

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose
microcristalina em estado sólido**

Dissertação de Mestrado

Roberta Hansel de Moraes

Porto Alegre, 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose
microcristalina em estado sólido**

Dissertação apresentada por **Roberta
Hansel de Moraes** para obtenção do
GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Tit. Dr. Pedro Ros Petrovick

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 14 de dezembro de 2007, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Edison Luís Santana Carvalho

Universidade Luterana do Brasil

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CATÁLOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

M827a	Moraes, Roberta Hansel de Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose microcristalina em estado sólido / Roberta Hansel de Moraes – Porto Alegre: UFRGS, 2007. – xxviii, 160 p.: il., gráf., tab. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. 1. Celulose microcristalina. 2. Flavonóides. 3. Interações físico-químicas. 4. Estado sólido. 5. Análise térmica. 6. Modelagem molecular. I. Petrovick, Pedro Ros. II. Título. CDU: 615.4
-------	---

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira – CRB10/480

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento Galênico, empregando também equipamentos da Central Analítica, do Laboratório de Química Farmacêutica (LAPPS) e do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF), pertencentes à Faculdade de Farmácia e da Central Analítica do Instituto de Química, do Laboratório de Difractometria de Raios-X do Instituto de Geologia, do Laboratório de Altas Pressões e Materiais Avançados (LAPMA) do Instituto de Física e do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) da Escola de Engenharia (Materiais), todos pertencentes à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Este trabalho foi desenvolvido sem bolsa de estudos. Agradecimentos ao CNPq e à CAPES pelo financiamento deste trabalho.

A mente que se abre para uma nova idéia
jamais volta ao seu tamanho original.

Albert Einstein

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick, meu orientador, pela aceitação, pelo compromisso assumido, dedicação, orientação deste trabalho, pelo exemplo pessoal e profissional, tendo contribuído para o meu crescimento num processo de aprendizado constante e, durante o desenvolvimento desta dissertação de mestrado, pela paciência que teve comigo, pelos ensinamentos e pelas horas de leituras gastas no meu trabalho.

Aos professores Paulo Mayorga, Edison Carvalho e Luiz Alberto Soares por aceitarem o convite para avaliação, por participarem da banca examinadora e pelas valiosas contribuições feitas a este trabalho.

Aos professores George Ortega, Helder Teixeira e Ana Maria Bergold pelo auxílio, pelas sugestões e pelos agradáveis momentos no LDG e em sala de aula. Ao professor Hugo Verli, em especial, por todo o auxílio e sugestões envolvidos na realização e discussão da modelagem molecular.

Ao CDTF pela utilização do equipamento de DSC, tornando possível uma parte da realização deste trabalho.

Aos colegas do LDG pela agradável convivência, pelo auxílio e, dentre eles, aos que contribuíram de alguma forma para a finalização deste trabalho.

Aos colegas do curso de Pós-graduação dos outros laboratórios pela agradável convivência durante as disciplinas, na sala dos computadores, bem como pelo auxílio no ambiente acadêmico.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia pela convivência e auxílio quando necessário.

Às professoras do curso de Farmácia da PUCRS Denise Milão e Marlise dos Santos por despertarem em mim a vontade de aprender sobre Tecnologia Farmacêutica.

À minha família, em especial aos meus pais, João e Gláucia, por terem sido o contínuo apoio em todos estes anos, ensinando-me, principalmente, a importância da construção e coerência de meus próprios valores, por me apoiarem nas minhas decisões, nunca deixando de acreditar em mim e ao meu irmão Rafael: muito

obrigado por vocês existirem e por depositarem em mim a confiança para todas as horas.

Ao meu namorado Marco Antônio pela paciência e auxílio em todos os momentos.

Aos meus amigos que também sempre me apoiaram nas minhas decisões e acreditaram em mim, com gestos de incentivo e manifestações de reconhecimento.

A Deus, que torna tudo isto possível e que nos ampara sempre, porque o essencial é invisível aos olhos.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	xiii
Lista de Figuras	xvii
Lista de Anexos	xxi
Resumo	xxv
Abstract	xxvii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo geral	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3 REFERENCIAL TEÓRICO	9
3.1 Flavonóides	11
3.1.1 Aspectos fitoquímicos.....	11
3.1.1.1 Flavonas e flavonóis.....	11
3.1.2 Aspectos farmacológicos.....	13
3.2 Celulose microcristalina.....	16
3.3 Métodos termoanalíticos e suas aplicações nas ciências farmacêuticas.....	19
3.4 Estudos de pré-formulação	19
3.5 Modelagem molecular	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Materiais	31
4.1.1 Aparelhos, equipamentos e acessórios.....	31
4.1.2 Materiais	32
4.1.2.1 Flavonóides	32
4.1.2.2 Adjuvante tecnológico.....	32
4.1.2.3 Reagentes, soluções e outras matérias-primas.....	32

4.2 MÉTODOS	33
4.2.1 Caracterização dos flavonóides.....	33
4.2.1.1 Métodos de Identificação.....	33
4.2.1.1.1 Análise espectroscópica no ultravioleta.....	33
4.2.1.1.2 Análise espectroscópica no infravermelho	34
4.2.1.1.3 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória.....	35
4.2.1.1.4 Análise térmica por termogravimetria	35
4.2.2 Caracterização do adjuvante	35
4.2.2.1 Celulose microcristalina.....	35
4.2.2.1.1 Identificação por reação de coloração.....	35
4.2.2.1.2 Pesquisa de substâncias solúveis em água	36
4.2.2.1.3 Determinação do pH.....	36
4.2.2.1.4 Determinação da perda por dessecação	36
4.2.2.1.5 Análise espectroscópica no infravermelho	37
4.2.1.1.6 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória.....	37
4.2.1.1.7 Análise térmica por termogravimetria	37
4.2.1.1.8 Análise por difratometria de raios-X.....	37
4.2.3 Preparação das misturas binárias	38
4.2.3.1 Análise espectroscópica no infravermelho	41
4.2.3.2 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória.....	41
4.2.3.3 Análise térmica por termogravimetria	41
4.2.4 Avaliação da energia da banda I dos flavonóides	42
4.2.5 Avaliação estatística	42
4.2.6 Modelagem molecular	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Caracterização da celulose microcristalina.....	47

5.2 Avaliação da homogeneidade das misturas binárias.....	52
5.3 Caracterização dos flavonóides e avaliação do comportamento térmico das misturas binárias	53
5.3.1 Celulose microcristalina e canferol.....	54
5.3.2 Celulose microcristalina e fisetina	62
5.3.3 Celulose microcristalina e luteolina	71
5.3.4 Celulose microcristalina e miricetina	80
5.3.5 Celulose microcristalina e morina	90
5.3.6 Celulose microcristalina e quercetina	100
5.4 Considerações gerais sobre alguns resultados da análise térmica e espectroscópica	110
5.5 Efeito da hidroxilação dos anéis A, B e C da flavona e dos flavonóis em relação ao potencial de interação – Relação Estrutura Propriedade de Interação.....	112
5.5.1 Relação com a intensidade de variação	113
5.5.1.1 Quanto ao número total de hidroxilas	113
5.5.1.2 Quanto à posição e/ou presença das hidroxilas nos anéis A, B e C	115
5.5.2 Relação com a energia do sistema conjugado relativo à banda I.....	117
5.5.3 Relação com o pKa dos flavonóides	120
5.5.4 Relação com a energia de interação do sistema flavonóide-CMCr	122
6 CONCLUSÕES	127
7 REFERÊNCIAS	131
8 ANEXOS.....	145

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Posições das hidroxilas na flavona e nos flavonóis.....	12
Tabela 2. Exemplos de estudos de utilização dos flavonóides com atividade farmacológica.....	15
Tabela 3. Arranjos cristalográficos da celulose microcristalina.....	18
Tabela 4. Exemplos de estudos de compatibilidade entre fármacos e adjuvantes.....	24
Tabela 5. Resultados obtidos na determinação de características da qualidade selecionadas para a celulose microcristalina.....	47
Tabela 6. Parâmetros térmicos observados para a celulose microcristalina obtidos por DSC.....	48
Tabela 7. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a celulose microcristalina.....	50
Tabela 8. Avaliação da reprodutibilidade da mistura binária 1:1 através do teste de ANOVA da t_{onset} dos picos de fusão da quercetina.....	52
Tabela 9. Avaliação da reprodutibilidade da mistura binária 1:1 através do teste de ANOVA da entalpia dos picos de fusão da quercetina.....	53
Tabela 10. Anexos das figuras e tabelas correspondentes aos máximos de absorção dos espectros na região do ultravioleta e visível e aos desvios dos comprimentos de onda máximos dos flavonóides estudados.....	53
Tabela 11. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para o canferol....	56
Tabela 12. Parâmetros térmicos observados para o canferol e a celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC.....	58
Tabela 13. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1.....	59

Tabela 14. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2	60
Tabela 15. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a fisetina	65
Tabela 16. Parâmetros térmicos observados para a fisetina e a celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC	66
Tabela 17. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de fisetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1	67
Tabela 18. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de fisetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2	70
Tabela 19. Parâmetros térmicos observados para a luteolina e a celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC	73
Tabela 20. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a luteolina ...	75
Tabela 21. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de luteolina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1	76
Tabela 22. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de luteolina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2	78
Tabela 23. Parâmetros térmicos observados para a miricetina e a celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC	82
Tabela 24. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a miricetina.....	83
Tabela 25. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de miricetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1	85

Tabela 26. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de miricetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2	87
Tabela 27. Parâmetros térmicos observados para a morina e celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC	93
Tabela 28. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a morina.....	94
Tabela 29. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de morina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1	95
Tabela 30. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de morina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2.....	98
Tabela 31. Parâmetros térmicos observados para a quercetina amostra e quercetina referência obtidos por DSC	102
Tabela 32. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a quercetina	103
Tabela 33. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de quercetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1	105
Tabela 34. Parâmetros térmicos observados para a quercetina e a celulose microcristalina e suas misturas binárias, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC	106
Tabela 35. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de quercetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2	109
Tabela 36. Posições das hidroxilas nos flavonóides estudados	112
Tabela 37. Ordem decrescente da intensidade de variação entre as entalpias observada e esperada relativas ao pico de fusão dos flavonóides nas misturas binárias em proporções ponderais.....	114

Tabela 38. Comprimentos de onda relativos à banda I dos flavonóides e suas respectivas energias de conjugação	117
Tabela 39. Valores de pKa relativos à primeira desprotonação do grupo hidroxila de cada um dos flavonóides estudados.....	121
Tabela 40. Menor energia de interação calculada para cada combinação dos flavonóides e a CMCr e respectiva interação, em ordem decrescente de potencial de interação.....	123

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica dos flavonóides.....	11
Figura 2. Flavona e flavonol	12
Figura 3. Estrutura básica da flavona e dos flavonóis estudados.....	12
Figura 4. Estrutura da celulose.....	16
Figura 5. Arranjos paralelo e antiparalelo da celulose microcristalina	18
Figura 6. Espectro na região do infravermelho da celulose microcristalina.....	47
Figura 7. Curva de aquecimento obtida por DSC para a celulose microcristalina	49
Figura 8. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a celulose microcristalina.....	49
Figura 9. Difractogramas obtidos por difratometria de raios-X para a celulose microcristalina e para a referência de celulose microcristalina.....	51
Figura 10. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para as misturas físicas equiponderais de celulose microcristalina e quercetina.....	52
Figura 11. Espectro na região do infravermelho para o canferol.....	54
Figura 12. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para o canferol e a celulose microcristalina e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2	55
Figura 13. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para o canferol.....	56
Figura 14. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre o canferol e a celulose microcristalina.....	57
Figura 15. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre o canferol e a celulose microcristalina	60
Figura 16. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre o canferol e a celulose microcristalina.....	61

Figura 17. Espectro na região do infravermelho da mistura binária de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2.....	62
Figura 18. Espectro na região do infravermelho para a fisetina	63
Figura 19. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a fisetina e a celulose microcristalina e para suas misturas binárias nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2	63
Figura 20. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a fisetina	64
Figura 21. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a fisetina e a celulose microcristalina.....	68
Figura 22. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre a fisetina e a celulose microcristalina.....	68
Figura 23. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a fisetina e a celulose microcristalina.....	70
Figura 24. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a fisetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2.....	71
Figura 25. Espectro na região do infravermelho para a luteolina	72
Figura 26. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a luteolina e a celulose microcristalina e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2.	72
Figura 27. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica da luteolina	74
Figura 28. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a luteolina e a celulose microcristalina.....	76
Figura 29. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre a luteolina e a celulose microcristalina.....	77

Figura 30. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a luteolina e a celulose microcristalina	78
Figura 31. Espectro na região do infravermelho da mistura binária luteolina celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2.....	79
Figura 32. Espectro na região do infravermelho da miricetina.....	81
Figura 33. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a miricetina e a celulose microcristalina e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2	81
Figura 34. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a miricetina	84
Figura 35. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a miricetina e a celulose microcristalina.....	86
Figura 36. Espectro na região do infravermelho da mistura equiponderal binária da miricetina com a celulose microcristalina	88
Figura 37. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a miricetina e a celulose microcristalina	89
Figura 38. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a miricetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2.....	89
Figura 39. Espectro na região do infravermelho da morina	90
Figura 40. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a morina e a celulose microcristalina e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2	91
Figura 41. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a morina.....	95
Figura 42. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a morina e a celulose microcristalina.....	96

Figura 43. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal da morina com a celulose microcristalina	97
Figura 44. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a morina e a celulose microcristalina.....	98
Figura 45. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a morina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2.....	99
Figura 46. Espectro na região do infravermelho da quercetina amostra	101
Figura 47. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a quercetina amostra e referência.....	101
Figura 48. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a quercetina amostra.....	103
Figura 49. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a quercetina e a celulose microcristalina, e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2.....	104
Figura 50. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a quercetina e a celulose microcristalina.....	107
Figura 51. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal de quercetina com celulose microcristalina.....	108
Figura 52. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a quercetina e a celulose microcristalina	109
Figura 53. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a quercetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2 ...	110
Figura 54. Estrutura básica dos flavonóides estudados	112
Figura 55. Interações propostas para o cálculo da energia de interação entre cada flavonóide e a celulose microcristalina.....	124
Figura 56. Interações de menor energia minimizada para cada combinação dos flavonóides com a celulose microcristalina	125

LISTA DE ANEXOS

Figura A1. Espectro na região do UV-visível para a solução de canferol em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	147
Figura A2. Espectro na região do UV-visível para a solução de fisetina em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	148
Figura A3. Espectro na região do UV-visível para a solução de luteolina em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	149
Figura A4. Espectro na região do UV-visível para a solução de miricetina em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	150
Figura A5. Espectro na região do UV-visível para a solução de morina em metanol, complexada com AlCl_3 e após hidrólise com HCl.....	151
Figura A6. Espectro na região do UV-visível para a solução de quercetina amostra em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	152
Figura A7. Espectro na região do UV-visível para a solução de quercetina referência em metanol, após complexação com AlCl_3 e subsequente hidrólise com HCl.....	152
Figura A8. Espectro na região do infravermelho da quercetina referência.....	153
Figura A9. Curvas de aquecimento por DSC para a morina.....	159
Tabela A1. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos do canferol referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl.....	147

Tabela A2. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos da fisetina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	148
Tabela A3. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos da luteolina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	149
Tabela A4. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos da miricetina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	150
Tabela A5. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos da morina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	151
Tabela A6. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos das quercetina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	153
Tabela A7. Comparação dos desvios absorções nos comprimentos de onda máximos das quercetina referência e amostra em metanol e após adição de AlCl_3 e após tratamento com HCl, e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl	153
Tabela A8. Interpretação do espectro na região do infravermelho da quercetina amostra e referência	154
Tabela A9. Interpretação do espectro na região do infravermelho do canferol	154
Tabela A10. Interpretação do espectro na região do infravermelho da fisetina....	155
Tabela A11. Interpretação do espectro na região do infravermelho da luteolina	155

Tabela A12. Interpretação do espectro na região do infravermelho da miricetina.....	156
Tabela A13. Interpretação do espectro na região do infravermelho da morina	156
Tabela A14. Comparação entre as entalpias de fusão observada, esperada e corrigida dos flavonóides para as misturas binárias	157
Tabela A15. Intervalos de confiança a 99% ($\alpha = 0,01$) para os valores de t_{onset} e ΔH_{obs} para a perda de água de adsorção/cristalização dos flavonóides.....	157
Tabela A16. Intervalos de confiança a 99% ($\alpha = 0,01$) para os valores de t_{onset} e ΔH_{obs} de fusão dos flavonóides.....	158
Tabela A17. Comparação da adição de hidroxilas em relação à alteração da energia do sistema.....	158

Resumo

Neste trabalho, foi avaliado o comportamento de alguns flavonóides e do adjuvante tecnológico celulose microcristalina (CMCr) no estado sólido, em relação ao tipo de interação e sua intensidade, quando existente, utilizando misturas físicas equiponderais e na proporção ponderal 1:2, respectivamente, através da calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica e espectroscopia no infravermelho (FTIR). A relação estrutura-propriedade de interação dos flavonóides estudados foi determinada nas possíveis interações sólido-sólido com a celulose microcristalina, correlacionando os padrões de hidroxilação nos anéis A, B e C dos flavonóides com: 1) a intensidade de variação (IV - %) entre as entalpias observada e esperada, 2) a energia do sistema conjugado do anel aromático relativa à banda I, 3) o pKa dos flavonóides e 4) os cálculos do campo de força da mecânica molecular 2 (MM2) para a energia de interação do sistema flavonóide-CMCr. Os flavonóides avaliados foram canferol, fisetina, luteolina, miricetina, morina e quercetina. Os resultados da DSC evidenciaram interações de natureza física do tipo ligações de hidrogênio, com variação de entalpia para todas as misturas dos flavonóides com a CMCr, mas que não puderam ser confirmadas por FTIR, devido à sobreposição de bandas com os flavonóides. O potencial de interação (PI) mostrou-se proporcional ao número de hidroxilas e apresentou a ordem de importância de posição e presença das hidroxilas nos anéis: B>C>A. A miricetina apresentou a menor energia do sistema conjugado do anel aromático relativa à banda I, relacionado ao maior PI entre os flavonóides estudados. Na avaliação do pKa dos flavonóides em relação à IV, não foi possível estabelecer uma correlação entre estas variáveis, não apresentando uma tendência de aumento ou diminuição do valor de pKa em relação ao aumento do PI. Os cálculos de MM2 para a energia de interação do sistema flavonóide-CMCr, considerando as dez interações propostas, demonstraram que a CMCr determinou a melhor orientação do flavonóide para obter a conformação de menor energia, não sendo possível estabelecer um padrão de conformação mais estável de interação para estes flavonóides.

Palavras-chave: celulose microcristalina, flavonóides, interações físico-químicas, estado sólido, análise térmica, modelagem molecular.

Abstract

EVALUATION OF THE BEHAVIOR OF FLAVONES AND FLAVONOLS WITH MICROCRYSTALLINE CELLULOSE IN SOLID STATE

In this work was evaluated the behavior of some flavonoids and of technological adjuvant microcrystalline cellulose (MCC) in solid state, in relation to the type of interaction and its intensity, when existing, using equimolar physical mixtures and in 1:2 ratio, respectively, through of differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis and infrared spectroscopy (FTIR). Structure-property of interaction relation was determined to studied flavonoids in possible solid-solid interactions with MCC, correlating standard hydroxylation in A, B and C rings of flavonoids with: 1) intensity variation (IV-%) between observed and hoped enthalpies, 2) energy of the conjugated system of aromatic ring relative to band I, 3) pKa value of flavonoids and 4) molecular mechanics 2 (MM2) force field calculations for interaction energy of system flavonoid-MCC. Evaluated flavonoids were fisetin, kaempferol, luteolin, morin, myricetin and quercetin. DSC results evidenced physical interactions hydrogen bonds type, with enthalpy variation for all mixtures of flavonoids with MCC, but could not be confirmed by FTIR, due to overlapping with flavonoids bands. Interaction potential (IP) showed to be proportional to the number of hydroxyls and presented in order of importance of position and presence of hydroxyls in rings: B>C>A. Myricetin presented the lowest energy of the conjugated system of aromatic ring relative to band I, related with the highest IP among studied flavonoids. In the evaluation pKa value of flavonoids in relation to IV, it was not possible to establish a correlation between these variables, not presenting a trend of increase or decrease of pKa value in relation to the increase of IP. MM2 force field calculations for interaction energy of system flavonoid-MCC, considering ten proposed interactions, demonstrated that MCC determined the best orientation of flavonoids to get the lowest energy conformation, not being possible to establish the steadiest standard conformation of interaction for these flavonoids.

Keywords: microcrystalline cellulose, flavonoids, physicochemical interactions, solid state, thermal analysis, molecular modeling.

Os flavonóides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes entre os metabólitos secundários vegetais. O emprego terapêutico de plantas contendo flavonóides é vasto e, em muitos casos, ainda empírico; entretanto, alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonóides, em particular para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão ou como co-fator da vitamina C. Pesquisas sugerem que alguns flavonóides são responsáveis por ação antitumoral considerável, podendo ainda agir como antivirais, anti-hemorrágicos, hormonais, antiinflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes (ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

O desenvolvimento farmacotécnico de um medicamento é composto de três etapas iniciais. Na pré-formulação são determinadas as características do componente ativo e o seu relacionamento frente aos adjuvantes farmacêuticos. A fase de formulação se ocupa com a análise do efeito do processo e a do escalonamento ou passagem de escala estuda os efeitos decorrentes do aumento da dimensão do lote sobre o desempenho do medicamento (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; ARIAS, 1999; ANDO e RADEBAUGH, 2000; FIESE e HAGEN, 2001; OCHOA e col., 2001; WELLS, 2002).

Uma das etapas mais importantes destes estudos está relacionada à verificação de interações entre o componente ativo e os adjuvantes tecnológicos empregados na formulação (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; MURA e col., 1998). A importância em realizar estudos que verifiquem possíveis interações de ordem química ou física, reside nas alterações que os adjuvantes podem ocasionar nas propriedades química, física e farmacêutica, e na resposta terapêutica de fármacos (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; MURA e col., 1998).

Os métodos termoanalíticos constituem ferramentas úteis na avaliação de interações entre fármacos e adjuvantes farmacêuticos, devido a sua capacidade em fornecer resultados de uma forma rápida. Entre as técnicas existentes, a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise térmica diferencial (DTA) e a termogravimetria (TGA) são três das que encontram maior aplicação nestes estudos (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; GIRON, 1998a; MURA e col., 1998).

Como método aplicável para elucidar possíveis fenômenos de inter-relação físico-química entre componentes ativos e adjuvantes farmacêuticos, apresenta-se a modelagem molecular, a qual já vem sendo empregada para explicar a ligação de flavonóides à albumina sérica humana (TANG e col., 2005), à xantina-oxidase (LIN e col., 2002; DA SILVA e col., 2004), à β -ciclodextrina (HAIYUN e col., 2003; YAN e col., 2006), a nitração da tirosina (SADEGHIPOUR e col., 2005), entre outros exemplos de aplicação.

Este trabalho versa sobre a análise racional do efeito da estrutura molecular de flavonóides frente à interação com um adjuvante farmacêutico de amplo emprego, a celulose microcristalina, dando continuidade a uma linha de pesquisa do Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LDG) desta Instituição, já desenvolvida por Armijo (2003), Costa (2005) e Longhini (2006) e servirá de base para estudos futuros de pré-formulação de formas farmacêuticas sólidas envolvendo flavonóides.

2.1 Objetivo Geral

Verificar a existência de possíveis interações entre alguns flavonóides e o adjuvante tecnológico celulose microcristalina em estado sólido, correlacionando-as com suas estruturas.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o tipo de interação e sua intensidade, quando existente, entre a celulose microcristalina e os flavonóides, utilizando misturas binárias em diferentes proporções através de métodos analíticos térmicos e espectroscópicos.

Determinar a relação estrutura-propriedade de interação (REPI) dos flavonóides estudados nas possíveis interações sólido-sólido com a celulose microcristalina em relação aos padrões de hidroxilação nos anéis A, B e C dos flavonóides.

Verificar a possibilidade de correlações entre a intensidade das interações e propriedades físico-químicas dos flavonóides.

Investigar, através da modelagem molecular, os possíveis mecanismos das interações entre os flavonóides e a celulose microcristalina.

3.1 FLAVONÓIDES

3.1.1 Aspectos fitoquímicos

Os flavonóides estão presentes em angiospermas e gimnospermas (MARTENS e MITHÖFER, 2005; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007), apresentando enorme diversidade estrutural. Podem-se encontrar flavonóides em diversas formas estruturais; entretanto, a maioria possui quinze átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas (A e B) ligadas por uma cadeia de três carbonos (Figura 1) (RIJKE e col., 2006; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

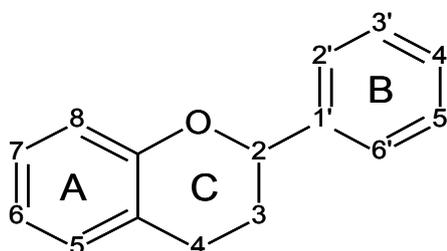


Figura 1. Estrutura básica dos flavonóides

O interesse econômico pelos flavonóides é decorrente de suas diferentes propriedades, como, por exemplo, o fato de alguns apresentarem cor e poderem ser usados como pigmentos, sua importância no processo de tanagem, na fermentação do chá-da-índia, na manufatura do cacau e por conferirem cor e valor nutricional para alguns alimentos (SADIK e col., 2003; CAI e col., 2004; ZHANG e col., 2005; KIM e col., 2006; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007), bem como as suas atividades biológicas e farmacológicas, como será visto adiante.

3.1.1.1 Flavonas e flavonóis

Estes compostos fazem parte de um grupo de flavonóides de origens biossintéticas muito próximas. Assim como as flavonas, os flavonóis também são flavonas substituídas na posição C₃ por uma hidroxila (Figura 2) (MARTENS e MITHÖFER, 2005; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007).

As flavonas e flavonóis naturais são freqüentemente oxigenadas, substituídas com hidroxilas e/ou metoxilas e são derivados da 2-fenilcromona e da 3-hidróxi-2-fenilcromona, respectivamente. Alguns padrões de oxigenação, como aqueles das posições dos carbonos 5, 7, 3' e 4', freqüentemente são encontrados para as duas classes. Isto é devido ao fato de flavonas e flavonóis serem originárias da mesma via biossintética (RICE-EVANS e col., 1996; RIJKE e col., 2006; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007). As estruturas da flavona e dos flavonóis que foram estudados neste trabalho são apresentadas na Figura 3 e na Tabela 1.

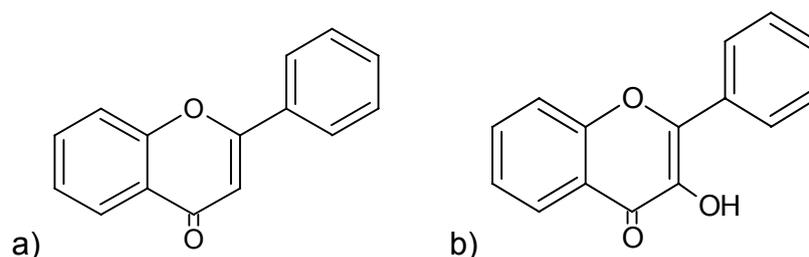


Figura 2. (a) flavona, (b) flavonol

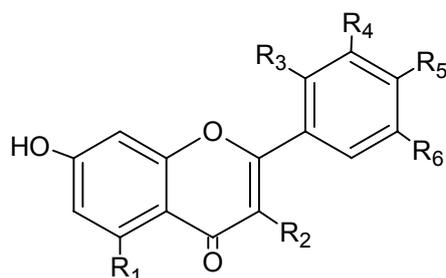


Figura 3. Estrutura básica da flavona e dos flavonóis estudados

Tabela 1. Posições das hidroxilas na flavona e nos flavonóis

Flavonóide	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
canferol	OH	OH	H	H	OH	H
fisetina	H	OH	H	OH	OH	H
luteolina	OH	H	H	OH	OH	H
morina	OH	OH	OH	H	OH	H
quercetina	OH	OH	H	OH	OH	H
miricetina	OH	OH	H	OH	OH	OH

3.1.2 Aspectos farmacológicos

Vários estudos têm sugerido que os flavonóides possuem efeito preventivo ou protetor no câncer, em doenças coronarianas, na perda óssea e em outras patologias relacionadas à idade (RICE-EVANS e col., 1996; CAI e col., 2004; ZHANG e col., 2005; KIM e col., 2006; RIJKE e col., 2006), possuindo, ainda, propriedades espasmolíticas, antiinflamatórias, antialérgicas e diuréticas, que são atribuídas à capacidade de captura do radical oxigênio (WANG e HUANG, 2004).

A maioria dos estudos sobre a atividade antiviral de flavonóides tem se restringido ao grupo de flavonas de maior ocorrência, flavonóis, chalconas e seus análogos sintéticos (CHÁVEZ e col., 2006), sendo os heterosídeos considerados menos ativos que as agliconas. Os estudos de relação estrutura-atividade mostraram que a presença da insaturação entre as posições 2 e 3 do anel C e os grupos hidroxila das posições 5, 6 e 7 são requisitos importantes para a inibição da transcriptase reversa do vírus HIV-1 (SOUZA Jr. e col., 2003; KIM e col., 2006).

A atividade antibacteriana dos flavonóides também vem sendo amplamente estudada, avaliando-se extratos de plantas com uso na medicina popular, especialmente *in vitro*, conforme relatam Cushnie e Lamb (2005) em seu artigo de revisão.

Os flavonóides são conhecidos como antioxidantes e pro-oxidantes (POLYDORO e col., 2004), atuando na captura e na neutralização de espécies oxidantes como o ânion superóxido (O_2^-), radical peróxido (O^{\cdot}) e principalmente o radical hidroxila (OH^{\cdot}). Alguns deles possuem capacidade antioxidante superior às vitaminas C e E (RICE-EVANS e col., 1996; SADIK e col., 2003; KIM e col., 2006). Com relação às características estruturais, ficou evidenciado que a presença de grupos *orto*-diidróxi nas posições 3' e 4' das flavonas e dos flavonóis é importante para esta atividade biológica (KIM e col., 2006; ZUANAZZI e MONTANHA, 2007). Para os flavonóides estudados também são atribuídas propriedades antioxidantes, como descritas na literatura (JOVANOVIC e col., 1994; BOHRS e col., 1995; RICE-EVANS e col., 1996; CAO e col., 1997; AREIAS e col., 2001; KANEKO e col., 2001; LEMANSKA e col. 2001; HEIM e col., 2002; VAYA e col., 2003; BUTKOVIC e col.,

2004; CALABRÒ e col., 2004; FIRUZI e col., 2005; RUSAK e col., 2005; SOOBRAATTEE e col., 2005; SEYOUM e col., 2006).

A atividade antiinflamatória (AI) desta classe de substâncias tem sido bastante investigada, como, por exemplo, para extratos aquoso e hidroetanólico das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Asteraceae (SIMÕES e col., 1988). Foi demonstrada atividade no modelo de pata de rato induzido por carragenina, atividade também verificada para os flavonóides quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina, isolados desta espécie vegetal. Sua atividade AI é explicada pela inibição da cicloxigenase (LIANG e col., 1999). Para Middleton e colaboradores (2000), os flavonóides estudados, entre eles, fisetina, miricetina, quercetina e alguns derivados do canferol inibem seletivamente a enzima 5-lipoxigenase, envolvida na formação dos leucotrienos a partir do ácido araquidônico (SCHEWE e col., 2002).

Vários estudos têm relatado o potencial dos flavonóides na quimioterapia preventiva do câncer e alguns têm demonstrado capacidade de interagir sobre a gênese do câncer, bloqueando o estágio de promoção, através da inibição da síntese da ornitina-descarboxilase e da inibição da expressão da proteína BCRP, presente no câncer de mama (AHMED-BELKACEM e col., 2005; ZHANG e col., 2005). Dentre os flavonóides estudados, canferol, luteolina, quercetina e miricetina apresentaram atividade anticâncer, relatada pela medicina chinesa (CAI e col., 2004) e mostraram-se capazes de inibir a angiogênese de culturas de células endoteliais da veia umbilical humana, sendo este efeito proporcional ao número de hidroxilas (KIM e col., 2006). Para a quercetina, foram descritas a inibição da incidência de papilomas de pele em cobaias e a inibição de fibrossarcoma induzido em camundongos (CHANG e KINGHORN, 2001) e, juntamente com a luteolina, atividade citotóxica sobre uma linhagem celular de adenocarcinoma de cólon (HT29), atribuindo esta atividade à presença da ligação dupla entre os carbonos 2 e 3 do anel C e às hidroxilas ligadas ao anel B (AGULLO e col., 1996). Embora estudos clínicos ainda sejam necessários para melhor esclarecer os efeitos benéficos deste grupo de substâncias no tratamento do câncer, os dados epidemiológicos e de testes *in vitro* apontam para o potencial de emprego clínico destes metabólitos.

Foi verificado efeito preventivo na perda óssea em mulheres na pós-menopausa. O canferol e a quercetina mostraram ação inibitória com relação à reabsorção óssea, sendo o efeito dose-dependente e influenciado pelo tempo. Com a utilização de osteoclastos altamente purificados de coelhos, foi demonstrado que as substâncias em questão induzem a apoptose dos osteoclastos maduros, na mesma faixa de dosagem efetiva para inibir a reabsorção óssea *in vitro* (WATTEL e col., 2003).

Aos flavonóides têm sido atribuída propriedade protetora capilar ou ação tônico-venosa (HALLWACHS, 2005). Conhecidos como fatores P ou vitamina P, os flavonóides são empregados no tratamento de enfermidades caracterizadas por hemorragias e fragilidade capilar. Alguns flavonóides, como a quercetina, são comercializados nos Estados Unidos e em países europeus como anti-hemorragicos, para melhorar as funções capilares e para tratar hemorróidas. Outros estudos mostram que dietas ricas em flavonóides, principalmente quercetina, estão associadas à menor incidência de acidente vascular cerebral. Estas substâncias também inibem a peroxidação microsomal no coração, atuando assim como cardioprotetoras e com efeito antiaterosclerótico (KIM e col., 2006).

Tabela 2. Exemplos de estudos de utilização dos flavonóides com atividade farmacológica

Flavonóides	Ligação	Efeito	Referência
canferol quercetina miricetina	glicinina e inibidor da tripsina humana (presentes na soja)	Proteção contra hipertrofia pancreática e hiperplasia	RAWEL e col. (2002)
canferol miricetina	proteína transportadora Glut 1	Inibição do efluxo de glicose na membrana do eritrócito	MARTIN e col. (2003)
canferol fisetina luteolina miricetina morina quercetina	15-lipoxigenase-1	Proteção contra efeitos pro-oxidantes	SADIK e col. (2003)
miricetina quercetina	xantina-oxidase (inibição do sítio de ação)	Proteção contra gota, doenças renais e formação de cálculos renais	LIN e col. (2002) e DA SILVA e col. (2004)
canferol luteolina miricetina morina quercetina	tirosina	Inibição da nitração da tirosina induzida pelo peroxinitrito	SADEGHIPOUR e col (2005)

Na Tabela 2 encontram-se ainda outros exemplos de estudos de utilização dos flavonóides com atividade farmacológica, incluindo aqueles utilizados neste estudo.

3.2 Celulose microcristalina (CMCr)

Constitui-se de um polímero da celobiose, que contém duas moléculas de glicose unidas através de ligações glicosídicas β (1-4) (Figura 4). Trata-se de uma celulose parcialmente despolimerizada e purificada (KIBBE, 2000; LEVIS e DEASY, 2001; NIKOLAKAKIS e col., 2006). Possui CAS 9004-34-6, constante no National Formulary/USP e na Farmacopéia Européia e encontra-se comercialmente disponível em diferentes tamanhos de partícula, dependendo do método de produção como Avicel[®], Emcocel[®], Microcel[®], Fibrocel[®], Tabulose[®], Vivacel[®], Vivapur[®] entre outros (KIBBE, 2000; HOEPFNER e col., 2002).

É produzida por hidrólise controlada em soluções de ácido mineral diluído de α -celulose, com o objetivo de manter inalterada a região de máxima ordenação molecular, denominada região cristalina (KIBBE, 2000; LEVIS e DEASY, 2001; PICKER e HOAG, 2001).

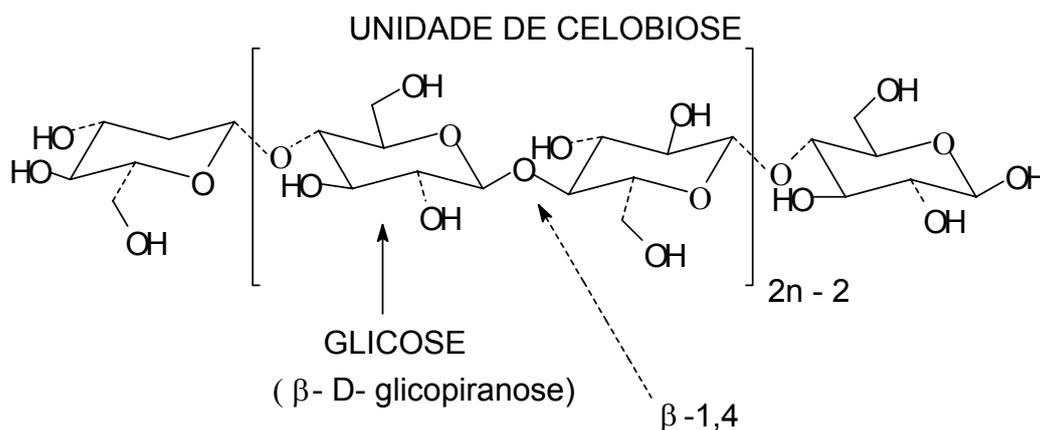


Figura 4. Estrutura da celulose (PETROVICK, 2006)

Amplamente utilizada na área farmacêutica, principalmente como aglutinante seco, material de enchimento e carga e diluente em formulações de cápsulas e

comprimidos, nos processos de granulação por via seca e úmida e de compressão direta (KIBBE, 2000; LEVIS e DEASY, 2001; NIKOLAKAKIS e col., 2006). Possui, ainda, propriedades de deformação plástica e sorventes que são interessantes para o processo de compressão (SONAGLIO e col., 1995; KIBBE, 2000). O grau de cristalinidade é importante porque influencia várias propriedades, incluindo a compactabilidade e a absorção de água, as quais exercem efeito na fluxibilidade e na estabilidade do produto final (PIFFERI e col., 1999).

Devido aos grupamentos alcoólicos primário e secundário, a CMCr forma ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, o que explica a zona cristalina e a possibilidade de interações com outras moléculas (ZHBANKOV e col., 2002; FIRUZI e col., 2005; EICHHORN e DAVIES, 2006), como por exemplo, taninos condensados (PIZZI e col., 1995), quercetina (COSTA, 2005) e ácido gálico (LONGHINI, 2006).

São conhecidos no mínimo quatro alomorfos cristalinos para a celulose (I, II, III e IV). Na Tabela 3 e na Figura 5 encontram-se os tipos de estrutura cristalina encontrados para a celulose, bem como seus arranjos cristalográficos. Entre elas, as fibras de *Valonia sp.*, *Boehmeria nivea*, algodão e madeira referem-se ao tipo I; as fibras produzidas após regeneração ou mercerização referem-se ao tipo II; as formas III e IV são derivadas do tratamento básico ou térmico das formas I e II. A celulose do tipo I é composta de uma mistura dos subtipos I_{α} e I_{β} em diferentes proporções e, a 260 °C, a forma I_{α} transforma-se em I_{β} , irreversivelmente (RAO e col., 1998). O tipo I apresenta-se energeticamente mais estável em relação ao II, resultado que está de acordo com as coordenadas espaciais utilizadas em estudo realizado por Eichhorn e Davies (2006).

Os sistemas cristalográficos determinados para os subtipos da celulose tipo I, α e β , são triclinico e monoclinico, respectivamente. Um sistema cristalográfico é descrito por três vetores. No caso do sistema monoclinico, ele forma um prisma retangular (vetores α , β e γ), composto de faces laterais ($\alpha > 90^{\circ}$ e $\beta = 90^{\circ}$) e superior ($\gamma = 90^{\circ}$), conseqüentemente, dois pares de vetores perpendiculares (β e $\gamma = 90^{\circ}$) e tem um paralelogramo como base. Já para o sistema triclinico, a estrutura de prisma retangular é a mesma, mas os ângulos dos vetores α , β e γ são todos diferentes de 90° (KLEIN e HURLBUT, 1985). As conformações tg (*trans-gauche*) e

gt (*gauche-trans*) referem-se às propriedades ópticas em relação à orientação do grupo hidroximetílico no C₅ da D-glicose em adição à configuração axial e equatorial dos grupos hidroxila dos átomos de carbono. De acordo com as conformações tg ou gt e o tipo de celulose, obtêm-se diferentes valores do ângulo de diedro χ (C₄-C₅-C₆-O₆): -81° (tg, tipo I), -70° (tg, tipo II) e 174° (gt, tipo II), as quais são também responsáveis pelas ligações de hidrogênio intracadeia (O₂...O₆ = 2,87 Å) e intercadeia (O₆...O₃ = 2,79 Å) (RAO e col., 1998; MATSUO e GEKKO, 2004).

Tabela 3. Arranjos cristalográficos da celulose (adaptado de RAO e col., 1998)

Tipos	Obtenção	Subtipos	Arranjo
I	Nativa	I _α e I _β (triclínica e monoclínica)	Paralelo, conformação tg
II	Regeneração básica por intumescimento ou mercerização da I	-	Antiparalelo, conformações tg e gt
III	Tratamento básico com NH ₄ OH do tipo I e II	III _i e III _{ii} *	Paralelo (I) e antiparalelo (II)*
IV	Aquecimento a 260 °C com glicerina do tipo I, II e III	IV _i e IV _{ii} *	Paralelo (I) e antiparalelo (II)*

*conversão

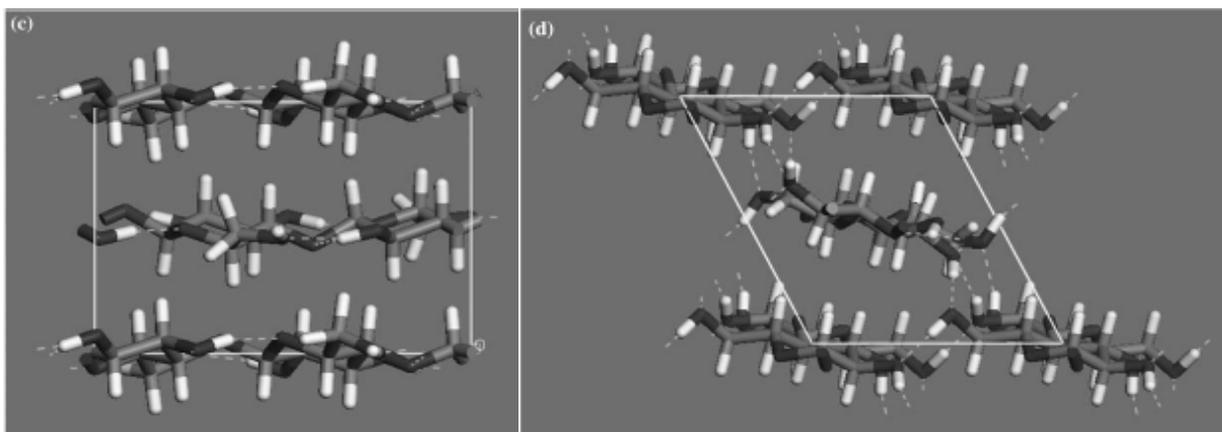


Figura 5. Arranjos paralelo I_β (c) e antiparalelo II (d) da celulose (EICHHORN e DAVIES, 2006)

3.3 Métodos termoanalíticos e suas aplicações nas ciências farmacêuticas

Os métodos termoanalíticos encontram aplicações nas mais diversas áreas das Ciências Farmacêuticas (BROWN, 1988; FORD e TIMMINS, 1989; CANOTILHO e col., 1992; HAINES, 1995; CLAS e col., 1999; THOMPSON, 2000; GIRON, 2002; ROBERTS e col., 2002; VELASQUEZ ARMIJO e col., 2004).

O desenvolvimento destas técnicas fez com que aumentassem significativamente a sensibilidade e os recursos das análises térmicas. Nas Ciências Farmacêuticas, a respeito das técnicas não associadas ou acopladas, pode-se afirmar que as que encontram maior número de aplicações são a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise termogravimétrica (TGA) e a análise térmica diferencial (DTA) (GIRON, 1998a; GIRON, 1998b).

A DSC baseia-se na determinação do calor envolvido em transições endotérmicas ou exotérmicas. É o método termoanalítico mais freqüentemente aplicado, devido às informações detalhadas a respeito das propriedades físicas e energéticas das substâncias, o que nenhuma outra técnica consegue fornecer, com tanta precisão, facilidade e rapidez (ROBINSON, 1995; CLAS e col., 1999).

Um dos empregos da DSC refere-se à avaliação de interações entre substâncias ativas entre si ou com adjuvantes de formulação, conforme revisão de Velasquez Armijo e colaboradores (2004).

As limitações esta técnica podem ser complementadas pelo uso de métodos auxiliares como a ressonância magnética nuclear, a espectroscopia na região do infravermelho, a espectrometria de massas, além da difratometria de raios-x e a espectroscopia Raman (GIRON, 1995; YU e col., 1998; HATAKEYAMA e QUINN, 1999; AUER e col., 2003; GIRON, 2004)

3.4 Estudos de pré-formulação

O estudo de pré-formulação é a fase do desenvolvimento farmacêutico no qual se buscam informações sobre as propriedades físico-químicas dos fármacos, tais como, entre outras, solubilidade e estabilidade, a existência ou não de formas polimórficas, assim como o comportamento destas frente a prováveis adjuvantes

farmacêuticos (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; ANDO e RADEBAUGH, 2000; FIESE e HAGEN, 2001; LUNER e col., 2001; OCHOA e col., 2001).

A grande variedade e variabilidade dos adjuvantes, bem como a reatividade intrínseca de algumas substâncias utilizadas com esta finalidade, aumentam a importância desse tipo de estudo. Sabe-se que os adjuvantes possuem um papel de suma importância na segurança, eficácia e estabilidade das formas farmacêuticas (PIFFERI e col., 1999).

Na seleção dos adjuvantes é utilizada, como abordagem experimental, a avaliação de misturas binárias entre o fármaco os adjuvantes passíveis de serem empregados na obtenção de uma determinada forma farmacêutica, que são submetidas a análises térmicas ou não-térmicas (COSTA, 2005). A respeito das proporções utilizadas nestas misturas, verifica-se que a maioria dos autores emprega a relação de 1:1 (m/m), para maximização de interações (WELLS, 1988; WADKE e col., 1990; ANDO e RADEBAUGH, 2000; OCHOA e col., 2001; KOPELMAN e AUGSBURGUER, 2002; WELLS, 2002), embora existam outras opções, tais como a variação das concentrações de forma a contemplar diferentes proporções (TANTISHAIYAKUL e col., 1996, 1999; BERGESE e col., 2003), a utilização de concentrações usuais (VECCHIO e col., 2001) ou proporções molares, estas últimas de difícil realização quando do emprego de adjuvantes poliméricos. A utilização de sistemas ternários é bastante rara, devido ao aumento da complexidade das respostas obtidas através dos métodos analíticos utilizados (VEIGA e col., 1993).

