

# Dispersões sólidas de extratos de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) para otimização da solubilidade do marcador ácido betulínico

Solid dispersions of leaves *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) extracts to optimize the solubility of the betulinic acid marker

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1070>

Nóbrega, Andréa Bezerra da<sup>1\*</sup>; Bizarri, Carlos Henrique Brasil<sup>1</sup>; Paz, Andressa Santana<sup>2</sup>; Seiceira, Rafael Cardoso<sup>1</sup>; Conceição, Edemilson Cardoso da<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Laboratório de Química da Biodiversidade, Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (PAF), Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS), Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF), Fiocruz Campus Jacarepaguá, Estrada da Curicica, 2000, Curicica, CEP 22780-195, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás (UFG), Laboratório de Pesquisa em Produto Natural, Faculdade de Farmácia, Rua 240, esquina com a 5ª Avenida, s/nº, Setor Leste Universitário. CEP 74605-170, Goiânia, GO, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Goiás (UFG), Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Bioprodutos, Faculdade de Farmácia, Rua 240, esquina com a 5ª Avenida, s/nº, Setor Leste Universitário. CEP 74605-170, Goiânia, GO, Brasil.

\*Correspondência: [abnobrega@gmail.com](mailto:abnobrega@gmail.com).

## Resumo

*Eugenia florida* DC. pertence à família Myrtaceae. Estudos fitoquímicos anteriores com extratos de folhas de *E. florida* revelaram a ocorrência de triterpenos e, entre seus constituintes, o ácido betulínico (AB), que apresenta uma vasta literatura com diferentes atividades biológicas, como anti-inflamatório, antimalárico, antimicrobiano, antiviral e anticâncer, porém, sua baixa solubilidade aquosa limita a sua biodisponibilidade. Para o aumento da biodisponibilidade tem destaque o uso de dispersões sólidas, onde fármacos lipofílicos são dispersos em carreadores hidrofílicos, acarretando um aumento da solubilidade e perfil de dissolução. Neste trabalho, dispersões sólidas contendo extratos de *E. florida* foram preparados utilizando o carreador Gelucire<sup>®</sup>50/13 como agente polímerico e a lactose monohidratada como suporte hidrofílico empregando a técnica de fusão. O sistema que apresentou melhor solubilidade de AB foi caracterizado através das técnicas de espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Análise de Termogravimetria (TGA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Difratomia de Raios-X (DRX). A técnica de dispersão sólida aumentou onze vezes a solubilidade do ácido betulínico presente no extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae), sugerindo o aumento da biodisponibilidade do marcador.

**Palavras-chave:** Dispersões Sólidas. Solubilidade. Ácido Betulínico. *Eugenia florida*.

## Abstract

*Eugenia florida* DC. belongs to the family Myrtaceae. Previous phytochemical studies with extracts of *E. florida* leaves showed the occurrence of triterpenes and, among its constituents, the betulinic acid (BA), which presents a vast literature with different biological activities, such as anti-inflammatory, antimalarial, antimicrobial, antiviral and anticancer, however, its low aqueous solubility limits its bioavailability. In order to increase bioavailability, the use of solid dispersions is highlighted, where lipophilic drugs are dispersed in hydrophilic carriers, causing increase in solubility and dissolution profile. In this work, solid dispersions containing extracts of *E. florida* were prepared using the carrier Gelucire®50/13 as a polymeric agent and lactose monohydrate as a hydrophilic support using the fusion technique. The system that showed better BA solubility was characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and X-Ray Diffractometry (DRX). The solid dispersion technique elevated the solubility of betulinic acid in *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) leaf extract eleven times, suggesting an increase in the bioavailability of the marker.

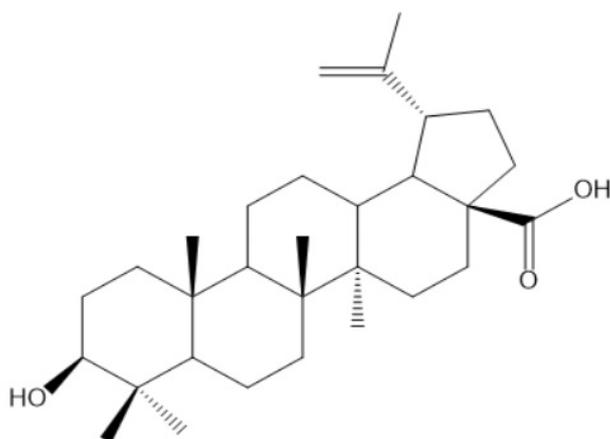
**Keywords:** Solid Dispersions. Solubility. Betulinic Acid. *Eugenia florida*.

---

## Introdução

*Eugenia florida* DC. pertence à família Myrtaceae<sup>[1,2]</sup>. Estudos fitoquímicos prévios com extratos de folhas de *E. florida* revelaram a ocorrência de triterpenos, sendo considerada uma importante fonte de ácido betulínico (**FIGURA 1**). O ácido betulínico é um triterpeno penta cíclico pertencente ao grupo lupânico e apresenta muitas atividades biológicas já descritas na literatura, como anti-inflamatório<sup>[3,4]</sup>, antimalárico<sup>[4]</sup>, antiviral<sup>[4-7]</sup>, anti-HIV<sup>[8,9]</sup> e antitumoral<sup>[4,10-13]</sup>.

**FIGURA 1:** Estrutura molecular do ácido betulínico.



Os triterpenos ácidos podem atuar em vários estágios no desenvolvimento de tumores, como na inibição de tumorigênese, inibição na progressão de tumor e indução da diferenciação tumoral<sup>[14]</sup>. Desde 1995 que Pisha e colaboradores<sup>[11]</sup> reportaram o ácido betulínico como altamente promissor agente antineoplásico, após a indução da apoptose em linhagens celulares de melanoma quer *in vitro* quer *in vivo*. Posteriormente, esta atividade foi confirmada como efetiva em outras linhagens celulares com diferentes origens tais como mama, cólon, pulmão, pâncreas, ovário, neuroblastoma, osteossarcoma, entre outras<sup>[15]</sup>. O mecanismo de

ação antitumoral deste fitofármaco prende-se com a capacidade do mesmo induzir a morte celular apoptótica pela via mitocondrial<sup>[13]</sup>. Adquire, contudo, ainda mais relevância o interesse terapêutico deste composto quando se percebe que existe uma dada seletividade das células cancerígenas à sua ação, mas não sobre células humanas sadias<sup>[16-18]</sup>.

Todavia, esta substância apresenta algumas limitações, no que diz respeito à fraca solubilidade da mesma e dos seus derivados, limitando a sua biodisponibilidade<sup>[19]</sup>. Existem várias técnicas disponíveis para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis e conseqüentemente a sua biodisponibilidade. As dispersões sólidas são técnicas bastante utilizadas para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis<sup>[20-22]</sup>.

Dispersão sólida é definida como uma forma farmacêutica em que as substâncias ativas são dispersas em uma matriz/carreador, biologicamente inerte e geralmente hidrofílico<sup>[23,24]</sup>. A escolha do carreador utilizado deve ser compatível com a finalidade do estudo, uma vez que são as propriedades dos polímeros as responsáveis pelo perfil de liberação do fármaco<sup>[25]</sup>.

Na busca do aumento da solubilidade do marcador AB presente nos extratos de folhas de *E. florida*, utilizou-se a técnica de dispersão sólida por fusão, propondo assim uma melhoria no insumo farmacêutico vegetal para ser utilizado em desenvolvimentos futuros de medicamentos antitumorais.

## Materiais e Métodos

### Obtenção do Extrato Seco de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)

Foram coletadas folhas frescas e sadias de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) do indivíduo localizado no Campus da Fundação Oswaldo Cruz – Manguinhos / RJ. – 22° 52' 38.13" S / 43° 14' 47.45". O indivíduo foi devidamente identificado e um *voucher* encontra-se depositado, no Herbário do Jardim Botânico, Rio de Janeiro, sob o número de registro RB 328.061 (Autorização CGEN n° 254/2015). O material foi seco a 40°C em estufa com circulação de ar por 72 h e moído em um moinho de facas. As folhas secas e trituradas foram submetidas à extração com etanol na proporção 1:10 (planta:solvente), por maceração com agitação ocasional duas vezes ao dia, com renovação de solvente 2 vezes a cada 48 horas. O solvente foi evaporado através de rota evaporador e em seguida liofilizado até obter um extrato seco<sup>[26]</sup>.

