

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

**Obtenção de comprimidos contendo alto teor de  
produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia*  
Mart. ex. Reissek. - Celastraceae.  
Desenvolvimento tecnológico de produtos  
intermediários e final.**

LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

PORTO ALEGRE, 2002

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

**Obtenção de comprimidos contendo alto teor de  
produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia*  
Mart. ex. Reissek. - Celastraceae.  
Desenvolvimento tecnológico de produtos  
intermediários e final.**

Tese apresentada por Luiz Alberto Lira Soares para  
obtenção do grau de Doutor em Ciências  
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick

Co-Orientadores: Prof. Dr. George González Ortega

Prof. Dr. Peter Christian Schmidt

Tese defendida e aprovada em 19 de julho de 2002, no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, perante Comissão Examinadora constituída por:

Profa. Dra. ELENARA LEMOS SENNA

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. HELDER FERREIRA TEIXEIRA

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. AIRTON MONZA DA SILVEIRA

Universidade Luterana do Brasil

Prof. Dr. PAULO EDUARDO MAYORGA BORGES

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

S 676o

Soares, Luiz Alberto Lira

Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. - Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final.

Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. programa de Pós-graduação

1. *Maytenus ilicifolia*: produto seco nebulizado. 2. Espinheira-santa. 3. Tecnologia farmacêutica. 4. Comprimidos. 5. Controle de qualidade. I. Petrovick, Pedro Ros. II. González Ortega, George. III. Schmidt, Peter Christian. IV. Título.

CDU: 615.453

Bibliotecária Responsável:

Claudia da Silva Gonçalves, CRB 10/1012

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Pedro Ros Petrovick pela orientação, oportunidades, estímulo e amizade durante os vários anos de convívio.

Ao Professor Dr. George González Ortega, pelos ensinamentos, disponibilidade e pela amizade no decorrer do trabalho.

Ao Professor Dr. Peter Christian Schmidt, que possibilitou a realização de parte do trabalho experimental e pelas sugestões durante a realização do intercâmbio.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, pela formação, em especial a Professora Dra. Valquíria Link Bassani, pelo estímulo, contribuições e amizade.

À CAPES e ao DAAD que tornaram possível a execução deste trabalho.

Aos colegas do LDG: mestrandos, doutorandos e bolsistas de iniciação científica, pela colaboração, companheirismo e bons momentos compartilhados durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos bolsistas de iniciação científica Leticia Wehrmann, Alice Louzada e Alessandro Maia.

Aos funcionários da Faculdade Farmácia, especialmente a Maribete, pela disponibilidade e auxílio técnico.

Aos colegas do Departamento de Tecnologia Farmacêutica da Universidade de Tübingen, que me receberam calorosamente e sempre me apoiaram, em especial a Ursula Dowe pela amizade.

Aos amigos Ana Lúcia Gomes, Ângela, Edna, Edson, Francilene, Hans Richter, Istefi, Kellen, Leticia, Marcus, Míriam Knorst, Rafael, Raquel, Sílvia Lopes, Tatiane, Wellington, pela compreensão e amizade.

## SUMÁRIO

Lista de figuras.....	xi
Lista de tabelas.....	xv
Resumo.....	xix
Abstract.....	xxi
Introdução geral.....	01
<b>CAPÍTULO I - Avaliação de agentes precipitantes de taninos.....</b>	<b>09</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Revisão da literatura.....</b>	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAIS E METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Materiais.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Metodologia.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.1 Avaliação da formação de complexos com catequina (substância referênciada).....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.2 Avaliação da determinação de taninos totais em solução extrativa de <i>M. ilicifolia</i>.....</b>	<b>27</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Avaliação da capacidade de complexação de catequina com povidona..</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Avaliação do teor de taninos totais em solução extrativa de <i>Maytenus ilicifolia</i> empregando povidona e caseína.....</b>	<b>47</b>
<b>CAPÍTULO II - Desenvolvimento e validação de metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência.....</b>	<b>61</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>1.1. Revisão da literatura.....</b>	<b>65</b>

<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>70</b>
<b>Manuscrito: Development and validation of a HPLC method for determination of Catechin and Epicatechin in aqueous extracts from <i>Maytenus ilicifolia</i> leaves.....</b>	<b>71</b>
<b>CAPÍTULO III - Produção e caracterização do produto seco por aspersão....</b>	<b>87</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>93</b>
<b>3. MATERIAIS E METODOLOGIA.....</b>	<b>94</b>
<b>3.1 Materiais.....</b>	<b>94</b>
<b>3.2 Metodologia.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2.1 Material vegetal.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2.2 Matéria-prima vegetal.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2.3 Solução extrativa.....</b>	<b>98</b>
<b>3.2.4 Produto seco por aspersão.....</b>	<b>100</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>113</b>
<b>4.1 Material vegetal.....</b>	<b>113</b>
<b>4.2 Solução extrativa.....</b>	<b>115</b>
<b>4.3 Produto seco por aspersão.....</b>	<b>118</b>
<b>CAPÍTULO IV - Produção e otimização de comprimidos contendo PSA granulado.....</b>	<b>135</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>137</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>139</b>
<b>Artigo: Física da Compressão.....</b>	<b>141</b>
<b>Manuscrito: Efeito da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal.....</b>	<b>159</b>

<b>Manuscrito: Dry Granulation and Compression of Spray-Dried Plant Extracts.....</b>	<b>185</b>
<b>Manuscrito: Optimization of Compression of Granulate Containing a Spray Dried Plant Extract.....</b>	<b>218</b>
<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>237</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>247</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>253</b>
<b>ANEXOS - CAPÍTULO I.....</b>	<b>269</b>
<b>CURRICULUM VITAE.....</b>	<b>275</b>
<b>PARECERES DA BANCA EXAMINADORA.....</b>	<b>281</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Estrutura dos taninos hidrolisáveis.....	13
Figura 1.2	Estrutura dos taninos condensados.....	14
Figura 1.3	Tipos de complexação tanino-proteína.....	15
Figura 1.4	Teor percentual de catequina presente no sobrenadante em função da concentração de povidona.....	35
Figura 1.5	Representação gráfica da redução na concentração molar de catequina em função da concentração molar de povidona.....	37
Figura 1.6	Influência do pré-tratamento com povidona sobre a fração de catequina ligada.....	38
Figura 1.7	Efeito do pH sobre a fração de catequina ligada à PVP e caseína.....	39
Figura 1.8	Efeito da razão povidona/catequina sobre a fração de catequina ligada.....	40
Figura 1.9	Efeito da razão caseína/catequina sobre a fração de catequina ligada.....	40
Figura 1.10	Superfície de resposta para a absorvância, em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.....	42
Figura 1.11	Curva de isorrespostas para a absorvância, em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.....	43



Figura 1.12	Superfície de resposta para a fração de catequina ligada, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.....	45
Figura 1.13	Curva de isorrespostas para a fração de catequina ligada, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.....	46
Figura 1.14	Teor de taninos totais na solução extrativa empregando diferentes quantidades dos agentes complexantes.....	48
Figura 1.15	Perfil de complexação dos taninos calculado através dos taninos totais presentes em folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i> em função da concentração de povidona. Determinações realizadas após reação com o reagente de Folin-Denis em 750 nm e por leitura direta em 280 nm sem o reagente.....	49
Figura 1.16	Superfície de resposta para a absorvância da solução extrativa (SE) em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de SE e povidona.....	51
Figura 1.17	Curva de isorrespostas para a absorvância da solução extrativa (SE) em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de SE e povidona.....	52
Figura 1.18	Superfície de resposta para a fração da solução extrativa (SE) ligada, após complexação de diferentes concentrações de povidona e SE.....	53
Figura 1.19	Superfície de resposta para a fração da solução extrativa (SE) ligada, após complexação de diferentes concentrações de povidona e SE.....	54

Figura 1.20	Cromatogramas da solução extrativa sem tratamento, solução extrativa após tratamento com 350 mg de caseína e solução extrativa após tratamento com 60 mg de povidona.....	56
Figura 1.21	Cromatograma da solução padrão aquosa de catequina e rutina com detecção em 280 nm. ....	57
Figura 1.22	Cromatograma da solução padrão de rutina e catequina com detecção em 352 nm, após tratamento com povidona.....	58
Figura 3.1	Representação esquemática da preparação das amostras para a avaliação da exatidão.....	106
Figura 3.2	Tensiômetro KRÜSS - K121.....	111
Figura 3.3	Representação esquemática do equipamento para avaliação dinâmica de sorção de umidade.....	112
Figura 3.4	Isoterma de sorção de umidade para o PSA, empregando o tensiômetro Krüss-K121.....	120
Figura 3.5	Varição na massa da amostra de PSA em função da umidade relativa.....	121
Figura 3.6	Isotermas de sorção e de dessorção de umidade para o produto seco por aspersão.....	122
Figura 3.7	Representação gráfica da distribuição granulométrica do PSA obtida através de difração a laser.....	124
Figura 3.8	Fotomicrografias do produtos seco por aspersão.....	125

Figura 3.9	Escoamento dinâmico do PSA.....	128
Figura 3.10	Cromatograma do produto seco por aspersão.....	130
Figura 3.11	Curvas de calibração e limites de confiança para ambos os picos correspondentes a catequina e epicatequina no produto seco por aspersão.....	131
Figura 3.12	Resíduos padronizados para as regressões das curvas de calibração para o pico 1 (catequina) e para o pico 2 (epicatequina).....	131
Figura A1.	Espectros de varredura da catequina e da solução extrativa de <i>M. ilicifolia</i> .....	271

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Soluções e condições utilizadas para avaliação da influência do pH sobre a formação de complexos entre povidona e catequina.....	25
Tabela 1.2	Matriz do desenho composto central para avaliação do perfil de complexação entre catequina e povidona.....	26
Tabela 1.3	Matriz do desenho composto central para avaliação do perfil de complexação entre a solução extrativa e povidona.....	32
Tabela 1.4	Quantidades dos agentes complexantes testadas para cada 10 mL de solução extrativa.....	33
Tabela 1.5	Programa do gradiente de eluição.....	34
Tabela 1.6	Resumo dos resultados da análise estatística para as variáveis dependentes.....	41
Tabela 1.7	Resumo da avaliação estatística das equações simplificadas para descrever a resposta de fração de catequina ligada.....	44
Tabela 1.8	Resumo dos resultados da análise estatística para as variáveis dependentes.....	50
Tabela 1.9	Áreas dos picos da catequina e da epicatequina antes e depois do tratamento com povidona, determinadas em 280 e 352 nm.....	58
Tabela 2.1	Resumo de métodos de determinação de catequinas através de CLAE.....	65

Tabela 2.2	Testes possíveis para validação de um método analítico.....	67
Tabela 3.1	Condições operacionais de secagem.....	101
Tabela 3.2	Soluções saturadas com precipitado para obtenção das atmosferas de umidades relativas.....	111
Tabela 3.3	Perda por dessecação do material vegetal em função do tempo de armazenamento.....	113
Tabela 3.4	Teor de extrativos da matéria-prima vegetal.....	114
Tabela 3.5	Resíduos secos de soluções extrativas aquosas de <i>M. ilicifolia</i> .....	115
Tabela 3.6	Teor de taninos totais para solução extrativa, em comparação com dados relatados na literatura.....	117
Tabela 3.7	Rendimento da operação de secagem por aspersão.....	119
Tabela 3.8	Umidade residual determinada do produto seco por aspersão em função do tempo de armazenamento.....	119
Tabela 3.9	Teor de açúcares e ácidos orgânicos no produto seco por aspersão..	122
Tabela 3.10	Valores estimados para histerese da isoterma de dessorção de umidade em função da isoterma de sorção.....	123
Tabela 3.11	Propriedades tecnológicas do PSA em comparação com os dados relatados pela literatura.....	127
Tabela 3.12	Comportamento de escoamento do produto seco por aspersão.....	128

Tabela 3.13	Análise estatística das curvas de calibração dos picos correspondentes a catequina e epicatequina no produto seco por aspersão.....	130
Tabela 3.14	Resultados para o ensaio de recuperação para ambas substâncias referência presentes nas soluções extrativas de <i>Maytenus ilicifolia</i> .....	132
Tabela 3.15	Resultados para o ensaio de precisão intermediária do método por CLAE para determinação de catequina e epicatequina no PSA.....	132
Tabela 3.16	Comparação entre as áreas dos picos da catequina e epicatequina na solução extrativa e no PSA.....	134
Tabela A1.	Matriz experimental do desenho composto central para avaliação da complexação de catequina e povidona em diferentes concentrações.	272
Tabela A2.	Matriz experimental do desenho composto central para avaliação da complexação da solução extrativa e povidona em diferentes concentrações.....	273

## RESUMO

### **Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. - Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final.**

As folhas de *Maytenus ilicifolia* são amplamente utilizadas na medicina tradicional brasileira no tratamento de distúrbios gástricos. Após a comprovação de sua eficácia e segurança, a referida droga vegetal tem sido objeto de diversos estudos com a finalidade de estabelecer parâmetros para o controle de qualidade. Neste sentido, foi avaliada a viabilidade do desenvolvimento de um método analítico fundamentado na precipitação de taninos empregando povidona como agente seqüestrante. Os dados revelaram que a remoção de taninos em solução é satisfatória quando empregada a povidona insolúvel. Foi observado que o polímero também é capaz de precipitar outros polifenóis além dos taninos presentes na solução extrativa de *M. ilicifolia*. Entretanto, as interações do polímero ocorrem preferencialmente com os derivados catéquicos. Adicionalmente foi desenvolvido e validado um método por CLAE para separação e quantificação de catequina e epicatequina em produtos derivados de *M. ilicifolia*. Não foram detectadas variações nas áreas dos picos ou nos tempos de retenção durante os ensaios de avaliação do método, sugerindo que as condições cromatográficas empregadas são satisfatórias. Para viabilizar a preparação de produto seco por aspersão (PSA) em torre de secagem piloto munida de aspersor rotatório, foi necessária a concentração da solução extrativa. A operação foi realizada sob pressão reduzida até alcançar um teor de sólidos mínimo de 15 % (m/m). A operação de secagem da solução concentrada apresentou rendimento de 90 % e o PSA obtido apresentou partículas esféricas, com superfície rugosa e tamanho médio de 22,5 µm. A caracterização tecnológica do material revelou que as suas propriedades tecnológicas, tais como, densidades, compressibilidade e fluxo, foram incrementadas quando comparados com o produto preparado em equipamento de bancada. Entretanto, estas modificações não foram suficientes para viabilizar sua compressão direta. Assim sendo, o material foi compactado em máquina de comprimir e em rolos para produção de grânulos. A análise do perfil compressional do PSA e dos granulados, empregando o modelo de Heckel, revelou

que o aumento da força de compactação durante a operação de granulação foi o principal responsável pela diminuição no potencial de deformação plástica dos grânulos. Como consequência, a recompressão dos grânulos em máquina de comprimir originou compactos com dureza inferior àqueles preparados diretamente do complexo farmacêutico. Enquanto o PSA apresentou reduzida tendência ao rearranjo particular nos estágios iniciais da compressão, os grânulos sofreram intensa acomodação decorrente da fragmentação e formação de novas pontes, assumindo comportamento plástico em pressões de compressão mais elevadas. Por fim, comprimidos contendo teor elevado de granulado de PSA foram preparados utilizando como adjuvantes a celulose microcristalina, o dióxido de silício coloidal e a croscarmelose sódica. A influência da concentração de dióxido de silício coloidal e croscarmelose sódica na formulação, sobre as respostas de dureza, friabilidade e tempo de desintegração dos comprimidos foram avaliadas através de um Desenho Composto Central. Os dados experimentais foram analisados estatisticamente, utilizando os modelos matemáticos para gerar superfícies de resposta. Os resultados indicaram que a concentração de dióxido de silício coloidal foi inversamente relacionada às respostas de dureza e friabilidade, enquanto que a concentração de croscarmelose sódica foi a principal responsável pela redução no tempo de desintegração. As condições ótimas foram selecionadas através da sobreposição dos gráficos, buscando uma formulação com menor tempo de desintegração, menor friabilidade e o máximo de dureza. A formulação eleita deve conter 1,2 % (m/m) de dióxido de silício coloidal e 5,0 % (m/m) de croscarmelose sódica. Nestas condições os comprimidos apresentaram dureza de 107,9 N, friabilidade de 0,56 % (m/m) e desintegração máxima em 6,8 min.

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*; fitomedicamentos; taninos; polivilpirrolidona-CLAE; validação; produto seco por aspensão; granulação seca; compressão, análise de Heckel; comprimidos; otimização; desenho composto central.



## ABSTRACT

**Obtainment of tablets containing high amount of a spray-dried product from *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. - Celastraceae. Technological development of intermediate and final products.**

The leaves of *Maytenus ilicifolia* are widely used within the traditional Brazilian medicine due to its properties against gastric disorders. Once proved its efficacy and safety, this vegetable drug has been the object of several studies to establish the basis for quality control. Taking this into consideration, it was necessary to evaluate the feasibility of developing an analytical method based on the precipitation of tannins, by using polyvinylpyrrolidone for precipitation. The data have shown that the removal of the tannins in solution was successful when insoluble polyvinylpyrrolidone was used. Hereby it was observed that the polymer has also the ability to precipitate other polyphenols besides the tannins from the aqueous solution of *M. ilicifolia*. However, the interactions of the polymer happened mostly with the condensed tannins. Further it was developed and also validated an HPLC method to separate and quantify catechin and epicatechin present in aqueous extracts of *M. ilicifolia*. No significant variations of peak areas or retention times were observed when the evaluation of the method was executed, showing satisfactory chromatographic conditions. In order to make a spray dried extract (SDE) using a spray-drier fitted out with a rotary atomizer, it was necessary to concentrate the extractive solution. This operation had been performed under reduced pressure until a content of 15 % solids was achieved. The drying of the concentrated solution lead to a yield of 90 %, and the obtained SDE presented spherical particles, which have a rough surface and a mean particle size of 22,5  $\mu\text{m}$ . The technological characterization of the SDE showed that attributes such as densities (tap and bulk), compressibility and flow, have been improved when compared to the product prepared using a mini spray-drier supplied with a pneumatic nozzle. However, these modifications were not enough to enable its direct compression. Therefore, the material was compacted to produce granules after slugging or roller compaction. The compressional analysis of the SDE and each granule batch using the Heckel equation proved that the increase in the compaction force once processing the granulation was the main factor to reduce the material's

ability to undergo plastic deformation. Consequently, the recompression of the granules in a tablet press led to compacts with a lower crushing strength compared to that prepared by direct compression of the pharmaceutical complex. Whereas the SDE has shown a reduced tendency to particle rearrangement at early stage of compression, the granules showed an intense fragmentation and rebound behavior, presenting a plastic behavior when higher compaction pressures were used. Finally, tablets containing a high dose of granulated spray dried extract of *M. ilicifolia* were prepared by using the following excipients: microcrystalline cellulose (filler/binder), colloidal silicon dioxide (glidant and moisture adsorber) and cross-linked carboxymethylcellulose (disintegrant). The influences of colloidal silicon dioxide (CSD) and cross-linked carboxymethylcellulose (CMC-Na) on the tablet hardness, disintegration time and friability were evaluated by a central composite design. The data were analyzed statistically and mathematical models were used to create response surfaces. The results have indicated that the concentration of CSD shows an inverse relation to the responses of hardness and friability, while the concentration of CMC-Na was the most important factor that caused a reduction of the time necessary for total disintegration. The optimal conditions for processing were chosen by the overlapping of graphics, taking into consideration that the formulation should present a minimum of disintegration time, lower friability and a maximum of hardness. Thus, it was found that the best formulation should have a content of 1.2% (w/w) of CSD and 5.0% (w/w) of CMC-Na. Regarding these conditions, the tablets have shown a hardness of 107.9 N, friability of 0.56% (w/w) and a disintegration time of 6.8 min.

**Keywords:** *Maytenus ilicifolia*, Phytomedicines, tannins, polyvinylpyrrolidone, HPLC, validation, spray dried extract, dry granulation, compression, Heckel analysis, tablet, optimization, central composite design.

## INTRODUÇÃO GERAL

As folhas *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. *Celastraceae* têm seu uso amplamente difundido no Brasil. Na medicina tradicional, onde a espécie é conhecida por espinheira-santa, cancorosa, cancerosa, coromilho-do-campo, salva-vidas, espinho-de-deus e espinheira-divina, tem sido empregada como analgésica, antiasmática, anti-séptica, cicatrizante, contraceptiva, diurética, em gastralgias e no tratamento de tumores estomacais (SCHULTZ, 1975; SIMÕES *et al.*, 1998). A literatura relata ainda seu emprego no controle da natalidade no Paraguai (SCHWARTZMAN *et al.*, 1976; ARENAS *et al.*, 1977) e como antiasmático, sialagogo e anti-séptico na Argentina (AHMED *et al.*, 1981).

Atualmente, esta droga vegetal faz parte de inúmeros preparados comercializados, principalmente destinados ao tratamento de distúrbios gástricos. Porém, boa parte destes produtos presente no mercado brasileiro foi introduzida numa época em que não haviam exigências específicas para seu registro.

Assim, com o objetivo de regulamentar o registro de fitomedicamentos no Brasil, o Ministério da Saúde através de seus órgãos de vigilância sanitária, tem publicado uma série de regulamentações (MARQUES e PETROVICK, 2001). Salienta-se a publicação da Portaria nº 6 de 1995 (BRASIL, 1995). A partir de então os critérios de qualidade destes produtos têm se modernizado significativamente. Mais recentemente, com a publicação da RDC nº 17 de 2000, foram ratificadas as exigências para o registro de fitomedicamentos no Brasil (BRASIL, 2000). Para sua entrada no mercado o produto deve atender a pré-requisitos de qualidade similares aos dos medicamentos contendo substâncias ativas oriundas de outras fontes.

Embora as folhas de *Maytenus ilicifolia* tenham demonstrado eficácia e segurança comprovadas cientificamente (CARLINI, 1988), a droga está incluída na classe de produtos na qual a substância, ou o grupo de substâncias, responsável pela atividade terapêutica ainda não está totalmente esclarecida (GONZÁLEZ ORTEGA, 1993).

Nestes casos, a principal alternativa para assegurar a qualidade é através da quantificação de substâncias marcadoras. Para tanto, estes compostos devem estar presentes tanto no material vegetal quanto em todos os produtos originados durante o seu ciclo de processamento (SONAGLIO *et al.*, 2001). Para a droga de *M. ilicifolia* os taninos condensados, presentes na folhas, têm sido relacionados com a respectiva atividade antiúlcera (EZAKI *et al.*, 1985; CARLINI *et al.*, 1988). Deste modo, são freqüentemente utilizados como grupo de substâncias marcadoras para o controle de qualidade seja da matéria-prima vegetal ou de seus produtos derivados (FRANCO, 1990; CARVALHO, 1997; MARTINS, 1998). A técnica preconizada pela literatura oficial para quantificação de taninos, fundamenta-se na capacidade destes compostos de formar complexos insolúveis com proteínas, utilizando o pó de pele como agente complexante (HARTKE e MUTSCHLER, 1986; WHO 1991; 1998). Problemas com este reagente conduziram a realização de testes de adaptação da técnica para *M. ilicifolia*, adotando a caseína como agente complexante (CARVALHO, 1997). Na etapa de validação da técnica, MARTINS (1998) constatou a presença de erros sistemáticos e altos índices de variabilidade das respostas. Tais comportamentos podem estar relacionados com a eficiência ou a estabilidade do complexo tanino-caseína. Estudos têm revelado que o emprego de polímeros sintéticos, tais como a povidona e polietilenoglicol, pode ser mais efetivo na formação de complexos com taninos do que diferentes derivados protéicos (LUCK *et al.*, 1994). Sua utilização, no entanto, depende da validação do método em relação ao objeto de análise.

