aumento nos valores de E significam uma maior rigidez do material, e, portanto, menos flexíveis ou alongáveis estes serão e maior será a força necessária para que se rompam. Dessa forma, os valores de E encontrados para as matrizes com extrato estão condizentes com a hipótese levantada anteriormente, de que a interação extrato-matriz ocorre por ligações mais fortes, influenciando nos parâmetros mecânicos do material. Além disso, observa-se ainda que os valores de deformação ( $\epsilon$ ) obtidos para todas as matrizes, foram muito próximos entre si, significando que a presença do extrato na matriz não altera sua flexibilidade. Esses dados corroboram com a hipótese levantada anteriormente, de que a presença do extrato altera as propriedades dos materiais, tornando-os mais rígidos, mais resistentes e menos flexíveis.

#### **5.4 Determinação do melhor tempo de complexação do extrato FAB e RT padrão**

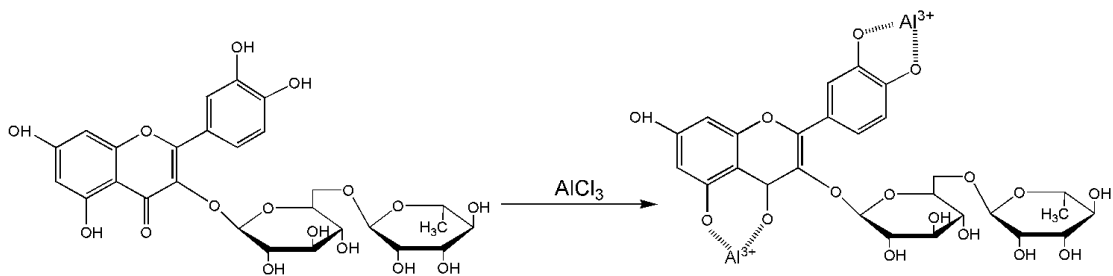
A Figura 26 mostra os espectros de Absorbância do complexo FAB- $Al^{3+}$  em intervalos de tempo pré-estabelecidos. Antes da reação o extrato FAB apresentou banda de absorção máxima próxima à 350 nm. Após a reação de complexação, observou-se um deslocamento batocrômico da banda de absorção máxima para 422 nm. Isto ocorre devido a formação de complexos estáveis entre anéis de cinco e seis membros da aglicona com o  $Al^{3+}$  (Figura 27), que por sua vez, absorvem na região do visível.

**Figura 26.** Espectros de absorvância do complexo Flavonóide- $\text{Al}^{3+}$  em função do tempo de reação, FAB 100 mg/L,  $\text{AlCl}_3$  2% m/v



Ainda observando a Figura 26, nota-se que os máximos de absorvância variaram de acordo com o tempo empregado na reação de complexação. Isso se explica porque a resposta depende de alguns fatores, tais como: padrão de substituição da aglicona e da razão aglicona- $\text{Al}^{3+}$  (PEIXOTO SOBRINHO, 2012). Também é importante destacar que em misturas ou extratos, o perfil de formação destes complexos é diferente do observado para substâncias puras. A Figura 27 mostra a reação de complexação do flavonóide Rutina e  $\text{AlCl}_3$ .

**Figura 27.** Formação de complexo Flavonóide- $\text{Al}^{3+}$  (reação de complexação entre Rutina e  $\text{AlCl}_3$ )

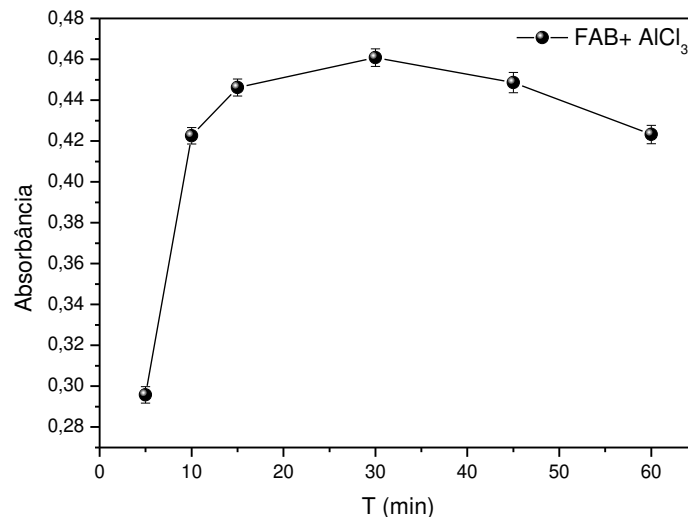


Fonte: Adaptado: PEIXOTO SOBRINHO (2012)

Na Figura 28 estão apresentados os valores de absorvância encontrados em função do tempo. Nos primeiros 5 minutos de reação, observa-se um baixo valor de absorvância, que tende a aumentar conforme o tempo de reação é estendido. O máximo de absorvância foi observado após 30 minutos de reação, escolhendo-se esse como tempo ideal para as leituras no decorrer

do trabalho. Vale salientar que após 30 minutos, houve uma diminuição na ordem de 0,04 u.a, demonstrando a importância desse parâmetro na utilização do método.

**Figura 28.** Cinética de complexação Flavonoide- $Al^{3+}$  no comprimento de onda de 422 nm

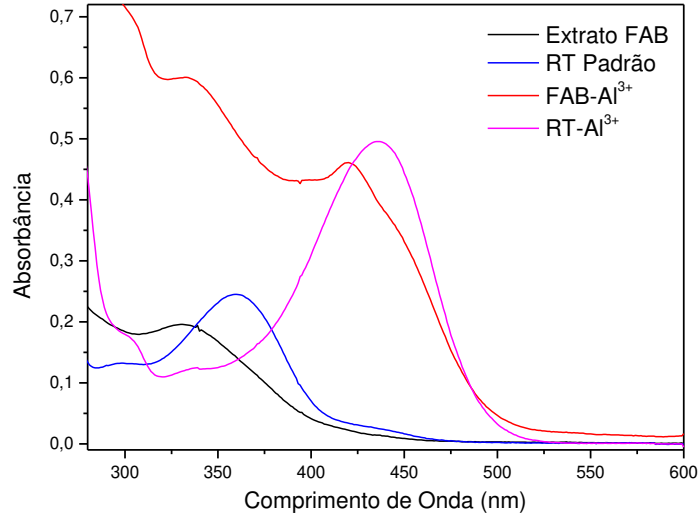


O extrato FAB apresenta como marcador químico o flavonóide Rutina. Com base nisso a Rutina padrão foi empregada como substância de referência na construção da curva de calibração externa, visando a quantificação de extrato no ensaio de liberação *in vitro* dos filmes. Entretanto, para isso, inicialmente estudou-se a seletividade do método.

