

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

**Ácido rosmarínico: contribuição ao estudo de sua biodisponibilidade oral,
complexação com ciclodextrina e pré-formulação de comprimidos**

KLEYTON SANTOS VERAS

PORTO ALEGRE, 2021

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

**Ácido rosmarínico: contribuição ao estudo de sua biodisponibilidade oral,
complexação com ciclodextrina e pré-formulação de comprimidos**

Tese apresentada por **Kleyton Santos Veras** como requisito prévio para obtenção do GRAU DE DOUTOR em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dr. Letícia Scherer Koester

PORTO ALEGRE, 2021

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 27.09.2021, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Teresa Cristina Tavares Dalla Costa
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Elenara Marina Teixeira Lemos Senna
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Bianca Ramos Pezzini
Universidade Federal de Santa Catarina

CIP - Catalogação na Publicação

Veras, Kleyton Santos
Ácido rosmarínico: contribuição ao estudo de sua biodisponibilidade oral, complexação com ciclodextrina e pré-formulação de comprimidos / Kleyton Santos Veras. -- 2021.
294 f.
Orientadora: Letícia Scherer Koester.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. ácido rosmarínico. 2. ciclodextrina. 3. biodisponibilidade. 4. compatibilidade. I. Koester, Letícia Scherer, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento Galênico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com financiamento CNPq e CAPES. O autor recebeu bolsa de estudos da CAPES.

APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente tese foi redigida na forma de capítulos. Assim, este exemplar encontra-se estruturado da seguinte forma:

- Introdução;
- Objetivo geral e objetivos específicos;
- Revisão da literatura;
- Capítulo I – Technological strategies applied for rosmarinic acid delivery through different routes – A review;
- Capítulo II – Oral pharmacokinetics of hydroxycinnamic acids: An updated review;
- Capítulo III – Cyclodextrin-based delivery systems and hydroxycinnamic acids: interactions and effects on crucial parameters for oral bioavailability – A review;
- Capítulo IV – Evaluation of complexation with methyl- β -cyclodextrin on water solubility, thermal and gastrointestinal stabilities, and permeability of rosmarinic acid;
- Capítulo V – Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques;
- Discussão geral;
- Conclusões parciais;
- Perspectivas;
- Referências.

RESUMO

O ácido rosmarínico (AR) é um composto fenólico que possui múltiplas atividades biológicas, porém baixa biodisponibilidade, que pode estar relacionada à sua solubilidade aquosa, estabilidade físico-química e permeabilidade no trato gastrointestinal. A complexação com ciclodextrinas (CD) vem sendo uma alternativa tecnológica amplamente utilizada para propiciar aumento de biodisponibilidade de fármacos e os complexos são encontrados no mercado farmacêutico principalmente na forma farmacêutica de comprimidos. Baseado nisso, este trabalho teve como objetivos realizar levantamento da literatura condizente com o tema, avaliar o efeito da complexação do AR com metil- β CD (M β CD) sobre a sua solubilidade aquosa, estabilidade térmica e gastrointestinal e permeabilidade e realizar estudo de compatibilidade com excipientes comumente utilizados na produção de comprimidos. Inicialmente, revisões de literatura relatando as vias de administração e sistemas de liberação aplicados ao AR e biodisponibilidade oral e estudos de complexação com CDs do AR e seus derivados foram realizadas. Posteriormente, complexo do AR e M β CD foram obtidos por método de suspensão em água seguido de liofilização, caracterizados por cromatografia líquida, infravermelho (FTIR), calorimetria diferencial exploratória (DSC), termogravimetria (TG) e ressonância magnética nuclear de próton (H^1 RMN) e submetidos a avaliação de solubilidade aquosa, estabilidade térmica e gastrointestinal e permeabilidade. Para o estudo de compatibilidade, misturas binárias (1:1) entre AR e excipientes foram obtidas e submetidas a análise de DSC, TG, FTIR, ressonância magnética nuclear em estado sólido e estresse isotérmico. As revisões demonstraram que o AR vem sendo administrado por diferentes vias e veiculado a variados sistemas de liberação. Sua biodisponibilidade oral, bem como a de alguns dos seus derivados, é baixa, e a complexação com CDs permanece como uma das alternativas tecnológicas pouco exploradas ao aumento da absorção oral. O complexo obtido apresentou um teor de 0,33 mg/mg e mudanças físico-químicas foram detectadas por FTIR, DSC e TG, sugerindo a complexação do AR com M β CD, a qual foi confirmada pelo método H^1 RMN. A complexação foi capaz de aumentar a solubilidade aquosa e estabilidade do AR, sem afetar a sua partição óleo/água, porém os testes de permeabilidade foram inconclusivos. No estudo de compatibilidade, celulose microcristalina e polivinilpirrolidona não apresentaram incompatibilidades com o AR, enquanto croscarmelose de sódio e estearato de magnésio promoveram sua degradação. Desta forma, conclui-se que o AR e seus derivados possuem baixa disponibilidade quando administrados por via oral e poucos estudos, até o momento, utilizaram a complexação com CDs com intenção de melhorar esta característica. A complexação com M β CD se apresenta como uma abordagem tecnológica promissora para aumento da absorção do AR por via oral por propiciar melhores características biofarmacêuticas. Por meio da avaliação de compatibilidade AR-excipientes, pode ser estabelecido que croscarmelose de sódio e estearato de magnésio são excipientes que necessitam mais atenção no processo de manipulação para produção de forma farmacêutica que contenha o AR.

Palavras-chave: ácido rosmarínico, ciclodextrinas, biodisponibilidade, compatibilidade.

ABSTRACT

Rosmarinic acid (RA) is a phenolic compound that has multiple biological activities, but low bioavailability, which may be related to its aqueous solubility, physicochemical stability, and permeability in the gastrointestinal tract. Complexation with cyclodextrins (CDs) has been a widely used technological alternative to increase the bioavailability of drugs and the complexes are found in the pharmaceutical market, mainly in the pharmaceutical form of tablets. Based on this, this work aimed to survey the literature consistent with the topic, to evaluate the effect of the complexation of RA with methyl- β CD (M β CD) on its aqueous solubility, thermal and gastrointestinal stability, and permeability, and to perform a compatibility study with excipients commonly used in the production of tablets. Initially, literature reviews reporting routes of administration and delivery systems applied to AR and oral bioavailability and complexation studies with CDs of RA and their derivatives were performed. Subsequently, RA and M β CD complex was obtained by suspension in water method followed by freeze-drying, characterized by liquid chromatography, infrared (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TG) and proton nuclear magnetic resonance (H^1 NMR) and submitted to evaluation of aqueous solubility, thermal and gastrointestinal stability, and permeability. For the compatibility study, binary mixtures (1:1) between RA and excipients were obtained and submitted to DSC, TG, FTIR, solid-state nuclear magnetic resonance, and isothermal stress analysis. Reviews showed that RA has been administered by different pathways and several delivery systems have been applied to it. Its oral bioavailability, as well as some of its derivatives is low and complexes with CDs remains one of the scarcely-explored technological alternatives to increase oral absorption. The obtained complex had a content of 0.33 mg/mg and physicochemical changes were detected by FTIR, DSC, and TG, suggesting the complexation of RA with M β CD, which was confirmed by the H^1 NMR method. The complexation was able to increase the aqueous solubility and stability of the RA, without affecting its oil/water partition, but the permeability tests were inconclusive. In the compatibility study, microcrystalline cellulose and polyvinylpyrrolidone did not show incompatibilities with RA, while croscarmellose sodium and magnesium stearate promoted its degradation. Thus, it is concluded that RA and its derivatives have low availability when administered orally and few studies, so far, have used complexation with CDs with the intention of improving this characteristic. Complexation with M β CD presents itself as a promising technological approach to increase oral absorption of RA by providing better biopharmaceutical characteristics. From the RA-excipient compatibility assessment, it can be established that croscarmellose sodium and magnesium stearate are excipients that need more attention in the handling process for the production of a pharmaceutical form containing RA.

Keywords: rosmarinic acid, cyclodextrins, bioavailability, compatibility.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Estrutura do ácido rosmarínico.

Figura 2. Estruturas da α , β e γ CD (CRINI, 2014).

Capítulo I

Figure 1. Molecular structure of rosmarinic acid.

Figure 2. (A) Technological strategies, (B) routes of administration, and (C) RA issues reported in the studies.

Figure 3. Structural representation of RA/ β CD complexes according to the studies of (A) Medronho et al. (2014) [68] and (B) Aksamija et al. (2016) [70].

Figure 4. Structural representation of RA/CH-PE complex at low (A) and high (B) molar ratios (adapted from references [75,76]).

Figure 5. Structural representation of RA cross-linked with TMPGDE (adapted from reference [113]).

Capítulo II

Figure 1. Chemical structure of HCAs.

Figure 2. Number of violations for HCAs in each prediction rule.

Figure 3. Scheme of processes involved in oral absorption of RA, its remaining fraction after gastrointestinal stability (Fgi), intestinal absorption (FCaco-2), hepatic metabolism (FHepG2), and total oral bioavailability (Fabs) evaluated by in vitro methods.

Capítulo III

Figure 1. Chemical structures of HCAs.

Figure 2. Percentage of studies published with each (a) HCA and (b) type of CD.

Figure 3. Molecular arrangement of the CGA: β CD ((a) and (b)) and RA: β CD complexes ((c) and (d)).

Capítulo IV

Figure 1. FTIR spectra of (a) RA, (b) RA:M β CD FD, (c) RA:M β CD PM, and (d) M β CD.

Figure 2. DSC curves of (a) RA, (b) RA:M β CD FD, (c) RA:M β CD PM, and (d) M β CD.

Figure 3. TG (A) and DTG (B) curves of (a) RA, (b) RA:M β CD FD, (c) RA:M β CD PM, and (d) M β CD.

Figure 4. ^1H NMR spectra of (a) RA, (b) RA:M β CD FD, and (c) M β CD.

Figure 5. RA water solubility in alone and complexed forms. Different letter means statistical difference ($p < 0.05$).

Figure 6. Content of RA alone and complexed RA form in the gastric and intestinal phases. Different letters mean statistical difference ($p < 0.05$).

Figure 7. Log of distribution coefficient (log D) (bars) and content in the octanol

phase (symbols) of RA in alone and complexed forms. Different letters mean statistical difference ($p < 0.05$).

Capítulo V

Figure 1. Rosmarinic acid chemical structure and carbons assignments.

Figure 2. DSC, TG, and DTG curves of RA.

Figure 3. DSC curves of (a) RA, (b) RA/HPMC BM, (c) RA/MCC BM, (d) RA/LAC BM, (e) RA/PVP BM, (f) RA/TALC BM, (g) RA/CCS BM and (h) RA/MgSTE.

Figure 4. TG (A) and DTG (B) curves of (a) RA, (b) RA/HPMC BM, (c) RA/LAC BM, (d) RA/CCS BM and (e) RA/MgSTE.

Figure 5. FTIR spectra of (a) RA, (b) RA/HPMC BM, (c) RA/MCC BM, (d) RA/LAC BM, (e) RA/PVP BM, (f) RA/TALC BM, (g) RA/CCS BM and (h) RA/MgSTE.

Figure 6. Dendrogram for RA and BMs.

Figure 7. Plot of the Pearson's correlation (r) of BMs.

Figure 8. Deconvoluted ssNMR spectra of (a) RA, (b) RA/TALC BM and (c) RA/MgSTE BM.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Características químicas de CD naturais e de algumas derivadas (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

CAPÍTULO I

Table 1. Parameters that affect the absorption of drugs by oral and dermal/transdermal administration and their limits according to the prediction rules.

Table 2. Physicochemical properties of RA.

Table 3. Summary of technological strategies applied for RA delivery.

CAPÍTULO II

Table 1. Physicochemical properties of HCAs.

Table 2. Pharmacokinetic parameters of oral administration of HCAs.

CAPÍTULO III

Table 1. Studies in the literature reporting the interaction of HCAs with CDs.

Table 2. Methods applied in the complexation studies of HCAs with CDs for determination of the stoichiometric ratio and binding constant and their results.

CAPÍTULO IV

Table 1. FTIR bands of RA alone and in RA:M β CD FD and RA:M β CD PM.

Table 2. Thermal events and mass variation (Δm) of the samples.

Table 3. Chemical shifts of the RA and M β CD alone and complexed form.

Table 4. Coefficient of determination (R^2) and first-order kinetic parameters for each temperature of RA and RA:M β CD FD complex*.

Table 5. Activation energy (E_a) and first-order kinetic parameters at 25 °C for RA and RA:M β CD FD.

CAPÍTULO V

Table 1. Excipients used in the compatibility study.

Table 2. Temperatures and ΔH values for RA in pure form and in BMs.

Table 3. Thermal events for RA and BMs.

Table 4. ^{13}C shifts observed for RA in pure form and in BMs.

Table 5. RA content and physical changes of RA in the presence of excipients.

Table 6. Summary of compatibility study results.

SUMÁRIO

Introdução	19
Objetivos	23
Objetivo geral	25
Objetivos específicos	25
Revisão da literatura	27
Ácido rosmarínico (AR)	29
Atividade antioxidante do AR	30
Farmacocinética do AR após administração oral	32
Abordagens tecnológicas aplicadas à administração oral do AR	33
Complexação com ciclodextrinas (CDs)	34
Compatibilidade com excipientes	38
Capítulo I – Technological strategies applied for rosmarinic acid delivery through different routes – A review	41
Capítulo II – Oral pharmacokinetics of hydroxycinnamic acids: An updated review	113
Capítulo III – Cyclodextrin-based delivery systems and hydroxycinnamic acids: interactions and effects on crucial parameters for oral bioavailability – A review	157
Capítulo IV – Evaluation of complexation with methyl- β -cyclodextrin on water solubility, thermal and gastrointestinal stabilities, and permeability of rosmarinic acid	197
Capítulo V – Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques	225
Discussão geral	255
Conclusões	271
Perspectivas	275
Referências	279

O ácido rosmarínico (AR) é um composto fenólico de origem natural que apresenta diversas atividades biológicas como anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora (FACHEL et al., 2019). Apesar dos seus benefícios, quando administrado por via oral menos de 2% torna-se biodisponível, fato que está relacionado à sua solubilidade aquosa, instabilidade no trato gastrintestinal, mecanismo de absorção e metabolização pré-sistêmica (BABA et al., 2004; WANG et al., 2017).

