

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TECNOLÓGICA DE OBTENÇÃO DE FORMA
FARMACÊUTICA SÓLIDA CONTENDO ALTOS TEORES DE PRODUTO SECO
POR ASPERSÃO DE *Eugenia punicifolia* (HBK) DC.**

LÍLIAN MACEDO BASTOS

MANAUS

2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LÍLIAN MACEDO BASTOS

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TECNOLÓGICA DE OBTENÇÃO DE FORMA
FARMACÊUTICA SÓLIDA CONTENDO ALTOS TEORES DE PRODUTO SECO
POR ASPERSÃO DE *Eugenia punicifolia* (HBK) DC.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração “Desenvolvimento e controle de qualidade de insumos e formas farmacêuticas”.

Orientadora: Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza
Universidade Federal do Amazonas

Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

MANAUS

2011

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Bastos, Lílian Macedo

B327a Avaliação da viabilidade tecnológica de obtenção de forma farmacêutica sólida contendo altos teores de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC / Lílian Macedo Bastos. - Manaus: UFAM, 2011.

139 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade Federal do Amazonas, 2011.

Orientadora: Prof^a. Dra. Tatiane Pereira de Souza

Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick

1. *Eugenia punicifolia* 2. Plantas medicinais 3. Tecnologia Farmacêutica. Souza, Tatiane Pereira de (Orient.) II. Petrovick Pedro Ros (Co-orient.) III. Universidade Federal do Amazonas IV. Título

CDU 582.883:615.453(043.3)

"AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TECNOLÓGICA DE OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA A PARTIR DE *Eugenia punicifolia*"

LÍLIAN MACEDO BASTOS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Insumos e Formas Farmacêuticas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.



Professor Emerson Silva Lima, Doutor
Coordenador do PPGCF

Apresentada perante a banca examinadora composta pelos professores:



Doutora Tatiane Pereira de Souza (UFAM) - Presidente e orientador



Doutora Maria de Meneses Pereira (UFAM) - Membro interno



Doutor José Otávio Carrera Silva Júnior (UFPA) - Membro externo

Manaus, 21 de julho de 2011

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UFAM e no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LDG), utilizando os equipamentos da Central Analítica, do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF) da Faculdade de Farmácia da UFRGS, e do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), do curso de engenharia de Materiais da UFRGS.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Tatiane Pereira de Souza, pela oportunidade, orientação e motivação ao desenvolvimento do trabalho. Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick, pelo apoio prestado e motivação constante. À Prof^a. Dr^a. Maria de Meneses pela contribuição na minha realização profissional.

Aos programas de Pós-graduação de Química, da Universidade Federal do Amazonas e da Universidade Federal do Rio Grande do Sul por permitirem alargar os meus conhecimentos. Pelo suporte recebido do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), órgão financiador de bolsa parcial de estudos e do projeto de pesquisa desenvolvido neste trabalho.

Ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF) e ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) por permitirem a utilização de seus equipamentos e instalações físicas.

Aos meus colegas do Laboratório de Desenvolvimento Galênico: Alexandre, Bárbara, Cristiane, Daiane, Débora, Francini, Juliana Carini, Juliana Bidone, Laura, Liége, Lisias, Pedro, Regina, Samuel, Simone, Thiago Caon e Ueiler pela amizade e auxílio nas decisões a serem tomadas, em especial, ao Vinicius Bica pela sua dedicação e amizade.

Aos meus amigos da Federação Espírita Amazonense, ao Isaias, a Sandra e a Nair, pelo indispensável suporte emocional e espiritual. Ao Marcelo Souto, pelo companheirismo, por acreditar em mim e por fazer parte da minha vida.

À minha família, em especial aos meus pais, pela dedicação permanente, pelos valores do bem transmitidos; aos meus irmãos e sobrinhos, Joshua e Louise, pelos laços de amor e carinho que nos inspiram a vida.

À Deus, que proporcionou esta valiosa oportunidade na minha vida.

RESUMO
Dissertação de mestrado
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal do Amazonas

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TECNOLÓGICA DE OBTENÇÃO DE FORMA FARMACÊUTICA SÓLIDA CONTENDO ALTOS TEORES DE PRODUTO SECO POR ASPERSÃO DE *Eugenia punicifolia* (HBK) DC.

Autora: Lílian Macedo Bastos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tatiane Pereira de Souza
Data e Local de Defesa: 21 de julho de 2011, Manaus, AM

A *Eugenia punicifolia* é uma espécie popularmente conhecida como pedra-ume-caá, amplamente utilizada na região amazônica, principalmente contra distúrbios glicêmicos, sendo imprescindível a sua caracterização visando o estabelecimento de parâmetros que sirvam para identificação e determinação das propriedades físico-químicas das matérias-primas vegetais, assim como o desenvolvimento de uma solução extrativa com parâmetros tecnológicos e químicos definidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade tecnológica de obtenção de forma farmacêutica sólida, contendo altos teores de produto seco por aspersão (PSA), obtido a partir de solução extrativa aquosa de *Eugenia punicifolia*. Para isso, a matéria-prima vegetal, constituída por folhas, foi caracterizada utilizando técnicas descritas na Farmacopeia Brasileira e nos códigos oficiais. A solução extrativa foi obtida por meio do método de infusão com uma relação droga:solvente de 7,5 % m/V e foi caracterizada através do resíduo seco. A solução extrativa foi seca através de técnica de secagem por aspersão, com e sem adjuvantes farmacêuticos, a fim de melhorar as características tecnológicas e o rendimento operacional dos produtos obtidos. Os comprimidos foram obtidos por granulação a partir de granulados de PSA (GPSA), produzidos por via seca contendo três concentrações diferentes de PSA (30, 50 e 70 %), e adjuvantes co-processados (GRADJ), produzidos por granulação via úmida com material de carga e enchimento e desintegrantes. As formulações foram constituídas de GPSA (71,4%), GRADJ (28,1%) e lubrificante (0,5%). Os comprimidos foram produzidos em máquina de comprimir rotativa instrumentalizada. As formulações mostraram viabilidade de produção de comprimidos em face às suas propriedades mecânicas, uniformidade de conteúdo e a rápida cedência.

UNITERMOS: *Eugenia punicifolia*, produto seco por aspersão, granulação e comprimidos

ABSTRACT
Master Dissertation
Post-Graduation Course in pharmaceutical Sciences
Federal University of Amazonas, AM, Brazil

**EVALUATION OF TECHNOLOGY FEASIBILITY OF OBTAINING
PHARMACEUTICAL SOLID DOSAGE FORM CONTAINING HIGH LEVELS OF
Eugenia punicifolia (HBK) DC. SPRAY DRIED**

Author: Lílian Macedo Bastos

Advisor: Prof^a. Dr^a Tatiane Pereira de Souza
Date and Place: July, 21, 2011, Manaus, AM, Brazil

Eugenia punicifolia is a species commonly known as pedra-ume-caá, widely used in the Amazon region, especially against glucose disorders, so it is essential the characterization for the establishment of parameters which are used for identification and determination of physico-chemical properties of raw material plant, as well as the development of an extractive solution with defined chemical and technological parameters. The objective of this study was to evaluate the technological feasibility of produce solid dosage form, containing high levels of spray dried extract product (PSA), prepared from an aqueous solution of *Eugenia punicifolia*. For this, the raw plant, consisting of leaves, was characterized using techniques described in the Brazilian Pharmacopoeia and official codes. The extractive solution was obtained by the method of infusion with a ratio of drug:solvent 7.5% w/V, it was characterized by dry residue. The extractive solution was dried using spray drying technique, without and with pharmaceutical adjuvants in order to improve operational efficiency and technological characteristics of the products obtained. The tablets were produced with granules of PSA (GPSA) obtained by dry granulations with three different concentrations 30%, 50% and 70% of PSA and co-processed adjuvants (GRADJ) produced by wet granulation with filler/binder and disintegrant. The formulations were composed of GPSA (71.4%), GRADJ (28.1%) and lubricant (0.5%). Tablets were produced on instrumented rotary compressing machine. The formulations showed viability of production of tablets, considering its mechanical properties adequate, uniformity of content and rapid dissolution.

KEYWORDS: *Eugenia punicifolia*, spray dried products, granulation, tablet

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11	
2 OBJETIVOS.....	14	
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15	
3.1. Metabolismo vegetal.....	15	
3.2. Compostos fenólicos.....	16	
3.3. Plantas medicinais.....	17	
3.4 Família <i>Myrtaceae</i>	19	
3.4.1 Gênero <i>Eugenia</i>	20	
3.4.2 Aspectos etnofarmacológicos e farmacológicos.....	24	
3.4.3 Aspectos fitoquímicos.....	27	
3.5 Material vegetal e controle de qualidade.....	30	
3.6 Aspectos tecnológicos.....	31	
3.7 Granulação.....	34	
3.8 Formas farmacêuticas sólidas – comprimidos.....	42	
4 MATERIAIS E MÉTODOS	PARTE 1 – UFAM.....	45
4.1 Materiais.....	45	
4.1.2 Adjuvantes de secagem.....	45	
4.1.3 Aparelhos, equipamentos e outros materiais.....	45	
4.2 Métodos.....	46	
4.2.1 Tratamento do matéria-prima vegetal.....	46	
4.2.2 Caracterização da Matéria-Prima Vegetal (MPV).....	46	
4.2.2.1 Determinação da perda por dessecação.....	46	
4.2.2.2 Determinação do teor extrativo.....	46	
4.2.2.3 Análise granulométrica por tamisação.....	47	
4.2.3 Obtenção e caracterização da Solução Extrativa (SE).....	47	
4.2.3.1 Determinação do resíduo seco (RS).....	48	
4.2.4 Desenvolvimento do produto seco por aspersão (PSA).....	48	
4.2.4.1 Avaliação da influência de adjuvantes na operação de secagem.....	48	
4.2.4.2 Determinação do rendimento da operação de secagem.....	49	
4.2.4.3 Determinação da perda por dessecação.....	49	
PARTE 2 – UFRGS.....	49	
4.3 Materiais.....	49	

4.3.1 Adjuvantes farmacêuticos.....	49
4.3.2 Solventes e reagentes.....	50
4.3.3 Equipamentos, acessórios e cor relatos.	50
4.4 Caracterização do PSA1.....	52
4.4.1 Determinação da perda por dessecação.	52
4.4.2 Determinação do ph.....	52
4.4.3 Avaliação das características macroscópicas e organolépticas.....	52
4.4.4 Análise granulométrica.	53
4.4.5 Análise de forma de partícula em Microscopia eletrônica por varredura... ..	53
4.4.6 Determinação das densidades bruta e compactadas.....	54
4.4.7 Avaliação do fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID)	54
4.4.8 Determinação do fluxo discreto.....	54
4.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	55
4.5.1 Desenvolvimento do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	56
4.5.2 Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	56
4.5.3 Preparação da amostra.....	56
4.5.3.1 Extração dos flavonóides.	56
4.5.4 Curva padrão de quercetina.....	57
4.5.5 Curva padrão do PSA1 de <i>Eugenia punicifolia</i>	57
4.5.6 Linearidade.....	58
4.5.7 Repetibilidade.....	58
4.5.8 Precisão intermediária.....	58
4.5.9 Exatidão.	58
4.5.10 Especificidade.	59
4.6 Produção dos compactos.....	59
4.6.1 Caracterização dos compactos.....	60
4.6.1.1 Determinação da aparência e das dimensões	60
4.6.1.2 Determinação do peso médio.	60
4.6.1.3 Determinação da dureza.	60

4.6.1.4 Determinação da friabilidade.....	60
4.7 Granulação por via seca.	61
4.7.1 Caracterização do GPSA (30, 50 e 70%)	61
4.7.1.1 Avaliação da perda por dessecação.	61
4.7.1.2 Determinação granulométrica por tamisação.....	61
4.7.1.3 Determinação das densidades bruta e de compactação.....	62
4.7.1.4 Avaliação do fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID).....	62
4.7.1.5 Determinação do fluxo discreto.	62
4.7.1.6 Determinação da friabilidade.....	63
4.7.1.7 Análise do granulado por microscopia eletrônica de varredura.....	63
4.7.1.8 Avaliação do teor de quercetina por CLAE nos granulados.....	63
4.8 Produção e caracterização do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ)	64
4.8.1 Produção do granulado co-processado por via úmida.....	64
4.8.2 Caracterização prévia dos granulados produzidos.....	65
4.8.2.1 Determinação da perda por dessecação.	65
4.8.2.2 Análise granulométrica por tamisação.	65
4.8.2.2 Cálculo do rendimento da granulação.	66
4.8.3 Padronização do granulado co-processado de adjuvante.....	66
4.8.4 Caracterização do granulado co-processado de adjuvante.....	66
4.8.4.1 Determinação da friabilidade.....	66
4.9 Produção do complexo farmacêutico.	66
4.9.1 Caracterização do complexo farmacêutico.	66
4.9.1.1 Determinação das densidades bruta e compactada.....	67
4.9.1.2 Avaliação do fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID).....	67
4.10 Produção e caracterização dos comprimidos.....	67
4.10.1 Produção dos comprimidos.	67
4.10.2 Caracterização dos comprimidos.....	68
4.10.2.1 Determinação da aparência e das dimensões.....	68
4.10.2.2 Determinação do peso médio.	68
4.10.2.3 Determinação da densidade aparente.....	68

4.10.2.4 Perda por dessecação.....	69
4.10.2.5 Determinação da dureza.....	69
4.10.2.6 Determinação da friabilidade.....	69
4.10.2.7 Determinação do tempo de desintegração.....	69
4.10.2.8 Avaliação em microscopia eletrônica por varredura (MEV).....	69
4.10.2.9 Uniformidade de conteúdo.....	70
4.10.2.10 Avaliação da liodisponibilidade.....	70
4.10.2.10.1 Determinação do comprimento de onda.....	70
4.10.2.10.2 Curva padrão do PSA1.....	70
4.10.2.10.3 Determinação da liodisponibilidade.....	71
4.11 Análise dos dados.....	71
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
5.1 Caracterização do material vegetal.....	72
5.2 Obtenção da solução extrativa.....	74
5.3 Desenvolvimento e caracterização do produto seco por aspersão (PSA)...	75
5.3.1 Desenvolvimento do PSA.....	75
5.3.2 Caracterização do PSA.....	77
5.4 Desenvolvimento e validação de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	83
5.4.1 Desenvolvimento do método analítico por CLAE.....	83
5.4.2 Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	87
5.5 Obtenção dos compactos.....	90
5.6 Granulação por via seca por desagregação e caracterização dos granulados obtidos.....	94
5.7 Produção e caracterização do granulado co-processado por via úmida.....	101
5.7.1 Produção do granulado co-processado por via úmida.....	101
5.8 Produção do complexo farmacêutico (CF) para comprimidos.....	104
5.9 Produção dos comprimidos.....	105
6 CONCLUSÕES.....	113
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
8 ANEXOS.....	133

Lista de tabelas e quadro

Tabela 1 – Condições de operação de secagem por aspensão.....	48
Tabela 2 – Sistema gradiente validado.....	23
Tabela 3 – Formulações empregadas na produção dos compactos.....	59
Tabela 4 – Caracterização das matérias-primas vegetais de <i>Eugenia punicifolia</i> ..	72
Tabela 5 – Rendimento de operação de secagem por aspensão da solução extrativa de <i>Eugenia punicifolia</i> com e sem adjuvantes.....	75
Tabela 6 – Umidade residual dos produtos secos por aspensão de <i>Eugenia punicifolia</i>	76
Tabela 7 – Caracterização do PSA de <i>Eugenia punicifolia</i>	77
Tabela 8 – Análise de caracterização do PSA de <i>Eugenia punicifolia</i>	82
Tabela 9 – Parâmetros de linearidade para a substância de referência e para os dois heterosídeos flavonóidicos presentes no PSA.....	89
Tabela 10 – Resultados dos testes de repetibilidade e precisão intermediária.....	89
Tabela 11 – Resultado do teste de recuperação da quercetina.....	90
Tabela 12 – Umidade residual dos adjuvantes farmacêuticos.....	91
Tabela 13 - Características dos compactos produzidos a partir das formulações contendo altos teores de PSA (30, 50 e 70%).....	92
Tabela 14 – Avaliação da perda por dessecação dos granulados de <i>Eugenia punicifolia</i>	95
Tabela 15 – Características tecnológicas dos GPSA30, 50 e 70% de PSA de <i>Eugenia punicifolia</i>	96
Tabela 16 – Recuperação média dos flavonóides nas concentrações de 30,50 3 70 % de GPSA de <i>Eugenia punicifolia</i>	101
Tabela 17 – Características tecnológicas dos complexos farmacêuticos (CF) para comprimidos.....	104
Tabela 18 - Avaliações do peso médio e parâmetros dimensionais dos comprimidos produzidos em máquina de comprimir rotativa.....	107
Tabela 19 - Avaliação das características tecnológicas dos CP30, CP50 e CP70	108
Tabela 20 - Uniformidade de conteúdo dos comprimidos CP30, CP50 e CP70 de <i>Eugenia punicifolia</i>	110
Quadro 1 – Algumas espécies medicinais do gênero <i>Eugenia</i> no Brasil e seus usos.....	24

Lista de figuras

Figura 1 – Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.	16
Figura 2 – Ramos floridos da <i>Eugenia punicifolia</i>	23
Figura 3 – Caracteres comuns às espécies de <i>Eugenia punicifolia</i>	24
Figura 4 – Esqueleto básico dos flavonóis e flavonas.	28
Figura 5 – Principais agliconas com esqueleto tipo flavonol encontradas em espécies do gênero <i>Eugenia</i>	28
Figura 6 – Histograma de distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal de <i>Eugenia punicifolia</i>	73
Figura 7 – Curva de retenção e passagem da matéria-prima vegetal de <i>Eugenia punicifolia</i>	74
Figura 8 – Histograma de distribuição granulométrica do PSA.....	78
Figura 9 - Curva de retenção e passagem do PSA.....	79
Figura 10 – Histograma de distribuição granulométrica.....	80
Figura 11 - Figura 12 - Fotomicrografias de PSA de <i>Eugenia punicifolia</i> com aumentos de 1000 X (a) e (b), 2000 X (c) e (d), 3000 X (e) e 5000 X (f)	81
Figura 12- Cromatograma do PSA obtido durante o desenvolvimento do método isocrático.	84
Figura 13 – Cromatograma do PSA hidrolisado em análise no PDA.....	85
Figura 14 – Cromatograma do padrão quercetina pelo método gradiente validado.	86
Figura 15 – Cromatograma do PSA de <i>Eugenia punicifolia</i>	87
Figura 16 – Curva padrão da substância de referência quercetina.	88
Figura 17 – Curva de dois heterosídeos flavonóidicos presentes no PSA.....	88
Figura 18 – Histograma de distribuição granulométrica dos GPSA30, GPSA40 E GPSA70	95
Figura 19 – Fotomicrografias do GPSA30, com aumentos de 33 X (a), 75 X (b), 160 X (c), 600 X (d) e 1800 X (e) e (f)	98
Figura 20 - Figura 21 - Fotomicrografias dos GPSA50, com aumentos de 33 X (a), 55 X (b), 75 X (c), 160 X (d), 600X (e) e 1800 X (f)	99
Figura 21 - Figura 22 - Fotomicrografias dos GPSA70, com aumentos de 27 X (a), 33 X (b), 55 X (c), 75 X (d), 600 X (e) e 1800 X (f)	100
Figura 22 - Histograma de distribuição granulométrica do lote dos granulados	

co- processados (GRADJ).....	103
Figura 23 - Aspectos da face inferior (a) e face superior (b) dos CP30, CP50 e CP70.	106
Figura 24 - Perfil de dissolução do PSA contido nos CP30, CP50 e CP70.	111
Figura 25 - Fotomicrografias de comprimido fraturado com aumento de 27 X do CP30 (a), CP50 (b) e CP70; aumento de 3000 X do CP30 (d), 1000 X do CP50 e do CP70.....	112

1 Introdução

1.1 Relevância do tema

A alternância de paradigmas presentes na visão do sistema de saúde resultou, hodiernamente, na retomada de valores tradicionais, “naturais” e/ou ecológicos, em todas as áreas do conhecimento científico e empírico. Sendo assim, produtos oriundos das plantas medicinais voltaram a ocupar lugar de destaque na terapêutica (DE SOUZA, 1999; VASCONCELOS *et al.*, 2002).

Observa-se um incremento significativo na utilização de fitoterápicos pela população brasileira. Este crescimento pode ser explicado pelos avanços ocorridos na área científica que permitiram o desenvolvimento de fitoterápicos mais seguros e eficazes, assim como de uma forte tendência de procura, pela população, por terapias menos agressivas, especialmente, quando destinadas ao atendimento primário à saúde. Nesse sentido, a etnofarmacologia atua como uma importantíssima ferramenta no estudo e na pesquisa de novos fármacos de origem vegetal, sendo importante a valorização do conhecimento popular, uma vez que pode fornecer indícios de atividade farmacológica das plantas (WENIGER, 1991; SIMÕES *et al.*, 1999; YUNES *et al.*, 2001).

Metodologicamente, os estudos sobre as propriedades curativas de plantas medicinais são particularmente complexos, considerando que algumas espécies, com atividades terapêuticas reconhecidas cientificamente, não apresentam a mesma atividade em qualquer das frações de seus extratos. Isto, provavelmente, ocorre devido à complexa rede de sinergismos entre as diversas substâncias que compõe a planta em si e que conferem o determinado poder curativo (VASCONCELOS *et al.*, 2002).

O desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos inicia-se com pesquisas relacionadas à planta, avaliação de sua atividade e toxicidade, determinação de parâmetros de qualidade e, também, desenvolvimento da forma farmacêutica final com avaliação biológica do medicamento, a fim de garantir segurança e eficácia à população (COUTO, 2000; PETROVICK, 2006). Nesse sentido, a RDC ANVISA Nº 14/2010 normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos, enumerando os

1 Introdução

requisitos necessários para garantir a eficácia e a segurança, assim como o controle de qualidade destes medicamentos (BRASIL, 2010).

A transformação de soluções extrativas em produtos secos vem sendo amplamente realizada no desenvolvimento tecnológico de produtos derivados de plantas. Das técnicas de secagem existentes, a secagem por aspersão ou *spray-drying* é uma das mais empregadas na indústria de fitoterápicos por sua estabilidade e possibilidade de controle das características do produto final, assim como o curto tempo de exposição ao calor de extratos vegetais, normalmente termolábeis (LACHMAN, 2001; DE SOUZA *et al.*, 2006). A rápida secagem provoca um desordenamento molecular redundando em produtos secos com predominância no estado amorfo (BUCKTON, 2005).

A secagem por aspersão consiste numa técnica de baixo custo, quando comparada a outras técnicas que empregam calor. O emprego de adjuvantes de secagem durante a formação de gotículas no aspersor permite maior interface entre o solvente e meio externo, possibilitando uma secagem em 5 a 30 s (BROADHEAD *et al.*, 1992).

Além disso, o grande número de vantagens apresentadas pelos extratos secos, em comparação aos extratos líquidos, como estabilidade química e microbiológica e facilidade de manipulação tornam a secagem por aspersão uma ferramenta eficaz na indústria farmacêutica, de cosméticos e de alimentos (SILVA e PINHEIRO, 2007).

Os produtos secos por aspersão obtidos de extratos vegetais apresentam-se, normalmente, muito finos, leves, com fluxo pobre, higroscópicos, o que pode gerar instabilidade química, como a hidrólise, microbiológica e física devido ao efeito plastificante da água (BUCKTON, 2005).

1 Introdução

As deficiências marcantes dos extratos secos, tais como fluxo pobre e instabilidade de empacotamento, que inviabilizam a sua compressão direta para obtenção de comprimidos podem ser contornadas por diferentes estratégias farmacotécnicas, tais como a adição de adjuvantes e/ou transformação em granulados (DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000; SILVA e PINHEIRO, 2007) .

Estudos de pré-formulação são, portanto, essenciais para se verificar a viabilidade da produção de uma forma farmacêutica a partir de extratos secos vegetais, bem como determinar os adjuvantes que melhor contribuem, tecnologicamente, para a obtenção da forma farmacêutica em estudo (DE SOUZA, 1999).

A espécie *Eugenia punicifolia*, conhecida popularmente como pedra-ume-caá, é largamente utilizada pela medicina popular como hipoglicemiante, de tal modo que foi denominada, pela população, de insulina vegetal. Entre os principais constituintes fitoquímicos, presentes nas folhas dessa planta, destacam-se os polifenóis, taninos e flavonóides, podendo ser estes os principais responsáveis pela atividade biológica atribuída a esse vegetal. Desse modo, essa espécie possui elevado potencial terapêutico, sendo adequada para um processamento tecnológico, visando à elaboração de extratos padronizados para obtenção de um futuro fitoterápico (GRANGEIRO *et al.*, 2006).

Neste contexto, a hipótese deste trabalho baseia-se no questionamento da viabilidade da obtenção de forma farmacêutica comprimido contendo alto teor de produto seco por aspensão de *Eugenia punicifolia*.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade tecnológica de obtenção de forma farmacêutica sólida contendo altos teores de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter e caracterizar a matéria-prima vegetal da espécie *Eugenia punicifolia*;

- Preparar e caracterizar solução extrativa a partir da espécie *Eugenia punicifolia*;

- Desenvolver e padronizar um produto seco por aspersão, a partir de solução extrativa de *Eugenia punicifolia*;

- Elaborar comprimidos contendo altos teores de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia*;

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Metabolismo vegetal

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica, também chamada de metabolismo, que pode ser definido como o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Metabolismo primário é o conjunto de processos metabólicos que desempenham as funções essenciais, como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário possuem uma distribuição universal nas plantas. Esse é o caso dos aminoácidos, dos nucleotídeos, dos lipídios, carboidratos e da clorofila (DI STASI, 1996; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Em contrapartida, o metabolismo secundário origina substâncias que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas. Embora o metabolismo secundário nem sempre seja fundamental para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. Um dos principais componentes do meio externo cuja interação é mediada por compostos do metabolismo secundário são os fatores bióticos. Desse modo, produtos secundários possuem um papel contra a herbívora, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microorganismos simbiotes. Contudo, produtos secundários também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição à UV e deficiência de nutrientes minerais (DI STASI, 1996; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. Os terpenos são feitos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3- fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Por

3 Revisão Bibliográfica

fim, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (figura 1) (SIMÕES *et al.*, 1999).

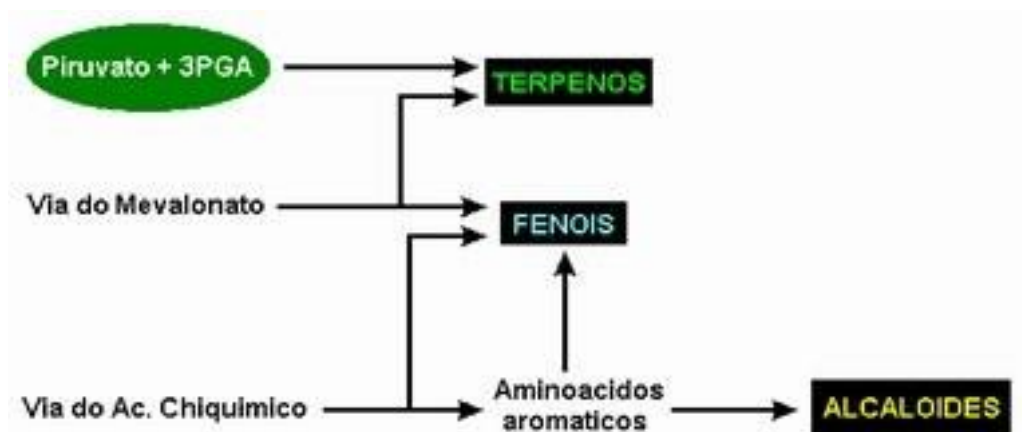


Figura 1 - Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações
FONTE: Simões *et al.*, 1999.

Dentre os fatores ambientais que influenciam o conteúdo dos metabólitos secundários, os pode-se citar a sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento da planta, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes (macro e micronutrientes), altitude, poluição atmosférica e indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos. Em plantas medicinais, outros fatores como condições de coleta, estabilização e estocagem também podem ter grande influência (GOBBONETO e LOPES, 2007).

Os metabólitos secundários, por serem substâncias produzidas como mecanismo de defesa do vegetal, na maioria das vezes apresenta atividades biológicas interessantes. Muitos destes compostos são de importância na área farmacêutica, pois representam uma fonte promissora para a descoberta de novas moléculas úteis ao homem (SANTOS, 2003).

3.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são responsáveis pela proteção das plantas contra os raios ultravioletas, insetos, fungos, vírus e bactérias (BARTLEY *et al.*, 1995).

3 Revisão Bibliográfica

A proteção contra a fotodestruição proporcionada por esses compostos é devida às suas propriedades de absorver ou dissipar a energia solar. Quimicamente dizendo, são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Como exemplos podem ser citados fenóis simples tal como catecol e a epicatequina (COWAN,1999).

Os flavonóides são compostos que participam na fase dependente de luz da fotossíntese, durante a qual catalisam o transporte de elétrons. Estes desempenham um papel fundamental no organismo humano atuando na proteção contra agentes oxidantes como, por exemplo, os raios ultravioletas, a poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos, entre outros, e atuam também como agentes terapêuticos num elevado número de patologias. No que se refere à sinalização entre plantas e outros organismos, pode se incluir nesse item a relação entre os vegetais e seus agentes polinizadores, sendo a coloração das flores um dos principais atrativos. Exemplos de compostos que as plantas utilizam para colorir suas flores são as antocianinas, uma classe de flavonóides, sendo estas glicosídeos de flavonóides (SILVA, 2007).

Possuem uma unidade básica de quinze carbonos, que inclui dois anéis aromáticos hidroxilados, ligados entre si por um fragmento de três carbonos. Dependendo da substituição e do nível de oxidação do anel C, os flavonóides podem ser divididos em quatorze classes, sendo os que se incluem na dieta humana divididos essencialmente em seis grupos, flavanóis, flavonóis, flavonas, antocianidinas, isoflavonóides e flavanonas, dentro da mesma classe, diferem-se na substituição dos anéis A e B (DI STASI, 1996; SILVA, 2007).

3.3 Plantas medicinais

Vegetais que possuem atividade farmacológica são chamados de plantas medicinais. A definição da Organização Mundial de Saúde (OMS) para plantas medicinais diz que “são aquelas que têm uma história de uso tradicional como agente terapêutico”.

3 Revisão Bibliográfica

A natureza é uma das mais importantes fontes de descoberta de novos medicamentos. Os primeiros registros do uso de plantas como medicamentos datam de 2600 a.C., na Mesopotâmia, onde determinadas espécies como *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) e *Papaver somniferum* (papoula), usadas até hoje, eram empregados para tratamento de tosse, resfriados e infecções parasitárias (GURIB-FAKIM, 2006).

Antes do início do século XX, o uso dos produtos naturais se limitava principalmente ao uso de extratos e preparados a partir de plantas, baseado na observação empírica do efeito causado pela sua administração. Pouco se conhecia a respeito da química de plantas medicinais (CLARK, 2002).

Os metabólitos secundários produzidos por plantas tiveram um papel fundamental no desenvolvimento de fármacos e da química sintética moderna. A partir do século XIX, algumas substâncias ativas de plantas foram isoladas, tais como o isolamento do princípio ativo anti-malárico, a quinina, das cascas do caule de espécies de *Cinchona* (*Cinchona officinalis*), reportado em 1820 por farmacêuticos franceses, o isolamento da morfina do ópio produzido nas flores de papoula (*Papaver somniferum*), e da salicilina e ácido salicílico das cascas do salgueiro (*Salix alba*) contribuíram para o desenvolvimento da fitoquímica, química medicinal e farmacologia (BARREIRO e FRAGA, 2001; CLARK, 2002).

Outro aspecto importante do metabolismo vegetal é a obtenção de substâncias enantiomericamente puras. Após os episódios de teratogenicidade causados pelo enantiômero (-) da talidomida, a preocupação com os produtos quirais intensificou-se, sendo um desafio para a produção em laboratório, que a natureza realiza de maneira excepcional (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

Durante os últimos 40 anos, vários fármacos foram desenvolvidos a partir de plantas, incluindo as espécies ricas em saponinas esteroidais, que através de algumas modificações estruturais deram origem aos contraceptivos usados na terapêutica; o alcalóide reserpina, e outros alcalóides anti-hipertensivos e

3 Revisão Bibliográfica

tranqüilizantes extraídos do gênero *Rauwolfia*; a pilocarpina, utilizada para o tratamento do glaucoma, derivada de espécies de *Pilocarpus* (jaborandi); dois potentes antitumorais, vincristina e vinblastina, extraídos de *Catharantus roseus* (maria-sem-vergonha); laxantes derivados de espécies de *Cassia* (sene), e agentes cardiotônicos, como a digoxina, derivados de espécies de *Digitalis* (dedaleira) são usados na clínica médica nos dias de hoje (GURIB-FAKIM, 2006).

3.4 Família *Myrtaceae*

A esta família pertencem cerca de 100 gêneros, com aproximadamente 3000 espécies, sendo que no Brasil existem 1000 espécies (SCHUTZ, 1980). É a maior família da ordem *Myrtales*, com dois centros de dispersão, a América tropical e a Austrália, embora ocorram em todo o mundo (JORGE, 2000).

No Brasil, todos os representantes nativos pertencem à subfamília *Myrtoideae*, que é constituída de apenas uma tribo, *Myrtae*, formando um grupo filogeneticamente coeso (WILSON *et al.*, 2001). Candolle (1826), com base na estrutura dos embriões, dividiu a tribo em três grupos. Berg (1855; 1856a; 1857; 1858; 1859) considerou os três grupos de Candolle como subtribos: *Eugeniae*, *Myciinae* e *Myrtinae*.

As mirtáceas possuem plantas importantes, tanto de ocorrência na flora espontânea como cultivada, incluindo plantas ornamentais (*Callistemon*, *Melaleuca*, *Myrtus communis*), produtos de madeira e óleos essenciais (*Eucalyptus*), além de frutíferas (*Psidium* – goiaba; *Campomanesia* – gabioba; *Eugenia* – grumixama, pitanga, uvaia; *Myrciaria* – jaboticaba; *Syzygium* – jambo, jambolão) (JOLY, 1975; MAHMOUD, *et al.*, 2001; DONATINI, 2003).

