

REVISTA

Fitos[®]

e-ISSN: 2446-4775 | ISSN 1808-9569

Número Temático de
Desenvolvimento Tecnológico e
Inovação em Fitomedicamentos

Volume 14 - Número 2
Abril - Junho 2020

Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Medicamentos da Biodiversidade

Foto de capa: jcomp/FreePik - Cannabis L. (Cannabaceae)

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

farmanginhos
Instituto de Tecnologia em Fármacos



e-ISSN: 2446-4775 | ISSN: 1808-9569

Presidente da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ): Nísia Trindade Lima

Diretor do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos): Jorge Souza Mendonça

Coordenador do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS): Glauco de Kruse Villas-Bôas

Editores

Editor de Pesquisa Maria Helena Durães Alves Monteiro, FIOCRUZ

Editor de Desenvolvimento Edemilson Cardoso da Conceição, UFG

Editor de Inovação Glauco de Kruse Villas-Bôas, FIOCRUZ

Editores Associados

Emiliano de Oliveira Barreto, UFAL

Érica Speaglich, USP

Israel Felzenszwalb, UERJ

Ivanildes Vasconcelos Rodrigues, UFJF

João Paulo Viana Leite, UFV

Marcelo Neto Galvão, FIOCRUZ

Marcos Sorrentino, USP

Marisa Fernandes Mendes, UFRRJ

Paulo Rogério Lopes, UFPR

Rodolfo Santos Barboza, UFRJ

Editor Executivo

Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu, FIOCRUZ

Corpo Editorial:

Benjamin Gilbert, FIOCRUZ, Brasil

Cecília Veronica Nunez, INPA, Brasil

Edeltrudes de Oliveira Lima, UFPB, Brasil

Jan Carlo Delorenzi, Universidade Presbiteriana Mackenzie, Brasil

Jislaine de Fátima Guilhermino, FIOCRUZ, Brasil

João Marcos Hausmann Tavares, UFRJ, Brasil

José Maria Guzman Ferraz, UFSCar, Unicamp, Brasil

Katia Soares da Poça, INCA, Brasil

Maria Aparecida Medeiros Maciel, UFRN, Brasil

Maria Cecilia Tomassini Urti, Universidad de República Uruguay, Uruguai

Maria Cristina Marcucci Ribeiro, UNIBAN, Brasil

Nilson do Rosário Costa, FioCruz, Brasil

Norma Albarello, UERJ, Brasil

Sarita Albagli, IBIC, Brasil

Ulysses Paulino de Albuquerque, UFPE, Brasil

REVISTA FITOS

Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

Correspondência / Mail

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

FIOCRUZ, Farmanguinhos, Complexo Tecnológico de Medicamentos - CTM

Av. Comandante Guarany, 447 Jacarepaguá - Rio de Janeiro, RJ, Brasil

CEP 22775-903

revistafitos@far.fiocruz.br

Tel.: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

Informações para cadastro e submissão / Registration and submission information

www.revistafitos.far.fiocruz.br

Tel: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br

Acesso online / Online access

Artigos disponíveis em formatos PDF e HTML no endereço eletrônico:

www.revistafitos.far.fiocruz.br

Classificação CAPES-Qualis

Qualis B4 – Interdisciplinar, Medicina Veterinária e Odontologia

Qualis B5 – Biotecnologia, Ciências Agrárias, Ciências Ambientais, Engenharia II e Saúde Coletiva

Qualis C – Biodiversidade, Ciências Biológicas II, Ciências Biológicas III, Farmácia e Química

Escritório Editorial - CIBS

Yolanda de Castro Arruda – Revisão textual e normativa

Eugênio Telles – Editoração digital

Apoio CIBS

Preciosa de Jesus Meireles de Oliveira – Assessoria de gestão

Denise Monteiro da Silva – Assessoria de comunicação e divulgação

Associada à ABEC

**Associação Brasileira
de Editores Científicos**



Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

Revista Fitos: pesquisa, desenvolvimento e inovação em fitoterápicos. /
Fundação Oswaldo Cruz; Instituto de Tecnologia em Fármacos; Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde. – v.1, n.1, (Jun. 2005), - .
Rio de Janeiro: CIBS, 2005 – v.: il.

Anual: 2007 e 2011
Interrompida: 2008, 2014
Quadrimestral: 2010, 2018
Trimestral: 2012, 2015, 2016, 2019
Semestral: 2005, 2006, 2009, 2013, 2017
ISSN 1808-9569
e-ISSN 2446-4775

1. Fitoterápicos. 2. Fitofármacos. 3. Medicamentos de origem vegetal.
4. Biodiversidade. 5. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) I.
Fundação Oswaldo Cruz. II. Instituto de Tecnologia em Fármacos. Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde.

CDD 615.32

Revista Fitos

e-ISSN 2446-4775 | ISSN 1808-9569

Volume 14, número 2

Número Temático de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação em Fitomedicamentos

Abril - Junho 2020

APRESENTAÇÃO

Yolanda Arruda 162-163

EDITORIAL

Desenvolvimento tecnológico e inovação em fitomedicamentos 164

Edemilson Cardoso da Conceição.

ARTIGO DE PESQUISA

Desenvolvimento e validação de um método por CCD/densitometria para quantificação de psoraleno e bergapteno em *Brosimum gaudichaudii* Trécul 165-176

Development and validation of an HPTLC densitometry method for psoralen and bergapten quantification in *Brosimum gaudichaudii* Trécul

Morais, Mariana Cristina; Garcia, Nathália Olívia Sousa; Lessa, Bruno da Motta; Nóbrega, Andréa Bezerra da; Conceição, Edemilson Cardoso da.

Evaluation of TLC-densitometry assay validation applied to complex matrix 177-190

Avaliação da validação da metodologia CCD-densitometria aplicada a uma matriz complexa

Nóbrega, Andrea Bezerra da; Lessa, Bruno da Motta; Bizarri, Carlos Henrique Brasil; Wollinger, Wagner; Lopes, Claudio Cerqueira; Lopes, Rosângela Sabbatini Capella; Slana, Gláucia Barbosa Candido Alves; Paiva, Selma Ribeiro.

Produção e avaliação de comprimidos contendo elevado teor de extratos secos de *Maytenus ilicifolia* 191-206

Production and evaluation of tablets containing high amount of *Maytenus ilicifolia* dried extract

Soares, Luiz Alberto Lira; Ferreira, Magda Rhayanne Assunção.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

O Projeto Ecolume: O paradigma da abundância na convivência com o clima semiárido no Nordeste brasileiro 207-221

The Ecolume Project: the paradigm of abundance in living with the semi-arid climate in Northeastern Brazil

Lacerda, Francinete Francis; Lopes, Geraldo Majella Bezerra; Coutinho, Robério Daniel da Silva; Santos, Sebastião Alves dos; Silva, Márcia Vanusa da; Sabino, Heitor Branco; Lima, João Paulo Vianade.

REVISÃO

A cadeia produtiva na Gestão da Inovação da Biotecnologia: o camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no Amazonas 222-237

The production chain in Biotechnology Innovation Management: camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) in the Amazon

Billacrês, Máximo Alfonso Rodrigues; Costa, Reinaldo Correa; Nunez, Cecilia Veronica.

Avaliação química e biológica de *Graphium jumulu*, fungo endofítico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae) 238-248

Chemical and biological evaluation of *Graphium jumulu*, endophytic fungus of *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae)

Silva, Weison Lima da; Fachin-Espinar, María Teresa; Souza, Maria Carolina Scheffer de; Lima, Laísley Martins; Nunez, Cecilia Veronica.

***Curcuma longa* L. (Zingiberaceae): desenvolvimento tecnológico para aplicação como agente terapêutico auxiliar no tratamento de pacientes portadores da Doença de Alzheimer** 249-258

Curcuma longa L. (Zingiberaceae): technological development for application as an auxiliary therapeutic agent in the treatment of patients with Alzheimer's Disease

Silva, Ayla Winnie Ramos da; Biegelmeyer, Renata.

Discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil 259-284

Discussion on access to *Cannabis*-derived drugs in the light of Health Innovation in Brazil

Villas Bôas, Glauco de Kruse; Rezende, Mayara de Azeredo.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Normas para submissão e apresentação do manuscrito 285-296

Conforme comunicado da equipe da Revista Fitos, nas redes sociais e em sua página, estivemos com o Servidor em Manutenção devido às falhas recorrentes e instabilidades no sistema da revista (OJS). Com isso, aproveitamos para atualizar o servidor, que já está operando normalmente para submissão de manuscritos e processo editorial.

Neste número 2, destaca-se o conhecimento tradicional e os arranjos produtivos locais, na temática “**Desenvolvimento tecnológico e inovação em fitomedicamentos**”, apresentando artigos de pesquisa com discussões sobre a economia verde; a cadeia produtiva e a gestão de inovação; estudos químicos e avaliação biológica; biotecnologia das proteases oriundas de plantas; desenvolvimento e validação de métodos analíticos para a quantificação de marcadores químicos; acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* e Tecnologia Fitofarmacêutica (Editorial). A seguir, apresentamos os resumos de 8 artigos, sendo 3 de pesquisa, 1 relato de experiência e 4 de revisão:

***Curcuma longa* L. (Zingiberaceae): desenvolvimento tecnológico para aplicação como agente terapêutico auxiliar no tratamento de pacientes portadores da Doença de Alzheimer.** Esta revisão da literatura teve como objetivo buscar alternativas para melhorar a biodisponibilidade de *Curcuma longa* para aplicação no tratamento da Doença de Alzheimer (DA). Dentre as alternativas encontradas, as formulações farmacêuticas ganharam destaque, com exemplos como nanopartículas, micelas e emulsões. Espera-se que estes resultados possam incentivar o aprofundamento de pesquisas, desenvolvimento de fitoterápicos e/ou fitofármacos com a *C. longa* e seus metabólitos para o tratamento auxiliar da D.A.

Desenvolvimento e validação de um método por CCD/densitometria para quantificação de psoraleno e bergapteno em *Brosimum gaudichaudii* Trécul. O objetivo deste estudo foi desenvolver um método analítico por Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) para a quantificação simultânea de psoraleno e bergapteno, presentes no extrato liofilizado de *Brosimum gaudichaudii*, técnica alternativa para a identificação e separação de furanocumarinas, importante para o desenvolvimento de novos produtos para o tratamento do vitiligo. O método de análise desenvolvido mostrou-se linear, preciso e exato.

Evaluation of TLC-densitometry assay validation applied to complex matrix. O objetivo deste estudo foi avaliar um método quantitativo para o ácido betulínico (BA), obtido a partir de extratos de produtos naturais, considerando a necessidade de um método rápido, barato e eficaz para o controle de qualidade de rotina, cromatografia / densitometria em camada delgada. Considerando a restrição da técnica cromatográfica durante o teste de desenvolvimento do fármaco, um novo procedimento foi desenvolvido para contornar a dificuldade de obtenção dos parâmetros de validação dentro dos critérios de aceitação internacional, principalmente parâmetros de seletividade e repetibilidade. A metodologia foi comparada com uma metodologia de cromatografia gasosa validada e nenhuma diferença estatística foi observada.

Produção e avaliação de comprimidos contendo elevado teor de extratos secos de *Maytenus ilicifolia*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos excipientes sobre as propriedades de comprimidos contendo altas doses de grânulos do produto seco por aspensão das folhas de *Maytenus ilicifolia*, com estudos excipientes de diferentes categorias. Os resultados mostraram que a formulação

contendo celulose microcristalina e glicolato de celulose sódica produziu comprimidos com resistência ao esmagamento e o tempo de desintegração, adequados.

A cadeia produtiva na Gestão da Inovação da Biotecnologia: o camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) no Amazonas. Os objetivos deste trabalho são demonstrar a interação da gestão da inovação da Biotecnologia com a cadeia produtiva e analisar a cadeia produtiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no Amazonas, como um processo tecnológico que permite a utilização de material biológico para fins científicos, tecnológicos e industriais. O camu-camu está entre os frutos com o real potencial funcional e industrial, devido aos elevados teores de vitamina C.

Avaliação química e biológica de *Graphium jumulu*, fungo endofítico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial biotecnológico do fungo endofítico *Graphium jumulu*. A substância pesquisada não inibiu nenhuma das cepas avaliadas, entretanto estimulou o crescimento bacteriano de todas, com destaque para *S. aureus*, *A. baumannii* e *S. enteritidis*, que apresentaram um crescimento de forma linear crescente em função da concentração da substância no fungo endofítico *G. jumulu*.

Discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil. O objetivo desse estudo de caso foi abrir discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil. A Pesquisa do uso Medicinal da *Cannabis* revela a contribuição da ciência abrindo caminho para a inovação. Uma discussão apresentada sob um novo prisma sinaliza as Parcerias de Desenvolvimento Produtivo (PDPs) como uma alternativa para a produção nacional dos medicamentos da *Cannabis* ampliando o acesso aos mesmos. Este estudo conclui que novas medidas regulatórias serão necessárias, além do reconhecimento dos medicamentos da *Cannabis* como estratégicos para o Sistema Único de Saúde.

O Projeto Ecolume: O paradigma da abundância na convivência com o clima semiárido no Nordeste brasileiro. O objetivo desse trabalho foi apresentar o Projeto Ecolume, que integra as práticas dos conceitos de geração de energia fotovoltaica com a captação de águas pluviais, a reutilização de águas residuais e a produção de alimentos orgânicos, orientando um novo paradigma de desenvolvimento socioeconômico no semiárido do Nordeste brasileiro, com vistas a produzir água de boa qualidade para irrigar mudas em viveiro (umbu - *Spondias tuberosa*) usadas para reflorestar a vegetação da Caatinga (bioma local) e garantir a redução da poluição.

Boa leitura!

Yolanda Arruda

DOI 10.32712/2446-4775.2020.1078

Desenvolvimento tecnológico e inovação em fitomedicamentos

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo com enorme potencial para a pesquisa, desenvolvimento e inovação de Fitomedicamentos. Esta biodiversidade está distribuída em seis grandes biomas: Pampa, Mata Atlântica, Floresta Amazônica, Pantanal, Caatinga e Cerrado. Apesar desta enorme riqueza, temos poucos produtos desenvolvidos a partir dos derivados das plantas nativas e plantas exóticas adaptadas.

Sob o ponto de vista de PD&I, temos todas as condições objetivas para explorar de forma racional nossa flora, gerando produtos farmacêuticos de alto valor agregado para disponibilizar ao SUS, trazendo opções para prevenir, remediar, controlar ou curar várias doenças, incluindo as que são endêmicas e negligenciadas.

A comunidade acadêmica no Brasil representa um importante papel no cenário de PD&I de novos Fitomedicamentos estáveis, seguros e de qualidade. Atualmente, temos a nossa disposição ferramentas e métodos modernos da Tecnologia Farmacêutica.

Este número temático está relacionado ao desenvolvimento tecnológico e inovação de Fitomedicamentos que inclui tópicos que compreendem a economia verde; a cadeia produtiva e a gestão de inovação; estudos químicos e avaliação biológica; biotecnologia das proteases oriundas de plantas; desenvolvimento e validação de métodos analíticos para a quantificação de marcadores químicos; acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* e Tecnologia Fitofarmacêutica.

Para finalizar, destacamos a importância da inovação no sentido de fomentar a interação entre as universidades e as empresas, valorizando assim, o conhecimento tradicional e os arranjos produtivos locais, criando um sólido modelo de desenvolvimento tecnológico Fitofarmacêutico.

Boa leitura!

Edemilson Cardoso da Conceição
Editor

Desenvolvimento e validação de um método por CCD/densitometria para quantificação de psoraleno e bergapteno em *Brosimum gaudichaudii* Trécul

Development and validation of an HPTLC densitometry method for psoralen and bergapten quantification in *Brosimum gaudichaudii* Trécul

DOI 10.32712/2446-4775.2020.929

Morais, Mariana Cristina^{1*}; Garcia, Nathália Olívia Sousa¹; Lessa, Bruno da Motta²; Nóbrega, Andréa Bezerra da²; Conceição, Edemilson Cardoso da¹.

¹Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Laboratório PD&I de Bioprodutos. Praça Universitária, Setor Leste Universitário, CEP 74605-220, Goiânia, GO, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos. Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS), Laboratório de Química da Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (PAF), Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: marianacmfarma@gmail.com.

Resumo

Diante da aplicabilidade dos extratos de *Brosimum gaudichaudii* no tratamento do vitiligo, o objetivo do estudo foi desenvolver um método analítico por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) para a quantificação simultânea de psoraleno e bergapteno, presentes no extrato liofilizado de *B. gaudichaudii*, a fim de se tornar um método alternativo para o controle de qualidade dos extratos produzidos a partir desta espécie. O extrato liofilizado foi produzido a partir do extrato mole das raízes de *B. gaudichaudii* preparadas com solução hidroalcoólica a 55 % (v/v). A metodologia para análise dos compostos bergapteno e psoraleno, presentes no extrato liofilizado, foi desenvolvida e validada por cromatografia em camada delgada (CCD)/densitometria. A melhor resolução, separação e identificação dos marcadores, ocorreram em cromatoplasmas de sílica RP 18 F₂₅₄ (Merck) e fase móvel composta por acetonitrila: água (60:40). Os fatores de retenção (FR) para o psoraleno e o bergapteno foram 0,41 e 0,35, respectivamente. O método de análise desenvolvido se mostrou linear, preciso e exato. Desta forma, a densitometria por CCD ou CCDAE se mostrou uma técnica alternativa para a identificação e separação destas furanocumarinas, sendo importante para o desenvolvimento de novos produtos contendo extratos de *B. gaudichaudii* para o tratamento do vitiligo.

Palavras-chave: Mama-cadela. Vitiligo. Psoraleno. Bergapteno. CCDAE.

Abstract

Given the applicability of *Brosimum gaudichaudii* extracts in the treatment of vitiligo, the aim of the study was to develop a high performance thin layer chromatographic (HPTLC) analytical method for the simultaneous quantification of psoralen and bergapten, present in the lyophilized extract of *B. gaudichaudii*, in order to become an alternative method for quality control of extracts produced from this species. The lyophilized extract was produced from the soft extract of *B. gaudichaudii* roots, prepared with 55 % (v/v) hydroalcoholic solution. The methodology for the analysis of bergapten and psoralen compounds present in the lyophilized extract was developed and validated by thin layer chromatography (TLC)/densitometry. The best resolution, separation and identification of the markers occurred in RP 18 F254 (Merck) silica chromatoplate and on the mobile phase composed of acetonitrile: water (60:40). The retention factors (RF) for psoralen and bergapten were 0.41 and 0.35, respectively. The developed method of analysis was linear, precise and accurate. Thus, TLC/densitometry or HPTLC proved to be an alternative technique for the identification and separation of these furanocoumarins, being important for the development of new products containing *B. gaudichaudii* extracts for the treatment of vitiligo.

Keywords: *Brosimum gaudichaudii*. Vitiligo. Psoralen. Bergapten. HPTLC.

Introdução

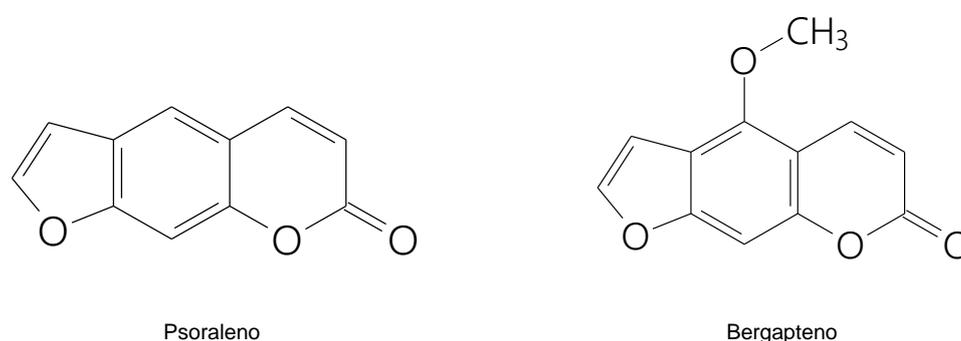
A pele é composta por diferentes camadas e estruturas os quais auxiliam na homeostase do organismo [1]. Desordens relacionadas à pele são problemas comuns que podem afetar qualquer gênero ou idade. As desordens relacionadas aos melanócitos promovem um aumento ou uma redução da produção de melanina, gerando respostas fisiológicas como, por exemplo, a hiperpigmentação ou o vitiligo, respectivamente [2]. O vitiligo é uma desordem despigmentante que envolve mais do que danos físicos, está estreitamente relacionado a certos estigmas sociais [3]. Os atuais tratamentos padrões disponíveis para o vitiligo incluem terapia imunossupressora, fototerapia, cirurgia e antidepressivos, devido às possíveis questões psicológicas como fatores de risco [3,4]. Porém os tratamentos disponíveis não são totalmente eficazes. Apesar deste cenário atual, estudos vêm sendo realizados com o objetivo de desenvolver novas alternativas, como o uso do *Brosimum gaudichaudii* Trécul. e seus metabólitos secundários para efetivamente tratar o vitiligo [5-8].

A espécie *Brosimum gaudichaudii* Trécul é popularmente conhecida como “mama cadela”, “arbóreo de cadela” ou “algodãozinho do campo”. Tradicionalmente, suas raízes são utilizadas como recurso terapêutico para o tratamento do vitiligo, que é uma forma específica de leucodermia despigmentante. A palavra vitiligo é de origem latina e vem de “vitium”, que significa defeito, e de “vitelium”, que significa manchas brancas [5,6]. A etiologia do vitiligo é desconhecida, entretanto, várias teorias têm sido propostas para explicar o processo de despigmentação ocorrido nesta desordem [7,8]. Acredita-se que a origem possa ser autoimune, desencadeada após desequilíbrios neuro-humorais ou estresse oxidativo. Há relatos de ocorrência da doença em pessoas da mesma família, o que sugere que um fator genético possa estar envolvido, mas nenhuma delas foi ainda elucidada. O diagnóstico do vitiligo depende do histórico, mas inicialmente é feito um exame clínico e observacional das lesões e das partes despigmentadas [9].

A ação da mama-cadela no tratamento do vitiligo deve-se, principalmente, à presença dos metabólitos secundários denominados furanocumarinas lineares, e estes pertencem a um subgrupo conhecido como

cumarinas. As furanocumarinas são encontradas principalmente em espécies das famílias Apiaceae, Fabaceae, Moraceae, Rutaceae e Thymelaeaceae, no entanto, também podem ser obtidas por meio de síntese em laboratório. Sua estrutura é basicamente constituída pela condensação do anel furânico no núcleo cumarínico, sendo que a posição onde ocorre a condensação determina se a furanocumarina é angular ou linear. Dentre as lineares destacam-se o psoraleno e o bergapteno (**FIGURA 1**) [10]. Estudos relacionados à fotoestabilidade e fotodegradação do psoraleno e do bergapteno presentes em *B. gaudichaudii* demonstram seu potencial em formulações tópicas e orais para o tratamento do vitiligo [11]. No entanto, o desenvolvimento de um novo método de identificação e quantificação das furanocumarinas com alta precisão, menor tempo de análise e custos reduzidos se faz necessário, a fim de permitir que os extratos de *B. gaudichaudii* sejam estabelecidos como um potencial ingrediente ativo para aplicações farmacêuticas.

FIGURA 1: Representação das estruturas químicas de psoraleno e bergapteno



A técnica analítica denominada cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) é um dos instrumentos mais comumente utilizados para a análise de compostos moleculares complexos de baixa massa molecular. Essa técnica é flexível, simples, acessível e mais barata quando comparada à cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e cromatografia em fase gasosa (CG). Como as outras cromatografias, a CCDAE consiste em uma fase estacionária e uma fase móvel. A técnica tem como princípio a eluição dos compostos de interesse ao longo da fase estacionária. O fator de retenção de cada composto é determinado pelo grau de afinidade do mesmo pela fase estacionária, ou pela fase móvel. Desta forma, os compostos analisados percorrerão uma distância inversamente proporcional à sua afinidade pela fase estacionária [12-14].

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método analítico por CCDAE para a quantificação simultânea de psoraleno e bergapteno em extrato liofilizado de *B. gaudichaudii* a fim de se tornar um método alternativo para o controle de qualidade dos extratos produzidos a partir desta espécie.

Materiais e Métodos

Obtenção do extrato liofilizado de *B. gaudichaudii*

Obteve-se o extrato fluido de *B. gaudichaudii* através do método extrativo de percolação, utilizando-se uma solução hidroalcoólica a 55% (v/v) [15]. O produto obtido a partir da percolação foi concentrado inicialmente em rotaevaporador Buchii®, a 40°C e 75 rpm, até um teor de sólidos de aproximadamente 10%. Após a concentração prévia, o extrato foi transferido para um concentrador com ventilação forçada, temperatura

ambiente aproximadamente 23°C e protegido da luz, para evaporar o solvente, onde se obteve o extrato mole com teor de sólidos de aproximadamente 70% [\[11\]](#).

O extrato mole foi então congelado em freezer à -80°C e logo depois liofilizado em liofilizador Christ® modelo de bancada, por 48 horas, temperatura das prateleiras a 20,0°C e pressão a 0,0100 mbar.

Preparo da amostra e padrões para análise

A amostra de extrato liofilizado de *B. Gaudichaudii* foi preparada na concentração de 10 mg/mL utilizando-se como solvente o metanol grau HPLC por 30 minutos em ultrassom Branson 5510, (tamanho tanque: 29,2 x 24,1 x 15,2 cm), frequência de 40kHz na temperatura de 37°C. Os padrões de psoraleno e bergapteno (Sigma Aldrich®) foram preparados separadamente em uma concentração de 1 mg/mL utilizando-se como solvente o metanol grau HPLC, por 10 minutos em ultrassom.

Posteriormente, tanto a solução da amostra como as soluções dos padrões foram filtradas em filtro PVDF de 0,45 µm Millex®, 13 mm de diâmetro, antes de serem injetadas.

Sistema cromatográfico

As análises de CCD/densitometria foram realizadas em colaboração com o Laboratório de Química da Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (PAF), do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS), Farmanguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro.

O desenvolvimento da metodologia para análise do bergapteno e do psoraleno por CCD/densitometria foi realizada utilizando os seguintes equipamentos CAMAG®: aplicador automático (ATS4), densitômetro (*Scanner TLC III*), visualizador (*TLC Visualiser*) acoplado a uma câmera DXA 525; e placa de aquecimento (*TLC Heater plate*).

Para o desenvolvimento analítico, realizou-se uma triagem na literatura a fim de estabelecer a melhor fase móvel e a melhor fase estacionária, que permitisse a separação do psoraleno e do bergapteno. Utilizou-se como fase estacionária no desenvolvimento cromatoplacas de Sílica Gel60 F₂₅₄ e de Sílica RP 18 F₂₅₄(fase reversa), ambas da Merck® e como fase móvel utilizou-se diversos solventes com polaridades diferentes.

Obteve-se melhor resolução, separação e identificação dos marcadores utilizando-se a cromatoplaça de Sílica RP 18 F₂₅₄ (Merck), tamanho 10 cm x 10 cm e como fase móvel acetonitrila: água 60: 40. Cada aplicação foi executada em uma banda de 5 mm.

Validação do método por CCD/densitometria

A avaliação das figuras de mérito do método proposto foi baseada na Instrução Normativa n.4 de 2014 [\[16\]](#) e RE n° 899/03 da ANVISA [\[17\]](#).

Seletividade

A especificidade do método foi avaliada através da análise e comparação dos valores de R_f e espectro da banda de psoraleno e bergapteno de uma amostra real (extrato liofilizado) com os respectivos padrões. A

pureza dos picos das bandas dos analitos também foi avaliada através de comparação entre a amostra e os padrões em diferentes posições das bandas, isto é, início, ápice e fim do pico densitográfico.

Linearidade

Foram preparadas três soluções estoque dos padrões de psoraleno e bergapteno na concentração de 0,150 mg/mL e 0,205 mg/mL, respectivamente. Estas soluções estoques dos padrões separados foram então misturadas na proporção 1:1 obtendo-se assim um mix de padrões.

Após a obtenção do mix de padrões, este foi então diluído nas concentrações: 15 µg/mL, 30 µg/mL, 60 µg/mL, 90 µg/mL, 120 µg/mL e 150 µg/mL de psoraleno e 20,5 µg/mL, 41 µg/mL, 82 µg/mL, 123 µg/mL, 164 µg/mL e 205 µg/mL de bergapteno, a fim de se construir a curva de linearidade.

Precisão

Para a precisão do método, seis amostras nas mesmas concentrações foram aplicadas em cromatoplaça de Sílica RP 18 F₂₅₄ e analisadas pelo método proposto para determinar a variação expressa em coeficiente de variação (% CV).

Para o mix de padrões, utilizamos o ponto central sendo a concentração do psoraleno de 90 µg/mL e a concentração do bergapteno de 123 µg/mL. Já para a amostra de extrato liofilizado, utilizamos a concentração de 4 mg/mL, visto que o psoraleno e o bergapteno estariam em concentrações (64 µg/mL e 90 µg/mL, respectivamente) próximas ao ponto central das curvas de calibração. A quantificação dos analitos no extrato liofilizado foi realizada por metodologia de HPLC anteriormente validada [\[18\]](#).

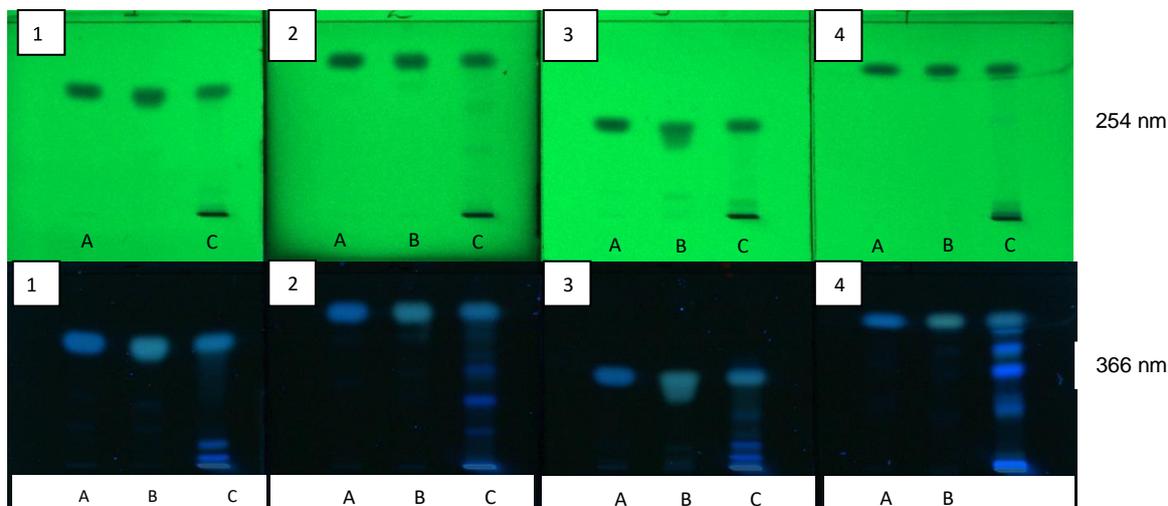
Exatidão

A exatidão foi calculada pelo método de adição de padrão [\[19\]](#), em que uma quantidade conhecida dos padrões de psoraleno e bergapteno foi adicionada a uma quantidade conhecida de amostra (*B. gaudichaudii* + Padrão de psoraleno + Padrão de bergapteno), em triplicata. Tanto o padrão quanto a droga vegetal foram analisadas individualmente e, após a adição, a solução resultante foi também analisada. Foram realizadas nove determinações, em três diferentes concentrações (baixa, média e alta, em triplicata), contemplando o intervalo do método.

Resultados e Discussões

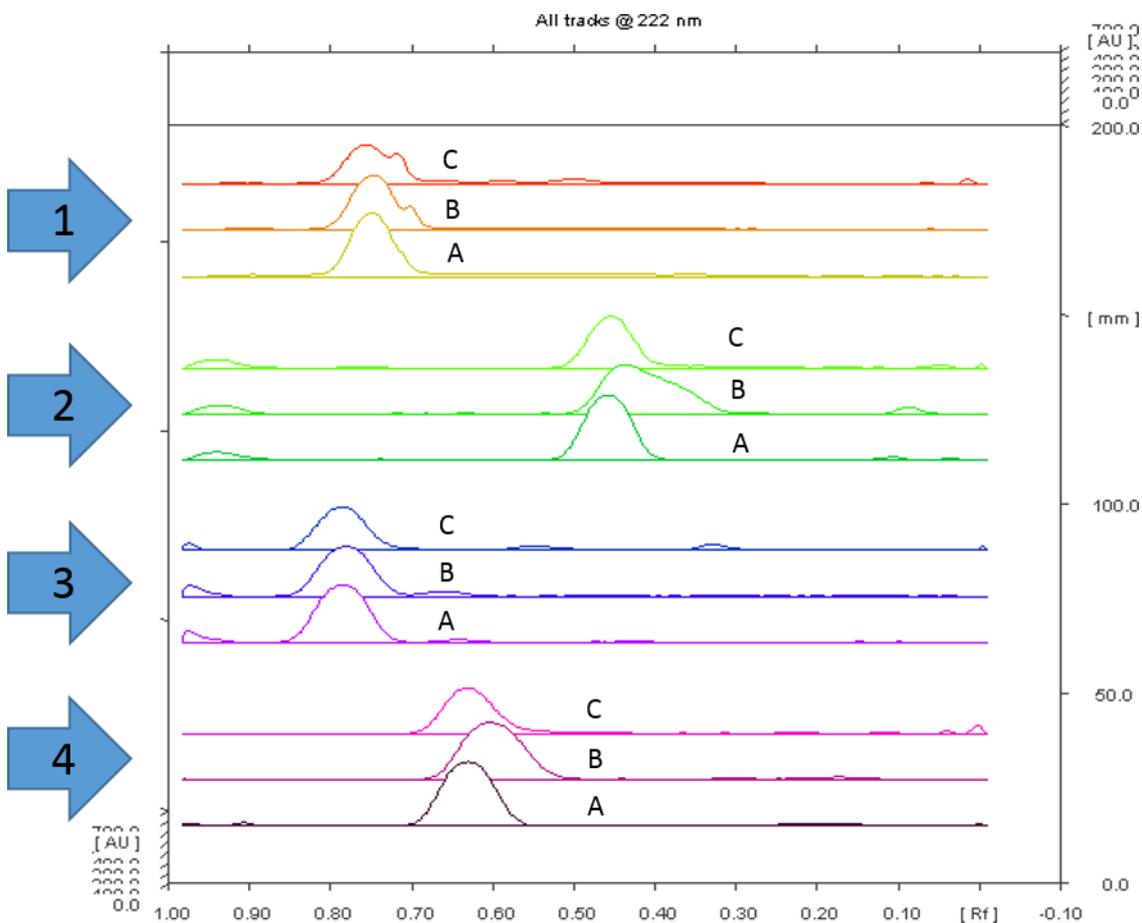
A seleção, tanto da fase móvel como da fase estacionária é um ponto crítico na técnica de CCD e CCDAE. Na triagem inicial com fase estacionária de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck®), (5 cm x 5 cm), não foi possível obter boa resolução e separação uma vez que esses dois compostos (psoraleno e bergapteno) possuem estruturas químicas semelhantes, e seus fatores de retenção (RF) são muito próximos (**FIGURA 2 e FIGURA 3**).

FIGURA 2: Fotodocumentação do desenvolvimento do método analítico para quantificação de psoraleno e bergapteno em extrato liofilizado de *B. gaudichaudii* por CCD/densitometria.



Legenda: A – psoraleno; B – Bergapteno; C- Extrato liofilizado; Fase móvel: (1) Tolueno: metanol 9:1 [20]; (2) Acetato de etila: clorofórmio (60:40) [21]; (3) Hexano :butil acetato 65:35 [22]; (4) Tolueno: éter etílico 1:1 saturado com 10% de ácido acético [23].

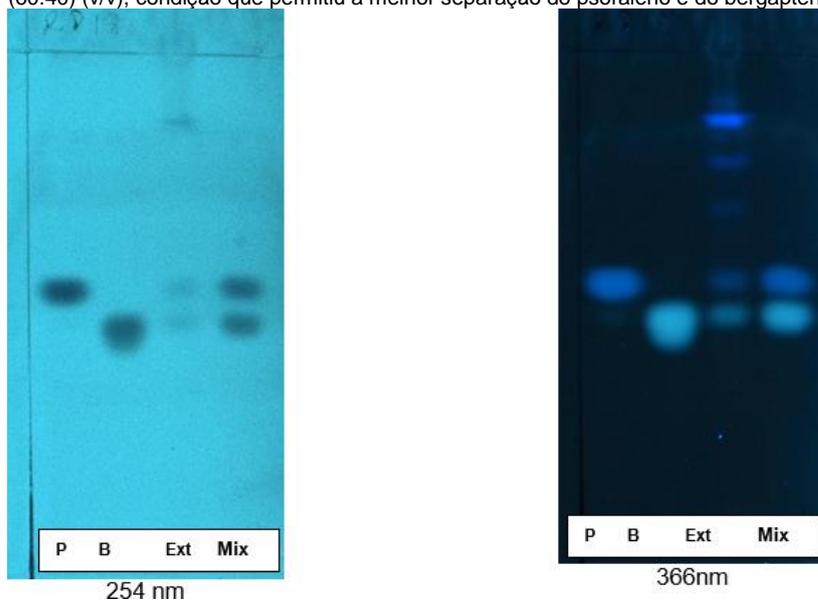
FIGURA 3. Densitogramas obtidos com diferentes fases móveis no desenvolvimento da metodologia e que não foram adequadas para separação do psoraleno e do bergapteno.



Legenda: A – psoraleno; B – Bergapteno; C- Extrato liofilizado de *B. gaudichaudii*; Fase móvel: (1) Tolueno:metanol 9:1 [20]; (2) Acetato de etila: clorofórmio (60:40) [21]; (3) Hexano:butil acetato 65:35 [22]; (4) Tolueno:éter etílico 1:1 saturado com 10% de ácido acético [23].

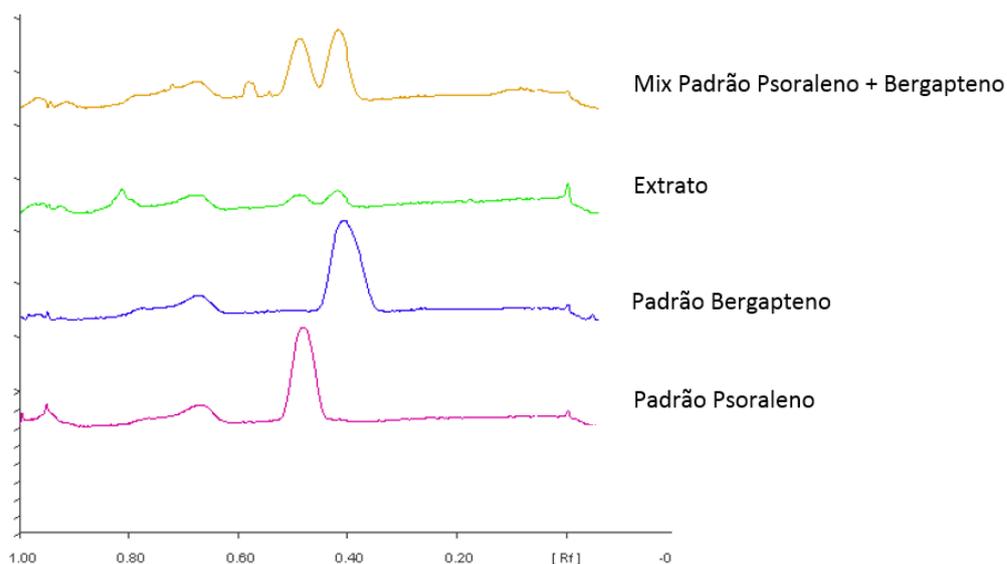
Variou-se então a fase estacionária para uma cromatoplaça de sílica de fase reversa (RP 18), ou seja, com característica apolar. Com esta fase estacionária foi possível obter boa resolução e separação entre o psoraleno e bergapteno, utilizando como fase móvel acetonitrila: água (60:40), esta fase móvel é semelhante a fase móvel utilizada nas análises por CLAE, as quais foram utilizadas como ponto de partida [15]. Os fatores de retenção (RF) para o psoraleno e para o bergapteno foram 0,41 e 0,35 respectivamente (FIGURA 4 e FIGURA 5).

FIGURA 4: Fotos das cromatoplaças de sílica em fase reversa RP18 (10 cm x 10 cm), fase móvel acetonitrila: água (60:40) (v/v), condição que permitiu a melhor separação do psoraleno e do bergapteno no extrato de *B. gaudichaudii*.



Legenda: P- Psoraleno; B- Bergapteno; Ext- Extrato liofilizado de *B. gaudichaudii*; Mix- Padrão de psoraleno + bergapteno (1:1).

FIGURA 5: Densitogramas dos padrões e do extrato liofilizado de *B. gaudichaudii*, confirmando a presença dos marcadores e com boa resolução.



Seletividade

Não foram observados bandas de interferentes por outros constituintes da planta nos valores de Rf dos padrões de psoraleno e bergapteno (**FIGURA 5**). Os espectros dos padrões dos analitos e daqueles no mesmo RF da amostra combinaram exatamente, indicando a inexistência de interferência por outros constituintes da planta.

Linearidade

A Linearidade do método foi observada nos intervalos de concentração para o psoraleno entre 15 µg/mL a 150 µg/mL (75 ng/spot a 750 ng/spot), já para o bergapteno o intervalo foi de 20,5 µg/mL a 205 µg/mL (102,5 ng/spot a 1025 ng/spot). Por meio da análise de regressão linear foi possível obter a equação da reta para o psoraleno que foi $y = -0,2385x^2 + 95,239x - 47,423$ e obteve um coeficiente de correlação linear $R = 0,9979$. Já para o bergapteno foi possível obter também a equação da reta que foi $y = -0,123x^2 + 82,777x - 208,76$ e o seu coeficiente de correlação linear $R = 0,9944$. Testes estatísticos comprovaram a homocedasticidade (Levene), normalidade (Ryan-Joiner) e ajuste (ANOVA) das curvas de calibração do psoraleno e bergapteno.

Precisão

Para determinação da precisão de psoraleno e bergapteno pelo método proposto, as mesmas amostras homogêneas do extrato (amostras reais) foram preparadas repetidamente e analisadas. A precisão intermediária foi avaliada em dias diferentes por analistas diferentes. Os valores de RSD obtidos nos estudos de precisão (**TABELAS 1 e 2**) foram todos abaixo de 15%, indicando que o método atende ao critério de aceitação estabelecido pela Instrução Normativa nº 4 de 2014, que preconiza que o desvio padrão relativo entre as determinações seja inferior a 15% para matrizes complexas, como é o caso de extratos vegetais padronizados [16].

TABELA 1: Precisão intradia para psoraleno e bergapteno em um total de seis amostras (n=6).

Psoraleno (Área)	Bergapteno (Área)	RSD % Psoraleno	RSD % Bergapteno
4733,308	5905,167	9,40	12,30
4753,765	5865,978		
4697,970	5818,177		
4687,323	5823,105		
4702,183	5808,287		
4699,943	5809,035		

TABELA 2: Precisão Intermediária.

Psoraleno (Área)	Bergapteno (Área)	RSD % Psoraleno	RSD % Bergapteno
4900,64	5710,865	7,61	9,61
4889,02	5717,997		
4923,63	5733,268		
4874,51	5702,48		

4938,75	5790,833		
4922,07	5755,238		

Exatidão

A exatidão do método proposto foi estudada por adição padrão à solução da amostra em três níveis 80, 100 e 120%. A recuperação média para psoraleno foi de 95,95% e a recuperação média para o bergapteno foi de 91,45%. Abaixo (**FIGURAS 6 e 7**), estão apresentadas as análises de exatidão realizadas em três níveis diferentes.

FIGURA 6: Cromatoplaça indicando os três níveis do teste de exatidão feitos em triplicata.

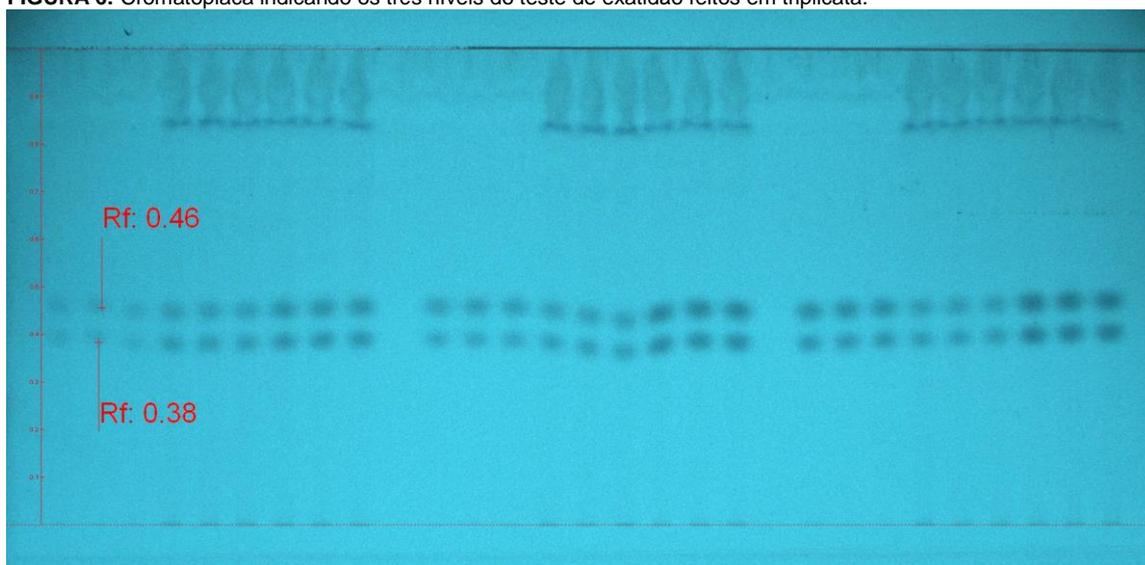
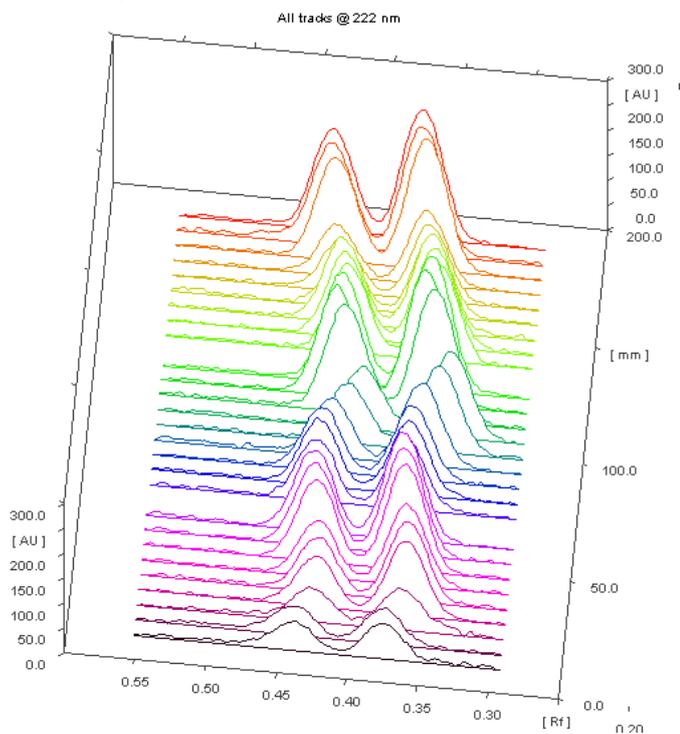


FIGURA 7: Densitogramas referentes ao teste de exatidão feito em três níveis.



Conclusão

A densitometria por CCD ou CCDAE é uma técnica rápida, reproduzível, precisa e de baixo custo, sendo uma alternativa ao CLAE para a identificação e quantificação do psoraleno e do bergapteno. Além disso, os extratos liofilizados de *B. gaudichaudii* possuem altas concentrações destes constituintes e podem ser utilizadas para preparações de formulações para o tratamento do vitiligo. A vantagem da CCD/densitometria é a utilização de pequenas quantidades de amostras e solventes, minimizando o custo que é um fator determinante para o controle de qualidade de laboratórios e indústrias que trabalham com insumos e produtos de origem vegetal.

Agradecimentos

Os autores trazem os seus sinceros agradecimentos à instituição FIOCRUZ, e ao pesquisador Carlos Henrique Brasil Bizarri pelas análises dos experimentos, realizadas no Laboratório de Química da Biodiversidade - Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (PAF/CIBS) - Farmanguinhos. À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) por bolsa de formação concedida.

