



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**APLICADAS À SAÚDE**

**MARIANA DA CRUZ PASSOS**

**DESENVOLVIMENTO DE MILIESFERAS POLIMÉRICAS DE**  
**QUITOSANA/ALGINATO CONTENDO [6]-SHOGAOL**

**Lagarto/SE**

**2025**

MARIANA DA CRUZ PASSOS

**DESENVOLVIMENTO DE MILIESFERAS  
POLIMÉRICAS DE QUITOSANA/ALGINATO  
CONTENDO [6]-SHOGAOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante

**Coorientador:** Prof. Dr. James Almada da Silva

**Linha de pesquisa:** Pesquisa Clínica Avançada

Lagarto/SE

2025

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CAMPUS DE LAGARTO**

P289d Passos, Mariana da Cruz  
Desenvolvimento de miliesferas poliméricas de  
Quintosona/Alginato contendo [6]-shogaol / Mariana da Cruz Passos ;  
orientador Rafael Ciro Marques Cavalcante. – Lagarto, SE, 2025.  
69 f. ; il.

Dissertação (mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) –  
Universidade Federal de Sergipe, 2025.

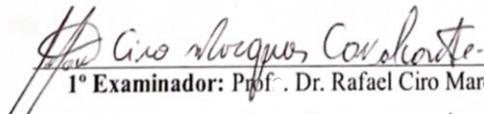
1. Fármacia. 2. Polímeros. 3. Quitosana. 4. Composto químico.  
I. Cavalcante, Rafael Ciro Marques, orient. II. Título.

CDU 615.12

**DESENVOLVIMENTO DE MILIESFERAS  
POLIMÉRICAS DE QUITOSANA/ALGINATO  
CONTENDO [6]-SHOGAOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Aprovada em: 29/07/2025

  
1º Examinador: Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante.

  
2º Examinador: Profa. Dra. Giselle de Carvalho Brito

  
3º Examinador: Profa. Dra. Pedrita Alves Sampaio

**PARECER**

A aluna foi considerada aprovada, com  
mínimas alterações no trabalho escrito.

Dedico este trabalho aos meus pais,  
Marlene Pinto da Cruz Passos e  
Euvaldo Secundo dos Passos (*In memoriam*).

“O que eu faço é uma gota no meio de um oceano, mas sem ela o oceano seria menor.”

(Madre Teresa de Calcutá)

## RESUMO

### DESENVOLVIMENTO DE MILIESFERAS POLIMÉRICAS DE QUITOSANA/ALGINATO CONTENDO [6]-SHOGAOL

Mariana da Cruz Passos, Lagarto, 2025

A quitosana e o alginato de sódio são utilizados na produção de miliesferas com liberação modificada de fármacos. Esta tecnologia pode ser usada como alternativa para melhorar a eficiência terapêutica de substâncias ativas, como o [6]-shogaol, produto natural encontrado no gengibre e que possui potencial antimicrobiano. O estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar a atividade antimicrobiana de miliesferas poliméricas de quitosana/alginato reticuladas com genipina, contendo [6]-shogaol. O [6]-shogaol foi obtido após reação de desidratação do [6]-gingerol, substância isolada do gengibre por técnicas cromatográficas clássicas. As miliesferas foram preparadas por gotejamento do gel de quitosana reticulado com genipina, contendo [6]-shogaol, em uma dispersão de alginato de sódio e tripolifosfato de sódio. As miliesferas foram caracterizadas por microscopia óptica, eficiência de encapsulamento (EE), capacidade de carregamento (CC) e índice de intumescimento (II). O teste de liberação do [6]-shogaol foi realizado nos pHs 1,2; 4,5 e 6,8. A estabilidade do [6]-shogaol foi avaliada nos pHs 4,5 e 6,8. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) da substância ativa foi determinada frente a *Staphylococcus aureus* por microdiluição em caldo e semeadura em ágar, respectivamente. O efeito antimicrobiano do [6]-shogaol incorporado nas miliesferas foi determinado ao longo do tempo em meio líquido. O [6]-shogaol foi obtido com pureza de 97,5%. As miliesferas apresentaram-se morfológicamente uniformes com diâmetro de  $1,48 \pm 0,11$  mm, EE de 68,1% e CC de 2,5%. O maior II foi observado no pH 1,2 ( $458 \pm 43\%$ ). Os perfis de liberação do [6]-shogaol livre e incorporado nas miliesferas poliméricas seguiram os modelos de liberação de Weibull, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin e Logistic, revelando que a difusão Fickiana foi o mecanismo de liberação predominante. O [6]-shogaol apresentou maior estabilidade no pH 4,5. A CIM da substância ativa foi de 128  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto a CBM foi de 256  $\mu\text{g/mL}$ . As miliesferas contendo [6]-shogaol inibiram o crescimento de *S. aureus* por 96 horas. Diante do exposto, as miliesferas poliméricas contendo [6]-shogaol foram capazes de prolongar a liberação, no meio gástrico na condição pós-prandial, preservando as propriedades antimicrobianas, demonstrando a sua aplicabilidade farmacêutica.

**Palavras-chave:** Polímeros; agente reticulante; [6]-shogaol; liberação modificada de fármacos.

# ABSTRACT

## DEVELOPMENT OF CHITOSAN/ALGINATE POLYMER MILLISPHERES CONTAINING [6]-SHOGAOL

Mariana da Cruz Passos, Lagarto, 2025

Chitosan and sodium alginate are used in the production of modified drug-release millispheres. This technology can be used as an alternative to improve the therapeutic efficacy of active substances, such as [6]-shogaol, a natural product found in ginger with antimicrobial potential. The study aimed to develop and evaluate the antimicrobial activity of chitosan/alginate polymeric millispheres cross-linked with genipin and containing [6]-shogaol. [6]-shogaol was obtained after the dehydration reaction of [6]-gingerol, a substance isolated from ginger using conventional chromatographic techniques. The microspheres were prepared by dripping chitosan gel crosslinked with genipin, containing [6]-shogaol, into a dispersion of sodium alginate and sodium tripolyphosphate. The millispheres were characterized by optical microscopy, encapsulation efficiency (EE), loading capacity (LC) and swelling index (SI). The [6]-shogaol release test was performed at pHs 1.2, 4.5 and 6.8. The stability of [6]-shogaol was evaluated at pHs 4.5 and 6.8. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the active substance were determined against *Staphylococcus aureus* by broth microdilution and agar plating, respectively. The antimicrobial effect of [6]-shogaol incorporated into the millispheres was determined over time in liquid medium. [6]-shogaol was obtained with 97.5% purity. The millispheres were morphologically uniform with a diameter of  $1.48 \pm 0.11$  mm, EE of 68.1% and CC of 2.5%. The highest II was observed at pH 1.2 ( $458 \pm 43\%$ ). The release profiles of free [6]-shogaol and incorporated in polymeric millispheres followed the Weibull, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, and Logistic release models, revealing that Fickian diffusion was the predominant release mechanism. [6]-shogaol showed greater stability at pH 4.5. The MIC of the active substance was 128  $\mu\text{g/mL}$ , while the MBC was 256  $\mu\text{g/mL}$ . The millispheres containing [6]-shogaol inhibited the growth of *S. aureus* for 96 hours. Therefore, the polymeric millispheres containing [6]-shogaol were able to prolong the release in the gastric environment in the postprandial condition, preserving the antimicrobial properties, demonstrating their pharmaceutical applicability.

**Keywords:** Polymers; crosslinking agent; [6]-shogaol; modified drug release.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação dos níveis plasmáticos de um fármaco em sistemas de liberação convencional e controlada (prolongada). .....	16
<b>Figura 2</b> - Estrutura química da quitosana e do alginato de sódio.....	20
<b>Figura 3</b> - Estrutura química da genipina.....	22
<b>Figura 4</b> - Estrutura química do tripolifosfato de sódio.....	23
<b>Figura 5</b> – Reação de desidratação do [6]-gingerol para a formação do [6]-shogaol.....	25
<b>Figura 6</b> – Cromatograma em CCDA das subfrações ZOD-A a ZOD-F da fração diclorometano.....	37
<b>Figura 7</b> – Cromatograma da fração enriquecida em gingeróis obtido por CLAE.....	38
<b>Figura 8</b> – Cromatograma do [6]-shogaol por CLAE.....	39
<b>Figura 9</b> – Miliesferas poliméricas de quitosana/alginato contendo [6]-shogaol.....	40
<b>Figura 10</b> – Índice de intumescimento das miliesferas poliméricas em diferentes pH.....	43
<b>Figura 11</b> – Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 1,2.....	45
<b>Figura 12</b> – Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 4,5.....	47
<b>Figura 13</b> - Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 6,8.....	48
<b>Figura 14</b> – Perfil de degradação do [6]-shogaol em água deionizada (pH 6,8) e tampão pH 4,5. ....	50
<b>Figura 15</b> – Determinação da concentração inibitória mínima do [6]-shogaol frente a <i>S. aureus</i> . ....	51
<b>Figura 16</b> – Determinação da viabilidade celular por redução da resazurina. ....	52
<b>Figura 17</b> - Estrutura química do [6]-shogaol. ....	52
<b>Figura 18</b> – Determinação da concentração bactericida mínima do [6]-shogaol frente a <i>S. aureus</i> . ....	53
<b>Figura 19</b> – Atividade antimicrobiana do [6]-shogaol contido nas miliesferas poliméricas...	54
<b>Figura A1</b> – Cromatograma do [6]-gingerol padrão.....	67
<b>Figura A2</b> – Cromatograma do [8]-gingerol padrão.....	67
<b>Figura A3</b> - Cromatograma do [10]-gingerol padrão.....	68
<b>Figura A4</b> - Cromatograma do [6]-shogaol padrão. ....	68
<b>Figura A5</b> - Curva de calibração do [6]-shogaol. ....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- $\lambda$  - Comprimento de onda
- 6S - [6]-shogaol
- AIC - Akaike Information Criterion
- ANOVA - Análise de variância
- BHI - *Brain heart infusion*
- CBM - Concentração bactericida mínima
- CC - Capacidade de carregamento
- CCDA - Cromatografia em camada delgada analítica
- CIM - Concentração inibitória mínima
- CLC - Cromatografia líquida clássica
- CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
- COX-2 - Ciclo-oxigenase 2
- $C_{r(6S)}$  - Concentração real do [6]-shogaol
- $C_{t(6S)}$  - Concentração teórica do [6]-shogaol
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- DSC - Calorimetria exploratória diferencial
- DPPH - 2,2-Difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil) hidrazila
- EE - Eficiência de encapsulamento
- EEG - Extrato enriquecido em genipina
- FEG - Fração enriquecida em gengerois
- GlcN - 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranoose
- GlcNAc - 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranoose
- HO-1 - Heme oxigenase 1
- II - Índice de intumescimento
- IL-6 - Interleucina-6
- IL-1 $\beta$  - Interleucina-1 beta
- KBr - Brometo de potássio
- LBL - *layer-by-layer*
- $M_1$  - Massa das miliesferas antes da imersão
- $M_2$  - Massa das miliesferas após imersão
- $M_m$  - Massa de miliesferas

$M_{r(6S)}$  - Massa real do [6]-shogaol

MSC - Model selection criterion

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

NF $\kappa$ B - Nuclear factor kappa B

Nrf-2 - Nuclear factor-erythroid 2

$R^2$  - Coeficiente de determinação

$R^2$  ajustado - Coeficiente de determinação ajustado

RDC – Resolução de Diretoria Colegiada

Rf - Fator de retenção

SiO<sub>2</sub> - Sílica-gel

TG - Termogravimetria

TLR4 - Receptor *toll-like* 4

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

TPP - Tripolifosfato de sódio

UV-Vis - Ultravioleta-Visível

ZOD - Fração diclorometano

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	15
2.1 Sistemas de liberação modificada de fármacos .....	15
2.1.1 Obtenção dos sistemas poliméricos .....	17
2.1.2 Matrizes poliméricas .....	18
2.1.3 Agentes reticulantes .....	21
2.1.4 Caracterização dos sistemas poliméricos .....	23
2.2 Perfil químico e potenciais atividades biológicas do [6]-shogaol .....	24
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
3 OBJETIVOS .....	28
3.1 Objetivo geral .....	28
3.2 Objetivos específicos .....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	29
4.1 Isolamento do [6]-gingerol .....	29
4.2 Semissíntese do [6]-shogaol (6S) .....	29
4.3 Preparação das miliesferas poliméricas .....	30
4.4 Caracterização .....	31
4.4.1 Análise morfológica, diâmetro e peso médio das miliesferas .....	31
4.4.2 Determinação da eficiência de encapsulamento (EE) e capacidade de carregamento do [6]-shogaol nas miliesferas .....	31
4.4.3 Índice de intumescimento .....	32
4.5 Teste de liberação do [6]-shogaol .....	32
4.6 Teste de estabilidade do [6]-shogaol .....	33
4.7 Atividade antimicrobiana .....	33
4.7.1 Condições de cultivo e inóculo da cepa bacteriana .....	33
4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	34
4.7.2.1 Viabilidade celular por monitoramento de absorvância .....	34
4.7.2.2 Viabilidade celular por redução da resazurina .....	34
4.7.3 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) .....	35
4.7.4 Avaliação do efeito antimicrobiano das miliesferas poliméricas .....	35
4.8 Análises estatísticas .....	36

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1 Obtenção do [6]-gingerol.....	37
5.2 Semissíntese do [6]-shogaol a partir do [6]-gingerol .....	39
5.3 Análise das miliesferas poliméricas .....	40
5.3.1 Determinação da eficiência de encapsulamento (EE) e da capacidade de carregamento (CC) do [6]-shogaol nas miliesferas.....	40
5.3.2 Índice de intumescimento .....	42
5.4 Teste de liberação do [6]-shogaol.....	43
5.5 Teste de estabilidade do [6]-shogaol .....	49
5.6 Atividade Antimicrobiana.....	50
5.6.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) .....	50
5.6.2 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) .....	53
5.6.3 Avaliação do efeito antimicrobiano das miliesferas poliméricas .....	53
6 CONCLUSÃO .....	55
6 PERSPECTIVAS .....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
APÊNDICE A - DADOS DAS SUBSTÂNCIAS PADRÃO E REAGENTES UTILIZADOS .....	66
APÊNDICE B – CROMATOGRAMAS DAS SUBSTÂNCIAS PADRÃO.....	67
APÊNDICE C - CURVA DE CALIBRAÇÃO DO [6]-SHOGAOL .....	69

## 1 INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação modificada de substâncias ativas são artifícios vantajosos quando comparados aos sistemas convencionais, uma vez que são capazes de controlar o tempo, o local e a velocidade de liberação, melhorando desta forma a sua biodisponibilidade. Esses sistemas desempenham um papel importante na manutenção da concentração do fármaco dentro da janela terapêutica, prolongando o seu tempo de atividade e consequentemente o aumento da eficácia e de sua segurança. Além disso, promovem maior comodidade e melhoram a adesão do paciente ao tratamento (Benoit *et al.*, 2020; Salari *et al.*, 2022).

Os polímeros são excelentes matérias-primas utilizadas em formulações farmacêuticas na forma de hidrogel, microcápsula ou nanopartícula. Estas formulações são capazes de controlar a liberação de princípios ativos (Patel *et al.*, 2017), uma vez que possuem propriedades físico-químicas ideais para tais propósitos, como viscosidade, flexibilidade e durabilidade mecânica (Salari *et al.*, 2022).

Os polímeros naturais como quitosana, alginato de sódio e gelatina têm sido utilizados de forma promissora para aplicações biomédicas e farmacêuticas, como na produção de miliesferas com liberação modificada de substâncias ativas, haja vista que tais polímeros apresentam características como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não antigenicidade, baixa toxicidade e são encontrados em abundância (Silva *et al.*, 2016). A quitosana e o alginato de sódio possuem propriedades formadoras de filmes, e a sua mistura pode ser usada na produção de miliesferas poliméricas aptas para aprisionar substâncias ativas e controlar sua taxa de liberação devido as fortes interações iônicas existentes entre esses os dois polímeros (Cirri *et al.*, 2021). Essas miliesferas podem ser obtidas por meio do método de reticulação iônica ou covalente, como forma de melhorar o potencial terapêutico e a biodisponibilidade de substâncias ativas.

As reações de reticulação dos biopolímeros podem modificar a estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor e eficiência de incorporação de substâncias ativas (Gonsalves *et al.*, 2011). Sendo assim, aumentam a capacidade de aprisionar o fármaco e, durante a aplicação, liberá-lo de tempos em tempos, idealmente, de forma eficiente. O agente de reticulação mais comumente utilizado é o glutaraldeído, no entanto, sua aplicação em materiais farmacêuticos é limitada, devido à toxicidade elevada para o organismo humano, podendo comprometer a biocompatibilidade das miliesferas. Dessa forma, uma alternativa

biologicamente segura para essa reticulação é o uso de agentes reticulantes naturais, como a genipina (Delmar; Bianco-peled, 2015).

Miliesferas poliméricas reticuladas com genipina podem ser utilizadas para melhorar a eficiência terapêutica de substâncias ativas como o [6]-shogaol, produto obtido através da reação de desidratação do [6]-gingerol (precursor), o principal metabólito secundário presente no gengibre. Estudos revelam que o [6]-shogaol possui aplicações farmacológicas, como por exemplo: no tratamento de diabetes, obesidade, alergia, dor, artrite reumatóide, inflamações, infecções e tumores. Essa substância apresenta melhores atividades antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana quando comparada com o seu precursor, o [6]-gingerol (Semwal *et al.*, 2015; Dalssaso; Valencia; More, 2022).

O potencial antimicrobiano apresentado pelo [6]-shogaol contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, é de interesse clínico, uma vez que essa bactéria pode causar desde infecções cutâneas a infecções mais graves, como pneumonia e endocardite. A patogenicidade e o potencial de resistência são fatores que limitam a eficácia do tratamento das doenças infecciosas causadas por *S. aureus*. Sendo assim, é essencial a busca por novos produtos terapêuticos mais eficazes, seguros, biocompatíveis, biodegradáveis e que permitem controlar a liberação de substâncias ativas com potencial para tratar infecções de forma eficiente e segura.

As miliesferas poliméricas de quitosana/alginato de sódio reticuladas com genipina e tripolifosfato de sódio, contendo substâncias bioativas como o [6]-shogaol são produtos inovadores e com aplicações promissoras na área da saúde, uma vez que são capazes de melhorar o perfil terapêutico de substâncias ativas. O [6]-shogaol tem propriedades anti-inflamatórias comprovadas, e elevado potencial antimicrobiano, já demonstrado por outros autores e pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFS (LPNBio) e, portanto, pode ser considerado um protótipo a fármaco. Dessa forma, esta substância é muito promissora para o desenvolvimento de fármacos e novas formulações farmacêuticas à base de polímeros naturais, possibilitando o tratamento eficaz de doenças infecciosas.

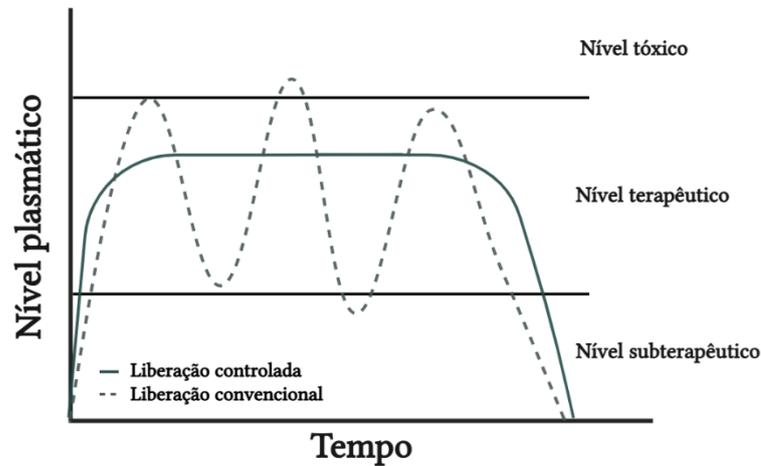
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Sistemas de liberação modificada de fármacos

Os sistemas de liberação de fármacos são planejados para entregar os princípios ativos na concentração adequada ao tecido alvo, com cinética apropriada. O tipo de liberação denominada liberação modificada é um artifício utilizado de forma não convencional, capaz de controlar o tempo, o local e a velocidade de liberação, melhorando desta forma a sua biodisponibilidade. Estes sistemas podem ser classificados em: liberação retardada, onde a liberação do fármaco ocorre em algum momento após a administração, e liberação prolongada, onde a liberação do fármaco se mantém por um período mais prolongado após a administração, reduzindo, desta forma, a frequência de administração. Esses sistemas desempenham um papel relevante na manutenção da concentração do fármaco dentro da janela terapêutica, prolongando o seu tempo de atividade e conseqüentemente o aumento da eficácia e segurança (Benoit, 2020; Salari, 2022).