As mirtáceas são plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com folhas inteiras de disposição alterna ou oposta e, às vezes, oposta cruzada com estípulas muito pequenas ou ausentes (JOLY, 1975). Possuem folhas penínervas, geralmente apresentando nervura marginal. Cavidades oleíferas aparecem nas

3 Revisão Bibliográfica

folhas e flores. Frutos e sementes, na forma de pequenos pontos translúcidos (DONATINI, 2003).

A família *Mytaceae* apresenta classificações em níveis hierárquicos que evidenciam opiniões diversas. Alguns autores consideram duas subfamílias: *Leptosper moidae* e *Myrtoideae*. A subfamília *Leptosper moidae* engloba cerca de 30 gêneros cujas espécies apresentam fruto seco e centro de dispersão principal na Austrália e Polinésia. *Eucalyptus*, *Callistemon* e *Melaleuca* são exemplos de gêneros cultivados. Já a subfamília *Myrtoideae* reúne cerca de 70 gêneros, de dispersão na América tropical e subtropical, cujos frutos são carnosos. *Eugenia*, *Myrcia*, *Psidium* e *Syzygium* são exemplos de gêneros desta subfamília (DONATINI, 2003)

Entre as espécies medicinais, podemos citar a goiabeira (*Psidium guajava* L.), cujos frutos e principalmente as folhas, são ricos em taninos, tendo o chá de suas folhas e brotos uso muito difundido no meio popular como antidiarréico (CRUZ, 1982). Faz também parte desta família a jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba*) que tem seus frutos comestíveis muito apreciados na confecção de licores e vinhos medicinais, sendo igualmente empregada como anti-diarréica e contra inflamações de garganta (CRUZ, 1982). Também merece destaque a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) que apresenta espécies com compostos fenólicos com ação antioxidante e algumas com ação hipoglicemiante e antirreumáticas, também utilizadas em distúrbios estomacais e como anti-hipertensivos (AURICCHIO e BACCHI, 2003).

O perfil químico da família *Myrtaceae* caracteriza-se pela presença de taninos, flavonóides, monoterpenos e sesquiterpenos, triterpenóides, derivados do floroglucinol, cromenos, estilbenóides e outros (MAGINA, 2008).

3.4.1 Gênero *Eugenia*

O gênero *Eugenia* compreende cerca de 400 espécies (FONTENELLE *et al.*, 1994), sendo um dos maiores da família *Myrtaceae* (FISCHER *et al.*, 2005). Distribui-se desde o Brasil até o norte e nordeste da Argentina, Uruguai e Paraguai (CONSOLINI *et al.*, 1999).

3 Revisão Bibliográfica

As plantas desse gênero consistem em árvores ou arbustos verdes durante o ano todo. O fruto é esférico, geralmente comestível, uma baga de até três centímetros de diâmetro, coroado pelo cálice e achatado nas extremidades (AURICHIO e BACCHI, 2003).

O gênero *Eugenia* foi subdividido por Berg, em 1861, em oito seções, de acordo com o tipo de inflorescência apresentado: *Uniflorae*, *Biflorae*, *Glomeratae*, *Umbellatae*, *Corymbiflorae*, *Racemosae*, *Dichotomae*, *Racemoae*, *Phylocalyx* e *Stenocalyx* (MAGINA, 2008).

Suas espécies são apreciadas por seus frutos, que são usados como alimento (FISCHER *et al.*, 2005), a exemplo de *Eugenia uniflora*, uma das espécies mais conhecidas do gênero, chamada popularmente de “pitangueira” (CONSOLINI *et al.*, 1999).

As plantas do gênero *Eugenia* têm amplo uso na medicina popular, sendo utilizadas como recurso terapêutico para o tratamento de diversas enfermidades (MAGINA, 2008).

Nesse gênero está incluso a *Eugenia puniceifolia* (pedra-ume-caá), objeto deste estudo, que possui difundido uso no meio popular como hipoglicemiante (BRUNETTI, 2006)

A espécie *Eugenia puniceifolia* apresenta a seguinte classificação taxonômica (ZIPCODEZOO, 2010):

Domínio: *Eucariota* - Whittaker & Margulis, 1978 - eukaryotes

Reino: *Plantae* - Haeckel, 1866 - Plants

Sub-reino: *Viridaeplantae* - Cavalier-Smith, 1981

Filo: Tracheophyta - Sinnott, 1935 Ex Cavalier-Smith, 1998 - Vascular Plants

Classe: *Magnoliopsida* - Brongniart, 1843 – Dicotyledons

Subclasse: *Rosidae* - Takhtajan, 1967

Superordem: *Myrtanae* - Takhtajan, 1967

3 Revisão Bibliográfica

Ordem: *Myrtales* - Reichenbach, 1828

Subordem: *Myrtineae*

Família: *Myrtaceae* - Adans., 1763, Nom. Cons. - Myrtle Family

Gênero: *Eugenia* - Linnaeus, 1753 - Stopper

Epíteto específico: *punicifolia*- (Kunth) DC.

Nome botânico: *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC.

3.4.2 Aspectos botânicos e agronômicos

A *Eugenia punicifolia* tem aspecto arbóreo, podendo atingir até 3 m de altura, possui crescimento clonal e em uma mesma formação arbustiva pode-se encontrar de 10 a 50 ramos saindo do solo, oriundos de uma mesma ligação vegetativa (figura 2) (SILVA *et al.*, 2007).



Figura 2 - *Eugenia punicifolia* cultivada na EMBRAPA Amazônia Ocidental

Distribui-se por quase todo Brasil, Paraguai e Venezuela, encontrada na formação herbácea fechada de cordão arenoso, na arbustiva aberta não inundável, na arbustiva fechada de cordão arenoso, na arbustiva fechada de pós-praia, floresta

3 Revisão Bibliográfica

de cordão arenoso, na floresta de duna e no complexo florestal inundável. Sua floração ocorre de junho a março e frutificação durante quase todo ano (SOUZA e MORIM, 2008). Enquadram-se nos dados encontrados por Proença e Gibbs (1994) e Lughadha e Proença (1996), em que a maioria das espécies de mi rtáceas floresce, predominantemente, na transição entre a estação seca e úmida (SILVA *et al.*, 2007).

Apresenta inflorescências racemosas com flores pediceladas inseridas nas axilas foliares. Apresentam de quatro a sete nós foliares por ramo vegetativo e, durante o pico de floração, as flores se destacam da folhagem dando um aspecto branco às plantas, assim como ocorre em muitas outras espécies de *Myrtaceae*. Esta agregação de flores é o que caracteriza a floração em massa, e pode ser considerada como uma estratégia para atração dos polinizadores (SILVA *et al.*, 2007).

As flores são hermafroditas, com quatro pétalas alvas curvadas sobre o hipanto e quatro sépalas também flexionadas sobre esta estrutura, proporcionando um maior destaque ao androceu (figura 3). O androceu é polistêmone com muitos estames, os quais apresentam filetes filiformes e anteras globosas, bitecas e de deiscência longitudinal. As anteras são de coloração branca (SILVA *et al.*, 2007).



Figura 3 - Ramos floridos da *Eugenia puniceifolia*
FONTE: Silva *et al.*, 2007

3 Revisão Bibliográfica

As folhas são elípticas ou obovadas (JORGE *et al.*, 2000; SOUZA e MORIM, 2008), com ápice curto obtuso-acuminado, base cuneada ou aguda, bordo revoluto, cartáceas a coriáceas, discolores, pontuações não visíveis a olho nu; 20-100 x 10-65 mm (SOUZA e MORIM, 2008). Nas folhas encontra-se nervura primária única, mediana, fina para o ápice, espessa na base e sulcada na face adaxial e saliente na abaxial; nervuras secundárias alternas e opostas com onze pares e (figura 4a) apresentando terminações vasculares com inúmeras anastomoses do tipo escorpióide, rede de nervura densa, às vezes simples bifurcadas, com nervura marginal 1 - 3 mm do bordo (figuras 4b e 4c) e pecíolo 2- 5 mm de comprimento (ALVAREZ *et al.*, 2006).

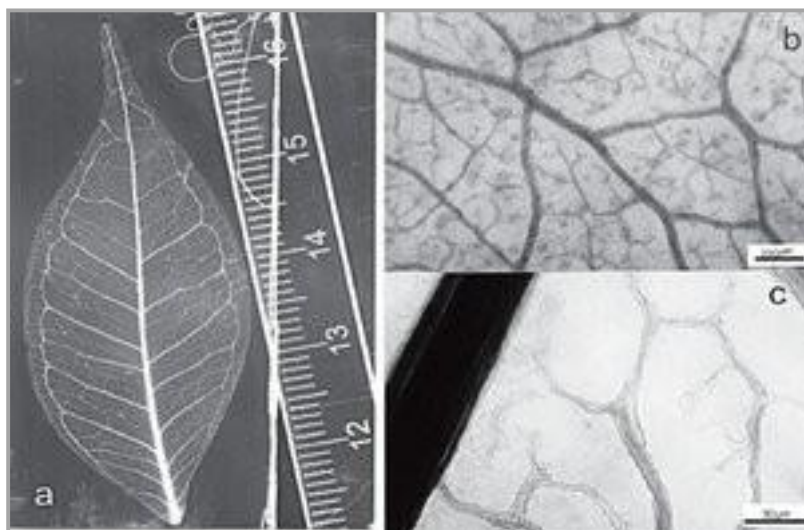


Figura 4 - Caracteres comuns às espécies de *Eugenia puniceifolia* (H.B.K) DC.: a) padrão de venação foliar; b) rede de nervuras; c) terminação vascular
FONTE: Alvarez *et al.*, 2006.

3.4.3 Aspectos etnofarmacológicos e farmacológicos

A literatura registra estudos farmacológicos realizados com extratos brutos e compostos de espécies do gênero *Eugenia*, comprovando as atividades anti-inflamatória, analgésica, antifúngica, antipirética (KUSKOSKI *et al.*, 2003; FALCÃO *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2006;), hipotensiva (CONSOLINI *et al.*, 1999), anti-diabética (CRUZ e KAPLAN, 2004; RAVI e SUBRAMANIAN, 2004b; BARBOSA-FILHO *et al.*, 2005;), antioxidante (VELAZQUEZ *et al.*, 2003) e no tratamento de úlceras pépticas

3 Revisão Bibliográfica

(MAHMOUD *et al.*, 2001) (quadro 1). As partes mais usadas são as folhas, cascas e também os frutos que são comumente consumidos.

Quadro 1 - Algumas espécies medicinais do gênero *Eugenia* no Brasil e seus usos

Espécies	Nomes populares	Partes	Usos
<i>Eugenia jambolana</i> Lam.	Jambolão	Folhas	Diabetes
<i>Eugenia punicifolia</i> (H.B.K.) DC.	Murta, pedra-ume-caá	Folhas, raízes	Febre, resfriado, diabetes, males do fígado
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitanga	Folhas	Diarréia, gota, reumatismo, febre, gripe, colesterol.

FONTE: Cruz e Kaplan, 2004.

No Brasil, entre as espécies populares encontram-se a jaboricabeira (*Eugenia edulis* Vell.), a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), o jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) e a pedra-ume-caá (*Eugenia punicifolia* Kunth DC.) (MAGINA, 2008).

A espécie *Eugenia uniflora* foi citada pela medicina popular como anti-hipertensiva, diurética e tem sido usada para desordens gástricas (CONSOLINI *et al.*, 1999); também como eupéptica, carminativa e digestiva (LEE *et al.*, 1997). Seu uso em infecções também foi relatado (COELHO DE SOUZA *et al.*, 2004).

Os frutos de *Eugenia jambolana* são usados como adstringentes (REVILLA, 2002), estomacais, diuréticos e anti-diabéticos (TIMBOLA *et al.*, 2002). Enquanto, *Eugenia edulis* é usada na medicina tradicional em inflamações e infecções (HUSSEIN *et al.*, 2003), bronquites, coqueluche e tosses em geral (REVILLA, 2002).

O chá das folhas de *Eugenia punicifolia*, espécie amplamente distribuída no Amazonas, é utilizado no tratamento do diabetes. Também conhecida popularmente como pedra-ume-caá, murta, insulina vegetal, cambuí, piu-piu, murta e muta

3 Revisão Bibliográfica

(JORGE *et al.*, 2000; VIEIRA e MARTINS, 2000; GRANGEIRO *et al.*, 2006; ALMEIDA e ZICKEL, 2009).

Extratos e decocções de *Eugenia uniflora* L., *Eugenia jambolana* Lam. e *Eugenia puniceifolia* (H.B.K.) DC. são utilizados na medicina tradicional no tratamento da *diabetes mellitus*. Há muitos artigos relatando os efeitos anti-diabéticos da *Eugenia uniflora* L. e *Eugenia jambolana* L., porém não há muitos artigos na literatura avaliando o potencial anti-diabético da *Eugenia puniceifolia*.

Grangeiro e colaboradores (2006) verificaram que o extrato aquoso das folhas de *Eugenia puniceifolia* induziu hipoglicemia e efeitos hipotensores em condições normais em cães pancreatomizados. Esse extrato também teve efeito hipoglicemiante em ratos tratados com aloxano.

Brunetti e colaboradores (2006) investigaram o efeito de extratos aquoso, butanólico e metanólico de folhas de *Eugenia puniceifolia* administradas por gavagem em ratos diabéticos, induzidos por estreptozotocina, durante 26 a 29 dias. Descobriu-se que em ratos tratados com o extrato aquoso, a ingestão de alimentos e líquidos, o volume urinário e peso corporal foram reduzidos, enquanto para os ratos tratados com o extrato metanólico, não somente ocorreu a redução na ingestão de líquidos, do volume urinário e peso corporal, mas também, a redução de glicose urinária e uréia. Ratos tratados com o extrato butanólico não mostraram alterações significativas em nenhum dos parâmetros medidos. O tratamento crônico com extratos não teve efeito sobre enzimas marcadoras nem sobre os níveis séricos de bilirrubina. (KRIKORIAN-MANOUKIAN e RATSIMAMANGA, 1967).

Embora não se tenham muitos estudos sobre os efeitos metabólicos e fisiológicos de extratos aquosos e orgânicos de *Eugenia puniceifolia*, há muitos de outras espécies do mesmo gênero que demonstram efeitos hipoglicêmicos. Extratos aquosos e alcoólicos de sementes e folhas de *Eugenia jambolana* administrados oralmente em experimentos com animais e humanos, em doses de nível variado, demonstraram atividade anti-diabética, com redução de glicose no plasma e na urina

3 Revisão Bibliográfica

(ACHREKAR *et al.*, 1991; VIKRANT *et al.*, 2001; GROVER *et al.*, 2002; KAR *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2003; RAVI *et al.*, 2004a) e também outro estudo realizado com extratos de folhas de *Eugenia uniflora* mostrou ser capaz de melhorar a hiperglicemia em ratos (MAMOSE *et al.*, 1999).

Além disso, foram investigados os efeitos do extrato aquoso bruto (5 %) de *Eugenia puniceifolia* na neurotransmissão nicotínica colinérgica. Foram estudadas as ações do extrato aquoso bruto sobre o efeito inibitório dos antagonistas colinérgicos nicotínicos galamina ou pancurônio, nas contrações induzidas pela estimulação elétrica do nervo frênico do diafragma de ratos. Os resultados mostram que o extrato aquoso de *Eugenia puniceifolia* recuperou a ação competitiva dos antagonistas nicotínicos na junção neuromuscular, ou seja, o extrato aquoso foi capaz de influenciar a neurotransmissão colinérgica no diafragma de ratos (GRANGEIRO *et al.*, 2006).

Outro estudo verificou a atividade antioxidante do extrato hexânico de *Eugenia puniceifolia*, através da cromatografia em camada delgada e revelação com o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), e teste com o radical DPPH e o extrato em solução metanólica. A atividade antioxidante evidenciada nos extratos hexânico e metanólico de *Eugenia puniceifolia* indica que esta fração da planta pode ser de interesse na pesquisa de novas moléculas com possível impacto em doenças que apresentam o estresse oxidativo como fenomenologia básica (GONZAGA *et al.*, 2008).

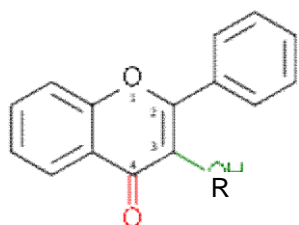
Os possíveis mecanismos para ação hipoglicemiante de algumas espécies de *Eugenia* foram discutidos na literatura e incluem o aumento da atividade da enzima responsável pela conversão proteolítica de pró-insulina a insulina, catepsina B (BANSAL *et al.*, 1981), a redução da atividade da insulinase (ACHREKAR *et al.*, 1991) e a inibição da decomposição de carboidratos no intestino (ARAI *et al.*, 1999).

3 Revisão Bibliográfica

3.4.4 Aspectos fitoquímicos

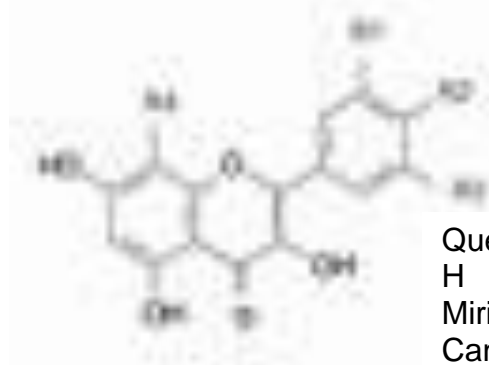
O gênero *Eugenia* é bastante rico em compostos fenólicos (como taninos e flavanóides), compostos derivados do metabolismo dos terpenos, como os triterpenos e esteróides (FRIGHETTO *et al.*, 2005; DE OLIVEIRA *et al.*, 2005; LUNARDI *et al.*, 2001; MAHMOUD *et al.*, 2001). Devido ao alto teor de compostos fenólicos, as espécies do gênero *Eugenia* apresentam atividade antioxidante, relacionada a estes compostos (EINBOND *et al.*, 2004).

A presença de flavanóis poliidroxilados (figura 5) já foi descrita em várias espécies do gênero *Eugenia*, formados principalmente pelas agliconas quercetina e miricetina. Outras agliconas também podem ser encontradas, como o canferol, gossipetina e mearsetina (figura 6), sendo que muitas delas são relacionadas às atividades biológicas apresentadas para estas espécies, como anti-inflamatória, inibidora da xantina oxidase, enzima relacionada à patologia da artrite e gota (SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1987; THEODULOZ *et al.*, 1988;) e antioxidante (EINBOND *et al.*, 2004).



Flavonas R = H
Flavanóis R = OH

Figura 5 - Esqueleto básico dos flavonóis e flavonas



Quercetina R1= H, R2 = OH, R3 = OH, R4 = H
Miricetina R1= OH, R2= OH, R3= OH, R4 = H
Canferol R1=H, R2 = OH, R3= H, R4 = H
Mearsetina R1= OH, R2= OCH3, R3= OH, R4 = H

Figura 6 - Principais agliconas com esqueleto tipo flavonol encontradas em espécies do gênero *Eugenia*

3 Revisão Bibliográfica

Além de compostos fenólicos, foram descritos para o gênero *Eugenia* compostos derivados do metabolismo dos terpenos, como os triterpenos e estereóides (LUNARDI *et al.*, 2001).

Extratos e decocção de *Eugenia uniflora* L., *Eugenia jambolana* Lam. e *Eugenia puniceifolia* (Kunt) DC. são usados na medicina tradicional para tratamento da *diabetes mellitus* (BRUNETTI, 2006). Possuem seus efeitos anti-diabéticos relatados na literatura. Porém quando se trata dos constituintes químicos nenhum estudo ainda foi relatado para *Eugenia puniceifolia* (Kunt) DC.

A composição química de *Eugenia jambolana* L. consiste de antimelina (glicosídeo), óleo essencial (traços nas folhas), ácido gálico, materiais resinoso e glicosídeo "jambolina" (nas sementes) (MAHMOUD *et al.*, 2001).

Estudos mostram que diversas substâncias químicas podem ser extraídas da *Eugenia jambolana*, desde as raízes até as flores e frutos, dentre elas as saponinas. A principal indicação da presença de saponinas, durante a extração e a concentração do extrato, é a formação de espuma (MAHMOUD *et al.*, 2001).

Das folhas de *Eugenia jambolana* foi isolado e identificado um novo flavonóide, miricetina-3-O-(4''-acetil)-a-L-ramnopiranosídeo, além dos flavonóides quercetina, miricetina e miricitrina (TIMBOLA *et al.*, 2002). Desta espécie foram isolados ainda outros dois glicosídeos flavonoídicos acilados, a mearnsetina-3-O-(4''-O-acetil)-a-L-ramnopiranosídeo e miricetina-3-O-(4''-O-acetil-2''-O-galoil)-a-L-ramnopiranosídeo, além de ácido gálico, galato de metila, canferol, miricetina, ácido elágico, miricitrina-4''-O-acetil, quercitrina-4''-O-acetil, juntamente com outros derivados da quercetina e miricetina (MAHMOUD *et al.*, 2001).

Taninos hidrolisáveis foram isolados de *Eugenia uniflora*, como a eugeni na D1e D2, além de outros conhecidos, como a oenoteína, 1,2,4,6-tetra-O-galoil-b-D-glicose, e o flavonóide miricitrina (LEE *et al.*, 1997). Desta espécie foram isolados cianidina-3-O-b-glucopiranosídeo delfinidina-3-O-b-glucopiranosídeo, ambas

3 Revisão Bibliográfica

antocianinas, uma subclasse de flavonóides, importante na pigmentação de flores e frutos, que apresentaram ação antioxidante (EINBOND *et al.*, 2004).

A composição dos óleos essenciais de espécies de *Eugenia* bem como outras plantas da família *Myrtaceae* já foi amplamente estudada. Existe uma grande predominância de monoterpenos e sesquiterpenos nos óleos essenciais de espécies desta família (LIEMBERGER *et al.*, 2004).

Compostos sesquiterpênicos com esqueleto cadinano, como α -cadineno, cariofilano, como o β -cariofileno, humulano, como o α -humelano (α -cariofileno) e germacrano, como o germacreno são bastante comuns em óleos essenciais de espécies de *Eugenia* (COSTA *et al.*, 2000; PINO *et al.*, 2003; APEL *et al.*, 2004a; VILA *et al.*, 2004; FISCHER *et al.*, 2005).

O levantamento bibliográfico sobre o estudo fitoquímico da espécie *Eugenia puniceifolia* revela uma citação referente apenas à constituição química do óleo essencial das folhas provenientes de duas regiões próximas à Manaus. Em ambas as amostras, o β -cariofileno (amostra "A": 32,9 % e B: 23,6 %) foi o constituinte majoritário (DE OLIVEIRA *et al.*, 2005).

O estudo realizado na composição química do óleo essencial das folhas de *Eugenia puniceifolia*, nativas de duas localidades de Matas Serranas de Pernambuco e comparação com as de outras regiões do Brasil, relatou que o linalol foi o constituinte majoritário, seguido pelo β -cariofileno e α -terpineol. Nesse estudo, os monoterpenos: 1,8-cineol; cis e trans-óxido de linalol; isoborneol; terpinen-4-ol; α -terpineol e os sesquiterpenos: elemol e α -cadinol são relatados pela primeira vez na espécie *Eugenia puniceifolia* (DE OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Além disso, outros estudos revelaram a presença de óleos essenciais nessa espécie vegetal, sendo os componentes principais: β -cariofileno, γ -elemeno e α -humuleno (MAIA e ANDRADE, 2009).

3 Revisão Bibliográfica

3.5 Material vegetal e controle de qualidade

A transformação de uma planta em medicamentos deve visar à preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância de sua ação biológica e a segurança de utilização, sem deixar de valorizar o potencial terapêutico (BASSANI, 1990). Para atingir esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer a interação de diversas áreas de estudo, envolvendo conhecimentos relativos à identificação botânica, composição química, atividade farmacológica e toxicológica, condições de cultivo e desenvolvimento de metodologias de produção, controle de qualidade e de estabilidade (SENNA, 1993). É justamente essa fundamentação científica que diferencia o produto fitoterápico propriamente dito das plantas medicinais e das preparações utilizadas na medicina popular (SONAGLIO *et al.*, 2001).

A estabilidade é uma parte da padronização de um produto fitoterápico, posto que a instabilidade modifica três requisitos essenciais: qualidade, eficácia e segurança. Pode ser definida como o tempo durante o qual a droga retém sua integridade em termos de quantidade e identidade química e pode ser afetada por fatores ambientais como temperatura, pH, luminosidade e ar (BILIA *et al.*, 2001).

Desta forma, justamente por serem menos estáveis, as soluções extrativas oriundas de drogas vegetais passam por um controle de qualidade mais acirrado. O método de extração deve estar de acordo com as necessidades dos constituintes químicos presentes na espécie vegetal, tais como, pH, temperatura e solubilidade. Também devem ser estabelecidos marcadores químicos, a propósito de identificação analítica (CALIXTO, 2000; ONG, 2004).

3.6 Aspectos tecnológicos

Os extratos são as mais simples e tradicionais formas de derivados de plantas medicinais. No Brasil encontram-se registrados quinhentos e doze medicamentos fitoterápicos, dos quais mais de 70% apresentam-se como formas farmacêuticas sólidas (CARVALHO *et al.*, 2008). A matéria-prima para estes produtos é constituída, majoritariamente, por extratos secos (OLIVEIRA e PETROVICK, 2010).

3 Revisão Bibliográfica

Os extratos secos, quando comparados a extratos líquidos e semi-sólidos, apresentam manipulação mais simples, maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, mais fácil padronização, maior concentração de compostos ativos, melhor homogeneidade e distribuição dos constituintes da preparação, conferindo a forma final maior garantia da dose administrada e mais elevada capacidade de transformação em diferentes tipos de formas farmacêuticas sólidas (OLIVEIRA e PETROVICK, 2010).

A secagem é uma escolha promissora para conservação e estoque de extratos vegetais, também é uma das operações mais frequentes na produção de medicamentos, sendo empregada no processamento de diversos materiais para a obtenção de pós e grânulos. Consiste na retirada da água, responsável por propiciar um meio reacional para reações químicas, fenômenos físicos e proliferação microbiana (DE SOUZA *et al.*, 2006b).

Entre as técnicas comumente empregadas para obtenção de extratos secos vegetais encontra-se a que emprega baixa temperatura, como a liofilização e, outras que empregam o calor, como a secagem em estufas, leito fluidizado ou por aspersão, entre outras (COUTO, 2000). Os parâmetros determinantes na escolha do método de secagem são a temperatura de secagem, o tempo, o custo de operação e as características do produto final. Não há um método ideal que combine menor tempo e baixa temperatura, no entanto, comparativamente à liofilização e às outras técnicas, a secagem por aspersão consome menos tempo e, apesar de utilizar altas temperaturas, ainda mostra-se viável para secagem de produtos termolábeis, pela rápida exposição ao calor (MASTERS, 1976; LIST e SCHMIDT, 1989).

O processo de secagem por aspersão consiste em três etapas fundamentais. A primeira funciona segundo o princípio de aumentar a superfície específica da solução, suspensão ou emulsão a secar, ou seja, o fluido é disperso como gotículas, produzindo uma grande área superficial. Na segunda, ocorre o contato destas com uma corrente de ar aquecido, havendo transferência de calor. Essa nebulização se obtém mecanicamente através de discos nebulizadores giratórios ou

3 Revisão Bibliográfica

hidrodinamicamente com válvulas de pressão líquida ou de ar comprimido. Na terceira etapa acontece a evaporação do solvente e a formação da partícula sólida (SONAGLIO *et al.*, 2001). A separação do produto sólido, a partir do gás efluente, é conseguida por meio de um separador de ciclone, conhecido como coletor primário e o pó deixado no ar é removido por um filtro (MASTERS, 1978).

Os produtos obtidos apresentam-se finamente dividido. No entanto, em geral, são leves, de baixa compressibilidade e fluxo pobre (DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000; SOARES, 2002; DE SOUZA, 2004; DE SOUZA *et al.*, 2006). As partículas apresentam-se como esferas ocas, exibindo às vezes um pequeno orifício na superfície decorrente da vaporização do líquido contido no interior da esfera (SOARES, 2002).

Em geral, a qualidade dos produtos secos por aspersão depende da umidade final, a solubilidade, as propriedades reológicas do pó e a densidade são de primeira importância (LANNES, 2003).

A otimização dos parâmetros de secagem como temperaturas de entrada e de saída e velocidade de fluxo de alimentação, concentração e tipo de adjuvante tecnológico, assim como os teores de resíduo seco do extrato fluido a ser nebulizado são fatores indispensáveis para obtenção de extratos secos com melhores características físico-químicas e aumento do rendimento da operação (CASADEIBAG *et al.*, 1989; GAUDY *et al.*, 1991; VASCONCELLOS, 2005).

Embora os produtos secos por *spray drying* possam ser empregados como forma farmacêutica final, diversas pesquisas têm demonstrado que os mesmos também podem ter aplicação vantajosa como produtos intermediários no desenvolvimento de formas sólidas derivadas, como é o caso de granulados e comprimidos (DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000; SOARES, 2002; DE SOUZA, 2004; DE SOUZA *et al.*, 2006).

3 Revisão Bibliográfica

No entanto, para a produção de comprimidos os produtos secos por aspensão, originados de extratos vegetais, muitas vezes não apresentam características apropriadas. O baixo diâmetro combinado com a rugosidade e a estrutura oca das partículas faz com que o produto seco por aspensão apresente elevada área superficial, ocasionando problemas reológicos, de estabilidade de empacotamento e de higroscopicidade (COUTO, 2000; SOARES *et al.*, 2005; PETROVICK, 2006).

Diversos autores evidenciam a necessidade de utilizar adjuvantes de secagem, tanto como fator crítico no rendimento do processo, como na padronização da qualidade e manutenção da estabilidade de produtos secos por aspensão. Os adjuvantes de secagem mais utilizados são a glicose, lactose, amidos, goma arábica, galactomanas, gelatinas, ciclodextrinas, celulose microcristalina, hidroxiapatita, fosfato tricálcico e dióxido de silício coloidal (DE SOUZA, 1997). Estudos realizados sobre o emprego de adjuvantes de secagem têm demonstrado uma melhora nas propriedades físico-químicas, um aumento no rendimento da operação, além de contribuir para a reconstituição em água do produto e para a estabilidade frente à umidade (GAUDY, 1987; MOURA *et al.*, 1996).

3.7 Granulação

Apesar das características mecânicas do produto seco por aspensão serem melhoradas com o uso dos adjuvantes, a baixa densidade e a presença de problemas reológicos inviabiliza a compressão direta dos complexos farmacêuticos, assim diversos pesquisadores vêm empregando a granulação objetivando contornar estes obstáculos (COUTO, 2000; SOARES, 2002; DE SOUZA, 2004; PETROVICK, 2006; SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

A granulação densifica a mistura de pós, evita a segregação de partículas finas, melhora a homogeneidade do conteúdo, permitindo ainda, direcionar a granulometria e a estrutura do produto (COUTO, 2000; HORISAWA, 2000; SPANIOL, 2007).

3 Revisão Bibliográfica

A granulação tem por objetivo transformar partículas de pós cristalinos ou amorfos em agregados sólidos de resistência e porosidade variadas. Em comparação a uma simples mistura de pós, o granulado apresenta algumas vantagens: maior facilidade de escoamento, maior compressibilidade e resistência mecânica (LE HIR, 1997), além de prevenir a segregação dos constituintes de misturas pulveréas, reduz a higroscopicidade, incrementa a densidade, o que, por sua vez, facilita o armazenamento, minimiza o risco de contaminação cruzada e efeitos toxicológicos advindos de dispersão aérea de pós, aumenta a estabilidade de empacotamento e melhora as características de compactação (COUTO, 2000; IVESON *et al.*, 2001; VILAJATO, 2001; AULTON, 2005).

Dependendo do uso pretendido, os grânulos variam de tamanho entre 0,2 e 0,4 mm (SUMMERS e AULTON, 2005). O granulado ideal deve apresentar forma e cor as mais regulares possíveis, estreito grau de distribuição granulométrica, menos que 10 % de partículas primárias livres ou aglomerados de baixa granulometria, boa fluidez, suficiente resistência mecânica, determinado grau de umidade, não inferior a 3 %, e solubilidade em água e em fluidos biológicos (VOIGT e FEHR, 2000).

A granulação por via seca por desagregação tem aplicação freqüente na indústria farmacêutica. Inicia com a mistura do componente ativo e dos adjuvantes, a qual é submetida a uma compactação prévia, originando grandes aglomerados, denominados compactos, briquetes ou lingotes, que devem possuir elevada resistência mecânica, distribuída homogeneamente, a fim de evitar quantidade excessiva de partículas finas durante a operação de cominuição (COUTO, 2000).

Na literatura, os estudos de granulação a partir de matérias-primas vegetais referem-se à utilização da granulação por via úmida, que emprega umidade e calor, como uma técnica limitada pelas características químicas, físicas e físico-químicas dos extratos, não podendo ser aplicada aos extratos secos obtidos por aspersão, devido a sua baixa estabilidade frente à elevada umidade, (SOARES, 1997; COUTO, 2000; HERBELÉ, 2000), além de exigir que o produto se apresente suficientemente insolúvel no líquido utilizado para umedecimento

3 Revisão Bibliográfica

A granulação por via seca parece ser uma estratégia tecnológica para contornar o problema da instabilidade frente à umidade (COUTO, 2000). Na granulação por via seca, as partículas pulveréas primárias são agregadas sob pressão, por meio de compactação em rolos ou em máquina de comprimir (SUMMERS e AULTON, 2005).

A força empregada na compactação conduz a modificação do sistema de empacotamento das partículas e a deformações elásticas ou plásticas, isotrópicas ou anisotrópicas, bem como à ruptura da estrutura das partículas que aumenta o contato interparticular e favorecem as atrações por forças de *Van der Waals* pela redução das distâncias. Além disto, pontes líquidas, que podem se estabelecer pela condensação da umidade contida nos espaços vazios interparticulares, durante o exercício da pressão, contribuem para o fortalecimento da coesividade. Outra possibilidade de ligação entre as partículas sob pressão é dada pela formação de pontes sólidas, formadas pela cristalização ou por fusão decorrente da deformação plástica e atrito interparticular que geram focos pontuais de alta temperatura. Nestes pontos de contato, acontecem prioritariamente, processos de difusão, que conduzem à formação de pontes materiais sólidas (SUCKER *et al.*, 1991; COUTO, 2000).