Referências

1. Del Río C, Millán E, García V, Appendino G, Demesa J, Muñoz E. The endocannabinoid system of the skin. A potential approach for the treatment of skin disorders. **Biochem Pharmacol**. 2018; 157: 122-133. ISSN 0006-2952. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
2. Ma J, Li S, Zhu L, Guo S, Yi X, Cui T et al. Baicalein protects human vitiligo melanocytes from oxidative stress through activation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2) signalling pathway. **Free Radical Biology and Medicine**. 2018; 129: 492-503. ISSN 0891-5849. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
3. Chatterjee M, Neema S. Dermoscopy of pigmentary disorders in brown skin. **Dermatol clinics**. 2018; 36(4): 473-485. ISSN 0733-8635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. Vallerand IA, Lewinson RT, Parsons LM, Hardin J, Haber RM, Lowerison MW et al. Vitiligo and major depressive disorder: A bidirectional population-based cohort study. **J Am Acad Dermatol**. 2019; 80(5): 1371-1379. ISSN 0190-9622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
5. Pozetti GL. *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae): da planta ao medicamento. **Rev Ciên Farm Bás Apl**. 2005; 26 (3): 159. ISSN 2179-443X. [[Link](#)].
6. Khovacs SR. Vitiligo. **J Am Acad Dermatol**. 1998; 38(5pt 1): 647-668. ISSN 0190-9622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Steiner D, Villas RT, Bedin V, Steiner T, Moraes MB. Review Article: Vitiligo. **Anais Bras Dermatol**. 2004; 79 (03): 335-351. ISSN 1806-4841.
8. Ali J, Pramod K, Tahir MA. Current remedies for vitiligo. **Autoimm Rev**. 2010; 9: 516-520. ISSN 1568-9972. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

9. Fatani MI, Alsharif SH, Alfif KA, Khan AS, Hussain WA, Banjar AA. The clinical patterns of vitiligo “hospital-based study” in Makah region, Saudi Arabia. **J Dermatol Dermatol Surgery**. 2014; 18(1-2): 17-21. ISSN 2210-836X. [[CrossRef](#)].
10. Ribeiro CVC, Kaplan MAC. Tendências evolutivas de famílias produtoras de cumarinas em Angiospermae. **Quím Nova**. 2002; 25(4): 533-538. ISSN 0100-4042.11. [[CrossRef](#)].
11. Moraes MCM, Almeida PHG, Ferreira NLO, Arruda RL, Borges LL, Freitas O, Conceição EC. Validation of a photostability indicating method for quantification of furanocoumarins from *Brosimum gaudichaudii* soft extract. **Rev Bras Farmacogn**. 2018; 28(1): 118-123. ISSN 0102-695X. [[CrossRef](#)].
12. Priyamvada S, Srinivas B, Pratima M. Qualitative high performance thin layer chromatography (HPTLC) analysis of cannabinoids in urine samples of Cannabis abusers. **Indian J Med Res**. 2010; 132: 201-208. ISSN 0971-5916. [[PubMed](#)].
13. Domínguez A, Jarne C et al. A Hyphenated Technique based on High-Performance Thin Layer Chromatography for Determining Neutral Sphingolipids: A Proof of Concept. **Chromat**. 2015, 2: 167-187. ISSN 2227-9075. [[CrossRef](#)].
14. Kerr E, West CY, Kradtap S. Quantitative TLC-Image Analysis of Urinary Creatinine Using Iodine Staining and RGB Values. **J Chromat Sci**. 2016; 54 (4): 639–646. ISSN 1945-239X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
15. Martins FS, Pascoa H, Paula JR, Conceição EC. Technical aspects on production of fluid extract from *Brosimum gaudichaudii* Trécul roots. **Pharmacogn Mag**. 2015; 11 (41): 226-231. ISSN 0973-1296. ISSN 0976-4062. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Brasil. **Instrução Normativa nº 4**, de 18 de junho de 2014. Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília: 2014. [[Link](#)].
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Brasil. **Resolução RE 899**, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. D. O. U, Poder executivo, Brasília, DF, 02 de julho de 2003. [[Link](#)].
18. Moraes MC, **Desenvolvimento e caracterização de dispersões sólidas contendo o extrato liofilizado de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. (Moraceae) padronizado em psoraleno e bergapteno**. 112p. 2019. Tese Doutorado [em Ciências Farmacêuticas] Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Goiás. 2019. [[Link](#)].
19. Agência Nacional da vigilância Sanitária. ANVISA. Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC nº 166**, de 24 de julho de 2017. Brasil, 2017. [[Link](#)].
20. Alam PSNA, Al-rehaily AJ, Alajmi MF, Basudan OA, Khan TH. Stability indicating densitometric high-performance thin-layer chromatographic method for the quantitative analysis of biomarker naringin in the leaves and stems of *Rumex vesicarius* L. **J Planar Chromatogr**. 2014; 27 (3): 204–209. [[CrossRef](#)].
21. Galand N, Pothier J, Viel C. Plant Drug Analysis by Planar Chromatography. **J Chromatogr Sci**. 2002, 40: 1-14. ISSN 1945-239X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Dugo PM, Mondello L, Cogliandro E, Cavazza A, Dugoet G. On the genuineness of citrus essential oils. Part LIII. Determination of the composition of the oxygen heterocyclic fraction of lemon essential oils (*Citrus Limon* (L.) Burm. F.) by normal-phase high performance liquid chromatography. **Flav Fragr J**. 2000; 13 (5): 329-334. [[CrossRef](#)].
23. Bolina RC, Garcia EE, Duarte MGR. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Rev Bras Farmacogn**. 2009; 19 (1B). ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 14/12/2019 | **Aceite:** 14/04/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Moraes MC, Garcia NOS, Lessa BM, Nóbrega AB et al. Desenvolvimento e validação de um método por CCD/densitometria para quantificação de psoraleno e bergapteno em *Brosimum gaudichaudii* Trécul. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 165-176. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/929>>. 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.



Evaluation of TLC-densitometry assay validation applied to complex matrix

Avaliação da validação da metodologia CCD-densitometria aplicada a uma matriz complexa

DOI 10.32712/2446-4775.2020.998

Nóbrega, Andrea Bezerra da^{1,2*}; Lessa, Bruno da Motta¹; Bizarri, Carlos Henrique Brasil¹; Wollinger, Wagner³; Lopes, Claudio Cerqueira⁴; Lopes, Rosangela Sabbatini Capella⁴; Paiva, Selma Ribeiro^{2,5}; Slana, Glaucia Barbosa Candido Alves⁶.

¹Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos - PAF, Laboratório de Química da Biodiversidade, Avenida Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Farmácia, Pós-Graduação e Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Rua Mário Viana, 523, Santa Rosa, Cep: 24.241-000, Niterói, RJ, Brasil.

³Instituto Nacional de Metrologia - INMETRO, Qualidade e Tecnologia, Divisão de Metrologia Química - DIMCI. Avenida Nossa Senhora das Graças, 50, Xerém, CEP 25250-020, Duque de Caxias, RJ, Brasil.

⁴Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química. Av. Athos da Silveira Ramos 149, CT, Bloco A, sala 508, Cidade Universitária, CEP 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵Universidade Federal Fluminense - UFF, Centro de Estudos Gerais, Instituto de Biologia, Outeiro de São João Batista, s/n, Centro, CEP 24020-150, Niteroi, RJ, Brasil.

⁶Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI, Rua São Bento, 1, Centro, CEP 20090-010, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: andrea.nobrega@far.fiocruz.br.

Abstract

Considering the need to have a fast, cheap and effective method for quality control routine, thin layer chromatography/densitometry has been a chosen method to comply those requests. However, this technique has its limitations when used to determination assays for substances in complex matrices, such as vegetal extracts. Considering this chromatographic technique restriction during the drug development assay, a new procedure was developed to overcome the difficulty in obtaining the validation parameters within the international acceptance criteria, mainly selectivity and repeatability parameters. The developed method was applied in the betulinic acid (BA) quantification from extracts of natural products. All separations were obtained on plates Si₆₀ F₂₅₄ with *n*-hexane:ethyl acetate:acetic acid (7:3:0.3) at 560nm, after derivatization with vanillin-sulphuric reagent. The system gave compact spots for BA (R_f 0.5) and exhibited linearity (R²= 0.999). The methodology was compared with a validated gas chromatography methodology and no statistical difference was observed.

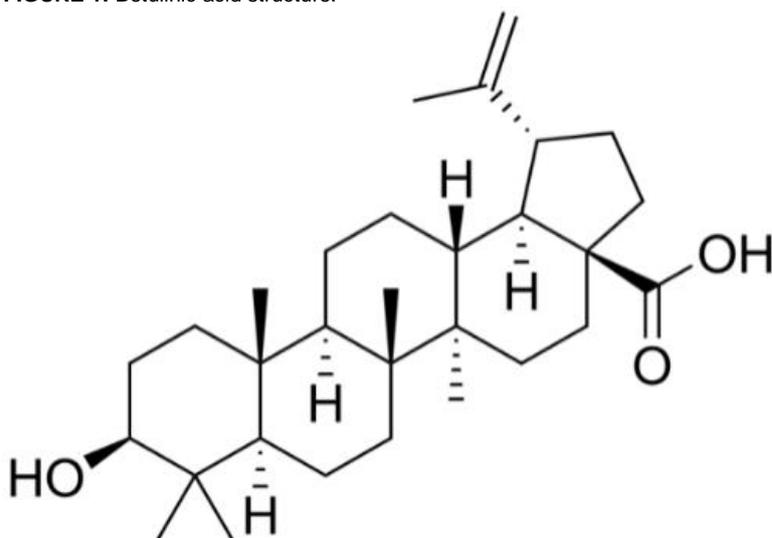
Keywords: TLC/densitometry. Gas chromatography. Validation. Natural extract. Betulinic acid. Quality control.

Introduction

Many analytical techniques have been developed for drugs analyses in complex matrices. Gas chromatography (GC) is described as the best option for assay and purity testing of natural matrices [1-3], while the thin-layer chromatography (TLC) is commonly used for its qualitative analysis [4-6]. However, most of the manuscripts described in the literature since 1993 fail to demonstrate the fitness for purpose to the TLC methods reported [7-8]. While some studies apply inappropriate validation procedures for TLC methods, others compare their results to traditional techniques without the appropriate statistical treatment to meet international acceptance standards [9-12]. Thus, limiting the use of planar chromatography as an analytical technique for the assay of bio samples.

Betulinic acid (BA) is a pentacyclic triterpene widely distributed in different species over the tropics such as in *Morus alba* L. root barks [13], *Davilla rugosa* stalk [14], *Dillenia indica* L. fruits [15], *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch fruits and leaves [16-17], *Nelumbo nucifera* Gaertn roots and rizhoma [18] and *Eugenia florida* DC. leaves [19]. A wide range of biological activities is reported for BA, including antiviral [20], antibacterial [21] and anti-inflammatory properties [22-23], and breast cancer [24-27].

FIGURE 1: Betulinic acid structure.



The purpose of this study was to evaluate the parameters to be considered during TLC-densitometry validation for the assay and purity determination of drugs in complex matrices, overcoming the technique limitation describe in the literature, and to compare the method performance with validated GC-FID methodology using statistical tools.

Materials and Methods

Chemical materials

Betulinic Acid 90% and Vanillin 99% were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). All other chemicals and solvents of analytical grade were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Silica gel 60F₂₅₄ TLC plates of 20 x 10 cm and layer thickness 0.2 mm (Merck, Darmstadt, Germany), were used as stationary phase.

Extraction preparation

The type of extraction technique, part of plant and solvent were chosen and adapted based on literature that presented the best BA yield for each plant [13-18].

Eugenia florida leaves extracts

E. florida leaves were collected at Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil in August 2010. The plant was authentically identified, and a voucher was deposited in the Botanical Garden Herbarium, Rio de Janeiro, Brazil (RB-328.061). Extraction process was established in previous work at Farmanguinhos/Fiocruz. The material was dried at 40°C in hot air oven for 72 h and the dried material was ground to fine power in a knife mill. The dried and powdered leaves (10 g) were placed into a soxhlet apparatus and exhaustively extracted with *n*-hexane followed by ethanol. The fractions were combined and evaporated to dryness by rotary evaporator.

Eugenia florida leaves blank extract

E. florida leaves extract (1.0 g) was subjected to chromatography by using a glass column (50 x 15 cm) filled with Merck silica gel 60 (0.2 mm) and eluted with a gradient of *n*-hexane in ethyl acetate (9.5: 0.5; 9.0:1.0; 8.0:2.0). The fractions of 2 mL each were collected, regrouped (except the fractions from 39 to 66 which contained BA) and evaporated to dryness by using the rotary evaporator.

Dillenia indica L.

D. indica ripe fruits were collected from the Embassy of Portugal, Rio de Janeiro, August 2011, and were deposited in the herbarium of the Rio de Janeiro Botanical Garden – JBRJ, (RB 504.027). The fruits were cut into small pieces the peel and pulp were separated and dried in an oven with air circulation at a temperature 25-30°C. The dried fruits (10 g each) were extracted by static maceration with methanol for 72 h at room temperature, this step was executed three times, the solvents combined, filtered and evaporated under vacuum at 40-45°C to deliver the crude methanol extract.

Licania tomentosa (Benth) Fritsch

L. tomentosa leaves and fruits were collected at Juliano Moreira Colony - Rio de Janeiro, July 2001, and were deposited in the herbarium of the Rio de Janeiro Botanical Garden – JBRJ, (RB 511.135). The leaves were dried in an electric oven with air circulation at 40 °C and ground. The fruits were separated from their seeds, fragmented and used fresh for the extraction process. The leaves and fruits (30 g each) were extracted by static maceration with methanol and *n*-hexane. The solvents were filtered, combined and evaporated under vacuum to obtain the crude extract.

Nelumbo nucifera (Gaertn)

N. nucifera rhizomes were collected and deposited in the herbarium at Rio de Janeiro, September 2011, and were deposited in the herbarium of the Rio de Janeiro Botanical Garden – JBRJ, (RBv 6300). The rhizomes were dried in an electric oven with air circulation at 40°C and ground. The dried material was extracted separately by static maceration with 70% ethanol by changing the solvent every 72 h until the exhaustion of the plant material, after three changes of solvents.

The solvents were filtered and evaporated under vacuum to afford the dark brown semi-solids extracts of rhizomes.

Sample preparation

A portion of 3 mg of BA standard and the equivalent dried extracts were accurately weighed and transferred into a 50 mL volumetric flask containing 20 mL of methanol. The solution was sonicated for 5 min and diluted to 50 mL with methanol. A 5 mL sample was taken from this solution, transferred to a 50 mL volumetric flask and diluted with methanol. The assay of BA was determined using linear regression equations, defined during the method validation process described below.

GC-FID analysis

Analysis of the products were carried out on an Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) gas chromatograph with flame ionization detector (FID), auto sampler in split mode at 5:1, and a capillary column (DB-5, 30 m x 0.32 mm x 1.5 μm). The flow rate of helium carrier gas was 1 mL min⁻¹. Temperature sample introduction: 300°C; oven initial temperature: 200°C (2 min); temperature rise to 350°C at a rate of 15°Cmin⁻¹; isothermal mode for 13 min, detector at 350°C. Identification was carried out based on retention time values for standards.

TLC analysis

The plates were dried and activated by heating in an oven at 110°C during 20 min. The samples were applied on analytical TLC plates using Automatic Sampler ATS4 (Camag, Muttenz, Switzerland) at 10 mm from the bottom edge of the plate, with the help of nitrogen gas and a band length of 5 mm. Spots were applied 15 mm apart with application volume of 10 μL by the spraying on samples. The plate was developed in a horizontal degassed chamber saturated for 20 min. Mobile phase was *n*-hexane:ethyl acetate:acetic acid (7:3:0.3v/v). The plates were dried, sprayed with vanillin-sulphuric reagent, and kept in a heating plate, producing a derivative which could be viewed and subsequently recorded at 560 nm (Deuterium lamp) in a Scanner III (Camag, Muttenz, Switzerland) for after most quantitative evaluation at Visualizer-DXA 252 Camera (Camag, Muttenz, Switzerland).

Besides the evaluation of figures of merit, the proposed of method validation also considered parameters based on a risk assessment of experimental and environmental conditions that happen in our daily routine work, such as the storage of samples, use of different reagent lots, analysts and equipment, as well as variation in humidity, running distance, plates, chamber saturation time and glassware. The importance of this previous assessment is to reduce or even prevent analytical fails that can occur during validation parameters assays.

The variables that may have critical impact on TLC procedures were sample solution stability, TLC sorbent layer stability before elution and solvent system and relative humidity in TLC plates.

In order to access the solution stability, samples were prepared and stored during 68 h in room temperature (20-25°C) and eluted immediately after the plotting sampling. To analyze the sorbent layer influence in the BA stability before development, a fresh solution was prepared, spotted and eluted after 0, 2, 4, 6 e 12 h.

Two-dimensional separation was performed to evaluate the analyte during the development with all samples described before.

Different times and temperatures were tested for plate activation: 10, 20 and 30 minutes submitted to 70°C, 100°C and 110°C in hot air oven.

The verification of analytical equipment was done prior to the validation and during the methodology development, considering the procedure specified by the manufacturer.

Validation

The first step to select the validation approach was to determine the purpose of the methodology, including requirements and specifications for the procedure in accordance with international accepted standards [28-31]. Therefore, a quantitative test for BA in samples of natural crude extracts would require tests of accuracy, precision, selectivity, linearity and working range.

Crude extracts, standard solution and blank matrix (extract without BA) were used for the validation assays.

To determine the best solvent or mixture of solvents (named solvent system) to develop the TLC plate, a literature research was performed and the solvent system selection was based on the BA solubility combined with its toxicity, cost, and flammability. Matrix influence over the BA quantification was evaluated by the comparison of the slopes of curves prepared in solvent (standard) and in matrix (*E. florida* leaves blank extract), using Student's *t* test.

Limit of Detection (LoD) was determined by the mean value of the matrix blank readings ($n=10$) plus 3 standard deviations of the mean, expressed in analyte concentration, and the Limit of Quantitation (LoQ) by the mean value of matrix blank readings ($n=10$) plus 10 standard deviations of the mean, expressed in analyte concentration.

Calibration curves were constructed with stock solution of BA standard and the blank spiked with BA. The spots in TLC plate were randomly applied from different concentrations by direct independent weighing to avoid variation in band-broadening effects from the different amounts of solution per spot or band. Six concentrations: 17, 34, 67, 100, 133, and 167% of work concentration ($6.0 \mu\text{g spot}^{-1}$) were evaluated. Each of the six standards was prepared in triplicate and analyzed three times.

The effects of random events on the precision of the analytical method to give a first indication of the future transferability of the analytical method was determined by the intermediate precision taking into account various influences within a laboratory, i.e. conducting analyses in two sets of experiments by different laboratory staff members, with different equipment, glassware and reagent lots. The same sample in three different concentrations was analyzed in nine replicates during the same day.

Method accuracy/recovery was determined by the standard addition method. The sample was spiked with known quantities of BA at three different concentrations (80%, 100% and 120%) for the recovery calculation.

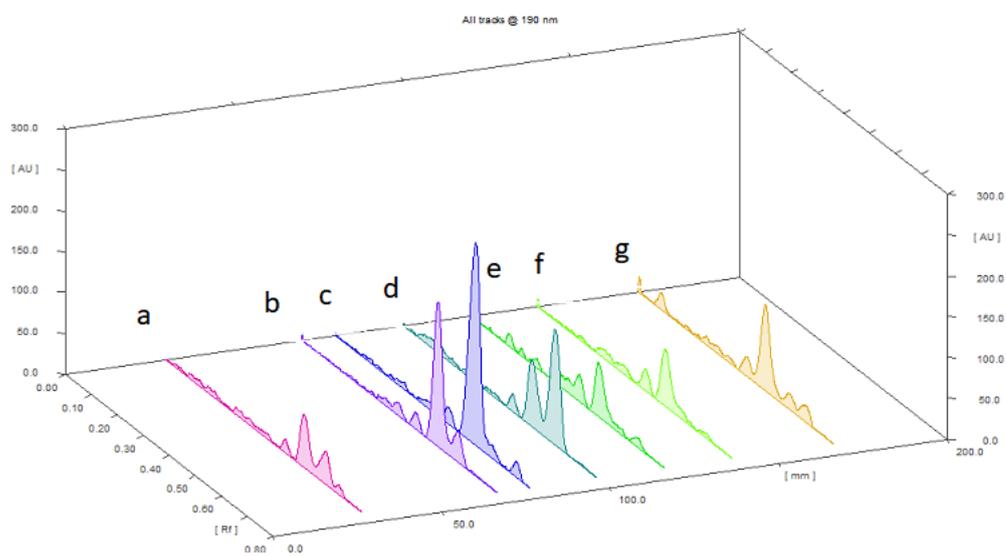
Results and Discussion

TLC Method Development

Elution System

To determine the best solvent or mixture of solvents (named solvent system) to develop the TLC plate, a literature research was performed and the solvent system selection was based on the BA solubility combined with its toxicity, cost, and flammability. Trial runs were performed by changing polarity in each solvent system, but none of the systems mentioned in literature presented the center of spot nearest to the BA separated from it by at least one-half sum of spot diameters, with visual appearance of analyte indistinguishable from the reference material. The ideal strength was achieved with ethyl acetate:*n*-hexane (3:7 v/v) which moved BA to a R_f value of 0.5 and separated it from the nearest neighbor by a difference in R_f value of 0.2, observing more than 95% of spectrum purity (**FIGURE 2**). In order to determine if other compounds from plant matrix could interfere with the measurement of the BA, selectivity was also evaluated with reagent blanks, matrix blanks (without BA) and BA samples from different natural sources and metabolic profiles (*Dillenia indica* L., *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch and *Nelumbo nucifera* Gaertn). The results demonstrated the same method selectivity efficiency as shown in *E. florida* (**FIGURE 2**), but the BA yield showed significant differences among the samples (**TABLE 1**).

FIGURE 2: TLC densitogram of BA in the extracts.



Legend: (a) *N. nucifera* rizhome; (b) *E. florida* leaves; (c) Standard BA; (d) *D. indica* ripe fruits; (e) *D. indica* green fruits; (f) *L. tomentosa* fruits; and (g) *L. tomentosa* leaves.

TABLE 1: Samples selection in BA specificity experiments and BA amount quantified.

Source	Extraction Process	Metabolic profile	BA (%)
<i>E. florida</i>	Soxhlet	Extract	8.8 (leaves)
<i>E. florida</i> (leaves)	Soxhlet/ Chromatography column	Matrix blank	(leaves)
<i>D. indica</i>	Static maceration (Methanol-72h)	Extract	6.53 (ripe) 4.49 (green)
<i>L. tomentosa</i>	Static maceration (Methanol/ <i>n</i> -hexane - 72h)	Extract	2.80 (leaves) 2.29 (fruits)
<i>N. nucifera</i>	Static maceration (Ethanol 70% - 72h)	Extract	3.8 (rhizome)

BA – Betulinic Acid

Solution Stability

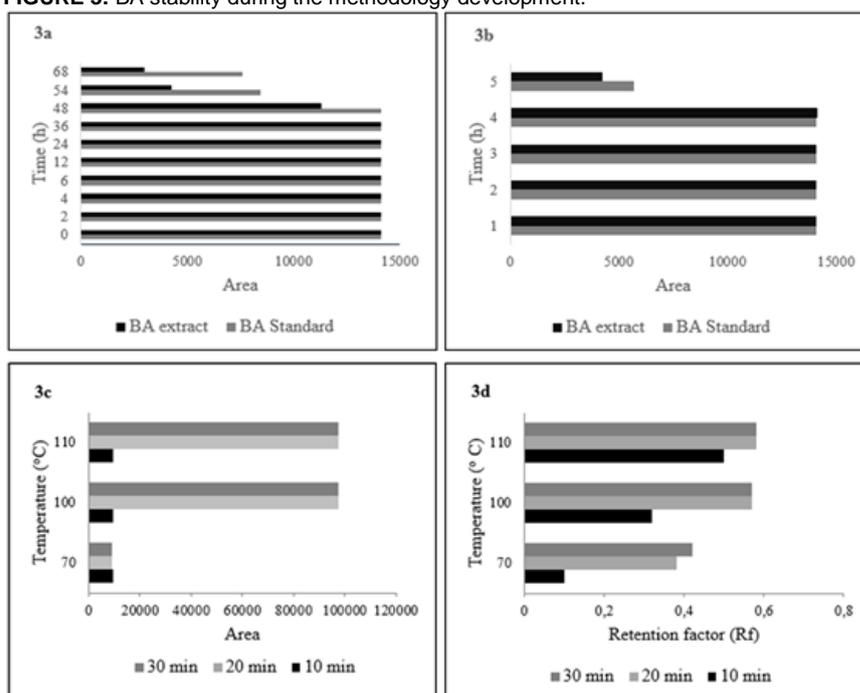
The stability in solution of BA standard and sample (extracts) was evaluated on the TLC sorbent layer before, during and after development, during sample-preparation, as well as before and after visualization with sampling at 0, 2, 6, 12, 24, 36, 48 and 68 h through its quantification (**FIGURE 3a**). Degradation was observed during the development on the solution stability sample at 48 and 54 h for BA extract and standard, respectively, as well as on the TLC sorbent layer after elution at 5 h.

Stability of the samples after the development was also assessed by two-dimension chromatography at 30 and 60 min after elution. No degradation was observed.

TLC plates

Larger spots and different retention factors (R_f) were observed in plates with 10 minutes of previous activation at 70, 100 and 110°C. The best results were achieved when plates were dried and activated by heating in oven for 20 min at 110°C, ensuring total water withdrawal (**FIGURE 3c**).

The plate humidity affected selectivity (R_f) and this was observed on the quantitative results since broad spots were formed making hard the quantification (**FIGURES 3c and 3d**).

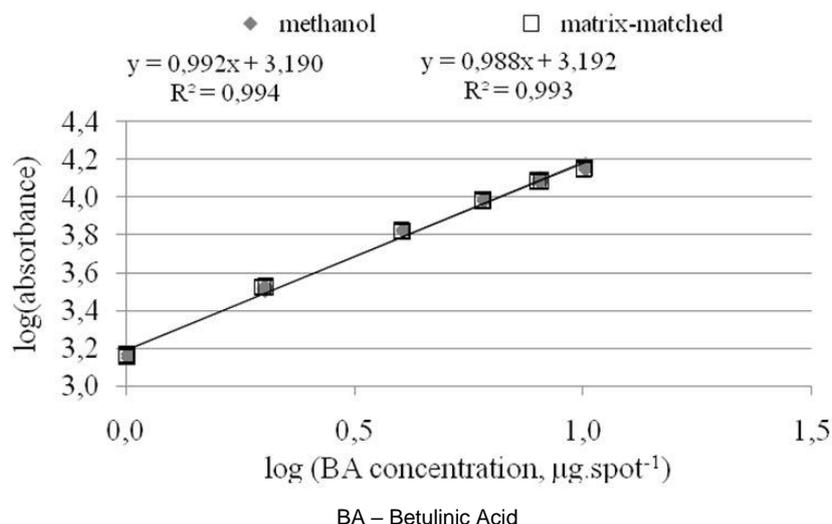
FIGURE 3: BA stability during the methodology development.

Legend: (3a) In solution, (3b) In TLC sorbent layer before elution, by plate activation influence in the BA TLC performance: (3c) Area and (3d) R_f . BA – Betulinic Acid; TLC – Thin-Layer Chromatography; R_f – Retention factor.

TLC Method Validation

Selectivity

In order to assess the effect of matrix interferences over BA response, the slopes of calibration curves prepared in methanol and in a blank extract (matrix-matched) were compared. Since calibration curves fitted in a polynomial model, each variable was plotted as logarithm to approximate the curves to a linear model (FIGURE 4) and allow the comparison by Student's t test. The slopes of the curves did not present significant difference ($t=0.026$, critical $t=1.984$, 95%, $v=102$). Based on these results, the following calibration curves could be prepared in methanol, which made easier the routine of analyses.

FIGURE 4: Comparison of calibration curves prepared in methanol and matrix-matched (blank extract of *E. florida*).

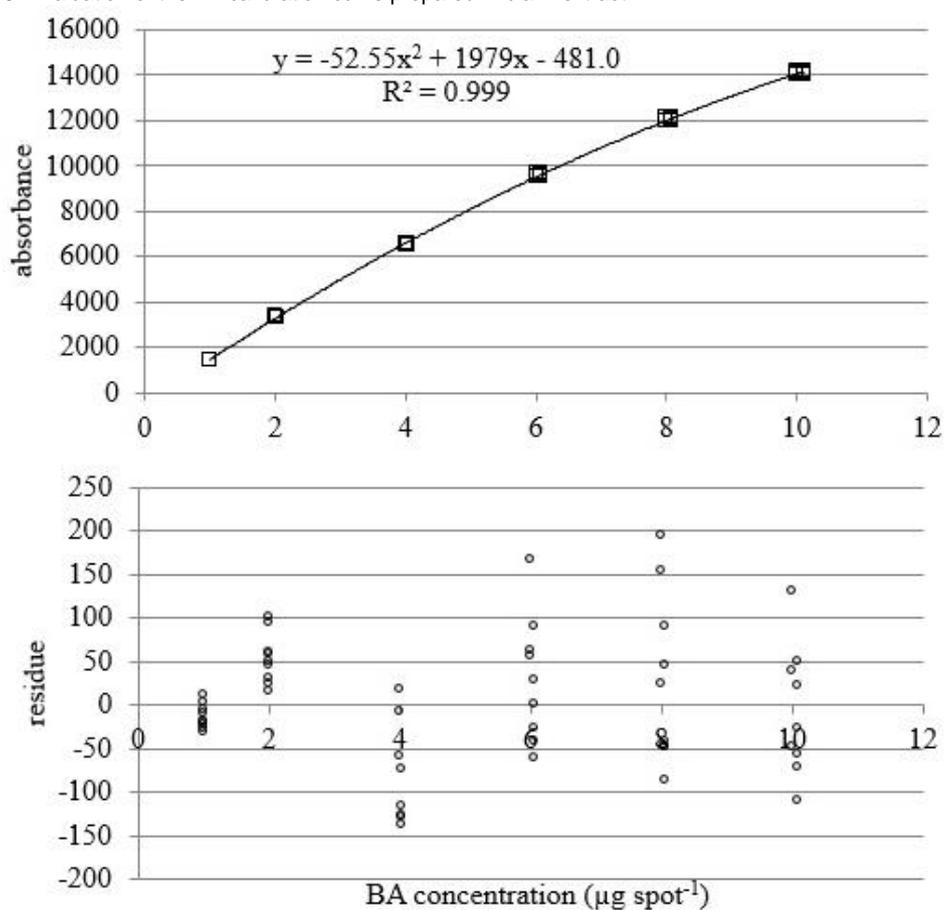
LoD and LoQ

LoD and LoQ of the method were 0.265 and 0.854 $\mu\text{g}\cdot\text{spot}^{-1}$, respectively.

Linearity Range

Calibration curves were constructed by plotting the absorbance against the concentration using polynomial regression model. Data from the curve prepared in blank extract (Figure 5) were tested using Cochran¹⁶ and were considered homoscedastic ($C=0.3686$, critical $C=0.3817$, 95%, $k=6$, $v=8$). Moreover, y-residues were randomly distributed over the concentration range. Linearity was thus demonstrated between 1 and 10 $\mu\text{g}\cdot\text{spot}^{-1}$ of BA. Results were similar for the calibration curve prepared in methanol ($y=-50.40x^2+1974x-486.1$), as discussed in the Selectivity section.

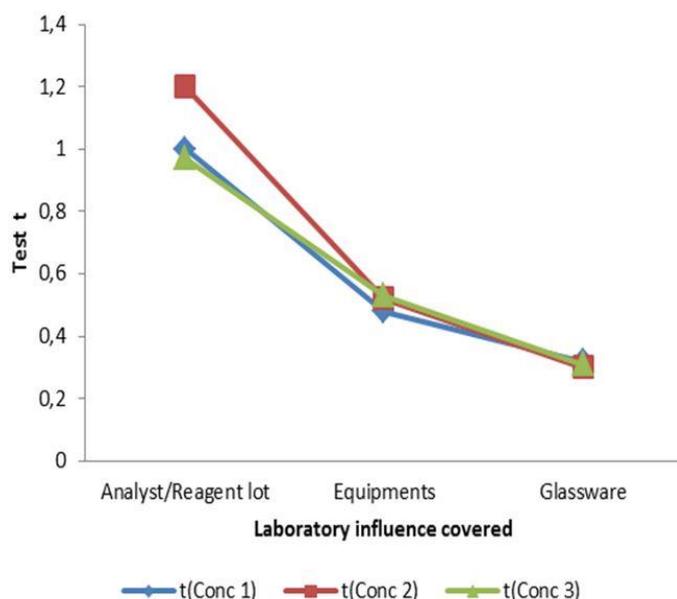
FIGURE 5: Evaluation of the BA calibration curve prepared in blank extract.



BA – Betulinic Acid

Precision

Results from different analysts/reagents, equipment and glassware were statistically compared by Student's t-test and F-test and no significant difference was observed (**FIGURE 6**).

FIGURE 6: Experimental and environmental conditions that affect the TLC performance on selectivity and quantitative results, compared by *t*-test.

The variability (RSD%) when the method was performed by a single analyst on one piece of equipment over a short timescale was evaluated by the replication of the entire method under the same procedure over three concentration levels presented 0.34; 0.47; 0.73% and 0.56; 0.44; 0.48% as relative standard deviations for standard and sample, respectively. The precision of the method complies international Standards to enable the assay of BA in this intended use.

The efficiency of the separation of BA from other substances in all samples studied was confirmed by two-dimensional separation.

Accuracy/Recovery

As recovery is a vital part of analytical method, the leaves were spiked before the extractions and compared with the non-spiked material and the spiked blank, resulting in values 99.1 to 102.34% (TABLE 2).

Results obtained in TLC were compared to those determined with a GC fully validated method by applying Student's *t*-test and *F*-test and no significant (statistical) difference was observed ($t=0.37$, $n=9$).

TABLE 2: Recovery studies of BA by TLC and GC.

Label claim (μL)	Method	Samples			Blank		
		Excess BA added (%)	Amount recovery (mg)	% Recovery	Excess BA added (%)	Amount recovery (mg)	% Recovery
900	TLC	80	8.04	100.55	80	8.08	101.02
		100	10.01	100.06	100	9.99	99.98
		120	11.88	99.01	120	12.24	102.03
900	GC	80	8.05	100.57	80	8.01	100.04
		100	10.23	102.34	100	10.01	100.01
		120	12.16	101.34	120	11.99	99.93

Legend: BA – betulinic acid; TLC – Thin-Layer Chromatography; GC – Gas Chromatography;

The results of this study show that the developed method is simple, rapid, sensitive and accurate, and may be of value to the natural product industry and for researchers during the standardization of extracts containing BA in a shorter time comparing to the traditional analytical methodology (**TABLE 3**).

TABLE 3: Comparison of BA methodology validation by TLC and GC.

Parameters	TLC	GC
Working range	1 – 10 µg	10 – 100 µg
Limit of detection	0.27 µg	0.12 µg
Limit of quantification	0.85 µg	0.387 µg
Repeatability (RSD%, n=9)		
Low concentration	0.78	0.39
High concentration	0.40	0.88
Time per determination (All procedure)	15 min	55 min

Legend: BA – Betulinic Acid; TLC – Thin-Layer Chromatography; GC – Gas Chromatography; RSD – Relative Standard Deviation

Applications

The developed and validated TLC methodology was successfully applied to evaluate the seasonal variation of BA in leaves from *E. florida*, (**TABLE 4**). Each determination was carried out in five replicates and the average results were compared to GC-FID (validated method) data obtained with the same samples. Table 4 showed percentual differences between the techniques results in a range 1.1-9.2%, possibly indicating the matrix complexity. Statistical analysis demonstrated no significant difference between the results from both methods applied ($F_{\text{experimental}}= 1.27$, $F_{\text{critical}}= 2.82$; $t_{\text{critical}}= 0.23$, $t_{\text{experimental}}= 2.07$).

TABLE 4: Comparison of TLC and GC-FID methods applied to BA determination in seasonal evaluation of *E. florida* (leaves).

Month	BA (%)		Results difference (%)
	TLC	GC-FID	
August	18,30	19,20	4,7%
September	12,65	12,37	2,3%
October	17,80	18,89	5,8%
November	22,15	21,39	3,6%
December	18,10	19,69	8,1%
January	16,42	15,12	8,6%
February	18,60	19,90	6,5%
March	10,70	9,80	9,2%
April	19,70	20,64	4,6%
May	21,90	22,15	1,1%
June	26,5	27,62	4,1%
July	23,8	25,34	6,1%

Legend: BA – Betulinic Acid

The critical points detected during the methodology development were sample stability, TLC sorbent stability and plates humidity. The method exhibited linearity in a concentration range of 1.00-10.00 µg.spot⁻¹ ($R^2= 0.999$). The solutions are stable during 48 h and need to be developed in the sorbent until 6 h after

application. No amber glassware was required during the sample preparation and the evaluation of the plates could be carried out until 1 h without degradation.

Conclusions

The method was validated and applied successfully to distinguish BA from the interfering materials in a complex matrix such as the extracts of natural samples. This method can be a cheaper and faster alternative to GC technique and overcame all the failures, misconceptions and misleading pointed in the literature for TLC quantitative methods. We believe that this methodology provides a correct and proper validation of a TLC methodology, regarding the suggested protocol involving the environmental and experimental conditions (analyte stability in solution and TLC adsorbent, TLC plate humidity, solvent system selectivity).

Acknowledgements

Thanks to Brazilian Ministry of Health for the financial support.

References

1. Galgon T, Höke D, Dräger B. Identification and Quantification of Betulinic Acid. **Phytochem Analysis**. 1999; 10: 187-190. ISSN 1099-1565. [[CrossRef](#)].
2. Frighetto N, Welendorf RM, Silva AMP, Nakamura MJ, Siani AC. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Rev Bras Farmacogn**. 2005; 15(4): 338-343. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
3. Takeoka G, Dao L, Teranishi R, Wong R, Flessa S, Harden L, Edwards R. Identification of Three Triterpenoids in Almond Hulls. **J Agric Food Chem**. 2000; 48(8): 3437-3439. ISSN 1520-5118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. Khan I, Sangwan PL, Dhar JK, Koul S. Simultaneous quantification of five marker compounds of Betula utilis stem bark using a validated high-performance thin-layer chromatography method. **J Sep Sci**. 2012; 35(3): 392-399. ISSN 1615-9314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
5. Kaale E, Risha P, Layloff T. TLC for pharmaceutical analysis in resource limited countries. **J Chromatog A**. 2011; 1218(19): 2732-2736. ISSN 0021-9673. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
6. Renger B, Végh Z, Ferenczi-Fodor K. Validation of thin layer and high performance thin layer chromatographic methods. **J Chromatog A**. 2011; 1218(19): 2712-2721. ISSN 0021-9673. [[CrossRef](#)].
7. Kashmir BP, Suman KI, Gunvant KY, Mamta BS. Development and Validation of HPTLC Method for Determination of Betulinic Acid in *Helicteres isora* root Extract. **J Chem Tech**. 2010; 2: 851-855. [[Link](#)].
8. Ferenczi-Fodor K, Renger B, Végh Z. The frustrated reviewer – Recurrent failures in manuscripts describing validation of quantitative TLC/HPTLC procedures for analysis of pharmaceuticals. **J Planar Chromatog**. 2010; 23(3): 173-179. ISSN 1789-0993. [[CrossRef](#)].
9. Oprean R, Tamas M, Roman L. Comparison of GC-MS and TLC techniques for asarone isomers determination. **J Pharmaceut Biomed Anal**. 1998; 18: 227-234. ISSN 0731-7085. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

10. Akowuah GA, Zhari I, Norhayati I, Mariam A. HPLC and HPTLC densitometric determination of andrographolides and antioxidant potencial of *Andrographis paniculata*. **J Food Compost Anal.** 2006; 19: 118-126. ISSN 0889-1575. [[CrossRef](#)].
11. Andrade JM, Estévez-Pérez MG. Statistical comparison of the slopes of two regression lines: A tutorial. **Anal Chim. Acta.** 2014; 838: 1-12. ISSN 0003-2670. [[CrossRef](#)].
12. Cochran WG. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. **Annals Eug.** 1941; 11(1): 47-52. [[CrossRef](#)].
13. Signab ANB, El-Beshbishy HA, Yonekawa M, Nomura T, Fukai T. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. **J Ethnopharm.** 2005; 100(3): 333-338. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
14. David JM, Souza JC, Guedes MLS, David JP. Estudo fitoquímico de *Davilla rugosa*: flavonoides e terpenóides. **Rev Bras Farmacogn.** 2006; 16(1): 105-108. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
15. Kumar D, Mallick S, Vedasiromoni JR, Pal BC. Anti-leukemic activity of *Dillenia indica* L. fruit extract and quantification of betulinic acid by HPLC. **Phytomedicine.** 2010; 17(6): 431-435. ISSN 0944-7113. [[CrossRef](#)].
16. Castilho RO, Oliveira RR, Kaplan MAC. Licanolide, a new triterpene lactone from *Licania tomentosa*. **Fitoterapia.** 2005; 76: 562-566. ISSN 0367-326X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Castilho RO, Kaplan MAC. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (Chrysobalanaceae). **Quim Nova.** 2008; 31(1): 66-69. ISSN 0100-4042. [[CrossRef](#)].
18. Mukherjee PK, Pal M, Pal SK, Saha K, Saha BP. Pharmacognostical profiles of rhizomes of *Nelumbo nucifera* Gaenth. **Anc Sci Life.** 1998; 17(4): 273-279. [[PubMed](#)].
19. Frighetto N, Welendorf RM, Silva AMP, Nakamura MJ, Siani AC. Purification of betulinic acid from *Eugenia florida* (Myrtaceae) by high-speed counter-current chromatography. **Phytochem Anal.** 2005; 16(6): 441-444. ISSN 0958-0344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. 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; 3: 3549-3552. ISSN 0960-894X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
21. Sami A, Taru M, Salme K, Jari Y-K. Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin. **Eur J Pharmac Sci.** 2006; 29: 1-13. ISSN 1879-0720. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Aguirre MC, Delporte C, Backhouse N, Erazo S, Letelier ME, Cassels BK et al. Topical anti-inflammatory activity of 2alpha-hydroxy pentacyclic triterpene acids from the leaves of *Ugni molinae*. **Bioorgan Med Chem.** 2006; 14(16): 5673-5677. ISSN 0968-0896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
23. Mukherjee PK, Saha K, Das J, Pal M, Saha BP. Studies on the AntiInflammatory Activity of Rhizomes of *Nelumbo nucifera*. **Plan Med.** 1997; 63(4): 367-369. ISSN 1439-0221. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
24. Schmidt ML, Kuzmanoff KL, Ling-Indeck L, Pezzuto JM. Betulinic acid induces apoptosis in human neuroblastoma cell lines. **Europ J Cancer.** 1997; 33(12): 2007-2010. ISSN 1879-0852. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
25. Pisha E, Chai H, Lee I, Chagwedera TE, Farnsworth NR, Cordell GA et al. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. **Nat Med.** 1995; 1: 1046-1051. ISSN 1546-170X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

26. Fulda S, Jeremias I, Sieiner HH, Pietsch T, Debatin KM. Betulinic acid: A new cytotoxic agent against malignant brain-tumor cells. **Int J Cancer**. 1999; 82: 435-441. ISSN1097-0215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
27. Ehrhardt H, Fulda S, Fuhrer M, Debatin KM, Jeremias I. Betulinic acid-induced apoptosis in leukemia cells. **Leukemia**. 2004; 18: 1406-1412. ISSN 1476-5551. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
28. Mukherjee D, Kumar NS, Khatua T, Mukherjee PK. Rapid validated HPTLC method for estimation of betulinic acid in *Nelumbo nucifera* (Nymphaeaceae) rhizome extract. **Phytochem Anal**. 2010; 21: 556–560. ISSN 1099-1565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
29. ICH-Q2(R1). **Validation of Analytical Procedures: Methodology International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use**. Geneva, Switzerland 2005. Disponível em: [[Link](#)].
30. AOAC_Peer. Verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures, Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. **Off Met Anal Manual**. USA, 2002. Disponível em: [[Link](#)].
31. Eurachem guide: **The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide Method Validation and Related Topics**. 2nd ed. 2014. Disponível em: [[Link](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 06/04/2020 | **Aceite:** 09/07/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Nóbrega AB, Lessa BM, Bizarri CHB, Wollinger W et al. Evaluation of TLC-densitometry assay validation applied to complex matrix. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 177-190. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/998>>. 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.



Produção e avaliação de comprimidos contendo elevado teor de extratos secos de *Maytenus ilicifolia*

Production and evaluation of tablets containing high amount of *Maytenus ilicifolia* dried extract

DOI 10.32712/2446-4775.2020.881

Soares, Luiz Alberto Lira^{1*}; Ferreira, Magda Rhyanne Assunção¹.

¹Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacognosia. Rua Professor Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP 50740-521, Recife-PE, Brasil.

*Correspondência: lals.ufpe@gmail.com.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos excipientes sobre as propriedades de comprimidos contendo altas doses de grânulos do produto seco por aspersão das folhas de *Maytenus ilicifolia*. Para tanto, excipientes de diferentes categorias foram estudados, entre os quais: materiais de enchimento/aglutinante (celulose microcristalina; celulose microcristalina e α -lactose mono-hidratada co-processadas; α -lactose monohidratada co-processada com polivinilpirrolidona e com polivinilpirrolidona reticulada e fosfato de cálcio); e, superdesintegrantes (glicolato de amido sódio, carboximetilcelulose sódica ou polivinilpirrolidona); e, lubrificantes/deslizantes (dióxido de silício coloidal e estearato de magnésio). A resistência ao esmagamento e os tempos de desintegração dos comprimidos foram avaliados preliminarmente, e os resultados mostraram que a formulação contendo celulose microcristalina e glicolato de celulose sódica produziu comprimidos com resistência ao esmagamento e o tempo de desintegração, adequados. Os comprimidos finais, preparados com excipientes selecionados, apresentaram força de esmagamento de $88,0 \pm 5,2$ N, ausência de friabilidade ou variação de peso, tempo máximo de desintegração de 13,2 minutos e dissolução total em até 25 minutos. O teor de taninos totais, avaliado pelo ensaio espectrofotométrico, mostrou que os constituintes químicos foram estáveis durante as transformações tecnológicas das soluções extrativas.

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*. Espinheira-santa. Extrato seco. Comprimidos. Formulação. Fitoterápicos.

Abstract

The aim of this work was the evaluation of influence from excipients on the properties of tablets containing high-dose of granules from spray-dried product of *Maytenus ilicifolia* leaves. Thus several excipients were studied such as filler/binder (microcrystalline cellulose; microcrystalline cellulose co-processed with α -lactose monohydrated; α -lactose monohydrated co-processed with polyvinylpyrrolidone and cross-linked polyvinylpyrrolidone; or, calcium phosphate); superdisintegrants (sodium starch glycolate, sodium cellulose

glycolate or cross-linked polyvinylpyrrolidone); and, lubricants/glidants (colloidal silicon dioxide and magnesium stearate). The crushing strength and disintegration times of tablets were preliminarily evaluated, and the results showed that formulation containing microcrystalline cellulose and sodium cellulose glycolate produced tablets with appropriate crushing strength and disintegration time. The final tablets prepared by the selected excipients, showed crushing strength of 88.0 ± 5.2 N, absence of friability or weight variation, maximum disintegration time of 13.2 minutes and total dissolution at 25 minutes. The total tannin content evaluated by spectrophotometric assay, showed that the chemical constituents were stable during the technological transformations of the extractive solutions.

Keywords: *Maytenus ilicifolia*. Espinheira-santa. Dried extract. Tablets. Formulation. Phytopharmaceutical.

Introdução

Maytenus ilicifolia Martius ex. Reissek (Celastraceae) é uma das espécies vegetais de uso mais difundido na medicina tradicional brasileira, onde é amplamente conhecida como Espinheira-Santa [1]. As propriedades farmacológicas do vegetal têm sido amplamente exploradas, e a atividade antiúlcera de soluções aquosas das folhas do vegetal já é conhecida [2-5].

A fim de garantir a reprodutibilidade da qualidade, eficácia e segurança, a padronização é uma etapa essencial no desenvolvimento e produção de fitoterápicos. A qualidade das matérias-primas desempenha um papel importante nesse processo. Considerando esse aspecto, os extratos vegetais podem ser tipificados de acordo com o conhecimento do seu conteúdo químico em: “Padronizados” em que o(s) composto(s) é(são) conhecido(s) (marcador clínico); “Quantificados” em que o(s) constituinte(s) terapêutico(s) é(são) desconhecido(s) e a eficácia é atribuída a uma faixa de concentração de substâncias farmacologicamente relevantes; e, “Outros” em que a eficácia é associada à reprodutibilidade do processo de fabricação e marcadores analíticos são usados no processo de controle. Os extratos vegetais totalmente caracterizados (padronizados/quantificados/outros), também descritos como extratos nativos, são amplamente utilizados como Ingrediente Farmacêutico Ativo no desenvolvimento de formas farmacêuticas [6].

Dessa forma, a preparação de produtos secos a partir de soluções extrativas como intermediários farmacêuticos tem recebido especial atenção para o desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos [7-10]. Porém, embora apresentem propriedades tecnológicas interessantes (tais como: homogeneidade de constituintes químicos, forma de partícula esférica e distribuição granulométrica controlável); o emprego de produtos vegetais secos no desenvolvimento e na produção de formas farmacêuticas sólidas, tem se apresentado como uma tarefa complexa. Isto se deve a ausência de propriedades satisfatórias de reologia e de compressibilidade necessários ao processo de manufatura [11-13]. Tais dificuldades se acentuam, uma vez que em formulações contendo produtos vegetais secos, frequentemente, são necessárias proporções elevadas deste componente ativo [12,13]. Para contornar estes problemas, diversas alternativas são relatadas pela literatura, como: granulação (seca ou úmida com solventes não aquosos [14]), compressão direta [11,12,15] e utilização de diferentes adjuvantes de secagem [8,16]. Entretanto, a granulação por via seca de produtos vegetais secos, tem se destacado em virtude da higroscopicidade característica para este tipo de material [17-19].

O incremento das propriedades reológicas, mecânicas e físicas de sistemas particulados através da granulação, favorece a preparação de formulações com menor probabilidade de problemas de uniformidade de conteúdo, fluxo e/ou compressibilidade. Associado a isto, a maior densidade do material obtida durante

a operação de granulação, assegura maior dosagem por unidade. Entretanto, os comprimidos precisam atender especificações de códigos oficiais e, para isso, os excipientes farmacêuticos exercem papel crucial sobre o desempenho das formulações de comprimidos. Neste contexto, excipientes tais como desintegrantes, deslizantes/lubrificantes e materiais de enchimento/aglutinantes, desempenham função importante no que se refere a resistência ao esmagamento, a desintegração e a liberação dos ativos a partir dos comprimidos [12,15,18,20-22].

Diante do exposto, o propósito deste trabalho foi avaliar a influência de excipientes farmacêuticos (desintegrantes, deslizantes/lubrificantes e materiais de enchimento) sobre as propriedades de desempenho de comprimidos contendo elevado teor de produto seco por aspensão a partir do extrato aquoso das folhas de *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa).

Materiais e Métodos

Excipientes

Celulose microcristalina (Avicel® PH 101, FMC, Lehmann and Voss/Germany); celulose microcristalina co-processada com α -lactose monohidratada (Cellactose®, Meggle/Germany); dióxido de silício coloidal (Aerosil® 200, Degussa/Germany); estearato de magnésio (Bärlocher/Germany); fosfato de cálcio (Tritab®, Rhône-Poulenc/France); glicolato de amido sódico (Explotab®, Edward Mendell, Gustav Parmentier/Germany); glicolato de celulose sódica (Ac-Di-Sol®, FMC, Lehmann and Voss/Germany); α -lactose monohidratada co-processada com polivinilpirrolidona solúvel e com polivinilpirrolidona reticulada (Ludipress®, BASF/Germany); polivinilpirrolidona reticulada (Kollidon® CL, BASF/Germany). Os excipientes usados foram doados.