#### 5.4.1 Seletividade do método

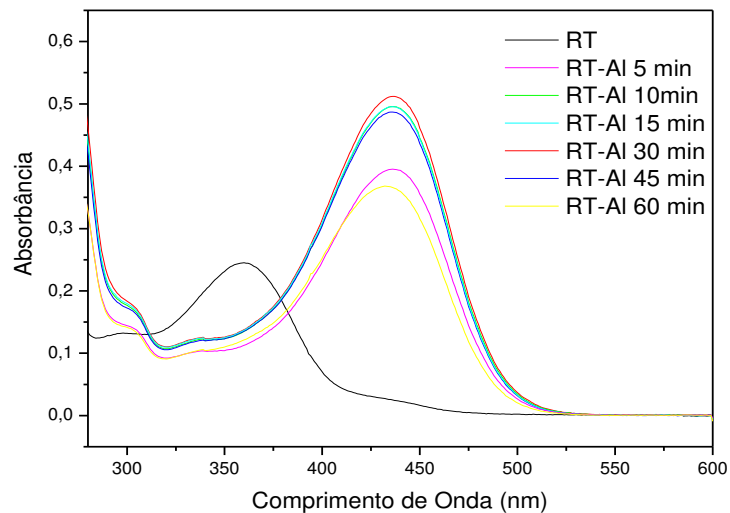
O perfil de resposta do extrato FAB e Rutina padrão está apresentado Figura 29. A avaliação dos espectros permitiu observar que há similaridade entre as respostas de máximo de absorção da solução de RT empregada como referência e a solução de FAB. A sobreposição dos espectros demonstra a ausência de interferentes na matriz capazes de prejudicar a resposta quando o agente complexante é adicionado. Outro ponto a se observar é que embora o extrato FAB e RT padrão não tenham respondido exatamente no mesmo comprimento de onda, com FAB apresentando máximo de absorção em 422 nm, e RT padrão em 434 nm, o método é seletivo. Essa diferença se explica devido ao fato de que o extrato de *Arrabidaea brachypoda* apresenta outras substâncias além do seu marcador químico, que acabam complexando e respondendo também no UV-vis.

**Figura 29.** Sobreposição dos espectros de Absorção Uv-vis das soluções de Rutina padrão e extrato FAB, antes e após complexação com  $\text{AlCl}_3$  2% m/v



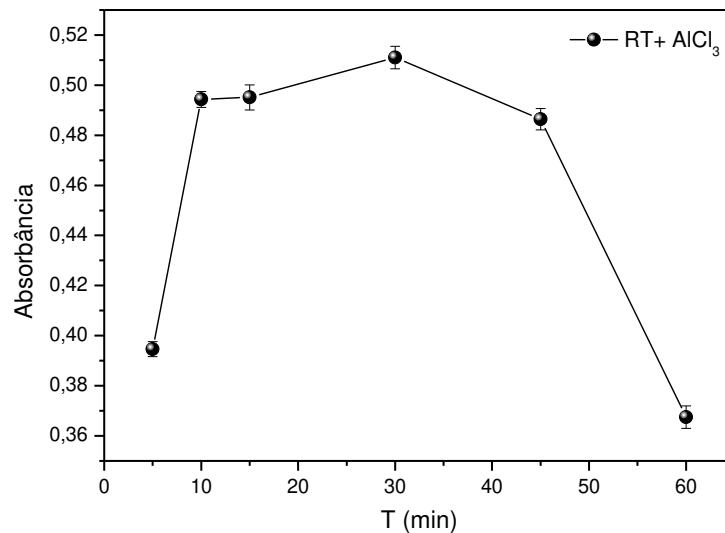
Para construção da curva analítica empregando a rotina padrão, fez-se inicialmente a cinética de complexação da mesma, visando identificar o melhor tempo para a leitura. Na figura 30 tem-se os espectros de absorção do complexo RT- $\text{Al}^{3+}$ . Assim como na Figura 26, nota-se um deslocamento batocrômico dos máximos de absorbância de 350 para 434 nm após a reação de complexação.

**Figura 30.** Espectros de absorção do complexo RT- $\text{Al}^{3+}$  em função do tempo, RT 20 mg/L,  $\text{AlCl}_3$  2 % m/v



Observando a Figura 30 nota-se que, nos primeiros 5 minutos obteve-se baixos valores de absorvância, que tendem a aumentar conforme o tempo de reação se estende, até que se alcance o máximo de absorvância, que neste caso, foi obtido com 30 minutos de reação; após esse período a absorvância diminui na ordem de 0,12 u.a, ainda assim, detectável. Entretanto sabe-se que é mais indicado que se trabalhe nos máximos de absorvância, pois nesses pontos a sensibilidade em relação às variações é muito maior. Dessa forma tomou-se o tempo de 30 minutos como mais apropriado para realização das leituras.

**Figura 31.** Cinética de complexação RT-Al<sup>3+</sup> no comprimento de onda de 434 nm

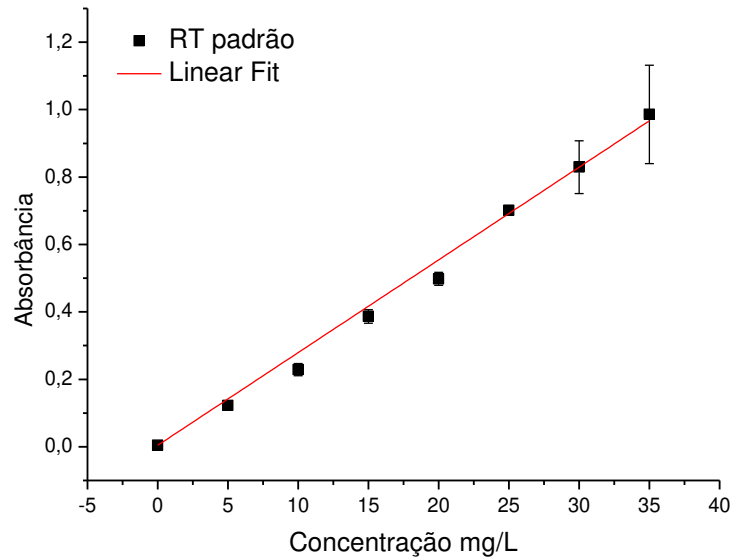


#### 5.4.2 Curva de Calibração Externa- RT padrão

A Figura 32 mostra a curva analítica obtida pela média das absorvâncias de três curvas construídas após a definição do melhor tempo de reação de formação de complexo RT- Al<sup>3+</sup>, em uma faixa concentração RT padrão de 5 a 35 mg/L, com n = 8.