Os métodos de liberação convencional, geralmente, seguem a farmacocinética de primeira ordem, na qual o medicamento administrado atinge o pico da concentração terapêutica no plasma sanguíneo por um curto período, enquanto a liberação prolongada segue a farmacocinética de ordem zero, em que após a administração, a concentração do fármaco é mantida no plasma sanguíneo, dentro da janela terapêutica por um período de tempo prolongado, conforme apresentado na Figura 1 (Benoit, 2020).

**Figura 1-** Representação dos níveis plasmáticos de um fármaco em sistemas de liberação convencional e controlada (prolongada).



Fonte: Adaptado de Sousa *et al.* (2020).

Os sistemas de liberação são classificados em reservatórios ou matrizes. Os sistemas de reservatório contêm o fármaco dentro de um núcleo interno cercado por uma membrana permeável. Já os sistemas matriciais contêm o fármaco disperso dentro do material, e sua taxa de liberação pode ser controlada por mecanismos de difusão, intumescimento e erosão (Lopes; Lobo; Costa, 2005). A difusão consiste na transferência de massa de acordo com o gradiente de concentração. Dessa forma, em um sistema matricial, o fármaco dissolvido pode ser inicialmente liberado da superfície. No intumescimento, o solvente penetra nas redes poliméricas e altera o volume da matriz, aumentando a difusividade do fármaco e tornando a taxa de liberação dependente da área superficial e do grau de intumescimento da matriz polimérica. Na erosão, o fármaco é liberado após a degradação hidrolítica da matriz. Essa degradação é dependente da taxa de penetração de água e da taxa de clivagem hidrolítica (Borandesh *et al.*, 2021).

Geralmente, a liberação por meio desses sistemas é bifásica. Inicialmente a substância ativa adsorvida na superfície é liberada rapidamente, seguida por uma liberação mais lenta (controlada) do interior do sistema de liberação para o meio externo. Essa liberação é ideal para alcançar o efeito terapêutico imediato e preservá-lo por um período prolongado. O mecanismo de liberação é a difusão, mas pode ser acompanhada pela dissolução do princípio ativo no meio, após o intumescimento e erosão do sistema polimérico (Zamboulis *et al.*, 2020).

A utilização de sistemas matriciais constituídos por polímeros têm sido uma excelente estratégia para proporcionar a liberação prolongada do fármaco, visto que tais constituintes exercem ação direta no perfil de liberação do fármaco e apresentam vantagens como:

versatilidade, baixo custo, melhor eficácia, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Lyra *et al.*, 2007; Villanova; Oréfice; Cunha, 2010).

### 2.1.1 Obtenção dos sistemas poliméricos

Os sistemas poliméricos de liberação de fármacos normalmente são preparados pelos métodos de reticulação/gelificação iônica, reticulação covalente, método micelar reverso, precipitação/coacervação, evaporação de solventes e a técnica LBL (*layer-by-layer*). Para a escolha do método deve-se considerar a cinética do perfil de liberação do fármaco, a estabilidade dos constituintes, a toxicidade do produto obtido e a natureza do agente terapêutico (Garg *et al.*, 2019). As técnicas para obtenção dos sistemas poliméricos podem ser combinadas como forma de superar as limitações individuais de cada método, aumentar a estabilidade mecânica e ajustar as propriedades dos sistemas para diversificar sua aplicação (Wathoni *et al.*, 2024).

A reticulação iônica ou gelificação iônica é um método seguro para agentes terapêuticos termossensíveis e consiste na agregação do polímero com macromoléculas de carga oposta ou agente de reticulação iônico, como o tripolifosfato de sódio (TPP). Esse método permite controlar as propriedades e o tamanho das miliesferas ao ajustar os fatores que interferem na formação, como a concentração do polímero, a adição de agentes reticulantes, o tempo e a temperatura de reticulação. Além disso, esse método possibilita uma produção em larga escala com boa reprodutibilidade e aplicações diversas, como no desenvolvimento de formulações com capacidade de modificar a liberação de substâncias ativas (Wathoni *et al.*, 2024).

Na reticulação química ou covalente, os polímeros são ligados covalentemente a um agente reticulante, como o glutaraldeído e a genipina. Essas ligações ocorrem devido à presença de grupos funcionais, como: -COOH, -OH, -NH<sub>2</sub> e -CONH. A reticulação permite a livre difusão de água ou materiais bioativos e inibe rotação da ligação entre as cadeias poliméricas, resultando em redes extremamente estáveis (Muñana-González *et al.*, 2023).

O método micelar reverso consiste na adição, sob agitação, de um solvente orgânico com surfactante lipofílico a uma solução aquosa do componente ativo-polímero. Em seguida, o agente reticulante é adicionado e o solvente orgânico evaporado. O excesso de surfactante é removido com cloreto de cálcio, produzindo as partículas polímero-reticulante desejadas com tamanho em torno de 100 nm (Grenha, 2012; Jhaveri *et al.*, 2021).

A precipitação/coacervação consiste na separação de fases numa solução coloidal. O polímero dissolvido em um solvente orgânico miscível em água é introduzido em uma solução contendo surfactante na qual o polímero é insolúvel, formando partículas precipitadas que são separadas por filtração ou centrifugação e, em seguida, são lavadas com água quente e fria. Esse método é usado especialmente para encapsular fármacos hidrofóbicos, mas também pode ser usado para incorporar fármacos hidrofílicos. Por meio desse método é possível obter partículas com tamanho de 50 a 300 nm, melhorando a sua eficiência de liberação ao aumentar a superfície de contato (Jhaveri *et al.*, 2021; Bashir *et al.*, 2022).

Na evaporação do solvente, a solução polimérica com um solvente volátil é emulsificada em uma fase não aquosa e mantida sob agitação até a evaporação do solvente (Garg *et al.*, 2019; Ahmed; Aljaeid, 2016). Esse método é utilizado para preparar partículas hidrofílicas ou hidrofóbicas, capazes de transportar moléculas de componentes ativos de tamanhos variados.

A técnica LBL consiste na deposição subsequente de camadas de policação e poliânion através de interações eletrostáticas que resultam na formação de filmes multicamadas (Silva *et al.*, 2016). As interações podem acontecer entre os polímeros como a quitosana e o alginato, entre o polímero e o princípio ativo ou no complexo formado com o polímero-princípio ativo-polímero. Assim como a reticulação iônica é uma técnica simples e versátil. A estabilidade em diferentes pHs, a resistência estrutural e a estabilidade mecânica dos materiais formados por complexos polieletrólitos podem ser melhoradas com a formação de ligações cruzadas resultantes da adição de um agente reticulante (Gierszewska; Ostrowska-Czubenko; Chrzanowska, 2018).

### 2.1.2 Matrizes poliméricas

O uso de matrizes poliméricas tem promovido avanços significativos nos sistemas de liberação modificada de substâncias ativas, pois ao manterem a concentração de tais substâncias dentro dos níveis terapêuticos são capazes de reduzir a dosagem e os efeitos indesejados e, por consequência, melhoram a eficácia e segurança destas substâncias (Xiao *et al.*, 2024). A expansiva utilização dos polímeros é atribuída as suas características únicas como viscosidade, flexibilidade e durabilidade mecânica. Além disso, apresentam importantes propriedades como biodegradabilidade e biocompatibilidade, o que permite a fabricação de estruturas de diferentes composições e propriedades físicas, além da incorporação de várias classes de fármacos (Salari, 2022).

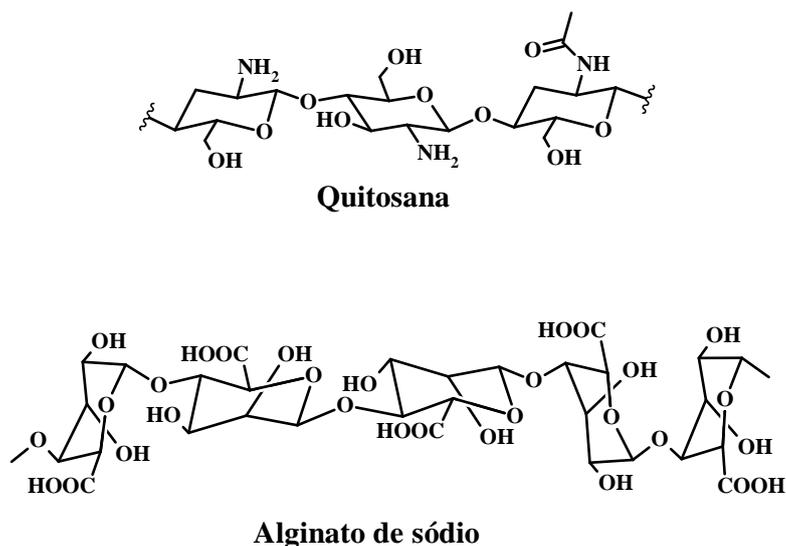
Os polímeros podem ser obtidos por meio de fontes sintéticas ou naturais. A diversidade na sua origem e composição possibilita sua aplicação em diversas áreas (Satchansk; Davidova; Petrov, 2024). Os biomateriais poliméricos podem ser apresentados nas formas de hidrogéis, nanofibras, micropartículas e nanopartículas. Essa versatilidade permite atender variadas demandas terapêuticas desde a produção de dispositivos para administração oral e parenteral de medicamentos até a produção de curativos, estruturas de regeneração de tecidos e lentes de contato com boa estabilidade química e capacidade para manter o fármaco encapsulado em condições extremas e liberá-lo na concentração ideal (Patel *et al.*, 2017; Baharlouei; Rahman, 2022; Liu; Tang; Wang, 2023).

As micropartículas podem ser microcápsulas, quando são partículas heterogêneas onde uma membrana envolve o núcleo, e microesferas quando o componente ativo é homogeneamente disperso na matriz polimérica (Lengyel *et al.*, 2019). No entanto, esses termos são frequentemente usados como sinônimos (Singh *et al.*, 2010). Essa definição também pode ser aplicada às miliesferas. O interesse nas miliesferas poliméricas é decorrente do tamanho reduzido que aumenta a superfície de contato e a atração por áreas inflamadas do corpo, possibilitando uma aplicação local (liberação direcionada), e da capacidade de prolongar a liberação de agentes terapêuticos, reduzindo a toxicidade e aumentando a eficácia (Souza; Silva; Costa 2021).

Os polímeros sintéticos são facilmente adaptáveis através do controle de sua composição química e possuem a capacidade de formar hidrogéis mais duradouros que os hidrogéis desenvolvidos com polímeros naturais. No entanto, os hidrogéis de polímeros sintéticos apresentam menor biocompatibilidade e maior toxicidade quando comparados com os de polímeros naturais (Nasution *et al.*, 2022). Por apresentarem biocompatibilidade, biodegradabilidade, não antigenicidade, baixa toxicidade e serem encontrados em abundância, os polímeros naturais como: quitosana, gelatina e alginato de sódio, têm estado em evidência para aplicações médicas e farmacêuticas, principalmente nos sistemas de liberação modificada de fármacos (Silva *et al.*, 2016).

A mistura de polímeros pode fornecer novos produtos com diversas aplicações na área farmacêutica devido ao aprimoramento das propriedades mecânicas e físicas adquiridas após a combinação. A presença de grupos ionizáveis como o  $-NH_2$  na quitosana permite a interação com outros polímeros, como o alginato de sódio, que possui grupos  $-COOH$  (Figura 2). A interação entre polycations e poliânions podem ser usadas para produzir uma matriz polimérica com uma ou múltiplas camadas aptas para aprisionar o fármaco e controlar sua taxa de liberação (Kaur *et al.*, 2023; Cirri *et al.*, 2021).

**Figura 2** - Estrutura química da quitosana e do alginato de sódio.



Fonte: Próprio autor.

A quitosana é um polímero catiônico obtido a partir da desacetilação da quitina, que por sua vez é encontrada em abundância no exoesqueleto de crustáceos e insetos. É um biopolímero insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, mas solúvel em soluções ácidas. Seu comportamento em solução é dependente do pH. Em meio ácido se converte em um policação, resultante da protonação dos grupos amina. Quimicamente, se apresenta na forma de um polímero composto por unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcN) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcNAc), unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) (Gonsalves *et al.*, 2011). Ao aumentar a mobilidade molecular, a quitosana de baixo peso molecular facilita a penetração de substâncias ativas em matrizes poliméricas (Herdiana *et al.*, 2024). Além disso, esse polímero é capaz de inibir o crescimento microbiano, característica que o diferencia dos demais polissacarídeos (Macedo *et al.*, 2022; Silva; Santos; Ferreira, 2006; Kaur *et al.*, 2023).

A utilização da quitosana é promissora, especialmente na indústria farmacêutica, no desenvolvimento de cosméticos e biomateriais, tais como géis, filmes e membranas poliméricas. Isso deve-se ao fato desse biopolímero apresentar boa biodegradabilidade e biocompatibilidade, além de não ser antigênico, ser atóxico, regenerativo e possuir atividade antibacteriana (Silva; Santos; Ferreira, 2006). A utilização de biomateriais de quitosana na medicina regenerativa é crescente, pois estudos evidenciam a capacidade de indução da mineralização, osteogênese, reparo ósseo, formação de novo tecido cartilaginoso, regeneração da pele e cicatrização de feridas (Kim *et al.*, 2023).

O alginato de sódio é um polímero obtido das paredes celulares e espaços intracelulares de várias algas marrons, como: *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera* e *Ascophyllum nodosum*. É um polissacarídeo aniônico linear constituído por blocos alternados de resíduos de ácido  $\alpha$ -L-gulurônico e  $\beta$ -D-manurônico ligados por ligações glicosídicas  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4). Os blocos são compostos por resíduos G consecutivos (GGGGG), resíduos M consecutivos (MMMMM) e resíduos M e G alternados (GMGMGM) (Shaikh *et al.*, 2022). Este polímero interage por ligações cruzadas intermoleculares com cátions bivalentes, geralmente íons  $\text{Ca}^{2+}$ . A troca dos íons de sódio da estrutura dos resíduos gulurônicos com cátions bivalentes resulta na formação de uma rede de gel estável e resistente à água, denominada “caixa de ovo” (Cirri *et al.*, 2021; Tisirigotis-Maniecka; Gancarz; Wilk, 2016).

É importante destacar que é um polímero hidrofílico, biocompatível, biodegradável, com baixa toxicidade, capacidade de reticulação e flexibilidade química. Essas características permitem a produção de materiais com diferentes estruturas e aplicações, podendo ser utilizado para a fabricação de sistemas de liberação de fármacos com administração oral ou injetável, bem como podem ser aplicados para cicatrização de feridas, transplante de células na engenharia de tecidos, *scaffolds* e materiais de impressão odontológicos ou cirúrgicos (Shaikh *et al.*, 2022; Lee; Mooney, 2012; Chatterje *et al.*, 2023).

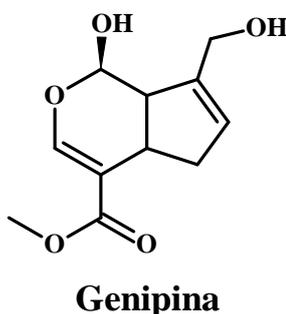
### 2.1.3 Agentes reticulantes

Para que a liberação das substâncias ativas nas matrizes poliméricas aconteça de maneira eficiente é necessário melhorar as propriedades físico-químicas dos polímeros naturais (Xiao *et al.*, 2024). Isso pode ser alcançado através da utilização de agentes reticulantes, que são substâncias com baixa massa molecular e possuem grupos funcionais reativos que formam ligações inter ou intracadeias dos polímeros. A reticulação de polímeros é uma forma de ampliar sua utilidade, tendo em vista que as reações de reticulação dos biopolímeros podem modificar a estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor e eficiência de incorporação de fármacos. Quanto maior o grau de reticulação, menor será a porosidade, e a permeabilidade à água, fazendo com que as substâncias retidas nas redes poliméricas tenham uma redução na difusão (Gonsalves *et al.*, 2011). Por isso, são utilizados para aumentar a capacidade de aprisionamento do fármaco, de modo que ele seja liberado lentamente e na concentração necessária para obter o efeito terapêutico desejado (Muzzarelli *et al.*, 2015).

A reticulação acontece através das reações dos grupos funcionais dos polímeros (-OH, -COOH, -NH<sub>2</sub>) com os agentes reticulantes, permitindo a formação de ligações covalentes, iônicas, de hidrogênio e interações de Van der Waals entre as cadeias poliméricas. A reticulação química produz materiais mais estáveis sob condições fisiológicas quando comparada com a reticulação física. Essa característica é importante para a obtenção de produtos com liberação prolongada de substâncias ativas. Os agentes de reticulação mais comumente utilizados são o glutaraldeído, glioxal, etilenoglicol, éter diglicídico e diisocianato. Entretanto, os reticulantes sintéticos apresentam elevada toxicidade para o organismo humano. Os efeitos tóxicos observados são inflamação e irritação da pele e mucosas, além de doenças renais e dores de cabeça. Sendo assim, a utilização destes agentes em materiais para aplicações farmacêuticas e biomédicas é restrita (Harris; Lecumberri; Heras, 2010; Muzzarelli *et al.*, 2015; Sapula; Bialik-Was; Malarz, 2023).

A genipina (Figura 3) é um metabólito secundário obtido a partir dos frutos imaturos de *Genipa americana* (jenipapo) e *Gardenia jasminoides* (Jasmim do cabo). Reage de forma espontânea com as aminas primárias presentes em polissacarídeos, como a quitosana ou proteínas como a gelatina, podendo ser usada como agente reticulante. Apresenta baixa toxicidade e, ao atuar como agente reticulante em polímeros, forma produtos estáveis e biocompatíveis. Além disso, melhora a resistência mecânica, porosidade e degradabilidade de biopolímeros (Muzzarelli *et al.*, 2015).

**Figura 3** - Estrutura química da genipina.

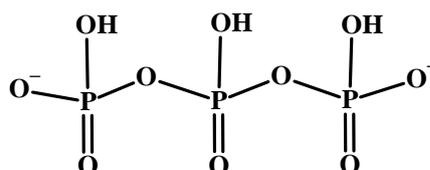


Fonte: Próprio autor.

O tripolifosfato de sódio (TPP) (Figura 4) também surge como uma alternativa viável como agente reticulante, pois não apresenta toxicidade e apresenta boa compatibilidade com alginato de sódio e quitosana (Bhatia *et al.*, 2024). É um ânion multivalente que interage ionicamente com o grupo amina protonada da quitosana em apenas uma etapa. Dessa maneira,

pode melhorar a densidade de reticulação, o tamanho das partículas, a biodisponibilidade, a estabilidade e o controle da liberação de substâncias ativas (Pistone *et al.*, 2023). Rahman e colaboradores (2024) evidenciaram que a adição e o aumento da concentração de TPP em nanopartículas de quitosana/alginate resultou em uma liberação mais lenta da vitamina B6.

**Figura 4** - Estrutura química do tripolifosfato de sódio.



**TPP**

Fonte: Próprio autor.