A formação de compactos por máquina de comprimir ocorre similar à produção de comprimidos, assim o complexo farmacêutico deve possuir boas propriedades reológicas e compressionais para a formação dos compactos com adequada uniformidade, sendo necessário o emprego de adjuvantes tecnológicos (VILAJATO, 2001).

Os adjuvantes são responsáveis pela formação de pontes que manterão as partículas da formulação unidas após a compressão, pela não aderência do produto às superfícies das ferramentas de compressão, pela diminuição das forças de fricção do compacto já formado durante a fase de ejeção, pela desintegração do compacto e pela cedência dos ativos, entre outras funções (RITSCHEL e BAUER-BRANDL, 2002).

3 Revisão Bibliográfica

Entre os componentes de uma formulação para obtenção de comprimidos destacam-se os materiais de carga, aglutinantes, lubrificantes e desintegrantes. No entanto, atualmente, a tendência é a utilização de adjuvantes multifuncionais, ou seja, aqueles produtos que além de atuarem como material de carga exerce outras funções, tais como, aglutinante e ou desintegrante (SHAWGRAW, 1989; VOIGT, 1993; VILA JATO, 1997).

Entre os adjuvantes multifuncionais mais utilizados destacam-se a lactose e a celulose microcristalina, principalmente, porque além de atuarem como agentes de carga possuem, também, propriedades aglutinantes e desintegrantes (DE SOUZA, 1999).

As diferentes lactoses, disponíveis comercialmente, apresentam distintas propriedades de compressão, mas em geral, são solúveis em água, possuem baixa capacidade de sorção de umidade e boas características de compressão, por outro lado, como desvantagens, possuem custo elevado e deficientes características de fluxo, as quais podem ser resolvidas através de técnicas de processamento (VAN KAMP *et al.*, 1988; VILA JATO, 1997).

A celulose microcristalina tem sido usada pela indústria farmacêutica desde 1960, é composta principalmente de α -celulose, sendo obtidas de polpa de madeira através de hidrólise ácida e tratamento mecânico com subsequente secagem em torre de aspersão (BLASCHEK, 1990; LANDIN *et al.*, 1993; VOIGT, 2005). Apresenta-se como pó branco, fino ou granuloso, ou como pó cristalino composto por partículas porosas, inodoro e insípido (LIMA NETO e PETROVICK, 1997). Além de atuar como agente de carga e diluente possui também propriedades aglutinantes.

Agentes antifricção são utilizados para evitar problemas relacionados ao atrito. De acordo com a função que exercem são classificados em deslizantes, que facilitam o fluxo ao diminuir a fricção interparticular; antiaderentes, que diminuem a fricção entre as partículas durante a compressão, assegurando uma melhor transmissão da força de compressão na massa pulveréa e conferindo ao comprimido brilho e acabamento satisfatórios. Normalmente, os adjuvantes dessa classe

3 Revisão Bibliográfica

apresentam ambas as propriedades, porém com intensidades diferentes (VILA JATO, 1997; VOIGT, 2005).

Um agente antifricção eficaz age pela redução do atrito na interface entre o comprimido e a parede da matriz, diminuindo o coeficiente de fricção e, portanto a força friccional a uma determinada carga, proporcionando redução do trabalho necessário tanto para compactar o pó como para ejeção do comprimido. O estearato de magnésio é, nessa classe tecnológica, um dos adjuvantes mais eficazes e utilizados na tecnologia da compressão, pois reúne todas as propriedades de um excelente agente antifricção (STANIFORTH *et al.*, 1993; ÇELIK, 1996).

O dióxido de silício coloidal devido à sua alta superfície específica é um adjuvante muito utilizado como deslizante. Atua por interposição entre as partículas formando uma camada protetora que diminui a fricção interparticular e tendência a coesão, além disso, ao introduzir-se entre as rugosidades dos grânulos torna sua forma mais regular favorecendo o enchimento homogêneo da matriz. Apresenta também, boa capacidade de adsorção de água (VOIGT, 1993; WANDE e WELLWE, 1994).

Os desintegrantes são utilizados com a finalidade de provocar a rápida desagregação do comprimido, incremento da área superficial dos fragmentos e, assim conseguir a rápida liberação da substância ativa. Esse processo envolve fundamentalmente o grau de solubilidade do fármaco, a força de compressão aplicada, a porosidade do comprimido, a influência de outros adjuvantes utilizados na formulação e especialmente a proporção de desintegrante utilizado (VILA JATO, 1997; MORETTO, 1999). Dentre estes os mais utilizados são a croscarmelose sódica e o glicolato de amido sódico, constituídos por derivados de celulose e amido, respectivamente (SALLAN *et al.*, 1998).

A próxima fase da granulação consiste na cominuição da massa compactada e consequente formação de grânulos, realizada, normalmente em granuladores rotativos ou oscilantes ou em moinhos (LE HIR, 1997; AULTON, 2005; VOIGT, 2

3 Revisão Bibliográfica

005). A etapa seguinte consiste na seleção de grânulos com dimensões uniformes, dentro de uma faixa granulométrica determinada (LE HIR, 1997).

Os granulados obtidos por esse processo apresentam morfologia e superfície irregulares devido às fraturas causadas por contusões, choques ou cortes, assim como maior densidade quando comparados aos granulados obtidos por via úmida. A sua menor porosidade se deve ao emprego de força compressional como agente efetor, e resulta em granulados com alta resistência mecânica (COUTO, 2000; COUTO, 2005).

A produção de comprimido de liberação imediata, contendo alta carga de componente ativo na forma de granulado, necessita da adição de adjuvantes na mistura para lhe conferir características tecnológicas adequadas. Uma das estratégias utilizadas é o emprego de adjuvantes na forma de granulados, objetivando minimizar a segregação dos componentes da mistura (TWICHELL, 2005).

O adjuvante utilizado nesta etapa consiste basicamente na adição de desintegrante à fase interna, fase externa ou a ambas (RITSCHEL e BAUER-BRANDT, 2002). Segundo Couto (2005), a adição de desintegrante à fase externa pode ocasionar a segregação das partículas finas ocasionando perfis de cedência distintos. Enquanto à adição a ambas as fases, nem sempre é garantia de ausência de segregação (TWICHELL, 2005).

Outros trabalhos, em especial desenvolvidos no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS, apresentam estudos atestando a necessidade de co-processamento dos adjuvantes, pela granulação por via úmida por desagregação, devido à melhor adequação granulométrica com os granulados da fase interna (contendo elevado teor de componente ativo) e também a redução do tempo de desintegração. Estudos levam em consideração o modo de adição e

3 Revisão Bibliográfica

constituição dos adjuvantes da fase externa (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

A granulação por via seca é o mais adequado para o preparo da fase interna de extratos vegetais secos por aspersão, porém acarreta diminuição da compressibilidade, sendo a granulação por via úmida para o granulado co-processado de adjuvantes o mais adequado (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

A granulação por via úmida é uma técnica bastante empregada na indústria farmacêutica e é aplicada para produtos capazes de serem submetidos às condições das etapas, como a molhagem e a secagem (SPANIOL, 2007). As principais desvantagens são a série de passos separados envolvidos, bem como o tempo e o trabalho necessário para conduzir o procedimento.

O processo de granulação por via úmida ocorre em três etapas. O umedecimento-nucleação, etapa em que o aglutinante disperso entra em contato com as partículas de pó seco e permite uma distribuição homogênea deste líquido. A consolidação -crescimento consiste na etapa onde colisões entre aglomerados, aglomerados-pó, ou aglomerados e o equipamento levam à densificação e ao incremento de massa. O atrito-estrutura, etapa final, resulta da quebra devido ao impacto, revestimento ou compactação no granulador ou durante subsequente manipulação (IVENSON *et al.*, 2001).

As substâncias a granular são misturadas intimamente de modo a permitir obter nas fases sucessivas um granulado homogêneo. A densidade, o tamanho e a forma das partículas podem influenciar no resultado deste processo. A adição de um líquido de umedecimento, água ou solvente orgânico, que deve ser evitado por questões ambientais, de segurança e de toxicidade, ou soluções, mistura água-solvente orgânico ou dispersões solvente-agente aglutinante, que podem ser adicionadas a quente ou a frio. O líquido de preferência deverá ser um solvente volátil e atóxico, sendo normalmente, a água. As vantagens do emprego de água

3 Revisão Bibliográfica

são o baixo custo, o menor dano ambiental, ausência de toxicidade e de inflamabilidade. O tempo de secagem elevado e a hidrólise são desvantagens do uso de água como solvente, mas não invalidam a produção de granulados co-processados de adjuvantes (COUTO, 2005; SUMMERS e AULTON, 2005).

Esta operação deve ser realizada com cuidado a fim de conseguir homogeneizar toda a mistura e o líquido de umedecimento deve ser lançado por intermédio de um sistema que o espalhe regularmente. A substância aglutinante pode ser adicionada à mistura de pós a seco (aglutinante extemporâneo ou *in situ*) ou dispersa no solvente (aglutinante em dispersão). Há opiniões contraditórias quanto o melhor método com relação ao alcance da maior homogeneidade da distribuição deste adjuvante. Aglutinantes empregados tradicionalmente são amido, sacarose e gelatina. Estes foram substituídos atualmente por polímeros com altas propriedades adesivas, tais como a povidona e derivados de celulose (COUTO, 2000; CARSTENSEN, 2001; ALDERBORN, 2005; VOIGT, 2005; LEVIN, 2007).

A umidade intergranular pode dispor-se de várias formas, designadas por estado pendular, estado capilar, estado funicular e em estado de gota. O mecanismo de granulação pode ser considerado uma mudança de um estágio trifásico (gás-líquido-sólido) no qual, os aglomerados estão em estado pendular ou funicular, para um estágio bifásico (líquido-sólido), na qual os aglomerados estarão no estado capilar ou goticular (AUGSBURGER e MURALI, 1997).

A etapa de umidificação pode ser realizada separadamente em misturadores planetários e malaxadores (duplo sigma), onde o líquido de granulação é adicionado de forma gradual, em ciclos, a fim de que ocorra homogeneidade na sua distribuição, ou misturador de projeção e turbilhonamento, granuladores centrífugos (LEHIR, 1997).

Quando se atinge o ponto final, a massa úmida é retirada do equipamento e, a seguir transferida para granuladores. Os granuladores usados na via úmida podem

3 Revisão Bibliográfica

ser classificados em granuladores de pressão, de alto cisalhamento e de leite fluidizado (ANSEL *et al.*, 1999; SUMMERS e AULTON, 2005).

Os granuladores de pressão, tradicionalmente usados, forçam a passagem da massa úmida por um tamis, cuja malha determina a granulometria. A umidade em excesso da massa úmida pode resultar na produção indesejada de filamentos do material ou granulado excessivamente duro, enquanto a baixa umidade pode redundar em ineficiência da granulação com a produção de aglomerados de baixas dimensões (SUMMERS e AULTON, 2005).

Os granuladores de alto cisalhamento executam, de acordo com o modelo, mistura seca, umidificação dos pós, formação dos granulados por forças de aglomeração e de fratura causados pelo cisalhamento ocasionado pelas pás e pela força centrífuga, e secagem num único equipamento (HOLM, 1997).

Nas torres de granulação a aglomeração ocorre por choques entre as partículas dos pós envoltas com o líquido de granulação. A dimensão dos aglomerados é determinada, entre outras co-variáveis de processo, pela vazão do ar de alimentação (HOLM, 1997).

Os granulados são coletados e transferidos para secadores, tais como estufas de ar circulante ou torres de secagem de leite fluidizado. A secagem deve ser realizada de modo a que o granulado fique com um teor de umidade adequado para a sua estabilidade e para o seu processamento seguinte, se necessário. A importância de alcançar a umidade correta no ponto de massa se deve à obtenção do estado capilar onde a união das partículas ocorre por sucção capilar na interface líquido / ar que permite obter grânulos com maior resistência à tensão quando comparados aos estados com menor teor de solvente. O estado de gota leva a uma queda irreversível nas propriedades coesivas e adesivas da massa úmida (SUMMERS e AULTON, 2005).

3 Revisão Bibliográfica

Durante a secagem as pontes líquidas, pré-requisito para as ligações mais permanentes, são parcialmente substituídas por pontes sólidas advindas da evaporação da fase líquida cujo mecanismo estruturante consiste na consolidação do aglutinante ou recristalização de substâncias dissolvidas (SUMMER e AULTON, 2005).

A temperatura não deve ser excessivamente alta, visto que forma uma crosta na superfície do granulado que impede a secagem no seu interior. Tanto a temperatura como o tempo de secagem dependem do tipo de equipamento utilizado, das substâncias a secar e das características do produto final (SUMMER e AULTON, 2005).

A fase final do método convencional de granulação tem como objetivo a uniformização do granulado quanto ao tamanho, operação denominada calibração, eliminando-se os granulados fora da faixa de interesse (PRISTA, 2003; SUMMERS e AULTON, 2005).

3.8 Formas farmacêuticas sólidas - comprimidos

Dentre as formas farmacêuticas de uso oral, os comprimidos são as mais comuns. Cerca de 40 % dos medicamentos em desenvolvimento são produzidos na forma de comprimidos, frequência igualmente constatada entre os produtos constantes na RENAME (BRASIL, 1998; ALDEBORN, 2005; VOIGT, 2005).

Os comprimidos são formas farmacêuticas sólidas com formas e dimensões definidas obtidas por compressão de complexos farmacêuticos constituídos por granulados ou misturas pulverulentas contendo uma ou mais substâncias ativas adicionadas de adjuvantes. A importância desta forma farmacêutica é justificada por suas vantagens, principalmente, alta densidade, facilidade de administração, reduzida sensação organoléptica, exatidão de dosagem, facilidade no acondicionamento, identificação e manipulação, estabilidade e produção em ampla escala (VILA JATO, 1997; RITSCHER, BAUER-BRANDT, 2002; ALDEBORN, 2005; VOIGT, 2005).

3 Revisão Bibliográfica

Os comprimidos são obtidos pela aplicação de uma pressão externa forçando o reordenamento das partículas e deformação até obtenção de uma massa coesa. A aplicação de uma pressão no complexo farmacêutico resulta na transmissão da força interior da massa, através de pontos de contato interparticulares, culminando com um estado de saturação de resistência estrutural e alteração volumétrica ou deformação. A deformação, dependendo das características do material, da força aplicada e do tempo de sua manutenção, pode ser classificada como elástica, quando a alteração volumétrica causada pela saturação estrutural volta à situação normal após a retirada da pressão; plástica, quando não há recuperação volumétrica causada pela saturação estrutural; ou de ruptura, quando a alteração provoca fraturas estruturais (WRAY, 1992; CARSTENSEN, *et al.*, 1993).

O desenvolvimento de comprimidos tem como fase imprescindível o conhecimento do desempenho do complexo farmacêutico no decorrer do ciclo de compressão. Para esta finalidade encontram-se disponíveis máquinas de comprimir excêntrica ou alternativa e máquinas rotativas (SPANIOL, 2007).

É importante que seja estabelecida uma relação entre os parâmetros que caracterizam a compressão em ambas as máquinas, excêntrica e rotativa, sob as condições mais similares possíveis (KONKEL e MIELK, 1997). Para tal, o emprego de complexos farmacêuticos granulares, em relação às misturas pulveréas, mostra-se mais versátil para estudos comparativos de compressão entre estes equipamentos, pois possibilita o estudo e a avaliação de diversos parâmetros capazes de influenciar a qualidade do produto e do processo (SPANIOL, 2007).

Até o final dos anos 50, a maioria dos comprimidos era fabricada a partir de granulados, cujo propósito básico era produzir misturas de substâncias ativas e adjuvantes com fluxo livre e compressível. Basicamente, as metodologias de granulação não se alteraram nesse século. A granulação por via úmida tem aplicação limitada, face à termoinstabilidade de diversas substâncias ativas. Por outro lado, a granulação por via seca, embora eliminando a etapa de secagem,

3 Revisão Bibliográfica

envolve problemas tecnológicos relacionados com a estabilidade estrutural dos complexos farmacêuticos e com a eficácia dos adjuvantes (LE HIR, 1995).

Dessa forma, o desenvolvimento de um medicamento sólido constitui uma tarefa bastante complexa, pois as propriedades inerentes das matérias-primas, bem como a natureza específica de algumas operações realizadas durante o seu fabrico influem diretamente nas características do produto final, exigindo um estudo aprofundado e sistematizado dos vários parâmetros envolvidos na produção dessa forma farmacêutica (MOREIRA, 1998).

4.1 Materiais

4.1.1 Material vegetal

O material vegetal, constituído de folhas de *Eugenia punicifolia*, foi fornecido pela Embrapa Amazônia Ocidental. Com a finalidade de contribuir para o estabelecimento de critérios de qualidade da matéria-prima vegetal foram realizadas coletas em diferentes épocas do ano, sendo o material vegetal processado e caracterizado de acordo com os ensaios descritos na Farmacopeia Brasileira e em códigos oficiais. As plantas foram colhidas com, aproximadamente, um ano de idade e em fase reprodutiva.

4.1.2 Adjuvantes de secagem

Foi empregado o dióxido de silício coloidal (Aerosil® 200, HDK N-20 Wacher Chemie/ Alemanha) e celulose microcristalina (Avicel® PH101, CMC, Guar ulhos/ São Paulo) como adjuvantes de secagem para a produção de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia* (PSA).

4.1.3 Aparelhos, equipamentos e outros materiais

Agitador de tamises eletromagnético Bertel com tamises segundo as normas da Farmacopeia Brasileira V (2010);

Balança analítica Shimadzu, Ay220, máximo de 220 g;

Balança analítica BEL *Engineering*, máximo de 720 g;

Destilador de água GFL, 2012/Alemanha;

Estufa com circulação e renovação de ar, SL 102, Solab;

Mini *Spray Dryer* modelo MSD 1,0 da Labmaq ;

4.2 Métodos

4.2.1 Tratamento e caracterização da matéria-prima vegetal (*Eugenia punicifolia*)

4.2.1.1 Tratamento da matéria-prima vegetal

O material vegetal foi selecionado, sendo separadas manualmente as folhas para tratamento individual. Após a seleção, foi realizada análise da perda por

4 Materiais e Métodos

dessecação (PD%), sendo todo material com valor de PD% acima de 12% submetido à secagem em estufa de ar circulante ($45^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$). O procedimento de secagem foi mantido até estabilização da umidade residual, por um período aproximado de sete dias. Após a secagem, as folhas foram submetidas à moagem em moinho de facas de 1 mm. O material cominuído resultante foi misturado, constituindo assim a matéria-prima vegetal (MPV).

4.2.2 Caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)

4.2.2.1 Determinação da perda por dessecação (F. BRASILEIRA V, 2010)

A perda por dessecação foi determinada, por meio de método gravimétrico, utilizando-se 500,0 mg da matéria-prima vegetal, a qual foi pesada em pesa-filtros, previamente tarados e submetidos à dessecação em estufa $105^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 2 h e transferidos para dessecador por 20 min, pesando-se em seguida. O processo foi repetido até peso constante, com intervalos de 1 h de secagem na estufa. O ensai o foi realizado em triplicata.

4.2.2.2 Determinação do teor de extrativos (BUNDESVEREINIGUNG, 1986)

Cerca de 1,0 g da MPV, exatamente pesado, foi colocado em erlenmeyer, adicionado de 100,0 mL de água destilada, pesado o conjunto, e submetido à extração por decocção durante 10 min. Após o arrefecimento, foi pesado novamente o conjunto, reconstituindo a massa inicial com água destilada, filtrando e desprezando os primeiros 20 mL do filtrado. Em pesa-filtro, previamente tarado, 20,0 g do filtrado foram evaporados à secura em banho de água, com agitação ocasional. O pesa-filtro, contendo os resíduos secos foram levados à estufa $105^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 2 h e transferidos para dessecador por 20 min, pesando-se em seguida. O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem na estufa. O ensai o foi realizado em triplicata.

Os resultados foram expressos pela média de três determinações e o teor extrativo foi calculado segundo a equação 1.

$$\text{TE} = \frac{\text{g} \times \text{FD} \times 100}{\text{m} - (\text{m} \times \text{PD} / 100)} \quad (1)$$

4 Materiais e Métodos

Onde; TE= teor de extrativos (%; m/m); g= massa (g) do resíduo seco, FD= fator de diluição, igual a 5; m= massa da MPV (g); PD= perda por dessecação da amostra (%; m/m).

4.2.2.3 Análise granulométrica por tamisação (F. BRASILEIRA V, 2010; VOIGT, 2000)

Cerca de 50 g da matéria-prima vegetal foram submetidos à passagem por tamises, previamente tarados, com aberturas de malha de 0,250; 0,330; 0,400; 0,500; 0,600; 0,710; 0,800; e 1,00 mm. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo durante 15 min. Em seguida, as frações retidas nos tamises e no coletor foram pesadas. A partir das curvas de retenção e passagem foi calculado o diâmetro médio de partícula e o histograma de distribuição granulométrica. As partículas inferiores a 250 µm não foram usadas no cálculo da mediana (como pode ser visto na figura 8). O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.3 Obtenção da solução extrativa (SE)

A solução extrativa foi preparada utilizando a infusão como método de extração por 15 min, sendo a relação droga:solvente de 7,5% (m/V).

4.2.3.1 Determinação do resíduo seco (BUNDESVEREINIGUNG, 1986)

Foi realizado através de método gravimétrico, com auxílio de banho de água para evaporação do solvente, em estufa a temperatura de 105 °C até peso constante. Alíquota de 20,0 mL da solução extrativa foi exatamente pesada, diretamente, em pesa-filtro previamente tarado, e evaporada até seca em banho de água, sob agitação ocasional. Após evaporação da solução extrativa, o pesa-filtro contendo o resíduo foi levado à estufa 105 ° ± 2 °C por um período de 2 h e transferido para dessecador por 20 min, pesando-se em seguida. O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem na estufa. O ensaio foi realizado em triplicata.

4 Materiais e Métodos

4.2.4 Desenvolvimento do produto seco por aspersão (PSA)

4.2.4.1 Avaliação da influência de adjuvantes na operação de secagem

Os extratos secos de *Eugenia punicifolia* foram preparados a partir da solução extrativa aquosa (SE) sem a presença de adjuvante tecnológico (ES) e com adição de dióxido de silício coloidal (PSA1) e celulose microcristalina (PSA2) na concentração de 30%, calculada sobre o resíduo seco da SE.

A secagem foi realizada em torre de secagem por aspersão em equipamento *Mini Spray Dryer*. Os parâmetros de secagem foram mantidos constantes (tabela 1), durante todo o processo de secagem. Nesta etapa do trabalho, a manutenção das características físicas e o rendimento da operação de secagem e o teor de umidade nos produtos obtidos foram os parâmetros de escolha para a seleção da formulação.

Tabela 1 - Condições da operação de secagem por aspersão

Parâmetros	Valores
Bico de aspersão (mm)	0,7
Temperatura de entrada (°C)	120
Temperatura de saída (°C)	92
Fluxo de alimentação (mL/min)	8

Os produtos secos foram acondicionados em frasco opaco e hermético, a fim de proteger o produto da luz e da umidade. O PSA selecionado foi produzido em quantidade total de 500 g, sendo armazenado em dessecador.

4.2.4.2 Determinação do rendimento da operação de secagem

O rendimento da operação de secagem foi calculado em relação à massa teórica de sólidos totais presente na solução extrativa. Os sólidos totais correspondem ao teor de resíduo seco da solução extrativa, somada ao peso do adjuvante adicionado.

4.2.4.3 Determinação da perda por dessecação (F. BRASILEIRA V, 2010)

Procedimento realizado conforme descrito no item 4.2.2.1.

4 Materiais e Métodos

4.3 Materiais

4.3.1 Adjuvantes farmacêuticos

A celulose microcristalina (Microcel[®] MC 101, Blanver, Cotia/Brasil, lote 221/05), dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200, Evonik-Degussa, Frankfurt/Alemanha, lote c22111II), amidoglicolato de sódio (Explosol[®], Blanver, Cotia/Brasil, lote 19201/97) e estearato de magnésio (Acros Organics, New Jersey/USA, lote A0235781) e metilcelulose (Methocel A15, The Dow Chemical Company, New York/USA, lote UL15012N21). for am os adjuvantes empr egados, nos complexos farmacêuticos para produção dos briquetes e granulados.

4.3.2 Solventes e reagentes

Água ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA) foi empregada como sol vente. As sol uções tampão de pH 6,86 e 4, 01, respectivamente, DM-S1A e DM-S1B (Digimed, São Paulo/ Brasil) foram empregadas na determinação do pH.

Na produção da solução diluente da amostra e da fase móvel, utilizadas no desenvol vimento e validação da metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência, foram empregados metanol (grau HPLC, J.T.Baker, Cidade do México/México), acetonitrila (grau HPLC, Tedia, Rio de Janeiro, Brasil), ácido ortofosfórico (pró-análise, Merck, Darmstadt/Alemanha), ácido acético (Merck, Darmstadt/Alemanha) e água ultrapura obtida de sistema Mili-Q (Millipore, Bedford/EUA). Os padrões flavonoídicos utilizados foram rutina monoidratada (Sigma-Aldrich, St. Louis/EUA, R5143-50G, lote: 128K1177) e quercetina diidratada (Sigma Aldrich, St. Louis/EUA, Q-0125, lote 117HO860).

4.3.3 Equipamentos, acessórios e correlatos

Agitador de tamises para análises granulométricas Bertel com tamises segundo as normas da Farmacopéia (1988);

Analizador de umidade por infravermelho Gehaka IV- 200;

Aparelho de desintegração acoplado ao motor J. Engelsman modelo JEL – 70, de acordo com a Farmacopéia (1988);

4 Materiais e Métodos

Banho de ultrassom (Ultracleaner 1400 A, Unique);

âmara de friabilômetro para comprimidos efervescentes com volume de 500 cm³, adaptada ao motor J. ENGELSMANN modelo JEL-70;

Câmera fotográfica digital Sony Cyber-Shot DSC W-50;

Coluna C18 (Phenomenex, Gemini 250 x 4,60 mm, 5 µm);

Coluna Synergi Fusion RP 8A (Phenomenex, 150 x 4,60 mm, 5 µm);

Coluna Synergi Polar RP (Phenomenex, 150 x 4,60 mm, 4 µm);

Cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, com bombas LC-10AD, injetor automático SIL-10 A, controlador automático de gradiente FCV – 10AL VP e detector UV/VIS SPD 10A, controlado pelo programa Class LC – 10, degaseificador DGU – 20As (Central Analítica/FACFAR/UFGRS);

Cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu tipo LC-20A equipado com bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20A, forno de coluna CTO-20A e detector de arraste de diodo SPD-M20A controlado pelo programa LC-Solution MultiPDA (BIOFITO/CDTF/UFGRS);

Destilador de água modelo 2008, labortechnik (Central de águas/FAR/UFGRS);

Difratômetro de *laser* Cilas 1180 (LACER/UFGRS);

Dissolutor Pharma Test tipo PTW S III;

Durômetro Schleuninger 2E;

Espectrofotômetro de varredura Hewlett-Packard 8452A;

Estufa de ar circulante Memmert, TV 60 UL;

Fluxômetro MQBAL Microquímica com funis de aço inoxidável conforme especificações farmacopéicas (EUROPEAN, 1997);

Friabilômetro Roche J. Engel smann

Granulador de rolos sulcados Erweka tipo TGIIIS acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

Granulador oscilatório Erweka do tipo FG acoplado a motor Erweka AR 400;

Máquina de comprimir alternativa Korsch EK0 com punções circulares planos facetados de 15 mm;

Máquina de comprimir rotativa instrumentalizada Riva Piccola com punções côncavas de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm (CDTF/UFGRS);

4 Materiais e Métodos

Membrana hidrofílica Durapore (PVDF) de 0,45 µm de poro e diâmetro, respectivamente, de 13 mm e 47 mm (Millipore, Billerica/EUA);

Micrômetro digital Mitutoyo 0 – 25 mm;

Microscópio eletrônico de varredura Jeol-JSM 6060 (CEM/UFRGS);

Microscópio óptico Jena;

Misturador em Y Ofitec de capacidade nominal de 1 litro acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

Misturador sigma (malaxador) Erweka LK 5 acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

Potenciômetro Digimed DM-20;

Pré-coluna cromatográfica Phenomenex Sílica C18, 50 µm, 140 Å, Grace Davison Discovery Science;

Purificador de água Milli-Q Plus Millipore (Central de águas/FAR/UFRGS)¹;

Software estatístico Minitab[®] versão 14;

Software Microsoft Office Excel[®] 2003;

Volúmetro de compactação J. Engel smann (EUROPEAN, 1997).

4.4 Caracterização do PSA1 (dióxido de silício coloidal)

4.4.1 Determinação da perda por dessecação

A perda por dessecação foi determinada, por meio de método gravimétrico, utilizando-se 500,0 mg do PSA1, os quais foram pesados em pesa-filtros, previamente tarados e submetidos à dessecação em estufa $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por um período de 2 h e transferidos para dessecador por 20 min, pesando-se em seguida. O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem na estufa. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.4.2 Determinação do pH (SOARES, 1997)

Cerca de 500,0 mg de produto seco foram pesados e dispersos em 15 mL de água destilada. O pH foi medido a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, com potenciômetro calibrado com soluções tampão de pH 6,86 e 4,01. O resultado representa a média de três determinações.

4 Materiais e Métodos

4.4.3 Avaliação das características macroscópicas e organolépticas (CARVALHO, 1997)

As características macroscópicas foram avaliadas pela observação da cor, aroma e aspecto geral do produto.

4.4.4 Análise granulométrica por:

a) Microscopia óptica (LANTZ, 1989)

A análise granulométrica foi realizada em microscópio óptico, considerando a medida do diâmetro de *Ferret* por meio da contagem de 500 partículas de produto seco. A leitura foi realizada com ocular provida de nônio com aumento de 10 vezes e objetiva com aumento de 40 vezes (1 unidade do nônio da ocular corresponde a 3,5 μm). O pó foi depositado sobre a lâmina. Os parâmetros de diâmetro médio e de dispersão granulométrica foram determinados pelos métodos gráfico e matemático.

b) Difração a laser

Foi realizada a determinação granulométrica empregando-se analisador com sistema de avaliação de tamanho de partícula por meio de difração de luz laser. O solvente utilizado para a dispersão dos pós foi o óleo de silicone, seguida de sonicação, para evitar a presença de aglomerados de produto seco. A análise permitiu a obtenção do diâmetro médio de *Fraunhofer*, o gráfico de distribuição de frequências relativas e cumulativas e também a mediana e os percentis 10% e 90%. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram obtidos diretamente do programa computacional.

4.4.5 Análise de forma de partícula em Microscopia eletrônica por varredura (MEV)

Foi realizada a avaliação por MEV após prévia metalização da amostra com filme de ouro em *stabs*. A morfologia e a superfície das partículas foram observadas.

4.4.6 Determinação das densidades bruta e compactada (GUYOT *et al.*, 1995, modificado)

4 Materiais e Métodos

Amostras correspondentes a cerca de 10,0 g de PSA1 foram exatamente pesadas e transferidas para proveta de 25 mL, medindo-se o volume livremente ocupado pelo pó (volume bruto, V_b). Com o auxílio de volúmetro de compactação, o pó foi submetido a 10, 500 e 1250 quedas sequenciais, anotando-se os respectivos volumes. O experimento teve seu término quando, entre duas sequências de 1250 quedas, a diferença entre as leituras não ultrapassou 1 mL, obtendo-se assim o volume compactado (V_c), que representa o sistema de empacotamento estável do sistema particulado. Os valores representam a média de, no mínimo, três determinações.

4.4.7 Avaliação do fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID) (CARR, 1965; HAUSNER, 1967; VOIGT, 2005)

O fator de Hausner (FH) foi obtido por meio da razão entre a densidade compactada e a densidade bruta.

O índice de compressibilidade ou índice de Carr (IC) foi calculado através da diferença percentual entre os valores de densidade bruta (db) e a densidade compactada (dc).

O índice de densificação (ID) foi obtido pela diferença entre os volumes após 10 (V_{10}) e 500 (V_{500}) quedas.

4.4.8 Determinação do fluxo discreto

Foi avaliada através do escoamento dinâmico do material particulado em funil, de acordo com a *European Pharmacopeia* (1997), com avaliação por contagem em cronômetro do ponto final.

As análises foram executadas com três repetições a partir de cerca de 50 mL de amostra, as quais foram pesadas, empregando-se funil de descarga com orifício de saída de 1 cm, ângulo interno do funil superior (40°), diâmetro de carga do funil inferior (3 cm) e diâmetro de carga do funil superior (11 cm).

4 Materiais e Métodos

4.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

No desenvolvimento do método de análise levou-se em consideração dados obtidos na literatura sobre o gênero *Eugenia*, com especial atenção às espécies *Eugenia uniflora* e *Eugenia jambolana* que apresentam em seus estudos fitoquímicos a presença de compostos fenólicos (ácidos fenólicos, taninos e flavonóides). Para avaliar o perfil dos compostos flavonoidícos presentes no PSA1 de *Eugenia punctifolia*, devido a sua alta resolução, simplicidade e eficiência, foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.5.1 Desenvolvimento de método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Foram testadas variações, avaliando-se os seguintes parâmetros: colunas (C18, 250 x 4,60 mm; *Fusion* RP 8A, 150 x 4,60 mm e; Polar – RP, 150 x 4,60 mm); modificando-se as proporções da fase móvel (ácido acético (0,1- 0,5%), ácido ortofosfórico 1%, metanol, acetonitrila); comprimentos de onda (254 e 362 nm); fluxo (0,7 a 1 mL/min); métodos de eluição: gradiente e isocrático; temperaturas do forno (25 e 35 °C) e temperatura ambiente.

Após estudos preliminares, a solução diluente composta por acetonitrila 24% e ácido fosfórico 0,01% (v/v) foram eleitos. A quantificação do PSA1 foi realizada na concentração de, aproximadamente, 1 mg/mL em solução diluente, sendo posteriormente, filtradas para *via/s*. As injeções de 20 µL das amostras foram feitas em triplicata e a detecção no espectro de ultravioleta foi realizada, inicialmente, em dois comprimentos de onda, 254 e 362 nm.

As amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência equipado com o detector de arranjo de diodo (CDDF/UFRGS) demonstrando a presença dos três picos majoritários.

O procedimento da hidrólise consistiu no tratamento de 2 g de PSA com 70 mL de solução de ácido clorídrico a 2 N e 30 mL de metanol, sob refluxo em manta aquecedora durante 2 h. Após a hidrólise, foram utilizados 30 mL de acetato de etila

4 Materiais e Métodos

para cada 50 mL de hidrolisado para extração e em seguida, levado ao rotaevaporador até retirada total do solvente. O hidrolisado foi dissolvido em solução diluente para completar o volume final de 100 mL.