Considerando o desenvolvimento tecnológico de fitomedicamentos, a secagem de soluções extrativas tem ganhado destaque na literatura científica (RENOUX *et al.*, 1996; PALMA, *et al.*, 1999; DE SOUZA *et al.*, 2000). A principal vantagem da obtenção de produtos secos consiste da minimização de problemas relacionados com a instabilidade de formas líquidas, tais como hidrólise de compostos de interesse, variações de pH, crescimento microbiano, entre outros. Entre as principais técnicas de secagem de soluções extrativas, tem se destacado a secagem por aspersão devido ao baixo custo de operação, reduzido risco de degradação de compostos durante a execução da operação, e maior versatilidade no direcionamento das características finais dos produtos (LIST e SCHMIDT, 1984; WENDEL e ÇELIK, 1998).

Embora os produtos secos por aspersão possam ser empregados como forma farmacêutica final, diversas pesquisas têm demonstrado que os mesmos podem ter aplicação vantajosa como intermediários tecnológicos no desenvolvimento de formas farmacêuticas finais. Apesar desta operação corresponder à adição de uma ou mais etapas no ciclo de transformação total, esta estratégia se justifica pela obtenção de medicamentos com melhor forma de apresentação, uniformidade de dosagem, biodisponibilidade, estabilidade e maior densificação. Devido a sua natureza pulveréa, a compressão de produto seco por aspersão tem sido amplamente investigada (DE SOUZA, 1999; PALMA *et al.*, 1999; ROCKSLOH *et al.*, 1999; LINDEN *et al.*, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2001).

Entretanto, estes pós nem sempre apresentam características reológicas e de compressibilidade que viabilizem a compressão direta. Como agravante, proporções elevadas destes produtos na formulação são freqüentemente necessárias para que a dose efetiva seja alcançada (RENOUX *et al.*, 1996; LINDEN *et al.*, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2001).

Entre as estratégias tecnológicas para possibilitar a obtenção de formas farmacêuticas compactas a partir destes produtos, destaca-se a sua transformação em granulados, especialmente através da via seca (DE SOUZA *et al.*, 1999; ROCKSLOH *et al.*, 1999; PALMA *et al.*, 1999; COUTO, 2000).

Naturalmente, a inclusão da operação de granulação no processo acarreta num maior número de passos tecnológicos, exigindo maior conhecimento e controle dos parâmetros operacionais, responsáveis pela determinação das propriedades finais do produto do ciclo. Porosidade, compressibilidade, densidade e distribuição granulométrica são apenas algumas das características dos granulados, dependentes das condições em que foi executada a sua preparação. Adicionalmente, as particularidades do granulado podem modificar fortemente as propriedades finais de comprimidos que os contém, tais como friabilidade, dureza, desintegração e/ou dissolução.

Em face destas considerações, o presente trabalho teve, como objetivo geral o desenvolvimento tecnológico de comprimidos contendo alta concentração de produto seco por aspersão, obtido a partir de solução extrativa das folhas de

*Maytenus ilicifolia*, contemplando, como um dos passos de transformação, a obtenção de granulados por via seca.

Para o alcance deste objetivo avaliou-se a possibilidade de utilizar a povidona como agente precipitante de taninos. Para avaliar de forma mais precisa o comportamento de complexos formados entre povidona e taninos, a catequina foi empregada como substância de referência em estudo preliminar de precipitação. Sob este ponto de vista foi montado protocolo de validação para o método.

Paralelamente foi desenvolvido e validado um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação de catequina e epicatequina em produtos derivados de *Maytenus ilicifolia*.

A produção de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* foi realizada empregando torre de secagem por aspersão munida de aspersor rotatório. O produto foi caracterizado e suas especificações comparadas com outros produzidos anteriormente, sob condições diferentes.

Para adequar suas propriedades tecnológicas aos próximos passos de transformação, o produto seco obtido foi granulado empregando-se a operação de granulação por via seca. A operação foi conduzida em compactador de rolos e por produção de briquetes em máquina de comprimir.

Após estabelecimento das condições operacionais da granulação e avaliação dos granulados, os mesmos foram empregados em estudo de otimização de formulação de comprimidos contendo alto teor do granulado.

Para a sua apresentação, o presente trabalho o trabalho foi dividido em quatro capítulos:

- 1 – Avaliação de agentes precipitantes de taninos presentes na solução extrativa de *M. ilicifolia*

- 2 – Desenvolvimento e validação de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação de catequina e epicatequina em produtos derivados de *M. ilicifolia*
  
- 3 – Produção e caracterização de produto seco por aspensão de *M. ilicifolia*
  
- 4 – Produção e otimização de comprimidos contendo o PSA granulado.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, produtos farmacêuticos elaborados a partir de plantas medicinais têm encontrado crescente aceitação terapêutica, quer como fitomedicamentos ou como produtos fitoterápicos, componentes de outras associações medicamentosas. Em ambos os casos, os produtos devem apresentar qualidade farmacêutica constante, comprovada através de suas eficácia e segurança clínicas e de suas especificações técnicas (LOEW *et al.*, 1999; BRASIL, 2000; GAEDCKE e STEINHOFF, 2000).

O estabelecimento de parâmetros, para a matéria-prima responsável pela atividade terapêutica, é fundamental para que a qualidade de um medicamento seja assegurada. Quando se tratam de substâncias de origem sintética, os processos de síntese atuais conduzem a uma homogeneidade de características que atende às especificações técnicas sanitárias. Para matérias-primas vegetais isto não é simples de ser alcançado, pois a sua qualidade depende de fatores tais como a variabilidade biológica, formas de cultivo e de coleta, além de alterações introduzidas com as operações posteriores, tais como secagem, armazenamento e moagem, que podem modificar, significativamente, a complexa composição do material vegetal e/ou de seu produto derivado. Assim, para que haja reprodutibilidade na qualidade de fitomedicamentos é necessário que um rígido protocolo de controle seja implementado desde a produção do material vegetal, passando pelas operações de transformação e culminado na avaliação da forma farmacêutica final (CALIXTO, 2000; GAEDCKE e STEINHOFF, 2000; SONAGLIO *et al.*, 2001).

Entre as principais ferramentas, utilizadas para avaliação da qualidade do ciclo de obtenção de produtos de origem vegetal, encontram-se os métodos de quantificação de compostos ativos. Através destes é possível avaliar se os parâmetros envolvidos nas operações de transformação, incluídas na produção de um determinado fitomedicamento, modificam o elenco de compostos químicos ou o teor destes. Porém, para diversos vegetais, que apresentam comprovada atividade terapêutica, ainda não foi possível estabelecer quais substâncias ou grupo de substâncias são responsáveis por sua atividade biológica. Nestes casos, normalmente, são utilizadas substâncias marcadoras, ou grupo delas, que sejam de



ocorrência constatada na droga vegetal sob consideração, majoritárias, providas ou não de ação farmacológica e que estejam presentes em todos produtos do ciclo de transformação. Entretanto, para aplicação deste critério, é necessário que a identidade da matéria-prima vegetal seja inequivocamente assegurada (SONAGLIO *et al.*, 2001).

Neste contexto, os polifenóis são um grupo de substâncias que tem despertado a atenção de inúmeros investigadores (SCHOLZ, 1994; HASLAM, 1996). Uma das classes de polifenóis, denominada de taninos, apresenta estrutura diversificada e que se encontram divididas em dois grandes grupos: hidrolisáveis (derivados do ácido gálico) e condensados (polímeros de flavan-3-óis e flavan-3,4-dióis). Estes compostos estão amplamente distribuídos pelo reino vegetal e apresentam diversas atividades biológicas (SCHOLZ, 1994; STICHER, 1999; MELLO e SANTOS, 2001). A maior parte do fascínio da comunidade científica por taninos se deve à dificuldade em explicar, de modo satisfatório, a função metabólica que leva ao seu acúmulo no vegetal (HASLAM, 1977, 1996; FERREIRA *et al.*, 1999).

Os taninos têm sido amplamente empregados como substâncias marcadoras para a avaliação da qualidade de diversas matérias-primas vegetais (STICHER, 1999; MELLO e SANTOS, 2001). As principais metodologias de avaliação fundamentam-se na capacidade de formação de complexos com proteínas que apresentam estes compostos. Assim, através de sua separação por precipitação ou filtração, a quantificação pode ser realizada por gravimetria ou absorciometria após reação com o reagente de Follin-Denis (WHO, 1998; STICHER, 1999; MELLO e SANTOS, 2001). Na literatura ainda são relatadas técnicas fundamentadas na inibição de atividade enzimática. Entretanto, como exigem maior complexidade aparativa, apresentam maior dificuldade para emprego na rotina analítica (SCHOFIELD *et al.*, 2001).

## 1.1. Revisão da literatura

### Taninos

Baseado em suas estruturas químicas, os taninos são divididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (STICHER, 1999; MELLO e SANTOS, 2001). Os taninos hidrolisáveis são ésteres de glicose e de ácidos fenólicos (ácido gálico ou elágico e seus derivados) (figura 1).

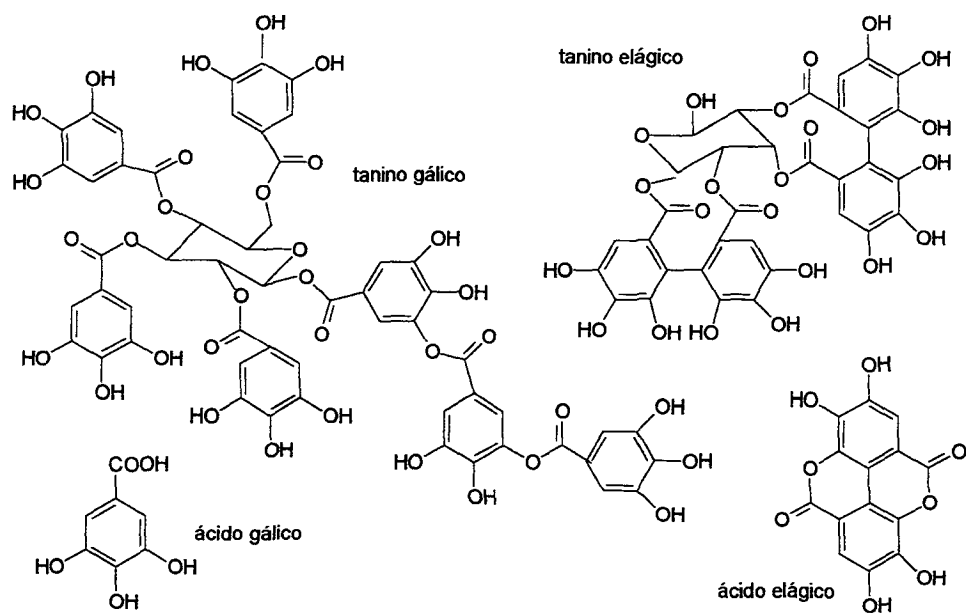


Figura 1.1. Estrutura dos taninos hidrolisáveis.

Os taninos condensados, também denominados de proantocianidinas, são encontrados na natureza sob forma de monômeros de flavan-3,4-dióis (leucoantocianidinas) ou constituídos por dímeros ou maiores combinações de flavan-3-ol (proantocianidinas condensadas) (figura 2) (HASLAM, 1977; HARBORNE, 1982; BRUNETON, 1993; STICHER, 1999; MELLO e SANTOS, 2001).

As proantocianidinas são constituídas por cadeias de catequina ou epicatequina ligadas por pontes 4→8 ou 4→6. Através do aquecimento em solução

de HCl em n-butanol ocorre destruição das pontes interflavonóis, proporcionando a liberação da catequina ou epicatequina, e cianidina (daí o nome procianidina) (BATE-SMITH, 1975; MELLO e SANTOS, 2001). As proantocianidinas conhecidas como B1, B2, B3 e B4 são as que ocorrem com maior frequência na natureza (figura 2). Estas proantocianidinas apresentam-se livres e não glicosiladas, e, quase invariavelmente, são acompanhadas pelos monômeros flavan-3-óis, (+)-catequina ou (-)-epicatequina.

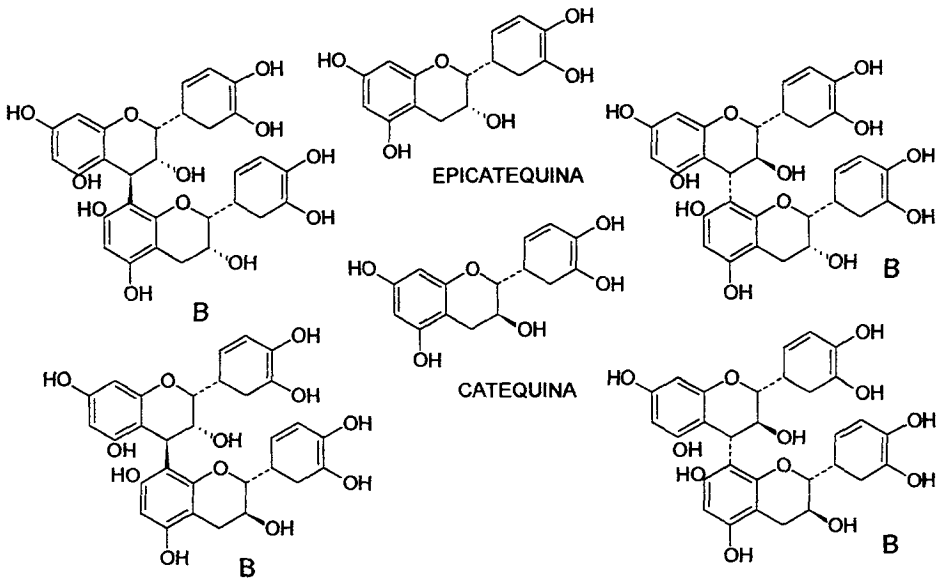


Figura 1.2. Estrutura dos taninos condensados.

A literatura demonstra que muitas propriedades atribuídas aos taninos, tais como adstringência, fungitoxicidade e inibição enzimática, estão relacionadas com sua capacidade de precipitar proteínas (SCHOLZ, 1994).

A interação entre taninos e proteínas pode ser decorrente de diferentes mecanismos tais como a formação de ligações covalentes, pontes de hidrogênio e interações hidrófobas (figura 3), e são influenciadas pelo tamanho molecular ou grau de polimerização dos taninos, estrutura das proteínas, pH e força iônica do meio (HASLAM *et al.*, 1989; WAGNER, 1993; HASLAM *et al.*, 1999).

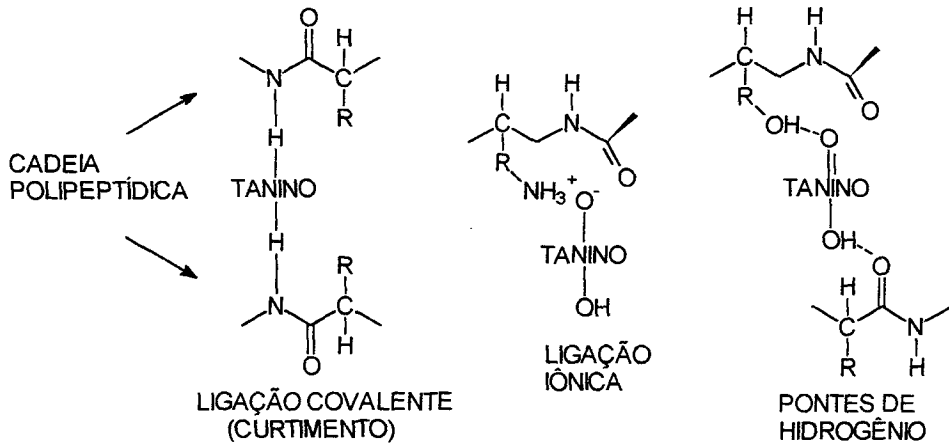


Figura 1.3. Tipos de complexação tanino-proteína (WAGNER, 1993).

Os primeiros estudos sobre associações entre polifenóis e proteínas datam de aproximadamente 200 anos atrás (DAVY, 1803<sup>1</sup>). Este estudo permitiu identificar as principais propriedades macroscópicas da complexação destes polifenóis, além de dar suporte à definição empírica de taninos vegetais. Entretanto, em virtude do pouco conhecimento da diversidade estrutural destes compostos, os mecanismos moleculares através dos quais ocorre a formação dos complexos foram pouco investigados e, conseqüentemente, pouco compreendidos. Diversas investigações quantitativas, realizadas durante os últimos 25 anos, deram relevantes contribuições para área, e relações estrutura-atividade têm sido descritas e mecanismos propostos. Embora o grupo das proantocianidinas sejam responsáveis pela maioria das propriedades atribuídas aos taninos, muitos dos estudos de complexação têm sido realizados com séries biossintéticas de ésteres dos ácidos gálico e hexaidróxi-difênico (HASLAM *et al.*, 1989; HASLAM *et al.*, 1999) as quais se diferenciam, sistematicamente, no número de fenóis, na solubilidade em água, na conformação e no tamanho molecular.

Medidas precisas, obtidas pelo emprego dos diversos métodos relatados na literatura, usando diferentes polifenóis e proteínas, têm servido de suporte das

propostas mais recentes para a descrição da natureza química da maioria dos taninos. Assim, por exemplo, estudos realizados por MCMANUS e colaboradores (1994) demonstraram que o tamanho molecular, o número e a disposição dos núcleos fenólicos, a flexibilidade conformacional e a solubilidade em água são os fatores dominantes na determinação da força de ligação entre um polifenol e uma proteína. Alta solubilidade em água reduz a eficiência da complexação entre polifenóis e proteínas, enquanto que o aumento do tamanho molecular dos polifenóis favorece a associação com proteínas. A respeito da flexibilidade conformacional, a introdução de uma ligação entre dois anéis aromáticos de dois ésteres de ácido gálico, gerando um éster hexaidróxi-difenólico, de conformação restrita, acarretou diminuição da afinidade por proteínas, embora o número de núcleos aromáticos e de grupos fenólicos permanecesse inalterado (HASLAM e CAI, 1994).

Inúmeros autores têm realizado estudos para elucidar o mecanismo de co-precipitação tanino-proteína. SPENCER e colaboradores (1988) propuseram dois mecanismos: a co-precipitação seria resultante de ligações cruzadas, baseadas em associações, nas quais, cada molécula de tanino liga-se a duas ou mais moléculas de proteína. O segundo mecanismo ocorre em duas etapas. Inicialmente há um estágio de complexação seguido da precipitação dos complexos formados. KAWAMOTO e colaboradores (1996), em estudo da estequiometria da reação de co-precipitação de séries de galoilglicosos (taninos hidrolisáveis) com albumina sérica bovina (ASB), detectaram um comportamento crescente e linear para precipitação de ASB, principalmente, quando houve aumento de grupos galoila na molécula de galoilglicose. Tais resultados reforçam a proposta de que o mecanismo envolvido na precipitação de proteínas por taninos ocorra em dois estágios.

Os métodos usualmente empregados para determinação quantitativa de proantocianidinas são, em sua maioria, determinações de taninos totais. Embora seja possível a determinação individual de proantocianidinas de baixo peso molecular através de técnicas cromatográficas, os resultados destas análises não representam, com tanta exatidão, a concentração real quanto a determinação em conjunto do grupo. A maioria dessas técnicas fundamenta-se na capacidade de complexação que apresentam as proantocianidinas (LANG e WILHELM, 1995).

---

<sup>1</sup> DAVY, H. An account of some experiments on the constituents parts of some adstringent vegetables and on their operation in tanning. *Phil. Trans.*, v. 93, p. 223, 1803. *apud* HASLAM *et al.*, 1989.

BATE-SMITH (1973) propôs a determinação de taninos empregando a hemanálise. Esse método fundamenta-se na determinação colorimétrica do sobrenadante de sangue hemolisado após formação do complexo tanino-hemoglobina. Como vantagens o método apresenta a especificidade ao grupo e a fácil determinação colorimétrica da hemoglobina, além de requerer pequenas quantidades de amostra e pouco tempo para execução (OKUDA *et al.*, 1989; BRUNETON, 1993; PRATES DE LIMA *et al.*, 1995; LANG e WILHELM, 1996). Outra forma de determinar os taninos tem sido através de sua precipitação com pó de pele. Existem dois métodos que empregam o pó de pele. O primeiro é realizado por gravimetria, onde o teor de taninos totais é determinado pela diferença entre o resíduo seco da solução extrativa antes e depois do tratamento com o pó de pele (PHARMACOPÉE, 1980; WORLD, 1991). O segundo método é realizado por absorciometria no visível. Neste, o teor de taninos totais é determinado pela diferença da absorção dos analitos antes e depois do tratamento com o pó de pele, utilizando o reagente de Folin-Denis (BÖHME e HARTKE, 1976; DEUTSCHES, 1986; REICHER *et al.*, 1981; HEBRICH, 1990; LANG e WILHELM, 1996). Devido ao alto custo e a variabilidade de procedência do pó de pele, tem sido freqüente a proposição do emprego de agentes precipitadores alternativos. Estudos avaliando o emprego de derivados protéicos tais como a albumina sérica bovina e a caseína têm sido usuais objetos de estudos (LUCK *et al.*, 1994; KAWAMOTO *et al.*, 1996; CARVALHO, 1997; MARTINS, 1998). A complexação dos taninos com derivados protéicos tem apresentado uma série de limitações. A influência de fatores externos sobre a estabilidade do complexo (temperatura, tempo e pH) e problemas relacionados com a afinidade entre proteínas e taninos sugerem baixas especificidade e exatidão para estes métodos. Desta forma, a avaliação de novos agentes complexantes, mais específicos e estáveis, que não sejam derivados protéicos, também tem sido intensa. Neste contexto, a povidona (PVP) tem se destacado por sua capacidade de complexação com polifenóis (FRÖMMING *et al.*, 1981; HÖRN e DITTER, 1982; MAKKAR e BECKER, 1993; MAKKAR *et al.*, 1993, a, b ; LUCK *et al.*, 1994; MAKKAR *et al.*, 1995; BÜHLER, 1996; BORNEMANN *et al.*, 2001; NACZK *et al.*, 2001). Ao contrário da maioria dos derivados protéicos, os complexos formados entre os compostos polifenólicos e a polivinilpirrolidona são mais estáveis. Alguns trabalhos têm demonstrado que a PVP apresenta maior afinidade na formação de complexos com polifenóis, em especial com taninos, do que outras substâncias, tais como caseína,

gelatina e albumina sérica bovina (LUCK *et al.*, 1994; SIEBERT e LYNN, 1997, SILANIKOVE *et al.*, 2001).