A genipina e o TPP ao serem associados a diferentes materiais poliméricos, originam produtos estáveis, biocompatíveis e seguros (Elzoghby, 2013). As propriedades biológicas das formulações poliméricas para liberação modificada de substâncias ativas podem ser aumentadas com a utilização de agentes reticulantes naturais, uma vez que estes componentes naturais também possuem atividades farmacológicas (Sapula; Bialik-Was; Malarz, 2023).

#### 2.1.4 Caracterização dos sistemas poliméricos

Os sistemas de liberação poliméricos de fármacos podem ser caracterizados utilizando técnicas como infravermelho; técnicas calorimétricas como, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG); microscopia eletrônica de varredura (MEV), determinação do índice de intumescimento e testes de dissolução/liberação de fármacos.

O infravermelho é uma técnica que através da absorção de luz infravermelha é capaz de detectar vibrações e rotações de ligações moleculares, fornecendo informações sobre os grupos funcionais presentes na amostra, já que para cada tipo de ligação, há uma frequência de vibração específica. Dessa forma, pode ser utilizado para avaliar a interação entre os polímeros e os agentes reticulantes e entre o sistema polimérico e o fármaco (Tao *et al.*, 2020).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica útil para avaliar a estabilidade térmica de amostras, a exemplo de miliesferas poliméricas, uma vez que permite a visualização das alterações físicas ou químicas provocadas pelo efeito do calor. A

termogravimetria (TG) analisa as modificações que a temperatura pode ocasionar na massa da amostra. Nesse sentido, é capaz de estabelecer a faixa de temperatura que não causa variações na composição química das amostras avaliadas (Ionashiro, 2004).

As análises no microscópio eletrônico de varredura (MEV) são realizadas para avaliar as características morfológicas de miliesferas poliméricas por meio de informações em relação a porosidade e rugosidade das amostras, características que influenciam o perfil de liberação do fármaco contido nesses sistemas. A técnica baseia-se na varredura com um feixe de elétrons focado que interage com os átomos da amostra, resultando em uma variedade de sinais que são detectados usando um detector altamente sensível. Desse modo, obtém-se uma imagem da amostra e informações da superfície da mesma (Ahmed; Aljaeid, 2016).

Índice de intumescimento é um parâmetro relevante para caracterizar um sistema de liberação de fármacos à base de polímeros, tendo em vista que determina a capacidade de absorção de água. Esse índice condiciona a cinética de liberação do fármaco incorporado, sendo influenciado pelo tamanho dos poros, estrutura da rede polimérica, hidrofiliicidade e grau de reticulação (Kim *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2025).

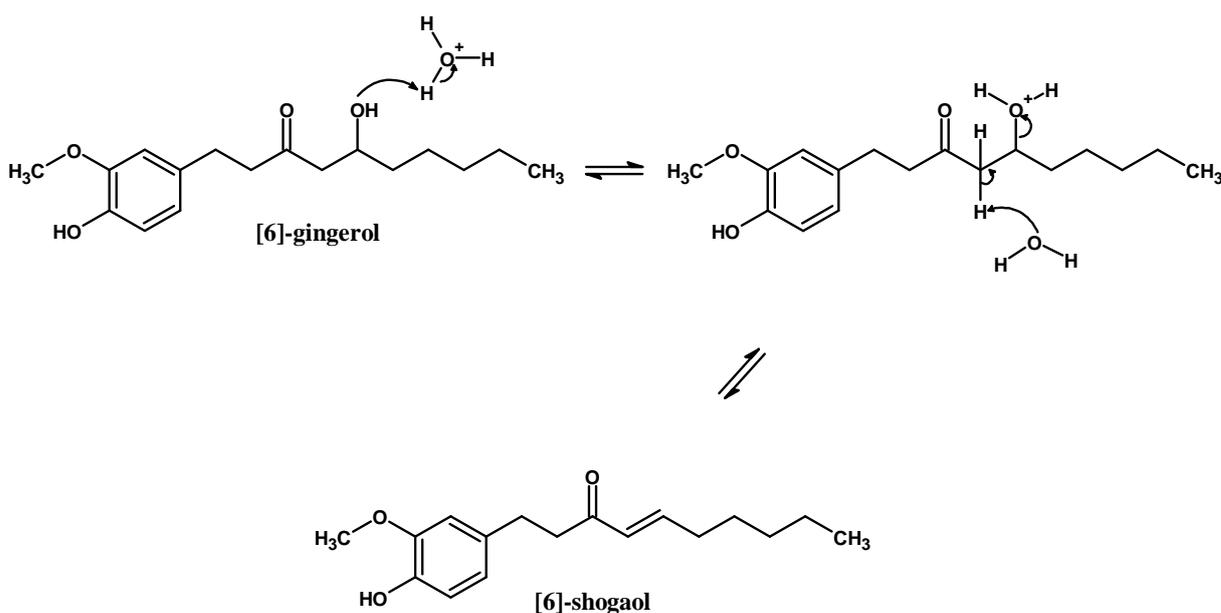
O teste de dissolução/liberação é usado para determinar o perfil de liberação do fármaco presente nos sistemas poliméricos. O controle da liberação é dependente da massa molecular do polímero, do grau de reticulação, da polaridade e do pH e, normalmente envolve o mecanismo de intumescimento, difusão e erosão. O meio de dissolução penetra na matriz polimérica, resultando no inchaço da matriz e, conseqüentemente, na difusão do fármaco a partir da matriz polimérica (Ahmed; Aljaeid, 2016). Inúmeros fármacos e compostos bioativos podem ser utilizados no desenvolvimento de sistema de liberação modificada como por exemplo o [6]-shogaol, que possui baixa biodisponibilidade oral decorrente da natureza lipofílica e do metabolismo de primeira passagem no fígado (Songvut *et al.*, 2024).

## 2.2 Perfil químico e potenciais atividades biológicas do [6]-shogaol

Os produtos naturais são importantes opções para o tratamento de diversas patologias. Estudos relatam inúmeros efeitos biológicos provenientes dos principais constituintes do gengibre (*Zingiber officinale*): gengerois, shogaois, paradois e zingerona (Kyama, 2020). Os shogaois são produtos da desidratação dos gengerois, que por sua vez são os principais constituintes presentes nos rizomas de *Zingiber officinale* (gengibre). Os grupos  $\beta$ -hidroxicetona dos gengerois sofrem uma reação de desidratação térmica para formar as cetonas

$\alpha,\beta$ -insaturadas, resultando nos respectivos shogaóis (Figura 5), e é facilitada pela utilização de soluções ácidas (Ghasemzadeh *et al.*, 2018). O [6]-shogaol é o produto de desidratação mais comum e exibe melhores efeitos farmacológicos quando comparados aos seus precursores (Semwal *et al.*, 2015).

**Figura 5** – Reação de desidratação do [6]-gingerol para a formação do [6]-shogaol.



Fonte: Próprio autor.

Dentre os efeitos biológicos dos shogaóis, destacam-se: as atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena (Kyama, 2020) e antimicrobiana (Oyedemi *et al.*, 2019). O efeito antioxidante do [6]-shogaol é atribuído à redução dos radicais DPPH, superóxido e hidroxila, bem como, à inibição da xantina oxidase, que produz radicais livres de oxigênio (Li *et al.*, 2012; Dugasani *et al.*, 2010).

A atividade anti-inflamatória do [6]-shogaol pode ser resultante do aumento da expressão do fator nuclear [derivado do eritróide 2]-like 2 (Nrf-2) e da heme oxigenase 1 (HO-1), assim como, da supressão de mediadores pró-inflamatórios como o NF $\kappa$ B e COX-2, das citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ ) e óxido nítrico sintase induzível (Bischoff-Kont; Fürst, 2021), envolvidos na patogenia de doenças inflamatórias, como a colite ulcerativa. Essa evidência foi relatada no estudo de Zhang e colaboradores (2018), no qual o [6]-shogaol incorporado em nanopartículas foi capaz de reduzir os sintomas e acelerar o reparo tecidual causado pela colite ulcerativa induzida por dextrano sulfato de sódio (DSS) em camundongos.

Villalvilla e colaboradores (2013) também comprovaram o efeito anti-inflamatório do [6]-shogaol através da redução da resposta imune inata dos condrócitos mediada por TLR4, receptor *toll-like*, capaz de induzir resposta inflamatória. Além disso, o [6]-shogaol inibe a ação da catepsina K, cisteína protease envolvida na sinalização de outros receptores tipo *toll-like*, e na degradação de tecido ósseo e cartilaginoso.

O efeito anticancerígeno do [6]-shogaol foi observado em câncer de mama, colo de útero, cólon, fígado, rim, oral e próstata. Um estudo *in vitro* revelou que essa substância é capaz de inibir a proliferação de células cancerígenas, como células esferoides MDA-MB-231 do câncer de mama, mostrando eficácia superior ao Paclitaxel, medicamento utilizado para tratamento desse tipo de câncer. Vale ressaltar que a atividade anticancerígena do [6]-shogaol foi verificada *in vivo* com células NCI-H1650 de câncer de pulmão e HMVP2 de câncer de próstata, em camundongos. Ademais, esse composto bioativo pode ser usado em combinação com agentes quimioterápicos disponíveis para aumentar a eficácia terapêutica ou reduzir os efeitos colaterais dos medicamentos quimioterápicos (Jia *et al.*, 2023).

O [6]-shogaol apresenta potencial antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*. Esse potencial foi evidenciado por Oyedemi e colaboradores (2019), os quais observaram que essa substância possui moderada atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes (SA1199B, XU212, RN 4220, MRSA 346724) em concentrações inibitórias mínimas de 8 a 16 µg/mL. Um outro estudo, realizado por Santos (2018), observou que a concentração de 0,05 mg/mL do [6]-shogaol é capaz de inibir completamente o crescimento e matar as cepas de *Staphylococcus aureus*.

A atividade antimicrobiana do [6]-shogaol frente a microrganismos de importância clínica, como *Staphylococcus aureus* tem relevância significativa (Mao *et al.*, 2019), uma vez que essa bactéria possui a capacidade de causar infecções potencialmente fatais, como artrite séptica, endocardite, síndrome do choque tóxico, pneumonia, infecção profunda da pele e osteomielite.

### 2.3 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* é uma espécie bacteriana Gram-positiva, do gênero estafilococos, anaeróbios facultativos, que apresenta morfologia esférica na forma de cocos, semelhante a cachos de uva. Esse microrganismo está presente na microbiota humana normal, especialmente na pele e fossas nasais (Tortora; Funke; Case, 2012). Pode causar infecções leves de pele e tecidos moles, intoxicação alimentar e doenças fatais, como bacteremia e endocardite

infecciosa. Além de estar associada a infecções do sítio cirúrgico, infecções ósseas e articulares, incluindo infecções de próteses articulares e pneumonia frequentemente observadas no ambiente hospitalar (Cheung; Bae; Otto, 2021).

A patogenicidade desse microrganismo está relacionada à produção de proteínas de superfície que promovem a adesão da bactéria ao tecido do hospedeiro, à secreção de toxinas e enzimas e ao aumento da capacidade de invasão dos tecidos (Tortora; Funke; Case, 2012). Dentre as toxinas secretadas por *S. aureus* destacam-se: hemolisinas, leucotoxinas e modulinas, conhecidas como toxinas formadoras de poros devido a capacidade de criar poros na membrana da célula hospedeira e, conseqüentemente provocar a morte celular (Ahmad-Mansour *et al.*, 2021).

A resistência de *S. aureus* aos antimicrobianos disponíveis, como o composto  $\beta$ -lactâmico metilina, é um problema de saúde pública. Esse microrganismo resistente tornou-se a principal causa de infecções de pele e tecidos moles (Liu *et al.*, 2024). As infecções causadas por *S. aureus* resistente a metilina (MRSA) estão associadas ao aumento da mortalidade, morbidade e internação hospitalar, sendo classificada como microrganismo de alta prioridade segundo a World Health Organization (2024).

O potencial de resistência do *S. aureus* e a sua patogenicidade são fatores limitantes para obter sucesso no tratamento das doenças infecciosas (Rampogu *et al.*, 2018). Desse modo, torna-se necessária a busca por novas alternativas terapêuticas capazes de combater o microrganismo de forma eficaz. Nesse sentido, a produção de miliesferas poliméricas contendo agentes antimicrobianos de origem natural surge como uma estratégia conveniente para superar a resistência antimicrobiana e tratar infecções, pois suas características físicas possibilitam administrar a substância ativa localmente após procedimento cirúrgico ou facilitar o contato com o local da lesão ou com as bactérias. Além disso, a estrutura polimérica e composição das miliesferas permite aumentar a eficiência de carga e prolongar a liberação das substâncias ativas (Li *et al.*, 2025).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar a atividade antimicrobiana de miliesferas poliméricas de quitosana/alginato contendo [6]-shogaol.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Extrair e isolar o [6]-gingerol a partir dos rizomas de *Zingiber officinale*;
- Realizar a semissíntese do [6]-shogaol a partir do [6]-gingerol por meio de uma reação de desidratação;
- Purificar o [6]-shogaol por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Produzir miliesferas poliméricas de quitosana/alginato, reticuladas com genipina, contendo [6]-shogaol;
- Caracterizar as miliesferas poliméricas por análise visual utilizando microscopia óptica, eficiência de encapsulamento, capacidade de carregamento do [6]-shogaol e determinação do índice de intumescimento das miliesferas;
- Avaliar o perfil de liberação do [6]-shogaol incorporado nas miliesferas;
- Avaliar a estabilidade química do [6]-shogaol livre;
- Avaliar o efeito antimicrobiano do [6]-shogaol livre e nas miliesferas poliméricas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Isolamento do [6]-gingerol

O gengibre fresco foi adquirido no comércio local na cidade de Lagarto-SE. Após isso, o gengibre foi lavado, cortado em fatias utilizando um processador de alimentos (Philips, RI7301, Brasil), e seco a 40 °C em estufa com circulação forçada de ar (DeLeo, A8AFD, Brasil) por 4 dias. Em seguida, o gengibre seco foi pulverizado em liquidificador e tamisado em peneira de aço de 0,61 mm. O pó foi submetido ao processo de maceração, utilizando etanol 91% (v/v) em uma razão, material vegetal/solvente 1:3 (m/v), por 6 dias, com renovação do solvente a cada 48 horas. Posteriormente, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida a 40 °C em evaporador rotativo (Fisatom, 801, Brasil). Em seguida, o extrato foi armazenado a 4 °C para posterior fracionamento.

O extrato bruto foi submetido a partição líquido-líquido utilizando hexano, diclorometano e acetato de etila. A fração de diclorometano foi submetida à cromatografia líquida em coluna de vidro (38,0 x 4,8 cm d.i.) preenchida com sílica-gel (SiO<sub>2</sub>) (60 Å, 0,063-0,200 mm, 70-230 Mesh. NEON Comercial). A fase móvel utilizada foi hexano/acetato de etila 50:50 (v/v). As subfrações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), reveladas com vanilina sulfúrica. As subfrações contendo [6]-gingerol foram reunidas e agrupadas de acordo com o perfil químico. Na análise por CCDA foi utilizado o [6]-gingerol padrão, previamente isolado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBio) da UFS - Campus Lagarto, para identificar a presença deste metabólito nas frações.

### 4.2 Semissíntese do [6]-shogaol (6S)

O [6]-shogaol foi obtido a partir da desidratação do [6]-gingerol. O [6]-gingerol foi dissolvido em acetona, na proporção de 1:10 (m/v) e mantido sob refluxo por 4 horas a 70 °C, na presença do catalisador, ácido *para*-tolueno-sulfônico (NEON Comercial). A cada hora, a reação foi analisada por CCDA. Após as 4 horas de reação adicionou-se água gelada ao meio reacional, e em seguida a extração do produto foi realizada por partição líquido-líquido com

diclorometano. O isolamento do [6]-shogaol foi realizado por cromatografia líquida em coluna de SiO<sub>2</sub> (12,0 x 2,7 cm d.i.), utilizando éter de petróleo/acetato de etila 75:25 (v/v) como fase móvel.

A purificação do [6]-shogaol foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um cromatógrafo Shimadzu<sup>®</sup> Proeminence 20A, sistema com um detector MRS-vis SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5R, duas bombas LC-20AR e controladora CBM-20A. Para isso, foi utilizada uma coluna semi-preparativa C18 Shim-Pack (21,2 x 250 mm, 10 µm). A eluição foi realizada no modo isocrático, utilizando como fase móvel, metanol/água (75:25, v/v), em uma vazão de 18,9 mL/min. O volume de injeção do [6]-shogaol foi de 1000 µL e a análise foi feita em um comprimento de onda de 280 nm (Villalvilla *et al.*, 2013).

#### 4.3 Preparação das miliesferas poliméricas

As miliesferas poliméricas foram preparadas utilizando quitosana de baixo peso molecular (Aldrich Chemistry) e alginato de sódio de média viscosidade (Vetec). O gel de quitosana foi preparado da seguinte forma: 100 mg de quitosana foram dispersos em 10 mL de ácido acético 1% (v/v), sob agitação mecânica em dispersor (IKA, ULTRA-TURRAX<sup>®</sup> Tube Drive, China), a 3000 rpm durante 10 minutos. Em seguida, o gel foi submetido a ondas sonoras, por 30 minutos, em banho ultrassônico (Unique, USC-1450A, Brasil) com frequência de 25 kHz. Posteriormente, foram adicionados 10 mg de [6]-shogaol dissolvidos em 0,8 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), sob agitação, durante 30 minutos. Após isso, foram adicionados 500 µL de extrato enriquecido em genipina (EEG) 2,5% (m/v) e a mistura foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos. O gel de alginato de sódio 1% (m/v) foi preparado por meio da dispersão de 300 mg de alginato de sódio em 15 mL de água destilada. Após isso, foram adicionados 15 mL de solução de tripolifosfato de sódio 6% (m/v) sob agitação mecânica no dispersor, a 1000 rpm durante 5 minutos. Em seguida, o gel foi submetido a ondas sonoras por 20 minutos no banho ultrassônico (Wu; Yao, 2013; Cho *et al.*, 2014, com modificações).

O gel de quitosana foi gotejado com auxílio de uma seringa com agulha 18G em 30 mL de uma dispersão de alginato de sódio 1% (m/v) e tripolifosfato de sódio 3% (m/v), sem agitação. Após 1 hora, as miliesferas foram filtradas e lavadas com água destilada e acetona. Em seguida, as miliesferas foram congeladas a -80 °C e liofilizadas por 24 horas a -40 °C e 450 µHg (Liotop, L101, Brasil). As miliesferas foram armazenadas em pote hermético a 4 °C para análises posteriores.

#### 4.4 Caracterização

##### 4.4.1 Análise morfológica, diâmetro e peso médio das miliesferas

A análise morfológica foi realizada após o registro de fotos das miliesferas em um microscópio estereoscópio (Physis) com ampliação de 30 vezes utilizando a câmera de um smartphone Apple, Iphone 14 Plus, versão 18.4.

O diâmetro das miliesferas foi determinado com auxílio de um paquímetro digital (Starrett, EC799A-8/200, Brasil). Para isso, foram utilizadas 20 miliesferas selecionadas aleatoriamente. O peso médio das miliesferas foi determinado a partir de 40 miliesferas pesadas em balança analítica (Shimadzu®, ATX224) (Cirri *et al.*, 2021). A determinação do diâmetro e peso médio das miliesferas foi realizada em triplicata e os resultados foram obtidos por meio da média e desvio padrão.

##### 4.4.2 Determinação da eficiência de encapsulamento (EE) e capacidade de carregamento do [6]-shogaol nas miliesferas

A eficiência de encapsulamento e a capacidade de carregamento do [6]-shogaol nas miliesferas foi determinada após a dissolução das miliesferas com ácido acético 3% (v/v) e etanol P.A sob agitação mecânica no dispersor, a 3000 rpm durante 20 minutos. Em seguida, o [6]-shogaol foi extraído por partição líquido-líquido utilizando diclorometano. O solvente foi evaporado utilizando evaporador rotativo e o [6]-shogaol foi reconstituído com metanol grau HPLC para posterior análise. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Shimadzu® Proeminence 20A, sistema com um detector UV-vis SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5R, duas bombas LC-20AR e controladora CBM-20A. Para isso, foi utilizada uma coluna analítica Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 x 100 mm, 3,5  $\mu$ m), e fase móvel metanol/água, 75:25 (v/v), em uma vazão de 0,8 mL/min. O volume de injeção das alíquotas foi de 20  $\mu$ L e a análise foi feita em um comprimento de onda de 280 nm (Silva *et al.*, 2012). O ensaio foi realizado em triplicata utilizando diferentes lotes das miliesferas. Os resultados foram obtidos por meio da média e desvio padrão.