4.5.2 Validação do Método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Desenvolveu-se um método em sistema gradiente (tabela 2), com coluna Synergi Polar RP, tendo como fase móvel a acetonitrila (ACN) e o ácido ortofosfórico 1% (H₃PO₄) (tabela 2). O fluxo empregado foi de 0,8 mL/min, sob temperatura de 35 °C, injeção de 20 µL, sendo os sinais detectados em comprimento de onda de 362 nm.

Tabela 2 - Sistema gradiente validado

Tempo (min)	Fase móvel (%)	
	Acetonitrila	Ácido ortofosfórico (H ₃ PO ₄)
0,01	20	80
5,00	24	76
10,00	24	76
20,00	40	60
25,00	20	80
30,00	STOP	

4.5.3 Preparação da amostra

4.5.3.1 Extração dos flavonóides

O PSA1 foi submetido ao processo de extração dos flavonóides similar ao método proposto por Bica (2009). Visando dissolver completamente o PSA1 foi utilizado metanol a 50%, com auxílio de sonicação e arrefecimento por 30 min. A completa dissolução foi avaliada, inicialmente, de forma qualitativa por meio da observação visual de precipitados e sua coloração, apresentando resíduos branco, devido provavelmente ao dióxido de silício coloidal.

Com o objetivo de diminuir possível influência da solução dispersante sobre o tempo de retenção cromatográfico foi realizada uma diluição utilizando acetonitrila: ácido ortofosfórico a 0,01% (24:76, v/v) na preparação da solução a ser injetada no cromatógrafo.

4 Materiais e Métodos

4.5.4 Curva padrão de quercetina

Para obtenção das curvas padrão de quercetina foram pesados 20,0 mg do flavonóide referência e dissolvido em metanol 100% (solução-mãe). Alíquotas da solução-mãe foram diluídas na solução diluente (acetonitrila: ácido ortofosfórico a 0,01% [24:76, v/v]), obtendo-se soluções contendo quercetina nas seguintes concentrações: 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 15 e 20 µg/mL. As soluções foram filtradas através de membrana de PVDF de 0,45 µm. As injeções de 20 µL das amostras foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos por meio de três determinações.

4.5.5 Curva padrão do PSA1 de *Eugenia punicifolia*

Foram pesados 500,0 mg do PSA1 e dissolvidos em 100 mL de metanol a 50%, com auxílio de sonicação por 30 min. A partir da SM obtiveram-se as concentrações de PSA1 de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 µg/mL por meio de diluição da solução diluente (acetonitrila: ácido ortofosfórico a 0,01% [24:76, v/v]). Para cada concentração realizaram-se três determinações para garantir a repetibilidade da extração. Os resultados foram expressos pela média dos picos obtidos em três injeções.

As curvas padrão foram submetidas à análise por regressão linear e os resultados expressos pelo coeficiente de correlação, limite de confiança no ponto de intersecção e pelo coeficiente de inclinação da reta.

Baseado na Resolução RE N°899, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foram avaliados os parâmetros de *performance* analítica: linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão e especificidade.

4.5.6 Linearidade

A linearidade foi determinada por meio da análise da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com o

4 Materiais e Métodos

mínimo de seis pontos a partir das curvas da solução padrão de quercetina e do PSA1.

4.5.7 Repetibilidade

A repetibilidade do método foi verificada por 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada.

4.5.8 Precisão intermediária

Foi verificada através de três concentrações escolhida a partir da curva padrão da solução-mãe do PSA1, sendo analisada em três dias diferentes, em triplicata e os resultados foram expressos como coeficiente de variação percentual.

4.5.9 Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio da recuperação da quercetina adicionada à solução-mãe de PSA1, com concentração de 3,5 µg/mL. O ensaio foi realizado obedecendo à faixa de linearidade da metodologia, por meio de três níveis de

concentrações de quercetina (50, 100 e 150%), com três replicatas cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, de acordo com a equação 02.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 10 \quad (02)$$

4.5.10 Especificidade

Para avaliar a pureza dos sinais foi utilizado um cromatógrafo com detector de arranjo de diodo.

4.6 Produção dos compactos

Para a produção de compactos contendo alto teor de PSA1 foi utilizada a formulação que obteve as melhores características tecnológicas de acordo, com

4 Materiais e Métodos

Petrovick (2006), acrescida do desintegrante amidoglicolato de sódio. Foram empregadas três formulações na produção dos compactos, contendo altas concentrações ponderais de PSA1, respectivamente, 30, 50 e 70%. Cada formulação foi ainda constituída de celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio e amidoglicolato de sódio descritos conforme tabela 3.

Tabela 3 - Formulações empregadas na produção dos compactos

Formulação	30	50	70
Componentes	(%)	(%)	(%)
PSA	30,0	50,0	70,0
CMC	66,5	46,5	26,5
Dióxido de silício coloidal	2	2	2
Amidoglicolato de Na	0,5	0,5	0,5
Estearato de Mg	1	1	1

CMC: celulose microcristalina.

O PSA1, o material de enchimento/aglutinante seco e o desintegrante foram misturados, após passagem em tamis de 106 μm , durante 15 min em misturador em Y a 36 rpm. Posteriormente, adicionou-se o lubrificante (estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal), continuando-se a mistura por mais 5 min.

Os compactos foram obtidos por compressão direta em máquina de comprimir excêntrica, equipada com alimentador e dotada de punções simples, circulares, facetados de 15 mm de diâmetro. Procurou-se obter compactos com dureza superior a 50 N.

4.6.1 Caracterização dos compactos

4.6.1.1 Determinação da aparência e das dimensões (THE UNITED, 2004)

As características macroscópicas foram avaliadas pela observação da cor e aspecto geral do produto. Com auxílio de paquímetro digital foi mensurado a espessura e o diâmetro de 20 compactos, 24 h após a compressão.

4 Materiais e Métodos

4.6.1.2 Determinação do peso médio (F. BRASILEIRA V, 2010)

Realizou-se a pesagem individual, em balança analítica, de 20 compactos do PSA1.

4.6.1.3 Determinação da dureza (F. BRASILEIRA V, 2010)

Mediu-se a resistência ao esmagamento radial de 20 compactos 24 h após a compressão.

4.6.1.4 Determinação da friabilidade (F. BRASILEIRA V, 2010)

Com o auxílio do friabilômetro tipo Roche, à velocidade de 20 rpm, 20 compactos, livres de pós, foram submetidos à queda e ao atrito durante 5 min e, após retirada de possíveis partículas finas, obteve-se a friabilidade pelo cálculo do percentual de perda ponderal do material.

4.7 Granulação por via seca

A granulação dos compactos de PSA1 (GPSA) foi realizada em granulador de rolos sulcados, por três vezes. A seguir foram tamisados em malha de 0,85 mm, sendo a porção retida cominuída em granulador oscilatório com malha de 1,00 mm até a passagem de todo o produto pela malha. A seleção foi realizada com auxílio de tamises de abertura de malha 0,250; 0,425; 0,500; 0,600; 0,710 e 0,850 mm em aparelho de tamisação vibratório durante 15 min. Foi selecionada a faixa granulométrica de 0,250 a 0,850 mm. Para o cálculo do rendimento foi considerado o percentual de granulados dentro da faixa estipulada de 0,250 a 0,850 mm, em relação à massa inicial de briquetes.

4.7.1 Caracterização do GPSA (30, 50 e 70%)

4.7.1.1 Avaliação da perda por dessecação (F. BRASILEIRA V, 2010)

A perda por dessecação foi determinada, por meio de método gravimétrico, utilizando-se 500,0 mg dos granulados, as quais foram pesadas em pesa-filtros, previamente tarados e submetidos à dessecação em estufa $105 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por um período de 2 h e transferidos para dessecador por 20 min, pesando-se em seguida.

4 Materiais e Métodos

O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem na estufa. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.7.1.2 Determinação granulométrica por tamisação (F. BRASILEIRA V, 2010)

A amostra de toda a população de GPSA foi submetida à passagem por tamises, previamente tarados com aberturas de malhas de 0,250; 0,425; 0,500; 0,600; 0,710; 0,850 mm. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por s durante 15 min em aparelho de tamisação vibratório. As frações retidas nos tamises e no coletor foram pesadas e os dados avaliados pela construção de gráficos de distribuição granulométrica. A análise foi realizada em triplicata. O diâmetro médio foi calculado por meio do método gráfico (LANTZ, 1989; VOIGT, 2005).

4.7.1.3 Determinação das densidades bruta e de compactação (GUYOT *et al.*, 1995, modificado)

As densidades bruta e de compactação foram determinadas utilizando-se 2,0 g de granulado em proveta de 10 mL medindo-se o volume livremente ocupado pelo pó (volume bruto, V_b). Com o auxílio de volúmetro de compactação, o pó foi submetido a 10, 500 e 1250 quedas sequenciais, anotando-se os respectivos volumes. O experimento teve seu término quando, entre duas sequências de 1250 quedas, a diferença entre as leituras não ultrapassou 1 mL, obtendo-se assim o volume compactado (V_c), que representa o sistema de empacotamento estável do sistema particulado. Os valores representam a média de no mínimo três determinações.

4.7.1.4 A avaliação dos fatores de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID) (HAUSNER, 1967; CARR, 1965; VOIGT, 2005)

O fator de Hausner (FH) foi obtido por meio da razão entre a densidade compactada e a densidade bruta.

O índice de compressibilidade ou índice de Carr (IC) foi calculado através da diferença percentual entre os valores de densidade bruta (db) e a densidade compactada (dc).

4 Materiais e Métodos

O índice de densificação (ID) foi obtido pela diferença entre os volumes após 10 (V_{10}) e 500 (V_{500}) quedas.

4.7.1.5 Determinação do fluxo discreto

Foi avaliada através do escoamento dinâmico do material particulado em funil I, de acordo com a *European Pharmacopeia* (1997), com avaliação por contagem em cronômetro do ponto final. As análises foram executadas em triplicata a partir de cerca de 50 mL de amostra, as quais foram pesadas, empregando-se funil de descarga com orifício de saída de 1 cm, ângulo interno do funil superior (40°), diâmetro de carga do funil inferior (3 cm) e diâmetro de carga do funil superior (11 cm).

4.7.1.6 Determinação da friabilidade (PRISTA, 2003; BICA, 2009 modificado)

Cerca de 30 mL de granulados calibrados, faixa de 0,25 a 0,85 mm, foram colocados em proveta de 100 mL. Após fechada e acoplada ao friabilômetro, o conjunto foi submetido à rotação de 25 rpm por 15 min e, ao final, a amostra foi submetida à separação em tamis de abertura de 0,106 mm. O percentual de friabilidade foi calculado a partir da massa de partículas inferiores a 0,106 mm, depositada no coletor, em relação à massa inicial.

4.7.1.7 Análise do granulado por microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram metalizadas utilizando um filme de ouro no *stab*. A análise foi executada em microscópio eletrônico de varredura, sendo observadas a morfologia e a superfície das partículas.

4.7.1.8 Avaliação do teor de quercetina por CLAE nos granulados

De acordo com as formulações dos granulados GPSA30, GPSA50, GPSA70 foram pesados cerca de 170 mg, 100 mg e 75 mg de granulados, respectivamente, triturados e quantificados após dispersão dos mesmos em cerca de 30 mL de solução diluente (35 % ACN e 0,05% de ácido fosfórico) com auxílio de sonicação. Após, o volume foi analiticamente completado a 50 mL com a respectiva solução diluente e as dispersões foram homogeneizadas. O método de CLAE desenvolvido neste

4 Materiais e Métodos

trabalho foi empregado na análise. Os resultados foram expressos em recuperação (%), baseados na concentração apresentada pelo PSA1 e na proporção ponderal do mesmo nas formulações.

4.8 Produção e caracterização do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ)

4.8.1 Produção do granulado co-processado por via úmida

A formulação utilizada na granulação por via úmida por desagregação é constituída de amidoglicolato de sódio (3,6%, m/m), metilcelulose (9,0%, m/m) e celulose microcristalina (q.s.), otimizada e selecionada de acordo com Bica (2009).

O processo de produção foi similar ao protocolo estabelecido por Couto (2005), que constou das etapas descritas a seguir.

Mistura dos adjuvantes

Para produção de lote de 150 g foi utilizado o misturador em Y, para a mistura dos adjuvantes, durante 15 min a 23 rpm, com o volume de operação inferior a metade da capacidade nominal (1 L) do misturador. O aglutinante não foi misturado conjuntamente.

Umedecimento

A dispersão do aglutinante foi preparada no dia anterior (aproximadamente 15 h antes), com cerca de 80 g de água destilada. Agitou-se com bastão de vidro e foi posto na geladeira. A dispersão foi distribuída de forma intermitente no malaxador, alternando com períodos de mistura sem adição da fase semi-sólida. Quando necessário, foi aspergida água fria, para obtenção do ponto de massa, anotando-se o volume empregado. O procedimento durou cerca de 1 h. A umidade presente na massa foi avaliada por meio de balança com sistema de secagem por infravermelho, a partir de amostras de 1,10 g, em triplicata. A massa úmida foi submetida à passagem através de tamis com abertura de malha de 1,0 mm, empregando-se força manual com auxílio de espátula de plástico flexível, depositando os granulados sobre papel pardo.

4 Materiais e Métodos

Secagem

Os granulados úmidos foram colocados em estufa de ar circulante à temperatura de $41 \text{ }^\circ \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, durante um período de 12 h.

Calibração granulométrica

A calibração consistiu na eliminação das partículas inferiores a 250 μm e superiores a 850 μm , sendo realizada de forma concomitante com a análise granulométrica. A fim de não alterar a morfologia dos granulados de adjuvante a fração superior a 850 μm não foi cominuída e reutilizada.

4.8.2 Caracterização prévia dos granulados produzidos

4.8.2.1 Determinação da perda por dessecação (BICA, 2009)

O teor de umidade foi determinado por método gravimétrico, em balança com sistema de secagem por infravermelho. Cerca 1,10 g de granulado, exatamente pesado, foi depositado em recipiente de alumínio, previamente tarado, e dessecado nas seguintes condições de secagem: *autodry* (0,3%) e temperatura de 105 $^\circ\text{C}$. Este ensaio foi realizado em triplicata sendo a balança pré-aquecida inicialmente.

4.8.2.2 Análise granulométrica por tamisação (F. BRASILEIRA V, 2010)

Todos os granulados produzidos foram submetidos ao processo de avaliação granulométrica, utilizando-se de tamises com abertura de malha de 0,250; 0,425; 0,500; 0,600; 0,710 e 0,850 mm. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo durante 15 min em aparelho de tamisação vibratório. As frações retidas nos tamises e no coletor foram pesadas e os dados avaliados pela construção de gráficos de distribuição granulométrica. O rendimento foi calculado levando em consideração a quantidade inicial de adjuvante, a umidade e a quantidade final de granulados na faixa de interesse de 250 a 850 μm .

4.8.2.2 Cálculo do rendimento da granulação

O rendimento percentual foi calculado levando em consideração a quantidade inicial de adjuvantes e a quantidade final de granulados.

4 Materiais e Métodos

4.8.3 Padronização do granulado co-processado de adjuvantes

Essa etapa visou padronizar a composição granulométrica das três formulações de GRADJ produzidas, tornando-as similares à do GPSA. Os granulados foram tamisados conforme o item 4.8.2.2. As frações, referentes aos granulados retidos nos tamises (250 – 710 μm) foram empregadas para a constituição do GRADJ. Os GRADJ das três formulações tiveram suas frações granulométricas, separadamente, homogeneizadas em câmara de friabilômetro para comprimidos efervescentes durante 3 min, a 24 rpm.

4.8.4 Caracterização do granulado co-processado de adjuvantes

4.8.4.1 Determinação da friabilidade (PRISTA, 2003; COUTO, 2005, modificado)

O equivalente a 30 mL de granulado constituído, na faixa de 250 a 850 μm , foi transferido cuidadosamente para proveta de 100 mL sendo a mesma tampada e acoplada a friabilômetro. O conjunto montado permaneceu em rotação por 15 min a 20 rpm. Ao final, o granulado foi novamente tamisado para eliminação dos finos com tamis de abertura de malha de 106 μm , sendo a porção retida pesada.

4.9 Produção do complexo farmacêutico

Com base nos percentuais ponderais da fase interna (71,4 %) e da fase externa (28,6 %), utilizada por De Souza (2004), os complexos farmacêuticos foram obtidos da mistura dos granulados GPSA30, GPSA50 e GPSA70 (fase interna) com os granulados co-processados (GRADJ), ajustados na faixa de 0,250 a 0,850 mm, segundo a distribuição granulométrica, adicionados de estearato de magnésio (0,5 %) (fase externa).

A mistura dos grânulos foi realizada em misturador em Y durante 3 min a 36 rpm, seguida da adição de estearato de magnésio com mais 5 min de mistura. A diferente coloração dos granulados das fases interna e externa permitiu avaliar, visualmente, a homogeneidade da mistura.

4 Materiais e Métodos

4.9.1 Caracterização do complexo farmacêutico

4.9.1.1 Determinação das densidades bruta e compactada (GUYOT *et al.*, 1995, modificado)

As densidades bruta e compactada foram determinadas dos três complexos farmacêuticos produzidos conforme metodologia descrita no item 4.7.1.3.

4.9.1.2 A avaliação do fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID) (HAUSNER, 1967; CARR, 1965; VOIGT, 2005)

Os índices e fatores foram calculados a partir dos dados obtidos na determinação da densidade bruta e compactada e calculada conforme o item 4.7.1.4.

4.10 Produção e caracterização dos comprimidos

4.10.1 Produção dos comprimidos

Após testes prévios, baseando-se no trabalho de Bica (2009), decidiu-se os parâmetros de ajuste da máquina de comprimir (nível 77 de penetração do punção superior) e se optou por não utilizar o distribuidor na alimentação nem a pré-compressora. Foi utilizada máquina de comprimir rotativa instrumentalizada Riva Piccola com punções côncavas de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm (CDTF/UFRGS).

A máquina de comprimir foi ajustada para obtenção de comprimidos com massa de 250 mg ($\pm 12,5$ mg) e mesma dureza no modo JOG (aproximadamente 5 rpm), com a finalidade de atenuar variações durante a compressão dos complexos farmacêuticos. As formulações foram compactadas na velocidade de rotação de 20 rpm. Os comprimidos obtidos, inicialmente, durante a sincronização do equipamento foram descartados.

4.10.2 Caracterização dos comprimidos

4.10.2.1 Determinação da aparência e das dimensões (THE UNITED, 2004)

A aparência foi avaliada, visualmente, quanto à homogeneidade de coloração e à textura da superfície. As dimensões foram medidas 24 h após a compressão

4 Materiais e Métodos

utilizando um paquímetro digital. Os comprimidos biconvexos foram analisados quanto à espessura central (h), diâmetro (d) e espessura nas bordas (h_b).

4.10.2.2 Determinação do peso médio (F. BRASILEIRA V, 2010)

Realizou-se conforme descrito no item 4.6.12 para a 20 comprimidos.

4.10.2.3 Determinação da densidade aparente (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002)

A densidade aparente (ρ_{ap}) foi calculada se utilizando a equação 3.

$$\rho_{ap} = \frac{m}{\pi \cdot r^2 \cdot h} \quad (3)$$

Onde, m = peso médio dos comprimidos; r = raio (cm) da superfície e h = espessura (cm) do comprimido.

4.10.2.4 Perda por dessecação (F. BRASILEIRA V, 2010)

A determinação da perda por dessecação foi realizada por método gravimétrico com auxílio de estufa de secagem a 105 °C. Cada comprimido foi individualmente pesado e transferido para pesa-filtro previamente tarado. Procedeu-se conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira V.

4.10.2.5 Determinação da dureza (F. BRASILEIRA V, 2010)

A dureza de 20 comprimidos foi determinada medindo-se a resistência ao esmagamento radial em durômetro.

4.10.2.6 Determinação da friabilidade (F. BRASILEIRA V, 2010)

A friabilidade foi determinada empregando-se 20 comprimidos de cada formulação, através do cálculo do percentual de perda de material por queda e erosão, utilizando-se o friabilômetro tipo Roche numa velocidade de 20 rpm durante 5 min, com subsequente pesagem dos comprimidos após a retirada do pó aderido por tamisação.

4 Materiais e Métodos

4.10.2.7 Determinação do tempo de desintegração (F. BRASILEIRA V, 2010)

O tempo de desintegração foi determinado em água a 37 ± 1 °C, sendo o resultado expresso pela média de seis determinações.

4.10.2.8 Avaliação em microscopia eletrônica por varredura (MEV)

Avaliaram-se as estruturas superficiais dos comprimidos obtidos na rotação 20 rpm, bem como a porção interna após fratura dos mesmos.

4.10.2.9 Uniformidade de conteúdo (F. BRASILEIRA V, 2010)

Analisaram-se, individualmente, 10 comprimidos de cada formulação (CP30, CP50 e CP70). A determinação do conteúdo foi realizada por meio de doseamento do marcador (flavonóide majoritário) nos comprimidos, empregando-se a metodologia validada para CLAE neste trabalho. As amostras de comprimidos foram cominuídas em gral com pistilo e posteriormente dissolvida em 50 mL e 100 mL de solução diluente (35% de ACN; 0,01 µL de H₃PO₄), respectivamente para os CP30 e para os CP50 e CP70, com auxílio de sonicação.

Os resultados individuais foram expressos em porcentagem pela razão entre a concentração obtida para o flavonóide marcador e a concentração teórica baseada na proporção ponderal de PSA contida nos comprimidos CP30, CP50 e CP70.

4.10.2.10 Avaliação da liodisponibilidade (F. BRASILEIRA V, 2010)

4.10.2.10.1 Determinação do comprimento de onda de leitura

O espectro de varredura do PSA1 foi obtido, utilizando-se solução aquosa de PSA1 (0,2 mg/mL), na região de 200 a 500 nm. As leituras foram realizadas em cubetas com espessura de 0,1 cm.

4.10.2.10.2 Curva padrão do PSA1

Foram dissolvidos 50,0 mg de PSA1, exatamente pesados, em 250 mL de água destilada. A partir destas foram preparadas soluções com concentrações finais de 0,02; 0,03; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,01 mg/mL. As absorbâncias foram determinadas em

4 Materiais e Métodos

274 nm, utilizando-se água como solução de compensação. Os resultados expressam a média de três determinações.

4.10.2.10.3 Determinação da lioDisponibilidade

O ensaio para avaliação da lioDisponibilidade foi realizado em dissolutor com amostragem de seis comprimidos de cada formulação. Foi utilizado o sistema de agitação do tipo pás, temperatura a $37^{\circ} \pm 1$ °C, velocidade de rotação de 100 rpm e meio de dissolução constituído de 500 ± 1 mL de água destilada. Realizaram-se experimentos prévios para obtenção do meio de dissolução apropriado. Nos tempos de coleta 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 min, foram coletadas alíquotas de 5 mL que foram submetidas à filtração por membrana Millipore (0,45 µm). O volume retirado foi repostado após cada coleta. As amostras foram analisadas em UV/VIS.

4.11 Análise dos dados

Os dados obtidos nos experimentos foram interpretados com auxílio de ferramentas estatísticas aplicáveis em cada caso, tais como ANOVA *one way*, teste de *Tukey*, regressão e correlação, com auxílio de software Microsoft Excel[®] e software estatístico Minitab[®] versão 15.

5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização do material vegetal

A despeito do amplo emprego da *Eugenia punicifolia* na medicina popular (MAGINA, 2008), inexistem especificações oficiais sobre a qualidade necessária para a droga vegetal. Uma vez que as características da matéria-prima vegetal são parâmetros fundamentais para a qualidade do fitoterápico (SIMÕES *et al.*, 2002), é importante que a mesma seja assegurada.

Na tabela 4 estão descritos os resultados dos ensaios de caracterização das matérias-primas vegetais. Pode ser observado que os valores variaram, significativamente, de acordo com a época de coleta, fato esperado, considerando a grande influência dos fatores edafoclimáticos sobre as propriedades fitoquímicas dos materiais vegetais (LIST e SCHMIDT, 1989).

Tabela 4 - Caracterização das matérias-primas vegetais de *Eugenia punicifolia*

Ensaio	Lote 1 (03/2009) Média ± s	Lote 2 (09/2009) Média ± s	Lote 3 (03/2010) Média ± s	Lote 4 (08/2010) Média ± s
PD (%)	10,22 ± 0,22	14,29 ± 0,39	7,51 ± 0,15	7,94 ± 0,09
TE (m/m)	21,01 ± 0,42	22,79 ± 0,08	36,26 ± 4,32	25,45 ± 1,93
DM (µm)	623,5	610,3	610,3	600,0

PD = Perda por dessecação; TE = Teor de extrativos; DM = Diâmetro médio.

Considerando todos os lotes analisados, o lote 3 foi o que apresentou maior teor de extrativos, representando maior proporção de substâncias extraíveis pela água, sendo assim, esse foi o lote escolhido para dar seguimento aos experimentos.

O resultado da perda por dessecação do lote 3 foi de 7,51 ± 0,15 (%), bem abaixo do limite máximo (14,0%) preconizado para matérias-primas vegetais. Este resultado demonstra a adequabilidade do valor de umidade, permitindo a manutenção da estabilidade da matéria-prima durante esse estudo (ZHI-CHEN, 1980).

O teor de extrativos da matéria-prima vegetal constitui mais um critério de caracterização que permite quantificar os sólidos hidrossolúveis presentes na

5 Resultados e Discussão

matéria-prima vegetal, assim como demonstra a eficiência da água em extrair as substâncias presentes nas células vegetais (LIST e SCHMIDT, 1989).

A granulometria do material vegetal é um parâmetro importante a ser estabelecido, pois representa uma influência direta sobre a eficiência e reprodutibilidade do processo extrativo, exigindo, assim, uma padronização (MIGLIATO, 2007; LIST e SCHMIDT, 1989). Os resultados obtidos pelo método de tamisação demonstraram que as classes granulométricas predominantes, no lote escolhido para a pesquisa, concentraram-se no intervalo bimodal de 500-600 μm (figura 7). O diâmetro médio das partículas foi calculado por meio do método de resolução gráfica das curvas de retenção e passagem (frações retidas nos tamises e no coletor), resultando na mediana das partículas de 610,3 μm (figura 8).

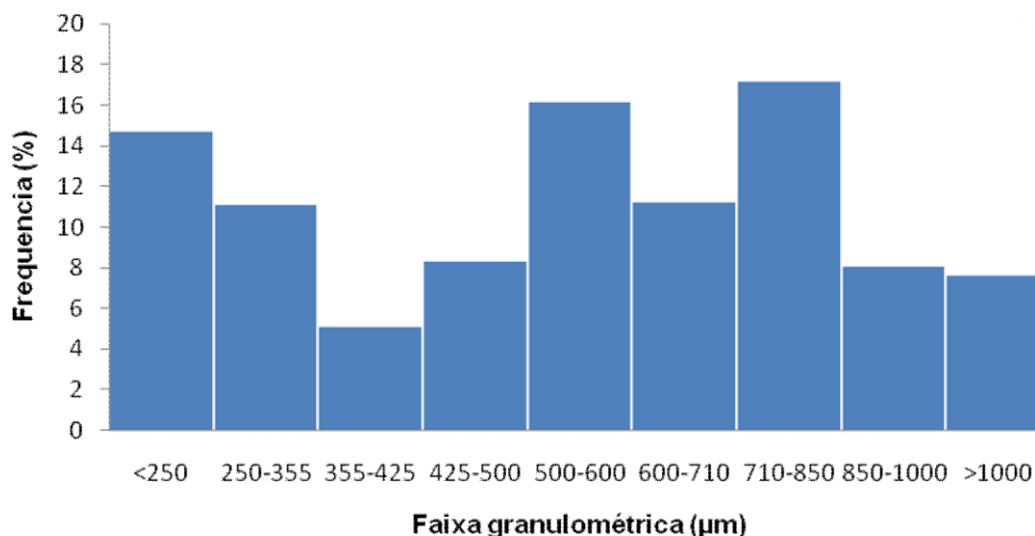


Figura 7 - Histograma de distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal de *Eugenia punicifolia*

5 Resultados e Discussão

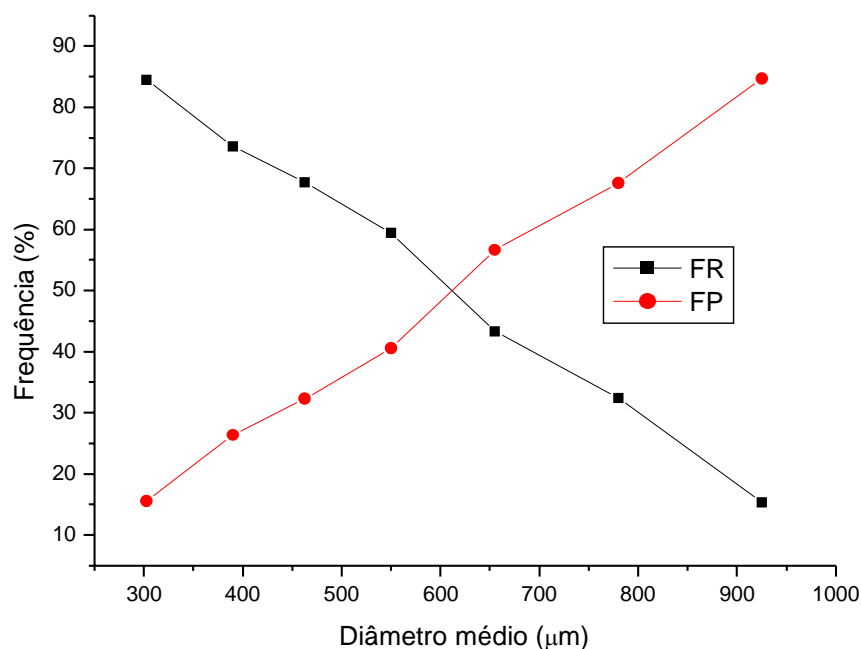


Figura 8 - Curva de retenção e passagem da matéria-prima vegetal de *Eugenia punicifolia*.

FR = fração retida; FP = fração de passagem.

5.2 Obtenção da solução extrativa (SE)

Baseado no uso popular se empregou infusão como método de extração por 15 min na concentração de 7,5% (m/V). A seguir foi realizada a determinação do resíduo seco (RS).

O resíduo seco (RS) na solução extrativa tem especial importância, uma vez que representa o teor de sólidos solúveis presentes na solução extrativa. Dessa forma, sua quantificação é fundamental tanto para definir a quantidade de adjuvante de secagem a ser adicionada à solução extrativa, assim como para o cálculo do rendimento da operação de secagem.

O resíduo seco encontrado para a solução extrativa foi de $1,150 \pm 0,004\%$ (m/V).

5 Resultados e Discussão

5.3 Desenvolvimento e caracterização do produto seco por aspersão (PSA)

5.3.1 Desenvolvimento do PSA

A produção de extratos secos por aspersão a partir de soluções extrativas vegetais resulta na maioria dos casos, em produtos higroscópicos, inadequados para uso ou processamento. A utilização de adjuvantes de secagem representa uma alternativa para a melhoria das características tecnológicas destes produtos. Além disso, os adjuvantes de secagem por possuírem, geralmente, uma maior área superficial, facilitam o processo de secagem e possuem um efeito termoprotetor frente aos fitoconstituintes (COUTO, 2000; SOARES *et al.*, 2005; PETROVICK, 2006).

No presente trabalho, testes preliminares foram realizados com a finalidade de determinar as condições iniciais de secagem, bem como verificar a viabilidade de obtenção de extrato seco sem e com a adição de adjuvantes farmacêuticos. Como adjuvantes de secagem foram avaliados o dióxido de silício coloidal e a celulose microcristalina 101. O rendimento da operação de secagem para cada produto seco por aspersão foi calculado e pode ser visualizado na tabela 5.

Tabela 5 - Rendimento da operação de secagem por aspersão da solução extrativa de *Eugenia punicifolia* com e sem adjuvantes

Amostras	Rendimento corrigido (%) *	Propriedades organolépticas
ES	54,9	Pó fino, marrom
PSA1	81,4	Pó fino, marrom claro
PSA2	72,2	Pó fino, marrom claro

ES: Extrato seco; PSA 1: produto seco por aspersão com dióxido de silício coloidal; PSA 2: produto seco por aspersão com celulose microcristalina; *Descontando o teor de umidade residual.

Observa-se que o extrato produzido com dióxido de silício coloidal (PSA1) apresentou rendimento superior, seguido do extrato contendo celulose microcristalina (CMC), fato que provavelmente está relacionado com a menor aderência das partículas às paredes da câmara de secagem, durante a secagem (CAMPOS, 1996; GNOATTO, 2002).

5 Resultados e Discussão

Gnoatto (2002) preparou dois produtos secos por aspersão em escala laboratorial a partir de extrato aquoso, empregando Aerosil® (ESN1) e Avicel® (ESN2) como adjuvantes e observou que o ESN1 apresentou rendimento superior e teor de umidade inferior ao ESN2, corroborando os resultados apresentados. Tal se deve a elevada área superficial do dióxido de silício coloidal (Aerosil®).

A umidade residual encontrada para o PSA, conforme consta na tabela 6, está abaixo dos limites máximo de 4% (m/m) preconizado pela Farmacopeia Brasileira V (2010) e de 6 a 7% para produtos com acondicionamento não hermético (LIST e SCHMIDT, 1989).

Tabela 6 - Umidade residual dos produtos secos por aspersão de *Eugenia punicifolia*

Ensaio	Dados experimentais		
	Média ± s (Dpr)		
	ES	PSA1	PSA2
PD (%)	4,74 ± 0,33 (0,07)	3,94 ± 0,46 (0,11)	3,96 ± 0,01 (0,01)

PD = Perda por dessecação; ES = Extrato seco; PSA 1 = com dióxido de silício coloidal; PSA 2 = com celulose microcristalina.

O controle da umidade residual nos produtos secos por aspersão de origem vegetal é de especial importância, em virtude da presença de fitoconstituintes instáveis à umidade e dada à higroscopicidade do extrato, conforme se tem observado em trabalhos anteriores que empregam a técnica de secagem por aspersão de soluções extrativas utilizando adjuvantes de secagem (SENNA, 1993; TEIXEIRA, 1996; DE SOUZA, 1997; DE SOUZA, 1999).