Produto Seco por Aspensão (PSA)

As partes aéreas de *Maytenus ilicifolia* Reissek (Celastraceae) foram extraídas por infusão com água destilada (1:10, p/v). Adicionou-se dióxido de silício coloidal à micela na proporção 2:8 de excipiente para resíduo seco [23]. A dispersão foi seca por Spray-drier Production Minor® (GEA, Dinamarca), com um disco rotativo. As condições operacionais foram 9500 rpm do disco de rotação, 149°C de temperatura de entrada, 99°C de temperatura de saída e razão de alimentação de 140 mL/min.

Obtenção dos Briquetes e Granulação

O PSA de *Maytenus ilicifolia* (486,0 g) foi misturado em um misturador Turbula (Modelo T2C, Willy Bachofen, Basel, Suíça) por 5 minutos, com 7,0 g de Aerosil® 200 e 7,0 g de estearato de magnésio. Foram produzidos briquetes de 0,8 g a uma força de compressão de $22,0 \pm 1,0$ kN, utilizando ferramentas de face plana de 17 mm de diâmetro em uma máquina de punção único EK-0 (Korsch, Berlim, Alemanha). O punção superior foi instrumentado com quatro fitas de alongamento (Modelo 3/120 LY-11; Hottinger Baldwin, Darmstadt, Alemanha) para medir a força de compressão. Uma ponte de frequência portadora Hottinger Baldwin foi usada como amplificador (Modelo K52 com conversor A/D KWD 523D; Hottinger Baldwin, Darmstadt, Alemanha). Os dados de compactação foram adquiridos e processados usando o software Messefix® V. 2.3 (Dr. R. Herzog, Tübingen, Alemanha).

Os briquetes foram triturados em um granulador seco (Erweka TG IIS acoplado a um motor multiuso Erweka AR 400; Erweka, Heusenstamm, Alemanha) para obter grânulos com tamanho de partícula <2,00 mm. O material resultante foi submetido a passagem forçada através de um granulador oscilante (Erweka FGS acoplado a um motor multiuso Erweka AR 400; Erweka, Heusenstamm, Alemanha) usando um tamis de 1,0 mm. O granulado do PSA (GPSA) foi constituído da faixa granulométrica entre 250 e 1000 µm e empregada para preparação dos comprimidos.

Avaliação Preliminar dos Excipientes

Avaliação dos desintegrantes

Os comprimidos foram preparados a partir de formulações com e sem desintegrantes. As proporções de GPSA (71,23%, p/p) e Aerosil® 200 (1,20%, p/p) foram mantidas constantes. A quantidade de desintegrante (Kollidon-CL, Explotab ou Ac-Di-Sol) foi de 5,00% e a celulose microcristalina foi adicionada em concentração suficiente para 100%. Granulado, material de enchimento/aglutinante e desintegrante foram misturados por 10 min em misturador Turbula. E, em seguida, o dióxido de silício coloidal foi adicionado ao complexo através de tamis de 315 µm, e a mistura final foi realizada por 5 min. Cerca de 250,0 mg de cada formulação foram exatamente pesados e compactados sob forças de compactação entre 5,0 e 15,0 ± 0,5 kN, em máquina de compressão alternativa (mod EK 0, Korsch, Berlim, Alemanha) munida de ferramentas planas com diâmetro de 10 mm.

Avaliação dos materiais de enchimento/aglutinante

Os comprimidos foram preparados a partir de formulações utilizando Avicel PH 101, Cellactose 80, TRITAB ou Ludipress como material de enchimento/aglutinante e, com ou sem Ac-Di-Sol (5,00%, p/p) como desintegrante. As proporções de GPSA (71,23%, p/p) e Aerosil® 200 (1,20%, p/p) foram mantidas constantes. A quantidade de material de enchimento/aglutinante foi adicionada em concentração suficiente para 100%. De cada formulação, comprimidos de 250,0 mg foram preparados sob forças de compactação de 6,0, 8,0, 10,0, 12,0 e 15,0 ± 0,5 kN em máquina de compressão alternativa (mod EK-0, Korsch, Berlim, Alemanha) munida de ferramentas planas com diâmetro de 10 mm e de alimentador.

Avaliação da concentração de Ac-Di-Sol

Comprimidos de 250,0 mg de formulações contendo GPSA (71,23% p/p), Aerosil® 200 (1,2% p/p), Ac-Di-Sol (3,00, 6,00 ou 9,00% p/p) e celulose microcristalina em concentração suficiente para 100%, foram preparados sob forças de compactação de 5,0 e 15,0 ± 0,5 kN em máquina de compressão alternativa (mod EK-0, Korsch, Berlim, Alemanha) munida de ferramentas planas com de diâmetro de 10 mm e de alimentador.

Obtenção dos Comprimidos

Foram preparados comprimidos de 550,00 mg contendo alta dose do extrato seco granulado (GPSA). As proporções dos ingredientes foram mantidas constantes. O GPSA (71,23%, equivalente a 391,76 mg do granulado por comprimido), Avicel PH 101 (22,57%, equivalente a 124,14 mg por comprimido) e Ac-Di-Sol (5,00%, equivalente a 27,50 mg por comprimido) foram misturados por 10 minutos em um misturador Turbula Mixer T2C (Willy Bachofen, Suíça); depois, o Aerosil® 200 (1,20%, equivalente a 6,60 mg por

comprimido) foi adicionado diretamente ao complexo através de um tamis de 315 µm. A mistura final foi realizada por 5 min.

O complexo final foi submetido a compressão máquina de compressão alternativa (mod EK 0, Korsch, Berlim, Alemanha), utilizando ferramentas biconvexas de 11 mm de diâmetro. A comprimidos foram obtidos sob forças de compressão entre 6,5 e 16,0 ± 0,5 kN.

Dureza

A dureza de 10 comprimidos de cada lote foi determinada de acordo com a Farmacopeia Europeia [24] usando um durômetro de bancada (Model TBH30, Erweka, Germany).

Tempo de Desintegração

O tempo de desintegração foi mensurado de acordo com Farmacopeia Europeia [24] utilizando um desintegrador (Model PTZ - 1, Pharmatest, Germany). Seis comprimidos de cada lote foram avaliados e água a 37°C foi utilizada como meio.

Peso

O peso de cada comprimido foi determinado utilizando uma balança de precisão (n = 10).

Friabilidade

A friabilidade dos comprimidos foi medida como a porcentagem de perda de peso de 20 comprimidos em um friabilômetro (Model PTF – 1; PharmaTest, Germany). Após 5 min de rotação a 25 rpm, o pó dos comprimidos foi removido e a porcentagem de perda de peso calculada [24].

Dissolução

O teste de dissolução foi realizado de acordo com o aparelho tipo pá USP 24 (Modelo PTWS III; PharmaTest, Alemanha) a 37°C, a 100 rpm, usando água destilada como meio de dissolução (n = 6). As amostras foram coletadas automaticamente a cada 6 minutos e analisadas em 270 nm, utilizando um espectrofotômetro HP 8452A (Hewlett Packard, EUA), munido de bomba peristáltica HP 89092A (Hewlett Packard, EUA) e dispositivo para múltiplos cubetas. A porcentagem do PSA total dissolvido em diferentes intervalos de tempo foi calculada usando a equação de regressão gerada a partir da curva padrão.

Teor de Taninos Totais (TTT)

Para a determinação do TTT foram empregadas como amostras: a) 15,0 mL de solução extrativa; b) 470,0 mg de PSA; c) 482,5 mg de GPSA; e, d) 677,5 mg da formulação tomados a partir de 10 comprimidos triturados. As amostras foram dissolvidas de forma independente em 100,0 mL de água destilada e as soluções resultantes foram mantidas sob proteção da luz (Soluções Estoque - SE). Para a determinação do teor de polifenóis totais (TPT), 2,0 mL de cada SE foram transferidos para béqueres de 50 mL e adicionados de 2,0 mL do reagente Folin-Denis (R1) e de 16,0 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (R2). A absorvância foi determinada em 750 nm, 2 minutos após a adição do último reagente. Água destilada foi usada como solução de compensação (branco). A fração não-tanante (FNT) foi estabelecida a partir de

10,0 mL de SE após 1 h de agitação magnética com 150,0 mg de caseína e filtrada através de papel de filtro. Alíquotas de 2,0 mL do filtrado foram diluídas para 25,0 mL em água destilada, repetindo os passos reacionais descritos para o TPT. O resultado foi expresso como porcentagem de taninos totais (TTT) e calculado como catequina, usando a equação abaixo e representa a média das três determinações.

$$TPT = \frac{A_1 \cdot FD}{p \cdot A_{1cm}^{1\%}} \quad (1)$$

$$FNT = \frac{A_2 \cdot FD}{p \cdot A_{1cm}^{1\%}} \quad (2)$$

$$TTT = TPT - FNT \quad (3)$$

TPT = teor de polifenóis totais (g%); FNT = fração não-tanante (g%); TTT = teor de taninos totais (g%); A = absorvância (U.A); FD = fator de diluição; p = peso da amostra (g); A^{1%} = absorção específica da catequina (764,27).

Resultados e Discussão

Avaliação do Desintegrante

A influência de cada um dos desintegrantes sobre as propriedades de comprimidos contendo o GPSA de *M. ilicifolia* foi avaliada empregando proporção fixa de 5% (m/m) e utilizando Avicel PH 101 como material de enchimento. A escolha deste material de enchimento fundamentou-se em sua capacidade de absorver água através de formação de capilares facilitando o contato com os desintegrantes [21], comportamento relatado previamente para estudos compressionais empregando produtos de secos vegetais [19, 25-27].

Os resultados observados para a dureza dos comprimidos contendo alto teor de produto seco de *M. ilicifolia* e representados na **TABELA 1**, demonstraram que tal resposta sofreu pequena influência da presença de desintegrantes em sua composição. Como a resistência dos comprimidos é dependente principalmente da força aplicada, em nível de força inferior houve redução na dureza, em cerca de 20%, independente do tipo de desintegrante presente na formulação. Entretanto, a baixa dureza observada para todas as formulações sugere que a força aplicada não foi suficiente para formação de pontes interparticulares. Certamente, este fato contribui para maior sensibilidade do comprimido a variações na fórmula. Por outro lado, quando a força de compressão foi elevada para 15 kN, a contribuição dos desintegrantes foi mais nítida. Embora o incremento na resistência dos comprimidos tenha sido similar para todas as formulações (cerca de 5 vezes), os comprimidos contendo Ac-Di-Sol foram os que apresentaram dureza mais semelhante às formulações livres de desintegrantes. Este comportamento pode estar relacionado à forma das partículas de Ac-Di-Sol, uma vez que sua forma fibrosa (típica para derivados de celulose), deve proporcionar melhor distribuição do adjuvante e menor interferência sobre o mecanismo de aglutinação do Avicel PH 101. O mesmo não ocorre com Explotab, que apresenta partículas geralmente esféricas, ou Kollidon-CL que é constituído por agregados de partículas muito finas. Os dois últimos desintegrantes devem apresentar uma espécie de descontinuidade na estrutura formada pelo Avicel PH 101, interferindo no mecanismo de aglutinação do material de enchimento/aglutinante e reduzindo a dureza dos comprimidos.

TABELA 1: Avaliação dos desintegrantes: dureza dos comprimidos.

	Força de Compressão		Proporção	Diminuição da Dureza (%)	
	5 kN	15 kN		5 kN	15 kN
Sem desintegrante	34,5 (1,64)	156,0 (9,07)	4,52	-	-
Kollidon-CL	25,8 (2,23)	123,5 (7,12)	4,78	25,12	20,83
Explotab	26,2 (1,94)	122,5 (8,40)	4,68	24,15	21,47
Ac-Di-Sol	27,0 (1,09)	150,2 (8,18)	5,56	21,74	3,74

Considerando o tempo de desintegração dos comprimidos, geralmente, a força de compressão exerce influência reduzida sobre o parâmetro [28,29]. Comportamentos desta natureza favorecem a preparação de comprimidos com propriedades desejáveis de baixo tempo de desintegração e com dureza elevada. Entretanto, os componentes da formulação e suas interações podem apresentar efeitos importantes sobre o tempo de desintegração dos comprimidos [22].

Para os comprimidos contendo o GPSA, observou-se que a elevação da força de compressão prolongou o tempo de desintegração independente do desintegrante empregado nas formulações. Porém, a força de compressão exerceu maior influência sobre a formulação isenta de desintegrantes, aumentou o tempo de desintegração dos comprimidos em quase 90%. Por outro lado, as formulações contendo desintegrantes foram menos sensíveis a influência da força de compressão, e o aumento do tempo de desintegração das formulações variou na faixa de 16 a 43% (TABELA 2).

TABELA 2: Avaliação dos desintegrantes. Influência da força de compressão (5 e 15 kN) sobre o tempo de desintegração dos comprimidos.

	Tempo de desintegração (min)		Aumento do tempo de Desintegração (%)	Eficiência (%)	
	5 kN	15 kN		5 kN	15 kN
Sem desintegrante	35,6	67,8	89,0	-	-
Kollidon-CL	16,6	19,2	15,8	53,84	71,72
Explotab	9,4	12,8	36,3	73,82	81,11
Ac-Di-Sol	6,7	9,6	43,2	81,29	85,82

De acordo com os dados apresentados na TABELA 2, todas as formulações contendo os desintegrantes apresentaram redução do tempo de desintegração dos comprimidos. Os comprimidos preparados a partir da formulação contendo Ac-Di-Sol como desintegrante apresentaram maior eficiência, ou seja, os menores tempos de desintegração (< 10 min).

Para avaliar a eficácia de cada formulação e a sua sensibilidade à força de compressão aplicada, a razão de redução do tempo de desintegração promovida por cada formulação em relação a formulação sem desintegrante foi usada como parâmetro para calcular a eficiência (%) de cada desintegrante.

De uma forma geral, a elevação da força aplicada incrementou a eficiência dos desintegrantes. Maior eficiência de desintegração foi observada para o Ac-Di-Sol, seguido por Explotab e Kollidon-CL. E, a ordem de

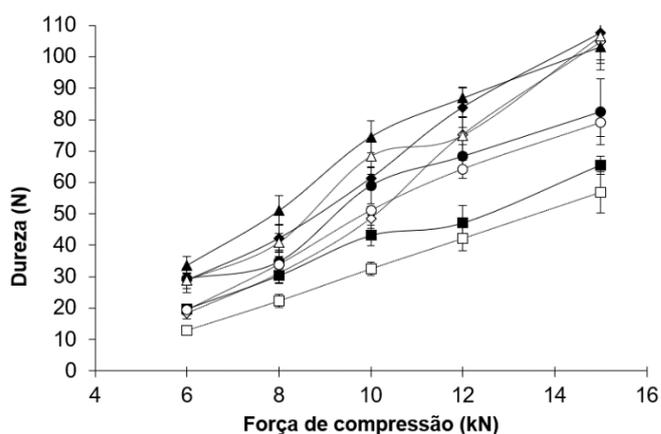
eficiência dos desintegrantes não foi modificada com a elevação da força aplicada. Diversos mecanismos estão relacionados à ação da força de compressão sobre a eficiência de desintegrantes. O mais simples deles seria decorrente da regulação da penetração de fluidos no compacto em virtude de maior ou menor porosidade. Portanto, comprimidos obtidos sob força de compressão mais baixa apresentam maior porosidade e, conseqüentemente, rápida penetração de fluidos. Porém, existem relatos na literatura de que comprimidos preparados com amido podem apresentar redução no tempo de desintegração com o aumento da força de compressão [22]. Neste último caso, a redução dos espaços vazios (porosidade) resultante do aumento da densificação promovida pela maior força de compressão, desempenha papel importante na potencialização da ação do desintegrante pela desagregação resultante do intumescimento do excipiente. Contudo, a aplicação de força de compressão muito elevada pode levar a grau de densificação tão intenso, que a entrada de fluidos no compacto seja dificultada comprometendo a desintegração do comprimido [30].

Em relação às formulações avaliadas neste estudo, a força de compressão exerceu papel importante sobre o tempo de desintegração dos comprimidos, com aumento do tempo de desintegração entre 15 e 43% para formulações contendo desintegrantes e de quase 90% para a formulação sem desintegrante. Por outro lado, foram os dados de eficiência de desintegração dos excipientes que chamaram a atenção. Embora a eficiência de todas as formulações tenha aumentado com o incremento da força de compressão, foi o Ac-Di-Sol quem apresentou melhor performance em todas as condições estudadas. Considerando que o derivado de celulose também apresentou menor impacto sobre a dureza dos comprimidos, o Ac-Di-Sol foi selecionado para a realização dos demais ensaios.

Avaliação do material de enchimento/aglutinante (MEA)

Os perfis de dureza para comprimidos contendo os diferentes materiais de enchimento estão representados na FIGURA 1.

FIGURA 1: Perfil de dureza dos comprimidos produzidos com diferentes materiais de enchimento/aglutinantes, com (0%) e sem Ac-Di-Sol (5%). Cellactose: Cellac+0% (◆), Cellac+5% (◇); Avicel PH 101: Avi+0% (▲), Avi+5% (△); Ludipress: Lud+0% (●), Lud+5% (○); Fosfato de Cálcio: Tri+0% (■) e Tri+5% (□).



Os resultados demonstraram que todas as formulações foram sensíveis a aplicação de força. Os comprimidos apresentaram maior dureza quando Avicel PH 101 ou Cellactose foi empregado como material de enchimento. Resistência intermediária foi detectada para comprimidos preparados com Ludipress, enquanto comprimidos preparados com Tritab foram os menos resistentes.

A adição de Ac-Di-Sol promoveu redução significativa no tempo de desintegração dos comprimidos a partir de todas as formulações. Ademais, a força de compressão não proporcionou aumento significativo no tempo de desintegração de comprimidos contendo Ac-Di-Sol. As formulações contendo Avicel PH 101 ou Tritab como MEA potencializaram a ação do desintegrante e originaram os lotes de comprimidos com menores tempos de desintegração. Porém, em relação a eficiência de desintegração, a formulação obtida com Tritab apresentou redução da eficácia do desintegrante com o aumento da força de compressão, com capacidade de redução de 81% no tempo de desintegração sob força de compressão de 6 kN, para cerca de 67% sob força de compressão de 15 kN. Em relação aos demais materiais de enchimento, foi possível observar que o desintegrante apresentou a mesma eficiência, com destaque para o Avicel PH 101 que apresentou capacidade de redução de no tempo de desintegração dos comprimidos em cerca de 85%, independente da força de compressão (**TABELA 3**).

TABELA 3: Tempo de desintegração dos comprimidos produzidos com diferentes materiais de enchimento/aglutinante (MEA) contendo ou não Ac-Di-Sol.

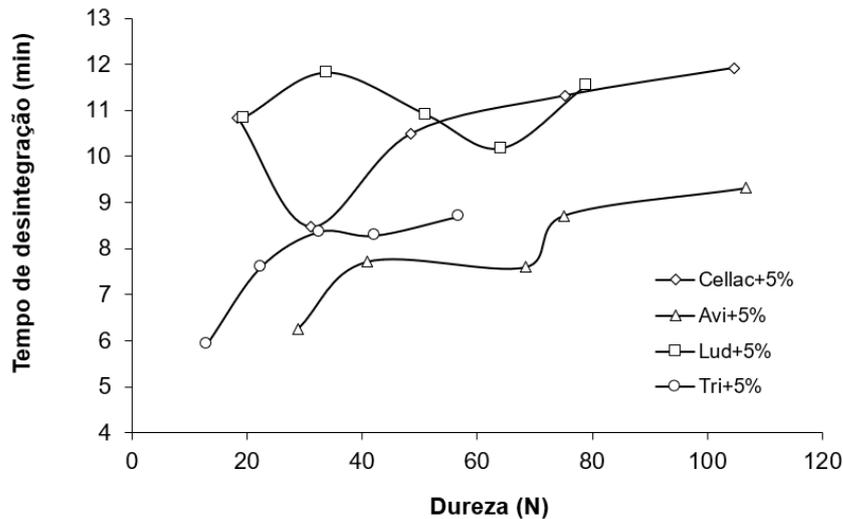
		Força de compressão (kN)				
MEA	Ac-Di-Sol (%)	6	8	10	12	15
Avicel PH 101	0	43,8	49,4	53,0	58,7	64,9
	5	6,3	7,7	7,6	8,7	9,3
	Δ TD (%)	85,7	84,4	85,7	85,2	85,6
Ludipress	0	37,0	38,2	36,1	37,2	46,6
	5	10,8	11,8	10,9	10,2	11,6
	Δ TD (%)	70,7	69,1	69,8	72,6	75,2
Tritab	0	31,5	29,4	28,1	28,8	26,0
	5	5,9	7,6	8,4	8,3	8,7
	Δ TD (%)	81,2	74,1	70,3	71,2	66,5
Cellactose	0	30,1	30,1	30,7	31,7	36,3
	5	10,8	8,5	10,5	11,3	11,9
	Δ TD (%)	64,0	71,8	65,8	64,3	67,1

Δ TD = redução percentual no tempo de desintegração.

De forma independente, cada uma das formulações contendo Ac-Di-Sol não apresentou correlação importante do tempo de desintegração dos comprimidos com a força de compressão ou com a dureza dos comprimidos. Nas condições estudadas, todas as formulações originaram comprimidos com tempos de desintegração inferiores ao recomendado pela literatura para comprimidos de desintegração imediata [24].

A análise simultânea da dureza e tempo de desintegração de todas as formulações contendo desintegrante (**FIGURA 2**), revelou que a formulação contendo Avicel PH 101 e Ac-Di-Sol originou comprimidos com melhores características de dureza e com menor tempo de desintegração.

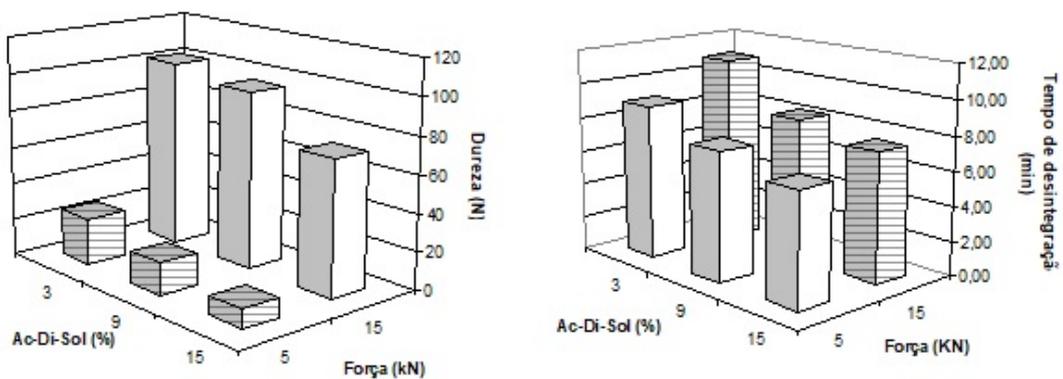
FIGURA 2: Relação entre dureza e tempo de desintegração de comprimidos produzidos com Ac-Di-Sol (5%) e diferentes materiais de enchimento: Cellactose (Cellac); Avicel PH101 (Avi); Ludipress (Lud); Fosfato de Cálcio (Tri).



Avaliação da concentração de Ac-Di-Sol

O efeito da concentração de Ac-Di-Sol sobre a desintegração de comprimidos foi avaliado na faixa de de 3 a 15% (m/m) e os resultados obtidos estão resumidos na **FIGURA 3**. Os dados revelam que maior eficiência do desintegrante foi observada para as formulações contendo até 9% (m/m) do desintegrante. Para concentração superior a 9% (m/m) não foi observada mudança importante para o tempo de desintegração dos comprimidos. Porém, por outro lado, a formulação resultou em efeito deletério sobre a resistência dos comprimidos.

FIGURA 3: Influência da concentração de Ac-Di-Sol sobre o tempo de desintegração e dureza dos comprimidos.



Obtenção dos Comprimidos

Considerando os achados nos ensaios preliminares, a formulação descrita na **TABELA 4** foi escolhida para produzir comprimidos de 550 mg.

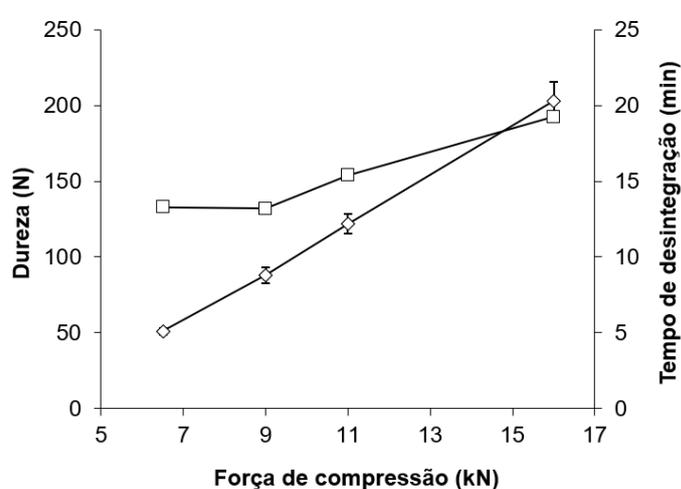
TABELA 4: Formulação para a preparação de comprimidos contendo alta dose de granulado do PSA (GPSA).

Ingredientes	Peso (mg)	Proporção (%)
GPSA	391,76*	71,23
Ac-Di-Sol	27,50	5,00
Aerosil	6,60	1,20
Avicel PH 101	124,40	22,57
Total	550,00	100,00

*correspondente a 375,50 mg do PSA; 300,0 mg de extrato nativo e relação droga:extrato nativo (RDE_{nativo}) de 4:1.

Os perfis de dureza e desintegração dos comprimidos estão representados na **FIGURA 4**.

FIGURA 4: Perfis de dureza (\diamond) e desintegração (\square) dos comprimidos contendo elevada dose de extrato seco.

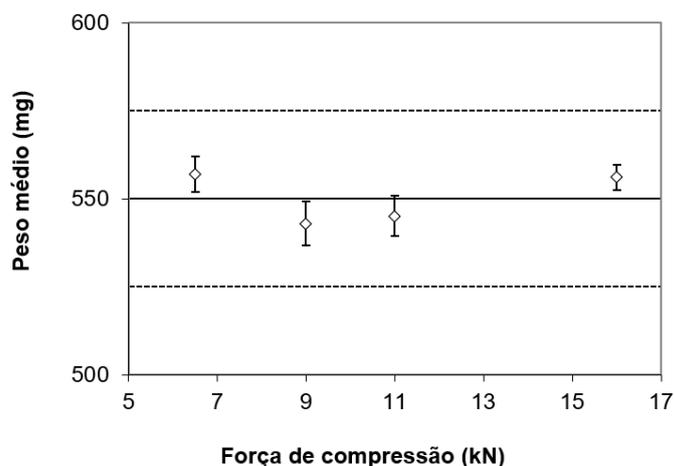


A resistência dos comprimidos foi diretamente proporcional à força de compressão aplicada. O tempo de desintegração também aumentou com a elevação da força de compressão. Porém, quando a força aplicada foi inferior a 9,5 kN o tempo de desintegração ficou dentro dos limites estabelecidos na literatura oficial para comprimidos não revestidos para liberação imediata [24].

Todos os lotes de comprimidos apresentaram baixa friabilidade. O valor máximo de friabilidade foi correspondente a perda de 0,1% da massa dos comprimidos e ocorreu para o lote de comprimidos obtidos sob 6,5 kN. Os demais lotes não apresentaram qualquer perda de massa após o ensaio de friabilidade.

Para o peso médio dos comprimidos não foi observada variação significativa em função da força de compressão aplicada. Todos os lotes apresentaram pesos médios dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Europeia [24], demonstrando que a mistura promoveu um enchimento uniforme da matriz (**FIGURA 5**).

FIGURA 5: Peso de diferentes lotes de comprimidos produzidos e forças de compressão diferentes (.....) Limite de variação de massa (Pharm. Eur., 2018)

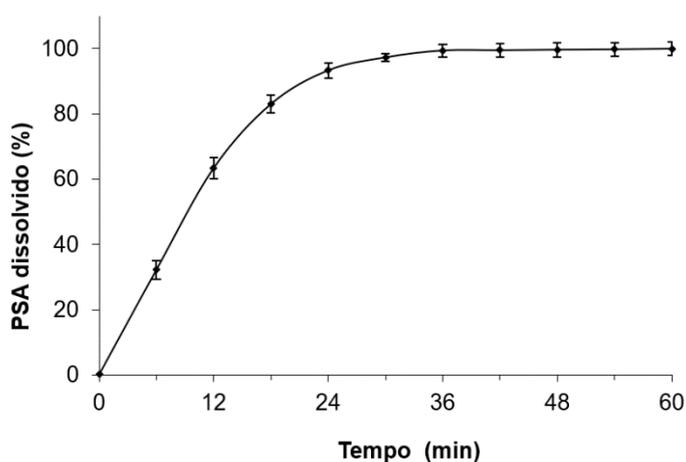


Para o estudo de liberação foram avaliados os comprimidos do lote preparado sob força de compressão de $9,0 \pm 0,5$ kN. Nesta abordagem, o PSA foi considerado integralmente o componente ativo presente na formulação. Portanto, a sua completa dissolução foi considerada como total liberação dos constituintes ativos.

Para determinação do comprimento de onda (λ_{nm}) para leitura, o PSA foi dissolvido em água e seu espectro de varredura em UV determinado. O comprimento de onda de 270 nm (máximo correspondente à catequina) foi selecionado e a curva de calibração foi construída na faixa de concentrações esperadas para a dose de PSA nos comprimidos (0,02 a 0,50 mg/mL). A curva encontrada ($y = 0,4285x - 0,0017$) apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 0,9998, indicando que a equação descreve satisfatoriamente a variância experimental na região estudada.

Após estabelecimento e análise da curva de calibração na região de absorção correspondente as concentrações esperadas para o PSA presente nos comprimidos, foi possível a determinação do perfil de dissolução dos comprimidos. O ensaio de dissolução demonstrou que mais de 80% do PSA contido nos comprimidos foram liberados em menos de 25 min, atingindo liberação total do conteúdo em 30 min (FIGURA 6).

FIGURA 6: Perfil de dissolução de comprimidos contendo elevado teor do PSA das folhas de *M. ilicifolia*.



Teor de Taninos Totais (TTT)

Além da obtenção de formas farmacêuticas mais eficientes do ponto de vista tecnológico, durante o desenvolvimento de um fitoterápico busca-se a preservação e valorização das propriedades terapêuticas do vegetal. A forma mais eficaz de garantir a manutenção de tais propriedades é através do controle dos constituintes químicos [31,32]. A temperatura, nos métodos de secagem, desempenha um papel importante no teor de taninos dos materiais vegetais. Observou-se a importância dos resultados encontrados para o teor de taninos determinado de acordo com o método proposto [33], que estão representados na TABELA 5.

TABELA 5: Teor de Taninos Totais.

Amostra	TPT (g%)	FNT (g%)	TTT (g%)
Solução Extrativa	8,48 ± 0,690	5,62 ± 0,632	2,86 ± 0,058
PSA	9,26 ± 0,202	5,80 ± 0,017	3,46 ± 0,219
GPSA	9,35 ± 0,100	6,38 ± 0,060	2,98 ± 0,045
Comprimidos	9,08 ± 0,968	5,73 ± 0,111	3,34 ± 1,080

PSA = Produto Seco Por Aspersão; GPSA = Granulado do PSA; TPT = teor de polifenóis totais (g%); FNT = fração não-tanante (g%); TTT = teor de taninos totais (g%). $F_{calc.} = 0,703$; $F_{(\alpha=0,05; 4,5)} = 5,192$; $t_{calc.} = 0,280$; $t_{(\alpha=0,05; 8)} = 0,787$.

As estimativas de variância para polifenóis totais, fração não-tanante e teor de taninos totais e sua relação entre as amostras, obtidas por análise estatística, não mostraram diferença para o teste F ($p < 0.05$). Os mesmos resultados foram observados para o teste *t* bicaudal. Portanto, os dados permitiram concluir que o teor de taninos totais não sofreu influência das operações de transformação, como secagem por aspersão, granulação e compressão, às quais foram submetidas ao extrato das folhas de *M. ilicifolia*.

Conclusão

A granulação de produtos vegetais secos tem permitido com sucesso a preparação de formas farmacêuticas sólidas com elevado teor de extratos vegetais. Considerando o desenvolvimento de comprimidos contendo extratos das folhas de *M. ilicifolia*, ensaios preliminares foram realizados para seleção dos excipientes mais apropriados à preparação de comprimidos com propriedades aceitáveis de desintegração, dureza e friabilidade. Entre os desintegrantes avaliados, o Ac-Di-Sol proporcionou a manufatura de comprimidos com maior dureza e menor tempo de desintegração. Enquanto o Avicel PH 101 foi o material de enchimento de melhor desempenho. Os comprimidos preparados a partir da formulação contendo Ac-Di-Sol e Avicel PH 101, e sob força de compressão de $9,0 \pm 0,5$ kN, apresentaram elevada resistência (ausência de friabilidade e dureza de $88,0 \pm 5,2$ N), desintegração máxima em 13,2 min e dissolução superior a 80% em até 25 min. A baixa variabilidade observada para o peso médio dos comprimidos, sugere enchimento uniforme da câmara de compressão e características reológicas satisfatórias para o complexo farmacêutico. Por fim, o teor de taninos totais demonstrou que as operações de transformação da solução extrativa (secagem, granulação e compressão), não promoveram modificação significativa na composição química do produto final.

Agradecimentos

“Este artigo é dedicado ao Prof. Pedro R. Petrovick (Faculdade de Farmácia – UFRGS) pela ocasião de seu 70º aniversário e por sua contribuição à área de Tecnologia Farmacêutica no Brasil”.

Em reconhecimento ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS, através dos Professores: Dr. Pedro R. Petrovick (aposentado), Dra. Valquíria L. Bassani e Dr. George G. Ortega (aposentado); pela notória contribuição ao fortalecimento da Tecnologia Farmacêutica no Brasil com ênfase no Desenvolvimento de Fitoterápicos. Ao Prof. Dr. Peter C. Schmidt (University of Tübingen, aposentado) e as agências de fomento (CAPES, CNPQ e DAAD).

Referências

1. Santos-Oliveira R, Coulaud-Cunha S, Colaço W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. **Braz J Pharmacogn.** 2009; 19 (2b): 650-659. ISSN 1981-528X. [\[CrossRef\]](#).
2. Calou IBF, Lima LAR, Ferreira JAN, Cerqueira GS. A atividade gastroprotetora da *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. **Rev Saude Cienc.** 2014; 3(2): 33-42. [\[Link\]](#).
3. Leme TSV, Prando TBL, Gasparotto FM, Souza P, Crestani S, Souza LM et al. Role of prostaglandin/Camp pathway in the diuretic and hypotensive effects of purified fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart ex Reissek (Celastraceae). **J Ethnopharmacol.** 2013; 150(1): 154-161. ISSN 0378-8741. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
4. Veloso CC, Soares GL, Perez AC, Rodrigues VG, Silva FC. Pharmacological potential of *Maytenus* species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. **Braz J Pharmacogn.** 2017; 27(4): 533-540. ISSN 0102-695X. ISSN 1981-528X. [\[CrossRef\]](#).
5. Dutra RC, Campos MM, Santos ARS, Calixto JB. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacol Res.** 2016; 112: 4-29. ISSN 1043-6618. [\[CrossRef\]](#).
6. Soares LAL, Ferreira MRA. **Standardization and Quality Control of Herbal Medicines.** In: De Freitas LAP; Teixeira CCC; Zamarioli CM (Org.). Recent Developments in Phytomedicine Technology. 1ª ed. New York: Nova Science Publishers; 2017, p. 243-278.
7. Petrovick PR, Knorst MT. Characterization of a concentrated extract from *Achyrocline satureioides* as an intermediary product for the preparation of an ointment. **Phytother Res.** 1991; 5: 237-238. [\[CrossRef\]](#).
8. De Souza KCB, Petrovick, PR, Bassani, VL, González Ortega G. The adjuvants aerosil 200 and gelita-sol-P influence on the technological characteristics of spray-dried powder from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Dev Ind Pharm.** 2000; 26(3): 331-336. [\[CrossRef\]](#).
9. Bassani VL, González OG, Petrovick PR. Desenvolvimento Tecnológico de Produtos Fitoterápicos. **Rev Fitos.** 2005; 1(1): 14-17. [\[Link\]](#).
10. Baccarin T, Ferreira RA, Gazoni VF, Yunes RA, Malheiros A, Lucinda-Silva RM. Influence of Extraction Parameters on Hydroalcohol Extracts of the Stem Bark of *Rapanea ferruginea* Mez Using Myrsinoic Acid B as Marker. **Tropical J Pharm Res.** 2014; 13(7): 1113-1119. [\[CrossRef\]](#).
11. De Souza TP, González Ortega G, Petrovick PR, Bassani VL. Avaliação da viabilidade de compressão direta de formulações contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*. **Acta Farm Bonaer.** 2000; 19(2): 91-98.
12. Linden R, González Ortega G, Petrovick PR, Bassani VL. Response surface analysis applied to the preparation of tablets containing a high concentration of vegetable spray-dried extract. **Drug Dev Ind Pharm.** 2000; 26(4): 441-446. [\[CrossRef\]](#).

13. Soares LAL, Schmidt PC, González Ortega G, Petrovick PR. Efeito da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farm Bonaer**. 2003; 22(2): 147-154.
14. Tank D, Karan K, Gajera BY, Dave RH. Investigate the effect of solvents on wet granulation of microcrystalline cellulose using hydroxypropyl methylcellulose as a binder and evaluation of rheological and thermal characteristics of granules. **Saudi Pharm J**. 2018; 26(4): 593-602. [[CrossRef](#)].
15. Maltais M, Vargas R, Di Paolo T. Development of a new formulation for direct compression of a natural product. **J Pharm Technol & Drug Res**. 2015; 4(2): 1-6. ISSN 2050-120X. [[CrossRef](#)].
16. Sarabandi K, Peighambardoust SH, Sadeghi Mahoonak AR, Samaei SP. Effect of different carriers on microstructure and physical characteristics of spray dried apple juice concentrate. **J Food Sci Technol**. 2018; 55(8): 3098–3109. [[CrossRef](#)].
17. Soares LAL, González Ortega G, Petrovick PR, Schmidt PC. Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts. **AAPS PharmSciTech**. 2005; 6(3): E359-E366. [[CrossRef](#)].
18. Von Eggelkraut-Gottanka SG, Abu Abeb S, Müller W, Schmidt PC. Roller compaction and tableting of St. John's wort plant dry extract using gap width and force controlled roller compactor. I. Granulation and tableting of eight different extract batches. **Pharm Dev Technol**. 2002a; 7(4): 433-445. [[CrossRef](#)].
19. De Souza TP, Gómez-Amoza JL, Pacheco RM, Petrovick PR. Development of granules from *Phyllanthus niruri* spray-dried extract. **Braz J Pharm Sci**. 2009; 45(4): 669-675. [[CrossRef](#)].
20. Von Eggelkraut-Gottanka SG, Abu Abeb S, Müller W, Schmidt PC. Roller compaction and tableting of St. John's wort plant dry extract using gap width and force controlled roller compactor. II. Study of roller compaction variables on granule and tablet properties by a 3³ factorial design. **Pharm Dev Technol**. 2002b; 7(4): 447-455. [[CrossRef](#)].
21. Thoorens G, Krier F, Leclercq B, Carlin B, Evrard B. Microcrystalline cellulose, a direct compression binder in a quality by design environment-A review. **Int J Pharm**. 2014; 473(1-2): 64-72. ISSN 0378-5173. [[CrossRef](#)].
22. Quodbach J, Kleinebudde P. A critical review on tablet disintegration. **Pharm Develop Technol**. 2016; 21(6): 763-774. [[CrossRef](#)].
23. Carvalho ELS. **Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex. Reiss. (Espinheira-santa)**. 1998. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 1998.
24. **European Pharmacopeia** (Ph. Eur.) 9th Edition. Council of Europe: Strasbourg, France, 2018.
25. González Ortega G, Schmidt PC. Obtención de Comprimidos Conteniendo Extractos Atomizados de Flor de la Pasión (*Passiflora incarnata* L.). **Acta Farm Bonaer**. 1995; 14(3): 173-180.
26. Gallo L, Ramírez-Rigo MV, Piña J, Palma S, Allemandi D, Bucalá V. *Valeriana officinalis* Dry Plant Extract for Direct Compression: Preparation and Characterization. **Sci Pharm**. 2012; 80(4): 1013-1026. [[CrossRef](#)].
27. Chaerunisa AY, Sriwidodo S, Abdassah M. **Microcrystalline Cellulose as Pharmaceutical Excipient** [Online First]. IntechOpen, [[CrossRef](#)]. Jul. 2019. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 30 out. 2019.
28. Corá LA, Fonseca PR, Américo MF, Oliveira RB, Baffa O, Miranda JRA. Influence of compression forces on tablets disintegration by AC Biosusceptometry. **European J Pharm Biopharm**. 2008; 69(1): 372–379. ISSN 0939-6411. [[CrossRef](#)].

29. Pratik J, Rupesh T, Raosaheb S. A brief review on Kollidon. **J Drug Deliv Therap.** 2019; 9(2): 493-500. [[CrossRef](#)].
30. Desai PM, Liew CV, Heng PWS. Review of Disintegrants and the Disintegration Phenomena. **J Pharm Sci.** 2016; 105(9): 2545-2555. [[CrossRef](#)].
31. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resolução **RDC nº 26**, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília. [[Link](#)].
32. Carvalho ACB, Ramalho LS, Marques RFO, Perfeito JPS. Regulation of herbal medicines in Brazil. **J Ethnopharmacol.** 2014; 158(3): 503-506. ISSN 2175-9790. [[CrossRef](#)].
33. Martins AG. **Influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológicos de extratos secos de *Maytenus ilicifolia* Martius ex. Reiss.** 1998. 99 f. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS. Porto Alegre. 1998.

Histórico do artigo | Submissão: 07/11/2019 | **Aceite:** 13/07/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Soares LAL, Ferreira MRA. Produção e avaliação de comprimidos contendo elevado teor de extratos secos de *Maytenus ilicifolia*. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 191-206. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/881>>. 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.



O Projeto Ecolume: O paradigma da abundância na convivência com o clima semiárido no Nordeste brasileiro

The Ecolume Project: the paradigm of abundance in living with the semi-arid climate in Northeastern Brazil

DOI 10.32712/2446-4775.2020.941

Lacerda, Francinete Francis¹; Lopes, Geraldo Majella Bezerra¹; Coutinho, Robério Daniel da Silva¹; Santos, Sebastião Alves dos²; Silva, Márcia Vanusa da³; Sabino, Heitor Branco¹; Lima, João Paulo Vianade¹.

¹Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Departamento de Pesquisa, Av. General San Martin, 1371, Bongi, CEP 50761-000, Recife, PE, Brasil.

²Serviço de Tecnologia Alternativa (SERTA), Rodovia PE-050 km 14, Campo da Sementeira, S/N - Zona Rural, CEP 55620-000, Glória do Goitá, PE, Brasil.

³Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Avenida Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, PE, Brasil.

*Correspondência: francis.lacerda@ipa.br.

Resumo

O Ecolume integra as práticas dos conceitos de geração de energia fotovoltaica com a captação de águas pluviais, a reutilização de águas residuais e a produção de alimentos orgânicos ao longo do ano. A combinação de água da chuva coletada nas superfícies dos painéis solares e a reutilização de água cinza e preta, para irrigação de pomares e viveiros de mudas nativas, orienta um novo paradigma de desenvolvimento socioeconômico no semiárido, tornando este projeto um processo de adaptação eficaz às mudanças climáticas. O semiárido do Nordeste brasileiro mostrou uma redução na precipitação total anual, na forma de secas severas recorrentes. A abundância de energia solar pode ser uma fonte de desenvolvimento socioeconômico na região, ferramenta poderosa para adaptar-se às mudanças climáticas. O tratamento e a reutilização de águas cinza e negra têm como objetivo produzir água de boa qualidade para irrigar mudas em viveiro (umbu - *Spondias tuberosa*) e garantir a redução da poluição. A produção de mudas nativas de umbu é para reflorestar a vegetação da Caatinga (bioma local). O projeto Ecolume qualificou mais de 700 pessoas em tecnologia de energia solar, reuso e tratamento de água cinza e preta, mudas e produção de alimentos usando o sistema aquapônico.

Palavras-chave: Caatinga. Ecolume. Energia solar. Aquaponia. Reuso de água.

Abstract

The Ecolume integrates the concepts of photovoltaic power generation with rainwater harvesting, wastewater reuse and organic food production throughout the year. The combination of rainwater collected on solar panel surfaces and the reuse of gray and black water, for orchard irrigation and native seedling nurseries, guides to a

new socioeconomic development paradigm in the semi-arid making this project an effective adaptation process to climate change. The Brazilian Northeast semi-arid has shown a reduction in annual total rainfall, in the form of recurrent severe droughts. The abundance of solar energy can be a source of socioeconomic development in the region fitting as a powerful tool for adapting climate change. The treatment and the reuse of gray and black waters have the purpose to produce good quality water to irrigate nursery seedlings (umbu - *Spondias tuberosa*) and to ensure pollution reduction. The production of native umbu seedlings is to reforest the Caatinga vegetation (local biome). Ecolume has already qualified more than 700 people in solar power technology, gray and black water reuse and treatment, seedlings and food production using aquaponic system.

Keywords: Caatinga. Ecolume. Solar energy. Aquaponic system. Water reuse.

Introdução

Visão Paradigmática

Algumas políticas públicas que visam o desenvolvimento do Nordeste se lastram basicamente na captação e aumento da disponibilidade hídrica e na distribuição de renda para subsistência. Essas ações mostram-se insuficientes em promover o crescimento socioeconômico, e têm remediado as crises que acontecem, no semiárido, a cada novo período de seca.

Uma estratégia assertiva para um futuro próspero de desenvolvimento sustentável é a promoção de uma economia socialmente justa e menos vulnerável aos efeitos das secas recorrentes, associadas à variabilidade natural do clima, bem como, às suas alterações.

À medida que a temperatura global aumenta, o vapor d'água se torna mais abundante numa proporção de 7% para cada grau Celsius de aquecimento nos trópicos. Isso tem fortes implicações para o clima, pois o vapor d'água também causa efeito estufa. O gradual aquecimento da atmosfera implica na alteração de ciclos delicados do balanço climático aos quais as civilizações se desenvolveram ao longo de milênios. Tais ciclos incluem o desenvolvimento de processos de retroalimentação positiva, como por exemplo, a alteração do albedo planetário com o derretimento das geleiras continentais e da diminuição da cobertura do gelo marinho, os quais por sua vez, com a diminuição do albedo superficial, ocasionam maior absorção da radiação solar à superfície, que retroalimenta o aumento da temperatura do ar^[1].

O resultado mais visível de um planeta mais quente é um oceano também mais quente. Assim, o hemisfério norte mais aquecido tem favorecido a um posicionamento da Zona de Convergência Intertropical (principal fenômeno meteorológico indutor de chuvas do semiárido nordestino) mais ao norte da sua posição média, gerando secas recorrentes no semiárido do Nordeste do Brasil.

Os padrões climáticos atuais têm gerado extremos climáticos. Em maio de 2017, a ocorrência de chuvas intensas, combinadas com surtos de tempestades, afetou várias áreas do Agreste e Litoral de Pernambuco. Pancadas de chuva geraram inundações instantâneas em algumas bacias hidrográficas de Pernambuco e Alagoas. O fato é que uma escassez longa de chuvas vinha ocorrendo nessas áreas, juntamente com uma grande variação nos totais de chuva, ano a ano, gerando secas agrícolas e hidrológicas, por anos consecutivos.

Esta alteração, observada do ciclo hidrológico, está intrinsecamente ligada às alterações dos padrões de chuva e temperatura no planeta.

Os impactos significativos das mudanças climáticas exigem cortes substanciais e sustentados das emissões de gases de efeito estufa com vistas a combater as causas do aquecimento global, mas também é essencial um novo paradigma energético e econômico que apoie o desenvolvimento de sociedades mais adaptadas ao clima. Ações estratégicas podem ser adotadas e ampliadas para o convívio com as consequências das mudanças climáticas em curso como, por exemplo, desenvolver programas de reflorestamento, envolvendo todos os biomas, da Caatinga e da Mata Atlântica, nas áreas rurais e urbanas, não exclusivamente pelo valor das florestas nativas para a estabilidade do clima e da biodiversidade, como também, pelo valor econômico que representam.

Neste estudo, é importante lembrar que a região Nordeste do Brasil guarda um enorme potencial de energia solar, inexaurível, que se incorporada à equação de desenvolvimento sustentável, econômico, ambiental, social permitirá antever um novo paradigma de desenvolvimento, baseado na transformação da energia radiante solar em eletricidade^[2,3].

Recomenda-se, nesse contexto, um programa de estado, apoiado nas mudanças da legislação que regulamenta a geração e a distribuição de energia elétrica, bem como o seu financiamento. Esse novo paradigma tem o potencial de transformar o atual modelo de desenvolvimento regional, pautado na escassez - de água - e no uso predatório do seu bioma Caatinga.

Problematização

Os padrões climáticos atuais, já fora do padrão “normal”, têm causado secas severas com sérios impactos na segurança hídrica. Há impactos por todos os lados, afetando a vida dos animais, das populações e do meio ambiente.

Não menos importante é o efeito antrópico que tem transformado o ambiente de forma muito rápida, introduzindo quantidades significativas de carbono fóssil nos oceanos e nos biomas, consumindo enormes volumes de água por meio de vários processos.

Esse cenário exige uma transformação radical, significativa e permanente na paisagem socioeconômica-ambiental do Nordeste semiárido. Uma ação significativa e sustentada sobre as causas do aquecimento global é o novo paradigma energético que apoia o desenvolvimento e respeita o clima. Para que tal possibilidade de mudança possa ocorrer, e a geração de energia limpa possa representar mais do que uma simples mudança da matriz energética local, é imprescindível que esta ação esteja associada a um programa de reflorestamento da Caatinga juntamente com o incentivo às práticas consorciadas de foto geração e agricultura, todas lastreadas num programa educacional consistente e abrangente.

Profunda é a transformação que percebemos no planeta terra hoje, uma realidade que reflete o que somos na atualidade. Apresentar críticas e sugestões aceitando os desafios dessa transformação é urgente. O nordestino, guerreiro por natureza, deve ser confiante e curioso e buscar uma ação que seja transformadora da realidade atual, onde é visto como vítima do clima. Assim sendo, o Nordeste semiárido do Brasil deixará o imperativo da pobreza e da miséria para o imperativo da prosperidade e da abundância.

O Ecolume

O Projeto Ecolume propôs, no semiárido pernambucano, uma solução que congrega as seguranças presentes na abordagem múltipla e integrada do Nexus (hídrica, energética e alimentar) e as correlaciona com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU) (<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>) e dentro dessa perspectiva, delinea seus objetivos e metas.