Após a análise, a eficiência de encapsulamento (EE) foi calculada por meio da Equação 1 (Frent *et al.*, 2022). Onde  $C_{r(6S)}$  é a concentração real do [6]-shogaol nas miliesferas e  $C_{t(6S)}$  é a concentração teórica do [6]-shogaol nas miliesferas.

$$EE(\%) = \frac{C_{r(6S)}}{C_{t(6S)}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

A capacidade de carregamento (CC) do [6]-shogaol nas miliesferas poliméricas foi calculada através da Equação 2 (Patel *et al.*, 2016). Onde  $M_{r(6S)}$  é a massa real do [6]-shogaol nas miliesferas e  $M_m$  é a massa de miliesferas.

$$CC(\%) = \frac{M_{r(6S)}}{M_m} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

#### 4.4.3 Índice de intumescimento

Para avaliar a capacidade de absorção de água, 10 mg de miliesferas ( $M_1$ ) foram imersas em 2,5 mL de soluções tampão em diferentes pH (1,2; 4,5 e 6,8), por 8 horas. Após as 8 h, e a remoção do excesso de água com papel de filtro, as miliesferas foram pesadas ( $M_2$ ) em balança analítica, e o índice de intumescimento calculado através da Equação 3 (Azad, 2004; Patel *et al.*, 2016, com modificações). O ensaio foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos por meio da média e desvio padrão.

$$II(\%) = \frac{(M_2 - M_1)}{M_1} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde II é o índice de intumescimento,  $M_2$ , a massa das miliesferas após 8 h de imersão, e  $M_1$ , a massa das miliesferas antes da imersão.

#### 4.5 Teste de liberação do [6]-shogaol

O [6]-shogaol livre e o [6]-shogaol contido nas miliesferas poliméricas foram submersos em 60 mL de tampão em diferentes pHs (1,2; 4,5 e 6,8) dentro de frascos Erlenmeyer de 125 mL, na temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C, sob agitação constante (100 rpm), em uma incubadora com agitação orbital (Tecnal, TE-4200, Brasil). Alíquotas de 200  $\mu$ L foram coletadas em diferentes tempos (0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 24; 36 e 48 horas para o pH 1,2 e 6,8) e (0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 24; 36; 48; 72... 1588 e 1684 horas para o pH 4,5) (Silva *et al.*, 2020). Após isso, as alíquotas foram

centrifugadas por 10 minutos a 10000 rpm, filtradas, e analisadas em um cromatógrafo Shimadzu® Proeminence 20A, sistema com um detector UV-vis SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5R, duas bombas LC-20AR e controladora CBM-20A. Para isso, foi utilizada uma coluna analítica Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 x 100 mm, 3,5 µm). A eluição foi realizada no modo isocrático utilizando como fase móvel, metanol/água (75:25, v/v), em uma vazão de 0,8 mL/min. O volume de injeção das alíquotas foi de 20 µL e a análise foi feita em um comprimento de onda de 280 nm (Villalvilla *et al.*, 2013). A quantificação do [6]-shogaol nos testes de liberação foram realizadas utilizando a curva de calibração do [6]-shogaol que foi construída a partir de 5 soluções de [6]-shogaol com concentrações entre 0,5 e 100 µg/mL (Figura A5 – Apêndice C). Os testes de dissolução foram realizados em triplicata.

#### 4.6 Teste de estabilidade do [6]-shogaol

O [6]-shogaol livre na concentração de 600 µg foi pesado em papel de filtro e colocado em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 60 mL de tampão pH 4,5, e água deionizada pH 6,8, na temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C, sob agitação constante (100 rpm), em incubadora com agitação orbital. Alíquotas de 200 µL foram coletadas em diferentes tempos com base no percentual de degradação do [6]-shogaol. Em seguida, as amostras foram analisadas do mesmo modo que o teste de liberação. O teste de estabilidade foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos por meio da média e desvio padrão.

#### 4.7 Atividade antimicrobiana

##### 4.7.1 Condições de cultivo e inóculo da cepa bacteriana

O efeito antimicrobiano do [6]-shogaol e das miliesferas poliméricas contendo o [6]-shogaol foi avaliado *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P). Esta cepa foi obtida da coleção de cultura bacteriana do Laboratório de Biologia Molecular e Microbiologia (LaBMIC) do Departamento de Farmácia da UFS – Campus Lagarto.

A cepa da *S. aureus* foi retirada do estoque congelado (-80 °C), cultivada em placa de Petri contendo ágar Mueller Hinton e incubada em estufa microbiológica (Incubator, SPX-350B) a 37 °C por 24 h. Em seguida, foi realizado o inóculo de uma colônia isolada em 8 mL de caldo *brain heart infusion* (BHI), o qual foi incubado a 37 °C, sob agitação constante a 200 rpm, por 4 h, em incubadora microbiológica (Labor, ACB). Após isso, a densidade da

suspensão bacteriana foi ajustada ao padrão de turbidez de 0,5 na escala de McFarland, que corresponde a absorvância 0,1 ( $1 \text{ a } 2 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$ ) a  $\lambda = 600 \text{ nm}$ , em espectrofotômetro (EduTec, EEQ-9023, Brasil).

#### 4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em caldo em placas de microtitulação de 96 poços. Para isso, uma suspensão microbiana de *S. aureus* com absorvância ajustada para 0,1 foi diluída em caldo BHI na proporção 1:100 (v/v). Posteriormente, foram adicionados aos poços iniciais da placa, 2  $\mu\text{L}$  de uma solução de [6]-shogaol, dissolvidos em DMSO e 198  $\mu\text{L}$  da suspensão microbiana, de modo que a concentração inicial da substância fosse 512  $\mu\text{g/mL}$ . Em seguida, a suspensão microbiana contendo o [6]-shogaol foi microdiluída nos poços seguintes (previamente preenchidos com 100  $\mu\text{L}$  de suspensão microbiana) até a concentração final de 8  $\mu\text{g/mL}$ . Como controle negativo, foi utilizada a suspensão de *S. aureus* e como controle positivo, o antimicrobiano cloridrato de vancomicina em uma concentração de 4  $\mu\text{g/mL}$ . Após isso, a placa foi incubada a 37 °C por 24 h em estufa microbiológica. A viabilidade celular foi definida através do monitoramento da absorvância e pelo ensaio de redução da resazurina (NCCLS, 2003; Julião, 2022).

##### 4.7.2.1 Viabilidade celular por monitoramento de absorvância

A CIM foi determinada pela leitura da absorvância dos meios presentes nos poços em leitor de microplacas (Multiskan GO 1.00.40, EUA) a 600 nm. O controle negativo de inibição de crescimento microbiano foi utilizado como padrão de leitura, com a diminuição no valor da absorvância em cada poço, indicando inibição do crescimento microbiano (Julião, 2022).

##### 4.7.2.2 Viabilidade celular por redução da resazurina

A CIM foi determinada, também, pelo ensaio colorimétrico de redução da resazurina. Desse modo, após a leitura da placa, 30  $\mu\text{L}$  de solução aquosa de resazurina 0,01% (m/v) foram adicionados aos poços, e em seguida a placa foi incubada por 45 min em estufa microbiológica a 37 °C. Após esse período, foi observado se houve mudança de coloração no conteúdo da placa, uma vez que na presença de microrganismos viáveis, a resazurina, inicialmente azul, é reduzida

à resorufina, que apresenta cor rosa (Hossain, 2024). Dessa forma, a CIM foi definida como a menor concentração da amostra que não teve alteração de cor nos poços (Julião, 2022).

#### 4.7.3 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

O conteúdo presente nos poços da placa de microtitulação em que não houve crescimento microbiano, observado visualmente pela ausência de turbidez, foi semeado em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37 °C por 24h. A ausência de colônias na placa indicou a morte do microrganismo (Julião, 2022).

#### 4.7.4 Avaliação do efeito antimicrobiano das miliesferas poliméricas

A atividade antimicrobiana das miliesferas foi realizada em tubos de ensaio, nos quais foram adicionados 20 µL de uma suspensão microbiana de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P com absorbância ajustada para 0,1 ( $1 \text{ a } 2 \times 10^8$  UFC/mL) a 600 nm, e posteriormente diluída em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) na proporção de 1:100 (v/v). Cinquenta e dois miligramas de miliesferas contendo 256 µg de [6]-shogaol foram adicionadas nos tubos com 2 mL da suspensão bacteriana, de modo que a concentração da substância ativa fosse igual a CIM. Os tubos de ensaio foram incubados em estufa bacteriológica a 37 °C por 6 horas, e, após esse período, as miliesferas foram transferidas para novos tubos com a suspensão microbiana de *S. aureus* e incubados novamente a 37 °C por 6 horas. Mais uma vez as miliesferas foram transferidas para novos tubos com a suspensão microbiana e incubados novamente a 37 °C por mais 12 horas. O procedimento foi realizado em 12 ciclos, totalizando 108 h de experimento. Como controle, foram utilizadas suspensões microbianas de *S. aureus* diluídas na proporção de 1:100 (v/v) sem as miliesferas. Decorrido esse tempo (6, 12, 24, 30, 36, 48, 54, 60, 72, 78, 84, 96 e 108h), o conteúdo presente nos tubos foi diluído em caldo BHI na proporção 1:1 e realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 600 nm (Zhang *et al.*, 2019, com modificações).

Todos os ensaios antimicrobianos foram realizados em triplicata, em experimentos independentes. Os resultados foram apresentados utilizando a média e desvio padrão.

#### 4.8 Análises estatísticas

Os dados experimentais do teste de liberação da substância ativa foram analisados por meio do ajuste aos modelos matemáticos disponibilizados no suplemento do Microsoft Excell®, DDSolver. Cada modelo foi avaliado quanto à sua qualidade de ajuste usando o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), coeficiente de determinação ajustado ( $R^2$  ajustado) mais elevado, menor valor de *Akaike Information Criterion* (AIC) e *Model Selection Criterion* (MSC) maior que 2.

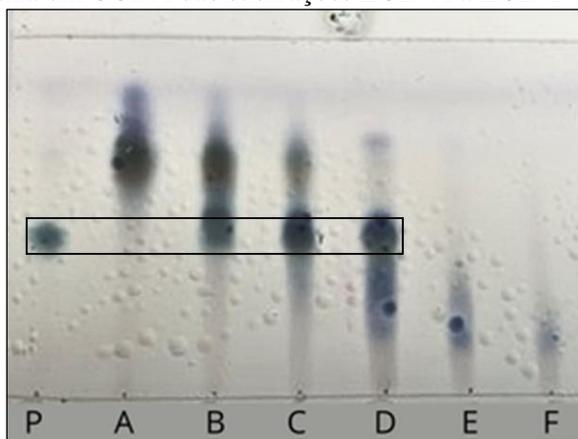
Os dados obtidos no experimento do índice de intumescimento, de estabilidade do [6]-shogaol e da determinação da concentração inibitória mínima foram tratados estatisticamente através do programa GraphPad Prism®, versão 9.0, por meio de Análise de Variância (ANOVA) de via única, seguido de pós Teste de Tukey. Enquanto, a avaliação da atividade antimicrobiana das miliesferas poliméricas foi analisada por meio de Análise de Variância (ANOVA) de via única, seguido de pós Teste de Dunnett's. As diferenças com  $p < 0,05$  foram consideradas significativas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção do [6]-gingerol

A partir de 639 g de gengibre seco, foram obtidos por maceração exaustiva, 62,5 g de extrato bruto (9,8%, m/m). O extrato foi submetido à partição líquido-líquido, da qual obtiveram-se 18,8 g de fração diclorometano (ZOD). Destes, 15,8 g foram submetidos à cromatografia líquida clássica (CLC). Após a separação cromatográfica, obteve-se 50 frações, que após reunião, conforme semelhança do perfil químico, resultou em 6 subfrações: ZOD-A (0,49 g), ZOD-B (0,94 g), ZOD-C (3,70 g), ZOD-D (0,74 g), ZOD-E (0,43 g) e ZOD-F (0,67 g) (Figura 6). As subfrações ZOD-B, ZOD-C e ZOD-D apresentaram uma banda intensa com o mesmo Rf (fator de retenção) do [6]-gingerol padrão (Rf = 0,4). No entanto, observou-se a presença de muitas impurezas na subfração ZOD-B. Dessa forma, as subfrações ZOD-C e ZOD-D (4,44 g, 27,8 % (m/m)) contendo [6]-gingerol foram reunidas e denominadas de fração enriquecida em gingeróis (FEG).

**Figura 6** – Cromatograma em CCDA das subfrações ZOD-A a ZOD-F da fração diclorometano.



Fonte: Próprio autor.

Nota: P é o [6]-gingerol padrão.

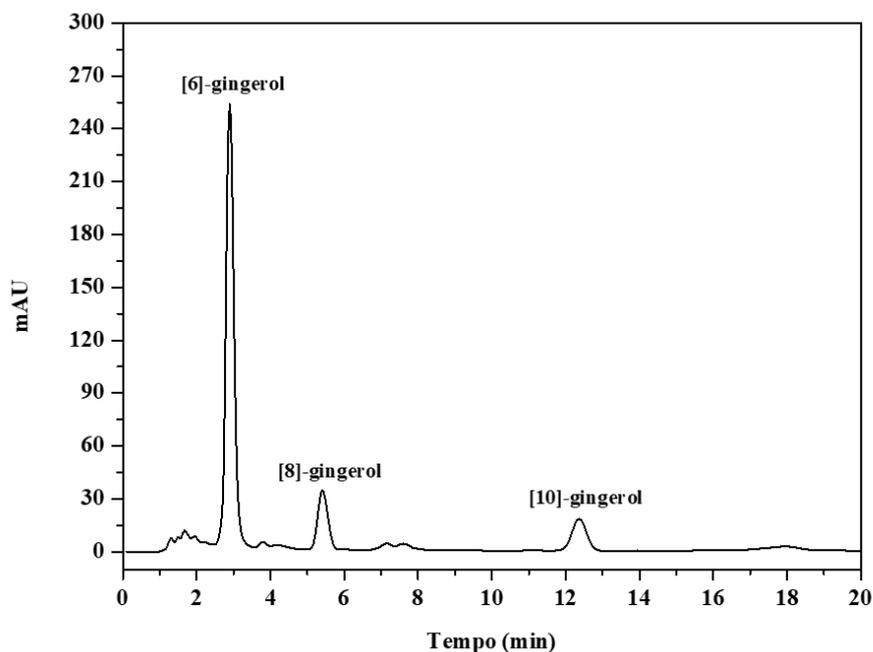
Embora necessite de grande quantidade de solventes orgânicos e tempo prolongado de extração (Samota *et al.*, 2024), a maceração é uma técnica simples e eficaz para a extração de [6]-gingerol, como observado no estudo de Jorge-Montalvo; Vílchez-Perales; Visitación-Figueroa (2023) que avaliou diferentes métodos de extração do gengibre e evidenciou uma

maior eficiência de extração de compostos fenólicos totais e [6]-gingerol pelo método de maceração.

A utilização da maceração exaustiva para obtenção do extrato bruto dos rizomas de *Zingiber officinale* foi apropriada, uma vez que apresentou um bom rendimento (9,8%, m/m) quando comparado ao estudo de Silva *et al.* (2012), que utilizou a mesma técnica de extração, mas com um rendimento de 5,3% (m/m). O melhor rendimento de extração pode ter sido obtido, pelo fato de o solvente extrator utilizado neste trabalho apresentar um percentual de etanol diferente de Silva *et al.* (2012). Já no estudo de Zhang *et al.* (2011) os autores obtiveram um rendimento de 3,5% (m/m) ao utilizar maceração com etanol sem renovação do solvente extrator (maceração convencional), o que reforça o uso da maceração exaustiva, com renovação do solvente, para a obtenção de melhores rendimento de extração do [6]-gingerol.

Como pode ser observado na análise cromatográfica por CLAE, o [6]-gingerol, substância de interesse, apresentou-se de forma majoritária na FEG (Figura 7) com grau de pureza estimado de 58%. O [8]-gingerol e o [10]-gingerol foram identificados na FEG, após a injeção dos padrões de [8]- e [10]-gingerol (Apêndice B), como também pode ser observado na Figura 4.

**Figura 7** – Cromatograma da fração enriquecida em gingeróis obtido por CLAE.



Fonte: Próprio autor.

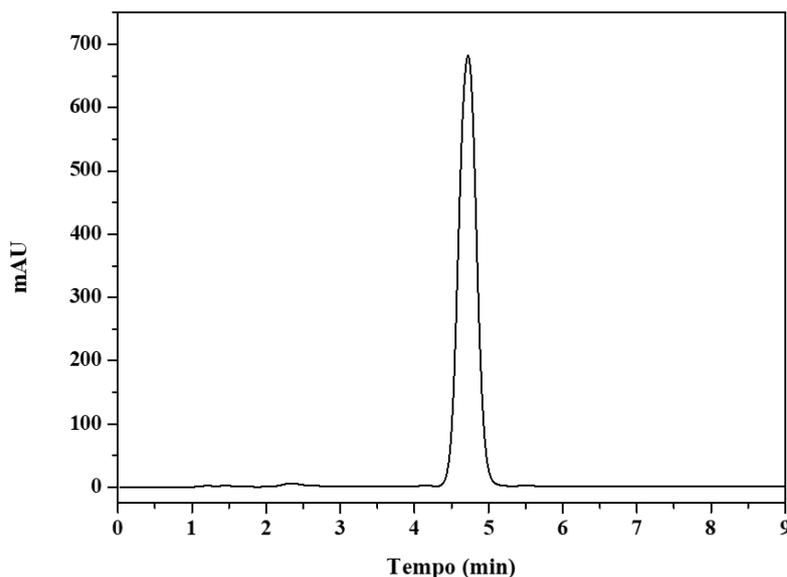
Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu®) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 µm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 µL.

## 5.2 Semissíntese do [6]-shogaol a partir do [6]-gingerol

A fração enriquecida em [6]-gingerol (FEG) obtida foi submetida à reação de desidratação. A partir de 4 g da FEG (equivalente a 2,32 g de [6]-gingerol), foram obtidos 0,97g de [6]-shogaol. Desse modo, o rendimento da conversão do [6]-gingerol em [6]-shogaol foi de 19,2%. Após análise e purificação por CLAE, obteve-se 0,446 g de [6]-shogaol com pureza de 97,5%.

Ao comparar os cromatogramas da FEG (Figura 7) e do [6]-shogaol (Figura 8) analisados por CLAE, observa-se o desaparecimento do pico referente ao [6]-gingerol ( $t_r = 2,9$  min) e o surgimento de um pico mais intenso correspondente ao produto formado, o [6]-shogaol ( $t_r = 4,8$  min). A formação do [6]-shogaol a partir da desidratação do [6]-gingerol foi mais eficiente do que no estudo desenvolvido por Silva (2011), uma vez que ele utilizou como precursor o [6]-gingerol com pureza acima de 96%, enquanto neste estudo foi utilizado o [6]-gingerol com pureza de 58%.