Campos (1996) avaliou a viabilidade tecnológica de formulações obtidas com e sem adjuvante de secagem (dióxido de silício coloidal), observando que o produto seco sem adjuvante apresentou características tecnológicas pouco satisfatórias e elevada higroscopia. A adição do dióxido de silício coloidal mostrou-se necessária para a obtenção de produtos secos com baixo teor de umidade residual e satisfatória estabilidade física frente à atmosfera úmida.

5 Resultados e Discussão

Considerando o rendimento da operação de secagem e a umidade dos produtos secos por aspersão, o PSA1, elaborado com 30% de dióxido de silício coloidal foi selecionado para a realização da pesquisa.

5.3.2 Caracterização do PSA1

Foram verificadas algumas propriedades relevantes para a manutenção e garantia da qualidade do PSA1, as quais estão descritas na tabela 7.

Tabela 7 - Caracterização do PSA de *Eugenia punicifolia*

Ensaio	Dados experimentais Média ± s (Dpr)
PD (%)	3,94 ± 0,46 (0,11)
pH	4,63 ± 0,005 (0,12)

PD= Perda por dessecação.

A qualidade de um produto sólido pode ser afetada pela umidade residual, acarretando alterações microbiológicas, físicas e químicas em preparações de origem vegetal, bem como pode interferir sobre as características tecnológicas, tais como a propriedade reológica do PSA (HANNA, 1989; HERZFELDT e SCHERER, 1987).

A determinação da perda por dessecação apresentou resultado, conforme tabela 8, abaixo de 6%, ou seja, recomendado para produtos com acondicionamento não-hermético, segundo List e Schmidt (1989).

A determinação do pH permite a avaliação indireta de possíveis alterações no produto seco, tais como, contaminação ou perda da estabilidade dos componentes ao longo do tempo de armazenamento. O valor de pH de 4,63 do PSA1 após reconstituído em água, apresentou caráter levemente ácido, indicando a possível presença de substâncias fenólicas, como os ácidos fenólicos (CARVALHO, 1997).

Por meio da análise macroscópica do produto seco por aspersão, observou-se que o mesmo apresenta aspecto púlvereo, de coloração castanho claro, muito fino e solto, indicando que a umidade presente não conduziu à formação de aglomerados e com reconstituição em água quase que instantânea. Todas as etapas

5 Resultados e Discussão

tecnológicas foram realizadas em ambientes de umidade controlada, devido à alta higroscopicidade deste tipo de produto (CAMPOS, 1996; SOARES, 1997; HEBERLÉ, 2000).

A avaliação granulométrica do PSA1, o componente at ivo da formulação, é de fundamental importância para garantir a uniformidade de dose e eficiência de dissolução do produto acabado. O tamanho de partícula está relacionado com a mistura, densidade, estabilidade de empacotamento e a reologia. Logo, influi grandemente nas propriedades tecnológicas.

O tamanho de partícula foi analisado por microscopia óptica, usando-se como método o diâmetro de *Ferret*, e por sistema de difração a laser.

De acordo com a microscopia óptica, o gráfico da distribuição granulométrica do PSA1 demonstra que 74,04% das partículas distribuem-se entre 3,5 a 24,5 μm , sendo (Anexos – tabela A1). O diâmetro médio de partícula, determinado por meio da curva de retenção e passagem (figura 9), foi de 11,35 μm , caracterizando o PSA1 como pó finíssimo de acordo com a Farmacopeia Brasileira V (2010).

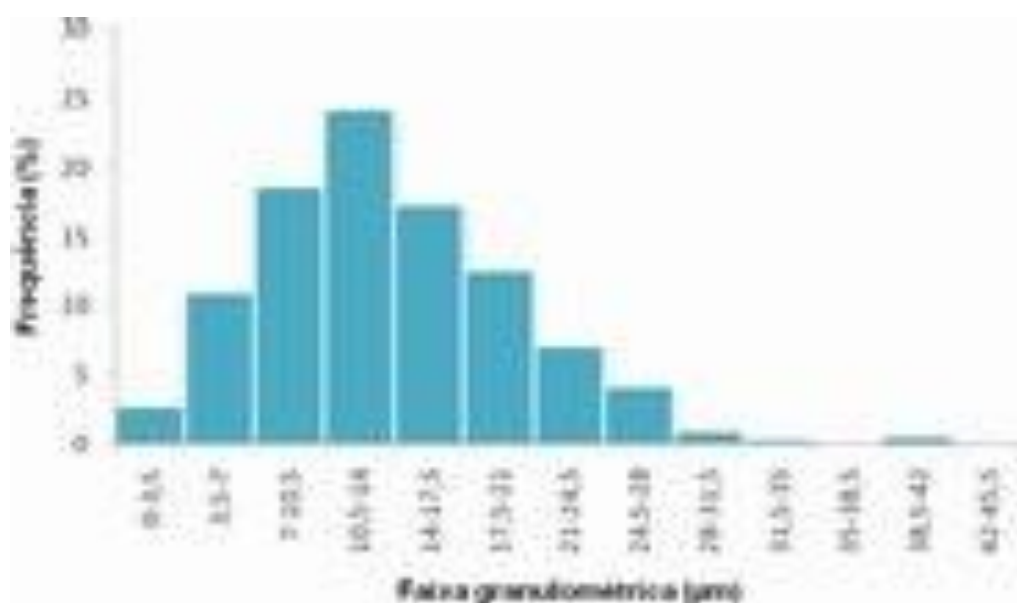


Figura 9 - Histograma de distribuição granulométrica do PSA1

5 Resultados e Discussão

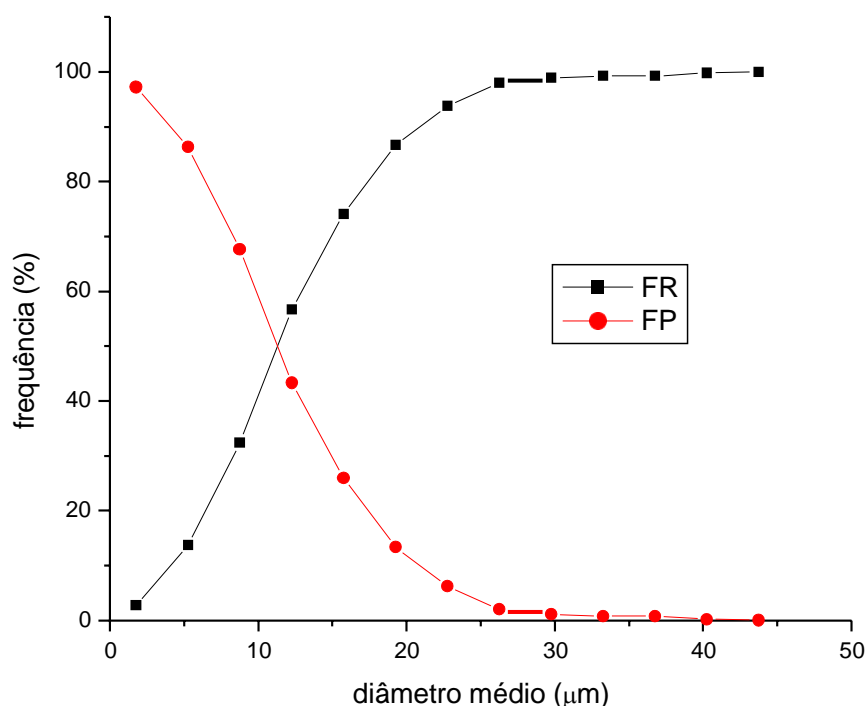


Figura 10 - Curva de retenção e passagem do PSA

FR = fração retida; FP = fração de passagem.

A análise de partícula por difração a laser é uma técnica que se diferencia da microscopia óptica pela rapidez e amplitude de leitura e também pela sua facilidade operacional. Foi realizada com objetivo de avaliar a similaridade entre os resultados de metodologias diferentes.

A análise do tamanho de partícula por difração a laser consiste na dispersão da amostra em meio líquido ou gasoso. A emissão por um laser a hélio-néon na amostra provoca sua difração. Devido à grande diferença de dimensões entre a partícula e o comprimento de onda, a luz é dispersa plana com apenas uma pequena alteração de ângulo. Esse ângulo se altera conforme o diâmetro da partícula e este desvio angular é captado em fotodetector es e a seguir apropriado em um microprocessador. Em vista da possível solubilidade do PSA1 em diferentes líquidos (água, etanol), empregou-se o óleo de silicone como agente dispersante (PAVEI, 2009).

5 Resultados e Discussão

Observou-se uma distribuição granulométrica mais larga e parecida com a observada na microscopia, porém com os extremos bem diferentes. Tal se deve a diferente amplitude e sensibilidade dos dois métodos. A distribuição por meio do Laser não é tão gaussiana quanto à obtida por microscopia óptica.

Os resultados demonstram que apesar do uso de metodologias diferentes, não houve diferença entre os diâmetros médios de partícula do PSA1, apresentando diâmetro médio de partícula de 12,05 μm (figura 11) e percentil 10 e 90, respectivamente de; 4,47 e 23,93 μm .

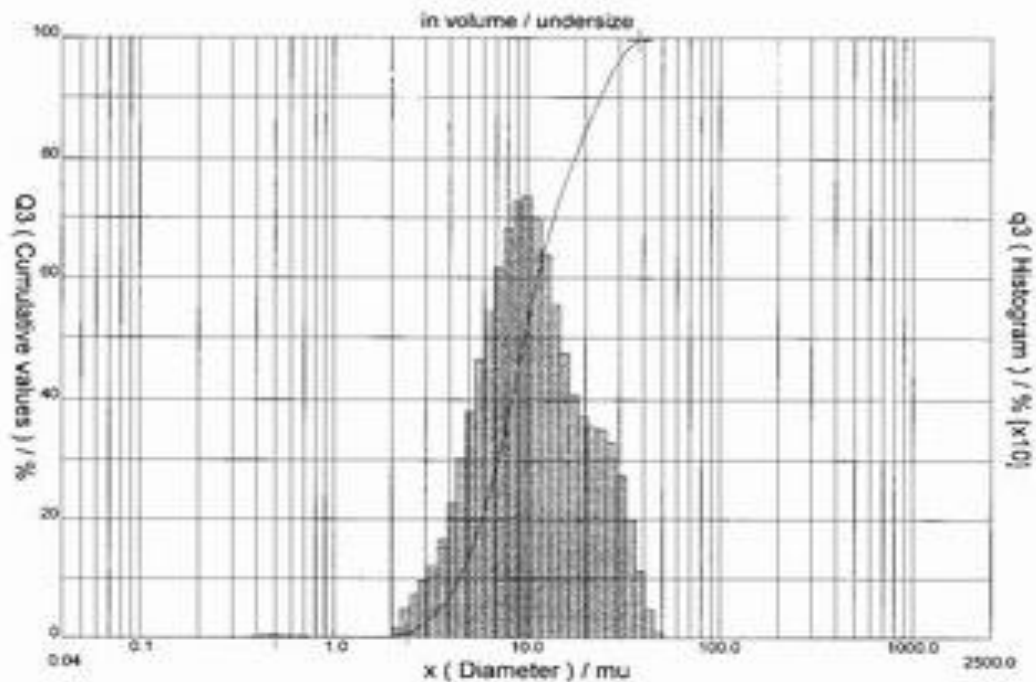


Figura 11 - Histograma de distribuição granulométrica de frequências relativas do PSA1

As fotomicrografias em microscópio eletrônico de varredura (figura 12) mostraram partículas esféricas de superfície, levemente, rugosa, típicas estruturas amorfas (BICA, 2009; SPANIOL, 2007; DE SOUZA, 2004; DA SILVA, 2003; TEIXEIRA, 1996).

5 Resultados e Discussão

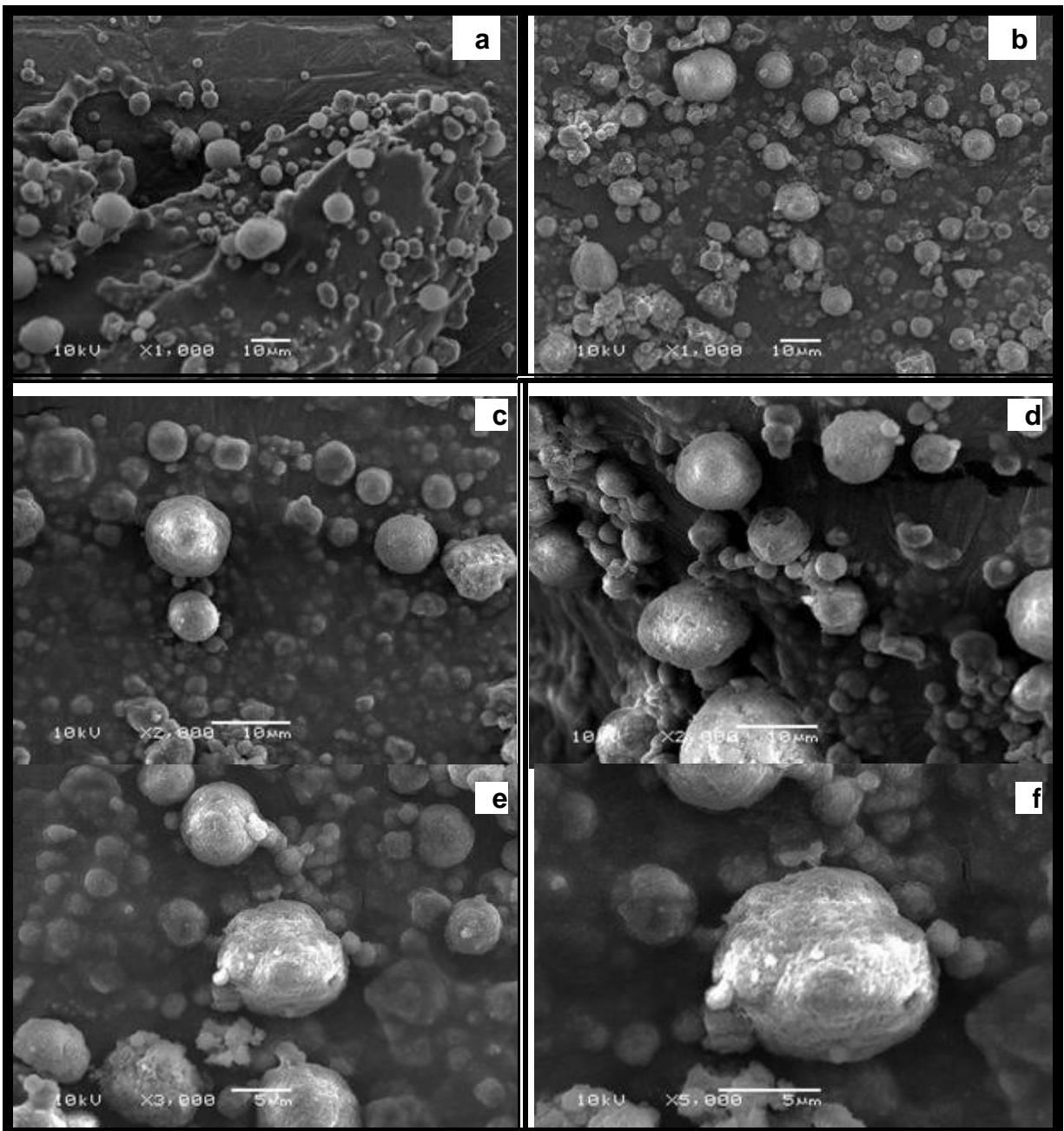


Figura 12 - Fotomicrografias de PSA1 de *Eugenia punicifolia* com aumentos de 1000 X (a) e (b), 2000 X (c) e (d), 3000 X (e) e 5000 X (f)

5 Resultados e Discussão

A fim de realizar a caracterização tecnológica do PSA1, avaliou-se a densidade, a estabilidade de empacotamento e reologia deste material pulveréneo (tabela 8).

Tabela 8 - Análise de caracterização do PSA1 de *Eugenia punicifolia*

Ensaio	Dados experimentais Média ± s (Dpr)
Densidade bruta (Db, (g/mL)	0,433 ± 0,009 (2,15)
Densidade compactada (Dc, g/mL)	0,621 ± 0,002 (0,38)
Fator de Hausner (FH)	1,43 ± 0,03 (2,50)
Índice de Carr (IC,%)	30,30 ± 1,72 (5,67)
Índice de densificação (ID, mL)	2,6 ± 0,17 (6,41)
Fluxo (mL.s ⁻¹)	Não apresentou escoamento livre

O fator de Hausner, Índice de Carr e Índice de densificação são parâmetros que avaliam estabilidade de empacotamento do pó. O fator de Hausner é um indicador direto da estabilidade de empacotamento. Quanto mais próximo de 1,0 mais estável é o sistema de empacotamento (THOMAS e POURCELOT, 1991).

A determinação do Índice de Carr ou índice de compressibilidade mede o empacotamento e, indiretamente, o fluxo dos pós. Quanto menor o índice de Carr, mais estável é o empacotamento (THOMAS e POURCELOT, 1991).

O Índice de densificação ou de compactabilidade estuda o comportamento do pó, quando submetido à movimentação. Valores superiores a 20 mL sugerem que o pó apresenta razoável propriedade de fluidez e altera rapidamente a sua densidade com pequenas vibrações (GUYOT *et al.*, 1995).

O PSA1 mostrou-se um produto com baixa densidade, tanto em situação de ocupação livre de espaço quanto após vibração. Resultados similares foram encontrados para *Phyllanthus niruri* L. (BICA, 2009; SPANIOL, 2007) e *Ilex paraguayensis* (DA SILVA, 2007), demonstrando ser inerente aos extratos secos por aspersão.

5 Resultados e Discussão

Os valores do fator de Hausner e do índice de compressibilidade indicam deficiências na estabilidade de empacotamento e sugerem problemas de fluxo. Tal fato é corroborado pelo teste de fluxo, no qual ficou evidenciada a ausência de fluidez e movimentação espontânea das partículas (CARVALHO, 1997).

A determinação do fluxo discreto mostrou que o PSA1 de *Eugenia punicifolia* não possui fluxo livre, havendo escoamento apenas parcial do pó. O PSA1 possui formato esférico, o que diminui a superfície de contato e deveria melhorar o fluxo, no entanto, suas pequenas dimensões e sua natureza amorfa e porosa elevam muito a zona de contato, tendendo a ser muito coesivo, o que, por sua vez, predispõe a uma pobre reologia.

5.4 Desenvolvimento e validação de método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

5.4.1 Desenvolvimento de método por CLAE

Foram realizadas várias análises em CLAE, utilizando diferentes sistemas, (isocrático e gradiente) com o objetivo de obter separação dos flavonóides e um perfil cromatográfico satisfatório dos produtos secos por aspersão, a fim de identificar e quantificar marcadores químicos para a espécie *Eugenia punicifolia*.

Diferentes solventes, tais como acetona tripla, metanol, ácidos (fosfórico e acético) combinados, ou não, foram testados para a quantificação de marcadores químicos em um tempo de corrida reduzido.

Os flavonóides são considerados por alguns autores como sendo o maior grupo de constituintes ativos presentes no gênero *Eugenia* (LUNARDI *et al.*, 2001; MAHMOUD *et al.*, 2001; REYNERTSON *et al.*, 2008).

A partir desses estudos de desenvolvimento de método analítico, uma boa resolução dos flavonóides e um curto tempo de corrida foi possível por meio de CLAE em coluna Synergi Polar RP. A coluna Synergi Polar-RP foi eleita por permitir a melhor resolução dos flavonóides.

5 Resultados e Discussão

Inicialmente as amostras foram analisadas por método isocrático, utilizando acetonitrila : ácido acético (0,5%) e ao serem analisadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência, acoplado a detector de arranjo de diodo (CDTF/UFRGS) evidenciou-se a presença de três picos, que podem ser compostos majoritários e/ou responsáveis pela atividade na espécie *Eugenia punicifolia* (figura 13).

Um dos sinais do cromatograma obtido, quando comparados aos padrões, apresentou espectro semelhante ao ácido gálico (pico 1), com máximo de absorção detectado em torno de 273 nm. Porém, após três meses, o pico 1 apresentou sensível diminuição quando analisado, possivelmente devido a sua degradação. Em vista da baixa resolução apresentada por esse pico e dado a sua, provável, pequena relevância na atividade farmacológica de interesse, o ácido gálico não pode ser utilizado como marcador químico, a despeito da sua instabilidade.

Os picos 2 e 3 (figura 13) apresentaram grande similaridade com o espectro de heterosídeos flavonoídicos (absorção máxima de 255 a 350 nm), possivelmente, C- e O- heterosídeos. No entanto, apresentaram baixos índices de pureza, 0,60 e 0,96, respectivamente.

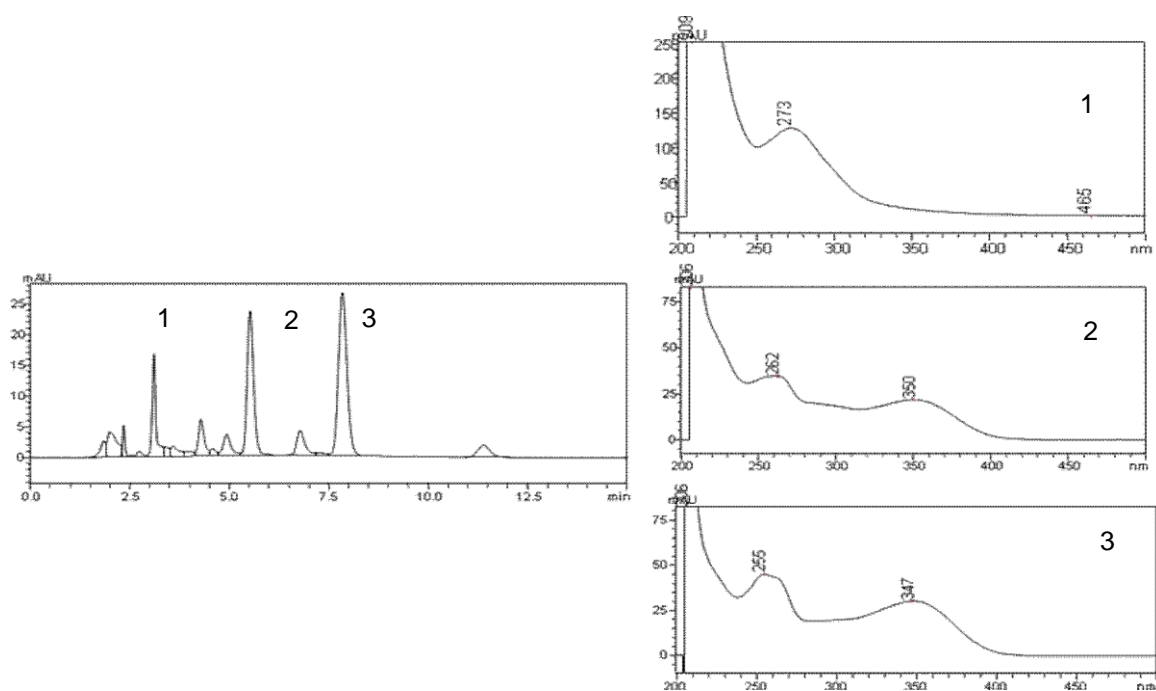


Figura 13 - Cromatograma do PSA1 obtido durante o desenvolvimento do método isocrático

5 Resultados e Discussão

A eluição pelo método gradiente foi eleita por permitir melhores condições de separação de amostras complexas, como extrato de plantas, otimizando a resolução de cada pico cromatográfico (PEREIRA, 2002). O sistema gradiente foi desenvolvido, baseado no método isocrático, a partir do sistema acetonitrila 24% : ácido fosfórico a 1% (v/v). A utilização do ácido fosfórico foi essencial para a supressão da cauda presente no pico da quercetina (substância padrão empregada), observado no método gradiente desenvolvido. A temperatura de 35 °C diminuiu o tempo de corrida, melhorou a resolução dos sinais e diminuiu a largura dos picos. Devido a grande similaridade dos picos 2 e 3 com os espectros de heterosídeos flavonoídicos, sendo a principal diferença entre os flavonóides C- e O- heterosídeos a ligação açúcar- genina, foi realizada a hidrólise ácida.

Após a hidrólise, o cromatograma sofreu sensível modificação. Os picos majoritários, em relação à área, são apresentados na figura 14, corroborando com a possibilidade da presença de um O- glicosídeo (máximo de absorção de 254 e 369 nm) e de um C- heterosídeo (resistente a hidrólise). A aglicona do flavonoídeo O- glicosídeo apresentou, após hidrólise, a formação de um pico com mesmo espectro de ultravioleta (UV) e tempo de retenção do flavonoídeo quercetina (figura 16).

As análises em CLAE acoplado a detector de arranjo de diodo (PDA) sugeriram duas possibilidades de validação do método, pelo uso dos padrões quercetina e rutina, visto que heterosídeos flavonoídicos presentes no extrato ainda devem ser isolados e identificados por ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas para, a seguir, poderem ser adquiridos.

5 Resultados e Discussão

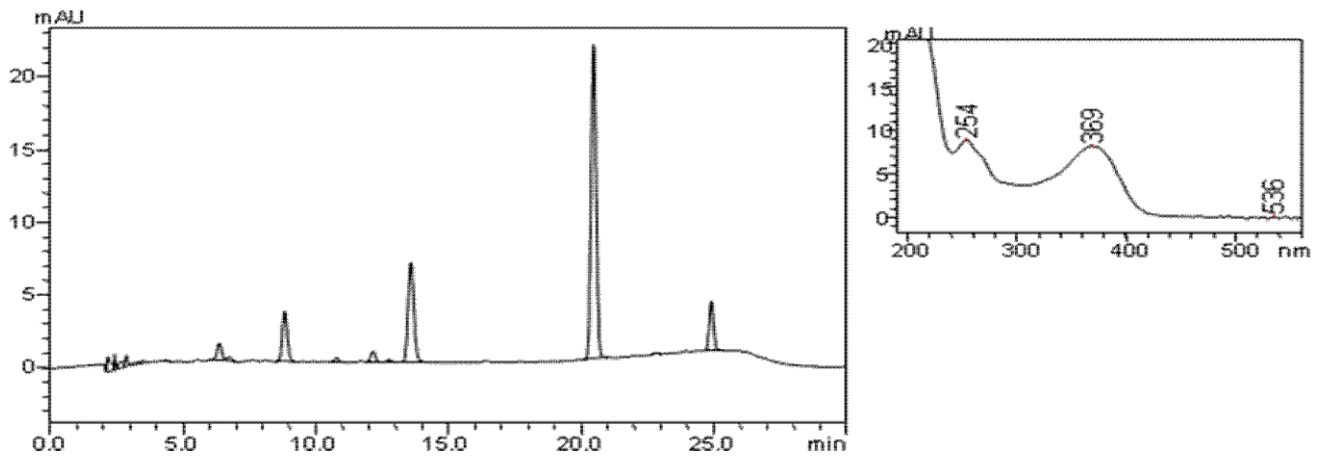


Figura 14 - Cromatograma do PSA hidrolisado em análise no PDA

A despeito da quercetina ser uma aglicona, esta apresentou melhor separação (resolução) e quantificação como padrão analítico (figura 15), sendo selecionada. Devido a proximidade da rutina ao pico 2 e a outro sinal vizinho presente no cromatograma, provavelmente devido à semelhança estrutural, o uso da rutina (3, 3',4',5, 7-pentahidroxi-flavona-3-rutinosídeo) como padrão foi impossibilitado.

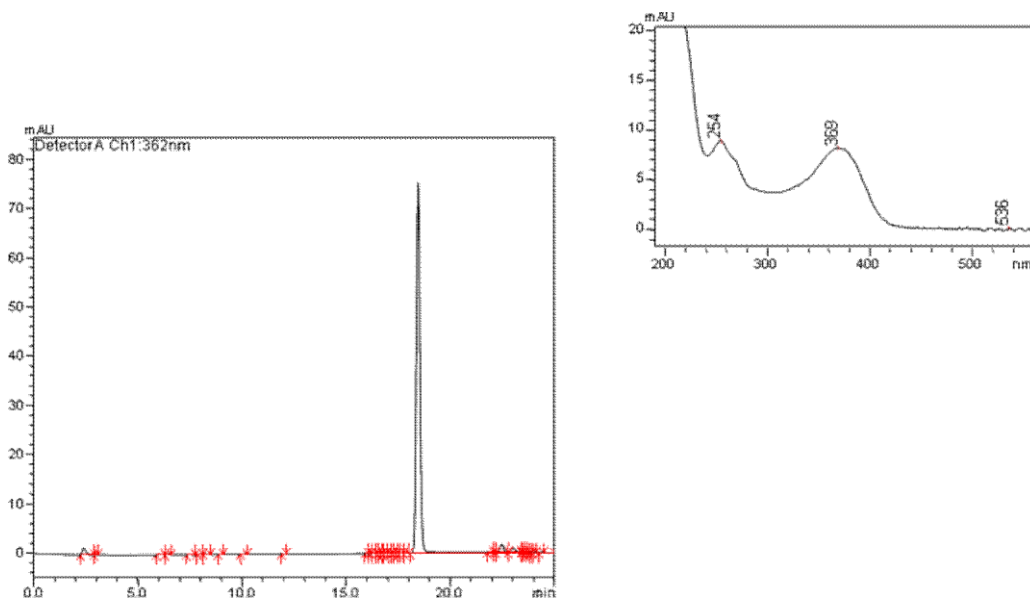


Figura 15 - Cromatograma do padrão quercetina pelo método gradiente validado

5 Resultados e Discussão

A fim de escolher o melhor comprimento de onda (362 nm), consideraram-se os UV do padrão quercetina e dos heterosídeos flavonoídicos presentes no cromatograma apresentado neste estudo.

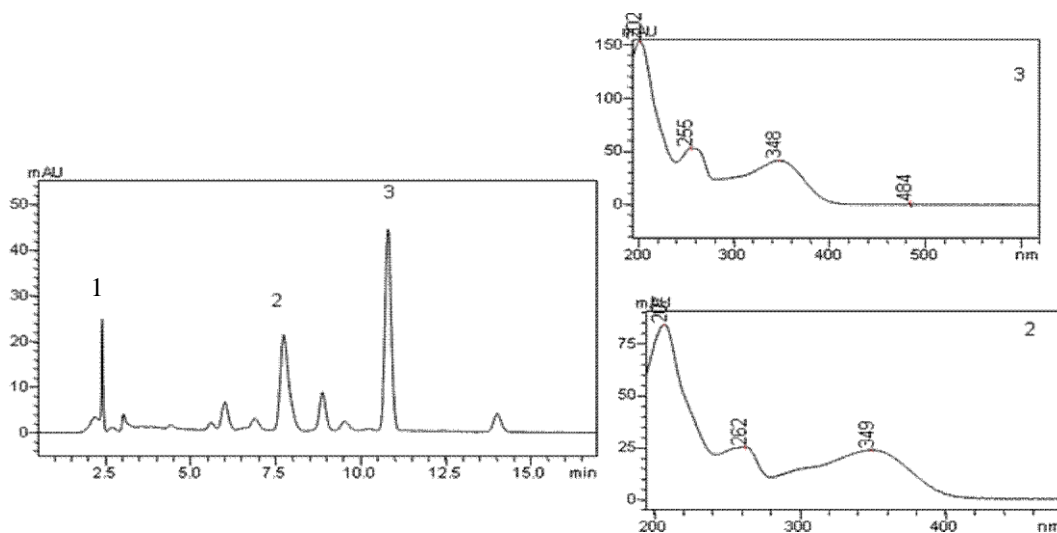


Figura 16 - Cromatograma do PSA de *Eugenia punicifolia*

5.4.2 Validação do método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para os flavonóides de PSA de *Eugenia punicifolia*

Devido à impossibilidade de identificação dos picos presentes no cromatograma do PSA de *E. punicifolia*, a validação analítica foi realizada por meio da utilização de um padrão interno sendo a quercetina a substância de referência.

A linearidade foi determinada pelas curvas da solução padrão de quercetina (figura 17) e pelos dois heterosídeos flavonoídicos presentes no PSA1 (figura 18). A inclinação da curva e outros parâmetros das curvas foram calculados por regressão linear e estão descritos na tabela 9.