Alguns sistemas de liberação, como nanopartículas lipídicas sólidas e complexos fosfolipídicos tem sido desenvolvidos com o objetivo de aumentar a absorção do AR por via oral (CAMPOS et al., 2014; MADUREIRA et al., 2015; YANG et al., 2015). Ambos sistemas protegeram o AR do meio gastrintestinal, comprovado pela manutenção da sua atividade antioxidante. Os complexos fosfolipídicos, além da proteção, propiciaram o aumento da permeabilidade do AR em método *in vitro* utilizando células do tipo Caco-2 e sua maior disponibilidade por estudo farmacocinético *in vivo* (MADUREIRA et al., 2016a; YANG et al., 2015).

Um sistema de liberação amplamente utilizado para aumento da absorção de substâncias por via oral são os complexos com ciclodextrinas (CDs). CDs são oligossarídeos cíclicos capazes de complexar substâncias em sua cavidade, promovendo aumento de solubilidade e proteção, bem como modificam a permeabilidade das membranas do trato gastrintestinal (CARRIER et al., 2007). A complexação do AR com um tipo de CD derivada, metil- β CD (M β CD) (Kleptose® Crysmeb), indicou a formação de complexo na ordem de 2:1 (AR:M β CD), com aumento de sua atividade antioxidante pelo método DPPH (VERAS et al., 2019). Entretanto, não existem dados quando ao efeito da complexação sobre a solubilidade, estabilidade e permeabilidade do AR.

Dentre as formas farmacêutica existentes no mercado contendo complexos com CDs, as sólidas, com destaque os comprimidos, apresentam o maior número de produtos (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; KURKOV; LOFTSSON, 2013; LOFTSSON; BREWSTER, 2010; LOFTSSON; DUCHÊNE, 2007). Um passo importante nos estudos de formulação é a avaliação da compatibilidade entre o fármaco/ substância ativa e os componentes da forma farmacêutica, visto que

interações podem afetar negativamente as características biofarmacêuticas do agente ativo, diminuindo o seu potencial terapêutico (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Desta forma, este trabalho teve por objetivos revisar dados da literatura quanto às vias de administração e estratégias tecnológicas aplicadas ao AR, biodisponibilidade oral e complexação com CDs do AR e seus derivados; avaliar o efeito da complexação do AR com a M β CD sobre a sua solubilidade, estabilidade e permeabilidade; e realizar estudo de pré-formulação, avaliando a compatibilidade entre o AR e excipientes visando a obtenção de forma farmacêutica sólida.

Objetivos Gerais

Conhecer o estado da arte com respeito às vias de administração e estratégias tecnológicas aplicadas ao ácido rosmarínico e biodisponibilidade oral e complexação com ciclodextrinas do ácido rosmarínico e seus derivados, avaliar experimentalmente o efeito da complexação do ácido rosmarínico com a metil- β -ciclodextrina sobre a sua solubilidade, estabilidade e permeabilidade e bem como investigar a compatibilidade entre o ácido rosmarínico e excipientes visando a obtenção de forma farmacêutica sólida.

Objetivos Específicos

- Levantar dados quanto às vias de administração e estratégias tecnológicas que tem sido aplicadas ao ácido rosmarínico;
- Revisar dados da literatura quanto aos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção do ácido rosmarínico e seus derivados;
- Revisar os estudos de complexação com ciclodextrinas para o ácido rosmarínico e seus derivados;
- Realizar complexação do ácido rosmarínico com metil- β -ciclodextrina por método de suspensão-liofilização;
- Caracterizar o complexo obtido por técnicas térmicas, espectroscópicas e cromatográficas;
- Estimar a solubilidade aquosa do ácido rosmarínico após a complexação;
- Avaliar efeito da complexação sobre a estabilidade térmica do ácido rosmarínico;
- Avaliar efeito da complexação sobre a estabilidade gastrointestinal *in vitro* do ácido rosmarínico;
- Mensurar o efeito da complexação sobre a permeabilidade do ácido rosmarínico;
- Verificar a compatibilidade do ácido rosmarínico com excipientes sólidos por técnicas térmicas, espectroscópicas e cromatográficas.

Ácido rosmarínico (AR)

Ácido rosmarínico (AR) é um composto fenólico, derivado dos ácidos hidroxicinâmicos, formado por reação de esterificação entre o ácido caféico e ácido 3,4-dihidroxifenilático (Figura 1).

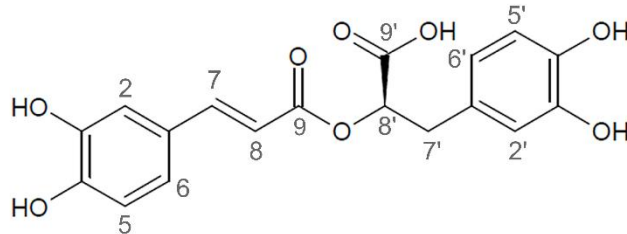


Figura 1. Estrutura do ácido rosmarínico.

O AR foi isolado pela primeira vez por Scarpati e Oriente em 1958 das folhas de espécie vegetal *Rosmarinus officinalis*, espécie da qual derivou o seu nome. No reino vegetal, o AR é principalmente encontrado nas espécies das famílias Lamiaceae e Boraginaceae e revisões recentes tem demonstrado a sua presença em mais de 20 famílias, sendo encontrado em mais de 50 espécies.

Diversos estudos tem se voltado à obtenção do AR a partir de processos extrativos bem estabelecidos como a maceração, como também se utilizando de cultura celular (AMOAHA et al., 2016; BULGAKOV et al., 2012; KIM et al., 2015). Esta atenção é devida às múltiplas atividades biológicas que o AR apresenta, como anticolinesterase (DASTMALCHI et al., 2009), anti-hipertensiva (FERREIRA et al., 2018), antifibrótica (LI et al., 2010), antígeno tóxica (DE OLIVEIRA et al., 2012), anti-inflamatória (BOONYARIKPUNCHAI; SUKRONG; TOWIWAT, 2014; ROCHA et al., 2015), antimicrobiana (ABEDINI et al., 2013), antimelanogênica (OLIVEIRA et al., 2013), antimutagênica (FURTADO et al., 2008), antinoceptiva (BOONYARIKPUNCHAI; SUKRONG; TOWIWAT, 2014), fotoprotetora (SÁNCHEZ-CAMPILLO et al., 2009), antioxidante (PÉREZ FONS; GARZÓN; VICENTE, 2010), com destaque à atividade antioxidante.

A atividade antioxidante tem se tornado de grande importância para as indústrias alimentícia e farmacêutica, por prevenir a ação de radicais livres nos alimentos e no corpo humano, que afetam sua qualidade e fisiologia,

respectivamente (CHOE; MIN, 2009; VALKO et al., 2007). Neste âmbito, substâncias de origem natural tem obtido lugar de destaque devido à menor toxicidade que estas apresentam e maior apelo social (SOTO; FALQUÉ; DOMÍNGUEZ, 2015).

Atividade antioxidante do AR

O estresse oxidativo causado por espécies reativas de oxigênio ou espécie reativas de nitrogênio é um dos principais responsáveis pela etiologia ou progressão de desordens clínicas agudas ou crônicas, dentre elas as cardiovasculares e neurodegenerativas. Estas duas patologias juntas representam cerca 40% dos problemas de saúde atuais. Estudos tem mostrado efeito positivo do AR na regressão destas duas classes de patologias vinculado ao seu potencial antioxidante (FACHEL et al., 2019; FERREIRA et al., 2013).

O potencial antioxidante do AR é devido à sua capacidade de doação de prótons hidrogênio que estabilizam os radicais livres. Estudos teóricos quanto à estrutura eletrônica do AR, demonstram que a doação de prótons hidrogênio seria mais rápida nas hidroxilas da porção 3,4-dihidroxifenilático em comparação às do ácido caféico. Apesar disto, a atividade seria semelhante para ambas porções (CAO et al., 2005).

A alta atividade do AR estaria relacionada tanto ao número de hidroxilas presente em sua estrutura, bem como, como o processo de estabilização do AR em forma de radical ocorre. Após a abstração do próton hidrogênio, os radicais formados são estabilizados tanto por pontes de hidrogênio intramoleculares como pela formação de quinonas. A porção referente ao ácido caféico teria uma estabilização mais rápida em comparação à do ácido 3,4-dihidroxifenilático devido à participação dos elétrons da dupla ligação e do grupo carbonila, que estão em no mesmo plano angular (CAO et al., 2005; FUJIMOTO; MASUDA, 2012).

Estudos *in vitro* pelos métodos de sequestro dos radicais ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), deoxirribose, hipoclorito e superóxido, redução do íon férrico (Fe^{3+}), quelação do íon ferroso (Fe^{2+}) e lipoperoxidação confirmam o alto potencial antioxidante do AR, sendo este superior aos outros derivados dos ácidos hidroxicinâmicos, como ácido caféico, ácido cumárico e ácido ferúlico (ALAMED et al., 2009; CHEN; HO, 1997; SEVGI; TEPE; SARIKURKCU, 2015; SOOBRAATTEE et al., 2005; TERPINC;

ABRAMOVIČ, 2010). De igual forma, o AR aumentou a viabilidade celular da linhagem celular HepG2 frente ao estresse oxidativo gerado por hidroperóxido de terc-butila (YANG et al., 2013).

Estudo *in vivo* comparando o perfil das enzimas antioxidantes catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx) e superóxido desmutase (SOD), bem como a lipoperoxidação através da formação do malonaldeído (MDA) em ratos idosos, demonstrou que a administração oral do AR produziu aumento significativo da expressão das enzimas antioxidantes e diminuição da formação do MDA (ZHANG et al., 2015). O AR também foi capaz de reverter o estresse oxidativo gerado pela administração de hidroperóxido de terc-butila e acetaminofeno, caracterizado pelo aumento da CAT, GPx, SOD e glutathiona (GSH) e diminuição da formação de MDA (HASANEIN; SHARIFI, 2017; YANG et al., 2013).

Em estudo envolvendo o consumo de decocto das flores de *Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey, o aumento da capacidade antioxidante e diminuição da formação de MDA em humanos foi associado à presença do AR na espécie vegetal (RANJBAR et al., 2006).

Além do potencial de depleção de radicais livres pela doação de prótons hidrogênio, a atividade antioxidante do AR tem sido demonstrada pela ativação do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2). Nrf2 é o maior regulador da expressão de genes de enzimas metabólicas de fase 2. Dentre as enzimas de fase 2 ativadas na presença do AR estão a GSH, heme oxigenase 1 (HO-1) e NAD(P)H quinona oxireductase (NQO1) (CHEN et al., 2017; DOMITROVIĆ et al., 2013; FETONI et al., 2015; GOVINDARAJ; SORIMUTHU PILLAI, 2015; LI et al., 2019; LU et al., 2017).

A ação das substâncias polifenólicas como antioxidantes pode ser classificada como direta ou indireta. A ação direta se dá pela depleção de radicais livres ou quelação de metais, enquanto a indireta ocorre por via de sinalização celular, como o sistema Nrf2. O que determina de a substância agir por uma e/ou outra forma é a sua biodisponibilidade (FRAGA; OTEIZA, 2011).

Farmacocinética do AR após administração oral

Na literatura existem sete estudos que relatam a farmacocinética do AR isolado por via oral (BABA et al., 2004; KONISHI et al., 2005; NAKAZAWA;

OHSAWA, 1998; WANG et al., 2017; YANG et al., 2015; YANG et al., 2018; WANG et al., 2020).

O AR apresenta uma rápida absorção, com $T_{\text{máx}}$ variando entre 5 e 30 minutos, dado que pressupõem uma possível absorção na fase de digestão estomacal, algo que é evidenciado para outros ácidos fenólicos (KONISHI; ZHAO; SHIMIZU, 2006). Estudos realizados em células do tipo Caco-2, afirmam que esta dá-se por via paracelular e transcelular, esta última ocorrendo através de transportadores de monocarboxilatos (MCT) e polipeptídeos de ânions orgânicos (OATP) (FALÉ; ASCENSÃO; SERRALHEIRO, 2013; KONISHI; KOBAYASHI, 2005).

O AR tem uma forte interação com as proteínas plasmáticas (>91%) e os dados de volume de distribuição indicam grande distribuição pelo organismo (PENG et al., 2015, 2016; WANG et al., 2017; KANG et al., 2021), entretanto resultados qualitativos ou quantitativos quanto à sua distribuição em tecidos específicos a partir da administração por via oral não existem na literatura. A administração intravenosa de extratos vegetais contendo AR (LI et al., 2018, 2007) ou AR na forma isolada (CHEN; BAO; ZHOU, 2019) mostrou que os rins e pulmões são os órgãos com maior concentração de AR pós-administração por no máximo 2 horas.