**Figura 8** – Cromatograma do [6]-shogaol por CLAE.



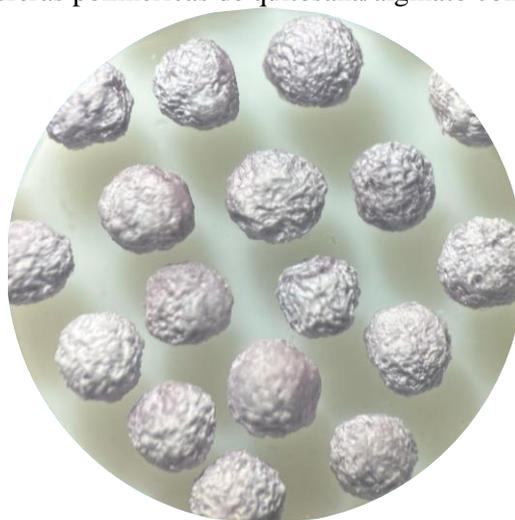
Fonte: Próprio autor.

Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu®) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 μm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 μL.

### 5.3 Análise das miliesferas poliméricas

As miliesferas poliméricas apresentaram-se morfologicamente uniformes, com diâmetro de  $1,48 \pm 0,11$  mm, peso médio de  $0,44 \pm 0,002$  mg, superfície rugosa e coloração levemente arroxeadada (Figura 9). A coloração arroxeadada é resultado da reação de reticulação que ocorre entre os grupos amino da quitosana e a genipina, na presença de oxigênio. O aumento da temperatura, o tempo de reação e a quantidade de grupos amino disponíveis na quitosana, bem como a diminuição do pH afetam a tonalidade da cor observada no produto reticulado (Neri-Numa *et al.*, 2017). Como o tempo de reticulação foi pequeno, para evitar o aumento da viscosidade do gel e assim facilitar o seu gotejamento, a coloração arroxeadada foi pouco perceptível como pode ser visto pela fotografia (Figura 9). Além de melhorar a eficiência de aprisionamento, a utilização de agentes reticulantes podem aumentar a densidade de reticulação com a quitosana (Cho *et al.*, 2014), favorecendo a produção de miliesferas mais homogêneas como observado nesse estudo.

**Figura 9** – Miliesferas poliméricas de quitosana/alginato contendo [6]-shogaol.



Fonte: Próprio autor.

#### 5.3.1 Determinação da eficiência de encapsulamento (EE) e da capacidade de carregamento (CC) do [6]-shogaol nas miliesferas

O encapsulamento de compostos bioativos em sistemas poliméricos permite melhorar a solubilidade, minimizar a degradação e, como consequência prolongar o efeito terapêutico

(Rahman *et al.*, 2024), e por esse motivo um sistema de liberação polimérico foi produzido neste trabalho.

A eficiência de encapsulamento foi determinada por CLAE, e a quantificação foi realizada a partir da curva de calibração do [6]-shogaol ( $y = 9626,6x - 3593,8$ ;  $R^2 = 0,9998$ ), construída após a plotagem dos dados de concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) versus área do pico (Figura A5 – Apêndice C). Após a extração e quantificação da substância ativa em diferentes lotes de miliesferas, obteve-se a EE de  $68,1 \pm 0,9\%$ . Vale destacar que é a primeira vez que este sistema polimérico contendo [6]-shogaol foi produzido.

Quanto maior a concentração do polímero e a rápida solidificação das miliesferas, maior a eficiência de incorporação (Jyothi *et al.*, 2010; Dhakar *et al.*, 2010). Frent e colaboradores (2022) prepararam micropartículas de quitosana-alginato carregadas com quercetina e evidenciaram uma eficiência de encapsulamento maior nas microesferas que continham uma concentração mais alta de quitosana. Os autores observaram que ao aumentar a concentração de quitosana de 0,1% para 0,2% (v/v), a eficiência de encapsulamento variou de 82 para 85%, confirmando que a eficiência pode ser melhorada à medida que a concentração do polímero aumenta em relação a substância ativa incorporada, contribuindo com a liberação prolongada, devido ao aumento da densidade das micropartículas. Outros autores observaram resultados diferentes com relação a influência da concentração de quitosana na eficiência de encapsulamento. Cho *et al.* (2014) evidenciaram que ao aumentar o percentual de quitosana de 0,5% para 1,0%, a eficiência de encapsulamento diminuiu de 99,55% para 97,07%, mostrando que existe um limite da concentração do polímero para o aumento da eficiência de encapsulamento. Neste trabalho a concentração de quitosana utilizada foi de 1%, concentração ideal para a formação das miliesferas, observado em testes preliminares.

O tempo de formação das miliesferas afeta a incorporação do princípio ativo. Ao aumentar o tempo, a difusão da substância para fora das miliesferas aumenta e, conseqüentemente reduz o encapsulamento (Liu *et al.*, 2004). A adição de agentes reticulantes também melhora a eficiência de encapsulamento, pois ao interagirem com os polímeros, formam-se redes menos porosas que dificultam a difusão do agente terapêutico. Cho e colaboradores (2014) observaram que maiores eficiências de aprisionamento foram obtidas em microesferas reticuladas com altas concentrações de TPP. Baseado nesses estudos, no presente trabalho utilizou-se agentes reticulantes (extrato enriquecido em genipina e tripolifosfato de sódio, TPP) e tempo de reticulação de uma hora.

A solubilidade do componente bioativo também influencia na eficiência de encapsulamento, uma vez que a baixa solubilidade da substância no meio aumenta a capacidade

de aprisionamento das miliesferas (Herdiana *et al.*, 2024). Mulia e colaboradores (2019) evidenciaram isso através do encapsulamento do extrato de oleorresina de gengibre vermelho em microcápsulas de quitosana, em que obtiveram um aprisionamento de 95,8%, resultante da baixa solubilidade dos compostos fenólicos do extrato. Essa característica faz com que tais substâncias permaneçam na rede de quitosana ao invés de difundirem-se para a solução aquosa de TPP. De modo semelhante, o [6]-shogaol apresenta baixa solubilidade aquosa, o que pode ter contribuído para a eficiência de encapsulamento observada neste trabalho.

A capacidade de carregamento das miliesferas poliméricas de quitosana/alginato contendo [6]-shogaol foi de 2,5%. Esse percentual relativamente baixo (< 20%) é característico de substâncias hidrofóbicas ou com baixa solubilidade como o [6]-shogaol (Herdiana *et al.*, 2024). No estudo desenvolvido por Krisanti, Astuty e Mulia (2017), a capacidade de carregamento de oleorresina do gengibre em micropartículas de quitosana e alginato também foi de 2,5%. Além disso, a baixa capacidade de carregamento também pode ser atribuída a pequena quantidade de [6]-shogaol utilizada, tendo em vista que são grandezas diretamente proporcionais (Patel *et al.*, 2016).

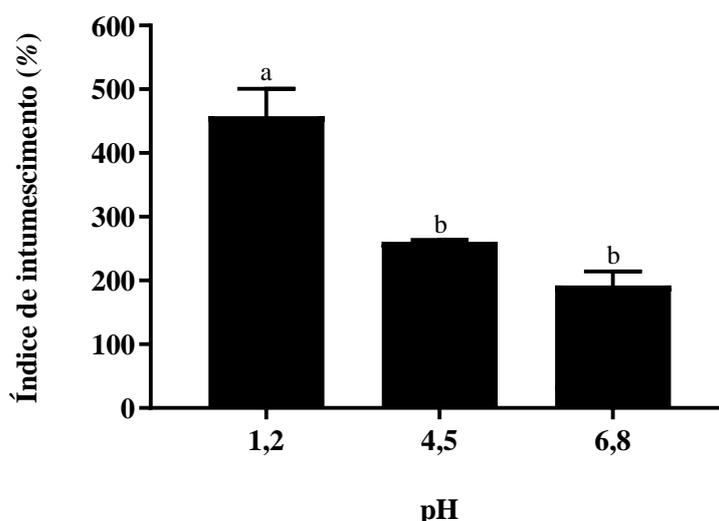
### 5.3.2 Índice de intumescimento

A capacidade de absorção de água das miliesferas foi determinada através do índice de intumescimento, após imersão em soluções tampão de diferentes pHs (1,2; 4,5 e 6,8) durante o período de 8 horas. O índice de intumescimento é um importante parâmetro para avaliar a potencial aplicação das miliesferas poliméricas na modificação do perfil de liberação do [6]-shogaol, pois à medida que as miliesferas intumescem, criam espaços para a difusão de substâncias ativas (Liu *et al.*, 2004). Além da concentração de agentes reticulantes e da substância ativa, o intumescimento é influenciado por meio de mudanças no pH, como observado neste estudo.

O maior índice de intumescimento das miliesferas ocorreu no pH 1,2 ( $458 \pm 43\%$ ), enquanto, o menor intumescimento foi observado no pH 6,8 ( $192 \pm 22,2\%$ ). No pH 4,5, as miliesferas de quitosana/alginato/genipina/TPP intumesceram  $261 \pm 2,98\%$  e não apresentaram diferença estatística significativa quando comparado ao pH 6,8 (Figura 10). É possível inferir que o intumescimento das miliesferas aumenta com a diminuição do pH, e que isso é resultante da protonação dos grupos amino ( $pK_a = 6,5$ ) presentes na quitosana em soluções ácidas, aumentando a sua solubilidade no meio aquoso (Suratman *et al.*, 2019). Além disso, acontece um relaxamento na estrutura das miliesferas causado pela repulsão das cadeias poliméricas de

quitosana, resultando em uma liberação mais rápida da substância ativa (Gonzalves *et al.*, 2005; Gierszewska; Ostrowska-Czubenko; Chrzanowska, 2018). No pH 6,8, os grupos carboxílicos da molécula de alginato ( $pK_a = 3,5$ ) se apresentam na forma ionizada promovendo uma interação mais forte com a quitosana, o que torna a rede polimérica mais estável, reduzindo o índice de intumescimento.

**Figura 10** – Índice de intumescimento das miliesferas poliméricas em diferentes pH.



Fonte: Próprio autor.

#### 5.4 Teste de liberação do [6]-shogaol

A compreensão dos perfis de liberação de substâncias ativas presentes em sistemas poliméricos é importante para alcançar o objetivo de manter a concentração do princípio ativo dentro da janela terapêutica por um tempo prolongado, preservando sua ação farmacológica e reduzindo seus efeitos colaterais. Dessa forma, os modelos matemáticos são utilizados como ferramentas para a produção de formulações farmacêuticas, pois permitem prever o mecanismo de liberação dos componentes bioativos (Papadopolou *et al.*, 2006).

Os perfis de liberação do [6]-shogaol livre e incorporado nas miliesferas poliméricas foram avaliados nos pHs 1,2; 4,5 e 6,8 (Tabela 1), conforme estabelecido na Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) N° 31/2010, simulando o meio gástrico (pré-prandial e pós-prandial) e intestinal (duodeno), respectivamente (Mukhopadhyay *et al.*, 2015). Os perfis de liberação da substância ativa foram representados após testes em modelos matemáticos com base nos seguintes critérios: coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e coeficiente de determinação

ajustado ( $R^2$  ajustado) mais elevado, menor valor de *Akaike Information Criterion* (AIC) e *Model Selection Criterion* (MSC) maior que 2 (Costa, 2002; Zhang *et al.*, 2010). Estes parâmetros e critérios são utilizados para encontrar o modelo matemático que mais se ajusta aos dados experimentais de liberação de fármacos.

As curvas do [6]-shogaol livre, em pH 1,2 e 4,5, obtiveram os melhores ajustes utilizando o modelo matemático de Weibull. As equações de liberação para esse modelo, em pH 1,2 e 4,5, foram as seguintes:  $F = 100 \cdot \{1 - \text{Exp}[-(t^{0,74})/1,05]\}$ , com  $R^2$  de 0,99, e  $F = F_{\text{max}} \cdot \{1 - \text{Exp}[-(t^{0,18})/1,01]\}$ , com  $R^2$  de 0,96, respectivamente. Já a curva do [6]-shogaol livre em pH 6,8 foi melhor ajustada ao modelo de Korsmeyer-Peppas, com a seguinte equação de liberação:  $F = 43,8 \cdot t^{0,4}$ ,  $R^2 = 0,97$ . O perfil de liberação do [6]-shogaol contido nas miliesferas em pH 1,2 também teve melhor ajuste com o modelo matemático de Weibull, com a seguinte equação:  $F = F_{\text{max}} \cdot \{1 - \text{Exp}[-(t^{0,47})/1,05]\}$ ,  $R^2 = 0,98$ . As curvas do [6]-shogaol presente nas miliesferas em pH 4,5 e 6,8 tiveram melhor ajuste ao modelo Logistic e Peppas-Sahlin, respectivamente. As equações de liberação para esses pHs foram as seguintes:  $F = 100 \cdot \text{Exp}[(-0,4) + 1,6 \cdot \log(t)] / \{1 + \text{Exp}[(-0,4) + 1,6 \cdot \log(t)]\}$ ,  $R^2$  de 0,97 para o pH 4,5 e  $F = 55,2 \cdot t^{0,5} + (-7,07) \cdot t$ , com  $R^2$  de 0,99 para o pH 6,8.

**Tabela 1** – Perfis de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em diferentes pHs.

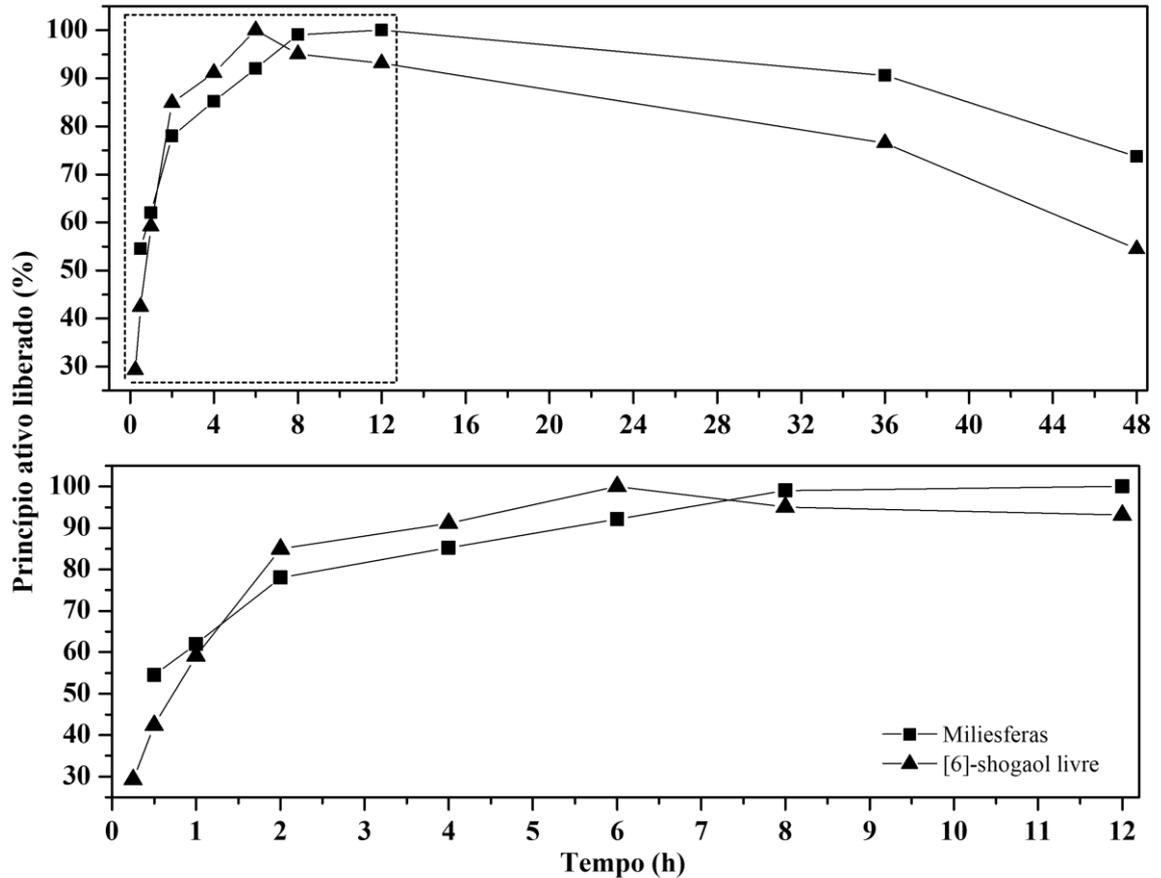
pH	Formulação	Modelo Matemático	n ou $\beta$ (mecanismo de liberação)	T25 (min)	T50 (min)	T100 (min)
1,2	[6]-shogaol livre	Weibull	0,74	12,0	39,0	360
	Miliesferas	Weibull	0,47	4,17	26,3	720
4,5	[6]-shogaol livre	Weibull	0,18	0,05	6,0	11.520
	Miliesferas	Logistic	-	21,2	106,8	12.960
6,8	[6]-shogaol livre	Korsmeyer-Peppas	0,39	14,7	83,8	480
	Miliesferas	Peppas-Sahlin	-	13,9	65,5	480

Nota: n e  $\beta$ : expoente de liberação; T25: tempo em que 25% do [6]-shogaol é liberado/dissolvido; T50: tempo em que 50% do [6]-shogaol é liberado/dissolvido; T100: tempo em que 100% do [6]-shogaol é liberado/dissolvido.

De acordo com os dados e perfis de liberação apresentados (Tabela 1, Figura 11), observa-se que, no pH 1,2, enquanto 25% do [6]-shogaol livre dissolveu-se em 12,0 minutos, o mesmo percentual de [6]-shogaol nas miliesferas foi dissolvido em 4,17 minutos. Com isso, pode-se perceber que a liberação do [6]-shogaol nas miliesferas foi 2,9 vezes mais rápida quando comparada ao [6]-shogaol livre. A liberação mais rápida do [6]-shogaol contido nas miliesferas pode ser resultante do maior índice de intumescimento das miliesferas nesse pH,

quando comparado aos pHs 4,5 e 6,8. Isso é um fator limitante para o controle da liberação de substâncias ativas, uma vez que o aumento do intumescimento das miliesferas compromete a liberação controlada ao promover uma difusão mais rápida de princípios ativos (Ahmed; Aljaeid, 2016).

**Figura 11** – Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 1,2.



Fonte: Próprio autor.