A produção de alimentos na Caatinga traz a associação virtuosa do aumento da produção de alimentos com o aumento da Caatinga, beneficiando e aumentando o número de pessoas envolvidas neste processo. O aumento da cobertura da vegetação nativa da Caatinga aumenta o tempo de residência da água no solo, aumentando assim a resiliência à variabilidade do ciclo hidrológico frente às mudanças climáticas. A utilização da energia solar para geração de energia elétrica fotovoltaica fornece o elemento essencial para a produção de alimentos e seu processamento para atender a mercados consumidores.

O projeto promove a geração distribuída de energia elétrica fotovoltaica^[4] como um dos pilares para a geração de emprego e renda, para:

- O desenvolvimento econômico sustentável de base socioeconômica familiar (ODS 1);
- Demonstrar mecanismos de produção de alimentos na Caatinga por arranjos familiares (ODS 2);
- Propor o uso de técnicas adaptadas à realidade do semiárido para a captação e armazenagem de água para utilização nos arranjos produtivos familiares (ODS 6);
- A produção de energia elétrica fotovoltaica distribuída permite não somente o acesso à energia abundante de baixo custo, atualmente mais barata do que empreendimentos da hidroeletricidade, mas também fonte de renda robusta na venda dos excedentes de energia gerados para a rede pública (ODS 7);
- Os arranjos produtivos propostos, tanto da produção de energia, quanto da captação de água e na produção de alimentos contribuem sinergicamente para o crescimento econômico sustentado inclusivo (ODS 8);
- Os métodos propostos no projeto, a saber, da expansão da produção consorciada de alimentos na Caatinga, representa vetor de expansão do Bioma Caatinga, pelo uso sustentável do ecossistema, combate à desertificação, reversão da degradação ambiental e promoção da conservação e ampliação da biodiversidade, contribuindo integralmente para o alcance do ODS 15;
- Somar pareceria em prol das metas (ODS 17) - a execução das metas do projeto e da rede Ecolume mobilizam recursos financeiros adicionais a partir de múltiplas fontes;
- Melhorar a cooperação regional nacional e internacional, o acesso à ciência, tecnologia, inovação;
- Promover o desenvolvimento, a transferência, a disseminação e a difusão de tecnologias sociais e ambientalmente harmônicas;
- Operacionalizar plenamente o banco de tecnologia e o mecanismo de desenvolvimento de capacidades em ciência, tecnologia e inovação para os países em desenvolvimento, além de aumentar o uso de tecnologias capacitadoras, em particular de tecnologias de informação e de comunicação;
- Aumentar a coerência das políticas para o desenvolvimento sustentável;

- Reforçar a parceria global para o desenvolvimento sustentável complementada por parcerias multisetoriais que mobilizem e compartilhem conhecimento, experiência, tecnologia e recursos financeiros para apoiar a realização dos objetivos do desenvolvimento sustentável;
- Incentivar e promover parcerias públicas, público-privadas, privadas, e com a sociedade civil, com base em experiências das estratégias de mobilização de recursos dessas parcerias.

O projeto tem executado ações voltadas ao desenvolvimento sustentável em áreas agrícolas com vulnerabilidade climática e foca em alternativas agroecológicas que garantem a conservação e preservação da diversidade biológica e social local. A utilização dos recursos abundantes do semiárido, como o sol, por meio da energia fotovoltaica; o bioma Caatinga pelo seu potencial em prestar os serviços ambientais diretos e indiretos obtidos a partir dos ecossistemas, como a provisão de alimentos, água, remédios e matéria-prima, regulação climática, formação do solo, controle da poluição, de erosão e enchentes, o sequestro de carbono e os serviços estéticos, de recreação e turismo, entre outros^[5]. Esses serviços ambientais são estratégicos de extrema importância principalmente diante do atual e futuro cenários de alterações climáticas no semiárido^[6].

No Brasil, a proteção da vegetação estratégica e a preservação de recursos hídricos são regidas pelo Código Florestal Lei 12.651, maio de 2012^[7]. O uso agroflorestal destas áreas é uma estratégia para se garantir funções econômicas harmônicas com a preservação da vegetação, e assim, garantir e aumentar a proteção e melhoria dos recursos hídricos pelo incentivo à preservação da vegetação e à sua proteção e aumento.

O desenvolvimento e produção de vídeos, oficinas, encontros, audiências, feiras de exposição, rodas de conversa nas escolas rurais e urbanas, com agricultoras e agricultores, jovens do campo, da cidade e universidades, casam os conhecimentos ancestrais com tecnologias modernas de difusão do conhecimento. Diante da atual crise climática o projeto cria estratégias de proatividade e comprometimento, como o uso de espaços sociais com potencial para formar educadores ambientais, estimular, orientar e apoiar a implantação de viveiros florestais como espaço de aprendizagem e disseminação de conhecimento e construção da cultura do plantar.

Forma e Conteúdo

O potencial fotovoltaico do Nordeste semiárido é um elemento sinérgico, catalisador de novo paradigma de desenvolvimento socioeconômico na Caatinga, uma nova perspectiva de transformação do quadro secular de dependência e pobreza do sertanejo. Nesse contexto, foi introduzido o conceito de agricultura agrovoltaica pela produção de alimentos, na Caatinga, o ano inteiro, consorciada com a produção de energia fotovoltaica distribuída e mudas de umbuzeiro, entre outras plantas nativas da Caatinga. O aumento da cobertura vegetal no bioma está associado ao aumento do número de pessoas residentes no bioma.

Vales vegetados pela expansão da cobertura vegetal do bioma aumentam o tempo de residência da água no solo, ambos por aumento da recarga da água de chuva quanto pela diminuição da evaporação por sombreamento, aumentando a disponibilidade hídrica, em nível da gota d'água, para a produção de alimentos. O trinômio de desenvolvimento sustentável, água, bioma, energia, se completa com a exploração da abundante energia do sol com a transformação fotovoltaica da luz do sol.

O projeto distingue-se por incorporar, de forma sistêmica, conhecimentos ancestrais sobre os produtos da Caatinga como formas indígenas potentes de nutrição e medicamentos originários do próprio bioma. O projeto

ainda prevê formas inovadoras para a potencialização de tais conhecimentos pelo aumento da disponibilidade energética local e manutenção de recursos hídricos.

A questão da renda das populações residentes do bioma é assim endereçada pela associação das produções de alimentos e de energia, sendo que esta última, por sua natureza distribuída, é expansível sobre áreas previamente degradadas, contribuindo para sua recuperação. Não somente, mas o excedente de energia fotovoltaica produzida, num arranjo apropriado, constitui uma potencial fonte de renda perene para o agricultor, livrando-o da dependência da água como insumo básico para sua renda familiar.

A participação de institutos de ensino nativos ao bioma constitui elemento fundamental de longevidade para as propostas delineadas no projeto.

Ainda mais, as mudanças climáticas globais e seus impactos regionais representam ao mesmo tempo uma grande ameaça e ao mesmo tempo uma oportunidade para a incorporação de saberes tradicionais, e capacidades de adaptação inerentes ao bioma Caatinga para a formação de políticas públicas de enfrentamento e adaptação às mudanças climáticas. Os cenários de mudanças climáticas futuras constituem um ferramental único para qualificar a amplitude das mudanças futuras do clima, as quais, para o clima presente, já mostram alterações gravíssimas de aumento da temperatura máxima e diminuição das chuvas sobre o semiárido de Pernambuco [6].

Principais objetivos

- a. Estudar os impactos do uso da energia solar visando a apoiar práticas e/ou tecnologias próprias para o semiárido, adaptadas para responder aos cenários atuais e futuros de alterações climáticas no semiárido de Pernambuco;
- b. Estudar o papel da Caatinga orquestrando o papel das interações da energia radiante do sol com o solo e a vegetação por intermédio da engenharia da gota d'água;
- c. Usar a energia fotovoltaica como fator de inclusão socioeconômica e viabilizador de processos produtivos de alimentos;
- d. Recuperar o bioma Caatinga como elemento de controle ambiental e extremos climáticos e;
- e. Colocar a questão da educação como elemento de independência socioeconômica e resiliência.

Material e Métodos

Unidade de Observação - Sistema de Aquaponia

A aquaponia pode contribuir para a produção de alimentos em áreas rurais e periurbanas, pelo desenvolvimento de sistemas fechados e integrados, garantindo o uso eficiente dos recursos hídricos com a redução dos efluentes e otimização dos nutrientes. Além disso, possibilita uma oportunidade de geração de renda e diversificação da produção no meio rural. As **FIGURAS 1a e 1b** ilustram este sistema. O Ecolume apresenta um conjunto de boas práticas de manejo que aprimoram a produção, de alimentos, no semiárido brasileiro durante o ano todo, com o reaproveitamento de água, aumentando o desempenho produtivo dos sistemas de aquaponia, com introdução da geração de energia elétrica e criação de galinhas de capoeiras e ovos, ampliando assim os modelos aplicáveis à realidade do semiárido. Uma das vantagens do sistema de

Aquaponia Ecolume é integração da produção de proteínas animal, vegetal e produção de energia elétrica fotovoltaica com a reutilização do recurso “água” de maneira eficiente, que é essencial para locais onde esse recurso é escasso. O Sistema de Aquaponia do projeto Ecolume é composto de seis tubos PVC com 15 pontos de hortaliças em cada um, totalizando 90 pontos para cultivo de 17 espécies de hortaliças. O sistema também é composto de uma caixa d’água de 1.000 litros, tendo uma capacidade produtiva de 100 peixes. A espécie de peixe utilizada foi tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) que é bastante resistente e está bem adaptada às condições climáticas do semiárido brasileiro. O sistema conta com o galinheiro instalado abaixo dos tubos de PVC onde são produzidos ovos e criadas galinhas caipiras.

FIGURA 1a: Sistema de Aquaponia Ecolume.



FIGURA 1b: Sistema aquapônico.



Sistema de Reuso e Tratamento de Água

Reatores UASB têm sido muito empregados como uma solução adequada para o tratamento de esgotos sanitários em países em desenvolvimento, com destaque no Brasil, Colômbia e Índia. Nos últimos anos, em particular no nosso país, tiveram grande desenvolvimento, por conta de pesquisas realizadas em universidades, no âmbito do PROSAB – Programa de Pesquisas em Saneamento Básico. A sigla UASB, ainda que advinda da terminologia inglesa, foi consagrada pelo PROSAB e assim tem sido amplamente adotada no país. Os Reatores UASB ^[8] são de simples construção, econômicos, praticamente não requerem manutenção e geram pouco lodo residual. A tecnologia caracteriza-se por dois aspectos que lhe são inerentes: o reduzido tempo de detenção hidráulica, de cerca de 5 a 12 horas e o elevado tempo de detenção celular, da ordem de dezenas de dias. Ambos os aspectos permitem a obtenção de menores volumes para o reator biológico, reduzindo os custos de construção e resultam na menor geração de lodo residual, reduzindo o volume de lodo a descartar. Essas vantagens, aliadas a facilidade operacional têm levado a uma grande expansão dessa tecnologia. Os reatores UASB podem ser prismáticos ou cilíndricos, os últimos, mais aplicáveis para pequenas vazões.

Observa-se que o mercado dispõe de tecnologia nacional já desenvolvida e aprovada, comercializada em unidades pré-fabricadas e montadas no próprio local, com capacidade compatível à demanda e características do efluente a ser tratado, sem a necessidade de maiores investimentos em obras civis. O efluente de um Reator UASB é de cor marrom-amarelada, com média a alta turbidez, não devendo ser retirado do reator por canais abertos sujeitos a escoamento em cascata, uma vez que ainda contêm gás sulfídrico e outros gases produtores de odores. Já o efluente de uma unidade de pós-tratamento terá um aspecto bem clarificado e límpido, típico dos processos de tratamento secundário. Os reatores UASB não dispõem de equipamentos do tipo motor, o que constitui uma grande vantagem. No entanto, requerem que o esgoto afluente seja submetido previamente, e de forma eficaz, à remoção de sólidos grosseiros e minerais. No caso de vazões muito pequenas, em que o reator UASB seja adquirido pré-fabricado, é possível que o fornecedor já inclua o tratamento preliminar na mesma estrutura do reator UASB - a figura 2 ilustra a instalação de um Reator UASB.

Diante da necessidade de se melhorar a qualidade de vida das comunidades, no semiárido, o Ecolume implantou o reuso das águas cinza e negras tratadas para irrigação agrícola. Para isso, foi implantado um sistema de tratamento, que utiliza o “Reator UASB”, como descrito acima, que recebe os efluentes, dos banheiros da Escola Sertão, em Ibimirim/PE. Atualmente, o sistema instalado tem potencial para produzir 10 mil litros de água/dia para ser usado na irrigação para produção de mudas (viveiros – **FIGURA 2**) de plantas nativas, forrageiras e fruteiras.

FIGURA 2: Viveiro de mudas de Umbu - viveiros Abertos na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco, em IBIMIRIM/PE.



Potencialidades e produção de energia fotovoltaica distribuída

Além do notável valor contábil da geração de energia fotovoltaica em áreas degradadas, há estudos de casos do uso consorciado de painéis fotovoltaicos e produção agrícola, com mensurável benefício para a produção animal. No entanto, isso envolve o uso generalizado de culturas alimentares para a produção de biomassa, resultando numa competição por áreas plantadas de culturas para a produção de alimentos e bioenergia. Uma possível solução para este dilema está na criação de um sistema misto 'Agrivoltaico' (AV), isto é, uma combinação de painéis fotovoltaicos e produção de alimentos, aumentando o potencial de uso da terra^[9]. Simulações mostraram um aumento na produtividade da terra em torno de 60-70%. Em anos em que há ocorrência de secas, as condições climáticas abaixo dos painéis fotovoltaicos promovem um ambiente favorável e mais, uma menor demanda de água pelas culturas. A eficiência do uso da água pode ser maior selecionando as culturas que promovam cobertura do solo mais rápida, o que contribui para uma maior quantidade de luz capturada e diminuição da evaporação do solo. No estudo, o sombreamento devido aos painéis fotovoltaicos resultou em uma economia de água de 14-29%, dependendo do nível de sombreamento. Esses sistemas em consórcio parecem ter maior produtividade e diminuem a concorrência pelo uso da terra quando há escolhas do tipo: produzir energia ou produção de alimentos.

No Reino Unido (www.theguardian.com/environment/), em 2014, foram cortados os subsídios para fazendas solares, sob o pretexto de que as fazendas prejudicavam a produção de alimentos. Os agricultores britânicos, por sua vez, alegaram que a instalação de painéis fotovoltaicos aumentou a produção pecuária devido ao abrigo oferecido aos animais pelos painéis solares. No sistema de rotação, entre fins agrícolas e de pastoreio o uso de PV aumenta a renda da fazenda em até três vezes, além de que as receitas provenientes dos painéis solares proporcionam um rendimento contínuo e sustentável para os agricultores. Isso evidencia a necessidade de se promover a capacitação de legisladores para que incorporem mudanças na política atual para a utilização de energia solar produzida por pessoas físicas, aumentando a sustentabilidade ambiental.

O sistema fotovoltaico instalado em uma escola no semiárido (SERTA - <https://escolastransformadoras.com.br/escola/serta-servico-de-tecnologia-alternativa/>) é composto por 10

painéis de cerca de 2 m² cada, organizados em 5 pares em posição retrato (painéis unidos pelo menor lado). São 10 m² de placas solares e 24 m² de área total. A estrutura de fixação dos painéis é realizada no solo. Em relação aos sistemas fotovoltaicos comuns; foram aplicadas adaptações na altura e no espaçamento entre os painéis para instalação de um sistema de aquaponia à sombra dos painéis - sistema agrovoltaico. Cada painel fotovoltaico tem 330 W de potência, o que confere ao sistema uma potência nominal de 3,3 kW e irradiação solar média de 5,8 kWh/m².dia. A estimativa média de geração é de cerca de 15 kWh por dia, ou 450 kWh por mês (FIGURAS 3, 4 e 5). A economia financeira produzida pelo sistema, considerando a tarifa de R\$ 0,78, pode chegar a R\$ 350,00 mensais, mais de R\$ 4.000,00 por ano. O sistema é conectado a uma das quatro unidades consumidoras ativas no *campus*. Os créditos gerados são prioritariamente consumidos por esta unidade. Quando a produção de energia da primeira unidade é maior que o consumo, o crédito excedente é repassado para uma segunda unidade. Quando não utilizados, os créditos gerados têm validade de 60 meses. Com um software de monitoramento remoto é possível coletar dados de geração em tempo real, além de outros parâmetros elétricos, como frequência, corrente e potência. Os dados são armazenados e podem ser utilizados em futuros estudos de eficiência energética, entre outros. Devido ao microclima criado pela estrutura de cultivo abaixo dos painéis, ocorre o efeito de arrefecimento, o que pode resultar num aumento de eficiência na geração e durabilidade dos componentes dos painéis.

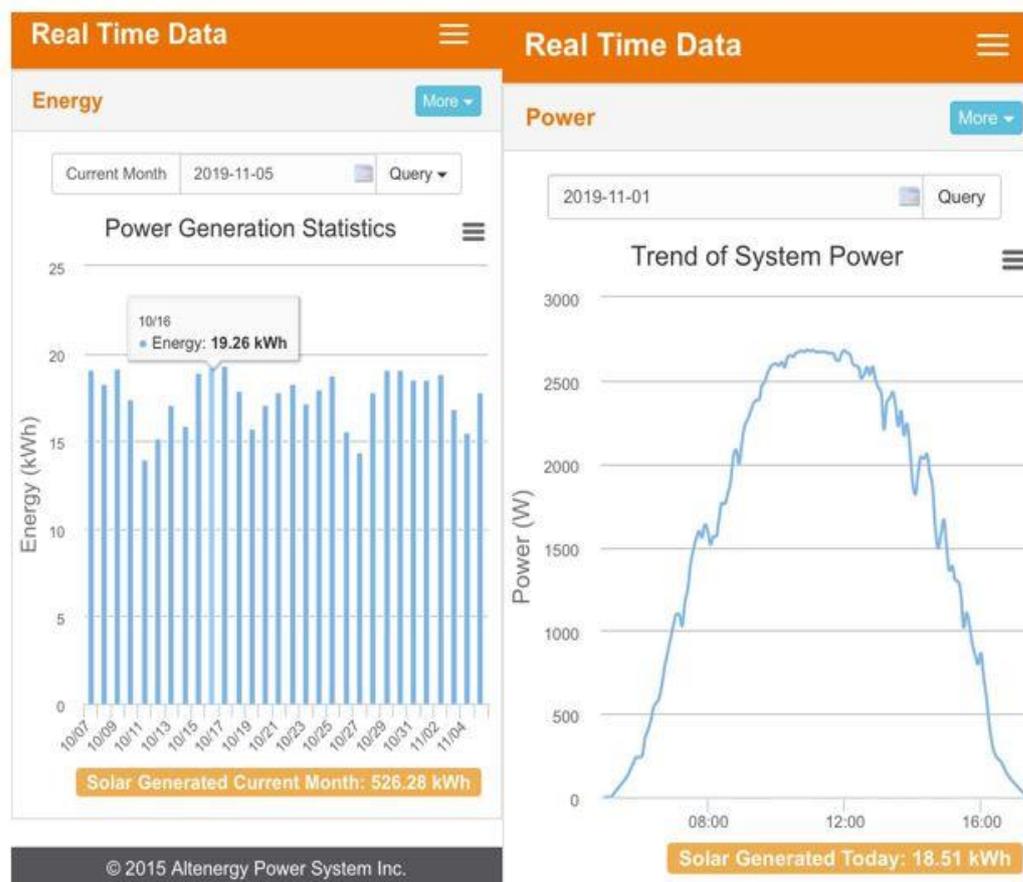
FIGURA 3: Placas Fotovoltaicas - Projeto Ecolume/2019.



FIGURA 4: Placas Fotovoltaicas e montagem de sistema aquapônico - Ecolume/2019.



FIGURA 5: Produção diária/mensal (2019); sistema fotovoltaico do Projeto Ecolume.



Divulgação científica e popularização do conhecimento

A promoção de uma educação científica, a popularização da Ciência e Tecnologia e Inovação (C&TI) e a apropriação social do conhecimento é reconhecida inclusive como estratégica no mundo. No Brasil, por sinal, desde 2015, o governo programa a sua estratégia nacional de C&TI e visa a desenvolver/difundir conhecimentos e soluções criativas para qualidade de vida e cidadania e para a inclusão produtiva e social, com a participação da população na tomada de decisões sobre as discussões ligadas ao tema [\[10\]](#), a partir da assimilação deste conhecimento.

A mídia tem um papel central e estratégico nesta missão. Suas notícias construídas têm alcance massivo através dos jornais, sites, blogs e emissoras de TV e rádio por meio de várias plataformas: computadores, celulares etc. A mídia pode ajudar muito na "(...) promoção de melhoria na sociabilização do conhecimento científico de forma crítica para população"[\[11\]](#). Contudo, como destaca Albagi[\[12\]](#), a eficiência da divulgação da C&TI depende essencialmente da tradução da linguagem técnica especializada para uma linguagem coloquial. Parece tarefa simples, mas não é. E, como destaca o autor, isto tem sido um grande desafio para a popularização da ciência.

A qualidade de vida das pessoas e o exercício de sua cidadania dependem da ciência e tecnologia, da compreensão deste conhecimento e de soluções criativas. Por isso que o Brasil, como em outros países

pelo mundo, entende como sendo estratégicas as medidas em divulgação científica e popularização do conhecimento.

Dentro desse contexto, alinhado aos ODS/ONU e à Estratégia Nacional de C&TI em vigor pelo governo federal, o Ecolume, desde a sua concepção, no final de 2017, reconhece o poder da comunicação social. Com estratégias em divulgação e popularização da ciência e com apoio da mídia, tem contado com esta ferramenta indissociável em busca de seus objetivos.

Resultados e Discussões

Os resultados do sistema Ecolume podem ser vistos na **TABELA 1** que mostra a produção anual do sistema agrovoltáico instalado na escola Serta. Em termos energéticos a produção foi de 4.800 Kwh de energia, aproximadamente 130 kg de peixes, 730 unidades de ovos, 816 unidades ou 336 kg/ano de hortaliças, 200 unidades de mudas de plantas nativas. Toda a produção foi realizada em uma área de apenas 24 m² e a rentabilidade anual do sistema foi de R\$ 10.362,00. O custo para implantação de um protótipo familiar com essas características e tecnologias foi de aproximadamente R\$ 20.000,00.

O projeto Ecolume produziu mil mudas de umbu, em um ano e capacitou mais de 700 pessoas nas oficinas de tecnologias solar, reuso e tratamento de águas cinza e negras e técnicas de produção de mudas de umbu e alimentos no sistema de aquaponia. O projeto tem ajudado a melhorar e ampliar a capacitação dos alunos, da escola SERTA e em outros municípios do Sertão, ampliando assim os multiplicadores do conhecimento dessas tecnologias.

As mudas produzidas foram para o reflorestamento da Caatinga, na Serra do Giz, no município de Afogados da Ingazeira/PE, uma área de UC refúgio da vida silvestre, com o potencial de sequestrar carbono, no futuro. Estudos mostram que uma área de 20 hectares de reflorestamento, em média, tem o potencial de sequestro de carbono de 10.400.00 toneladas de CO₂ em vinte anos ^[13]. Por fim, o sistema reuso instalado tem potencial para produzir 10 mil litros de água por dia e irrigar uma área de até 5 hectares.

TABELA 1: Resultados obtidos pelo Ecolume com a Unidade de Observação.

Produtos	Produção	Valor Unitário de Referência (R\$)	Rentabilidade ANUAL (R\$)
Peixe Tilápia	130 kg	20,00	2.600,00
Ovos	730 U	0,50	365,00
Vegetais	816 Unidades	2,00	1.632,00
Mudas	200 Unidades	15,00	3.000,00
Energia Elétrica	4.800 kWh	0,50	2.400,00
Área de produção	24 m ²	-	10.362,00

Popularização da C&TI

“Plantar água, comer Caatinga e irrigar com o sol: casos concretos da popularização da ciência” Muitas mídias repercutiram esta pauta inusitada, sobretudo, para população sertaneja. Não só rádios, mas TVs, jornais impressos e mídias pela internet (sites, blogs e redes sociais) também amplificavam esta notícia. Dava-se aí o início à implantação das estratégias do Ecolume em divulgação e popularização da C&TI sobre seu conceito

de “abundância” na Caatinga, concebido de um novo paradigma onde enxergava oportunidades ao invés de vulnerabilidades no semiárido.

As ações exitosas do Ecolume, após um ano de execução, sob a ótica da popularização da ciência, construíram elementos específicos com fins de atender critérios centrais do jornalismo, como a estratégia de agendamento de pautas e a utilização de linguagem jornalística, na representação noticiosa da realidade social, conectando a vida na Caatinga e sua qualidade, com o clima, o bioma e a água, numa perspectiva de “abundância”.

Os textos possuem ancoragem, contextualização e objetivação jornalísticas tendo em mente o público alvo atendido pela inovação do Ecolume. A linguagem coloquial, exigida e usual na prática do jornalismo, atende também às exigências para a qualidade da divulgação da C&TI, além de ampliar a chance de o tema ser pautado pela mídia por deixar atrativo, para o jornalista, o conhecimento científico, com chance de visibilidade.

O Ecolume iniciou a sua estratégia de divulgação e de popularização de C&TI, com visibilidade pública e política, diante da grande noticiabilidade, com o termo “plantar água”, uma analogia que despertou a emoção das pessoas. A analogia ainda provoca a desconfiança em uns e a esperança em outros. Estes sentimentos possivelmente os levarão a buscar saber mais sobre o tema.

“Comer Caatinga” é outro exemplo. A analogia desperta a emoção e tem potencial de provocar a curiosidade e propõe mudanças ao atual e insustentável modelo de desenvolvimento econômico centrado na água.

“Irigar (planta) com o sol” também tem tal potencial. É outra analogia que desperta emoção e estimula a aprendizagem sobre C&TI em busca de soluções sociais e produtivas, bem como para a qualidade de vida e o exercício de cidadania pela população envolvida.

Nesse período de execução do projeto, já foram realizados mais de 700 releases em rádios, TVs, blogs e jornais que têm abrangência não só na região Nordeste, especialmente no semiárido, mas em outras regiões do Brasil.

Conclusão

As relações socioeconômicas estão mudando à medida que a produção descentralizada de alimentos e de energias renováveis está se estabelecendo em várias partes do mundo e se tornando cada vez menos condicionada pelas condições geográficas e climáticas, como é o caso da pecuária e da agricultura tradicionais. O Ecolume é uma oportunidade que propõe melhorar a qualidade de vida do cidadão, agora e no futuro, adotando boas práticas em direção à autonomia, garantindo as seguranças hídrica, alimentar e energética com vistas ao aumento da resiliência dos ecossistemas em consonância com os ODS e inclusão da bioeconomia, na Caatinga, frente às mudanças climáticas. Os resultados do Ecolume evidenciam a possibilidade de um novo paradigma de desenvolvimento para o semiárido que leva em conta a crise climática, ambiental como o novo parâmetro da socioeconômica e geopolítica mundial. Os cenários climáticos futuros e os impactos das mudanças do clima, no Nordeste do Brasil, foram a base para atuação e contextualização dessa temática. A expansão do Ecolume pode proporcionar um novo caminho de oportunidades e potencialidades, indicando que é possível um novo modelo que promova a produção de alimentos de melhor qualidade e mais nutritivos, mais baratos e acessíveis a todos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, pelo financiamento do Projeto Socioeconomia Verde no Nordeste Semiárido no Bioma Caatinga frente às mudanças climáticas – Ecolume, CNPq 441227/2017-1.

Referências

1. PBMC - Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. Contribuição do Grupo de Trabalho¹ ao Primeiro Relatório de Avaliação Nacional do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. **Sumário Executivo GT1**. PBMC, Rio de Janeiro, Brasil. 24 p.. 2013.
2. Nobre P. **Mudanças Climáticas e desertificação: os desafios para o Estado Brasileiro**. In: **Desertificação e Mudanças Climáticas no Semiárido Brasileiro**. Editores: Lima RCC, Cavalcante AMB, Marin AMP. Instituto Nacional do Semiárido - INSA, pp. 25-35. 2011. ISBN: 978-85-64265-02-8.
3. Lacerda FF, Nobre P, Sobral MC, Lopes GMB, Chan CS, Brito E. Long term climate trends over Nordeste Brazil and Cape Verde. **J Earth Sci Clim Change**. 2015.
4. Nobre P et al. **International Journal of Climate Change Strategies and Management**, 2019. Disponível em: [\[Link\]](#) e ONU. [\[Link\]](#).
5. Brasil. Ministério do Meio Ambiente - MMA. **Pagamentos por Serviços Ambientais na Mata Atlântica: lições aprendidas e desafios**. Guedes FB, Seehusen SE. Organizadoras. Brasília: MMA, 2011. 272 p. ISBN 978-85- 7738-157-9.
6. Lacerda FF, Nobre P, Sobral MC, Lopes GMB. **Alterações Climáticas Globais: uma realidade em Pernambuco**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma, Recife, vols. 11/12, p.121-154, 2015.
7. Embrapa (Código Florestal **Lei 12.651**, maio de 2012). Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 09 dez. 2019.
8. Santos SL, Chaves SRM, Van Haandel A. Influence of phase separator design on the performance of UASB reactors treating municipal wastewater. *Water SA*, 42(2):176-182, 2016. [\[CrossRef\]](#). **The Guardian**. [\[Link\]](#). Acesso em: 09 dez. 2019.
9. Dupraz C, Marrou H, Talbot G, Nogier A, Ferard Y. Combining solar photovoltaic panels and food crops for optimising land use: Towards new agrivoltaic schemes. *Du Renewable Energy an International Journal, Special Section: Renew Ener: Generat Applic*. França, Out. 2011; 36(10): 2725-2732. ISSN 0960-1481. [\[CrossRef\]](#). Acesso em: 10 dez. 2019.
10. Sousa GG. **A divulgação científica para crianças: o caso da Ciência Hoje das crianças**. 2000. 305f. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação Educação, Gestão e Difusão em Biociências]. CCS/UFRJ, 2000.
11. Marandino M, Iszlaji C, Contier D. **Divulgação da ciência por meio da mídia: análise textual de websites**. XIV Reunião Bienal da Rede de Popularização da Ciência e Tecnologia da América Latina e do Caribe (REDPOP UNESCO). Medellín, Colômbia 25 a 29 de maio de 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 25 ago. 2018.
12. Albagli S. Divulgação científica: informação científica para a cidadania? **Rev Cien Info**. Brasília. 25(3):396-404, set./dez. 1996. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 25 fev. 2015.
13. Rodriguez CRM. **Estimativa do potencial sequestro de carbono em áreas de preservação permanente de cursos d'água e topos de morros mediante reflorestamento com espécies nativas no Município de São Luiz do Paraitinga**. 120p. 2015. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em

Meteorologia], Ministério da Ciência e Tecnologia, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), São José dos Campos. [\[Link\]](#).

Histórico do artigo | Submissão: 12/09/2019 | **Aceite:** 08/01/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Lacerda FF, Lopes GMB, Coutinho RDS, Santos SA, et al. O Projeto Ecolume: O paradigma da abundância na convivência com o clima semiárido no Nordeste brasileiro. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 207-221. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/941>>. 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.



A cadeia produtiva na Gestão da Inovação da Biotecnologia: o camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no Amazonas

The production chain in Biotechnology Innovation Management: camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) in the Amazon

DOI 10.32712/2446-4775.2020.1077

Billacrés, Máximo Alfonso Rodrigues^{1*}; Costa, Reinaldo Correa²; Nunez, Cecilia Veronica³.

¹Universidade do Estado do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Tabatinga (CESTB), Avenida da Amizade, nº 74, Centro, CEP 69640-000, Tabatinga, AM, Brasil.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Sociedade, Ambiente e Saúde, Laboratório de Estudos Sociais, Avenida André Araújo, 2936, Petrópolis, CEP 69067-375, Manaus, AM, Brasil.

³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Tecnologia e Inovação, Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia, Avenida André Araújo, 2936, Petrópolis, CEP 69067-375, Manaus, AM, Brasil.

*Correspondência: billacres@gmail.com.

Resumo

O aumento da competitividade e da produtividade impacta na elaboração e na ação de políticas públicas que potencializam a importância dos ecossistemas frente ao desenvolvimento tecnológico. Neste contexto, enfatiza-se a definição e o papel da Biotecnologia como um processo tecnológico que permite a utilização de material biológico para fins científicos, tecnológicos e industriais. Nesta perspectiva, os objetivos deste trabalho, são: demonstrar a interação da gestão da inovação da Biotecnologia com a cadeia produtiva e analisar a cadeia produtiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no Amazonas. A pesquisa foi desenvolvida com trabalhos de campo e levantamento de dados oficiais (IBGE, IPEA, entre outros) para identificar temas e critérios a serem utilizados na análise espacial da cadeia produtiva de produtos oriundos do camu-camu, no período de 2014 a 2018. O camu-camu está entre os frutos com o real potencial funcional e industrial, devido aos elevados teores de vitamina C. A relação sociedade-natureza mediada pelas potencialidades do camu-camu, está inserida em um ambiente de competição pela dominância de mercados com maiores lucros, visto que está em um mercado mais amplo, o mercado da biodiversidade, onde as conexões e interdependências entre os diferentes sujeitos revelam a distribuição espacial desigual de valor.

Palavras-chave: Gestão da inovação da Biotecnologia. Camu-camu. Cadeia produtiva. Biodiversidade.

Abstract

Increased competitiveness and productivity impact the elaboration and action of public policies that enhance ecosystems and geosystems in the face of technological development. In this context, the definition and role of Biotechnology is emphasized as a technological process that allows the use of biological material for scientific, technological and industrial purposes. In this perspective, the objectives of this work are: to demonstrate the interaction of Biotechnology innovation management with the production chain, and later to analyze the camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) production chain in the state of Amazonas. field work and survey of official data (IBGE, IPEA, among others) to identify themes and criteria to be used in the spatial analysis of the production chain of camu-camu products, from 2014 to 2018. Camu-camu is among the fruits with the real functional and industrial potential, due to the high levels of vitamin C. The relationship society-nature and camu-camu, is inserted in an environment of competition for the dominance of markets with higher profits, because it is in a broader market, which is the biodiversity market, where the connections and interdependencies between the different subjects reveal the unequal spatial distribution of value.

Keywords: Biotechnology innovation management. Camu-camu. Production chain. Biodiversity.

Introdução

O aumento da competitividade e da produtividade, vínculos da *gestão da inovação* [1], impactam na elaboração e na ação de políticas públicas que potencializam a importância dos ecossistemas frente ao desenvolvimento tecnológico, contextualizados e construídos pelas dinâmicas territoriais, devido à velocidade de transformações do cenário mundial [2].

Perez apud Tunes [3] identifica ondas de revolução tecnológica, que provocam ou provocaram novas rodadas de inovação e competitividade. Nessa abordagem, a Biotecnologia com a nanotecnologia e o uso dos recursos naturais são enquadrados na sexta rodada de inovação. Neste contexto, enfatiza-se a definição e o papel da Biotecnologia como um processo tecnológico que permite a utilização de material biológico para fins científicos, tecnológicos e industriais [4].

Diante disto, como as potencialidades apresentadas pela biodiversidade vegetal se colocam como alternativas para bioprodutos? A análise deste problema será demonstrada pela cadeia produtiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.). A cadeia produtiva deve ser entendida como um espaço total e múltiplo de conteúdos (tecnológicos, técnicos, econômicos, sociais políticos entre tantos outros) com objetivo de desenvolvimento social em planos de desenvolvimento regional [5].

Nesta perspectiva, os objetivos deste trabalho, são: demonstrar a interação da *gestão da inovação da Biotecnologia* com a cadeia produtiva e, posteriormente, analisar a cadeia produtiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no estado do Amazonas.

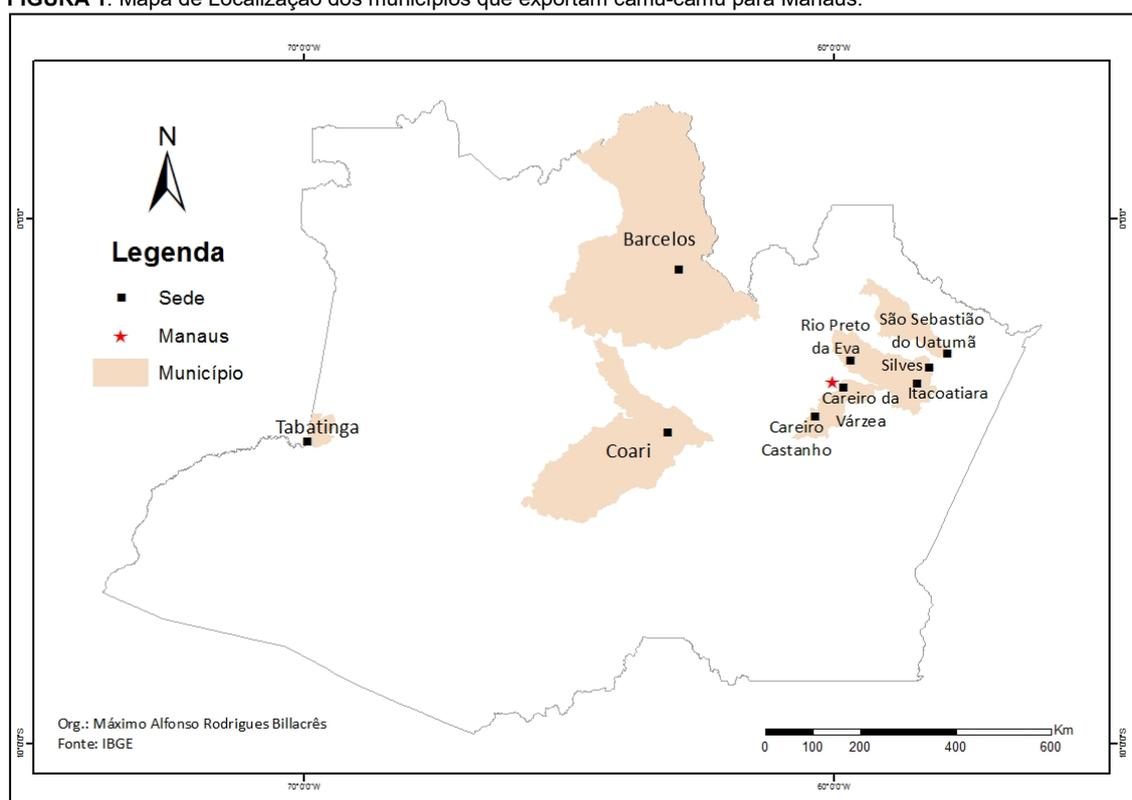
Materiais e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida com trabalhos de campo e levantamento de dados, com cruzamento de referenciais teóricos dos processos (naturais, sociais e econômicos) da produção, assim como uso de

dados oficiais (IBGE, IPEA, Bancos, entre outros) para identificar temas e critérios a serem utilizados na análise espacial da cadeia produtiva de produtos oriundos do camu-camu, no período de 2014 a 2018.

Neste sentido, primeiramente buscou-se identificar, por meio de bibliografia e trabalho de campo, os municípios que abastecem as feiras de Manaus com o camu-camu (**FIGURA 1**), para posteriormente compreender a ordenação de seu mercado.

FIGURA 1: Mapa de Localização dos municípios que exportam camu-camu para Manaus.



Org.: autor.

A forma como o mercado está estruturado influencia na produção, na lógica de armazenamento da produção, bem como nas viabilidades (técnica, mercado, econômica), disponibilidade de investimentos e adequação à cultura local [6].

Outro elemento influenciado é o circuito e as escalas de produção, que envolvem desde a agricultura familiar até as grandes empresas [7]. Isso envolve uma superação dos conceitos tradicionais de produtos agrícolas, que agora envolvem biotecnologia [8].

Gestão da inovação da Biotecnologia e cadeia produtiva oriundas da biodiversidade

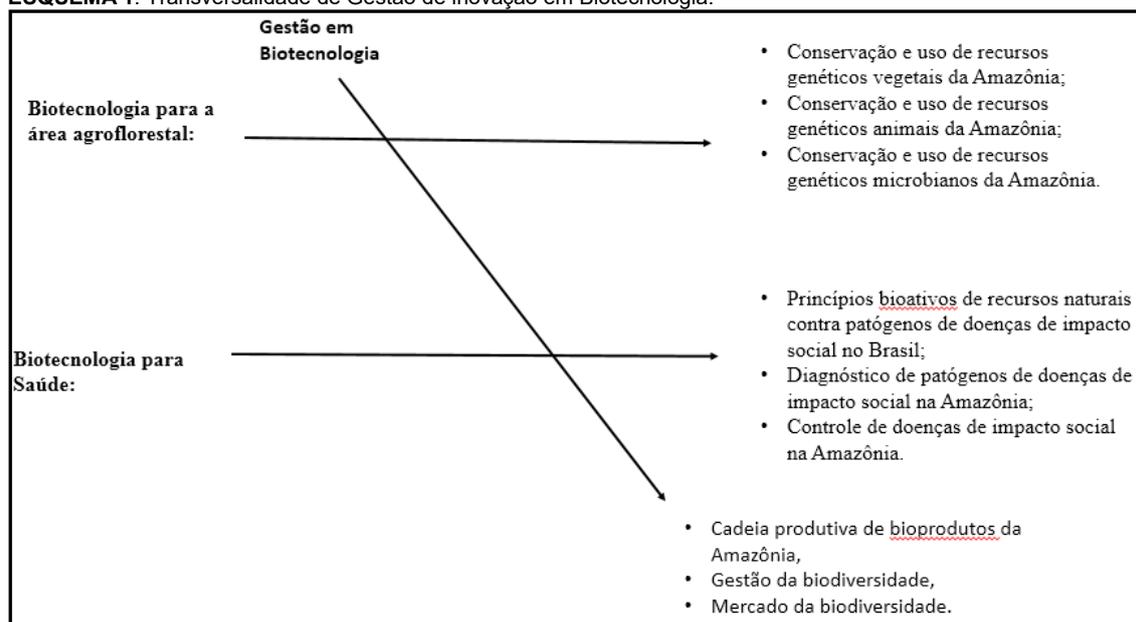
A materialidade de *Gestão* perpassa a variedade de usos que adicionados a certas adjetivações (como ambiental, negócios, empresarial, recursos humanos entre outros) proporcionam no seu conteúdo o uso do território e das suas funções (econômicas, políticas, estratégicas, ambientais, entre outros).

No contexto biotecnológico, a aplicação das formas de *gestão* também é impactada por este uso do território, cujo conhecimento científico também é resultante. Tomando como referência as áreas de pesquisa que se apresentam nos cursos de pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, Astolfi

Filho et al [9] argumentaram que a área de *Gestão* é transversal às outras do PPGBiotec/UFAM. Esta transversalidade nos conhecimentos é uma das características dos estudos de *cadeia de produtiva*, que tem como base produtos e mercadorias oriundas da biodiversidade (**ESQUEMA 1**).

Nogueira [10] adjetiva *gestão* a prática biotecnológica, a qual não se limita a uma área específica do conhecimento, mas sim a um complexo *científico-tecnológico-industrial*. Este, por sua vez, não é somente voltado para o desenvolvimento de conhecimentos e bioprodutos, úteis à esfera econômica da sociedade, mas ao próprio processo de realização de pesquisas e de desenvolvimento tecnológico, além de desenvolver determinadas relações com as esferas políticas e ideológicas da sociedade [10].

ESQUEMA 1: Transversalidade de Gestão de inovação em Biotecnologia.



Org.: autor.

Sob esta perspectiva, a *gestão* é vista:

a) como um *conteúdo socioeconômico* da prática *científico-tecnológica*, que envolve interesses econômicos, sociopolíticos e ambientais contraditórios, assim como aqueles motivados pela regulação de sua funcionalidade.

b) Como uma ferramenta concebida para que a inovação aconteça com o máximo de aproveitamento e impacto e o mínimo de erros e riscos, por meio da gestão da inovação, via estruturação do território. Que aumenta a competitividade, proporcionando resultados positivos de acordo com os objetivos e metas estabelecidos pelo interessado, seja uma empresa ou uma pessoa [11].

A gestão da inovação, propriamente dita, é uma atividade que se desenvolve, no contexto microeconômico, onde um bom produto ou processo é apenas uma das variáveis a serem consideradas na formulação de estratégias competitivas [12]. Por este motivo, a *gestão* se aplica mais diretamente para cadeias de valor ou cadeias de suprimentos.

Nos casos das cadeias produtivas é possível identificar, mapear, interferir em partes, mas em sua totalidade é muito difícil, principalmente as mais longas, isto é, as que demandam muitos processos tecnológicos e/ou de montagens a grandes distâncias [13].

c) A biodiversidade como conteúdo espacial, com ênfase na *gestão* das fontes de *recursos* da prática biotecnológica, envolve a dimensão do uso e do conteúdo estrutural dos territórios e até sua especialidade produtiva, assim como seu conteúdo social, a força de trabalho camponês, o transportador, o operário, o empresário entre outros.

No espaço geográfico (que engloba o espaço econômico, político, social e a natureza) a preocupação com a *organização* sempre esteve relacionada com as estratégias, planejamentos e *gestão* das ações da sociedade, principalmente pelos agentes (econômicos, políticos e sociais) que objetivam a manutenção e expansão de poder.

A valorização dos recursos naturais, impregnado pelo advento de tecnologias, incluindo a biotecnologia, demanda a aplicação de gestão da biodiversidade. Segundo Borges [14], esta valorização consiste em estimular a cultura local, os seus conhecimentos e suas formas regionais de relação com a natureza, consistindo no aproveitamento das espécies, possibilitando valorizar o seu potencial.

Nesta lógica, a gestão da biodiversidade perpassa pela gestão do território, visto que na *biodiversidade* há práticas de relações e de conflitos de poder (dos empresários, das comunidades locais, dos órgãos públicos). Isto por que:

O conceito de território compreende delimitação, domínio por parte de um determinado grupo (empresarial, étnico, religioso...), apropriação, administração, gestão (aménagement). Parte significativa daquilo que se identifica empiricamente como área, setor específico de um grupo ou classe social ou instituição (público ou privada), é melhor identificado com a categorias território (territorialidade e territorialização), mediados pelo *uso*, e planejamento. O termo gestão, por outro lado, reporta-se igualmente a uma forma de identificação e planejamento em uma escala de circuitos específicos no espaço geográfico. O contraste fundamental está no fato de que nem sempre a gestão se limita ou tem limites precisos a sua espacialidade ou territorialidade, não raro há transbordamentos com origens diferentes e impactos diferenciados. Gestão também, definida pelas características próprias da atividade ou locais das atividades (meio e fim), peculiaridade, com diferentes tamanhos e ordens de grandeza quanto à sua autonomia ao todo territorial, ou ao espaço total e à totalidade geográfica [15].

O camu-camu no contexto do mercado da biodiversidade

O camu-camu está entre os frutos com o real potencial funcional e industrial, devido aos elevados teores de vitamina C e compostos fenólicos presentes em sua polpa e casca (**QUADRO 1**). Podendo ser utilizado como medicamento para infecções virais (gripes e resfriados), asma, gengivite, entre outros, nos quais os benefícios são: efeito antioxidante elimina toxinas no corpo, ajuda a prevenir o aparecimento da catarata, entre outros [16-19]

No entanto, devido a sua elevada acidez, dificilmente são consumidos *in natura*, fato que pode ser contornado com o processamento dos frutos em produtos de maior aceitação, além da extração de componentes de interesse nutricional/funcional como: empregados na fabricação de sucos, sorvetes, bebidas e geleia [20].

Existe também, considerando o potencial socioeconômico e nutricional do camu-camu, a produção de licor de camu-camu [20] sendo um produto promissor ao mercado e bioindústria (**FIGURA 2A**); bebida alcoólica

fermentada [18]; pó de camu-camu visando à obtenção de um produto com alto teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante (FIGURA 2B); e polpas.

QUADRO 1: Composição nutricional da polpa de camu-camu.

Componente (g) em 100 gramas de polpa	
Proteína	0,4
Fibra	0,1
Lipídios	0,2
Carboidratos	3,5
Vitamina C	1,41
Antocianinas (mg)	9,98
Minerais (mg) em 1000 gramas de polpa	
Sódio	111,3
Potássio	838,3
Ferro	157,3
Magnésio	5,3
Manganês	21,1
Zinco	3,6

Fonte: Hernandez et al[21].

FIGURA 02: Licor e Pó de Camu-Camu.



Fonte: autor

Devido à *mercantilização da natureza* [22], em que se enquadra o camu-camu, por ser fruto da biodiversidade, tanto nas escalas local e estadual, identifica este fruto como um *recurso ocioso* [23], por ser um recurso natural não utilizado em grande escala (social, comercial, industrial, entre outros), sendo assim uma *potencialidade econômica*.

Esta ociosidade torna-se sinônimo de uma cadeia produtiva pouco consolidada, diferentemente do que acontece com outros produtos da Amazônia brasileira como: o Açaí, Castanha, Andiroba, Cupuaçu, Guaraná e outros; que, por sua vez, apresentam condições favoráveis estruturadas em mercados nacionais e internacionais, e de expressiva potencialidade para comporem parte da demanda do mercado da bioindústria [24].

A riqueza vegetal da Amazônia brasileira é ainda potencial. Segundo Enriquez [24], é preciso transformar esse potencial em insumos e produtos para os segmentos da indústria que apresentam uma demanda crescente de material de origem genética, por exemplo, as indústrias de fitocosméticos e farmacêuticos.

Desta forma, os espaços herdados da natureza (biodiversidade) são uma questão de utilidade (para fins não capitalistas - índios e camponeses - e capitalistas, bioindústrias), logo, a Natureza não é uma potencialidade em si mesma [25].

Por isso, conhecer e destrinchar a natureza são, para o capitalismo sujeitá-la às suas necessidades de reprodução ampliada e, para índios e camponeses, são para viabilizar concretamente a reprodução dos seus modos de vida. Em ambos os casos com suas devidas peculiaridades: como objetos de consumo ou meio de produção, isso nada mais é do que a subsunção da Natureza pela sociedade [25].

Uma forma de analisar a posição do camu-camu no mercado da biodiversidade (em escalas espaciais locais, regional, nacional, internacional) pode ser feita pelo SWOT, uma ferramenta que consegue identificar as forças (S), fraquezas (W), oportunidades (O) e ameaças (T) da atual posição no mercado (**QUADRO 2**). Os fatores internos que podem ser as *forças* e as *fraquezas* incluem a qualidade do produto, a força da marca, a concorrência de bioprodutos. Neste sentido, as principais forças de mercado do camu-camu estão nas informações genéticas do fruto, com destaque para o seu potencial em ácido ascórbico (vitamina C)[19,17,16].