5 Resultados e Discussão

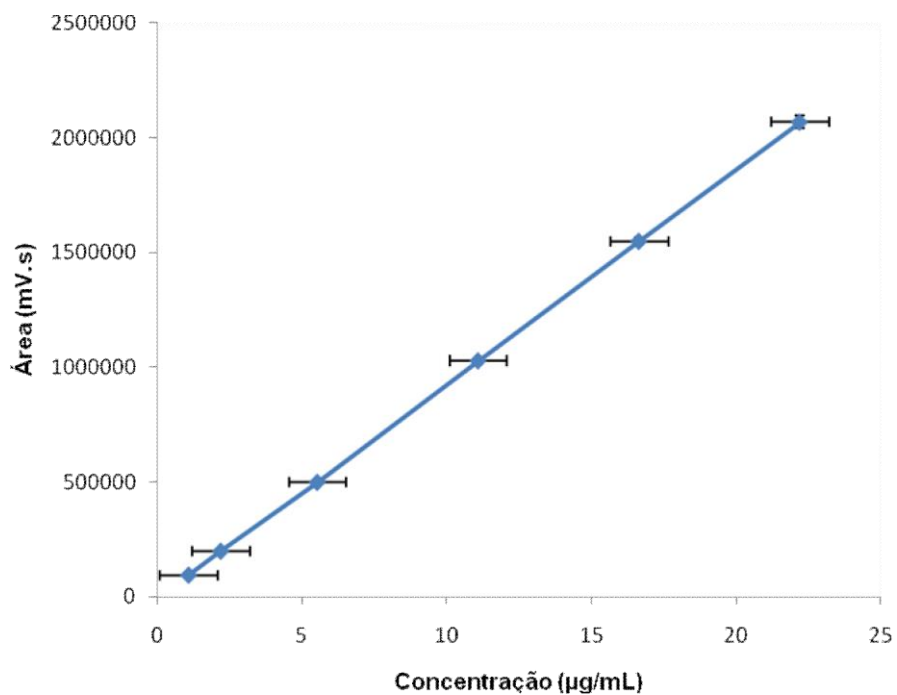


Figura 17 - Curva padrão da substância de referência quercetina

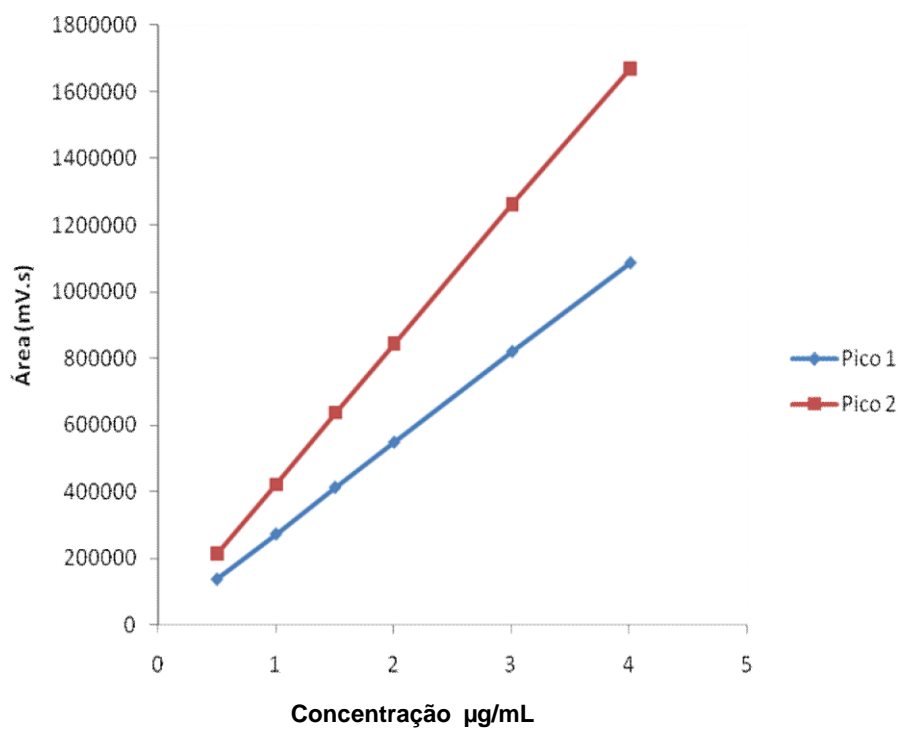


Figura 18 - Curva de dois heterosídeos flavonoídicos presentes no PSA1

5 Resultados e Discussão

Tabela 9 - Parâmetros de linearidade para a substância de referência e para os dois heterosídeos flavonoídicos presentes no PSA

Picos	r^2	Valor de p	Intercepto	Inclinação
Quercetina	0,9997	$9,67 \times 10^{-30}$	-11142,2	93614,14
Pico 1	0,9998	$6,14 \times 10^{-33}$	4954,52	271278,4
Pico 2	0,9998	$6,36 \times 10^{-33}$	10119,43	416319,2

As curvas obtidas, tanto para os picos 2 e 3 foram lineares na faixa de concentrações de 0,5 a 4,0 mg/mL (6 pontos) do PSA1, com coeficientes de determinação (r^2) superiores a 0,999. A análise dos coeficientes de regressão linear obtidos das curvas analíticas demonstra ausência de desvio de linearidade na faixa de concentração testada.

Os resultados da precisão (repetibilidade e precisão intermediária) foram expressos por meio do desvio padrão relativos e demonstraram a adequação do método frente à legislação, considerando que os valores obtidos foram bem abaixo do valor limite de 5% (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultados dos testes de repetibilidade e precisão intermediária

Concentração do PSA (mg/mL)	Repetibilidade Área (mV.s)		Precisão intermediária Área (mV.s)	
	Pico 2 Média (dpr)	Pico 3 Média (dpr)	Pico2 Média (dpr)	Pico 3 Média (dpr)
1,0	274473(0,39)	423401(0,26)	276504,83(1,50)	557190,09(1,6)
1,5	412971(0,66)	636592(0,59)	412254,70(0,88)	636101,16(0,93)
2,0	54991(1,11)	847366(0,98)	557190,09(2,79)	858519,35(2,74)

Dpr= desvio padrão relativo

A exatidão do método foi determinada por meio do teste de recuperação. Os dados de recuperação são úteis para avaliar a eficiência do método analítico proposto, sendo desta forma importante avaliá-la em diferentes concentrações, uma vez que esta pode variar conforme a concentração empregada. Para tanto, foram

5 Resultados e Discussão

adicionadas a solução-mãe do PSA concentrações conhecidas de quercetina (50, 100 e 150%).

Os resultados demonstraram uma taxa de recuperação média de 100 a 105% para quercetina, com desvios padrão relativos inferiores a 4% em todas as concentrações analisadas (tabela 11).

Tabela 11 - Resultado do teste de recuperação da quercetina

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação (%) Média (Dpr)
3,5	105,6 (3,06)
7,0	100,1 (1,03)
10,5	103,5 (3,45)

Dpr= desvio padrão relativo percentual

Para demonstrar que cada pico não está atribuído a mais de um constituinte (teste de especificidade), o índice de pureza foi determinado. Os valores apresentados para o índice de pureza foram de 0,945 e 0,972, respectivamente, para os picos 2 e 3.

5.5 Obtenção dos compactos

As características dos compactos interferem tanto no processo de granulação como nas propriedades dos granulados resultantes. Desta forma, devem possuir elevada resistência mecânica, distribuída homogeneamente em sua estrutura, a fim de diminuir a quantidade de finos resultantes do processo de obtenção dos granulados pela via seca, bem como, relativa, uniformidade de conteúdo (NYSTROM *et al.*, 1993).

As três formulações foram empregadas, contendo altos teores de PSA1 (30, 50 e 70%, m/m) de acordo com Petrovick (2006), acrescidas do desintegrante amidoglicolato de sódio. Este foi escolhido pelo seu potente efeito no tempo de desintegração em baixas concentrações (entre 0,5 – 5%), bem como pelo seu bom comportamento compressional e suas características extensamente conhecidas (VELASCO *et al.*, 1994; SOARES e PETROVICK, 1999; BICA, 2009).

5 Resultados e Discussão

A presença de umidade residual em produtos sólidos pode acarretar alterações microbiológicas, físicas e químicas e modificações da estabilidade de empacotamento e propriedade reológica do material pulveroso. A umidade residual dos adjuvantes (tabela 12) mostrou-se inferior aos valores especificados em Farmacopeia Americana (2008), com exceção da metilcelulose que apresentou valor acima do recomendado, não comprometendo, no entanto, o uso como aglutinante por via úmida, uma vez que a mesma será utilizada em dispersão coloidal.

Tabela 12 - Umidade residual dos adjuvantes farmacêuticos

Adjuvantes tecnológicos	Resultados Média ± s (Dpr)	Especificações USP 31(2008)*
Celulose microcristalina	6,6 ± 0,32 (0,04)	< 7,0%
Dióxido de silício coloidal	2,36 ± 0,12 (0,05)	< 2,5%
Estearato de magnésio	5,87 ± 0,46 (0,07)	< 6,0%
Amidoglicolato de sódio	9,4 ± 0,14 (0,01)	< 10,0%
Metilcelulose (Methocel A15)	6,5±0,05 (0,88)	< 5,0 %

*USP= Farmacopeia Americana (2008)

A fim de produzir os briquetes, foram utilizados punções com grande diâmetro, 15 mm, atendendo as recomendações para compactos provenientes de compressoras, com formação posterior, por desagregação, de granulados. Os compactos com maior diâmetro e menor espessura facilitam a fratura dos mesmos, bem como a dureza superior a 50 N limita a produção de finos no processo de granulação (PRISTA, 2003).

Os compactos foram produzidos em três lotes a partir das formulações de complexo farmacêutico (CF), em dois dias diferentes. Os compactos foram caracterizados com os ensaios preconizados para comprimidos.

A produção dos compactos foi interrompida quando o nível de CF no alimentador, para cada formulação, determinou a produção de compactos com valores inferiores de peso médio e dureza aos estipulados, em torno de 500 mg; e valores superiores a 50 N e, preferencialmente inferiores a 80 N. O controle da dureza é fundamental, visto que a mesma pode estar correlacionada com a porosidade que, por sua vez, influi no tempo de desintegração e dissolução (VOIGT e FEHR, 2000).

5 Resultados e Discussão

O rendimento de produção dos compactos foi de 75,0; 79,3 e 87,8% para os compactos com 30, 50 e 70% de PSA1, respectivamente. A diferença entre eles deveu-se, em parte, ao ajuste inicial da máquina e o controle ao longo processo dos mesmos. A higroscopicidade dos complexos farmacêuticos, ocasionada pelo alto teor de PSA, favoreceu a aderência às ferramentas de compressão, o que ficou mais evidente na produção de compactos contendo 70% de PSA1, no entanto, não comprometeu as características físicas dos seus compactos.

Todos os compactos formados apresentaram coloração amarelo escura, integridade física e superfícies lisas, não havendo dificuldade de ejeção da matriz, a despeito da aderência apresentada.

Para cada formulação foi produzido um lote de compactos a partir das formulações de complexo farmacêutico (CF), em dois dias diferentes. Os compactos foram caracterizados tecnologicamente com parte dos ensaios preconizados para comprimidos, visto que não existem ensaios para esse tipo de produto intermediário na Farmacopéia Brasileira.

Apesar da Farmacopeia Brasileira V (2010) não trazer especificações para produtos intermediários na produção de granulados, alguns parâmetros foram analisados a fim de verificar as características do complexo farmacêutico escolhido para os compactos (tabela 13).

Tabela 13 - Características dos compactos produzidos a partir das formulações contendo altos teores de PSA1 (30, 50 e 70%)

Parâmetros	Dados experimentais		
	Média ± s (Dpr)		
	Compactos 30	Compactos 50	Compactos 70
PM (mg)	489,1 ^a ± 6,31 (1,29)	492,4 ^a ± 9,57 (1,94)	487,5 ^a ± 15,20 (3,13)
Altura (mm)	2,7 ^a ± 0,01 (0,46)	2,8 ^b ± 0,02 (0,85)	2,7 ^{ab} ± 0,06 (2,29)
DM (mm)	15,1 ^a ± 0,01 (0,07)	15,2 ^b ± 0,01 (0,09)	15,2 ^b ± 0,01 (0,12)
Dureza (N)	61,2 ^a ± 8,1 (13,24)	55,0 ^a ± 11,03 (19,80)	79,8 ^b ± 17,90 (22,40)

PM = peso médio; DM = diâmetro médio. Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro não diferem entre si, ao nível de probabilidade de 5 %, pelo teste de Tukey.

5 Resultados e Discussão

Seguindo os critérios para comprimidos, realizou-se a determinação do peso médio dos compactos. Foi realizada uma amostragem aleatória simples de cada formulação. Os limites máximos e mínimos do peso foram de 477,9 a 501,0 mg; 474,1 a 503,2 mg; e 495,2 a 512,3 mg para os compactos com 30, 50 e 70% de PSA, respectivamente. De acordo com a especificação farmacopeica, todos os compactos amostrados das três formulações apresentaram peso compreendido entre a variação permitida ($\pm 5\%$).

Os compactos de 30, 50 e 70% de PSA1 foram produzidos para possuir a mesma resistência ao esmagamento radial, tendo sido realizado o controle deste parâmetro de qualidade, ao longo do processo de compressão. Diversas mensurações dos compactos foram realizadas, durante o controle do processo, sem que nenhuma amostra saísse dos limites estipulados.

A dureza média observada na caracterização dos compactos foi superior aos 50 N e nenhum compacto saiu do intervalo previamente estipulado. Os compactos de 70% apresentaram diferença significativa quando comparados com os demais compactos (30 e 50%). O elevado desvio padrão se deve às características reológicas deficientes que podem provocar a variabilidade no peso, amplificado na dureza (COUTO, 2005).

Os compactos foram testados quanto à capacidade de resistir à abrasão e à queda. O teste de friabilidade permite identificar fenômenos iniciais de laminação ou *capping* (AULTON, 2006) e, assim, pode servir para vislumbrar as características que os granulados provenientes destes briquetes irão conceder aos comprimidos finais. A friabilidade (%) apresentou valores de 0,226; 0,228 e 0,022, respectivamente, para os compactos de 30, 50 e 70% de PSA, valores dentro das especificações de 1,5% (ANSEL, 2000; F. BRASILEIRA V, 2010).

Os compactos não apresentaram quaisquer indícios de laminação ou fratura, o que foi um fator decisivo para a continuidade do trabalho.

5 Resultados e Discussão

5.6 Granulação por via seca por desagregação e caracterização dos granulados obtidos

Os PSA de extratos vegetais, em geral, mostram-se muito finos, leves, de baixa compressibilidade, fluxo pobre e elevada higroscopia, conforme relatado na literatura científica (SOARES, 1997; COUTO, 2000; DE SOUZA, 2004). Assim, a granulação representa uma estratégia tecnológica possível de ser aplicada para a obtenção de materiais particulados com características satisfatórias de fluxo e compressibilidade.

Para obtenção de comprimidos contendo alto teor de extratos secos vegetais a granulação por via seca por desagregação tem sido utilizada em diversos trabalhos (COUTO, 2000; DE SOUZA, 2004; SOARES, 2005; PETROVICK, 2006; SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

A granulação dos compactos foi realizada em ambiente com umidade e temperaturas controladas para prevenir possível aumento da umidade residual dos produtos obtidos durante o processo.

O rendimento do processo de granulação, após calibração dos granulados na faixa de interesse de 0,25 a 0,85 mm, foi de aproximadamente 67,72; 84,53 e 72,28% para os granulados de 30, 50 e 70% de PSA1, respectivamente. Os granulados foram estocados em local com umidade e temperatura controlada.

Foram verificadas algumas propriedades relevantes para a manutenção e garantia da qualidade dos granulados de *Eugenia punicifolia*. A determinação da perda por dessecação apresentou resultados referente ao teor de umidade residual muito próximo do limite máximo sugerido (7%) para produtos com acondicionamento não hermético, segundo List e Schmidt (1989), tal se deve a umidade presente nos adjuvantes, conforme a tabela 14.

5 Resultados e Discussão

Tabela 14: Avaliação da perda por dessecação dos granulados de *Eugenia punicifolia*.

Granulados de PSA1 (%)	Dados experimentais Média ± s (Dpr)
GPSA30	6,20 ± 0,08 (1,29)
GPSA50	7,10 ± 0,07 (1,12)
GPSA70	7,13 ± 0,07 (1,05)

GPSA30 = granulados de PSA1 a 30%; GPSA50 = granulados de PSA1 a 50%; GPSA70 = granulados de PSA1 a 70%.

O tamanho de partícula foi analisado através de tamisação que permite a seleção granulométrica de grande quantia de material (figura 19) (VILA JATO, 2001).

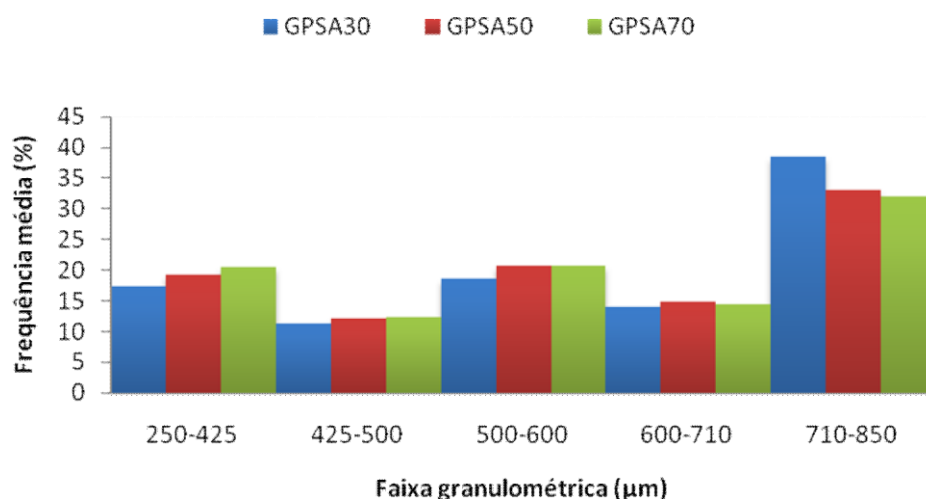


Figura 19 - Histogramas de distribuição granulométrica dos granulados GPSA30, 50 e 70% de *Eugenia punicifolia*

GPSA30 = granulados de PSA1 a 30%; GPSA50 = granulados de PSA1 a 50%; GPSA70 = granulados de PSA1 a 70%.

A distribuição granulométrica demonstra a similaridade entre os granulados de PSA a 30, 50 e 70%, denominados, respectivamente, GPSA30, GPSA50 e GPSA70, havendo uma pequena superioridade da frequência relativa do GPSA30 no intervalo de 600 a 710 μm (Anexos - tabela A2-A4).

5 Resultados e Discussão

Das curvas de distribuição granulométrica dos granulados GPSA30, GPSA50 e GPSA70 (Anexos - figura 1 – 3), podem ser extrapolados o diâmetro médio dos GPSA e o desvio padrão geométrico (WELLS, 1988; LANTZ, 1989). O diâmetro médio (mediana) dos granulados foi, respectivamente, de 670 $\mu\text{m} \pm 1,48$; 640 $\mu\text{m} \pm 1,45$ e 630 $\mu\text{m} \pm 1,44$, respectivamente, para o GPSA30, GPSA50 e GPSA70.

O desvio padrão maior que 2 representa ampla faixa de distribuição granulométrica, no presente trabalho os granulados de PSA mostraram desvio padrão < 2, caracterizando uma distribuição granulométrica estreita (WELLS, 1988).

O objetivo da granulação foi influenciar de forma positiva nas características reológicas e de densificação do PSA1 (tabela 15).

Tabela 15 - Características tecnológicas dos GPSA30, 50 e 70% de PSA1 de *Eugenia punicifolia*

Ensaio	Dados experimentais Média \pm s (Dpr)		
	GPSA30	GPSA50	GPSA70
Db (g/mL)	0,43 ^a \pm 0,01(4,4)	0,48 ^b \pm 0,005 (1,0)	0,40 ^c \pm 0,01 (3,8)
Dc (g/mL)	0,48 ^a \pm 0,01(2,4)	0,49 ^b \pm 0,001 (0,2)	0,41 ^c \pm 0,04 (1,1)
FH	1,10 ^a \pm 0,04(3,6)	1,03 ^b \pm 0,01 (1,0)	1,03 ^b \pm 0,02 (2,8)
IC %	9,77 ^a \pm 3,26 (33,3)	3,2 ^b \pm 0,97 (30,3)	3,36 ^c \pm 2,67 (79,4)
ID (mL)	0,30 ^a \pm 0,15(51,2)	0,06 ^a \pm 0,04(74,6)	0,09 ^a \pm 0,01 (103,2)
FV (mL/s)	17,67 ^a \pm 1,07(6,06)	18,22 ^a \pm 0,73(4,05)	19,47 ^a \pm 0,12(0,6)
FP (g/s)	7,41 ^a \pm 0,13(1,86)	8,73 ^a \pm 0,28(3,31)	10,09 ^a \pm 0,06(0,68)

Db = densidade bruta; Dc = densidade compactada; FH = fator de Hausner; IC = índice de Carr; ID = índice de densificação; FP = fluxo ponderal; FV = fluxo volumétrico; Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro não diferem entre si, ao nível de probabilidade de 5%, pelo teste de *Tukey*.

O Índice de Carr e o Fator de Hausner avaliam a estabilidade de empacotamento e são indicadores indiretos das propriedades reológicas. Os valores apresentados na tabela 15 são menores que os limites superiores descritos na literatura (FH < 1,5; IC < 15%), o que atestam a adequabilidade dos granulados para obtenção de comprimidos, uma vez que os mesmos terão densidade relativamente insensível à vibração inerente das máquinas de comprimir (VILA JATO, 2001; WELLS, 2005).

5 Resultados e Discussão

A semelhança dos granulados quanto à sua obtenção, assim como o perfil de distribuição granulométrica e estabilidade de empacotamento proporcionam o comportamento de similaridade entre os granulados quanto à reologia nas unidades volume e peso por tempo.

As propriedades reológicas dos granulados foram analisadas por determinação do fluxo discreto (tempo para passagem dos granulados pelo funil com dimensões padronizadas). Os baixos valores dos coeficientes de variação apresentados pelas respostas demonstram a adequação da técnica e o fluxo regular dos granulados. O diâmetro de abertura do funil de 10 mm foi escolhido pela aproximação com o diâmetro da matriz que foi utilizada na compressão final (9 mm) e por causar maior tempo de escoamento, por sua vez menor desvio na mensuração do ponto final. A granulação do PSA1 melhorou as propriedades de fluxo, corroborando os dados do índice de compressibilidade estabelecida por Carr (1965), caracterizando os GPSA como materiais de fluxo bom.

O índice de densificação proporciona informações do comportamento dos materiais particulados tanto na fase de alimentação quanto na fase de compactação em máquina de comprimir (VOIGT, 2005). Alterações mais lentas de ocupação de volume quando submetidas a esta condição proporcionam um arranjo entre partículas de forma mais lenta (GUYOT, *et al.*, 1995). Os valores obtidos para os GPSA em análise foram bem abaixo de 20 mL, sugerindo que o rearranjo ocorra de forma gradual.

A resistência mecânica obtida por meio da friabilidade dos granulados foi analisada, embora esta técnica não tenha faixa de valores estabelecidos como adequados na literatura. Os valores encontrados de friabilidade (%) para GPSA30, GPSA50 e GPSA70 foram de 2,79; 1,74 e 1,30, respectivamente.

Os granulados obtidos foram analisados por microscopia eletrônica de varredura. A coloração afilada espalhada ao longo dos granulados denota a presença de celulose microcristalina.

5 Resultados e Discussão

As fotomicrografias denotam também a presença de partículas de PSA1 nos seus formatos arredondados, indicando que possuem resistência adequada e não sofrem fragmentação. Assim como citado por Spaniol (2007) e Bica (2009), observa-se o achatamento das partículas de PSA1 (figuras 20.f; 21.f; e 22. f), nas superfícies externas dos briquetes, pela ação direta das forças de compressão, evidenciando o já conhecido do comportamento plástico desses produtos (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007; BICA, 2009) .

O processo de obtenção dos granulados a partir dos briquetes, em granulador oscilatório e moinho de rolos, que empregam princípios distintos, justifica a diversidade morfológica apresentada pelos granulados obtidos nessa análise (figuras 20.a; 21.a; 22.a e 22.a).

5 Resultados e Discussão

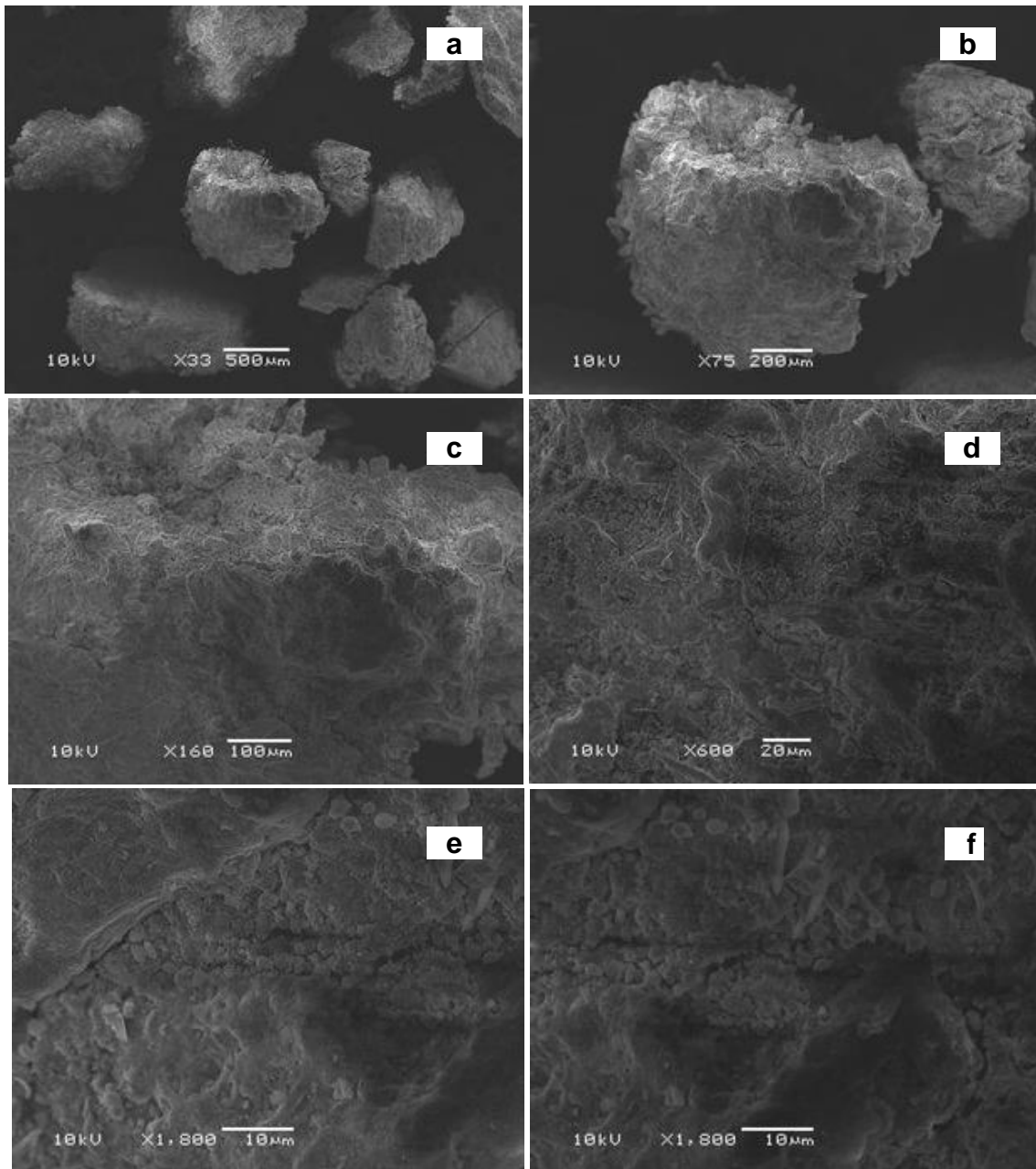


Figura 20 - Fotomicrografias do GPSA30, com aumentos de 33 X (a), 75 X (b), 160 X (c), 600 X (d) e 1800 X (e) e (f)

5 Resultados e Discussão

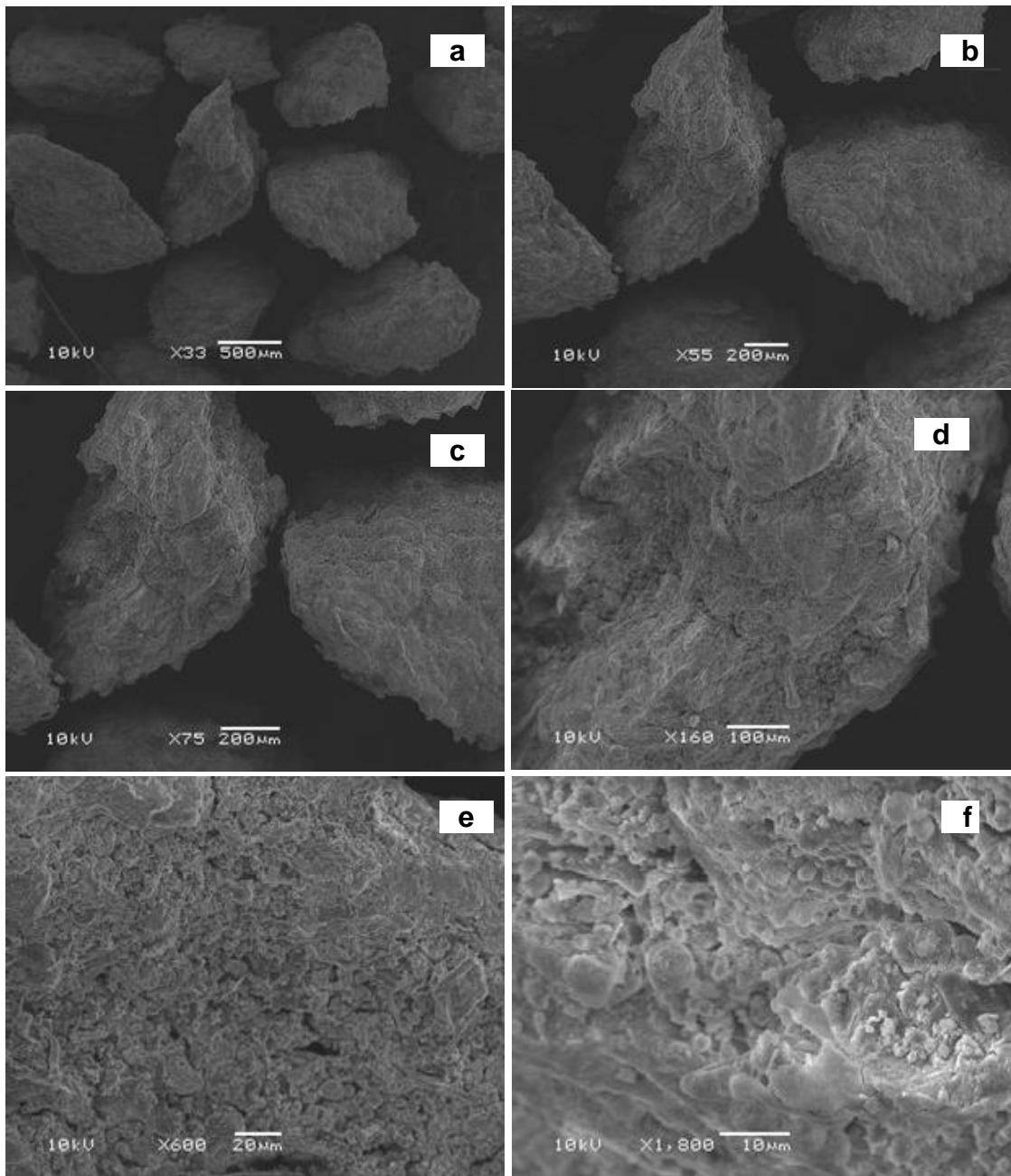


Figura 21 - Fotomicrografias dos GPSA50, com aumentos de 33 X (a), 55 X (b), 75 X (c), 160 X (d), 600X (e) e 1800 X (f)

5 Resultados e Discussão

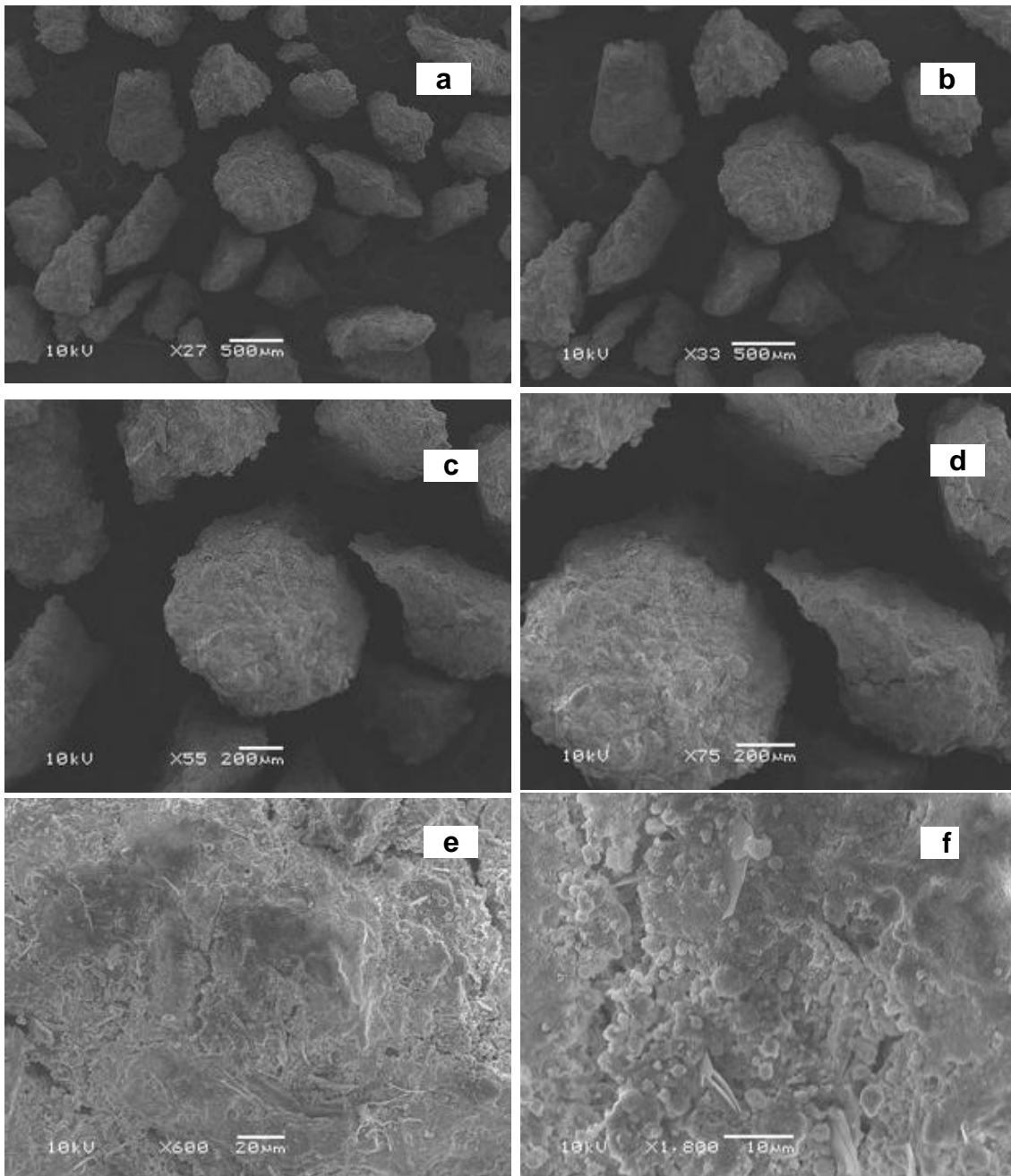


Figura 22 - Fotomicrografias dos GPSA70, com aumentos de 27 X (a), 33 X (b), 55 X (c), 75 X (d), 600 X (e) e 1800 X (f)

5 Resultados e Discussão

Após determinação das características estruturais realizou-se a etapa analítica dos produtos obtidos. A análise por CLAE foi efetuada de maneira similar à realizada para o PSA1. Os dados da recuperação dos GPSA30, GPSA50 e GPSA70 (tabela 16) descrevem a não interferência na extração e na estabilidade por parte dos adjuvantes farmacêuticos adicionados durante a formação dos compactos. Igualmente, a homogeneidade da mistura se mostrou adequada, uma vez que valores se aproximam de 100% de recuperação. A variabilidade da análise foi baixa.