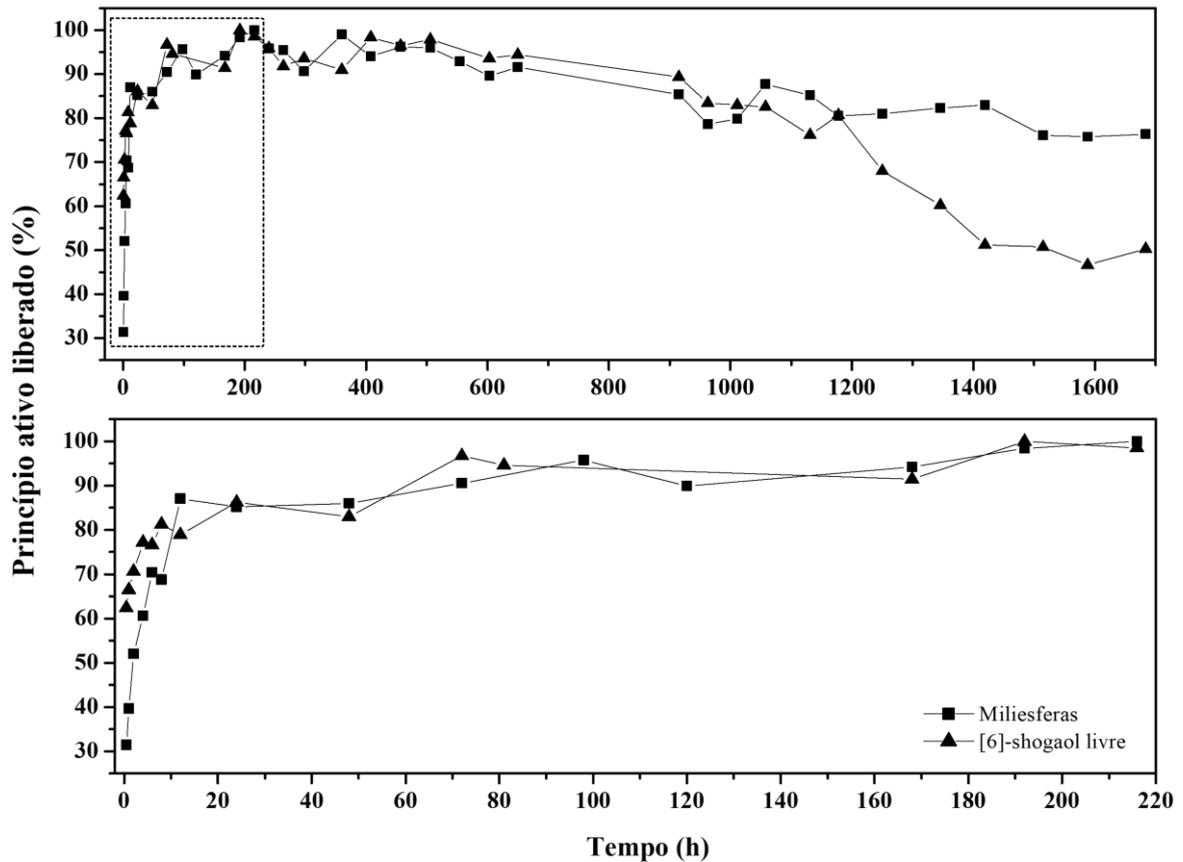
O modelo matemático de Weibull pode ser aplicado a diversas formulações e é usado para descrever a liberação de substâncias ativas em matrizes poliméricas, como as miliesferas de quitosana/alginato produzidas nesse estudo. Segundo o modelo Weibull, o valor  $\alpha$  representa a escala de tempo ou constante de taxa aparente. Enquanto, o valor  $\beta$  define a forma da curva e está relacionado ao expoente de liberação  $n$  do modelo de Korsmeyer, que permite caracterizar o mecanismo de liberação. O valor de  $\beta \leq 0,75$  que corresponde ao  $n = 0,45$ , indica que a curva de liberação é parabólica, e a taxa de liberação diminui com o aumento do tempo, com mecanismo de liberação seguindo a difusão Fickiana. Quando  $\beta > 1$ , o valor de  $n$  é igual a 1, a curva é sigmoideal e a taxa de liberação não é contínua, resultante de um mecanismo de liberação

complexo (Transporte Super Caso II). Quando  $0,75 < \beta < 1$ , o valor de  $n$  está entre 0,45 e 1, indicando um mecanismo combinado (Transporte anômalo não Fickiano). Para  $\beta = 1$ , a curva é exponencial e sua cinética corresponde à de primeira ordem (Ekenna; Abali, 2022; Papadopoulou *et al.*, 2006). Nesse sentido, o mecanismo de liberação do [6]-shogaol livre no pH 1,2 ( $\beta = 0,74$ ) e do [6]-shogaol contido nas miliesferas no pH 1,2 ( $\beta = 0,47$ ) foi a difusão Fickiana.

A liberação do [6]-shogaol nas miliesferas em pH 4,5 é mais lenta quando comparada ao [6]-shogaol livre (Tabela 1 e Figura 12). Enquanto 25% do [6]-shogaol livre dissolveu-se em 0,05 minuto, o mesmo percentual de [6]-shogaol presente nas miliesferas foi liberado/dissolvido em 21,2 minutos. Isso se repetiu quando se observa o tempo de dissolução de 50% do [6]-shogaol nas miliesferas, sendo 17,8 vezes mais lento quando comparado com o tempo de dissolução do [6]-shogaol livre. Com isso, pode-se observar que as miliesferas poliméricas conseguiram prolongar a liberação do princípio ativo no pH 4,5. Ao prolongar a liberação nesse pH, as miliesferas permitem manter a concentração terapêutica da substância ativa na corrente sanguínea e minimizar os potenciais efeitos adversos associados às flutuações nos níveis do princípio ativo. Além de melhorar a adesão do paciente por meio da redução da frequência de administração. A liberação prolongada e a estabilidade da substância ativa foram mantidas por 70 dias, revelando a eficácia do sistema de liberação produzido. O mecanismo de liberação do [6]-shogaol livre no pH 4,5 ( $\beta = 0,18$ ) foi a difusão Fickiana, pois apresentou valor de  $\beta \leq 0,75$ .

Diferente do perfil de liberação do [6]-shogaol livre no pH 4,5, o perfil de liberação nas miliesferas foi melhor ajustado ao modelo Logistic, modelo matemático de elevada complexidade e, conseqüentemente, alta precisão (Corsaro *et al.*, 2021), uma vez que considera as interações não lineares entre a matriz polimérica e o princípio ativo (Craciun *et al.*, 2019).

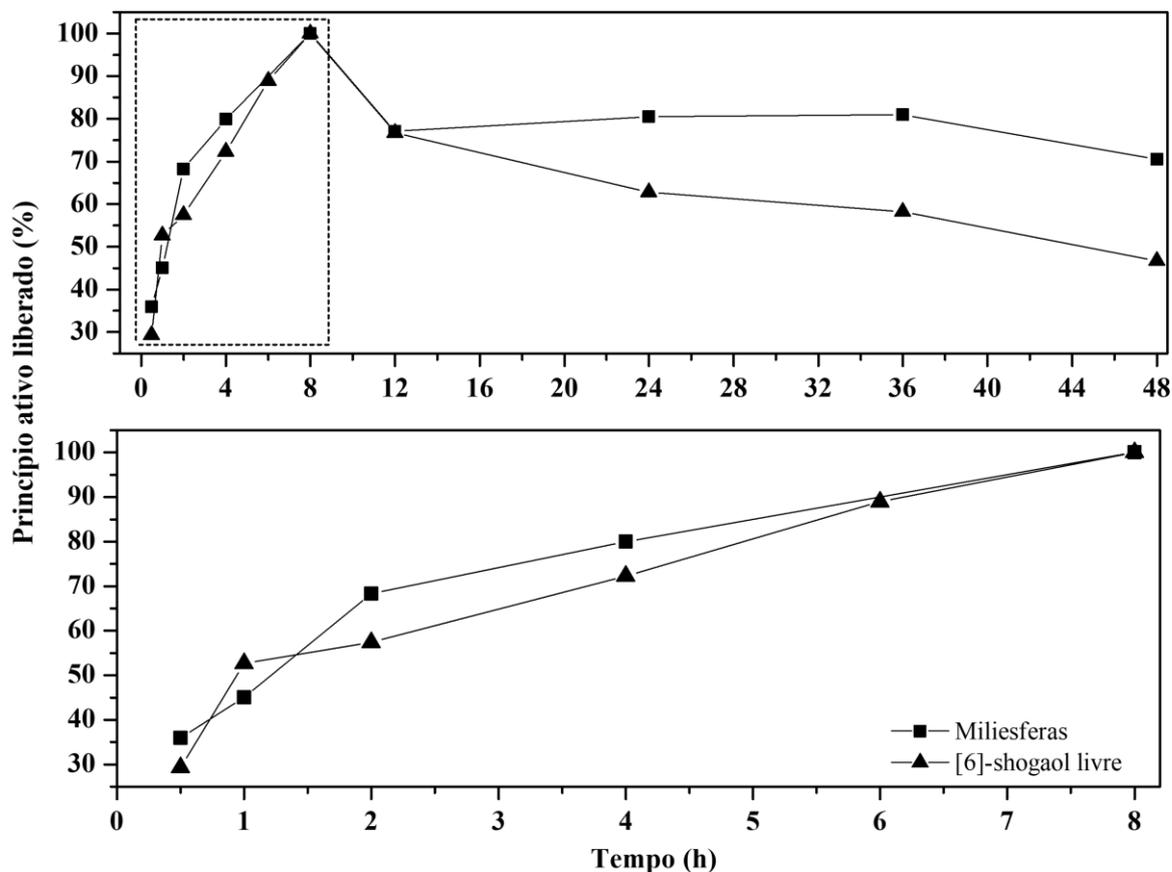
Figura 12 – Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 4,5.



Fonte: Próprio autor.

Segundo os perfis de liberação apresentados na Tabela 1 e na Figura 13 (pH 6,8), enquanto 25% do [6]-shogaol livre dissolveu-se em 14,7 minutos, o mesmo percentual foi dissolvido em 13,9 minutos nas miliesferas em pH 6,8. Cinquenta por cento do [6]-shogaol contido nas miliesferas foi dissolvido em 65,5 minutos, enquanto o [6]-shogaol livre foi dissolvido em 83,8 minutos. Apesar da liberação do [6]-shogaol livre ser ligeiramente mais lenta quando comparada as miliesferas, o percentual máximo de liberação ocorreu no mesmo tempo de dissolução (480 minutos).

**Figura 13** - Curvas de liberação do [6]-shogaol livre e nas miliesferas em pH 6,8.



Fonte: Próprio autor.

O perfil de liberação do [6]-shogaol livre, no pH 6,8, foi melhor ajustado ao modelo de Korsmeyer-Peppas. Esse modelo descreve o mecanismo de liberação de substâncias ativas em sistemas poliméricos na forma de miliesferas. É geralmente usado quando o mecanismo não é bem elucidado ou quando há mais de um mecanismo envolvido na liberação. Segundo esse modelo, quando o  $n \leq 0,45$  indica que o mecanismo de liberação é de difusão Fickiana (Ramteke *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2019). Essa difusão é caracterizada pela entrada do solvente no interior da matriz polimérica ocasionando uma rápida liberação inicial e baixa velocidade de relaxação (Agnes; González, 2003).

O modelo matemático Peppas-Sahlin foi o mais adequado para descrever a liberação do [6]-shogaol contido nas miliesferas, em pH 6,8. Esse modelo explica a liberação de princípios ativos pelo mecanismo da difusão Fickiana e pela transição do polímero de um estado semi-rígido para um estado flexível, provocando um relaxamento das cadeias poliméricas. Isso é previsto através das constantes K1 e K2 (Freire *et al.*, 2017). Segundo o modelo, quando K1 for maior que K2, indica que a difusão Fickiana é o mecanismo que contribui predominantemente com a liberação da substância ativa (Lima *et al.*, 2022). O K1 corresponde

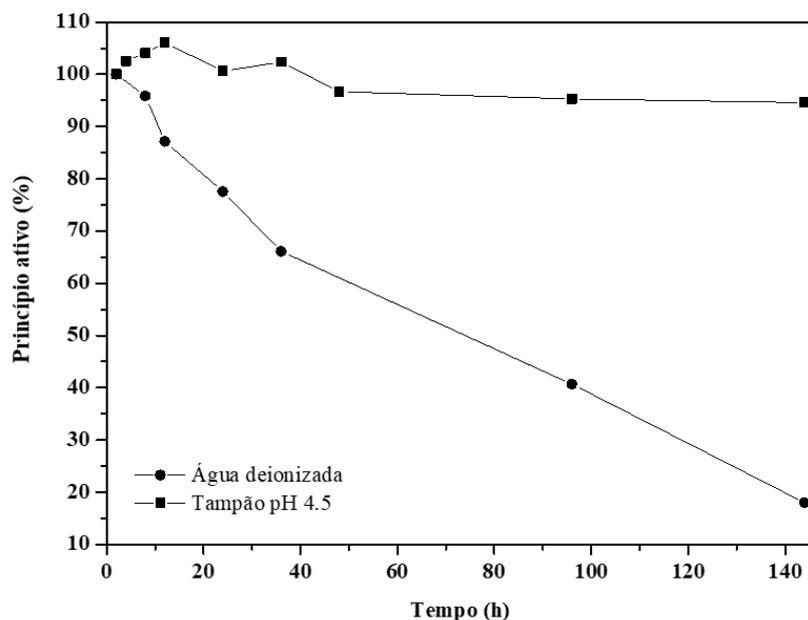
a difusão Fickiana e o  $K_2$  sugere que o mecanismo de liberação ocorre, principalmente, por meio do relaxamento polimérico ou erosão (Sousa *et al.*, 2023). No pH 6,8 o valor de  $K_1$  (55,2) foi maior que  $K_2$  (-7,07), sugerindo que a liberação do [6]-shogaol presente nas miliesferas obedece ao mecanismo de difusão Fickiana.

Os perfis de liberação do [6]-shogaol revelam que a integridade e a concentração da substância ativa são mantidas por mais tempo no pH 4,5, sugerindo que a administração das miliesferas deve ser realizada no período pós-prandial. Nesse período, o esvaziamento gástrico pode durar de 20 minutos a 7 horas, permitindo assim que a dissolução do princípio ativo aconteça de forma pronunciada (Tozer; Rowland, 2009). Observou-se no teste de dissolução que em 2 horas, 50% da substância ativa estava dissolvida, logo, no estado alimentado pode-se garantir que grande parte do [6]-shogaol estará dissolvido, permitindo que ele seja bem absorvido, melhorando a sua biodisponibilidade e, conseqüentemente a sua ação farmacológica. Além disso, a liberação prolongada do [6]-shogaol presente nas miliesferas tornaria possível a administração da formulação uma única vez, melhorando a adesão do paciente ao tratamento de infecções microbianas.

### 5.5 Teste de estabilidade do [6]-shogaol

Ao analisar o perfil de degradação do [6]-shogaol a 37 °C, foi possível observar que a substância ativa se apresentou altamente estável no pH 4,5, com apenas 3% de degradação em 144 h. Por outro lado, no pH 6,8 o [6]-shogaol apresentou 82% de degradação no mesmo período de tempo (Figura 14). A estabilidade do [6]-shogaol também foi avaliada no estudo desenvolvido por Bhattarai, Tran e Duke (2001), o qual observou a influência da temperatura e pH na degradação do [6]-shogaol. Como resultado, foi evidenciado uma melhor estabilidade do composto em pH 4 a 37 °C, corroborando com os nossos resultados. Isso também foi comprovado através dos testes de liberação do [6]-shogaol, uma vez que a substância livre e contida nas miliesferas permaneceu estável por um período prolongado no pH 4,5 quando comparado ao pH 1,2 e 6,8 (Figuras 11, 12 e 13). Essa descoberta auxilia na compreensão do perfil de estabilidade do [6]-shogaol e surge como importante estratégia para reduzir a degradação e, conseqüentemente, preservar suas propriedades farmacológicas por um longo período.

**Figura 14** – Perfil de degradação do [6]-shogaol em água deionizada (pH 6,8) e tampão pH 4,5.



Fonte: Próprio autor.

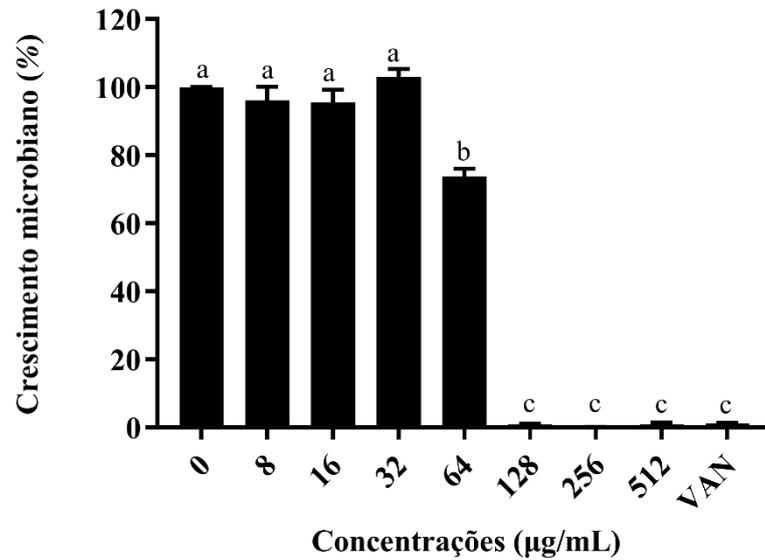
## 5.6 Atividade Antimicrobiana

### 5.6.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada através do método de microdiluição em caldo para avaliar o crescimento de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) na presença do [6]-shogaol em diferentes concentrações (512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8  $\mu\text{g/mL}$ ).

O [6]-shogaol inibiu completamente o crescimento do microrganismo nas concentrações de 512, 256 e 128  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 15), não havendo diferença estatística significativa entre estas concentrações e o controle positivo de inibição, o cloridrato de vancomicina. Enquanto na concentração de 64  $\mu\text{g/mL}$ , o percentual de inibição foi de  $26,24\% \pm 1,55$ , o crescimento da bactéria nas demais concentrações avaliadas não diferiu estatisticamente do crescimento na ausência da substância ativa (controle negativo). Dessa forma, a CIM do [6]-shogaol frente a *S. aureus* foi de 128  $\mu\text{g/mL}$ . Este resultado corroborou com o estudo de Oyedemi e colaboradores (2019) para as cepas de *S. aureus* padrão (ATCC 29523) e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA 12981), apresentando o mesmo valor de CIM.

**Figura 15** – Determinação da concentração inibitória mínima do [6]-shogaol frente a *S. aureus*.

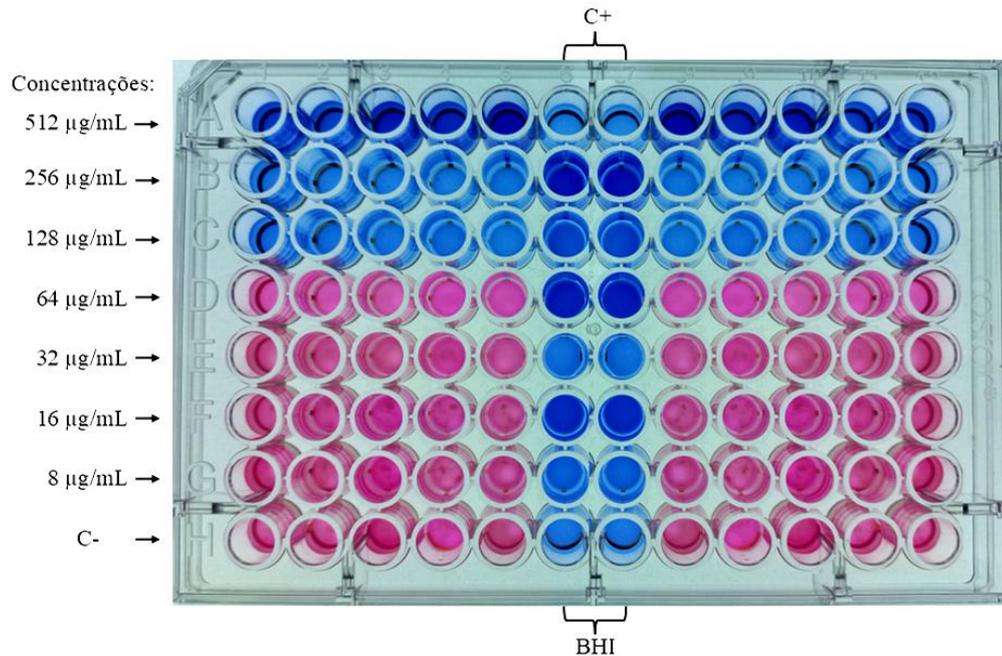


Fonte: Próprio autor.

Nota: Controle positivo de inibição: cloridrato de vancomicina 4 µg/mL (VAN). Controle negativo de inibição: suspensão bacteriana (0). Letras iguais indicam médias estatisticamente equivalentes, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes.

A CIM foi determinada também, pelo ensaio colorimétrico de redução da resazurina. Neste ensaio, a solução aquosa de resazurina apresenta coloração azul, mas na presença de microrganismos viáveis é reduzida à resorufina, tornando a solução cor-de-rosa. Logo, a cor rosa indica que houve crescimento microbiano. A Figura 16 evidencia a ausência de crescimento de *S. aureus* nas concentrações de 512, 256 e 128 µg/mL e, conseqüentemente confirma a concentração inibitória mínima em 128 µg/mL.

**Figura 16** – Determinação da viabilidade celular por redução da resazurina.

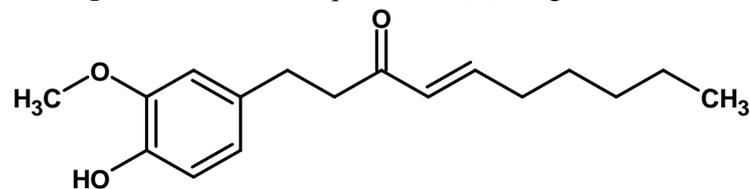


Fonte: Próprio autor.