As fraquezas estão ligadas ao aspecto concorrencial do fruto no mercado, a ausência de propaganda/*marketing* como foi realizado com o Açaí, por exemplo. Isto se deve à falta de políticas no setor primário do Governo do Estado do Amazonas, tendo como consequência a ausência de grandes plantações ou áreas de intenso extrativismo e, ampliando-se a escala de análise, à dependência do PIB (Produto Interno Bruto) do estado do Amazonas pelo Distrito Industrial. Segundo Harvey [26]: “a noção de que o capitalismo alguma vez funcionou sem o envolvimento estreito firme do Estado é um mito que merece ser corrigido”, neste sentido, a participação do Estado (nas suas mais diversas escalas e instituições de poder) torna-se enfática.

Como salientou Carvalho [34], ao abordar o mercado de fitoterápicos e fitocosméticos em Manaus:

No mercado de fitoterápicos/fitocosméticos, o papel do Estado é fundamental para sua efetivação, não somente por causa dos sistemas de engenharia criados, mas pela presença em políticas públicas que regulam os espaços da produção, distribuição, circulação e consumo. Os sistemas de engenharia atuam mais no processo de circulação do mercado em escala nacional, mas não foram criados especificamente para esse mercado, cuja cadeia produtiva aproveita as infraestruturas da densidade viária, assim como outras cadeias produtivas o fazem [34].

Isto fica evidente pelo processo de desenvolvimento sócio produtivo que molda o estado do Amazonas, na perspectiva de aproveitamento de seus recursos naturais, onde o efeito marcante é a concentração das atividades econômicas em Manaus. O mercado de bioprodutos começou principalmente com a constituição do DIMPE (Distrito Industrial de Micro e Pequenas Empresas de Manaus) e CIDE (Centro de Incubação e Desenvolvimento Empresarial), propiciando que empresas de bioprodutos pudessem se instalar e ter apoio de diversas instituições [35].

Santos [36] afirma que o Estado tem ampliado cada vez mais o seu papel, interferindo em diversos domínios, sendo necessário ainda por outras razões:

1. torna-se o maior responsável pela penetração das inovações e pela criação de condições de sucesso dos investimentos, sobretudo os grandes capitais;
2. por seus próprios investimentos o Estado participa de uma divisão de atividades que atribui aos grandes capitais os benefícios maiores e os riscos menores. Trata-se de uma divisão de

- atividades em escala internacional e que assegura a continuidade e a reprodução da divisão desigual das riquezas;
- o Estado tem que assumir seu papel de mistificador, como propagador ou mesmo criador de uma ideologia de modernização, de paz social e de falsas esperanças que ele está bem longe de transferir para os fatos

QUADRO 2: SWOT- análise da posição do camu-camu no mercado da biodiversidade.

Camu-camu	Fatores Internos	Forças (S)	<ul style="list-style-type: none"> É uma espécie frutífera nativa da Amazônia encontrada em estado silvestre no Peru, Brasil, Venezuela e Colômbia ^[17]
			<ul style="list-style-type: none"> Ocorre principalmente nas margens dos rios e lagos amazônico ^[27]
			<ul style="list-style-type: none"> É tolerante a inundação, podendo permanecer na água durante 4 a 5 meses ^[17]
			<ul style="list-style-type: none"> Grande potencial de produção de ácido ascórbico ^[28]
			<ul style="list-style-type: none"> 800mg por 100 gramas de polpa ^[19]; 5000mg por 100 gramas de casca ^[29]
			<ul style="list-style-type: none"> O camu-camuzeiro, a casca do caule e da raiz, serve para tratamento de reumatismo e diarreia e alivia dores musculares ^[19]
Camu-camu	Fatores Internos	Fraquezas (W)	<ul style="list-style-type: none"> Seu uso em boa parte da Amazônia brasileira se restringe a isca de peixe, que é um dos principais dispersores das sementes, juntamente com as correntezas dos rios ^[17]
			<ul style="list-style-type: none"> Não há presença do Governo do Estado do Amazonas e nem dos municípios produtores nas orientações de uso do fruto;
			<ul style="list-style-type: none"> Não há marketing (propaganda) sobre o fruto na região amazônica brasileira;
			<ul style="list-style-type: none"> Não possui uma cadeia produtiva consolidada,
			<ul style="list-style-type: none"> Não há grandes plantações, pois não há políticas agrícolas no Estado do Amazonas;
			<ul style="list-style-type: none"> O camu-camu nativo a sua safra é somente uma vez no ano;
Camu-camu	Fatores Externos	Oportunidade (O)	<ul style="list-style-type: none"> Os frutos de camu-camu apresentam alto potencial para a indústria alimentícia e farmacológica com aproveitamento como conservante em antioxidante, cosméticos, sucos e pastilhas de vitamina C ^[31]
		Ameaças (T)	<ul style="list-style-type: none"> A polpa processada de camu-camu aproveitada, nos Estados Unidos, França e Japão é considerada um produto de exportação devido à grande demanda existente nesses países. ^[16] Demanda crescente de produtos naturais ^[32] Aceitação do produto pela forte imagem da “fruta mais rica em vitamina C ^[30]. Desenvolvimento de pesquisas aplicadas (EMBRAPA, UFAM, INPA). Produção de outros estados, como alguns produtores do interior de São Paulo, com destaque para o Vale do Ribeira ^[33] Falta de incentivos públicos.

Org.: autor.

Em relação aos fatores externos, que podem ser *oportunidades* ou *ameaças*, inclui-se crescimento de mercado, novas tecnologias, barreiras à entrada no mercado, potencial de vendas no exterior. As *oportunidades* do camu-camu estão relacionadas principalmente ao crescimento de mercado consumidor, como por exemplo: estadunidense, europeu e japonês.

As principais *ameaças* são que outras unidades federativas estão produzindo o fruto. Devido às *forças* do camu-camu, que cresce nas margens dos rios, e o seu potencial econômico, principalmente para o mercado externo, alguns produtores do interior de São Paulo, já iniciaram a produção do fruto, com destaque na região do Vale do Ribeira, com o intuito de substituir lavouras de banana que não suportam a inundação, de quatro a seis meses [33]. Destaca-se que, enquanto na região amazônica a produção é anualmente de 8 kg de frutos por planta, no Vale do Ribeira, sul do estado de São Paulo, a produção é de 20 kg por planta. Este caso demonstra uma mais valia espacial do produto, pela inserção da tecnologia aparelhando o território.

O circuito superior e o circuito inferior do camu-camu

A organização espacial da cadeia produtiva do camu-camu é identificada por dois circuitos espaciais de produção: circuito inferior e o circuito superior [36]. Esses circuitos (inferior e superior) foram abordados por Santos [36] com o intuito de acabar com as ambiguidades dos termos *crescimento* e *desenvolvimento*, desta forma apresentando dois circuitos da economia urbana dos países subdesenvolvidos.

Na cadeia produtiva de camu-camu, identificou-se [36], que os elementos espaciais são os mesmos, que formam um *continuum* no tempo, mas variam qualitativamente e quantitativamente segundo o lugar, do mesmo modo que variam as combinações entre eles e o seu processo de fusão.

Esses elementos espaciais [37] são os “homens, as firmas, as instituições, o chamado meio ecológico e as infraestruturas”, e possuem sentido (tanto no âmbito de gestão, estratégia e planejamento) e concretude na relação que mantém entre si, sendo componentes de cada etapa produtiva.

A combinação diferenciada dos elementos ocorre no fluxo do camu-camu entre os circuitos espaciais de produção, pois as modernizações tecnológicas que atingem ambos os circuitos, com intensidades diferentes, são evidenciados por seletividades espaciais, no nível econômico e social.

Isto é evidenciado nas diferentes mercadorias derivadas do camu-camu (**QUADRO 3**), onde a constituição de valor monetário das mercadorias aumenta ao passar por todas as etapas da cadeia produtiva, devido à inserção de Biotecnologia, Bioprospeccção, preocupação ecológica e outros fatores, que acarretam uma alteração no mercado impulsionado pela competição monetária.

QUADRO 3: Produtos derivados do camu-camu.

Produtos	Preço (R\$)
Camu-camu (granel de 100 g)	10,00
Mudas de camu-camu (60 cm)	50,00
Muda de camu-camu	20,00
Farinha de camu-camu liofilizado em pó-500 g	59,90
5 sementes de camu-camu	26,90
60 cápsulas de 400 mg de camu-camu (Maxinutri)	21,52
Extrato de camu-camu 1600 mg	28,92
Camu-camu, 1000 mg, 60 cápsulas (Fuitrients)	118,65
Extrato bruto de camu-camu em pó (Navitas organics)	51,60

Org.: autor. Fonte: lista – <www.mercadolivre.com.br/camu-camu>.

As organizações produtivas (extrativistas, bioindústrias) procuram se complementar para criar valor, que é a capacidade de atender ou de superar as necessidades dos clientes [38].

No caso das *cadeias produtivas oriundas da biodiversidade*, o circuito que se beneficia *indiretamente* da modernização tecnológica beneficia *diretamente* o circuito que foi criado em função dos progressos tecnológicos, pois a tecnologia, do ponto de vista econômico, social, político, além de ser seletiva espacialmente, costuma precipuamente dominar a natureza [39]. Dessa forma, as atividades de um circuito tornam-se elementos pré-estabelecidos para a criação e a atividade do outro. O circuito inferior do camu-camu encontra-se na etapa de *produção* da cadeia, onde o sujeito base é o *camponês* e o seu espaço geográfico de produção é o espaço rural/agrário.

Este sujeito, devido aos variados nomes culturais e institucionais, ou oriundos de diferentes escolas (econômicas, sociais, geográficas, entre outras), pode vir com os mais variados nomes: caboclo, ribeirinho, agricultor familiar, pequeno produtor [39]. Certamente é muito mais que um *agente econômico*. Independente da nomenclatura, o sistema produtivo do camu-camu utilizado pelo camponês é o extrativismo vegetal, onde há a coleta do fruto, *recurso* proporcionado pela natureza.

Na realidade empírica vivenciada em Manaus, Silves e Itacoatiara, os camponeses que fornecem os recursos naturais para a produção de bioprodutos são dependentes de instituições sociais, como: associações, cooperativas, Mercados (feiras municipais) para a sua inserção na lógica capitalista. No município de Maraã, onde há grandes quantidades de camu-camu e ausência de bioindústrias, os camponeses das comunidades do município extraem o produto como complemento de renda, desta forma o camu-camu *in natura* abastece somente o mercado local, podendo o fruto ser encontrado na feira municipal da cidade e nas escolas (**FIGURA 3**).

FIGURA 3: Camu-camu *in natura* - Maraã (AM).



Fonte: autor.

Os camponeses no município de Maraã vendem o camu-camu nas ruas, em bacias; na feira da cidade e em escolas por, cerca de R\$ 3,00/litro. No estado do Amazonas, as instituições de pesquisa são dependentes do camponês, que representa a base produtiva para alguns de seus produtos. Além destes sujeitos identificados, outros elementos que movimentam a cadeia produtiva de camu-camu no estado do

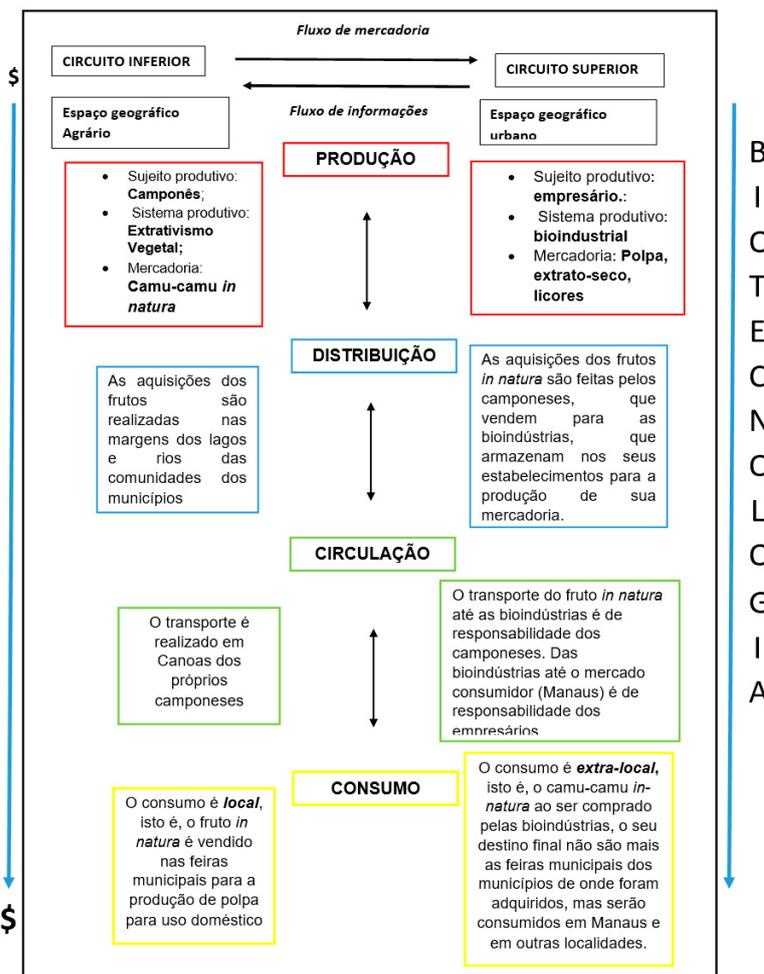
Amazonas, são também dependentes do campesinato, como: transferência de tecnologias, produção de conhecimentos, legislações, mercados e relações comerciais [40].

O circuito superior da cadeia produtiva do camu-camu é dependente do circuito inferior, pois a relação circuito inferior-circuito superior acontece com o fluxo de mercadoria. O equilíbrio da balança ocorre quando a relação circuito superior com o circuito inferior ocorre o fluxo de informações, como: relações comerciais, mercado, preço entre outros, pois, por meio da cadeia produtiva é possível identificar as necessidades dos compradores (ESQUEMA 2).

Além do que, a relação fundamental do circuito inferior com o circuito superior se dá por meio da venda de camu-camu *in natura* como matéria-prima para as bioindústrias, onde o preço da aquisição do fruto é de responsabilidade dos produtores, mas o poder econômico e decisivo da cadeia ocorre nas bioindústrias, devido à capacidade de armazenamento dos frutos e a capacidade de arcar com os custos de transporte do produto.

Esta relação acontece, pois, a pluralidade do campo amazônico é muito mais que a simplória base 'terra firme, várzea, biodiversidade'. Identifica-se também o poder e a influência territorial espacial (econômicas, políticas e sociais) que não se limitam ao campo, porque partes significativas das decisões de preço nos mercados são feitas nas cidades [41].

ESQUEMA 2: O movimento da cadeia produtiva do camu-camu nos dois circuitos produtivos.



Org: autor

A distribuição de produtos regionais para o mercado interno e externo criou uma estratificação social que serve como uma forte ligação entre a economia urbana e rural, aspecto importante para coesão da cadeia produtiva^[42].

As cadeias produtivas oriundas da biodiversidade estão inseridas no aumento das competitividades nas várias escalas econômicas e espaciais: local, regional, nacional e internacional, que são baseadas no conhecimento tradicional, tecnológico, biotecnológico e outros. E a cadeia produtiva do camu-camu, por suas posições e transformações ao longo das etapas produtivas e suas movimentações ao longo dos circuitos espaciais produtivos, abrange setores tradicionais (extrativismo vegetal) e de alta tecnologia (*spray drier*, por exemplo) nas suas produções.

A eficiência do circuito superior da cadeia produtiva do camu-camu no estado do Amazonas depende do fornecimento confiável de frutos com boa qualidade e da habilidade de maximizar a sua produção em polpas, licores, extratos secos.

Com isso, o fluxo entre os dois circuitos espaciais de produção de camu-camu no estado do Amazonas proporciona um foro construtivo e eficiente de diálogos entre as bioindústrias, governos e outras instituições de destaque: UFAM (Universidade Federal do Amazonas), EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). Sendo que estas instituições produzem pesquisas que influenciam em melhoramento genético, novos nichos ecológicos, no aumento de vitamina C, e outras informações que contribuem para o melhoramento ou a produção de novas mercadorias que influencia ou influenciará inicialmente na primeira etapa da cadeia produtiva, a *produção*, pois intensificará o surgimento de novas mercadorias, criando demandas por matérias-primas e, posteriormente, atingirá as outras etapas da cadeia produtiva.

Neste sentido, identifica-se que a tecnologia é produzida por setores da sociedade, que produzem novas estruturas sociais e ambientes diferenciados como meio de produção, ou qualquer outra forma de produção de matéria-prima, que não raro, gera injustiças e desigualdades espaciais, assim como abre possibilidades de reivindicação por grupos oprimidos ^[41].

Estas instituições são identificadas no circuito superior, junto com governos que apresentam legislações, regulações, que interferem nos fluxos de mercadorias e de informações, desta forma influenciando em *potencialidades* de mercado, pois um dos papéis do governo é a definição de regras microeconômicas gerais e a criação dos incentivos que regem a competição, de modo a encorajar o aumento da produtividade ^[38]. Entre estas regras estão: normas sobre a defesa da concorrência que acentuem a rivalidade, um sistema tributário justo e eficiente, leis que assegurem o direito dos consumidores ^[38], entre outros.

De modo contraditório e complementar, os efeitos ambientais nas economias extrativas são diferentes dos promovidos pela economia de produção. A adoção de tecnologias próprias ou *ecotecnológicas*, que abrange de uma vez a luta contra a poluição, mas a jusante integra tecnologias de redução de emissões de poluentes, processos de produção econômica em energia e recursos, os sistemas de otimização para a gestão de emissões e dos recursos ^[43].

Para identificar as atividades das bioindústrias no circuito superior foram pesquisadas sete bioindústrias que trabalham com a produção de mercadorias derivadas do camu-camu (**QUADRO 4**). No entanto, somente cinco disponibilizaram informações, entre elas foram: Associação de Silves pela Preservação Ambiental Cultural/Cooperativa de Trabalho Ecoturístico e Ambiental do Amazonas (ASPAC/COOPTUR)

nos municípios de Silves; Licores da Amazônia, Magama no município de Manaus; Cupuama no município de Careiro Castanho; Wotüru no município de Benjamin Constant.

QUADRO 4: Bioindústrias regionais que apresentam o camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVough) como matéria-prima.

Bioindústrias	Principais produtos
Fazenda santa maria ¹	Polpas de frutas.
Amazônia polpas ¹	Polpas de frutas.
Aspoc/cooptur ²	Polpas de frutas
Cupuama – cupuaçu do amazonas ind. Com. Exp. Ltda ²	Polpas de frutas congeladas
Magama industrial Ltda ² .	Extratos
Licores da amazônia ²	Licores e doces
Wotüra ²	Polpas de frutas

Org: autores.

Fonte: 1. <http://www.fieam.org.br/2015/fieam/cin-produtores-regionais/>. 2. Trabalho de campo.

As bioindústrias são uma das possibilidades de uso sustentável da biodiversidade regional, onde é tratada como uma atividade econômica promissora para a região, pois, promete superar o puro e simples processamento da matéria-prima, agregando valor aos produtos da biodiversidade e, por outro lado, contribui para a sustentabilidade das comunidades que habitam na floresta, melhorando suas condições de vida, saúde, educação e equilíbrio com o meio ambiente^[24].

O que define o circuito superior é a sua forma de organização e comportamento, enquadrados numa análise estrutural de cenário com estágio tecnológico de fluidez, incerteza e oportunidades^[44].

Conclusão

A valorização e a valoração da biodiversidade são sustentadas pelo uso de conhecimento (biotecnológico, tecnológico, técnico, humano, empresarial, *etno*) no qual é construído e identificado por meio de territórios, que são base para atuações de mercado e para processos de “desenvolvimentos”. As escalas espaciais de produtos derivados da biodiversidade, como identificado no camu-camu devem ser identificadas como pluralidades, pois a realidade e o fenômeno são diferentes em cada escala.

O papel do Estado é essencial, visto que, no mínimo, deve ser o impulsionador do processo de valorização da cadeia produtiva e divulgador de sua existência em diferentes lugares e contextos, o que exige diferentes tipos de processo de gestão em biotecnologia pelo uso do território nas cadeias produtivas como meio de abordagem e difusão do camu-camu.

A relação sociedade-natureza e o camu-camu estão inseridos em um ambiente de competição pela dominância de mercados com maiores lucros, pois está em um mercado mais amplo, que é o mercado da biodiversidade, onde as conexões e interdependências entre os diferentes sujeitos (sujeitantes e sujeitos) revelam a distribuição espacial desigual de valor.

Foram identificados, nos produtos à base de camu-camu, os seus processos de produção, porque as formas como são produzidos se relacionam com a condição (econômica, social, política, regulatória, tecnológica, entre outras) necessária para: identificar o tipo de cadeia produtiva, em qual circuito da economia está inserido, e se o produto e seus derivados apresentam-se como uma inovação

biotecnológica no mercado. Sob o aspecto biotecnológico a biodiversidade não é vista somente como um recurso natural, mas como recurso biotecnológico com potencialidades naturais, mas que exigem tecnologia e estudos de mercado para sua concretização.

A gestão da inovação em biotecnologia deve ser identificada, analisada e proposta com o uso das cadeias produtivas, visto que são mediadas pelo uso do território, aparelhado para fins de fluidez da mercadoria e necessita de um processo de gestão em que múltiplos fins ou objetivos estão em jogo, como o lucro, meio ambiente, justiça social, entre outros.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Projeto: Uso da Biodiversidade Amazônica: Biotecnologias e Cadeias Produtivas dos Recursos (Produtos) Naturais) pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas.

Referências

1. Jung CF. Gestão da Inovação. In: Griebeler MPD, Riedi M (Org.). **Dicionário de Desenvolvimento Regional e Temas Correlatos**. Porto Alegre: Conceito, 2017. ISBN 978-85-89569-77-4.
2. Gomes MTS. Espaço, inovação e novos arranjos espaciais: algumas reflexões. In: Oliveira FGO et al. **Espaço e economia: geografia econômica e a economia política**. Rio de Janeiro: Consequência, 2019. ISBN: 978-85-69437-70-3.
3. Tunes R. Uma abordagem crítica da inovação e do conhecimento na geografia do capitalismo contemporâneo. In: Oliveira, FGO et al. **Espaço e economia: geografia econômica e a economia política**. Rio de Janeiro: Consequência, 2019. ISBN: 978-85-69437-70-3.
4. Borém A. Giúdice M. **Biotecnologia e meio ambiente**. Viçosa, 2008. ISBN: 0000402682.
5. Costa RC. Nunez CV. Mercado de bioprodutos fitoterápicos e fitocosméticos: gestão, tecnologias e inovação. **Rev Fitos**. 2016; 10(3): 295-306. ISSN 2446-4775. [[CrossRef](#)].
6. Neves MF, Castro LT. O Método para construção de um projeto integrado de negócios sustentáveis. In: Neves MF, Castro LT. **Agricultura Integrada: inserindo pequenos produtores de maneira sustentável em modernas cadeias produtivas**. São Paulo. Atlas. 2010 ISBN: 978-85-224-5917-9.
7. Conejero MA. Cenário econômico da produção de alimentos, fibras e bioenergia. In: Neves MF (Org.). **Agronegócios e Desenvolvimento Sustentável**. São Paulo, Atlas. 2009. ISBN: 9788522447534.
8. Ribenboim JA. Produtos Agrícolas e mercados no agronegócio. In: Callado AAC (Org.). **Agronegócio**. São Paulo. Atlas. 2008. ISBN 9788522494491.
9. Santos PABS. **Da academia ao mercado: um estudo sobre a abordagem da inovação no Programa Multi-Institucional de pós-graduação em biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas**. 196p. 2013. Tese de Doutorado. [Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia] Universidade Federal do Amazonas. UFAM. Manaus. [[Link](#)].
10. Nogueira MG. **Biotecnologia, conhecimentos tradicionais e sustentabilidade: as perspectivas de inovação no Amazonas**. Manaus: EDUA, 2013. ISBN: 9788574017099.
11. Zogbi E. **Gestão da inovação: como transformar ideias criativas em produtos e serviços viáveis**. 2007. ISBN: 9781978011465.

12. Tigre PB. **Gestão da Inovação: a economia da tecnologia no Brasil**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. ISBN 85-352-1785-8.
13. Costa RC, Nunez CV. Processos de Cadeia Produtiva para o Mercado de Biodiversidade. In: Costa RC, Ferreira BES, Nunez CV (Orgs.). **Mercado e Biodiversidade**. Manaus. Editora INPA. 101p. 2015. ISBN 978-85-211-0155-0.
14. Borges VC. **Pequi, Jatobá, Algodãozinho – Biodiversidade no Cerrado na Medicina Popular**. 273f. 2011. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação em Geografia]. Instituto de Estudos Socioambientais (IESA). Universidade Federal de Goiás. Goiânia. [\[Link\]](#).
15. Ferreira BES, Costa RC. Mercado e Biodiversidade em Manaus (AM). In: Costa RC, Ferreira BES, Nunez CV (Orgs.). **Mercado e Biodiversidade**. Manaus. Editora INPA. 101p. 2015. ISBN 978-85-211-0155-0.
16. Chagas EA, Bacelar-Lima CG, Carvalho AS, Ribeiro MIG, Sakazaki RT, Neves LC. Propagação do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh). **Rev Agro@mb On-line**. jan/abril, 2012; 6(1): 67-73. Universidade Federal de Roraima. ISSN 1982-8470. [\[Link\]](#).
17. Moreira Filho M. **Camu-camu arbustivo (*Myrciaria Dubia*) e camu-camu arbóreo (*M. Floribunda*): enxertia intraespecífica e interespecífica**. 2009. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido]. INPA/UFAM. [\[Link\]](#).
18. Maeda RN, Andrade JS. Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dubia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. **Acta Amaz** [online]. 2003; 33(3): 489-498. ISSN 0044-5967. [\[CrossRef\]](#).
19. Pinedo M. Camu-camu, una nueva línea de producción orgánica de vitamina C, em adopción por el poblador amazónico. **Rev Agroec**. 2004; 20 (1). ISSN 1980-9735. [\[Link\]](#).
20. Vieira VB, Rodrigues JB, Brasil CCB, Rosa CS. Produção, caracterização e aceitabilidade de licor de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh). **Alim Nutr Araraq**. 2010; 21(4): 519-522. ISSN 0103-4235. [\[Link\]](#).
21. Hernandez MS, Barreira JA. (Comp) **Camu-camu**. Bogotá, Colômbia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI, 2010. ISBN: 978-958-8317-63-2.
22. Leff E. **Racionalidade ambiental: a reapropriação social da natureza**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 2006. ISBN: 85-200-0710-4.
23. Rangel I. Recursos Ociosos e Política Econômica. In: **Obras Reunidas**. Vol.1. Rio de Janeiro: Contraponto, 2005; ISBN 85-85910-69-0.
24. Enriquez GEV. **Desafios da sustentabilidade da Amazônia: Biodiversidade, cadeia produtiva e comunidades extrativas integradas**. 460 p. 2008. Tese de Doutorado. [Centro de Desenvolvimento Sustentável] Universidade de Brasília, UNB. [\[Link\]](#).
25. Costa RC. **Xingu-Transamazônica: linha de quedas, territorialidades e conflitos**. 2004. Tese de doutorado [em Geografia] USP. [\[Link\]](#).
26. Harvey D. **A produção capitalista do espaço**. São Paulo: Annablume, 2005 ISBN: 8574194964.
27. Infante XLB. **Produção e avaliação da qualidade do suco clarificado de camu-camu, originário da margem do Rio Putumayo (fronteira Brasil – Colômbia)**. 49p. 2008. Dissertação de Mestrado [em Ciências de Alimentos] Universidade Federal do Amazonas, Manaus, [\[Link\]](#).
28. Yuyama K, Aguiar JPL, Yuyama LKO. Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **Acta Amaz**. 32(1): 169-174. 2001. ISSN 1809-4392. [\[CrossRef\]](#).

29. Andrade JS. **Curvas de maturação e características nutricionais do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh) cultivado em terra firme na Amazônia Central Brasileira.** 127p. 1991. Tese de Doutorado [Faculdade de Engenharia de Alimentos] Universidade Estadual de Campinas. UNICAMP. [\[Link\]](#).
30. Harrison FE, May JM. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. **Free Radic Biol Med.** 2009; 46(6): 719-730. ISSN 1873-4596. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
31. Inoue T, Komoda H, Uchida T, Node K. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **J Cardiol.** 2008; 52(2): 127-132. ISSN 0914-5087. [\[CrossRef\]](#).
32. Miguel L. **A biodiversidade na indústria de cosméticos: contexto internacional e mercado brasileiro.** Tese de Doutorado. 2012. [Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas] São Paulo: USP. [\[Link\]](#).
33. Yuyama K. A cultura de camu-camu no Brasil. **Rev Bras Frutic.** 2011. ISSN 1806-9967. [\[CrossRef\]](#).
34. Carvalho TPV. **Mercado de fitoterápicos e fitocosméticos em Manaus (AM).** 2015. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Geografia], UFAM. Manaus. [\[Link\]](#).
35. Ferreira BES. **Relação sociedade e natureza e o mercado da biodiversidade em Manaus.** 2015. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Geografia] UFAM. Manaus. [\[Link\]](#).
36. Santos M. **O espaço dividido: os dois circuitos da economia urbana dos países subdesenvolvidos.** Edusp, 2008. ISBN: 9788531408335.
37. Santos M. **Espaço e Método.** São Paulo: Nobel, 1988. ISBN: 85-213-0294-0.
38. Porter M. **Competição.** Rio de Janeiro, Elsevier, 546p. 2009. ISBN 978-85-352-3110-6.
39. Costa RC, Nunez CV. Cadeias Produtivas, Biodiversidade e Campesinato no Amazonas. In: Costa RC, Nunez CV (Orgs.). **Cadeias Produtivas & seus ambientes.** Manaus: Editora INPA, 2017. ISBN: 978-85-211-0169-7.
40. Nassar PC et al. Consideraciones Socioeconómicas para un Plan de Manejo de Camu-camu. In: Hernandez MS, Barreira JA. (Comp) **Camu-camu.** Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI, 2010 ISBN: 978-958-8317-63-2.
41. Costa RC, Nunez CV. Biodiversidade e Cadeias Produtivas: Potencialidades sinérgicas. In: Costa RC, Nunez CV (Orgs.). **Cadeias Produtivas & seus ambientes.** Manaus: Editora INPA. 2017. ISBN: 978-85-211-0169-7.
42. Santos RMB et al. Cadeia de produção do camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh): o caso das regiões produtoras de loreto e ucajali na amazônia peruana. **Interciên.** April 2018; 43(4). [\[Link\]](#).
43. Veyret Y. **Dictionnaire de l'Environnement.** Armand Colin, Paris, 2007. ISBN: 9782124730223.
44. Judice VMM, Baêta AMC. Modelo Empresarial, Gestão de inovação e investimentos de Venture Capital em empresas de Biotecnologia no Brasil. **RAC.** Jan/Mar. 2005; 9(1): ISSN 1982-7849. [\[CrossRef\]](#).

Histórico do artigo | Submissão: 03/11/2019 | Aceite: 25/03/2020 | Publicação: 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Billacrês MAR, Costa RC, Nunez CV. A cadeia produtiva na Gestão da Inovação da Biotecnologia: o camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.) no Amazonas. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 222-237. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1077>>. 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.



Avaliação química e biológica de *Graphium jumulu*, fungo endofítico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae)

Chemical and biological evaluation of *Graphium jumulu*, endophytic fungus of *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae)

DOI 10.32712/2446-4775.2020.891

Silva, Weison Lima da¹; Fachin-Espinar, María Teresa¹; Souza, Maria Carolina Scheffer de¹; Lima, Laisley Martins¹; Nunez, Cecilia Veronica¹.

¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Tecnologia e Inovação. Avenida André Araújo, Petrópolis, CEP 69067-375, Manaus, AM, Brasil.

*Correspondência: weisilva3@gmail.com.

Resumo

O presente trabalho investigou o potencial biotecnológico do fungo endofítico *Graphium jumulu*. O fungo foi cultivado em meio caldo de batata suplementado com 0,2% de extrato de levedura, em agitação a 120 rpm, a 30°C durante 20 dias, sendo os metabólitos do micélio extraídos com acetato de etila em banho ultrassom. O extrato foi testado para as atividades de toxicidade, antioxidante e antibacteriana, e não demonstrou efeito tóxico e nem atividade antioxidante, apresentando somente atividade antibacteriana, o que levou a seu fracionamento e, posterior, isolamento da substância: 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona. Esta substância foi testada frente as cepas patogênicas *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*. A substância não inibiu nenhuma das cepas avaliadas, entretanto estimulou o crescimento bacteriano de todas, com destaque para *S. aureus*, *A. baumannii* e *S. enteritidis*, que apresentaram um crescimento de forma linear crescente em função da concentração da substância. Concluiu-se que a 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona é um potencial estimulador do crescimento microbiano sugerindo a continuidade de avaliações frente a outras bactérias de interesse clínico e de interesse industrial. Este é o primeiro relato desta substância no fungo endofítico *G. jumulu*.

Palavras-chave: Bioprospecção. *Graphium jumulu*. Atividade antibacteriana. Perileno quinona.

Abstract

The present work investigated the biotechnological potential of the endophytic fungus *Graphium jumulu*. The fungus was grown in potato broth supplemented with 0.2% yeast extract in a shaker incubator at 120 rpm at 30°C for 20 days, the metabolites of the mycelium being extracted with ethyl acetate in an ultrasound bath.

The extract was tested for toxicity, antioxidant and antibacterial activities. The extract did not show a toxic and antioxidant effect, showing only antibacterial activity, which led to its fractionation and subsequent isolation of the substance: 4,9-dihydroxy-1,2,11,12-tetrahydroperylene-3,10-quinone. This was tested against the pathogenic strains *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Edwardsiella tarda*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. The substance did not inhibit any of the strains evaluated, but stimulated bacterial growth of all, with emphasis on *S. aureus*, *A. baumannii* and *S. enteritidis*, which presented a linear growth as function of the substance's concentration. It is concluded that 4,9-dihydroxy-1,2,11,12-tetrahydroperylene-3,10-quinone is a potential microbial growth stimulant suggesting the continuity of evaluations against other bacteria of clinical interest and of industrial interest. This is the first report of this substance in the endophytic fungus *Graphium jumulu*.

Keywords: Bioprospection. *Graphium jumulu*. Antibacterial activity. Perylene quinone.

Introdução

Microrganismos que residem nas plantas, cada vez mais, estão se tornando objeto dos esforços em pesquisa, visto que os mesmos demonstram capacidade de produzir substâncias com atividades antioxidantes, antibacterianas e tóxicas [1,2]. Uma característica adicional importante é que essas moléculas são altamente seletivas e específicas baseadas nos mecanismos de ação [3].

As habilidades de produção de substâncias conferidas aos fungos endofíticos podem ser justificadas pela interação com a planta hospedeira com a possível troca de material genético [4]. Consequentemente, a microbiota endofítica pode produzir substâncias elicitoras, que atuam no desenvolvimento da planta hospedeira ou de outros microrganismos que estejam na condição endofítica, como também podem desempenhar atividade antibiótica frente a microrganismos invasores [5-7]. Na literatura pesquisada, a maioria dos endófitos que produzem antibióticos pertence ao filo Ascomycota. Dentro dessa classe estão os fungos pertencentes ao gênero *Graphium* [8].

Trabalhos científicos comprovam a produção de metabólitos secundários por espécies do gênero *Graphium*, apresentando estruturas químicas inéditas e substâncias antimicrobianas com notado destaque, tais como a hipoxisordarina, ovalicina, zofimarina [9-12]. Ainda assim, esse gênero compreende um grupo de fungos mal caracterizado quanto ao potencial biotecnológico.

Em pesquisas realizadas com fungos endofíticos é extremamente importante o conhecimento prévio a respeito do histórico químico e biológico da planta hospedeira. Estudos com *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae) confirmaram atividade tóxica frente a *Artemia salina*, significativa atividade antioxidante, atividade antibacteriana e antimicobacteriana [13-15]. Dessa forma, considerando que os fungos endofíticos possam produzir substâncias semelhantes às de seus hospedeiros, o presente trabalho teve como objetivo explorar o potencial biotecnológico do fungo endofítico *Graphium jumulu*, isolado da planta *Duroia macrophylla*, quanto à produção de substâncias de interesse clínico e industrial.

Material e Métodos

Isolamento e cultivo

A espécie fúngica foi isolada de folhas de *Duroia macrophylla* coletadas em maio de 2013, na reserva ambiental Adolpho Ducke Manaus-AM. O fungo foi identificado na fundação André Tosello, usando amplificação de DNA da região ITS (ITS1-5.8s-ITS2) rDNA, a identificação apontou como sendo *Graphium jumulu*.

O micélio foi cultivado em placas Petri contendo Batata Dextrose Agar (BDA) e inoculado em 10 frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura de Dextrose Batata Caldo adicionado de 0,2% de extrato de levedura (BDL). Os frascos foram colocados em um agitador orbital (Tecnal) a 30°C, com agitação a 120 rpm durante 20 dias.

Obtenção de extrato

O micélio foi seco em estufa a < 40°C por 3 dias. O material seco (3 g) foi macerado em almofariz e colocado em Erlenmeyer. Após, foi imerso em 100 mL de acetato de etila (AcOEt) e extraído usando banho ultrassom (UNIQUE, modelo USC-2800, 40 Hz) por 20 minutos. O material foi filtrado e re-extraído com AcOEt e ultrassom, o procedimento foi repetido três vezes cada extração.

Bioensaios com extrato AcoEt

Atividade antioxidante

A solução do ácido ascórbico foi preparada com 44 mg diluída em 50 mL de água deionizada. A partir desta solução foram feitas diluições com as seguintes concentrações: 0, 88, 176, 352, 526, e 704 g/mL. Para o preparo da solução de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) foram solubilizados 28 mg do mesmo em 1 mL de diclorometano (DCM), posteriormente foi adicionado MeOH até atingir o volume de 100 mL. Para o preparo da solução de Fe³⁺, 8,6344 g de sulfato férrico foi diluído em uma solução de ácido clorídrico (HCl) 1% (v/v), onde, posteriormente, a solução foi transferida para um balão volumétrico com capacidade de 1 L. Após a dissolução o volume restante foi preenchido com a solução de ácido clorídrico. Para a visualização da ação oxidante do ferro, foi utilizado 1,10-fenantrolina, sendo preparada uma solução com 0,25 g de 1,10-fenantrolina diluídos em solução tampão de acetato de sódio (pH 4,5) com volume total de 100 mL.

Foram feitas curvas-padrão, com ácido ascórbico, para cada agente oxidante: para curva com DPPH, foram adicionados em seis microtubos 990 µL de DPPH e 10 µL de ascórbico nas diferentes concentrações, sendo realizadas as leituras de absorbância após 30 minutos em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. Para a curva com o ferro foram adicionados 10 µL do ácido ascórbico diluído em seis microtubos, em seguida 10 µL de Fe³⁺ e por fim, 980 µL de 1,10-fenantrolina, sendo realizadas leituras de absorbância após uma hora em espectrofotômetro no comprimento de onda de 508 nm. Os dados foram registrados em uma planilha que mostra a linearidade da curva.

Para a análise do extrato, 5 mg foram solubilizados em acetato de etila, transferidos para um balão volumétrico e avolumados até 10 mL. Para o teste com DPPH foram transferidos 10 µL da amostra para um microtubo seguido pela adição de 990 µL da solução DPPH, onde a mistura foi homogeneizada. Após

por 30 minutos aferiu-se a absorvância em comprimento de onda de 517 nm. Para o teste com o ferro foram transferidos 10 µL da solução padrão de Fe³⁺ com concentração de 1000 µg/mL para um microtubo, seguido pela adição de 10 µL da amostra e 980 µL da solução de 1,10-fenantrolina 0,25% (m/v), onde a mistura foi homogeneizada. Após uma hora, foi medida a absorvância em comprimento de onda de 508 nm.

Realizou-se um teste controle para cada tipo de agente oxidante, onde o controle foi preparado da mesma forma como as amostras, substituindo-se a amostra por água deionizada [16].

Ensaio de toxicidade em *Artemia salina*

Para o ensaio de toxicidade realizou-se o seguinte procedimento: pesaram-se 38 g de sal marinho, solubilizados em 1 L de água destilada, sendo esta solução posteriormente filtrada; adicionou-se 10 mg de cistos de *Artemia salina*, os quais foram deixados sob luz artificial por 48 horas em temperatura ambiente; pesou-se 10 mg de cada extrato, que foram dissolvidos em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO).

Os ensaios foram realizados em placa de 24 poços, sendo que cada poço primeiramente recebeu 1 mL de água salina contendo *A. salina* (10 indivíduos por poço). Posteriormente, foram adicionadas diferentes concentrações dos extratos em triplicata, além de um controle salino e um controle do solvente DMSO. A placa foi incubada por 24 h sob luz artificial e temperatura ambiente. Após o decorrido tempo, contou-se manualmente os indivíduos vivos e os mortos.

Ensaio antibacteriano por difusão em ágar

Em Placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton, foram feitas cavidades de 6 mm de diâmetro nas quais foram depositadas alíquotas de 100 µL do extrato com concentração de 5 mg/mL. Nessas placas foram inoculados os micro-organismos testes sendo esses: *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947), *Escherichia coli* (ATCC 11775), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Nocardia brasiliensis* (ATCC 19296), *Providencia rettgeri* (ATCC 29944), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Serratia marcescens* (ATCC 13880), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600).

Posteriormente, as placas foram colocadas em estufa de crescimento bacteriológico por 24 horas e, passado esse período, realizou-se a medição dos halos (em mm). A aferição dos diâmetros foi medida com paquímetro.

Utilizou-se antibiótico oxitetraciclina na concentração de 125 µg/mL como controle positivo.

Fracionamento cromatográfico do extrato

Foram utilizados 200 mg do extrato bruto de AcOEt para o fracionamento. Utilizou-se uma coluna cromatográfica aberta (h x Ø = 25 x 1,4 cm) utilizando sílica gel (Sigma) e sistemas de eluição em gradiente: hexano/diclorometano (1:1, 4:6, 3:7), diclorometano (100%), diclorometano/ AcOEt (9:1, 8:2, 7:3, 1:1), 100% de AcOEt; AcOEt/metanol (1:1) e 100% de metanol, cada sistema de eluição consistiu em volume de 100 mL. A proporção usada foi de 1:100 (massa de extrato/massa de sílica). As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), utilizando luz ultravioleta (λ de 254 nm e 365 nm) e Ce(SO₄)₂.

Ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN, uni e bidimensionais de ^1H e ^{13}C , foram obtidos no espectrômetro Bruker Fourier 300, operando a 300 MHz para o núcleo ^1H e a 75 MHz para o núcleo ^{13}C . Usando clorofórmio deuterado para dissolver a amostra e como padrão interno.

Espectrometria de massas

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um modelo de espectrômetro de massas UltrTOFQ (ESI-TOF Mass Spectrometer, Bruker Daltonics) ligado a um sistema de cromatografia (HPLC) coluna ODS 50 x 2,0 mm, concentração da amostra = 1 mg/mL em acetonitrila (ACN); Fluxo = 0,4 mL/min; Inj = 1 μL - split de 0,05 mL (MS)/0,29 mL (desc) e P2840 psi. Sistema de eluição A (H_2O + 0,1% ácido fórmico)/B (ACN + 0,1% ácido fórmico). Condição de eluição: 0 a 10 min - 50% de B, de 10 a 11 min - 50 a 100% de B, de 11 a 12 min - 100% de B, de 12 a 13 min - 100 a 50% de B e de 13 a 14 min 50% de B.

Ensaio de atividade antibacteriana com a substância isolada

Para a avaliação da atividade antibacteriana, a substância foi testada frente às seguintes cepas: *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *A. hydrophila* (ATCC 7966), *E. coli* (ATCC 11775), *E. tarda* (ATCC 15947), *K. pneumoniae* (ATCC 13883), *P. aeruginosa* (ATCC 10145), *P. fluorescens* (ATCC 13525), *S. enteritidis* (ATCC 13076), *S. marcescens* (ATCC 13880), *S. aureus* (ATCC 12600).

As cepas foram escolhidas de acordo com sua importância clínica. O ensaio foi realizado segundo metodologia descrita pelo NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards [17].

Os micro-organismos utilizados no ensaio foram cultivados em meio líquido Mueller-Hinton e posteriormente diluídos no próprio meio até a concentração de 0,5 na escala de McFarland. Os extratos foram diluídos em dimetilssulfóxido (5%) nas concentrações de 125; 62,5; 31,25; 15,62 $\mu\text{g/mL}$. Os micro-organismos foram inoculados em placas de 96 poços (em triplicata) juntamente com as diferentes diluições da substância, e mantidos em estufa bacteriológica com temperatura controlada (30°C) durante 24 horas.

Foi utilizado como controle negativo o solvente usado e o micro-organismo, enquanto para o controle positivo foi usando o antibiótico e o micro-organismo. Também foi realizado um controle branco contendo somente o meio líquido.

As leituras das placas foram feitas em espectrofotômetro com absorbância no comprimento de onda de 625 nanômetros. O teste foi realizado em triplicata e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA) simples, seguido da comparação de média pelo teste Dunnet, considerando um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), utilizando o software estatístico GraphPad Prism.

Resultados e Discussões

Nos ensaios de antioxidante e de toxicidade as concentrações utilizadas não demonstraram atividade. A toxicidade em *A. salina* é utilizada como indicativo preliminar quanto a potencialidade do extrato em testes antitumorais. Por outro lado, o efeito não tóxico também é importante, pois, espera-se que as células normais provavelmente não sejam intoxicadas por componentes do extrato [18].

Ensaio da atividade antibacteriana do extrato AcOEt

No resultado do ensaio de atividade antibacteriana por difusão, o extrato AcOEt apresentou atividade mediana frente a sete bactérias, conforme apresentado na **TABELA 1**.

TABELA 1: Resultados dos halos de inibição em milímetros (mm) para o extrato testado no ensaio antibacteriano.

Microrganismos teste	Halos de inibição (mm)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	8
<i>Escherichia coli</i>	9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
<i>Nocardia brasiliensis</i>	-
<i>Providencia rettgeri</i>	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	9
<i>Serratia marcescens</i>	10,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	-

Legenda: Classificação da atividade de extratos considerando halos de inibição (mm): 1-6 baixa atividade, 7-13 média atividade, > 13 alta atividade [19].

Por se tratar de extrato bruto, consideram-se duas possibilidades que justifiquem a atividade ou falta dela. A primeira é o sinergismo, onde a interação de duas ou mais substâncias resultam na atividade agonista ou antagonista frente um organismo teste [20]. Outra possibilidade refere-se à ação de uma única substância sendo responsável pela bioatividade.

Análise química das frações

O fracionamento do extrato AcOEt resultou em 182 frações, reunindo-se as frações 27 a 33. Ao revelar a CCDC das frações 27 a 33 com luz UV nos comprimentos de onda 254 e 365 nm observou-se a presença de cromóforos emitindo fluorescência, e quando revelado com o revelador químico $Ce(SO_4)_2$ observou-se a presença de uma mancha na cor laranja.

A análise dos espectros de RMN de 1H revelou a presença de apenas 4 sinais, dois na região aromática (7,30 e 8,7 ppm) ambos *d* com $J = 9,3$ Hz e com integral para 1H e outros dois sinais na região alifática em 3,00 e 3,45 ppm com integral para 2H sendo ambos *t* com $J = 7,0$ Hz. Os espectros bidimensionais mostraram a presença de 11 C. O espectro de massa apresentou um pico com m/z de 319,0964 sugerindo a fórmula molecular $C_{20}H_{14}O_4$. As correlações foram feitas com base nas informações observadas nos espectros bidimensionais HSQC e HMBC (**TABELA 2**).

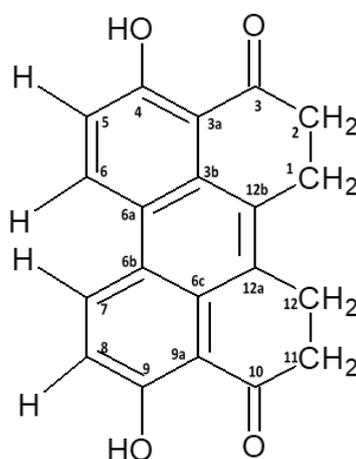
TABELA 2: Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C da 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona (em CDCl_3 , 300 MHz).

Posição	^{13}C (ppm)*	^1H (ppm)	HMBC
1, 12	24,6	3,45 (2H, t, J = 7,0 Hz)	C-2, C-3, C-12b, C-12 ^a
2, 11	36,4	3,00 (2H, t, J = 7,0 Hz)	C-1, C-3, C-12 ^a
3, 10	203,6		
3a, 9a	111,0		
4, 9	162,2		
5, 8	118,8	7,30 (1H, d, J = 9,3 Hz)	C-3a, C-6 ^a
6, 7	131,7	8,70 (1H, d, J = 9,3 Hz)	C-4, C-3b, C-6 ^a
6a, 6b	122,0		
3b, 6c	121,7		
12a	129,0		
12b	129,8		
4, 9 – OH		13,19 (1H, s)	C-4, C-5, C-3 ^a

Legenda: *sinais obtidos da análise do mapa de correlação HSQC.

A análise dos espectros indicou se tratar da substância 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona (**FIGURA 1**). Esta substância foi descrita pela primeira vez por Li et al. [21], sendo produzida pelo fungo *Bulgaria inquinans*. Este é o primeiro relato da substância isolada do fungo *Graphium jumulu*.