O processo de metabolização do AR ocorre via enterocítica e hepática, sendo detectada a sua forma glicurinada, sulfatada e metilada, bem como foram identificados derivados fenólicos como os ácidos cafeico, ferúlico e *m*-cumárico (BABA et al., 2004; KONISHI et al., 2005; NAKAZAWA; OHSAWA, 1998; YANG et al., 2018; WANG et al., 2021). Dentre as possíveis enzimas de fase I e fase II que podem estar relacionadas ao seu processo de metabolização estão a CYP1A2, CYP2C19, CYP2E1, CYP3A4, UGT1A1, UGT1A3, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B4 e UGT2B7 (KIM et al., 2019; LIN; CHEN; XU, 2013).

Quanto à excreção, Baba e colaboradores, 2004 demonstraram que após um período de 18h, apenas 0,44% de AR livre em relação à dose administrada foi encontrado na urina, enquanto o seu derivado metilado e derivados apresentaram percentagem quase 4 vezes acima.

A partir dos resultados apresentados por Wang e colaboradores, 2017 é possível inferir que o AR apresenta uma farmacocinética do tipo não-linear, visto que os seus parâmetros farmacocinéticos não se alteram proporcionalmente com as

doses, algo que pode estar relacionado à saturação dos transportadores (STORPIRTIS et al., 2011).

Diversos fatores podem estar relacionados à baixa biodisponibilidade do AR por via oral, por exemplo, solubilidade, estabilidade, permeabilidade e metabolismo. Mais detalhes dos processos farmacocinéticos dos AR e seus derivados fenólicos são relatados no Capítulo II desta Tese e os fatores que podem interferir na biodisponibilidade oral do AR são discutidos nos Capítulos I e II.

Huang e colaboradores, 2019 classificaram o AR como uma substância de classe 3 de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutico, caracterizando-o como pouco permeável e altamente solúvel. Vale ressaltar que esta classificação deve ser vista com parcimônia, pois o AR ainda não possui uma aplicação ou dose terapêuticas definidas. Apesar disto, a baixa permeabilidade do AR foi comprovada por estudos em células Caco-2 (KONISHI; KOBAYASHI, 2005; QIANG et al., 2011) e solubilidade em meio aquoso (pH 1,2) de 5 mM foi demonstrada por nosso grupo de pesquisa (VERAS et al., 2019), havendo a necessidade de alternativas tecnológicas para melhorar as propriedades biofarmacêuticas do AR.

Abordagens tecnológicas aplicadas à administração oral do AR

Até o momento, na literatura, existem poucos estudos relativos a alternativas tecnológicas visando o uso do AR pela via oral. Nanopartículas lipídicas sólidas e complexos fosfolipídicos são os sistemas de liberação farmacêuticos produzidos objetivando o aumento da absorção pela via oral do AR (CAMPOS et al., 2014; MADUREIRA et al., 2015; HUANG et al., 2019; YANG et al., 2015). Adicionado a estes, Yang e colaboradores, 2018 reportam a coadministração de piperina, um alcaloide presente no gênero *Piper*, como um promotor de absorção do AR.

Uma discussão mais ampla destas abordagens tecnológicas é apresentada no Capítulo I desta Tese.

Complexação com ciclodextrinas (CDs)

Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados por unidades de α -D-glicopiranosose conectadas por ligações do tipo α (1 \rightarrow 4). As CDs possuem um formato de tronco de cone, apresentando um caráter hidrofílico em sua região externa devido às hidroxilas, divididas em primárias e secundárias; e uma cavidade

com caráter lipofílico em decorrência dos carbonos e oxigênios etéreos provenientes dos resíduos de glicose (Figura 2) (ARIMA et al., 2015; BREWSTER; LOFTSSON, 2007).

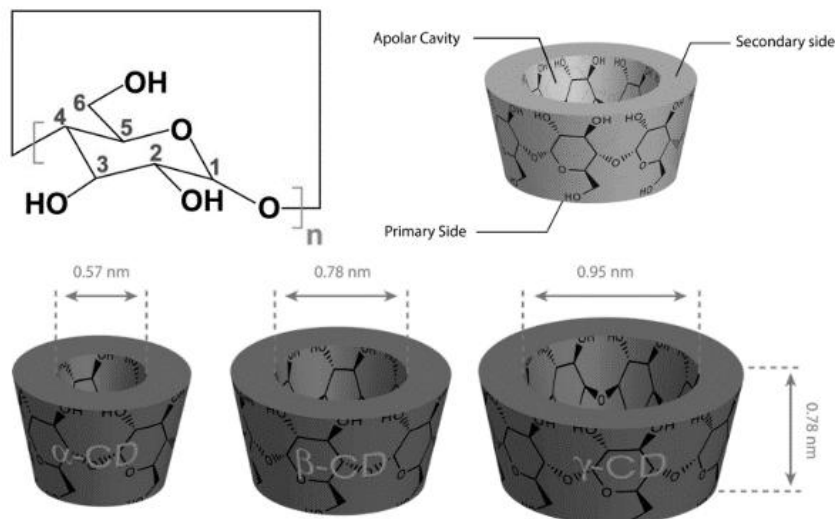


Figura 2. Estruturas da α , β e γ CD (CRINI, 2014).

As CDs são classificadas de acordo com o número de unidades de α -D-glicopiranosose, sendo as CDs naturais, α CD ($n=6$), β CD ($n=7$), γ CD ($n=8$), as mais relatadas na literatura e utilizadas na área farmacêutica (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; DA CUNHA FILHO; SÁ-BARRETO, 2007). Apesar das CDs naturais serem as mais estudadas e utilizadas, elas apresentam limitações quanto à sua solubilidade aquosa. A produção de CDs derivadas é realizada a partir das CD naturais através de reações de substituição nas hidroxilas por outros grupamentos orgânicos, como hidroxipropil (HP), metil (M) ou sulfabutíler (SBE), promovem maior solubilidade (Tabela 1). O aumento de solubilidade propicia o uso de maior concentração das CDs derivadas, além disto, os substituintes alteram a conformação da CD, podendo promover aumento na capacidade de complexação (SCHÖNBECK et al., 2010, 2011; SZENTE; SZEJTLI, 1999).

Tabela 1. Características químicas de CD naturais e de algumas derivadas (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018).

Ciclodextrina (CD)	Massa molar (g/mol)	Solubilidade (mg/mL)
α CD	972,8	130
β CD	1135	18,5
γ CD	1297	249

HP β CD	1400	>600
SB β CD	2163	>500
M β CD	1312	>600
HP γ CD	1576	>500

α CD=alfa-CD; β CD=beta-CD; γ CD=gama-CD; HP β CD=hidroxipropil-beta-CD;
 SB β CD=sulfabutíléter-beta-CD; M β CD=metil-beta-CD;HP γ CD=hidroxipropil-gama-CD.

A interação de substâncias com CDs pode ocorrer por meio da formação de complexos de inclusão, através da entrada da substância na cavidade da CD; ou por formação de complexos de não inclusão, pela interação da substância com as hidroxilas ou outros substituintes na região exterior. Ambos os processos ocorrem sem que haja envolvimento de ligações covalentes, propiciando que a forma livre e complexada da substância se encontrem em equilíbrio (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LOFTSSON; MASSON, 2001; LOFTSSON; MÁSSON; BREWSTER, 2004; STELLA et al., 1999).

CDs tem capacidade de promover em fármacos o aumento da solubilidade aquosa, dissolução, proteção contra efeitos oxidativos, radiação ultravioleta e luz visível, aquecimento, promoção do controle da volatilidade e sublimação, modificação de sabor e odor e liberação de forma controlada (DEL VALLE, 2004). Devido a estas propriedades, as CDs tem sido utilizadas para liberação de substâncias por via tópica (LOFTSSON; MASSON, 2001), ocular (LOFTSSON; JÄRVINEN, 1999), parenteral, como também oral (JONES et al., 2016). No tocante à via oral, CDs são utilizadas objetivando o aumento da biodisponibilidade, promovida pelo incremento de solubilidade, estabilidade e permeabilidade nas membranas (CARRIER; MILLER; AHMED, 2007; JONES et al., 2016; LOFTSSON et al., 2007; POPIELEC; LOFTSSON, 2017).

Os processos de solubilização e proteção do ambiente gastrintestinal estão relacionados à formação de interações do tipo inclusivas ou não inclusivas da substância de interesse com a CD (SAOKHAM et al., 2018), enquanto que o aumento da permeabilidade faz menção à interação da CD com o muco e os componentes das membranas gastrintestinais. CDs tem a capacidade de desestabilizar a camada de muco aumentando o contato da substância com a membrana e também retirar componentes desta última, como fosfolipídios e colesterol, desestabilizando-a temporariamente e alterando sua permeabilidade (CARRIER; MILLER; AHMED, 2007; LOFTSSON et al., 2007).

Interação com CDs é uma abordagem normalmente aplicada para o aumento de biodisponibilidade oral de fármacos da classe 2 ou 4 (JANSOOK e colab., 2018). Como já citado, o AR tem sido reportado como pertencente à classe 3, fato que excluiria o uso de CD, entretanto, podem ser encontrados estudos na literatura que reportam o aumento da biodisponibilidade de fármacos de classe 3 a partir da complexação com CDs, como exemplo do aciclovir, colchicina e famotidina (CHAUHAN et al., 2013; MADY et al., 2010; NAIR et al., 2014).

O aciclovir apresenta solubilidade aquosa de 1,61 mg/mL e biodisponibilidade por via oral variando entre 15 a 30%. A formação de complexos de inclusão entre o aciclovir e CD na ordem de 1:1 (aciclovir: CD/ molar:molar), aumentou 2 vezes a solubilidade do fármaco, como também a sua biodisponibilidade relativa (NAIR et al., 2014). A colchicina apresenta biodisponibilidade por via oral de 37% e sua complexação com CD também ocorreu por inclusão na ordem de 1:1, promovendo seu aumento da biodisponibilidade absoluta em aproximadamente 2 vezes (CHAUHAN et al., 2013).

A complexação do famotidina com CD ocorreu na ordem de 1:1, formando complexo de inclusão. A complexação aumentou a estabilidade da famotidina em meio ácido e também alterou a sua biodisponibilidade de 48 para 79% (MADY et al., 2010).

A complexação com CD também tem sido aplicada às substâncias de origem natural de diversas classes como ácidos fenólicos, alcaloides, flavonóis, isoflavonas, com objetivo de aumentar solubilidade, estabilidade, permeabilidade e biodisponibilidade (PINHO et al., 2014; SUVARNA; GUJAR; MURAHARI, 2017). Alguns estudos relatam a complexação do AR com CDs naturais e derivadas, demonstrando que a complexação aumentou a atividade antioxidante por diferentes métodos, porém, são reportados diferentes resultados quanto a estequiometria e constante de equilíbrio, dados que são mais discutidos no Capítulo III desta Tese (AKSAMIJA et al., 2016; ÇELIK et al., 2011; MEDRONHO et al., 2014; VERAS et al., 2019).

Nosso grupo de pesquisa realizou a complexação do AR com duas CDs derivadas, HP β CD e M β CD (Kleptose® Crysmeb). Os resultados demonstraram complexos com ordem molar de 2:1 (AR:CD), com formação de complexos de

inclusão e de não inclusão com teor de AR acima de 25%, aumento de sua solubilidade e atividade antioxidante (VERAS et al., 2019).

Dentre as duas CD derivadas utilizadas, a M β CD (Kleptose[®] Crysmeb) ainda é pouco explorada em estudos de complexação. M β CD, formada pela substituição das hidroxilas da β CD por grupamentos metila, dentre as CDs metiladas, apresenta a menor toxicidade celular em células Caco-2 e efeito hemolítico, além de boa capacidade de solubilização (KISS et al., 2010). Esta CD, isoladamente, tem sido utilizada no tratamento da aterosclerose, devido à sua capacidade de solubilização do colesterol e redução do tamanho da placa aterosclerótica (COISNE et al., 2016; MONTECUCCO et al., 2015).

Esta capacidade de solubilização de componentes das membranas celulares, como o colesterol ou proteínas, está associada ao aumento da permeabilidade de fármacos pela M β CD. Estudo de citotoxicidade e permeabilidade em células Calu-3 demonstrou que a M β CD não apresenta toxicidade em concentração de 50 mM para este tipo de célula e aumentou a permeabilidade do manitol, um marcador de mecanismo de transporte paracelular, através da deslocalização da proteína ZO-1, associada às junções intercelulares. Além disso, a M β CD foi considerada biocompatível, pois o processo de deslocalização foi temporário, com a célula voltando à sua morfologia original com o tempo (SALEM et al., 2009).

Outras CDs metiladas também promoveram aumento da permeabilidade por via paracelular em células Caco-2 e MDCK por alteração nas claudinas 1,3,4 e 7, ocludinas e JAM-A (CASAS et al., 2010; FRANCIS et al., 1999; LAMBERT; NEILL; PADFIELD, 2007; LAMBERT; O'NEILL; PADFIELD, 2005). Acoplado ao processo de aumento de permeabilidade paracelular por solubilização de colesterol e proteínas, estudos determinaram que CDs metiladas e seus complexos teriam a capacidade de entrar nas células por endocitose, aumentando a taxa de absorção de substâncias (FENYVESI et al., 2014; PLAZZO et al., 2012; RÉTI-NAGY et al., 2015).

Desta forma, a baixa toxicidade em modelos celulares, fator que estabelece sua biocompatibilidade, e a capacidade de aumento de permeabilidade por via paracelular, um dos mecanismos de absorção do AR, torna a complexação deste com a M β CD uma alternativa para promoção do aumento de sua absorção.

Dentre as formas farmacêuticas produzidas a partir de complexos com CDs, as formas sólidas apresentam o maior número de produtos já encontrados no

mercado, com destaque os comprimidos (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; KURKOV; LOFTSSON, 2013; LOFTSSON; BREWSTER, 2010; LOFTSSON; DUCHÊNE, 2007), possivelmente por serem formas de produção mais baratas e robustas com maior estabilidade física, química e microbiológica (AULTON; TAYLOR, 2016). Como exemplos, podem ser citados o Cicladol® (Piroxicam + β CD) e MaxSulid® (Nimesulida + β CD) que possuem registro ativo na ANVISA.