### Delineamento experimental

Foi utilizado o Gelucire®50/13 como polímero carreador e a lactose monohidratada *spray dried* como suporte hidrofílico para o desenvolvimento de dispersão sólida do extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae), buscando um aumento da solubilidade do marcador ácido betulínico, sendo realizado um planejamento do tipo Delineamento de Faces Centradas (DFC) para otimizar o processo.

Na **TABELA 1**, podem-se observar os experimentos propostos pelo DFC, o planejamento foi realizado aleatoriamente e consiste em combinações, incluindo três repetições genuínas e três repetições no ponto central, totalizando os 45 experimentos realizados. A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para investigar a influência das três variáveis independentes estudadas: quantidade de extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) ( $X_1$ ), quantidade de Gelucire®50/13 ( $X_2$ ) e quantidade de lactose monohidratada *spray dried* ( $X_3$ ), no processo de solubilidade do marcador ácido betulínico presente no

extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) em solução tampão pH 7, sendo realizada uma análise de regressão múltipla dos dados, para verificar os coeficientes do modelo de regressão pelo método dos mínimos quadrados, estes valores encontrados foram avaliados utilizando o software *Protimiza Experimental Design*.

O modelo de regressão polinomial foi utilizado para expressar a relação da função das variáveis independentes (Eq. (1)).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} x_i x_j$$

Onde  $y$  é a variável resposta,  $\beta_0$  é uma constante e  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  e  $\beta_{ij}$  são os coeficientes linear, quadrático e interativo do modelo, e  $x_i$  e  $x_j$  são variáveis independentes.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) para as variáveis independentes estudadas.

**TABELA 1:** Fatores e níveis utilizados no delineamento Delineamento de Fases Centradas (DFC).

Símbolos	Variáveis	Níveis		
		(-1)	0	(+1)
X <sub>1</sub>	Extrato (mg)	50	275	500
X <sub>2</sub>	Gelucire (mg)	500	725	950
X <sub>3</sub>	Lactose (mg)	100	200	300

### Preparação das dispersões sólidas

As dispersões sólidas propostas no DFC foram preparadas pelo método da fusão onde o extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) foi misturado a lactose monohidratada *spray dried* e a mistura adicionada ao carreador Gelucire®50/13 fundido nas proporções extrato/polímero conforme descrito na **TABELA 1** a 60°C, aproximadamente, com homogeneização contínua até a formação de uma dispersão homogênea, que, em seguida, foi solidificada por resfriamento em banho de gelo e pulverizada com o auxílio de gral e pistilo. As amostras foram guardadas em frascos de vidro âmbar no dessecador até as análises.

### Quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O sistema CLAE consiste em um sistema LC LaChrom (Merck-Hitachi) com bomba quaternária (L-7100), forno de coluna (L-7300), amostrador automático (L-7200) e detector de UV (L-7400). A separação cromatográfica foi realizada usando uma coluna  $\mu$ Bondapak Waters C18 3,9 mm  $\times$  300 mm e a pré-coluna Phenomenex Luna C18 150 mm  $\times$  4,6 mm (ambas com tamanho de partícula de 5  $\mu$ m). Foi aplicada uma eluição isocrática usando 10% de água em pH 3 ajustado com ácido fosfórico (Fase móvel A) e 90% de acetonitrila (Fase móvel B). O tempo total de execução foi de 15 min, com uma vazão de 1,0 mL / min e a temperatura da coluna foi de 25°C. A aquisição de dados em 210 nm foi realizada após injeção de amostra de 10  $\mu$ L com fluxo de 1mL/min, empregando o EZChrom Elite Software 3.3.2 SP2 (Merck-Hitachi). A

quantificação do marcador químico foi realizada a partir da interpolação da área de AB em curva de calibração em faixa de concentração determinada na validação da metodologia

### Validação da metodologia CLAE

O método de determinação do ácido betulínico no extrato das folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) foi baseado em Kumar<sup>[27]</sup>. Os parâmetros de validação e os critérios de aceitação atenderam às diretrizes do Instituto Brasileiro de Metrologia (INMETRO)<sup>[28]</sup>. Para validar a determinação de ácido betulínico no extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae), foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: seletividade, linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), tendência (recuperação), limite de detecção (LoD), limite de quantificação (LoQ) e robustez. A seletividade foi avaliada comparando-se o tempo de retenção do padrão de ácido betulínico adicionado ao solvente (metanol) e na presença da matriz (extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)) e pela avaliação da pureza do ácido betulínico no extrato da planta. Para avaliar a linearidade, as matrizes foram fortificadas com a solução padrão de ácido betulínico nas concentrações de 0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 e 1,0 mg/mL, em sete repetições. Após as análises, foi criado um gráfico relacionando a área do pico à concentração, e as equações da curva e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e correlação ( $r$ ) foram determinados por regressão linear. Para avaliar a repetibilidade avaliou-se o desvio padrão relativo (RSD), com análises sucessivas das mesmas amostras em curtos intervalos de tempo e realizadas nas mesmas condições (mesmo equipamento e mesmo analista). A medição intermediária de precisão foi obtida por comparação estatística das amostras realizadas sob o mesmo procedimento de medição, no mesmo local e nas medidas replicadas nas mesmas amostras durante um período prolongado. As amostras foram fortificadas com a solução padrão em três níveis de concentração - baixa (10 mg/L), média (500 mg/L) e alta (1000 mg/L), considerando o intervalo linear do método, com três repetições cada. A tendência foi avaliada através da realização de testes de recuperação nas mesmas concentrações empregadas na precisão (alta, média e baixa) em triplicata. A recuperação obtida em cada concentração foi calculada usando a equação  $R = [(C1-C2) / C3] \times 100$ , que considera a concentração de analito na amostra fortificada (C1), a concentração de analito na amostra não fortificada (C2) e a concentração de analito adicionada à amostra fortificada (C3). Os valores de LoD e LoQ foram calculados a partir de equações que consideram os parâmetros da curva analítica  $LoD = [(3 s) / S]$  e  $LoQ = [(10 s) / S]$ , utilizando o (s) desvio (s) padrão da resposta e (o) inclinação da curva analítica (S). Na robustez do método foi avaliado o desvio padrão relativo das áreas AB após a modificação do valor da vazão em uma condição que promoveu uma diferença no tempo de retenção ( $Tr$ ) cerca de 0,1 min do  $Tr$  original (5,7 min), ou seja, fluxo de 0,98 mL/min e 1,02 mL/min de vazão.

### Ensaio de solubilidade

O coeficiente de solubilidade do marcador AB no extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) e dispersões sólidas foram determinados utilizando diferentes meios, simulando as condições de pH do trato gastrointestinal. Triplicatas de amostras em condições saturantes foram dispersas, nos diferentes meios de dissolução, com diferentes pH (1,2; 4,5; 7,0 e 12)<sup>[29]</sup>, deixadas sob agitação por 2 horas a  $25^\circ\text{C} \pm 2$ . Após este período, foram centrifugadas, filtradas e quantificadas por CLAE.

### Teste de dissolução *in vitro*

Os ensaios foram feitos em dissolutor Hanson SR8 PLUS, a  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , utilizando o aparato II (pá) e velocidade de agitação de 100 rpm. O meio de dissolução foi 900 mL de tampão  $\text{Na}_3\text{PO}_4\text{-HCl}$  0,2 M (pH 6,8  $\pm 0,05$ ) em cada cuba. Os ensaios foram realizados em triplicata e o perfil de dissolução foi acompanhado por um período total de 75 minutos. Alíquotas de 1,0 mL foram coletadas e filtradas em filtro de seringa com membrana de celulose regenerada de 0,45  $\mu\text{m}$ . Alíquotas de 250,0  $\mu\text{L}$  foram transferidas para *vials*. As amostragens foram realizadas nos tempos de 0, 15, 30, 45, 60 e 75 minutos. O perfil de dissolução foi realizado para o extrato liofilizado e para a dispersão sólida que apresentou melhor resultado no delineamento experimental (DS3). As amostras foram analisadas por CLAE.