**Figura 32.** Curva analítica obtida a partir da resposta RT padrão, faixa linear de 5 a 35 mg/L



O complexo RT-Al<sup>3+</sup> apresentou resposta linear na faixa empregada, com coeficiente de correlação igual a 0,9991. Com base nos dados da curva, a equação de regressão linear é dada por:

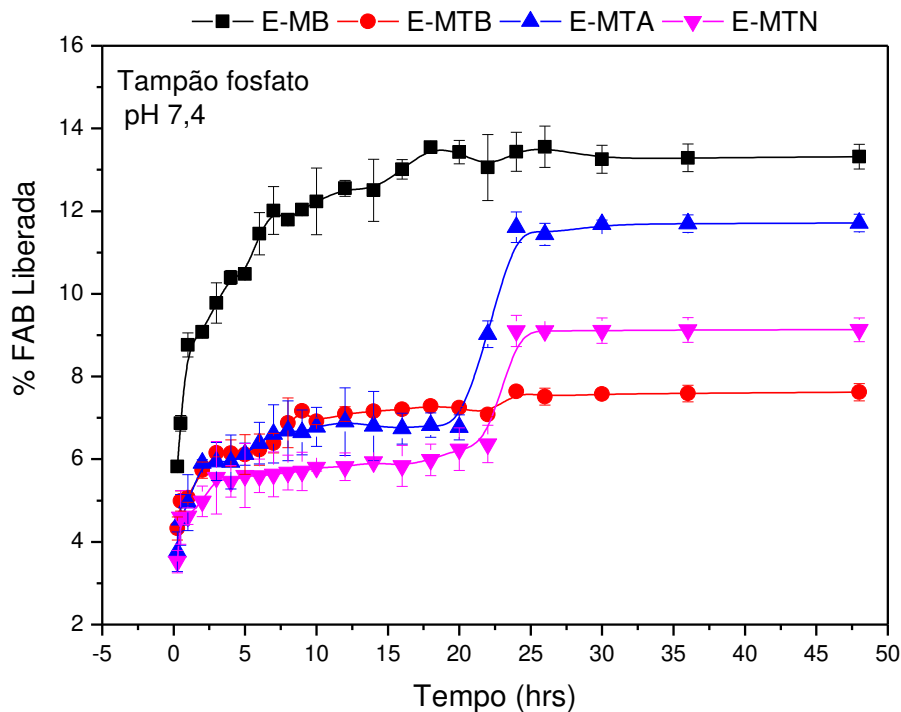
$$Abs = 0,004 + 0,028 [conc_{RT}] \quad \text{Equação 10}$$

Os limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), expressos em mg/L, calculados utilizando o desvio padrão de dez medidas do branco, e o coeficiente angular da reta obtido na curva analítica, foram respectivamente 0,39 mg L<sup>-1</sup> e 1,13 mg·L<sup>-1</sup>.

### 5.5 Liberação *in vitro* do extrato FAB incorporado aos filmes

Os perfis de liberação *in vitro* dos filmes incorporados ao extrato FAB estão dispostos na Figura 33. Nota-se que os materiais obtiveram perfis de liberação diferentes. Com valores variando entre 3 e 13 % de FAB liberado.

**Figura 33.** Perfis de liberação do extrato FAB pelos filmes E-MB, E-MTA, E-MTB e E-MTN. Condições: Tampão fosfato salino (PBS), pH 7,4, período de 48 horas



O filme de mesocarpo de babaçu sem tratamento prévio (E-MB) obteve uma liberação gradativa do início do ensaio até decorrido 20 horas do experimento, observando-se uma tendência à liberação constante a partir deste intervalo de tempo. Esse evento pode ser justificado com base no fato de que o mesocarpo de babaçu *in natura* possui em sua composição várias substâncias além do componente majoritário (amido), assim, pode-se sugerir que as interações entre matriz e extrato sejam fracas, ocasionando a liberação do mesmo logo nas primeiras horas de contato com a solução extratora. Esse fato está de acordo com as informações obtidas através dos ensaios mecânicos, como observado, o filme R-MB obteve menor valor para TR e menor valor para E, em relação aos demais filmes. Sugerindo que nessa matriz, o extrato está de fato mais fracamente ligado, e por isso acaba sendo liberado mais facilmente.

Comportamento diferente foi observado para os materiais E-MTB, E-MTA e E-MTN, onde o primeiro platô foi obtido nas primeiras 4 horas do experimento, e a liberação ocorreu de forma constante durante um período de 20 horas nos três casos, sendo que o filme E-MTB permaneceu com a mesma taxa de liberação até o final do experimento. Já as matrizes E-MTA e E-MTN apresentaram um novo estágio de liberação, com uma nova tendência a um platô a partir de 24 hrs.

Uma hipótese para justificar o fato observado é que a difusão do extrato FAB foi facilitada à medida em que a sua concentração inicial diminuía, comportamento típico de sistemas monolíticos, cuja liberação é majoritariamente controlada pela difusão. Nos sistemas monolíticos, a taxa de liberação depende da concentração inicial do agente ativo na matriz polimérica. Se a concentração do ativo é menor do que o limite de solubilidade na matriz, a difusão através da matriz limita a taxa de liberação. Por outro lado, se a concentração do ativo é maior do que o limite de solubilidade na matriz, a dissolução deste na matriz polimérica limita a taxa de liberação (RAVAL *et al.*, 2010).

Após 24 horas o filme E-MTA apresentou uma taxa de liberação de 11%, um pouco maior quando comparada ao filme E-MTN que foi de 9 %. Isso pode ser explicado a partir do comportamento mecânico apresentado por essas matrizes, o filme E-MTN apresentou valores de TR e E maiores do que o filme E-MTA, significando que este é mais resistente e mais rígido e por consequência a erosão sofrida é menos acentuada (CHEN *et al.*, 2018), por essa razão, o processo de difusão do extrato através da matriz polimérica é mais lento, fazendo com que este tenha uma taxa de liberação um pouco mais baixa do que o filme E-MTA.

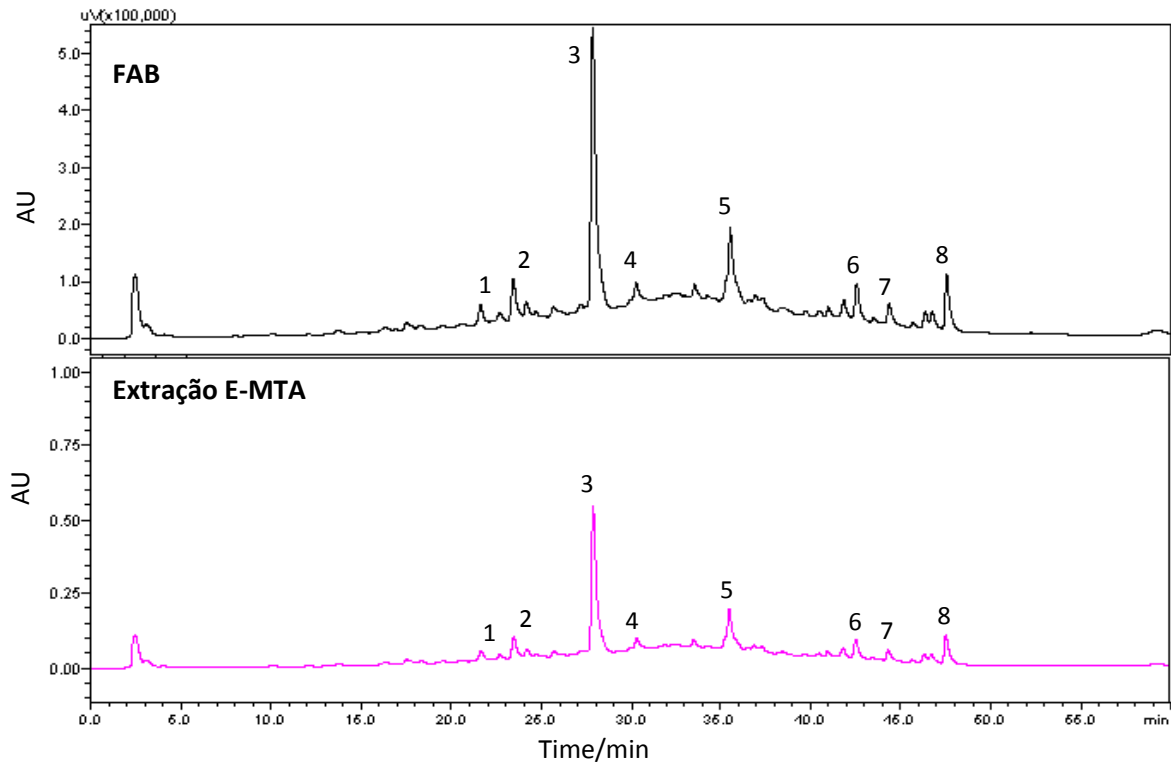
Os filmes, em geral, apresentaram baixa taxa de liberação, retendo a maioria do extrato durante o período de ensaio. Resultados semelhantes foram encontrados por Tuovinen, *et al.*, (2004) no qual os autores estudaram a liberação de timolol e calceína em filmes de acetato de amido na presença e ausência de  $\alpha$ -amilase incorporada. Os ensaios foram conduzidos também em tampão PBS, e se observou que a calceína foi liberada mais lentamente em comparação com o timolol, obtendo uma taxa de liberação de 24% em 5 dias de incubação.