Compatibilidade com excipientes

Excipientes são substâncias inativas adicionadas às formulações farmacêuticas com o objetivo de auxiliar nos processos de produção, promover estabilidade à substância ativa ou alterar características farmacotécnicas (DARJI et al., 2018). Apesar de serem inertes, os excipientes podem causar interações químicas ou físicas nos fármacos, podendo alterar o potencial e eficiência do tratamento (KAUR; GOINDI; KATARE, 2016)

Interações do tipo física se referem às modificações nas características do fármaco que não envolvem formação ou quebra de ligações estruturais, promovendo mudanças na aparência, dissolução, liberação, estado polimórfico, sabor e odor. Já interações do tipo química podem ocasionar degradação do fármaco e gerar de moléculas que podem ser tóxicas. Dependendo do tipo de interação física existente, esta pode não afetar a eficácia e segurança do fármaco. Em contrapartida, toda interação química diminui o potencial de tratamento (PANAKANTI; NARANG, 2012).

Assim, estudos de compatibilidade entre fármaco e excipiente tem como objetivo prever as possíveis reações que podem ocorrer entre os componentes da formulação com o fármaco de interesse, propiciando uma escolha mais direcionada (CHADHA et al., 2014). Misturas binárias na ordem de 1:1 (m:m) do fármaco com o excipiente são utilizadas como *screening* inicial como forma de prever o pior caso. Posteriormente, diferentes proporções de fármaco e excipiente podem ser preparadas de acordo com a necessidade. As misturas binárias são submetidas a variados métodos analíticos como calorimetria diferencial exploratória (DSC), análise termogravimétrica (TG), microcalorimetria, espectroscopia na região ultravioleta (UV), infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear no estado sólido (ssRMN), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia por *hot stage* (MHS), teste de estresse isotérmico (IST), dentre outros (BHARATE; BHARATE; BAJAJ, 2010;

CHADHA; BHANDARI, 2014; KAUR; SINHA, 2018; MURA et al., 1998; PIRES; MUSSEL; YOSHIDA, 2017).

Technological strategies applied for rosmarinic acid delivery through different routes – A review

Kleyton S. Veras; Flávia Nathiely S. Fachel; Helder F. Teixeira; Leticia S. Koester

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil.

O texto completo do capítulo 1, que no texto da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 41–112 foi publicado no periódico *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (doi.org/10.1016/j.jddst.2021.103054), porém por se tratar de conteúdo com direitos autorais, este foi suprimido deste material.

Capítulo II

Artigo a ser submetido ao periódico *Journal of Natural Products*

Oral pharmacokinetics of hydroxycinnamic acids: An updated review

Kleyton S. Veras; Flávia Nathiely S. Fachel; Bibiana V. Araújo; Helder F. Teixeira;
Leticia S. Koester

*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 2752, 90610-000,
Porto Alegre, RS, Brazil.*

O texto completo do capítulo 2, que no texto da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 113–156, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico.

Cyclodextrin-based delivery systems and hydroxycinnamic acids: interactions and effects on crucial parameters for oral bioavailability - A review

Kleyton Santos Veras, Flávia Nathiely Silveira Fachel, Valquíria Linck Bassani, Helder Ferreira Teixeira and Letícia Scherer Koester

O texto completo do capítulo 3, que no texto da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 157–196, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico.

Capítulo IV

Artigo a ser submetido ao período *LWT - Food Science and Technology*

Evaluation of complexation with methyl- β -cyclodextrin on water solubility, thermal and gastrointestinal stabilities, and permeability of rosmarinic acid

Kleyton Santos Veras ¹, Flávia Nathiely Silveira Fachel ¹, Naira Fernanda Zanchett Schneider ², Thiago Caon ², Helder Ferreira Teixeira ¹, Letícia Scherer Koester ¹

O texto completo do capítulo 4, que no texto da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 197–224, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico.

Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques

Kleyton Santos Veras ^a, Flávia Nathiely Silveira Fachel ^a, Vanessa Pittol ^a, Keth Ribeiro Garcia ^a, Valquíria Linck Bassani ^a, Venina dos Santos ^b, Amélia Teresinha Henriques ^a, Helder Ferreira Teixeira ^a, Letícia Scherer Koester ^a.

^a Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Brazil.

^b Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil.

O texto completo do capítulo 5, que no texto da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 225–254 foi publicado no periódico *Saudi Pharmaceutical Journal* (doi.org/10.1016/j.jsps.2019.09.010), porém por se tratar de conteúdo com direitos autorais, este foi suprimido deste material.

O AR é uma substância de origem natural que apresenta várias atividades biológicas, como já reportado em diversos estudos na literatura. Entretanto, quando administrado por via oral, sua absorção sistêmica é menor de 4,5% (FACHEL et al., 2019; WANG et al., 2017; WANG et al., 2021). A baixa biodisponibilidade de fármacos pela via oral está relacionada a fatores como solubilidade, estabilidade e permeabilidade (ABUHELWA et al., 2017). Em estudos prévios, realizados no âmbito do mestrado (VERAS, 2017) foram desenvolvidos e caracterizados complexos do AR com dois tipos de CDs derivadas, HP β CD e M β CD (Kleptose[®] Crysmeb) e foi avaliada a capacidade antioxidante destes com o método DPPH.

Dando prosseguimento a esta temática de pesquisa, no doutoramento, foram realizados levantamentos da literatura sobre as vias de administração, farmacocinética e sistemas de liberação aplicados ao AR com a finalidade de se conhecer o estado da arte e obter um direcionamento mais assertivo nos experimentos a serem realizados.

Assim, no **Capítulo I** desta Tese, os estudos presentes na literatura relevaram que o AR vem sendo administrado por diversas vias, como oral, dérmica/transdérmica, intravenosa, ocular e nasal, apresentando um número significativamente maior de abordagens pela via oral (HITL et al., 2021). Por todas as vias de administração testadas, existe um consenso quanto à baixa disponibilidade do AR, fato que está relacionado às suas características físico-química, estabilidade, metabolismo e eliminação (FACHEL et al., 2018; HITL et al., 2021; MARAFON et al., 2019; VIEIRA et al., 2020).

Quando foram avaliadas as abordagens tecnológicas aplicadas para melhorar a disponibilidade do AR, foi observado que elas foram majoritariamente utilizadas na liberação por via dérmica/transdérmica do AR, seguida pela via oral, sendo que as duas vias representaram 51% dos estudos. Quanto aos fatores que justificaram a necessidade de melhora, foram listados a estabilidade (26%), solubilidade (23%) e permeabilidade (19%).

Os entraves na estabilidade e permeabilidade do AR são bem estabelecidos na literatura (FACHEL et al., 2018; GAYOSO et al., 2016; QIANG et al., 2011; WOOTTISIN et al., 2020). O impacto da solubilidade, por outro lado, permanece como um fator a ser investigado. Alguns estudos relataram dados de baixa solubilidade aquosa para o AR. Dentre estes Casanova et al., (2016) e Vieira et al.,

(2020) reportaram valores de solubilidade de 1 mg/L e 1,3 mg/mL, respectivamente, porém sem mencionar devidamente as referências de onde a informação foi retirada. Singh et al., (2020), a partir de dados experimentais, relatou que o AR é levemente solúvel em água, mas não apresentou dado numérico. Resultado publicado pelo nosso grupo de pesquisa indicou que o AR apresenta solubilidade em solução aquosa com pH 1,2 de aproximadamente 1,8 mg/mL (VERAS et al., 2019). Destes dados, isoladamente, pouco se pode inferir sobre os efeitos da solubilidade nas vias de administração, visto que estes são estabelecidos a partir da dose a ser utilizada (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019).

Os sistemas de liberação aplicados variaram entre sistemas clássicos a micro e nanométricos e foram capazes de aumentar a solubilidade, log P, pKa, permeabilidade, retenção e estabilidade do RA, bem como reduzir seu metabolismo. Como anteriormente relatado, os sistemas de liberação para aumentar a disponibilidade do AR foram principalmente desenvolvidos para a via dérmica/transdérmica, como por exemplo, creme, pomada, nanoemulsão, nanoemulgel, etossoma, lipossoma, niossoma, transferossoma, carreador lipídico nanoestruturado e nanopartícula (CHAIYANA et al., 2020; EZZAT et al., 2016; MARAFON et al., 2019; STELMAKIENE; RAMANAUSKIENE; BRIEDIS, 2015; YÜCEL; ŞEKER KARATOPRAK; DEĞİM, 2019). Para a via oral foram produzidos complexos fosfolipídicos e nanopartículas lipídicas sólidas, bem como a co-administração de agentes promotores de absorção e inibição do metabolismo (CAMPOS et al., 2014; LAI et al., 2011; MADUREIRA et al., 2015, 2016; YANG et al., 2015). Os complexos com CDs foram explorados na avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana e ação o sobre a solubilidade (AKSAMIJA et al., 2016; ANDREADELIS et al., 2021; ÇELIK et al., 2014; FATEMINASAB et al., 2020; MEDRONHO et al., 2014; VERAS et al., 2019).

Nosso grupo de pesquisa já possui uma linha de investigação bem estabelecida com sistemas de liberação destinados à via tópica do AR. Baseado nos dados obtidos na revisão de literatura e no que já vinha sido desenvolvido no Mestrado, a administração por via oral e complexos de AR com CDs demonstraram ser dois tópicos interessantes para se prosseguir a pesquisa, pois ainda possuem campos a serem explorados.

A partir da determinação da via a ser explorada baseada na revisão apresentada no Capítulo I, vislumbrou-se a necessidade de ser conhecer a farmacocinética oral do AR e os fatores que poderiam diretamente interferir a administração por esta via, apresentados no **Capítulo II**.

Dados iniciais já mostravam o metabolismo do AR à outras substâncias fenólicas, como o ácido caféico (AC), ácido ferúlico (AF) e ácido *m*-cumárico (AmC). Visto que outras substâncias fenólicas possuem semelhança estrutural ao AR e seus derivados do metabolismo, tais como ácido *o*-cumárico (AoC), *p*-cumárico (ApC) e ácido clorogênico (ACG), estas também foram incluídas no levantamento de dados farmacocinéticos por via oral, englobando, assim, na revisão, a classe dos ácidos hidroxicinâmicos.

A revisão permitiu inferir que a solubilidade aquosa é um fator que exhibe resultados diversos na literatura para os diferentes ácidos hidroxicinâmicos, porém a falta de dose terapêutica exata inviabiliza correlacionar a solubilidade aquosa com a classificação biofarmacêutica e farmacocinética. Tomando como o exemplo o AR, substância que possui um baixo pKa e para a qual foi determinada uma solubilidade de 1,8 mg/mL, em uma dose de 450 mg, ele seria considerado uma substância terapêutica de classe 3 (alta solubilidade e baixa permeabilidade). Entretanto, se o valor da dose aumentar, acarretaria sua mudança de classe 3 para 4 (baixa solubilidade e baixa permeabilidade) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019). Com respeito à estabilidade, mais uma vez há uma variação nos dados disponíveis, porém uma uniformidade quanto à baixa estabilidade no trato intestinal pode ser estabelecida (GAYOSO et al., 2016; HORTER; DRESSMAN, 1997; REN et al., 2007; SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012; ZHAO; EGASHIRA; SANADA, 2004).

Os estudos *in vitro*, *ex vivo*, *in situ* e *in vivo* permitiram de maneira geral afirmar que o AF é o ácido hidroxicinâmico mais absorvido, seguido do AmC, ApC > AC > AR > ACG, fato que tem muita relação com propriedades físico-químicas mais adequadas. Destaca-se aqui a baixa absorção do AR e ACG em comparação aos outros ácidos hidroxicinâmicos, devido às suas maiores massas moleculares e menores log P e D, além de mecanismo de absorção mais restrito (KONISHI; KOBAYASHI, 2005; KONISHI; KOBAYASHI; SHIMIZU, 2003; KONISHI; SHIMIZU, 2003; MONENTE et al., 2015).

Após metabolismo, AC se torna o ácido hidroxicinâmico mais biodisponível. Para o AR, como já relatado anteriormente, ele é metabolizado por enzimas de fase I e II, sendo que cerca de 75% do AR foi encontrado em sua forma glicurinada (YANG et al., 2018). Wang et al., (2021) encontrou que a área sob a curva do AC e AF provenientes da administração oral do AR foi 29,4 e 39,5 vezes menor que a do AR administrado, confirmando assim que a principal via de metabolização deste último é a glicuronidação. A taxa de AR excretado pela urina foi de apenas 5,47% (BABA et al., 2004).

Os dados de biodisponibilidade absoluta disponíveis relevaram que o AR, dentre os ácidos hidroxicinâmicos, é apenas mais biodisponível que o ACG. Se comparado ao AC, a fração biodisponível do AR pode chegar a ser de aproximadamente 6 vezes menor. Este achado levanta a hipótese de que o AR pode não ser, ao menos exclusivamente, a substância bioativa em todas as atividades a ele reportadas, e seus metabólitos fenólicos exercem algum efeito concomitante. Apesar dos dados de Wang et al., (2021) indicarem uma área sob a curva para o AR bem superior à AC, não é indicado no estudo se o método analítico distingue a forma livre das metabolizadas. Outros estudos são necessários para se responder tal hipótese e, no momento, estão fora do escopo deste trabalho.