### Estudo do comportamento térmico

O comportamento térmico do extrato, do marcador ácido betulínico, da dispersão sólida DS3 e seus carreadores foram avaliadas utilizando o equipamento TGA/DSC 3 Mettler Toledo. As análises de termogravimetria (TGA) foram realizadas no intervalo de 30 a  $997^\circ\text{C}$ , razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , atmosfera inerte ( $\text{N}_2$  seco) com vazão de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ , cadinhos de óxido de alumínio de 150  $\mu\text{L}$  e massa da amostra da ordem de 10 mg. As análises de DSC foram realizadas no intervalo de 30 a  $997^\circ\text{C}$ , razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , atmosfera inerte ( $\text{N}_2$  seco) com vazão de  $80 \text{ mL min}^{-1}$ , cadinhos de óxido de alumínio de 40  $\mu\text{L}$  e massa da amostra da ordem de 10 mg.

### Difratometria de raios X

A cristalinidade do marcador ácido betulínico puro, do extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) e da dispersão DS3 foram avaliadas empregando-se o D8 Advance Bruker utilizando-se tubo de cobre, submetido a 40 kV, corrente de 25 mA,  $\text{Cu K}\alpha$ ,  $\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$  e  $\lambda = 1.54438$ . A amostra foi colocada em suporte de vidro, próprio do equipamento e exposta à radiação  $3^\circ \leq 2\theta \leq 60^\circ$ , com passo de varredura de  $0,02^\circ$  por 0,2 segundos. Detector Lynxeye.

### Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em Espectrofotômetro com Transformada de Fourier, modelo Nicolet 6700 Thermo Scientific, com resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ , na região compreendida entre  $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ .

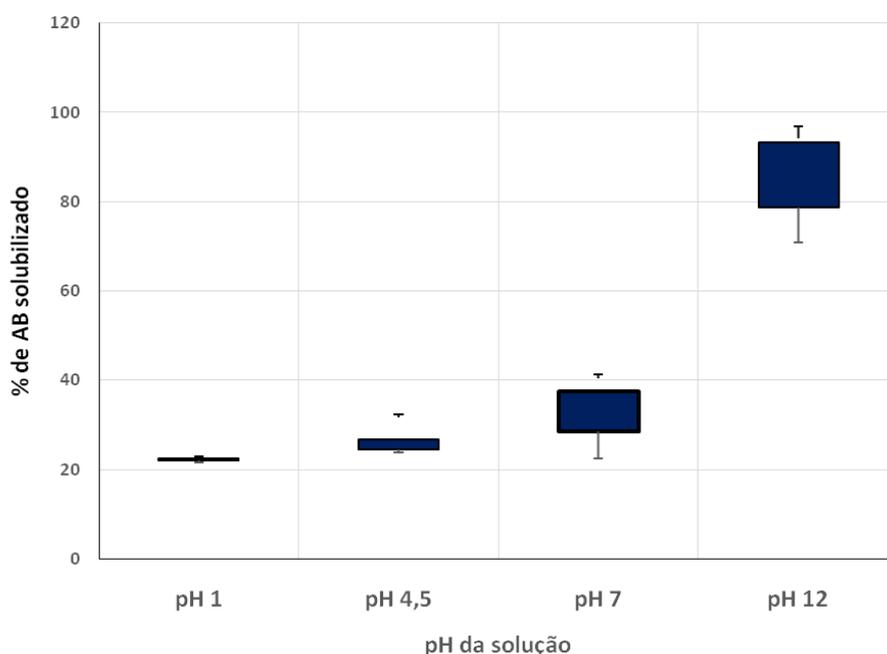
## Resultados e Discussão

### Solubilidade do marcador AB no extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)

Pode-se observar a solubilidade de AB no extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) em diferentes pHs (**FIGURA 2**), onde apresentou uma melhor solubilidade em pH 12, sendo este um pH impróprio para um medicamento.

Como o marcador possui atividade antitumoral e a intenção seria utilizar o extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) como insumo farmacêutico ativo vegetal (IFAV) para desenvolver um medicamento, tem-se a necessidade de utilizar técnicas de dispersão sólida para aumentar a solubilidade de AB em pH 7.

**FIGURA 2:** Solubilidade de AB presente no extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).



### Delineamento experimental

Os resultados do delineamento experimental apresentaram boa adequabilidade ao modelo, por apresentar o valor de (p-valor) falta de ajuste menor que ( $<0,05$ ), valores de F significativos apresentando um p-valor ( $<0,05$ ). O modelo quadrático obteve  $R^2$  e  $R^2_{aj}$  de 0.94 e 0.91 respectivamente, sendo assim explicando uma alta variabilidade dos dados.

Na **TABELA 2** estão representados os experimentos propostos pelo DFC, totalizando os 45 experimentos realizados. Neste planejamento as variáveis independentes estudadas foram: Extrato ( $X_1$ ), Gelucire ( $X_2$ ) e Lactose ( $X_3$ ).

**TABELA 2:** Delineamento Faces Centradas (DFC) utilizado para o preparo das dispersões sólidas de extratos de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).

Amostra	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Área (AU)	Solubilidade AB (%)
DS1A (50:500:100)	-1	-1	-1	7772075	47,0
DS1B (50:500:100)	-1	-1	-1	7669891	46,6
DS1C (50:500:100)	-1	-1	-1	7633293	45,8
DS2A (500:500:100)	1	-1	-1	4353634	29,0
DS2B (500:500:100)	1	-1	-1	5312385	35,5
DS2C (500:500:100)	1	-1	-1	3897466	25,8
DS3A (50:950:100)	-1	1	-1	11706492	80,6
DS3B (50:950:100)	-1	1	-1	10463834	72,0
DS3C (50:950:100)	-1	1	-1	11562935	80,5
DS4A (500:950:100)	1	1	-1	6630821	48,9
DS4B (500:950:100)	1	1	-1	6564158	47,4
DS4C (500:950:100)	1	1	-1	6075709	44,3
DS5A (50:500:300)	-1	-1	1	4388792	44,8
DS5B (50:500:300)	-1	-1	1	4284484	43,6
DS5C (50:500:300)	-1	-1	1	3630565	36,5

DS6A (500:500:300)	1	-1	1	1661303	10,9
DS6B (500:500:300)	1	-1	1	1407230	9,1
DS6C (500:500:300)	1	-1	1	1276814	8,2
DS7A (50:950:300)	-1	1	1	5552694	46,2
DS7B (50:950:300)	-1	1	1	5553887	46,0
DS7C (50:950:300)	-1	1	1	5109400	42,3
DS8A (500:950:300)	1	1	1	3807163	31,4
DS8B (500:950:300)	1	1	1	3991960	32,9
DS8C (500:950:300)	1	1	1	2364261	19,5
DS9A (50:725:200)	-1	0	0	6051681	40,9
DS9B (50:725:200)	-1	0	0	6908175	47,4
DS9C (50:725:200)	-1	0	0	5443009	37,3
DS10A (500:725:200)	1	0	0	1702360	11,1
DS10A (500:725:200)	1	0	0	1660592	10,7
DS10C (500:725:200)	1	0	0	1704739	11,1
DS11A (275:500:200)	0	-1	0	4904240	40,0
DS11B (275:500:200)	0	-1	0	5417894	44,0
DS11C (275:500:200)	0	-1	0	5427066	44,3
DS12A (275:950:200)	0	1	0	3399174	22,8
DS12B (275:950:200)	0	1	0	3372141	21,9
DS12C (275:950:200)	0	1	0	3263470	21,3
DS13A (275:725:100)	0	0	-1	1508238	19,4
DS13B (275:725:100)	0	0	-1	1635134	17,5
DS13C (275:725:100)	0	0	-1	1601306	17,0
DS14A (275:725:300)	0	0	1	4440657	28,0
DS14B (275:725:300)	0	0	1	4506526	28,2
DS14C (275:725:300)	0	0	1	5523346	34,7
DS15A (275:725:200)	0	0	0	4502198	40,3
DS15B (275:725:200)	0	0	0	4332800	38,6
DS15C (275:725:200)	0	0	0	4402002	39,1

X<sub>1</sub>= Extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae); X<sub>2</sub>= Gelucire®50/13; X<sub>3</sub>= Lactose monohidratada *spray dried*.