As diferentes taxas de liberação, tornam os materiais interessantes e versáteis, pois permitem que se escolha a matriz adequada para cada aplicação.

#### 5.5.1 Acompanhamento por HPLC-Uv/Vis do ensaio de liberação *in vitro* do extrato FAB

A análise da solução extratora foi feita em HPLC, visando identificar se o após a incorporação na matriz polimérica o extrato mantinha suas características iniciais (Figura 34). Para isso, o filme escolhido foi o E-MTA, por este ter apresentado resultados melhores quando comparado aos demais filmes.

**Figura 34.** Perfil por HPLC-UV/ Vis no comprimento de onda de 254nm do extrato bruto hidroetanólico de *Arrabidaea brachypoda* em comparação com extraído do filme E-MTA. Condições da análise: coluna C18 150 x 4.8 mm, 5 micro, 100 °A, eluentes: A (água+ ácido fórmico 0,01%) e B (metanol + ácido fórmico 0,01%), gradiente 5% a 100% de B em 70 min. Vazão: 1mL/min.



Pode -se observar que o perfil cromatográfico obtido a partir da extração em tampão fosfato salino do filme E-MTA é o mesmo apresentado pelo extrato bruto das folhas de *Arrabidaea brachypoda*, o que comprova que a matriz está liberando o extrato para o meio e que este mantém suas características iniciais. O pico 3 é referente à rutina, indicando que o marcador químico é mantido, e este pode ser usado para quantificação do mesmo.

Na Tabela 7 estão apresentados os valores das áreas dos picos referentes aos compostos liberados. Observando a quantificação relativa dos compostos extraídos, nota-se que há diferença quando comparado ao ensaio de liberação, além do fato da sensibilidade da técnica ser maior, podem existir substâncias que não complexam, e assim não respondem no UV/Vis.

**Tabela 7.** Quantificação relativa das espécies presentes no extrato FAB, e extraídas do filme E-MTA

<b>Extrato FAB</b>		<b>Filme E-MTA</b>		<b>Quantificação relativa %</b>
<b>Pico</b>	<b>Área</b>	<b>Pico</b>	<b>Área</b>	
1	58956	<b>1</b>	41969	71,8
2	60124	<b>2</b>	45694	76,0
3	<b>300620</b>	<b>3</b>	<b>234483</b>	78,0
4	49654	<b>4</b>	34758	70,0
5	78956	<b>5</b>	57568	72,9
6	58967	<b>6</b>	44225	75,0
7	49864	<b>7</b>	35865	71,9
8	69854	<b>8</b>	49589	70,9

Observa-se que todas as substâncias presentes no extrato, sejam elas de baixa ou média polaridade foram incorporadas no filme, e mais importante, foram liberadas no meio extrator. Este fato é muito importante, pois mesmo após interação com a matriz polimérica o extrato não perdeu suas características químicas. Assim, pelo exposto nesse trabalho, nota-se que foi possível obter uma matriz a partir de rotas simples, com propriedades funcionais interessantes, funcionando como suporte para o extrato FAB, indicando a viabilidade e a potencial aplicabilidade do material proposto. Portanto os dados apresentados neste estudo permitem concluir que as matrizes produzidas podem ser aplicadas no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de extratos vegetais.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho apresentou um estudo referente à produção de um filme biopolimérico de mesocarpo de babaçu como matriz para liberação controlada do extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda*. Para obtenção dos filmes, inicialmente o mesocarpo foi previamente tratado com intuito de se obter maior concentração de amido, as análises físico-químicas dos sólidos obtidos revelaram bandas características de compostos amiláceos (FTIR) em todos os materiais, boas propriedades térmicas (TG), superfícies mais homogêneas (MEV), com formação de grânulos semiesféricos e perfil cristalino mais bem definido (DRX), característicos de amido tipo C, com índices de cristalinidade superiores a 40 %. Evidenciando que as rotas escolhidas foram eficientes para obtenção de amido mais puro.

A incorporação do extrato foi comprovada com base nos dados de FTIR, DRX e Tg. Além disso, os filmes se revelaram menos higroscópicos em UR elevada, menos solúveis, apresentaram boa resistência à tração, baixa elasticidade, e em alguns casos, aumento da rigidez, permitindo assim concluir que a interação extrato- matriz de fato ocorre, e além disso, melhora as características funcionais dos materiais.

Em se tratando das repostas dos filmes frente à absorção de fluidos simulados e estabilidade em soluções salinas por um período de tempo prolongado, foi possível observar que as matrizes obtiveram comportamento bastante relevante, o que permitiu concluir que além de servirem como suporte para carregamento do extrato, estas poderiam também ser aplicadas em sistemas de uso tópico, ressaltando ainda que todas matrizes tem potencial para esse tipo de aplicação com exceção do filme E-MTB.

Em relação aos ensaios *in vitro* de liberação do extrato FAB, notou-se que os filmes produzidos a partir dos amidos obtidos pela rota ácida, básica e neutra apresentam um perfil de liberação controlada, quando comparados ao mesocarpo *in natura*. O acompanhamento do ensaio por HPLC/UV-Vis permitiu observar que todos os metabólitos presentes no extrato FAB, após incorporados ao filme são liberados, indicando assim que a incorporação na matriz mantém a integridade e as características químicas do extrato. Este é um ponto importante, e que merece destaque, pois a incorporação de extratos em matrizes para liberação torna-se difícil principalmente pela sua complexidade.