Apresentado no **Capítulo III**, o levantamento de estudos de complexação com CDs para os ácidos hidroxicinâmicos revelou que o AC e AF são os mais estudados dentro da classe. As CDs naturais apresentaram um número muito superior de investigações, sendo majoritariamente aplicadas na formação de complexos, com raros trabalhos reportando a conjugação. Em todos os estudos foi possível observar uma falta de uniformidade, para o mesmo tipo de ácido hidroxicinâmico e CDs, nos parâmetros que caracterizam os sistemas de liberação com CDs: razão estequiométrica e constante de ligação.

Dentre as razões associadas a estes resultados não uniformes estão os diferentes métodos aplicados e os parâmetros utilizados em cada método. Tomando como exemplo AR, sua complexação com a β CD mostrou uma razão estequiométrica de 1:1 (AR: β CD) em todos os estudos, porém o valor de constante de ligação variou de 79 a 2.028 M^{-1} (MEDRONHO et al., 2014; FATEMINASAB et al., 2020).

No tocante ao efeito da complexação sobre parâmetros que afetam a biodisponibilidade oral, foram reportadas avaliações sobre a solubilidade aquosa, dissolução, estabilidade, liberação e absorção, as quais demonstraram que a interação ácido hidroxicinâmico-CD produz ganho de performance. Poucos estudos de complexação ácido hidroxicinâmico-CD versam sobre estes temas, fato que abre perspectiva para pesquisa. Para o AR, até o momento, só foi investigado o aumento da solubilidade por estudo de fase solubilidade (VERAS et al., 2019).

A formação de complexos com CDs é uma estratégia tecnológica utilizada para promoção de aumento da biodisponibilidade de fármacos pela via oral, através do incremento na solubilidade, estabilidade e permeabilidade (CARRIER et al., 2007), podendo assim ser uma abordagem interessante a ser aplicada ao AR, visando ao aumento da sua absorção. Esta foi investigada experimentalmente e abordada no **Capítulo IV**.

A complexação do AR com M β CD (Kleptose® Crysmeb) já foi demonstrada em estudo anterior (VERAS et al., 2019). O teor de AR complexado de 0,28 mg AR em 1 mg de complexo corrobora com o descrito na literatura. Apesar do complexo ser preparado em ordem molar de 2:1 AR:M β CD, ao final, no complexo obtido, esta proporção muda para 1,3:1 mM, resultado relacionado ao fato do fenômeno de complexação não ser 100% efetivo (LOFTSSON; BREWSTER, 2012). No presente estudo, houve um leve aumento no teor de AR (0,33 mg AR/mg complexo), mas que não foi estatisticamente significativa.

Diversos métodos analíticos são utilizados para a caracterização dos complexos com CDs, como calorimetria diferencial exploratória (DSC), análise termogravimétrica (TG), microcalorimetria, difração por raio-X, espectroscopia na região ultravioleta, infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear de próton (RMN H¹) e em estado sólido (ssRMN), microscopia eletrônica de varredura e de transmissão, dentre outros (MURA, 2014, 2015).

A caracterização dos complexos com CDs por FTIR, DSC, TG e RMN H¹ são baseadas nas alterações das características físico-químicas da substância de interesse, que podem ocorrer na forma de desaparecimento, atenuação ou deslocamento de banda(s); desaparecimento do ponto de fusão e/ou deslocamento do evento de decomposição; deslocamento nos eventos de decomposição e perda

de massa; e mudanças nos deslocamentos químicos, respectivamente (MURA, 2014, 2015).

Os resultados obtidos pelas análises de FTIR, DSC e RMN H^1 para o complexo demonstraram alterações físico-químicas no AR e na M β CD. Estas mudanças indicam o fenômeno de complexação, confirmando os dados já relatados na literatura. Por outro lado, para a mistura física, estas alterações foram menos proeminentes, denotando algum tipo de interação, mas não uma completa complexação (VERAS et al., 2019).

A técnica de TG foi pela primeira vez aplicada para a caracterização do complexo entre AR e M β CD. Os resultados obtidos permitem afirmar que a presença da M β CD aumentou a temperatura necessária para decomposição do AR, o que também foi visualizado pela técnica de DSC. O aumento da estabilidade de moléculas frente à temperatura é bem descrito na literatura para o fenômeno de complexação (HĂDĂRUGĂ et al., 2019).

Incremento na solubilidade aquosa de substância após a complexação com CDs é relacionado à formação de complexos de inclusão, complexos de não inclusão, formação de agregados de CDs e estabilização de solução supersaturada (BREWSTER; LOFTSSON, 2007). Para o AR, a complexação com M β CD promoveu um incremento de solubilidade aquosa maior que sete vezes, ocasionada pela formação de complexos de inclusão e não inclusão encontrados no estudo de RMN H^1 .

Além do aumento da estabilidade em estado sólido, CDs também promovem estabilidade em estado líquido contra diversas reações como hidrólise, oxidação, racemização, dentre outras (POPIELEC; LOFTSSON, 2017). O AR isoladamente solubilizado em água (pH 1,2; HCl 0,1M) e submetido a diferentes temperaturas (70–90 °C) sofreu reação de hidrólise, caracterizada pelo aparecimento de pico referente ao AC no cromatograma, sem aparecimento de outros picos. A elevação da temperatura em 10 °C resultou em um aumento da constante de velocidade de reação em 2 a 3 vezes.

A plotagem da concentração, logaritmo da concentração e recíproca da concentração pelo tempo, para determinação da ordem da reação em zero, primeira ou segunda ordem, respectivamente, mostrou que o maior coeficiente de determinação encontrado classifica a reação de hidrólise do AR como de primeira

ordem. Reações de degradação ou decomposição de primeira ordem são as mais comuns para maioria dos fármacos ou substâncias bioativas (LOFTSSON, 2014).

A reação de degradação do AR complexado com M β CD frente a temperatura seguiu as mesmas características dele isolado, ocorrendo hidrólise com cinética de primeira ordem e aumento da constante de reação com elevação da temperatura. Esta última sofreu uma pequena diminuição, enquanto os parâmetros cinéticos $t_{1/2}$ e $t_{90\%}$ tiveram um leve aumento se comparado ao AR isolado, mas que foram estatisticamente significativos.

A modelagem dos dados obtidos pela equação de Arrhenius mostrou um aumento na energia de ativação necessária para a degradação do AR na forma complexada a 25 °C, assim como nos $t_{1/2}$ e $t_{90\%}$, uma maior diferença foi observada em comparação à forma isolada. Estes resultados em conjunto revelam que a complexação com M β CD propiciou um incremento de estabilidade do AR em solução frente a temperatura.

Instabilidade no trato gastrointestinal também tem sido relatada na literatura para o AR, com uma maior perda de conteúdo sendo encontrada na fase intestinal, fato que pode estar relacionado ao pH do meio e a presença de enzimas digestivas (GAYOSO et al., 2016; GONÇALVES et al., 2019; VILLALVA et al., 2018).

Gayoso et al., (2006) descreveu uma perda de conteúdo para o AR na fase gástrica de aproximadamente 8%. Resultados similares também foram encontrados em nosso estudo, no qual demonstramos uma perda de 4%, aproximadamente. A diminuição de conteúdo menor que 10% na fase gástrica tem sido descrita para outros compostos fenólicos e diferenças nos resultados entre estudos podem estar relacionadas com as variações nas condições experimentais. Na fase intestinal, ambos estudos demonstraram perda de AR acima de 25%, indicando uma maior instabilidade neste meio (TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

No que tange ao uso de CDs para promoção de proteção nas condições gastrintestinais, apenas dois trabalhos podem ser encontrados na literatura, tendo como substâncias de interesse antocianinas (FERNANDES et al., 2018) e curcumina (PARAMERA; KONTELES; KARATHANOS, 2011). Nos dois trabalhos foi possível observar que a complexação com CD produziu uma maior retenção de conteúdo dos ácidos fenólicos em meio gástrico e intestinal.

Para o AR, a complexação com M β CD resultou na manutenção de seu conteúdo em 100% na fase gástrica e provocou um aumento de 14% em comparação ao AR não complexado na fase intestinal. Os dados obtidos dos estudos farmacocinéticos permitem afirmar que uma maior absorção do AR ocorre na fase gástrica da digestão (BABA et al., 2004; KONISHI et al., 2005), assim, a manutenção da estabilidade nesta fase pode propiciar maior absorção do AR.

A complexação com M β CD não foi capaz de garantir 100% do teor de AR, como almejado, na fase intestinal, fato que pode estar relacionado à ionização do AR quando entra em contato com o meio alcalino, o que diminui a sua afinidade pela CD. Esta liberação para o meio ocorre devido ao fenômeno de complexação ser um processo dinâmico entre a forma complexada e não complexada (STELLA et al., 1999). Além do fenômeno de complexação ser um processo dinâmico, a presença de sais biliares pode deslocar o AR da cavidade da CD, expondo-o ao meio alcalino (OLESEN; WESTH; HOLM, 2016).

Os experimentos realizados até o momento indicaram que a complexação do AR com M β CD resultou em resultados positivos. Devido à complexação exibir um alto valor de constante de ligação ($K = 61.454 \text{ M}^{-1}$) (VERAS et al., 2019), uma diminuição na partição óleo/água do AR poderia ocorrer, afetando sua velocidade/extensão de absorção. Como forma de constatar se tal hipótese poderia ocorrer, estudo de partição (log D) foi efetuado nos mesmos pHs utilizados na investigação da estabilidade gastrointestinal. Os dados obtidos revelaram que a complexação não afeta a capacidade do AR permear da fase aquosa em direção à fase oleosa em nenhum dos pHs testados. Pelo contrário, foi observado um certo aumento na concentração de AR na porção oleosa na presença da M β CD, sugerindo a CD foi capaz de desestruturar o octanol na interface óleo/água.

Baseado nisto, foi avaliado o potencial promotor de permeação da M β CD sobre o AR em método de membrana artificial (*Parallel artificial membrane permeability assay – PAMPA*). Infelizmente, o mesmo potencial de desestruturação da interface óleo/água da M β CD no teste de log D não foi ocorrido no método PAMPA, permanecendo assim todo o AR no compartimento doador. Um aspecto importante a ser ressaltado é que o AR controle também não permeou, fato que está relacionado à sua baixa permeabilidade por membranas lipídicas (KONISHI; KOBAYASHI, 2005). Devido à literatura reportar que CD metiladas são promotoras

de permeação em modelos baseados em células, dentre estas a utilizada neste estudo, mais estudos são necessários para se determinar se a associação AR:M β CD vem ser benéfica para o aumento da absorção.

Os resultados obtidos neste Capítulo demonstraram que a complexação com M β CD apresentou efeitos positivos sobre a solubilidade e estabilidade do AR, bem como não afetou a sua partição. Entretanto, uma investigação por métodos baseados em célula se faz ainda necessária devido ao método PAMPA apresentar resultados inconclusivos.

No **Capítulo V**, a avaliação da compatibilidade do AR com os excipientes hidroxipropil metilcelulose (HPMC), celulose microcristalina (MCC), lactose monohidratada (LAC), polivinilpirrolidona (PVP), talco (TALC), croscarmelose de sódio (CCS) e estearato de magnésio (MgSTE) foi realizada a partir mistura binária (MB) em ordem de 1:1 (m:m) do AR com cada excipiente e posterior análise pelas técnicas de DSC, TG, FTIR, ssNMR e IST-LC. Os resultados obtidos para as MBs são comparados com os dos componentes isolados para a verificação de alterações química ou físicas.

Pela técnica de DSC, interações ou incompatibilidades existentes entre fármaco e excipiente são determinadas pelas mudanças que ocorrem nos eventos térmicos, podendo estas serem deslocamento ou desaparecimento, por alteração na variação de entalpia do evento ou por aparecimento de novos eventos. Além disto, espera-se que a curva seja uma sobreposição dos eventos (SALVIO NETO; NOVÁK; MATOS, 2009). A curva de DSC do AR mostra a presença de dois eventos térmicos, correspondendo ao seu ponto de fusão e de decomposição, respectivamente. Os excipientes HPMC, MCC, PVP e CCS pela curva de DSC apresentaram um evento térmico referente à perda de água e outro indicando o início da decomposição. LAC demonstrou três eventos térmicos, referentes à desidratação, ponto fusão e decomposição, enquanto MgSTE apresentou quatro correspondendo à perda de água, desidratação, ponto fusão e decomposição. TALC foi o único excipiente que não apresentou eventos térmicos.

Nas análises das MBs, o ponto de fusão do AR é visualizado em todas as curvas de DSC e novos eventos não foram identificados, sendo um indicativo de que não ocorreu nenhum tipo de interação com os excipientes. Entretanto, quando observados os valores específicos de cada evento térmico e da variação de entalpia,

foi possível observar diferenças estatísticas para as MBs com HPMC, LAC, CCS e MgSTE. Estas diferenças denotam que possíveis interações físicas podem estar acontecendo entre as duas substâncias, ocasionadas pelas altas temperaturas, presença de impurezas ou parcial miscibilidade do AR nos excipientes (CHADHA; BHANDARI, 2014; DANIEL et al., 2013).

Como forma de confirmar as interações físicas, estas MBs foram submetidas a análises por TG. A partir das curvas de TG, interações ou incompatibilidades são detectadas pelas mudanças no formato das curvas, temperaturas ou perdas de massa dos eventos térmicos (SALVIO NETO; NOVÁK; MATOS, 2009). O processo de decomposição térmica do AR ocorreu em duas etapas: o primeiro em 297,69 °C e o segundo em 380,62 °C. As curvas de TG dos excipientes mostram um primeiro evento relacionado à desidratação, seguido das etapas de decomposição.