Uma das causas, pelas quais substâncias existentes em mistura no estado sólido, podem conduzir a interações, relaciona-se com a umidade contida na preparação. Toda formulação sólida terá alguma umidade residual (advinda do fármaco e/ou do adjuvante). Esta fração residual pode atuar como um vetor para reações químicas e fenômenos físicos entre os componentes. A força de ligação e o contato de uma substância com a película de água superficialmente adsorvida podem produzir uma dispersão líquida das substâncias, intermediando reações (FLORENCE e ATWOOD, 1998; WELLS, 2002).

Os métodos termoanalíticos apresentam vantagens em relação aos métodos tradicionais na avaliação de interações entre substâncias, por sua praticidade, por não necessitarem pré-tratamento e utilizar pequena quantidade de amostra e rapidez com que fornecem resultados. Outra vantagem diz respeito ao fato de que a amostra não precisa ser armazenada por um longo tempo para serem visualizadas interações (COTTON e col., 1987; WELLS, 1988; FORD e TIMMINS, 1989; BOTHA e LÖTHER, 1990; BRUNI e col., 2002; WELLS, 2002). Como desvantagens, apresentam o fato de que deve ser utilizado simultaneamente outro(s) método(s) de avaliação que não seja(m) térmico(s), uma vez que a avaliação apenas através de métodos termoanalíticos pode não ser conclusiva e/ou levar a resultados falso-positivos ou negativos. Outra desvantagem refere-se ao fato de que duas substâncias podem ter os seus pontos de fusão próximos ou coincidentes e/ou ocorrer eventos térmicos de difícil interpretação, como por exemplo, a mistura eutética. Ainda, podem ocorrer dificuldades na interpretação dos resultados se, na mistura binária, houver a possibilidade do segundo componente se dissolver em consequência da fusão do primeiro; contudo, este fato pode não ser significativo sob condições normais de estocagem (FORD e TIMMINS, 1989).

Uma revisão sobre as condições analíticas e fontes de erros em experimentos de DSC e TGA foi realizada por Velásquez Armijo e colaboradores (2004).

Da mesma forma, na área de produtos isolados de plantas medicinais, encontram-se estudos de interação entre fármaco e adjuvantes. Como exemplo de estudo de interação entre metabólitos de plantas e adjuvantes farmacêuticos, tem-se o estudo realizado por Verloop e colaboradores (2004), que estudaram a interação entre os senosídeos A e B e adjuvantes farmacêuticos. Nos produtos previamente dessecados não foram encontrados indícios de interação entre os senosídeos, o propilparabeno e o ácido cítrico por DSC, mas este resultado não foi confirmado pela análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Nas misturas expostas à alta umidade, os resultados para DSC e CLAE coincidiram ao detectarem interações entre os senosídeos, propilparabeno, carbonato de sódio, ácido esteárico, ácido cítrico, poligol, lactose, sorbitol e glicose. Os autores não recomendam o uso destes adjuvantes em formas farmacêuticas que contenham senosídeos.

Calabrò e colaboradores (2004) avaliaram os efeitos da complexação de α - e β - ciclodextrinas sobre as propriedades físico-químicas e a atividade antioxidante da 3-hidroxi-flavona, morina e quercetina, preparadas pelos métodos de *kneading* (mistura úmida com aquecimento), co-evaporação e camada delgada, através de DSC, FTIR, UV-VIS, $^1\text{H-NMR}$ e XRPD. O efeito da encapsulamento molecular sobre a atividade antioxidante foi avaliado por três ensaios biológicos diferentes. Os autores observaram que a complexação com ciclodextrinas melhorou a atividade antioxidante e aumentou a solubilidade destes flavonóis no meio biológico.

A maioria dos estudos de interação encontrados para os flavonóides estudados estão direcionados para a atividade biológica como ligação a receptores, enzimas e proteínas em geral. Até o presente momento, não foram encontrados estudos de pré-formulação de interações sólido-sólido entre flavonóides poliidroxilados e a CMCr, à exceção dos realizados neste Programa de Pós-graduação, em especial no LDG, na qual a DSC vem sendo empregada em estudos de pré-formulação entre compostos fenólicos e adjuvantes empregados em formas farmacêuticas sólidas e semi-sólidas.

Costa (2005) avaliou a possível existência de interações entre a quercetina e alguns adjuvantes tecnológicos usualmente empregados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas e semi-sólidas. A influência do processo de secagem por aspersão sobre as características da quercetina isolada e em presença do adjuvante de secagem dióxido de silício coloidal também foi avaliada. Para as misturas físicas entre a quercetina e os adjuvantes CMCr, croscarmelose sódica, manitol e monoestearato de glicerila foram encontradas evidências de interações e, no caso da CMCr do tipo ligações de hidrogênio, verificados por DSC e por TGA, mas não ratificados por espectroscopia no infravermelho.

Longhini (2006) avaliou a existência ou não de interações entre o ácido gálico e alguns adjuvantes tecnológicos usualmente empregados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas através da DSC, TGA e espectroscopia no infravermelho, avaliando também a influência da compactação sobre as misturas físicas equiponderais. Os resultados obtidos por DSC demonstraram interações de natureza física do tipo ligações de hidrogênio para as misturas entre o ácido gálico e

CMCr, crospovidona, estearato de magnésio e polimetacrilato. Para a crospovidona e o polimetacrilato, as interações não puderam ser confirmadas por espectroscopia no infravermelho, devido à sobreposição das bandas com o ácido gálico. A compactação demonstrou particular influência sobre a interação com a CMCr, croscarmelose sódica e crospovidona.

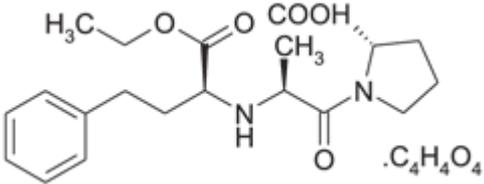
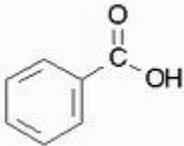
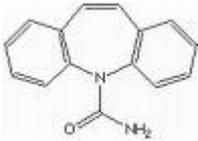
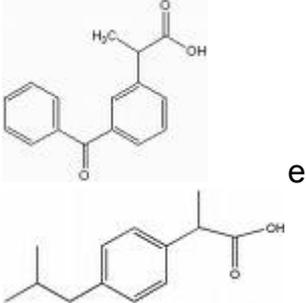
Em relação às possíveis interações envolvendo a CMCr, Carstensen e Kothari (1983) avaliaram a interação sólido-sólido entre o ácido alcóxi-furóico e a CMCr, através de um manômetro de fusão (aparelho descrito pelos autores em artigo anterior) e de estudos sobre cinética de decomposição, utilizando misturas físicas na proporção equiponderal e também em outras proporções ponderais. Os autores concluíram que existem interações sólido-sólido entre as substâncias e que produtos líquidos de degradação são formados, dissolvendo uma parte do ácido alcóxi-furóico. Estes produtos de degradação servem de carreadores para aumentar o número de pontos de contato entre as substâncias, acelerando a reação. Uma vez que todo o ácido alcóxi-furóico é dissolvido, a reação se torna uma reação de adsorção entre o ácido alcóxi-furóico e a CMCr.

Verma e Garg (2004) avaliaram a compatibilidade do mononitrato de isossorbida (MNI) com alguns adjuvantes utilizados no desenvolvimento de formulações de liberação rápida, entre eles, acetato de celulose, etolose e CMCr. Na primeira fase do estudo, a DSC foi utilizada e foram sugeridas incompatibilidades entre o MNI e o acetato de celulose e com a CMCr. Na segunda fase, as misturas físicas foram submetidas ao teste de *stress* isotérmico a 50 °C, durante três semanas e após analisadas por CLAE. Como resultado, o acetato de celulose foi o único adjuvante que se mostrou novamente incompatível com o MNI. Os autores evidenciaram uma possível interação sólido-sólido com a CMCr, apresentada por DSC, mas não confirmada por CLAE e, por isso, não necessariamente resultaria em incompatibilidade.

Drebushchak e colaboradores (2006) investigaram, através da DSC, a possibilidade de interações de misturas físicas entre o piroxicam e os adjuvantes celulose e quitosana após ativação mecânica das mesmas. Os autores observaram que ambos adjuvantes interagiram com o piroxicam, diminuindo tanto a temperatura

como o valor da entalpia de fusão. A ativação mecânica intensificou a interação em relação à diferença de temperatura e valor da entalpia do piroxicam.

Tabela 4. Exemplos de estudos de compatibilidade entre fármacos e adjuvantes

Fármaco/Adjuvante	Métodos	Interação	Referência
maleato de enalapril 	DSC, TGA, CLAE, MEV	(s): CMCr	COTTON e col. (1987)
ácido benzóico 	DSC e FTIR	(s): etolose	SINGHAL e col. (1999)
carbamazepina 	DSC, FTIR, XRPD	(s): manitol, CMCr, amido, ácido esteárico (n): derivados da lactose (Granulac 230 [®] , Flowlac 100 [®] , Microcelac 100 [®])	JOSHI e col. (2002)
cetoprofeno e ibuprofeno 	DSC	(s): celulose, metolose, hiprolose, hipromelose (n): entre eles	VUEBA e col. (2005)

CMCr= celulose microcristalina; (s)=interações confirmadas por diminuição de temperatura do pico de fusão, alargamento e/ou alteração na intensidade dos picos, surgimento e/ou desaparecimento de picos/bandas, perda de massa, pelos métodos listados;(n)=interações não confirmadas

Na Tabela 4 encontram-se mais alguns exemplos de estudos de compatibilidade entre fármacos e adjuvantes ou entre adjuvantes, incluindo a CMCr e seus derivados, através da DSC e outros métodos analíticos térmicos e não térmicos.

Também é de conhecimento geral a capacidade de interação da celulose com outras substâncias face à sua aplicação como fase estacionária em métodos cromatográficos, além de diversos relatos da literatura (PIZZI e col., 1995).

3.5 Modelagem molecular

A modelagem molecular consiste na geração, manipulação e/ou representação realista de estruturas moleculares e cálculo das propriedades físico-químicas associadas. O instrumento matemático usado é a química teórica e a computação gráfica é a ferramenta para manusear os modelos. Atualmente, os sistemas de modelagem molecular estão munidos de poderosas ferramentas para construção, visualização, análise e armazenamento de modelos de sistemas moleculares complexos que auxiliam na interpretação das relações entre a estrutura e a atividade biológica (DA SILVA, 2006). As moléculas podem ser analisadas quanto às propriedades eletrônicas, estéricas e hidrofóbicas dos flavonóides, correlacionando estas propriedades com os efeitos demonstrados pelos métodos termoanalíticos e não-térmicos (DA SILVA e col., 2004) e assim permitindo estabelecer modelos que procuram buscar as causas destes acontecimentos. A maioria das ferramentas computacionais empregadas na modelagem molecular é destinada ao estudo de interações em soluções (RCSB, 2006), embora existam raros exemplos que se ocupam, na área farmacêutica, com o inter-relacionamento de substâncias no estado sólido (POSE-VILARNOVO e col., 2001; ESTRADA e GONZALEZ, 2003; MONDAL e col., 2004). Devido às limitações dos métodos experimentais, a modelagem molecular é freqüentemente utilizada para elucidar os resultados encontrados nos diferentes métodos empregados. A modelagem molecular é uma poderosa ferramenta de informação sobre a geometria e sobre a interação entre compostos (YAN e col., 2006).

Os métodos de cálculo utilizados na modelagem molecular podem ser clássicos, como a mecânica molecular (MM), ou quânticos, como os métodos *ab initio* e semi-empírico. Os cálculos de MM são também chamados cálculos de campo de força (DA SILVA, 2006). Neste trabalho, foi empregado o programa MM2, envolvendo cálculos que utilizam a versão dois do programa de campo de força desenvolvido por Allinger (1977) *apud* SANT'ANNA (2002)*.

Na MM, os elétrons das moléculas são tratados como uma coleção de partículas mantidas unidas por forças harmônicas ou elásticas e podem ser descritos por forças newtonianas. Estas forças podem ser descritas em termos de funções de energia potencial de características estruturais como comprimentos de ligação, ângulos de ligação, interações não ligantes e outras (DA SILVA, 2006). A combinação destas funções de energia potencial é o campo de força e calcula a energia da molécula de partida de forma comparativa, com relação ao padrão metano (1 kJ/mol). O programa reconhece as mudanças que conduzem a estruturas mais estáveis, de menor energia estérica e os cálculos são interrompidos quando as modificações da estrutura mais estável, em relação à molécula original, não resultam em alteração considerável de energia. O objetivo da mecânica molecular é prever a energia associada com determinada conformação de uma molécula. Porém, a energia estérica, obtida por mecânica molecular, não expressa quantidades absolutas, apenas diferenças de energia entre duas ou mais conformações (CARVALHO e col., 2003).

As vantagens da MM são rapidez e economia de tempo de computação, a facilidade de compreensão em relação aos métodos de mecânica quântica, pode ser utilizada para moléculas com milhares de átomos (por exemplo, polímeros, oligonucleotídeos, peptídeos, carboidratos), que estão no vácuo ou em presença de solventes, podendo ser calculadas propriedades cinéticas, termodinâmicas, energia conformacional e ainda o cálculo de *docking*. Quando um tratamento mais refinado faz-se necessário, a geometria otimizada pela MM pode ser usada como ponto de partida para cálculos quanto-mecânicos de orbitais moleculares. Entretanto, possui

* Allinger, N. L. Conformational analysis. 130. MM2. A Hydrocarbon Force Field Utilizing V1 and V2 Torsional Terms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 25, p. 8127–8134, 1977. *apud* SANT'ANNA, C.R. Glossário de Termos usados no Planejamento de Fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997). **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 505-512, 2002.

desvantagens como o fato de que algumas classes de moléculas de interesse não estão correntemente parametrizadas, não sendo possível realizar para todos os elementos químicos existentes e que a MM não é apropriada para a determinação de propriedades onde efeitos eletrônicos (interações de orbitais, quebra de ligações) são predominantes (DA SILVA, 2006).

Da mesma maneira, como no caso dos estudos de pré-formulação envolvendo interações, a maioria dos estudos encontrados sobre modelagem molecular em relação aos flavonóides está direcionados para a atividade biológica como ligação a receptores, enzimas, proteínas em geral e, quando encontrados em relação à interação com adjuvantes, são predominantemente em estado semi-sólido ou em solução. Até o presente momento, também não foram encontrados estudos na qual a modelagem molecular elucidaria as interações entre flavonóides poliidroxilados e a CMCr, principalmente no estado sólido, ocorrendo o mesmo em relação à CMCr e sua possível interação com fármacos em formas farmacêuticas sólidas.

Zhang (1999) utilizou a modelagem molecular para elucidar e calcular as diferenças na atividade antioxidante entre compostos fenólicos, estabelecendo a relação estrutura-atividade (REA) dos mesmos. Na maioria dos compostos avaliados, os cálculos teóricos foram consistentes com os resultados experimentais. O autor ordenou a atividade antioxidante das hidroxilas dos antioxidantes fenólicos, entre eles, pirogalol, catecol e fenol com os grupamentos presentes, verificando que esta atividade antioxidante mostrou-se proporcional ao número de hidroxilas.

Marder e colaboradores (2001), através da modelagem molecular e da relação estrutura-atividade quantitativa (REAQ), avaliaram a interação entre derivados da flavona e o sítio de ligação do complexo receptor GABA_A para os benzodiazepínicos. Todos os flavonóides estudados demonstraram alta afinidade pelo sítio do receptor. O modelo fármaco-receptor do sítio de ligação dos benzodiazepínicos apresentou características específicas que devem ser levadas em conta no momento do reconhecimento do ligante (flavonóide). A análise de regressão REAQ demonstrou a relevância dos efeitos eletrônicos para o sítio de ligação e a associação com o oxigênio negativamente carregado do grupo carbonila no carbono 4 do anel C e com a substituição na posição 3' dos flavonóides.

Em estudo realizado por Lin e colaboradores (2002) foi investigada a inibição da atividade da xantina-oxidase por vários flavonóides. Todos os flavonóides testados mostraram-se inibidores competitivos, ligando-se ao sítio de ação desta enzima. Para um melhor entendimento da estereoquímica envolvida na ligação, foram realizadas modelagens moleculares baseadas nas estruturas dos flavonóides e da enzima. A quercetina e a miricetina inibiram o sítio de ligação da xantina-oxidase, mas, por possuírem um grupamento hidroxila na posição 3 do anel C, apresentaram uma redução na afinidade de ligação para este sítio de ação em relação à apigenina.

Erkoç e colaboradores (2003) esclareceram aspectos moleculares da quercetina e seus isômeros, tais como suas propriedades estruturais e eletrônicas. Foram propostas otimizações quanto à geometria dos sistemas e as propriedades eletrônicas foram calculadas e comparadas com resultados experimentais.

Yan e colaboradores (2006) utilizaram a modelagem molecular para verificar o processo de inclusão da quercetina em β -ciclodextrinas. No complexo de inclusão, a maior parte do esqueleto deste flavonol está incluída na cavidade e a ligação entre os anéis B e C está inclinada para o centro da β -ciclodextrina. A ligação do anel B da molécula da quercetina, posicionado próximo às hidroxilas secundárias da cavidade da β -ciclodextrina, é mantida por ligações de hidrogênio. Os resultados da modelagem molecular mostraram-se de acordo com aqueles observados para NMR e para simulações de dinâmica molecular, conforme proposição anteriormente sugerida por Vinadé e Petrovick (1998).

Eichhorn e Davies (2006) avaliaram a dureza do cristal da CMCr por meio da deformação cristalina, bem como realizaram o cálculo da minimização de energia do sistema, através da modelagem molecular pelo método da MM, propondo estruturas de regiões cristalinas das formas I_α , I_β e II. Os autores concluíram que a estrutura da CMCr I é energeticamente mais estável em relação à II e ainda, que a forma I_β é energeticamente mais estável em relação à I_α . Sobre a dureza do cristal, relacionada à deformação cristalina, a estrutura da forma I_α mostrou-se semelhante à forma I_β e ambas apresentaram valores de dureza inferiores à II, devido à estrutura espacial das suas formas cristalinas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Aparelhos, equipamentos e acessórios

- balança analítica Crystal 200[®] Gibertini;
- calorímetro diferencial exploratório por fluxo de calor, Shimadzu DSC-60, dotado de controlador de fluxo para gás de purga (N₂) FC-60A, integrador TA-60WS e software de controle e avaliação TA-60 versão 2.0;
- câmera digital SONY – Mavica modelo FD71 com resolução normal;
- difratômetro de raios-X Siemens[®], modelo D5000, radiação CuK_α (2 θ), com geometria de Bragg-Bretano, com programa computacional Diffrac Plus[®] 2001 ¹;
- espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu DR-8001, com transformações de Fourier, Infrared FTIR-8300, dotado de feixe laser de He-Ne a 633 nm (0,5 mW) Carver Laboratory Press, modelo C n. 34000-978 e prensa hidráulica Perkin-Elmer[®], com pressão aplicada de 600 MPa ²;
- espectrofotômetro de infravermelho Bomem (Hartmann & Braun) MB-100, com transformações de Fourier, dotado de feixe laser de He-Ne a 633 nm (0,5 mW) e prensa hidráulica Enerpac[®], com pressão aplicada de 3,43 MPa ³;
- espectrofotômetro UV-VIS Hewlett-Packard[®] 8452 A, feixe duplo, com programa computacional HP UV-Visible Chemsation, (versão A 02.05), utilizando cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico;
- espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu[®], modelo 1601PC, feixe duplo, com programa computacional UVPC (versão 3.91), utilizando cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico ⁴;
- potenciômetro Digimed DM 20-V6;
- porta amostras de alumínio, dotado de tampa, ref. C 201-52943 Shimadzu;
- seladora para porta-amostras, modelo SSC-30, Shimadzu e

¹ IGEO/UFRGS. Agradecimentos ao técnico Renato Silva pela realização da análise.

² Central Analítica/IQ/UFRGS. Agradecimentos à bolsista Marcela Sander pela realização das análises.

³ LAPMA/IF/UFRGS. Agradecimentos à Prof.^a Dra. Naira Balzaretto pela realização das análises.

⁴ LAPPS. Agradecimentos à doutoranda Eliane Donato e ao bolsista Tiago Müller pelo auxílio na realização das análises.

- termobalança Mettler Toledo, modelo TGA/SDTA-851^e, dotada de sistema computacional STAR SW[®] (versão 8.10) e de cadinho de platina com capacidade de 900 μL ⁵.

4.1.2 Materiais

4.1.2.1 Flavonóides

Neste trabalho foram utilizados os seguintes flavonóides, os quais receberam as notações informadas a seguir:

- canferol (Ca) (Sigma, lote 036K1719, catálogo Sigma-Aldrich 2006/2007),
- fisetina (Fi) (Fluka, lote 456656, catálogo Sigma-Aldrich 2006/2007),
- luteolina (Lu) (Extrasynthese, lote 07010421, catálogo Extrasynthese 2007),
- miricetina (Mi) (Fluka, lote 1220888, catálogo Sigma-Aldrich 2006/2007),
- morina (Mo) (Sigma, lote 066K2521, catálogo Sigma-Aldrich 2006/2007),
- quercetina amostra (QA) (All Chemistry, lote ALL18837) e
- quercetina diidratada referência (QR) (Merck, lote 4149878).

4.1.2.2 Adjuvante tecnológico

Como adjuvante tecnológico, foi utilizada a celulose microcristalina (CMCr) (Microcel MC-101[®], lote 221/05), doada pela Blanver.

4.1.2.3 Reagentes, soluções e outras matérias-primas

Todos os reagentes empregados, exceto os diferentemente descritos, apresentaram grau de pureza pró-análise:

- ácido clorídrico R;

⁵ LACER/Engenharia de Materiais/UFRGS. Agradecimentos ao Prof. Dr. Carlos Bergmann pela utilização do equipamento e à bolsista Luciana Stein pela realização das análises.

- biftalato ácido de potássio 0,05 M pH 4,01 ;
- brometo de potássio (Uvanol[®] Merck) para IV;
- cloreto de alumínio hexaidratado (Merck[®]);
- cloreto de zinco iodetado SR (USP 28);
- dimetilformamida (Vetec[®]);
- fosfato dibásico de sódio e monobásico de potássio 0,05 M pH 6,86;
- índio e zinco metálicos, com grau de pureza 99,999 % e 99,998 %, respectivamente, para calibração do aparelho de DSC;
- metanol (Merck[®]).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização dos flavonóides

A caracterização dos flavonóides foi realizada de acordo com testes descritos em Farmacopéias e literatura especializada. As análises, quando necessárias e não diferentemente do especificado, foram realizadas em triplicata.

4.2.1.1 Métodos de Identificação

4.2.1.1.1 Análise espectroscópica no ultravioleta

Foi realizada a varredura do espectro de absorção no ultravioleta dos flavonóides dissolvidos em metanol contendo 10 µg/mL, utilizando o solvente como compensação. Os flavonóides possuem dois picos de absorção localizados entre 240 e 285 nm e 300 e 400 nm. Os espectros obtidos foram comparados quanto aos máximos de absorção descritos na literatura (JURD, 1962; MABRY e col., 1970; GOTTLIEB, 1975; MARKAN e MABRY, 1975). Em relação à quercetina amostra, foi preparada solução com a mesma concentração da quercetina referência para a realização do estudo comparativo.

Como método de identificação alternativo, freqüentemente é utilizada a espectroscopia no ultravioleta com a adição de AlCl_3 , que modifica o espectro de absorção da banda I, ocasionada pela formação de complexos ácidos estáveis com o alumínio para flavonas e flavonóis que contenham grupos hidroxila em C_3 e C_5 . Em adição, o AlCl_3 forma complexos ácidos instáveis em presença dos grupos *o*-dihidroxi (JURD, 1962; MABRY e col., 1970; GOTTLIEB, 1975; MARKAN e MABRY, 1975). Foram preparadas soluções dos flavonóides com concentração de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e a estas foram adicionadas seis gotas de solução de AlCl_3 a 6 % (m/v) em metanol na própria cubeta. Agitou-se e guardou-se 1 min, com as cubetas protegidas da luz, para então realizar a leitura utilizando o solvente como compensação. Os espectros obtidos com e sem adição do complexante foram comparados quanto aos máximos de absorção.

Às soluções dos flavonóides foram adicionadas seis gotas de solução de AlCl_3 a 6 % (m/v) em metanol na própria cubeta. Agitou-se e aguardou-se 1 min, com as cubetas protegidas da luz, para então realizar a leitura, utilizando o solvente com a mesma quantidade de complexante como compensação. Os espectros obtidos com e sem adição do complexante foram comparados quanto aos máximos de absorção.

Para a verificação da presença dos grupos *o*-diidroxilícos no anel B, foi realizada reação de hidrólise ácida, utilizando HCl, a fim de que os complexos formados fossem decompostos na presença do ácido. Às soluções dos flavonóides contendo AlCl_3 foram adicionadas três gotas de HCl a 50 % e foi realizada nova varredura de espectro para as soluções dos flavonóides, mantendo-se constante o tempo após a adição (JURD, 1962; MABRY e col., 1970; GOTTLIEB, 1975; MARKAN e MABRY, 1975).

4.2.1.1.2 Análise espectroscópica no infravermelho (POUCHERT, 1991; Ph. Eur., 2002)

Os espectros de infravermelho dos flavonóides foram obtidos em fase sólida, pesando-se exatamente cerca de 1,5 mg de amostra juntamente com 150 mg de brometo de potássio previamente dessecado. A seguir, esta mistura foi triturada em gral de ágata e posteriormente submetida à compressão em prensa hidráulica, obtendo-se dessa forma as pastilhas para análise. Foi realizada comparação com

espectros recentemente obtidos em outros trabalhos deste Programa de Pós Graduação e com os espectros contidos em Pouchert (1991). As condições experimentais consideradas foram: resolução de 4 cm^{-1} , 32 acumulações e faixa de frequência de leitura de 4.000 a 600 cm^{-1} .

4.2.1.1.3 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória (DSC)

Quantidades entre 1 e 2 mg foram exatamente pesadas em porta-amostras de alumínio, posteriormente tampados e selados. As condições experimentais consideradas foram: velocidade de aquecimento: $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$; faixa de aquecimento: entre 25 (temperatura ambiente) e $400\text{ }^{\circ}\text{C}$; composição e fluxo do gás de purga: nitrogênio sob fluxo de $50\text{ mL}/\text{min}$.

4.2.1.1.4 Análise térmica por termogravimetria (TGA)

Para a elucidação de eventos ocorridos nas análises dos flavonóides por DSC, foi realizada a análise por termogravimetria. Para tanto, foi pesada, exatamente, massa entre 10 e 15 mg da amostra, em cadinho de platina, com volume nominal de $900\text{ }\mu\text{L}$. As condições experimentais consideradas foram: faixa de aquecimento: 30 a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$; velocidade de aquecimento: $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$; atmosfera: nitrogênio, com fluxo de $60\text{ mL}/\text{min}$.

4.2.2 Caracterização do adjuvante

4.2.2.1 *Celulose microcristalina (CMCr)*

A caracterização do adjuvante tecnológico foi realizada de acordo com testes descritos em Farmacopéias e literatura especializada. As análises, quando necessárias e não diferentemente do especificado, foram realizadas em triplicata.

4.2.2.1.1 Identificação por reação de coloração (USP 29, 2006)

A identificação foi feita de acordo com o teste A. Foram dispersos, sobre vidro de relógio, 10 mg de CMCr em 2 mL de solução de cloreto de zinco iodetada. A positividade da reação é confirmada pelo desenvolvimento de coloração azul-violeta.

4.2.2.1.2 Pesquisa de substâncias solúveis em água (USP 29, 2006)

Foi preparada suspensão aquosa misturando-se 5,0 g da CMCr a 80 mL de água com agitação por 10 min. Esta suspensão foi filtrada através de funil de Büchner a vácuo, transferida para pesa-filtros tarados e evaporada em banho-maria. Posteriormente, foram secos a 105 °C, por 1 h e mantidos em dessecador até resfriamento, à temperatura ambiente, para então serem pesados. A diferença de pesos não deve exceder 12,5 mg (0,25 %) em relação ao pesa-filtro vazio (compensação).

4.2.2.1.3 Determinação do pH (USP 29, 2006)

A CMCr foi dispersa em água na concentração 12,5 % (m/V). Após, foi filtrada através de funil de Büchner a vácuo e o pH foi determinado com auxílio de potenciômetro digital calibrado previamente com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0, com compensação de temperatura. O valor de pH deve encontrar-se na faixa de 5,0 a 7,5.

4.2.2.1.4 Determinação da perda por dessecação

O teor de umidade da CMCr foi determinado utilizando-se método termogravimétrico, no qual a determinação da água ou umidade é baseada na perda de peso da amostra pelo sistema de secagem por infravermelho, seguindo o protocolo estabelecido por Carvalho (1997). Foram pesados exatamente 2,0 g da amostra, transferidos para porta-amostras de alumínio e tratados nas seguintes condições de secagem: sensibilidade de 120 s e temperatura de 105 ° C, com intervalo de 10 min entre cada determinação, tempo necessário para o resfriamento da balança. De acordo com a USP 29 (2006), o teor máximo de umidade aceito é de 7,0 %.

4.2.2.1.5 Análise espectroscópica no infravermelho (POUCHERT, 1991; Ph. Eur., 2002)

Os espectros de infravermelho da CMCr foram obtidos de acordo com o método descrito no item 4.2.1.1.2.

4.2.1.1.6 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As amostras da CMCr foram submetidas à DSC de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.1.1.3.

4.2.1.1.7 Análise térmica por termogravimetria (TGA)

As amostras da CMCr foram submetidas à TGA de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.1.1.4.

4.2.1.1.8 Análise por difratometria de raios-X

Para a caracterização da estrutura cristalina da CMCr, foi pesada uma massa entre 500 e 1000 mg da amostra, a qual foi submetida à análise por difratometria de raios-X. O resultado foi comparado com padrões fornecidos pela biblioteca do próprio equipamento. As condições experimentais consideradas foram: fonte de radiação de $\text{Cu}_{K\alpha}$ de 1,5409 Å; filtro de Ni; velocidade angular de 2θ ; *step size* de $0,05^\circ 2\theta$; *step time* de 1,5 s; corrente de filamento de 25 mA; voltagem e aceleração dos elétrons de 40 kV.

Para o cálculo do índice de cristalinidade (CrI) da CMCr, foi empregada a equação 1, adaptada de EL-SAKHAWY e HASSAN (2007):

$$CrI = \frac{I_{2\theta \approx 26} - I_{2\theta \approx 18}}{I_{2\theta \approx 26}} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

onde,

$I_{\approx 26^\circ 2\theta}$ = intensidade do pico quando o ângulo de incidência é $\approx 26^\circ 2\theta$

$I_{\approx 18^\circ 2\theta}$ = intensidade do pico quando o ângulo de incidência é $\approx 18^\circ 2\theta$.

4.2.3 Preparação das misturas binárias

Com o objetivo de verificar possíveis interações dos flavonóides com o adjuvante selecionado, foram obtidas misturas binárias para serem analisadas em triplicata por espectroscopia no infravermelho, calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria, utilizando-se os flavonóides e o adjuvante, respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (KIBBE, 2000; HOEPFNER e col., 2002).

Para avaliar a reprodutibilidade das misturas binárias, foram preparadas três misturas equponderais da QA com a CMCr nas condições descritas acima. Cada mistura foi avaliada em triplicata e submetida à análise por DSC.

Foram preparadas misturas contendo o flavonóide e a CMCr, misturadas durante 5 min em cápsula de porcelana por espatulação. O motivo da escolha deste procedimento de mistura deveu-se ao fato de que as modificações dos sistemas particulados durante o processo de trituração poderiam exercer influência nas características físico-químicas de algumas substâncias (SALEKI-GERHARDT e col., 1994; MURA e col., 1998; LUNER e col., 2001; GIRON e col., 2004). Em seguida, as misturas foram analisadas por DSC em triplicata e foram considerados para análise os valores de t_{onset} ($^\circ\text{C}$) e de entalpia (kJ/mol) relativos ao pico de fusão da quercetina.

Para facilitar o entendimento dos dados obtidos por DSC e TGA, algumas definições se fazem necessárias:

Temperatura *onset* (T_{onset}) em DSC: é a temperatura onde a transição começa a desviar-se da linha de base. O programa computacional disponível para analisar os eventos térmicos fornece a T_{onset} extrapolada, que é definida pela interseção da tangente ao ponto de máxima inclinação do pico com a linha de base extrapolada. A endoterma de fusão pode ser descrita e caracterizada pela T_{onset} (BROWN, 1988; CLAS e col., 1999; HATAKEYAMA e QUINN, 1999; IONASHIRO e GIOLITO, 2005).

T_{onset} em TGA: é a temperatura na qual as variações acumuladas de massa totalizam o valor em que a balança é capaz de detectar a perda de massa

(IONASHIRO e GIOLITO, 2005). Indica o momento de inflexão da linha de base, reconhecida como início da perda de massa.

Temperatura máxima ($T_{m\acute{a}x}$): é a distância máxima da linha de base, temperatura medida no ápice do evento (pico), endotérmico ou exotérmico. Depende da velocidade de aquecimento, tamanho de partícula e da posição do termopar (BROWN, 1988; CLAS e col., 1999).

Varição de entalpia (ΔH): é a entalpia envolvida no evento térmico, dada pela área do pico da curva de aquecimento, considerando a massa da amostra (BROWN, 1988).

Altura do pico: é a distância, perpendicular em relação ao eixo dos tempos ou das temperaturas, entre a linha de base interpolada e o ponto máximo do pico (IONASHIRO e GIOLITO, 2005).

Largura do pico: é o intervalo de tempo ou de temperatura entre seus pontos de saída e de retorno à linha de base (IONASHIRO e GIOLITO, 2005).

Ponto médio em TGA: é a temperatura em que a perda de massa envolvida se encontra com velocidade máxima.

Nas curvas de aquecimento obtidas por DSC o sentido do evento endotérmico está apontado para baixo.

O programa computacional do equipamento fornece o valor da entalpia (ΔH) com base na massa da amostra informada, não considerando a composição qualitativa da amostra, isto é, se composta por uma única substância ou mistura de substâncias. Em caso de não existência de interação numa mistura o valor de ΔH de cada transição térmica é diretamente proporcional a sua concentração na amostra, assim, estas condições devem ser consideradas. Para tanto, neste trabalho foram empregados os seguintes conceitos:

Entalpia observada (ΔH_{obs}): valor fornecido pelo programa computacional para cada evento térmico, independente da composição qualitativa e/ou quantitativa da amostra, seja de substância única (*flav* ou *CMCr*, respectivamente para o flavonóide ou celulose microcristalina) ou de mistura de substâncias (m).

Entalpia esperada (ΔH_{esp}): valor calculado para cada evento térmico de uma mistura de substâncias, considerando a ΔH_{obs} na substância única (ΔH_{pi}) e o seu fator de contribuição na composição da mistura (ci), conforme a equações 2 e 3.

$$ci = \frac{100}{i(\%)} \text{ (Eq. 2)} \quad \Delta H_{esp} = \frac{\Delta H_{pi}}{ci} \text{ (Eq. 3)}$$

onde, i = concentração ponderal percentual do componente na mistura.

Entalpia molar (ΔH_{mol}): valor calculado para o evento térmico considerando-se o número de mols na amostra (n). Foi calculado o valor de ΔH_{mol} referente à fusão dos flavonóides, tanto isolados (pi) (equações 4 e 6), quanto nas misturas (ci) equiponderais (equações 7, 8 e 9) e na proporção ponderal 1:2 (equações 7, 10 e 11). A contribuição da CMCr (equações 4 e 5) foi avaliada através da massa molecular média, conforme a literatura (KIBBE, 2000).

A entalpia é uma propriedade extensiva, pois depende da extensão do sistema, ou seja, da quantidade de matéria considerada. Já entalpia molar, propriedade intensiva, não depende da extensão do sistema (da massa ou do volume do sistema) ou da substância a ser analisada (NETZ e ORTEGA, 2002).

Para os flavonóides isolados e para a CMCr:

$$\Delta H_{molpi} = \frac{\Delta H_{obspi}}{n} \text{ (Eq. 4)}$$

$$n = \frac{1}{MM_{CMCr}} \text{ (Eq. 5)}$$

$$n = \frac{1}{MM_{flav}} \text{ (Eq. 6)}$$

Para os flavonóides nas misturas (ci):

$$\Delta H_{molci} = \frac{\Delta H_{obsi}}{n_1 + n_2} \text{ (Eq. 7)}$$

$$n_1 = \frac{0,5}{MM_{flav}} \quad (\text{Eq. 8}) \quad n_2 = \frac{0,5}{MM_{CMCr}} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$n_1 = \frac{0,33}{MM_{flav}} \quad (\text{Eq. 10}) \quad n_2 = \frac{0,66}{MM_{CMCr}} \quad (\text{Eq. 11})$$

onde,

0,5 = para misturas 1:1

0,33 e 0,66 = para misturas 1:2

MM = massa molecular média para o flavonóide (*flav*) e para a CMCr.

Intensidade da variação: variação em relação à ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} (equação 12).

$$IV(\%) = \frac{|\Delta H_{obs} - \Delta H_{esp}|}{\Delta H_{esp}} \times 100 \quad (\text{Eq. 12})$$

4.2.3.1 Análise espectroscópica no infravermelho (POUCHERT, 1991; Ph. Eur., 2002)

Os espectros de infravermelho das misturas binárias foram obtidos de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.1.1.2.

4.2.3.2 Análise térmica por calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As misturas binárias foram submetidas à DSC de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.1.1.3.

4.2.3.3 Análise térmica por termogravimetria (TGA)

As amostras das misturas binárias foram submetidas à TGA de acordo com o procedimento descrito no item 4.2.1.1.4.

4.2.4 Avaliação da energia da banda I dos flavonóides (KAHRS, 1974)

Para o cálculo do comportamento da energia do $\lambda_{m\acute{a}x}$ dos flavonóides, relativa à banda I, foi empregada a equação 13:

$$E = \frac{28,6 \times 1000}{\lambda_{m\acute{a}x}} \quad (\text{Eq. 13})$$

onde,

E = energia (kcal/mol)

$\lambda_{m\acute{a}x}$ = comprimento de onda da absorção máxima do pico (nm)

4.2.5 Avaliação estatística (MONTGOMERY, 2001)

A análise estatística dos resultados foi realizada através dos testes a seguir: média aritmética, desvio padrão, limite de confiança e análise de variância (ANOVA).

4.2.6 Modelagem molecular

Com o objetivo de investigar as possíveis interações físico-químicas entre os seis flavonóides e a CMCr, foram construídos modelos bidimensionais para estas estruturas, através do programa ChemBioDraw Ultra[®] versão 11.0 (Cambridge Soft). Estes modelos foram transformados em tridimensionais e cada estrutura teve a sua energia minimizada separadamente, através do programa ChemBio3D Ultra[®] versão 11.0, utilizando métodos clássicos newtonianos da mecânica molecular (versão MM2) para o cálculo do campo de força, conforme metodologia previamente descrita por Da Silva e colaboradores (2004). Em seguida, a estrutura minimizada de cada flavonóide foi unida à estrutura minimizada da CMCr, estabelecendo seis combinações flavonóide-CMCr. Para cada uma destas seis combinações, foram ainda propostas dez possibilidades de interação, alterando-se a localização do flavonóide frente à CMCr, totalizando sessenta interações. Em todas as combinações, através da minimização de energia dos sistemas formados, foi

possível calcular a energia de interação de cada um destes sistemas, através das equações 14 (FELTRE e YOSHINAGA, 1974; DE SANT'ANNA e col., 1998) e 15 (adaptada da Eq. 14):

$$\Delta H = H_f - H_i \quad (\text{Eq. 14})$$

onde,

ΔH = variação de entalpia do sistema (kcal/mol)

H_f = entalpia final do sistema (kcal/mol)

H_i = entalpia inicial do sistema (kcal/mol)

$$E_{\text{int}} = E_{\text{fsistema}} - (E_{\text{CMCr}} + E_{\text{flav}}) \quad (\text{Eq. 15})$$

onde,

E_{int} = energia de interação do sistema (kcal/mol)

E_{fsistema} = energia final do sistema minimizada, valor fornecido pelo programa MM2 para a interação flavonóide-CMCr (kcal/mol)

E_{CMCr} = valor fornecido pelo programa MM2 para a energia minimizada da CMCr (kcal/mol)

E_{flav} = valor fornecido pelo programa MM2 para a energia minimizada do flavonóide (kcal/mol)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da celulose microcristalina (CMCr)

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos na determinação de características da qualidade selecionadas para a CMCr.

Tabela 5. Resultados obtidos na determinação de características da qualidade selecionadas para a celulose microcristalina (USP 29)

Testes	Especificação	Resultado $\bar{x} \pm s$ (CV%)
Identificação	Coloração azul-violeta	Conforme especificação
Substâncias solúveis em água	$\leq 0,24 \%$	$0,046 \pm 0,026$ (55,77)
Determinação do pH	entre 5,0-7,0	$6,3 \pm 0,036$ (0,57)
Perda por dessecação	$\leq 7 \%$	$4,94 \pm 0,113$ (2,29)

O espectro na região do infravermelho (Figura 6), obtido para a CMCr, mostrou-se sobreponível aos obtidos em trabalhos anteriores (ARMIJO, 2003; COSTA, 2005; LONGHINI, 2006), apresentando as seguintes bandas características (NAKANISHI e SOLOMON, 1977; RÜCKER e col., 1998; SILVERSTEIN e col., 1998):

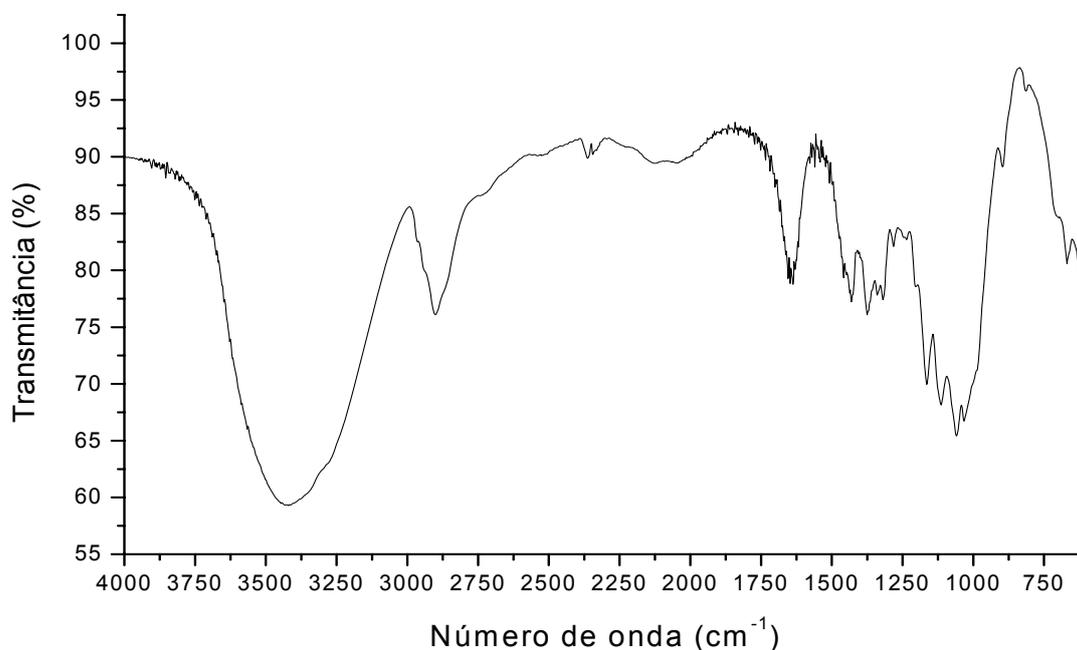


Figura 6. Espectro na região do infravermelho da celulose microcristalina

$v_{\text{máx}}$ KBr/ cm^{-1} :

~3360	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~2900	Deformação axial da ligação C-H
~1650	Carbonila/ligações de hidrogênio de aldoses
~1430-1370	Deformações angulares das ligações O-H de álcoois primários e secundários
~1150-1000	Deformações axiais de C-O de álcoois primários, de éter alifático e cíclico
~890	Deformação angular de C-H, sugere configuração β -açúcar

As ligações de hidrogênio, detectadas na região de maior frequência no infravermelho, podem ocorrer intra ou intermolecularmente. Estas ligações são de especial importância para as propriedades da CMCr (NYSTRÖM e KAREHILL, 1996). Pode-se considerar, hipoteticamente, sua disponibilidade para interagir com grupamentos polares de outras moléculas, provocando interações físicas.

A curva de aquecimento obtida por DSC da CMCr encontra-se demonstrada na Figura 7 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 6. Na execução dos cálculos de entalpia molar, sempre que a CMCr esteve presente, foi considerada a sua massa molecular média de 36.000, indicada pelo fabricante Blanver e por Kibbe (2000), não considerando os possíveis desvios deste valor.

A larga endoterma com máximo em 58,52 °C está relacionada à água de adsorção do adjuvante, relatada em trabalhos anteriores (ARMIJO, 2003; COSTA, 2005; LONGHINI, 2006). O pico exotérmico posterior conota despolimerização da celulose, com decomposição (FORD e TIMMINS, 1989; TIAN e col., 1999). Não foi possível constatar qualquer evidência relacionada à temperatura de transição vítrea (T_g) deste polímero, o que também ocorreu nos trabalhos de Armijo (2003), Costa (2005) e Longhini (2006).