Por fim, este estudo permitiu concluir que o objetivo proposto foi cumprido, e considerando o potencial biofarmacológico da *Arrabidaea brachypoda*, assim como a utilização de um produto natural e renovável que é o mesocarpo de babaçu, destaca-se a

importância dessa pesquisa no desenvolvimento de novas formulações, tendo em vista que, pelo exposto, a incorporação do extrato na matriz foi realizada com êxito, além disso suas propriedades indicaram um material com potencial para o desenvolvimento de novos fitoterápicos.

## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudar a liberação da molécula de Rutina isolada;
- Avaliar possíveis efeitos sinérgicos entre matriz e extrato;
- Avaliar a matriz frente ao carregamento e liberação de outros extratos vegetais;
- Avaliar as respostas microbiológicas dos filmes produzidos;
- Aumentar a concentração do extrato na matriz e estudar a integridade da mesma, bem como sua capacidade de liberação;
- Estudar novas formulações, como géis e microesferas, e avaliar a capacidade de liberação de extratos e de substâncias isoladas.



## REFERÊNCIAS

- ABRANTES, C. G. *et al.* **AN OVERVIEW OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS: SAFE OR NOT SAFE?** JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. v.105 p. 1-8, 2016
- ABDEL- RAHEEM, I. T. **GASTROPROTECTIVE EFFECT OF RUTIN AGAINST INDOMETHACIN- INDUCED ULCERS IN RATS.** BASIC & CLINICAL PHARMACOLOGY & TOXICOLOGY. v. 107, n. 3, p. 742-750, 2010.
- ABUREESH, M.A. *et al.* **ENGINEERED MIXED OXIDE-BASED POLYMERIC COMPOSITES FOR ENHANCED ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SUSTAINED RELEASE OF ANTIRETROVIRAL DRUG.** International Journal of Biological Macromolecules, v.116, p.417-425, 2018
- ANDRADE, L. B. S. *et al.* **ANTIOXIDANT AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CARNAUBA WAX POWDER EXTRACTS.** INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS. v. 125, n.1, p. 220-227, 2018.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS: 930.04. IN MOISTURE CONTENT IN PLANTS.** v. 1, p. 40 ,1991.
- ASTM -. **STANDARD TEST METHOD FOR TENSILE PROPERTIES OF THIN PLASTIC SHEETING,** 2012.
- AZEVEDO, A. P.S. *et al.* **ANTI-THROMBOTIC EFFECT OF CHRONIC ORAL TREATMENT WITH *Orbignya phalerata* MART.** JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v. 111, p. 155-159, 2007.
- ALCERITO, T. *et al.* **FOLIAR EPICUTICULAR WAX OF *Arrabidaea brachypoda*: FLAVONOIDS AND ANTIFUNGAL ACTIVITY.** BIOCHEM. SYSTEM. AND ECOL. v. 30, p. 677–683, 2002.
- BALDEZ, R.N. *et al.* **ANÁLISE DA CICATRIZAÇÃO DO CÓLON COM USO DO EXTRATO AQUOSO DA *Orbignya phalerata* (BABAÇU) EM RATOS.** Acta cirúrgica brasileira. v. 21, n. 32, 2006.
- BARROS, I. C. **AVALIAÇÃO BIOFARMACOTÉCNICA DE POTENCIAL EXCIPIENTE FARMACÊUTICO: PÓ DE MESOCARPO DE BABAÇU (*Orbignya phalerata* Mart.).** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, UFPI 2011.
- BATISTA, C. P. *et al.* **EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE *Orbignya phalerata* (BABAÇU) NA CICATRIZAÇÃO DO ESTÔMAGO EM RATOS: ESTUDO MORFOLÓGICO E TENSÍOMÉTRICO.** ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA. v.21, 2006.
- BASU, T. *et al.* **FABRICATION OF CORE-SHELL PLGA/PLA-PNIPAM NANOCOMPOSITES FOR IMPROVED ENTRAPMENT AND RELEASE KINETICS OF ANTIHYPERTENSIVE DRUGS.** PARTICUOLOGY. v. 40, p.169-176, 2018.

BHAGYASHREE, A. K. *et al.* **NANOPOROUS IMPRINTED POLYMERS (NANOMIPS) FOR CONTROLLED RELEASE OF CANCER DRUG.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING: C. v. 99, p. 222-230, 2019.

BECHO, J. R. M. *et al.* **RUTIN – ESTRUTURE, METABOLISM AND PHARMACOLOGICAL POTENCY.** REVISTA INTERDISCIPLINAR DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS. v. 1, n. 1, p. 21 - 25, 2009.

BISHARAT, L. *et al.* **IN VITRO DRUG RELEASE FROM ACETYLATED HIGH AMYLOSE STARCH-ZEIN FILMS FOR ORAL COLON-SPECIFIC DRUG DELIVERY.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v. 556, p. 311-319, 2019.

BIZERRA, A., SILVA, V. **SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: MECANISMOS E APLICAÇÕES.** REVISTA SAÚDE E MEIO AMBIENTE – RESMA, TRÊS LAGOAS. v, 3, n.2, p. 1-12, 2016.

BOHELER, C. *et al.* **TUNING DRUG DELIVERY FROM CONDUCTING POLYMER FILMS FOR ACCURATELY CONTROLLED RELEASE OF CHARGED MOLECULES.** JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE. v. 304, p.173-180, 2019.

BORGES, F. M. *et al.* **SUBSTANTIALLY INCREASED ELECTRICAL CONDUCTIVITY OF POLYANILINE THROUGH BLENDING WITH BABASSU OIL IN THE PRESENCE OF DICHLOROMALEIC ANHYDRIDE.** MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS. v. 237, 2019.

BONILLA, P. *et al.* **INFLUENCE OF CROSSLINKED ALGINATE ON DRUG RELEASE FROM HIGHLY CONCENTRATED EMULSIONS.** COLLOIDS AND SURFACES A: PHYSICO-CHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS. v.536, p. 148-155, 2018.

BUENO, C. Z. **CONTROL OF THE PROPERTIES OF POROUS CHITOSAN-ALGINATE MEMBRANES THROUGH THE ADDITION OF DIFFERENT PROPORTIONS OF PLURONIC F68.** MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING: C. v.44, p.117-125, 2014.

CARRAZZA, L. R; SILVA, M. L; ÁVILA, J. C. C. **MANUAL TECNOLÓGICO DE APROVEITAMENTO INTEGRAL DO FRUTO DO BABAÇU.** BRASÍLIA – DF. INSTITUTO SOCIEDADE, POPULAÇÃO E NATUREZA (ISPN). Brasil, 2012.

CAETANO, N. *et al.* **DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS DE USO POPULAR COMO ANTIFLAMATÓRIO.** REVISTA BRASILEIRA DE FRAMACOGNOSIA, 2002.

CERVANTES-LAUREAN, D. *et al.* **INHIBITION OF ADVANCED GLYCATION END PRODUCT FORMATION ON COLLAGEN BY RUTIN AND ITS METABOLITES.** THE JOURNAL OF NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY. v. 17, n. 8, p. 531- 540, 2006.