Recentemente, tem sido notado um interesse crescente no uso de agentes ligantes de taninos para sua quantificação, neutralização de seus efeitos indesejáveis para os animais, tais como distúrbios do apetite e do processo digestivo, ou ainda para operações de clarificação/purificação na indústria vinícola e alimentícia (SIEBERT *et al.*, 1996a, b; SIEBERT e LYNN, 1997; BORNEMAN *et al.*, 2001; NACZK *et al.*, 2001; SILANIKOVE *et al.*, 2001).

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo geral

Avaliação da viabilidade de metodologia espectrofotométrica para doseamento de taninos, empregando a povidona como agente precipitante.

### Objetivos específicos

- avaliar caseína e povidona de diferentes graus como agentes precipitantes de taninos, utilizando a catequina como substância de referência;
- selecionar a povidona que apresentar melhor capacidade de formação de complexos com a catequina nas condições estudadas;
- avaliar o perfil de formação de complexos entre a catequina e a povidona selecionada, e,
- avaliar a viabilidade de transposição do método de precipitação de taninos com povidona para a matéria-prima vegetal de *Maytenus ilicifolia*.



### 3. MATERIAIS E METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Matérias-primas

- material vegetal: constituído por folhas de *Maytenus ilicifolia* fornecido pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA/UNICAMP) onde foram coletadas em abril de 1997. As folhas e ramos recebidos foram identificados pelo técnico Marcos Sobral, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UFRGS, e uma exsicata encontra-se depositada no herbário da UFRGS sob registro (ICN) número 111772.
- povidonas solúveis (gentilmente doadas pela BASF/Brasil):  
Kollidon 17 (MM 9300); Kollidon 25 (MM 25700) e Kollidon 30 (MM 42500)
- povidonas insolúveis (gentilmente doadas pela BASF/Brasil):  
Kollidon CL; Kollidon CL-M (micronizada).

##### 3.1.2 Aparelhos e equipamentos

- banho de ultra-som Elma Transonic 460
- centrífuga Sigma 4K15
- espectrofotômetro HP8452 A (Hewlett Packard)
- cromatógrafo líquido de alta eficiência LC-10A (Shimadzu)
  - bomba LC10AD (Shimadzu)
  - sistema de válvulas para eluição gradiente FVC-10AL (Shimadzu)
  - detector UV/VIS SPD10A (Shimadzu)
  - Injetor automático SIL-10 A (Shimadzu)
  - Programa para aquisição de dados CLASS-LC10 (Shimadzu)
  - coluna cromatográfica Nova-Pak C<sub>18</sub> 150 mm x 39 mm (60 µm) (Waters)
  - pré-coluna C<sub>18</sub> 10 mm x 4 mm (125 µm) (Shimadzu)

### **3.1.3 Reagentes, soluções, substâncias-referências e outras matérias-primas**

Todos reagentes empregados, caso não mencionado em contrário, são de grau pró-análise, fornecidos pela Merck.

- ácido acético
- acetonitrila (OmniSolv - grau HPLC)
- ácido bórico
- ácido clorídrico
- ácido fosfomolibdico
- ácido fosfórico
- carbonato de sódio anidro
- caseína (Sigma)
- (+)- catequina (Sigma)
- cloreto de potássio
- (-)- epicatequina (Sigma)
- fosfato monobásico de potássio
- hidróxido de amônia
- membrana de filtração com diâmetro de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore-HVHP)
- molibdato de amônio SR (F. Bras. IV)
- rutina (gentilmente doada pela Prof<sup>a</sup>. Dr. Amélia T. Henriques, PPGCF, Fac. Farmácia - UFRGS)
- tungstato de sódio (Baker)

## **3.2 METODOLOGIA**

### **3.2.1 Avaliação da formação de complexos com catequina (substância referência)**

#### **3.2.1.1 Seleção do comprimento de onda para leitura**

Para escolha do comprimento de onda de leitura, foi preparada solução de leitura de catequina (0,40 µg/mL) em água destilada e submetida a varredura na região de 200 a 500 nm. A água foi utilizada como solução de compensação.

#### **3.2.1.2 Preparação das soluções estoque**

##### Solução de catequina

A solução estoque de catequina foi preparada na concentração de 2 mg/mL com água recentemente destilada. A total dissolução do padrão foi alcançada com o auxílio de banho de ultra-som. A solução foi armazenada protegida da luz.

##### Dispersões de povidona

As dispersões estoque de povidona, em diferentes concentrações, foram preparadas por dissolução (PVP solúveis) ou suspensão (PVP insolúveis) do polímero em água recentemente destilada. Para assegurar a total hidratação do material, as dispersões foram preparadas pelo menos 24 horas antes dos experimentos e mantidas sob agitação constante.

#### **3.2.1.3 Ensaio preliminar para seleção do complexante para catequina**

Para avaliação preliminar da formação de complexos entre a catequina e diferentes povidonas, 5,0 mL da solução de estoque de catequina e alíquotas das diferentes dispersões de PVP (suficientes para originar soluções com concentrações finais entre 5 e 1600 µg/mL), foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL e

submetidos à agitação durante 30 minutos. Após agitação, 10,0 mL de cada amostra foram transferidos para tubos de centrifuga e centrifugados a 3000 rpm durante 30 minutos. Em balão volumétrico de 25 mL, 5,0 mL do sobrenadante foram diluídos com água destilada e a concentração de catequina foi determinada em espectrofotômetro em 280 nm.

#### 3.2.1.4 Avaliação dos complexos formados entre catequina e povidona insolúvel

Em balões volumétricos de 25 mL, foram submetidos à agitação 5,0 mL de solução estoque de catequina e suspensões de Kollidon CL em concentrações que variaram de 5 a 6000 µg/mL. Após 30 minutos de agitação, 10,0 mL de cada amostra foram transferidos para tubos de centrifuga e centrifugados a 3000 rpm durante 30 minutos. Em balão volumétrico de 25 mL, 5,0 mL do sobrenadante foram diluídos com água destilada e a concentração de catequina determinada em espectrofotômetro em 280 nm.

O resultado foi expresso como fração de catequina ligada (FCL) em função da razão molar entre PVP e catequina, considerando a massa molecular do monômero de PVP = 111,1 (DONER *et al.*, 1993) (n = 3):

$$FCL = (A_{pad} - A_{cent}) / A_{pad}$$

onde:  $A_{pad}$  = absorvância da solução padrão e  $A_{cent}$  = absorvância da solução após centrifugação.

#### 3.2.1.5 Purificação da povidona

Uma amostra de 50,0 g de Kollidon CL foi pesada e transferida para béquer de 500 ml e submetida à agitação com 250 mL de HCl 0,1 M durante 30 minutos. Em seguida, o material foi filtrado em funil de vidro sinterizado G3, sob pressão reduzida. Ainda no funil, o material retido foi lavado com mais 1000 mL da mesma solução ácida e, posteriormente, com água destilada, até obtenção de um filtrado

límpido. O resíduo foi seco em estufa a 40 °C, durante 72 horas, e acondicionado em dessecador com sílica.

### **3.2.1.6 Avaliação da influência da povidona purificada sobre capacidade de complexação com catequina**

Solução de catequina a 400 µg/mL foi tratada com suspensões aquosas de Kollidon CL, com e sem o tratamento descrito no item 3.2.1.5, nas concentrações de 60, 120, 240, 360, 480, 600, 1200 e 2400 µg/mL. Os resultados foram expressos como fração de catequina ligada (FCL) em função da razão Kollidon CL/catequina (m/m) (n = 3).

### **3.2.1.7 Determinação da capacidade de complexação entre catequina e caseína**

Solução de catequina a 400 µg/mL foi tratada com caseína, em quantidades que variaram entre 5 e 2000 mg. Os resultados foram expresso como fração de catequina ligada (FCL) em função da razão caseína/catequina (m/m) (n = 3).

### **3.2.1.8 Avaliação da influência do pH sobre a estabilidade de complexos contendo catequina**

#### Povidona/catequina:

Solução de catequina a 200 µg/mL foi submetida à complexação com PVP purificada na concentração de 1200 µg/mL. O pH foi obtido pela adição de soluções diluídas de HCl ou NaOH e pela utilização de tampão fosfato e borato (tabela 1.1). Os resultados foram expressos como fração de catequina ligada (FCL) em função do pH.

**Tabela 1.1.** Soluções e condições utilizadas para avaliação da influência do pH sobre a formação de complexos entre povidona e catequina.

Solução	Volume adicionado	pH (literatura)	pH (solução final)	$\lambda_{nm}$
HCl 0,1 N	1,0 mL	-	3,1	280
HCl 0,1 N	0,5 mL	-	3,4	280
Água destilada	-	-	6,1	280
Tampão fosfato <sup>1</sup>	15,0 mL	7,0	7,1	280
Tampão fosfato <sup>1</sup>	15,0 mL	8,0	7,9	280
Tampão borato <sup>2</sup>	15,0 mL	8,6	8,6	290*
Tampão borato <sup>2</sup>	15,0 mL	9,0	8,9	290*
Tampão borato <sup>2</sup>	15,0 mL	9,6	9,4	290*
NaOH 0,1 N	0,5 mL	-	10,5	290*

\* Devido ao deslocamento batocrômico sofrido em pH alcalino, as leituras foram realizadas em 290 nm. <sup>1</sup>USP XXII, 1990; <sup>2</sup>ASSUMPÇÃO e MORITA, 1968.

### 3.2.1.9 Avaliação do perfil de complexação entre povidona e catequina empregando desenho composto central

O perfil de complexação entre povidona com ligações cruzadas (Kollidon CL) e catequina foi analisado através de desenho composto central (DCC). Para tanto, foi montado um desenho experimental do tipo 2<sup>2</sup> ampliado com 3 pontos centrais e 4 pontos estrelas (MYERS e MONTGOMERY, 1995; LINDEN, 1998; PETRY, 1999). Tanto as variáveis naturais quanto as codificadas estão descritas na tabela 1.2.

**Tabela 1.2.** Matriz do desenho composto central para avaliação do perfil de complexação entre catequina (CAT) e povidona (PVP).

Experimento	Variáveis Codificadas		Variáveis Naturais	
	CAT	PVP	CAT (µg/mL)	PVP (µg/mL)
1	-1	1	100	300
2	-1	-1	100	100
3	1	1	300	300
4	1	-1	300	100
5	0	0	200	200
6	0	0	200	200
7	0	0	200	200
8	1,414	0	341,4	200
9	-1,414	0	58,6	200
10	0	1,414	200	341,4
11	0	-1,414	200	58,6

Os resultados foram analisados com o auxílio dos programas estatísticos Excel® e SigmaStat®, empregando o mesmo procedimento adotado por LINDEN (1998) e PETRY (1999). Para tanto, foram calculados os coeficientes para a equação geral através do método de regressão não linear no programa SigmaStat®. A equação foi avaliada e validada através de ANOVA, realizada com o auxílio do programa Excel® 7.0, teste de falta de ajuste (*lack-of-fit*), e teste-*t* para os coeficientes da equação, adotando os critérios propostos por WHERLÉ (1990).

$$\text{Equação geral: } y = B_0 + B_1 \cdot x_1 + B_2 \cdot x_2 + B_{12} \cdot x_1 \cdot x_2 + B_{11} \cdot (x_1)^2 + B_{22} \cdot (x_2)^2$$

A variável dependente, absorvância lida em 280 nm, foi estimada em planilha do Excel®, através do emprego do modelo matemático (equação geral) para 48 pares de concentrações de catequina e povidona, dentro do campo experimental original. Com base nestes resultados, foram construídos os gráficos de superfície de resposta e de contornos no programa SigmaPlot®.

A partir dos valores de absorvância obtidos experimentalmente, foram calculadas as frações de catequina ligadas (FCL), como descrito no item 3.2.1.4, e gerados a superfície e o respectivo gráfico de contornos. Em virtude da variabilidade intrínseca relacionada ao fenômeno estudado, o modelo que descreve a fração ligada foi analisada apenas quanto ao coeficiente de regressão.

### **3.2.2. Avaliação da determinação de taninos totais em solução extrativa de *M. ilicifolia***

#### **3.2.2.1 Preparação da solução extrativa (CARVALHO, 1997)**

A solução extrativa foi preparada por infusão de 10,0 g da droga vegetal moída em 100,0 mL de água destilada, durante 15 minutos e sob agitação mecânica ocasional. Após resfriamento e filtração, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

#### **3.2.2.2 Determinação quantitativa de taninos empregando o reagente de Folin-Denis (MARTINS, 1998)**

##### **3.2.2.2.1 Preparação dos reagentes para o doseamento de taninos**

Reagente de Folin-Denis: foram submetidos a refluxo, com 75,0 mL de água destilada, por 2 horas, 10,0 g de tungstato de sódio, 2,0 g de ácido fosfomolibdico e 5,0 mL de ácido fosfórico. Após resfriamento, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

Solução de carbonato de sódio 20 %: foram dissolvidos em 1 L de água destilada, a 70 °C, 200,0 g de carbonato de sódio anidro. Após 24 horas, a solução foi filtrada .

##### **3.2.2.2.2 Análise quantitativa de taninos totais na solução extrativa**

Foram tomados 15,0 mL da solução extrativa e diluídos a 100,0 mL com água destilada, originando a solução estoque. Para a determinação dos polifenóis totais (PFT), 2,0 mL da solução estoque foram transferidos para balão volumétrico de 25



mL e o volume completado com água destilada. Alíquota de 2,0 mL desta solução foi transferida para béquer de 50 mL e adicionada de 2,0 mL do reagente de Folin-Denis (R1) e de 16,0 mL da solução de carbonato de sódio 20 % (R2). A absorvância foi determinada em 750 nm, exatamente 2 minutos após a adição do último reagente. A água foi utilizada como solução de compensação. Para determinação da fração não-tanante (FNT), 10,0 mL da solução estoque foram submetidos à agitação em agitador magnético por 30 minutos, com o agente complexante. Após agitação, as amostras foram transferidas para tubos de centrifuga e centrifugadas a 3000 rpm durante 30 minutos. Alíquota de 5,0 mL do sobrenadante foi diluída a 25,0 mL com água destilada. Foram tomados 2,0 mL desta solução e submetidos à reação com os reagentes R1 e R2 como descrito anteriormente. As absorvâncias respectivas foram lidas em 750 nm utilizando água destilada como solução de compensação. Os resultados foram calculados segundo as equações abaixo e expressos como catequina (g %), pela média de três determinações.

$$PFT = \frac{A1 \cdot FD}{(m-p) \cdot A^{1\%}}$$

$$FNT = \frac{A2 \cdot FD}{(m-p) \cdot A^{1\%}}$$

$$TT = PFT - FNT$$

PFT = polifenóis totais (g%)

FNT = fração não-tanante (g%)

TT = fração tanante (g%)

A = absorvância do produto de reação da solução de polifenóis totais (U.A)

FD = fator de diluição

m = massa de matéria-prima vegetal (g)

p = perda por dessecação da matéria-prima vegetal (g)

$A_1^{1\%}$  = coeficiente de absorção específica do produto de reação da catequina

### 3.2.2.2.3. Determinação do coeficiente de absorção específica do produto de reação da catequina com o reagente de Folin-Denis em 750 nm

O coeficiente de absorção específica da produto de reação entre catequina e reagente de Folin-Denis, foi estabelecido a partir de uma curva de calibração da substância após reação com o reagente de Folin-Denis. Para tanto, foram preparadas soluções do padrão nas concentrações de 0,016; 0,024; 0,032; 0,048; 0,072 e 0,080 mg/mL, em água destilada. De cada solução foram transferidos 2,0 mL para bquer de 50 mL e adicionados de 2,0 mL do reagente de Folin-Denis (R1) e de 16,0 mL de solução de carbonato de sódio 20% (R2). A absorvância foi determinada em 750 nm, exatamente 2 minutos após a adição do reagente R2, utilizando água como solução de compensação. Foram realizadas três determinações para cada concentração.

O coeficiente de absorção específica do produto reacional da catequina foi determinado através do emprego da equação abaixo.

$$A_1^{1\%} = \frac{A \cdot 10}{C}$$

Onde :

$A_1^{1\%}$  = absorção específica do produto reacional da catequina

A = absorvância do produto reacional da catequina (U.A.)

C = concentração de catequina (g/L)

### 3.2.2.3 Determinação quantitativa de taninos através de leitura direta

#### 3.2.2.3.1. Seleção do comprimento de onda para leitura

A solução extrativa foi diluída à concentração de 0,6 mg/mL com água destilada e o espectro de varredura foi determinado na região de 200 a 500 nm. Água destilada foi empregada como solução de compensação.

### 3.2.2.3.2 Análise quantitativa de taninos totais na solução extrativa através de leitura direta

Para a determinação dos polifenóis totais (PFT), 5,0 mL da solução extrativa foram transferidos para balão volumétrico de 25 mL e o volume completado com água destilada. Alíquota de 5,0 mL desta solução foi diluída a 25,0 mL com água destilada. A absorvância foi determinada em 280 nm, utilizando água destilada como solução de compensação. Para determinação da fração não-tanante (FNT), 10,0 mL da solução extrativa foram submetidos à agitação em agitador magnético com o agente complexante, durante 30 minutos. Após agitação, as soluções foram centrifugadas a 3000 rpm, durante 30 minutos. Alíquota de 5,0 mL do sobrenadante foi diluída a 25,0 mL com água destilada e a absorvância determinada em 280 nm, utilizando água como solução de compensação.

Os resultados foram calculados segundo as equações abaixo e expressos como catequina (g %), pela média de três determinações.

$$PFT = \frac{A1 \cdot FD}{(m-p) \cdot A_1^{1\%}}$$

$$FNT = \frac{A2 \cdot FD}{(m-p) \cdot A_1^{1\%}}$$

$$TT = PFT - FNT$$

PFT = polifenóis totais (g%)

FNT = fração não-tanante (g%)

TT = fração tanante (g%)

A = absorvância (U.A)

FD = fator de diluição

m = massa de matéria-prima vegetal (g)

p = perda por dessecação da matéria-prima vegetal (g)

$A_1^{1\%}$  = coeficiente de absorção específica da catequina

### **3.2.2.3.3. Determinação do coeficiente de absorção específica da catequina em 280 nm**

O coeficiente de absorção específica da catequina foi estabelecido a partir de uma curva de calibração através de leitura direta em 280 nm. Para tanto, foram preparadas soluções do padrão nas concentrações de 0,005; 0,010; 0,020; 0,030; 0,040; 0,050; 0,0600 e 0,070 mg/mL, em água destilada. As absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro utilizando água como solução de compensação. Os resultados correspondem à média de três leituras para cada concentração.

O coeficiente de absorção específica da catequina foi calculado empregando a mesma equação descrita no item 3.2.2.2.3.

### **3.2.2.3.4 Avaliação do perfil de complexação entre povidona e a solução extrativa empregando desenho composto central**

O perfil de complexação entre povidona com ligações cruzadas (Kollidon CL) e a solução extrativa foi analisado através de desenho composto central (DCC). Para tanto, os mesmos procedimentos para execução e análise do desenho experimental descritos no item 3.2.1.9 foram adotados. As variáveis naturais e codificadas estão descritas na tabela 1.3.

**Tabela 1.3.** Matriz do desenho composto central para avaliação do perfil de complexação entre a solução extrativa (SE) e povidona (PVP).

Experimento	Variáveis Codificadas		Variáveis Naturais	
	SE	PVP	SE ( $\mu\text{g/mL}$ )	PVP ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	1	-1	3300	600
2	1	1	3300	3200
3	-1	-1	700	600
4	-1	1	700	3200
5	0	0	2000	1900
6	0	0	2000	1900
7	0	0	2000	1900
8	0	0	2000	1900
9	0	0	2000	1900
10	0	1,414	2000	3738,2
11	0	-1,414	2000	61,8
12	1,414	0	3838,2	1900
13	-1,414	0	161,8	1900

Em virtude da maior variabilidade relacionada à natureza da matriz, foram adotados cinco pontos centrais.

### 3.2.2.3 Influência da concentração de caseína e povidona sobre o teor de taninos totais na solução extrativa

O ensaio preliminar, para avaliar a influência da concentração dos agentes complexantes sobre o teor de taninos totais na solução extrativa, foi realizado empregando-se quantidades crescentes destes agentes, até que não fossem mais detectadas variações na absorvância da fração não-tanante ( $n = 3$ ). As quantidades empregadas dos agentes complexantes estão representadas na tabela 1.4.

**Tabela 1.4.** Quantidades dos agentes complexantes testadas para cada 10 mL de solução extrativa.

Caseína (mg)	Povidona (mg)
50	10
100	25
150	40
200	50
250	60
300	100
350	150
400	200
-	300

O teor de polifenóis totais (PFT), da fração não-tanante (FNT) e de taninos totais (TT), foi calculada a partir da leitura direta em 280 nm, da mesma maneira que descrito no item 3.2.2.3.3.

#### 3.2.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

##### Preparação das amostras

Para preparação das amostras, 60 mg de (+)- catequina e 20 mg de rutina foram dissolvidos em 50,0 mL de água destilada. Aliquotas de 15,0 mL da solução contendo os padrões foram transferidos para bquer de 50 mL e submetidos à agitação, durante 30 minutos, com 30 mg de povidona. Após agitação, 10,0 mL foram centrifugados a 3000 rpm por 30 minutos. Uma alíquota de 5,0 mL do sobrenadante foi diluída a 25,0 mL com água destilada (solução amostra). Paralelamente, 10,0 mL da solução contendo o padrão foram submetidos a centrifugação a 3000 rpm durante 30 minutos. Ao mesmo tempo 5,0 mL do sobrenadante foram diluídos a 25,0 mL com água destilada (solução referência).

Tanto a solução amostra quanto a referência foram filtradas através de membrana 0,45  $\mu\text{m}$  e 20  $\mu\text{L}$  foram injetados no cromatógrafo.

#### Preparação da fase móvel

Foram preparadas duas soluções para constituírem a fase móvel:

Solução A - ácido acético 1 % (V/V)

Solução B - acetonitrila:água:ácido acético (50:49:1; V/V/V)

Após preparação, as soluções foram filtradas através de membrana 0,45  $\mu\text{m}$  e desaeradas com hélio.

#### Condições cromatográficas

As amostras foram eluídas em sistema gradiente através da variação da composição da fase móvel de acordo com a tabela 1.5, empregando fluxo de 1,5 mL/min e detecção em 280 ou em 352 nm, segundo o caso.