Nota: C+: Controle positivo (cloridrato de vancomicina 4 µg/mL), C-: Controle negativo: suspensão bacteriana.

Andrade (2021) também avaliou a atividade antimicrobiana do [6]-shogaol frente a *S. aureus* e observou que tal substância ativa apresentou CIM de 64 µg/mL, indicando uma significativa redução do crescimento microbiano. A atividade antibacteriana do [6]-shogaol pode ser atribuída à presença do grupo carbonílico, a presença da ligação dupla e a cadeia de hidrocarboneto (Figura 17). Este último, é um dos fatores determinantes para a atividade antimicrobiana, tendo em vista que a diminuição da cadeia lateral pode levar à perda ou redução do efeito inibitório (Oyedemi *et al.*, 2019).

**Figura 17** - Estrutura química do [6]-shogaol.



Fonte: Próprio autor.

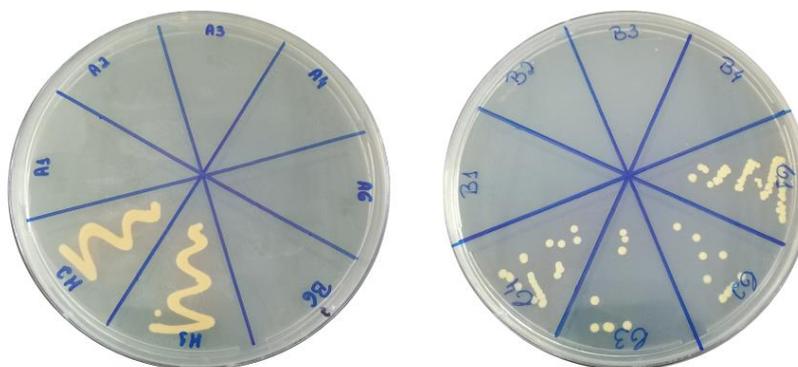
As substâncias presentes no gengibre inibem o crescimento de bactérias gram-positivas, como *S. aureus*, através da interferência no metabolismo energético, ruptura de proteínas

relacionadas à membrana celular e interferência na transferência e replicação do DNA que provocam a ruptura da membrana celular bacteriana segundo Nguyen *et al.* (2023).

### 5.6.2 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

A CBM foi determinada a partir da observação da ausência de colônias após o semeio do conteúdo dos poços da placa de microtitulação em que não houve crescimento microbiano. O [6]-shogaol apresentou CIM de 128  $\mu\text{g/mL}$ , no entanto, a concentração mínima que a substância revelou atividade bactericida foi de 256  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 18).

**Figura 18** – Determinação da concentração bactericida mínima do [6]-shogaol frente a *S. aureus*.



Fonte: Próprio autor.

Nota: Concentrações do [6]-shogaol: 512  $\mu\text{g/mL}$  (A1-A4), 256  $\mu\text{g/mL}$  (B1-B4) e 128  $\mu\text{g/mL}$  (C1-C4). Controle positivo: cloridrato de vancomicina 4  $\mu\text{g/mL}$  (A6 e B6). Controle negativo: suspensão bacteriana (H1 e H2).

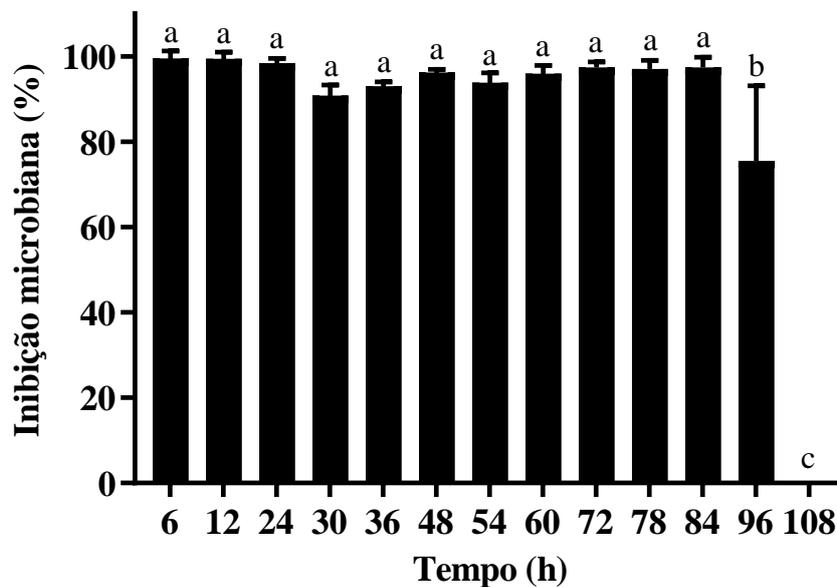
### 5.6.3 Avaliação do efeito antimicrobiano das miliesferas poliméricas

O efeito antimicrobiano das miliesferas poliméricas foi avaliado com base na concentração inibitória mínima (128  $\mu\text{g/mL}$ ) durante 108 horas (4,5 dias). Os resultados apresentados na Figura 19 mostraram que a inibição do crescimento de *S. aureus* na presença das miliesferas poliméricas de quitosana/alginato/genipina/TPP contendo [6]-shogaol ocorreu ao longo de 84 horas (3,5 dias). Isso evidenciou que a substância ativa permaneceu estável dentro das partículas e foi liberada de modo contínuo. Essa liberação prolongada foi capaz de reduzir o crescimento microbiano de maneira eficaz. Além disso, pode-se observar que após as 84 horas, o [6]-shogaol ainda conseguiu inibir o crescimento microbiano em algum grau (65,05%). Essa inibição menos eficiente pode ser resultante da liberação de [6]-shogaol em

concentrações menores do que a CIM, devido diminuição da quantidade de [6]-shogaol dentro das partículas.

Esse ensaio antimicrobiano é uma alternativa promissora para avaliar a atividade antimicrobiana de substâncias ativas incorporadas em sistemas de liberação modificada (Zhang *et al.*, 2019, com modificações). O método proposto permite verificar a eficácia dos sistemas de liberação em preservar o efeito do agente terapêutico por tempo prolongado de modo quantitativo, superando as limitações dos ensaios comumente utilizados, como a difusão em ágar e a microdiluição em caldo (Mohamed *et al.*, 2021; Wathoni *et al.*, 2024). O primeiro, permite observar o potencial antimicrobiano apenas de forma qualitativa e com menor sensibilidade para substâncias com baixas concentrações. E o segundo, apesar de permitir avaliar o potencial antimicrobiano de forma quantitativa, a avaliação não acontece de modo contínuo (Hossain, 2024).

**Figura 19** – Atividade antimicrobiana do [6]-shogaol contido nas miliesferas poliméricas.



Fonte: Próprio autor.

## 6 CONCLUSÃO

Os métodos para obtenção do [6]-shogaol foram apropriados, tendo em vista que resultaram em bons rendimentos e grau de pureza elevado. O [6]-shogaol foi incorporado e liberado das miliesferas de forma prolongada no pH 4,5, atingindo o patamar de liberação depois de 3 dias. Por outro lado, a liberação ocorreu de forma mais rápida nos pHs 1,2 e 6,8. As miliesferas de quitosana/alginate tem potencial terapêutico, pois, a substância incorporada neste sistema foi capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* durante 96 horas, tornando-o um sistema de liberação promissor quando se deseja manter o efeito terapêutico por um período prolongado.

## 6 PERSPECTIVAS

Desse modo, esse estudo serve como base para novos estudos de farmacocinética e farmacodinâmica do [6]-shogaol contido nas miliesferas. Bem como, para o desenvolvimento e otimização de novas formulações farmacêuticas com liberação modificada utilizando polímeros naturais. Além disso, novos estudos devem ser conduzidos para melhorar a eficiência de encapsulamento e da capacidade de carregamento, com o objetivo de aperfeiçoar o sistema de liberação de fármacos. A atividade antimicrobiana do [6]-shogaol contido nas miliesferas pode ser avaliada em outros microrganismos, como os microrganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, a fim de ampliar sua aplicação. Estudos de segurança também devem ser conduzidos para identificar os possíveis efeitos adversos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNES, E. J.; ORTEGA, G. Modelos matemáticos e físico-química da difusão. **Caderno de Farmácia**, v. 19, n. 1, 2003.

AHMED, L. *et al.* Study the using of nanoparticles as drug delivery system based on mathematical models for controlled release. **International Journal of Latest Technology in Engineering, Management & Applied Science**, v. 8, n. 5, 2019.

AHMED, T. A.; ALJAEID, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivates, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, 2016.

AHMAD-MANSOUR, N.; LOUBET, P.; POUGET, C.; DUNYACH-REMY, C.; SOTTO, A.; LAVIGNE, J. P; MOLLE, V. *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. **Toxins**, v.13, n.10, 2021. doi: 10.3390/toxins13100677

ANDRADE, M. N. **Inibição de biofilmes bacterianos comuns em indústrias de alimentos utilizando extratos de *Zingiber officinale* Roscoe**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2021.

AZAD, A. B. Chitosan membrane as a wound-healing dressing: characterization and clinical application. **Wiley InterScience**, 2004. doi: 10.1002/jbm.b.30000

BAHARLOUEI, P.; RAHMAN, A. Chitin and chitosan: prospective biomedical applications in drug delivery, câncer treatment, and wound healing. **Marine Drugs**, v.20, n.7, 2022.

BASHIR, S. M. *et al.* Chitosan Nanoparticles: A Versatile Platform for Biomedical Applications. **Materials**, v.15, n.19, 2022. doi: 10.3390/ma15196521

BENOIT, D. S. W. *et al.* In Biomaterials Science, 4. ed. Eds. **Academic Press**, 2020.

BHATTARAI, S.; TRAN, V. H.; DUKE, C. C. The Stability of Gingerol and Shogaol in Aqueous Solutions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.90, n.10, 2001. doi: 10.1002/jps.1116

BHATIA, S. *et al.* Tuning the structure and physiochemical properties of sodium alginate and chitosan composite films through sodium tripolyphosphate (STPP) crosslinking. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 264, 2024. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130463

BISCHOFF-KONT, I.; FRÜNT, R. Benefits of Ginger and Its Constituent 6-Shogaol in Inhibiting Inflammatory Processes. **Pharmaceuticals**, v.14, n.6, 2021. doi: 10.3390/ph14060571

BORANDESH, S. *et al.* Polymeric drug delivery systems by additive manufacturing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 173, 2021. doi: 10.1016/j.addr.2021.03.022

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 31/2010, de 11 de agosto de 2010**. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

CHATTERJE, S. *et al.* A detailed discussion on interpenetrating polymer network (IPN) based drug delivery system for the advancement of health care system. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 79, 2023. doi: 10.1016/j.jddst.2022.104095

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v.12, n.1, 2021. doi: 10.1080/21505594.2021.1878688

CIRRI, M. *et al.* Development and microbiological evaluation of chitosan and chitosan-alginate microspheres for vaginal administration of metronidazole. **International Journal of Pharmaceutics**, v.598, 2021. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120375

CHO, A. R. *et al.* Preparation of Chitosan-TPP Microspheres as Resveratrol Carriers. **Journal of Food Science**, v. 79, n.4, 2014. doi:10.1111/1750-3841.12395

CORSARO, C.; NERI, G.; MEZZASALMA, A. M.; FAZIO, E. Weibull Modeling of Controlled Drug Release from Ag-PMA Nanosystems. **Polymers**, v.13, n.17, 2021. doi: 10.3390/polym13172897

COSTA, P. J. C. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n.2, 2002.

CRACIUN, A. M.; BARHALESCU, M. L.; AGOP, M.; OCHIUZ, L. Theoretical Modeling of Long-Time Drug Release from Nitrosalicyl-Imine-Chitosan Hydrogels through Multifractal Logistic Type Laws. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v.2019, n.1, 2019. doi: 10.1155/2019/4091464

DALSSASO, R. R.; VALENCIA, G. A.; MORE, A. R. M. S. Impact of drying and extractions processes on the recovery of gingerols and shogaols, the main bioactive compounds of ginger. **Food Research International**, v.154, 2022. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111043

DELMAR, K.; BIANCO-PELED, H. The dramatic effect of small pH changes on the properties of chitosan hydrogels crosslinked with genipin. **Carbohydrate Polymers**, v.127, 2015.

DUGASANI, S. *et al.* Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. **Journal of Ethnopharmacology**, v.127, n.2, 2010. doi: 10.1016/j.jep.2009.10.004

EKENNA, I. C.; ABALI, S. O. Comparison of the Use of Kinetic Model Plots and DD Solver Software to Evaluate the Drug Release from Griseofulvin Tablets. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v.12, n.2, 2022. doi: 10.22270/jddt.v12i2-s.5402

ELZOGHBY, A. O. Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: Reviewing three decades of research. **Journal of Controlled Release**, v.7, 2013.

FREIRE, M. C. L. C. Understanding Drug Release Data through Thermodynamic Analysis. **Materials**, v.10, n.6, 2017. doi: 10.3390/ma10060651

FRENT, O. D. *et al.* Preparation and Characterization of Chitosan-Alginate Microspheres Loaded with Quercetin. **Polymers**, v.14, 2022. doi: 10.3390/polym14030490

GARG, U. *et al.* Current Advances in chitosan nanoparticles based drug delivery and targeting. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v.9, n. 2, 2019.

GHASEMZADEH, A. *et al.* Formation of 6-, 8- and 10-Shogaol in Ginger through Application of Different Drying Methods: Altered Antioxidant and Antimicrobial Activity. **Molecules**, v.23, n.7, 2018. doi: 10.3390/molecules23071646

GIERSZEWSKA, M.; OSTROWSKA-CZUBENKO, J.; CHRZANOWSKA, E. pH-responsive chitosan/alginate polyelectrolyte complex membranes reinforced by tripolyphosphate. **European Polymer Journal**, v.101, 2018. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2018.02.031

GONSALVES, A. A. *et al.* Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v.34, n.7, 2011.

GONZALVES, V. L.; LARANJEIRA, M. C. M.; FAVERE, V.T.; PEDROSA, R.C. Effect of crosslinking agents on chitosan microspheres in controlled release of diclofenac sodium. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.15, n.1, 2005. doi: 10.1590/S0104-14282005000100005

GREHA, A. Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. **Journal of Drug Targeting**, v. 20, n.4, 2012. doi: 10.3109/1061186x.2011.654121

HARRIS, R.; LECUMBERRI, E.; HERAS, A. Chitosan-genipin microspheres for the controlled release of drugs: clarithromycin, tramadol and heparin. **Marine drugs**, v.8, 2010.

HERDIANA, Y.; FEBRINA, E.; NURHASANAH, S.; GOZALI, D.; ELAMIN, K. M.; WATHONI, N. Drug Loading in Chitosan-Based Nanoparticles. **Pharmaceutics**, v.16, n.8, 2024. doi: 10.3390/pharmaceutics16081043

HOSSAIN, T. J. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v.14, n.2, 2024. doi: 10.1556/1886.2024.00035

IONASHIRO, M. **Giolito: Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. Araraquara: Giz editorial, 2004.

JHAVERI, J.; RAICHURA, Z.; KHAN, T.; MOMIN, M.; OMRI, A. Chitosan Nanoparticles- Insight into Properties, Functionalization and Applications in Drug Delivery and Theranostics. **Molecules**, v.26, n.2, 2021. doi:10.3390/molecules26020272

JIA, Y. *et al.* Anticancer perspective of 6-shogaol: anticancer properties, mechanism of action, synergism and delivery system. **Chinese Medicine**, v.18, n.1, 2023. doi: 10.1186/s13020-023-00839-0

JORGE-MONTALVO, P.; VÍLCHEZ-PERALES, C.; VISITACIÓN-FIGUEROA, L. Evaluation of antioxidant capacity, structure, and surface morphology of ginger (*Zingiber officinale*) using different extraction methods. **Heliyon**, v.9, n.6, 2023. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16516

JULIÃO, F. G. H. **Revisão sistemática dos efeitos biológicos de hyptolactonas e investigação do potencial antibacteriano de metabólitos secundários isolados de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. Frente a *Streptococcus pyogenes***, 2022. 211 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

JYOTHI, N. V. N. *et al.* Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. **Journal of Microencapsulation**, v.27, n.3, 2010.

KAUR, M. *et al.* Chitosan-Based Polymer Blends for Drug Delivery Systems. **Polymers**, v.15, n.9, 2023. doi: 10.3390/polym15092028

KIM, E. *et al.* Chitosan-Based Biomaterials for Tissue Regeneration. **Pharmaceutics**, v.15, n.3, 2023. doi: 10.3390/pharmaceutics15030807

KIM, S. *et al.* Engineered polymers for advanced drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.71, 2009.

KRISANTI, E.; ASTUTY, R. M.; MULIA, K. Microencapsulation of oleoresin from red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) in chitosan and alginate for fresh milk preservatives. **AIP Conference Proceedings**, v.1817, n.1, 2017. doi: 10.1063/1.4976785

KYAMA, R. Nutritional implications of ginger: chemistry, biological activities and signaling pathways. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.86, 2020. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108486

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v.37, 2012.

LENGYEL, M.; KÁLLAI-SZABÓ, N.; ANTAL, V.; LAKI, A. J.; ANTAL, I. Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery. **Scientia Pharmaceutica**, v.87, n.3, 2019. doi: 10.3390/scipharm87030020

LI, F. *et al.* In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of 1-dehydro-[6]-gingerdione, 6-shogaol, 6-dehydroshogaol and hexahydrocurcumin. **Food Chemistry**, v.135, n.2, 2012. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.145

LI, J.; WEI, G.; YUAN, Y.; WANG, L.; QIU, M.; LI, B.; MA, R.; WU, J. W.; SHEN, Z. Y. New direction in antimicrobial delivery system: Preparation and applications of hydrogel microspheres. **Pharmaceutics**, v.17, n.4, 2025. doi: 10.3390/pharmaceutics17040529

- LIMA, I. B. C. *et al.* Nanoparticles Obtained from Zein for Encapsulation of Mesalazine. **Pharmaceutics**, v.14, n.12, 2022. doi: 10.3390/pharmaceutics14122830
- LIU, A.; GARRETT, S.; HONG, W.; Zangh, J. *Staphylococcus aureus* Infections and Human Intestinal Microbiota. **Pathogens**, v.13, n.4, 2024. doi: 10.3390/pathogens13040276
- LIU, L.; TANG, H. F.; WANG, Y. Polymeric biomaterials: Advanced drug delivery systems in osteoarthritis treatment. **Heliyon**, v.9, n.11, 2023. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e21544
- LIU, X.; XUE, W.; LIU, Q.; YU, W.; FU, Y.; XIONG, X.; MA, X.; YUAN, Q. Swelling behaviour of alginate–chitosan microcapsules prepared by external gelation or internal gelation technology. **Carbohydrate Polymers**, v.56, n.4, 2004. doi: 10.1016/j.carbpol.2004.03.011
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; Costa, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.2, 2005.
- LYRA, M. A. M. *et al.* Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, n.5, 2007.
- MACEDO, J. B. *et al.* Atividade antimicrobiana de quitosanas e seus derivados: influência das características estruturais. **Química Nova**, v.XY n.00, 2022.
- MAO, Q. Q. *et al.* Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Foods**, v. 8, n.6, 2019. doi: 10.3390/foods8060185
- MOHAMED, A. A.; Abu-Elghait, M.; Ahmed, N. E.; Salem, S. S. Eco-friendly Mycogenic Synthesis of ZnO and CuO Nanoparticles for In Vitro Antibacterial, Antibiofilm, and Antifungal Applications. **Biological Trace Element Research**, v.199, 2021. doi:10.1007/s12011-020-02369-4
- MULIA, K.; RISQI, U. Y.; PANE, I. F.; KRISANTI, E. A. Formulation, Characterization, and Release Property of Antioxidant Supplement Capsule with Red Ginger Oleoresin Extract-loaded Chitosan Microparticles. **Journal of Physics: Conference Series**, 2019. doi: 10.1088/1742-6596/1198/6/062008.
- MUKHOPADHYAY, P.; CHAKRABORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; MISHRA, R.; KUNDU, P. P. pH-sensitive chitosan/alginate core-shell nanoparticles for efficient and safe oral insulin delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.72, 2015. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.08.040.
- MUÑANA-GONZÁLEZ, S.; VELOSO-FERNÁNDEZ, A.; RUIZ-RUBIO, L.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; VILAS-VILELA, J. L. Covalent Cross-Linking as a Strategy to Prepare Water-Dispersible Chitosan Nanogels. **Polymers**, v.15, n.2, 2023. doi:10.3390/polym15020434
- MUZZARELLI, R. A. A. *et al.* Genipin-crosslinked chitosan gels and scaffolds for tissue engineering and regeneration of cartilage and bone. **Marine drugs**, v.13, 2015.