CHAN, S. Y. *et al.* **RICE STARCH THIN FILMS AS A POTENTIAL BUCCAL DELIVERY SYSTEM: EFFECT OF PLASTICISER AND DRUG LOADING ON DRUG**

**RELEASE PROFILE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v. 562, p.203-211, 2019.

CHEN, J. *et al.* **STARCH FILM-COATED MICROPARTICLES FOR ORAL COLON-SPECIFIC DRUG DELIVERY.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v. 191, n.1, p. 242-254, 2018.

CHOI, I. *et al.* **ANTI-ADIPOGENIC ACTIVITY OF RUTIN IN 3T3-L1 CELLS AND MICE FED WITH HIGH-FAT DIET.** BIOFACTORS. v. 26, n. 4, p. 273-281, 2006.

CRUZ-TIRADO, J.P. *et al.* **BIODEGRADABLE FOAM TRAY BASED ON STARCHES ISOLATED FROM DIFFERENT PERUVIAN SPECIES.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 125, p. 800-807, 2019.

DEVI, N.; DUTTA, J. **DEVELOPMENT AND IN VITRO CHARACTERIZATION OF CHITOSAN/STARCH/HALLOYSITE NANOTUBES TERNARY NANOCOMPOSITE FILMS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULE. v. 127, n.15, p. 222-231, 2019.

DENARDIN, C.C. SILVA, L.P. **STARCH GRANULES STRUCTURE AND ITS REGARDS WITH PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES.** CIÊNCIA RURAL. v.39, n.3, p.945-954, 2009. ISSN 0103-8478.

DONG, S. *et al.* **HYDROXYBUTYL STARCH-BASED THERMOSENSITIVE HYDROGEL FOR PROTEIN SEPARATION.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.134, p.165-171, 2019.

DESCHNER, E. E. *et al.* **QUERCETIN AND RUTIN AS INHIBITORS OF AZOXYMETHANOL-INDUCED COLONIC NEOPLASIA.** CARCINOGENESIS. v. 12, n. 7, p. 1193-1196, 1991.

DOURADO, R. S, LADEIERA, A.M. **IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES EM *Hypericum cordatum* (vell.) N. ROBSON (CLUSIACEAE).** REVISTA BRASIL. BOT., v.31, n.4, p.611-620, 2008.

EVANGELINE, S. SIDHARAN, T.B. **BIOSYNTHESIS AND STATISTICAL OPTIMIZATION OF POLYHYDROXYALKANOATE (PHA) PRODUCED BY BACILLUS CEREUS VIT-SSR1 AND FABRICATION OF BIOPOLYMER FILMS FOR SUSTAINED DRUG RELEASE.** <https://doi.org/10.11016/j.ijbiomac.20019.5.163>, 2019.

FARRAG, Y. *et al.* **STARCH FILMS LOADED WITH DONUT-SHAPED STARCH-QUERCETIN MICROPARTICLES: CHARACTERIZATION AND RELEASE KINETICS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v.118, part b, p.2201-2207, 2018.

FREITAS, E. D. *et al.* **DEVELOPMENT OF MUCOADHESIVE SERICIN/ALGINATE PARTICLES LOADED WITH IBUPROFEN FOR SUSTAINED DRUG DELIVERY.** PARTICUOLOGY, vol. 41, p. 65-73, 2018.

FRUTOS, M. J. FRUTOS, L. R., CASES, E. V.– **RUTIN . NONVITAMIN AND NONMINERAL NUTRITIONAL SUPPLEMENTS** 2019, p. 111-117. Chapter 2.14 .

GAJENDIRAN, M. *et al.* **IN VITRO CONTROLLED RELEASE OF TUBERCULOSIS DRUGS BY AMPHIPHILIC BRANCHED COPOLYMER NANOPARTICLES.** JOURNAL OF INDUSTRIAL AND ENGINEERING CHEMISTRY. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.04.033>.

GARCÍA, D. R. *et al.* **GELATIN-BASED POROUS SILICON HYDROGEL COMPOSITES FOR THE CONTROLLED RELEASE OF TRAMADOL.** EUROPEAN POLYMER JOURNAL, v.108, p. 485-497, 2018.

GHORPADE, V. S. *et al.* **CITRIC ACID CROSSLINKED CARBOXYMETHYLCELLULOSE-POLYVINYL ALCOHOL HYDROGEL FILMS FOR EXTENDED RELEASE OF WATER SOLUBLE BASIC DRUGS.** JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY, v.52, p. 421-430, 2019.

GULPINAR, A. R. *et al.* **ESTIMATION OF IN VITRO NEUROPROTECTIVE PROPERTIES AND QUANTIFICATION OF RUTIN AND FATTY ACIDS IN BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum* Moench) CULTIVATED IN TURKEY.** FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, v. 46, n. 2, p. 536-543, 2012.

HAO, H.-H. *et al.* **PREVENTIVE EFFECTS OF RUTIN ON THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL DIABETIC NEPHROPATHY IN RATS.** LIFE SCIENCES, v. 91, n. 19, p. 959-967, 2012.

HAN, Y. **RUTIN HAS THERAPEUTIC EFFECT ON SEPTIC ARTHRITIS CAUSED BY CANDIDA ALBICANS.** INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY, v. 9, n. 2, p. 207-211, 2009.

HUBER, L. S. RODRIGUEZ-AMAYA, d. B. **FLAVONÓIS E FLAVONAS: FONTES BRASILEIRAS E FATORES QUE INFLUENCIAM A COMPOSIÇÃO EM ALIMENTOS ALIM. NUTR. ARARAQUARA** v.19, n.1, p. 97-108,2008.

KATHE, K. KATHPALIA, H. **FILM FORMING SYSTEMS FOR TOPICAL AND TRANSDERMAL DRUG DELIVERY.** ASIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. Vol. 12, p. 487-497. 2017.

KIZIL, R. *et al.* **CHARACTERIZATION OF IRRADIATED STARCHES BY USING FT-RAMAN AND FTIR SPECTROSCOPY.** J. AGRIC. FOOD CHEM, v. 50, n.14, p.3912-3918, 2002.

KLEIN, T. *et al.* **FITOTERÁPICOS: UM MERCADO PROMISSOR.** JOURNAL OF BASIC AND APPLIED PHARMACEUTICAL SCIENCES. v.30, p. 241-248, 2009. ISSN 1808-4532.

KILICARSLAN, M. *et al.* **PREPARATION AND EVALUATION OF CLINDAMYCIN PHOSPHATE LOADED CHITOSAN/ALGINATE POLYELECTROLYTE COMPLEX FILM AS MUCOADHESIVE DRUG DELIVERY SYSTEM FOR PERIODONTAL**

**THERAPY. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES.** v. 123, 15, p. 441-451, 2018.

KOKUBO, T.; KUSHITANI, H.; SAKKA, S.; KITSUGI, T.; YAMAMURO, T. **SOLUTIONS ABLE TO REPRODUCE IN VIVO SURFACE-STRUCTURE CHANGES IN BIOACTIVE GLASS-CERAMIC A-W.** JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH, v. 24, p. 721-734, 1990.