**Tabela 1.5.** Programa do gradiente de eluição.

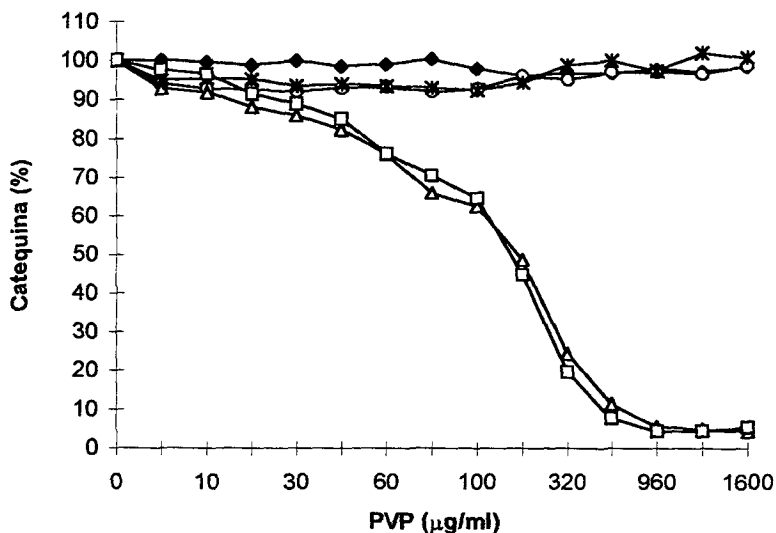
Tempo (min)	Solução B (%)
0	12,5
5	20,0
8	30,0
17	45,0
18	100,0
25	100,0
27	12,5
30	12,5

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Avaliação da capacidade de complexação de catequina com povidona (PVP)

Utilizando a catequina como substância referência, a formação de complexos foi avaliada para diferentes tipos povidona. Os polímeros testados se dividiram em dois grupos: solúveis (Kollidon 17PF, 25 e 30) e insolúveis (Kollidon CL e CL-M), os quais correspondem à povidona com ligações cruzadas.

Os resultados obtidos estão representados na figura 1.4. A formação de complexos empregando os polímeros solúveis, demonstrou que não ocorre fenômeno de precipitação e/ou perda de solubilidade do polímero ou da catequina. A maior massa molecular do polímero também não modificou a característica de solubilidade. Desta maneira, o emprego de povidona solúvel, com o objetivo de promover a separação ou precipitação de polifenóis, não foi satisfatória.



**Figura 1.4.** Teor percentual de catequina presente no sobrenadante em função da concentração de povidona. Kollidon 17PF (◆), Kollidon 25 (○), Kollidon 30 (\*), Kollidon CL (△) e Kollidon CL-M (□).



Por outro lado, a utilização das povidonas insolúveis causou, em função de suas concentrações, o completo desaparecimento da catequina presente no sistema, demonstrando ser um seqüestrante para esta substância. Os dois tipos de povidonas insolúveis testados mostraram o mesmo comportamento, não sendo mais detectado o polifenol a partir da concentração de 960 µg/mL do polímero.

A ausência de diferenças no perfil de formação de complexos com a catequina entre os dois polímeros insolúveis, demonstra que, após hidratação, não ocorre influência de fenômenos de superfícies sobre a formação destes complexos. Este resultado reforça a hipótese da independência da formação dos complexos das características físicas do polímero. Certamente, povidona insolúvel micronizada (Kollidon CL-M) deve apresentar maior velocidade de hidratação, em função da maior superfície de contato. Porém, o emprego de procedimento de hidratação prévia foi suficiente para descartar qualquer influência desta natureza.

Diante destes resultados, os ensaios consequentes poderiam ser conduzidos com qualquer um dos polímeros insolúveis, entretanto, por uma questão de relação custo/benefício, a povidona com ligações cruzadas (Kollidon CL) foi selecionada como agente complexante para os ensaios posteriores.

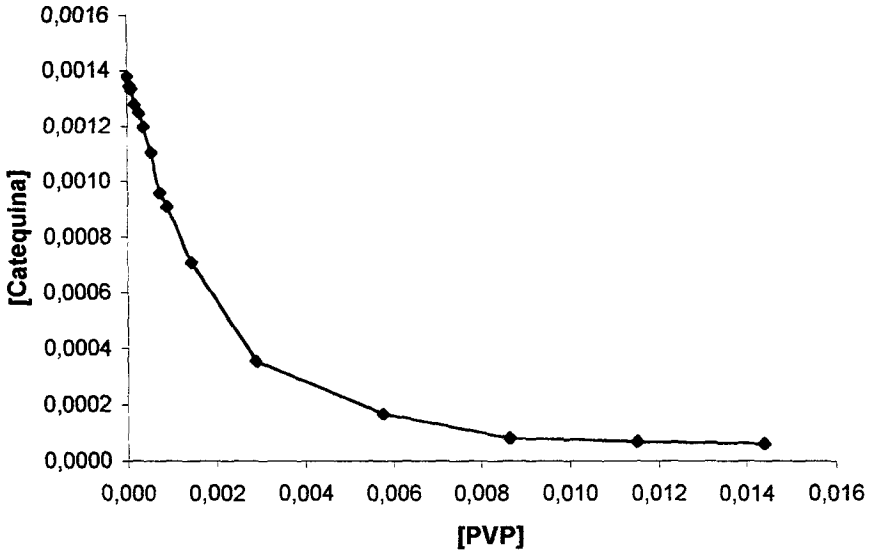
A figura 1.5 apresenta a redução da concentração molar de catequina em função da concentração molar de Kollidon CL. A concentração molar do polímero foi calculada em função da massa molecular do monômero vinilpirrolidona: 111,1 D (DONER *et al.*, 1993).

O cálculo estequiométrico para formação do complexo entre a catequina e povidona (PVP) foi realizado através do modelo da solubilidade (HIGUCHI e CONNORS, 1965).

$$([\text{CAT}_{\text{total}}] - [\text{CAT}_{\text{livre}}]) / [\text{PVP}_{\text{total}}]$$

$$(0,00137 - 0,0000624) / 0,008641 = 0,11359 \cong 8,80$$

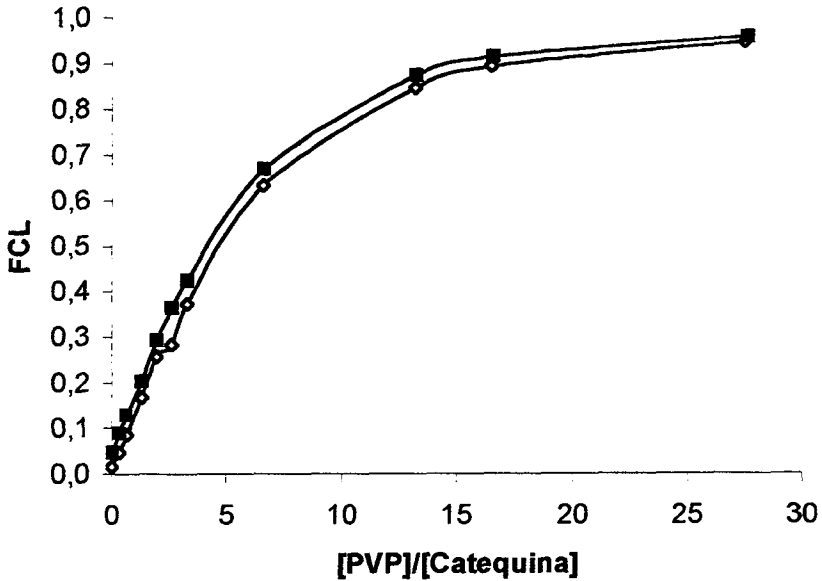
De acordo com o resultado encontrado, o complexo apresentaria a seguinte fórmula geral:  $[\text{PVP}]_8\text{CAT}$ .



**Figura 1.5.** Representação gráfica da redução na concentração molar de catequina em função da concentração molar de povidona (PVP).

Para descartar a eventual influência de materiais solúveis presentes no polímero sobre a formação dos complexos, uma amostra da povidona com ligações cruzadas (Kollidon CL) foi submetida a tratamento de pré-lavagem, dando origem à povidona purificada.

Os perfis de complexação para a povidona antes e depois da purificação estão representados na figura 1.6.

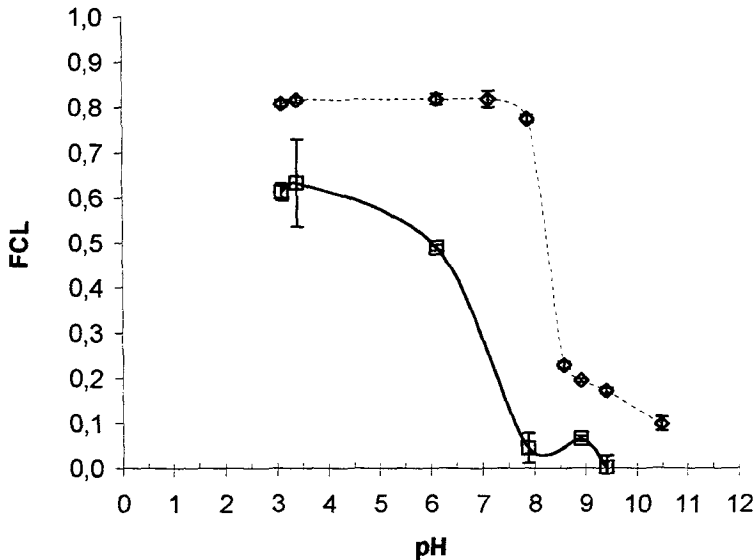


**Figura 1.6.** Influência do pré-tratamento com povidona (PVP) sobre a fração de catequina ligada. (◇) PVP sem tratamento, (■) PVP purificada.

A purificação da povidona foi conduzida com o objetivo de remover traços de  $H_2O_2$  e polímero solúvel que possam estar presentes (DONNER *et al.*, 1993). Os resultados obtidos demonstraram que não há diferença importante entre os perfis de complexação obtidos para o polímero antes e após o tratamento. Porém, como a operação de purificação originou produto como menor umidade residual, os demais ensaios, envolvendo a substância referência, foram executados utilizando o polímero purificado.

De acordo com ANDERSEN e SOWERS (1968), a formação de complexos entre polifenóis e povidona depende de condições específicas de pH. A complexação máxima entre o polímero e compostos fenólicos deve ser mais intensa em água pura ou em pH suficientemente baixo para suprimir a ionização das hidroxilas fenólicas. Para os experimentos realizados com Kollidon CL e a catequina, foi observado que há maior interação entre o polímero e o padrão quando o pH foi inferior a 7,0. Nesta região, a fração de catequina ligada não sofreu modificações. Quando o pH foi elevado para 8,0 ocorreu pequena redução no teor de catequina

ligada à povidona. Acima de pH 8,0 foi detectada queda brusca no teor de catequina no complexo, seguindo tendência de diminuição com o aumento do pH (figura 1.7).

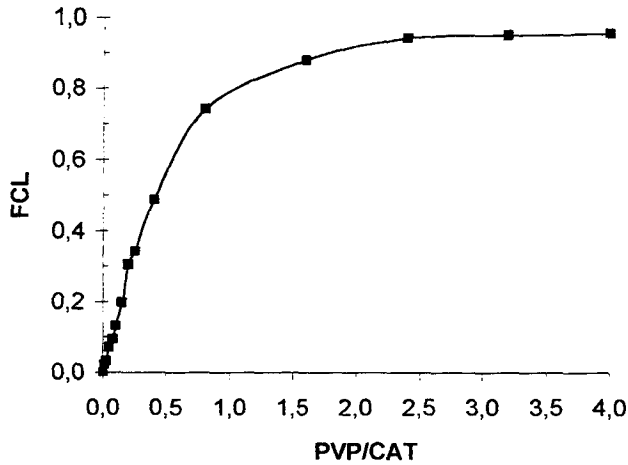


**Figura 1.7.** Efeito do pH sobre a fração de catequina ligada (FCL) à PVP (◇) e à caseína (□).

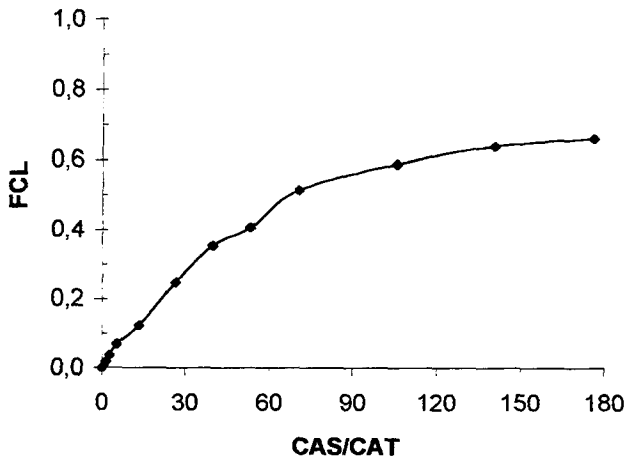
Diante do comportamento acima observado, a formação de complexos entre o polímero e taninos condensados não deve sofrer modificações quando o experimento for realizado empregando água destilada como solvente. Para complexos obtidos com caseína, também foi observado forma semelhante para o comportamento de decréscimo da fração de catequina ligada com o aumento do pH. Entretanto, pode-se observar na figura 1.7 que os complexos entre catequina e caseína foram mais sensíveis à variação de pH, associada a menor capacidade em remover o padrão.

As figuras 1.8 e 1.9 representam o perfil de complexação em meio aquoso entre os agentes complexantes, povidona e caseína, respectivamente, com a catequina. Quando a polivinilpirrolidona foi utilizada como agente complexante, a massa total de catequina presente no sistema (10 mg) foi complexada empregando cerca de 25 mg da Kollidon CL (figura 1.8). Comparativamente, foram necessários 2

g de caseína, para deslocar 70 % da mesma quantidade de catequina, em idênticas condições experimentais (figura 1.9).



**Figura 1.8.** Efeito da razão povidona/catequina (PVP/CAT) (m/m) sobre a fração de catequina ligada (FCL).



**Figura 1.9.** Efeito da razão caseína/catequina (CAS/CAT) (m/m) sobre a fração de catequina ligada (FCL).

A complexação de catequina com povidona, em diferentes concentrações, foi avaliada através de desenho composto central. A análise estatística do desenho

experimental demonstrou que o modelo matemático abaixo, descreve satisfatoriamente a variabilidade experimental ( $r^2 = 0,9936$ ).

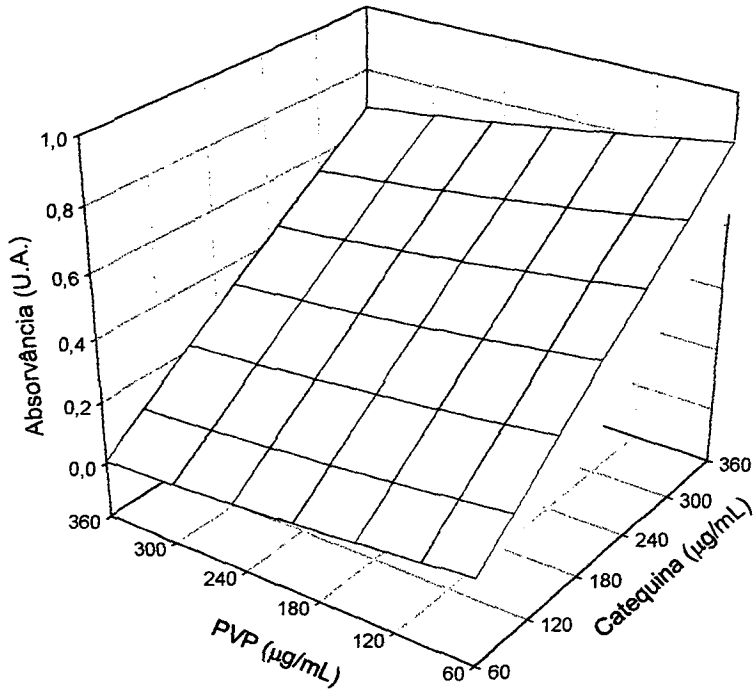
$$\text{Absorvância} = -3,8 \cdot 10^{-7} + 2,8 \cdot 10^{-3} \beta_1 - 4,7 \cdot 10^{-4} \beta_2 - 9,3 \cdot 10^{-7} \beta_{12} \\ - 5,0 \cdot 10^{-7} \beta_{11} + 5,0 \cdot 10^{-7} \beta_{22}$$

O teste  $F$  para regressão também apresentou resultado significativo, confirmando a correlação entre os dados experimentais e os dados calculados. Entretanto, em virtude da variabilidade intrínseca, inerente ao fenômeno em estudo, o teste de falta de ajuste apresentou  $F$  significativo (tabela 1.6). Desta forma, o modelo não pode ser considerado validado. A superfície de resposta e a curva de isorrespostas calculadas, empregando o modelo matemático, estão representadas nas figuras 1.10 e 1.11.

**Tabela 1.6.** Resumo dos resultados da análise estatística para as variáveis dependentes .

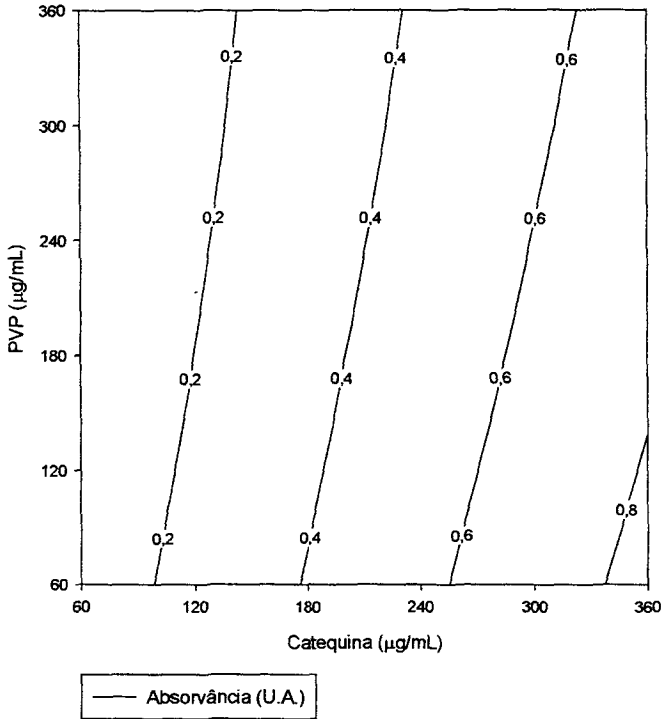
Coeficientes	Absorvância (U.A.)		Fração de catequina ligada	
	valor	teste- $t$	valor	teste- $t$
$\beta_0$	-3,8E-02	0,48	1,737E-1	0,93
$\beta_1$	2,8E-03	5,71*	-0,181	1,69*
$\beta_2$	-4,7E-04	0,96	1,050E-1	0,89
$\beta_{12}$	-9,3E-07	0,72	-0,033	0,35
$\beta_{11}$	-5,0E-07	0,51	1,313E-1	1,66*
$\beta_{22}$	5,0E-07	0,51	-0,040	0,50
$r^2$	0,9936	-	0,7358	-
$F_{\text{regressão}}$	14,7*	-	2,79	-
$F_{\text{falta de ajuste}}$	231,2*	-	252,28*	-

$\beta_1$ = catequina,  $\beta_2$ = povidona,  $\beta_{12}$  = interação,  $\beta_{11}$  e  $\beta_{22}$  = termos quadráticos. \* Significativo para  $P = 0,05$



**Figura 1.10.** Superfície de resposta para a absorvância, em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.

As figuras 1.10 e 1.11 demonstram a relação linear entre a variável de resposta (absorvância em 280 nm) e as variáveis de entrada. Embora tenha sido observada pequena dependência para a concentração de povidona, a absorvância lida foi dependente, principalmente, da concentração de catequina. Este resultado foi confirmado através do teste-*t* para os coeficientes da equação, que revelou importância estatística apenas para o termo linear da variável concentração de catequina.



**Figura 1.11.** Curva de isorespostas para a absorvância, em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.

Como esperado, estes resultados demonstraram que a absorvância aumentou com a elevação da concentração de catequina e que a adição de povidona ao sistema fez com que ocorresse um pequeno decréscimo naquelas leituras. Porém, o que não pôde ser observado, através dos gráficos representados nas figuras 1.10 e 1.11, foi a relação entre as leituras obtidas e as leituras esperadas nas respectivas concentrações de catequina. Para tanto, a variável dependente foi recalculada como fração de catequina ligada (FCL) e um novo modelo matemático foi testado.

A análise estatística revelou que o modelo proposto para descrever a fração de catequina ligada (FCL) foi bem mais crítico do que o obtido anteriormente.



Embora o coeficiente da regressão tenha demonstrado que o modelo abaixo foi capaz de descrever mais que 70 % da variância experimental ( $r^2 = 0,7358$ ), não houve importância estatística para o F calculado da regressão, enquanto que o teste de falta de ajuste apresentou F superior ao tabelado (tabela 1.7).

$$FCL = 0,54 - 6,0 \cdot 10^{-3} \beta_1 + 3,2 \cdot 10^{-3} \beta_2 - 3,3 \cdot 10^{-6} \beta_{12} + 1,2 \cdot 10^{-5} \beta_{11} - 3,6 \cdot 10^{-6} \beta_{22}$$

Uma das alternativas para elevar o valor de F da regressão é realizada através da retirada dos termos não significativos para o teste-t e, posteriormente, reajuste dos dados à equação simplificada. Na tabela 1.7 estão apresentados os resultados obtidos para o F da regressão e o  $r^2$  após retirada sequencial dos termos não significativos

**Tabela 1.7.** Resumo da avaliação estatística das equações simplificadas para descrever a resposta de fração de catequina ligada (FCL).