Se interações ou incompatibilidades não ocorressem, seria esperado que as curvas das MBs fossem sobreposições dos eventos térmicos. As curvas das MBs demonstraram um formato diferente do apresentado pelos componentes originais e quando avaliadas as temperaturas de cada evento térmico, as MBs com HPMC, LAC e MgSTE relevam um evento próximo ao do AR, porém deslocado para temperatura inferior. Este deslocamento denota a diminuição da estabilidade da molécula na presença dos excipientes.

Para as MBs com MgSTE, além das modificações nos eventos térmicos, houve também o aparecimento de um novo evento, que não corresponde ao AR ou MgSTE. Nas MBs com CCS, todos os eventos térmicos fazem referência apenas ao excipiente, sem qualquer vestígio do AR. Estas alterações avaliadas em conjunto confirmam os resultados obtidos por DSC e sugerem que não somente interações físicas podem estar ocorrendo, como também incompatibilidades químicas.

O uso de altas temperaturas pelas técnicas térmicas pode propiciar o aparecimento de interações ou incompatibilidades que não seriam identificadas em temperatura ambiente, resultando em uma superestimação de interações, fazendo-se necessária a aplicação de técnicas não térmicas (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Nas análises de FTIR, modificações no espectro como alterações no formato ou intensidade das bandas ou aparecimento de novas, podem caracterizar a presença de interações entre os componentes da BM (PEREIRA et al., 2014). As MBs com HPMC, MCC, LAC, PVP e CCS demonstraram um espectro com perfil

químico semelhante ao do AR isolado. Por outro lado, nas amostras com TALC e MgSTE, bandas características do AR tiveram sua intensidade diminuída. Para que a avaliação dos espectros do AR e das MBs não fosse apenas visual, estes foram submetidos à análise estatística exploratória de agrupamentos e correlação de Pearson.

Análise exploratória de agrupamentos e correlação de Pearson são duas abordagens estatísticas que tem por finalidade verificar a existência de similaridade entre variáveis (FÁVERO; BELFIORE, 2017) e tem sido amplamente utilizada em estudo de compatibilidade como forma de identificação de heterogeneidade entre das amostras, como confirmatória da avaliação visual dos espectros (DE BARROS LIMA et al., 2015; ROJEK; WESOLOWSKI, 2017; ROJEK; WESOLOWSKI; SUCHACZ, 2013).

As análises exploratórias foram obtidas empregando-se todas as bandas do espectro, visto que não houve diferença de resultados entre o emprego de todas as bandas ou apenas as da região chamada de impressão digital da molécula ($600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$). Os resultados mostraram que as MBs com TALC e MgSTE foram as únicas que apresentaram valores perto do esperado de 50% e 0,5 nas análises exploratória de agrupamentos e correlação de Pearson, respectivamente. Isto é devido ao peso molecular destes excipientes serem próximos aos do AR, o que reflete no número de mols na MB e por consequência, na detecção por FTIR.

Apesar das avaliações estatísticas terem sido próximas ao esperado, a diminuição da intensidade das bandas do AR nestas MBs permite afirmar que interação do tipo física ocorre entre o AR e estes excipientes, que pode ser devido ao efeito de adsorção ou quelação (PANAKANTI; NARANG, 2012).

Fármacos que são adsorvidos na superfície de um excipientes apresentam modificações em seu espectro de FTIR, como o deslocamento, atenuação ou desaparecimento de bandas características (LI et al., 2015). O processo de quelação de substâncias que possuem grupo catecol em sua estrutura química com íons metálicos presentes nos excipientes promove alterações na capacidade de absorção da radiação e no modo de vibração (DE SOUZA; DE GIOVANI, 2005; GHOSH et al., 2015).

Para atestar que as modificações apresentadas pelo método FTIR foram físicas, sem alterações químicas, as MBs com TALC e MgSTE foram submetidas a

análise por ssRMN, que é uma técnica baseada na avaliação do deslocamento químico dos carbonos presentes na estrutura molecular em estado sólido. Esta técnica apresenta como desvantagem a baixa sensibilidade e resolução do espectro, ocasionada pelo alargamento dos sinais (SKOTNICKI et al., 2015).

O AR possui em sua estrutura molecular dezoito átomos de carbono, entretanto, apenas oito foram possíveis de identificar, sendo a maioria carbonos não aromáticos. A técnica de ssRMN é baseada irradiação de energia no próton de hidrogênio e posterior transferência de magnetização para o átomo de carbono. Assim, como os carbonos aromáticos apresentam diversos prótons de hidrogênios vizinhos e possuem deslocamentos químicos próximos, ocorre a sobreposição dos sinais (BERENDT et al., 2006). A partir da deconvolução do espectro, que identifica possíveis ombros nos sinais, outros três átomos de carbonos puderam ser distinguidos.

Pires, Mussel e Yoshida, 2017 afirmam que a variação nos deslocamentos químicos dos sinais do fármaco em estudo no espectro de ssRMN acima de 1 ppm é uma evidência da existência de incompatibilidade com o excipiente. A maior variação de deslocamento químico visualizada teve o valor de 0,74 ppm, demonstrando assim que não há incompatibilidade entre o AR e excipiente, corroborando com os dados obtidos por FTIR.

O IST permite estimar o efeito da presença de água e temperatura acima da ambiente sobre a compatibilidade de fármaco com excipientes (KAUR; SINHA, 2018). Amostras de AR e MBs controle, que não foram submetidas às condições do IST, não demonstraram mudanças físicas em sua aparência, como também a quantidade de AR permaneceu a mesma em todo o período de teste.

O AR quando submetido ao IST, teve uma leve mudança em sua coloração, mas a perda de conteúdo foi insignificante. Todos as MBs tiveram mudanças de coloração, entretanto apenas a MBs com CCS e MgSTE apresentaram perda de conteúdo acima de 15%, denotando a presença de incompatibilidade química. CCS e MgSTE possuem em suas estruturas grupamentos que são ionizáveis que influenciam o pH do ambiente, gerando pH que variam de 5,40 a 9,20, respectivamente (GOVINDARAJAN et al., 2006, 2015; SCHEEF; OELKRUG; SCHMIDT, 1998). O AR é uma substância com características ácidas com baixo pKa,

desta forma, o pH do ambiente acima do seu pKa poderia afetar quimicamente a estabilidade do AR.

De acordo com o exposto, os excipientes que provocam interações por algum dos métodos com o AR foram HPMC, LAC, TALC e CCS, enquanto MgSTE apresentou interações por todos os métodos utilizados.

As interações apresentadas por HPMC e LAC foram restritas aos métodos térmicos. Como já discutido, o uso de altas temperaturas pode propiciar o aparecimento de reações. Isto foi visualizado por Daniel et al., (2013), ao realizar estudo de compatibilidade entre risperidona. MBs entre os dois componentes foram analisadas inicialmente por FTIR, seguida de DSC e novamente por FTIR. Incompatibilidade químicas e interações físicas foram somente detectadas após o aquecimento.

TALC apresentou interação física pelo método FTIR e ssRMN que pode estar associada ao efeito de adsorção que este excipiente apresenta. Estudos já demonstraram que a presença do TALC por si próprio nas formulações não influencia nos processos de dissolução ou liberação dos fármacos, não apresentando efeito negativo sobre a absorção ou eventos posteriores (DÜRIG; FASSIHI, 1997; PANAKANTI; NARANG, 2012). Além disto, degradação do AR não foi detectada pelo método IST.

CCS e MgSTE apresentaram incompatibilidades químicas com o AR pelas técnicas TG e IST, o que os torna os excipientes mais críticos de escolha para o desenvolvimento de formulações contendo AR. Por outro lado, dentre os excipientes selecionados, MCC e PVP foram compatíveis com o AR por todos os métodos avaliados.

- O AR tem é administrado por diferentes vias, mas majoritariamente pela via oral;
- Por todas as vias de administração ele apresenta uma baixa disponibilidade que está relacionada às suas características físico-químicas, estabilidade, metabolismo pré-sistêmico e eliminação;
- Sistemas clássicos, nano e microestruturados e complexos foram desenvolvidos com o intuito de aumentar a absorção do AR, principalmente visando a via dérmica/transdérmica, seguida pela oral;
- Por via oral, o AR apresentou uma baixa biodisponibilidade, correlacionada a instabilidades no trato gastrointestinal, baixa permeabilidade e extensivo metabolismo;
- A partir do metabolismo do AR derivados fenólicos como os ácidos hidroxicinâmicos AC, AF e AmC são originados, os quais apresentam um biodisponibilidade oral superior a do AR;
- A complexação com diferentes CDs foi aplicada ao AR e a outros ácido hidroxicinâmicos;
- Os estudos de complexação revelaram que diversos fatores podem afetar a estequiometria e constante de ligação dos complexos, fato que leva a variações de resultados entre os estudos;
- Avaliações dos efeitos da complexação sobre características que afetam a biodisponibilidade oral dos ácidos hidroxicinâmicos foram realizados, entretanto o número de estudos com este objetivo ainda é limitado;
- No tocante ao AR e M β CD (Kleptose[®] Crysmeb), apenas um estudo foi publicado, o qual indicou aumenta da solubilidade por estudo de fase solubilidade;
- No estudo de complexação, os métodos de infravermelho, calorimetria diferencial exploratória, termogravimetria e ressonância magnética nuclear demonstraram a complexação do AR pela M β CD;
- Calorimetria diferencial exploratória e termogravimetria mostraram um efeito termoestabilizador da M β CD sobre o AR em estado sólido;
- O AR, nas condições testadas, degradou por mecanismo de hidrólise catalisada por temperatura, seguindo cinética de 1^a ordem;

- A complexação com M β CD reduziu levemente a hidrólise e promoveu proteção ao AR;
- A complexação aumentou a solubilidade e estabilidade do AR frente às condições gastrointestinais e não alterou a partição óleo/água do AR;
- Nos estudos de permeação em *PAMPA*, AR controle e AR complexado não permearam a barreira lipídica;
- A avaliação de compatibilidade indicou que o AR foi compatível com MCC e PVP;
- Altas temperaturas propiciaram o aparecimento de interações entre o AR com HPMC e LAC;
- O uso de HPMC e LAC estaria restrito a métodos que utilizem temperaturas brandas;
- O efeito de adsorção do TALC não afetaria os processos biofarmacotécnicos do AR;
- CCS e MgSTE se mostraram excipientes incompatíveis para uso em formulações que contenham o AR.

- Desenvolver metodologia analítica para avaliação qualitativa e quantitativa do AR e seus derivados por cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (CLAE-EM);
- Validar método bioanalítico por CLAE-EM para quantificação do AR e seus derivados;
- Avaliar a permeabilidade *in vitro* do AR complexado com M β CD no modelo celular Caco-2;
- Realizar estudo biodisponibilidade do AR a partir da administração oral dos complexos;
- Desenvolver forma farmacêutica sólida – comprimidos.

- ABEDINI, Amin et al. Rosmarinic acid and its methyl ester as antimicrobial components of the hydromethanolic extract of *Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae). **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2013, 2013.
- ABUHELWA, Ahmad Y. et al. Food, gastrointestinal pH, and models of oral drug absorption. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 112, p. 234–248, 2017.
- AKSAMIJA, Amra et al. The inclusion complex of rosmarinic acid into beta-cyclodextrin: A thermodynamic and structural analysis by NMR and capillary electrophoresis. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 208, p. 258–263, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616305167>>
- ALAMED, Jean et al. Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 57, n. 7, p. 2969–2976, 2009.
- AMOAHA, Solomon K. S. et al. Rosmarinic Acid – Pharmaceutical and Clinical Aspects. **Planta Medica**, [s. l.], v. 82, p. 388–406, 2016.
- ANDREADELIS, Ioannis et al. Charting the structural and thermodynamic determinants in phenolic acid natural product – cyclodextrin encapsulations. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 2642–2658, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1751716>>
- ARIMA, Hidetoshi et al. Recent advances in cyclodextrin delivery techniques. **Expert Opinion on Drug Delivery**, [s. l.], p. 1–17, 2015. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/17425247.2015.1026893>>
- AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Aulton delineamento de formas farmacêuticas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.
- BABA, Seigo et al. Orally administered rosmarinic acid is present as the conjugated and/or methylated forms in plasma, and is degraded and metabolized to conjugated forms of caffeic acid, ferulic acid and m-coumaric acid. **Life Sciences**, [s. l.], v. 75, n. 2, p. 165–178, 2004.
- BERENDT, Robert T. et al. Solid-state NMR spectroscopy in pharmaceutical research and analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 25, n. 10, p. 977–984, 2006.
- BHARATE, Sonali S.; BHARATE, Sandip B.; BAJAJ, Amrita N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients : a comprehensive review. **Journal of excipients and food chemistry**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 3–26, 2010.
- BOONYARIKPUNCHAI, Wanvisa; SUKRONG, Suchada; TOWIWAT, Pasarapa. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 124, p. 67–73, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2014.05.004>>
- BREWSTER, Marcus E.; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 59, n. 7, p. 645–666, 2007.

BULGAKOV, Victor P.; INYUSHKINA, Yuliya V.; FEDOREYEV, Sergey a. Rosmarinic acid and its derivatives: biotechnology and applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 203–217, 2012.

CAMPOS, Débora A. et al. Optimization of the production of solid Witepsol nanoparticles loaded with rosmarinic acid. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 115, p. 109–117, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.10.035>>

CAO, Huai et al. DFT study on the antioxidant activity of rosmarinic acid. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, [s. l.], v. 719, n. 1–3, p. 177–183, 2005.

CARRIER, Rebecca L.; MILLER, Lee A.; AHMED, Imran. **The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability** *Journal of Controlled Release*, 2007.