FIGURA 1: Estrutura química de 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona. **Atividade antibacteriana da substância isolada.**



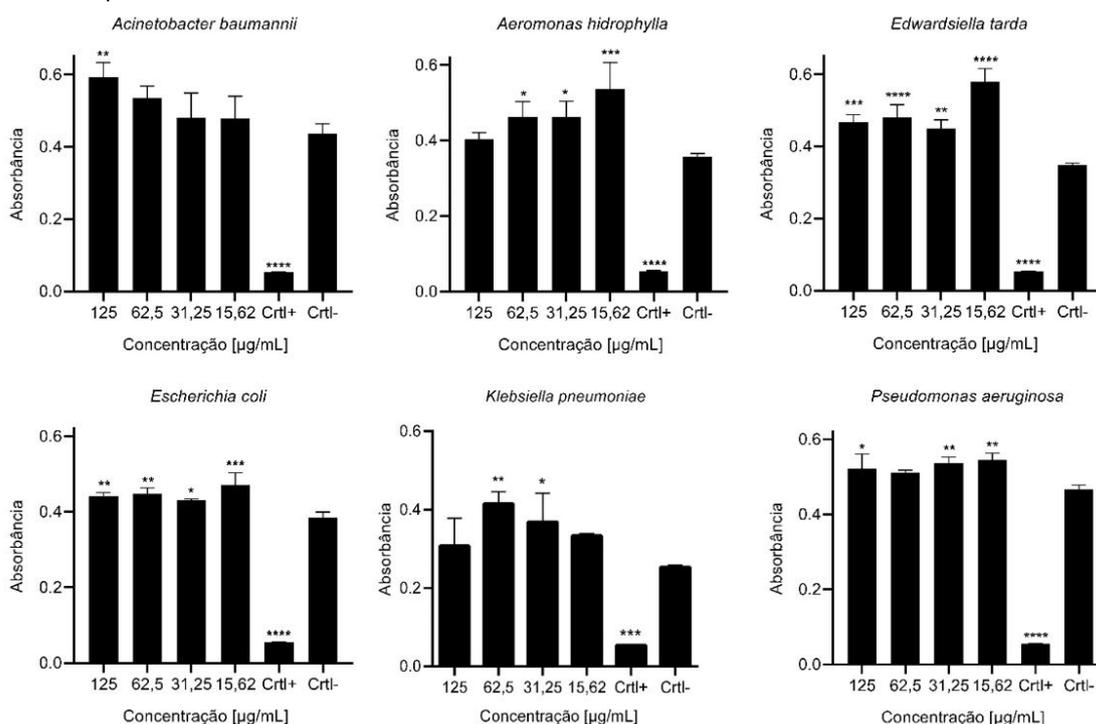
No ensaio antibacteriano por concentração inibitória mínima, nenhuma das concentrações da substância foi capaz de inibir o crescimento bacteriano das cepas testadas, conforme mostrado na **FIGURA 2**. Em contrapartida, foi possível observar que houve estímulo no crescimento de todas as bactérias. As porcentagens de crescimento foram estabelecidas com base nas médias dos controles negativos. Com destaque para as bactérias que apresentaram crescimento linear em função das concentrações da substância. *Staphylococcus aureus* onde foi observado um crescimento de 49% na concentração de 125 $\mu\text{g/mL}$, declinando para 7% na concentração de 15,62 $\mu\text{g/mL}$. *Salmonella enteritidis* em 125 $\mu\text{g/mL}$ o

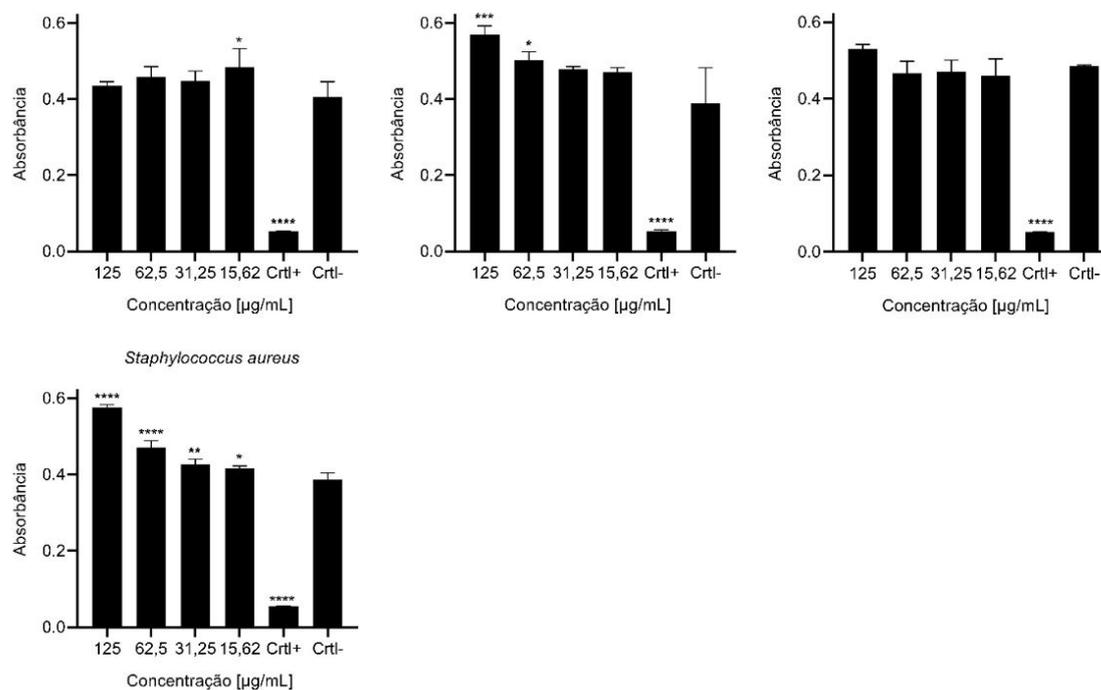
crescimento foi de 46% em 15,62 µg/mL de 21%. Para *Acinetobacter baumannii* em 125 µg/mL o crescimento foi de 36% atenuando para a concentração de 15,62 g/mL o qual apresentou 9%.

A dinâmica da interação química entre as substâncias podem afetar o crescimento de microrganismos de duas maneiras: promovendo a inibição do desenvolvimento celular a exemplo disso são os antibióticos [22], e outra situação, onde pode ocorrer a estimulação do crescimento microbiano mediada por nutrientes essenciais à multiplicação celular como: vitaminas, aminoácidos, lipídios, elementos inorgânicos [23]. Algumas quinonas têm sido relatadas na literatura como moduladoras do crescimento vegetal e microbiano atuando como estimuladoras [24,25]. O estudo de Ameyama et al. [26] verificou que a substância pirroloquinolona quinona atuou como coenzima, aumentando significativamente o crescimento bacteriano. Fenn et al. [27] também verificaram que menaquinonas são uma classe importante que podem promover o crescimento de diversas bactérias do microbioma intestinal humano.

A 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahydroperileno-3,10-quinona isolada neste trabalho, assim como outras quinonas já relatadas na literatura, apresenta potencial como fator de crescimento podendo ser empregada no cultivo de cepas de interesse biotecnológico ou clínico, cujo o cultivo em condições laboratoriais é limitado.

FIGURA 2: Resultados da avaliação da substância 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahydroperileno-3,10-quinona sobre diversas cepas bacterianas.





Legenda: Gráficos com a média de absorbância para as diferentes concentrações \pm Desvio padrão. Nível de significância em relação ao controle negativo representado por: * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,001$), *** ($p < 0,0001$), **** ($p < 0,00001$).

Conclusão

O fracionamento do extrato bruto de AcOEt do micélio permitiu o isolamento da substância 4,9-dihidroxi-1,2,11,12-tetrahidroperileno-3,10-quinona. Sendo o primeiro relato dessa substância no fungo *Graphium jumulu*, o que contribui com o conhecimento sobre a composição química dessa espécie.

A substância isolada não apresentou atividade inibitória contra as bactérias avaliadas no ensaio, sendo que, pelo contrário, aumentou o crescimento de todas as cepas testadas. Estes resultados sugerem que esta substância possa ser avaliada frente a outras cepas de interesse médico, talvez como estimulador da microbiota intestinal ou, ainda, como estimuladora para ser acrescida em meios de cultura em bioprocessos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (projetos: PPBio/CNPq, REPENSA/CNPq/FAPEAM, CT-Agro/CNPq, CT-Amazônia/CNPq), à CAPES (projeto: Pro-Amazônia/CAPES) e à FAPEAM (REPENSA/CNPq/FAPEAM), pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

Referências

1. Lu Y, Chen S, Wang B. Cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from the endangered, Chinese endemic species *Dyosma pleiantha*. *Z Naturforschung C J Biosci*. 2009; 64(7-8): 518-520. ISSN 0939-5075. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

2. Gunasekaran S, Sathiavelu M, Arunachalam S. *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of endophytic fungi isolated from *Mussaenda luteola*. **J Appl Pharma Scie**. 2017; 7(08): 234-238. ISSN 2231-3354. [[CrossRef](#)].
- 3 Gordon MC, [David JN](#). Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta** 2013; 1830(6): 3670–3695. ISSN 0304-4165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. Germaine K. et al. Colonisation of poplar trees by gfp expressing bacterial endophytes. **FEMS Microbiol Ecol**. 2004; 48(1): 109-118. ISSN 1574-6941. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
5. Santos MLD, Berlitz DL, Wiest SLF, Schünemann R, Knaak N, Fiuza LM. Benefits associated with the interaction of endophytic bacteria and plants. **Braz Arch Biol Technol**. 2018; 61. ISSN 1678-4324. [[CrossRef](#)].
6. Guo B, Wang Y, Sun X, Tang K. Bioactive natural products from endophytes: a review. **Appl Biochem Microbiol**. 2008; 44(2): 136-142. ISSN 1608-3024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Batista BN, Raposo NVM, Silva IR. Isolamento e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de açazeiro. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2018; 12(2): 161-174. ISSN 2446-4775. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
8. Martinez-Klimova E, Rodríguez-Peña K, Sánchez S. Endophytes as sources of antibiotics. **Biochem Pharmacol**. 2017; 134: 1-17. ISSN 0006-2952. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
9. Harbone JB, Baxter B, Moss JP. **Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. 2ª ed. Taylor & Francis Group; 1999. ISBN: 0-7484-0620-4.
10. Bycroft BW, Payne DJ. **Dictionary of Antibiotics and Related Substances**. 2ª ed. Taylor & Francis Group. 2014; ISBN: 978-1-4398-3952-2.
11. Fukuda T et al. Graphiumins, new thiodiketopiperazines from the marine-derived fungus *Graphium* sp. OPMF00224 **Nat Prod Sci**. 2015; 21(4): 255-260. ISSN 2288-9027. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
12. Dhanasekaran D, Thajuddin N, Panneerselvam A. **Antimicrobials: Synthetic and Natural Compounds**. 1ª ed. Taylor & Francis Group; 2015. ISBN 9781498715621.
13. Martins D. **Estudo químico e biológico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae)**. 250p. 2014. Tese de Doutorado [Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia] Universidade Federal do Amazonas. Manaus.
14. Martins D, et al. Tamizaje fitoquímico y evaluación de las actividades biológicas de *Duroia macrophylla* (Rubiaceae). **J Pharm Pharmacog Res**. 2014; 2(6): 158-171. ISSN 0719-4250. [[Link](#)].
15. Martins D et al. Triterpenes and the antimycobacterial activity of *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). **BioMed research international**. 2013; 2013: 7. ID: 605831 [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
16. Novaes JA. **Desenvolvimento e validação de método para a quantificação da capacidade redutora de extratos vegetais secos**. 31p. 2008. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia] Universidade do Estado do Amazonas. Manaus. 2008.
17. NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard-Sixth Edition. NCCLS document M7-A6. 2003. ISBN: 1-56238-486-4.
18. Silva SL et al. Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). **Acta amazônica** 2016; 46(1): 73-80. ISSN 1809-4392. [[CrossRef](#)].

19. Hu SH, Wang JC, Kung HF, Wang JT, Lee WL, Yang YH. Antimicrobial effect of extracts of cruciferous vegetables. **Kaohs J Med Sci**. 2004; 20(12): 591-599. ISSN 2410-8650 [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Tallarida RJ. Quantitative methods for assessing drug synergism. **Genes & cancer**. 2011; 2(11): 1003-1008. ISSN 1947-6027. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
21. Li PZX, Xu NLJ, Meng DL, Sha YA. New perylenequinone from the fruit bodies of *Bulgaria Inquinans*. **J Asian Nat Prod Res**. 2006; 8(8): 743-746. ISSN 1477-2213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Pande S, Kost C. Bacterial Unculturability and the Formation of Intercellular Metabolic Networks. **Trends Microbiol**. 2017; 25 (5): 1-13. ISSN 0966-842X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
23. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. **Microbiol**. 12^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2017. ISBN: 978-85-8271-354-9.
24. Rucker R, Chowanadisai W, Nakano M. Potential physiological importance of pyrroloquinoline quinone. **Altern Med Rev**. 2009; 14(3): 268-277. ISSN 1089-5159. [[PubMed](#)] [[Link](#)].
25. Ghosh S, Chakraborty R, Raychaudhuri U. Pyrroloquinoline quinone a redox cofactor and its involvement in biological system. **Intern J Sci Nat**. 2013; 4(3): 371-380. ISSN 2229-6441. [[Link](#)].
26. Ameyama M, Shinagawa E, Matsushita K, Adachi O. Growth Stimulating Substance for Microorganisms Produced by *Escherichia coli* Causing the Reduction of the Lag Phase in Microbial Growth and Identity of the Substance with Pyrroloquinoline Quinone. **Agri Biol Chem**. 1984; 48(12): 3099-3107. ISSN 0916-8451. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
27. Fenn K, Strandwitz P, Stewart EJ, Dimise E, Rubin S, Gurubacharya S et al. Quinones are growth factors for the human gut microbiota. **Microbiome**. 2017; 5(1): 161. ISSN: 2524-6372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 08/11/2019 | **Aceite:** 25/03/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Silva WL, Fachin-Espinar MT, Souza MCS, Lima LM, et al. Avaliação química e biológica de *Graphium jumulu*, fungo endofítico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 238-248. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/891>>. 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.

***Curcuma longa* L. (Zingiberaceae): desenvolvimento tecnológico para aplicação como agente terapêutico auxiliar no tratamento de pacientes portadores da Doença de Alzheimer**

Curcuma longa L. (Zingiberaceae): technological development for application as an auxiliary therapeutic agent in the treatment of patients with Alzheimer's Disease

DOI 10.32712/2446-4775.2020.909

Silva, Ayla Winnie Ramos da¹; Biegelmeier, Renata^{1*}.

¹Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Rua Barão do Jeremoabo, n° 147, Ondina, CEP 40170-115, Salvador, BA, Brasil.

*Correspondência: renata.biegel@gmail.com.

Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa que provoca atrofia no cérebro, levando à demência em idosos; por não haver cura conhecida, os tratamentos medicamentosos disponíveis são relacionados a amenizar os sintomas. Entre os tratamentos alternativos, a *Curcuma longa* L. demonstrou propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, importantes para o processo de progressão da DA. Em contrapartida aos seus muitos benefícios, apresentou baixa biodisponibilidade nos estudos realizados. Na presente revisão objetivou-se buscar, na literatura, alternativas para melhorar a biodisponibilidade de *C. longa* para aplicação no tratamento da DA. Desta forma, foi realizada revisão bibliográfica em bases de dados científicas, utilizando estratégia de busca clara e inclusiva. Foram encontrados 93 artigos e, destes, selecionados 32. Dentre as alternativas encontradas, as formulações farmacêuticas ganharam destaque, com exemplos como nanopartículas, micelas e emulsões. As propriedades farmacológicas de *C. longa* e as muitas possibilidades de alterar sua biodisponibilidade justificam atribuir importância ao desenvolvimento de estudos direcionados ao uso destes compostos na terapia da DA. Portanto, espera-se que estes resultados possam incentivar o aprofundamento de pesquisas no sentido de desenvolvimento de fitoterápicos e/ou fitofármacos com base em *C. longa* e seus metabólitos para o tratamento auxiliar da doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Alzheimer. Cúrcuma. Tratamento. Curcumina. Neurodegenerativa. Biodisponibilidade.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder that causes brain atrophy, leading to dementia in elderly. Considering that there is no known cure, the available drug treatments are related to alleviate the symptoms. Among the alternative treatments, *Curcuma longa* L. showed anti-inflammatory and antioxidant properties, important for the process of AD progression. Despite its benefits, it has been shown low bioavailability in studies performed. In the present review, we aimed to search the literature for alternatives to improve the bioavailability of *C. longa* for application in the treatment of Alzheimer's disease. Thus, a bibliographic review was performed in scientific databases, using a clear and inclusive search strategy. 93 articles were found and 32 were selected. Among the alternatives, pharmaceutical formulations showed featured, such as nanoparticles, micelles and emulsions. The pharmacological properties of *C. longa* and the many possibilities of altering its bioavailability, justify the importance to development of studies directed to use these compounds in AD therapy. Therefore, we hoped that these results may encourage further researches towards the development of *C. longa*-based phytotherapeutic and/or phytomedicines for the auxiliary treatment of Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's. Turmeric. Treatment. Curcumin. Neurodegenerative. Bioavailability.

Introdução

A doença de Alzheimer (DA), ou mal de Alzheimer, é uma doença neurodegenerativa que provoca atrofia do cérebro, levando à demência em pacientes idosos [1]. Ela afeta a capacidade de realização das atividades diárias, envolvendo partes do cérebro relacionadas à memória e pensamento, evoluindo para problemas com linguagem e movimentos [2]. Tais manifestações estão relacionadas à região comprometida do cérebro, responsáveis pelas funções cognitivas e de comportamento [3].

Quanto à fisiopatologia da DA, tem-se que ela é caracterizada pelo acúmulo patológico de peptídeos beta-amiloides (A- β) e de proteína tau, levando à formação de emaranhados neurofibrilares e à perda de células neuronais [4]. Este aglomerado, conhecido como placas senis é decorrente de uma desordem no citoesqueleto neuronal, por hiperfosforilação da proteína tau [5]. A causa desta produção desordenada ainda não é totalmente elucidada, mas existem estudos que mostram algumas hipóteses para tal descontrole, incluindo fatores genéticos [6].

Por tratar-se de uma doença que ainda não tem cura, os tratamentos são direcionados a melhorarem a qualidade de vida dos pacientes [7]. Este tratamento pode ser dividido em 4 níveis: específico, objetivando reverter os processos que levam à morte neuronal; profilático, visando atrasar o início da demência; sintomático, que busca restaurar parcial ou temporariamente as capacidades cognitivas, funcionais e o comportamento; e, terapêutico complementar, relacionado a tratar as manifestações não-cognitivas, como depressão, psicose, distúrbios do sono e agressividade [8].

Os medicamentos utilizados incluem inibidores da colinesterase – donepezila, galantamina e rivastigma – para pacientes com demência de leve a moderada [9], e memantina para os estágios de moderado à grave [10]. Outros tratamentos têm sido estudados, porém a dificuldade de se encontrar algum que seja efetivo

refere-se à diversidade de etiologias para a DA, deixando dúvidas sobre qual anormalidade seria o melhor alvo para esta terapia [8].

Tratamentos alternativos têm sido utilizados para compor esta terapia; alguns pacientes, por exemplo, utilizam o huperzina A – um alcaloide sesquiterpênico encontrado em *Huperzia serrate*, que apresenta forte efeito na inibição da acetilcolinesterase com mecanismo semelhante ao de outros medicamentos utilizados no tratamento da DA, demonstrando bem menos reações adversas [9]; porém não é regulamentado pela FDA, podendo, dessa forma, apresentar informações imprecisas em relação a sua potência [8].

Outra linha de estudo é o da utilização de extratos de plantas, tais como guaraná (*Paullinia cupana*), cumaru (*Dipteryx odorata*) [10] e cúrcuma (*Curcuma longa*) [11]. O destaque para *Curcuma longa* está associado, principalmente, pelas suas funções anti-inflamatória e antioxidante [12], mecanismos importantes no processo de progressão da DA. Em contrapartida aos seus muitos benefícios, apresentou baixa biodisponibilidade nos estudos realizados. Esta dificuldade pode ser hoje um dos motivos para o não ingresso da cúrcuma como tratamento coadjuvante de diversas patologias.

Buscando solucionar esta questão, vários pesquisadores se propuseram a desenvolver formulações com a cúrcuma e seus derivados. Na presente revisão, objetivou-se buscar na literatura, alternativas para melhorar a biodisponibilidade de *C. longa* para aplicação no tratamento auxiliar da DA. Desta forma, fornecendo uma base para estudos posteriores nesta área, tais como o desenvolvimento de fitofármacos e/ou fitoterápicos com base na *C. longa* para o tratamento da DA e outras doenças neurodegenerativas.

Material e Métodos

Para realizar a revisão bibliográfica acerca dos efeitos de *Curcuma longa* no tratamento da doença de Alzheimer, primeiramente, foi verificado o nome científico, sinônimos e nome popular para *Curcuma longa* nos sites Trópicos e Flora-do-Brasil. Os descritores foram verificados no MeSH e no DeCS para estabelecer a seguinte estratégia de busca: “Curcuma longa” OR “Amomum curcuma” OR “Curcuma domestica” OR “Stissera curcuma” AND “Alzheimer” OR “Alzheimer's Disease” OR “Dementia senile” OR “Demência Senil” AND bioavailability OR “biological availabilities” OR “biologic availability” OR “bioavailabilities” OR “physiologic availabilities”.

A pesquisa foi realizada nos dias 15 e 16 de outubro de 2019, aplicando a estratégia de busca em bases de dados científicas, tais como PubMed, Cochrane Library e Scopus, totalizando 93 referências. Estas referências foram transferidas para o EndNote, um software de gerenciamento de referências, que encontrou e excluiu 22 duplicatas nesta primeira triagem.

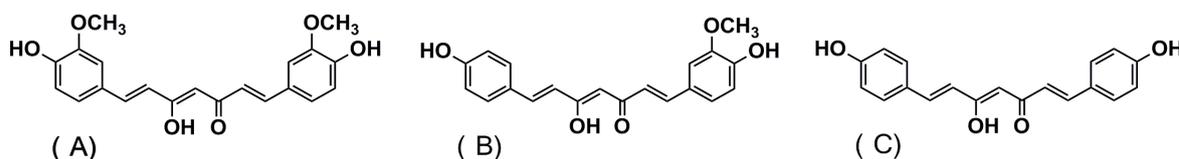
Os critérios de inclusão foram: artigos que referiam atividades da *Curcuma longa* relacionadas à fisiopatologia da DA; artigos que propunham soluções para a melhora da biodisponibilidade de curcuma e seus derivados; ensaios clínicos que testaram formulações; revisões sistemáticas que relacionassem alterações tecnológicas na *C. longa* e seus derivados, revisões sistemáticas, metanálises e publicações oficiais de órgãos de saúde (ANVISA, Ministério da Saúde e FDA). Em contrapartida, os critérios de exclusão foram artigos sobre atividades da *C. longa*, não relacionadas à DA e doenças neurodegenerativas; ensaios clínicos utilizando a *Curcuma longa* em sua forma natural. Alguns artigos de revisão bibliográfica

também foram incluídos para corroborar com a ideia final deste trabalho, além de estudos citados nos mesmos. Aplicando estes critérios, foram selecionadas 32 referências.

Resultados e Discussão

A cúrcuma (*Curcuma longa* L) é uma planta herbácea originária da Índia e do sudoeste da Ásia; também conhecida como turmerica, açafrão-da-terra ou açafrão-da-índia, pertence à mesma família do gengibre, a Zingiberaceae [13]. Sua composição química é bastante variada e apresenta, dentre as principais classes de compostos, os terpenos voláteis – que estão presentes no óleo essencial de diversas partes do vegetal; e os curcuminoides, que são a maior parte da fração não-volátil de sua composição. Estes últimos estão mais concentrados nos rizomas da planta, destacando-se a curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (FIGURA 1), além de curcuminoides minoritários [14].

FIGURA 1: Estruturas químicas dos curcuminoides de *C. longa*: (A) curcumina, (B) demetoxicurcumina e (C) bisdesmetoxicurcumina.



Dentre estes componentes, a curcumina foi a que mais apresentou estudos farmacológicos para diversas propriedades terapêuticas, tais como antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, cicatrizante e neuroprotetora [12]. Apesar disso, devido à sua baixa biodisponibilidade, sua aplicação no tratamento de algumas doenças é limitada. Isto se dá devido à curcumina ser uma molécula hidrofóbica [15], de rápido metabolismo *in vivo* [16]. Segundo Jadhav et al. [17], uma vez que o problema da biodisponibilidade seja resolvido (tanto da curcumina quanto de outros fitoquímicos), pacientes portadores de diversas doenças como Alzheimer e câncer terão alternativas viáveis de tratamento.

Visto que o maior obstáculo no desenvolvimento de fitofármacos e fitoterápicos baseados na *C. longa* e seus derivados é a baixa solubilidade em meio aquoso e, conseqüente, baixa biodisponibilidade – destes compostos, muitos estudos tem buscado alternativas que contornem este problema. Alguns exemplos de novas alternativas para melhorar a biodisponibilidade da curcumina são nanoencapsulação, micelação, complexação com fosfolípidios, conjugação de curcumina com açúcares [18,19]. Além disso, sendo consumida como alimento, a curcumina pode ter sua biodisponibilidade alterada por mecanismos como cozimento ou dissolução em óleo [20].

Formulações farmacêuticas e complexações

Uma importante linha de pesquisa, neste sentido, é o desenvolvimento de formulações lipossolúveis com base na *C. longa*, mantendo suas atividades farmacológicas. Assim sendo, Nahar et al. [21] testaram os efeitos anti-inflamatórios *in vitro* da curcumina em formulações lipídicas sólidas. Além da maior

biodisponibilidade, este tratamento nas concentrações de 10 a 50µg reduziu significativamente os níveis de óxido nítrico e prostaglandinas-E2, enquanto que os níveis de interleucina-6 foram reduzidos à medida que a concentração aumentava [21].

Hagl et al. [22] realizaram 3 abordagens para examinar a biodisponibilidade da curcumina: *in vitro* (em células PC12), *in vivo* (em camundongos) e *ex vivo* (com mitocôndrias isoladas de cérebro de camundongo). Nas abordagens *in vitro* e *ex vivo* foi feita a comparação de efetividade entre a curcumina isolada (concentração = 0,1 µM) e as micelas de curcumina (10 µM); ainda que ambas as concentrações tenham sido capazes de diminuir o inchaço mitocondrial, as micelas demonstraram mais eficiência, devido a sua maior solubilidade em meio aquoso [22].

Uma revisão de patentes foi realizada, constatando o uso de uma mistura de curcuminoides como suplemento oral contra a DA e outras doenças neurodegenerativas. A mistura é composta majoritariamente (95%) pelos curcuminóides curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina, além do óleo essencial de cúrcuma. O óleo é adicionado como potencializador da ação biológica através do aumento da biodisponibilidade, por conferir lipofilicidade à mistura [23].

As nanopartículas de curcumina também mostraram resultados positivos em termos de maior biodisponibilidade em um estudo realizado por Massimino et al. [24]. Neste caso, as nanopartículas foram obtidas através de uma solução parte etanol parte clorofórmio, e não apresentaram alterações negativas na expressão de sua atividade biológica.

Outro padrão de nanopartículas são as de polibutilcianoacrilato (PBCA), um sistema de distribuição de drogas que promete alta eficácia, juntamente com outros polímeros [25]. Sabendo disso, Mulik et al. [26] desenvolveram nanopartículas PBCA carregadas com curcuminoides revestidas com polaxâmero 188, através do método de evaporação de solvente. Este método permite tanto uma liberação controlada do medicamento quanto fotoestabilização aos curcuminoides [26]. De acordo com Mhillaj et al. [27], os melhores modelos de complexação para a curcumina são os derivados de ácido poli láctico-co-glicólico (PLGA), nanopartículas lipídicas sólidas e N-trimetil-quitosana.

Zou et al. [28] estudaram a possibilidade de aumentar a biodisponibilidade da curcumina em pó através de uma emulsão de excipientes, simulando os fluidos intestinais. Essa abordagem melhora a biodisponibilidade oral da curcumina (e outros nutracêuticos) por ser ingerido com o alimento excipiente especialmente projetado em um conceito de alimento ou bebida com ingredientes capazes de aumentar a biodisponibilidade de drogas consumidas concomitantemente [29].

McClure et al. [30] testaram uma formulação de curcumina aerossol em ratos 5XFAD. Esse estudo demonstrou aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica para a curcumina, bem como sua eficácia na prevenção da DA, com notável melhora da função cognitiva. Ademais, não foram observados efeitos colaterais ou tóxicos no sistema respiratório dos animais [30].

Além das dispersões sólidas, também foi relatado o uso de veículos peptídicos e oligossacarídeos cíclicos para solubilizar drogas hidrofóbicas como a curcumina [31]. A conjugação enquanto modificação estrutural é uma alternativa promissora, como apresentada por Ghosh et al. [32] em sua revisão. Exemplos

dessa conjugação seria o revestimento da curcumina com quitosana, encapsulamento em lipossomas e em ciclodextrina [32,33].

Segundo Wu et al. [34], coadministrar uma molécula principal com um agente modulador de glucoronidação ou inibidor da CYP450 pode aumentar a biodisponibilidade da primeira molécula no alvo. A piperina, produto isolado da pimenta preta (*Piper nigrum*) e um conhecido inibidor da glucoronidação hepática e intestinal, é uma alternativa eficaz neste caminho [35]. Em um estudo realizado com ratos e humanos saudáveis, a administração da curcumina com a piperina demonstrou aumentar em até 150% a biodisponibilidade da curcumina em ratos e 2000% no homem [36]. A dose utilizada foi de 2 g/kg de curcumina + 20 mg/kg de piperina para ratos; e 2 g de curcumina + 20 mg de piperina para humanos.

Modificações estruturais

Em relação a modificações estruturais, outra linha de estudo é o desenvolvimento de análogos da curcumina. Desta forma, obtêm-se compostos de perfil de segurança semelhante, com biodisponibilidade oral e atividades aumentadas [37]. As alterações realizadas nestes análogos foram listadas por Bairwa et al. [37] em sua revisão. Dentre elas estão o padrão de substituição aril da curcumina na estrutura de b-dicetona e bioconjugados de curcumina com aminoácidos (ácido glutâmico, glicina e valina). Estes conjugados apresentaram propriedades antibacterianas, antioxidantes e antifúngicas muito melhores, devido a melhor solubilidade e diminuição da taxa metabólica [37].

Ensaio clínico

Quanto aos ensaios clínicos, seus resultados de eficácia são divergentes devido à baixa solubilidade em meio aquoso dos compostos curcuminoides, e consequente dificuldade de atravessar a barreira hematoencefálica [38,39]. No entanto, os que apresentam resultados favoráveis devem também à maior biodisponibilidade da via utilizada.

Foi realizado um estudo com pessoas saudáveis de 40 a 60 anos de idade onde a formulação lipídica de curcumina (80 mg/dia) demonstrou efeitos positivos nos participantes, tais como aumento da capacidade de eliminação de radicais livres; aumento das atividades da catalase plasmática e; redução das concentrações plasmáticas de peptídeo β -amiloide [40].

Outro estudo foi realizado, duplo cego, com controle de placebo, durante 6 meses, desta vez com 34 pacientes portadores de DA, selecionados de forma aleatória [41]. Neste estudo os pacientes foram divididos em 2 grupos, onde o primeiro recebeu 1 g de curcumina + 3 g de placebo, e o segundo recebeu 0 g de curcumina + 4 g de placebo, como doses diárias. Além disso, alguns pacientes preferiram utilizar a mistura em forma de pó, enquanto outros utilizaram na forma de cápsulas [41]. Foi constatada uma maior concentração de curcumina nos pacientes que utilizaram a cápsula, sugerindo uma maior absorção e menor metabolismo da curcumina nesta forma farmacêutica.

Por outro lado, Rainey-Smith et al. [42] realizaram um estudo clínico, também duplo cego, randomizado e com controle de placebo, e não obtiveram resultados significativos em relação à melhora cognitiva quando comparado ao grupo controle. Para mensurar a capacidade cognitiva dos participantes (160 indivíduos de 40 a 80 anos de idade) foi utilizado o teste MoCA – Avaliação Cognitiva de Montreal, que consiste num

teste de perguntas e respostas, de duração média de 10 minutos e pontuação máxima de 30 pontos, aplicado para rastrear comprometimento cognitivo [43]. O estudo, conduzido por 12 meses, dividiu os participantes em 2 grupos e tratou um deles com 1500 mg/diários de curcuminoides em cápsula (88% de curcuminoides + 7% óleo volátil do rizoma da *C. longa*). Ao final dos 12 meses, a pontuação do teste MoCA foi equivalente para o grupo placebo e o grupo de tratamento [42].

Conclusão

Os trabalhos indicam grande potencial da *C. longa* e seus derivados no uso coadjuvante do tratamento da DA, bem como diversas possibilidades de melhoria da biodisponibilidade. Sua efetividade varia desde o combate à proliferação de espécies reativas de oxigênio (ROS) até a inibição enzimática, com resultados promissores em diversos estudos realizados.

Ainda que os ensaios clínicos aqui abordados tenham caráter inicial, as numerosas propriedades farmacológicas da *C. longa* justificam atribuir importância ao desenvolvimento de estudos direcionados a aplicação das técnicas de contornar a baixa solubilidade em água e ao uso destes compostos na terapia da DA. Dentre as alternativas apresentadas, a utilização de sistemas de entrega de fármacos, como as nanopartículas e os lipossomas, demonstraram eficácia no contorno da hidrofobicidade, além de permitirem expressão adequada de atividade farmacológica dos compostos de *C. longa*.

A partir do que foi aqui documentado, espera-se oferecer base e incentivo à comunidade científica a fim de aprofundar estudos, principalmente em ensaios clínicos e pré-clínicos, no sentido de desenvolvimento de fitoterápicos e/ou fitofármacos com base em *C. longa* e seus metabólitos, para o tratamento auxiliar da doença de Alzheimer.

Referências

1. Chang C-H, Lane H-Y, Lin C-H. Brain Stimulation in Alzheimer's Disease. **Front Psychiatry**. 2018; 9(201): 1-13. ISSN 1664-0640. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
2. Medlineplus: National Library of Medicine (EUA). **Alzheimer's disease** [revisado em 17 de agosto de 2016]. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 08 nov. 2019.
3. Cavalcanti JLS, Engelhardt E. Aspectos da fisiopatologia da doença de Alzheimer esporádica. **Rev Bras Neurol**. 2012; 48(4): 21-9. ISSN 2447-2573. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 10 nov. 2019.
4. Magalingam KB, Radhakrishnan A, Ping,NS, Haleagrahara N. Current Concepts of Neurodegenerative Mechanisms in Alzheimer's Disease. **Biomed Res Int**. 2018; 2018: 1-12. ISSN 2314-6141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
5. Forlenza OV. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Rev Psiquiatr Clin**. 2005; 32(3): 137-48. ISSN 0101-6083. [[CrossRef](#)].
6. Smith MAC. Doença de Alzheimer. **Rev Bras Psiquiatr**. São Paulo, 1999; 21(2). ISSN 1809-452X. [[CrossRef](#)].
7. Brasil. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Doença de Alzheimer**. Brasília, 2017. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 18 nov. 2019.

8. Weller J, Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. **F1000Res**. 2018; 7: 1-9. ISSN 2046-1402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
9. Bui TT, Nguyen TH. Natural product for the treatment of Alzheimer's disease. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**. 2017; 28(5): 413-23. ISSN 0792-6855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
10. Trevisan MTS, Macedo FVV. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da Doença de Alzheimer. **Quim Nova**. 2003; 26(3): 301-4. ISSN 1678-7064. [[CrossRef](#)].
11. Martins DW, Lin HT, Paula CS. Extratos obtidos de plantas como fonte potencial para o tratamento da Doença de Alzheimer. **Visão Acadêmica**. Curitiba, 2016; 17(2): 16-39. ISSN 1518-8361. [[CrossRef](#)].
12. Scholze AFA. Biodisponibilidade da curcumina. **Rev Bras Nutrição Clin Func**. 2014; 14(60): 20-24. ISSN 21764522. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 20/11/2019.
13. Marchi JP et al. *Curcuma longa* L., o açafrão da terra, e seus benefícios medicinais. **Arq Ciên Saúde UNIPAR**. Umuarama, 2016; 20(3): 189-94. ISSN 1982-114X. [[CrossRef](#)].
14. Sueth-Santiago V, Mendes-Silva GP, Decoté-Ricardo D, Lima MEF. Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. **Quim Nova**. 2015; 38(4): 538-52. ISSN 1678-7064. [[CrossRef](#)].
15. Del Prado-Audelo ML. Formulations of curcumin nanoparticles for brain diseases. **Biomolecules**. 2019; 9(2): 1-28. ISSN 2218-273X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
16. Sun M. et al. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. **Nanomedicine**. 2012; 7(7): 1085-100. ISSN 1748-6963. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Jadhav NR, Nadaf SJ, Lohar DA, Ghagare PS, Powar TA. Phytochemicals formulated as nanoparticles: inventions, recent patents and future perspectives. **Recent Pat Drug Delivery Formulation**. 2017; 11(3): 173-86. ISSN 2212-4039. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
18. Chin D, Huebbe P, Pallauf K, Rimbach G. Neuroprotective Properties of Curcumin in Alzheimer's Disease – Merits and Limitations. **Curr Med Chem**. 2013; 20(32): 3955-85. ISSN 1875-533X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Venigalla M, Sonogo S, Gyengesi E, Sharman MJ, Münch G. Novel promising therapeutics against chronic neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Neurochem Int**. 2016; 95: 63-74. ISSN 0197-0186. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Marczylo TH, Verschoyle RD, Cooke DN, Morazzoni P, Steward WP, Gescher AJ. Comparison of systemic availability of curcumin with that of curcumin formulated with phosphatidylcholine. **Cancer Chemoth Pharm**. 2007; 60(2): 171-7. ISSN 1432-0843. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
21. Nahar P, Slitt AL, Seeram NP. Anti-Inflammatory Effects of Novel Standardized Solid Lipid Curcumin Formulations. **J Med Food**. 2015; 18(7): 1-7. ISSN 1557-7600. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Hagl S, Kocher A, Schiborr C, Kolesova N3, Frank J2, Eckert GP3. Curcumin micelles improve mitochondrial function in neuronal PC12 cells and brains of NMRI mice – impact on bioavailability. **Neurochem Int**. 2015; 89: 234-42. ISSN 0197-0186. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
23. Koynova R, Tenchov B. Natural Product Formulations for the Prevention and Treatment of Alzheimer's disease: A Patent Review. **Recent Pat Drug Delivery Formulation**. 2018; 12(1): 23-39. ISSN 2212-4039. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

24. Massimino LC, Faria HAM, Yoshioka SA. Curcumin bioactive nanosizing: Increase of bioavailability. **Ind Crop Prod.** 2017; 109: 493-7. ISSN 0926-6690. [[CrossRef](#)].
25. Kreuter J. Nanoparticle based drug delivery systems. **J Control Rel.** 1991; 16: 169-17. ISSN 1873-4995. [[CrossRef](#)].
26. Mulik R, Mahadik K, Paradkar A. Development of curcuminoids loaded poly(butyl) cyanoacrylate nanoparticles: Physicochemical characterization and stability study. **Eur J Pharm Sci.** 2009; 37: 3-4, 395-404. ISSN 1879-0720. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
27. Mhillaj E, Tarozzi A, Pruccoli L, Cuomo V, Trabace L, Mancuso C. Curcumin and heme oxygenase: Neuroprotection and beyond. **Int J Mol Sci.** 2019; 20(10). ISSN 1422-0067. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
28. Zou L, Liu W, Liu C, Xiao H, McClements DJ. Utilizing food matrix effects to enhance nutraceutical bioavailability: increase of curcumin bioaccessibility using excipient emulsions. **J Agric Food Chem.** 2015; 63(7), 2052-62. ISSN 1520-5118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
29. McClements DJ, Xiao H. Excipient foods: designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. **Food & Funct.** 2014; 5(7): 1320-33. ISSN 2042-6496. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
30. McClure R, Ong H, Janve V, Barton S, Zhu M, Li B. Aerosol delivery of curcumin reduced amyloid- β deposition and improved cognitive performance in a transgenic model of Alzheimer's disease. **Retriev J Alzheimers Dis.** 2017; 55(2): 797–811. ISSN 1875-8908. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
31. Schaffer M, Schaffer PM, Bar-Sela G. An update on Curcuma as a functional food in the control of cancer and inflammation. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care.** 2015; 18(6): 605–11. ISSN 1363-1950. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
32. Ghosh S, Banerjee S, Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. **Food Chem Toxicol.** 2015; 83: 111–24. ISSN 0278-6915. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
33. Jadhav N, Powar T, Shinde S, Nadaf S. Herbal nanoparticles: A patent review. **Asian J Pharm.** 2014; 8(1): 58-69. ISSN 1998-409X. [[CrossRef](#)].
34. Wu B, Kulkarni K, Basu S, Zhang S, Hu M. First-pass metabolism via UDP-glucuronosyltransferase: a barrier to oral bioavailability of phenolics. **J Pharm Sci.** 2011; 100(9): 3655-81. ISSN 0022-3549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
35. Aggarwal BB, Harikumar [KB](#). Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative, Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. **The Int J Biochem Cell Biol.** 2009; [41\(1\)](#): 40-59. ISSN 1878-5875. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
36. Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Med.** 1998; 64(4): 353-6. ISSN 0032-0943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
37. Bairwa K, Grover J, Kania M, Jachak SM. ChemInform Abstract: Recent developments in chemistry and biology of curcumin analogues. RSC Advances. 2014; 45(34): 13946-78. ISSN 2046-2069. [[CrossRef](#)].
38. Chang D et al. Herbal Medicine for the Treatment of Vascular Dementia: An Overview of Scientific Evidence. **Evid Based Complement Altern Med.** 2016; 2016(7293626): 1-15. ISSN 1741-4288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

39. D'Onofrio G et al. Phytochemicals in the Treatment of Alzheimer's Disease: A Systematic Review. **Curr Drug Targets**. 2017; 18(13): 1487-98. ISSN 1389-4501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
40. Disilvestro RA, Joseph E, Zhao S, Bomser J. Diverse effects of a low dose supplement of lipidated curcumin in healthy middle aged people. **Nutr J**. 2012; 11(79): 1-8. ISSN 1475-2891. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
41. Baum L et al. Six-Month Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Pilot Clinical Trial of Curcumin in Patients With Alzheimer Disease. **J Clin Psychopharm**. 2008; 28(1): 110-3. ISSN 1533-712X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
42. Rainey-Smith SR et al. Curcumin and cognition: a randomised, placebo-controlled, double-blind study of community-dwelling older adults. **Br J Nutr**. 2016; 115(12): 2106-13. ISSN 1475-2662. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
43. Guerreiro M. Testes de rastreio de defeito cognitivo e demência: uma perspectiva prática. **Rev Port Med Geral Farm**. 2010; 26(1): 46-53. ISSN 2182-5173. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 15/11/2019 | **Aceite:** 18/11/2019 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Silva AWR, Biegelmeier R. *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae): desenvolvimento tecnológico para aplicação como agente terapêutico auxiliar no tratamento de pacientes portadores da Doença de Alzheimer. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 249-258. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/909>>. 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.

Discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil

Discussion on access to *Cannabis*-derived drugs in the light of Health Innovation in Brazil

DOI 10.32712/2446-4775.2020.960

Villas Bôas, Glauco de Kruse¹; Rezende, Mayara de Azeredo¹.

¹Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos), Centro de Inovação em Medicamentos da Biodiversidade (CIBS). Avenida Comandante Guarany, 447, Prédio 10, CEP 22775-903, Jacarepaguá, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: glauco.villasboas@gmail.com.

Resumo

A discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis*, à luz da Inovação em Saúde no Brasil se enquadra como um estudo de caso, construído através de molduras narrativas. A narrativa sobre a Inovação em Saúde descreve conceitos teóricos de uma vertente evolucionária da economia e a elaboração de um Sistema Nacional de Inovação em Saúde na perspectiva do Complexo Econômico Industrial da Saúde. A Pesquisa do uso Medicinal da *Cannabis* revela a contribuição da ciência abrindo caminho para a inovação. Um histórico sobre a Judicialização e Regulação como via de acesso aos medicamentos no Brasil, demonstra que as decisões judiciais podem comprometer o orçamento para a realização das políticas de saúde pública. Registra ainda a publicação, em 2019, da RDC 327 da Anvisa, que dispõe sobre a fabricação e importação de produtos da *Cannabis* no Brasil, sem resolver o acesso a tais medicamentos. Uma discussão apresentada sob um novo prisma sinaliza as Parcerias de Desenvolvimento Produtivo (PDPs) como uma alternativa para a produção nacional dos medicamentos da *Cannabis* ampliando o acesso aos mesmos. Este estudo conclui que novas medidas regulatórias serão necessárias, além do reconhecimento dos medicamentos da *Cannabis* como estratégicos para o Sistema Único de Saúde.

Palavras-chave: Inovação e Saúde. Acesso. Medicamentos da *Cannabis* sp.

Abstract

The discussion on access to *Cannabis*-derived drugs, in the light of Health Innovation in Brazil, corresponds to a case study, constructed through narratives frames. The narrative of Health Innovation describes theoretical concepts of an evolutionary aspect of the economy and the elaboration of a National Health Innovation System from the perspective of the Health Industrial Economic Complex. The Research on the

Medical Use of *Cannabis* reveals the contribution of science by opening the path to innovation. The history of Judicialization and Regulation as a means of access to medicines in Brazil, shows that judicial decisions can deter the public health policies implementation budget. It also registers the RDC 327, 2019 publication from Anvisa, providing rules for manufacturing and importing of *Cannabis* products in Brazil, without solving the access to these drugs. A discussion in a new perspective indicates that Productive Development Partnerships (PDPs) as an alternative to the national production of *Cannabis* drugs, expanding access to them. This study concludes that new regulatory measures are necessary, in addition to the recognition of *Cannabis* drugs as strategic for the Unified Health System.

Keywords: Innovation and Health. Access. *Cannabis sp.* drugs.

Introdução

A partir dos anos de 1990, a inovação passa a ser chave para o desenvolvimento no mundo, pondo abaixo a crença de que o desenvolvimento tecnológico viria a reboque do desenvolvimento econômico e não como seu pré-requisito. Durante a década seguinte é possível verificar no Brasil um esforço de alinhamento internacional no que diz respeito à formulação de políticas de ciência, tecnologia e inovação. Neste cenário, destacam-se aquelas relacionadas à Inovação em Saúde, visando, de uma forma geral o bem estar social, considerando ainda a ampliação do acesso aos bens e produtos resultantes do processo inovativo. Também é de conhecimento público a divulgação dos resultados de diversas pesquisas científicas sobre o uso medicinal da *Cannabis L.* (Cannabaceae), abrindo o caminho para seu desenvolvimento tecnológico e inovação.

O uso medicinal das espécies de *Cannabis* (*Cannabis sp.*) é milenar, tendo sido descrito por *Discórides* ainda no Século I. No Brasil, sua ação farmacológica é descrita nos compêndios médicos e catálogos da década de 1930 como hipnótico, sedativo, calmante, usado em nevralgias, insônia, dispepsias e como tal foi utilizada até o momento em que a planta foi criminalizada pelo artigo 281 do Código Penal de 1940 [\[1,2\]](#). As décadas que sucederam os anos de 1950 registraram dois grandes debates relacionados à *Cannabis sp.* no mundo: a sua descriminalização e seu uso medicinal.

No Brasil, a discussão sobre o acesso aos medicamentos à base de canabinóides tem sido pautada tanto no campo do Direito quanto no campo da Regulação, carecendo, entretanto, de uma análise dos impactos que as políticas de Inovação em Saúde elaboradas nas duas últimas décadas teriam sobre o mesmo.

Sem a pretensão de esgotar o tema, esta pesquisa visa promover a discussão sobre a ampliação do acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz das premissas da Inovação em Saúde no Brasil. O presente trabalho apresenta nas 3 primeiras seções as narrativas Inovação em Saúde no Brasil, Pesquisa do Uso Medicinal da *Cannabis sp.*, e Judicialização e Regulação no acesso a medicamentos, para então discutir o acesso sob um novo prisma e apresentar suas conclusões.

Material e Métodos

Nesta pesquisa leva-se em consideração o fato de que as políticas públicas atualmente têm sido estudadas como um processo de argumentação onde o problema a ser abordado é construído através de molduras conceituais que estruturam a ação política. Tais molduras constituem os princípios da organização de significados subjetivos atribuídos, transformando informações fragmentadas em um todo estruturado [\[3\]](#).

Desta forma, foram elaboradas molduras que permitissem a discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil compondo as seções: Inovação em Saúde no Brasil, Pesquisa do Uso Medicinal da *Cannabis sp.*, e Judicialização e Regulação no acesso a medicamentos, estruturando desta forma, a discussão do objeto desta pesquisa.

Os levantamentos foram realizados nas bases de dados PUBMED/MEDLINE, LILACS, SCIELO, COCHRANE LIBRARY e GOOGLE, nos idiomas inglês, português e espanhol, abrangendo o período entre 1960 até 2019. Foram feitas, também, consultas no acervo legislativo na base dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no período supracitado.

Observa-se que, para a seção Pesquisa do uso medicinal da *Cannabis sp.* foram realizadas três pesquisas distintas, para organização desta moldura:

- a) descriminalização e uso medicinal da *Cannabis sp.*;
- b) atividade farmacológica das dez classes principais de fitocanabinoides e;
- c) estudos dos extratos brutos e soluções contendo *Cannabis sp.* ou seus derivados como o canabidiol (CBD) e tetrahydrocannabinol (THC).