Tabela 6. Parâmetros térmicos observados para a celulose microcristalina obtidos por DSC

Amostra	Eventos					
	Endotérmico			Exotérmico		
CMCr	T_{onset} (° C)	$T_{\text{máx}}$ (° C)	ΔH (kJ/mol)	T_{onset} (° C)	$T_{\text{máx}}$ (° C)	ΔH (kJ/mol)
	34,46	58,52	1414,08	361,03	368,53	4851,72

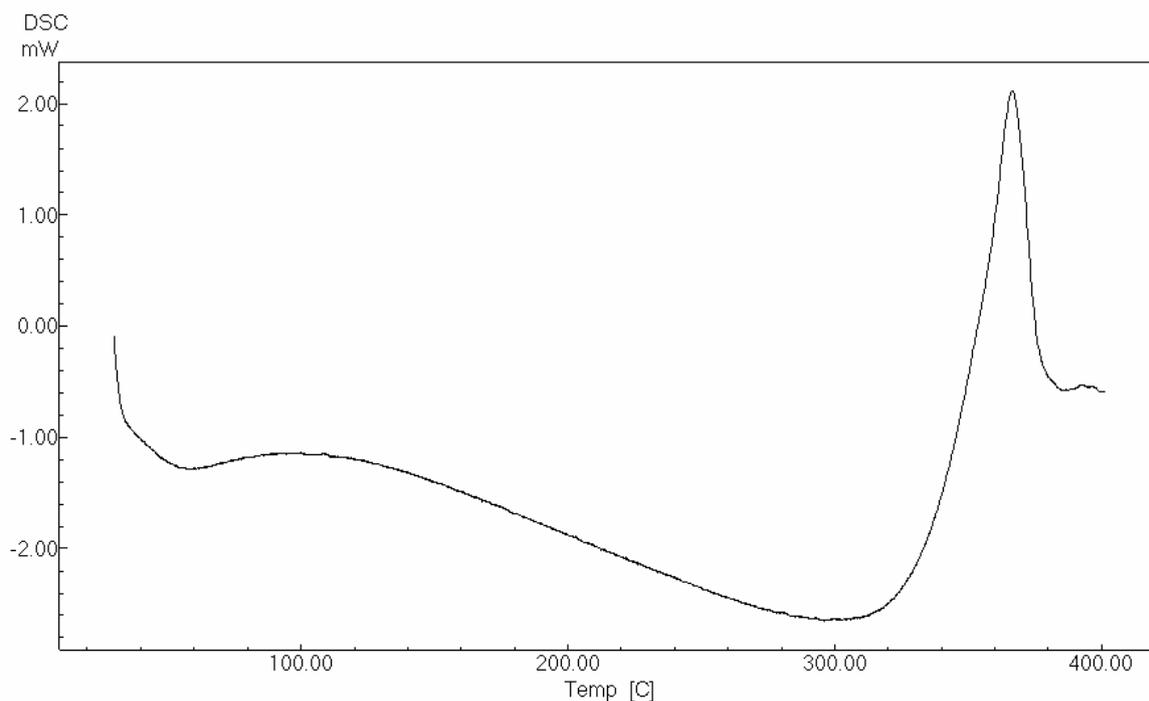


Figura 7. Curva de aquecimento obtida por DSC para a celulose microcristalina

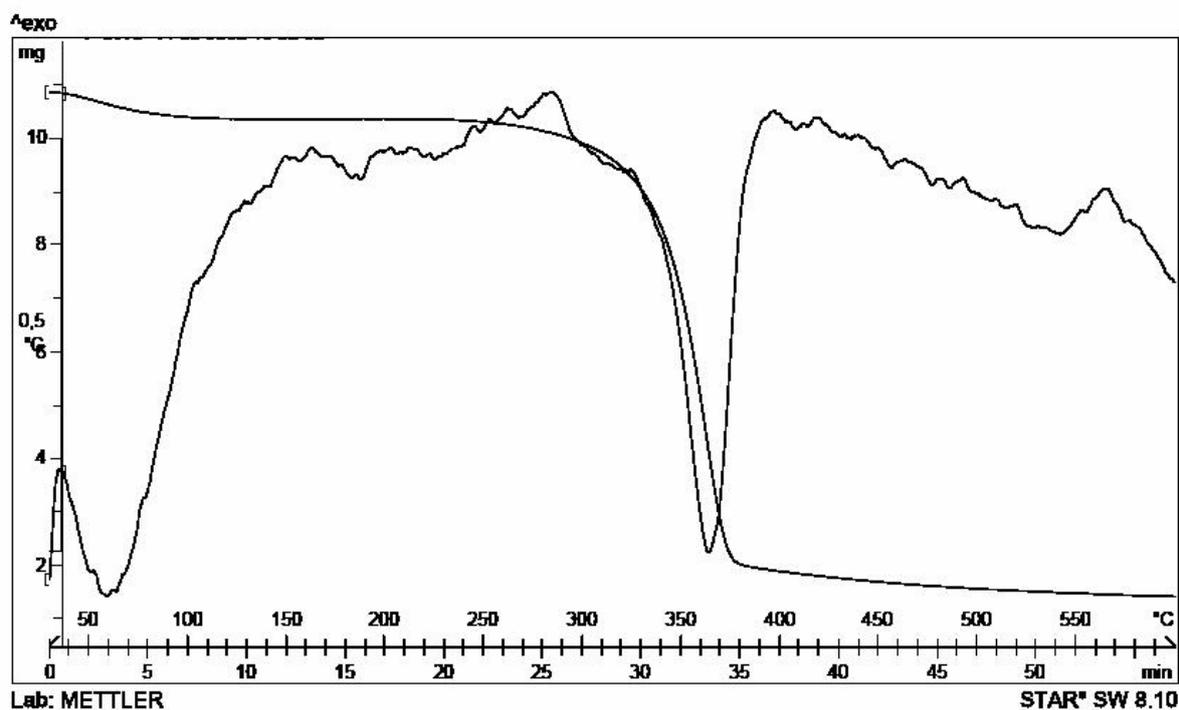


Figura 8. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a celulose microcristalina

A curva termogravimétrica para a CMCr, representada na Figura 8 e na Tabela 7, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta duas

perdas de massa. A primeira possui ponto médio de 65 °C e 1,83 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção. A segunda perda, com ponto médio de 344 °C, relaciona-se com a despolimerização com decomposição desta substância, representando 78,90 % de perda de massa. A curva de TGA assemelha-se com as obtidas por Tian e colaboradores (1999), Picker e Hoag (2002) e Drebuschak e colaboradores (2006) e também com as obtidas neste grupo de pesquisa (COSTA, 2005; LONGHINI, 2006). A queda da linha na curva de TGA, a partir de 375 °C é atribuída à decomposição residual da CMCr.

Tabela 7. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a celulose microcristalina (10,90 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	38	65	1,83
2	310	344	78,90

A análise por difratometria de raios-X realizada para a CMCr foi comparada com os dados de padrões para a celulose contidos no programa computacional do equipamento e da literatura em relação à celulose (considerada tipo I) (VANDERHART e ATALLA, 1984; WADA e col., 2004) e à CMCr (considerada tipo II) (DREBUSCHAK e col., 2006; EL-SAKHAWY e HASSAN, 2007; MAURIN e col., 2007) (ver Tabela 3 e Figura 5). Na análise dos difratogramas contidos nos artigos citados anteriormente com o difratograma obtido para a CMCr neste estudo, não foram encontradas diferenças entre os dois tipos de celulose em relação ao formato dos picos. É possível que existam diferenças apenas em relação à intensidade destes picos, uma vez que em nenhum destes artigos é apresentada a escala de intensidade e também devido ao fato de que o programa computacional do equipamento não conter o padrão para a celulose do tipo II (CMCr). Outras características que reforçam a identificação como sendo a CMCr (tipo II) estão relacionadas à ausência da T_g pela DSC, já relatada anteriormente, e ao cálculo do índice de cristalinidade (Crl), como será visto a seguir.

A análise do difratograma obtido para a CMCr (Figura 9) demonstrou a ausência de alguns picos em comparação ao padrão de celulose tipo I e que a mesma apresenta picos não muito definidos, ou seja, agrupados e de média intensidade, os quais são indicativos de uma média organização cristalográfica (ARMIJO, 2003). Esta interpretação foi confirmada pelo cálculo do Crl, o qual

apresentou um valor de 66,50 % para a CMCr analisada e 19 % para o padrão de celulose tipo I. Valores abaixo de 50 % indicam uma baixa cristalinidade (PUCÉAT e col., 2004), confirmando a identificação da CMCr analisada como sendo a celulose do tipo II. Este valor encontrado para a CMCr situa-se dentro da faixa de valores encontrados por Schlieout e colaboradores (2002), onde foi avaliada a influência das propriedades físicas e mecânicas da CMCr PH 102 com diferentes graus de polimerização sobre a compressibilidade, encontrando-se a faixa do CrI entre 65,66 % e 66,78 %. Outros resultados encontrados na literatura também foram próximos ao calculado para a CMCr. Kleinebudde e colaboradores (2000) avaliaram a influência do grau de polimerização sobre o comportamento de oito diferentes tipos de celulose e CMCr, durante a homogeneização de mistura e conseqüente extrusão/esferonização, obtendo uma faixa do CrI entre 67,1 % e 75,4 %. Em outro estudo, realizado por El-Sakhawy e Hassan (2007), os pesquisadores avaliaram as propriedades físicas e mecânicas da CMCr preparada através de resíduos agrícolas (palha de arroz, fibra de algodão e baçaço de cana-de-açúcar) e obtiveram um valor de CrI na faixa de 75 a 78 %.

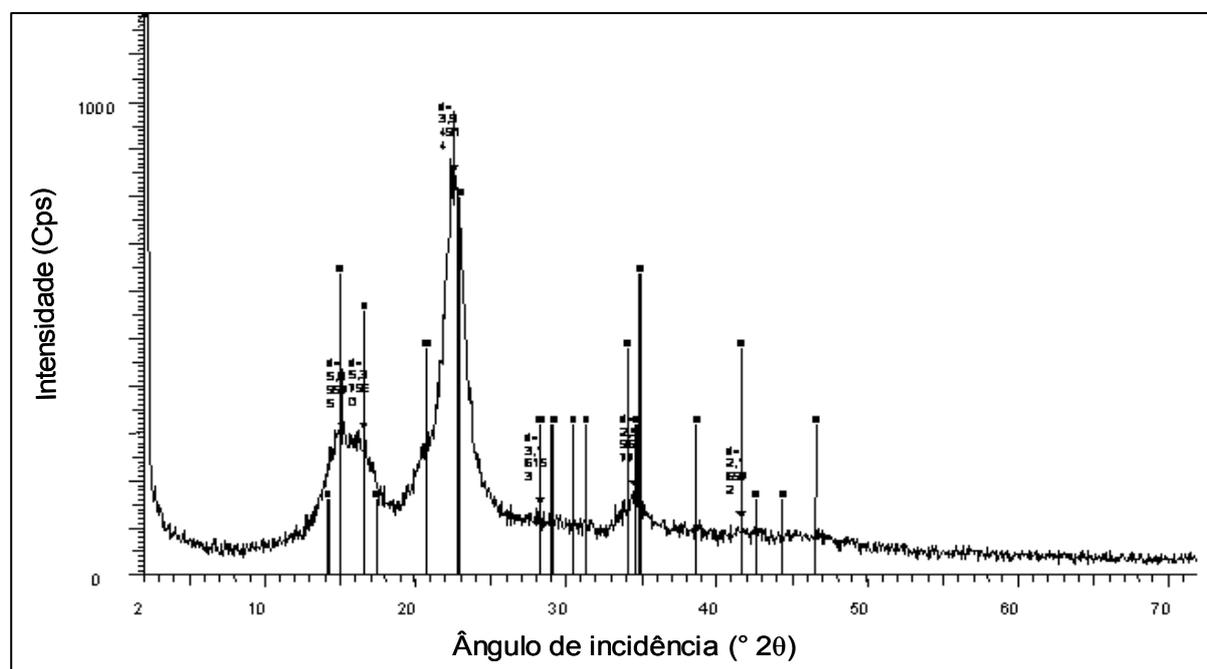


Figura 9. Difratograma obtido por difratometria de raios-X para a celulose microcristalina e referência de celulose microcristalina ()

5.2 Avaliação da reprodutibilidade das misturas binárias

A curva de aquecimento obtida para as misturas equiponderais da quercetina (QA) com a CMCr está ilustrada na Figura 10. A avaliação da reprodutibilidade dos resultados encontra-se nas Tabelas 8 e 9.

A análise dos resultados através do teste de ANOVA, juntamente com os valores da média e do desvio padrão relativo (DPR), para os valores da t_{onset} e da entalpia molar (ΔH) dos picos de fusão da QA não constatou diferenças significativas em nível de 5 %, indicando que não houve alterações para as características determinadas dentro de cada mistura e entre as misturas, confirmando, assim, a reprodutibilidade destas misturas físicas equiponderais.

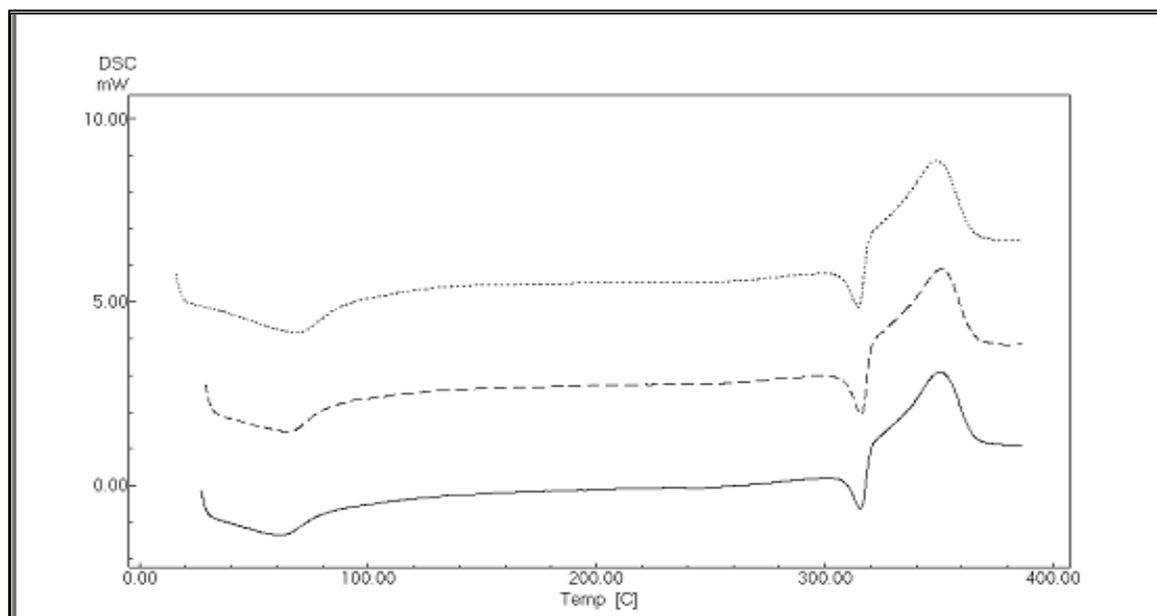


Figura 10. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para as misturas físicas equiponderais de celulose microcristalina e quercetina

Tabela 8. Avaliação da reprodutibilidade da mistura binária 1:1 através do teste de ANOVA da t_{onset} (°C) dos picos de fusão da quercetina

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre misturas	0,6174	2	0,3087	0,667941	0,547138	5,143253
Dentro das misturas	2,773	6	0,462167			
Total	3,3904	8				
Média dos valores	309,10					
DPR (%)	0,002					

Tabela 9. Avaliação da reprodutibilidade da mistura binária 1:1 através do teste de ANOVA da entalpia molar dos picos de fusão da quercetina

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre misturas	334,3891	2	167,1945	4,488228	0,064302	5,143253
Dentro das misturas	223,5107	6	37,25179			
Total	557,8998	8				
Média dos valores	55,54					
DPR (%)	0,150					

5.3 Caracterização dos flavonóides e avaliação do comportamento térmico das misturas binárias

Para a caracterização dos flavonóides foram realizadas análises espectrofotométricas na região do ultravioleta e do visível, conforme sistemática preconizada por Mabry e col., (1970) e Markan e Mabry, (1975), e na região do infravermelho.

Tabela 10. Disposição, nos anexos, das figuras e tabelas correspondentes aos máximos de absorção dos espectros na região do ultravioleta e visível e aos desvios dos comprimentos de onda máximos dos flavonóides estudados

Flavonóide	Figura	Tabela
Canferol	A1	A1
Fisetina	A2	A2
Luteolina	A3	A3
Miricetina	A4	A4
Morina	A5	A5
Quercetina amostra	A6	A6 e A7
Quercetina referência	A7	A6 e A7

Os máximos de absorção dos espectros na região do ultravioleta e do visível obtidos para as soluções dos flavonóides em metanol, complexados com $AlCl_3$ e após hidrólise com HCl apresentaram-se de acordo com a literatura (MABRY e col., 1970; MARKAN e MABRY, 1975). As figuras e as tabelas correspondentes contendo os dados derivados dos desvios dos comprimentos de onda máximos encontram-se nos anexos deste trabalho, conforme indicado na Tabela 10.

5.3.1 Celulose microcristalina e canferol

O espectro na região do infravermelho para o canferol (Figura 11 e Tabela A9) apresentou as bandas características deste flavonol (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998).

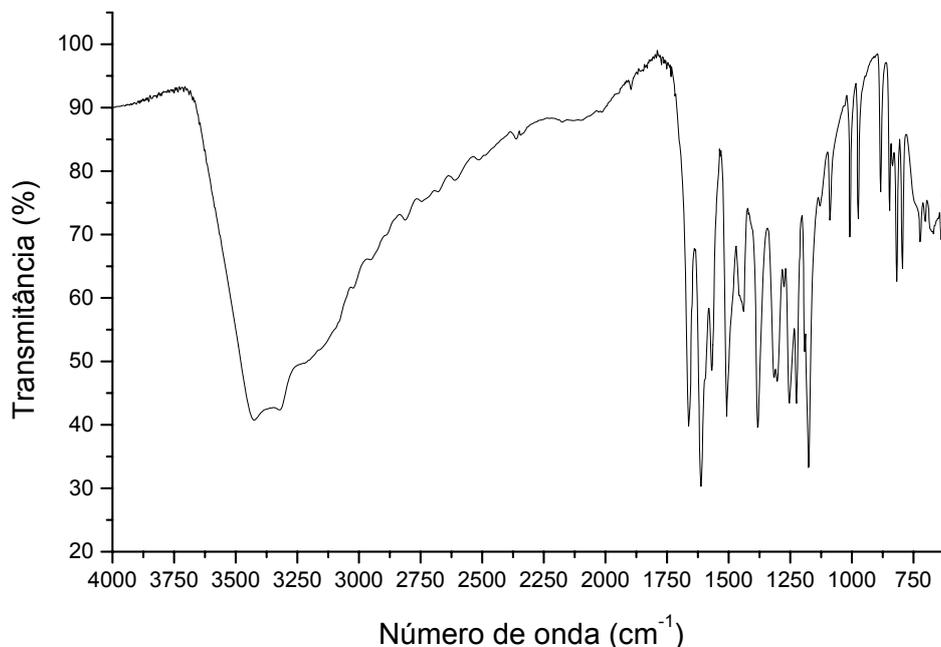


Figura 11. Espectro na região do infravermelho para o canferol

A curva de aquecimento obtida por DSC para o canferol (Ca), bem como para a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias Ca:CMCr 1:1 e 1:2 encontram-se demonstradas na Figura 12 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 12. Os resultados encontrados para as T_{onset} e ΔH_{obs} relativas à água de cristalização e pico de fusão do canferol e seus intervalos de confiança estão apresentados nas Tabelas A15 e A16).

A curva de aquecimento obtida por DSC para o canferol (Figura 12) apresenta três eventos endotérmicos cujos parâmetros térmicos estão representados na Tabela 12. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização do canferol.

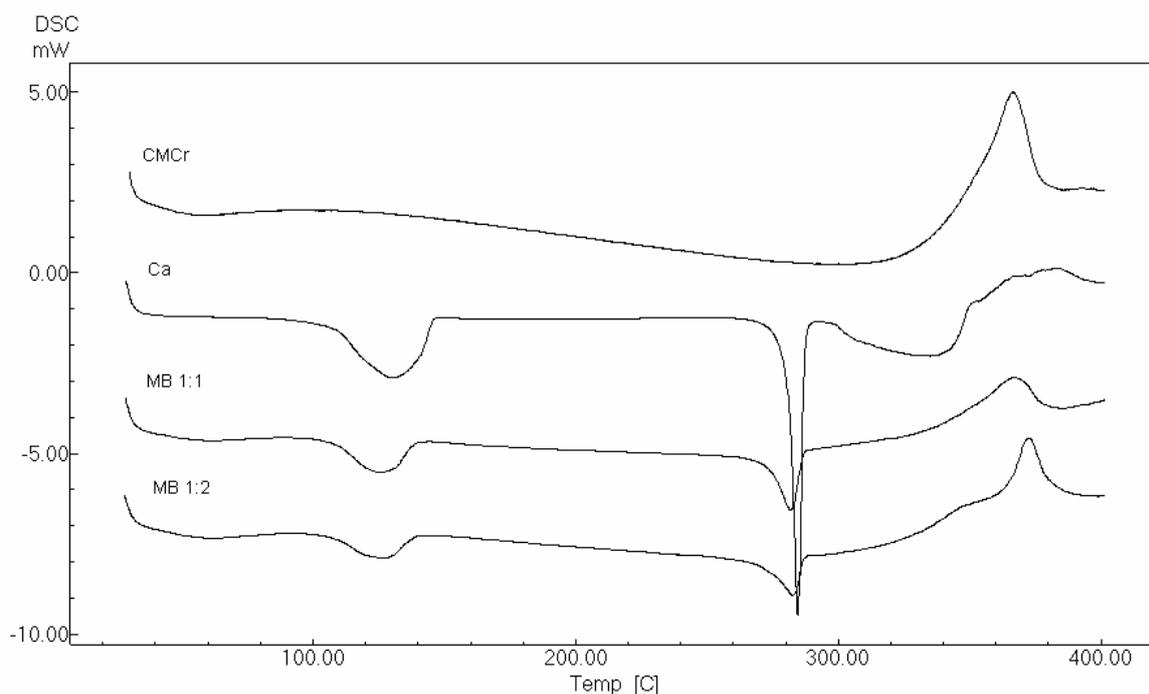


Figura 12. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para o canferol (Ca) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias (MB) nas proporções ponderais 1:1 e 1:2

O segundo evento endotérmico relaciona-se com a fusão do canferol, porém a T_{onset} encontra-se deslocada 5 °C acima da faixa de fusão citada na literatura, que é de 276 a 280 °C (BUDAVARI, 1996).

O terceiro evento endotérmico indica a decomposição do canferol (BUDAVARI, 1996). Após a decomposição, a linha de base progride no sentido exotérmico.

A curva termogravimétrica para o canferol, representada na Figura 13 e na Tabela 11, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta duas perdas de massa. A primeira possui ponto médio 128 °C e 6,01 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização, visto que uma molécula de água ligada representa aproximadamente 6,3 % da massa molecular do canferol. A segunda perda, com ponto médio 346 °C, corresponde ao início da fusão, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, representando 42,05 % de perda de massa. A queda da linha na curva de TGA, a partir de 380 °C é atribuída à decomposição residual do canferol.

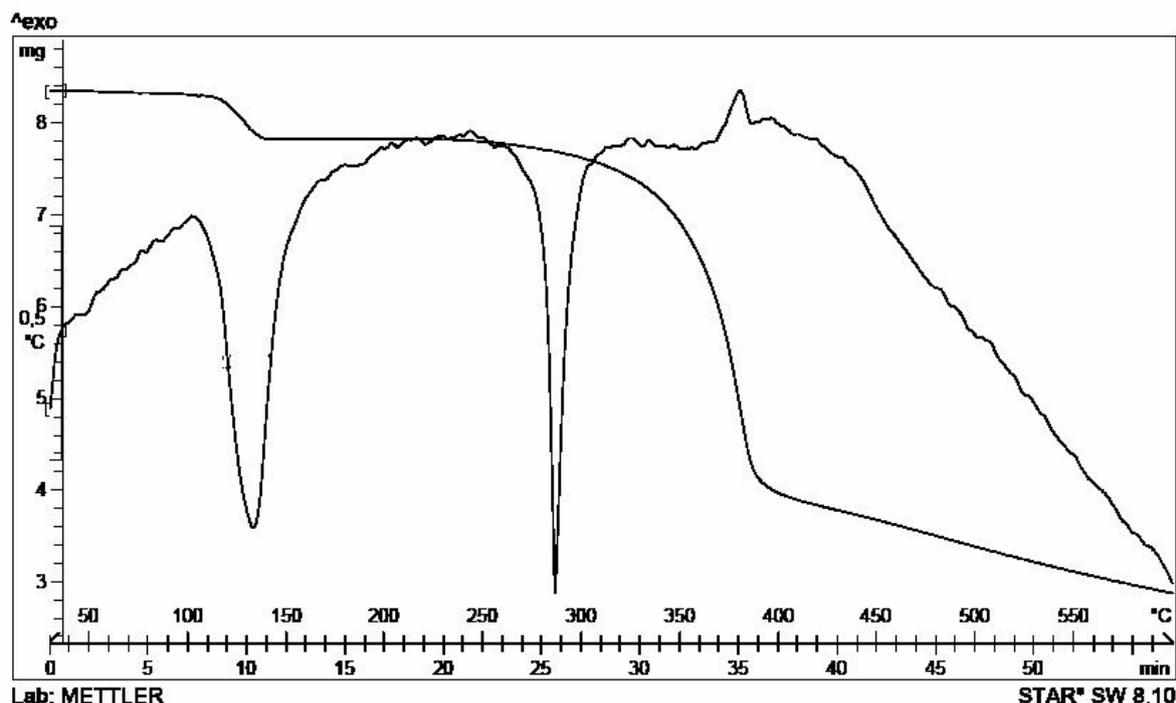


Figura 13. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para o canferol

Tabela 11. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para o canferol (8,32 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	118	128	6,01
2	302	346	42,05

Com o objetivo de avaliar a existência de interações entre o canferol e a CMCr, foram examinadas as suas misturas binárias, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m), respectivamente. Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 12. Os resultados encontrados para as T_{onset} e ΔH_{obs} relativos à água de cristalização e ao pico de fusão do canferol nas misturas binárias 1:1 e 1:2 e seus intervalos de confiança estão apresentados nas Tabelas A15 e A16).

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 12), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de adsorção da CMCr. A ΔH_{obs} para este evento foi de 10,73 kJ/mol, representando uma diminuição de apenas 4,53 % em relação à ΔH_{esp} .

O segundo evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização do canferol. A ΔH_{obs} para este evento seria de 37,70 kJ/mol, valor muito próximo ao da ΔH_{esp} .

O terceiro evento endotérmico relaciona-se com a fusão do canferol. A ΔH_{obs} para este evento foi de 30,42 kJ/mol, um valor 24,64 % abaixo do esperado. Este pico possui forma e intensidade modificadas. O valor da T_{onset} está diminuído em 7 °C e este deslocamento poderia ser atribuído ao efeito de diluição da substância na mistura, porém, aliado a outras características, sugere indícios de interação de natureza física com a CMCr.

O pico endotérmico de decomposição do canferol está ausente na mistura 1:1, apresentando outro indício de interações físico-químicas (FORD e TIMMINS, 1989; BOTHA e LÖTTER, 1990).

O quarto evento, exotérmico, corresponde à despolimerização com decomposição da CMCr (FORD e TIMMINS, 1989; TIAN e col., 1999).

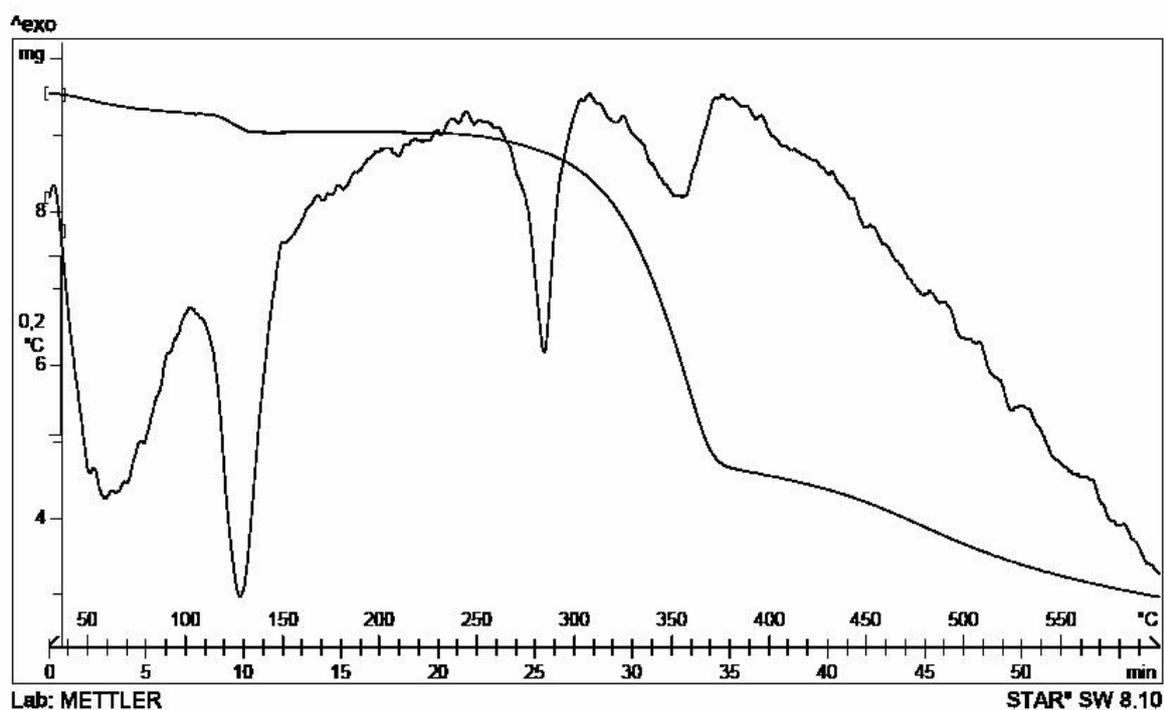


Figura 14. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre o canferol e a celulose microcristalina

Tabela 12. Parâmetros térmicos observados para o canferol (Ca) e a celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias, (MB) respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS								
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08				361,03	368,53	4851,72
Ca	110,26	130,91	40,18	281,42	284,54	40,37	297,58	336,71	64,54
MB 1:1	34,01	63,65	10,73	110,54	126,22	37,70	274,16	281,64	30,42
MB 1:2	35,27	63,38	17,68	112,41	126,12	33,08	271,90	281,36	25,55

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 14 e na Tabela 13. Observam-se três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA do canferol (Figura 13). A primeira perda possui ponto médio 68 °C e 1,04 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio 128 °C e 3,55 % de perda de massa, relacionada à água de cristalização do canferol. A terceira perda possui ponto médio 335 °C e 50,17 % de perda de massa, correspondendo ao pico de fusão do canferol, o qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se. Assim, esta perda de massa é devida à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 370 °C.

Tabela 13. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (9,57 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	38	68	1,04
2	115	128	3,55
3	293	335	50,17

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 está demonstrado na Figura 15. Semelhante à DSC, este espectro também possui a forma e a intensidade de algumas bandas modificadas como na região de 3400 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) do canferol com a forma modificada, sobrepondo a banda em 3360 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) da CMCr. A banda em 2900 cm^{-1} (deformação axial da ligação C-H) da CMCr diminuiu a forma e a intensidade e a banda em 1650 cm^{-1} (ν carbonila/ligações de hidrogênio de aldoses) da CMCr desapareceu, podendo estar deslocada para uma menor frequência e sobreposta às demais bandas do canferol, compreendidas entre 1700 e 1260 cm^{-1} (ν carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares e deformações axiais de C-O e O-H fenólicas). Estes resultados concordam com os resultados obtidos por DSC através da entalpia de fusão.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 12), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante à mistura 1:1,

variando pouco seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação à mistura equiponderal. Os valores de ΔH_{obs} referentes à água de adsorção e ao pico de despolimerização da CMCr mostraram-se maiores em relação à mistura 1:1, devido à interação entre o flavonóide e a CMCr. Os valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} para o pico de fusão do canferol na mistura 1:2 mantiveram-se praticamente os mesmos em relação à mistura 1:1, mas variando 36,70 % em relação à ΔH_{esp} .

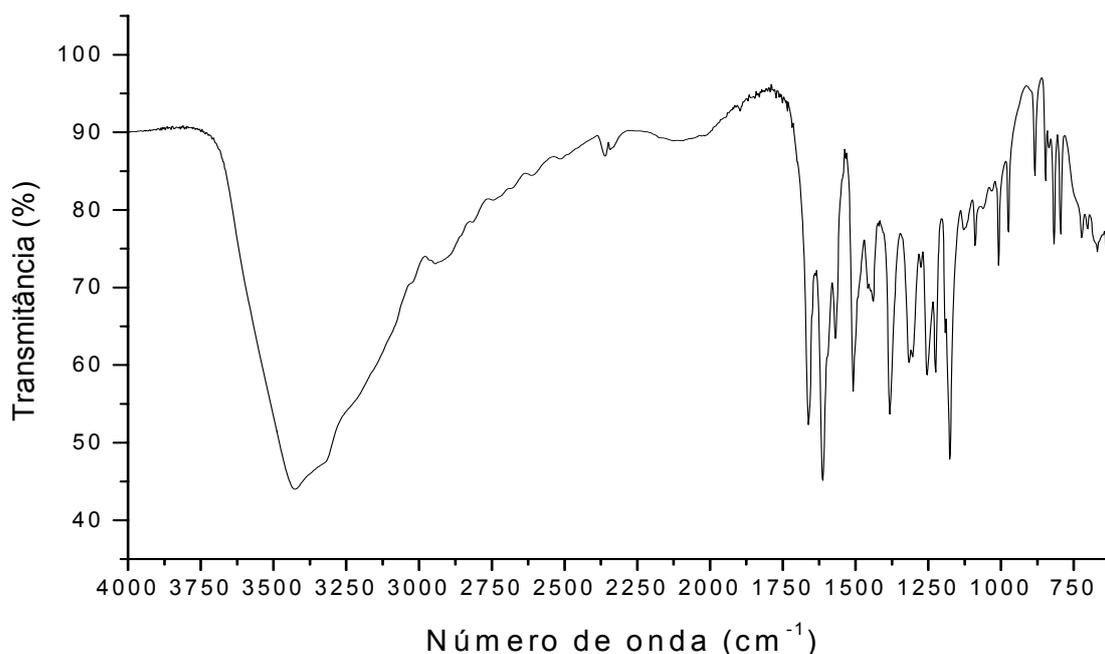


Figura 15. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre o canferol e a celulose microcristalina

Tabela 14. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (9,46 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	38	55	1,58
2	118	128	3,38
3	292	332	59,20

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 16 e na Tabela 14. Observam-se, novamente, três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 14). A primeira perda possui ponto médio 55 °C e 1,58 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio 128 °C e 3,38 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização do canferol. A terceira perda possui ponto médio 332 °C e 59,20 % de perda de massa, correspondendo ao pico de fusão do

canferol, o qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se. Os valores encontrados para as perdas de massa referentes à água de adsorção e despolimerização da CMCr foram maiores devido a uma maior proporção de massa da CMCr na MB 1:2. Esta perda de massa é devida à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 370 °C.

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 17), mas com menor intensidade.

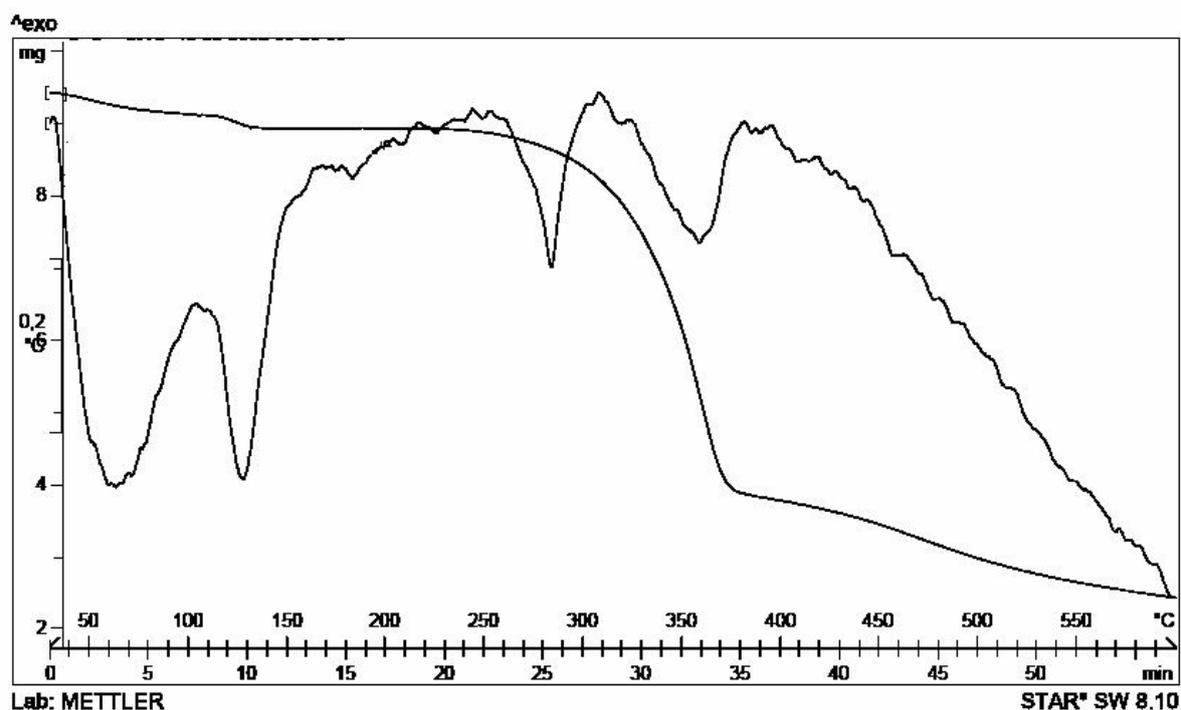


Figura 16. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre o canferol e a celulose microcristalina

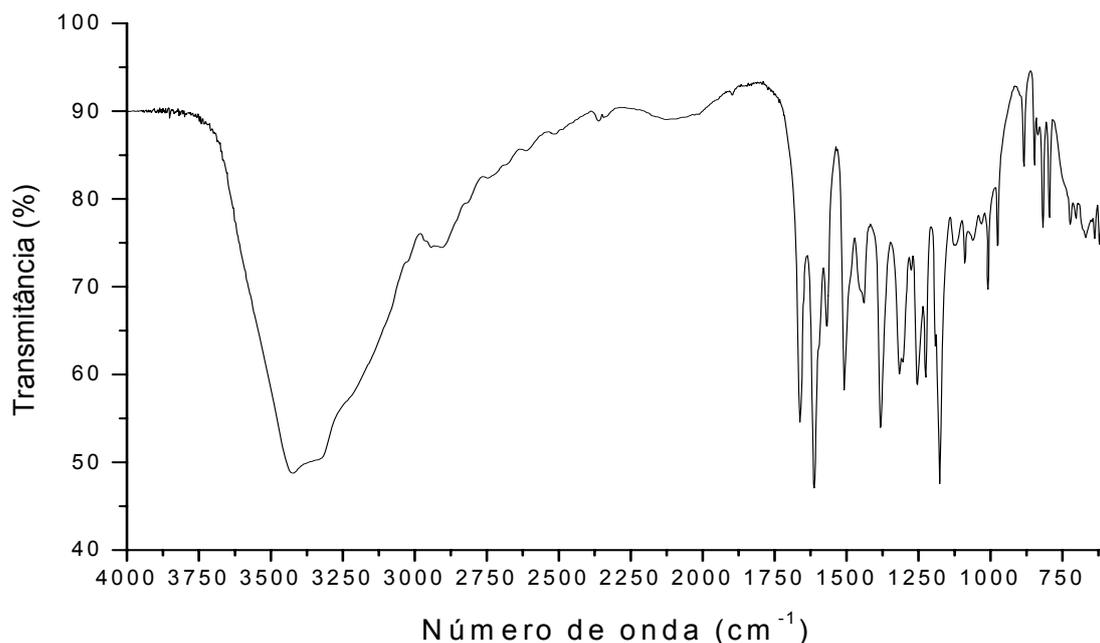


Figura 17. Espectro na região do infravermelho da mistura binária de canferol e celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

5.3.2 Celulose microcristalina e fisetina

O espectro na região do infravermelho para a fisetina (Figura 18 e Tabela A10) apresentou as bandas características deste flavonol (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998).

As curvas de aquecimento obtidas por DSC para a fisetina (Fi), bem como para a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias Fi:CMCr 1:1 e 1:2 encontram-se demonstradas na Figura 19 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 16.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a fisetina (Figura 19) apresenta dois eventos endotérmicos e um exotérmico e seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 16. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização da fisetina.

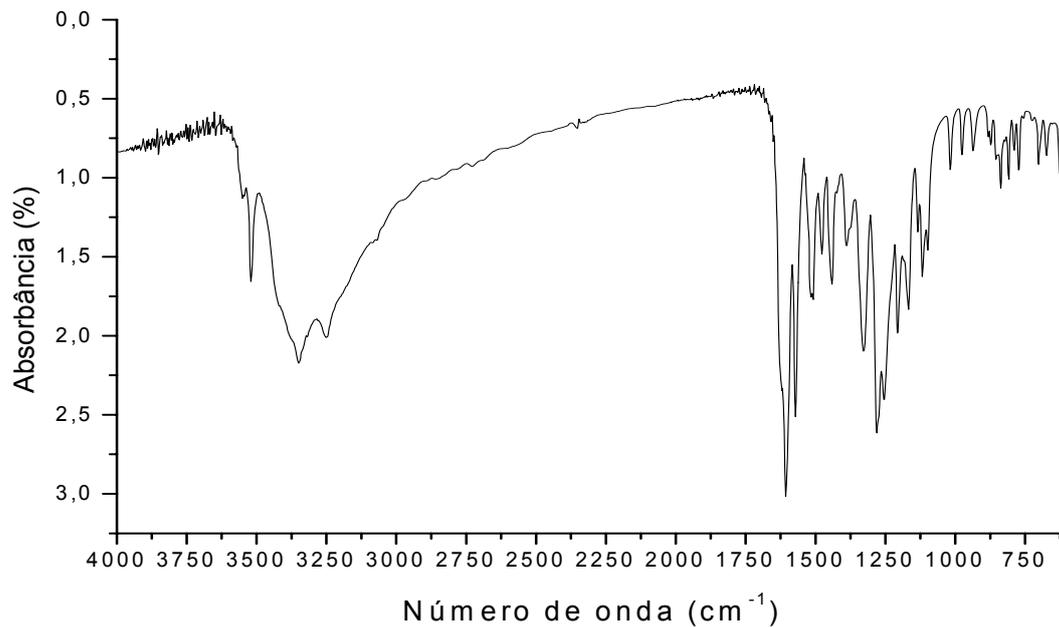


Figura 18. Espectro na região do infravermelho para a fisetina

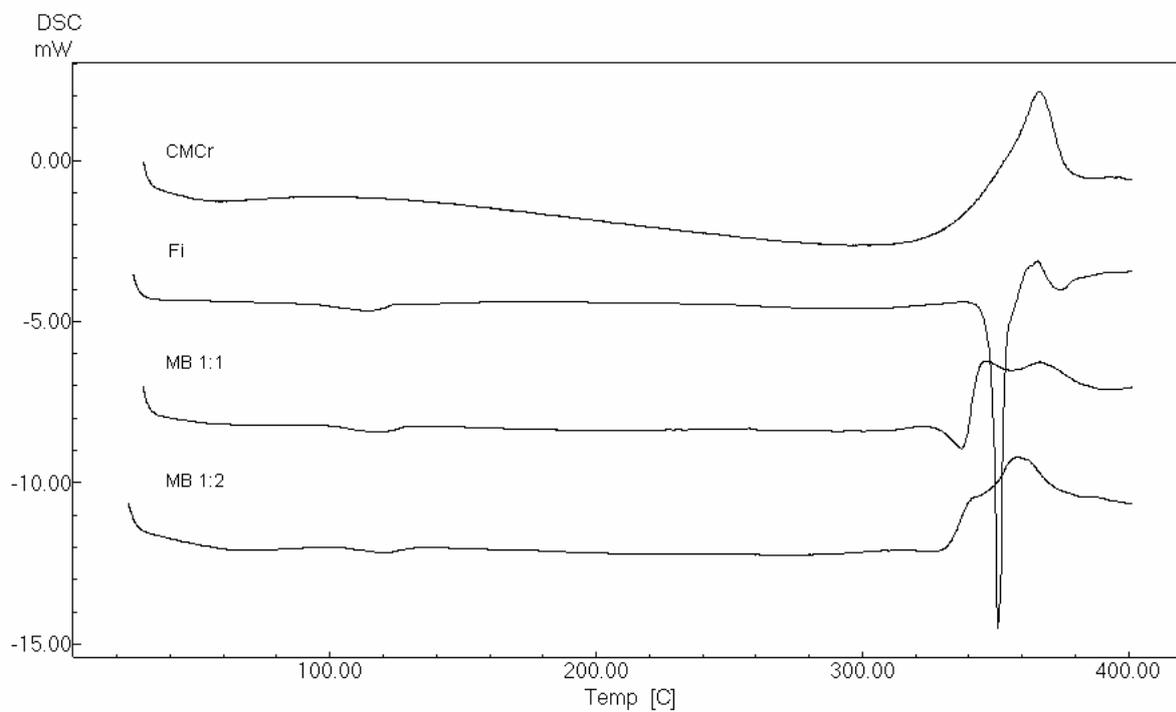


Figura 19. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a fisetina (Fi) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias (MB) nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2

O segundo evento endotérmico relaciona-se com a fusão da fisetina, porém a T_{onset} encontra-se deslocada em, aproximadamente, 19 °C acima do ponto de fusão citado na literatura, que é de 330 °C (BUDAVARI, 1996).

O terceiro evento, exotérmico, indica a decomposição da fisetina, uma vez que a sua fusão é acompanhada de decomposição (BUDAVARI, 1996). Após a decomposição, a linha de base progride no sentido exotérmico.

A curva termogravimétrica para a fisetina, representada na Figura 20 e na Tabela 15, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta duas perdas de massa. A primeira possui ponto médio 117 °C e 3,81 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização. A segunda perda, com ponto médio 351 °C, corresponde ao início da fusão, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, representando 31,94 % de perda de massa. A queda da linha na curva de TGA, a partir de 370 °C é atribuída à decomposição residual da fisetina.

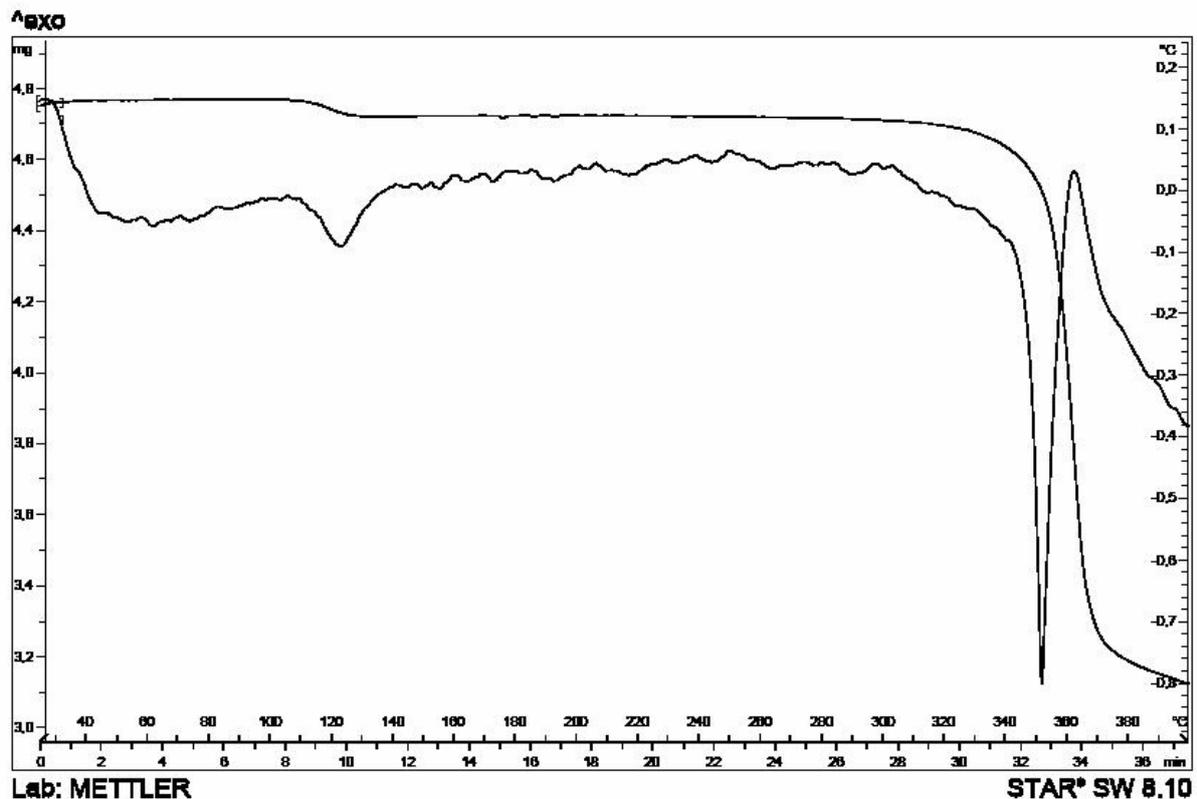


Figura 20. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a fisetina

Tabela 15. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a fisetina (4,73 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	110	117	3,81
2	332	351	31,94

Com o objetivo de avaliar a existência de interações entre a fisetina e a CMCr, foram avaliadas as suas misturas binárias, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m). Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 16.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 19), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de adsorção da CMCr. A ΔH_{obs} para este evento foi de 2,45 kJ/mol, apresentando uma diminuição de aproximadamente 78,23 % em relação à ΔH_{esp} . Este valor da ΔH_{obs} muito abaixo do esperado pode ser atribuído ao fato de que provavelmente a água presente na CMCr tenha se liberado da estrutura do polímero e esteja envolvida na reação de interação entre a CMCr e a fisetina.