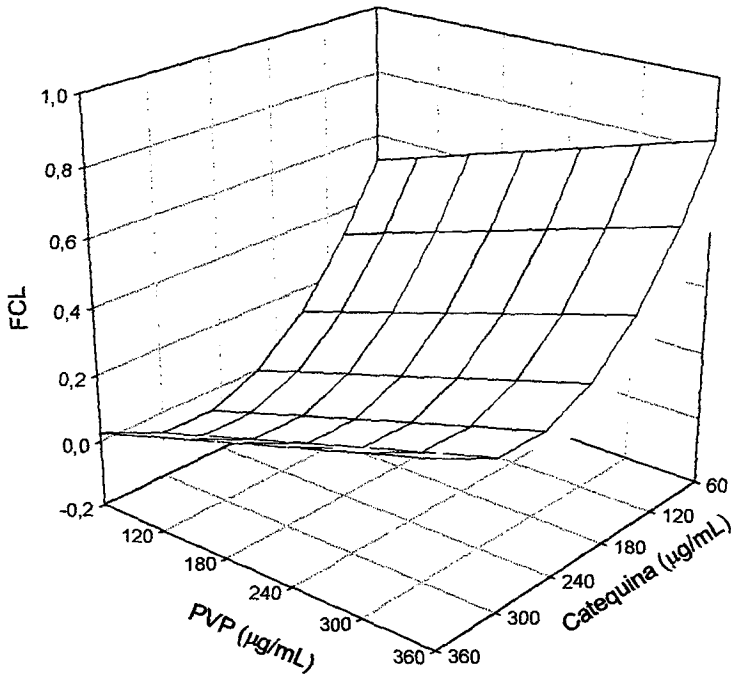
	Modelo original	Primeira simplificação <sup>1</sup>	Segunda simplificação <sup>2</sup>
Coefficientes	(teste-t)	(teste-t)	(teste-t)
$\beta_0$	0,93	1,63	3,18
$\beta_1$	1,69	2,38*	2,84*
$\beta_2$	0,89	0,90	1,84*
$\beta_{12}$	0,35	-	-
$\beta_{11}$	1,66	1,79*	2,21*
$\beta_{22}$	0,50	0,54	-
$r^2$	0,7358	0,7289	0,7160
F <sub>regressão</sub>	2,79	4,04	5,88*

\* Significativo para  $P = 0,05$ ; <sup>1</sup>Primeira simplificação = eliminação de  $\beta_{12}$ ; <sup>2</sup>Segunda simplificação = eliminação de  $\beta_{12}$  e  $\beta_{22}$

Após a eliminação do termo correspondente a interação dos fatores e do termo quadrático para povidona, a equação quadrática foi reajustada, originando o modelo abaixo:

$$FCL = 0,84 - 0,007 \beta_1 + 1,024 \cdot 10^{-3} \beta_2 + 1,304 \cdot 10^{-5} \beta_{11}$$

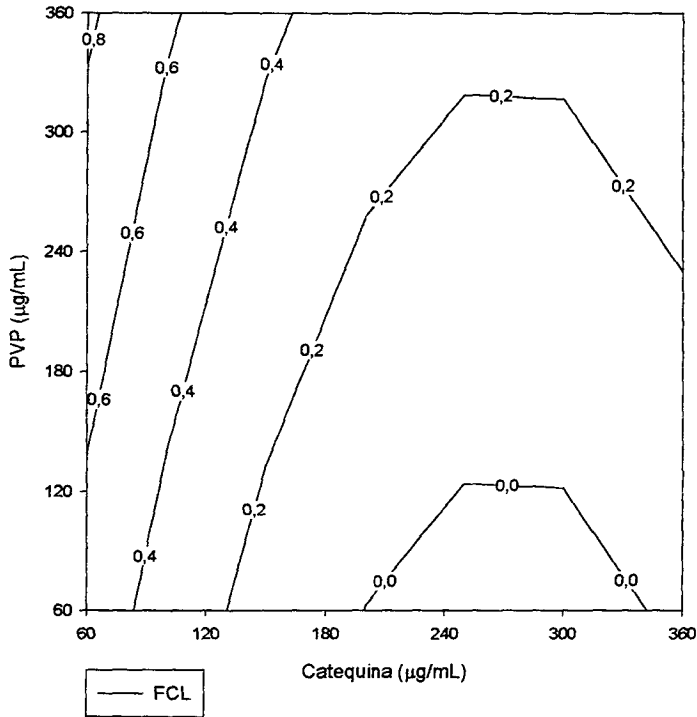
Embora estes resultados não permitam a validação do modelo matemático para descrição do fenômeno em estudo, a elevada correlação entre os valores experimentais e os valores calculados pelo modelo permite que a elaboração da superfície de resposta e a respectiva curva de isorrespostas represente, de forma mais fidedigna os valores estimados para a variável estudada (figuras 1.12 e 1.13).



**Figura 1.12.** Superfície de resposta para a fração de catequina ligada (FCL), após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.

O teste-*t* para os coeficientes da equação demonstrou que ambos os termos relacionados à concentração de catequina foram estatisticamente significantes. Enquanto o termo linear descreve a redução na fração de catequina ligada com o

aumento de sua concentração, o termo quadrático revela a presença de curvatura para a resposta analisada.



**Figura 1.13.** Curva de isorespostas para a fração de catequina ligada (FCL), após complexação de diferentes concentrações de catequina e povidona com ligações cruzadas.

Os resultados obtidos para fração de catequina ligada, representados nas figuras 1.12 e 1.13, demonstraram que a concentração de catequina no sistema foi o principal responsável pelas variações na resposta estudada. A influência da concentração de povidona apresentou comportamento linear, independente da concentração de catequina. Entretanto, a formação de complexos foi mais eficiente com o aumento da proporção ponderal povidona:catequina. Quando esta proporção

foi inferior a 3:1 (m/m), a absorvância e, conseqüentemente, a fração de catequina ligada praticamente não sofreu alterações, permanecendo em seus níveis mais baixos, não ultrapassando 20 % do polifenol presente no sistema. Porém, com o aumento desta relação, observou-se incremento significativo na formação de complexos. Este comportamento foi mais intenso na região onde havia maior concentração de povidona e menor concentração de catequina, alcançando valor máximo de fração ligada em torno de 80 %.

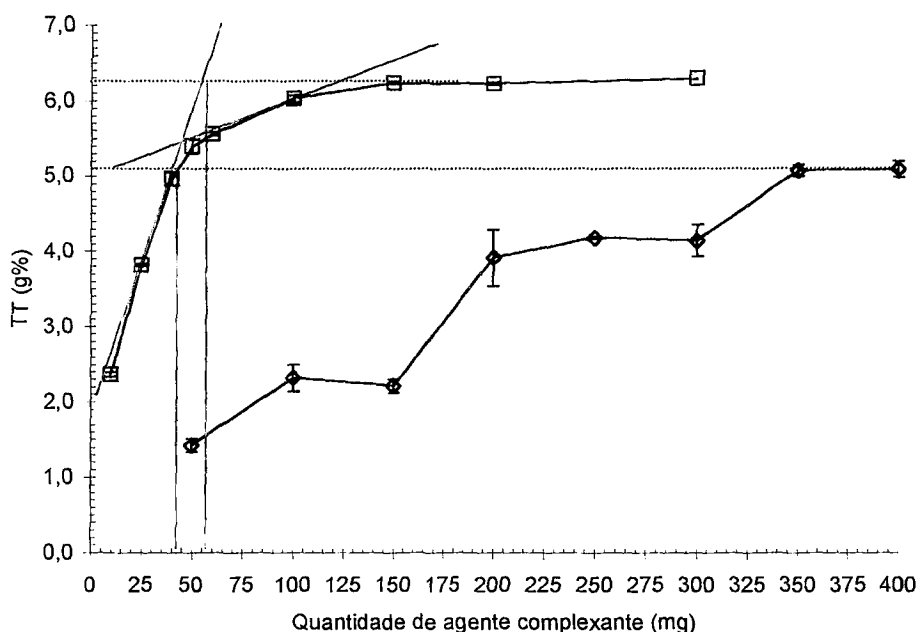
#### **4.2 Avaliação do teor de taninos totais em solução extrativa de *Maytenus ilicifolia* empregando povidona e caseína**

Empregando o método que utiliza o reagente de Folin-Denis, o mesmo comportamento observado para a catequina foi detectado para a solução extrativa. A povidona com ligações cruzadas apresentou maior eficiência na formação da fração tanante presente na solução extrativa do que a caseína (figura 1.14). Sendo necessários cerca de 150 mg de PVP para que houvesse estabilização na leitura do teor de taninos totais na solução extrativa. Enquanto que, para a caseína, ao contrário do observado por CARVALHO (1997), o esgotamento da fração tanante não pôde ser alcançado nas condições testadas. Como constatado no ensaio realizado com o padrão, a afinidade da caseína é muito inferior à observada para a povidona, de maneira que o máximo de precipitação só foi alcançado quando foram empregados 350 mg de caseína.

O emprego de povidona como agente complexante apresentou um fator bastante crítico. Aparentemente, o aumento da concentração de polímero levou à eliminação de todos os compostos fenólicos presentes na solução extrativa, de maneira que, a absorvância obtida para fração não-tanante, após reação com reagente de Folin-Denis, foi muito próxima a zero. Este resultado sugere que a povidona pode remover significativamente outros polifenóis além dos taninos. A atuação inespecífica do polímero desfavorece seu emprego como agente complexante adotando o método descrito por MARTINS (1998).

Entretanto, o perfil de complexação obtido, utilizando a povidona com ligações cruzadas e representado na figura 1.14, revelou uma zona de inflexão identificada por extrapolação das curvas, quando a quantidade de polímero adicionada foi de

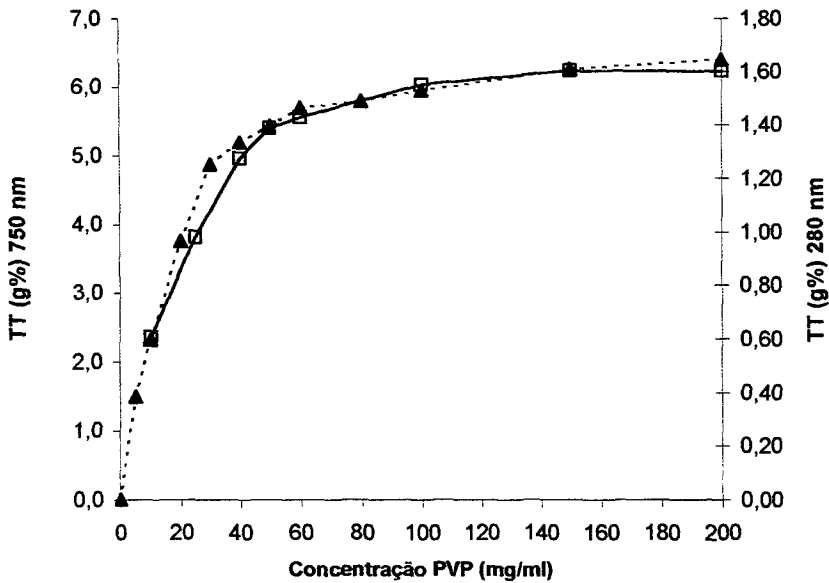
aproximadamente 50 mg. O início dessa zona corresponde à concentração máxima de caseína em termos de taninos totais (cerca de 5,1 g%).



**Figura 1.14.** Teor de taninos totais (TT) na solução extrativa de *M. ilicifolia*, empregando diferentes quantidades dos agentes complexantes. ◇ = caseína; □ = povidona.

Estes resultados sugerem que a formação de complexos entre PVP e os componentes fenólicos presentes na solução extrativa de *M. ilicifolia* ocorre em duas etapas. Aparentemente, ocorre inicialmente a formação de complexos entre o polímero e os taninos. Após esgotamento deste substrato ocorreria a interação da povidona com os demais polifenóis, até total esgotamento destes compostos.

Este mesmo comportamento foi observado quando o teor de taninos totais foi avaliado através de leitura em 280 nm sem adição de reagente de Folin-Denis (figura 1.15). A diferença entre os valores calculados para o teor de taninos totais para os dois comprimentos de onda é decorrente do emprego de coeficientes de absorção específicos para cada caso.



**Figura 1.15.** Perfil de complexação dos taninos calculado através dos taninos totais (TT) presentes em folhas de *Maytenus ilicifolia* em função da concentração de povidona (PVP). Determinações realizadas após reação com o reagente de Folin-Denis em 750 nm (□) e por leitura direta em 280 nm sem o reagente (▲).

A avaliação da precipitação de taninos na solução extrativa, através de desenho composto central, revelou que outros fatores interferem no fenômeno. Certamente, como observado na figura 1.15, a presença de outros polifenóis, além dos catéquicos, deve modificar o perfil de complexação da povidona com os taninos presentes.

Considerando a absorvância lida, a variação da concentração de povidona e da solução extrativa proporcionou comportamento semelhante ao observado para o padrão. A análise estatística do modelo revelou elevada correlação entre os dados experimentais e calculados ( $r^2 = 0,9607$ ), com um F de elevada significância. Porém, também foi detectada variabilidade intrínseca através do teste de falta de ajuste, o que não permitiu a validação do modelo (tabela 1.8).

**Tabela 1.8.** Resumo dos resultados da análise estatística para as variáveis dependentes.

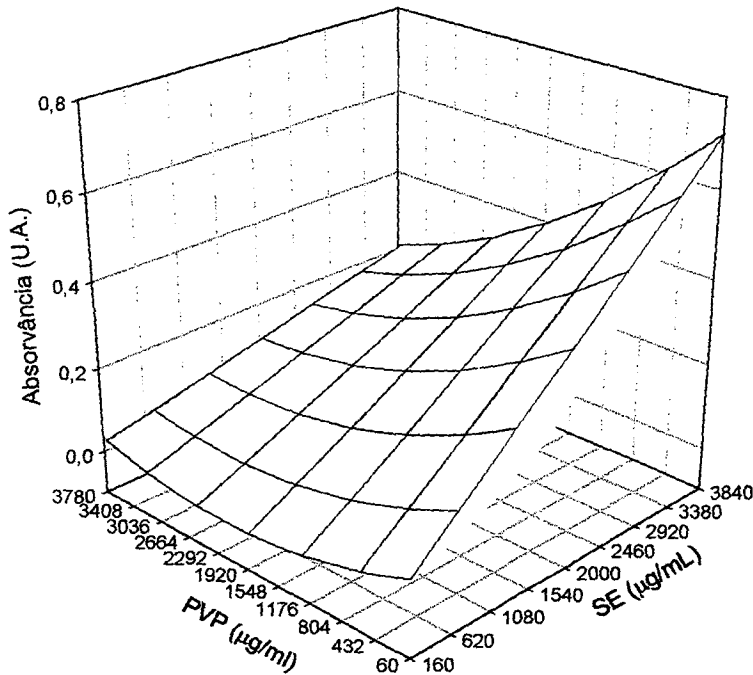
Variáveis	Absorvância (U.A.)		Fração de catequina ligada	
	valor	teste t	valor	teste t
$\beta_0$	5,6E-02	0,73	6,2E-01	3,43
$\beta_1$	1,7E-04	3,45*	-3,4E-04	2,87*
$\beta_2$	-8,4E-05	1,69*	2,0E-04	1,69*
$\beta_{12}$	-3,4E-08	2,50*	5,2E-08	1,62*
$\beta_{11}$	7,5E-10	0,07	3,7E-08	1,51*
$\beta_{22}$	2,0E-08	1,94*	-3,8E-08	1,58*
$r^2$	0,9607	-	0,7108	-
F <sub>regressão</sub>	25,64*	-	6,16*	-
F <sub>falta de ajuste</sub>	83,23*	-	106,76*	-

$\beta_1$ = SE,  $\beta_2$ = povidona,  $\beta_{12}$  = interação,  $\beta_{11}$  e  $\beta_{22}$  = termos quadráticos. \* Significativo para P = 0,05

De acordo com o teste-t para os coeficientes da equação, a concentração da solução extrativa foi a principal responsável pelo aumento na absorvância lida. Entretanto, apenas o termo linear para esta variável apresentou importância estatística. Na ordem de significância estatística, a interação entre os fatores foi o segundo termo mais importante. Este resultado revelou que o aumento simultâneo das concentrações da solução extrativa e da povidona foi responsável pela redução na absorvância lida. Na seqüência, encontram-se o termo quadrático e o linear para a concentração de povidona: o primeiro revela a presença da curvatura e o segundo demonstra dependência negativa da variável dependente. O termo quadrático para a concentração da solução extrativa apresentou menor importância. A superfície de resposta e a curva de isorrespostas calculadas, empregando o modelo matemático, estão representadas nas figuras 1.16 e 1.17.

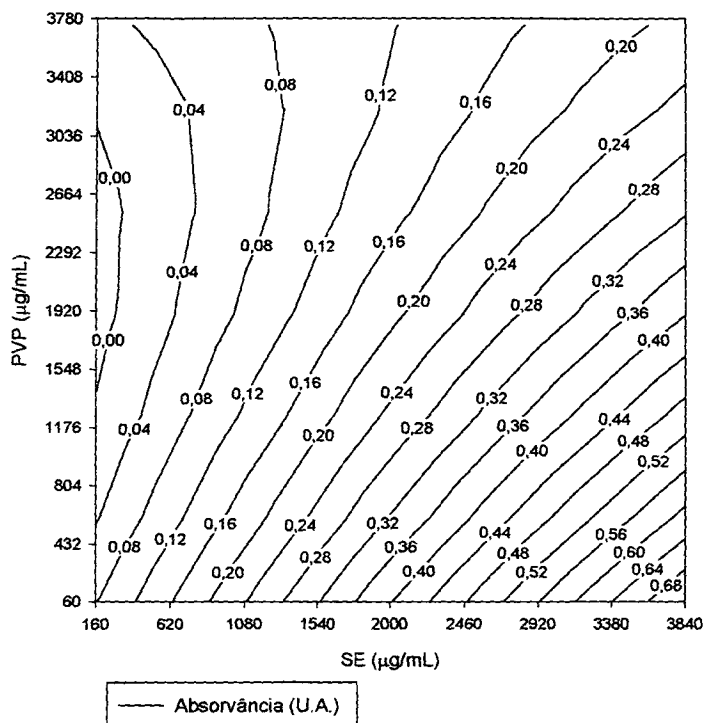
A avaliação da fração de catequina ligada na solução extrativa, através do desenho composto central demonstrou, ao contrário do ensaio com o padrão, que as proporções de povidona:solução extrativa testadas foram suficientes para alcançar um máximo de complexação. Entretanto, a análise estatística para o modelo proposto apresentou respostas semelhantes às obtidas com o padrão. O coeficiente

da regressão demonstrou que o modelo também foi capaz de descrever mais que 70 % da variância experimental ( $r^2 = 0,7108$ ), porém foi encontrada importância estatística para o teste F da regressão. Já o teste de falta de ajuste seguiu o comportamento observado para os demais experimentos e não possibilitou a validação do modelo.



**Figura 1.16.** Superfície de resposta para a absorvância da solução extrativa (SE) em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de SE e povidona (PVP).



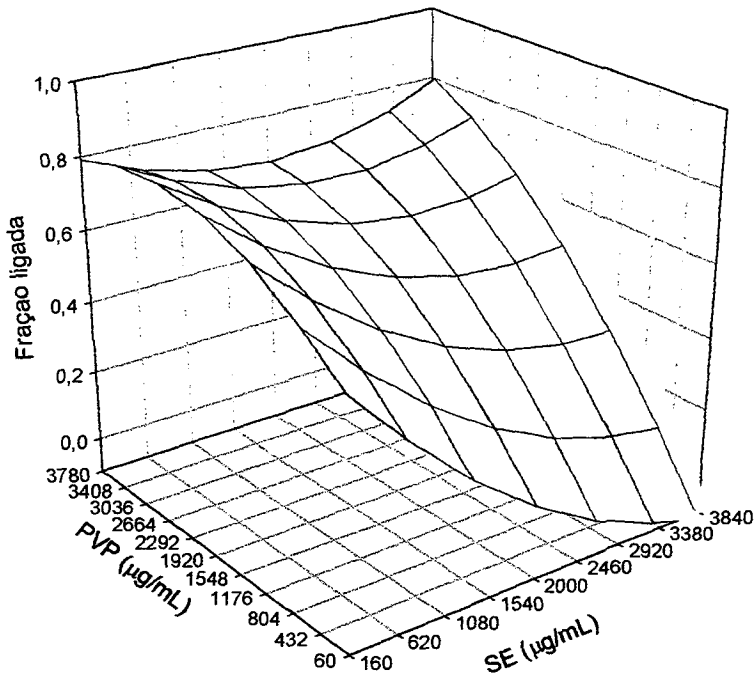


**Figura 1.17.** Curva de isorrespostas para a absorvância da solução extrativa (SE) em 280 nm, após complexação de diferentes concentrações de SE e povidona (PVP).

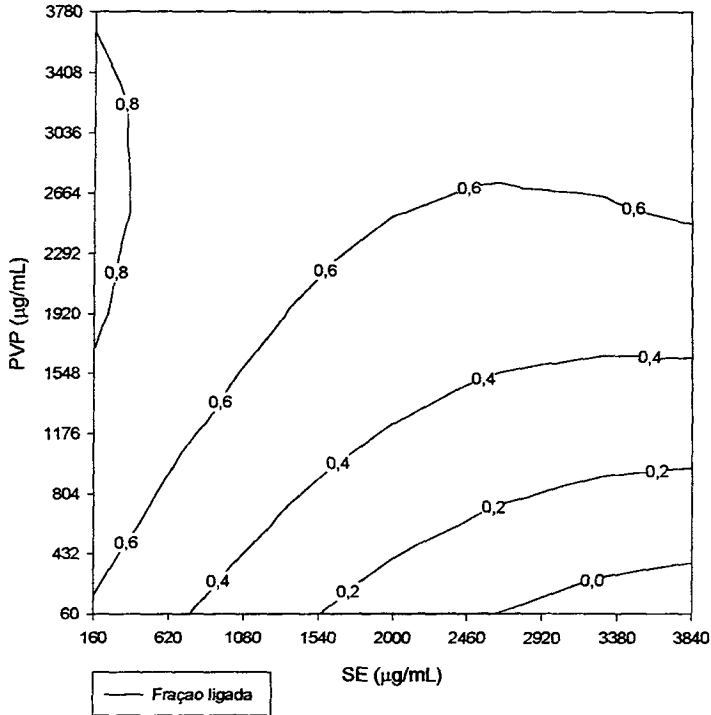
A elevada correlação entre os valores experimentais e os valores calculados pelo modelo permitiu que a superfície de resposta e a respectiva curva de isorrespostas representassem fielmente os valores de fração ligada para as diferentes concentrações de povidona e solução extrativa (figuras 1.18 e 1.19).

O teste-*t* para os coeficientes da equação demonstrou que todos os termos do modelo apresentaram importância estatística. De acordo com a ordem de importância, o termo linear para concentração de solução extrativa foi o mais relevante, apresentando contribuição negativa sobre a variável dependente. Na seqüência, encontram-se o termo linear para concentração de povidona, a interação entre os fatores e o termo quadrático para a concentração da solução extrativa.

Embora apresentem importância semelhante, os dois primeiros demonstram que o aumento da concentração de povidona e a interação entre os fatores são responsáveis pelo aumento na variável de resposta (fração de catequina ligada), enquanto o último revela comportamento quadrático significativo para a concentração da solução extrativa. O mesmo comportamento não-linear também foi observado para a concentração de povidona, cujo termo quadrático apresentou importância estatística.



**Figura 1.18.** Superfície de resposta para a fração ligada da solução extrativa (SE), após complexação de diferentes concentrações de povidona (PVP) e SE.



**Figura 1.19.** Curva de iso-respostas para a fração ligada da solução extrativa (SE), após complexação de diferentes concentrações de povidona (PVP) e SE.

Utilizando a CLAE foi possível observar a influência dos diferentes agentes complexantes sobre o perfil cromatográfico da solução extrativa de *Maytenus ilicifolia*. No cromatograma da solução extrativa sem tratamento (figura 1.20 A), foram identificados os picos 1 e 2, os quais correspondem à catequina e à epicatequina, respectivamente.

Na figura 1.20 B, é possível observar que a adição de 350 mg de caseína não foi capaz de eliminar os picos correspondentes à catequina e à epicatequina, embora tenha sido notada uma redução sensível na área dos mesmos.