A **TABELA 3** apresenta às interações de primeira e de segunda ordem ( $p < 0,05$ ) as interações com efeito quadrático primário foram: Extrato (X<sub>1</sub>) Gelucire (X<sub>2</sub>) e Lactose (X<sub>3</sub>) e para a segunda ordem as interações quadráticas que foram significativas ( $p < 0,05$ ) foi extrato (X<sub>1</sub>) / Lactose (X<sub>3</sub>) e Gelucire (X<sub>2</sub>) / Lactose (X<sub>3</sub>).

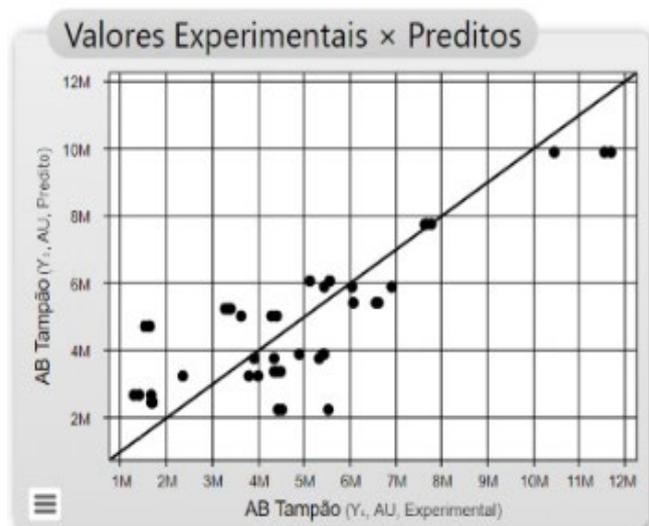
**TABELA 3:** Análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão polinomial quadrática.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	Valor-F	P
X <sub>1</sub>	38,0772	2	4,07.10 <sup>13</sup>	89,86599	0,000000
X <sub>2</sub>	118,6338	2	7,69.10 <sup>12</sup>	16,94479	0,000015
X <sub>3</sub>	348,9200	2	1,16.10 <sup>13</sup>	25,55636	0,000000
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	19,4220	4	1,35.10 <sup>13</sup>	29,91133	0,000000
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	116,1160	2	1,79.10 <sup>12</sup>	3,96554	0,030453
Falta de ajuste	61,6855	1	1,95.10 <sup>12</sup>	4,31574	0,047049
Erro padrão	1,2555	28	4,53.10 <sup>11</sup>		
Soma dos quadrados - total	704,1099	43			

X<sub>1</sub>= Extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae); X<sub>2</sub>= Gelucire50/13; X<sub>3</sub>= Lactose monohidratada *spray dried*. \* $p < 0,005$ .

A **FIGURA 3** apresenta uma similaridade entre os valores obtidos experimentais versus os valores preditos, mostram os 45 experimentos realizados e que apresentam boa correlação entre eles corroborando com os resultados apresentados na **TABELA 2**.

**FIGURA 3:** Correlação entre os valores experimentais (valores observados) e valores preditos (calculado usando o modelo estatístico). Para o marcador ácido betulínico.

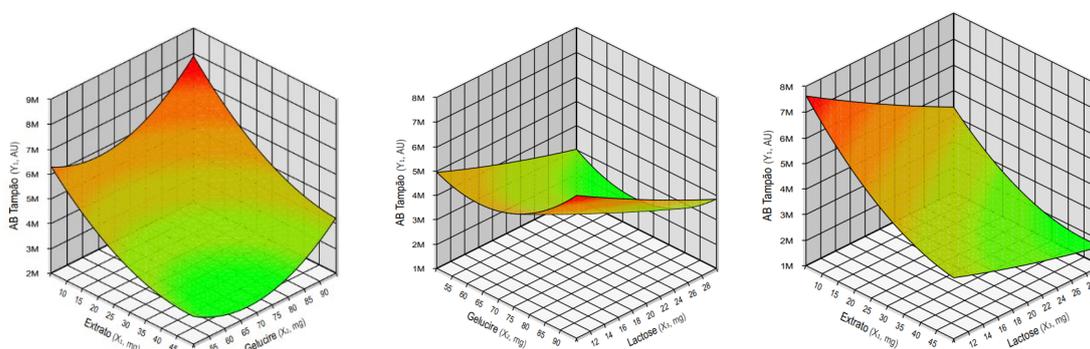


A equação Eq. 02 representa o modelo estatístico matemático para explicar as variáveis independentes que foram estudadas para melhorar a solubilidade do marcador ácido betulínico em pH 7,0.

$$y = 3366640,83 - 1710686,73X_1 + 679365,90X_2 - 1229609,97X_3 + 415136,08X_1X_3 - 276459,08X_2X_3 - 126871,33X_1X_2 \text{ (Eq.02)}$$

A superfície de resposta gerada pelo modelo relaciona a influência entre o extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) e os carreadores Gelucire®50/13 e lactose monohidratada representado pelas (FIGURAS 4A, 4B E 4C) na qual a FIGURA 4B representa uma correlação entre Gelucire®50/13 e lactose monohidratada demonstrando a adequabilidade do modelo, porém para que ocorra uma otimização com o ponto ideal serão necessários novos desenhos experimentais.

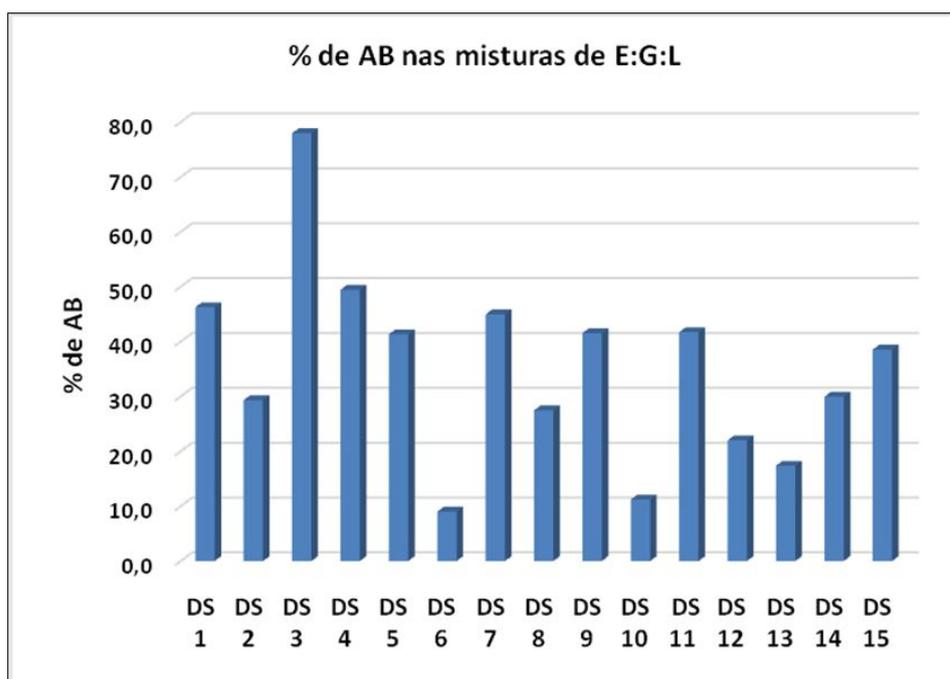
**FIGURA 4:** Gráfico de superfície de resposta utilizado para avaliar solubilidade do ácido betulínico presente nos extratos de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) das dispersões sólidas.