O segundo evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização da fisetina. A ΔH_{obs} para este evento foi de 9,28 kJ/mol, apresentando um aumento de aproximadamente 57,21 % em relação à ΔH_{esp} . Novamente, este valor da ΔH_{obs} acima do esperado pode ser atribuído ao fato de que provavelmente a água de adsorção presente na CMCr tenha migrado para a estrutura da fisetina, aumentando o seu percentual da ΔH_{obs} em relação à água de cristalização e contribuindo para a interação entre as duas substâncias.

Tabela 16. Parâmetros térmicos observados para a fisetina (Fi) e a celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias (MB), respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS											
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08							361,03	368,53	4851,72
Fi	98,86	117,44	5,90				348,99	350,93	38,00	354,76	365,79	20,69
MB 1:1	39,16	49,10	2,45	102,07	119,27	9,28				330,20	337,36	26,72
MB 1:2	38,88	68,26	30,43	105,92	119,63	11,97				321,35	328,47	6,65

O terceiro evento endotérmico relaciona-se com a fusão da fisetina. A ΔH_{esp} calculada para este evento era de 38,01 kJ/mol, valor 29,69 % acima do observado. Este pico possui a sua forma e intensidade modificadas. O valor da T_{onset} está diminuído em, aproximadamente, 19 °C e este deslocamento também pode ser atribuído, como no caso do canferol, ao efeito de diluição da substância na mistura e, aliado a outras características, sugerem indícios de interação de natureza física com a CMCr.

O quarto evento, exotérmico, corresponde à união dos picos de decomposição da fisetina e de despolimerização da CMCr.

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 21 e na Tabela 17. Observam-se 3 perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da fisetina (Figura 20). A primeira perda possui ponto médio 60 °C e 0,53 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio 115 °C e 2,32 % de perda de massa, podendo ser relacionada à água de cristalização da fisetina. A terceira perda possui ponto médio 332 °C e 46,52 % de perda de massa, correspondendo ao pico de fusão da fisetina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se. Esta perda de massa é devida à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C.

Tabela 17. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de fisetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (5,61 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	37	60	0,53
2	104	115	2,32
3	306	332	46,52

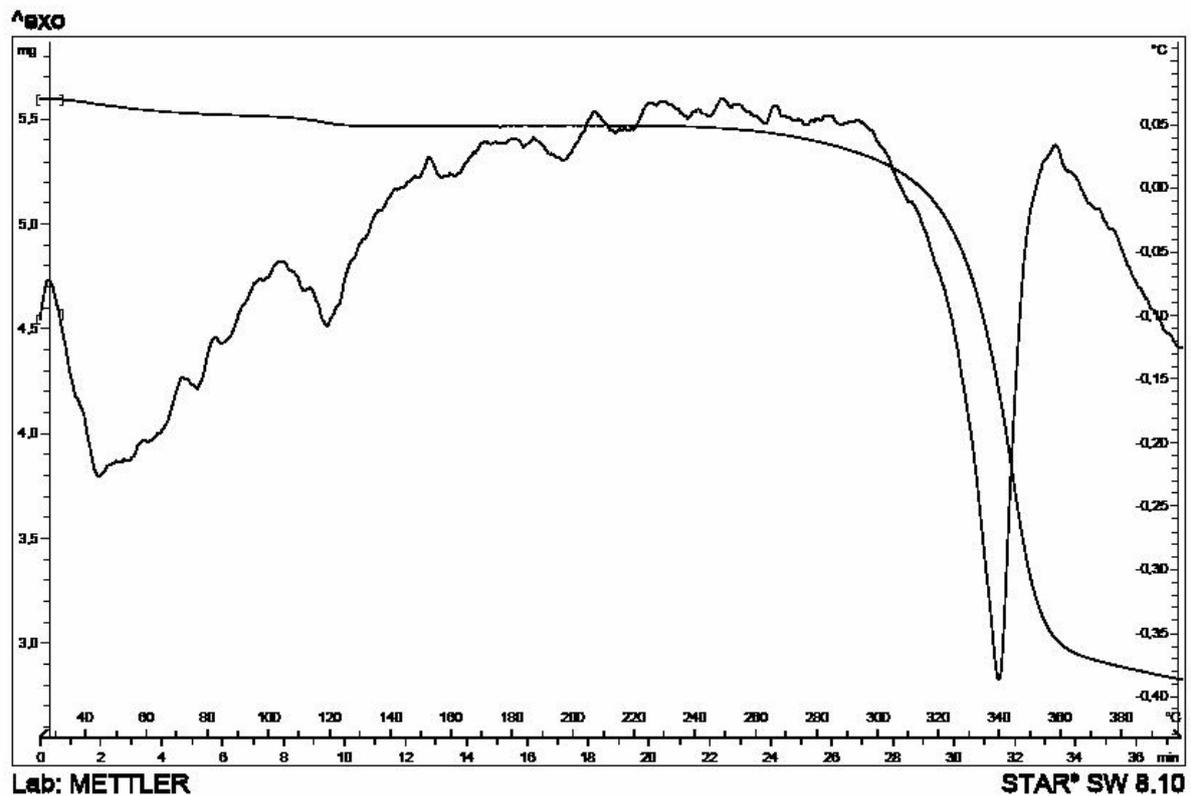


Figura 21. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a fisetina e a celulose microcristalina

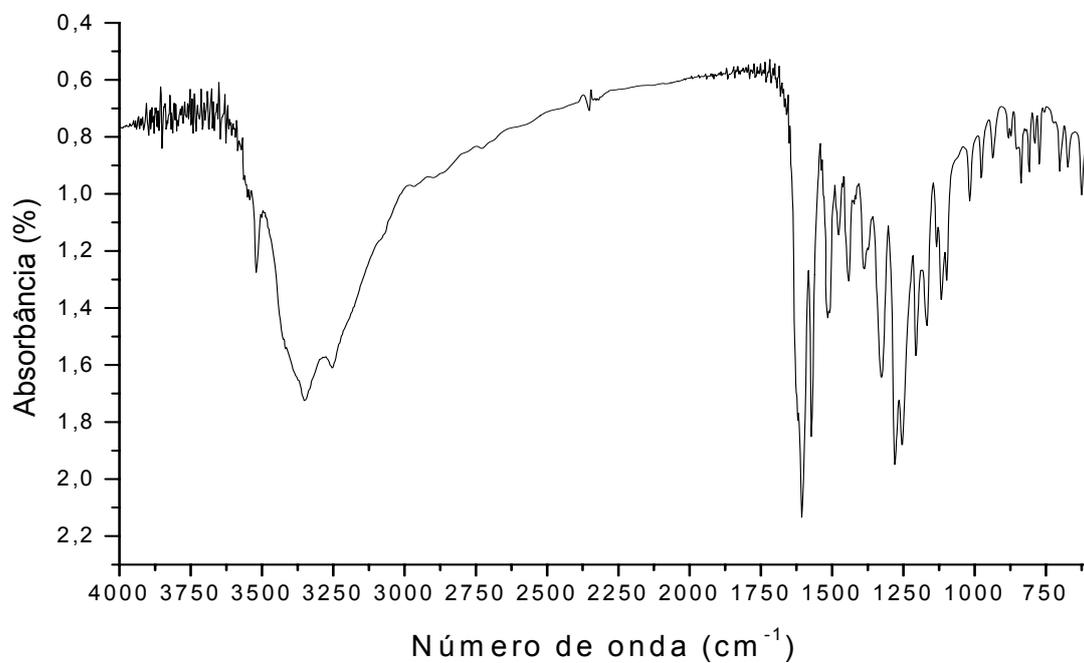


Figura 22. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre a fisetina e a celulose microcristalina

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 está demonstrado na Figura 22. Este espectro demonstra que as bandas da fisetina sofreram uma leve modificação, mas com a intensidade de algumas bandas diminuída como em 3400 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares), em $3450\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$ (ν presença da O-H ligada ao C_4'), em $3350\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$ (ν presença da O-H ligada ao C_3), em 1600 e 1200 cm^{-1} (fenila), em 1600 cm^{-1} (ν carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares), em 1260 e 1000 cm^{-1} (ν deformações axiais de C-O e O-H fenólicas), em $1150\text{-}1085\text{ cm}^{-1}$ (ν deformações axiais assimétricas de C-O-C) e em $770\text{-}760\text{ cm}^{-1}$ (ν deformação angular fora do plano de C-H aromático di-*o*-substituído). Estes resultados, como ocorrido para o canferol, concordam com os resultados obtidos por DSC através da entalpia de fusão.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 19), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante à mistura 1:1, porém variando seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação à mistura equiponderal. O valor de ΔH_{obs} referente ao pico de despolimerização da CMCr mostrou-se maior em relação à mistura 1:1, devida à interação entre o flavonóide e a CMCr. Os valores de T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ para o pico de fusão da fisetina na mistura 1:2 mantiveram-se muito próximos aos da mistura 1:1, mas apresentando uma variação 82,49 % da ΔH_{obs} em relação à ΔH_{esp} . Semelhante ao ocorrido com o canferol, houve indícios de interações e a mistura 1:2 comportou-se semelhante à mistura 1:1.

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 23 e na Tabela 18. Observam-se, novamente, 3 perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 21). A primeira perda possui ponto médio $64\text{ }^\circ\text{C}$ e 1,14 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio $114\text{ }^\circ\text{C}$ e 1,78 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização da fisetina. A terceira perda possui ponto médio $331\text{ }^\circ\text{C}$ e 57,36 % de perda de massa, correspondendo ao pico de fusão da fisetina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se. Os valores encontrados para as perdas de massa referentes à água de adsorção e despolimerização da CMCr foram maiores devido a uma maior proporção de massa da CMCr na MB 1:2. Esta perda de massa é devida

à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 385 °C.

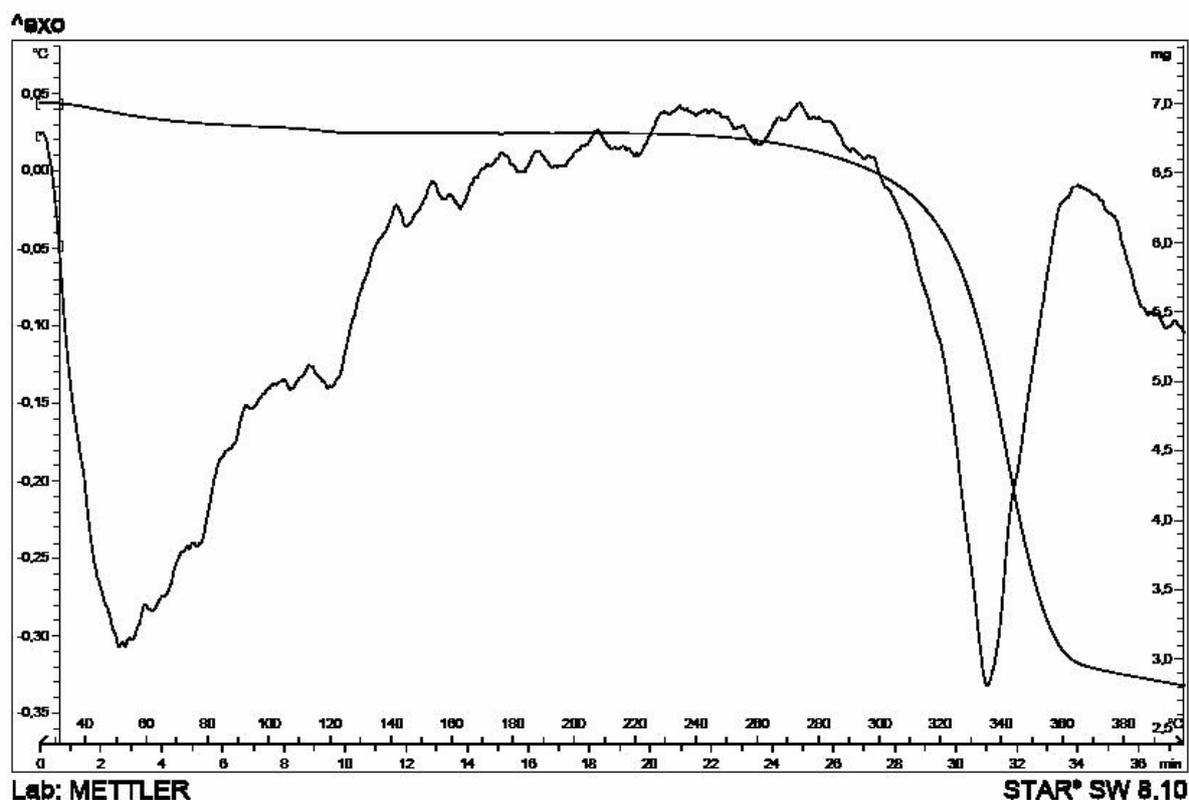


Figura 23. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a fisetina e a celulose microcristalina

Tabela 18. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de fisetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (7,04 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	43	64	1,14
2	110	114	1,78
3	298	331	57,36

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 24), mas com menor intensidade.

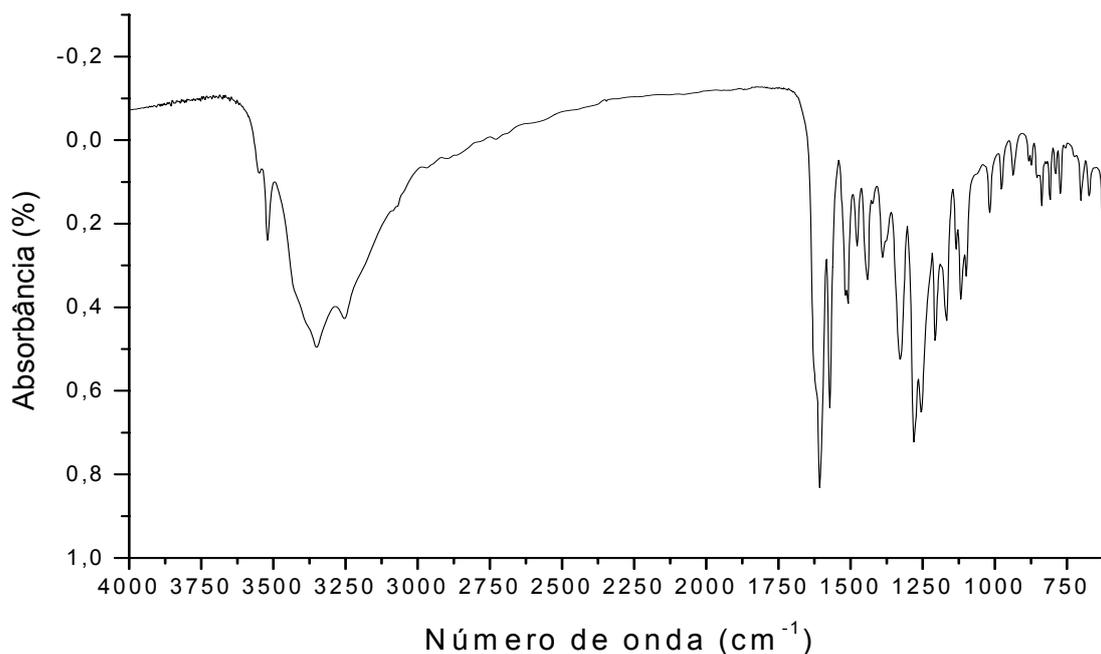


Figura 24. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a fisetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

5.3.3 Celulose microcristalina e luteolina

O espectro na região do infravermelho para a luteolina (Figura 25 e Tabela A11) apresentou as bandas características desta flavona (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998; LEE e col., 2003).

A curva de aquecimento obtida por DSC para a luteolina (Lu), bem como para a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias Lu:CMCr 1:1 e 1:2 encontram-se demonstradas na Figura 26 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 19.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a luteolina (Figura 26) apresenta dois eventos endotérmicos, um exotérmico e seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 19. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização da luteolina.

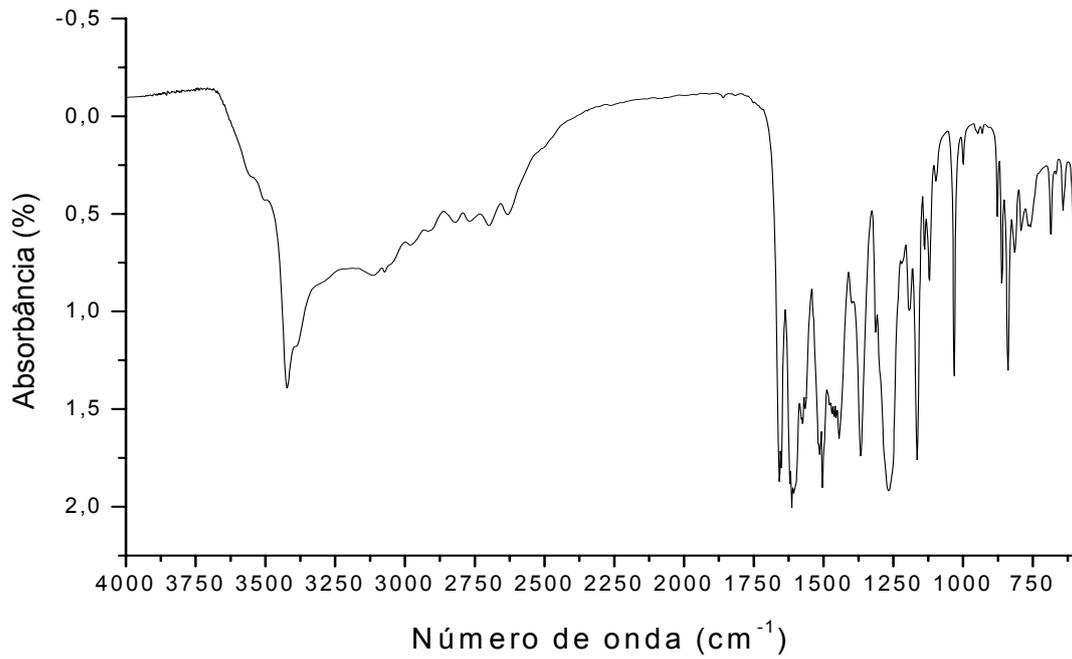


Figura 25. Espectro na região do infravermelho para a luteolina

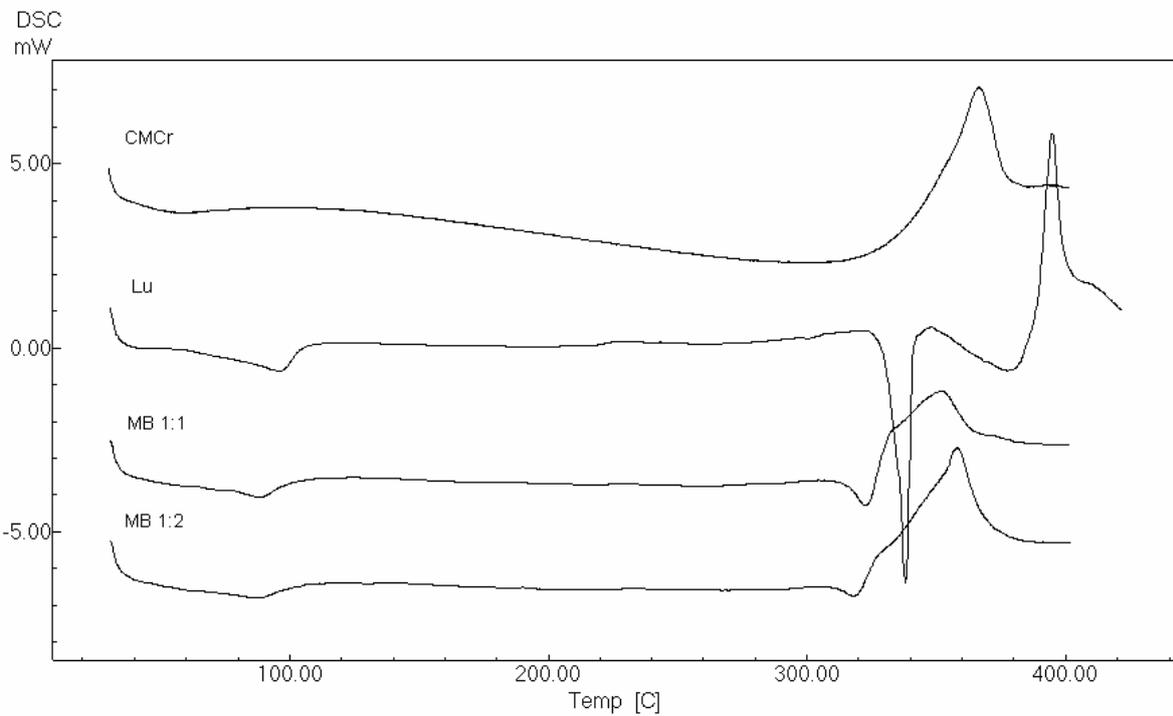


Figura 26. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a luteolina (Lu) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias nas proporções ponderais 1:1 e 1:2

Tabela 19. Parâmetros térmicos observados para a luteolina (Lu) e a celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias (MB), respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS								
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08				361,03	368,53	4851,72
Lu	84,84	95,75	7,05	333,40	338,17	42,52	386,87	393,53	40,27
MB 1:1	46,63	60,48	2,81	76,85	88,90	8,08	316,24	322,45	31,66
MB 1:2	34,02	36,17	8,22	77,61	87,01	7,60	313,31	318,28	8,35

O segundo evento endotérmico relaciona-se com a fusão da luteolina, apresentando uma T_{onset} deslocada, aproximadamente, em 3 °C acima da faixa de fusão citada na literatura, que é de 228 a 230 °C (BUDAVARI, 1996).

O terceiro evento, exotérmico, aponta para a decomposição da luteolina, uma vez que a sua fusão é acompanhada de decomposição (BUDAVARI, 1996).

A curva termogravimétrica para a luteolina, representada na Figura 27 e na Tabela 20, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta duas perdas de massa. A primeira possui ponto médio 72 °C e 3,76 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização. A segunda perda, com ponto médio 364 °C, corresponde ao início da fusão, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, representando 27,54 % de perda de massa. A queda da linha na curva de TGA, a partir de 400 °C é atribuída à decomposição residual da luteolina.

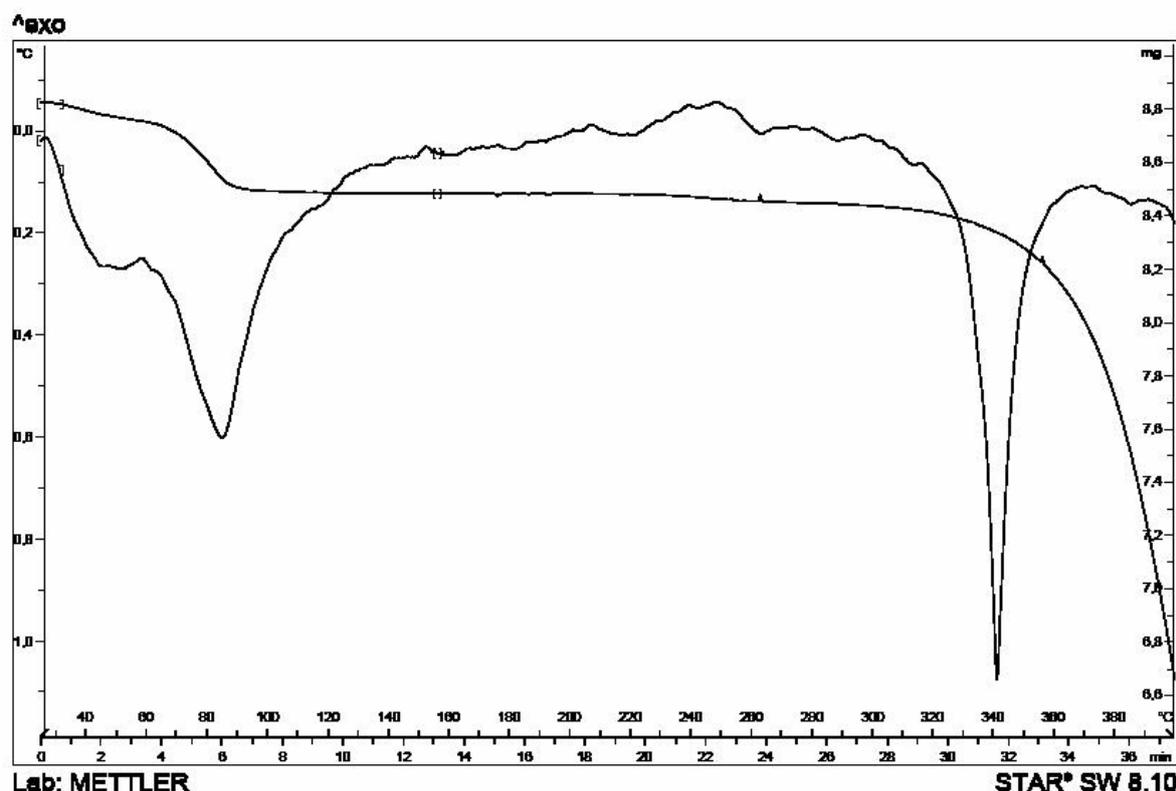


Figura 27. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica da luteolina

Tabela 20. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a luteolina (8,83 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	60	72	3,76
2	328	364	27,54

Com o objetivo de avaliar a existência de interações entre a luteolina e a CMCr, foram examinadas as suas misturas binárias, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m). Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 19.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 26), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de adsorção da CMCr. A ΔH_{obs} para este evento foi de 2,81 kJ/mol, 74,99 % inferior à ΔH_{esp} . Esta diferença do valor da ΔH_{obs} pode ser atribuído ao fato de que, assim como ocorrido com a fisetina, provavelmente a água presente na CMCr tenha se liberado da estrutura do polímero e esteja envolvida na reação de interação entre a CMCr e a luteolina.

O segundo evento endotérmico está conectado à perda da água de cristalização da luteolina. A ΔH_{obs} para este evento foi de 8,09 kJ/mol, apresentando um aumento de 14,76 % em relação à ΔH_{esp} . Novamente, esta elevação do valor da ΔH_{obs} pode ser devido ao fato de que provavelmente a água de adsorção presente na CMCr tenha migrado para a estrutura da luteolina, como citado anteriormente, aumentando o seu percentual da ΔH_{obs} em relação à água de cristalização presente na luteolina e contribuindo para a interação entre as duas substâncias.

O terceiro evento endotérmico relaciona-se com a fusão da luteolina. A ΔH_{obs} para este evento era de 31,66 kJ/mol, valor 25,54 % abaixo do esperado. Este pico apresenta forma e intensidade modificadas. O valor da T_{onset} está diminuído em, aproximadamente, 17 °C e este deslocamento também pode ser atribuído, como no caso da fisetina, ao efeito de diluição da substância na mistura e, aliado a outras características, sugerem indícios de interação de natureza física com a CMCr.

O quarto evento, exotérmico, corresponde à sobreposição dos picos de decomposição da luteolina e de despolimerização da CMCr.

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 28 e na Tabela 21, onde se observam três eventos de perdas de massa. A primeira perda possui ponto médio em 70 °C e 0,63 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio em 105 °C e 1,98 % de perda de massa, correspondendo liberação da água de cristalização da luteolina. A terceira perda possui ponto médio 324 °C e 40,59 % de perda de massa, relacionada ao pico de fusão da luteolina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se à faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza. Pode-se imputar esta perda de massa à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 380 °C.

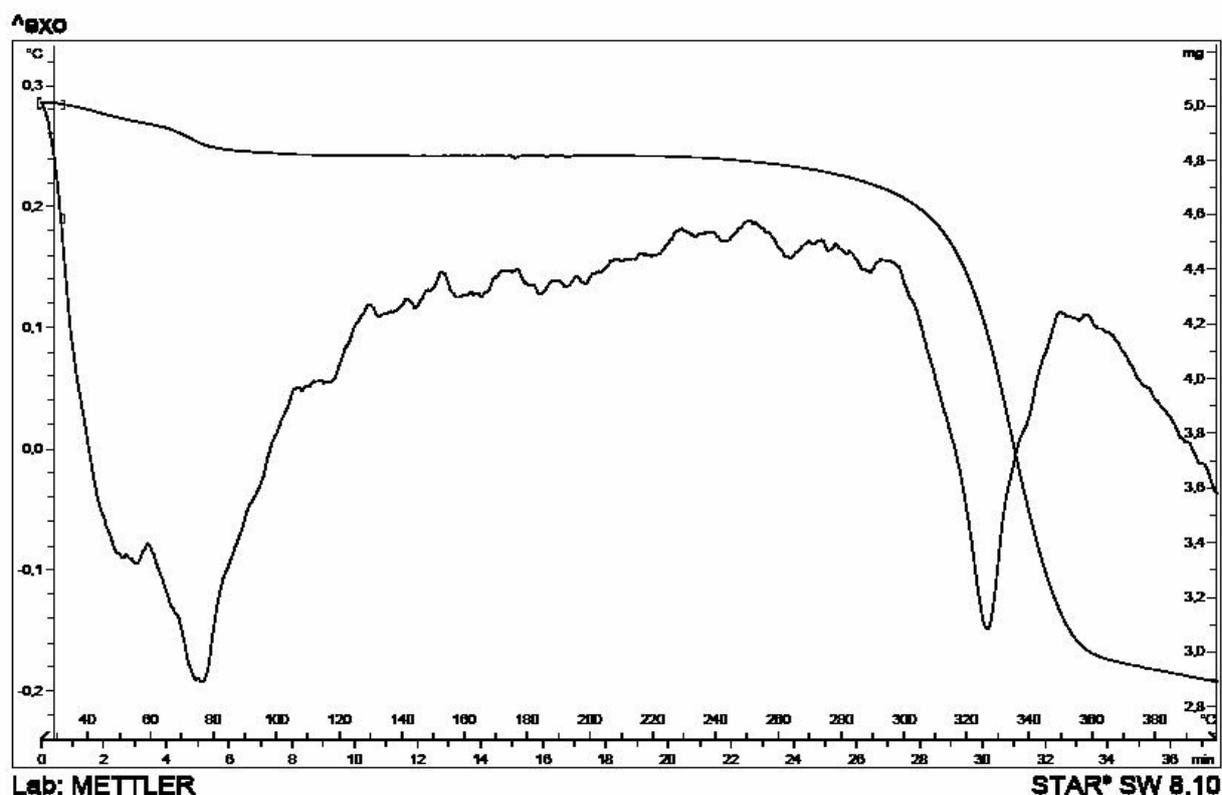


Figura 28. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a luteolina e a celulose microcristalina

Tabela 21. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de luteolina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (5,05 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	58	70	0,63
2	98	105	1,98
3	289	324	40,59

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 está ilustrado na Figura 29. Como observado anteriormente para a fisetina, este espectro indica que as bandas da luteolina sofreram uma leve modificação, mas com a intensidade de algumas diminuída como em 3400 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares), em $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (ν presença da O-H ligada ao C_4), em $3350\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$ (ν presença da O-H ligada ao C_5), em 1700 cm^{-1} (ν carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares), em 1625 e 1200 cm^{-1} (ν fenila), em 1260 e 1050 cm^{-1} (ν deformações axiais de C-O e O-H fenólicas), em $1150\text{-}1085\text{ cm}^{-1}$ (ν deformações axiais assimétricas de C-O-C) e em 770 cm^{-1} (ν deformação angular fora do plano de C-H aromático di-*o*-substituído). Estes resultados, como ocorrido para a fisetina, também concordam com os resultados obtidos por DSC através da entalpia de fusão.

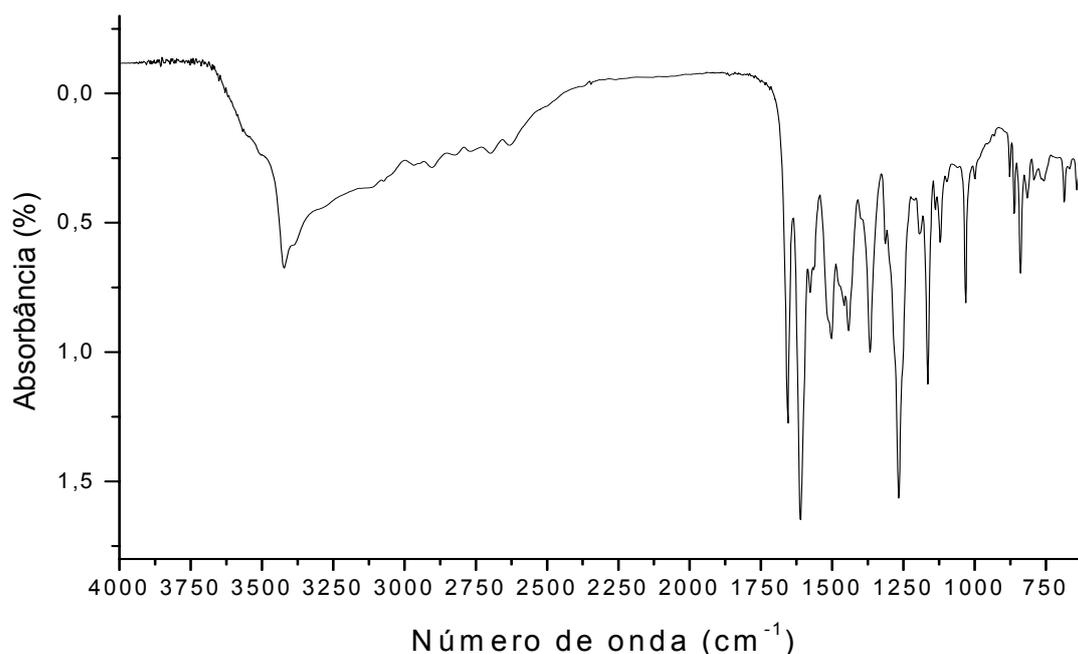


Figura 29. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal entre a luteolina e a celulose microcristalina

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 26), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante à mistura 1:1, porém variando seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação àquela. O valor de

ΔH_{obs} referente ao pico de despolimerização da CMCr mostrou-se maior em relação à mistura 1:1, devida à interação entre o flavonóide e a CMCr. Os valores de T_{onset} , e $T_{máx}$ para o pico de fusão da luteolina na mistura 1:2 mantiveram-se muito próximos aos da mistura equiponderal, mas apresentando uma variação 80,36 % da ΔH_{obs} em relação à ΔH_{esp} da substância isolada. Estas alterações sugerem a possibilidade de interações e, novamente, a mistura 1:2 comportou-se semelhante à mistura 1:1.

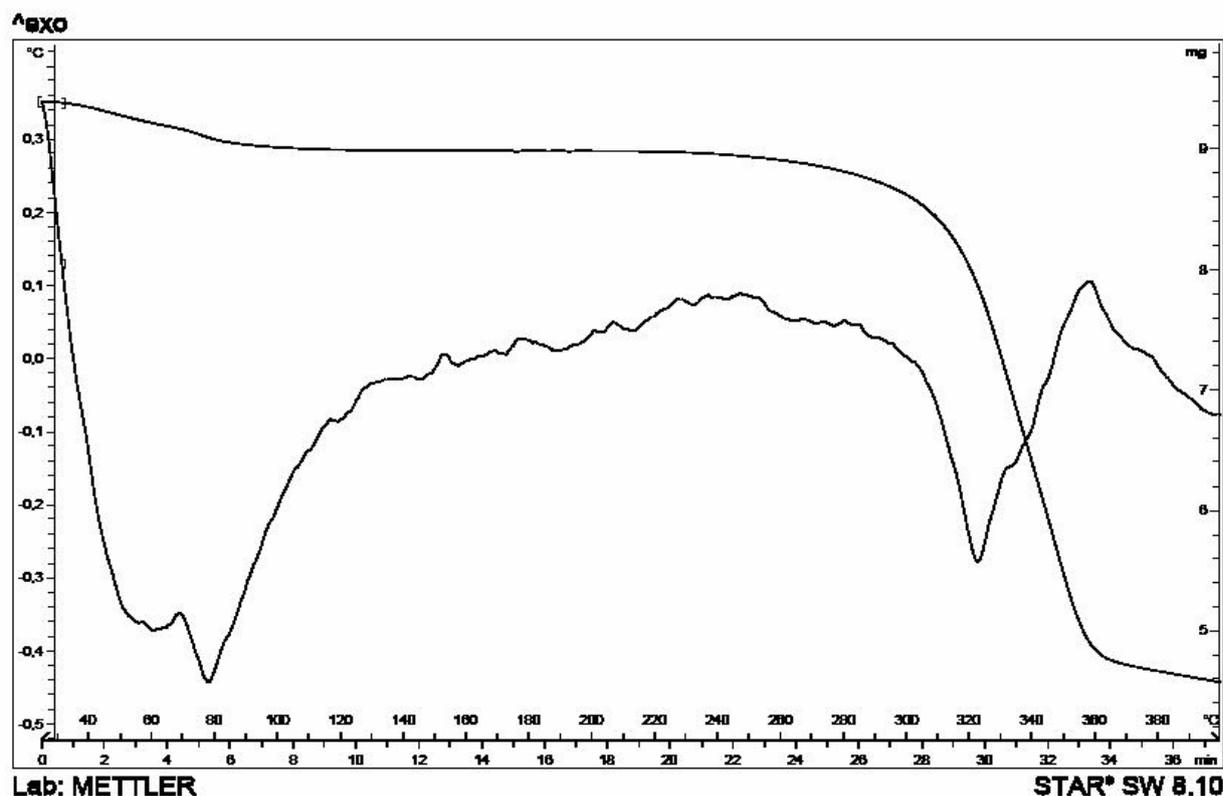


Figura 30. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a luteolina e a celulose microcristalina

Tabela 22. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de luteolina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (9,46 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	65	75	0,73
2	-	-	-
3	289	325	49,27

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 30 e na Tabela 22. Observam-se, novamente, três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 28). A primeira perda possui ponto médio 75 °C e 0,73 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda de massa é irrisória, não podendo ser calculada, devido ao fato de a luteolina estar em menor proporção nesta MB, pois, computando-se este fato, relaciona-se à água de cristalização da luteolina isolada. O terceiro evento termogravimétrico apresentou ponto médio em 325 °C com 49,27 % de perda de massa, correspondendo ao pico de fusão da luteolina. Os valores encontrados para as perdas de massa referentes à água de adsorção e à despolimerização da CMCr foram maiores devido a uma maior proporção de massa da CMCr na MB 1:2. Considerando-se esta variável, esta perda de massa é devida à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 385 °C.

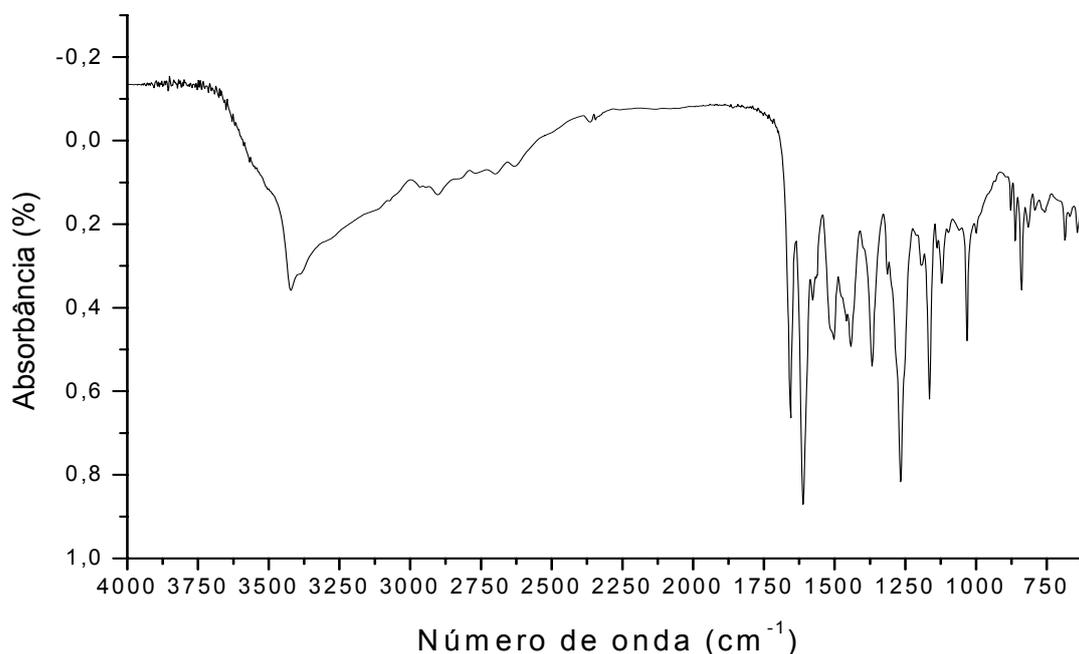


Figura 31. Espectro na região do infravermelho da mistura binária luteolina e celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 31), mas com menor intensidade, com exceção do aparecimento de uma banda em aproximadamente 2375 cm^{-1} , presente também no espectro da CMCr, provavelmente devido ao fato de a CMCr estar em maior quantidade ponderal na proporção da mistura.

5.3.4 Celulose microcristalina e miricetina

O espectro na região do infravermelho para a miricetina (Figura 32 e Tabela A12) apresentou as bandas características deste flavonol (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998).

As curvas de aquecimento obtidas por DSC para a miricetina, bem como para a celulose microcristalina e para suas misturas binárias encontram-se demonstradas na Figura 33 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 23.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a miricetina apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização da miricetina.

O segundo evento endotérmico, por apresentar os valores de T_{onset} e a $T_{\text{máx}}$ relativamente próximos aos das T_{onset} e $T_{\text{máx}}$ de fusão da miricetina ($\Delta T \approx -40\text{ }^{\circ}\text{C}$) e pela reduzida intensidade da ΔH_{obs} deste pico, poderia indicar a possível ocorrência de polimorfismo, semelhante aos resultados encontrados por Borghetti e colaboradores (2006) que, ao avaliarem diferentes amostras de quercetina, observaram a presença de dois picos endotérmicos próximos ao pico de fusão da quercetina. Já os resultados de TGA não mostraram perda de massa na mesma região de temperatura deste evento endotérmico, o que também pode sugerir indícios de polimorfismo, uma vez que nem todos os eventos térmicos acontecem com perda de massa, entre eles a fusão e a cristalização, as quais geralmente estão envolvidas na ocorrência de polimorfismo (HATAKEYAMA e QUINN, 1999; FIESE e HAGEN, 2001).

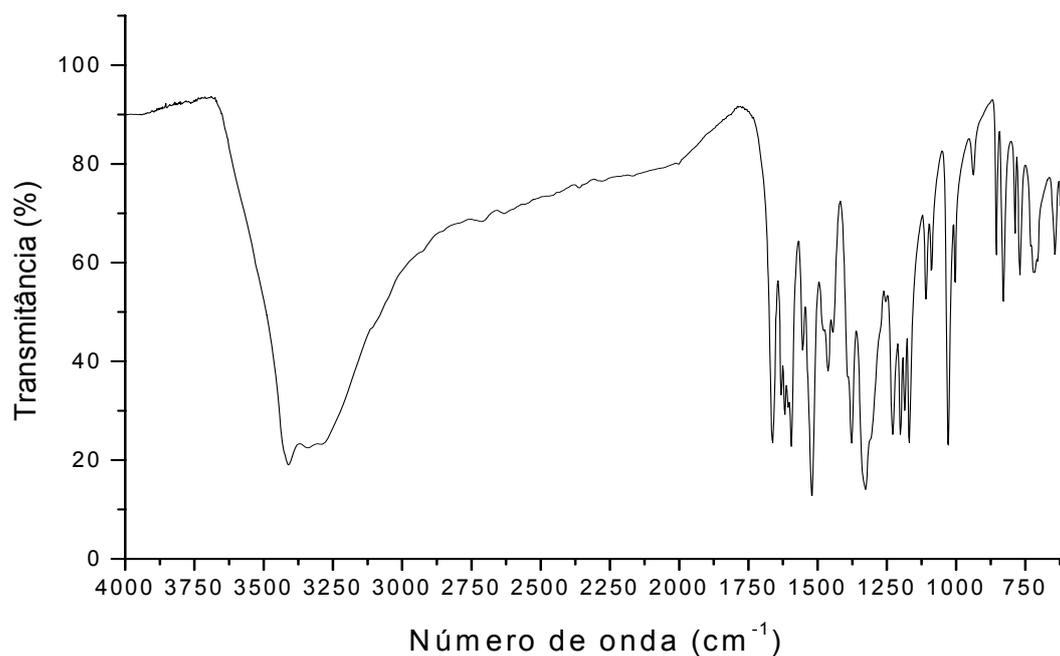


Figura 32. Espectro na região do infravermelho da miricetina

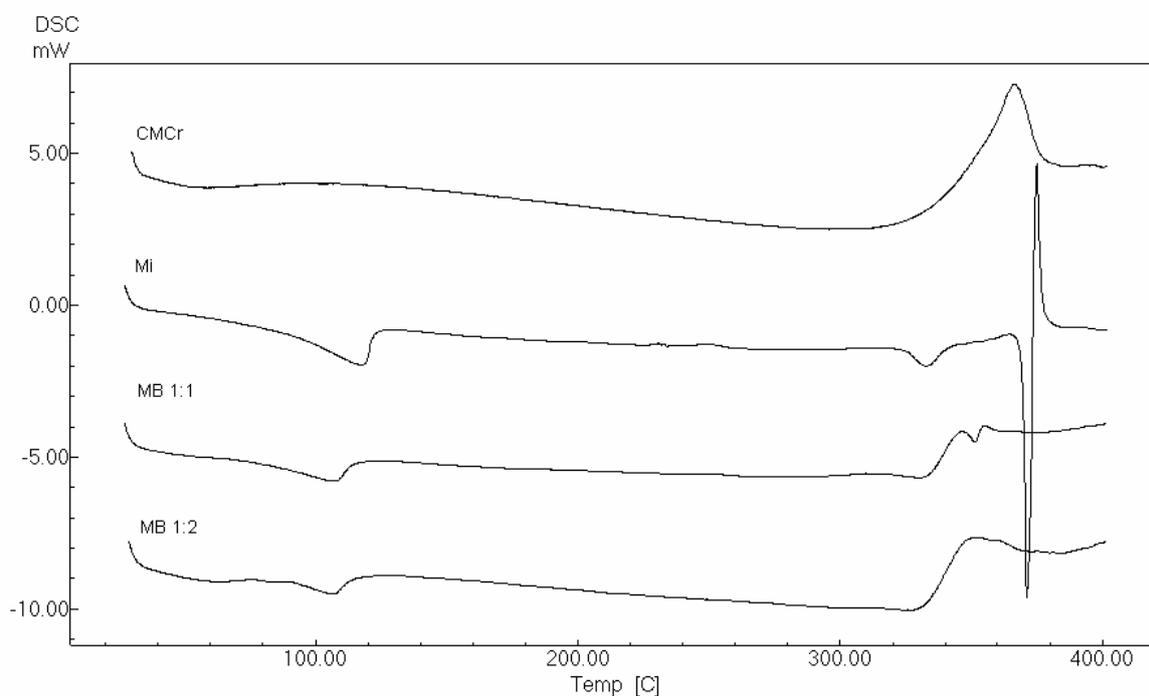


Figura 33. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a miricetina (Mi) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias (MB) nas proporções ponderais 1:1 e 1:2

Tabela 23. Parâmetros térmicos observados para a miricetina (Mi) e a celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias (MB), respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS								
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08				361,03	368,53	4851,72
Mi	105,55	117,49	12,39	324,98	332,00	6,85	370,14	371,59	10,64
MB 1:1	30,89	31,83	11,30	83,47	106,69	16,50	319,40	332,68	6,23
MB 1:2	31,70	64,84	23,12	98,18	108,33	16,74	321,48	326,65	5,69

O terceiro evento endotérmico relaciona-se com a fusão da miricetina, porém a T_{onset} apresentou um deslocamento de 13 °C acima do ponto de fusão citado na literatura, que é de 357 °C (BUDAVARI, 1996), podendo ser explicado pelo fato de que perdas de água de cristalização geralmente são acompanhadas de uma reacomodação da estrutura cristalina, podendo ocasionar um deslocamento na T_{onset} de fusão da substância (DODD e TONGUE, 1987; BROWN, 1988; FORD e TIMMINS, 1989; HAINES, 1995; HATAKEYAMA e QUINN, 1999) ou ainda este deslocamento estar relacionado à ocorrência de polimorfismo.