Inovação em Saúde no Brasil

As políticas relacionadas à Inovação e Saúde no Brasil compõem esta narrativa, que aborda inicialmente a emergência de novos conceitos e teorias no âmbito das políticas de ciência, tecnologia e inovação no mundo ^[4]. Durante a década de 1990, o poder transformador das tecnologias e inovações na economia e sociedade já se fazia presente nas estratégias internacionais, regionais e nacionais do mundo considerado desenvolvido, como descrito em trabalho organizado por Lundvall e Borrás ^[5]. Tais autores abordam, entre outras, questões como: qual o impacto para políticas de inovação resultantes da emergência de uma economia global; quais efeitos da globalização nos sistemas nacionais de inovação e que mecanismos permitiriam um desenho mais apropriado para as políticas de pesquisa e desenvolvimento. Os conceitos relacionados aos Sistemas Nacionais de Inovação, Economia baseada no Conhecimento e Economia da Informação haviam sido assumidos no âmbito da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), atrelando a inovação ao desenvolvimento econômico. A OCDE que desempenha um papel específico como fonte de ideias para os formuladores de políticas nacionais, pode ser entendida como um grupo de reflexão orientado pela pesquisa que elabora bases conceituais e teóricas apresentadas para os países membros para que os mesmos possam aprimorar sua compreensão e lidar com os problemas inerentes as políticas de Ciência, Tecnologia e Inovação (CTI). Da mesma forma é utilizada pela maioria dos grupos ou organizações protagonistas na história da política de CTI, tais como o *National Bureau of Economic Research*, dos EUA (NBER), a *RAND Corporation* e a *British Science Policy Research Unit* (SPRU), a OCDE facilita a análise de políticas através do uso de metáforas como Economia do Conhecimento, Economia do Conhecimento e Informação, Sociedade do Conhecimento e Informação e assim por diante, dando significado ao seu conteúdo. A estrutura teórico-conceitual, para a discussão e entendimento das características deste novo padrão mundial, foi elaborada através de extensa contribuição de autores tanto em trabalhos independentes ou ligados a instituições de ensino e pesquisa, quanto em fóruns e instituições governamentais nacionais e internacionais. No Brasil, diversos trabalhos descrevem a Economia da Informação Conhecimento e Aprendizado como uma escola construída a partir de conceitos teóricos da informação, conhecimento e aprendizado com a missão de explicar o desenvolvimento

econômico no mundo contemporâneo [6-8]. Esta escola se identifica com uma economia heterodoxa, evolucionária, neo-schumpeterina, que aborda uma era de transição entre paradigmas Tecno-econômicos, sujeita a transformações radicais e envolvendo tecnologias e atividades intensivas em informação, onde a simbiose com processos de acumulação de aprendizado e conhecimento é absolutamente indispensável. Programas de pesquisa envolvendo, economistas e sociólogos e diversos outros profissionais, foram conduzidos para sistematizar a base teórica para formulação de políticas direcionadas para inovação, verificando uma forte correlação entre a capacidade ou habilidade de aprendizado e a ocorrência da inovação. A relação entre as pressões de transformação e a inovação, consideram as pressões de transformações inerentes a um dado Paradigma Tecno-econômico, onde as trajetórias tecnológicas são definidas por suas características originadas da oferta ou demanda de novas tecnologias, podendo desta forma, orientar a organização de Sistemas de Inovação com suas dimensões globais, regionais, nacionais e locais. Ainda na década de 1970, programas de pesquisa sobre a geração de conhecimento, motivaram novas publicações, como *“The New Production of Knowledge”* [9] elaborando o conceito do modo não linear de geração de conhecimento, denominado Modo 2 estabelecendo sua distinção ao Modo 1 (linear), considerado acadêmico. Seguindo esta nova perspectiva do conhecimento, o conhecimento tácito é descrito como aquele que não é passível de codificação, sendo o mesmo responsável pelo êxito ou é descrito não das transações de transferência de tecnologia. Por outro lado, a informação é descrita como conhecimento codificado.

Um marco evolucionário no campo da teoria econômica é exposto no trabalho de Nelson e Winter [10] expandindo o escopo e instrumentos de análise para lidar com a dinâmica evolutiva em economia, abandonando os pressupostos tradicionais de maximização e de equilíbrio, em benefício de comportamentos e estratégias mais realistas sob incerteza e racionalidade limitada, enfatizando a visão schumpeteriana da concorrência e da dinâmica da economia capitalista, onde as inovações são o princípio essencial. Desde o início dos anos de 1980, contribuições haviam sido oferecidas, por aqueles identificados com esta corrente da economia, para o entendimento do papel central que ocupam as inovações e suas bases de conhecimento na nova ordem mundial em conformação.

Resumidamente, a estrutura teórico-conceitual desta escola tem sua origem nas obras Teoria do Desenvolvimento Econômico e Capitalismo, Socialismo e Democracia de Joseph Schumpeter [11,12], ambas elaboradas ainda na primeira metade do século passado descrevendo a inovação assim como o papel central da firma no desenvolvimento econômico. A partir dos anos de 1980, seu caráter evolucionário distingue-se da ortodoxia neoclássica hegemônica, para se dedicar à análise da evolução e consequências sócio- econômicas do desenvolvimento da ciência e tecnologia a partir do trabalho *An Evolutionary Theory of Economic Change* de Nelson e Sidnei G. [13]. A teoria dos “Paradigmas Tecno-Econômicos” é elaborada por Dosi [14], constituindo um novo modelo analítico. A teoria dos “Sistemas Nacionais de Inovação” é descrita por Lundvall [15] e Freeman [16], demonstrando a forma pela qual a inovação tecnológica transforma o conhecimento em produtos, processos e serviços, fundamentais para o desenvolvimento sócio econômico dos países. Um sistema de inovação, nacional, regional ou local, pôde ser visto como uma rede de instituições públicas e privadas tais como, agências governamentais de fomento e financiamento, empresas públicas ou estatais, centros de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), universidades, associações empresariais, organizações não governamentais cujas atividades e interações geram, adotam, importam, modificam e difundem novas tecnologias, sendo a inovação e o aprendizado a base de sua estrutura. Lundvall distingue a informação do conhecimento estabelecendo uma forte correlação entre Aprendizado e

Inovação ^[17]. Novas formas organizacionais são sugeridas para se lidar com a inovação no Paradigma Tecno-Econômico da Informação e respaldar a formulação e implantação de políticas públicas relacionadas à inovação. Esta estrutura teórico conceitual representa uma alternativa, em oposição aos conceitos neoclássicos, no que diz respeito a discussão surgida no final do milênio sobre um mundo integrado globalmente, uma vez que leva em consideração os aspectos históricos, geográficos, culturais, bem como a importância do conhecimento tácito no processo de inovação. Enfatiza o Conhecimento e Aprendizado e estabelece uma correlação entre a ocorrência da inovação e a habilidade no aprendizado, sendo esta fundamental para países, regiões, locais, firmas e pessoas, especialmente para os países em desenvolvimento. Nesta perspectiva, os sistemas de inovação poderiam ser vistos como uma rede, sendo a inovação e o aprendizado suas características essenciais.

No Brasil, o intenso debate internacional teórico conceitual ocorrido a partir das décadas de 1980 e 1990, estabelecendo as bases para a formulação de políticas de CT&I no mundo globalizado, se refletiu em 2001 na realização da Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação ^[18]. Pela primeira vez centenas de instituições se reuniram para debater a importância do papel da inovação no universo da ciência e da tecnologia, se referindo à incorporação contínua do conhecimento nas atividades produtivas. Este evento elaborou os conceitos a serem incorporados pelo Sistema Nacional de Ciência e Tecnologia ^[19] resultando, em 2002, na publicação do Livro Branco ^[20] trazendo em seu objetivo o apontamento de caminhos para que Ciência, Tecnologia e Inovação (CT&I) contribuíssem de forma efetiva para a construção de um País mais dinâmico, competitivo e socialmente justo. Considerando os riscos e oportunidades associados às transformações econômicas e tecnológicas que marcam a sociedade contemporânea, o livro examina os principais desafios para a consolidação de um Sistema Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação, necessário para que o País pudesse criar condições de desenvolvimento sustentável, apresentando a proposta de Política de Ciência, Tecnologia e Inovação.

A partir do momento em que a inovação torna-se a chave para o desenvolvimento, pondo abaixo a crença que o desenvolvimento tecnológico viria a reboque do desenvolvimento econômico e não como seu pré-requisito, verifica-se o esforço de alinhamento internacional brasileiro diminuindo defasagens e abrindo uma nova fase para a formulação de políticas de ciência, tecnologia e Inovação no Brasil, inclusive aquelas relacionadas à inovação em saúde.

O limiar do século XXI coincidiu com o início de uma mudança, com um ponto de inflexão importante nas agendas estratégicas de ciência e tecnologia: a explicitação do componente inovação ^[21].

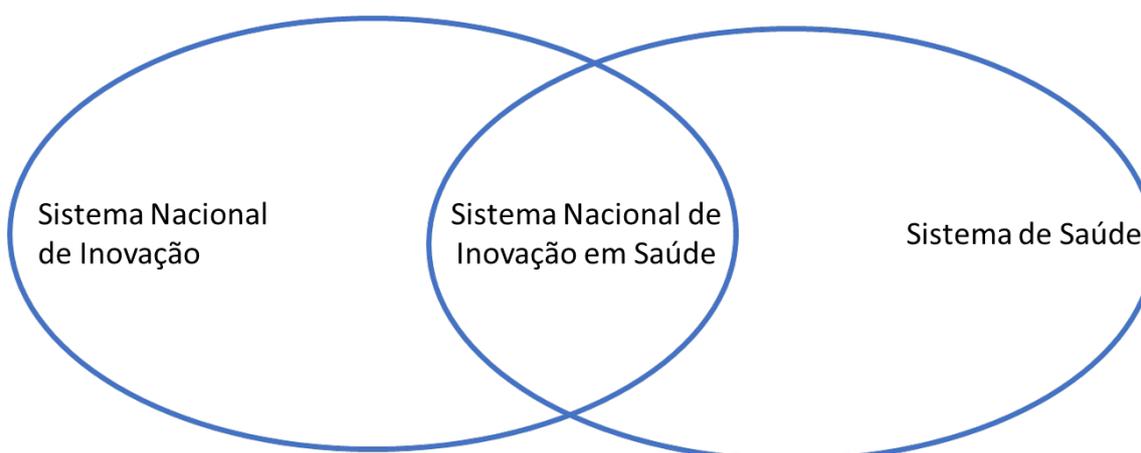
No campo da Inovação e Saúde a publicação do trabalho de Albuquerque e Cassiolato ^[19] descreveu o sistema de inovação biomédica, como uma interseção entre o Sistema Nacional de Inovação e o Sistema de Bem Estar. A dinâmica do setor saúde é exposta, em suas várias características, entre elas: a importância das universidades nas inovações biomédicas; a especificidade da atenção à saúde; instituições e a regulação dando a direção do desenvolvimento tecnológico, influenciando o desempenho econômico, industrial e social do setor saúde como um todo.

Em 2003, destacam-se publicações de relevância nesta narrativa. Reconhecendo a importância da geração e da difusão de inovações para o desenvolvimento socioeconômico nos países capitalistas além do caráter sistêmico, institucional e histórico desse processo, um estudo evidencia a necessidade de tratar a inovação em saúde considerando as dinâmicas que envolvem a economia, as instituições e as políticas públicas, demonstrando que nos países desenvolvidos, ao contrário do Brasil, existe uma compatibilidade entre as

necessidades do sistema de saúde e do sistema de inovação, sendo o Estado um ator essencial na promoção dessa articulação [22].

Os autores postulam que as políticas de saúde, além de sua dimensão social, também constituem mecanismos estratégicos para a consolidação de um sistema de inovação dinâmico, com efeitos diretos no desenvolvimento nacional [23], conforme demonstra a **FIGURA 1**.

FIGURA 1: Âmbito do Sistema Nacional de Inovação em Saúde.



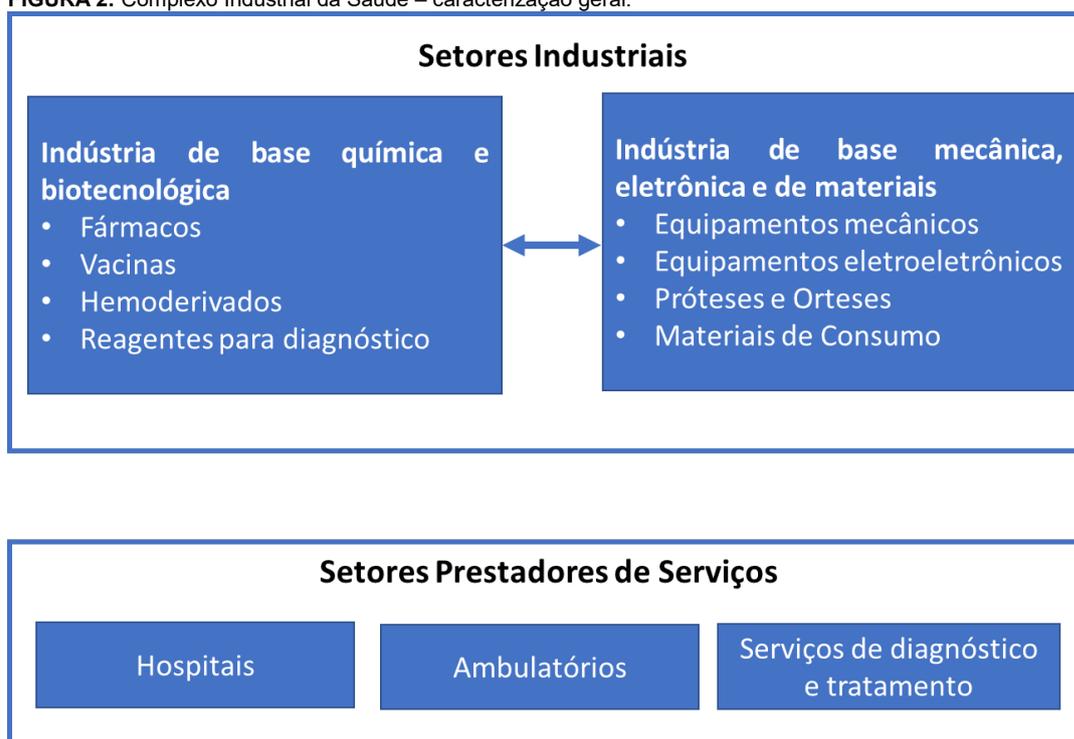
Adaptado de Gadelha et al. [22].

No mesmo ano, o Complexo Industrial da Saúde ganha um novo enfoque analítico na publicação de Gadelha [23] descrevendo o conjunto de atividades produtivas e suas relações de interdependência, apresentando uma alternativa ao paradigma neoclássico dominante. A interação entre o sistema de saúde e o sistema econômico industrial é analisada revelando que a dicotomia entre ambos, expressa a deterioração do potencial de inovação do país e a consequente vulnerabilidade externa da política de saúde. O autor indica caminhos que compreendam a dinâmica de transformação econômica e institucional e não apenas os processos de alocação de recursos escassos, assim como a necessidade de compatibilização analítica e normativa entre a lógica econômica da inovação e a lógica sanitária, conforme demonstra a **FIGURA 2**.

A lógica empresarial capitalista penetra em todos os segmentos produtivos, envolvendo tanto as indústrias que já operavam tradicionalmente nessas bases quanto a segmentos que possuíam formas de organização em que era possível verificar a convivência de lógicas empresariais com outras que dela se afastavam, como a produção de vacinas e produtos biológicos, fitoderivados e a prestação de serviços de saúde [23].

O Estado é apontado como um ator essencial na promoção dessa articulação, uma vez que as políticas de saúde, além de sua dimensão social, também constituem mecanismos estratégicos para a consolidação de um sistema de inovação dinâmico, com efeitos diretos no desenvolvimento nacional, conforme demonstra a **FIGURA 2**.

FIGURA 2: Complexo Industrial da Saúde – caracterização geral.



Adaptado de Gadelha et al. [23].

É digna de registro a elaboração de trabalhos que a partir de então, se valendo da perspectiva analítica do CIS, focalizaram o setor de fitomedicamentos, dentre os quais, destacam-se: “Desafio para inovação em fitomedicamentos no contexto da indústria farmacêutica” [24], no qual são discutidas a baixa competitividade do setor farmacêutico no País e a grande dependência de tecnologias externas, gerando um elevado déficit comercial na área e gastos elevados para o atendimento das necessidades de tratamento da população. Neste trabalho, a potencialidade dos fitomedicamentos é apontada como um nicho estratégico para o desenvolvimento tecnológico nacional e para uma maior autonomia do país nas políticas de medicamentos; “Aspectos críticos na formulação política de um sistema nacional de arranjos produtivos locais para o desenvolvimento de medicamentos de origem vegetal em cada bioma brasileiro” [25], registrando pela primeira vez uma interseção entre a dinâmica industrial em saúde, adotada no CIS, e a biodiversidade brasileira, sugerindo a necessidade de uma revisão dos conceitos teóricos relacionados a base de conhecimentos, para incorporar aqueles da biodiversidade. Os Arranjos e Sistemas Produtivos Locais a serem organizados em cada bioma brasileiro constituiriam esta nova base de conhecimentos, promovendo a inovação.

A ampliação do diálogo sobre a importância estratégica da Ciência Tecnologia e Inovação entre a Academia e tomadores de decisão, valendo-se ainda da coerência e transversalidade do novo enfoque do Complexo Industrial da Saúde, ganha espaço no espectro das políticas públicas brasileiras. É possível associar a realização da Conferência de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde [18], assim como a reorganização da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos do Ministério da Saúde, com a elaboração da Política Mais Saúde [26] e da Política Nacional de Ciência Tecnologia e Inovação em Saúde [27]. Além disto, a integração da saúde na política industrial e de inovação pode ser evidenciada no escopo das políticas

Industrial e de Comércio Exterior ^[28], Ciência, Tecnologia e Inovação para o Desenvolvimento Nacional ^[29], Desenvolvimento Produtivo ^[30].

Em maio de 2008, mês em que foi anunciada a Política de Desenvolvimento Produtivo, o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico Social (BNDES) realizou, em parceria com o Ministério da Saúde e a Fiocruz, o Seminário sobre o Complexo Industrial da Saúde, com o objetivo de discutir a articulação entre inovação, acesso e desenvolvimento, e criar uma agenda positiva de intervenção para viabilizar as propostas contidas na política Mais Saúde. Na apresentação de abertura do evento, “Inovar e investir para sustentar o crescimento” ^[31] o presidente do BNDES elucidou que o CIS é um dos Programas Mobilizadores em Áreas Estratégicas da Política de Desenvolvimento Produtivo, sendo este programa elaborado em forte articulação com a também recente política Mais Saúde, do Ministério da Saúde. Em seguida são apresentados como os objetivos do programa do CIS ^[32] a consolidação de uma indústria uma indústria competitiva na produção de equipamentos médicos, materiais, reagentes e dispositivos para diagnóstico, hemoderivados, imunobiológicos, intermediários químicos e extratos vegetais para fins terapêuticos, princípios ativos e medicamentos para uso humano e o domínio do conhecimento científico-tecnológico em áreas estratégicas, visando à redução da vulnerabilidade do Sistema Nacional de Saúde. O programa tem como metas a redução do déficit comercial do CIS de US\$ 5,5 bilhões em 2007 para US\$ 4,4 bilhões até 2013 e desenvolver tecnologia para produção local de 20 produtos estratégicos para o SUS até 2013.

Entre os desafios, é destacado o adensamento da cadeia produtiva do CIS fortalecendo empresas nacionais assim como o fortalecimento, expansão e modernização da gestão da rede de laboratórios públicos. Como ações, são definidos:

- a. o uso do poder de compra estatal para estimular a produção local, tendo como medidas a revisão da regulamentação de compras governamentais, pré-qualificação, isonomia competitiva, desoneração tributária, encomenda de produtos estratégicos para a inovação em saúde e compras governamentais no valor de R\$ 12 bilhões/ano entre 2008/2011;
- b. o financiamento para ampliação de capacidade de produção tendo como medidas o Novo Profarma: Programa de Apoio ao Desenvolvimento do Complexo Industrial da Saúde, para elevar a competitividade do complexo industrial da saúde, disseminando a atividade inovadora, aumentando a produção de equipamentos, materiais, medicamentos e produtos correlatos, contribuindo para inserção internacional das empresas nacionais, que contará com recursos do BNDES - R\$ 3 bilhões entre 2008 e 2012, além dos Recursos Orçamentários do Ministério da Saúde- R\$ 930 milhões entre 2008 e 2011;
- c. expansão de recursos para P&D em áreas estratégicas - R\$ 1,1 bilhão do MS entre 2008 e 2013 e R\$ 90,5 milhões do Fundo Setorial de Saúde (CT-Saúde) Orçamento 2008, além de recursos para Infraestrutura científico-tecnológica do MCT/ Finep- R\$ 500 milhões entre 2008 e 2013.

Em 2012, um estudo destacou a importância de programas de apoio ao Complexo Econômico Industrial da Saúde (CEIS) ^[33] que contemplam tanto a expansão da capacidade produtiva no setor farmacêutico como a consolidação de competências para inovar, mencionando o Programa de Apoio ao Desenvolvimento da Cadeia Produtiva Farmacêutica do BNDES assim como os Projetos por meio dos Fundos Setoriais da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) como o CT-Saúde e o CT-Bio, na superação de gargalos estruturais remanescentes no caminho da criação e implementação de políticas públicas que articulem o desenvolvimento da base produtiva e da inovação na indústria farmacêutica com o atendimento das

demandas sociais relativas à saúde no País [34]. Os autores descreveram um panorama da indústria de base química e biotecnológica em saúde no Brasil, para argumentar que a ação reguladora do Estado torna-se crucial para viabilizar o aproveitamento de novas janelas de oportunidade que permitam articular o desenvolvimento da indústria de base química e biotecnológica em saúde com a política de saúde e com a demanda de bem-estar social, a despeito das dificuldades encontradas na implementação e de coordenação de instrumentos e ações para essa área. Destacam-se as linhas gerais de orientação das políticas de apoio ao desenvolvimento do complexo da saúde, cujas ações de coordenação e articulação vêm sendo desempenhadas pelo Grupo Executivo do Complexo Industrial da Saúde do Ministério da Saúde, descrevendo as seguintes medidas e instrumentos:

- a publicação da lista de produtos prioritários para o SUS (Portaria 1.284, de 2010), sinalizando quais deles constituem foco prioritário para o aumento da produção local, seja pela elevada importância social e econômica, pela sua relevância na busca de novas capacitações tecnológicas na área da saúde;
- a regulamentação da Lei 12.349 (Lei de Compras Públicas), que visa utilizar de forma escalonada uma margem de preferência de no máximo 25%, para licitação de produtos manufaturados e serviços nacionais resultantes de desenvolvimento e inovações tecnológicas realizadas no País;
- as Parcerias para Desenvolvimento Produtivo (PDP) envolvendo laboratórios oficiais e privados, visando prioritariamente internalizar a tecnologia de produção de fármacos e medicamentos estratégicos nos laboratórios públicos por meio de processos de transferência de tecnologia.

Em 2016, uma revisão discutiu as relações entre os sistemas de saúde de países desenvolvidos e em desenvolvimento com a indústria, focalizando o apoio do Estado à inovação farmacêutica [34]. O estudo considera crucial o estabelecimento de arranjos institucionais que aprimorem a ligação entre as áreas governamental, através das agências de financiamento, pesquisa em saúde, indústria e público para definir e conduzir uma agenda nacional que permita a consolidação do Sistema Único de Saúde brasileiro. A limitação de recursos públicos no sistema de saúde impede a exploração adequada das virtudes favorecidas pela interação com a indústria para atividades inovadoras e por outro lado, a simples manutenção das políticas em andamento até então não seria suficiente para garantir tais arranjos. Segundo o autor esta é a tarefa crucial a ser feita.

Pesquisa do Uso Medicinal da *Cannabis sp.*

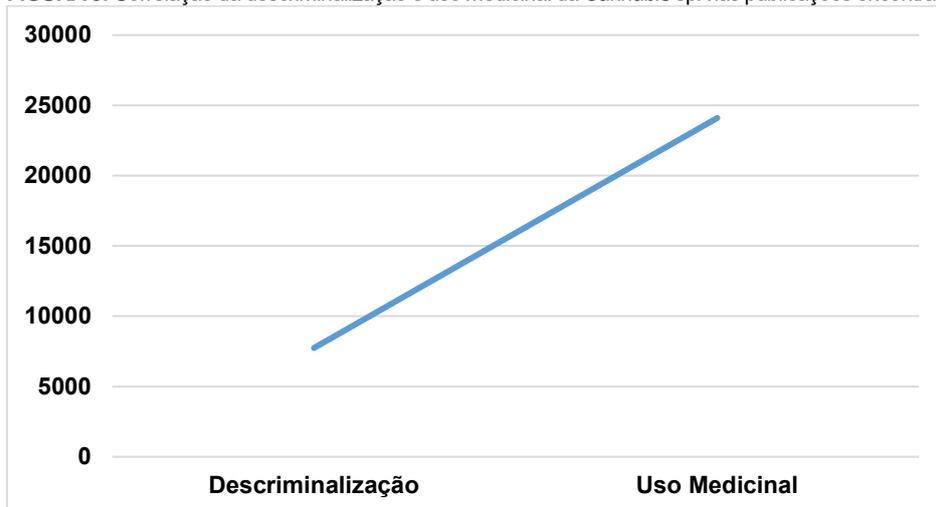
O uso medicinal da *Cannabis sp.* é milenar, tendo sido descrito por *Discórides* ainda no Século I. No Brasil, sua ação farmacológica é descrita nos compêndios médicos e catálogos da década de 1930 como hipnótico, sedativo, calmante, usado em nevralgias, insônia, dispepsias etc. A despeito destes fatos, é de conhecimento público o impacto provocado pela II Conferência Internacional do Ópio, realizada em Genebra, em 1924, sobre o uso da *Cannabis sp.*, dando início a sua proibição. No Brasil, a maconha foi criminalizada pelo artigo 281 do Código Penal de 1940 [1,2]. As décadas que sucederam os anos de 1950 registraram dois grandes debates relacionados à *Cannabis sp.* no mundo: a sua descriminalização e seu uso medicinal. Hoje, em diversos países o uso da maconha já é liberado e controlado pelo Estado. Nas últimas décadas o uso medicinal voltou a ser foco de diversas pesquisas científicas, abrindo o caminho para o desenvolvimento tecnológico e inovação.

Entretanto, apesar de robustas evidências científicas sobre o uso medicinal da *Cannabis sp.*, a produção de medicamentos a partir de suas substâncias farmacologicamente ativas ainda se encontra prejudicada pelo legado de sua criminalização ocorrida nos anos de 1940, ao contrário do que ocorreu com a morfina, intensamente utilizada até hoje nas práticas médicas, sendo a mesma derivada do ópio, criminalizado ainda nos anos de 1920.

Desde a sua proibição em escala global, a década de 1960 registrou estudos sobre os efeitos da *Cannabis sp.*, inicialmente de caráter comparativo com outras substâncias proscritas como o ópio, heroína e cocaína, mas também com outras capazes de promover a dependência química como o álcool, abrindo assim duas vertentes de debates: a sua descriminalização e seu uso medicinal. De uma forma geral, tais estudos foram intensificados de forma crescente, nas décadas de 1990, 2000 e 2010. Entretanto, a despeito das evidências científicas sobre o seu uso medicinal e, também, sobre a sua característica de não causar dependência a *Cannabis sp.*, ainda é considerada ilegal na maioria dos países. O principal argumento para a criminalização é o risco potencial à saúde associado ao constituinte psicoativo, o Δ -⁹ tetrahydrocannabinol mesmo sendo comprovado que em doses controladas, o mesmo seja benéfico à saúde. Por outro lado, verifica-se que o consumo de *Cannabis* para uso medicinal aumentou significativamente [35].

O debate sobre descriminalização da *Cannabis sp.* ganhou impulso nos últimos anos. O Uruguai, Canadá e vários estados dos EUA descriminalizaram e legalizaram o uso, permitindo assim o consumo, a regulamentação e o controle do Estado. Em diversos países a posse de pequenas quantidades de maconha foi autorizada. À medida que a descriminalização da *Cannabis sp.* passou a acontecer ao longo dos anos, a validação científica do uso medicinal da mesma aumentou consideravelmente [36]. Os debates sobre a descriminalização e o uso medicinal tiveram um crescimento exponencial sendo registrados em publicações no período de 1960-2019, mantendo uma correlação entre si. Os dados da **FIGURA 3** demonstram uma correlação positiva entre os estudos encontrados sobre a descriminalização (n=7740) e o uso medicinal da *Cannabis sp.* (n=24100).

FIGURA 3: Correlação da descriminalização e uso medicinal da *Cannabis sp.* nas publicações encontradas entre 1960 e 2019.

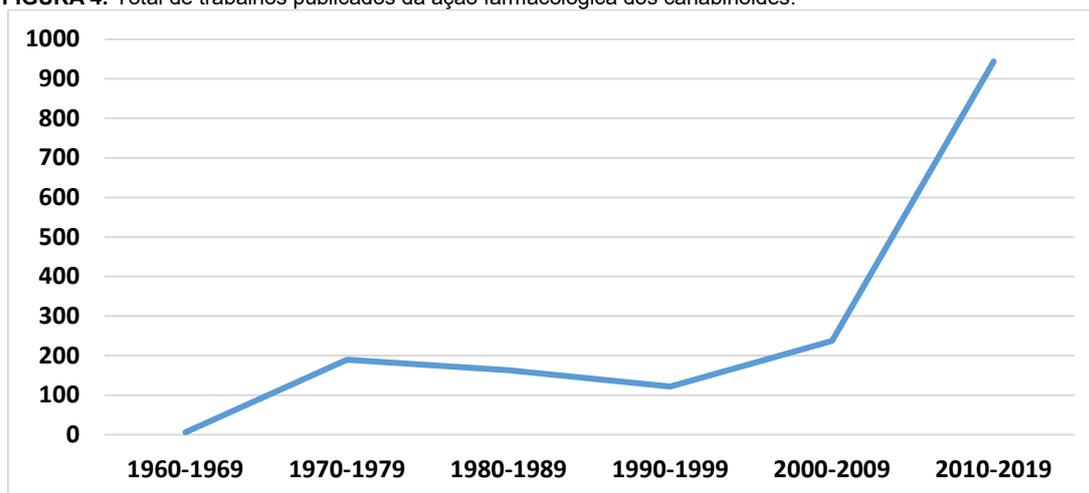


Fonte: Elaboração própria, 2019.

Por outro lado, a pesquisa científica estabeleceu, ao longo do período considerado neste estudo, bases sólidas para o uso medicinal da planta. A *Cannabis* é cultivada há mais de 6000 anos [35,36]. Existem duas espécies

majoritárias deste gênero: a *Cannabis indica* e a *Cannabis sativa*, sendo diferenciadas por suas características físicas e os teores de seus constituintes químicos. Ao todo, a planta contém mais de 600 substâncias químicas (triterpenos, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados, carboidratos, flavonoides, ácidos graxos, compostos fenólicos não canabinóides, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, lactonas). Entre os quais se destacam 66 canabinóides [37]. O número de trabalhos publicados, estabelecendo as atividades farmacológicas por categoria de fitocannabinóides durante o intervalo de 1960 até 2019 mostra um crescimento exponencial notadamente a partir dos anos 2000, conforme demonstra a **FIGURA 4**.

FIGURA 4: Total de trabalhos publicados da ação farmacológica dos canabinóides.



Fonte: Elaboração própria, 2019.

Os canabinóides foram então organizados em 10 classes, com as respectivas atividades farmacológicas, comuns ou específicas, como demonstra o **QUADRO 1**.

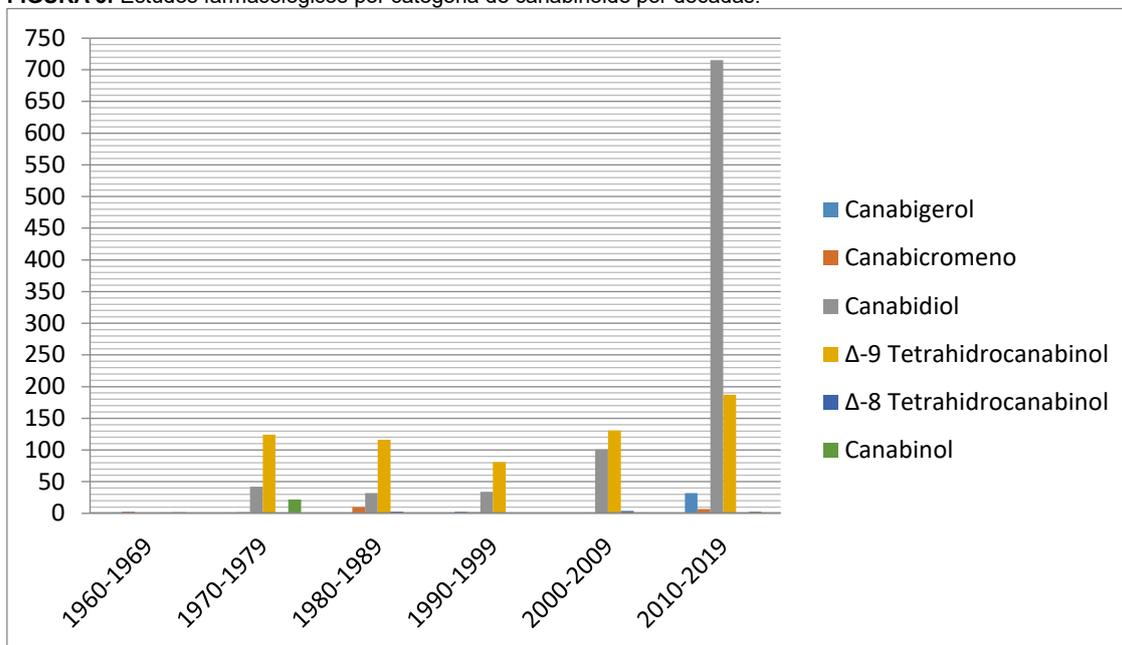
QUADRO 1: Classes de fitocannabinóides e suas atividades farmacológicas.

Classe	Estrutura	Atividade Farmacológica
Canabigerol	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	antibiótico, antifúngico, anti-inflamatório, analgésico
Canabicromeno	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{CH}_3$	antibiótico, anti-inflamatório, antifúngico, analgésico
Canabidiol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	anti-inflamatório, ansiolítico, antipsicótico, analgésico, antioxidante, antiespasmódico
Δ^9 Tetrahydrocannabinol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	anti-inflamatório, analgésico, euforizante, antioxidante, antiemético
Δ^8 Tetrahydrocannabinol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	similar ao THC (menos potente)
Canabitriol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	Sedativo, Antibiótico, anticonvulsivante, anti-inflamatório
Canabiciclol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{C}_3\text{H}_7$	Sem registro de estudo farmacológico
Canabielsoína	$R_1 = \text{COOH}, R_2 = \text{C}_5\text{H}_{11}, R_3 = \text{H}$	Sem registro de estudo farmacológico
Canabinol	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{C}_5\text{H}_{11}$	Sem registro de estudo farmacológico
Canabinóides Mistos	Fórmulas Variadas	Sem registro de estudo farmacológico

Fonte: Elaboração própria, 2019.

Destacam-se as classes Canabidiol (CBD) e Δ -9 tetrahydrocannabinol (TCH) na curva de crescimento dos estudos farmacológicos publicados, sendo suas atividades descritas como: ansiolítico, antipsicótico, analgésico, anti-inflamatório, antioxidante e antiespasmódico [37,38].

FIGURA 5: Estudos farmacológicos por categoria de canabinóide por décadas.



Fonte: Elaboração própria, 2019.

O CBD e o THC são os canabinóides mais pesquisados, apresentando entre si, perfis e mecanismos de ação diferentes. O THC interage com vários alvos farmacológicos [39], atuando primeiramente sobre os receptores neuronais pré-sinápticos CB1 para inibir a liberação contínua de neurotransmissores. A administração repetida de THC pode oferecer tolerância a efeitos e ação de endocanabinoide [39,40]. O CBD diferentemente do THC não tem uma janela terapêutica tão estreita [40,41]. Além dos receptores CB1, o CBD age sobre os receptores CB2, com baixa afinidade para ambos [42,43]. Alguns pesquisadores têm sugerido que o CBD pode influenciar os efeitos do THC, aumentando a eficácia clínica e reduzindo os efeitos adversos [44]. Para elucidar os efeitos farmacológicos do CBD e THC, bem como a sinergia entre ambos, foram selecionados 16 estudos apresentados abaixo no **QUADRO 2**.

QUADRO 2: Efeitos farmacológicos decorrentes da associação de extratos de CBD e THC.

Autor/Ano	Objetivo	Doses	Considerações
Karniol et al. (1974)	Investigar se o composto THC + CBD induz menos efeitos psicotrópicos quando comparados ao THC sozinho.	Grupo 1: THC oral 30 + CBD oral 15, 30 ou 60 mg; Grupo 2: THC oral 30 mg; Grupo 3: placebo oral	O CBD pareceu bloquear o efeitos provocadores de ansiedade do THC; Verificou-se que o CBD atenua vários efeitos do THC, como aceleração da taxa de pulso, tempo comprometimento da produção e distúrbios psicológicos.
Hollister e Gillespe (1975)	Investigar se o CBD e o CDN interagem diretamente nos efeitos do THC.	Grupo 1: THC oral 20mg + CBD 40mg; Grupo 2: THC oral 20mg; Grupo 3: Placebo.	O início dos efeitos do THC + CBD comparado ao THC sozinho foi um pouco mais lento; As alterações da taxa de pulso foram semelhantes entre tratamentos = Metabolitos em amostras de urina foram mais numerosos seguintes a combinação THC + CBD do que depois do THC sozinho.

Dalton et al. (1976)	Avaliar a interação entre o THC e o CBD em doses típicas de usuários de fumo da <i>Cannabis</i> .	Grupo 1: Via vaporizada THC 0,025mg + CBD 0.150mg / kg; Grupo 2: via vaporizada (fumo) THC 0,025 mg; Grupo 3: Placebo	CBD + THC combinados reduziu o sentimento subjetivo estimulante quando comparado ao THC sozinho; Não foram afetados a frequência cardíaca e o desempenho de tarefa de feedback auditivo.
Dalton et al. (1976)	Avaliar a interação entre o THC e o CBD em doses típicas de usuários de fumo da <i>Cannabis</i> .	Grupo 1: Pré-tratamento (T-30mins) oral /vaporizado (fumo) com CBD 0,150mg / kg, seguido por THC 0,025 mg / kg; Grupo 2: THC vaporizado 0,025 mg / kg; e Grupo 3: Placebo	O pré-tratamento com CBD não alterou os efeitos do THC.
Bird et al. (1980)	Avaliar de todas as formas possíveis as combinações do CBD e o THC para alcoolismo.	THC oral 0,215 mg /kg + CBD 0.320 mg / kg oral; THC 0,215 mg oral; placebo oral	Quando co-administrado CBD não modificou os efeitos de THC; quando somente administrado o THC, foi constatado que o desempenho cognitivo, perceptivo e motor foi alterado; hiperemia conjuntival e intoxicação subjetiva também foram percebidas.
Hunt et al. (1981)	Investigar os efeitos farmacocinéticos do CBD combinado com o THC.	Grupo 1: Pré-tratamento (T-480, -300, -120 mins) por via oral com CBD 500 mg, seguido de THC 2mg intravenoso; Grupo 2: pré-tratamento (T480, -300, -120 minutos) oral Placebo, seguido por THC 2mg intravenoso	O pré-tratamento com CBD não alterou a farmacocinética ou os efeitos farmacodinâmicos do THC (Grupo 1); Deve haver um efeito mínimo sobre a formação e excreção de metabólitos.
Zuardi et al. (1982)	Investigar se o CBD diminuiu a ansiedade produzida por THC em voluntários saudáveis.	a) Grupo 1: Via oral - THC 0.5 mg/kg + CBD 1mg/kg; b) Grupo 2: Via oral - THC 0.5 mg/kg; Grupo 3: Placebo	O Grupo 2 teve a taxa de pulsação aumentada quando tratado com THC, o que não correu com o Grupo 1, que teve combinado o CBD, bloqueando a ansiedade provocada pelo THC.
Guy e Robson. (2003)	Para avaliar o perfil farmacocinético, segurança e tolerabilidade de CBD e THC.	a) Spray THC 10mg + CBD 10 mg; b) spray THC 10mg; c) spray Placebo	Tratamentos revelaram scores de intoxicação baixos e os efeitos não relacionados. A concentração plasmática de THC foi estatisticamente significativamente tardia quando administrado junto com o CBD. É possível que a presença do CBD na formulação CBD + THC atrase a absorção de THC.
Nicholson et al. (2004)	Avaliar os efeitos de extratos de <i>cannabis</i> no desempenho dos períodos de sono noturno e manhã e a afetabilidade na memória e sonolência.	a) Spray THC 15mg + CBD 15mg; b) spray THC 15mg; c) spray Placebo	Ambos tratamentos com THC sozinho e em combinação com CBD aumentaram a sonolência; O THC + CBD alterou o humor negativamente; Em contrapartida, a administração de THC sozinho provocou a diminuição do estágio 3 do sono e aumento do tempo gasto acordado; THC diminuiu as latências para sono de manhã cedo e memória episódica comprometida, não presente com THC + CBD;
Juckel et al. (2007) Nadulski et al. (2005); Roser et al. (2009)	Investigar os efeitos do CBD sobre a farmacocinética do THC. Análise secundária: investigar estados	a) oral: THC 10mg + CBD 5.4mg; b) oral: THC10 mg; c) oral: Placebo	Desfechos primários: CBD inibe o metabolismo hidroxilação de THC; mas o efeito é pequeno; > 10 /> 10 genótipos mostraram uma diminuição da amplitude do P300 e prolongamento da latência do P300 sob THC sozinho, mas não THC + CBD;

Roser et al. (2008) Stadelmann et al. (2011)	psicóticos e esquizofrênicos; amplitude psicomotora;		
Bhattacharya et al. (2010)	Investigar se o tratamento com CBD pode impedir THC de provocar sintomas psicóticos.	a) Tratamento (T-5mins) intravenoso com CBD 5 mg, seguido por THC 1,25mg ; b) tratamento (T-5mins) por via intravenosa, Placebo.	Nenhuma diferença significativa nos níveis sanguíneos com a administração do THC com ou sem pré-tratamento com CBD; Foi evidenciado que o THC aumentou os sintomas psicóticos em alguns voluntários.
Englund et al. (2013)	Investigar se o tratamento com CBD atenuaria os sintomas psicóticos positivos e o comprometimento cognitivo causado pelo THC.	a) tratamento (T-210 minutos) com CBD oral 600mg seguido por THC 1,5mg intravenoso; b) tratamento (T-210 minutos) placebo oral, seguido por THC 1,5mg intravenoso.	Aumento clinicamente significativo em sintomas positivos após THC eram mais comuns no grupo tratado com placebo comparado com o grupo tratado com CBD; A paranoia pós-THC foi menor no grupo CBD; O CBD inibiu os efeitos de THC na memória episódica; Nenhuma diferença na concentração plasmática entre grupos
Hindocha et al. (2015) Morgan et al. (2018) Wall et al. (2019)	Determinar os efeitos do THC e CBD, sozinho e em combinação em reconhecimento facial, emocional e de memória.	a) THC 8 mg + CBD 16mg vaporizado; b) THC 8 mg vaporizado; c) Placebo vaporizado.	Desfechos primários: CBD reduziu o prejuízo de reconhecimento de 40% dos indivíduos que fizeram uso do THC concomitante; A influência do CBD no THC pode diferir de acordo com variação no endocanabinoide genética do sistema.
Haney et al. (2016)	Avaliar a influência do CBD oral no reforço, subjetivo, cognitivo e fisiológico quando concomitantemente uso o THC.	a) Tratamento (T-90mins) oral CBD 200, 400, 800 mg seguido por THC 42mg vaporizado; b) tratamento (T90mins) ora Placebo seguido por THC 42mg vaporizado.	CBD não alterou significativamente o aumento subjetivo efeitos de intoxicação; CBD não apresentou influência significativa da frequência cardíaca máxima.
T. P. Freeman, Pope, et al. (2018) Lawn et al. (2016) Wall et al. (2019)	Examinar os efeitos do composto THC + CBD e THC sozinho.	a) THC 8mg + CBD 10mg vaporizado; b) THC 8 mg vaporizado; c) placebo vaporizado.	Desfechos primários: o CBD não afeta motivação; aparenta ter uma redução da agitação do THC quando adicionado o CBD. Resultados secundários: Maior percepção sonora aprimorada após THC + CBD que THC; O THC sozinho diminuiu a resposta à música em vários núcleos de recompensa e emoção do cérebro, ao passo que THC + CBD não diferem do placebo e mostraram maior conectividade; THC sozinho reduziu a conectividade dentro quando comparado com THC + CBD.
Arkell et al. (2019)	Comparar os efeitos subjetivos, cognitivos, e relacionados a vaporização do THC sozinho e THC e CBD combinados.	a) THC 3,75 mg + CBD 13,75 mg vaporizado; b) THC 13,75mg + CBD <1,25mg vaporizado; c) Placebo vaporizado com <1,25 mg de THC / CBD	Concentrações plasmáticas máximas de THC maior em THC + CBD; Nenhuma diferença na autoclassificação de intoxicação subjetiva ou confiança para dirigir por THC e THC + CBD = STAI e autoavaliação ansiosa aumentou tanto em THC quanto em THC + CBD aos 15 minutos, mas não THC + CBD em 1 hora.

Fonte: Elaboração própria, 2019.

Os resultados acima demonstram a aplicabilidade da planta "*Cannabis sp.*" no tratamento de diversas doenças. As concentrações de THC e CBD podem variar entre função do uso medicinal dos mesmos [36,37]. Outro aspecto importante destacado nesta pesquisa é que o tratamento com produtos à base de CBD reduz significativamente a frequência de crises epiléticas, mesmo em pacientes refratários [39-43]. Outros estudos comprovam que um extrato de CBD enriquecido com outros canabinóides, como o THC, amplia sua eficácia quando comparado a administração do extrato de CBD puro [44-45]. Este efeito sinérgico é claramente descrito, por exemplo, na ação farmacológica contra a dor [45], assim como em outras ações farmacológicas, tais como a catatonía e arreflexia da córnea [46,47]. Todos os resultados sugerem que esses efeitos se devem à modulação alostérica dos receptores CB1 canabinóides pelo CBD. Isso significa que o CBD exerce um "ajuste fino" do receptor CB1 canabinóide afetando a interação de outros canabinóides ao nível do receptor [46,47].

De um modo geral, é possível afirmar que a pesquisa científica contribuiu progressivamente de forma sólida, ao longo das décadas recentes, para a validação do uso medicinal da *Cannabis sp.*, estabelecendo assim o ponto de partida para o desenvolvimento tecnológico e inovação de produtos farmacêuticos a base de canabinóides.

Judicialização e Regulação no acesso a medicamentos

No Brasil, a discussão sobre o acesso a fitomedicamentos contendo canabinóides tem sido pautada tanto no campo do Direito, revelando sua inscrição tanto no processo de judicialização da medicina, quanto no campo da Regulação, deixando de considerar, entretanto, o impacto da Inovação em Saúde na questão do acesso.

O processo de judicialização da saúde é um fenômeno contemporâneo observado especialmente nos países em que o Poder Judiciário realiza o controle de constitucionalidade das leis. Neste contexto, se inserem decisões judiciais nas ações para fornecimento de medicamentos, revelando uma forma de interferência do Poder Judiciário na política de saúde, sobrepondo-se desta forma ao Poder Executivo na escolha de fornecimento deste ou daquele medicamento, sob o fundamento de assegurar o direito à saúde. Este formato de judicialização contempla a busca individual de cidadãos por meio de procedimentos judiciais comuns à efetivação de interesses relacionados ao direito social à saúde, não efetivados na esfera executiva [48].

A Constituição de 1988, no artigo 196 estabelece que:

[...] a saúde é direito de todos e dever do Estado, garantindo mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação [49].

O Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro foi concebido pela Constituição Federal e regulamentado pela Lei nº 8080 de 1990, observando que o dever do Estado é garantir a saúde e consiste na formulação e execução de políticas econômicas e sociais que visem à redução de riscos de doenças e de outros agravos e no estabelecimento de condições que assegurem acesso universal e igualitário às ações e aos serviços para a sua promoção, proteção e recuperação.

Destaca-se ainda, no campo de atuação do SUS, a formulação da política de medicamentos, equipamentos, imunobiológicos e outros insumos de interesse para a saúde e a participação na sua produção [50]. Em 1988 o Brasil aprova a Política Nacional de Medicamentos (PNM) [51] com o propósito principal de "garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos, a promoção do uso racional e o acesso da

população a aqueles considerados essenciais”. Em tempo, é importante esclarecer que o conceito de medicamentos essenciais que os define como sendo aqueles que satisfazem às necessidades de saúde da maioria da população, a um preço que a comunidade possa pagar, foi elaborado no âmbito da Organização Mundial da Saúde (OMS) ainda na década de 1970, tendo resultado na publicação de sua primeira lista de medicamentos essenciais em 1977 ^[52]. A aprovação da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), no ano de 2000, foi considerada fundamental para ações de planejamento, seleção de medicamentos e de organização da assistência farmacêutica no âmbito do SUS, uma vez que o cenário da década de 1990 descrevia o aumento da demanda de medicamentos, uma desarticulação da assistência farmacêutica, abastecimento irregular e a conseqüente falta de acesso aos medicamentos.

Finalmente, esta RENAME foi resultado de ampla consulta nacional que estabeleceu uma lista de medicamentos efetivamente adequada às necessidades brasileiras e inserida no âmbito das políticas sociais do Governo Federal ^[53].

Nesta trajetória é possível observar que processo judicial, voltado para o acesso aos insumos, medicamentos, cirurgias e equipamentos iniciado na década de 1990, foi marcado inicialmente por solicitações de medicamentos para o tratamento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) ^[54], contando a partir de então com um aumento progressivo de solicitações.

Em 2004, a Política de Assistência Farmacêutica foi aprovada pelo Conselho Nacional de Saúde como parte integrante da Política Nacional de Saúde ^[55] garantindo de um lado, os princípios da universalidade, integralidade e equidade, através de um conjunto de ações voltadas à promoção, proteção e recuperação da saúde e de outro, a formulação de diferentes políticas, como aquelas de medicamentos, ciência e tecnologia, desenvolvimento industrial, no âmbito do SUS, ampliando o debate sobre o direito ao acesso e o compromisso do Estado no fornecimento de medicamentos.

A judicialização, envolvendo medicamentos contendo canabinóides, ganha um novo patamar e expressão a partir de um marco regulatório, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 17 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 2015 ^[56]. Esta Resolução definiu os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. O Art. 18 dessa RDC definiu que a solicitação de autorização para importação de produtos à base de Canabidiol, em associação com outros canabinóides, dentre eles o THC, que não constem na Lista do Anexo I, mas que possam vir a cumprir com os critérios desta Resolução, estará sujeita a avaliação da ANVISA. Ressalta-se que na ocasião da publicação da RDC 17/15, a Lista do Anexo I era composta apenas por três empresas norte-americanas, a saber: Cibidex. InC; Bluebird Botanicals e Revivid, não sendo as mesmas companhias farmacêuticas.

A partir de então, houve um aumento considerável das solicitações individuais para importação via ANVISA, mas também de ações judiciais para assegurar o acesso ao tratamento de diversas patologias relacionadas ^[56]. As empresas começaram a solicitar à ANVISA autorização para o cultivo da planta para produção de medicamentos e realização de pesquisas científicas ^[57]. A ANVISA elaborou a Nota Técnica n° 093/2015 com orientações para a aquisição intermediada de produtos à base de canabidiol por Secretarias de Saúde para atendimento de decisões judiciais ^[58]. Em 2016, a *Cannabis* medicinal foi incluída na lista de plantas e substâncias de controle especial, Portaria n° 344, de 1998, do Ministério da Saúde, possibilitando o registro de medicamento à base dos derivados da planta ^[59]. No mesmo ano, foi divulgada a atualização da lista de

produtos com canabidiol com autorização simplificada para a importação. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 128/2016 acrescentou ao Anexo I da RDC 17/15 mais produtos à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides [60].