NASUTION, H. *et al.* Hydrogel and effects of crosslinking agent on cellulose-based hydrogels: a review. **Gels**, v.8, n. 9, 2022.

NÁTHIA-NEVES G. *et al.* Extraction of bioactive compounds from genipap (*Genipa americana* L.) by pressurized ethanol: Iridoids, phenolic content and antioxidant activity. **Food Research International**, v.102, 2017. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.041.

NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7- A6 [ISBN 1-56238-486-4]. Wayne - PA, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, v.23, 2003.

NERI-NUMA. *et al.* Genipin: A natural blue pigment for food and health purposes. **Trends in Food Science & Technology**, v.67, 2017.

NGUYEN, T. N.; NGUYEN, K. A. T.; LE, T. V. N.; NGUYEN, C. K.; NGUYEN, N. T. T.; KUO, P. C.; TRAN, G. B.; LE, N. A.; TRAN, T. L.; Nguyen, N. T. Research on chemical constituents, anti-bacterial and anti-cancer effects of components isolated from *Zingiber officinale* Roscoe from Vietnam. **Plant Science Today**, v.11, n.1, 2023. doi: 10.14719/pst.2410

OYEDEMI, B. O. M.; KOTSIA, E. M.; STAPLETON, P. D.; GIBBONS, S. Capsaicin and gingerol analogues inhibit the growth of efflux-multidrug resistant bacteria and R-plasmids conjugal transfer. **Journal of Ethnopharmacology**, v.245, 2019. doi: 10.1016/j.jep.2019.111871

PAPADOPOULOUA, V.; KOSMIDISB, K.; VLACHOUA, M.; MACHERA, P. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**, v.309, n.2, 2006. doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.10.044

PATEL, S. *et al.* Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **Biological Macromolecules**, 2017. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.056

PATEL, N. *et al.* Development and evaluation of a calcium alginate based oral ceftriaxone sodium formulation. **Prog Biomater**, v. 5, 2016. doi: 10.1007/s40204-016-0051-9

PISTONE, A. *et al.* Effect of Sodium Hydroxide and Tripolyphosphate on Curcumin Release from Chitosan-Based Macroparticles. **Materials**, v. 16, n. 17, 2023. doi: 10.3390/ma16175850

RAMPOGU, S. *et al.* Ginger (*Zingiber officinale*) phytochemicals—gingerenone-A and shogaol inhibit SaHPPK: molecular docking, molecular dynamics simulations and in vitro approaches. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 17, 2018. doi: 10.1186/s12941-018-0266-9

RAMTEKE, K. H.; DIGHE, P. A.; KHARAT, A.; PATIL, S. V. Mathematical Models of Drug Dissolution: A Review. **Scholars Academic Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 5, 2014.

SALARI, N. *et al.* Polymer-based drug delivery systems for anticancer drugs: A systematic review. **Cancer Treatment and Research Communications**, v.32, 2022. doi: 10.1016/j.ctarc.2022.100605

SAMOTA, M. K.; RAWAT, M.; KAUR, M.; GARG, D. Gingerol: extraction methods, health implications, bioavailability and signaling pathways. **Sustainable Food Technology**, v.2, n.6, 2024. doi: 10.1039/D4FB00135D

SANTOS, T. C. S. **Extração de compostos bioativos do *Zingiber officinale* Roscoe e avaliação da sua atividade frente a fatores de virulência de *Staphylococcus aureus***. Monografia (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

SAPULA, P.; BIALK-WAS, K.; MALARZ, K. Are Natural Compounds a Promising Alternative to Synthetic Cross-Linking Agents in the Preparation of Hydrogels? **Pharmaceutics**, v.15, n.1, 2023. doi: 10.3390/pharmaceutics15010253

SATCHANSKA, G.; DAVIDOVA, S.; PETROV, P. D. Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications. **Polymers**, v.16, 2024. doi: 10.3390/polym16081159

SEM WAL, R. B.; SEM WAL, D. K.; COMBRINCK, S.; VILJOEN, A. M. Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. **Phytochemistry**, v.117, 2015. doi: 10.1016/j.phytochem.2015.07.012

SHAIKH, M.A.J. *et al.* Sodium alginate based drug delivery in management of breast cancer. **Carbohydrate Polymers**, v. 292, 2022.

SHO, A. R. *et al.* Preparation of Chitosan–TPP Microspheres as Resveratrol Carriers. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, 2014. doi: 10.1111/1750-3841.12395

SILVA, D. *et al.* Chitosan/alginate based multilayers to control drug release from ophthalmic lens. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.1, n.147, 2016. doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.07.047

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química nova**, v.29, n.4, 2006.

SILVA, J. A. *et al.* Preparation and characterization of [6]-gingerol/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.61, 2020. doi: 10.1016/j.jddst.2020.102103

SILVA, J. A. **Busca de inibidores da catepsina K em plantas medicinais utilizadas no tratamento de doenças osteoarticulares**, 2011. 182 p. Tese (Doutorado em Ciências: Química Orgânica). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

SINGH, M. N.; HEMANT, K. S.; RAM, M.; SHIVAKUMAR, H. G. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. **Research in Pharmaceutical Science**, v.5, n.2, 2010.

SONGVUT, P.; NAKAREANGRIT, W.; CHOLPRAIPIMOLRAT, W.; KWANGJAI, J.; WORASUTTAYANGKURN, L.; WATCHARASIT, P.; SATAYAVIVAD, J. Unraveling the interconversion pharmacokinetics and oral bioavailability of the major ginger constituents: [6]-gingerol, [6]-shogaol, and zingerone after single-dose administration in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v.15, 2024. doi: 10.3389/fphar.2024.1391019

SOUSA, J. P. L. M. *et al.* Superabsorbent biodegradable CMC membranes loaded with propolis: Peppas-Sahlin kinetics release. **Polímeros**, v. 33, n. 2, 2023.

SOUZA, J. V. S; Silva, M. R.; Costa, M. A. S. Magnetic Gelatin Microspheres for Targeted Release of Doxorubicin. **Materials Research**, v.24, n.6, 2021. doi: 10.1590/1980-5373-MR-2021-0176

SUN, H. *et al.* Studies on the drug loading and release profiles of degradable chitosan-based multilayer films for anticancer treatment. **Cancers**, v. 12, 2020. doi: 10.3390/cancers12030593

SURATMAN, A.; OKTAVIANI, A. D.; APRILITA, N. H.; WIBOWO, A. H. Alginate-chitosan hydrogel as controlled release of NPK macronutrient. **IOP Conference Series**, v.578, 2019. doi:10.1088/1757-899X/578/1/012074

TAO, J. *et al.* Fast characterization of biomass and waste by infrared spectra and machine learning models. **Journal of Hazardous Materials**, v.387, 2020.

TISIRIGOTIS-MANIECKA, M.; GANCARZS, R.; WILK, K. A. Preparation and characterization of sodium alginate/chitosan microparticles containing esculin. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, 2016.

TORTORA, GJ; FUNKE, BR; CASE, CL. **Microbiologia**. 10 ed., Artmed, 2012.

TOZER, T. N.; ROWLAND, M. **Introdução à Farmacocinética e à Farmacodinâmica: As Bases Quantitativas da Terapia Farmacológica**. Artmed, 2009.

VILLALVILLA, A. *et al.* 6-Shogaol inhibits chondrocytes' innate immune responses and cathepsin-K activity. **Mol. Nutr. Food Res.**, v.00, 2013. doi: 10.1002/mnfr.201200833

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, 2010.

WATHONI, N. *et al.* Chitosan/Alginate-Based Nanoparticles for Antibacterial Agents Delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v.2024, n.19, 2024. doi: 10.2147/IJN.S469572

WHO. Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024.

WU, Qing-Xi.; YAO, Shan-Jing. Novel NaCS–CS–PPS microcapsules as a potential enzyme-triggered release carrier for highly-loading 5-ASA. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 109, 2013. doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.03.035

XIAO, M. *et al.* Recent advances in drug delivery systems based on natural and synthetic polymers for treating obesity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 260, 2024. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129311

ZAMBOULIS, A.; NANAKI, S.; MICHAILEDIOU, G.; KOUMENTAKOU, I.; LAZARIDOU, M.; AINALI, N. M.; XANTHOPOULOU, X.; BIKIARIS, D. N. Chitosan and its Derivatives for Ocular Delivery Formulations: Recent Advances and Developments. **Polymers**, v.12, n.7, 2020. doi: doi:10.3390/polym12071519

ZHANG, M. *et al.* Oral Delivery of Nanoparticles Loaded With Ginger Active Compound, 6-Shogaol, Attenuates Ulcerative Colitis and Promotes Wound Healing in a Murine Model of Ulcerative Colitis. **Journal of Crohns and Colitis**, v.12, n.2, 2018. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjx115

ZHANG, Y. *et al.* DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v.13, n.3, 2010. doi: 10.1208/s12248-010-9185-1

ZHANG, Z.; ZHANG, S.; SU, R.; XIONG, D.; FENG, W.; CHEN, J. Controlled Release Mechanism and Antibacterial Effect of Layer-By-Layer Self-Assembly Thyme Oil Microcapsule. **Journal of Food Science**, v.84, n.6, 2019. doi: 10.1111/1750-3841.14610

## APÊNDICE A - DADOS DAS SUBSTÂNCIAS PADRÃO E REAGENTES UTILIZADOS

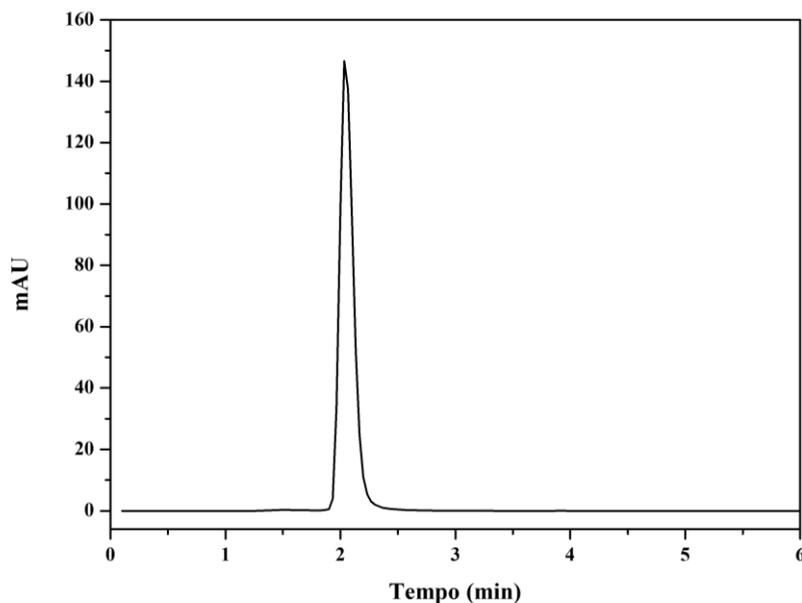
**Tabela A1** – Dados das substâncias padrão e reagentes utilizados.

<b>Nome Comercial</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>Nome IUPAC</b>	<b>CAS</b>	<b>Pureza</b>	<b>Procedência</b>
[6]-gingerol	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	5-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-decanona	23513-14-6	99,6 %	LPNBio
[8]-gingerol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	5-Hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-dodecanona	23513-08-8	99,9 %	LPNBio
[10]-gingerol	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	5-Hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-tetradecanona	23513-15-7	99,9 %	LPNBio
[6]-shogaol	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	1-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-4-decen-3-ona	555-66-8	98,3 %	LPNBio
Quitosana	(C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> N) <sub>n</sub>	Poli-D-glucosamina*	9012-76-4	-	Aldrich Chemistry
Alginato de sódio	(C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NaO <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Poli-D-galactopiranuronato de sódio*	9005-38-3	-	Vetec
Tripolifosfato de sódio	Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	Trifosfato de pentassódio	7758-29-4	57-59 %	NEON Comercial

\*Sinônimo.

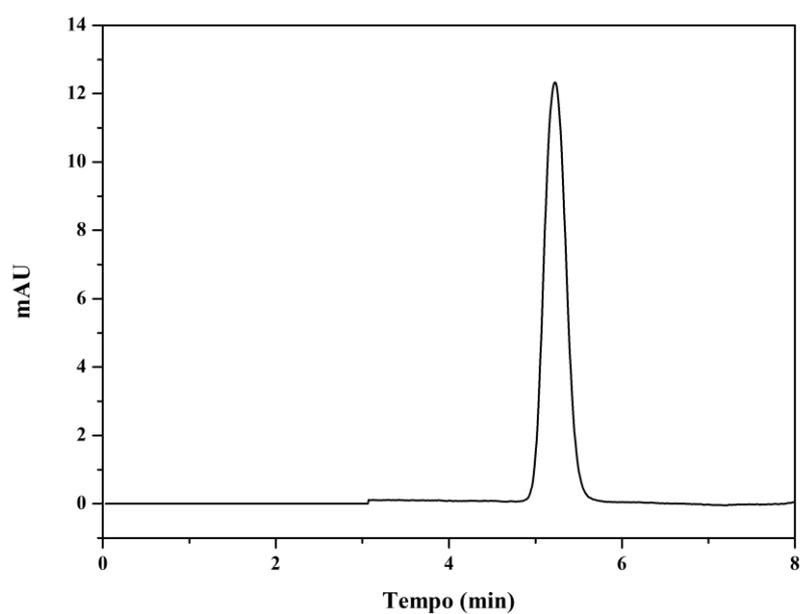
Fonte: Próprio autor.

## APÊNDICE B – CROMATOGRAMAS DAS SUBSTÂNCIAS PADRÃO

**Figura A1** – Cromatograma do [6]-gingerol padrão.

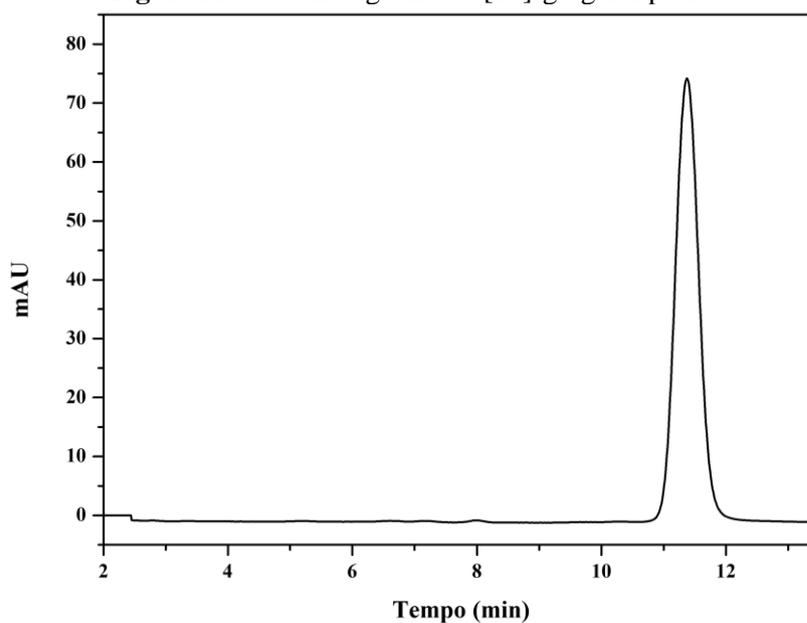
Fonte: Próprio autor.

Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu®) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 µm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 µL.

**Figura A2** – Cromatograma do [8]-gingerol padrão.

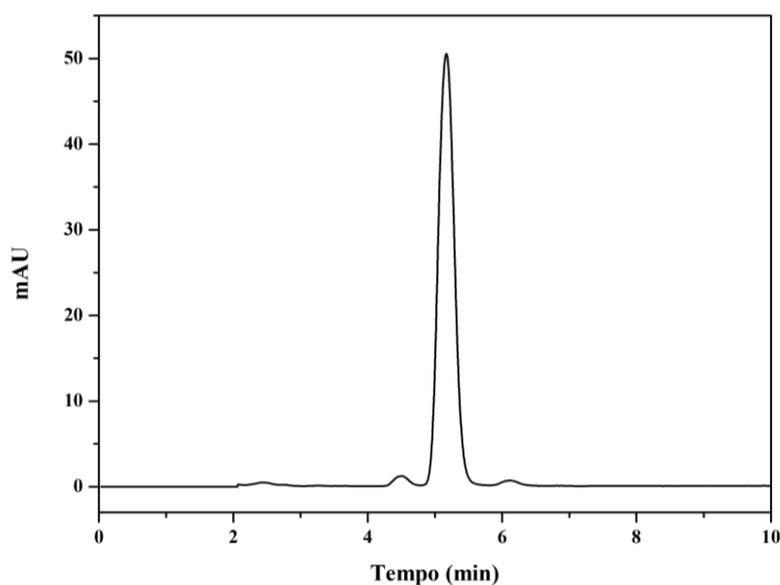
Fonte: Próprio autor.

Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu®) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 µm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 µL.

**Figura A3** - Cromatograma do [10]-gingerol padrão.

Fonte: Próprio autor.

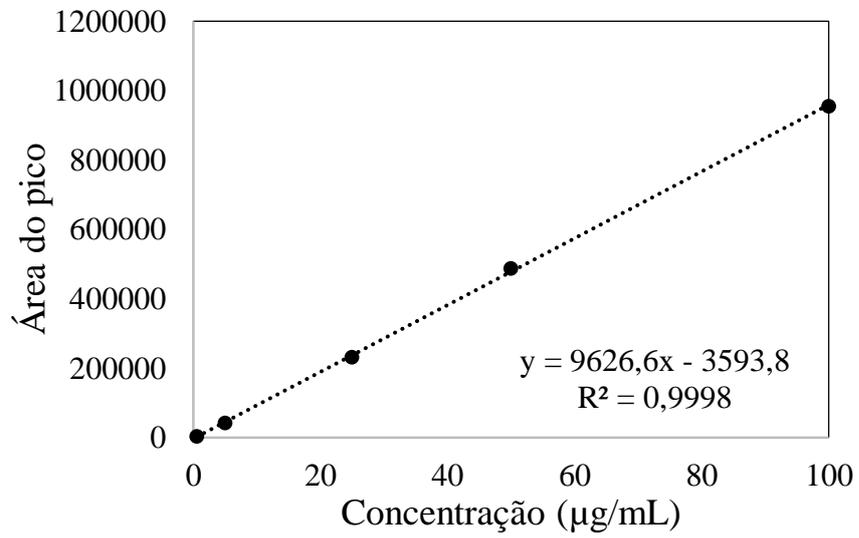
Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu<sup>®</sup>) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 μm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 μL.

**Figura A4** - Cromatograma do [6]-shogaol padrão.

Fonte: Próprio autor.

Nota: Cromatograma obtido por CLAE (Shimadzu<sup>®</sup>) em modo analítico, coluna Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 × 100 mm, 3,5 μm), fase móvel metanol/água (75:25), detecção UV-Vis a 280 nm, vazão de 0,8 mL/min, volume de injeção de 20 μL.

## APÊNDICE C - CURVA DE CALIBRAÇÃO DO [6]-SHOGAOL

**Figura A5** - Curva de calibração do [6]-shogaol.

Fonte: Próprio autor.