O quarto evento, exotérmico, provavelmente seja devido à decomposição da miricetina, uma vez que os resultados de TGA demonstraram intensa perda de massa na mesma temperatura relativa ao ponto de fusão da mesma.

Tabela 24. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a miricetina (10,94 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	88	105	4,57
2	365	376	31,99

A curva termogravimétrica para a miricetina, representada na Figura 34 e na Tabela 24, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta duas perdas de massa. A primeira possui ponto médio em 105 °C, com 4,57 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização. A segunda perda, com ponto médio de 376 °C, corresponde ao início da fusão da substância, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, representando 31,99 % de perda de massa. A queda da linha na curva de TGA, a partir de 380 °C é atribuída à decomposição residual da miricetina.

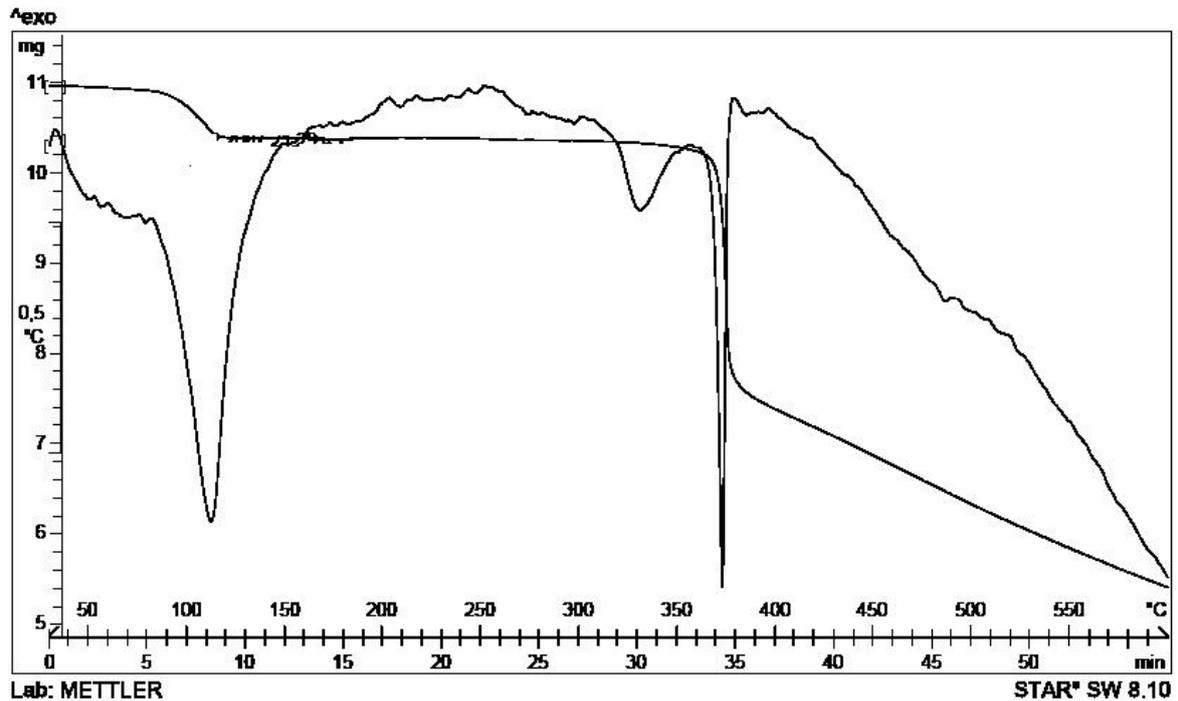


Figura 34. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a miricetina

Com o objetivo de avaliar a existência de interações entre a miricetina e a CMCr, foram avaliadas as suas misturas binárias, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m). Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 23.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 33), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de adsorção da CMCr. A ΔH_{obs} para este evento foi praticamente igual à ΔH_{esp} (12,50 kJ/mol).

O segundo evento endotérmico indica a perda da água de cristalização da miricetina. A ΔH_{obs} para este evento apresentou um valor próximo ao da ΔH_{esp} (12,39 kJ/mol). As pequenas diferenças nas entalpias podem ser atribuídas às variações inerentes à técnica (LONGHINI, 2006).

O terceiro evento endotérmico indica a possível ocorrência de polimorfismo do flavonóide, como discutido anteriormente, apresentando um valor de ΔH_{obs} próximo ao do pico observado na substância isolada.

O pico endotérmico referente à fusão da miricetina está ausente na mistura 1:1. Segundo Ford e Timmins (1989) e Botha e Lötter (1990), o surgimento e/ou desaparecimento de picos de alguns dos componentes da mistura poderiam ser indicativo de interações, neste caso, de natureza física, provavelmente causadas pela formação de ligações de hidrogênio entre a miricetina e a CMCr.

O quarto evento, exotérmico, provavelmente seja devido à degradação da miricetina, uma vez que a sua fusão é acompanhada de decomposição (BUDAVARI, 1996). A interpretação deste fenômeno é prejudicada já que ocorre juntamente com a despolimerização com decomposição da CMCr (FORD e TIMMINS, 1989; TIAN e col., 1999).

Tabela 25. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de miricetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (9,23 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	45	58	2,47
2	85	105	5,18
3	299	326	43,65

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 35 e na Tabela 25, onde se observam três perdas de massa. A primeira possui ponto médio de 58 °C e corresponde a 1,16 % de perda de massa, relativa à água de adsorção da CMCr. A segunda perda com ponto médio em 105 °C e com 2,36 % de perda de massa, representa a eliminação da água de cristalização da miricetina. A terceira perda possui ponto médio de 326 °C e 43,65 % de perda de massa e, por tratar-se do último evento a acontecer na faixa de aquecimento, corresponde à decomposição do sistema Mi:CMCr, porém, em uma temperatura bastante inferior à observada para qualquer uma das duas substâncias isoladas (361,03 °C para a CMCr e 370,14 °C para a miricetina), apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C. Esta menor estabilidade do complexo formado, aliada aos resultados obtidos por DSC, sugerem indícios de interação entre estas duas substâncias, semelhante ao ocorrido no estudo realizado por Costa (2005) ao avaliar possíveis interações da quercetina com o estearato de magnésio e com a lactose.

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 (Figura 36) mostrou-se similar ao da miricetina isolada (Figura 36), possuindo a forma e a intensidade de algumas

bandas modificadas como em 3400 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) da miricetina com a forma modificada, sobrepondo a banda em 3360 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) da CMCr. A banda em 2900 cm^{-1} (ν deformação axial da ligação C-H) da CMCr diminuiu a forma e a intensidade e a banda em 1650 cm^{-1} (ν carbonila/ligações de hidrogênio de aldoses) da CMCr desapareceu, podendo estar deslocada para uma menor frequência e sobreposta às demais bandas da miricetina, compreendidas entre 1640 e 1260 cm^{-1} (ν carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares e deformações axiais de C-O e O-H fenólicas). Como visto anteriormente, estes resultados concordam com os resultados obtidos por DSC através da entalpia de fusão.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 33), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante à mistura 1:1, variando pouco seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação àquela.

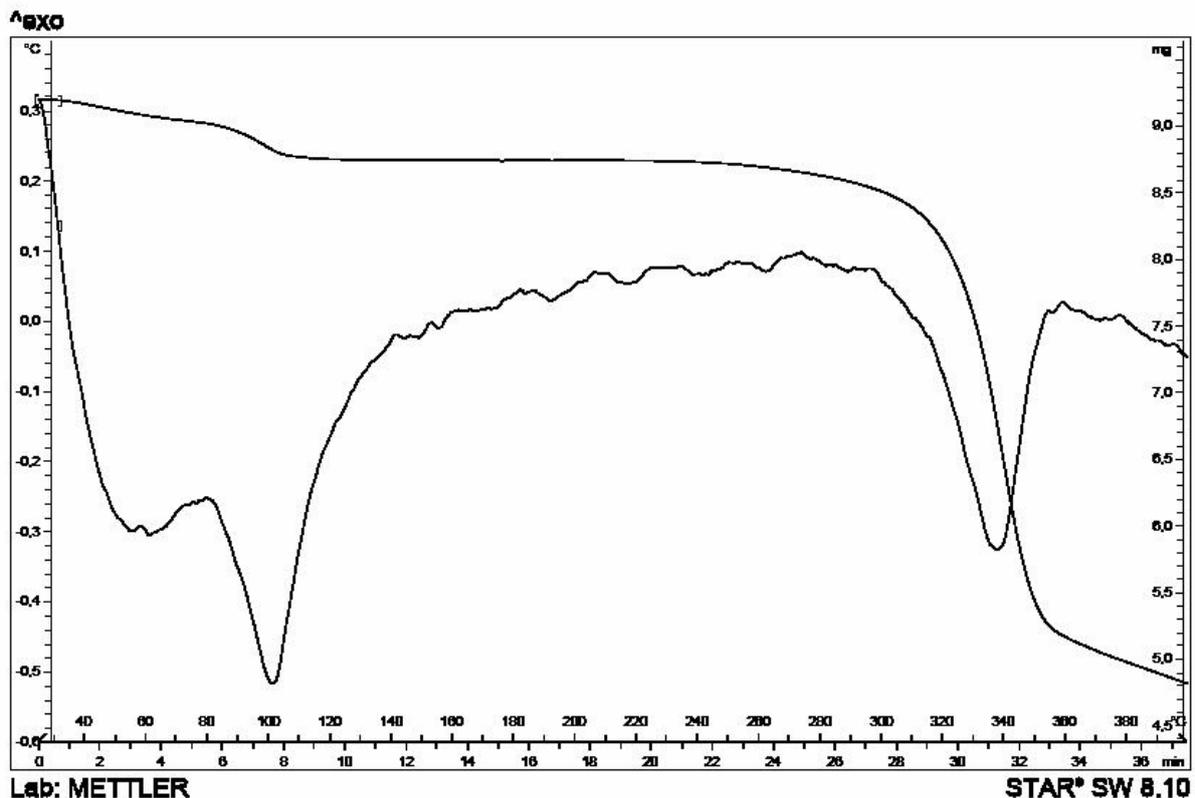


Figura 35. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equimolar entre a miricetina e a celulose microcristalina

Tabela 26. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de miricetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (12,44 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	51	61	2,72
2	83	101	5,14
3	299	327	50,96

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 37 e na Tabela 26. Observam-se, igualmente, três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 35). A primeira perda possui ponto médio em 61 °C, computando 1,41 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda possui ponto médio de 101 °C com 1,91 % de perda de massa, devida à liberação da água de cristalização da miricetina. A terceira perda com ponto médio 327 °C e 50,96 % de perda de massa está relacionada ao pico de fusão da miricetina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura de despolimerização da CMCr. Os valores encontrados para as perdas de massa referentes à água de adsorção e à despolimerização da CMCr foram maiores devido à maior proporção de massa da CMCr na MB 1:2. Considerando este aspecto, a perda de massa é devida à decomposição do flavonóide e à despolimerização da CMCr, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C.

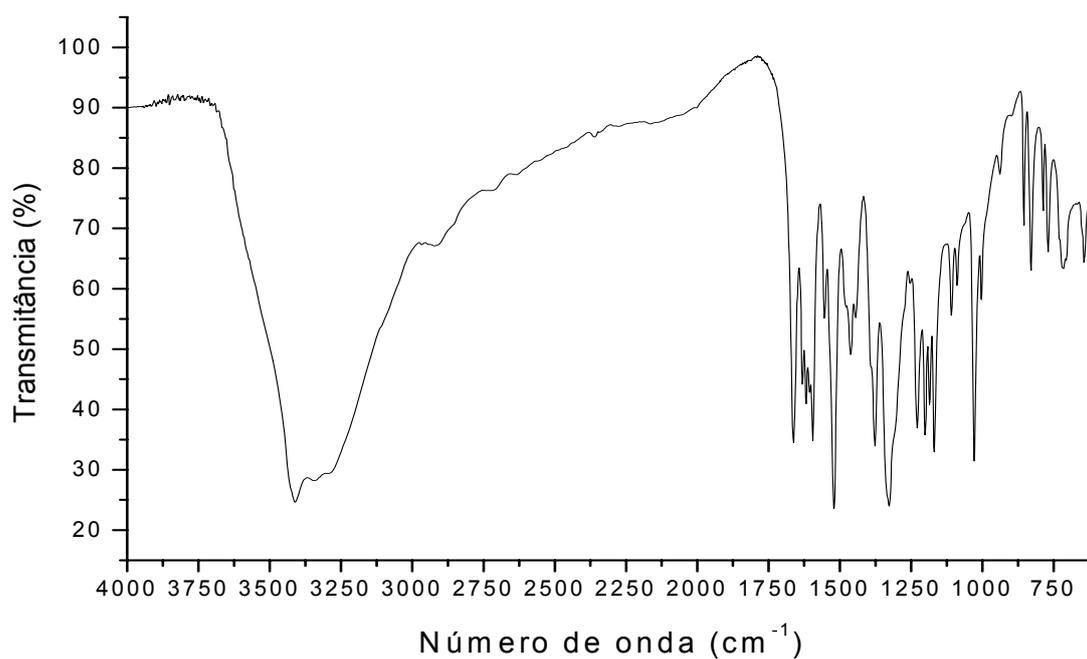


Figura 36. Espectro na região do infravermelho da mistura equiponderal binária da miricetina com a celulose microcristalina

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 38). A única diferença observada foi o aumento da intensidade da banda em 2900 cm^{-1} (ν deformação axial da ligação C-H) da CMCr, que poderia ser devida à maior proporção em massa da CMCr na mistura 1:2.

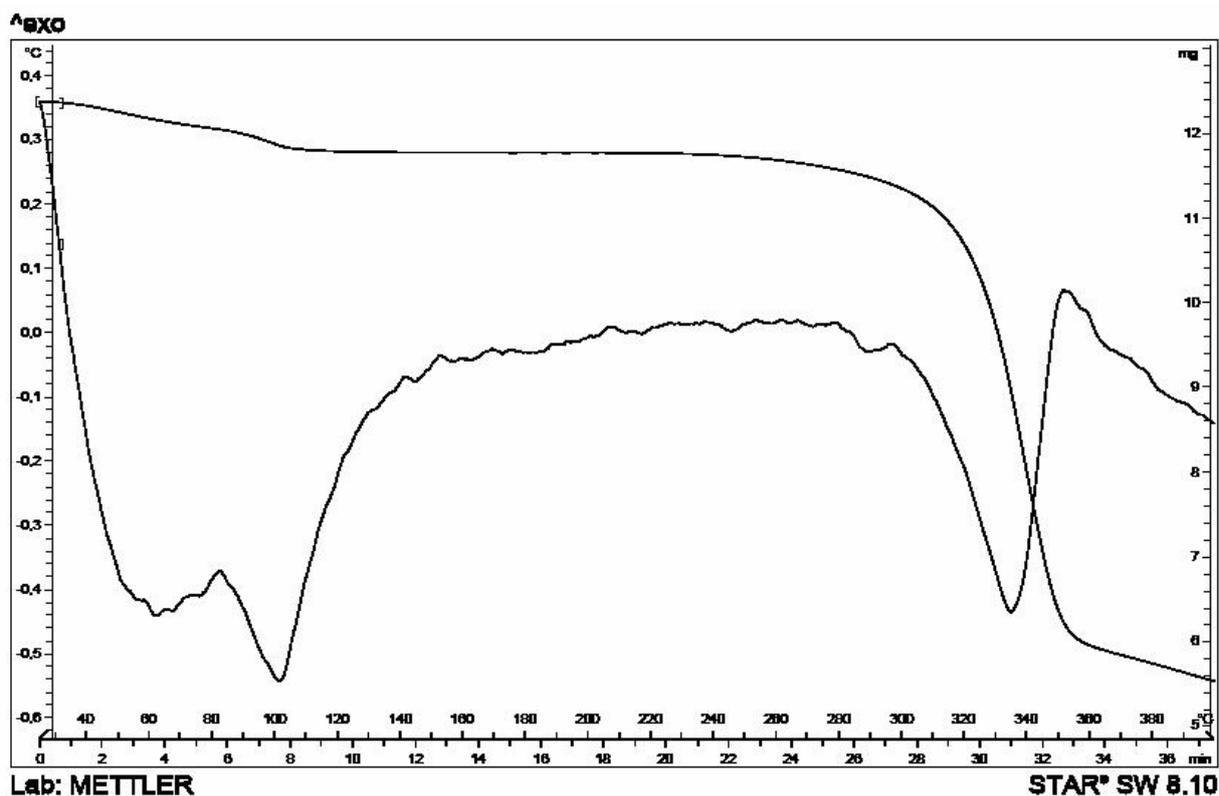


Figura 37. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a miricetina e a celulose microcristalina

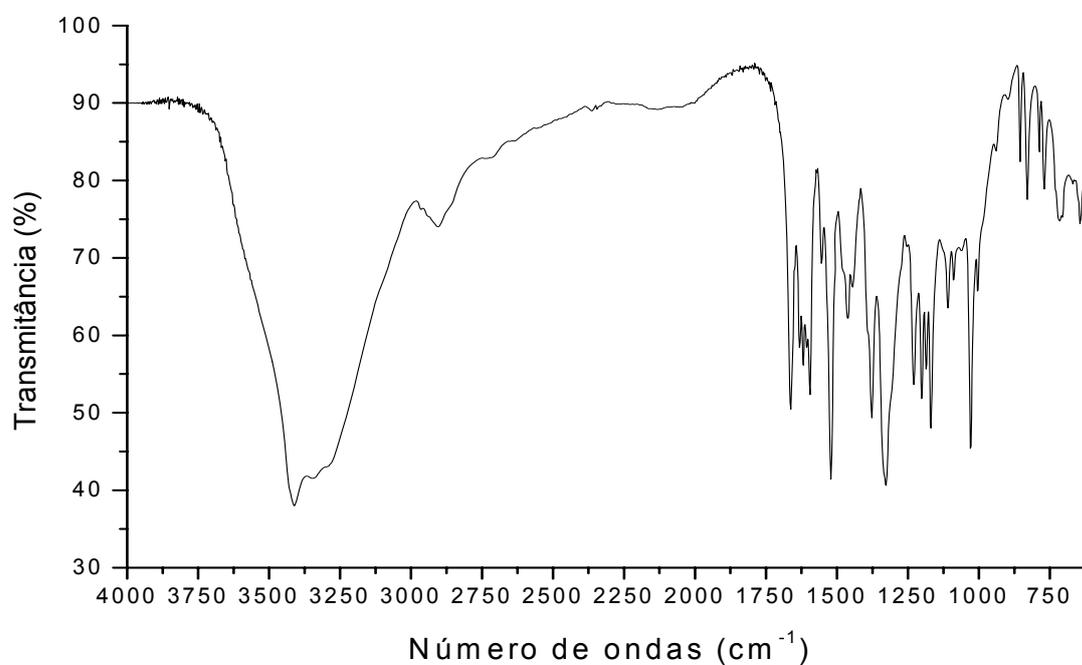


Figura 38. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a miricetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

5.3.5 Celulose microcristalina e morina

O espectro na região do infravermelho para a morina (Figura 39 e Tabela A13) apresentou as bandas características deste flavonol (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998; CALABRÒ e col., 2004).

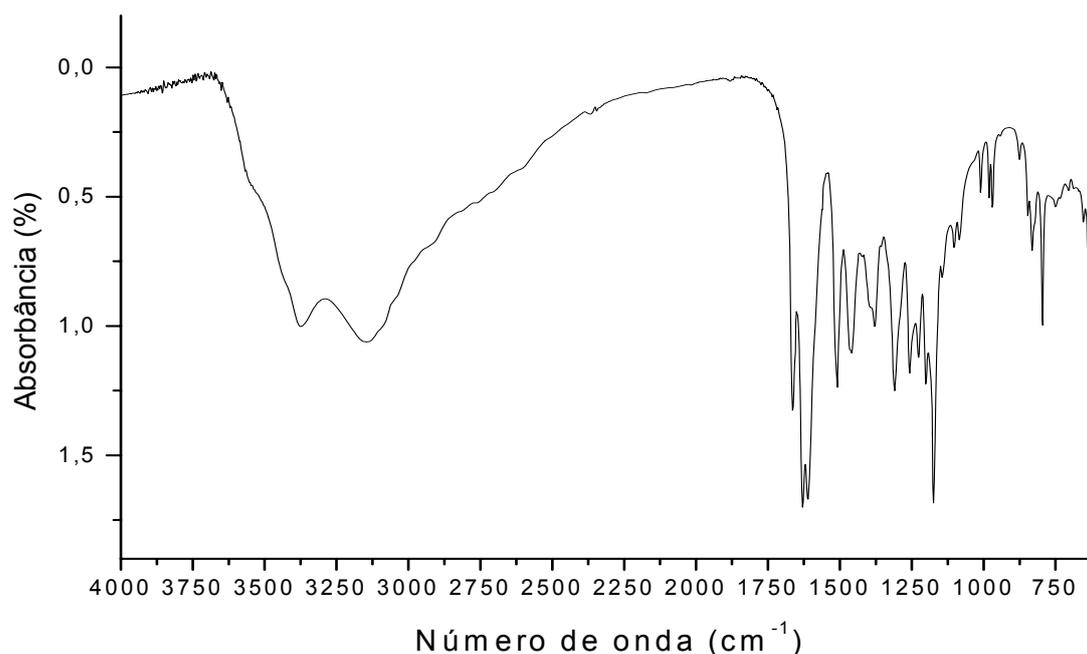


Figura 39. Espectro na região do infravermelho da morina

A curva de aquecimento obtida por DSC para a morina (Mo), bem como para a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 encontram-se demonstradas na Figura 40 e seus parâmetros térmicos arrolados na Tabela 27.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a morina apresenta três eventos endotérmicos. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda de água de adsorção, devido ao fato de possuir o valor da T_{onset} relativamente baixo e pelo valor da ΔH_{obs} também ser pequeno.

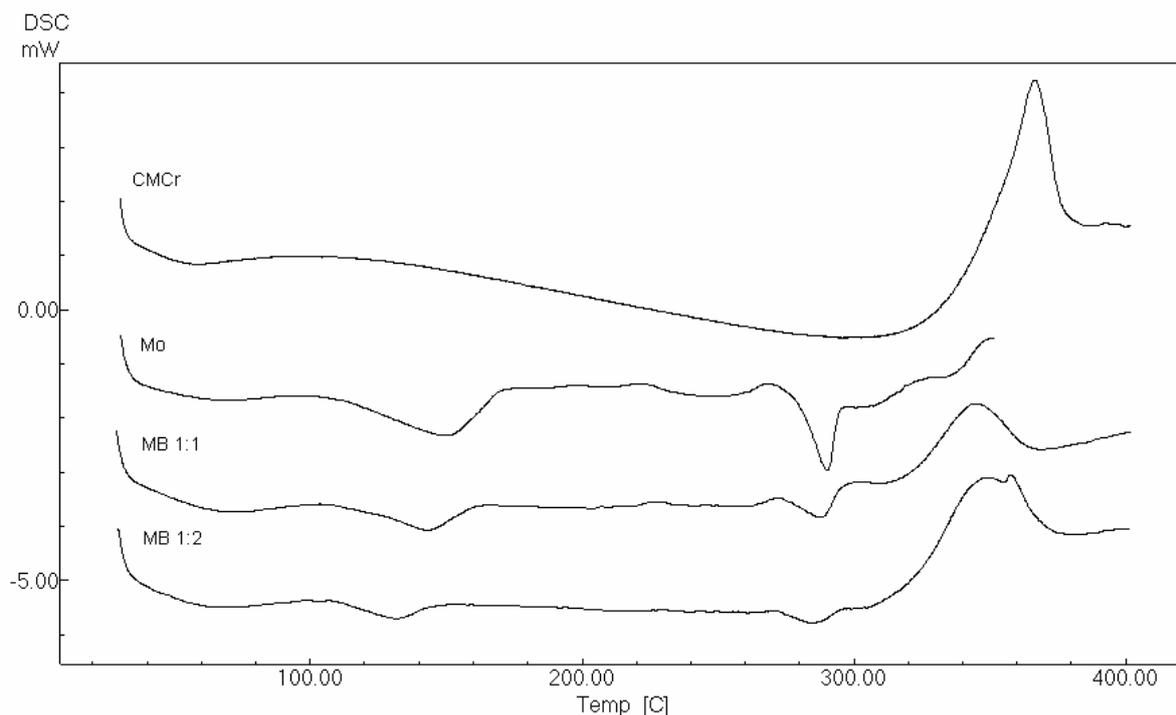


Figura 40. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a morina (Mo) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias (MB) nas proporções ponderais 1:1 e 1:2

O segundo evento endotérmico relaciona-se, provavelmente, a uma segunda perda de água, agora de cristalização, possuindo uma ΔH_{obs} muito mais elevada do que o evento anterior ($\Delta\Delta H = +26,96$ kJ/mol). Os resultados de TGA demonstraram duas perdas de massa em duas faixas de temperatura correspondentes ao primeiro (2,01 %) e ao segundo (5,50 %) eventos endotérmicos. Calabrò e colaboradores (2004) submetem a morina à análise por DSC e também observaram dois eventos endotérmicos nas T_{onset} de, aproximadamente, 130 e 290 °C. Para outras substâncias, também foram observados diferentes tipos de interação (fracas ou fortes) entre as moléculas de água e as moléculas de adjuvantes, como no estudo realizado por Miller e York (1985), onde os autores caracterizaram o estearato e palmitato de magnésio por DSC e concluíram que, de acordo com a sua obtenção, o número de picos presentes na curva de aquecimento por DSC e suas respectivas temperaturas estão relacionados às diferentes formas de ligação das moléculas de água a estes adjuvantes. Longhini (2006) verificou que tanto a T_{onset} como a entalpia relacionadas à água de cristalização de diferentes amostras de ácido gálico

apresentavam comportamento dissimilares. Estas diferenças poderiam estar relacionadas ao modo de ligação da água ao cristal, característica dada pelo método de produção das substâncias, necessitando de maior energia para liberar esta água de cristalização ou ainda por diferenças no tamanho do cristal, hipótese reforçada pelos resultados de infravermelho e MEV. Tanto Armijo (2003) quanto Costa (2005), ao caracterizarem a lactose monoidratada através da DSC, obtiveram valores altos de T_{onset} para o pico endotérmico relacionado com perda da água de cristalização da molécula entre 141,35 e 145,75 °C.

Na tentativa de melhor compreender o evento ocorrido, a mesma amostra foi submetida a uma segunda análise por DSC empregando duas curvas de aquecimento (Figura A9). No primeiro aquecimento, até 200 °C, foi possível observar dois picos endotérmicos, como visto anteriormente. No segundo aquecimento, até 400 °C, não foram observados estes dois picos, apenas os picos endotérmico e o exotérmico, relacionados à fusão e à decomposição da morina, respectivamente, estavam presentes. Desta forma, é possível que este evento endotérmico esteja relacionado com uma segunda perda de água (cristalização) da morina, tanto pela temperatura em que ocorreu o evento quanto pelo seu formato.

O terceiro evento endotérmico relaciona-se com a fusão da morina, apresentando a T_{onset} diminuída em 3,5 °C, mas com a $T_{\text{máx}}$ dentro da faixa de fusão citada na literatura, que é de 285 a 290 °C (BUDAVARI, 1996).

Após a fusão da morina, a linha de base progride no sentido exotérmico, confirmando a fusão acompanhada de decomposição da mesma (BUDAVARI, 1996).

A curva termogravimétrica para a morina, representada na Figura 41 e na Tabela 28, em comparação com a curva de aquecimento por DSC, apresenta três perdas de massa acopladas aos eventos de alteração da entalpia. A primeira possui ponto médio 71 °C com 2,01 % de perda de massa, correspondendo, provavelmente, à água de adsorção. A segunda possui ponto médio 139 °C e 5,50 % de perda de massa e pode ser ordenada à água de cristalização.

Tabela 27. Parâmetros térmicos observados para a morina (Mo) e celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias (MB), respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS								
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08				361,03	368,53	4851,72
MO	48,90	68,20	2,48	115,75	149,77	29,44	281,47	290,49	9,16
MB 1:1	46,74	68,81	20,30	111,81	139,55	30,00	274,34	287,62	17,36
MB 1:2	45,74	72,13	17,03	113,60	134,22	34,10	273,77	285,02	17,45

A terceira perda, com ponto médio 310 °C, representa o início da fusão, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, representando 41,56 % de perda de massa. A queda da linha na curva de TGA, a partir de 340 °C é atribuída à decomposição residual da morina.

Tabela 28. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a morina (8,04 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	40	71	2,01
2	118	139	5,50
3	273	310	41,56

As misturas binárias da morina com a celulose microcristalina, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m) foram avaliadas, com o objetivo de examinar a possível existência de interações entre elas. Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 27.

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 40), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado à perda da água de adsorção da morina com uma leve sobreposição com a dessorção de água da CMCr, em vista da temperatura em que ocorreu este evento endotérmico, não sendo possível determiná-las isoladamente. O ideal seria considerar os dois eventos juntos e calcular a quantidade total de água cedida ao meio, mas devido ao fato da CMCr ser um polímero e possuir uma massa molecular muito elevada (36.000) em relação à morina (302,24), o cálculo da ΔH_{obs} e da ΔH_{esp} seriam influenciados por este valor na mistura binária, fazendo com que a intensidade de variação entre as entalpias fosse exageradamente aumentada.

O segundo evento endotérmico relaciona-se à perda de água de cristalização da morina. A ΔH_{obs} para este evento apresentou um aumento de apenas 1,88 % em relação à ΔH_{esp} .

O terceiro evento endotérmico está ligado com a fusão da morina. A ΔH_{obs} para este evento apresentou-se 89,63 % acima do esperado. Este pico mostrou as suas forma e intensidade modificadas. O valor da T_{onset} está diminuído em, aproximadamente, 7 °C e este fraco deslocamento também poderia ser atribuído, como nos casos anteriores, ao efeito de diluição da substância na mistura, mas, sua

interpretação, aliada a outras características, também sugerem indícios de interação de natureza física com a CMCr.

O quarto evento, exotérmico, pode ser atribuído à união dos picos de decomposição da morina e de despolimerização da CMCr.

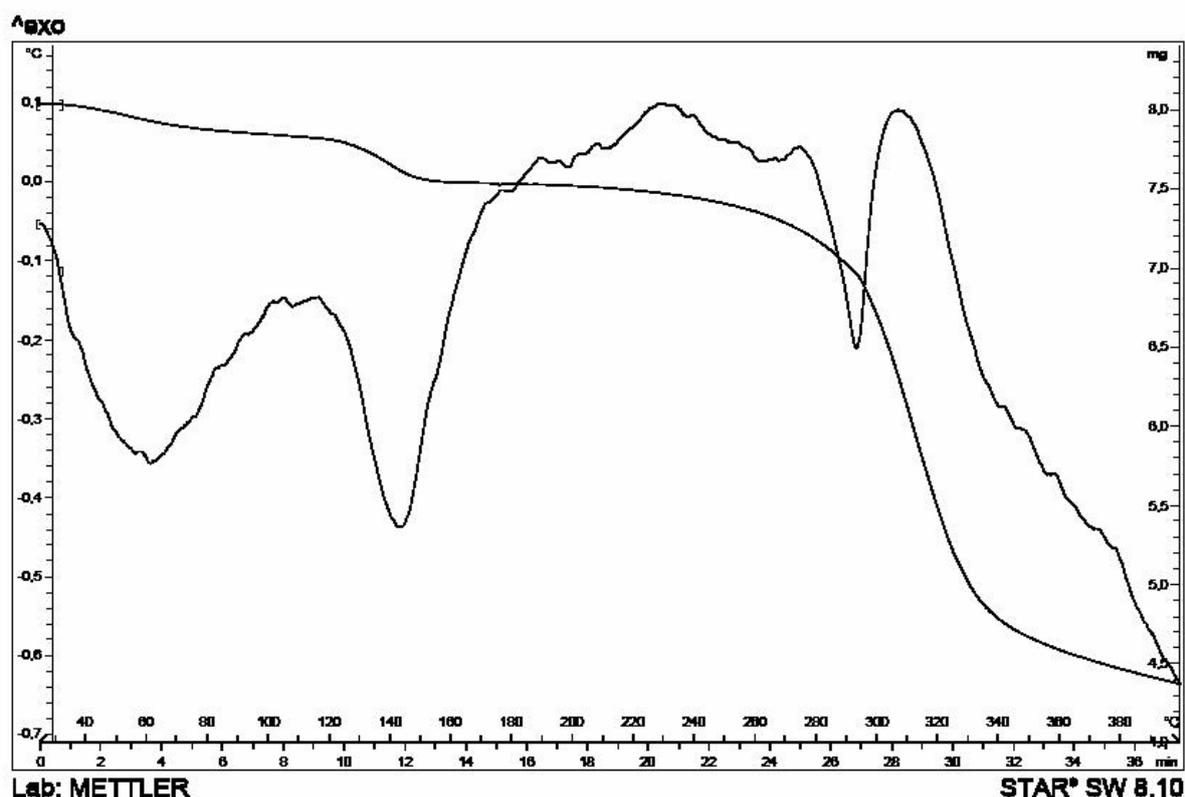


Figura 41. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a morina

Tabela 29. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de morina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (7,62 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	40	61	1,95
2	116	130	5,50
3	258	308	41,59

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 42 e na Tabela 29. Observam-se três eventos, assemelhando-se à curva de TGA da morina (Figura 41). A primeira perda possui ponto médio 61 °C e 1,95 % de perda de massa, correspondendo à dessorção de água da CMCr e da morina. A segunda

perda possui ponto médio em 130 °C e 2,70 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização da morina. A terceira perda possui ponto médio em 308 °C com 41,59 % de perda de massa, relacionável ao pico de fusão da morina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C.

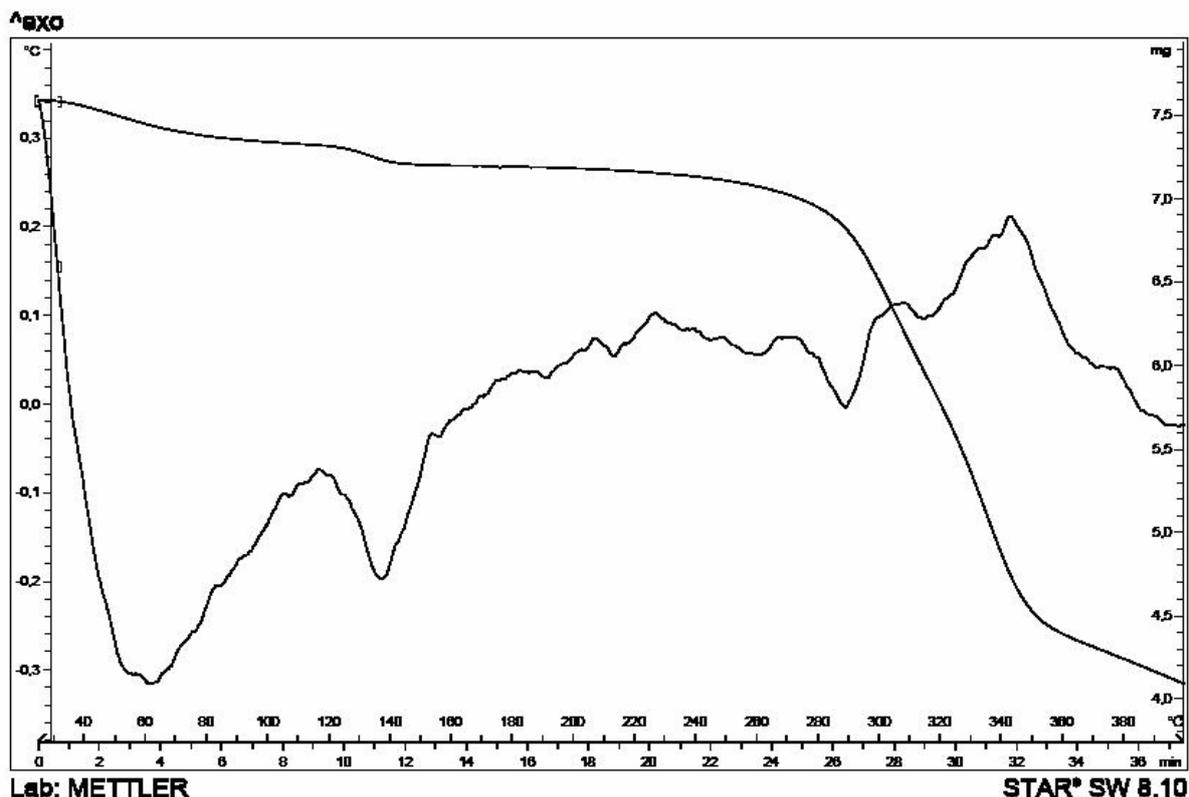


Figura 42. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a morina e a celulose microcristalina

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 está representado na Figura 43. Assim como para a fisetina e a luteolina, o espectro demonstra uma leve modificação das bandas relativas ao flavonóide, sendo que algumas apresentaram redução de sua transmitância como em 3400 cm^{-1} (v deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares), em $3450\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$ (v presença da O-H ligada ao C_4'), em $3350\text{-}3250\text{ cm}^{-1}$ (v presença da O-H ligada ao C_3), em $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ (v presença da O-H ligada ao C_5), em 1690 cm^{-1} (v carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares), em 1625 e 1200 cm^{-1} (v fenila), em 1246 e 1000 cm^{-1} (v deformações axiais de C-O e O-H fenólicas), em $1173\text{-}1085\text{ cm}^{-1}$ (v deformações axiais assimétricas de C-O-C) e em

800 (*m*-), 770 (*o*-) e 700 (*m*-) cm^{-1} (ν deformação angular fora do plano de C-H aromático di-*o*- e di-*m*- substituído). Há também a presença da banda em 2900 cm^{-1} (ν deformação axial da ligação C-H) da CMCr, mas com a forma e intensidade diminuídas. Estes resultados, que sugerem interação entre as substâncias, novamente concordam com os resultados obtidos por DSC através da variação da entalpia de fusão.

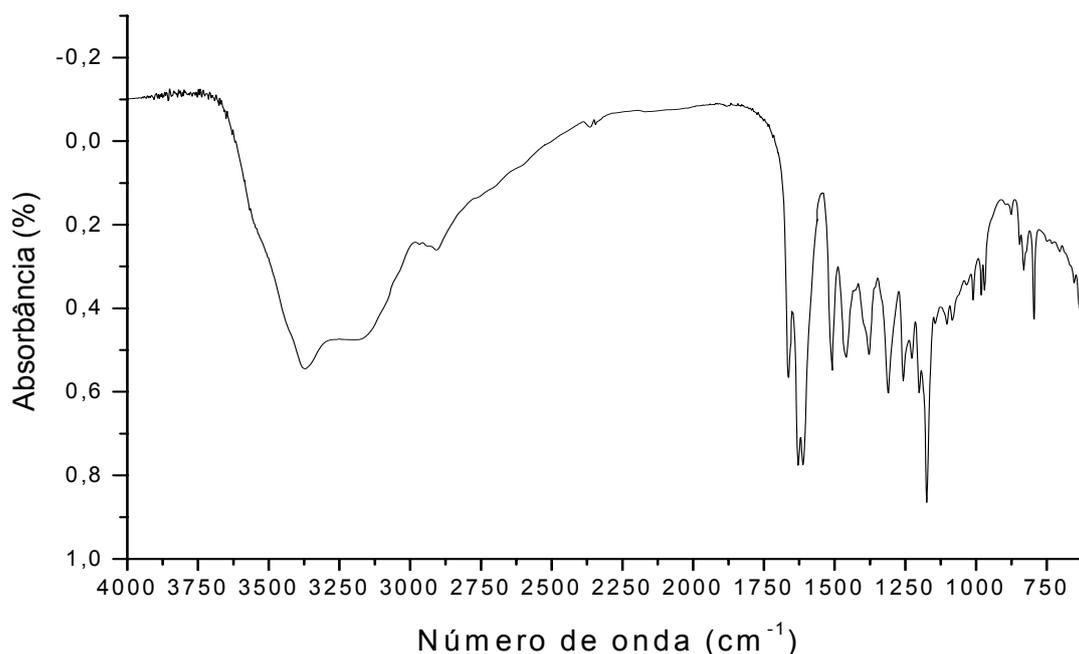


Figura 43. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal da morina com a celulose microcristalina

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 40), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante à mistura 1:1, porém variando seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação à mistura 1:1. O valor de ΔH_{obs} referente ao pico de despolimerização da CMCr mostrou-se maior em relação à mistura 1:1, devida à interação entre o flavonóide e a CMCr. Os valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} para o pico de fusão da morina na mistura 1:2 mantiveram-se muito próximos aos da mistura 1:1, mas apresentando um aumento de 90,58 % em relação à ΔH_{esp} da substância isolada. Mais uma vez, houve indícios de interações e a mistura 1:2 comportou-se semelhante à mistura 1:1.

Tabela 30. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de morina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (7,68 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	38	70	3,66
2	119	131	5,61
3	272	318	52,48

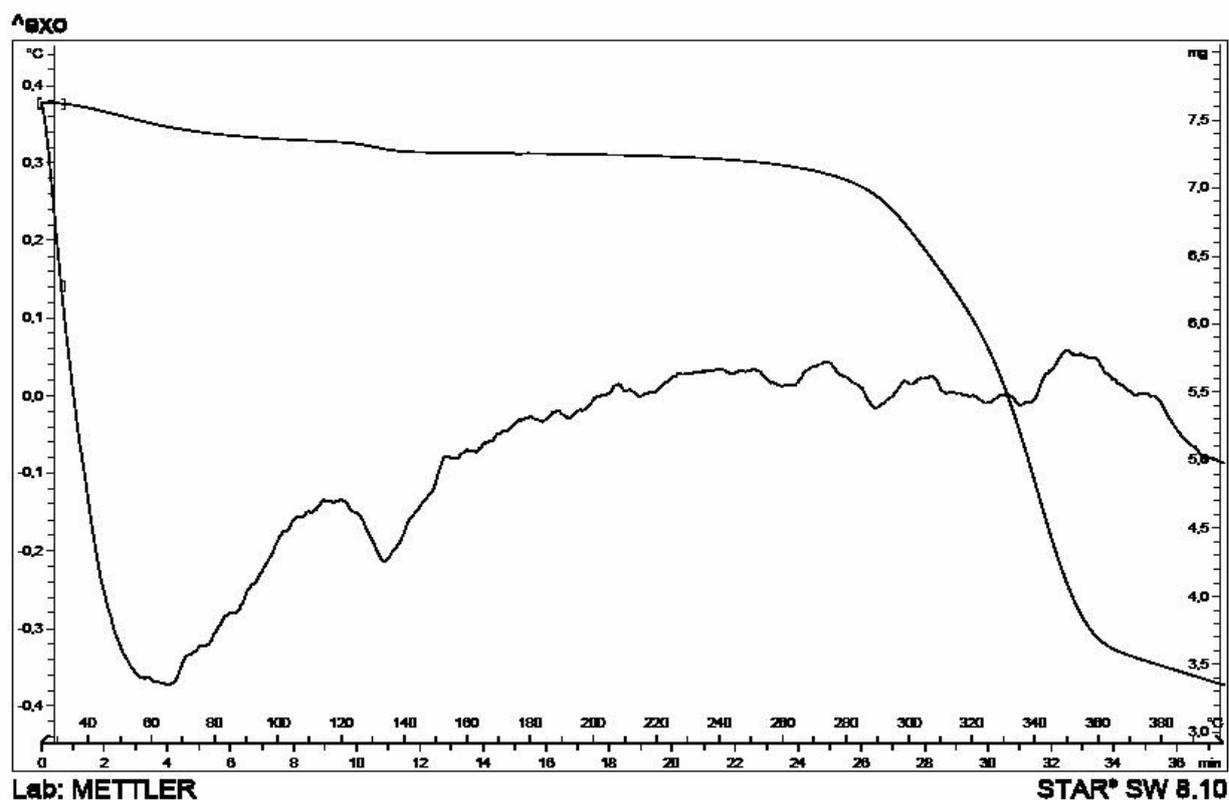


Figura 44. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a morina e a celulose microcristalina

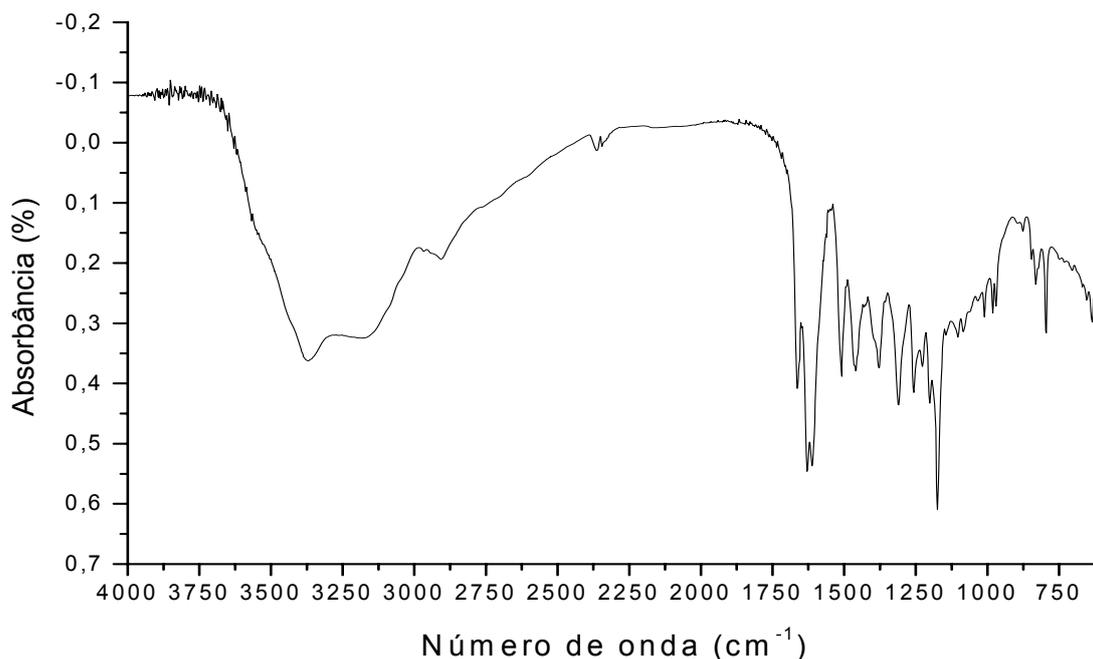


Figura 45. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a morina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 44 e na Tabela 30. Observam-se, novamente, três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 42). A primeira perda possui ponto médio 70 °C e 1,72 % de perda de massa, correspondendo à cedência da água de adsorção da CMCr e da morina. A segunda perda possui ponto médio 131 °C e 2,26 % de perda de massa, correspondendo à água de cristalização da morina. A terceira perda, com ponto médio em 318 °C e 52,48 % de perda de massa, pode ser relacionada ao pico de fusão da morina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C. Os valores encontrados para as perdas de massa referentes à água de adsorção e despolimerização da CMCr foram maiores devido a mais elevada proporção de massa da CMCr nesta MB.