**A.** Gráfico de superfície de resposta da relação entre Gelucire®50/13 e extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) no aumento da solubilidade do ácido betulínico; **B.** Gráfico de superfície de resposta da relação entre Gelucire®50/13 e lactose monohidratada *spray dried* no aumento da solubilidade do ácido betulínico; **C.** Gráfico de superfície de resposta da relação entre lactose monohidratada *spray dried* e extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) no aumento da solubilidade do ácido betulínico.

Para uma melhor visualização das dispersões sólidas obtidas a partir do delineamento experimental, e definição da melhor proporção de extratos e carreadores, foi elaborado um gráfico de barras (**FIGURA 5**) utilizando-se as médias das três repetições do delineamento experimental, obtendo-se assim 15 resultados de solubilidade do marcador ácido betulínico. A dispersão que melhor solubilizou o ácido betulínico foi DS3 com 50 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 + 100 mg lactose monohidratada, apresentando uma solubilidade de 80% de ácido betulínico no pH 7.

**FIGURA 5:** Resposta relativa de solubilidade em solução tampão pH 7 do marcador ácido betulínico presente no extrato de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) nas dispersões sólidas.



DS1-50 mg de Extrato + 500 mg Gelucire®50/13 +100 mg lactose monohidratada; DS2-500 mg de Extrato + 500 mg Gelucire®50/13 +100 mg lactose monohidratada; DS3-50 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 +100 mg lactose monohidratada; DS4-500 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 +100 mg lactose monohidratada; DS5-50 mg de Extrato + 500 mg Gelucire®50/13 +300 mg lactose monohidratada; DS6-500 mg de Extrato + 500 mg Gelucire® 50/13 +300 mg lactose monohidratada; DS7-50 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 +300 mg lactose monohidratada; DS8-50 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 +300 mg lactose monohidratada; DS9-50 mg de Extrato + 725 mg Gelucire®50/13 + 200 mg lactose monohidratada; DS10-500 mg de Extrato + 725 mg Gelucire®50/13 + 200 mg lactose monohidratada; DS11-275 mg de Extrato + 50 mg Gelucire®50/13 + 200 mg lactose monohidratada; DS12-275 mg de Extrato + 95 mg Gelucire®50/13 + 200 mg lactose monohidratada; DS13-275 mg de Extrato + 725 mg Gelucire®50/13 + 100 mg lactose monohidratada; DS14-275 mg de Extrato + 725 mg Gelucire®50/13 + 300 mg lactose monohidratada; DS15-275 mg de Extrato + 725 mg Gelucire®50/13 + 200 mg lactose monohidratada.

A dispersão sólida foi preparada pelo processo de fusão do Gelucire®50/13 e incorporação do extrato e lactose, na qual o polímero demonstrou sua capacidade de aumentar a solubilidade do AB quando utilizado em grandes quantidades juntamente com um suporte hidrofílico. Foi avaliado cada parâmetro que envolveu o preparo da dispersão sólida até otimizar todo o processo. O estudo de Maquiafável *et al.*<sup>[30]</sup> demonstrou

no planejamento de secagem de própolis que quase todos os parâmetros influenciaram no processo de secagem do produto.

Outras técnicas de preparo de dispersões sólidas também devem ser testadas com os mesmos carreadores para avaliar se o processo pode melhorar e aumentar a solubilidade já observada do AB nas dispersões sólidas. Pereira *et al.*<sup>[31]</sup> utilizaram a metodologia de fusão e sonicação para o preparo das dispersões sólidas, e observou uma relação proporcional entre o tempo de sonicação com a solubilidade do fármaco.

### Validação da metodologia CLAE

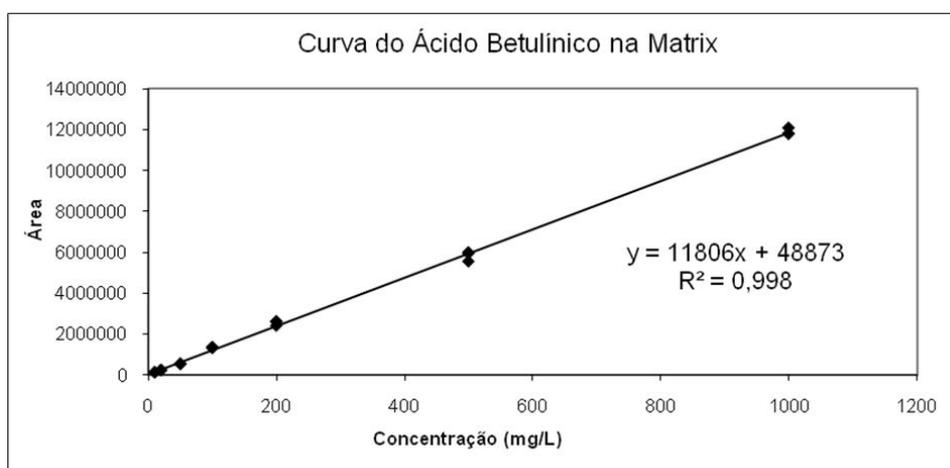
Uma série de experimentos com relação à linearidade, limites de detecção (LODs), limites de quantificação (LOQs) e reprodutibilidade do método foi realizada para validar o método proposto nas condições de trabalho otimizadas.

Esses resultados (**TABELA 4**) demonstram que o método proposto possui boa reprodutibilidade e alta sensibilidade para determinar o ácido betulínico em extratos de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).

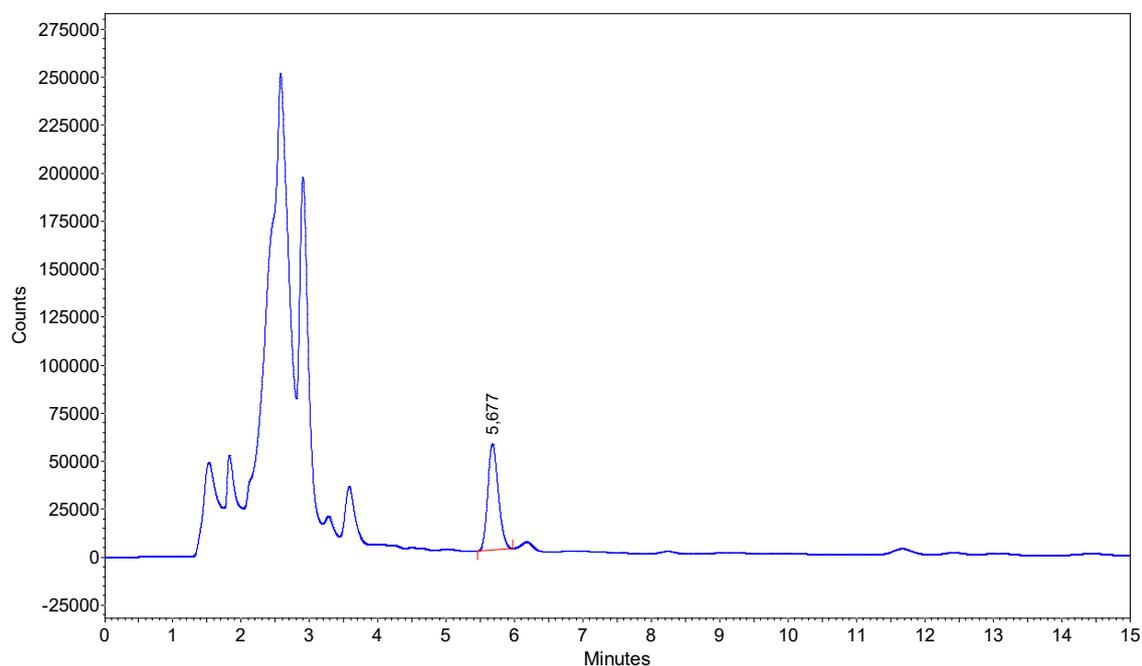
**TABELA 4:** Resumo dos parâmetros da curva de calibração do ácido betulínico (AB).