KORKMAZ, A.; KOLANKAYA, D. **PROTECTIVE EFFECT OF RUTIN ON THE ISCHEMIA/REPERFUSION INDUCED DAMAGE IN RAT KIDNEY.** JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH. v. 164, n. 2, p. 309-315, 2010.

LA CASA, C. *et al.* **EVIDENCE FOR PROTECTIVE AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RUTIN, A NATURAL FLAVONE, AGAINST ETHANOL INDUCED GASTRIC LESIONS.** JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v. 71, n. 1, p. 45-53, 2000.

LEAL, A. S. *et al.* **IN VITRO BIOACTIVITY AND CYTOTOXICITY OF FILMS BASED ON MESOCARP OF *Orbignya sp.* AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE AS A TANNIC ACID RELEASE MATRIX.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v. 201, p.113-121, 2018.

LEE, W.; KU, S.-K.; BAE, J.-S. **BARRIER PROTECTIVE EFFECTS OF RUTIN IN LPS-INDUCED INFLAMMATION IN VITRO AND IN VIVO.** FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY. v. 50, n. 9, p. 3048-3055, 2012.

LEFNAOUI, S. MOULAI-MOSTEFA, N. **SYNTHESIS AND EVALUATION OF THE STRUCTURAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL PREGELATINIZED STARCH AS A PHARMACEUTICAL EXCIPIENT.** SAUDI PHARMACEUTICAL JOURNAL.v. 23, p. 698-711, 2015.

LIMA, B. N. B. *et al.* **ESTUDO DO AMIDO DE FARINHAS COMERCIAIS COMESTÍVEIS.** POLÍMEROS [online], v.22, n.5, p.486-490, 2012.

LIN, L. *et al.* **COMPARATIVE STRUCTURE OF STARCHES FROM HIGH-AMYLOSE MAIZE INBRED LINES AND THEIR HYBRIDS.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v. 52, p.19-28, 2016.

LUO, C. *et al.* **PREPARATION AND DRUG RELEASE PROPERTY OF TANSHINONE LOADED CHITOSAN-MONTMORILLONITE MICROSPHERES.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES. v. 125, p.721-729, 2019.

MALÍ, S. *et al.* **STARCH FILMS: PRODUCTION, PROPERTIES AND POTENTIAL OF UTILIZATION.** CIÊNCIAS AGRÁRIAS, LONDRINA, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

MARÍN, T. *et al.* **DEVELOPMENT OF MAGNETITE NANOPARTICLES/GELATIN COMPOSITE FILMS FOR TRIGGERING DRUG RELEASE BY AN EXTERNAL MAGNETIC FIELD.** MATERIALS & DESIGN. v.152, p. 78-8, 2018.

MULLER, J. *et al.* **ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND RELEASE OF CINNAMALDEHYDE IN BILAYER FILMS BASED ON POLYLACTIC ACID (PLA) AND STARCH.** EUROPEAN POLYMER, v. 96, p. 316-325, 2017.

MAHMOUD, A. M. **INFLUENCE OF RUTIN ON BIOCHEMICAL ALTERATIONS IN HYPERAMMONEMIA IN RATS.** EXPERIMENTAL AND TOXICOLOGIC PATHOLOGY. v. 64, n. 7, p. 783-789, 2012. ISSN 0940-2993.

MANIGLIA, B. C. **APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA ELABORAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS.** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA, TESE DE DOUTORADO, USP, 2017.

MUKURUMBIRA, A. R. *et al.* **EFFECTS OF AMADUMBE STARCH NANOCRYSTALS ON THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF STARCH BIOCOMPOSITE FILMS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v. 165, p.142-148, 2017.

MORENO, O. *et al.* **INFLUENCE OF STARCH OXIDATION ON THE FUNCTIONALITY OF STARCH-GELATIN BASED ACTIVE FILMS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.78, p. 147-158, 2017.

NASCIMENTO, F. R. F.*et al.* **MACROPHAGE ACTIVATION INDUCED BY *Orbignya phalerata* Mart.** JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v.103, p. 53-58, 2006.

OLIVEIRA, L. M. N. **QUANTIFICAÇÃO DE RUTINA, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE POLPAS E SUBPRODUTOS DE FRUTAS TROPICAIS.** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO- UFC, 2014.

OSHIRO JÚNIOR, J. A. *et al.* **DEVELOPMENT OF ORGANIC-INORGANIC POLYMERIC FILM FORMERS FOR CONTROLLED DRUG RELEASE AND WOUND CARE.** REVISTA MATÉRIA, v. 10, n.1, p. 24-32, 2014.

PAL. A. *et al.* **POLY (ACRYLIC ACID) GRAFTED GELATIN NANOCARRIERS AS SWELLING CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEM FOR OPTIMIZED RELEASE OF PACLITAXEL FROM MODIFIED GELATIN.** JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY, v. 45, p. 323-333, 2018.

PEREIRA, I, O. *et al.* **LEISHMANICIDAL ACTIVITY OF DIFFERENT PARTS FROM *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau (BIGNONIACEAE).** REVISTA DA UNIVERSIDADE VALE DO RIO VERDE, TRÊS CORAÇÕES, v. 10, n. 1, p. 49-55, 2012.

PEIXOTO SOBINHO, T.J.S. *et al.* **TEOR DE FLAVONÓIDES TOTAIS EM PRODUTOS CONTENDO PATA-DE-VACA (*Bauhinia l.*) COMERCIALIZADOS EM FARMÁCIAS DE RECIFE/PE.** REV. BRASILEIRA DE PLANTAS MEDICINAIS. v.14, n.4, p.586-591.

QUADRADO, R. F. N. FAJARDO, A. R. **MICROPARTICLES BASED ON CARBOXYMETHYL STARCH/CHITOSAN POLYELECTROLYTE COMPLEX AS VEHICLES FOR DRUG DELIVERY SYSTEMS.** ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.04.004>.

RAVAL, A.; PARIKH, J.; ENGINEER, C. **MECHANISM OF CONTROLLED RELEASE KINETICS FROM MEDICAL DEVICES**. BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING, v. 27, n.2, p. 211-225, 2010.

RECIFE, A. C. D. *et al.* **EVALUATION OF RETROGRADED STARCH AS EXCIPIENT FOR CONTROLLED RELEASE MATRIX TABLETS**. JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY. v. 40, p. 83-94, 2017.

RESENDE, F. A. *et al.* **IN VITRO TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU: MUTAGENICITY AND ESTROGENICITY STUDIES**. REGULATORY TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY, v. 90, p. 29-35, 2017

ROCHA, C. Q. *et al.* **ANTI-INFLAMMATORY AND ANTINOCICEPTIVE EFFECTS OF *Arrabidaea brachypoda* (dc.) BUREAU ROOTS**. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v. 133. P.396-401. 2011.