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 45), mas com menor intensidade, com exceção do aparecimento, novamente, de uma banda em

aproximadamente 2375 cm^{-1} , presente também no espectro da CMCr isoladamente, evidenciada devido ao fato de a CMCr estar em maior quantidade na proporção em massa da mistura.

5.3.6 Celulose microcristalina e quercetina

Primeiramente, foi realizado um estudo de comparação entre a quercetina referência (QR) e a quercetina amostra (QA), com o intuito de assegurar a equivalência da substância utilizada neste trabalho. Os resultados obtidos demonstram a semelhança no perfil de deslocamento entre os espectros e dos dados derivados das duas substâncias (Figuras A6 e A7 e Tabelas A6 e A7). A identidade da QA pode ser assegurada, através da análise destas observações, tratando-se da substância quercetina.

Os espectros na região do infravermelho tanto para a QA (Figura 46) como para a QR (Figura A8) mostraram-se semelhantes entre si e com outros espectros descritos na literatura (POUCHERT, 1991; COSTA, 2005), apresentando as bandas características deste flavonóide (Tabela A8) (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; RÜCKER e col., 1998; SILVERSTEIN e col., 1998; PRALHAD e RAJENDRAKUMAR, 2004).

A caracterização térmica evidenciou comportamentos similares da QA com a QR e com aqueles observados por Costa e colaboradores (2002), Costa (2005) e Borghetti e colaboradores (2006).

A Figura 47 mostra a comparação das curvas de DSC obtidas para quercetina referência (QR) e amostra (QA). Os parâmetros térmicos observados estão resumidos na Tabela 31.

O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de cristalização (BUDAVARI, 1996; COSTA, 2005). Em relação a estes picos nas QA e QR, há uma diminuição de 4 °C na T_{onset} e 12 °C na $T_{\text{máx}}$ da QA em relação à QR, apesar do valor de T_{onset} da QR mostrar-se um pouco acima do relatado na literatura; no entanto, a T_{onset} da QA também posicionou-se um pouco acima deste valor, que é de $94\text{ a }97\text{ °C}$ (BUCKINGHAN, 1983; BUDAVARI, 1996).

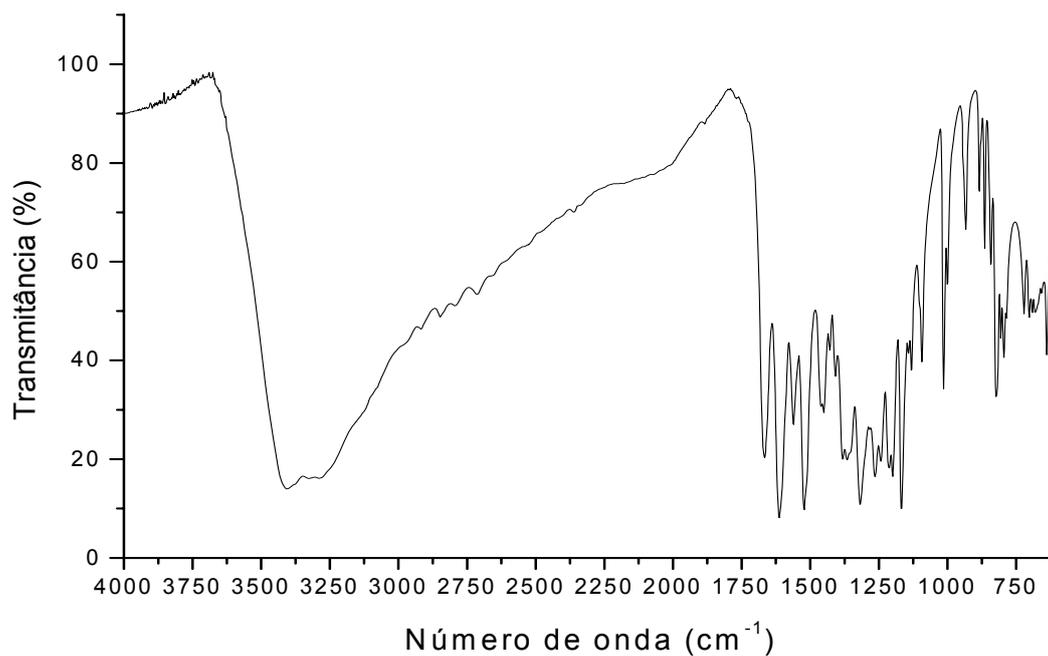


Figura 46. Espectro na região do infravermelho da quercetina amostra

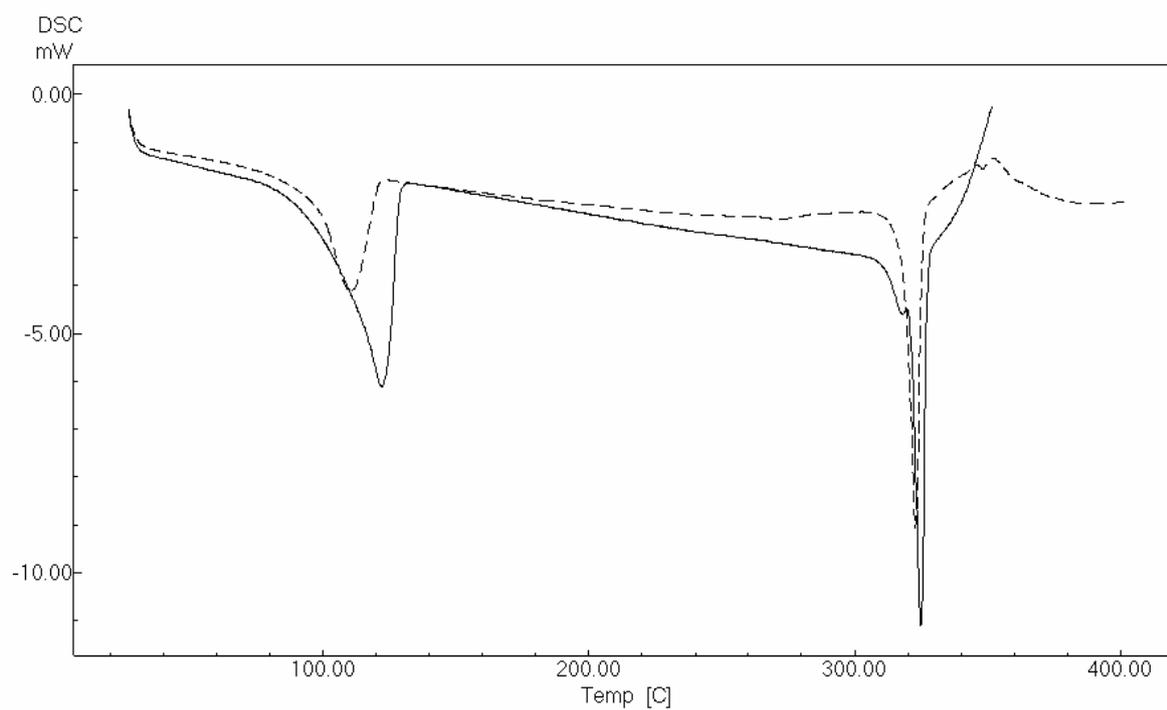


Figura 47. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a quercetina amostra (---) e referência (—)

Tabela 31. Parâmetros térmicos observados para a quercetina amostra e quercetina referência obtidos por DSC

Amostra	Eventos		
	Endotérmico		
	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{máx}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta\text{H} (\text{kJ/mol})$
QA	99,46	109,19	38,32
QR	103,65	121,85	109,27
	Endotérmico		
	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{máx}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta\text{H} (\text{kJ/mol})$
QA	319,51	322,80	39,20
QR	321,08	324,72	50,91
	Exotérmico		
	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{máx}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta\text{H} (\text{kJ/mol})$
QA	349,19	351,47	22,77
QR	-	-	-

O segundo evento endotérmico relaciona-se com fusão da quercetina, porém a T_{onset} da QR encontra-se com um pouco acima da citada na literatura. Também para QA, o valor observado ficou um pouco acima da citada na literatura, de 314 a 317 °C (BUCKINGHAN, 1983; BUDAVARI, 1996), apresentando uma diminuição de 2 °C na T_{onset} e na $T_{\text{máx}}$ da QA em relação à QR.

O terceiro evento, exotérmico, indica a degradação da quercetina, uma vez que a sua fusão é acompanhada de decomposição (BUDAVARI, 1996).

Borghetti e colaboradores (2006), avaliando amostras de quercetina de diferentes procedências, observaram discrepâncias nos comportamentos térmicos das mesmas. Com auxílio de outras técnicas físico-químicas, puderam constatar diferenças nas propriedades das substâncias, atribuindo estas variações à estrutura do cristal, ao tamanho e à morfologia das partículas das amostras, conseqüentemente indicando a ocorrência de, no mínimo, três diferentes formas polimórficas para a quercetina. De acordo com os dados fornecidos pelos autores, quando comparados aos dados obtidos para a quercetina utilizada neste estudo, a mesma assemelha-se à forma A descrita pelos autores, mas necessitando, ainda, de outros estudos mais conclusivos para que possa ser definida a sua forma polimórfica.

A curva termogravimétrica para a quercetina amostra, representada na Figura 48 e na Tabela 32, em comparação com a curva de aquecimento por DSC,

apresenta duas perdas de massa. A primeira possui ponto médio 108 °C correspondendo a 5,17 % de perda de massa, relativa à água de cristalização. A segunda perda, com ponto médio em 350 °C, representa o início da fusão, indicando a decomposição e colapso estrutural da substância, resultando em 31,78 % de perda de massa. A curva de TGA assemelha-se com a obtida por Costa (2005). A queda da linha na curva de TGA, a partir de 360 °C é atribuída à decomposição residual da quercetina.

Tabela 32. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a quercetina (13,53 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	93	108	5,17
2	330	350	31,78

Com o objetivo de avaliar a existência de interações entre a quercetina e a CMCr, foram avaliadas as suas misturas binárias, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 (m/m) (Figura 49). Seus parâmetros térmicos estão representados na Tabela 34.

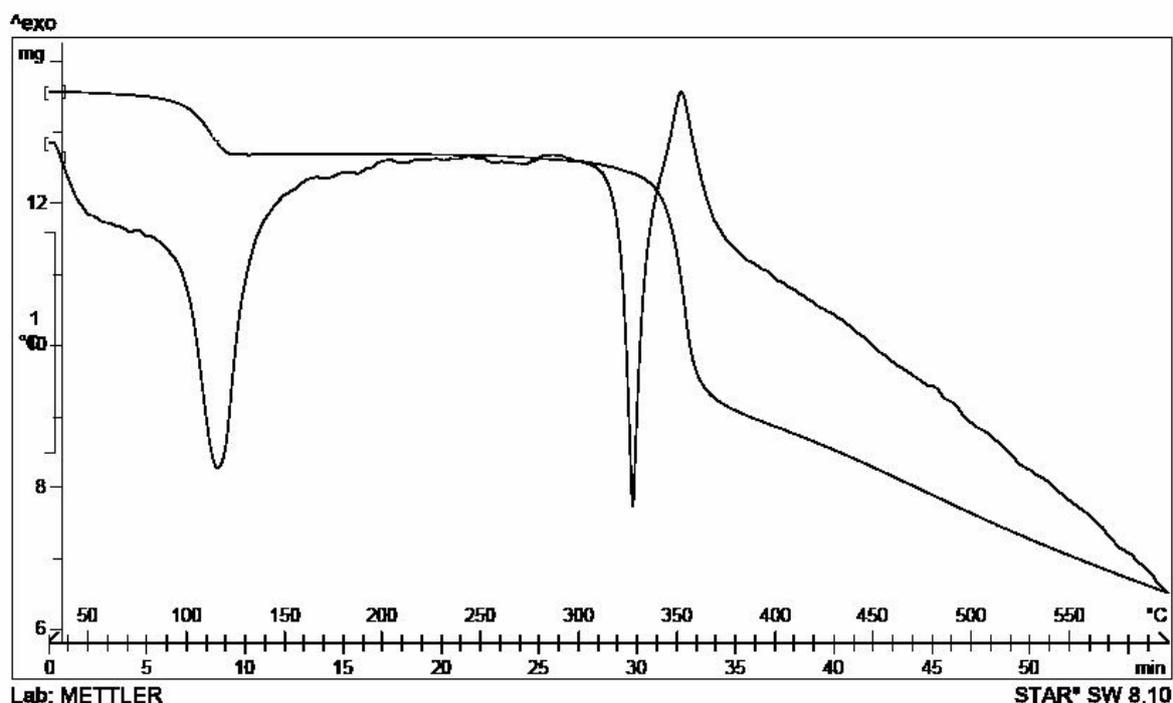


Figura 48. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a quercetina amostra

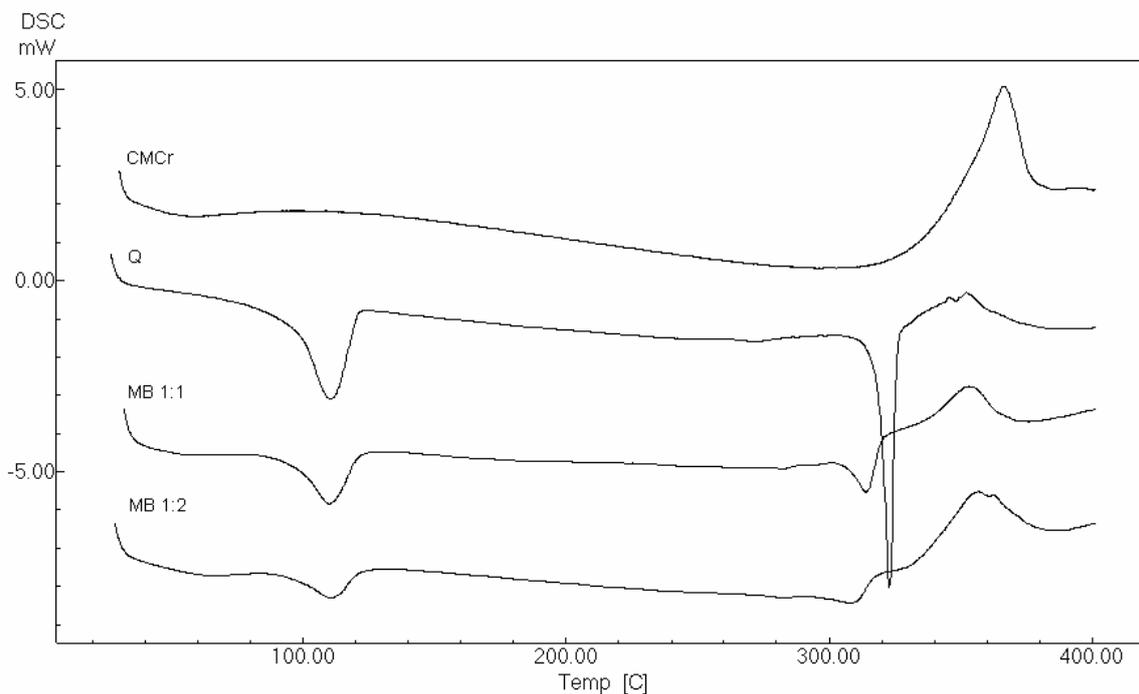


Figura 49. Curvas de aquecimento obtidas por DSC para a quercetina (Q) e a celulose microcristalina (CMCr) e para suas misturas binárias (MB) nas proporções ponderais 1:1 e 1:2

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:1 (Figura 49), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico. O primeiro evento endotérmico está relacionado com a perda da água de adsorção da CMCr. A ΔH_{obs} para este evento mostrou um valor próximo ao da ΔH_{esp} (13,29 kJ/mol).

O segundo evento endotérmico representa a perda da água de cristalização da quercetina. A ΔH_{obs} para este evento era de 47,21 kJ/mol, um valor próximo ao da ΔH_{esp} .

O terceiro evento endotérmico indica a fusão da quercetina. A ΔH_{obs} para este evento apresentou-se 40,58 % abaixo do esperado. Este pico possui forma e intensidade modificadas em comparação ao correspondente da substância isolada. O valor da T_{onset} está diminuído em 13 °C e este deslocamento aliado a outras características medidas, sugere indícios de interação de natureza física com a CMCr.

O quarto evento, exotérmico, provavelmente seja devido à decomposição da quercetina, uma vez que a sua fusão é acompanhada de decomposição (BUDAVARI, 1996), e à despolimerização com decomposição da CMCr, as quais ocorrem juntamente (FORD e TIMMINS, 1989; TIAN e col., 1999).

Os dados de termogravimetria para a MB 1:1 estão representados na Figura 50 e na Tabela 33, onde se observam três perdas de massa. A primeira possui ponto médio em 53 °C contemplando 1,04 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda apresenta ponto médio 99 °C e 2,45 % de perda de massa, representando à água de cristalização da quercetina. A terceira, com ponto médio em 325 °C e 40,93 % de perda de massa, indica o pico de fusão da quercetina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se, apresentando uma queda da linha na curva de TGA a partir de 360 °C.

Tabela 33. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de quercetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:1 (7,03 mg)

Evento	T_{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	40	53	1,93
2	83	99	5,92
3	281	325	40,93

Tabela 34. Parâmetros térmicos observados para a quercetina (Q) e a celulose microcristalina (CMCr) e suas misturas binárias (MB), respectivamente, nas proporções ponderais de 1:1 e 1:2 obtidos por DSC

Amostra	EVENTOS								
	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)	T _{onset} (° C)	T _{máx} (° C)	ΔH (kJ/mol)
CMCr	34,46	58,52	1414,08				361,03	368,53	4851,72
Q	99,46	109,00	38,32	319,51	322,80	39,20	349,19	351,47	22,77
MB 1:1	31,36	52,61	8,62	91,23	106,00	47,21	306,74	313,96	23,30
MB 1:2	29,44	67,17	21,81	101,17	110,81	36,13	299,33	308,24	19,90

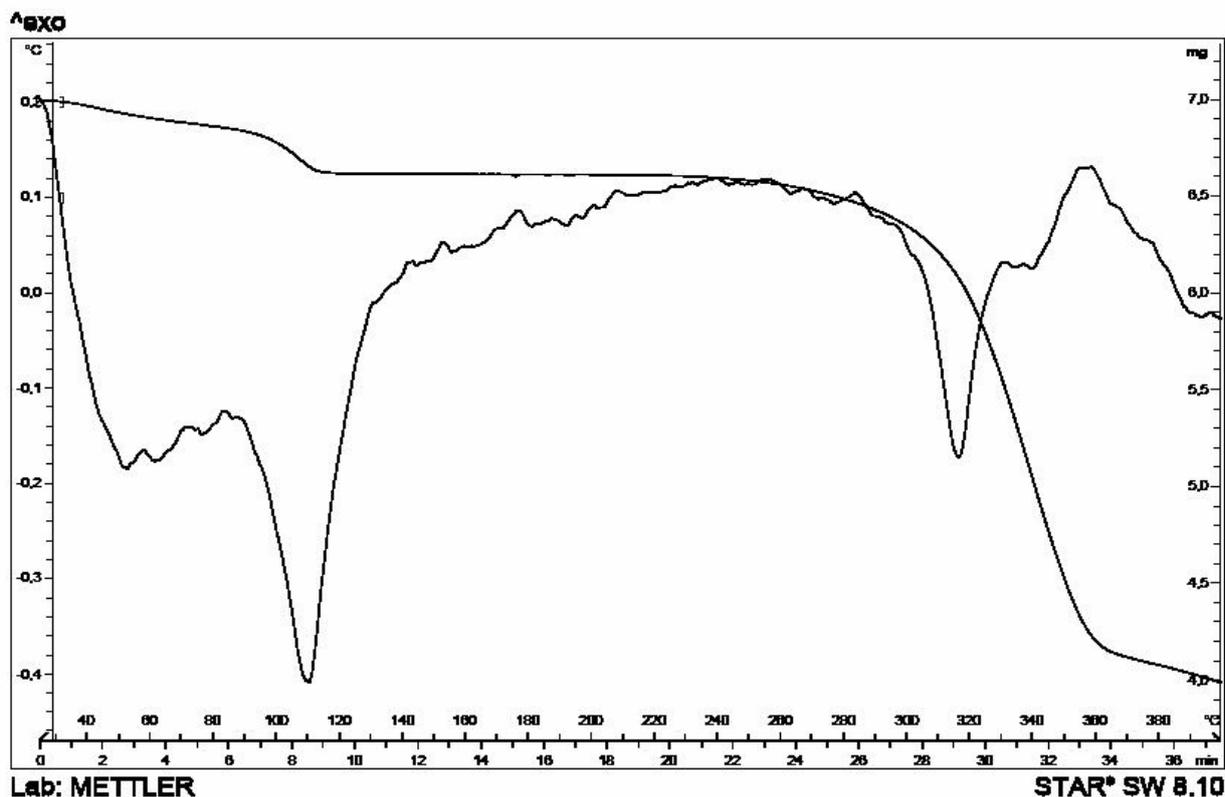


Figura 50. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária equiponderal entre a quercetina e a celulose microcristalina

O espectro de infravermelho da mistura 1:1 está demonstrado na Figura 51. Este espectro apresenta alguma sobreposição de bandas da quercetina e da CMCr. Semelhante ao observado anteriormente para as misturas equiponderais da celulose microcristalina com o canferol (Figura 15) e com a miricetina (Figura 36), este espectro também possui a forma e a intensidade de algumas bandas modificadas como em 3400 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) da quercetina com a forma modificada, sobrepondo a banda em 3360 cm^{-1} (ν deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares) da CMCr. A banda em 2900 cm^{-1} (ν deformação axial da ligação C-H) da CMCr diminuiu a forma e a intensidade e a banda em 1650 cm^{-1} (ν carbonila/ligações de hidrogênio de aldexoses) da CMCr desapareceu, podendo estar deslocada para uma menor frequência e sobreposta às demais bandas da quercetina, compreendidas entre 1660 e 1280 cm^{-1} (ν carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares e deformações axiais de C-O e

O-H fenólicas). Estes resultados concordam com as observações obtidas por DSC através da variação da entalpia de fusão.

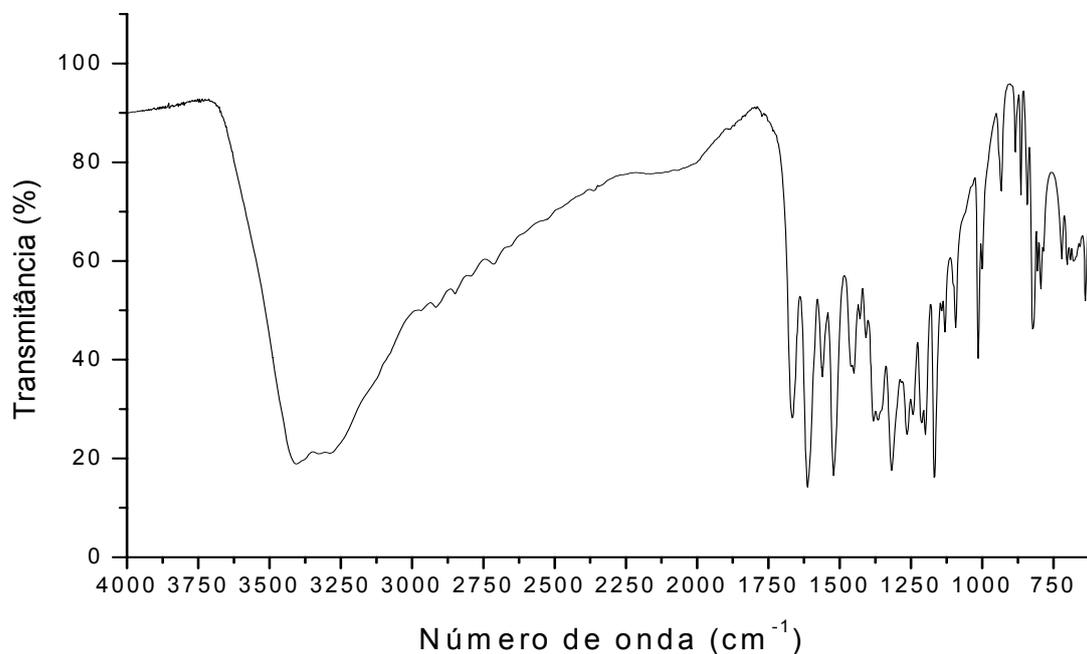


Figura 51. Espectro na região do infravermelho da mistura binária equiponderal de quercetina com celulose microcristalina

A curva de aquecimento obtida por DSC para a mistura 1:2 (Figura 49), apresenta três eventos endotérmicos e um exotérmico, semelhante aos da mistura 1:1, variando pouco seus valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} em relação à mistura 1:1.

Os dados de termogravimetria para a MB 1:2 estão representados na Figura 52 e na Tabela 35. Observam-se, novamente, três perdas de massa, assemelhando-se à curva de TGA da MB 1:1 (Figura 50). A primeira perda possui ponto médio de 54 °C e 1,22 % de perda de massa, correspondendo à água de adsorção da CMCr. A segunda perda apresenta ponto médio em 101 °C com 1,98 % de perda de massa, devida à água de cristalização da quercetina. A terceira perda, com ponto médio 323 °C e 50,32 % de perda de massa, deve-se ao pico de fusão da quercetina, a qual funde com decomposição, sobrepondo-se a faixa de temperatura na qual a CMCr despolimeriza-se.

As mesmas modificações observadas no espectro na região de infravermelho para a mistura 1:1 foram encontradas para a mistura 1:2 (Figura 53), corroborando

com a análise dos resultados obtidos pela DSC. A única diferença encontrada foi a presença de uma banda de pequena intensidade em 2900 cm^{-1} , a qual estava presente no espectro da CMCr (relativa à deformação axial da ligação C-H), mas ausente no espectro da mistura 1:1, salientada devido à maior proporção em massa da CMCr na mistura 1:2.

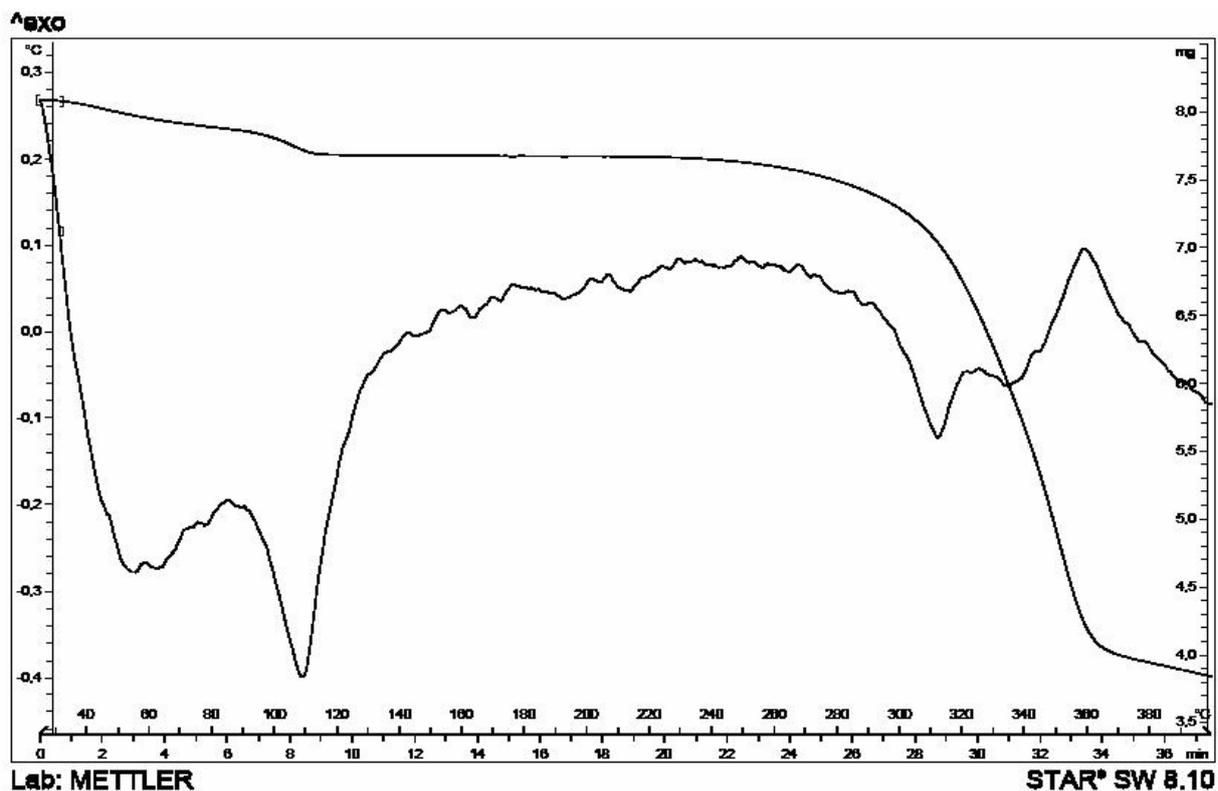


Figura 52. Curva de aquecimento obtida por DTA e curva termogravimétrica para a mistura binária na proporção ponderal de 1:2 entre a quercetina e a celulose microcristalina

Tabela 35. Parâmetros obtidos por análise termogravimétrica para a mistura de quercetina e celulose microcristalina na proporção ponderal de 1:2 (8,14 mg)

Evento	T _{onset} (° C)	Ponto médio (° C)	Perda de massa (%)
1	38	54	2,28
2	87	101	5,48
3	279	323	50,32

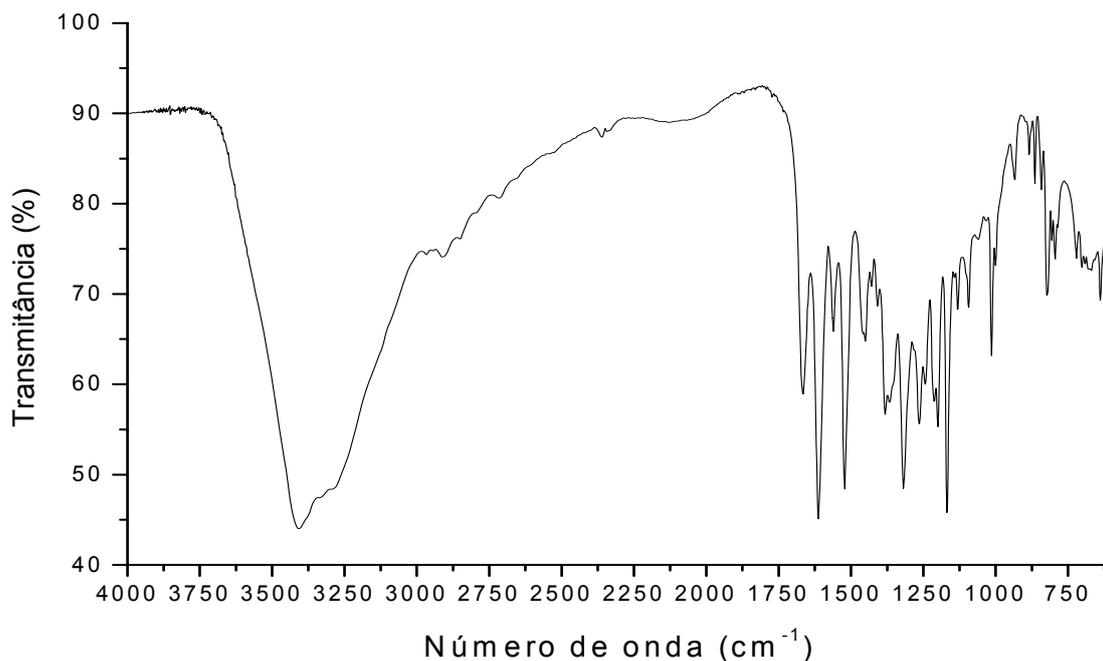


Figura 53. Espectro na região do infravermelho da mistura binária entre a quercetina e a celulose microcristalina na proporção ponderal 1:2

5.4 Considerações gerais sobre alguns resultados da análise térmica e espectroscópica

As leves diferenças encontradas entre os valores das ΔH_{obs} e ΔH_{esp} poderiam ser atribuídas às variações inerentes à técnica.

O primeiro evento endotérmico de cada flavonóide, com exceção da morina, está relacionado com a perda da água de cristalização. Para a fisetina, morina e quercetina, o fornecedor e/ou a literatura informam a fórmula molecular, indicando a presença de água ligada à estrutura. Já para o canferol, luteolina e miricetina, o fornecedor e/ou a literatura explicitam a fórmula molecular, mas não indicam a presença de água acoplada à estrutura. Entretanto, devido ao fato de todos estes flavonóides possuírem estruturas semelhantes, admite-se a possibilidade de uma ou mais moléculas de água estarem ligadas à estrutura destes flavonóides, bem como a possibilidade desta água ligada ser de adsorção e/ou de cristalização.

Em relação ao efeito de diluição da substância ocorrido nas misturas equiponderais e na proporção 1:2 (flavonóide:CMCr) na análise do pico de fusão dos flavonóides por DSC (exceto miricetina), quando duas substâncias são misturadas,

pode-se considerar que a pureza de cada uma delas foi reduzida e, geralmente, ocorrem abaixamentos nos valores dos picos de fusão de ambas (BOTHÁ e LÖTTER, 1990). A ocorrência desta característica nas misturas já era esperada, porém somando-se às outras características observadas, tais como mudanças da forma e intensidade do pico e diferença nos valores entre as ΔH_{obs} e ΔH_{esp} , surgem indícios de uma interação de natureza física, provavelmente causada pela formação de ligações de hidrogênio entre os flavonóides e a CMCr.

Ainda sobre as misturas na proporção ponderal 1:2 (flavonóide:CMCr), em relação às equponderais do mesmo flavonóide, na análise por DSC, mesmo com o aumento da quantidade de CMCr, o perfil das curvas de aquecimento permaneceu semelhante, podendo indicar que a CMCr seja a responsável pelas interações de natureza física, devido ao fato de ser um polímero e possuir um maior número de radicais hidroxila disponíveis para realizar ligações de hidrogênio (SINGHAL e col., 1999).

Os resultados da análise dos espectros por infravermelho das misturas equponderais não apontam para mudanças significativas, sugerindo indícios de interação de natureza física, do tipo ligações de hidrogênio, concordando com os resultados obtidos por DSC através da entalpia de fusão. Entretanto, algumas bandas dos componentes das misturas apresentaram sobreposição em certas regiões, dificultando a visualização de possíveis interações, o que já foi relatado anteriormente por Costa (2005) e Longhini (2006) ao avaliarem alguns espectros de infravermelho de misturas contendo CMCr.

A presença de interações sólido-sólido nem sempre se traduz em incompatibilidades, existindo a possibilidade destas interações não se manifestarem à temperatura ambiente, sendo influenciadas apenas pela temperatura. Contudo, análises de estabilidade acelerada devem ser realizadas com estes flavonóides e a CMCr antes de empregá-los concomitantemente em uma formulação (FORD e TIMMINS, 1989; WADKE e col., 1990; MURA e col., 1998; LONGHINI, 2006).

5.5 Efeito da hidroxilação dos anéis A, B e C da flavona e dos flavonóis em relação ao potencial de interação – Relação Estrutura-Propriedade de Interação (REPI)

O possível efeito da hidroxilação dos anéis A, B e C da flavona e dos flavonóis foi avaliado quanto ao seu potencial de interação (REPI), partindo-se de dados da literatura sobre relação estrutura-atividade biológica (REA) destes compostos e correlacionando o padrão de hidroxilação das estruturas com 1) a intensidade de variação (IV - %) entre a ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} , 2) a energia do sistema conjugado do anel aromático relativa à banda I, relacionada ao $\lambda_{m\acute{a}x}$, 3) o valor do pKa dos flavonóides e 4) os cálculos do campo de força MM2 para a energia de interação do sistema flavonóide-CM_{Cr}, através da modelagem molecular, constituindo-se de uma avaliação preliminar da REPI.

A Figura 54 retoma a estrutura básica dos flavonóides estudados e a Tabela 17 apresenta as posições das hidroxilas nos anéis A, B e C dos flavonóides.

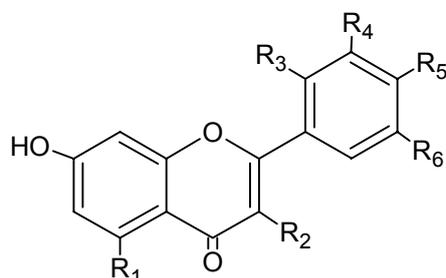


Figura 54. Estrutura básica dos flavonóides estudados

Tabela 36. Posições das hidroxilas nos flavonóides estudados

Flavonóide	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
canferol	OH	OH	H	H	OH	H
fisetina	H	OH	H	OH	OH	H
luteolina	OH	H	H	OH	OH	H
morina	OH	OH	OH	H	OH	H
quercetina	OH	OH	H	OH	OH	H
miricetina	OH	OH	H	OH	OH	OH

5.5.1 Relação com a intensidade de variação

5.5.1.1 Quanto ao número total de hidroxilas

Nas misturas binárias 1:1, o número de hidroxilas foi proporcional ao aumento na intensidade de variação entre a ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} (Tabelas 37 e A14). Considerando relatos da literatura, em geral, entre compostos que possuem a mesma estrutura básica, quanto maior o número de substituintes hidroxila, maior será a atividade antioxidante, explicada pela doação do átomo de hidrogênio e, principalmente, de elétrons para os radicais livres (CAO e col., 1997; HEIJNEN e col., 2001; LEMANSKA e col., 2001; HEIM e col., 2002; LEMANSKA e col., 2004; FIRUZI e col., 2005). Esta interação depende também da posição destes grupos hidroxílicos (RAWEL e col., 2002) e é devida, principalmente, à hidroxilação no anel B (HEIM e col., 2002; SEYOUM e col., 2006). Assim sendo, os flavonóides estudados demonstraram uma REPI semelhante à do efeito antioxidante descrito na literatura, devido ao fato das interações físicas do tipo ligações de hidrogênio com a CMCr também apresentarem um compartilhamento de elétrons entre estas estruturas.

A miricetina é o flavonóide estudado que possui o maior número de hidroxilas, inclusive no anel B, e demonstrou o maior potencial de interação com a CMCr, ocorrendo o desaparecimento do pico endotérmico relativo à fusão na curva de aquecimento por DSC nas misturas 1:1 e 1:2 (Figura 33). Este resultado concorda com os resultados encontrados para a atividade antioxidante, na qual a miricetina apresentou maior atividade frente a outras estruturas poliidroxiladas (CAO e col., 1997) e à epigallocatequina, que possui padrão de hidroxilação semelhante à miricetina e também apresentou maior atividade frente a outras estruturas poliidroxiladas (ZHANG, 1999). Outro estudo, realizado por Rawel e colaboradores (2002), demonstrou a interação de diferentes ácidos fenólicos e flavonóides contendo grupamentos catecol e pirogalol com a glicinina e com o inibidor da tripsina humana, ambas proteínas presentes na soja. Os autores atribuíram o efeito de interação ao número de grupamentos hidroxila presentes e que as interações seriam do tipo ligações de hidrogênio pelos grupos hidroxila, os quais possuem um potencial para este tipo interação. Já o canferol é o flavonóide estudado que possui

o menor número de hidroxilas, com somente uma hidroxila no anel B (carbono 4'), demonstrando o menor potencial de interação com a CMCr.

Nas misturas binárias 1:2, a intensidade de variação entre a ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} (Tabela 37) não correspondeu à ordem decrescente de potencial de interação apresentada nas misturas binárias 1:1. O maior e menor potencial de interação se mantiveram iguais, mas, entre eles, a ordem decrescente foi modificada a partir da morina, apesar de a mistura 1:2 apresentar sempre uma maior IV em relação a sua mistura 1:1. Isto pode ser explicado pelo fato de a CMCr estar em maior proporção de massa na mistura 1:2, além de ser um polímero e possuir um maior número de grupamentos hidroxila disponíveis para a formação de ligações de hidrogênio, exercendo, neste caso, maior influência sobre o potencial de interação. Cabe salientar que os valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$ e ΔH_{obs} dos picos encontrados nas curvas de aquecimento para as misturas 1:1 e 1:2 foram muito próximos entre si e o formato das curvas de aquecimento muito semelhantes, reforçando a hipótese de que a CMCr seja responsável pelas interações com os flavonóides estudados.

Tabela 37. Ordem decrescente da intensidade de variação (IV) entre as entalpias observada (H_{obs}) e esperada (H_{esp}) relativas ao pico de fusão dos flavonóides nas misturas binárias em proporções ponderais

Amostras	H_{obs} (kJ/mol)	H_{esp} (kJ/mol)	IV (%)
Mi:CMCr 1:1	-	-	-
Mi:CMCr 1:2	-	-	-
Mo:CMCr 1:2	17,45	9,16	90,58
Mo:CMCr 1:1	17,36	9,16	89,63
Fi:CMCr 1:2	6,65	38,00	82,49
Lu:CMCr 1:2	8,35	42,52	80,36
Q:CMCr 1:2	19,90	39,20	49,24
Q:CMCr 1:1	23,30	39,20	40,58
Ca:CMCr 1:2	25,55	40,36	36,70
Fi:CMCr 1:1	26,72	38,00	29,69
Lu:CMCr 1:1	31,66	42,52	25,54
Ca:CMCr 1:1	30,42	40,36	24,64

Mi=miricetina; Mo=morina; Fi=fisetina; Lu=luteolina; Q=quercetina; Ca=canferol

Desta forma, a REPI referente ao número de hidroxilas existentes na estrutura dos flavonóides mostrou-se proporcional ao potencial de interação com a CMCr, sendo a ordem decrescente encontrada: miricetina > morina > quercetina > fisetina > luteolina > canferol. Zhang (1999) ordenou a atividade antioxidante das hidroxilas de

alguns antioxidantes fenólicos com os grupamentos presentes, verificando que esta atividade antioxidante decrescente mostrou-se proporcional ao número de hidroxilas, ou seja, pirogalol>catecol>fenol, fundamento semelhante ao resultados encontrados neste estudo.

5.5.1.2 Quanto à posição e/ou presença das hidroxilas nos anéis A, B e C

Muitos estudos têm sido realizados, no caso da atividade antioxidante, levando em conta as propriedades dos grupos substituintes, não apenas em relação ao número de grupamentos hidroxila, mas também ao posicionamento dos mesmos nos anéis dos flavonóides, bem como a formação de ligações de hidrogênio (RICE-EVANS e col., 1996; ZHANG, 1999; RAWEL e col., 2002; FIRUZI e col., 2005; SEYOUM e col., 2006).

Em relação à posição nas hidroxilas no anel B, a quercetina e a morina são moléculas isômeras de posição e a orientação em *meta* da morina demonstrou maior potencial de interação em relação à orientação em *orto* da quercetina. É possível que as hidroxilas em posição *meta*, por se encontrarem mais afastadas uma da outra do que na posição *orto*, estejam mais disponíveis para a interação com a CMCr, interagindo menos entre si através das ligações de hidrogênio intramoleculares. Provavelmente este fato seja explicado por estudos aprofundados de modelagem molecular como os cálculos semi-empíricos e/ou *ab initio*. Tanto a posição quanto a presença das hidroxilas neste anel também são importantes para o potencial de interação, semelhante ao grupo catecol para a atividade antioxidante (HEIJNEN e col., 2001; FIRUZI e col., 2005). Na comparação entre a luteolina e canferol, que também são estruturas isômeras de posição, a presença de duas hidroxilas no anel B teve maior influência sobre o potencial de interação do que a presença da hidroxila no carbono 3 do anel C. O mesmo ocorreu na comparação entre a fisetina e o canferol, novamente estruturas isômeras de posição, onde a presença de duas hidroxilas no anel B da fisetina teve maior influência sobre o potencial de interação do que o número de hidroxilas no anel A do canferol. A presença da hidroxila no carbono 5 é importante para o potencial de interação, mas não de forma significativa quando existirem outros grupamentos hidroxila presentes nos flavonóides, principalmente no anel B, como no caso deste estudo onde a

fisetina>canferol, concordando com os resultados obtidos por Firuzi e colaboradores (2005).

Quanto à presença da hidroxila no carbono 3 do anel C, que neste estudo indica isomeria funcional, apesar de a fisetina possuir apenas uma hidroxila no anel A (carbono 7), devido à presença a hidroxila no carbono 3 do anel C, a mesma demonstrou um maior potencial de interação em relação à luteolina, a qual possui duas hidroxilas no anel A (carbonos 5 e 7), ou seja, a presença da hidroxila no carbono 3 do anel C teve maior influência sobre o potencial de interação do que o número de hidroxilas no anel A, semelhante ao relatado para a atividade antioxidante por Heijnen e colaboradores (2001) e por Firuzi e colaboradores (2005). Assim, flavonóis interagem mais com a CMCr do que flavonas.

Para o anel A foi avaliada somente a presença ou ausência da hidroxila no carbono 5 com relação ao potencial de interação, não havendo mudança na posição dos grupos hidroxila em orientação *o*- nos carbonos 5 e 7. As hidroxilas presentes neste anel e, no caso da fisetina, apenas no carbono 5, foram as hidroxilas que tiveram a menor influência sobre o potencial de interação com a CMCr, como citado anteriormente, em comparação à influência exercida pelas hidroxilas presentes nos anéis B e C.

Deste modo, para os flavonóides estudados que possuem estruturas isômeras, a ordem de importância do padrão de hidroxilação dos anéis para o potencial de interação com a CMCr foi B>C>A.

Estes resultados encontrados, relativos ao número de grupamentos hidroxila existentes na estrutura dos flavonóides estudados e à localização e/ou presença dos mesmos, concordam com os resultados encontrados por Heim e colaboradores (2002), onde houve uma aparente correlação positiva entre o número de grupos hidroxila, particularmente no anel B, e a atividade antioxidante. Neste mesmo estudo, a presença do grupo catecol (anel B), seguido pela hidroxila no carbono 3 do anel C foram determinantes para a atividade antioxidante.

5.5.2 Relação com a energia do sistema conjugado relativa à banda I

Para a avaliação do comportamento da energia do sistema conjugado do anel aromático em relação ao $\lambda_{\text{máx}}$ dos flavonóides, foi escolhida a banda I, relativa ao anel B e a uma parte do anel C. A escolha se deveu ao fato de que no anel B os flavonóides estudados possuem uma, duas (em posição *orto* ou *meta*) ou três hidroxilas e no anel C a presença ou não da hidroxila no carbono 3; já para a banda II, apenas a fisetina difere no padrão de hidroxilação dos demais.