Parâmetros de Mérito	Resultados
Linearidade	
Faixa de Trabalho	10-1000 mg / L
R <sup>2</sup> (solvente)	0,9989
R <sup>2</sup> (matriz)	0,9993
Limite de detecção	2,4 mg / L
Limite de quantificação	7,2 mg / L
Precisão	
Repetibilidade	<3,5%
Intermediária	$t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$
Tendência	
Recuperação (nos 3 níveis de concentração)	95%-108%
Robustez	
Varição da vazão (0,98 – 1,02 mL/min)	< 5%

**FIGURA 6:** Curva de calibração do ácido betulínico (AB) na faixa de 10–1000  $\mu$  mL<sup>-1</sup>.



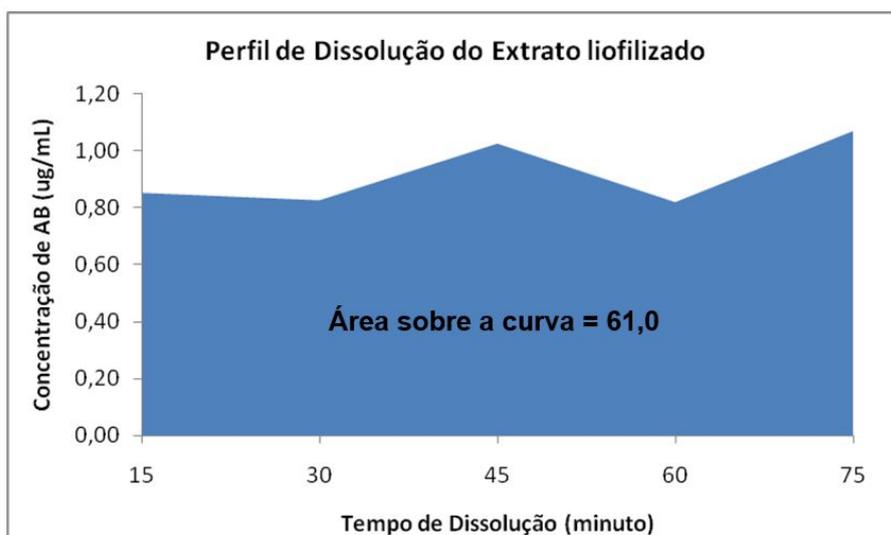
**FIGURA 7:** O cromatograma por CLAE do extrato etanólico de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) enriquecido com 20 mg/L de ácido betulínico (5,677 min). As condições cromatográficas foram acetonitrila: água pH 3,0 (90:10), 210 nm, 1 mL/min de vazão.



### Perfil de dissolução

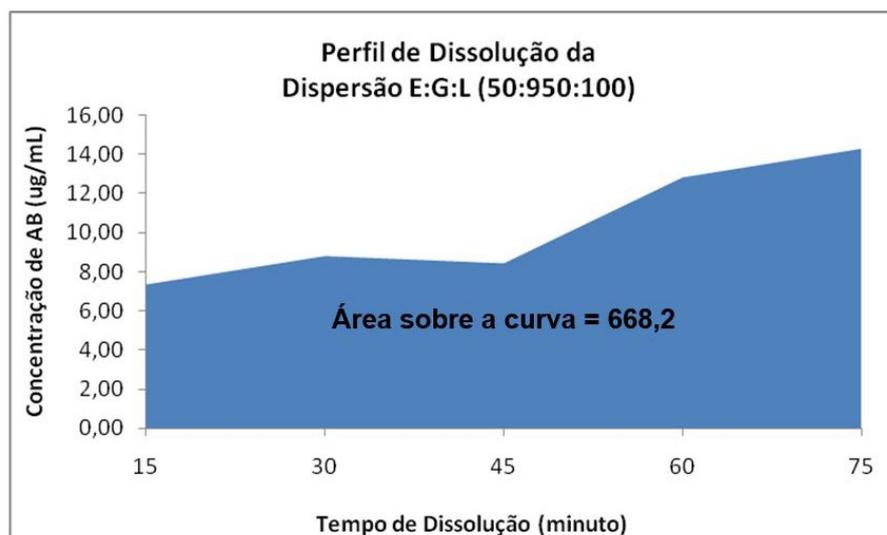
De acordo com os gráficos demonstrados nas Figuras 8 e 9, o perfil de dissolução da dispersão sólida DS3 (50 mg de Extrato + 950 mg Gelucire®50/13 +100 mg lactose monohidratada) apresentou um valor de área sobre a curva com cerca de 11 vezes maior do que aquele observado na dissolução do extrato liofilizado. Desta forma, é possível inferir que a presença dos carreadores lactose e gelucire proporciona uma solubilização do ácido betulínico mais eficiente, nestas condições.

**FIGURA 8:** Perfil de dissolução do extrato liofilizado do marcador ácido betulínico (AB) presente nas folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).



**FIGURA 9:** Perfil de dissolução da dispersão sólida (DS3) do marcador ácido betulínico (AB) presente no extrato liofilizado das folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).