Quando a solução extrativa foi tratada com povidona com ligações cruzadas, em quantidade um pouco acima do ponto de inflexão (figura 1.20 C), foi detectada a eliminação praticamente total dos picos correspondentes à catequina e à epicatequina. Adicionalmente, não foram observadas modificações importantes na áreas dos picos 3 e 4, demonstrando que, na concentração testada, a PVP foi responsável, principalmente, pela eliminação dos derivados catéquicos.

Embora os picos 3 e 4 não tenham sido identificados, suas áreas foram monitoradas com o intuito de observar se são passíveis da ação dos agentes complexantes testados.

Os resultados obtidos sugerem que até a zona de inflexão do perfil de complexação corresponde ocorre primordialmente a remoção de derivados catéquicos. Provavelmente, após o esgotamento daquele substrato, há uma maior disponibilidade de sítios livres com a adição de polímero. Desta forma, uma relação muito superior entre os sítios livres do polímero e os demais polifenóis propiciou a interação. Devido a esta nova razão polímero/polifenol, necessária para formação dos complexos, a curva de complexação assume outro perfil, até que ocorra total esgotamento e um máximo seja alcançado.

Como, muito provavelmente, as interações entre a PVP e os demais polifenóis não-tânicos também ocorrem paralelamente, é possível que uma parte deste substrato secundário também possa ser removido pela povidona antes da região de inflexão.

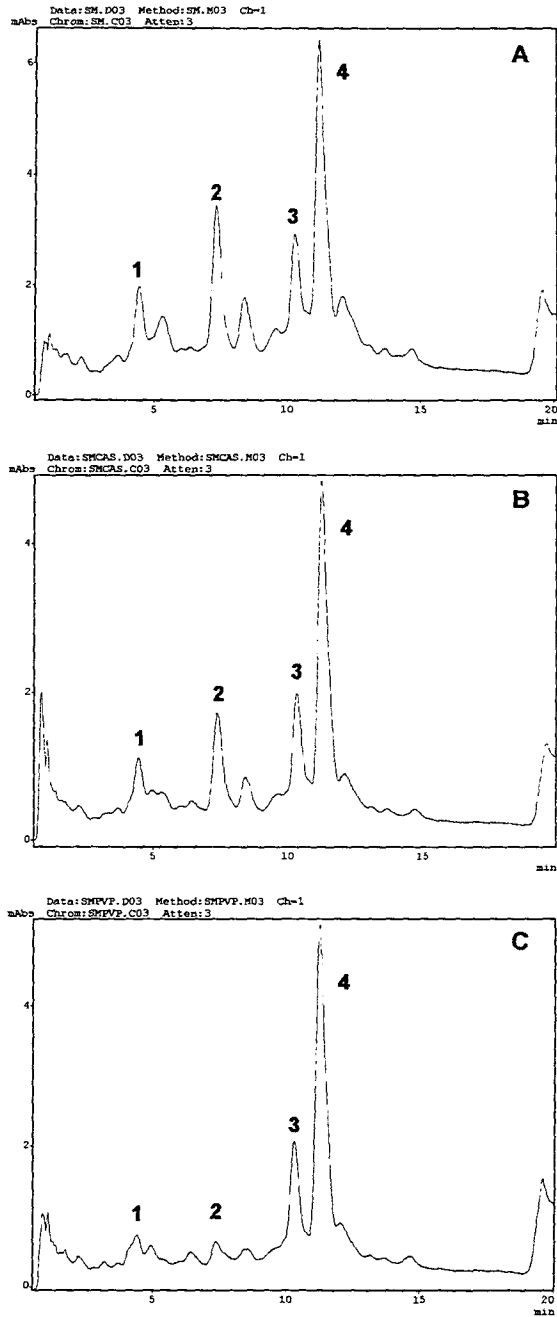
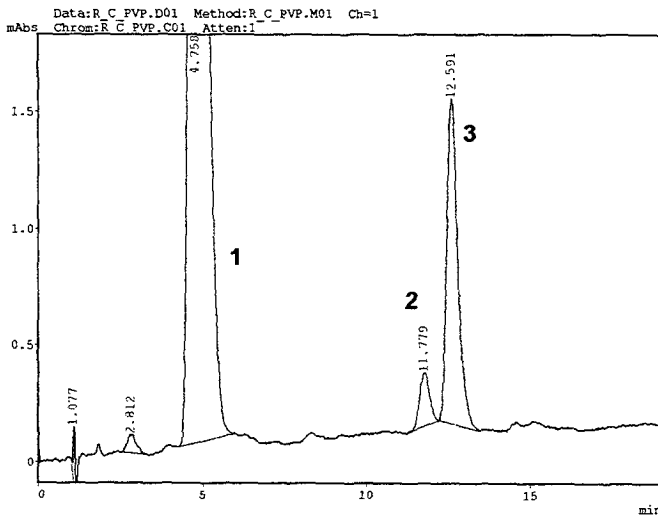


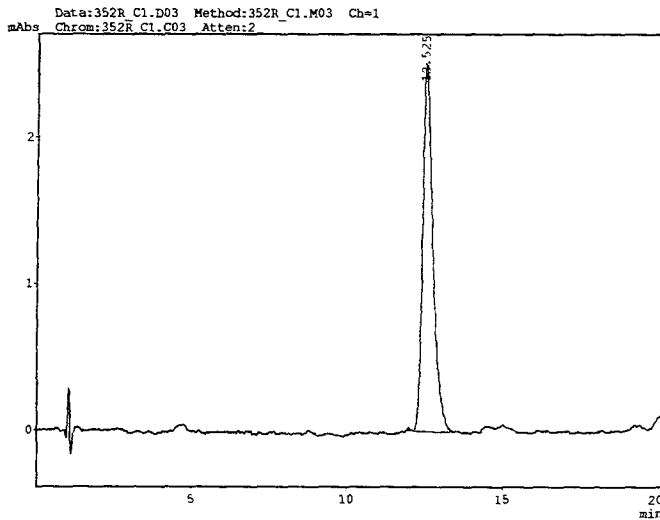
Figura 1.20. Cromatogramas da solução extrativa sem tratamento (A), solução extrativa após tratamento com 350 mg de caseína (B) e solução extrativa após tratamento com 60 mg de povidona (C). Pico 1 = catequina, Pico 2 = epicatequina.

A avaliação da interação de povidona com catequina em presença de flavonóides glicosilados foi realizada através do tratamento de uma solução aquosa, contendo os padrões de catequina e rutina, com povidona, em concentração suficiente para promover precipitação de cerca de 50 % da catequina presente no sistema. Após tratamento da amostra, por agitação, centrifugação, diluição e filtração, uma alíquota foi injetada, empregando as mesmas condições cromatográfica adotadas para a solução extrativa. O cromatograma resultante está representado na figura 1.21.



**Figura 1.21.** Cromatograma da solução padrão aquosa de catequina e rutina com detecção em 280 nm. Pico 1 = catequina, Pico 3 = rutina.

Para avaliar a influência do tratamento da povidona apenas sobre a rutina, a solução padrão de rutina e catequina foi reinjetada sob as mesmas condições cromatográficas, porém com a detecção em 352 nm. O cromatograma obtido, mostrando apenas o pico correspondente ao padrão de rutina, está apresentado na figura 1.22.



**Figura 1.22.** Cromatograma da solução padrão de rutina e catequina com detecção em 352 nm, após tratamento com povidona.

A tabela 1.9 apresenta a variação na área dos picos correspondentes à catequina determinada em 280 nm, e à rutina, determinada em 280 e 352 nm, antes e depois do tratamento com povidona.

**Tabela 1.9.** Áreas dos picos da catequina e da epicatequina antes e depois do tratamento com povidona, determinadas em 280 e 352 nm.

Exp.	280 nm			352 nm
	P1 (catequina)	P2	P3 (rutina)	rutina
Antes	739161,5 (0,46)	5938,5 (1,70)	34922 (0,89)	57939,3 (1,81)
Depois	361377,5 (0,07)	4785 (1,92)	30967,5 (0,84)	49053,3 (1,31)
Difer.	51,51 %	19,42 %	11,32 %	18,02 %
TR	4,758	11,779	12,591	12,525

() = coeficiente de variação em %

A adição de povidona ao sistema confirmou os resultados espectrofotométricos sobre a relação povidona/catequina para formação de complexos tendo sido alcançada uma redução de 50 % na área do pico respectivo. Para as áreas obtidas para a rotina tanto em 280 quanto em 352 nm, a adição do polímero ocasionou redução inferior a 20 % para a área do pico. Este resultado reflete o que pode estar acontecendo durante a formação de complexos entre a povidona e polifenóis. O polímero provavelmente interage inicialmente com os taninos, porém, simultaneamente, também deve ocorrer a formação de complexos com outros polifenóis presentes na solução.

Embora a proposição de uma metodologia, empregando a povidona, não tenha sido cumprida em todos os aspectos, os resultados obtidos apontam como uma alternativa importante ao emprego de pó de pele como agente precipitante de taninos em extrativos vegetais. Entretanto, é preciso estar ciente que tanto um método empregando a povidona como qualquer outro agente complexante, não é capaz de promover a precipitação específica de taninos em matrizes tão complexas como os extratos vegetais.



## 1. INTRODUÇÃO

O emprego de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) trouxe avanços significativos na análise de produtos naturais. A introdução do gel de sílica derivatizado, com superfície apolar (fase reversa = RP), como fase estacionária, foi essencial para que estes avanços ocorressem. Com isto, substâncias polares, pouco voláteis e termolábeis puderam ser extensamente analisadas. Atualmente, cerca de 75 % de todos os laboratórios analíticos emprega esta técnica (ADAM, 2000; SADEK, 2000).

O crescente emprego da CLAE pode ser explicado pelos seguintes fatores (KROMIDAS, 1999a; MEYER, 1999; ADAM, 2000; SADEK, 2000):

- disponibilidade de um grande número de detectores compatíveis com a cromatografia líquida. Inicialmente haviam apenas detectores UV com comprimento de onda fixo e detectores de índice de refração. Hoje em dia, entre os detectores mais usados encontram-se o UV/VIS variável, os de fotodiodo de varredura, eletroquímico, fluorescência, condutividade e espectrômetro de massas;
- novos dispositivos de fornecimento de solvente têm sido desenvolvidos, incrementando a capacidade de fluxo, reprodutibilidade e confiabilidade, possibilitando a utilização de sistemas gradiente de dois até seis componentes na mistura, além da capacidade de estabelecer fluxo entre 1  $\mu\text{L}/\text{min}$  até 5  $\text{mL}/\text{min}$ , e que apresentam variação inferior a 1 %;
- injetores automáticos, os quais são capazes de executar diluições da amostra com precisão e exatidão instantes antes da injeção, resfriar ou aquecer a amostra, além de serem passíveis de programação, permitindo a execução de purga ou limpeza da agulha entre as injeções;
- o número, qualidade e disponibilidade de solventes com elevado grau de pureza destinados à CLAE;
- variabilidade de tamanhos, materiais de enchimento e tipos das colunas cromatográficas, assim como o grande número de fornecedores;

- programas computacionais destinados ao controle do sistema com diferentes dispositivos de suporte tais como sistemas de manutenção (*logs*), rotinas de adequabilidade de sistema e pacotes de boas práticas laboratoriais. Este pacotes são capazes de armazenar a rotina de utilização do sistema bem como os dados gerados durante a operação. Adicionalmente, muitos destes programas são ajustados para alertar o operador, após um período de trabalho determinado, sobre a manutenção ou a necessidade de substituição de partes, ou, ainda, para a execução de rotina de manutenção, e,
- por fim, e, provavelmente, o mais importante, o número elevado de publicações sobre as diferentes metodologias relacionadas à CLAE. Estas informações dão ao analista suporte suficiente para o melhor ajuste dos parâmetros com os quais é possível iniciar o desenvolvimento de um método, ou, muitas vezes, fornecem exatamente as condições necessárias para separação e quantificação de um determinado analito de interesse.

As organizações que promulgam métodos validados tais como a USP (*United States Pharmacopoeia Convention*), a ASTM (*American Society for Testing Materials*), e outras organizações que coordenam programas colaborativos para validação de métodos como a AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) e a ICH (*International Conference on Harmonization*), têm desempenhado papel importante na expansão do alcance e aplicabilidade da CLAE, através da publicação de um grande número de metodologias bem documentadas.

O emprego da CLAE, para a análise de substâncias presentes em fitomedicamentos, está associado às crescentes exigências para o controle de qualidade destes produtos (WHO, 1991; BRASIL, 2000). Embora compreenda uma técnica de alto custo, a CLAE vem sendo cada vez mais utilizada, por apresentar elevada sensibilidade e seletividade, além de sofrer influência reduzida de matrizes biológicas (SCHMIDT e GONZÁLEZ ORTEGA, 1993; SWARTZ e KRULL, 1998; ADAM, 2000; PETRY, 1999, HEBERLÉ, 2000;).

### 1.1. Revisão da literatura

A análise de taninos catéquicos através de CLAE é amplamente relatada na literatura. A tabela 2.1 descreve, de forma resumida, as principais condições cromatográficas relacionadas para análise destes compostos em matrizes biológicas.

**Tabela 2.1.** Resumo de métodos de determinação de catequinas através de CLAE.

Coluna	Fase móvel (sistema de eluição)		Fluxo (ml/min)	$\lambda$ (nm)	Referência
Kingsorb C18	MeOH:H <sub>2</sub> O:H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (20:79,9:0,1)	(I)	1,0	210/ 280	Wang <i>et al.</i> , 2000
Nucleosil C18	ACN:H <sub>2</sub> O:H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (10:89,9:0,1)	(I)			
PartiSphere 5 C18	A - ACN:H <sub>2</sub> O:TFA (5:94,965:0,035) B - ACN:H <sub>2</sub> O:TFA (50:49,975:0,025)	(G)	1,0	205	Lee e Ong, 2000
Eclipse XDR-C18	A - MeOH:CH <sub>3</sub> COOH (97:3) B - MeOH	(G)	0,9-1,0	280/ 360	Chen <i>et al.</i> , 2001
Nucleosil C18	A - H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 1% B - MeOH	(G)	1	280	Escarpa e González, 2000, 2001
Zorbax SB C18	MeOH:H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> COOH (30:70:0,1)	(I)	1	270	Ding <i>et al.</i> , 1999
Hypersil C18	A - ACN:H <sub>2</sub> O:HCOOH (10:90:5) B - ACN:H <sub>2</sub> O:HCOOH (90:10:5)	(G)	0,9	270	Andalauer <i>et al.</i> , 1999
Nova-Pak C18	A- MeOH:H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> COOH (10:2:88) B- MeOH:H <sub>2</sub> O:CH <sub>3</sub> COOH (90:28)	(G)	1	280	Rodriguez- Delgado <i>et al.</i> , 2001

(G) = sistema gradiente; (I) = sistema isocrático

Como se pode observar na tabela 2.1, existe, de fato, uma ampla gama de metodologias analíticas aplicadas à separação e a quantificação de derivados catéquicos. Entretanto, uma série de limitações, relacionada à qualidade da separação destes compostos, é freqüentemente relatada. Estes problemas de separação se tornam mais críticos quando a identificação ou a quantificação é realizada em meios biológicos, onde a concentração do analito é reduzida.

Embora a quantificação de derivados catéquicos tenha sido realizada tanto em fase normal quanto reversa, empregando diferentes formas de detecção, o método de escolha para quantificação destes compostos tem sido, primordialmente, o de fase reversa acoplada à detecção em UV (DING *et al.*, 1999; DALLUGE e NELSON, 2000; SCHOFIELD *et al.*, 2001).

Antes de adotar uma metodologia analítica, é importante que os diversos fatores de variação na técnica sejam conhecidos e analisados. Entre os principais fatores capazes de alterar um método analítico destacam-se: tempo (durante preparação da amostra ou da execução da técnica de análise), temperatura, pH, características da amostra (concentração, tipo e forma de preparação), reagentes empregados (qualidade e propriedades físico-químicas), equipamento e o próprio analista. Desta maneira é necessário que uma série de experimentos seja executada para estabelecer quais destes parâmetros são realmente críticos para as condições específicas de cada método analítico (ICH, 1996; SWARTZ e KRULL, 1997 e 1998; KROMIDAS, 1999b).

O conjunto de experimentos que avalia a adequabilidade de um método analítico para um determinado analito encontra-se descrito na tabela 2.2 (KROMIDAS, 1999b). Estes testes são executados e documentados com o objetivo de assegurar que o método analítico seja exato, específico, reprodutível e resistente dentro da faixa de variação em que a substância deve ser analisada (ICH, 1996; SWARTZ e KRULL, 1997 e 1998).

**Tabela 2.2.** Testes possíveis para validação de um método analítico (KROMIDAS, 1999b).

Testes	Descreve sobre
Exatidão	- Erro sistemático e aleatório;
Precisão	- Erro aleatório;
Repetibilidade	- Precisão sobre mesmas condições: 1 amostra, 1 analista, reagentes idênticos, curto período entre as determinações;
Precisão intermediária	- Apenas uma amostra, porém mais variáveis: 2 analistas e/ou 2 aparelhos e/ou 2 dias etc.
Reprodutibilidade	- Precisão sob condições comparáveis: 1 amostra, 2 analistas, 2 aparelhos, 2 laboratórios;
Linearidade	- Dependência matemática entre a leitura (sinal) e a concentração;
Seletividade	- Capacidade de avaliar sem interferência e ao mesmo tempo, diversas substâncias de interesse;
Recuperação	- Rendimento após cada passo da análise;
Limite de detecção	- Menor quantidade ou concentração detectável com certo limite de confiabilidade;
Limite de quantificação	- Mais baixa concentração que a substância pode ser determinada com exatidão e precisão;
Robustez	- Capacidade que apresenta o método em não ser afetado após pequenas variações;
Resistência	- Capacidade que apresenta o método em não ser afetado após modificações importantes nas condições de execução do mesmo;
Faixa de trabalho	- Faixa de concentração onde é possível assegurar a exatidão, precisão, seletividade, linearidade e robustez do método.
Estabilidade	- Estabilidade da solução em análise, reagentes químicos, etc.
Especificidade	- Capacidade de determinar uma substância (ou classe de substâncias) sem interferência de outros compostos
Incerteza de medida	- Variação das determinações
Capacidade do método	- Capacidade de método em fornecer resultados dentro de um limite especificado
Estabilidade do método	- Estabilidade do método analítico em função do tempo

O conjunto de experimentos a serem adotados durante a validação de métodos analíticos depende de diversos fatores, tais como a técnica empregada (espectrofotometria, titulometria, CLAE, etc.), a amostra (tipo, concentração, estabilidade, etc.), entre outros. Na CLAE, os principais ensaios realizados para sua

validação são a precisão, exatidão, linearidade e respectiva faixa de trabalho, limites de quantificação e detecção, robustez e resistência (ICH, 1996; SWARTZ e KRULL, 1997 e 1998; KROMIDAS, 1999b; MEYER, 1999; SADEK, 2000).

A **precisão** é o parâmetro que descreve o grau de variação dos resultados entre determinações de uma mesma amostra, independente do significado da resposta. Para a análise, podem ser empregados o desvio padrão ( $s$ ), o coeficiente de variação (CV %), ou, ainda, porém mais raro, a variância ( $s^2$ ). De acordo com o ICH (1996), a precisão deve ser executada em dois níveis: *repetibilidade* e *precisão intermediária*. A primeira corresponde à análise da variação entre determinações de uma mesma amostra, obtidas sob as mesmas condições (mesmo dia, mesmo equipamento e mesmo analista, por exemplo). Enquanto que, a segunda descreve as variações introduzidas aleatoriamente durante a execução da rotina analítica. Os eventos mais característicos para este tipo de avaliação são dias, analistas e equipamentos.

**Exatidão** ou **recuperação**, é o parâmetro que avalia a capacidade do método em apresentar respostas o mais próximas possíveis dos valores reais. Normalmente, é executada através da contaminação da amostra com a substância marcadora em concentração conhecida, sendo calculada como percentagem de recuperação da substância.

A **linearidade** compreende a correlação entre a resposta do método e a concentração ou quantidade de analito, cujo comportamento deve ser descrito por uma equação linear. Assim, a linearidade representa a capacidade do método, em uma determinada região de trabalho, em originar respostas que são diretamente proporcionais à concentração do analito. O estudo da linearidade é realizado através da construção da curva de calibração, a partir da qual, através de análise de regressão, são estabelecidos a equação da reta, o coeficiente de correlação e o coeficiente de variação percentual. Através de análise estatística é possível determinar os limites de confiança do ponto de interseção da reta para avaliação de erros sistemáticos.

Os **limites de detecção e quantificação** correspondem às concentrações mínimas onde são possíveis realizar, respectivamente, a detecção e a quantificação com precisão, exatidão e segurança estatística. Embora estes parâmetros sejam

recomendados para métodos destinados ao estudo de traços ou resíduos (SWARTZ e KRULL, 1997), eles podem ser facilmente calculados a partir dos parâmetros da curva de calibração.

Muitas vezes a literatura não estabelece grande distinção entre os teste de **robustez** e de **resistência**. Ambos os experimentos tem por objetivo avaliar a estabilidade do método frente a diferentes modificações introduzidas intencionalmente. Assim, os dois testes se diferenciam de acordo com o nível com que as variações são introduzidas. Enquanto a robustez representa pequenas variações realistas e controláveis em diferentes parâmetros do método, tais como pH da fase móvel, temperatura, fluxo e composição da fase móvel; a resistência traduz a estabilidade do método frente a modificações mais drásticas nas condições de execução da análise tais como a coluna cromatográfica (fornecedor ou lote), aparelho, analista, laboratório e/ou período da realização do ensaio.

## 2. OBJETIVOS

Desenvolver e validar técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para separação e quantificação de catequina e epicatequina em soluções extrativas aquosas das folhas de *Maytenus ilicifolia*.



**MANUSCRITO: DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A HPLC METHOD FOR  
DETERMINATION OF CATECHIN AND EPICATHECHIN IN  
AQUEOUS EXTRACTS FROM *Maytenus ilicifolia* LEAVES.**

**L.A.L. SOARES, A. L. OLIVEIRA, G.G. ORTEGA, P.R. PETROVICK**

---

Artigo em preparação para ser submetido ao *Phytochemical Analysis*

**Development and validation of a HPLC method for determination of Catechin and Epicatechin in aqueous extracts from *Maytenus illicifolia* leaves.**

**L.A.L. Soares, A. L. Oliveira, G.G. Ortega, P.R. Petrovick\***

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

\* Corresponding Author

## Abstract

A reverse phase-LC method was developed and validated for separation and quantification of catechin and epicatechin in aqueous extract from *Maytenus ilicifolia* leaves. The analysis were performed using a C<sub>18</sub> column with acid acetic-acetonitrile gradient elution. The detection was carried out by UV at 280 nm and the peak identification was based on the retention times and by co-chromatography with reference substances. High coefficients of determination were achieved for both catechin and epicatechin peaks from the standard solutions (0.9996 and 0.9999, respectively), as well from the aqueous extract (0.9981 and 0.9982, respectively). The method showed good repeatability (RSD < 1.5 %), reproducibility (RSD < 5 %) and acceptable accuracy (101.4 %, RSD = 1.18 and 100.6, RSD = 2.07) for both catechin and epicatechin peaks, respectively.