Tabela 38. Comprimentos de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) relativos à banda I dos flavonóides e suas respectivas energias de conjugação (kcal/mol) (adaptado de MABRY e col., 1970)

Flavonóide	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Energia (kcal/mol)
luteolina	349	81,95
fisetina	362	79,00
canferol	367	77,93
morina	370	77,29
quercetina	370	77,29
miricetina	374	76,47

A Tabela 38 apresenta os comprimentos de onda máximos relativos à banda I dos flavonóides e suas respectivas energias. Como pode ser visto, em geral, quanto maior o número de hidroxilas nos flavonóides, maior o $\lambda_{\text{máx}}$ e menor a energia do sistema conjugado. O aumento da hidroxilação no anel B de flavonas e flavonóis ocasiona um deslocamento batocrômico na banda I a cada hidroxila adicional (MABRY e col., 1970). Em estudo sobre reações de flavonóides com radicais estáveis, realizado por Butkovic e colaboradores (2004), foi verificado que grupamentos hidroxílicos doam hidrogênios e elétrons aos radicais livres, estabilizando tanto estes radicais quanto os radicais flavonóides formados, sendo importantes para a atividade antioxidante, o que também foi confirmado por outros relatos na literatura (RICE-EVANS e col., 1996; ZHANG, 1999; HEIM e col., 2002; ERKOÇ e col., 2003; CALABRÒ e col., 2004; FIRUZI e col., 2005; SEYOUM e col., 2006). Rice-Evans e colaboradores (1996), Zhang (1999) e Heim e colaboradores (2002) relatam ainda que ligações de hidrogênio formadas no radical flavonóide, entre as hidroxilas do anel B e a hidroxila do carbono 3 do anel C, conferem estabilidade ao radical fenoxila. Devido a estas ligações intramoleculares, a

influência desta hidroxila no carbono 3 é potencializada pela presença do grupamento catecol, sendo favoráveis ao aumento da atividade antioxidante dos flavonóis.

Calabrò e colaboradores (2004) relataram que os radicais fenoxila formados pela atividade antioxidante são estabilizados por efeitos de ressonância. Rice-Evans e colaboradores (1996), Heim e colaboradores (2002) e Seyoum e colaboradores (2006) sugeriram que a conjugação entre os anéis A e B permite a estabilidade do sistema através do efeito de ressonância e que grupos hidroxila aumentam a estabilidade do radical formado durante a doação de hidrogênios e de elétrons. Além disso, a ligação dupla entre os carbonos 2 e 3, juntamente com o grupo carbonila no carbono 4 do anel C são responsáveis pela deslocalização de elétrons do anel B, sendo que, para este estudo, o potencial antioxidante está diretamente relacionado a este fenômeno. Quando os flavonóides reagem com os radicais livres, os radicais fenoxila produzidos são estabilizados pelo efeito de ressonância dos núcleos aromáticos (RICE-EVANS e col., 1996). Segundo Jurd (1962), a posição e a intensidade do $\lambda_{\text{máx}}$ de cada uma das bandas I e II variam com a contribuição relativa da ressonância dos grupos benzoila (II), cinamoila (I) e do anel pirona na ressonância total da molécula. Assim, a introdução de grupos doadores de elétrons, como as hidroxilas no anel B, aumenta a contribuição relativa da ressonância e, conseqüentemente, produz considerável deslocamento batocrômico da banda I. Já a introdução de grupos hidroxila no anel A, primeiramente, aumenta a contribuição da ressonância neste anel e tende a aumentar o $\lambda_{\text{máx}}$ e a intensidade máxima de absorção da banda II. Deste modo, quanto maior o número de hidroxilas, maior a doação de elétrons para a ressonância, contribuindo para uma maior estabilização do sistema, diminuindo a energia e possuindo um maior potencial para interações com outras moléculas.

Ainda em relação à adição de hidroxilas no anel B, como visto anteriormente, à medida que ocorre o aumento do número de hidroxilas na estrutura, há a diminuição do valor da energia do sistema conjugado (Tabela 19), como no caso da transformação do canferol em morina ou quercetina, diminuindo em até 1,46 kcal/mol se transformado em miricetina (Tabela A17). Por sua vez, a presença da hidroxila no carbono 3 do anel C também contribuiu para a diminuição da energia do

sistema, como no caso da transformação da luteolina em quercetina, que é de 4,65 kcal/mol. Esta contribuição isolada (primeira adição de hidroxilas) ocasionou uma maior estabilização ao sistema do que o aumento do número de hidroxilas no carbono 2' ou 3', mas, de maneira geral, o aumento do número de hidroxilas que mais estabilizou o sistema foi a transformação da luteolina em quercetina e, posteriormente, em miricetina, com a segunda adição de uma hidroxila no carbono 5' do anel B, diminuindo a energia do sistema em até 5,48 kcal/mol.

Para a quercetina e a morina, as quais possuem o mesmo número de hidroxilas, apresentando estruturas isômeras em orientação *orto* e *meta* no anel B, respectivamente, o valor da energia do sistema conjugado do anel aromático relativa à banda I apresentou-se o mesmo para as duas estruturas, não importando a disposição relativa no anel B para a contribuição do aumento da estabilização do sistema conjugado do anel aromático pelo efeito de ressonância. Este mesmo valor da energia do sistema conjugado, o qual está relacionado ao potencial de interação e à estabilização deste sistema pelo efeito de ressonância, apesar da diferença na orientação *orto* e *meta* no anel B, possivelmente seria explicado por estudos avançados de modelagem molecular como os cálculos semi-empíricos e/ou *ab initio*.

Já entre a fisetina e a luteolina, as quais também possuem o mesmo número de hidroxilas, a presença de uma hidroxila no carbono 3 do anel C da fisetina confere uma maior redução da energia do sistema em relação à luteolina (Tabela 38). O mesmo ocorre entre o canferol e a luteolina, os quais também possuem o mesmo número de hidroxilas, no qual a presença da hidroxila no carbono 3 novamente conferiu uma maior redução da energia do sistema para o canferol (Tabela 38). Estas comparações entre canferol, fisetina e luteolina confirmaram a tendência de estabilização do sistema também pela presença da hidroxila no carbono 3 do anel C, em relação aos flavonóides que não possuem este grupamento na sua estrutura.

Parece haver uma relação direta entre estabilidade do sistema conjugado do anel aromático e a reatividade, tanto para a atividade antioxidante quanto para o potencial de interação. Em alguns estudos em que a quercetina foi empregada como o flavonóide que possuía o maior número de grupos hidroxilas ligadas à estrutura básica, foi constatada uma maior atividade antioxidante frente a outros compostos hidroxilados, mas também por possuir o grupo catecol no anel B, conferindo alta

estabilidade ao radical formado, através do efeito de ressonância do sistema conjugado pela deslocalização eletrônica (CALABRÒ e col., 2004; SEYOUM e col., 2006).

De qualquer forma, em relação à diminuição do valor da energia do sistema conjugado do anel aromático, relativa à banda I dos flavonóides estudados, o fator que teve maior influência foi o aumento do número de hidroxilas presentes em cada uma destas estruturas, principalmente nos anéis B e C, seguido das posições/presenças das hidroxilas nestes anéis, respectivamente, corroborando com os resultados encontrados na REPI dos flavonóides com a CMCr para a intensidade de variação obtida nas análises da DSC.

5.5.3 Relação com o pKa dos flavonóides

Apesar das reações de interação entre os flavonóides e a CMCr, neste estudo, ocorrerem no estado sólido, foi avaliada uma possível correlação entre o pKa dos flavonóides, uma característica ligada a sistemas dispersos (soluções) em solventes apropriados, e sua provável influência sobre o potencial de dissociação do hidrogênio do grupo hidroxila, considerando que este valor representaria adequadamente a maior ou menor disponibilidade do átomo de hidrogênio e seus elétrons para interagirem com sítios favoráveis de outras moléculas. Deste modo, como hipótese de trabalho, questionou-se indiretamente se este valor indicaria a maior ou menor deslocalização eletrônica de ligações covalentes deste grupamento na molécula do flavonóide, influenciando, conseqüentemente, a sua disponibilidade para interações físicas. A Tabela 39 apresenta os valores de pKa relativos à primeira desprotonação do grupo hidroxila de cada um dos flavonóides estudados.

De uma forma geral, a estrutura química dos flavonóides, envolvendo a conjugação dos anéis aromáticos, a posição e o número de hidroxilas afetam o pKa (AGRAWAL e SCHNEIDER, 1983 *apud* HERRERO-MARTÍNEZ e col., 2005*; LEMANSKA e col., 2001 e 2004; HERRERO-MARTÍNEZ e col., 2005).

* AGRAWAL, P. K.; SCHNEIDER, H. J. Deprotonation Induced C-13 NMR Shifts in Phenols and Flavonoids. **Tetrahedron Letters**, n. 24, p. 177-180, 1983. *apud* HERRERO-MARTÍNEZ, J. M.; SANMARTIN, M.; ROSÉS, M.; BOSCH, E.; RAFÓLS, C. Determination of Dissociation Constants of Flavonoids by Capillary Electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 26, p. 1886–1895, 2005.

Tabela 39. Valores de pKa relativos à primeira desprotonação do grupo hidroxila de cada um dos flavonóides estudados

Flavonóides	pKa	Hidroxila
canferol	6,96 ^a	C ₇ anel A
fisetina	7,27 ^a	C ₇ anel A
luteolina	7,06 ^b	C _{4'} anel B
miricetina	7,73 ^c	C ₇ anel A ou C _{4'} anel B
morina	4,97 ^a	C ₇ anel A
quercetina	7,10 ^a	C ₇ anel A

^a Herrero-Martínez e col. (2005); ^bLemanska e col. (2004); ^cMartin e col. (2003)

De uma forma geral, a estrutura química dos flavonóides, envolvendo a conjugação dos anéis aromáticos, a posição e o número de hidroxilas afetam o pKa (AGRAWAL e SCHNEIDER, 1983 *apud* HERRERO-MARTÍNEZ e col., 2005*; LEMANSKA e col., 2001 e 2004; HERRERO-MARTÍNEZ e col., 2005).

Construiu-se um gráfico correlacionando os valores dos primeiros pKa de dissociação das hidroxilas em função da intensidade de variação (IV) entre a ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} (%), relativas ao pico de fusão dos flavonóides nas misturas equiponderais através da DSC, representando o potencial de interação dos flavonóides. Este gráfico não incluiu o pKa da miricetina, a qual, devido à forte interação, causou o desaparecimento do seu pico de fusão na mistura equiponderal com CMCr, não sendo possível calcular a intensidade de variação. Esperava-se assim, de acordo com a hipótese traçada, que o flavonóide com menor valor de pKa apresentasse a maior intensidade de interação, o que não foi constatado experimentalmente. Além disso, na análise dos resultados, o coeficiente da regressão linear (r^2) apresentou um valor de apenas 0,4229. Desta forma, não foi possível estabelecer uma correlação entre estas variáveis, não apresentando uma tendência de aumento ou diminuição do valor de pKa em relação ao aumento do potencial de interação dos flavonóides.

* AGRAWAL, P. K.; SCHNEIDER, H. J. Deprotonation Induced C-13 NMR Shifts in Phenols and Flavonoids. **Tetrahedron Letters**, n. 24, p. 177-180, 1983. *apud* HERRERO-MARTÍNEZ, J. M.; SANMARTIN, M.; ROSÉS, M.; BOSCH, E.; RAFÓLS, C. Determination of Dissociation Constants of Flavonoids by Capillary Electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 26, p. 1886–1895, 2005.

5.5.4 Relação com a energia de interação do sistema flavonóide-CMcr

Com o intuito de realizar uma avaliação preliminar da REPI, foram propostas dez formas de interação para o cálculo da energia de interação de cada combinação entre os flavonóides e a celulose microcristalina (Figura 55), na busca de uma conformação padrão mais estável para os flavonóides, através dos cálculos do campo de força MM2.

Para cada interação proposta flavonóide-CMcr, foi então calculada a energia de interação do sistema. A Tabela 21 apresenta os valores da menor energia de interação em cada combinação flavonóide-CMcr e a Figura 56 ilustra estas interações de menor energia em estrutura tridimensional.

Com relação à Tabela 40, observa-se que os valores da energia de interação para a miricetina, luteolina e canferol foram negativos, ou seja, o processo é exotérmico, indicando favorecimento entálpico. Já para a morina, quercetina e fisetina, os valores da energia de interação foram positivos, ou seja, o processo é endotérmico, indicando desfavorecimento entálpico. Da mesma forma, Sadeghipour e colaboradores (2005) calcularam o calor de formação do radical formado pelos flavonóides quando ocorre o mecanismo de reparo do radical formado pela tirosina. Os autores concluíram que, quando o calor de formação mostrou-se exotérmico, os flavonóides foram capazes de reparar o radical tirosila e, quando mostrou-se endotérmico, o radical do flavonóide permaneceu sem efeito de inibição e com favorecimento termodinâmico da reação inversa.

Tabela 40. Menor energia de interação calculada para cada combinação dos flavonóides e a CMCr e respectiva interação proposta (Figura 55), em ordem decrescente de potencial de interação

Flavonóides	Energia de Interação (kcal/mol)	Interação proposta*
miricetina	-7,892	8
morina	7,283	8
quercetina	2,779	1
fisetina	5,538	1
luteolina	-15,297	9
canferol	-2,578	6

* ver Figura 55

Uma explicação para os valores da energia de interação para a morina, quercetina e fisetina terem sido positivos foi o fato de que as dez interações propostas para cada combinação flavonóide-CMCr foram estabelecidas manualmente e, assim, não foram esgotadas todas as possibilidades de ligação do flavonóide à CMCr. Provavelmente as conformações mais estáveis para a morina, quercetina e fisetina sejam determinadas através de uma avaliação mais aprofundada das propriedades eletrônicas, estéricas e hidrofóbicas dos flavonóides, através de cálculos semi-empíricos, *ab initio* ou ainda pela metodologia de *docking*, onde o programa computacional propõe inúmeras conformações até que possa ser alcançada a conformação preferencial para o ligante, de acordo com o receptor. Apesar dos valores da energia de interação para a miricetina, luteolina e canferol terem sido negativos, ainda é possível que sejam encontradas as conformações mais estáveis também para estes flavonóides, como citado acima, através de metodologias mais avançadas de modelagem molecular.

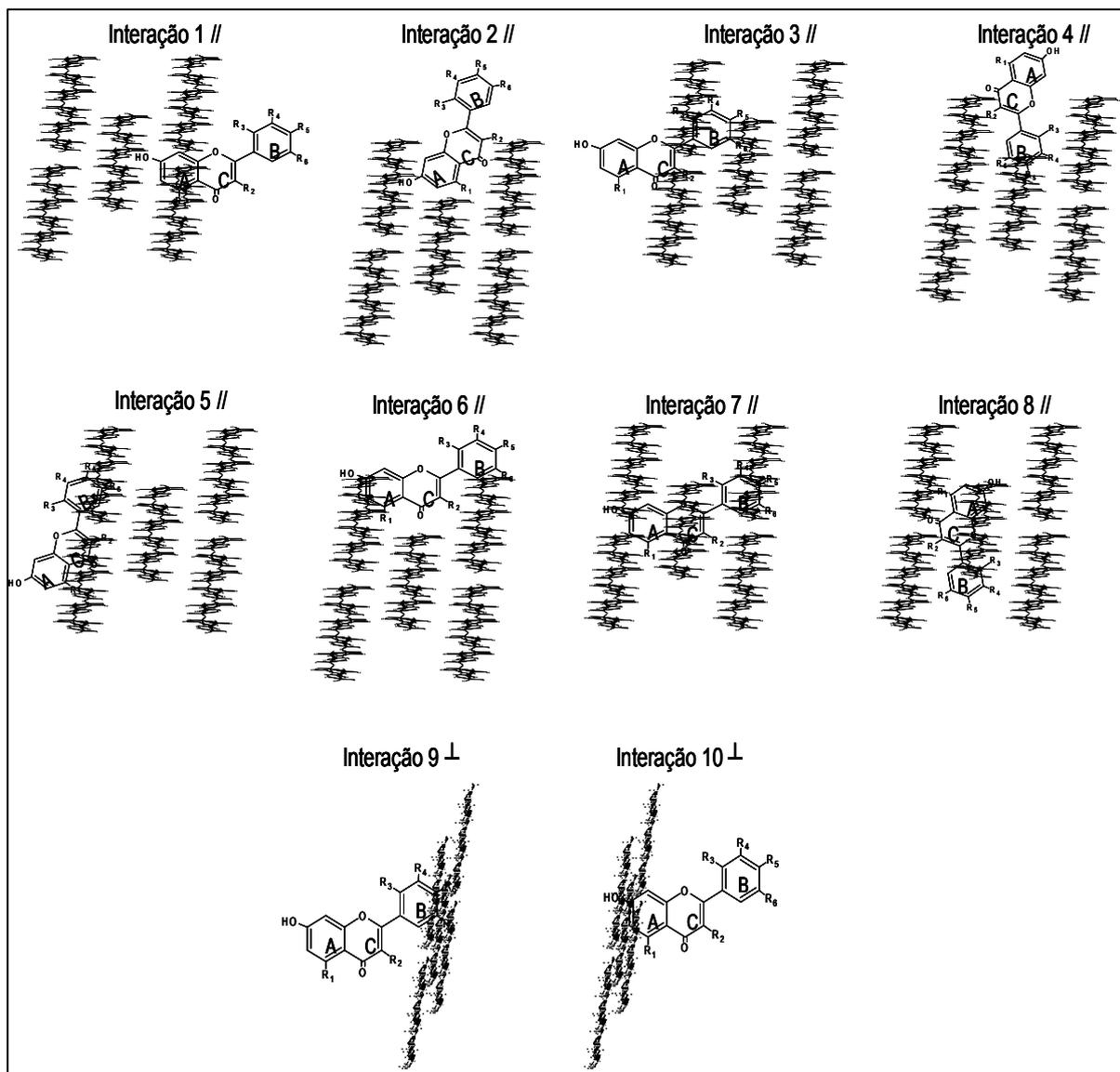


Figura 55. Interações propostas para o cálculo da energia de interação entre cada flavonóide e a celulose microcristalina (1-8: estruturas em paralelo; 9 e 10: estruturas em perpendicular)

Quando os valores das menores energias de interação em cada combinação flavonóide-CMCr são comparados, apesar das estruturas dos flavonóides estudados serem semelhantes, observa-se que os valores não são próximos, demonstrando que cada sistema, independente das suas estruturas moleculares, busca a conformação mais estável de energia. Várias relações entre a estrutura e a atividade demonstram que compostos quimicamente similares podem ter atividades e ações biológicas muito diferentes. A similaridade e a diversidade das moléculas

não podem ser determinadas de forma objetiva e dependem da sua estrutura tridimensional e das propriedades do sítio de ligação do receptor (KUBINYI, 2002).

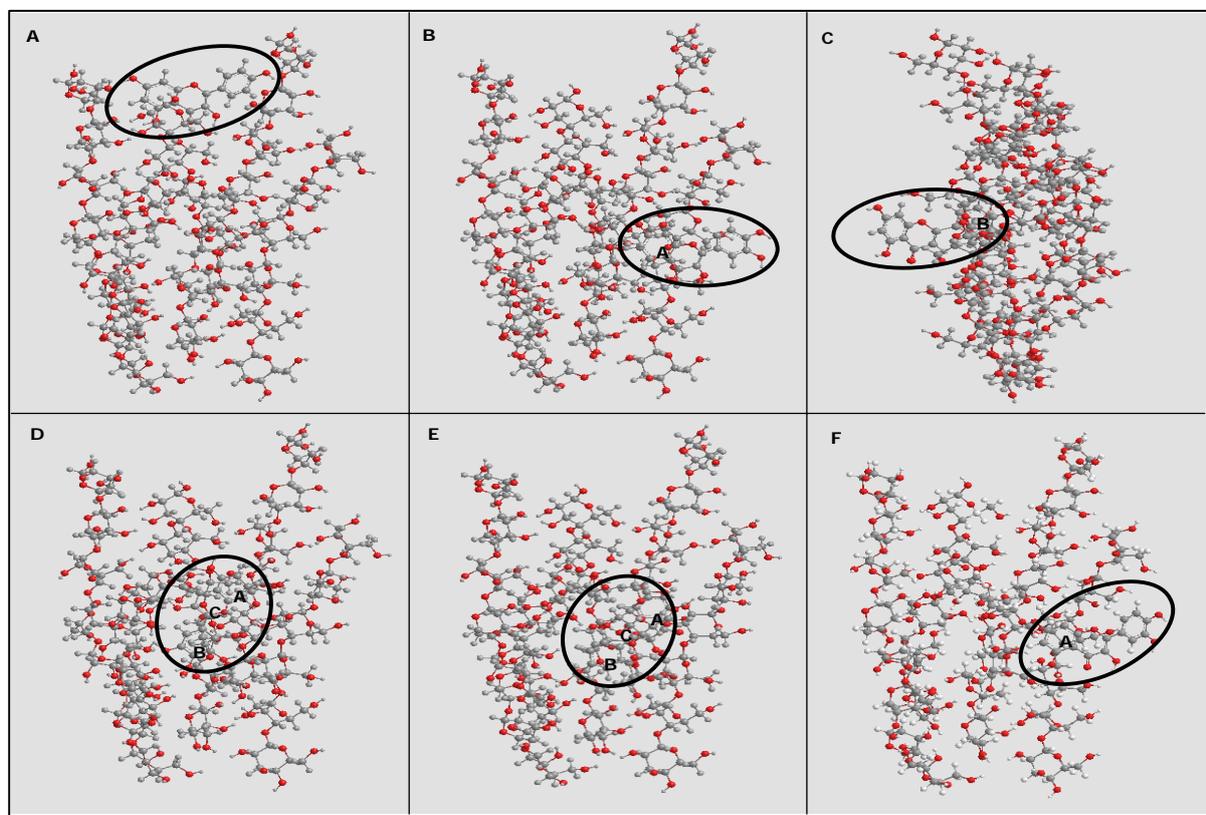


Figura 56. Interações de menor energia minimizada para cada combinação dos flavonóides com a celulose microcristalina: A- canferol (6); B- fisetina (1); C- luteolina (9); D- miricetina (8); E- morina (8); F- quercetina (1)

Na tentativa de avaliar a energia de interação das combinações flavonóides-CMCr, foi construído um gráfico de correlação entre os valores encontrados para as menores energias de interação de cada combinação flavonóide-CMCr (kcal/mol) (y) e a intensidade de variação entre a ΔH_{obs} e a ΔH_{esp} (%) (x), relativas ao pico de fusão dos flavonóides nas misturas equponderais, representando o potencial de interação dos flavonóides. Este gráfico não incluiu a menor energia de interação da combinação miricetina-CMCr, devido ao desaparecimento do pico de fusão da miricetina na mistura equponderal com CMCr, não sendo possível calcular a intensidade de variação. Porém, na análise dos resultados, o coeficiente da regressão linear (r^2) apresentou um valor de apenas 0,4316. Novamente, não foi possível estabelecer uma correlação entre estas variáveis e, assim, não

apresentando uma tendência de aumento ou diminuição da energia de interação do sistema em relação ao aumento do potencial de interação dos flavonóides.

Neste estudo, a CMCr comportou-se como receptor e os flavonóides como ligantes, na tentativa de explicar um modelo de interação ligante-receptor em nível molecular (MARDER e col., 2001). Desta forma, os cálculos de MM2 para a energia de interação do sistema flavonóide-CMCr, considerando as dez interações propostas, demonstraram que a CMCr determinou a melhor orientação do flavonóide para obter a conformação de menor energia, não sendo possível estabelecer um padrão de conformação mais estável de interação para estes flavonóides.

6 CONCLUSÕES

Os flavonóides empregados neste estudo, por possuírem hidroxilas em suas estruturas, são capazes de estabelecer ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e, desta forma, interagir com a celulose microcristalina.

Estas interações foram detectadas através da análise de suas misturas 1:1 e 1:2, em estado sólido, por calorimetria exploratória diferencial e estes resultados complementados por dados de termogravimetria.

Os flavonóides foram analisados quanto à intensidade de variação entre a H_{obs} e a H_{esp} , relativas à fusão dos flavonóides nas misturas binárias, apresentando a seguinte ordem decrescente nas misturas 1:1: miricetina, morina, quercetina, fisetina, luteolina e canferol.

Os resultados obtidos pela espectroscopia de infravermelho para as misturas binárias, quando possível de identificação, confirmaram a existência de interação por formação de ligações de hidrogênio entre os flavonóides e a celulose microcristalina, verificadas através da diminuição da intensidade e da modificação do formato das bandas da celulose microcristalina referentes às deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares ($\sim 3360\text{ cm}^{-1}$), às deformações axiais da ligação C-H ($\sim 2900\text{ cm}^{-1}$) e às ligações de hidrogênio de aldoses ($\sim 1650\text{ cm}^{-1}$) que, em alguns casos, desapareceram do espectro de infravermelho, além das bandas características dos flavonóides referentes à carbonila ($\sim 1750\text{ cm}^{-1}$) e à fenila ($\sim 1600\text{ cm}^{-1}$) terem sido deslocadas em relação ao esperado. Entretanto, alguns espectros das misturas binárias apresentaram sobreposição das bandas em certas regiões, o que dificultou a visualização de possíveis interações.

A relação estrutura-propriedade de interação referente ao número de hidroxilas existentes na estrutura dos flavonóides mostrou-se proporcional ao potencial de interação com a celulose microcristalina. Para os flavonóides estudados que possuem estruturas isômeras, a ordem de importância do padrão de hidroxilação dos anéis para o potencial de interação com a celulose microcristalina foi B>C>A.

A avaliação da energia do sistema conjugado relativa à banda I dos flavonóides mostrou que a introdução de grupos doadores de elétrons, como as hidroxilas no anel B, aumenta o potencial para interações com outras moléculas. O

fator que teve maior influência foi o aumento do número de hidroxilas presentes em cada uma destas estruturas, principalmente nos anéis B e C, seguido das posições das hidroxilas nestes anéis.

Na avaliação do pKa em relação à intensidade de variação dos flavonóides, não foi possível estabelecer uma correlação entre estas variáveis, não apresentando uma tendência de aumento ou diminuição do valor de pKa em relação ao aumento do potencial de interação dos flavonóides.

Os cálculos de MM2 para a energia de interação do sistema flavonóide-celulose microcristalina, considerando as dez interações propostas, demonstraram que a celulose microcristalina determinou a melhor orientação do flavonóide para obter a conformação de menor energia, não sendo possível estabelecer um padrão de conformação mais estável de interação para estes flavonóides.

AGULLO, G.; GARNET-PAYRASTRE, L.; FERNANDEZ, Y.; ANCIAUX, N.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Comparative Effects of Flavonoids on the Growth, Viability and Metabolism of a Colonic Adenocarcinoma Cell Line (HT29 Cells). **Cancer Letters**, v. 105, p.61-70, 1996.

AHMED-BELKACEM, A.; POZZA, A.; MUÑOZ-MARTÍNEZ, F.; BATES, S.E.; CASTANYS, S.; GAMARRO, F.; DI PIETRO, A.; PÉREZ-VICTORIA, J. M. Flavonoid Structure-Activity Studies Identify 6-Prenylchrysin and Tectochrysin as Potent and Specific Inhibitors of Breast Cancer Resistance Protein ABCG2. **Cancer Research**, v. 65, p. 4852-4860, 2005.

ANDO, H. Y.; RADEBAUGH, G. W. Preformulation. In: GENNARO, A. R. (Ed.) **Remington: The Science and Practice of Pharmacy**. 20 ed. Philadelphia: University of the Science, 2000. p. 700-720.

AREIAS, F. M.; REGO, A. C.; OLIVEIRA, C. R.; SEABRA, R. M. Antioxidant Effect of Flavonoids after Ascorbate/Fe²⁺-induced Oxidative Stress in Cultured Retinal Cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 62, p. 111–118, 2001.

ARIAS, T. D. **Glosario de Medicamentos: Desarrollo, Evaluación y Uso**. Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud, 1999.

ARMIJO, C. J. V. **Aplicação de métodos termo-analíticos e espectroscópicos na avaliação do comportamento do fármaco isoniazida frente a adjuvantes**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

AUER, M. E.; GRIESSER, U. J.; SAWATSKI, J. Qualitative and Quantitative Study of Polymorphic Forms in Drug Formulations by Near Infrared FT-Raman Spectroscopy. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 661-662, p.307-317, 2003.

BERGESE, P.; BOMTEMPI, E.; COLOMBO, I.; GERVASONI, D.; DEPERO, L. E. Microstructural Investigation of Nimesulide-crospovidone Composites by X-ray Diffraction and Thermal Analysis. **Composites Science and Technology**, n. 63, p. 1197-1201, 2003.

BORGHETTI, G. S.; COSTA, I. M.; PETROVICK, P. R.; PEREIRA, V. P.; BASSANI, V. L. Characterization of Different Samples of Quercetin in Solid-state: Indication of Polymorphism Occurrence. **Pharmazie**, v. 61, n. 9, p. 802-804, 2006.

BORS, W.; MICHEL, C.; SCHIKORA, S. Interaction of Flavonoids with Ascorbate and Determination of their Univalent Redox Potentials: A Pulse Radiolysis Study. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 19, n. 1, p. 45–52, 1995.

BOTHA, S. A.; LÖTTER, A. P. Compatibility Study between Naproxen and Tablet Excipients Using Differential Scanning Calorimetry. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 4, n. 16, p. 673-683, 1990.

BROWN, M. E. **Introduction to Thermal Analysis**. Techniques and Applications. London: Chapman and Hall, 1988.

BRUNI, G.; AMICI, L.; BERVENNI, V.; MARINI, A.; ORLANDI, A. Drug-excipient Compatibility Studies -Search of Interaction Indicators. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 561-573, 2002.

BUCKINGHAM, J. (Ed.) **Dictionary of Organic Compounds**. 5th ed. London: Chapman and Hall, 1983. 1st Supplement, v. 1.

BUDAVARI, S. (Ed.) **The Merck Index**. 12th White House Station: Merck, 1996.

BUTKOVIC, V.; KLASINC L.; BORS, W. Kinetic Study of Flavonoid Reactions with Stable Radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2816-2820, 2004.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, n. 74, p. 2157-2184, 2004.

CALABRÒ, M. L.; TOMMASINI, S.; DONATO, P.; RANERI, D.; STANCANELLI, R.; FICARRA, P.; FICARRA, R.; COSTA, C.; CATANIA, S.; RUSTICHELLI, C.; GAMBERINI, G. Effects of α - and β -cyclodextrin Complexation on the Physico-chemical Properties and Antioxidant Activity of Some 3-hydroxyflavones. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p. 365-377, 2004.

CANOTILHO, J.; SOUSA, A. T. B.; PINTO, J. A. M. C. Análise Térmica. Interesse em Tecnologia Farmacêutica. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v. 42, n. 4, p. 5-12, 1992.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997.

CARSTENSEN, J. T.; KOTHARI, R. C. Solid-State Decomposition of Alkoxyfuroic Acids in the Presence of Microcrystalline Cellulose. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 10, p. 1149-1154, 1983.

CARVALHO, E. L. S. **Desenvolvimento de produto seco nebulizado de maytenus ilicifolia martius ex reiss-celastraceae (espinheira-santa)**. 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução à Modelagem Molecular de Fármacos no Curso Experimental de Química Farmacêutica. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 428-438, 2003.

CHANG, L. C.; KINGHORN, A. D. Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents. In: TRINGALI, C. (Ed.) **Bioactive Compounds from Natural Sources**. London: Taylor & Francis, 2001.

CHÁVEZ, J. H.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J.; BARARDI, C. R. M.; PINTO, A. R.; SIMÕES, C. M. O.; ZANETTI, C. R. Evaluation of antiviral activity of phenolic compounds and derivatives against rabies virus. **Veterinary Microbiology**, v. 116, p. 53-59, 2006.

CLAS, S. D.; DALTON, C. D.; HANCOCK, B. C. Differential Scanning Calorimetry: Applications in Drug Development. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 2, n. 8, p. 311-319, 1999.

COSTA, E. M.; BARBOSA FILHO, J. M.; GOMES do NASCIMENTO, T.; MACÊDO, R. O. Thermal Characterization of the Quercetin and Rutin Flavonoids. **Termochimica Acta**, v. 392-393, p. 79-84, 2002.

COSTA, I. M. **Estudo de pré-formulação com o composto polifenólico quercetina**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

COTTON, M. L.; WU, D. W.; VADAS, E. B. Drug-exciipient Interaction Study of Enalapril Maleate Using Thermal Analysis and Scanning Electron Microscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 40, p. 129-142, 1987.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 26, p. 343–356, 2005.

DA SILVA, S.L.; SILVA, A.; HONÓRIO, K.M.; MARANGONI, S.; TOYAMA, M. H.; DA SILVA, A. B. F. The Influence of Electronic, Steric and Hydrophobic Properties of Flavonoid Compounds in the Inhibition of the Xanthine Oxidase. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 684, p.1–7, 2004.

DA SILVA, T. H. A. **Prática III.3. Modelagem Molecular com o Auxílio do Computador**. 2006. Disponível em <http://www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-III-3.pdf>. Acesso em 29.10.2007.

DE SANT'ANNA, C. M. R.; DE ALENCASTRO, R. B.; BARREIRO, E. J. Toward a Platelet-activating Pseudoreceptor: Semiempirical Modeling of Cation- π and Hydrogen Bond Interactions in Agonist Binding. **Journal of Molecular Structure**, v. 429, p. 217-227, 1998.

DODD, J. W.; TONGE, K. H. **Thermal Methods**. Chichester: John Wiley & Sons, 1987.

DREBUSHCHAK, V. A.; SHAKHTSHNEIDER, T. P.; APENINA, S. A.; DREBUSHCHAK, T. N.; MEDVEDEVA, A. S.; SAFRONOVA, L. P.; BOLDYREV, V. V. Thermoanalytical Investigation of Drug-Exciipient Interaction. Part I. Piroxicam, Cellulose and Chitosan as Starting Materials. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, n. 3, p.643-649, 2006.

EICHHORN, S. J.; DAVIES, G. R. Modelling the Crystalline Deformation of Native and Regenerated Cellulose. **Cellulose**, v. 13, p. 291–307, 2006.

EL-SAKHAWY, M.; HASSAN, M. L. Physical and Mechanical Properties of Microcrystalline Cellulose Prepared from Agricultural Residues. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p.1-10, 2007.

ERKOÇ, S.; ERKOÇ, F.; KESKIN, N. Theoretical Investigation of Quercetin and Its Radical Isomers. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 631, p.141-146, 2003.

ESTRADA, E.; GONZALEZ, H. What are the Limits of Applicability for Graph Theoretic Descriptors in QSPR/QSAR? Modeling Dipole Moments of Aromatic Compounds with TOPS-MODE Descriptors. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences** v.43, p. 75-84, 2003.

EUROPEAN Pharmacopoeia. 4 ed. Strasbourg: Council of Europe, 2002.

FELTRE, R.; YOSHINAGA, S. Termoquímica. In: FELTRE, R.; YOSHINAGA, S. Físico-Química: Teoria e Exercícios. São Paulo: Ed Moderna, 1974. v. 3. 418p.

FIGEISE, E. F.; HAGEN, T. A. Pré-formulação. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, A. L.; KANG, J. L. (ed.) **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Calouste Gulbekian, 2001. v. 1. p. 295-339.

FIRUZI, O.; LACANNA, A.; PETRUCCI, R.; MARROSU, G.; SASO, L. Evaluation of the Antioxidant Activity of Flavonoids by "Ferric Reducing Antioxidant Power" Assay and Cyclic Voltammetry. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 72, p. 174-184, 2005.

FLORENCE, A.T.; ATWOOD, D. **Physicochemical Principles of Pharmacy**. 3. ed. Bristol, London: Macmillan. 1998.

FORD, J. L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical Thermal Analysis**. Techniques and Applications. Chichester: Ellis Horwood, 1989.

GIRON, D. Thermal Analysis and Calorimetric Methods in the Characterization of Polymorphs and Solvates. **Termochimica Acta**, v. 248, p. 1-59, 1995.

GIRON, D. Contribution of Thermal Methods and Related Techniques to the Rational Development of Pharmaceuticals. Part 1. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 6, p. 191-199, 1998a.

GIRON, D. Contribution of Thermal Methods and Related Techniques to the Rational Development of Pharmaceuticals. Part 2. **Pharmaceutical Science and Technology today**, v. 1, n. 6, p. 262-268, 1998b.

GIRON, D.; MUTZ, M.; GARNIER, S. Applications of Thermal Analysis and Coupled Techniques in Pharmaceutical Industry. **Journal of Thermal Analysis and calorimetry**, v. 68, p.335-357, 2002.

GIRON, D.; MUTZ, M.; GARNIER, S. Solid-state of Pharmaceutical Compounds – Impact of the ICH Q6 Guideline on Industrial Development. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 77, p. 709-747, 2004.

GOTTLIEB, O. R. Flavonols. In: HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. (Ed.) **The Flavonoids**. New York: Academic, 1975. v. 1, p. 296-375.

HAINES, P. J. **Thermal Methods of Analysis**. Principles, Applications and Problems. London: Chapman & Hall, 1995.

HAIYUN, D.; JIANBIN, C.; GUOMEI, Z.; SHAOMIN, S.; JINHAO, P. Preparation and Spectral Investigation on Inclusion Complex of β -cyclodextrin with Rutin. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 59, p. 3421-3429, 2003.

HALLWACHS, R. **Untersuchungen zur Bedeutung von Rotweininhaltsstoffen bei der Regulation intrazellulärer Signalwege in humanen Endothelzellen *in vitro***. 2005. Tese (Doutorado em Medicina) - Ludwig-Maximilians-Universität München, 2005. Disponível em <http://edoc.ub.uni-muenchen.de/archive/00004257/01/Hallwachs_Roland.pdf>. Acesso em 09.08.2006.

HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. **Thermal Analysis and Applications to Polymer Science**. 2 ed. Chichester: Wiley, 1999.

HEIJNEN, C. G. M.; HAENEN, G. R. M. M.; VAN ACKER, F. A. A.; VAN DER VIJGH, W. J. F.; BAST, A. Flavonoids as Peroxynitrite scavengers: The Role of the Hydroxyls Groups. **Toxicology in Vitro**, v. 15, p. 3–6, 2001.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572–584, 2002.

HERRERO-MARTÍNEZ, J. M.; SANMARTIN, M.; ROSÉS, M.; BOSCH, E.; RAFÓLS, C. Determination of Dissociation Constants of Flavonoids by Capillary Electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 26, p. 1886–1895, 2005.

HOEPFNER, E. M.; RENG, A.; SCHMIDT, P. C. (Ed.) **Fiedler Encyclopedia of Excipients**. 5 ed. Aulendorf: Cantor, 2002. 2 v.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. **Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica**. Disponível em <www.abratec.com.br>. Acesso em 23.10.2005.

JOSHI, B. V.; PATIL, V. B.; POKHARKAR, V. B. Compatibility Studies Between Carbamazepine and Tablet Excipients Using Thermal and Non-thermal Methods. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 687-694, 2002.

JOVANOVIC, S. V.; STEENKEN, S.; TOSIC, M.; MARJANOVIC, B.; SIMICG, M. G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, p. 4846-4851, 1994.

JURD, L. Spectral Properties of Flavonoids. In: GEISSMANN, T. A. (Ed.) **The Chemistry of Flavonoid Compounds**. New York: The Macmillan Company, 1962, p. 107-155.

KAHRS, K. H. B. **A Espectroscopia em Ultra-violeta**. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1974. 113 p.

KANEKO, T.; BABA, N.; MATSUO, M. Structure-activity Relationship of Antioxidants for Inhibitors of Linoleic Acid Hydroperoxide-induced Toxicity in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells. **Cytotechnology**, v. 35, p. 43–55, 2001.

KIBBE, A. H. (Ed.) **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 3 ed. Washington: American Pharmaceutical Association, 2000.

KIM, J-D.; LIU, L.; GUO, W.; MEYDANI, M. Chemical Structure of Flavonols in Relation to Modulation of Angiogenesis and Immune-endothelial Cell Adhesion. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 17, p. 165–176, 2006.

KLEIN, C.; HURLBUT, C. S. **Manual of Mineralogy**. 20th ed., New York: John Wiley and Sons, 1985. 681p.

KLEINEBUDDE, P.; JUMAA, M.; EL SALEH, F. Influence of Degree of Polymerization on Behavior of Cellulose During Homogenization and Extrusion/Spheronization. **American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS)**, v. 2, n. 2, article 21, 2000.

KOPELMAN, S. H.; AUGSBURGER, L. L. Excipient Compatibility Study of *Hypericum perforatum* Extract (St. John's Wort) using Similarity Metrics to Track Phytochemical Profile Changes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 237, p. 35-46, 2002.

KUBINYI, H. Chemical Similarity and Biological Activities. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 6, p. 717-726, 2002.

LEE, S.; SEO, D-H.; PARK, H-L.; CHOI, Y.; JUNG, S. Solubility enhancement of a hydrophobic flavonoid, luteolin by the complexation with cyclosophoraoses isolated from *Rhizobium meliloti*. **Antonie van Leeuwenhoek**, n. 84, p. 201–207, 2003.

LEMANSKA, K.; SZYMUSIAK, H.; TYRAKOWSKA, B. ZIELINSKI, R.; SOFFERS, A. E. M. F.; RIETJENS, I. M. C. M. The Influence of pH on Antioxidant Properties and the Mechanism of Antioxidant Action of Hydroxyflavones. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n. 7, p. 869–881, 2001.

LEMANSKA, K.; VAN DER WOUDE, H.; SZYMUSIAK, H.; BOERSMA, M. G.; GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; RIETJENS, I. M. C. M.; TYRAKOWSKA, B. The Effect of Catechol O-methylation on Radical Scavenging Characteristics of Quercetin and Luteolin – A Mechanistic Insight. **Free Radical Research**, v. 38, n. 6, p. 639–647, 2004.

LEVIS, S. R.; DEASY, P. B. Production and Evaluation of Size Reduced Grades of Microcrystalline Cellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 213, p. 13–24, 2001.

LIANG, Y.-C.; HUANG, Y.-T.; TSAI, S.-H.; LIN-SHIAU, S.-Y.; CHEN, C.-F.; LIN, J.-K. Suppression of inducible cyclooxygenase and inducible nitric oxide synthase by apigenin and related flavonoids in mouse macrophages. **Carcinogenesis**, v. 20, n. 10, p. 1945-1952, 1999.

LIN, C.-M.; CHEN, C.-S.; CHEN, C.-T.; LIANG, Y.-C.; LIN, J.-K. Molecular Modeling of Flavonoids that Inhibits Xanthine Oxidase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 294, p. 167–172, 2002.

LONGHINI, R. **Avaliação do comportamento do ácido gálico frente a adjuvantes empregados em formas farmacêuticas sólidas**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LUNER, P. E.; KIRSCH, L. E.; MAJURU, S.; OH, E.; JOSHI, A. B.; WURSTER, D. E.; REDMON, M. P. Preformulation Studies on the S-Isomer of Oxybutynin Hydrochloride, an Improved Chemical Entity (ICE™). **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 321-329, 2001.

MABRY, T. J.; MARKHAN, K. R.; THOMAS, M. B. **The Systematic Identification of Flavonoids**. New York: Springer, 1970.

MARDER, M.; ESTIÚ, G.; BLANCH, L. B.; VIOLA, H.; WASOWSKI, C.; MEDINA, J. H.; PALADINI, A. C. Molecular Modeling and QSAR Analysis of the Interaction of Flavone Derivatives with the Benzodiazepine Binding Site of the GABA_A Receptor Complex. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 323-335, 2001.

MARKHAN, K. R.; MABRY, T. J. Ultraviolet-visible and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids. In: HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. (Ed.) **The Flavonoids**. New York: Academic, 1975. v. 1, p. 45-77.

MARTENS, S.; MITHÖFER, A. Molecules of Interest: Flavones and Flavone Synthases. **Phytochemistry**, v.66, p. 2399–2407, 2005.

MARTIN, H.-J.; KORNMANN, F.; FUHRMANN, G. F. The Inhibitory Effects of Flavonoids and Antiestrogens on the Glut1 Glucose Transporter in Human Erythrocytes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 146, p. 225–235, 2003.

MATSUO, K.; GEKKO, K. Vacuum-ultraviolet Circular Dichroism Study of Saccharides by Synchrotron Radiation Spectrophotometry. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 591–597, 2004.

- MAURIN, J. K.; PLUCINSKI, F.; MAZUREK, A. P.; FIJAŁEK, Z. The Usefulness of Simple X-Ray Powder Diffraction Analysis for Counterfeit Control—The Viagra[®] Example. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 43, p. 1514–1518, 2007.
- MIDDLETON JR., E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p. 673–751, 2000.
- MILLER, T. A.; YORK, P. Physical and Chemical Characteristics of some High Purity Magnesium Stearate and Palmitate Powders. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 23, p. 55–67, 1985.
- MONDAL, S.; MUKHERJEE, M.; PAUL, T.; MUKHERJEE, D. Synthesis, Spectroscopic and Crystallographic Studies of (1RS,2SR)-1-(2-carboxy-4-methyl-5-methoxyphenyl)-1,2-dimethyl-cyclopentane-2-carboxylic Acid: Supramolecular Framework Built from O—H \cdots O and C—H \cdots O Hydrogen Bonds. **Zeitschrift für Kristallographie**, v. 219, p. 456-460, 2004.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. 5 ed. New York: John Wiley, 2001.
- MURA, P.; FAUCCI, M. T.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L. Compatibility Study between Ibuprofen and Pharmaceutical Excipients Using Differential Scanning Calorimetry, Hot-stage Microscopy and Scanning Electron Microscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, p. 151-163, 1998.
- NAKANISHI, K.; SOLOMON, P. M. **Infrared Absorption Spectroscopy**. 2 ed. San Francisco: Holden Day, 1977.
- NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. **Fundamentos de Físico-química: Uma Abordagem Conceitual para as Ciências Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 39-79.
- NIKOLAKAKIS, I.; TSARVOULI, K.; MALAMATARIS, S. Water Retention and Drainage in Different Brands of Microcrystalline Cellulose: Effect of Measuring Conditions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n. 63, p. 278–287, 2006.
- NYSTRÖM, C.; KAREHILL, P. G. The Importance of Intermolecular Bonding Forces and the Concept of Bonding Surface Area. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996.
- OCHOA, M. D. V.; ALEGRE, M. E. G.; DURAN, J. T. Preformulation. In: VILA JATO, J. L. (Ed.) **Tecnologia Farmacêutica**. Madrid: Sinthesis, 2001. v. 1. p. 27-73.
- PETROVICK, P. R. **Tecnologia farmacêutica IF – 2006/2**. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/farmacia/disciplinas/far02011n/arquivos/CAPÍTULO%201%20parte%202%202006-2.pdf>>. Acesso em 10.08.2006.
- PICKER, K. M.; HOAG, S. W. Characterization of the Thermal Properties of Microcrystalline Cellulose by Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 2, p. 342-349, 2002.
- PIFFERI, G.; SANTORO, P.; PEDRANI, M. Quality and Functionality of Excipients. **II Farmaco**, v. 54, p. 1-14, 1999.

PIZZI, A.; MEIKLEHAM, N.; STEPHANOU, A. Induced accelerated autocondensation of polyflavonoid tannins for phenolic polycondensates. II. Cellulose effect and application. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 55, p. 929-933, 1995.