Área sobre a curva = 668,2

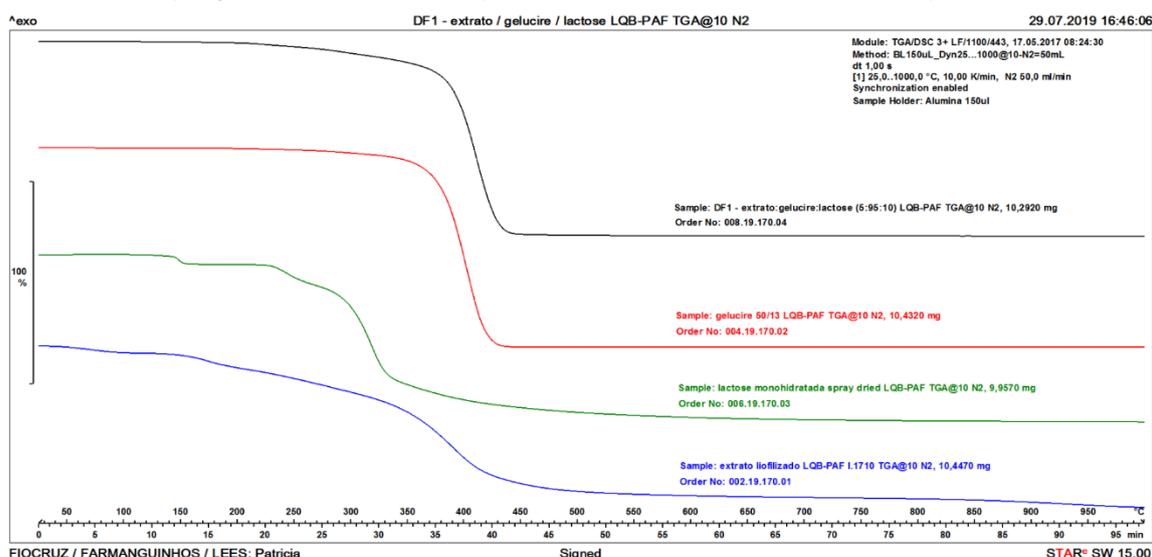


### Caracterização das dispersões sólidas

#### Análise Térmica

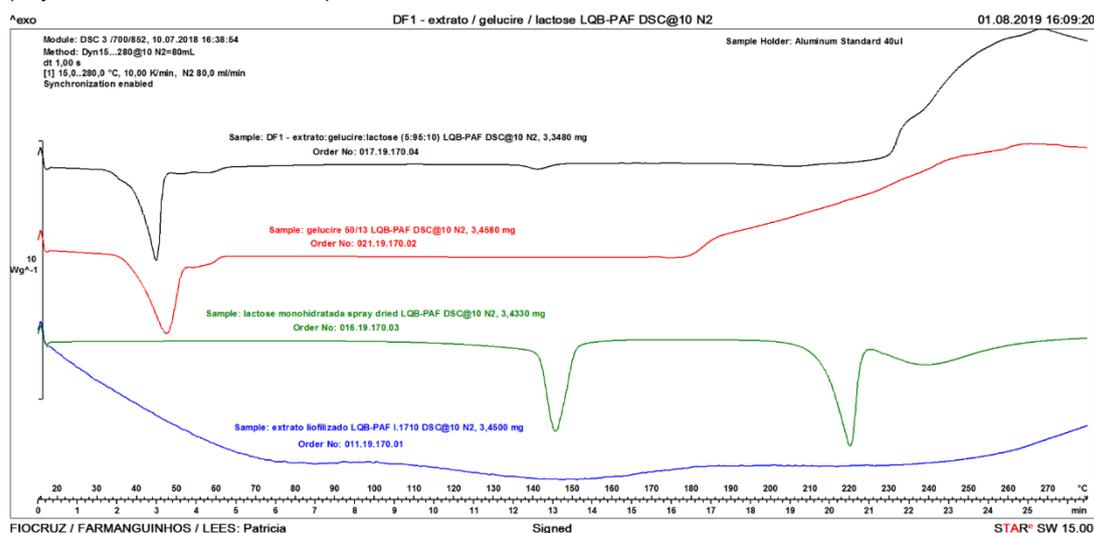
A curva de TGA da dispersão sólida DS3 pode ser observado na **FIGURA 10**. A dispersão DS3 apresentou um comportamento semelhante ao do carreador Gelucire®50/13 que é o maior constituinte da dispersão. Além disso, a dispersão foi termicamente estável até aproximadamente 170°C. Isso mostra que o processo utilizado para obter as dispersões sólidas utilizadas neste estudo foi adequado para esses materiais, pois as amostras foram fundidas a aproximadamente 50°C.

**FIGURA 10:** Comparação da curva de TGA da dispersão sólida DS3 com as curvas de seus componentes



A curva de DSC da dispersão sólida DS3 - 50:950:100 (Extrato: Gelucire®50/13: lactose monohidratada) apresentou um evento endotérmico de maior intensidade na faixa entre 30 e 50°C e um Segundo evento, de baixa intensidade por volta de 140°C. A degradação da amostra ocorre em torno de 230°C. Comparando os resultados de DSC (**FIGURA 11**) da amostra com os carreadores, é possível relacionar o primeiro evento com a fusão do Gelucire®50/13, e o Segundo evento, com o sinal de hidratação da lactose.

**FIGURA 11:** Termograma DSC do extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae), lactose monohidratada spray drier, Gelucire®50/13 e a dispersão sólida DS3.



### Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Análises FT-IR foram realizadas para verificar se a dispersão sólida promoveu alguma interação entre o extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) e os carreadores utilizados neste estudo.

Analisando separadamente cada componente da dispersão sólida foi possível observar que no extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) as bandas principais do marcador AB em aproximadamente 1685 (C=O) e 1448 (C-O-H)  $\text{cm}^{-1}$ . No carreador Gelucire®50/13 foi possível observar as bandas referentes a hidroxila e carbonila em aproximadamente 1729 e 3400  $\text{cm}^{-1}$ . Segundo Eloy *et al.* [32], estes grupos são característicos da estrutura química deste carreador, com bandas em aproximadamente 1650  $\text{cm}^{-1}$  e 3400  $\text{cm}^{-1}$ . Segundo Raut *et al.* [33], a forma monohidratada da lactose exibe picos de estiramento O-H nítidos e distintos em 3521,5  $\text{cm}^{-1}$ . Na amostra analisada foi possível observar um pico em 3521,90  $\text{cm}^{-1}$ . Além disso, também foi possível observar bandas principais nas regiões de 3300 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  e de 1201 a 967  $\text{cm}^{-1}$ .

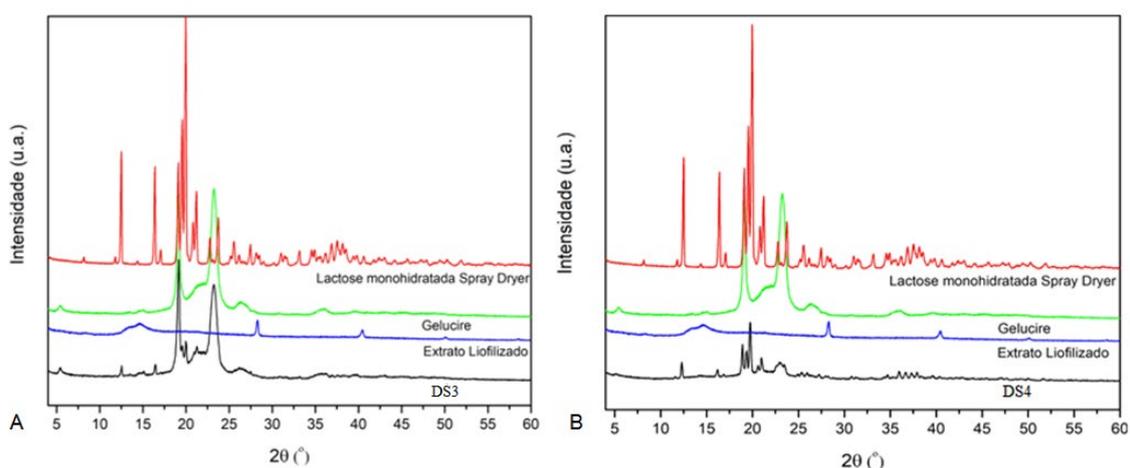
Na análise da dispersão sólida DS3, não foi possível observar as bandas características do marcador AB na região 1685 e 1448  $\text{cm}^{-1}$ , provavelmente, isso ocorreu devido a pouca quantidade de extrato em relação ao carreador Gelucire®50/13 que apresentou uma banda característica em 1729  $\text{cm}^{-1}$ . Ao avaliar a dispersão sólida DS4 que contém uma maior quantidade de extrato observou-se o surgimento de uma banda em 1612  $\text{cm}^{-1}$ , sugerindo um deslocamento da banda característica do marcador AB que nessa dispersão DS4 está em maior quantidade do que em DS3.

## Difratometria de Raios X

Na **FIGURA 12**, pode-se observar a medida de DRX da dispersão sólida DS3, sendo a dispersão sólida que tem menor quantidade de extrato e que apresentou melhor solubilidade do AB, e DS4 uma dispersão com 10 vezes mais quantidade de extrato liofilizado, sendo a solubilidade de AB menor.

Na **FIGURA 12A**, pode-se comparar a difração da dispersão sólida com a difração dos seus componentes, podendo observar a posição dos picos da lactose e do Gelucire®50/13 presentes no difratograma da dispersão. Entretanto, não se pode afirmar que os picos referentes ao extrato (28,3° e 40,46°) estão presentes no difratograma da dispersão. A baixa concentração do extrato na dispersão e/ou sua baixa cristalinidade, pode ser a razão para não identificar a sua presença, pode-se sugerir que o extrato manteve a sua forma cristalina durante o processo de preparo da dispersão sólida. Já na **FIGURA 12B** pode-se observar o aumento da intensidade dos picos e observa-se novos picos, provavelmente, devido ao aumento 10 vezes da concentração do extrato na dispersão sólida.

**FIGURA 12:** Difração de raios X das dispersões sólidas DS3 e DS4 e seus componentes (lactose monohidratada *spray drier*, Gelucire®50/13, extrato liofilizado de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae)).



Difração de raios X da dispersão DS3 - 50:950:100 (Extrato: Gelucire®50/13:lactose monohidratada). B. Difração de raios X da dispersão DS4 - 500:950:100 (Extrato:Gelucire®50/13:lactose monohidratada).

## Conclusão

Este estudo foi o primeiro relato de desenvolvimento de dispersões sólidas a partir de extratos liofilizados de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae), que contém o marcador ativo ácido betulínico (lipofílico e antitumoral), utilizando os carreadores o Gelucire®50/13 como polímero e a lactose monohidratada como suporte hidrofílico. A dispersão sólida desenvolvida neste estudo apresentou um aumento da solubilidade do marcador ácido betulínico em onze vezes em relação do que foi observado na solubilidade do extrato liofilizado. A dispersão sólida foi caracterizada por técnicas de FTIR, DSC, TGA e DRX e os resultados corroboraram para avaliar que o extrato não foi degradado durante o preparo das dispersões sólidas. Portanto, a dispersão sólida, apresentou um acentuado aprimoramento da solubilidade do marcador AB e sua capacidade de ser dissolvido de maneira completa e rápida, ao contrário do extrato liofilizado.