Em 2017, as atividades regulatórias se intensificaram ainda mais. A Agenda Regulatória da ANVISA para 2017-2020 incluiu o tema sobre o Canabidiol [61]. Foi divulgada a aprovação do Mevatyl®, primeiro registro no Brasil de medicamento industrializado feito à base de *Cannabis* medicinal [62]. O Grupo de Trabalho (GT) para a discussão dos requisitos de segurança e controle para o cultivo da *Cannabis* medicinal concluiu suas atividades indicando a necessidade de abertura de processo regulatório sobre o assunto [63]. Foi publicada a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 156/2017, que incluiu a *Cannabis* na lista das Denominações Comuns Brasileiras (DCBs) [64] abrindo o caminho para seu registro como medicamento.

Finalizado o Relatório Preliminar de Análise de Impacto Regulatório (AIR) sobre o tema, em 2019, a Diretoria Colegiada (DICOL) aprovou propostas de consultas públicas relacionadas à regulamentação da *Cannabis* medicinal (cultivo da planta para fins medicinais e científicos e registro e monitoramento de medicamentos). Foram publicadas no Diário Oficial da União (D.O.U.) as Consultas Públicas 654 (requisitos para registro e monitoramento) [65] e 655 (requisitos para cultivo) [66]. Após o envio de consultas dirigidas a 29 entidades, solicitando contribuições sobre as propostas normativas, a DICOL aprovou a realização de Audiência Pública para coletar subsídios sobre as propostas em consulta. A Agência passa a discutir a regulamentação da *Cannabis* medicinal no Brasil em Audiências Públicas na Câmara dos Deputados e no Senado, assim como em Audiência Pública interna, reunindo seus diretores e 240 participantes para debater o assunto. Em seguida, foi realizada a análise das contribuições recebidas (1154) durante as Consultas Públicas, Audiência Pública e Consultas Dirigidas, sendo então consolidadas as propostas de regulamentação. Em 11 de Dezembro de 2019 foi publicada, no D.O.U., a RDC nº 327, da ANVISA, que dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, a dispensação, o monitoramento e a fiscalização de produtos de *Cannabis* para fins medicinais, e dá outras providências [67].

Um estudo recente que aborda a questão do custo da judicialização da saúde relacionado à solicitação de medicamentos fornecidos pelo SUS, revela a insuficiência na oferta somada a ineficiência da gestão de recursos públicos como origem desses processos, mas aponta que os mesmos foram responsáveis por um aumento de 5689% nos gastos do Ministério da Saúde entre os anos de 2015 e 2017. A previsão de 7 bilhões de desembolso de estados, municípios e União, correspondendo a cerca de 5% do orçamento total da saúde, aponta que as decisões judiciais visando o direito à vida e à saúde não observam as regras orçamentárias, podendo comprometer ou inviabilizar a realização das políticas de saúde [68].

Finalmente, a recente publicação da RDC nº 327, da Anvisa, em 2019, representa um marco histórico no caminho para a fabricação e importação de produtos da *Cannabis* no Brasil, não resolvendo, entretanto, o paradoxo do acesso aos medicamentos à base de canabinóides uma vez que não foram resolvidas as ações judiciais que envolve o cultivo da planta entre outras, impedindo assim o caminho da inovação em saúde para garantir o amplo acesso.

Discussão do acesso sob novo prisma

Como visto anteriormente, o caminho da judicialização como um meio de garantir o acesso pode comprometer o orçamento da saúde, dada a vigência do teto de gasto no governo federal, instituído por meio da Emenda Constitucional n° 95/2016 [69]. Inovação e acesso são conceitos que pertencem a diferentes áreas de conhecimento, identificadas na dinâmica do setor saúde. No campo farmacêutico, as várias dimensões do conceito de acesso refletem um diferencial de direito e de cidadania, legítima aspiração de bem-estar. Em 2009, a relação entre inovação e acesso foi esclarecida em uma pesquisa, a partir da análise das políticas públicas relacionadas ao desenvolvimento do complexo industrial da saúde [70]. A pesquisa descreve os conceitos de inovação e acesso considerando o enfoque analítico do complexo produtivo e industrial da saúde, sendo os mesmos articulados tanto no lado da oferta, quanto da demanda. A oferta, ligada à inovação, define a competitividade e o desempenho industrial da indústria farmacêutica no mercado de produtos para a saúde. As estratégias de competitividade levam em consideração o investimento e esforço em P&D, assim como a propaganda farmacêutica. Pelo lado da demanda, o acesso está ligado à necessidade de uma determinada solução tecnológica, sendo suas características definidas pelo perfil epidemiológico da população. No caso de produtos farmacêuticos, as soluções tecnológicas permitiriam, em última análise, o acesso efetivo. Casas [70] destaca ainda três pontos relacionados ao acesso:

1. A disponibilidade (availability) dos produtos se defronta com a superação de uma defasagem promovida pela distribuição desproporcional de recursos investidos em P&D, considerando países desenvolvidos e em desenvolvimento, para o estudo de doenças que os afetam;
2. A capacidade de aquisição dos produtos farmacêuticos pela população (affordability), estando relacionada à proteção do conhecimento, da propriedade intelectual que gera o monopólio de mercado e por consequência, a imposição do preço;
3. A propaganda, que induz ao consumo de produtos, contrapondo à doutrina do uso racional de medicamentos e a reivindicação do profissional médico como profissional liberal e sua liberdade de prescrição. Pondera, por fim, que o enfoque do Complexo Industrial da Saúde reconhecendo esta contradição inerente às duas lógicas propõe resolvê-las no âmbito do Estado através da elaboração de políticas que coloquem a saúde como fator endógeno de desenvolvimento e o fortalecimento da base produtiva nacional como elemento estratégico. Uma inovação necessária para o país orientada ao acesso.

Em uma análise recente da experiência brasileira um aumento das capacidades inovadoras no setor farmacêutico brasileiro é evidenciado. Brito e Vargas [71] apresentam uma revisão dos principais argumentos teóricos para justificar uma abordagem “sistêmica” e “inclusiva” das atividades inovadoras no processo de desenvolvimento econômico. Destacam ainda, as recentes mudanças institucionais na estrutura geral da política brasileira de inovação assumindo as bases conceituais do “Complexo Industrial da Saúde” (CIS). O Brasil tem um acúmulo de capacidades com níveis de excelência nas principais áreas científicas da Saúde, podendo se transformar em capacidades inovadoras, ligadas ao setor industrial para o desenvolvimento de novos produtos e processos, entre os quais novos medicamentos. Ressaltam-se, entretanto, a necessidade de superação da incompatibilidade existente entre o grau de capacidade científica e a capacidade limitada de inovação no setor industrial, sendo esta uma questão crítica para a participação do Brasil em novas plataformas tecnológicas estratégicas de inovação em saúde, exigindo para tanto o aumento da dinâmica das ligações entre o Sistema Nacional de Inovação em Saúde e o Complexo Econômico Industrial da Saúde (CEIS). Em seus argumentos, Brito e Vargas [71] ressaltam os seguintes aspectos:

1. A economia global da aprendizagem não oferece caminhos simples e universais para guiar a política de inovação, enfatizando a relevância de um processo de aprendizagem desenvolvido por meio de experimentação e experiência em cada país;
2. A formulação de políticas baseia-se no conhecimento, na experiência e no envolvimento dos principais interessados nos processos de diálogo e tomada de decisão, os quais podem gerar soluções viáveis e bem adaptadas a contextos institucionais específicos. No contexto dos países em desenvolvimento, devem ser considerados os impactos de atividades inovadoras para reduzir a heterogeneidade produtiva, os desequilíbrios regionais e as desigualdades sociais;
3. Na última década, o Brasil implementou um conjunto de políticas destinadas a incentivar a inovação, a fim de reduzir a lacuna tecnológica enfrentada pela indústria local e mitigar as desigualdades sociais e regionais associadas aos processos de inovação;
4. O impacto de inovações incrementais que conduzem ao aumento de produtividade é de grande relevância, representando uma conjugação de uma ideia inovadora e um mercado potencial;
5. No campo da inovação/incorporação tecnológica, destaca-se a área da saúde, uma vez que a assistência à saúde vem incorporando continuamente tecnologias desenvolvidas predominantemente por empresas transnacionais. O setor saúde apresenta especificidades importantes com elevado dinamismo em termos de taxa de crescimento e de competitividade e é constituído por setores econômicos onde a indústria farmacêutica é líder em termos de produção em saúde;
6. O estabelecimento de um programa de Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PPDs) proporciona meios para a transferência de tecnologia entre laboratórios públicos e privados, tornando-se um dos pilares da articulação entre a Política de Saúde e a Política de Inovação, representando entre 2011 e 2014 uma receita de US \$ 4,5 bilhões para os laboratórios públicos, ao mesmo tempo em que entre 2010 e 2015, esses acordos representaram uma economia de aproximadamente US \$ 900 milhões para o governo devido ao processo de negociação de preços.

Resumindo, a questão do acesso a medicamentos, sejam biomedicamentos, essenciais, genéricos ou fitomedicamentos, está ligada a insuficiência ou inexistência da oferta dos mesmos. A insuficiência por sua vez, pode ser uma consequência do alto custo ou mesmo da ineficiência na gestão pública em garantir a oferta. Uma defasagem tecnológica é responsabilizada pela permanência da grande dependência externa de fármacos e insumos terapêuticos, impactando na oferta de novos medicamentos no Brasil. A perspectiva dinâmica e socialmente inclusiva da inovação em saúde registra a criação de dispositivos para lidar com a transferência tecnológica de forma a promover a inovação em medicamentos e sua produção em larga escala, ampliando o seu acesso. Desta forma, as PDPs podem ser vistas como uma alternativa para a produção nacional de medicamentos da *Cannabis*.

A Lei nº 13.243, de 11 de janeiro de 2016, que dispõe sobre incentivos à inovação e à pesquisa científica e tecnológica no ambiente produtivo no Brasil [\[72\]](#), modificando a Lei Nacional de Inovação nº 10.973, de 2 de dezembro de 2004 [\[73\]](#), representou um grande marco político da inovação. Nela, são definidas as possibilidades para o estabelecimento de Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo em diversas modalidades entre Instituições de Ciência e Tecnologia, Empresas privadas e Empresas Públicas. As PDPs foram, ao mesmo tempo, consideradas estratégicas para o Sistema Único de Saúde de acordo com a Portaria nº 2.531, de 12 de novembro de 2014 [\[74\]](#), que redefiniu as diretrizes e os critérios para a lista de produtos estratégicos para o Sistema Único de Saúde (SUS), assim como para o estabelecimento das PDPs, disciplinando os respectivos processos de submissão, instrução, decisão, transferência e absorção de tecnologia, aquisição de produtos estratégicos para o SUS e o respectivo monitoramento e avaliação.

Esta iniciativa instituiu prazos e fases relacionadas ao seu desenvolvimento, estabelecendo em 10 anos o prazo máximo para a execução das fases da parceria, incluindo a finalização da transferência tecnológica.

A discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis sp.*, à luz da inovação em saúde, elucidada como o acesso aos medicamentos, sejam eles biomedicamentos, essenciais, genéricos ou medicamentos desenvolvidos a partir da *Cannabis sp.* encontra-se ligado à insuficiência ou inexistência da oferta dos mesmos. A ausência da oferta possivelmente está relacionada tanto ao custo do desenvolvimento quanto a uma defasagem tecnológica e elevada dependência externa de fármacos e insumos terapêuticos. Sinaliza, ainda, que na perspectiva dinâmica e socialmente inclusiva da inovação em saúde, baseada no enfoque analítico do Complexo Econômico Industrial da Saúde, as PDPs podem ser vistas como uma alternativa para a produção nacional de fitomedicamentos da *Cannabis*, ampliando desta forma o acesso.

Conclusão

A pesquisa do uso medicinal da *Cannabis sp.*, no período entre os anos de 1960 e 1990, demonstrou que a Ciência contribuiu de forma sólida e crescente para a validação do uso medicinal da *Cannabis sp.*, abrindo o caminho para o desenvolvimento tecnológico e inovação de produtos farmacêuticos a base de canabinóides. Entretanto, apesar das robustas evidências científicas do uso medicinal da *Cannabis sp.*, a produção de medicamentos a partir de suas substâncias farmacologicamente ativas ainda se encontra prejudicada pelo legado de sua criminalização ocorrida nos anos de 1940, ao contrário do que ocorreu com a morfina, intensamente utilizada até hoje nas práticas médicas, sendo a mesma derivada do ópio, criminalizado ainda nos anos de 1920.

As decisões judiciais, visando o direito à vida e à saúde, não observam as regras orçamentárias, podendo comprometer ou inviabilizar a realização das políticas de saúde como um todo no país, apresentando desta forma o desafio de se pensar o acesso aos produtos da *Cannabis* em outras bases que não sejam via Judicialização.

A discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis sp.*, à luz da inovação em saúde, elucidada como o acesso aos medicamentos, sejam eles: biomedicamentos, essenciais, genéricos ou medicamentos desenvolvidos a partir da *Cannabis sp.* encontra-se ligado à insuficiência ou inexistência da oferta, ou seja, encontra-se ligado à inovação em saúde. As PDPs podem ser vistas como uma alternativa para a produção nacional de fitomedicamentos da *Cannabis*, ampliando desta forma o acesso.

Para assegurar o êxito das PDPs, medidas regulatórias mais abrangentes são requeridas, considerando a cadeia de desenvolvimento tecnológico e produção, a partir do cultivo da planta, assim como o necessário reconhecimento dos medicamentos, contendo os canabinóides como estratégicos, pelo Sistema Único de Saúde.

Referências

1. Carline EA. A histórica da maconha no Brasil. **J Bras Psiq.** 2006; 55(4):314-317, Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 03 jan. 2020.

2. Barros A, Peres M. **Proibição da maconha no Brasil e suas raízes históricas escravocratas**. *Rev Perif*. 2011; 3(2):1-20. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 03 jan. 2020.
3. Gil AC. **Métodos e técnicas de pesquisa social** / Antônio Carlos Gil. 6ª ed – São Paulo: Atlas, 2008. ISBN: 978-85-224-5142-5. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 03 jan. 2020.
4. Godin B. **The making of science, technology and innovation policy: conceptual frameworks as narratives, 1945-2005**. Centre Urbanisation Culture Société: 2009. 412p. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 03 jan. 2020.
5. Lundvall BA, Borrás S. **The globalizing learning economy: implications for innovation policy – Report based on contributions from seven projects under the TSER programme, DG XII, Commission of the European Union**. 1997. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 04 jan. 2020.
6. Lastres H, Albagli S. **Informação e globalização na era do conhecimento**. Editora: Campus Ltda: 1999. 163p. ISBN: 853520489X
7. Corazza RI, Fracalanza PS. Caminhos do pensamento neo-schumpeteriano: para além das analogias biológicas. *Nova Econ Belo Horiz*. 2004; 14(2):127-155. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 05 jan. 2020.
8. Possas ML. Economia evolucionária neo-schumpeteriana: elementos para uma integração micro-macrodinâmica. *Est Avan*. 2008; 22(63):281-305. ISSN 0103-4014. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 05 jan. 2020.
9. Gibbons M. **The New Production of Knowledge: Dynamics of Science and Research in Contemporary Societies**. *British Library Cataloguing in Publication data*, 1ª ed., 1994. ISBN: 9-787-446-265-871. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 05 jan. 2020.
10. Nelson RR, Winter SG. In search of useful theory of innovation. *Res Pol*. 1977; 6(1): 36-76. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 05 jan. 2020.
11. Schumpeter JA. **The theory of economic development**. Harvard University Press, Cambridge, Mass, 5ª ed., 255p. 1955. ISBN: 9780674879904.
12. Schumpeter JA. **Capitalismo, socialismo e democracia**. Editora: Fundo de Cultura: 1961. 488p. ISBN: 0061330086.
13. Nelson RRW, Sidney G. **An evolutionary theory of economic change**. Cambridge: 1982. ISBN: 0-674-27228-5.
14. Dosi G. Technological paradigms and technological trajectories. *Res Pol*. 1982; 11(1):147-162. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 06 jan. 2020.
15. Lundvall B-Å. **National systems of innovation towards a theory of innovation and interactive learning. Towards a theory of innovation and interactive learning**. Pinter Publishers. 1992. ISBN: 978-1855673380.
16. Freeman MC. The National System of Innovation in historical perspective. *Camb J Econ*. 1995; 19:5-24. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 06 jan. 2020.
17. Lundvall B-Å. **Why the New Economy is a Learning Economy**. Copenhagen Business School, Department of Industrial Economics and Strategy/Aalborg University, Department of Business Studies. 2004; p. 1-13. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 07 jan. 2020.
18. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação**. Conferência realizada em setembro de 2001. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2001. Brasília: DF, 2001. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 07 jan. 2020.

19. Albuquerque EDM, Cassiolato JE. As especificações do sistema de inovação do setor saúde. **Rev Econ Pol.** 22(4): 2002. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 07 jan. 2020.
20. Brasil. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Livro Branco: Ciência, Tecnologia e Inovação / Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia**, 2002. 80p. Resultado da Conferência Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação. ISBN: 85-88063-04-2. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em 07 jan. 2020.
21. CGEE. Centro de Gestão de Estudos Estratégicos. **Avaliação de políticas de ciência, tecnologia e inovação: diálogo entre experiências internacionais e brasileiras**. Brasília: Centro de Estudos Estratégicos, 2008. 249p.; II.; ISBN: 978-85-60755-10-3. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 07 jan. 2020.
22. Gadelha CAG, Quental C, Fialho BDC. Saúde e inovação: uma abordagem sistêmica das indústrias da saúde. **Cad Saúde Públ.** 2003; 19(1): 47-59. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em 08 jan. 2020.
23. Gadelha CAG. O complexo industrial da saúde e a necessidade de um enfoque dinâmico na economia da saúde. **Ciêns Saúde Colet.** 2003; 89(2): 521–535, Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 08 jan. 2020.
24. Alves FNR. Desafio para a inovação em fitomedicamentos no contexto da indústria farmacêutica nacional. **Rev Fitos.** 2005; 1(1):18-29. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 09 jan. 2020.
25. Villas Bôas G. Aspectos críticos na formulação política de um Sistema Nacional de Arranjos Produtivos Locais para o desenvolvimento de medicamentos de origem vegetal em cada bioma brasileiro. **Rev Fitos.** 2005; 1(02):25-29. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 10 jan. 2020.
26. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. Mais saúde: direito de todos: 2008-2011 / Ministério da Saúde, Secretaria-Executiva. 2ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008. 100p. (**Série C. Projetos, Programas e Relatórios**). Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 11 jan. 2020. ISBN 978-85-334-1465-5.
27. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Política nacional de ciência, tecnologia e inovação em saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. 2ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008. 44 p. (**Série B. Textos Básicos em Saúde**). Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 11 jan. 2020. ISBN: 85-334-1241-X.
28. Brasil. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Diretrizes para a Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior**. Brasília: Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. p.23, 2003. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 11 jan. 2020.
29. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Ciência, Tecnologia e Inovação para o desenvolvimento nacional. Proposta da Estratégia Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação**. Brasília, DF, 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 11 jan. 2020.
30. IEDI. Instituto de Estudos para o Desenvolvimento Industrial. **A política de desenvolvimento produtivo**. Brasília: DF, 2008. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 11 jan. 2020.
31. Coutinho LG. **Inovar e investir para sustentar o crescimento**. BNDES. Banco Nacional do Desenvolvimento, 2014. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 12 jan. 2020.
32. Coutinho LG. Regimes macroeconômicos e estratégias de negócios: uma política industrial alternativa para o Brasil no século XXI. In: Lastres HMM, Cassiolato JE, Arroio A, organizadores. **Conhecimento, sistemas de inovação e desenvolvimento**. Rio de Janeiro: Contraponto; 2005. p. 429-48. ISBN: 978-8571082816.
33. Vargas M et al. Inovação na indústria química e biotecnológica em saúde: em busca de uma agenda virtuosa. **Rev Saúde Públ.** 2012; 46: 37-40. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 15 jan. 2020.

34. Delgado IJG. Sistemas de atenção à saúde, Estado e inovação na indústria farmacêutica. **Cad Saúde Publ.** 2016; 32(Sup. 2). Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 15 jan. 2020.
35. Souza YP. **Sínteses e aplicações recentes do $\Delta 9$ -Tetraidrocanabinol (THC) e seus derivados em química medicinal.** 32f. 2017. Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso de Química [Coordenadoria do curso de química] Universidade Federal São-João-Del-Rei, 2017. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 15 jan. 2020.
36. Freeman AM et al. How does (CBD) influence the acute effects of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) in humans? A systematic review. **Neurosci Biobehav Rev.** 2019; 107:696-712. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 15 jan. 2020.
37. Atakan, Z. *Cannabis*, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. **Ther adv psychopharmacol.** 2012; 2(6): 241-254. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 16 jan. 2020.
38. Li H. An archaeological and historical account of *cannabis* in China. **Econ Botany.** 1973; 28:437-448. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 16 jan. 2020.
39. Dewey, W. Cannabinoid pharmacology. **Pharmacol Review.** 1986; 38:151-178. Disponível em: [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 17 jan. 2020.
40. Brenneisen R. Chemistry and analysis of Phyto cannabinoids and other *cannabis* constituents. **Marijuana and the cannabinoids**, capítulo 2, 17-49, 2007. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
41. Pertwee RG, Cascio MG. Known pharmacological actions of delta-9-tetrahydrocannabinol and of four other chemical constituents of *cannabis* that activate cannabinoid receptors. In: Pertwee RG. (Ed.), **Handbook of Cannabis Oxford University Press**, UK. 2014; 115p. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
42. Colizzi M, Bhattacharyya S. *Cannabis* use and the development of tolerance a systematic review of human evidence. **Neurosci Biobehav Rev.** 2018; 93:1-25. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
43. Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ -9 tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ -9 tetrahydrocannabivarin. **Br J Pharmacol.** 2008; 153(2):199-215. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
44. Thomas A, Baillie GL, Phillips AM, Razdan RK, Ross RA, Pertwee RG et al. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. **Br J Pharmacol.** 2007; 150(5):613-623. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
45. Ben-Shabat S, Fride E, Sheskin T, Tamiri T, Rhee MH, Vogel Z et al. An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. **Eur J Pharmacol.** 1998; 353(1):23-31. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
46. King KM, Myers AM, Soroka-Monzo AJ, Tuma RF, Tallarida RJ, Walker EA et al. Single and combined effects of 19-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathic pain. **Br J Pharmacol.** 2017; 174:2832-41. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
47. Karniol IG, Carlini EA. Pharmacological interaction between cannabidiol and delta 9-tetrahydrocannabinol. **Psychopharmacol.** 1973; 33:53-70. Disponível em: [\[PubMed\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
48. Borges DCL, Ugá MAD. Conflitos e impasses da judicialização na obtenção de medicamentos: as decisões de 1ª instância nas ações individuais contra o Estado do Rio de Janeiro, Brasil, em 2005. **Cad Saúde Públ.** 2011; 26(1): 59-69. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.

49. Brasil. **Constituição da República Federativa do Brasil**: promulgada em 5 de outubro de 1988. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
50. Brasil. **Lei Federal nº 8.080**, de 19 de setembro de 1990. Lei Orgânica da Saúde. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília: DF, 1990. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
51. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Medicamentos 2001**/Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
52. WHO Expert Committee on the Selection of Essential Drugs, 17-21 October 1977 - **WHO Technical Report Series, Nº 615 (1st WHO Model List of Essential Medicines)**. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
53. Ventura M, Simas L, Pepe VLE, Schramm FR. Judicialização da saúde, acesso à justiça e a efetividade do direito à saúde. **Physis** [online]. 2010; 20(1): 77-100. ISSN 0103-7331. Disponível em: [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
54. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 388**, de 06 de maio de 2004. Conselho Nacional de Saúde. Brasília, DF, 2004. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
55. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, **RDC nº 17**, de 06 de maio de 2015. Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília, DF, 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 19 jan. 2020.
56. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Pedido de importação do Canabidiol por excepcionalidade aumenta** [Online]. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 16 jan. 2020.
57. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Passo a passo para importação de produtos à base de Canabidiol** [Online]. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em 17 jan. 2020.
58. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota Técnica nº 093/2015-CPCON/GGFIS/SUCOM**. Orientações para a aquisição intermediada de produtos à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides para pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. Brasília, 28 de setembro de 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 17 jan. 2020.
59. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 31 de dez. de 1998.
60. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, **RDC nº 126**, de 02 de dezembro de 2015. Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Produtos à base de Canabidiol em associação com outros canabinóides, dentre eles o THC, em conformidade com o capítulo I - seção II da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 17, de 6 de maio de 2015. Brasília, DF, 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 18 jan. 2020.
61. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agenda Regulatória 2017-2020** [Online]. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em 17 jan. 2020.
62. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Registrado o primeiro medicamento à base de Cannabis medicinal no Brasil** [Online]. Disponível em: [

63. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Maconha: ANVISA não é contra uso para fins medicinais** [Online]. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 16 Dez. 2019.
64. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, **RDC nº 156**, de 05 de maio de 2017. Dispõe sobre a alteração das Resoluções da Diretoria Colegiada - RDC nº 64/2012, nº 29/2013, nº 42/2014, nº 01/2015, nº 11/2015, nº 71/2016 e nº 104/2016, para a inclusão, alteração e exclusão de Denominações Comuns Brasileiras - DCB, na lista completa das DCB da ANVISA. Brasília, DF, 2017. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
65. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Proposta de Consulta Pública nº 654**, de 14 de junho de 2019, que dispõe sobre o monitoramento de medicamentos à base de *Cannabis sp.*, seus derivados e análogos sintéticos. Brasília: DF, ANVISA. 2019. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
66. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Proposta de Consulta Pública nº 655**, de 14 de junho de 2019, que dispõe sobre a proposta de requisitos técnicos e administrativos para o cultivo da planta *Cannabis sp.*, para fins medicinais e científicos, e dá outras providências. Brasília: DF, ANVISA. 2019. Disponível em: [\[Link\]](#). Acessado em 20 jan. 2020.
67. Brasil. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, **RDC nº 327**, de 11 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da autorização sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para comercialização, prescrição, dispensação, monitoramento e fiscalização de produtos derivados da *Cannabis* para fins medicinais. Brasília, DF, ANVISA, 2019. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
68. Laffin NHF, Bonacim CAG. **Custos da saúde: judicialização de medicamentos ofertados pelo SUS**. Anais do XXVI Congresso Brasileiro de Custos. Curitiba: PR. 2019. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso: em 20 jan. 2020.
69. Brasil. **Emenda Constitucional nº 95**, de 15 de dezembro de 2016. Altera o Ato das Disposições Constitucionais Transitórias para instituir o Novo Regime Fiscal e dá outras providências. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
70. Casas CNPR. **O complexo industrial da saúde na área farmacêutica: uma discussão sobre inovação e acesso no Brasil**. Tese de Dourado [Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP] FIOCRUZ, 216p. 2009. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
71. Cassiolato JE, Brito J, Vargas M. Arranjos Cooperativos e Inovação na Indústria Brasileira. In: De Negri JA, Salerno MS. **Inovações, Padrões Tecnológicos e Desempenho das Firms Industriais Brasileiras**. Brasília: IPEA, 2005. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
72. Brasil. Lei de Inovação Tecnológica (**Lei n.º 13.243/16**). Brasília, DF: Congresso Nacional. Atos do Poder Legislativo, D.O.U, n.º 232 de 03.12.2004. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
73. Brasil. Lei de Inovação Tecnológica (**Lei n.º 10.973/2004**). Brasília, DF: Congresso Nacional. Atos do Poder Legislativo D.O.U, n.º 232 de 03.12.2004. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.
74. Brasil. Casa Civil. **Portaria nº 2.531**, de 12 de novembro de 2014, que redefine as diretrizes e os critérios para a definição da lista de produtos estratégicos para o Sistema Único de Saúde (SUS) e o estabelecimento das Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP) e disciplinam os respectivos processos de submissão, instrução, decisão, transferência e absorção de tecnologia, aquisição de produtos estratégicos para o SUS no âmbito das PDP e o respectivo monitoramento e avaliação. Brasília, DF: Congresso Nacional. Atos do Poder Legislativo, D.O.U, 2014. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 20 jan. 2020.

Histórico do artigo | Submissão: 30/01/2020 | **Aceite:** 19/02/2020 | **Publicação:** 20/08/2020

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

Como citar este artigo: Villas Bôas GK, Rezende MA. Discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da *Cannabis* à luz da Inovação em Saúde no Brasil. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2020; 14(2): 259-284. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/960>>. 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.



Revista Fitos

e-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569

Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Telefone: 21- 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

[Visualizar versão vigente online](#)

Última atualização: 31/03/2020

Sumário

1. **Normas para submissão e apresentação do manuscrito**
2. **Processo de Avaliação/Revisão por pares (“peer review”)**
3. **Tipos de artigos publicados**
 - [Artigos de pesquisa](#)
 - [Revisão](#)
 - [Relatos de Experiência](#)
 - [Comunicação Breve](#)
 - [Monografia de Plantas Medicinais](#)
 - [Perspectiva](#)
 - [Resenhas](#)
 - [Carta ao Editor](#)
4. **Informações Gerais do Manuscrito**
 - [Termo de Cessão de Direitos Autorais](#)
 - [Conflito de interesses](#)
 - [Fontes de financiamento](#)
 - [Comitê de Ética](#)
 - [Autorizações ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional](#)
5. **Formatação do Manuscrito**
 - [Aspectos gerais](#)
 - [Título](#)
 - [Resumo e Abstract](#)
 - [Nomenclatura Botânica](#)
 - [Palavras-chave e Keywords](#)
6. **Seções em Artigos de Pesquisa, Revisão, Relato de Experiência e Comunicação Breve**
 - [Introdução](#)
 - [Metodologia / Material e Métodos](#)
 - [Resultados](#)
 - [Discussão](#)
 - [Conclusão](#)

- [Agradecimentos](#)
- [Abreviaturas](#)
- [Unidades de Medida e Números](#)
- [Comunicações Verbais](#)
- [Citações no texto](#)
- [Referências](#)

7. Exemplos de referências

- [Artigo de Periódico](#)
- [Artigo de periódico eletrônico](#)
- [Artigo de jornal](#)
- [Livro completo](#)
- [Livro em formato eletrônico](#)
- [Capítulo de livro](#)
- [Capítulo de livro cujo autor é o mesmo da obra](#)
- [Capítulo de livro - autor/colaborador](#)
- [Tese / Dissertação / Monografia](#)
- [Trabalho publicado em anais de eventos científicos](#)
- [Trabalhos aceitos para publicação \(Ahead of Print\)](#)
- [Trabalhos inéditos \(submetidos à aceitação de uma editora, sem ter atingido a fase de publicação\)](#)
- [Patente](#)
- [Legislativa](#)
- [Base de Dados](#)
- [Documentos de Associações/Organizações](#)

1. Normas para submissão e apresentação do manuscrito

A Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) é um periódico interdisciplinar de publicação trimestral que tem por objetivo divulgar e promover a produção científica e o intercâmbio de informações entre a comunidade nacional e internacional, através da publicação de artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) em Biodiversidade e Saúde, aceitando submissão de trabalhos de diferentes áreas do conhecimento, tais como: Agroecologia, Botânica, Ciências Farmacêuticas (Farmácia; Farmacotecnia; Análise e Controle de Medicamentos e afins), Educação e Conhecimento, Etnociências (Etnobotânica e Etnofarmacologia), Engenharia de Medicamentos e Produtos Naturais, Farmacologia (Farmacologia Clínica), Política e Gestão (Políticas Públicas; Política e Planejamento Governamental; Crescimento Econômico e Saúde Pública), Química, Toxicologia e outras áreas afins.

O conteúdo integral da Revista Fitos de livre acesso, está disponibilizado no site <http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/>, com licença de publicação CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

A Revista Fitos publica em português, inglês e espanhol, nos seguintes formatos: artigo original de pesquisa, revisão crítica, relato de experiência, comunicação breve, monografia de plantas medicinais, perspectiva, resenha e carta. Os manuscritos de pesquisas envolvendo animais e/ou seres humanos deverão ser acompanhados do Certificado de Aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa institucional.

Todos os artigos são publicados em formato PDF, em português, inglês (grafia do inglês americano ou britânico) e espanhol e devem ser submetidos neste idioma. O Título e o Resumo dos manuscritos em português são obrigatórios mesmo para os manuscritos redigidos em inglês ou espanhol.

2. Processo de Avaliação/Revisão por pares (“peer review”)

O conteúdo integral publicado na Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) passa pelo processo de revisão por (Peer review) especialistas. Os manuscritos submetidos são direcionados aos editores científicos, para avaliação inicial quanto ao atendimento às normas requeridas para envio dos originais e o mérito do trabalho, decidindo assim, sobre a aprovação de sua submissão, com ou sem alterações. Na sequência, o artigo é enviado para um processo de avaliação por pares, duplo-cega, selecionados de um cadastro de revisores de instituições nacionais e internacionais. Após receber os pareceres, os Editores Científicos/Associados decidirão pela aceitação do manuscrito sem modificações, pela devolução aos autores com sugestões de modificações ou pela rejeição. Os Editores Científicos/Associados têm a responsabilidade de reencaminhar o artigo aos autores para esclarecimentos, tantas vezes quanto necessário, e, a qualquer momento, por decisão dos Editores o documento pode ter sua recusa determinada. Cada nova versão é analisada pelo Editor Científico, que detém o poder da decisão final.

3. Tipos de artigos publicados

Artigos de pesquisa: Incluem estudos descritivos e experimentais, incluindo os de pesquisa básica com animais de laboratório, estudos controlados e randomizados, estudos observacionais de coorte, caso-controle e transversais, outros. O texto deve ter no máximo 6.000 palavras, excluindo tabelas/ figuras e referências; o número de referências não deve ultrapassar 30. Artigos que relatam ensaios clínicos (clinical trials) deverão informar adesão ao CONSORT (<http://www.consort-statement.org/>) e ter cadastro em um dos Registros de Ensaios Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde ou no National Institute of Health (NIH) (www.clinicaltrials.gov). Em casos de submissão de estudos observacionais, solicita-se adesão aos guias do STROBE (<https://www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home>) para a preparação do manuscrito.

Revisão: Avaliações críticas e ordenadas da literatura sobre temas pertinentes ao escopo da Revista Fitos, incluindo as Revisões Sistemáticas e meta-análises. Os autores destes últimos, devem incluir no corpo do manuscrito o número do Registro do protocolo da Revisão no PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>). Para a elaboração do manuscrito os autores devem seguir as normas propostas pelo PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>). Autores podem também submeter à Equipe Editorial Científica uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 8.000 palavras, excluindo referências e tabelas/figuras. As referências bibliográficas devem ser atuais e em número máximo de 40.

Relatos de Experiência: Descrição de experiência que contribua de forma relevante para a área de atuação, contextualizado, com objetividade e aporte teórico, incluindo resumo, introdução com marco

teórico e objetivo(s), metodologia, descrição da experiência, discussão, agradecimento (quando houver). O texto deve ter até 6.000 palavras e 20 referências. Serão permitidas, no máximo 04 figuras. As figuras podem ser organizadas sob a forma de prancha. Cada prancha será considerada como uma figura.

Comunicação Breve: Relato de resultados preliminares de pesquisa, ou ainda, de estudos originais que possam ser apresentados como revisão ou na estrutura de artigo, mas de forma sucinta, com o máximo de 1.700 palavras.

Monografia de Plantas Medicinais: Visam agrupar, padronizar e sistematizar o conhecimento das características e propriedades das plantas medicinais para orientar registro nos órgãos de regulamentação. Texto contendo, no máximo, 3.500 palavras.

Perspectiva: Análises de temas conjunturais, de interesse imediato e sobre a importância do tema, em geral a convite dos Editores, com o máximo de 2.200 palavras.

Resenhas: resenha crítica de livro, dissertações, teses e outros, publicado nos últimos dois anos, com o máximo 1.200 palavras.

Carta ao Editor: Comentários com conteúdo crítico construtivo acerca de material previamente publicado na Revista Fitos. E, ser diretamente submetidas aos Editores Associados. Com, no máximo, 700 palavras, incluindo no máximo seis (6) referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta. Editoriais e comentários são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

4. Informações Gerais do Manuscrito

A Revista Fitos publica artigos científicos inéditos e originais, que não estejam em avaliação simultânea em nenhum outro periódico, cuja identificação fará com que o manuscrito seja desconsiderado para publicação.

- O [Termo de Cessão de Direitos Autorais](#) deverá ser preenchido e assinado individualmente, por todos os autores, e inserido no sistema no momento da submissão do manuscrito.
- Os conceitos e opiniões expressos nos manuscritos, a exatidão e a procedência das citações, são de exclusiva responsabilidade dos autores.
- Caso haja conflito de interesse, que envolva o manuscrito, este deverá ser informado no formulário de submissão.
- Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado de auxílio à pesquisa.
- Caso o trabalho envolva estudos em humanos ou animais, os manuscritos deverão estar acompanhados dos respectivos Pareceres do Comitê de Ética em Pesquisa, emitidos pela instituição de origem do(s) autor(es).
- As autorizações para acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado devem ser apresentadas.

5. Formatação do Manuscrito

- O manuscrito deve ser redigido com fonte Arial tamanho 12, em folha configurada em tamanho A4, com espaço 1,5 e margem de 3 cm de cada um dos lados, incluindo as referências bibliográficas e títulos/legendas de tabelas e ilustrações.
- O arquivo deverá apresentar-se em formato digital, extensão “doc” ou “docx”. Arquivos em Adobe® PDF format (.pdf files) não serão aceitos.
- As seções do manuscrito devem seguir a ordem: título, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto), figuras (cada figura completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto).
- O Título e os Subtítulos, em negrito, deverá ter a primeira palavra escrita com a primeira letra maiúscula.
- Não serão aceitas notas de rodapé.
- Siglas devem ser escritas por extenso, quando aparecem a primeira vez no texto, incluindo Resumo e Abstract.

Título

O título do manuscrito deve ser conciso e informativo, evitando termos supérfluos e abreviaturas, em negrito, no idioma do manuscrito (português, inglês ou espanhol) e em inglês, com o máximo de 120 caracteres, incluindo espaços. O Título e o Resumo dos manuscritos em português são exigidos quando da submissão e envio da versão final para aqueles em inglês e espanhol.

Resumo e Abstract

- Só não se aplica a perspectiva, resenha e carta.
- O resumo e o abstract devem conter, no máximo, 200 palavras ou 1.200 caracteres, evitando o uso de abreviaturas, contendo apresentação concisa dos pontos relevantes do trabalho em um único parágrafo, expondo objetivo, metodologia, resultados e conclusão.
- No abstract, evitar traduções literais.

Importante: O resumo no idioma original deverá também ser inserido nos metadados (formulário de submissão do manuscrito). Terminada a inserção do resumo no formulário, o responsável pela submissão deverá alterar o idioma do formulário e preencher os campos traduzidos.

Nomenclatura Botânica

Os nomes científicos das plantas devem ser escritos de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, sem abreviaturas no resumo/abstract e no corpo do texto, para cada espécie citada pela primeira vez, mas quando várias espécies pertencerem ao mesmo gênero basta citar apenas para a primeira (por exemplo, *Mentha piperita* e *M. acuta*). A autoria da espécie (por exemplo, L., Opiz) é necessária apenas na seção de Metodologia, de acordo com o The International Plant Names Index

(www.ipni.org) e com a Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>). Cultivares ou variedades devem ser correlacionados ao nome científico (por exemplo, *Ximenia americana* var. *inermis*). Os autores devem informar na Metodologia/Material e Métodos o espécime e número do voucher de referência das plantas utilizadas ou outro material examinado.

Palavras-chave e Keywords

- Após o resumo dos artigos originais, relatos de caso ou revisões, indicar de três (3) a seis (6) palavras-chave e **Keywords**, usadas para indexação, que representem o conteúdo do manuscrito, facilitando a recuperação da informação.
- Utilize termos do Medical Subject Headings (MeSH), disponíveis em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>. Quando não estiverem disponíveis descritores adequados é possível utilizar termos livres.
- As palavras-chave deverão ser escritas em português ou espanhol e inglês, fazendo a alteração de idioma do formulário, com somente a primeira letra em maiúscula e separadas por ponto. As keywords deverão ser em inglês.

6. Seções em Artigos de Pesquisa, Revisão, Relato de Experiência e Comunicação Breve

Introdução

Clara, objetiva, sucinta, citando apenas referências estritamente relacionadas ao tema que justifique a realização do trabalho, informando as hipóteses iniciais (quando houver) e o referencial teórico atualizado. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

Metodologia / Material e Métodos

A Metodologia ou Material e Métodos deverá descrever os instrumentos de coleta de dados, os materiais usados e os mecanismos de análise dos dados, incluindo o desenho de estudo, definição de variáveis, análise estatística. Os procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo.

Os estudos em seres humanos e/ou em animais, é obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde.

As Revisões deverão informar as fontes dos dados, descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados, apresentar a estratégia de busca, os critérios de elegibilidade dos estudos, a análise do risco de viés dos estudos incluídos, a extração de dados e a estratégia de avaliação das informações (em caso de Revisões Sistemáticas). Nos casos de revisões sistemáticas, com ou sem meta-análises, os autores devem seguir o PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>).

Resultados

Devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto.

Os Resultados deverão ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica, informando os principais dados, quantitativos ou qualitativos, intervalos de confiança e significância, a estatística dos achados. Sempre que necessário, deverão estar acompanhados de tabelas e figuras adequadas.

Discussão

A Discussão deverá ser restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se inferências não baseadas nos mesmos, mas confrontando aos dados e teoria já descritos na literatura, publicados e referenciados. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. Os autores devem dar igual ênfase aos achados favoráveis e desfavoráveis que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

As seções de Resultados e Discussão poderão ser apresentados num único tópico.

Conclusão

Apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão e responder os objetivos do estudo, evitando informações se inferências não sustentadas pelos achados.

Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos. Somente devem ser mencionadas as pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria.

Abreviaturas

Devem ser evitadas, pois prejudicam a leitura confortável do texto. Quando usadas, devem ser definidas ao serem mencionadas pela primeira vez. Jamais devem aparecer no título e nos resumos.

Unidades de Medida e Números

A Revista Fitos adota o Systéme International d'Unités (SI). Para volume, usar metro cúbico (e.g. 1×10^{-5} m³) ou litro (e.g. 5 µL, 5 mL, 5 L). Para concentrações, usar µM, µmol L⁻¹ or mg L⁻¹. Para tamanho e distância usar (cm, mm, µm, etc) e seja consistente no manuscrito.

Números abaixo de nove devem ser escritos, com exceção das medidas, os acima de dez, devem ser indicados em numerais, desde que não estejam em início de sentença.

Comunicações Verbais

A transcrição de comunicação verbal, decorrente de entrevistas, ou similar, deverá estar em itálico ou entre aspas, no tamanho 10, com recuo de 4 cm, na sequência do texto.

Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação “dado não publicado” ou “comunicação pessoal” entre parênteses no corpo do artigo.

Citações no texto

Todas as citações deverão estar informadas no texto, numeradas, entre chaves e na sequência da sua apresentação no texto, separadas entre vírgulas no caso de mais de duas citações sequenciais ou citações múltiplas.

As citações diretas, com mais de três linhas, deverão ser transcritas em parágrafo independente, com recuo de margem de 4 cm à direita, fonte 10, espaço 1, sem aspas.

Referências

As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo Uniform Requirements.

As referências devem ser numeradas e ordenadas na sequência das citações no texto. As citações no texto devem ser identificadas por algarismos arábicos, entre chaves e sobrescritos. Seguir a sequência da numeração das citações, também, nas tabelas, caso haja.

Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados podem ser citados desde que seja feita a indicação da revista e que o respectivo artigo está na pré-publicação em “Ahead of Print”.

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtidas através da publicação da NLM “List of Serials Indexed for Online Users”, disponível no endereço www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html.

A seguir, apresentamos alguns exemplos do modelo adotado pela Revista Fitos.

7. Exemplos de referências

Artigo de Periódico

Carlini EA, Duarte-Almeida JM, Rodrigues E, Tabach R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Rev Bras Farmacogn.** 2010; 20 (2): 140-6. ISSN: 0102-695X. [[CrossRef](#)]

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood-leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. **Br J Cancer** 1996; 73 (8):1006-12. [[PubMed](#)]

Se o número for suplementar ou especial, indique-os respectivamente pelos termos “Supl” ou “(nº esp.)” após o volume.

Artigo de periódico eletrônico

Autor. Título do artigo. Título da publicação seriada. [tipo de suporte]. Ano. Volume (n.º) [acesso dia, mês e ano]; paginação ou indicação de tamanho. Disponibilidade de acesso.

Clark SC. The industrial arts paradigm: adjustment, replacement or extinction?. **J of Technol Educ** [online]. 1989; Fall [acesso 15 mar. 1995]; 1(1). Disponível em: URL: <http://scholar.lib.vt.edu/ejournals/JTE/v1n1/backup/clark.jte-v1n1.html>.

Artigo de jornal

Santos JA. Por que luta Portugal na África. O Estado de São Paulo 1967 maio 28; p. 64.

Biblioteca climatiza seu acervo. O Globo, Rio de Janeiro, 1985 mar 4.; p.11, c.4.

Livro completo

Iverson C, Flanagan A, Fontanarosa PB, Glass RM, Glitman P, Lantz JC, et al. **American Medical Association Manual of Style: a guide for authors and editors**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. ISBN-13: 9780195176339.

Livro em formato eletrônico

Autoria. Título. [suporte]. Produtor. Edição. Versão. Local (cidade): Editora; ano [acesso dia, mês e ano]. Disponibilidade de acesso.

Killings DB, ed. Anglo-Saxon chronicle [on-line]. Berkeley, United States: Berkeley Digital Library; 1995 July [acesso em 03 nov. 1998] Disponível em: URL: <http://sunsite.berkeley.edu>.

Capítulo de livro

Abbas AK, Lichtman AH. **Imunologia básica**. 2ª ed. São Paulo: Elsevier; 2007. ISBN: 9788535254914.

Capítulo de livro cujo autor é o mesmo da obra

Ronan CA. **História ilustrada da Ciência da Universidade de Cambridge**. Rio de Janeiro: Zahar; 1983. p. 30-5. ISBN: 9788585061685.

Capítulo de livro - autor/colaborador

Zanella MT. **Obesidade e fatores de risco cardiovascular**. In: Mion Jr D, Nobre F, editores. Risco cardiovascular global: da teoria à prática. 2ª ed. São Paulo: Lemos Editorial; 2000. p. 109-25.

Tese / Dissertação / Monografia

Autor. Título e nº de páginas. Localidade; ano de apresentação. Grau (tese, dissertação ou monografia) [Programa de Pós-Graduação em...] – Instituição onde foi apresentada.

Duque SS. **Avaliação técnica de PCR na detecção de fatores de virulência *Escherichia coli* diarreiogênia empregando culturas fecais primárias**. Rio de Janeiro; 2000. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular e Celular] - Instituto Oswaldo Cruz.

Lima N. Influência da ação dos raios solares na germinação do nabo selvagem. Campinas, 1991. Tese de Doutorado [Programa de pós-graduação em Ciências Agrárias] Universidade de Campinas.

Trabalho publicado em anais de eventos científicos

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, eds. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

Anais do 4º Congresso Paulista de Saúde Pública; 1993 jul. 10-14; São Paulo, Brasil. São Paulo: Associação Paulista de Saúde Pública; 1995.

Trabalhos aceitos para publicação (Ahead of Print)

Nascimento E, Mayrink W. Avaliação de antígenos de *Cysticercus cellulosae* no imunodiagnóstico cisticercose humana pela hemaglutinação indireta. **Rev Inst Trop** 1984. (Ahead of Print)

Trabalhos inéditos (submetidos à aceitação de uma editora, sem ter atingido a fase de publicação)

Silvestre P. Golpe de aríete: método gráfico. Belo Horizonte: Ed. UFMG; 1988. (Inédito)

Patente

Autor(es), seguido da expressão inventor(es); depositante. Título da patente. Sigla do País, seguido da expressão patente, e nº da mesma. Data de publicação da patente.

Paulo César da Fonseca, inventor. Produto Erlan LTDA., depositante. Ornamentação aplicada à embalagem. BR patente C.I.10-3-6. DI2300045. 12 set. 1983; 28 maio 1985.

Legislativa

Competência (país, estado ou cidade). Título. (especificação da legislação, número e data). Ementa. Título da publicação oficial. Local (cidade), data (dia, mês abreviado e ano). Seção, paginação.

Brasil. Ministério da Educação e Cultura. Secretaria da Cultura. **Portaria n.º 23**, de 26 de outubro de 1982. Modifica o Plano Nacional de Microfilmagem de Periódicos Brasileiros criado pela **Portaria DAC n.º 31**, de 11 de dezembro de 1978. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, 1 dez. 1982; Seção 1, v.120, n.227, p.22438.

Base de Dados

BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da saúde. Lilacs - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. Disponível em: [\[Link\]](#) Acesso em: 27 ago. 2009.

Documentos de Associações/Organizações

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009. Influenza and other Influenza Viruses. 91p. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 28 ago. 2009.

Antes de submeter o manuscrito é importante:

- a) **testar todos os hiperlinks das referências**; passando o mouse por cima dos hiperlinks verifique se os endereços informados estão corretos.
- b) **impessoalidade**: O trabalho é resultado da investigação cientificamente fundamentada do autor sobre determinado assunto, não cabendo um relato pessoal sobre o trabalho, haja vista que o estudo deverá ser acessível à comunidade científica sempre que outro estudioso necessitar explorar o assunto em questão, logo deve ser redigido em terceira pessoa, caracterizando o teor universal da pesquisa desenvolvida;
- c) **estilo científico**: deve ser informativo, racional, baseado em dados concretos, onde podem ser aceitos argumentos de ordem subjetiva, desde que explanados sob um ponto de vista científico;
- d) **vocabulário técnico**: a comunicação científica deve ser feita com termos comuns, que garantam a objetividade da comunicação, sendo, porém que cada área científica possui seu vocabulário técnico próprio que deve ser observado;
- e) **correção gramatical**: a observação da correção do texto deve ser feita com cuidado, evitando-se o uso excessivo de orações subordinadas em único parágrafo, o excesso de parágrafos, lembrando que cada parágrafo encerra uma pequena ideia defendida no texto, logo, encerrada a ideia, muda-se o parágrafo.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