CASAS, Elizabeth et al. Cholesterol efflux stimulates metalloproteinase-mediated cleavage of occludin and release of extracellular membrane particles containing its C-terminal fragments. **Experimental Cell Research**, [s. l.], v. 316, n. 3, p. 353–365, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.10.020>>

ÇELİK, Saliha Esin et al. Spectroscopic study and antioxidant properties of the inclusion complexes of rosmarinic acid with natural and derivative cyclodextrins. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 78, n. 5, p. 1615–1624, 2011.

CHADHA, Renu; BHANDARI, Swati. Drug-excipient compatibility screening-Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 87, p. 82–97, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2013.06.016>>

CHAIYANA, Wantida et al. Dermal Delivery Enhancement of Natural Anti-Ageing Compounds from *Ocimum sanctum* Linn. Extract by Nanostructured Lipid Carriers. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 309, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/12/4/309>>

CHAUHAN, Ritu et al. Inclusion complex of colchicine in hydroxypropyl- β -cyclodextrin tenders better solubility and improved pharmacokinetics. **Pharmaceutical Development and Technology**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 313–322, 2013.

CHEN, Jiang Hong; HO, Chi Tang. Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 7, p. 2374–2378, 1997.

CHEN, JiangFei; BAO, Xi; ZHOU, Gouer. Pharmacokinetics of rosmarinic acid in rats and tissue distribution in mice. **Latin American Journal of Pharmacy**, [s. l.], v. 38, p. 985–990, 2019.

CHEN, Ya Yu et al. Inhibitory effects of rosmarinic acid on pterygium epithelial cells through redox imbalance and induction of extrinsic and intrinsic apoptosis. **Experimental Eye Research**, [s. l.], v. 160, p. 96–105, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.exer.2017.05.008>>

CHOE, Eunok; MIN, David B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 345–358, 2009.

COISNE, Caroline et al. β -cyclodextrins decrease cholesterol release and ABC-associated transporter expression in smooth muscle cells and aortic endothelial cells. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 7, p. 1–14, 2016.

CRINI, Grégorio. Review : A History of Cyclodextrins. **Chemical reviews**, [s. l.], v. 114, p. 10940–10975, 2014.

DA CUNHA FILHO, Marcílio Sérgio Soares; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 1–9, 2007.

DANIEL, Josiane Souza Pereira et al. Risperidone - Solid-state characterization and pharmaceutical compatibility using thermal and non-thermal techniques. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 568, p. 148–155, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2013.06.032>>

DARJI, Mittal A. et al. Excipient Stability in Oral Solid Dosage Forms: A Review. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 12–26, 2018.

DASTMALCHI, Keyvan et al. Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Melissa officinalis* L. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 867–871, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2008.11.034>>

DE BARROS LIMA, Ígor Prado et al. Compatibility study between hydroquinone and the excipients used in semi-solid pharmaceutical forms by thermal and non-thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 120, n. 1, p. 719–732, 2015.

DE OLIVEIRA, Nânci C. D. et al. Rosmarinic acid as a protective agent against genotoxicity of ethanol in mice. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 1208–1214, 2012.

DE SOUZA, R. F. V; DE GIOVANI, Wagner F. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 61, n. 9, p. 1985–1990, 2005.

DEL VALLE, E. M. Martin. Cyclodextrins and their uses: A review. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 39, n. 9, p. 1033–1046, 2004.

DOMITROVIĆ, Robert et al. Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 51, n. November, p. 370–378, 2013.

DÜRIG, Thomas; FASSIHI, Reza. Mechanistic evaluation of binary effects of magnesium stearate and talc as dissolution retardants at 85% drug loading in an

experimental extended- release formulation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 86, n. 10, p. 1092–1098, 1997.

EZZAT, Shahira M. et al. HPLC–DAD–MS/MS profiling of standardized rosemary extract and enhancement of its anti-wrinkle activity by encapsulation in elastic nanovesicles. **Archives of Pharmacal Research**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 912–925, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12272-016-0744-6>>

FACHEL, Flávia N. S. et al. A novel, simplified and stability-indicating high-throughput ultra-fast liquid chromatography method for the determination of rosmarinic acid in nanoemulsions, porcine skin and nasal mucosa. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1083, p. 233–241, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S157002321731927X>>

FACHEL, Flávia Nathiely Silveira et al. An overview of the neuroprotective potential of rosmarinic acid and its association with nanotechnology-based delivery systems: A novel approach to treating neurodegenerative disorders. **Neurochemistry International**, [s. l.], v. 122, n. November 2018, p. 47–58, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.11.003>>

FALÉ, Pedro L.; ASCENSÃO, Lia; SERRALHEIRO, Maria L. M. Effect of luteolin and apigenin on rosmarinic acid bioavailability in Caco-2 cell monolayers. **Food Funct.**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 426–431, 2013. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C2FO30318C>>

Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6. ed. Brasília.

FATEMINASAB, F. et al. Molecular insights into inclusion complex formation between β - and γ -cyclodextrins and rosmarinic acid. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 314, p. 113802, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113802>>

FÁVERO, LP; BELFIORE, P. **Manual de análise de dados: Estatística de modelagem multivariada com Excel®, SPSS® and Stata®.** 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

FENYVESI, Ferenc et al. Fluorescently labeled methyl-beta-cyclodextrin enters intestinal epithelial Caco-2 cells by fluid-phase endocytosis. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–11, 2014.

FERNANDES, Ana et al. Blackberry anthocyanins: β -Cyclodextrin fortification for thermal and gastrointestinal stabilization. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 245, n. October 2017, p. 426–431, 2018.

FERREIRA, Luciana Garros et al. Does rosmarinic acid underestimate as an experimental cardiovascular drug? Seria o ácido rosmarínico subestimado como droga cardiovascular experimental? **Acta Cirurgica Brasileira**, [s. l.], v. 28, p. 83–87, 2013.

FERREIRA, Luciana Garros et al. Effect of rosmarinic acid on the arterial blood pressure in normotensive and hypertensive rats : Role of ACE. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 38, n. October, p. 158–165, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.02.006>>

FETONI, Ar et al. Rosmarinic acid up-regulates the noise activated NRF2/ho-1 pathway and protects against noise-induced injury in rat cochlea. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 85, p. 269–281, 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584915001847>>

FRAGA, Cesar G.; OTEIZA, Patricia I. Dietary flavonoids: Role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 51, n. 4, p. 813–823, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.002>>

FRANCIS, S. a et al. Rapid reduction of MDCK cell cholesterol by methyl-beta-cyclodextrin alters steady state transepithelial electrical resistance. **European journal of cell biology**, [s. l.], v. 78, n. 7, p. 473–484, 1999.

FUJIMOTO, Aya; MASUDA, Toshiya. Antioxidation mechanism of rosmarinic acid, identification of an unstable quinone derivative by the addition of odourless thiol. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 132, n. 2, p. 901–906, 2012.

FURTADO, Michelle Andrade et al. Antimutagenicity of rosmarinic acid in Swiss mice evaluated by the micronucleus assay. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [s. l.], v. 657, n. 2, p. 150–154, 2008.

GAYOSO, Lucía et al. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 26, p. 428–438, 2016. a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.003>>

GAYOSO, Lucía et al. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 26, p. 428–438, 2016. b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.003>>

GHOSH, Nilanjan et al. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin-magnesium complex. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 151, p. 807–813, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.050>>

GONÇALVES, Geferson A. et al. Effects of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation on a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) extract rich in rosmarinic acid. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 271, n. July 2018, p. 393–400, 2019.

GOVINDARAJ, Jayanthi; SORIMUTHU PILLAI, Subramanian. Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipototoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 404, n. 1–2, p. 143–159, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11010-015-2374-6>>

GOVINDARAJAN, Ramprakash et al. Ionization states in the microenvironment of solid dosage forms: Effect of formulation variables and processing. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 2454–2468, 2006.

GOVINDARAJAN, Ramprakash et al. Surface Acidity and Solid-State Compatibility of

Excipients with an Acid-Sensitive API: Case Study of Atorvastatin Calcium. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 354–363, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1208/s12249-014-0231-7>>

HĂDĂRUGĂ, Nicoleta G. et al. A review on thermal analyses of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Environmental Chemistry Letters**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 349–373, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10311-018-0806-8>>

HASANEIN, Parisa; SHARIFI, Maryam. Effects of rosmarinic acid on acetaminophen-induced hepatotoxicity in male wistar rats. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 1809–1816, 2017.

HITL, Maja et al. Rosmarinic Acid–Human Pharmacokinetics and Health Benefits. **Planta Medica**, [s. l.], v. 87, n. 04, p. 273–282, 2021. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/a-1301-8648>>

HORTER, D.; DRESSMAN, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs. **Advanced drug delivery reviews**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 3–14, 1997.

HUANG, Jiahao et al. Investigating the Phospholipid Effect on the Bioaccessibility of Rosmarinic Acid-Phospholipid Complex through a Dynamic Gastrointestinal in Vitro Model. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 156, 2019.

JANSOOK, Phatsawee; OGAWA, Noriko; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 535, n. 1–2, p. 272–284, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.018>>

JONES, David S. et al. **Pharmacokinetics of cyclodextrins and drugs after oral and parenteral administration of drug/cyclodextrin complexes** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2016.

KAUR, Amanpreet; GOINDI, Shishu; KATARE, Om Prakash. Thermal analysis and quantitative characterization of compatibility between diflunisal and lipid excipients as raw materials for development of solid lipid nanoparticles. **Thermochimica Acta**, [s. l.], v. 643, p. 23–32, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2016.09.014>>

KAUR, Randeep; SINHA, V. R. Use of thermal and non thermal techniques for assessing compatibility between mirtazapine and solid lipids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 161, p. 144–158, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.08.041>>

KIM, Gun-Dong et al. Production and applications of rosmarinic acid and structurally related compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], p. 2083–2092, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00253-015-6395-6>>

KIM, Sang Bum et al. Metabolic interactions of rosmarinic acid with human cytochrome P450 monooxygenases and uridine diphosphate glucuronosyltransferases. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 110, n. May 2018, p. 111–117, 2019.

KISS, T. et al. Evaluation of the cytotoxicity of β -cyclodextrin derivatives: Evidence for the role of cholesterol extraction. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 376–380, 2010.

KONISHI, Yutaka et al. Pharmacokinetic study of caffeic and rosmarinic acids in rats after oral administration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 12, p. 4740–4746, 2005.

KONISHI, Yutaka; KOBAYASHI, Shoko. Transepithelial transport of rosmarinic acid in intestinal Caco-2 cell monolayers. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 583–591, 2005.

KONISHI, Yutaka; KOBAYASHI, Shoko; SHIMIZU, Makoto. Transepithelial transport of p-coumaric acid and gallic acid in Caco-2 cell monolayers. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, [s. l.], v. 67, n. 11, p. 2317–2324, 2003.

KONISHI, Yutaka; SHIMIZU, Makoto. Transepithelial Transport of Ferulic Acid by Monocarboxylic Acid Transporter in Caco-2 Cell Monolayers. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 856–862, 2003.

KONISHI, Yutaka; ZHAO, Zhaohui; SHIMIZU, Makoto. Phenolic acids are absorbed from the rat stomach with different absorption rates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 54, n. 20, p. 7539–7543, 2006.

KURKOV, Sergey V.; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 453, n. 1, p. 167–180, 2013.

LAI, X. J. et al. Comparative pharmacokinetic and bioavailability studies of three salvianolic acids after the administration of *Salviae miltiorrhizae* alone or with synthetical borneol in rats. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 82, p. 883–888, 2011.

LAMBERT, Daniel; NEILL, Catherine a O.; PADFIELD, Philip J. Methyl- β -Cyclodextrin Increases Permeability of Caco-2 Cell Monolayers by Displacing Specific Claudins from Cholesterol Rich Domains Associated with Tight Junctions. **Cellular Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 20, p. 495–506, 2007.

LAMBERT, Daniel; O'NEILL, Catherine a; PADFIELD, Philip J. Depletion of Caco-2 cell cholesterol disrupts barrier function by altering the detergent solubility and distribution of specific tight-junction proteins. **The Biochemical journal**, [s. l.], v. 387, n. Pt 2, p. 553–560, 2005.

LI, Gui Sheng et al. In vitro and in vivo antifibrotic effects of rosmarinic acid on experimental liver fibrosis. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 17, n. 3–4, p. 282–288, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.002>>

LI, Shuang et al. Simultaneous determination and tissue distribution studies of four phenolic acids in rat tissue by UFLC–MS/MS after intravenous administration of salvianolic acid for injection. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 1–9, 2018.

LI, Xiaochuan et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of depside salts from *Salvia miltiorrhiza* in rats. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 234–239, 2007.

LI, Zhaohui et al. Adsorption of Atenolol on Talc: An Indication of Drug Interference with an Excipient. **Adsorption Science & Technology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 379–392, 2015. Disponível em: <<http://multi-science.atypon.com/doi/abs/10.1260/0263-6174.33.4.379%5Cnhttp://multi-science.atypon.com/doi/10.1260/0263-6174.33.4.379>>

LI, Zheng et al. Rosmarinic acid protects mice from lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by inhibiting MAPKs/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 signaling pathways. **International Immunopharmacology**, [s. l.], v. 67, n. November 2018, p. 465–472, 2019.

LIN, Y.; CHEN, P.; XU, X. Investigation of rosmarinic acid inhibition towards UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) isoforms. **Latin American Journal of Pharmacy**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 459–461, 2013.

LOFTSSON, T. et al. Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes. **Journal of pharmaceutical sciences**, [s. l.], v. 96, n. 10, 2007.

LOFTSSON, Thorsteinn. **Drug stability for pharmaceutical scientists**. 1. ed. Oxford: Elsevier, 2014.

LOFTSSON, Thorsteinn; BREWSTER, Marcus E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 62, n. 11, p. 1607–1621, 2010.