ROCHA, C. Q. *et al.* **OLEANANE-TYPE TRITERPENOID: AN ANTI-INFLAMMATORY COMPOUND OF THE ROOTS *Arrabidaea brachypoda***. REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. v. 25, p. 228-232, 2015.

ROCHA, C. Q. *et al.* **GASTROPROTECTIVE EFFECTS OF HYDROETHANOLIC ROOT EXTRACT OF *Arrabidaea brachypoda*: EVIDENCES OF CYTOPROTECTION AND ISOLATION OF UNUSUAL GLYCOSYLATED POLYPHENOLS**. PHYTOCHEMISTRY. v. 135, p. 93-105, 2017.

ROCHA, C. Q. *et al.* **DIMERIC FLAVONOIDS FROM *Arrabidaea brachypoda* AND ASSESSMENT OF THEIR ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI**. ACTIVITY JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS, v.77, p. 1345-1350, 2014

ROCHA, CLAUDIA QUINTINO da. **EXTRATOS PADRONIZADOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS CRÔNICAS: *Arrabidaea spp.*** 2013. 102 F. TESE (DOUTORADO) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO, INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/108492>>.

ROCHA, V. P. C. *et al.* **ANTILEISHMANIAL ACTIVITY OF DIMERIC FLAVONOIDS ISOLATED FROM *Arrabidaea brachypoda***. Molecules, v. 24, nº 1, 2019.

SANTANA, A. A. **INFLUÊNCIA DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DE PLASTIFICANTES NA CONFECÇÃO E NO COMPORTAMENTO ESTRUTURAL E HIGROSCÓPICO DE FILMES DE ALGINATO DE CÁLCIO**. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, UNICAMP, 2010.

SANTANA, S.A.A. *et al.* **IMMOBILIZATION OF ETHYLENESULFIDE ON BABASSU COCONUT EPICARP AND MESOCARP FOR DIVALENT CATION SORPTION**. JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS. v.174, n.15, p. 714 -719, 2010.

SHEN, S.-C. *et al.* **IN VITRO AND IN VIVO INHIBITORY ACTIVITIES OF RUTIN, WOGONIN, AND QUERCETIN ON LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED NITRIC OXIDE AND PROSTAGLANDIN E 2 PRODUCTION.** EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, v. 446, n. 1, p. 187-194, 2002.

SILVA, A. P.S. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DO PÓ DE MESOCARPO DO BABAÇU (*Orbignya phalerata* Mart): SUBSÍDIO PARA O DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS.** PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, UFPI, 2011.

SILVA, B. P.; PERENE, P. **AÇÃO CICATRIZANTE DE PLANTAS MEDICINAIS: UM ESTUDO DE REVISÃO.** FITOTERAPIA, v. 72, p. 887-893.

SOUZA, M. H. S. L. *et al.* **ETHNOPHARMACOLOGICAL USE OF BABASSU (*Orbignya phalerata* Mart) IN COMMUNITIES OF BABASSU NUT BREAKERS IN MARANHÃO, BRAZIL.** JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY. v. 133, p. 1–5, 2011.

TAGHIADEH, M.T. *et al.* **CROSS-LINKED CHITOSAN IN NANO AND BEAD SCALES AS DRUG CARRIERS FOR BETAMETHASONE AND TETRACYCLINE.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES, v.131, p.581-588, 2019

TAPIA-BLÁCIDO, D. R. MANIGLIA, B. C. **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF STARCH FROM BABASSU MESOCARP.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v. 55, p. 47-55. 2016.

TAPIA- BLÁCIDO, D. R. *et al.* **BIOACTIVE FILMS BASED ON BABASSU MESOCARP FLOUR AND STARCH.** FOOD HYDROCOLLOIDS. v.70, p. 383-391, 2017.

TAPIA- BLÁCIDO, D. R. *et al.* **POTENTIAL OF AMARANTHUS CRUENTUS BRS ALEGRIA IN THE PRODUCTION OF FLOUR, STARCH AND PROTEIN CONCENTRATE: CHEMICAL, THERMAL AND RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION.** JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE. v.90, p. 1185–119, 2010.

TAVARES, A. A. *et al.* **LIBERAÇÃO CONTROLADA DE IBUPROFENO A PARTIR DE FILMES DE QUITOSANA/MONTMORILONITA.** 14º CONGRESSO SLABO, 5ª EDIÇÃO DO WORKSHOP DE BIOMATERIAIS, ENGENHARIA DE TECIDOS E ÓRGÃOS ARTIFICIAIS, MARESIAS – SP, 2017.

THAUVIN, C. *et al.* **FUNCTIONALIZED PLA POLYMERS TO CONTROL LOADING AND/OR RELEASE PROPERTIES OF DRUG-LOADED NANOPARTICLES.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v. 548, n.2, p. 771-777, 2018.

TSAI, Y. H. *et al.* **DRUG RELEASE AND ANTIOXIDANT/ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF SILYMARIN-ZEIN NANOPARTICLE/BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBER COMPOSITE FILMS.** CARBOHYDRATE POLYMERS. v.180, p. 286-296, 2018.



TUKOMANE, T. *et al.* **PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ANNEALED-ENZYMATICALLY HYDROLYZED TAPIOCA STARCH AND THE UTILIZATION IN TABLETING.** STARCH-STAKE, v. 59, n.1, p. 33-45, 2007.

TUOVINEN, L. *et al.* **DRUG RELEASE FROM STARCH-ACETATE MICROPARTICLES AND FILMS WITH AND WITHOUT INCORPORATED  $\alpha$ -AMYLASE.** BIOMATERIALS. v. 25, p. 4355-4362, 2004.

VIEIRA, A.P *et al.* **KINETICS AND THERMODYNAMICS OF TEXTILE DYE ADSORPTION FROM AQUEOUS SOLUTIONS USING BABASSU COCONUT MESOCARP.** JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS. v. 166, p. 1272 -1278, 2009.

VIEIRA, A.P *et al.* **REMOVAL OF TEXTILE DYES FROM AQUEOUS SOLUTION BY BABASSU COCONUT EPICARP (*Orbignya speciosa*).** CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL. v, 173, p. 334-340, 2011.

WANG, J. *et al.* **ENCAPSULATION AND RELEASE OF DOXYCYCLINE FROM ELECTROSPRAY-GENERATED PLGA MICROSPHERES: EFFECT OF POLYMER END GROUPS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS. v. 564, n.10, p. 1-9, 2019.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. **IN VITRO ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RUTIN.** LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, v. 41, n. 6, p. 1060-1066, 2008.

YAOZHONG, L. V, *et al.* **PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND DIGESTIBILITY OF POTATO STARCH TREATED BY BALL MILLING WITH TEA POLYPHENOLS.** INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES, In Press, Accepted Manuscript, February 2019.

ZHENG, W. *et al.* **ENCAPSULATION OF VERAPAMIL AND DOXORUBICIN BY MPEG-PLA TO REVERSE DRUG RESISTANCE IN OVARIAN CANCER.** BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, v. 108, p. 565-573, 2018.