POLYDORO, M.; SOUZA, K. B.; ANDRADES, M. E.; SILVA, E. G.; BONATTO, F.; HEYDRICH, J.; PIZZOL, F. D.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant, pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline satureioides* extracts. **Life Sciences**, v. 74, p. 2815-2826, 2004.

POSE-VILARNOVO, B.; PERDOMO-LOPEZ, I.; ECHEZARRETA-LOPEZ, M.; SCHROTH-PARDO, P.; ESTRADA, E.; TORRES-LABANDEIRA, J. J. Improvement of Water Solubility of Sulfamethizole through Its Complexation with β - and Hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Characterization of the Interaction in Solution and in Solid State. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 13, p. 325-331, 2001.

POUCHERT, C. J. **The Aldrich Library of NMR Spectra**. 2 ed. Wisconsin: Aldrich Chemical, 1983.

PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of Freeze-dried Quercetin-cyclodextrin Binary Systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM Analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 34, p. 333-339, 2004.

PUCÉAT, E.; REYNARD, B.; LÉCUYER, C. Can Crystallinity Be Used to Determine the Degree of Chemical Alteration of Biogenic Apatites? **Chemical Geology**, v. 205, p. 83– 97, 2004.

RAO, V. S. R.; QASBA, P. K.; BALAJI, P. V.; CHANDRASEKARAN, R. **Conformation of Carbohydrates**. Singapore: Hardwood Dradenic Publishers, 1998.

RAWEL, H. M.; CZAJKA, D.; ROHN, S.; KROLL, J. Interactions of Different Phenolic Acids and Flavonoids with Soy Proteins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 30, p. 137-150, 2002.

RESEARCH Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) **An Information Portal to Biological Macromolecular Structures**. Disponível em <<http://www.rcsb.org/pdb/smartSubquery.do?smartSearchSubtype=TreeQuery&t=6&n=4883>>. Acesso em 05.07.2006.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. Analytical Separation and Detection Methods for Flavonoids. **Journal of Chromatography A**, n. 1112, p. 31–63, 2006.

ROBERTS, C. J.; BOND, L.; ALLEN, S.; DAVIES, M. C.; SHIVJI, A. P.; TENDLER, S. J. B.; WILLIAMS, P. M.; ZHANG, J. Differential Scanning Calorimetry and Scanning Thermal Microscopy Analysis of Pharmaceutical Materials. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 243, p. 71-82, 2002.

ROBINSON, J. W. Thermal Analysis. In: ROBINSON, J. W. (Ed.) **Undergraduate Instrumental Analysis**. 5 ed. New York: Marcel Dekker, 1995.

RÜCKER, G.; NEUGEBAUER, M.; WILLEMS, G. G. **Instrumentelle Pharmazeutische Analytik**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1998.

RUSAK, G.; GUTZEIT, H. O.; MULLER, J. L. Structurally Related Flavonoids with Antioxidative Properties Differentially Affect Cell Cycle Progression and Apoptosis of Human Acute Leukemia Cells. **Nutrition Research**, v. 25, p. 141–153, 2005.

SADEGHIPOUR, M.; TERREUX, R.; PHIPPS, J. Flavonoids and Tyrosine Nitration: Structure-activity Relationship Correlation with Enthalpy of Formation. **Toxicology in Vitro**, v. 19, p. 155–165, 2005.

SADIK, C. D.; SIES, H.; SCHEWE, T. Inhibition of 15-lipoxygenases by Flavonoids: Structure-activity Relations and Mode of Action. **Biochemical Pharmacology**, n. 65, p. 773-781, 2003.

SALEKI-GERHARDT, A.; AHLNECK, C.; ZOGRAFI, G. Assessment of Disorder in Crystalline Solids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 101, p. 237-247, 1994.

SCHEWE, T.; KUHN, H.; SIES, H. Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase. **Journal of Nutrition**, v. 132, p.1825-1829, 2002.

SEYOUM, A ; ASRES, K.; EL-FIKY, F. K. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2058–2070, 2006.

SHLIEOUT, G.; ARNOLD, K.; MÜLLER, G. Powder and Mechanical Properties of Microcrystalline Cellulose With Different Degrees of Polymerization. **American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS)**, v. 3, n. 2, article 11, 2002.

SINGHAL, R.; NAGPAL, A. K.; MATHUR, G. N. Study of Ethyl Cellulose-Benzoic Acid Interactions in Matrices for Controlled Drug Release by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 58, p. 29-38, 1999.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação Espectroscópica dos Compostos Orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, n. 3, p. 281-293, 1988.

SONAGLIO, D.; BATAILLE, B.; TEROL, A.; JACOB, M.; PAUVERT, B.; CASSANAS, G. Physical Characterization of Two Microcrystalline Cellulose and Feasibility of Microspheres by Extrusion/Spheronization. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.21, n.5: p. 537-547, 1995.

SOBRATTEE, M.A.; NEERGHEEN, V.S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O.I.; BAHORUN, T. Phenolics as Potential Antioxidant Therapeutic Agents: Mechanism and Actions. **Mutation Research**, v. 579, p. 200–213, 2005.

SOUZA Jr., J.; SANTOS, R. H. de A.; FERREIRA; M. M. C.; MOLFETTA, F. A.; CAMARGO, A. J.; HONÓRIO, K. M.; SILVA; A. B. F. da A quantum chemical and statistical study of flavonoid compounds (flavones) with anti-HIV activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, p. 929-938, 2003.

TANG, J.; WANG, W.; LUAN, F.; CHEN, X. Binding of the Bioactive Compound 5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxyflavone to Human Serum Albumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, p. 85–91, 2005.

TANTISHAIYAKUL, V.; KAEWNOPPARAT, N.; INGKATAWORNWONG, S. Properties of Solids Dispersions of Piroxicam in Polyvinylpyrrolidone K-30. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 143, p. 59-66, 1996.

TANTISHAIYAKUL, V.; KAEWNOPPARAT, N.; INGKATAWORNWONG, S. Properties of Solids Dispersions of Piroxicam in Polyvinylpyrrolidone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 181, p. 143-151, 1999.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 29 ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2006.

THOMPSON, K. C. Pharmaceutical Application of Calorimetric Measurements in the New Millenium. **Thermochemica Acta**, v. 335, p. 83-87, 2000.

TIAN, C. M.; SHI, Z. H.; ZHANG, H. Y.; XU, J. Z.; SHI, J. R.; GUO, H. Z. Thermal Degradation of Cotton Cellulose. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 55, p. 93-98, 1999.

VANDERHART, D. L.; ATALLA, R. H. Studies of Microstructure in Native Celluloses Using Solid-State ¹³C NMR. **Macromolecules**, v. 17, p. 1465-1472, 1984.

VAYA, J.; MAHMOOD, S.; GOLDBLUM, A.; AVIRAM, M.; VOLKOVA, N.; SHAALAN, A.; MUSA, R.; TAMIR, S. Inhibition of LDL Oxidation by Flavonoids in Relation to their Structure and Calculated Enthalpy. **Phytochemistry**, v. 62, p. 89-99, 2003.

VECCHIO, S.; RODANTE, F.; TOMASSETTI, R. Thermal Stability of Disodium and Calcium Phosphomycin and the Effects of the Excipients Evaluated by Thermal Analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, p. 1111-1123, 2001.

VEIGA, M. D.; BERNAD, M. J.; ESCOBAR, C. Thermal Behaviour of Drugs from Binary and Ternary Systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 89, p. 119-124, 1993.

VELASQUEZ ARMIJO, C. J.; COSTA, I. M.; LONGHINI, R.; PETZHOLD, C. L.; PETROVICK, P. R. Métodos termoanalíticos e suas aplicações nas Ciências Farmacêuticas. **Caderno de Farmácia**, v. 20, n. 1, p. 29-47, 2004.

VERLOOP, Q.; MARAIS, A. F.; DE VILLIERS, M. M.; LIEBENBERG, W. Compatibility of Senoside A and B with Pharmaceutical Excipients. **Pharmazie**, n. 59, p. 728-730, 2004.

VERMA, R. K.; GARG, S. Compatibility Studies Between Isosorbide Mononitrate and Selected Excipients Used in the Development of Extended Release Formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 35, p. 449-458, 2004.

VINADÉ, E. R. C.; PETROVICK, P. R. Influência da Adição de Polissorbato 80 e Beta-ciclodextrina sobre a Solubilidade de Quercetina. **Revista Portuguesa de Farmácia**, Lisboa, v. 48, n. 4, p. 149-151, 1998.

VUEBA, M. L.; VEIGA, F.; SOUSA, J. J.; PINA, M. E. Compatibility Studies Between Ibuprofen or Ketoprofen with Cellulose Ether Polymer Mixtures Using Thermal Analysis. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 10, p. 943-949, 2005.

WADA, M.; HEUX, L.; SUGIYAMA, J. Polymorphism of Cellulose I Family: Reinvestigation of Cellulose IV₁. **Biomacromolecules**, n. 5, p. 1385-1391, 2004.

WADKE, D. A.; SERAJUDDIN, A. T. M.; JACOBSON, H. Preformulation Testing. In: LIEBERMAN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J. B. (Ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2 ed. New York: Marcel Dekker. 1990. v.1. p. 1-73.

WANG, S-P.; HUANG, K-J. Determination of Flavonoids by High-performance Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, n. 1032, p. 273-279, 2004.

WATTEL, A.; KAMEL, S.; MENTAVERRI, R.; LORGET, F.; PROULLIER, C.; PETIT, J.; FARDELLONE, P.; BRAZIER, M. Potent Inhibitory Effect of Naturally Occurring Flavonoids Quercetin and Kaempferol on *in vitro* Osteoclastic Bone Resorption. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, n. 1, p. 35-42, 2003.

WELLS, J. I. **Pharmaceutical Preformulation**. Chichester: Ellis Horwood, Chichester: John Willey, 1988.

WELLS, J. I. Pharmaceutical Preformulation: The Physicochemical Properties of Drug Substances. In: AULTON, M. E. Ed.) **Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design**. 2 ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002. p. 114-138.

YAN, C.; LI, X.; XIU, Z.; HAO, C. A Quantum-mechanical Study on the Complexation of α -cyclodextrin with Quercetin. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 764, p.95-100, 2006.

YU, L.; REUTZEL, S. M. STEPHENSON, G. A. Physical Characterization of Polymorphic Drugs: An Integrated Characterization Strategy. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1998.

ZHANG, H-Y. Theoretical Methods Used in Elucidating Activity Differences of Phenolic Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS)**, v. 76, n. 6, p. 745-748, 1999.

ZHANG, S.; YANG, X.; COBURN, R. A .; MORRIS, M. E. Structure Activity Relationships and Quantitative Structure Activity Relationships for the Flavonoid-mediated Inhibition of Breast Cancer Resistance Protein. **Biochemical Pharmacology**, n. 70, p. 627-639, 2005.

ZHBANKOV, R.G.; FIRSOV, S.P.; BUSLOV,D.K.; NIKONENKO, N.A.; MARCHEWKA,M.K.; RATAJCZAK, H. Structural Physico-chemistry of Cellulose Macromolecules. Vibrational Spectra and Structure of Cellulose. **Journal of Molecular Structure**, n. 614, p.117-125, 2002.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007. Cap. 23, p. 577-614.

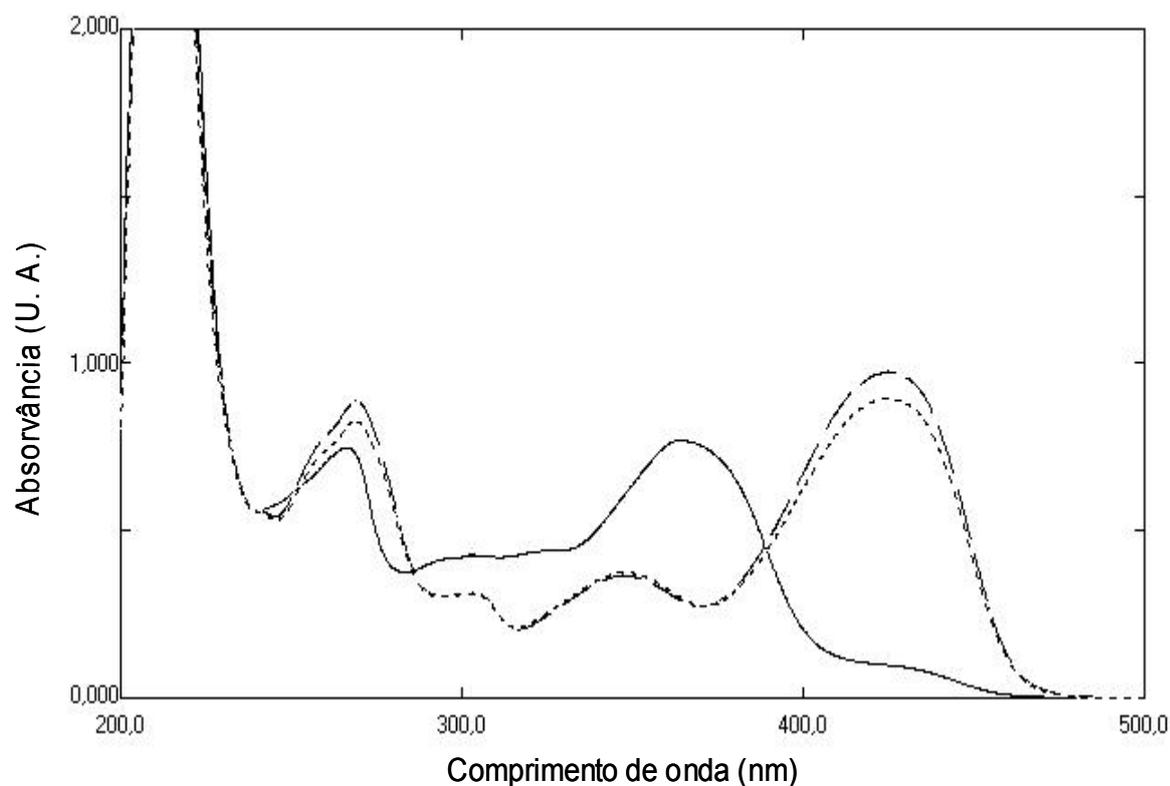


Figura A1. Espectro na região do UV-visível para a solução de canferol em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (---) e subsequente hidrólise com HCl (...)

Tabela A1. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) do canferol referência e amostra (Ca) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{Max}}$ (nm)					
		Referência			Ca		
		1	2	3	1	2	3
II	253	+7	-4	+3	+16	-0,2	+15,8
I	367	+57	0	+57	+58	-1	+57

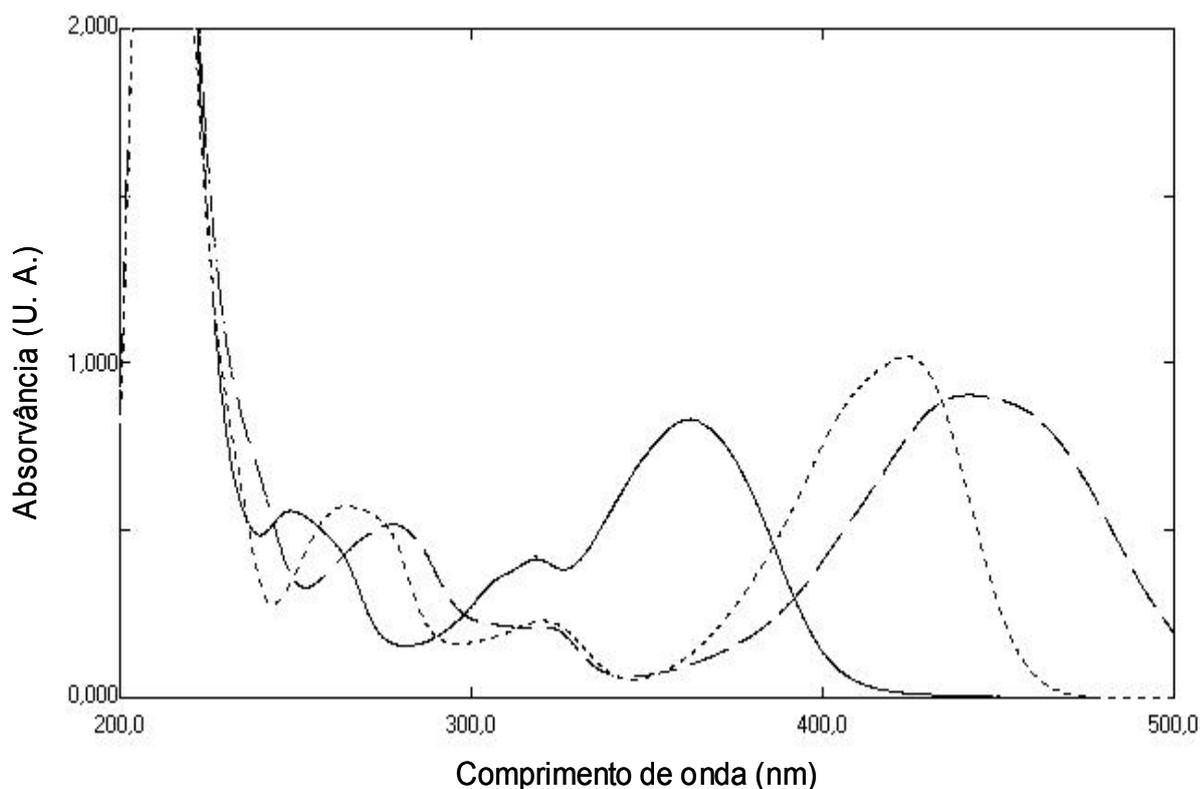


Figura A2. Espectro na região do UV-visível para a solução de fisetina em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (---) e subsequente hidrólise com HCl (...)

Tabela A2. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) da fisetina referência e amostra (Fi) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{Max}}$ (nm)					
		Referência			Fi		
		1	2	3	1	2	3
II	248	+20	-5	+15	+29,8	-13,4	+16,4
I	362	+96	-35	+61	+79,2	-17,6	+61,6

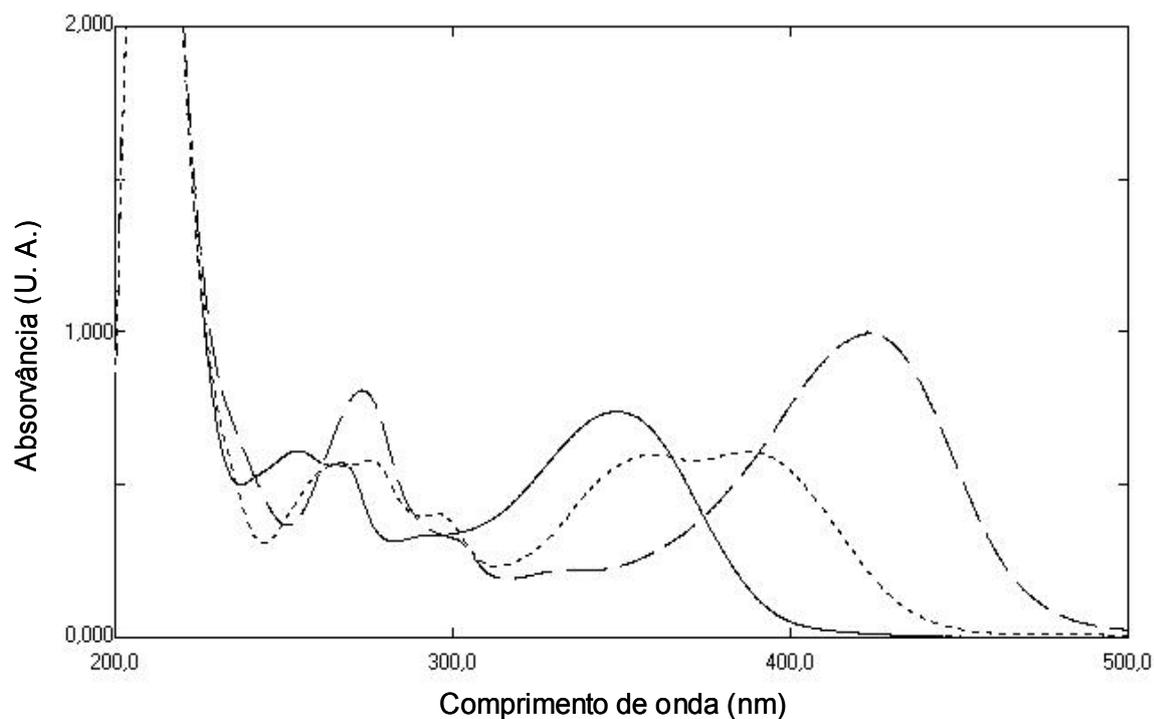


Figura A3. Espectro na região do UV-visível para asolução de luteolina em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (---) e subsequente hidrólise com HCl (...)

Tabela A3. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) da luteolina referência e amostra (Lu) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{Max}}$ (nm)					
		Referência			Lu		
		1	2	3	1	2	3
II	253	+21	-8	+13	+20,2	-2	+18,2
I	349	+77	-41	+36	+74	-35,4	+38,6

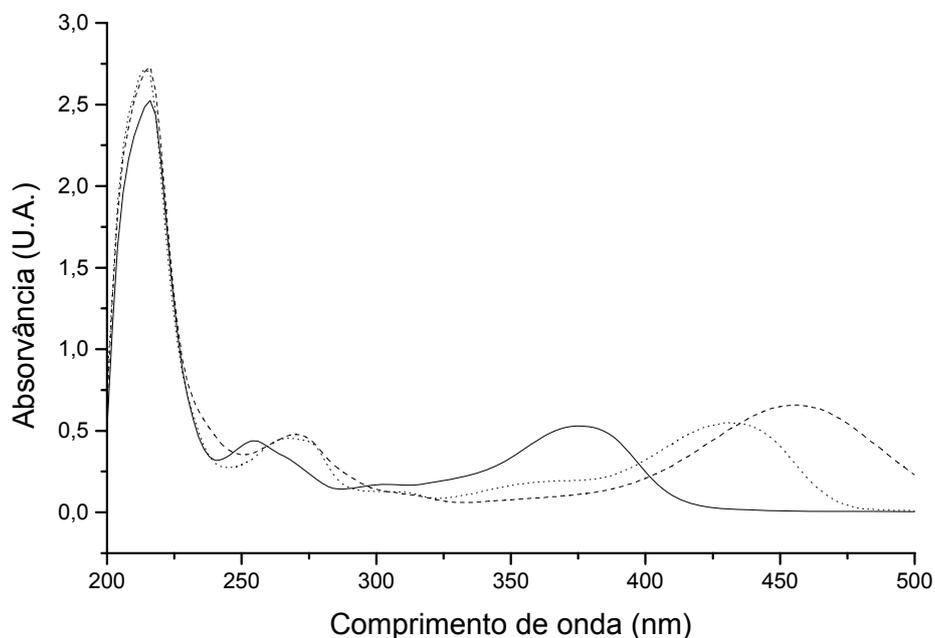


Figura A4. Espectro na região do UV-visível para a solução de miricetina em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (---) e subsequente hidrólise com HCl (...)

Tabela A4. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) da miricetina referência e amostra (Mi) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{Max}}$ (nm)					
		Referência			Mi		
		1	2	3	1	2	3
II	254	+27	-5	+22	+18	-5	+13
I	374	+76	-22	+54	+79	-23	+56

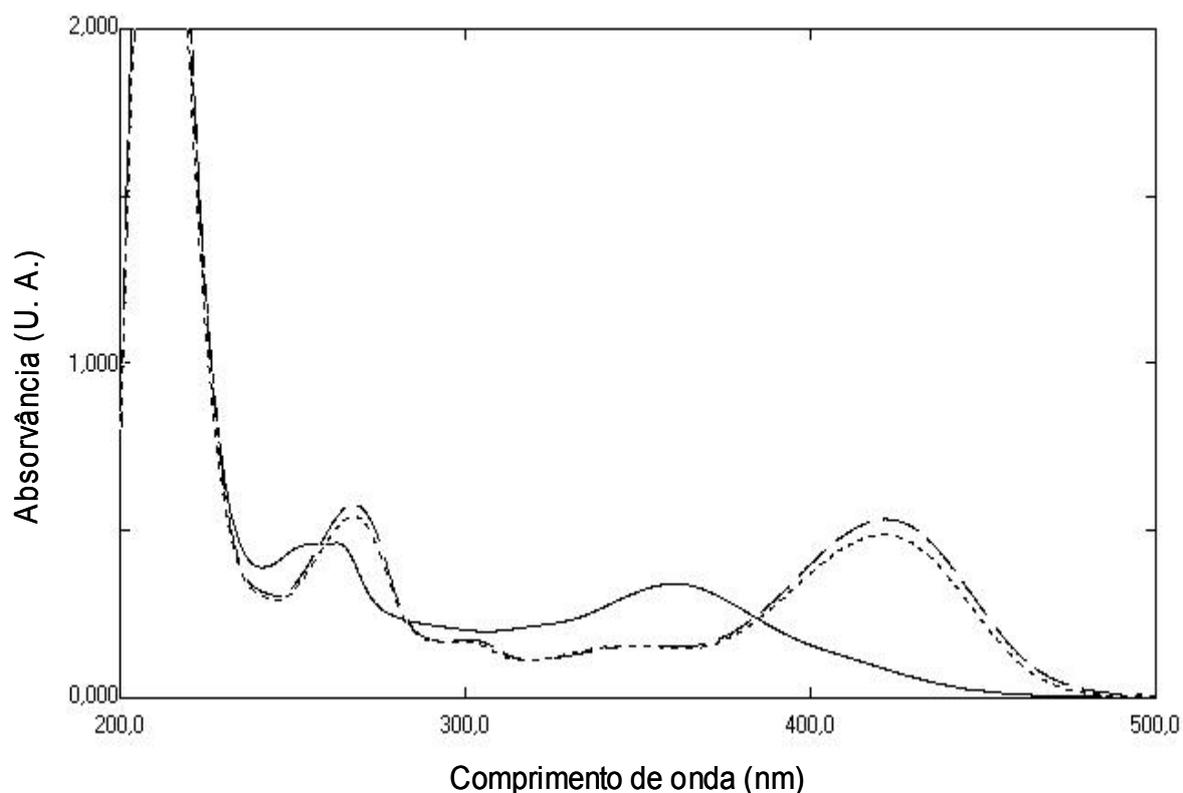


Figura A5. Espectro na região do UV-visível para a solução de morina em metanol (—), complexada com AlCl_3 (- - -) e após hidrólise com HCl (···)

Tabela A5. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) da morina referência e amostra (Mo) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{Max}}$ (nm)					
		Referência			Mo		
		1	2	3	1	2	3
II	264	+4	-1	+3	+3,6	0	+3,6
I	370	+51	-2	+49	+51,4	-0,4	+51

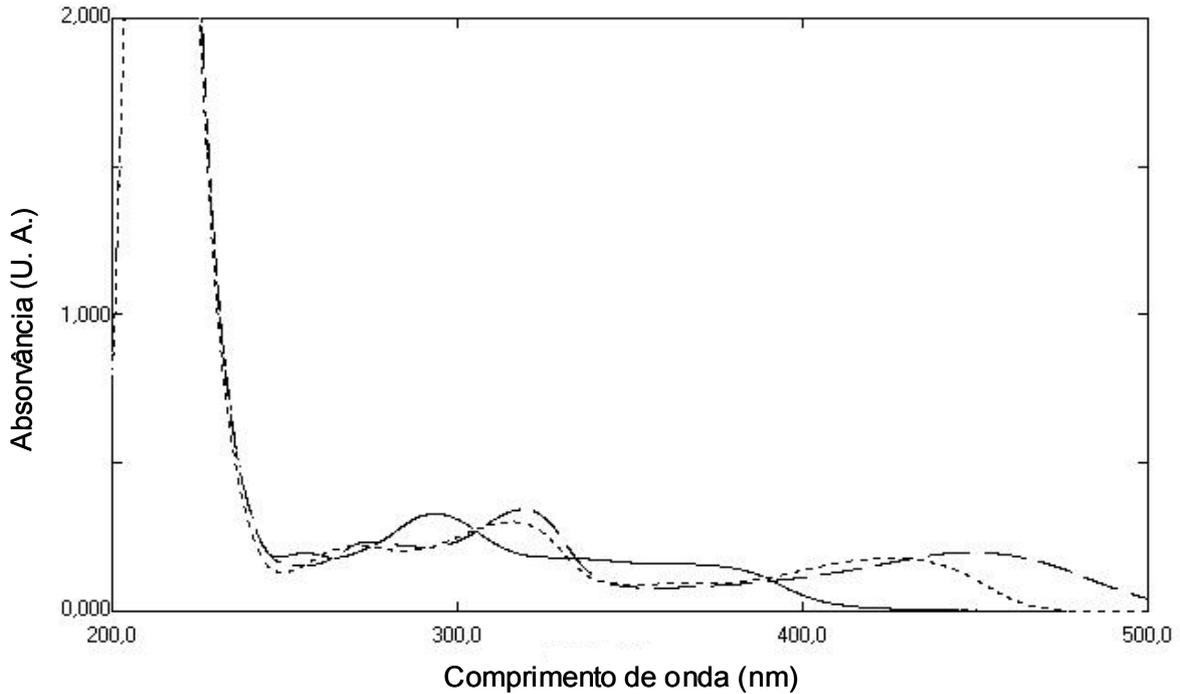


Figura A6. Espectro na região do UV-visível para a solução de quercetina amostra em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (---) e subsequente hidrólise com HCl (...)

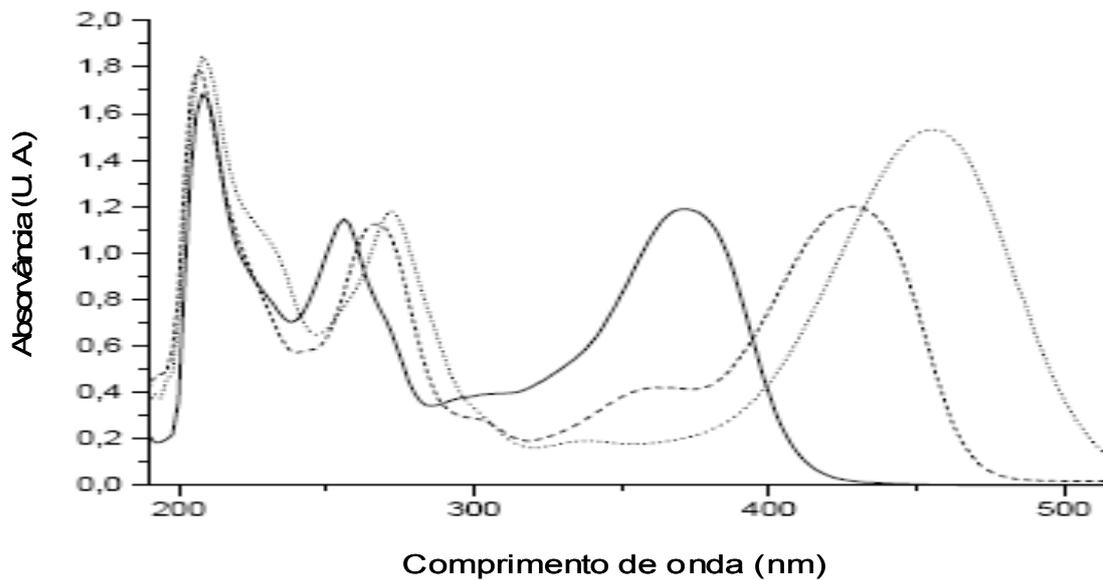


Figura A7. Espectro na região do UV-visível para a solução de quercetina referência em metanol (—), após complexação com AlCl_3 (...) e subsequente hidrólise com HCl (---) (COSTA, 2005)

Tabela A6. Comparação dos desvios dos comprimentos de onda máximos ($\Delta\lambda_{\text{máx}}$) das quercetina referência (QR) e amostra (QA) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{\text{máx}}$ (nm)					
		QR			QA		
		1	2	3	1	2	3
II	255	+17	-7	+10	+18,4	-2,8	+15,6
I	370	+88	-30	+58	+78,2	-26,8	+51,4

Tabela A7. Comparação dos desvios absorções (ΔA) nos comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$) das quercetina referência (QR) e amostra (QA) em metanol e após adição de AlCl_3 (1) e após tratamento com HCl (2), e comparação do desvio dos máximos em metanol e após hidrólise com HCl (3)

Banda	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	ΔA (U.A.)					
		QR			QA		
		1	2	3	1	2	3
II	255	+0,065	-0,064	+0,001	+0,2352	-0,0116	+0,2236
I	370	+0,228	-0,211	+0,017	+0,1992	-0,0202	+0,179

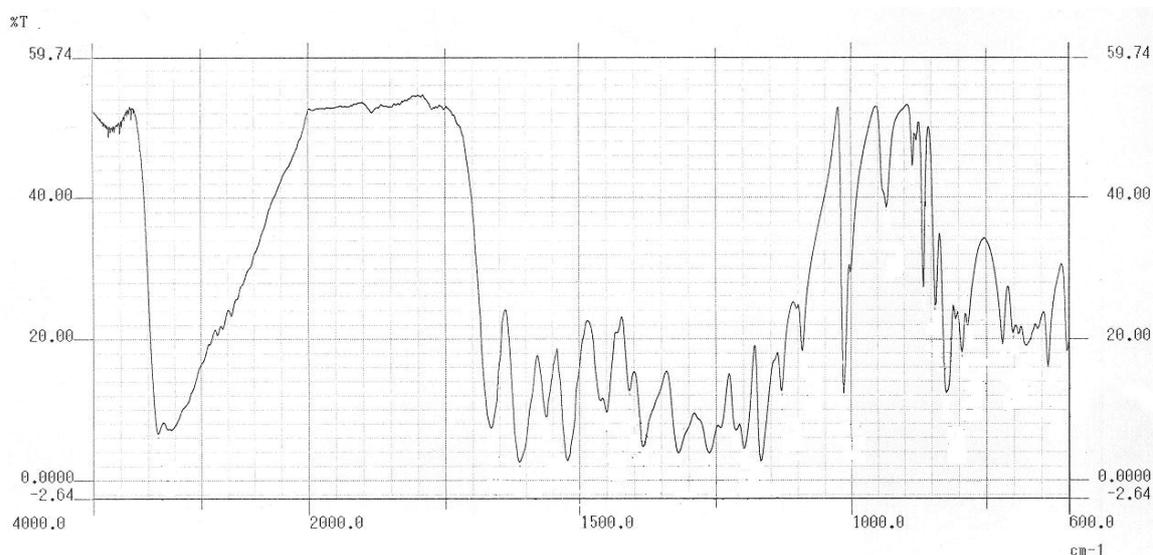


Figura A8. Espectro na região do infravermelho da quercetina R (BORGHETTI*)

* BORGHETTI, G. S. **Associação quercetina/beta-ciclodextrina: avaliação do perfil de penetração cutânea, da fotoestabilidade e da atividade antioxidante.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre. Tese em andamento.

Tabela A8. Interpretação do espectro na região do infravermelho da quercetina amostra e referência (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; RÜCKER e col., 1998; SILVERSTEIN e col., 1998; PRALHAD e RAJENDRAKUMAR, 2004)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C ₄ '
~3350-3250	Presença da O-H ligada ao C ₃
~3000-2500	Presença da O-H ligada ao C ₅
~1660	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
~1615 e 1200	Fenila
1280 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1150-1085	Deformações axiais assimétrica de C-O-C
~770	Deformação angular fora do plano de C-H aromático di- <i>o</i> -substituído

Tabela A9. Interpretação do espectro na região do infravermelho do canferol (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C ₄ '
~3350-3250	Presença da O-H ligada ao C ₃
~3000-2500	Presença da O-H ligada ao C ₅
~1700	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
~1625 e 1200	Fenila
1260 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1150-1085	Deformações axiais assimétricas de C-O-C
~770-760	Deformação angular fora do plano de C-H aromático mono e di- <i>o</i> -substituído

Tabela A10. Interpretação do espectro na região do infravermelho da fisetina (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C _{4'}
~3350-3250	Presença da O-H ligada ao C ₃
~162 e 1200	Fenila
~1600	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
1260 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1150-1085	Deformações axiais assimétricas de C-O-C
~770-760	Deformação angular fora do plano de C-H aromático di- <i>o</i> -substituído

Tabela A11. Interpretação do espectro na região do infravermelho da luteolina (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998; LEE e col., 2003)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C _{4'}
~3000-2500	Presença da O-H ligada ao C ₅
~1700	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
~1625 e 1200	Fenila
1260 e 1050	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1150-1085	Deformações axiais assimétricas de C-O-C
~770	Deformação angular fora do plano de C-H aromático di- <i>o</i> -substituído

Tabela A12. Interpretação do espectro na região do infravermelho da miricetina (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C _{4'}
~3350-3250	Presença da O-H ligada ao C ₃
~3000-2500	Presença da O-H ligada ao C ₅
~1640	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
~1600 e 1200	Fenila
1260 e 1020	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1150-1085	Deformações axiais assimétricas de C-O-C
~770 e 740	Deformação angular fora do plano de C-H aromático di- <i>o</i> - e tri-substituído

Tabela A13. Interpretação do espectro na região do infravermelho da morina (GOTTLIEB, 1975; NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN e col., 1998; CALABRÒ e col., 2004)

$\nu_{\text{máx}}$ (KBr/ cm^{-1})	Interpretação
~3400	Deformações axiais da ligação O-H para ligações de hidrogênio intramoleculares
~3450-3350	Presença da O-H ligada ao C _{4'}
~3350-3250	Presença da O-H ligada ao C ₃
~3000-2500	Presença da O-H ligada ao C ₅
~1690	Carbonila deslocada por formação de ligações de hidrogênio intramoleculares
~1625 e 1200	Fenila
1246 e 1000	Deformações axiais de C-O; O-H fenólicas
1173-1085	Deformações axiais assimétricas de C-O-C
~800 (<i>m</i> -), 770 (<i>o</i> -) e 700 (<i>m</i> -)	Deformação angular fora do plano de C-H aromático di- <i>o</i> - e di- <i>m</i> -substituído

Tabela A14. Comparação entre as entalpias de fusão observada e esperada dos flavonóides para as misturas binárias

Amostra (mg)	ΔH_{obs} (kJ/mol)	ΔH_{esp} (kJ/mol)	IV (%)
canferol (Ca)	40,37	-	-
fisetina (Fi)	38,00	-	-
luteolina (Lu)	42,52	-	-
miricetina (Mi)	10,64	-	-
morina (Mo)	9,16	-	-
quercetina (Q)	39,20	-	-
Ca:CMCr 1:1	30,42	40,36	24,64
Ca:CMCr 1:2	25,55	40,36	36,70
Fi:CMCr 1:1	26,72	38,00	29,69
Fi:CMCr 1:2	6,65	38,00	82,49
Lu:CMCr 1:1	31,66	42,52	25,54
Lu:CMCr 1:2	8,35	42,52	80,36
Mi:CMCr 1:1	-	-	-
Mi:CMCr 1:2	-	-	-
Mo:CMCr 1:1	17,36	9,16	89,63
Mo:CMCr 1:2	17,45	9,16	90,58
Q:CMCr 1:1	23,30	39,20	40,58
Q:CMCr 1:2	19,90	39,20	49,24

* CMCr= celulose microcristalina; ΔH_{obs} = entalpia observada, ΔH_{esp} = entalpia esperada; IV = intensidade de variação entre a entalpia observada e a esperada

Tabela A15. Intervalos de confiança a 99% ($\alpha = 0,01$) para os valores de t_{onset} e ΔH_{obs} para a perda de água de adsorção/cristalização dos flavonóides

Flavonóide	Valores	IC	Valores	IC
	t_{onset}	t_{onset}	ΔH_{obs}	ΔH_{obs}
Ca	110,63;109,55;110,6	106,76 a 113,75	39,51;39,24;41,79	32,16 a 48,20
Fi	92,14;101,93;102,51	65,45 a 132,27	3,65;5,37;8,70	0 a 20,60
Lu	84,03;84,47;86,02	78,88 a 90,80	7,30;6,55;7,28	4,61 a 9,48
Mi	106,51;102,98;107,16	92,66 a 118,44	14,31;8,18;14,67	0 a 33,29
Mo	110,52;123,63;113,10	75,98 a 155,52	33,01;26,17;29,14	9,78 a 49,10
QA	99,62;99,36;99,39	98,65 a 100,26	35,03;36,81;30,91	16,91 a 51,59
QR	107,24;100,25;103,47	83,59 a 123,70	84,40;121,44;87,08	0 a 215,99
MB 1:1				
Ca	110,1;110,02;111,51	105,73 a 115,35	33,16;41,41;38,5	13,74 a 61,64
Fi	103,01;101,39;101,83	97,27 a 106,90	10,48;9,17;8,19	2,69 a 15,87
Lu	77,86;75,07;77,63	67,97 a 85,73	7,85;8,38;8,02	6,53 a 9,63
Mi	85,54;84,46;80,4	67,93 a 98,99	19,19;14,18;17,32	2,40 a 31,40
Mo	111,14;116,9;107,4	84,42 a 139,20	36,91;28,08;25	0 a 65,41
Q	77,07;98,40;98,21	20,98 a 161,48	45,67;49,54;46,42	35,46 a 58,96
MB 1:2				
Ca	112,49;111,56;113,17	107,77 a 117,05	27,07;38,13;34,06	1,06 a 65,12
Fi	106,71;105,02;106,02	101,05 a 110,79	11,22;11,82;12,87	7,21 a 16,73
Lu	78,42;77,41;76,99	73,43 a 81,79	9,04;6,95;6,81	0,44 a 14,76
Mi	97,84;97,63;99,06	93,77 a 102,60	15,16;18,5;16,56	7,11 a 26,37
Mo	116,39;110,7;113,72	97,27 a 129,93	39,3;31,38;31,62	8,31 a 59,88
Q	101,51;101,07;100,93	99,45 a 102,99	32,98;34,81;40,61	13,32 a 58,94

Tabela A16. Intervalos de confiança a 99% ($\alpha = 0,01$) para os valores de t_{onset} e ΔH_{obs} de fusão dos flavonóides

Flavonóide	Valores	IC	Valores	IC
	t_{onset}	t_{onset}	ΔH_{obs}	ΔH_{obs}
Ca	281,54;281,37;281,36	280,85 a 282	38,59;39,27;43,24	25,97 a 54,76
Fi	349,11;348,75;349,15	347,79 a 350,19	37,43;38,62;37,97	34,59 a 41,42
Lu	332,50;334,36;333,35	328,07 a 338,73	47,98;36,70;42,90	10,13 a 74,91
Mi	369,95;370,5;369,97	368,33 a 371,92	10,25;12,87;8,81	0 a 22,44
Mo	282,59;281;280,82	275,91 a 287,03	4,99;9,99;12,50	0 a 31,05
QA	319,43;319,87;319,23	317,62 a 321,40	33,45;36,93;34,71	24,95 a 45,12
QR	321,02;320,86;321,37	319,59 a 322,57	40,06;56,44;39,99	0 a 99,79
MB 1:1				
Ca	273,52;274,84;274,12	270,38 a 277,94	24,76;36,7;31,10	0 a 65,06
Fi	331,07;328,66;330,88	322,52 a 337,88	37,27;21,87;21,02	0 a 79,15
Lu	316,08;315,17;317,48	309,59 a 322,89	27,87;33,9;33,22	12,75 a 50,57
Mi	-	-	-	-
Mo	271,52;276,26;275,25	260,01 a 288,66	24,94;14,73;12,43	0 a 55,53
Q	308,68;306,4;305,15	296,48 a 317	21,66;24,52;23,7	14,87 a 31,71
MB 1:2				
Ca	269,52;275,16;271,02	255,17 a 288,63	22,92;30,53;23,22	0,86 a 50,26
Fi	317,54;320,97;325,54	298,37 a 344,33	9,15;5,82;4,97	0 a 19,31
Lu	314,29;313,02;312,62	308,32 a 318,29	7,36;10,25;7,43	0 a 17,80
Mi	-	-	-	-
Mo	274,29;272,55;274,47	267,70 a 279,84	20,58;14,97;16,80	1,06 a 33,84
Q	298,17;299,76;300,06	293,54 a 305,12	18,27;19,72;21,72	9,99 a 29,81

Tabela A17. Comparação da adição de hidroxilas em relação à alteração da energia do sistema

Estrutura original	Adição de OH's	Posição e anel	Nova estrutura	Energia*
canferol	1	C _{2'} ou C _{3'} B	morina ou quercetina	-0,63
canferol	2	C _{3'} e C _{5'} B	miricetina	-1,46
fisetina	1	C ₅ A	quercetina	-1,71
fisetina	2	C ₅ A e C _{5'} B	miricetina	-2,53
luteolina	1	C ₃ C	quercetina	-4,65
luteolina	2	C ₃ C e C _{5'} B	miricetina	-5,48

* Alteração da energia em relação à estrutura original (kcal/mol)

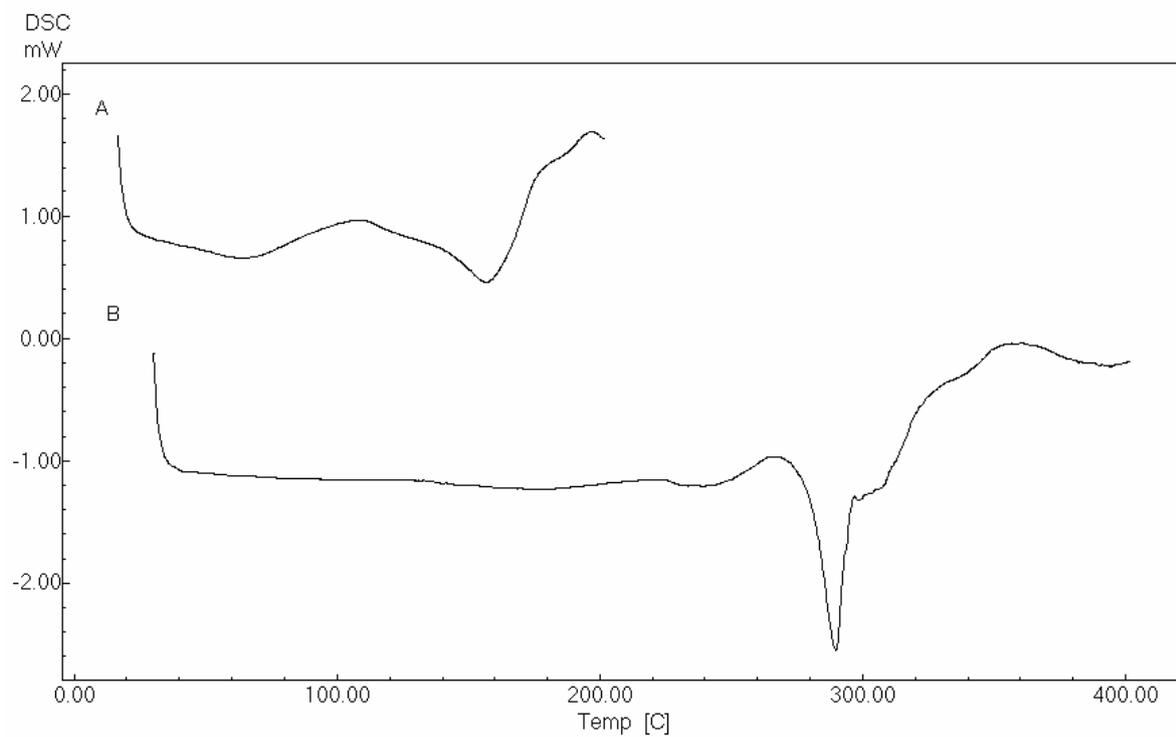


Figura A9. Curvas de aquecimento por DSC para a morina (A: primeiro aquecimento até 200 °C e B: segundo aquecimento até 400 °C)