Tabela 16 - Recuperação média dos flavonóides nas concentrações de 30, 50 e 70% de GPSA de *Eugenia punicifolia*

Granulados	Pico 2 Média (dpr)	Pico 3
GPSA30	99,67 (1,37)	99,34 (1,39)
GPSA50	98,86 (0,69)	99,42 (0,57)
GPSA70	97,58 (1,56)	98,56 (1,55)

5.7 Produção e caracterização do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ)

5.7.1 Produção do granulado co-processado por via úmida

Na produção de granulados co-processados de adjuvantes foi utilizado como solvente a água, por ser um solvente atóxico, de baixo custo e não inflamável, o que causa menor dano ambiental. No entanto, entre as desvantagens de se utilizar a água como solvente são o elevado tempo de secagem e a possibilidade de hidrólise, porém esses fatores não são limitantes para a produção de granulados co-processados de adjuvantes (COUTO, 2005; SUMMERS e AULTON, 2005).

O aglutinante empregado foi a metilcelulose (Methocel A15), polímero com alta propriedade adesiva (VOIGT, 2005), constituída de uma longa cadeia de celulose na qual aproximadamente 27 a 32% dos grupos hidroxilas estão na forma metoxilada. A metilcelulose possui baixa solubilidade em água quente, porém forma dispersão coloidal em água fria, sendo o seu modo de adição realizado pelo método de dispersão no solvente (aglutinante em dispersão), muito embora possa ser empregado também de forma extemporânea (BICA, 2009).

5 Resultados e Discussão

A seleção do método de preparo por dispersão foi baseada no estudo de otimização do modo de preparo e concentrações do aglutinante realizado por Bica (2009), que demonstrou maior rendimento nas formulações contendo 6 e 9% de aglutinante no modo de preparo por dispersão.

As escolhas do material de carga e do desintegrante foram realizadas previamente, baseadas em estudos anteriores (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007), visto que as condições de trabalho e equipamentos são semelhantes e os resultados indicam a viabilidade da transposição. A partir de estudos realizados por Bica (2009), que visou o desenvolvimento, otimização e caracterização de granulados co-processados de adjuvantes, modificando a sua composição quantitativamente, optou-se pela formulação de granulados contendo, em proporções ponderais, metilcelulose (9,0%), celulose microcristalina (87,4%) e o amidoglicolato de sódio (3,6%). A escolha foi feita devido às adequadas características tecnológicas do comprimido final.

A massa úmida no ponto de massa foi avaliada por meio da técnica de perda por dessecação em balança com sistema de secagem por infravermelho, apresentando teor de umidade de 31,58% (0,21). Observou-se que a umidade presente na massa úmida pode ser usada indiretamente para auxiliar na avaliação do ponto de massa, visto ter apresentado pequeno desvio padrão relativo entre as repetições.

O rendimento do processo de granulação do co-processado dos adjuvantes, após calibração dos granulados na faixa de interesse de 0,25 a 0,85 mm, foi de aproximadamente 50,9%. Os granulados foram estocados em local com umidade e temperatura controlada.

O lote produzido passou a ser denominado de GRADJ, sendo caracterizado quanto à perda por dessecação, friabilidade e à distribuição granulométrica.

5 Resultados e Discussão

A determinação da perda por dessecação dos GRADJ apresentou resultados do teor de umidade residual de $7,0 \pm 0,1$ (1,4%). Tal perda por dessecação, muito embora elevada, está próxima dos valores apresentados pelos adjuvantes antes do processo de granulação por via úmida (tabela 12), com apenas um pequeno incremento na sua umidade após a etapa de secagem.

A friabilidade do granulado co-processado foi de 14,57%, provavelmente, ocasionado pela incompleta dispersão do aglutinante, bem como a formação de locais com alta viscosidade na mistura que se opõem a distribuição homogênea do aglutinante (KHANKARI e HONTZ, 1997). Outrossim, esse método de granulação resulta em granulados com elevada porosidade quando comparado à granulação por via seca por desagregação. Quando comparada a friabilidade de 14,25% observada, nos granulados de Bica (2009) na mesma formulação, evidencia-se uma grande semelhança nos resultados.

Separou-se por faixas granulométricas, obtendo-se GRADJ com composição granulométrica semelhante a granulometria do GPSA correspondente (anexos – tabela - A5).

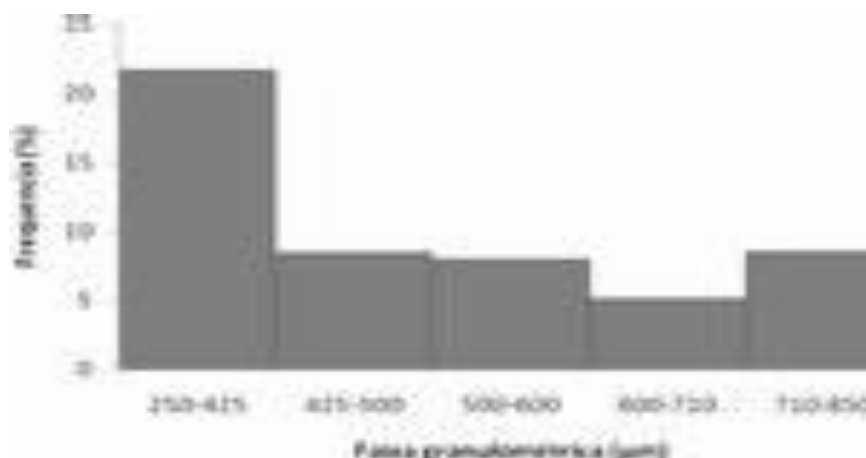


Figura 23 - Histograma de distribuição granulométrica do lote dos granulados co-processados (GRADJ)

5 Resultados e Discussão

5.8 Produção do complexo farmacêutico (CF) para comprimidos

A escolha do tempo de mistura foi baseada em estudos anteriores que utilizaram tempo de mistura prolongado (DE SOUZA, 2004; COUTO, 2005; SPANIOL, 2007), bem como nos dados obtidos por Bica (2009), em formulação similar, que descreveu o princípio de um processo de segregação do complexo em misturas mais prolongadas. A mistura dos componentes majoritários por 3 min, seguida de 5 min da fase de lubrificação, garantiu uma boa margem de segurança para a homogeneidade.

Os complexos farmacêuticos foram caracterizados quanto à sua densidade e reologia (tabela 17).

Tabela 17 - Características tecnológicas dos complexos farmacêuticos (CF) para comprimidos

Ensaio	Dados experimentais		
	Média ± s (Dpr)		
	CF 30	CF 50	CF70
Db (g/mL)	0,20 ^a ± 0,008(4,05)	0,19 ^a ± 0,008(4,43)	0,25 ^a ± 0,005(2,25)
Dc (g/mL)	0,21 ^a ± 0,002(1,11)	0,22 ^b ± 0,001(0,60)	0,28 ^c ± 0,003(1,37)
FH	1,09 ^a ± 0,02(2,25)	1,11 ^a ± 0,033(2,89)	1,11 ^a ± 0,003(3,55)
IC %	8,42 ^a ± 2,07(24,58)	13,83 ^a ± 2,53(18,32)	9,9 ^a ± 3,14(31,74)
ID (mL)	0,27 ^a ± 0,07(27,60)	0,24 ^a ± 0,05(22,47)	0,23 ^a ± 0,07(33,95)

CF = complexo farmacêutico contendo 30, 50 e 70% de PSA1; Db = densidade bruta; Dc = densidade compactada; FH = fator de Hausner; IC = índice de Carr; ID = índice de densificação; Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro não diferem entre si, ao nível de probabilidade de 5%, pelo teste de *Tukey*

Observaram-se modificações nos parâmetros avaliados nos complexos farmacêuticos quando comparados aos GPSA30, GPSA50 e GPSA70. Mesmo em menor quantidade no complexo farmacêutico, o GRADJ levou a diminuição das densidades bruta e compactada. Os valores do Índice de Carr e do Fator de Hausner, apresentados na tabela 17, sofreram aumento, inferior aos valores apresentados na literatura como indicativos de baixa estabilidade de empacotamento (FH < 1,5; IC < 15%). Tais resultados corroboram a adequabilidade desses complexos farmacêuticos na obtenção de comprimidos (WELLS, 2005; VILA JATO, 2001).

5 Resultados e Discussão

A semelhança de comportamento dos complexos farmacêuticos entre si ficou evidenciada na tabela 17. Os índices de densificação não se diferenciaram estatisticamente entre as formulações e apontam a estabilidade de empacotamento dos sistemas particulados. Apesar das pequenas diferenças, os complexos farmacêuticos apresentam boas propriedades tecnológicas por esses ensaios.

5.9 Produção dos comprimidos

A produção dos comprimidos utilizando máquina de comprimir rotativa (MCR) foi precedida pelo ajuste da mesma (nível 77 de penetração do punção superior), para que fossem produzidos comprimidos com peso médio de 250 mg e dureza média de 60 N.

O peso e a dureza foram ajustados por tentativa, empregando o modo JOG, no qual a rotação da máquina situa-se em torno de 5 rpm, conforme preconizado pelo fabricante, visando evitar o desperdício de complexo farmacêutico.

Optou-se pela velocidade de 20 rpm, seguindo estudos realizados anteriormente (SPANIOL, 2007), por aproximar-se mais das velocidades de rotação empregadas em máquinas de comprimir industriais, em detrimento a velocidades de rotação menores. Além disso, a rotação eleita permitiu avaliar a influência da velocidade no peso médio e dureza dos comprimidos.

Não foram observados *capping* e/ou laminação em nenhum dos comprimidos das diferentes formulações e a força de ejeção permaneceu sob controle durante o processo de compressão. Os comprimidos mostraram sinais evidentes de segregação pelo mecanismo de percolação, como já observado em trabalhos similares (SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

5 Resultados e Discussão

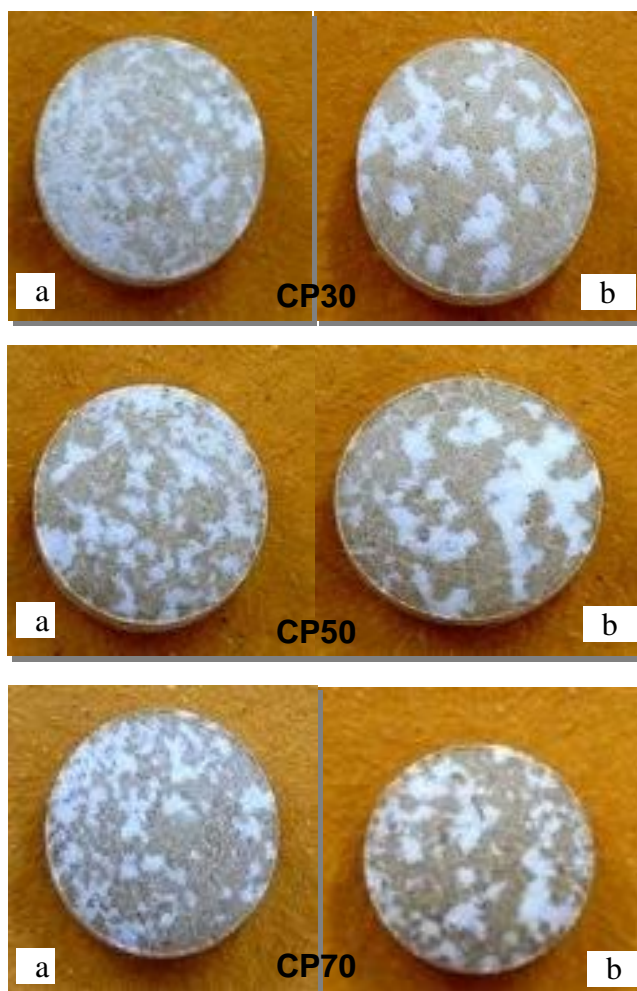


Figura 24 – Aspectos da face inferior (a) e da face superior (b) dos CP30, CP50 e CP70

Segundo Twitchell (2005), a segregação ocorre devido a diferenças morfológicas, granulométricas e de densidade das partículas dentro de uma mistura. Quando a segregação ocorre pela diferença granulométrica denomina-se percolação, melhor explicação para o apresentado nos comprimidos. A elevada amplitude granulométrica dos granulados e a diferença de densidade justificariam a percolação desigual das faces, no entanto, a distribuição na face inferior deveria ser constituída predominantemente de GPSA, visto que o GRADJ, menos denso, deveria estar com maior presença na face superior, porém tal não ocorreu como pode ser evidenciado pela foto (figura 24). Uma explicação alternativa dada por Bica (2009) justifica esse fenômeno de percolação pela maior friabilidade do GRADJ, que

5 Resultados e Discussão

durante as etapas iniciais de compressão fragmenta-se mais que o GPSA, resultando na modificação da granulometria.

Todos os comprimidos foram estatisticamente iguais quanto à perda por dessecação. Os valores dos CP30, CP50 e CP70 foram de $7,44 \pm 0,01$; $7,5 \pm 0,21$ e $7,67 \pm 0,32$, respectivamente.

Tabela 18 - Avaliações do peso médio e parâmetros dimensionais dos comprimidos produzidos em máquina de comprimir rotativa

Parâmetros	CP30	CP50	CP70
	Média \pm s (dpr)	Média \pm s (dpr)	Média \pm s (dpr)
PM (mg)*	256,85 ^a \pm 2,13(0,83)	254,15 ^b \pm 2,77(1,09)	254,70 ^b \pm 3,38(1,33)
DM (mm)	9,10 ^a \pm 0,01(0,17)	9,08 ^b \pm 0,01(0,09)	9,06 ^c \pm 0,01(0,07)
Es (mm)	4,66 ^a \pm 0,28(0,39)	4,49 ^b \pm 0,02(0,52)	4,49 ^b \pm 0,01(0,32)
Volume (mm ³)	344,0 ^a \pm 6,17(1,79)	340,7 ^a \pm 7,2(2,13)	340,0 ^a \pm 3,4(1,01)
Da(mg/cm ³)	0,74 ^a \pm 0,01(2,16)	0,74 ^a \pm 0,01(2,11)	0,75 ^a \pm 0,01(2,39)

PM = peso médio; DM = diâmetro médio; CP = comprimidos contendo GPSA30, GPSA50 e GPSA70; Es = ESPESSURA; Da = densidade aparente. Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro não diferem entre si, ao nível de probabilidade de 5%, pelo teste de *Tukey*

A análise do peso médio demonstra diferenças estatisticamente significativas entre os comprimidos CP30 e CP50, porém o coeficiente de variação de peso dos comprimidos está dentro da faixa de aceitação prevista nos compêndios oficiais ($\pm 5\%$), não havendo nenhum comprimido fora desta faixa.

Os volumes dos comprimidos foram obtidos por meio da medida do diâmetro e espessura dos bordos utilizando-se paquímetro digital. Os volumes dos comprimidos obtidos das três formulações foram estatisticamente iguais, o que, juntamente com o peso médio, evidencia similar preenchimento da câmara de compressão para as três formulações. Visto que o peso médio e o volume dos comprimidos foram aproximados, pode-se inferir que a densidade aparente dos comprimidos é, igualmente, similar entre os comprimidos dos diferentes complexos. Pode-se concluir, por tanto, que a proporção ponderal dos PSA1 dentro dos granulados não influenciou de forma significativa as propriedades dimensionais dos comprimidos obtidos.

5 Resultados e Discussão

O procedimento de preenchimento da câmara de compressão realizado nos três complexos farmacêuticos ocorreu sob as mesmas condições ambientais e de processo. A granulometria, a área superficial e a densidade foram às condições não controladas e que poderiam influenciar o preenchimento da câmara de compressão. A ordem das velocidades rotacionais empregada para os complexos farmacêuticos foi, igualmente, a mesma para todas as formulações (5 rpm para o ajuste e 20 rpm para a produção).

A tabela 19 apresenta dados de resistência ao esmagamento radial dos comprimidos CP30, CP50 e CP70. Nenhum comprimido amostrado apresentou dureza inferior a 30 N, valor de dureza mínimo exigido pela Farmacopéia Brasileira V (2010).

Tabela 19 - avaliação das características tecnológicas dos CP30, CP50 e CP70

Parâmetros	CP30 Média ± s (dpr)	CP50 Média ± s (dpr)	CP70 Média ± s (dpr)
Dureza (N)	49,4 ^a ±3,53(7,14)	58,9 ^b ±5,16(8,77)	58,35 ^b ±6,06(10,39)
Fc (N)	28700 ^a ±352,1(1,62)	39162 ^b ±350,8(0,89)	37450 ^c ±563,4(1,50)
Friabilidade (%)	0,23	0,09	0,03
TD (min)	1,38 ^a ±0,65(47,5)	6,50 ^b ±1,68(25,88)	11,84 ^c ±1,63(13,77)

Fc = força de compressão; TD = tempo de desintegração. Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro não diferem entre si, ao nível de probabilidade de 5%, pelo teste de *Tukey*

A friabilidade dos comprimidos (tabela 19) se mostrou menor para aqueles com maior dureza (CP50 e CP70) o que pode ser atribuído a maior força de compressão que favorece uma maior coesão na superfície dos comprimidos. Todos os comprimidos produzidos, no entanto, apresentaram valores bem abaixo do máximo preconizado pela Farmacopéia Brasileira V (2010) (<1,5%).

A força de compressão corresponde à força máxima aplicada. Numa dada velocidade de compressão, para um complexo farmacêutico com deformação plástica, o aumento da força de compressão resulta numa maior dureza (SPANIOL, 2007; BICA, 2009).

5 Resultados e Discussão

Durante o processo de compressão foram registrados dados da força de compressão. A amostragem foi realizada de acordo com a possibilidade de aquisição de dados e de tempo. O elevado desvio padrão das forças de compressão explica, parcialmente, o alto desvio apresentado na dureza. Os CP50 e CP70, obtidos com maior valor de força de compressão, apresentaram, igualmente, maior dureza e menor espessura quando comparados ao CP30. A menor força de compressão no CP30 resultou em comprimidos com menor resistência ao esmagamento radial, bem como com maior recuperação elástica axial, muito embora o parâmetro volume do comprimido, nas diferentes formulações, não tenha sido estatisticamente diferente.

Os tempos de desintegração dos comprimidos das três formulações apresentaram valores bem inferiores aos limites preconizados pelo código oficial (30 min) para formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata.

A obtenção de comprimidos de desintegração rápida foi possível pela presença de superdesintegrante amidoglicolato de sódio na fase externa e interna, assim como a elevada concentração de celulose microcristalina, que funciona como desintegrante em concentrações acima de 20% (m/m) (SINGH e NAINI, 2007). Outrossim, o meio aquoso empregado na extração resultou em produto seco por aspersão com elevada solubilidade em água. A partir desses resultados, pode-se concluir que a etapa de desintegração não será uma etapa limitante na dissolução dos comprimidos.

Utilizando teste de ANOVA *One way* ($\alpha=0,05$) foi possível verificar que há diferença entre os comprimidos obtidos das diferentes formulações, devido provavelmente as diferentes proporções de excipientes e princípio ativo (PSA1) utilizados nas formulações.

Os maiores tempos de desintegração apresentados pelos CP50 e CP70 podem estar atribuídos às características inerentes do principal constituinte das formulações, o PSA. A elevada variabilidade apresentada pelos CP30 correlaciona-

5 Resultados e Discussão

se com o baixo tempo desintegração que quanto menor, maiores influências às pequenas variações terão no desvio padrão relativo.

A fim de quantificar os “marcadores” contidos nos comprimidos CP30, CP50 e CP70, foi realizada a uniformidade de conteúdo, análise que permite avaliar a eficiência das duas etapas de misturas realizadas no processo, assim como da manutenção dos glicosídeos flavonoídicos majoritários ao longo de todo o processo. Todos os valores de cada comprimido compreenderam a faixa de 85 a 115% de uniformidade de conteúdo, preconizada para a maioria das formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata. O valor abaixo de 4% para o desvio padrão relativo confirma o adequado processo de mistura inicial para produção dos compactos, assim como a posterior formação do complexo farmacêutico final (QURESHI, 2007). Os resultados estão descritos na tabela 20.

Tabela 20 - Uniformidade de conteúdo dos comprimidos CP30, CP50 e CP70 de *Eugenia punicifolia*

Comprimidos (CP)	Pico 2 (%) Recuperação Média (dpr)	Pico 3 (%) Recuperação Média (dpr)
CP30	101,07 (1,94)	101,25 (1,82)
CP50	100,07 (1,66)	100,47 (1,49)
CP70	101,30 (3,38)	102,63 (3,30)

CP = comprimidos contendo granulados de PSA: 30, 50 e 70%.

Para o ensaio de dissolução dos comprimidos, o método validado por cromatografia líquida de alta eficiência não permitiu a quantificação seletiva **do** flavonóide**ea** eleitos como marcadores (pico 2 e pico 3), visto que as concentrações encontradas nos meios de dissolução (até 500 mL) não são compreendidas na curva analítica do flavonóide quercetina (apresentada na validação). Desta forma, a fim de contornar esse problema analítico, iniciaram-se os testes de dissolução com espectrofotômetro no Ultravioleta/Visível (UV/vis).

O método de espectrofotometria no Uv/vis permitiu empregar 900 mL como volume do meio de dissolução com as concentrações, mesmo iniciais, compreendidas na curva analítica da quercetina. Em estudo prévio, determinou-se a constituição do meio de dissolução por meio de testes preliminares com tensoativo

5 Resultados e Discussão

lauril sulfato de sódio, nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5% (m/v), porém o meio aquoso já permitiu completa dissolução do PSA1 sob condições *sink*.

O ensaio de cedência dos comprimidos (figura 25) corroborou com os dados da desintegração, demonstrando nos primeiros pontos, alto teor de PSA dissolvido. Comportamento que permite classificá-los como formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (BRASIL, 2003a).

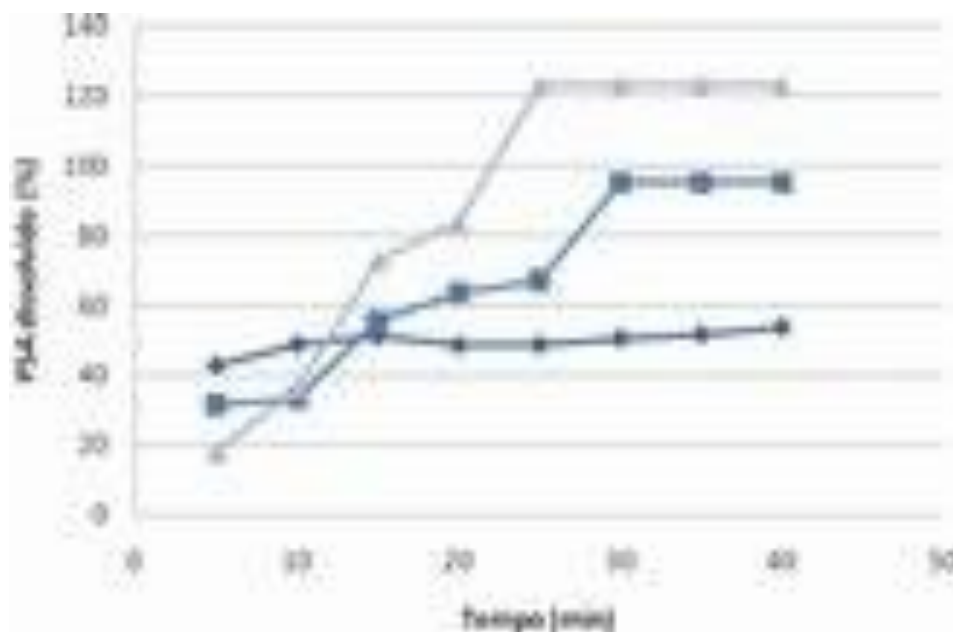


Figura 25 - Perfil de dissolução do PSA1 contido nos CP30 (◆), CP50 (■) e CP70 (▲)

Segundo Martin e Codina (1998), a rápida desintegração do comprimido causa aumento do número de partículas no meio, que incide diretamente sobre a superfície efetiva de dissolução, provocando o rápido incremento da velocidade de dissolução inicial.

Verifica-se na figura 25 que todas as formulações, após 30 min de teste, tinham alcançado o máximo de cedência. As porcentagens máximas de PSA1 dissolvidos nos CP30, CP50 e CP70 foram de 53,6% \pm 1,25; 95,2% \pm 0,01 e 123,3% \pm 0,01, respectivamente.

5 Resultados e Discussão

Alguns fatores podem ser responsáveis para que nos CP30 e CP50 a cedência do PSA1 não tenham alcançado o 100% de dissolução, tais como, a amostragem de partículas em suspensão que ficam retidas no filtro, variabilidade na uniformidade de conteúdo dos comprimidos empregados, estabilidade durante longo procedimento de coleta até a análise por no Ultravioleta/Visível.

As fotomicrografias com aumento de 27 vezes demonstraram a semelhança apresentada pelos comprimidos e possibilitam a visualização da junção intergranular. Esta pode ser evidenciada pela maior concentração de estruturas fibrilares e mais porosas, características do GRADJ (sinalizadas por setas pretas, figuras: 26.a, b, c. As figuras 26.d, e, e f), mostram em detalhe a manutenção da morfologia primária do PSA1 e da cel ulose microcristalina.

5 Resultados e Discussão

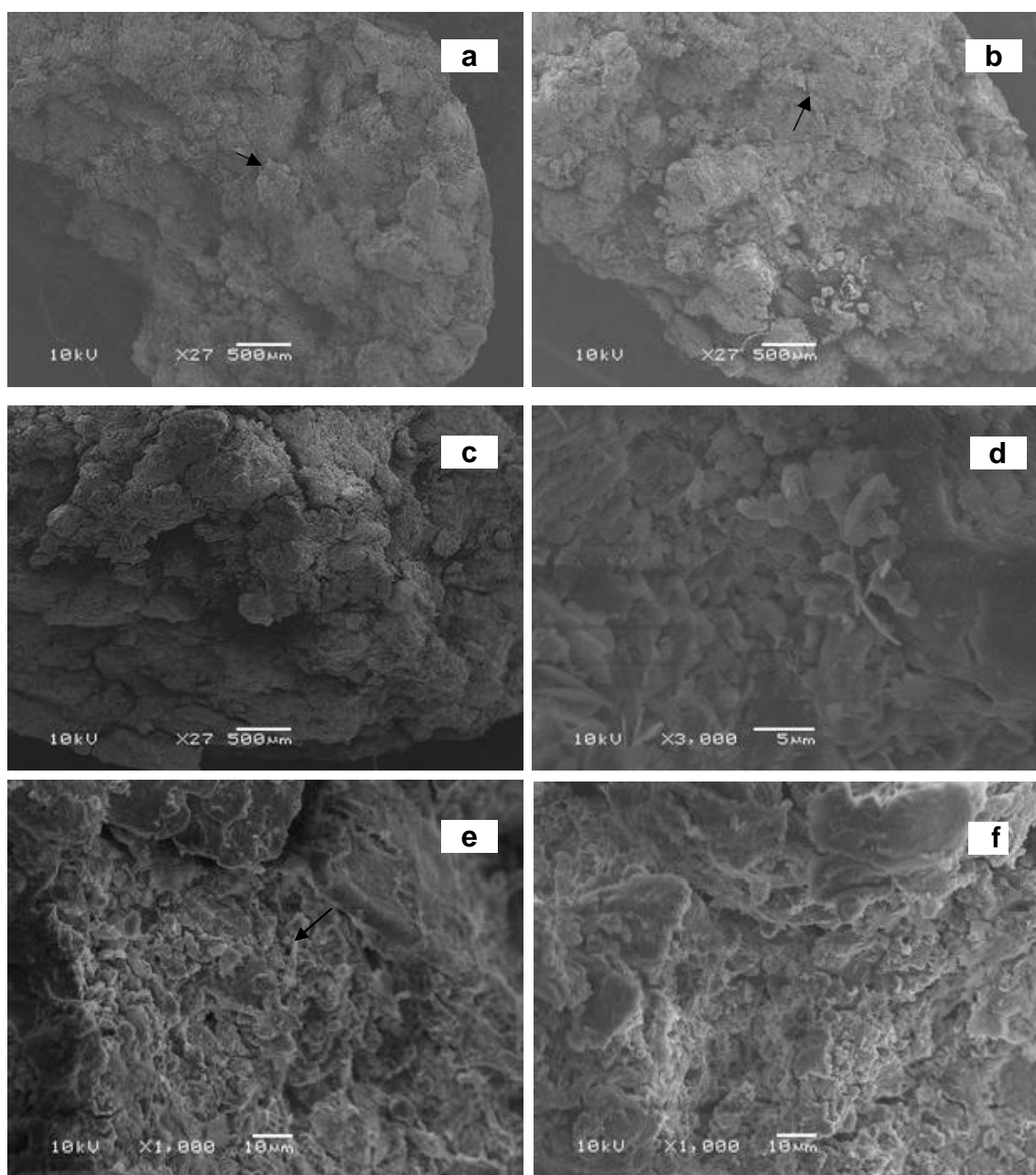


Figura 26 - Fotomicrografias de comprimido fraturado com aumento de 27 X do CP30 (a), CP50 (b) e CP70; aumento de 3000 X do CP30 (d), 1000 X do CP50 e do CP70

6 Conclusões

- A caracterização da matéria-prima vegetal de *Eugenia punicifolia* demonstrou resultados diferenciados de acordo com a época da colheita.
- Em estudo preliminar selecionou-se a formulação de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia* com apenas a presença de dióxido de silício coloidal, que apresentou o melhor rendimento de secagem.
- O produto seco por aspersão (PSA1), empregado neste trabalho, demonstrou problemas tecnológicos, devido às suas pequenas dimensões, que inviabilizou a sua compressão direta para obtenção de comprimidos, sendo solucionado por outra etapa de processamento.
- A metodologia desenvolvida por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência se mostrou adequada para a quantificação dos compostos flavonóides. O processo extrativo demonstrou recuperar completamente os flavonóides, dentro de uma ampla faixa de concentração.
- Os granulados, embora contendo diferentes concentrações de PSA1, demonstraram propriedades tecnológicas favoráveis e similares à compressão. Tal resultado demonstra a robustez do processo e da formulação frente a variações ponderais do PSA1.
- O processo de granulação não causou alterações qualitativas e quantitativas no marcador flavonóide, indicando a estabilidade proporcionada pelas formulações.
- Os complexos farmacêuticos (CF) das três formulações elaboradas evidenciaram características apropriadas para compressão.
- Os comprimidos obtidos apresentaram boas propriedades mecânicas (dureza e friabilidade) com rápida desintegração e uniformidade de conteúdo.

- O estudo da cedência confirmou que os CP30, CP50 e CP70 são comprimidos de rápida liberação confirmando os dados da desintegração.
- A produção de comprimidos a partir de granulado de extrato seco por aspersão de *Eugenia punicifolia* em diferentes proporções (30, 50 e 70%) mostrou-se ser viável.

7 Referências Bibliográficas

ACHREKAR, S.; KAKLIJ, G.S; KELKAR, S.M. Hypoglycemic activity of Eugenia jambolana and Ficus bengalensis: mechanism of action . *In vivo*, v.5, p. 143-148, 1991.

ADOLFSSON, A.; NYSTROM, C. Tablet strength porosity, elasticity and solid state structure of tablets compressed at high loads. *International Journal of Pharmaceutics*, n.132, p. 95-106, 1996.

ALDEBORN, G. Comprimidos e compressão. In: AULTON, M.E. (Ed.). *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed. Cap 27, p. 402-443, 2005.

ALMEIDA, E.B.; ZICKEL, C.S. Fisionomia psamófila-reptante: riqueza e composição de espécies na praia da pipa. Rio Grande do Norte, Brasil. Instituto Anchieta de Pesquisas, São Leopoldo, 2009.

ALVAREZ, A. da S.; POTIGUARA, R.C. de V.; DOS SANTOS, J.U.M. Arquitetura foliar de espécies de Eugenia L. (Myrtaceae), da restinga de Algodual. Maiandua, Pará. *Boletim do Museu de Ciências Naturais*, v. 1, n. 2, p. 29-36, 2006.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN, Jr. L.V. *Farmacotécnica – Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos*. 6 ed. Baltimore: Editorial PREMIER, p. 90-91; 201-236, 2000.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; HENRIQUES, A.T.; MENUT, C.; BESSIERE, J.M. Essential oils from Eugenia species – Part VII: sections *Phyllocalyx* and *Stenoclyx*. *Journal of Essential Oil Research*, v. 16, n.3, p. 135-138, 2004a.

ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y. Improving effects of the extracts from eugenia uniflora on hyperglycemia in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 68, p. 307-314, 1999.

AUGSBURGE R, L.L.; MURALI, K.V. *Theory of granulation*. In: PARIKH, D.M. (Ed). *Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology* . New York: Marcel Dekker, cap. 2, p.7-23, 1997.

AULTON, M.E; TEBBY, H.G. Hardness distributions over tablet faces with different curvatures. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 27, 2005.

7 Referências Bibliográficas

AURICCHIO, M.T.; BACCHI, E.M. *Eugenia uniflora* L. "Brazilian cherry" leaves: pharmabotanical, chemical and pharmacological properties. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.62, p. 55-61, 2003.

BANSAL, R.; AHMAD, N.; KIDWAI, J.R. Effects of oral administration of *Eugenia jambolana* seeds and chlorpropamide on blood glucose level and pancreatic cathepsin B in rat. *Indian Journal Biochem Biophys*, v.18, p.377-381, 1981.

BARBOSA, R.I.; NASCIMENTO, S.P.; AMORIM, P.A.F.; SILVA, R.F.S. Notas sobre a composição arbóreo-arbustiva de uma fisionomia das savanas de Roraima, Amazônia Brasileira. *Acta Botânica*, v. 19, n. 2, p. 323-329, 2005.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos, p. 243. Porto Alegre: Artmed, 2001.

BARTLEY, G.E.; SCOLNIK, P.A.; GIULIANO, G. Molecular biology of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and plant Molecular Biology*, p. 287-301, 1995.

BASSANI, V. L. Valorisation de formes galéniques végétales désalcoolisation et concentration des solutions extractives sur membrane d'osmose inverse. Faculté de Pharmacie, Montpellier, 1990. Tese de doutorado.