*Keywords:* HPLC, Validation; Gradient elution; *Maytenus ilicifolia*; Catechin; Epicatechin;

## 1. Introduction

*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Celastraceae is widely used in the Brazilian folk medicine for the treatment of gastric ulcers. The efficacy and safety of aqueous extracts were confirmed by pharmacological and clinical studies [1,2]. Actually, many Brazilian pharmaceutical industries produce and commercialize phytopharmaceuticals containing this drug. The availability of validated assay methods is therefore an important part of the quality control of such products, and it is required by Brazilian health authorities for registration of Phytomedicines [3].

Notwithstanding the active constituents of *Maytenus ilicifolia* leaves stay undefined, catechin and epicatechin have been used as markers for quality assurance of products containing such drug due their relative high concentration [4]. Several LC methods are reported for the separation and determination of catechins in tea and other biological analytes [5-12]. Although the related RP-LC techniques showed satisfactory results, they often revealed limitations such as complex elution phases, extend pre-treatment of the samples, low resolution or long time of total separation [13].

Thus, in this paper, was developed and validated a simple and rapid LC method with high reproducibility for simultaneous separation and determination of catechin and epicatechin in aqueous extracts from *Maytenus ilicifolia* leaves.

## **2. Experimental**

### **2.1 Chemical and solvents**

(+)-catechin and (-)-epicatechin were purchased from Sigma (St. Louis, MO). The mobile phase was prepared with HPLC grade solvents. It was composed by acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany), water (Milli-Q system, Millipore, Bedford, MA) and acetic acid (Synth, São Paulo, Brazil).

### **2.2 HPLC system**

The analysis was carried out with a Shimadzu liquid chromatograph type LC-10A equipped with a pump (type LC10AD), a UV/VIS-detector (type SPD10A), an auto sampler (type SIL-10 A) and CLASS-LC10 software (Shimadzu, Kyoto, Japan). A Nova-Pak C<sub>18</sub> RP-column 150 mm x 39 mm i.d., 60 µm (Waters, Milford, MA) protected by a pre-column Shimadzu (10 mm x 4 mm i.d.) packed with Bondapak C<sub>18</sub> 125 µm (Waters, Milford, MA) was used throughout this study. The peaks were detected at 280 nm. After filtration (0.44 µm, Millipore, Bedford, MA) and degassing with helium, a gradient elution was performed by a dual valve system (type FVC-10AL, Shimadzu, Kyoto, Japan) varying the proportion of solvent A (acetic acid 1%; v/v) to solvent B (acetonitrile:water:acetic acid; 50:49:1; v/v) at a flow rate of 1.5 ml/min. The gradient program is summarized in table 1.

Table 1. Gradient elution program (B = acetonitrile:water:acetic acid; 50:49:1; v/v)

Time (min)	B (%)
0	12.5
5	20.0
8	30.0
17	45.0
18	100.0
25	100.0
27	12.5
30	12.5

## 2.3 Method development

### 2.3.1 Identification of catechin and epicatechin

The peaks of (+)-catechin and (-)-epicatechin in the extract were identified comparing the retention time against the standards, and by addition of small amount of the standards substances to the sample.

### 2.3.2 Calibration curves

#### 2.3.2.1 Calibration curves of the standards

Starting from aqueous solutions of each standard substances, a dilution series was prepared. After diluting, solutions containing different concentrations of catechin

(16, 24, 32, 40, 50 and 80  $\mu\text{g/ml}$ ), and epicatechin (32, 48, 64, 80, 100 and 160  $\mu\text{g/ml}$ ) were resulted. The solutions were filtered through a 0.45  $\mu\text{m}$  membrane (Millipore-HVHP, Bedford, MA). The results represented the averaged of three curves calculated by three injections of 20  $\mu\text{l}$  from each concentration, and used for construction the calibration curves by linear regression.

#### 2.3.2.2 Calibration curve of the extract.

Aqueous extracts from *M. ilicifolia* leaves were obtained by infusion with plant:solvent proportion of 1:10 (w/v). They were filtered through filter paper (grade 1:10  $\mu\text{m}$ , Whatman, UK) and diluted with distilled water to 4, 8, 12, 16 and 20  $\text{mg/ml}$ . Three curves were prepared with three injection of 20  $\mu\text{l}$  from each diluted solution. The results represented the averaged of three curves constructed by three injections of 20  $\mu\text{l}$  from each concentration, and used for calculation the calibration curves by linear regression.

#### 2.3.3 Linearity, precision, accuracy, detection and quantification limit.

The method linearity, precision, accuracy, detection and quantification limits were evaluated according to the ICH guidelines [14].

Thereby, three sample of the extractive solution were spiked with known amounts of each standard. Each sample was injected three times and the amount recovered was calculated.

For repeatability an extractive solution was prepared, which six different dilution were done. Each diluted solution was injected in triplicate and the

repeatability was evaluated statistically from the peak areas and retention times of both catechin and epicatechin peaks.

The intermediary precision was calculated from three different concentrations of extractive solution at three different days. At each day a new extractive solution was prepared, diluted to three different concentrations and 20  $\mu$ l were injected in triplicate.

### **3. Results and discussion**

The optimized HPLC conditions were achieved after preliminary assays, where different combinations of acetonitrile, water and acetic acid were tested. Figure 1 shows a chromatogram from a injection of 20  $\mu$ l of the aqueous extract. Considering the analyte matrix complexity, a good separation could be archived with a total run time of 30 min per injection. Comparing this chromatogram with the chromatogram of standard solution containing both catechin and epicatechin a coincidence of retention times could be observed (table 2).



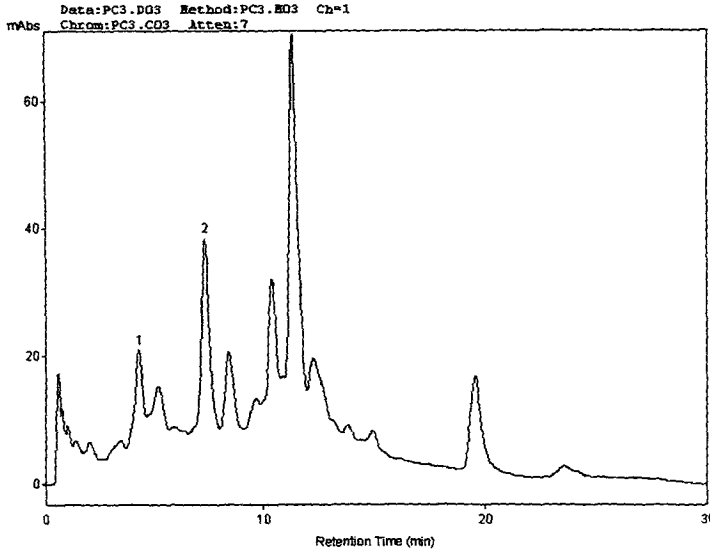


Figure 1. Chromatogram of aqueous extract from *M. ilicifolia* leaves detected at 280 nm. Peaks: 1 - (+)-catechin; 2 - (-)-epicatechin

Table 2. Retention times (min) for both catechin and epicatechin peaks in SS and in extract

Substance	SS	Extract	t-test
Catechin	4.473 (0.50)	4.415 (1.28)	0.32
Epicatechin	7.402 (0.18)	7.321 (1.13)	0.28

() = RSD values; p = 0.95

The linearity was evaluated for each standard substance (SS). The calibration curves were obtained by plotting peak areas upon concentrations using six SS solution. The regression analysis was performed and the resulting parameters are showed in table 3.

Table 3. Linear regression analysis data for both catechin and epicatechin in standard solutions

Regression parameters	(+)-catechin	(-)-epicatechin
Intercept	-22361.33	-20701.1
(confidence intervals)	(-45945.83 to 1223.174)	(-41850.1 to 447.85)
Slope	8884.74	7894.64
R <sup>2</sup>	0.9996	0.9999

The coefficients of determination for SS calibration curves were greater than 0.999. Thus, the calculated straight line could explain more than 99 % of the experimental data. The confidence intervals for both intercept points included zero. Therefore, the result confirms the absence of constant systematic errors [15]. The detection and quantification limits were estimated from the calibration curve slopes. The limits of detection were 0.031 and 0.015 µg/ml for catechin and epicatechin, respectively, which demonstrate the method sensitivity. The calculated limits of quantification were respectively 0.093 and 0.045 µg/ml .

Calibration curves for both catechin and epicatechin peaks from the aqueous extract with the correspondent confidence intervals are shown in figure 2. The calibration curves were evaluated statically and the obtained parameters are summarized in table 4.

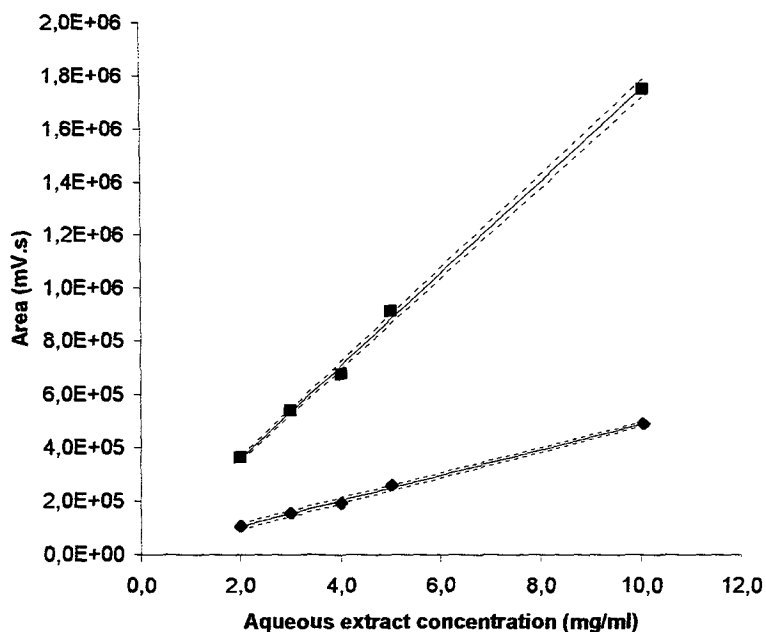


Figure 2. Calibration curves and respective confidence intervals (.....) for both catechin (◆) and epicatechin (■) peaks into extractive solutions

Table 4. Linear regression analysis data for both catechin and epicatechin peaks in the aqueous extract

Regression parameters	catechin	epicatechin
Intercept	8791	12846
(confidence interval)	(- 33514.1 to 51097.64)	(-135941 to 161632.9)
Slope	11985798.18	43372875
R <sup>2</sup>	0.9981	0.9982

Similarly to SS analysis, high coefficients of determination were obtained for both reference peaks in the aqueous extract. The R<sup>2</sup> values were greater than 0.99,

thus the calculated regression curves could explain more than 99 % of the experimental variance.

The assay of recovery or accuracy was performed to evaluate the matrix interference. The differences between the expected and observed peak areas, considered for the calculation of recovery are summarized in table 5. The results for the accuracy assay demonstrated low interference of the matrix onto recovery of both catechin and epicatechin.

Table 5. Recovery results for both reference substances from the aqueous extract from *M. ilicifolia* leaves

	Theoretical Concentration ( $\mu\text{g}$ )	Recovered (%) Mean (RSD)
Catechin	0.48	101.4 (1.18)
Epicatechin	0.96	100.6 (2.06)

Precision was evaluated through the determination of the repeatability and intermediary precision. The results of repeatability test are summarized in table 6. According to the RSD values obtained from peak retention times and areas during repeatability tests, it could be interpreted that the system showed a satisfactory response [14].

Table 6. Precision of the assay. Repeatability tests for retention times and areas for both catechin and epicatechin peaks from aqueous extract from *M. ilicifolia* leaves

Sample	catechin		epicatechin	
	Retention time (min)	Area (mV·s)	Retention time (min)	Area (mV·s)
1	4.569	231385	7.387	729272
2	4.467	225413	7.347	723791
3	4.483	227502	7.373	734590
4	4.485	229465	7.375	730634
5	4.528	227797	7.439	725239
6	4.564	225341	7.479	730084
Mean	4.516	227817	7.400	728935
RSD (%)	0.97	1.03	0.66	0.54

The assay of intermediary precision was performed in order to determine the accumulation of the random errors between different extracts and days. However, the RSD values obtained of both peak areas and retention times of catechin as well of epicatechin were very low, demonstrating that the method revealed a high reproducibility and wasn't interfered by the sample preparation (table 7).

Table 7. Intermediary precision tests for retention time and area for both catechin and epicatechin peaks from the aqueous extract from *M. ilicifolia* leaves

catechin				
Extractives Conc.(mg/ml)	Area (mV-s)		Retention time (min)	
	Mean	RSD	Mean	RSD
0,012	153936.89	4.616	4.619	0.608
0,020	257646.33	1.620	4.612	1.164
0,040	486951.56	1.637	4.605	1.966

epicatechin				
Extractives Conc.(mg/ml)	Area (mV-s)		Retention time (min)	
	Mean	RSD	Mean	RSD
0,012	539134.56	4.509	7.548	0.708
0,020	909615.78	1.909	7.550	0.977
0,040	1744675.22	2.331	7.526	1.606

The validation assay of the proposed method showed to be suitable for separation and quantification of catechin and epicatechin in aqueous extracts from *Maytenus ilicifolia* leaves. No significant variation of peak area or retention times was detected through the method evaluation. Thus the suggested RP-HPLC method is simple, rapid, precise and can be used to quality assurance of aqueous extracts from *M. ilicifolia*.

## References

- [1] M.L.O. Souza-Formigone, M.G.M. Oliveira, M.G. Monteiro, N.G. Silveira Filho, S. Braz, E.A. Carlini, *J. Ethnopharmacol.* 34 (1991), 21-27.
- [2] M. Ding, H. Yang, S. Xiao, *J. Chromatogr.* 849 (1999), 637-640.
- [3] BRAZIL, Ministry of Health, Health Surveillance Agency. Resolution nr. 17 from 25.feb.2000. *Diário Oficial da União*, 24.Abr.2000.
- [4] L. Mandich, M. Bitner, M. Silva, C. Barros, *Revista Latino Americana de Química.* 15(2) (1984), 80-82.
- [5] P. Vinas, C. López-Erroz, J.J. Marín-Hernández, M. Hernández-Córdoba, *J. Chromatogr.* 871 (2000), 85-93.
- [6] J.J. Dalluge, B.C. Nelson, *J. Chromatogr.* 881 (2000), 411-424.
- [7] B.L. Lee, C.N. Ong, *J. Chromatogr.* 881 (2000), 439-447.
- [8] A. Escarpa, M.C. González, *J. Chromatogr.* 897 (2000), 161-170.
- [9] H.M. Merken, G.R. Beecher, *J. Chromatogr.* 897 (2000), 177-184.
- [10] H. Wang, K. Helliwell, X. You, *Food Chemistry.* 68 (2000) 115-121.
- [11] H. Wang, K. Helliwell, *Food Research International.* 34 (2001), 223-227.
- [12] P. Schofield, D.M. Mbugua, A.N. Pell, *Animal Feed Science and Technology.* 91 (2001), 21-40
- [13] J.J. Dallug, B.C. Nelson, J.B. Thomas, L.C. Sander, *J. Chromatogr.* 793 (1998), 265-274
- [14] *Guideline on Validation of Analytical Procedures, International Conference of Harmonization, 1996.*
- [15] W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, *Qualitaetssicherung in der Analytischen Chemie, VCH, Weinheim, 1990*

## 1. INTRODUÇÃO

A técnica de secagem por aspersão, apesar de ser conhecida há mais de 60 anos, teve seu emprego difundido em diversas áreas nos últimos 40 anos (NIELSEN, 1982; WENDEL e ÇELIK, 1998). Na indústria farmacêutica, esta técnica tem sido empregada na obtenção de partículas para obtenção de produtos que vão desde adjuvantes para compressão direta e/ou granulação até microencapsulação de flavorizantes (KILLEEN, 1996; WENDEL e ÇELIK, 1998). As duas principais técnicas empregadas são a secagem por aspersão a quente e por resfriamento. A ação na secagem por aspersão a quente é decorrente da evaporação, enquanto na operação por resfriamento ocorre mudança de estado, líquido para sólido. Os dois processos são similares, exceto pelo fluxo de energia. No caso da secagem por aspersão a quente, a energia é fornecida ao material aspergido forçando a evaporação do meio, resultando na transferência de energia e de massa através das gotículas. Na segunda operação, a energia é apenas removida das gotículas, fazendo com que o meio fundido se solidifique. Os princípios básicos e equipamentos utilizados para o desenvolvimento de um processo de produção são semelhantes para os dois casos (MASTERS, 1976; KILLEEN, 1996; WENDEL e ÇELIK, 1998).

A produção de partículas por secagem por aspersão apresenta diversas vantagens. Uniformidade de composição, de distribuição granulométrica e de forma, são algumas das características deste tipo de partículas. Assim, problemas de falta de homogeneidade são minimizados, ao mesmo tempo em que é possível obter produtos com propriedades específicas. Alguns exemplos destes desenvolvimentos são (KILLEEN, 1996):

- produção de adjuvantes, onde a secagem por aspersão pode, de forma contínua, originar materiais de fluxo livre, como a lactose (SHANGRAW, 1989; BOLHUIS e CHOWHAN, 1997);
- granulados para compressão, onde o aglutinante se distribui na superfície dos grânulos, incrementando a compressibilidade, dissolução e estabilidade (KRISTENSEN e SCHAEFER, 1993; TORRES-SUÁREZ e GIL-ALEGRE, 1997);



- microencapsulação, sólidos e líquidos são encapsulados por aspersão de emulsões ou suspensões. Técnica empregada para mascarar sabor ou para proteger fármacos de oxidação (WAN *et al.*, 1992; PALMIERI *et al.*, 1994; MOURA *et al.*, 1996; WENDEL e ÇELIK, 1998).
- produção de micro- e nanopartículas a partir de matrizes poliméricas, as quais são obtidas empregando uma dispersão do fármaco em um polímero. Esta técnica tem apresentado resultados muito satisfatórios, especialmente quando comparada com as técnicas tradicionais, como as que empregam evaporação ou extração de solventes (CONTE *et al.*, 1994; WENDEL e ÇELIK, 1998; MÜLLER *et al.*, 2000)

Um grande número de propriedades físicas do material a ser seco tem influência direta sobre a operação de secagem. Se estas características forem claramente entendidas e otimizadas durante a formulação, a eficiência da operação pode ser ampliada.

Deste modo, a viscosidade, que se refere a resistência que um líquido apresenta em fluir, influencia na formação de gotas esféricas. A viscosidade elevada do material a ser seco, impede a formação correta das gotas durante a aspersão. Quando a viscosidade é reduzida, menos energia ou pressão são necessárias para a aspersão. Além disto, a elevação da viscosidade reduz a capacidade de alimentação do sistema e o ângulo de aspersão (amplitude da nuvem aspergida no interior da câmara de secagem). A viscosidade não sofre influência direta da concentração de sólidos dispersos. Desta maneira, o máximo de sólidos dissolvidos ou dispersos é limitado pela capacidade em manter a homogeneidade da dispersão e viabilizar a alimentação do sistema.

Tensão superficial representa a medida do trabalho necessário para expandir um líquido por unidade de área. Formulações ou meios com tensão superficial reduzida necessitam menos energia para formar gotículas. A adição de pequenas quantidades de tensoativos, como os polissorbatos, podem reduzir significativamente a tensão superficial destes sistemas, resultando em gotículas menores e aumento a velocidade de aspersão. Porém, o emprego destes agentes pode modificar a permeabilidade final do produto, favorecendo a absorção (TEIXEIRA, 1996; DE PAULA, 1997; LEMOS SENNA *et al.*, 1997).

Para maior eficiência da operação, a temperatura do produto também pode ser otimizada. Com o aumento da temperatura da solução ou da dispersão a ser aspergida, mais fácil é sua secagem. Além disto, o aumento da temperatura normalmente modifica a viscosidade e a tensão superficial, reduzindo-as e, assim, colaborando com a formação das gotículas.

Produtos que apresentam capacidade de aquecimento (quantidade de calor necessária para elevar a temperatura do produto em 1 °C) e calor latente (energia necessária para evaporação) reduzidos, favorecem a operação de secagem. Assim, menos energia é necessária para elevar a temperatura das gotículas e promover a evaporação do solvente ou meio dispersante (WINTERTON, 1997).

A alta volatilidade é desejável para qualquer operação de secagem. Porém, atualmente as opções são limitadas, especialmente em termos de equipamentos. O emprego de solventes orgânicos com o objetivo de aumentar a volatilidade do meio, exige a utilização de equipamentos sofisticados para atender as exigências de segurança e ambientais, limitando, na maioria dos casos, a escolha da água como solvente (MASTERS, 1976; LIST e SCHMIDT, 1984; KILLEEN, 1996).

No desenvolvimento de fitomedicamentos, a técnica de secagem por aspersão tem encontrado emprego satisfatório. Os objetivos desta operação têm sido, geralmente, a obtenção de intermediários com maior concentração de constituintes químicos e com melhores características tecnológicas. Os produtos secos por aspersão têm apresentado vantagens relacionadas com a homogeneidade de distribuição dos constituintes da preparação, estabilidade, simplicidade e precisão na realização de operações de pesagem, bem como com sua utilização para preparação de outras formas farmacêuticas como comprimidos, cápsulas, granulados e pomadas, entre outros (GAUDY, 1991; CAMPOS, 1996; DE PAULA, 1997).

A preferência na utilização desta técnica de secagem na produção de fitomedicamentos deve-se, especialmente, aos baixos custos e baixos riscos de degradação dos constituintes químicos durante a operação. O curto tempo de contato entre o produto a ser seco e a fonte de calor é uma das principais vantagens da operação de secagem por aspersão quando comparada com outros

métodos que empregam o calor (MASTERS, 1976; LIST e SCHMIDT, 1984; BROADHEAD, 1992).

Adjuvantes tais como o amido, dióxido de silício coloidal, fosfato tricálcico, glicose, goma arábica e lactose, entre outros, têm sido amplamente empregados neste procedimento de secagem. Estudos realizados sobre sua utilização têm demonstrado uma melhora nas propriedades físico-químicas, bem como, no aumento do rendimento da operação, além de influir positivamente sobre a recomposição em água do produto e a sua estabilidade frente à umidade (GAUDY, 1991; PUECH, 1991; MOURA, 1996; PALMA *et al.*, 1999; DE SOUZA *et al.*, 2000).

A obtenção de fitomedicamentos empregando a técnica de secagem por aspersão vem sendo realizada no Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, tendo sido estudadas diversas espécies vegetais, entre as quais *Achyrocline satureioides* (BASSANI, 1990; SENNA, 1993; TEIXEIRA, 1996; DE PAULA, 1997; LEMOS SENNA *et al.*, 1997); *Passiflora incarnata* (GONZÁLEZ ORTEGA, 1993); *Ilex paraguayienses* (CAMPOS, 1996); *Passiflora edulis* (DE SOUZA, 1997; PETRY, 1999); *Phyllanthus niruri* (SOARES, 1997; COUTO, 2000); *Maytenus ilicifolia* (PETROVICK *et al.*, 1991; CARVALHO, 1997; MARTINS, 1998, DE SOUZA, 1999) e *Cecropia glazioui* (HEBERLÉ, 2000).