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Química da Biodiversidade, Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (PAF) de Farmanguinhos, ao Laboratório de Estudos do Estado Sólido de Farmanguinhos e ao Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Bioprodutos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás.

## Referências

1. Lorenzi H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. 2ª ed., Nova Odessa, São Paulo, 382p, 2000. ISBN-10: 858671450X.
2. Stevens PF. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, July 2012. [and more or less continuously updated since]. [\[Link\]](#).
3. Junges MJ. Triterpenos de *Eugenia florida* DC de potencial Anti-HIV. **Cad Farm**. Fundação Universidade de Rio Grande. 1997; 13(2): 103-104.
4. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**, 6ª ed., Ed. Universidade/UFRSC/ED. UFSC, Porto Alegre, 475p, 2007. ISBN: 9788570259271.
5. Mukherjee PK, Saha K, Das J, Pal M, Saha BP. Studies on the Anti-inflammatory activity of rhizomes of *Nelumbo nucifera*. **PI Med**. 1997; 63: 367-369. [\[CrossRef\]](#).
6. Sami A, Taru M, Salme K, Jari YK. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. **Eur J of Pharmac Sci**. 2006; 29(1): 1-13. ISSN 0928-0987. [\[CrossRef\]](#).
7. Baltina LA, Flakhter OB, Nigmatullina LR, Boreko EI, Pavlova NI, Nikoleave SN *et al*. Lupane triterpenes and derivatives with antiviral activity. **Bioorg Med Chem Lett**. 2003; 13(20): 3549-3552. ISSN 0960-894X. [\[CrossRef\]](#).
8. Hess SC, Brum RL, Honda NK, Cruz AB, Moretto E, Cruz RB *et al*. Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Vochysia divergens* (Vochysiaceae). **J Ethnophar**. 1995; 47(2): 97-100. ISSN 0378-8741. [\[CrossRef\]](#).
9. Pavlova NI, Savoniva OV, Nikolaeva SN, Boreko EI, Flekhter OB. Antiviral activity of betulin, betulonic acid and betulonic acid against some enveloped and non-enveloped viruses. **Fitoterapia**. 2003; 74(5): 489-492. ISSN 0367-326X. [\[CrossRef\]](#).
10. Cichewicz RH, Kouzi SA. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulonic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. **Med Res Rev**. 2004; 24(1): 90-114. [\[CrossRef\]](#)[\[PubMed\]](#).
11. Pisha E, Chai H, Lee I, Chagwedera TE, Faensworth NR, Cordell GA *et al*. Discovery of betulonic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. **Nat Med**. 1995; 1: 1046-1051. [\[CrossRef\]](#).
12. Schmidt M, Kunesch N, Poisson J, Gantier JC, Gayral P, Dedet JP. Isolation of Leishmanicidal triterpenes and lignans from Amazonian Liana *Dollicarpus dentatus* (Dilleneaceae). **Phytother Res**. 1997; 10: 1-4. [\[CrossRef\]](#).
13. Fulda S, Jeremias I, Siener HH, Pietsch T, Debatin KM. Betulinic acid: A new cytotoxic agent against malignant brain-tumor cells. **Int J Cancer**. 1999; 82: 435-441. [\[CrossRef\]](#).

14. Ovesna Z, Vachálková A, Horváthová K, Tóthová D. Pentacyclic triterpenoic acids: new chemoprotective compounds. Minireview. **Neoplasma**. 2004; 51(5): 327-333. [[PubMed](#)].
15. Sami A, Taru M, Salme K, Jari YK. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. **Eur J Pharm Sci**. 2006; 29(1): 1-13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
16. Fulda S. Betulinic acid for cancer treatment and prevention. **Inter J Molec Sci**. 2008; 9(6): 1096-1107. [[CrossRef](#)].
17. Fulda S, Debatin K. Sensitization for anticancer drug-induced apoptosis by betulinic acid. **Neoplasia**. 2005; 7(2): 162-170. ISSN 1476-5586. [[CrossRef](#)].
18. Zuco V, Supino R, Righetti SC, Cleris L, Marchesi E, Gambacorti-Passerini C *et al*. Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not normal cells. **Cancer Lett**. 2002; 175(1): 17-25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Csuk R. Betulinic acid and its derivatives: a patent review (2008-2013). **Expert Op Therap Paten**. 2014; 24(8): 913-23. [[CrossRef](#)].
20. Almeida H. **Métodos para o incremento da solubilidade de substâncias ativas pouco solúveis (BCS – Classe II)**. 126 f. Lisboa. 2009. Dissertação de Mestrado [em Farmacotecnia Avançada]. Universidade de Lisboa. Lisboa. 2009. [[Link](#)].
21. Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **Euro J Pharm Bio**. 2000; 50(1): 47-60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Babu VR, Areefulla SH, Mallikarjun V. Solubility and dissolution enhancement: An overview. **J Pharm Res**. 2010; 3(1): 141-145. ISSN 0974-6943. [[Link](#)].
23. Daman F, Blaton N, Naesens L, Balzarini J, Kinget R, Augustuns P *et al*. Physicochemical characterization of solid dispersions of the antiviral agent UC-781 with polyethylene glycol 6000 an Gelucire 44/14. **Euro J Pharm Sci**. 2000; 10(4): 311-322. [[CrossRef](#)].
24. Sethia S, Squillante E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Crit Rev Therap drug Carrier Syst**. 2003; 20(2-3): 215-247. [[CrossRef](#)].
25. Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water-soluble drugs. **Drug Discov Today**. 2007; 12(23-24): 1068-1075. [[CrossRef](#)].
26. Nóbrega AB. **Obtenção de um insumo farmacêutico ativo vegetal a partir de folhas de Eugenia florida DC para o desenvolvimento de um antitumoral**. Niterói, 2017. 300 f. Tese de Doutorado [em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde] – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense, UFF, Niterói 2017. [[Link](#)].
27. Kumar D, Mallick S, Vedasiromon JR. Anti-leukemic activity of *Dillenia indica* L. fruit extract and quantification of betulinic acid by HPLC. **Phytomedicine**. 2010; 17(6): 431-435. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
28. INMETRO DOQ-CGCRE-008 Revisão 5: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**, 2016.
29. USP33/NF27. General Chapter. Chemical tests / Dissolution. In: (Ed.) **U.S. Pharmacopeia & National Formulary**. United States Pharmacopea, 2010. [[Link](#)].
30. Marquifável FS, Nascimento AP, Barud HS, Oliveira FM, Freitas LAP, Bastos JK *et al*. Development and characterization of a novel standardized propolis dry extract obtained by factorial design with high artemillin C content. **J Pharm Tech Drug Res**. 2015; 4(1): 1-13. [[CrossRef](#)].

31. Pereira SV, Colombo FB, de Freitas LAP. Ultrasound influence on the solubility of solid dispersions prepared for a poorly soluble drug. **Ultrason Sonochem.** 2015; 29: 461-469. [[CrossRef](#)].
32. Eloy JO, Saraiva J, de Albuquerque S, Marchetti JM. Solid Dispersion of Ursolic Acid in Gelucire 50/13: a Strategy to Enhance Drug Release and Trypanocidal Activity. **AAPS Pharm Sci Tech.** 2012; 13(4): 1436-1445. [[CrossRef](#)].
33. Raut DM *et al.* Dehydration of lactose monohydrate: analytical and physical characterization. **Scholars Res Lib.** 2011; 3(5): 202-212. ISSN 0975-5071. [[Link](#)].

---

Histórico do artigo | Submissão: 06/08/2020 | Aceite: 21/07/2021 | Publicação: 17/12/2021

**Conflito de interesses:** O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

**Como citar este artigo:** Nóbrega AB, Bizarri CHB, Paz AS, Seiceira RC *et al.* Dispersões sólidas de extratos de folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) para otimização da solubilidade do marcador ácido betulínico. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2021; 15(4): 456-473. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1070>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

**Licença CC BY 4.0:** Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