LOFTSSON, Thorsteinn; BREWSTER, Marcus E. Cyclodextrins as functional excipients: Methods to enhance complexation efficiency. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 101, n. 9, p. 3019–3032, 2012.

LOFTSSON, Thorsteinn; DUCHÊNE, Dominique. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 329, n. 1–2, p. 1–11, 2007.

LOFTSSON, Thorsteinn; MASSON, Mar. Cyclodextrins in topical drug formulations: Theory and practice. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 225, n. 1–2, p. 15–30, 2001.

LOFTSSON, Thorsteinn; MÁSSON, Már; BREWSTER, Marcus E. Self-Association of Cyclodextrins and Cyclodextrin Complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 93, n. 5, p. 1091–1099, 2004.

LOFTSSONA, Thorsteinn; JÄRVINEN, Tomi. Cyclodextrins in ophthalmic drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 59–79, 1999.

LU, Changfang et al. Rosmarinic acid counteracts activation of hepatic stellate cells via inhibiting the ROS-dependent MMP-2 activity: Involvement of Nrf2 antioxidant system. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [s. l.], v. 318, p. 69–78, 2017.

MADUREIRA, Ana Raquel et al. Characterization of solid lipid nanoparticles produced with carnauba wax for rosmarinic acid oral delivery. **RSC Advances**, [s. l.], v. 5, n. 29, p. 22665–22673, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA15802D>>

MADUREIRA, Ana Raquel et al. Insights into the protective role of solid lipid nanoparticles on rosmarinic acid bioactivity during exposure to simulated gastrointestinal conditions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 139, p. 277–284, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.039>>

MADY, Fatma M. et al. Evaluation of carboxymethyl- β -cyclodextrin with acid function: Improvement of chemical stability, oral bioavailability and bitter taste of famotidine. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 397, n. 1–2, p. 1–8, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.06.018>>

MARAFON, Paula et al. Development, physico-chemical characterization and in-vitro studies of hydrogels containing rosmarinic acid-loaded nanoemulsion for topical application. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 71, n. 8, p. 1199–1208, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jphp.13102>>

MEDRONHO, Bruno et al. Inclusion complexes of rosmarinic acid and cyclodextrins: Stoichiometry, association constants, and antioxidant potential. **Colloid and Polymer Science**, [s. l.], v. 292, n. 4, p. 885–894, 2014.

MONENTE, Carmen et al. In vitro studies on the stability in the proximal gastrointestinal tract and bioaccessibility in Caco-2 cells of chlorogenic acids from spent coffee grounds. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l.], v. 66, n. 6, p. 657–664, 2015.

MONTECUCCO, Fabrizio et al. Treatment with KLEPTOSE® CRYSMEB reduces mouse atherogenesis by impacting on lipid profile and Th1 lymphocyte response. **Vascular Pharmacology**, [s. l.], v. 72, p. 197–208, 2015.

MURA, P. et al. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 18, n. 1–2, p. 151–163, 1998.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution : A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 101, p. 238–250, 2014.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 113, p. 226–238, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.01.058>>

NAIR, Anroop B. et al. Enhanced oral bioavailability of acyclovir by inclusion complex using hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Drug Delivery**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 540–547, 2014.

NAKAZAWA, T.; OHSAWA, K. Metabolism of rosmarinic acid in rats. **Journal of natural products**, [s. l.], v. 61, n. 8, p. 993–996, 1998.

OLESEN, Niels Erik; WESTH, Peter; HOLM, René. Displacement of Drugs From Cyclodextrin Complexes by Bile Salts: A Suggestion of an Intestinal Drug-Solubilizing

Capacity From an In Vitro Model. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 9, p. 2640–2647, 2016.

OLIVEIRA, Karina B. et al. Influence of rosmarinic acid and *Salvia officinalis* extracts on melanogenesis of B16f10 cells. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 249–258, 2013.

PANAKANTI, Ravikiran; NARANG, Ajit S. Impact of Excipient Interactions on Drug Bioavailability from solid dosage forms. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 29, n. 10, p. 2639–2659, 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11095-012-0782-9>>

PARAMERA, Efstathia I.; KONTELES, Spyros J.; KARATHANOS, Vaios T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 125, n. 3, p. 913–922, 2011.

PENG, Xin et al. Deciphering the binding patterns and conformation changes upon the bovine serum albumin–rosmarinic acid complex. **Food Funct.**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 2712–2726, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C5FO00597C>>

PENG, Xin et al. Affinity of rosmarinic acid to human serum albumin and its effect on protein conformation stability. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 192, p. 178–187, 2016.

PEREIRA, M. A. V et al. Compatibility study between chitosan and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 116, n. 2, p. 1091–1100, 2014.

PÉREZ FONS, L.; GARZÓN, M. T.; VICENTE, M. Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 1, p. 161–171, 2010.

PINHO, Eva et al. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 101, n. 1, p. 121–135, 2014.

PIRES, S. A.; MUSSEL, W. N.; YOSHIDA, M. I. Solid-state characterization and pharmaceutical compatibility between citalopram and excipients using thermal and non-thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 127, n. 1, p. 535–542, 2017.

PLAZZO, Anna Pia et al. Uptake of a fluorescent methyl- β -cyclodextrin via clathrin-dependent endocytosis. **Chemistry and Physics of Lipids**, [s. l.], v. 165, n. 5, p. 505–511, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2012.03.007>>

POPIELC, Agnieszka; LOFTSSON, Thorsteinn. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 531, n. 2, p. 532–542, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.009>>

QIANG, Zhiyi et al. Permeability of rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* and ursolic acid in *Salvia officinalis* extracts across Caco-2 cell monolayers. **Journal of**

Ethnopharmacology, [s. l.], v. 137, n. 3, p. 1107–1112, 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874111005137>>

RANJBAR, Akram et al. Antioxidant activity of Iranian Echim amoenum Fisch & C.A. Mey flower decoction in humans: A cross-sectional before/after clinical trial.

Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 469–473, 2006.

REN, Jing et al. Absorptive profile of chlorogenic acid in rats. **Pharmazie**, [s. l.], v. 62, n. 9, p. 689–692, 2007.

RÉTI-NAGY, Katalin et al. Endocytosis of fluorescent cyclodextrins by intestinal Caco-2 cells and its role in paclitaxel drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 496, n. 2, p. 509–517, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.049>>

ROCHA, Joao et al. Anti-inflammatory Effect of Rosmarinic Acid and an Extract of Rosmarinus officinalis in Rat Models of Local and Systemic Inflammation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s. l.], p. n/a-n/a, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/bcpt.12335>>

ROJEK, Barbara; WESOLOWSKI, Marek. Compatibility studies of hydrocortisone with excipients using thermogravimetric analysis supported by multivariate statistical analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 127, n. 1, p. 543–553, 2017.

ROJEK, Barbara; WESOLOWSKI, Marek; SUCHACZ, Bogdan. Detection of compatibility between baclofen and excipients with aid of infrared spectroscopy and chemometry. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 116, p. 532–538, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.07.102>>

SALEM, L. B. et al. Sparing methylation of β -cyclodextrin mitigates cytotoxicity and permeability induction in respiratory epithelial cell layers in vitro. **Journal of Controlled Release**, [s. l.], v. 136, p. 110–116, 2009.

SALVIO NETO, H.; NOVÁK, Cs; MATOS, J. R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 97, n. 1, p. 367–374, 2009.

SÁNCHEZ-CAMPILLO, M. et al. Rosmarinic acid, a photo-protective agent against UV and other ionizing radiations. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 386–392, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.026>>

SAOKHAM, P. et al. Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 1–15, 2018.

SAVJANI, Ketan T.; GAJJAR, Anuradha K.; SAVJANI, Jignasa K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceutics**, [s. l.], v. 2012, p. 1–10, 2012.

SCHEEF, Carl Alexander; OELKRUG, Dieter; SCHMIDT, Peter C. Surface acidity of solid pharmaceutical excipients III. Excipients for solid dosage forms. **European**

Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 209–213, 1998.

SCHÖNBECK, Christian et al. Hydroxypropyl-substituted β -cyclodextrins: Influence of degree of substitution on the thermodynamics of complexation with tauroconjugated and glycoconjugated bile salts. **Langmuir**, [s. l.], v. 26, n. 23, p. 17949–17957, 2010.

SCHÖNBECK, Christian et al. Methylated β -cyclodextrins: Influence of degree and pattern of substitution on the thermodynamics of complexation with tauro- and glycoconjugated bile salts. **Langmuir**, [s. l.], v. 27, n. 10, p. 5832–5841, 2011.

SEVGI, Kemal; TEPE, Bektas; SARIKURKCU, Cengiz. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids Gallic acid. [s. l.], v. 77, p. 12–21, 2015.

SINGH, Abhishek et al. Preparation, optimization, characterization and bioevaluation of rosmarinic acid loaded phytovesicles for anti-inflammatory activity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 59, n. November 2019, p. 101888, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101888>>

SKOTNICKI, Marcin et al. Bisoprolol and bisoprolol-valsartan compatibility studied by differential scanning calorimetry, nuclear magnetic resonance and X-Ray powder diffractometry. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 414–429, 2015.

SOBRATTEE, M. A. et al. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [s. l.], v. 579, n. 1–2, p. 200–213, 2005.

SOTO, María Luisa; FALQUÉ, Elena; DOMÍNGUEZ, Herminia. Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. **Cosmetics**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 259–276, 2015.

STELLA, Valentino J. et al. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 3–16, 1999.

STELMAKIENE, Ada; RAMANAUSKIENE, Kristina; BRIEDIS, Vitalis. Release of rosmarinic acid from semisolid formulations and its penetration through human skin ex vivo. **Acta Pharmaceutica**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 199–205, 2015.

STORPIRTIS, Sílvia et al. **Farmacocinética Básica e Aplicada**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SUVARNA, Vasanti; GUJAR, Parul; MURAHARI, Manikanta. Complexation of phytochemicals with cyclodextrin derivatives – An insight. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 88, p. 1122–1144, 2017.

SZENTE, Lajos; SZEJTLI, József. Highly soluble cyclodextrin derivatives: Chemistry, properties, and trends in development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 17–28, 1999.

TAGLIAZUCCHI, Davide et al. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010.

TERPINC, Petra; ABRAMOVIČ, Helena. A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 2, p. 366–371, 2010.

VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VERAS, Kleyton Santos et al. Complexation of rosmarinic acid with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin: Formation of 2:1 complexes with improved antioxidant activity. **Journal of Molecular Structure**, [s. l.], v. 1195, p. 582–590, 2019.

VERAS, Kleyton. **Ácido rosmarínico**: complexação com ciclodextrinas, avaliação do potencial antioxidante in vitro e estudo de compatibilidade com excipientes com vistas ao desenvolvimento de formulação sólida oral. Orientador: Letícia Scherer Koester. 2017. 116 p. Dissertação (Mestrado de Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

VIEIRA, Lorena Carla et al. Rosmarinic Acid Intravitreal Implants: A New Therapeutic Approach for Ocular Neovascularization. **Planta Medica**, [s. l.], v. 86, n. 17, p. 1286–1297, 2020. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/a-1223-2525>>

VILLALVA, Marisol et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities from the Basolateral Fraction of Caco-2 Cells Exposed to a Rosmarinic Acid Enriched Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 1167–1174, 2018.

WANG, Jingxian et al. Pharmacokinetics of rosmarinic acid in rats by LC-MS/MS: absolute bioavailability and dose proportionality. **RSC Adv.**, [s. l.], v. 7, n. 15, p. 9057–9063, 2017. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C6RA28237G>>

WANG, Xiangyang et al. Rapid determination of rosmarinic acid and its two bioactive metabolites in the plasma of rats by LC-MS/MS and application to a pharmacokinetics study. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 0–3, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.4984>>

WOOTTISIN, Nanthakarn et al. Development and Validation of Stability Indicating HPLC Method for Determination of Caffeic Acid, Vitexin and Rosmarinic Acid in *Thunbergia laurifolia* Leaf Extract. **Pharmacognosy Journal**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 611–618, 2020. Disponível em: <<http://phcogj.com/article/1152>>

YANG, Jun-Hui et al. Enhanced oral bioavailability and prophylactic effects on oxidative stress and hepatic damage of an oil solution containing a rosmarinic acid-phospholipid complex. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 19, p. 63–73, 2015. a. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464615004302>>

YANG, Jun-Hui et al. Enhanced oral bioavailability and prophylactic effects on oxidative stress and hepatic damage of an oil solution containing a rosmarinic acid-phospholipid complex. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 19, p. 63–73, 2015. b.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.013>>

YANG, Jun Hui et al. Effect of piperine on the bioavailability and pharmacokinetics of rosmarinic acid in rat plasma using UPLC-MS/MS. **Xenobiotica**, [s. l.], v. 48, n. 0, p. 178–185, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00498254.2017.1292564>>

YANG, Sung Yong et al. The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 55, p. 92–99, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.042>>

YÜCEL, Çiğdem; ŞEKER KARATOPRAK, Gökçe; DEĞİM, İsmail Tuncer. Anti-aging formulation of rosmarinic acid-loaded ethosomes and liposomes. **Journal of Microencapsulation**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 180–191, 2019. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02652048.2019.1617363>>

ZHANG, Ying et al. Effects of rosmarinic acid on liver and kidney antioxidant enzymes, lipid peroxidation and tissue ultrastructure in aging mice. **Food Funct.**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 927–931, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4FO01051E>>

ZHAO, Zhaohui; EGASHIRA, Yukari; SANADA, Hiroo. Ferulic Acid Is Quickly Absorbed from Rat Stomach as the Free Form and Then Conjugated Mainly in Liver. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 134, n. 11, p. 3083–3088, 2004.