BASSANI, V.L.; ORTEGA, G.G.; PETROWICK, P.R. Desenvolvimento tecnológico de produtos fitoterápicos. *Fitos*, v.1, n.1, p.14-17, 2005.

BELTRAN, S. F.; MACIAN, R.S. Estudio comparativo del diseno de maquinas de comprimir rotativas. *Indústria Farmaceutica*. Nov/Dez, p.83-89, 1999.

BERG, O. Revisio Myrtacearum Americae. *Linnaea*. V. 27, p. 1-128, 1855.

BERG, O. Revisio Myrtacearum Americae. *Linnaea*. V. 27, p.129-384, 1856a.

BERG, O. *Myrtaceae*. In: C.P.F. Martius (ed.). *Flora Brasiliensis*. V. 14, p.1-468. 1857.

7 Referências Bibliográficas

BERG, O. *Myrtaceae*. In: C.P.F. Martius (ed.). *Flora Brasiliensis*. V.14, p. 469-528, 1858.

BERG, O. *Myrtaceae*. In: C.P.F. Martius (ed.). In: *Flora Brasiliensis*. V. 14, p. 529-656, 1859.

BICA, V.C. Avaliação do comportamento de compressão de dois extratos secos de *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. Compositae (marcela). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2009. Dissertação de mestrado.

BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; MORGENNI, F., MAZZI, G., VINICIERU, F.F. Evaluation of chemical stability of St. John's, wort commercial extract and some preparations. *International Journal of Pharmaceutics*, n. 213, p.199-208, 2001.

BLASCHEK, W. Cellulose, ein interessanter Grundstoff fur die pharmazeutische Nutzung. *Pharmazie*, v.19, n.2, p. 73-81, 1990.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância sanitária, Resolução de Diretoria Colegiada nº14 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância sanitária, Portaria nº1029 de 21 de dezembro de 1998. Proposta de regulamento técnico sanitário sobre registro de produtos fitoterápicos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância sanitária, Resolução específica, Nº 901 de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre a publicação do "Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI)" anexo. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2003.

BROADHEAD, J.; EDMOND ROUAN, S. K.; RHODES, C.T. The spray drying of pharmaceuticals. *Drug Development And Industrial Pharmacy*, v.18, n. 11 e 12, p. 1169-1206, 1992.

7 Referências Bibliográficas

BRUNETTI, I.L.; VENDRAMINI, R. C.; JANUÁRIO, A.H.; FRANÇA, S.C.; PEPATO, M. T. Effects and toxicity of *Eugenia punicifolia* extracts in *Streptozotocin*-Diabetic Rats. *Pharmaceutical Biology*, v. 44, n. 1, 35-43, 2006.

BUCKTON, G. Propriedades do estado sólido. In: AULTON, M.E. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, cap.9, p. 151-161, 2005.

BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBÄNDE (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel – Codex*. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 33, p. 179-189, 2000.

CANDOLLE, A.P. *Dict. Classique d'hist. naturelle*. v. 11. Paris, 1826.

CARR Jr, R. L. Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering*, v.72, n.2, p.163-168, 1965.

CARSTENSEN, J.T. Wet granulation. In: *Advanced Pharmaceutical Solids*. New York: Marcel Dekker, Cap.21, p. 353, 2001.

CARSTENSEN, J.T.; ERTELL, C.; GEOFFREY, J.M. Physico-chemical properties of particulate matter. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.19, n. 1 e 2 , p.195 - 219, 1993.

CARVALHO, A.C.B; BALBINO, E.E.; MACIEL, A. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p.314-319, 2008.

CARVALHO, E.L.S. Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. (*espinheira-santa*). Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre 1997. Dissertação de mestrado.

7 Referências Bibliográficas

CASADEIBAG, J.L.; JACOB, M.; CASSANA, G. GAUDY, D.; BAYLAC, G.; PUECH, A. Physicochemical and pharmacological properties of spray-dried powder from *Fraximus excelsior* leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v.26. p.21-116,1989.

ÇELIC, M. The past, present, and future of tableting technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, p.1-10, 1996.

CLARK, A. Natural Products. In: WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L. *Foye's principles of medicinal chemistry*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 24-26, 2002.

COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A.P.S.; VON POSER G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.90, p. 135-143, 2004.

CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensi ve. *Journal of Ethnopharmacology*, v.66, p. 33-39, 1999.

COSTA, T.R.; FERNANDES, O.F.L.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, C.M.A; LIÃO, L.M.; FERRI, P.H.; PAULA, J.R.; FERREIRA, H.D.; SALES, B.H.N.; SILVA, M.R.R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 72, p. 111-117, 2000.

COUTO, A. G. Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir do granulado do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade de matéria-prima vegetal a partir de seu cultivo. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005. Tese de doutorado.

COUTO, A. G. Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado contendo produto seco nebulizado de *Phyllanthus niruri* L. – *Euphorbiaceae* (quebra-pedra). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2000. Dissertação de mestrado.

COWAN, M.M. Plant products and antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, v.12, p. 564 -582, 1999.

CRIPPA, F. Problems of pharmaceutical techniques with plants extracts. *Fitoterapia*, v.6, p.257-263, 1978.

7 Referências Bibliográficas

CRUZ, A.V.M.; KAPLAN, M.A.C. Uso medicinal de espécies das famílias *Myrtaceae* e *Melastomataceae* no Brasil. *Floresta e Ambiente*, v. 11, n.1, p. 47 - 52, 2004.

CRUZ, G.L. Dicionário de plantas úteis do Brasil. 2 ed., Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982.

DA SILVA, A. L. G., PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Acta Botânica Brasileira*, v. 21, n.1, 2007.

DE OLIVEIRA, A.M.; HUMBERTO, M.M.S., DA SILVA, J.M. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 618-624, 2006.

DE OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M; CÂMARA, C.A.G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia puniceifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 39-43, 2005.

DE PAULA, I.C. Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureoides* (LAM.) D.C. Compositae – marcela. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1996. Dissertação de mestrado.

DE SOUZA, T.P, LIONZO, M.Z., PETROVICK, P.R. Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n. 16, v.1, p. 94-98, 2006.

DE SOUZA, T.P. Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2004. Tese de doutorado.

DE SOUZA, T.P. Influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características tecnológicas de compactos de alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. (Celastraceae). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1999. Dissertação de mestrado.

7 Referências Bibliográficas

DE SOUZA, K.C.B. Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extratos secos nebulizados de *Passiflora edulis* forma flavicarpa. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de mestrado.

DE SOUZA, T.P.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTINEZ-PACHECO, R.; PETROWICK, P.R. Compressional behavior of formulations from *Phyllanthus niruri* spray dried extract. *Pharmazie*, v. 61, n. 3, p. 213-217, 2006b.

DI STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência – guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: Editora UNESP, 1996.

DONATINI, R.S. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Syzygium jambos* (L.) Alston. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2003.

EINBOND, L.S.; REUNERTSON, K.A.; LUO, X.D.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food chemistry*, v.84, p. 23- 28, 2004.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. Amtliche Deutsche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker, p. 1777, 1997.

FALCÃO, H.S.; LIMA, I.O.; SANTOS, V.L.; DANTAS, H.F.; DINIZ, M.F.F.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L.M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, p. 381-391, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5 ed., São Paulo: Atheneu, 2010.

FISCHER, D.C.H.; LIMBERGER, R.P.; HENRIQUES, A.T.; MORENO, P.R.H. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, v.17, p. 499-500, 2005.

FONTENELLE, G.B.; COSTA, C.G.; MACHADO, R.D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (*Myrtaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.115, p. 111-133, 1994.

7 Referências Bibliográficas

FRIGHETTO N.; WELENDORF R.M.; SILVA A.M.P.; NAKAMURA M.J.; SIANI, A.C. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, p. 338-343, 2005.

GAUDY, 1987 GAUDY, D. Contribution à l'optimisation des préparations galéniques à base de Noix vomique: mises au point technologique et analytique. Montpellier. *Unité de Formation et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*, 1987. Tese de doutorado.

GAUDY, D.; PUECH, A.; JACOB, M. Role de l'adjuvant dans l'optimisation de la production d'un extrait de Noix Vomique. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, v.66, n.1, p. 5-10, 1991.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. *Plantas medicinais*: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v.30, n.2, p. 338-374, 2007.

GONZAGA, D.T.G.; POLESE, L.F.; MOHAMAD, S.; ROCHA, D.R.; ARAUJO, K.G. L.; FERREIRA, V.F.; SANTOS, W.C. Atividade antioxidante do extrato metanólico de *Eugenia punicifolia* (pedra-ume-caá). In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia.

GONZAGA, D.T.G.; ROCHA, D.R.; SOUZA, R.B.; BRAGA, T.L.; FERREIRA, V.F.; SANTOS, W.C. Atividade Antioxidante do Extrato hexânico de *Eugenia punicifolia* (pedra ume caá). In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia. Livro de Resumos - 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.

GRANGEIRO, M.S.; CALHEIROS-LIMA, A.P.; MARTINS, M.F.; ARRUDA, L.F.; GARCEZ-DO-CARMO, L.; SANTOS, W.C. Pharmacological effects of *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) in cholinergic nicotinic neurotransmission. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 108, p. 26–30, 2006.

GROVER, J.k.;YADAV,S.; VATS, V.B. Medical plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v.81, p.81 -100, 2002.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, v.27, p. 1-93, 2006.

7 Referências Bibliográficas

GUYOT, J.C.; ARNAUD, P.; CECOURT, P.; CASSIERE, J.P.; CHULIA, D.; DUCHENE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, C.; MALFROID, F.; POURCELOT, Y.; RENOUX, R.; SERGOT, S.; TOURE, P.

Comentaires relatifs aux méthodes générales d'analyse des formes orales solides récemment introduites dans les pharmacopées française et européenne rapport d'une commission SFSTP. *S.T.P. Pharma Pratiques*, v.5, n. 6, p. 482-494, 1995.

HAUSNER, H. H. Friction Conditions in a Mass of Metal Powder. *International Journal of Powder Metallurgy*, v.3, n.4, p.7-13, 1967.

HEBERLÉ, G. Desenvolvimento do produto seco por aspersão de *Cecropia glaziovii* Sneth. (Cecropiaceae). Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 2000. Dissertação de mestrado.

HOLM, P. High Shear Mixer Granulators. In: PARIKH, D.M. (Ed.). *Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology*. New York: Marcel Dekker, 1997. Cap.7, p. 151, 1997.

HORISAWA, E.; DANJO, K.; SUNADA, H. Influence of granulation method on physical and mechanical properties, compression behavior, and compactibility of lactose and microcrystalline cellulose granules. *Drug Development Industrial Pharmaceutical*, v. 26, n.6. p. 583-593, 2000.

Home Page. http://www.zipcodezoo.com/Plants/E/Eugenia_punicifolia/Default.asp

HUSSEIN, S.A.M.; HASHEM, A.N.M.; SELIEM, M.A.; LINDEQUIST, U.; NAWWAR, M.A.M. Polyoxygenated flavanoids from *Eugenia edulis*. *Phytochemistry*, v. 64, p. 883 – 889, 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. *Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology*. Rockville: FDA, 1995.

IVESON, S.M.; LISTER, J.D.; HAPGOOD, K.; ENNIS, J.B. Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: a review. *Powder Technology*, v. 117, p. 35, 2001.

JACOB, M.; SOERDIRO, S.; PUECH, A.; DURU, C.; CARVAILES, L.; PELLECUER, J. Contribution à l'étude de stabilité de divers extraits végétaux secs. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, v.59, n.12, p.335-338, 1984.

7 Referências Bibliográficas

JOLY, A.B. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. 2 ed. São Paulo: Nacional, 1975.

JORGE, L.I.F.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA, M.L.P. Anatomia foliar de pedra -ume-caá *Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia puniceifolia* – Myrtaceae. *Acta Amazônica*, v. 30, n.1, p. 49-57, 2000.

KAR, A.; CHAUDHARY, B.K. ; BANDYOPADHYAY, N.G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. *Journal Ethnopharmacological*, v.84, p.105-108, 2003.

KARPOUHTSIS, I., PARDALI, E.; FEGGOU, E.; KOKKINI, S.; SCOURAS, Z.G.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P. Inseticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 1111-1115, 1998.

KONKEL, P.; MIELK, J.B. Association of parameters characterizing the time course of the tableting process on a reciprocating and on a rotary tableting machine for high speed production. *European Journal Pharmaceutical Biopharmaceutical*, v.44, p.289-301, 1997.

KRIKORIAN -MANOUKIAN, A.; RATSIMAMANGA, A.R. Anorexigenic power of a principle extracted from the rotra of Madagascar (*Eugenia jambolana* L.) *competus Rendus de l'Academie des Sciences*, v.6, p. 1350-1352, 1967.

KUSKOSKI, E.M.; VEGA, J.M.; RIOS, J.J.; FETT, R.; TRONCOSO, A.M.; ASUE RO, A.G. Characterization of anthocyanins from the fruits of baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, p. 5450-5454, 2003.

LACHMAN, L., LIEBERMAN, H., KANIG, J. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LANDIN, M.; MARTINEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A.; ROWE, R.C. Effect of batch variation and source of pulp on the properties of microcrystalline cellulose. *International Journal of pharmaceuticals*, n. 91, p. 133-141, 1993.

LANNES, S.C.; MEDEIROS, N.L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, n.1, v.39, 2003.

7 Referências Bibliográficas

LANTZ Jr, R.J. Size Reduction IN: LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed) *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2 ed., New York: Marcel Dekker, v.2, cap. 3, p.107-199, 1989.

LEHIR, A. *Abrégé de Pharmacie Galénique – Formes Pharmaceutiques*. 5^{ème}. Ed. Paris: Masson, 1997.

LEHIR, A. *Farmácia galénica*. Barcelona: Masson, 1995.

LEE, M.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.; YEN, A.Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimmers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, v.44, p. 1343-1349, 1997.

LEVIN, M. Wet granulation: End-Point determination and scale-up. In: SWARBRICK, J. (Ed.) *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3 ed.. New York: Informa Healthcare, p. 4078-4098, 2007.

LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I. SCHWARTZ, J.B. *Pharmaceutical dosage forms; tablet*. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1989.

LIEMBERGER, R.P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A.T.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J.M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia Nativas* do Rio Grande do Sul. *Química Nova*, v.27, n.6, p. 916-919, 2004.

LIMA NETO, S.A. e PETROVICK, P.R. Avaliação dinâmica do intumescimento de desintegrantes: croscarmelose sódica. *Revista Portuguesa de Farmácia*, v. 47, n.2, p. 49-54, 1997.

LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 197-201, 2006.

LINDEN, R. Desenho estatístico de experimentos e metodologia de superfície de respostas aplicados à obtenção de formas farmacêuticas derivadas de *Passiflora edulis*, Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1998. Dissertação de mestrado.

LIST, P.H. e SCHMIDT, P.C. *Pharmaceutical technology*. Florida: Boca Raton, 1989.

7 Referências Bibliográficas

LUNARDI, I.; PEIXOTO, J.L.B.; SILVA, C.C.; SHUQUEL, I.T.A.; BASSO, E.A.; VIDOTTI, G. J. Triterpenic acids from *Eugenia moraviana*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 12, n. 2, p. 180-183, 2001.

JMAGINA, M.B.A. Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia*. Programa de Pós-graduação em Química, UFSC, 2008. Tese de doutorado.

MAHMOUD, I.I.; MARZOUK, M.S.A.; MOHARRAM, F.A; EL-GINDI, M.R.; HASSAN, A.M.K. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. *Phytochemistry*, New York, v.58, p.1239-1244, 2001.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 595-622, 2009.

MAMOSE, Y.; ARAI, Y.; AMAGAYA, S. KOMATSU, Y.; OKADA, M. Improving effects of the extract from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. *Journal of Ethnopharmacol*, v.68, p. 307-314, 1999.

MARCOLONGO, R. Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2003. Dissertação de mestrado.

MASTERS, K. *Spray drying*. 2 ed., New York: John Wiley, 1978.

MASTERS, K. *Spray-drying*. 2 ed., New York: John Wiley, 1976.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, São Paulo, v.24, n.1, p.105-111, 2001.

MONTGOMERY, D.C. *Diseno y análisis de experimentos*. México: Iberoamérica, 1991.

MOREIRA, A.C. Formulações de comprimidos contendo piroxicam. Porto: controle de qualidade. Universidade do Porto – Portugal, 1998. Dissertação de mestrado.

7 Referências Bibliográficas

MORETON, R.C. Tablet excipients to the year 2001: a look into the crystal ball. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.22, n.1, p. 11-23, 1996.

MORETTO, L.D. Fatores que influem na biodisponibilidade de fármacos e medicamentos. *Pharmaceutical technology*, v.3, n.2, p.46-48, 1999.

MORGAN, E. Chemometrics: experimental design. London: John Wiley, 1995.

MOURA, T.F.; GAUDY, D.; JACOB, M.; TEROL, A.; PAUVERT, B.; CHAUVET, A. Vitamin C Spray Drying: Study of the thermal constraint. *Drug Devoleped Industry Pharmaceutics*, v.22, n.5, p. 393-400, 1996.

OLIVEIRA, W.O.; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.20 (4), p. 641-650, 2010.

PECK, C.E.; BALEY, G.J.; McCurdy, V.E.; BANKER, G.S. Tablets formulation and design In: LIBERMAN, H.A.; LACMAN, I.; SCWARTZ, J.B. (ed.) *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1989.

PETROVICK, G. F. Desenvol vimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. *Asteraceae* (marcela). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006. Dissertação de mestrado.

PINO, J.A.; MARBOT, R.; BELLO, A.; URQUIOLA, A. Essential Oil of *Eugenia meladenia* Krug ET Urb. From Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, v.15, p. 256-258, 2003.

PRISTA, L.V.N. *Tecnologia farmacêutica*. 6 ed., Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2003.

RAVI, K.; SEKAR, D.S.; SUBRAMANIAN, S. Hipoglycemic activity of inorganic constituents in *Eugenia jambolana* seed on streptozotocin-induced diabetes in rat. *Biological Trace Element Resear ch*,v. 99, p. 145-155, 2004a.

RAVI, K.; SUBRAMANIAN, S. Anti-diabetic activity of *Eugenia jambolana* seed on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*. V.7, p. 187-191, 2004b.

7 Referências Bibliográficas

RITSCHHEL, W.A.; BAUER-BRANDL, A. Die tablette: handbuch der entwicklung, Herstellugh und qualitatssicherung. v.2. Auflage. Aulendorf: ECV, 2002.

ROCKSLOH, K.; RAPP, F.R.; ABU ABED, S.; MULLER, W. REHER, M.; GAUGLITZ, G.; SCHIMIDT, P.C. Optimization of crushing strength and disintergration time of a high-dose plant extract tablet by neural networks. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.25, n.9, p. 1015-1025, 1999.

ROMAGNOLO, M.B.; DE SOUZA, M.C. O gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, n. 3, p. 529-548. 2006.

SALLAN, E.; IBRAHIM, H.; ABUDAHAB, R.; SHUBAIR, M.; ENAM KALIL. Evaluation of fast disintengrants in terfenadine tablest containing a gas-evolving disintegrant. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.26, n.6, p. 501-507, 1998.

SANTOS, R.I. Metaboli smo básico e origem dos metabólitos secundários. IN: SIMÕES, C.M.O. et al (org) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, p. 403-434, 2003.

SCHMEDA-HIRSCHMAN, G. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.21, p. 183-186, 1987.

SCHUTZ, A.R. Introdução à botânica sistemática. 5 ed. Porto Alegre: Ed UFRGS, 1980.

SENNA, E.M.T.; Desenvol vimento de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto alegre, 1993. Dissertação de mestrado.

SHARMA, S.B.; PRABHU, K.M.; MURTHY, P.S.; DEV, G. Hypoglycaemic and hypolipidemi c effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. *Journal Ethnopharmacollogi cal*. V.85, p. 201-206, 2003.

SHAWGRAW, R.F. Compressed tablets by direct compression IN: LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2. ed., New York: Marcel Dekker, 1989, v. 2, cap.3, p.147-172.

7 Referências Bibliográficas

SILVA, A.L.G.; PINHEIRO M.C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Acta Botanica Brasileira*, v. 21, n. 1, p. 235-247, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROWICK, P.R. *Farmacognosi a: da planta ao medicamento*. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC, 1999.

SIMÕES, O. C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosi a. Da planta ao medicamento*. P.833. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da UFSC/ Editora da Universidade UFRGS. 2002.

SOARES, GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; SCHMIDT, P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extract. *AAPS PharmSciTech*, v. 6, n.3, p. 358, 2005.

SOARES, L.A.L. Obtenção de comprimidos contendo o alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex. Reissek – Celastraceae: Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002. Tese de doutorado.

SOARES, L.A.L. Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. – Euphorbiaceae (quebra-pedra). Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de mestrado.

SONAGLIO, D.; GEORGE, G.O.; PETROWICK, P.R.; BASSANU, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos, IN: SIMÕES, O., SCHENKEL, P.R. (Org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, cap. 12, p.263-288, 2003.

SONAGLIO, D. Padronização de extrato hidroalcoólico das sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* (LAM.) D. C. Compositae (Marcela). Programa de Pós-graduação em Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 1987. Dissertação de Mestrado.

SOUZA, M. da C.; MORIM, M.P. Subtribos *Eugeniinae* O. Berg e *Myrtinae* O. Berg (*Myrtaceae*) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasileira*, v. 22, n. 3, p. 652-683. 2008.

7 Referências Bibliográficas

SPANIOL, B. Comparação do comportamento compressional de granulado contendo produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. entre máquinas de comprimir alternativa e rotativa. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2007. Dissertação de mestrado.

STAMM, A. Process and dosage form controls: formulation factors. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 15, n. 6 e 7, p. 965-974, 1989.

STANIFORTH, J.N; CRYER, S.; AHMED, H.A.; DAVIES, S.P. Aspects of pharmaceutical tribology. In: WELLS, J.I; RUBSTEIN, M.H. *Pharmaceutical technology tableting technology (Compression)*. London: Ellis Horwood, v.2, 1993.

SUCKER, H.; FUCHS, P.; SPEISER, P. (Hrsg.) *Pharmazeutische technologie*, 2, Neubearb. Aufl., Stuttgart; New York: Thieme, 1991.

SUMMERS, M.; AULTON, M., Granulação. In: AULTON, M.E. (Ed.). Delineamento de formas farmacêuticas. 2 ed., Cap. 25, p. 369. Porto Alegre: *Artmed*, 2005.

THE UNITED States Pharmacopeia. Rev. ed Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 2004.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 31. rev. ed. Rockville: *United States Pharmacopeial Convention*, Easton: Mack, 2008.

THEODULOZ , C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Xantine oxidase inhibitory activity of Paraguayan *myrtaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 24, n. 2-3, p. 179-183, 1988.

TIMBOLA, A.K.; SZPOGANICZ, B.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G. A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*. *Fitoterapia*. v.73, p.174 – 176, 2002.

TWICHELL, A. Mistura. In: AULTON, M.E. (Ed.). Delineamento de formas farmacêuticas. 2 ed., Cap. 13, p. 192. Porto Alegre: *Artmed*, 2005.

VAN KAMP, H.V. BOLHUIS, G.K.; LERCK, C.F. Optimization of a formulation based on lactoses for direct compression. *Acta Pharmaceutica Technology* , v. 34, n. 1, p. 11-16, 1988.

7 Referências Bibliográficas

VASCONCELLOS, E.A.; MEDEIROS, M.; RAFFIN, F.N., MOURA, T.F. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão de *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n.15, v.3, p. 243-249, 2005.

VASCONCELOS, A.G.; BRANQUINHO, F.B.; SANCHEZ, C.; LAGE, C.L.S. fitofármaco, fitoterápico, plantas medicinais: o reducionismo e a complexidade na produção do conhecimento científico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, p. 103-105, 2002.

VELAZQUEZ, E.; TOURNIER, H.A.; MORDUJOVICH, P.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G.R. Anti oxidant activity of Paraguayan plant extracts. *Fitoterapia*, v.74, p. 91-97, 2003.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Recursos genéticos de plantas medicinais do Cerrado: uma compilação de dados. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 3, n. 1, p. 13-36. 2000.

VIKRANT, V.; GROVER, J.K.; TANDON, N.; RATHI, S.S.; GUPTA, N. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolana* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 76, n. 2, p. 139-143, 2001.

VILA JATO, J.L. (Ed). *Tecnologia farmacêutica*. Madrid: Síntesis, 2001.

VILA JATO, J.L. *Tecnologia farmacêutica – formas farmacêuticas*. Madri: síntesis, 1997.

VILA, R.; IGLESIAS, J.; CÃNIGUERAL, S.; SANTANA, A.I.; SOLÍS, P.; GUPTA, M.P. Constituents and biological activity of the essential oil of *Eugenia acapulcensis* Steud. *Journal of Essential Oil Research*, v.16, p. 384-386, 2004.

VOIGT, R. *Pharmazeutische technologie für Studium und beru*, 10, vollst., überarb. Aufl., Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2005.

VOIGT, R.; FEHR, A. *Pharmazeutische Technologie*. 9. Überarb. Aufl., Stuttgart: Deutscher apotheker, 2000.

7 Referências Bibliográficas

VOIGT, R. *Pharmazentische Technologie*. 9. Uberarb. Aufe., Stuttgart: Wissenschaftliche, 1993.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis*. Berlin: Springer, 1996.

WANDE, A.; WELLER, P.J. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 2 ed., London: pharmaceutical, 1994.

WENIGER, B. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. *Journal of London*, v. 66, n. 3, p. 180-184, 2005.

WENIGER, B. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v.32, n.1-3, 1991.

WILSON, G.W.; O'BRIEN, M.M.; GADEK, P.A.; QUINN, C.J. *Myrtaceae* revisited: A reassessment of intrafamilial groups. *American Journal of Botany*. V. 11, p. 2013-2025, 2001.

WRAY, P.E. The physics of tablet compactation revisited. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.18, p. 627-658, 1992.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINELI FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZHI-CHEN, L. General control methods for vegetable drugs. Geneve: WHO, 1980, p. 31-33.)

8 Anexos

Tabela A1 - Distribuição granulométrica do PSA de *Eugenia punicifolia*

Faixa granulométrica (µm)	Diâmetro médio (µm)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência acumulada (%)
0 – 3,5	1,75	15	2,74	2,74
3,5 -7	5,25	60	10,96	13,71
7 – 10,5	8,75	102	18,64	32,35
10,5 – 14	12,25	133	24,31	56,67
14 – 17,5	15,75	95	17,36	74,04
17,5 -21	19,25	69	12,61	86,65
21 – 24,5	22,75	39	7,12	93,78
24,5 – 28	26,25	23	4,20	97,98
28 – 31,5	29,75	5	0,91	98,90
31,5 – 35	33,25	2	0,36	99,26
35 – 38,5	36,75	0	0	99,26
38,5 – 42	40,25	3	0,54	99,81
42 – 45,5	43,75	1	0,18	100,00
Total		547	100,00	

Tabela A2 - Distribuição granulométrica dos granulados GPSA30 de *Eugenia punicifolia*

Faixa granulométrica (µm)	Diâmetro médio (µm)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência acumulada (%)
850-710	780	39,11	38,50	38,50
710 - 600	655	14,20	13,98	52,49
600 – 500	550	19,05	18,75	71,24
500 – 425	462,5	11,56	11,38	82,63
425 – 250	337,5	17,64	17,36	100
Total		101,584	100	

8 Anexos

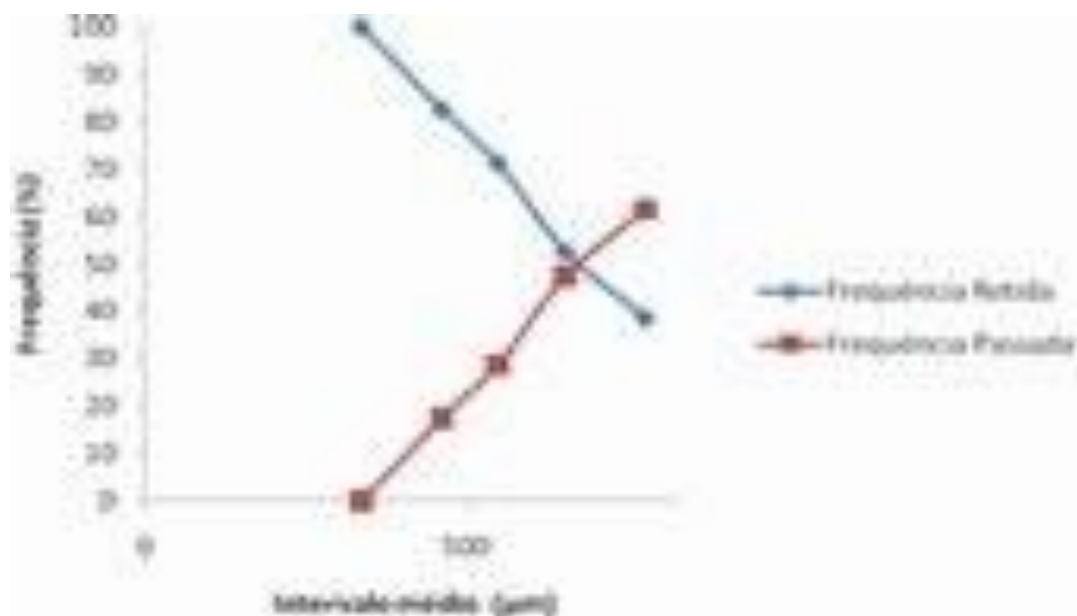


Figura 1 - Curvas de retenção e de passagem do GPSA30 de *Eugenia punicifolia*

Tabela A3 - Distribuição granulométrica dos granulados GPSA50 de *Eugenia punicifolia*

Faixa granulométrica (µm)	Diâmetro médio (µm)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência acumulada (%)
850-710	780	44,25	32,99	32,99
710 – 600	655	20,05	14,95	47,95
600 – 500	550	27,69	20,65	68,60
500 – 425	462,5	16,28	12,14	80,75
425 – 250	337,5	25,81	19,24	100
Total		134,108	100	

8 Anexos

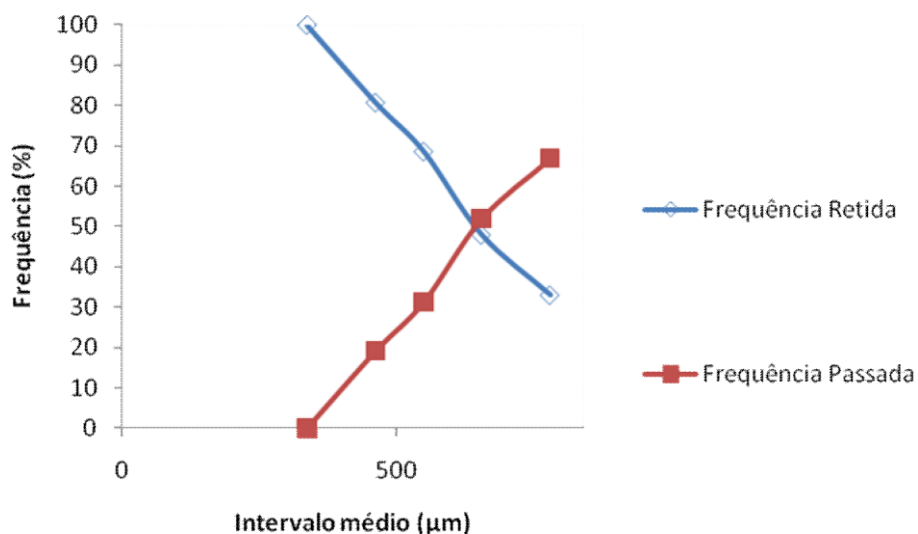


Figura 02 - Curvas de retenção e de passagem do GPSA50 de *Eugenia punicifolia*

Tabela A4 - Distribuição granulométrica dos granulados GPSA70 de *Eugenia punicifolia*

Faixa granulométrica (µm)	Diâmetro médio (µm)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência acumulada (%)
850-710	780	40,63	31,99	31,99
710 – 600	655	18,31	14,42	46,41
600 – 500	550	26,34	20,74	67,15
500 – 425	462,5	15,62	12,30	79,45
425 – 250	337,5	26,09	20,54	100
Total		127,017	100	

8 Anexos

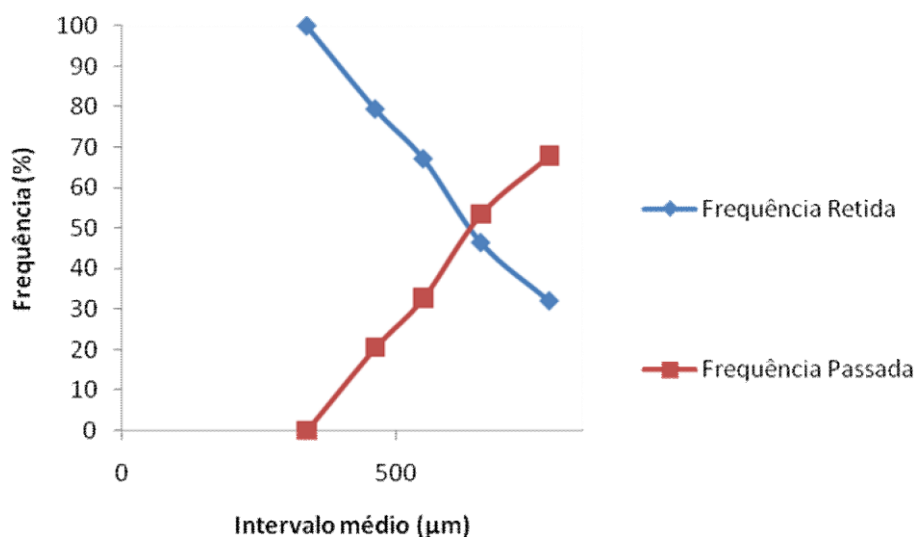


Figura 03 - Curvas de retenção e de passagem do GPSA50 de *Eugenia puniceifolia*

Tabela A5 - Composição granulométrica ponderal do GRADJ a partir das informações granulométricas do granulado do PSA (GPSA)

Faixa granulométrica (µm)	Frequência absoluta (n)			Frequência absoluta do GRADJ (n)
	GPSA30	GPSA50	GPSA70	
710 – 850	39,11	44,25	40,63	48,45
600 – 710	14,20	20,05	18,31	20,135
500 – 600	19,05	27,69	26,34	28,99
425 – 500	11,56	16,28	15,62	17,12
250 – 425	17,64	25,81	26,09	27,49
Total	101,58	134,11	127,02	142,18