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo geral

Esta etapa do trabalho teve como objetivo geral a produção e a caracterização de produto seco por aspersão a partir de folhas de *Maytenus ilicifolia*.

### Objetivos específicos

- produção de extrato seco por aspersão em torre de secagem com sistema de aspersão rotatório
- avaliação das propriedades físicas, físico-químicas e tecnológicas do produto seco

### 3. MATERIAIS E METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Matérias-primas

Material vegetal: constituído por folhas de *Maytenus ilicifolia* fornecido pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA/UNICAMP) onde foram coletadas em abril de 1997. As folhas e ramos recebidos foram identificados pelo técnico Marcos Sobral, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UFRGS, e uma exsicata encontra-se depositada no herbário da UFRGS sob registro (ICN) número 111772.

Dióxido de silício coloidal (Aerosil 200<sup>®</sup>, Degussa/Brasil)

##### 3.1.2 Aparelhos e equipamentos

- aparelho para determinação dinâmica das isotermas de sorção e dessorção de umidade (Poretec);
- balança analítica PM 200 (Mettler) munida de sistema de secagem por infravermelho CP 16 (Mettler);
- bomba e sistema de vácuo LiChrolut (Merck);
- cromatógrafo líquido para determinação de açúcares, composto por:
  - bomba para gradiente quaternária GP 40 (Dionex)
  - injetor automático série 1100 ALS (Hewlett Packard)
  - termostatisador para coluna série 1100 ColComp (Hewlett Packard)
  - detector eletroquímico ED 40 (Dionex)
  - programa para aquisição de dados Millennium (Waters)
  - coluna cromatográfica CarboPac PA-100 Analytical (4 x 250 mm) (Dionex)
  - pré-coluna CarboPac PA-100 Guard (4 x 50 mm) (Dionex)
- cromatógrafo líquido para determinação de ácidos orgânicos, composto por:
  - bomba L-6200A (Merck/Hitachi)

desgaseificador Degasys DG-1310 (VDS-optilab)

injetor automático série 1100 ALS (Hewlett-Packard)

forno para coluna série 1100 ColComp (Hewlett-Packard)

detector Sedex 75 (Sedere)

coluna de troca iônica Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) (Bio-Rad)

pré-coluna cartuchos Micro Guard Cation H (Bio-Rad)

- cromatógrafo líquido para determinação de catequina e epicatequina, composto por:

bomba LC10AD (Shimadzu)

sistema de válvulas para eluição gradiente FVC-10AL (Shimadzu)

detector UV/VIS SPD10A (Shimadzu)

injetor automático SIL-10 A (Shimadzu)

programa para aquisição de dados CLASS-LC10 (Shimadzu)

coluna cromatográfica Nova-Pak C<sub>18</sub> 150 mm x 39 mm (60 μm) (Waters)

pré-coluna C<sub>18</sub> 10 mm x 4 mm (125 μm) (Shimadzu)

- dispositivo para determinação do tamanho de partícula por difração a laser Helos KA (Sympatec). Os resultados foram armazenados em computador pessoal (Vectra VL) com o auxílio do Software Windox 3.1<sup>®</sup> (Sympatec)

- fluxômetro MQBAL (Microquímica) munido de funis em aço inoxidável de acordo com a Farmacopéia Européia (Ph. Eur., 1997). Os resultados foram obtidos por aquisição dos dados através de interface e programa MQBAL 1 (Microquímica)

- higrômetro digital Testoterm 6100

- membrana de filtração com diâmetro de poro de 0,45 μm (Millipore-HVHP, MA)

- microscópio eletrônico de varredura Phillips XL20 mod. PW 6620/00

- moinho de facas RETSCH SK1 com abertura de malha de 1 mm.

- tensiômetro KRÜSS - K121 (Mod. K12/MK4 - balança + processador)

- torre de secagem Production Minor (GEA)

- volúmetro de compactação J. Engelsmann (Ph. Eur., 1997)

### 3.1.3 Reagentes, soluções, substâncias-referências e outras matérias-primas

- acetonitrila (OmniSolv - HPLC)
- ácido acético
- ácido cítrico (Merck)
- ácido fosfomolibdico (Merck)
- ácido fosfórico (Merck)
- ácido málico (Merck)
- ácido tartárico (Merck)
- ácido trifluoracético (Riedel-de-Haen)
- carbonato de sódio anidro (Merck)
- caseína (Sigma)
- (+)- catequina (Sigma)
- (-)- epicatequina (Sigma)
- d-(-)-frutose (Merck)
- hidróxido de amônio (Baker)
- d-(+)-glicose (Merck)
- n-hexano (Merck)
- metanol (OmniSolv - HPLC)
- molibdato de amônio SR (F. Bras. IV)
- sacarose (Südzucker);
- tungstato de sódio (Baker)

## **3.2 METODOLOGIA**

### **3.2.1 Material vegetal**

#### **3.2.1.1 Secagem e moagem material vegetal (FRANCO, 1990)**

O material vegetal foi seco em estufa de ar circulante a 45 °C durante 7 dias. Após secagem as folhas foram separadas manualmente dos galhos e de outros materiais estranhos, sendo em seguida armazenadas em local fresco ao abrigo da luz, acondicionadas em sacos de papel. A moagem das folhas foi procedida em moinho de facas.

### **3.2.2 Matéria-prima vegetal**

#### **3.2.2.1 Umidade residual (CARVALHO, 1997; MARTINS, 1998)**

A umidade residual da matéria-prima vegetal foi determinada gravimetricamente em balança dotada de sistema de secagem por infravermelho empregando cerca de 500,0 mg do material. O material foi transferido para pesa-filtro, previamente tarado, e, em seguida dessecado a 105 °C até peso constante, com intervalos de leitura de 120 segundos. O ensaio foi realizado em triplicata com intervalos de resfriamento do sistema de 10 a 15 minutos entre as leituras.

#### **3.2.2.2 Determinação do teor de extrativos (BUNDESVEREINIGUNG, 1986)**

Cerca de 1,0 g da matéria-prima vegetal, exatamente pesado, foi aquecido até fervura com 100 g de água durante 10 minutos. Após resfriamento, reconstituiu-se o peso inicial com acréscimo de água e procedeu-se a filtração, desprezando-se os 20 mL iniciais. Do restante do filtrado foram pesados, exatamente, cerca de 20,0 g em pesa-filtro (d.i. 27 mm x 55 mm) previamente tarado. O filtrado foi evaporado sob movimentação ocasional, em banho de água. Após completa evaporação, o



pesa-filtro foi colocado em estufa com temperatura entre 100 e 105 °C por 2 horas, resfriado à temperatura ambiente em dessecador e pesado. Em seguida, foi recolocado em estufa por mais 30 minutos, repetindo-se o procedimento até peso constante. Os resultados foram expressos pela média de seis determinações com três repetições.

$$TE = \frac{g \cdot 500}{m}$$

Onde: TE = teor de extrativos (m/m), g = massa do resíduo seco em gramas e m = massa da amostra, em gramas, considerando a umidade residual.

### 3.2.3 Solução extrativa (CARVALHO, 1997)

A solução extrativa foi preparada por infusão de 10,0 g da droga vegetal moída em 100,0 mL de água destilada, durante 15 minutos, sob agitação mecânica ocasional. Após resfriamento e filtração, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

#### 3.2.3.1 Determinação do resíduo seco

Pesaram-se exatamente cerca de 20,0 g da solução extrativa em pesa-filtro previamente tarado, evaporando-se, em banho de água, sob movimentação ocasional. Após evaporação, o pesa filtro foi submetido à perda por dessecação até peso constante em balança munida de sistema de secagem por infravermelho ajustado em 105 °C. A secagem de cada amostra foi intercalada por um período de resfriamento de 15 minutos. O resultado foi calculado em relação a 100 g da solução extrativa, pela média de três determinações, expresso em porcentagem ponderal.

### 3.2.3.2 Determinação quantitativa de taninos

#### 3.2.3.2.1 Preparação dos reagentes para o doseamento de taninos

Reagente de Folin-Denis: 10,0 g de tungstato de sódio, 2,0 g de ácido fosfomolibdico e 5,0 mL de ácido fosfórico foram fervidos sob refluxo com 75,0 mL de água destilada por 2 horas. Após resfriamento, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

Solução de carbonato de sódio 20 %: 200,0 g de carbonato de sódio anidro foram dissolvidos em 1.000,0 mL de água destilada, a 70 °C. Após 24 horas, a solução foi filtrada.

#### 3.2.3.2.2 Análise quantitativa de taninos totais na solução extrativa

Foram tomados 15,0 mL da solução extrativa e diluídos a 100,0 mL com água destilada (solução estoque). A solução foi armazenada sob a proteção da luz solar. Para a determinação dos polifenóis totais (PFT), 2,0 mL da solução estoque foram transferidos para balão volumétrico de 25,0 mL e o volume completado com água destilada. Aliquota de 2,0 mL desta solução foi transferida para um béquer de 50 mL e adicionada de 2,0 mL do reagente de Folin-Denis (R1) e de 16,0 mL da solução de carbonato de sódio 20 % (R2). A absorvância (A1) foi determinada em 750 nm, exatamente 2 minutos após a adição do último reagente. A água foi utilizada como solução de compensação. Para a fração não-tanante (FNT), 10,0 mL da solução estoque foram submetidos à agitação em agitador magnético com 150,0 mg de caseína, durante uma hora. Após a agitação, as soluções foram filtradas em papel filtro. Aliquota de 2,0 mL do filtrado foi diluída a 25,0 mL com água destilada. A absorvância respectiva (A2) foi determinada em 750 nm utilizando água destilada como solução de compensação. Foram tomados 2,0 mL desta solução e submetidos à reação com os reagentes R1 e R2, como descrito anteriormente. Os resultados

foram calculados segundo as equações abaixo, e expressos como catequina (g %), pela média de três determinações.

$$PFT = \frac{A1 \cdot FD}{(m-p) \cdot A^{1\%}}$$

$$FNT = \frac{A2 \cdot FD}{(m-p) \cdot A^{1\%}}$$

$$TT = PFT - FNT$$

Onde:

PFT = polifenóis totais (g%)

FNT = fração não-tanante (g%)

TT = fração tanante (g%)

A = absorvância (U.A)

FD = fator de diluição

m = massa (g)

p = perda por dessecação (g)

A<sup>1%</sup> = coeficiente de absorção específica do produto reacional da catequina (764,27)

### 3.2.4 Produto seco por aspersão

#### 3.2.4.1 Produção

Foram preparados 50 L de solução extrativa aquosa por infusão das folhas secas e moídas na proporção 1:10 (m/V). Após filtração, a solução foi concentrada sob pressão reduzida até aproximadamente um quarto do volume inicial<sup>1</sup>. À solução extrativa concentrada foi adicionado dióxido de silício coloidal (Aerosil® 200) na proporção de 20 % de seu resíduo seco. A suspensão foi seca utilizando torre de secagem por aspersão Production Minor munida de aspensor rotatório<sup>2</sup>. As condições operacionais do procedimento de secagem encontram-se na tabela 3.1.

<sup>1</sup> Procedido em evaporador sob pressão reduzida de planta multiuso disponibilizado pela CIENTEC - RS

<sup>2</sup> Etapa realizada graças ao auxílio prestado pelos colegas do laboratório de desenvolvimento galênico.

**Tabela 3.1.** Condições operacionais de secagem.

Parâmetros	Valor
Temperatura de entrada (°C)	149 ± 1
Temperatura de saída (°C)	99 ± 1
Alimentação (mL/min)	140
Velocidade do aspensor (rpm)	9500

#### 3.2.4.2 Análise granulométrica

A granulometria do produto seco por aspersão foi determinada em dispositivo de difração a laser. Para tanto, cerca de 500 mg do PSA foram dispersos em 10 mL de hexano e algumas gotas da dispersão foram transferidas para cubeta do aparelho contendo o mesmo solvente. Antes de cada determinação, o feixe de laser foi ajustado sobre o detector, utilizando a cubeta com o solvente como referência. A leitura foi realizada com uma abertura de lente de 200 nm, tempo de determinação de 10 segundos e densidade óptica de 25 a 30 %. Os resultados expressam a média de três determinações para três amostras.

#### 3.2.4.3 Perda por dessecação

A umidade residual do produto seco por aspersão foi determinada por gravimetria de acordo com a metodologia descrita para matéria-prima vegetal no item 3.2.2.1.

#### 3.2.4.4 Densidades bruta e de compactação (GUYOUT *et al.*, 1995; VOIGT, 2000)

Cerca de 40 g do produto seco por aspersão foram pesados e transferidos, cuidadosamente, para um proveta de 50 mL para determinação do volume bruto, que foi obtido pela leitura direta do volume ocupado pelo pó. Em seguida, o pó

contido na proveta foi submetido a 10, 500 e 1250 quedas com o auxílio de um volúmetro de compactação. Quando a diferença entre 500 e 1250 quedas foi superior a 1 mL, o ensaio foi repetido com seqüências de 1250 até que a diferença entre as leituras fosse inferior a 1 mL. O volume final foi considerado o volume de compactação.

#### **3.2.4.5 Determinação do fator de Hausner (HAUSNER, 1967; PODCZECK, 1998)**

O fator de Hausner (FH) foi calculado através do quociente entre as densidades bruta e de compactação, segundo equação abaixo:

$$FH = dc/db$$

onde dc = densidade de compactação (g/ml) e db = densidade bruta (g/ml)

#### **3.2.4.6 Índice de Carr ou de compressibilidade (CARR, 1965; PODCZECK, 1998)**

O índice de compressibilidade foi calculado a partir das densidades bruta e de compactação segundo a equação abaixo:

$$IC = (dc-db/dc) \cdot 100$$

onde: IC = índice de compressibilidade (%), dc = densidade de compactação (g/ml), db = densidade bruta (g/ml).

#### **3.2.4.7 Determinação da compactabilidade (GUYOT et al., 1995)**

A compactabilidade foi determinada pela diferença entre os volumes após 10 e 500 quedas em volúmetro de compactação, conforme a equação abaixo

$$C = V_{10} - V_{500}$$

onde: C = compactabilidade (ml);  $V_{10}$  = volume após 10 quedas (ml) e  $V_{500}$  = volume após 500 quedas

#### **3.2.4.8 Ângulo de repouso**

O ângulo de repouso foi estabelecido segundo descrito por GUTERRES (1991), utilizando aparelho que consiste em um cilindro acoplado a um motor e ajustado a uma base fixa. No cilindro foram colocados 10,0 g da amostra. O ângulo de inclinação foi determinado no triângulo formado pela projeção da sombra sobre papel milimetrado (n = 3).

#### **3.2.4.9 Determinação do fluxo**

O fluxo foi avaliado por escoamento dinâmico do material. O equipamento consiste em um funil de aço inoxidável dotado de dispositivo de descarga e acoplado à balança analítica, interfaciada a um computador e gerenciada por programa específico (COUTO, 2000). O funil atende ao prescrito pela Farmacopéia Européia (Ph. Eur., 1997), sendo composto por um corpo tronco-cônico de carga (diâmetro de admissão de 110 mm, e diâmetro de descarga de 30 mm e ângulo de 40 °) ao qual é adaptado um segundo corpo tronco-cônico de descarga (diâmetro de acoplamento de 30 mm, diâmetro de descarga de 10 mm com ângulo de 40 °). As análises foram realizadas com 10 g de amostra. Os dados gerados pelo equipamento foram transferidos para programa Excel®, onde curvas da massa em função do tempo foram ajustadas e a velocidade de escoamento calculada através da inclinação das retas. Os resultados representam a média de três determinações

#### **3.2.4.10 Microscopia eletrônica de varredura**

A forma e a superfície das partículas do produto seco foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Para tanto, as partículas foram distribuídas sobre suporte de metal, contendo fita adesiva de dupla face e metalizadas com ouro. As amostras metalizadas foram armazenadas em dessecador até a análise.

#### **3.2.4.11 Determinação quantitativa de taninos no produto seco por aspersão (PSA)**

Foram pesados exatamente 470,0 mg de PSA e dispersos em 100,0 mL de água destilada (solução estoque). A solução foi armazenada protegidas da luz. Para a determinação dos polifenóis totais (PFT), uma alíquota de 2,0 mL da solução estoque foi transferida para balão volumétrico de 25 mL e o volume completado com água destilada. Alíquota de 2,0 mL desta solução foi transferida para béquer de 50 mL e adicionada de 2,0 mL do reagente de Folin-Denis (R1) e de 16,0 mL da solução de carbonato de sódio 20 % (R2). A absorvância (A1) foi determinada em 750 nm, exatamente 2 minutos após a adição do último reagente. A água foi utilizada como solução de compensação. Para a fração não-tanante (FNT), 10,0 mL da solução estoque foram submetidos à agitação em agitador magnético com 150,0 mg de caseína, durante uma hora. Após a agitação, a solução foi filtrada por papel de filtro. Alíquota de 2,0 mL do filtrado foi diluída a 25,0 mL com água destilada. Foram tomados 2,0 mL desta solução e submetidos à reação com os reagentes R1 e R2 como descrito anteriormente. A absorvância respectiva (A2) foi determinada em 750 nm utilizando água destilada como solução de compensação. Os resultados foram calculados da mesma maneira que descrito no item 3.2.3.2.2, e expressos como catequina (g %), pela média de três determinações.

#### **3.2.4.12 Adaptação de metodologia de quantificação de catequina e epicatequina por cromatografia líquida de alta eficiência para o PSA**

A metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência desenvolvida no capítulo II foi adaptada para determinação de catequina e epicatequina no PSA de *Maytenus ilicifolia*.

##### Preparação da amostra

Foram dissolvidos 1,568 g do produto seco por aspersão exatamente pesados, correspondentes a 1,2544 g de resíduo seco, em 50,0 mL de água

destilada (solução mãe). Desta solução 4,0 mL foram transferidos para balão volumétrico de 25 mL e o volume completado com água (solução amostra). Após filtração através de membrana hidrofílica de 0,44  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro, 20  $\mu\text{L}$  da solução amostra foram injetados empregando as mesmas condições cromatográficas otimizadas no capítulo II.

### Linearidade

Para avaliação da linearidade foram realizadas diferentes diluições da solução mãe, obtendo-se soluções com as concentrações de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0  $\mu\text{g/mL}$ , calculadas como resíduo seco da solução extrativa. Estas soluções foram filtradas como descrito anteriormente e a curva de calibração construída através de injeções de 20  $\mu\text{L}$  em triplicata.

### Precisão intermediária

A precisão intermediária foi determinada através da avaliação do coeficiente de variação das áreas dos picos da catequina e epicatequina para amostras injetadas em dias diferentes, nas concentrações de 1,0; 3,0 e 5,0  $\mu\text{g/mL}$  calculadas como resíduo seco da solução extrativa.

### Exatidão/Recuperação

A exatidão foi avaliada através da contaminação da solução amostra do produto seco, de forma independente, com quantidades conhecidas das soluções padrão de catequina e epicatequina. Para tanto, 1,568 g do PSA foram dissolvidos em 50,0 mL de água destilada (solução mãe). Desta solução foram tomadas sete alíquotas de 2,0 mL e transferidas para balões volumétricos de 25 mL. O volume de um balão foi completado com água dando origem a solução de referência. A três balões foram adicionados 3,0 mL de solução padrão de catequina (0,2 mg/mL) e o volume completado com água (solução contaminada 1 - SC1). Aos demais foram adicionados 3,0 mL de solução padrão de epicatequina (0,2 mg/mL) e o volume



completado com água (solução contaminada 2 - SC2) (figura 3.1). As amostras foram filtradas em membrana de 0,44  $\mu\text{m}$ , injetando-se 20  $\mu\text{L}$  em triplicata.

A exatidão foi determinada como taxa de recuperação percentual dos padrões, em função das áreas dos picos de catequina e epicatequina.

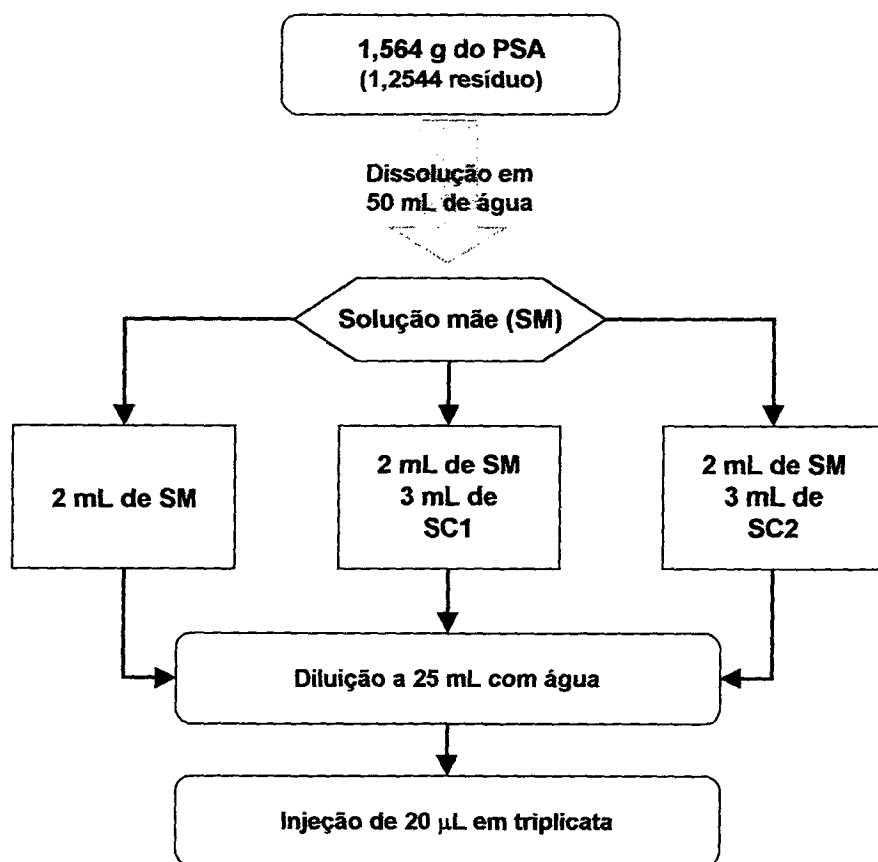


Figura 3.1. Representação esquemática da preparação das amostras para a avaliação da exatidão.

### 3.2.4.13 Avaliação do teor de ácidos orgânicos e de açúcares no produto seco por aspersão por cromatografia líquida de alta eficiência (SCHILLER *et al.*, 2000)

#### 3.2.4.13.1 Açúcares

Fase móvel: A fase móvel empregada foi NaOH 20 mM, tendo sido obtida através da mistura, em bomba quaternária, de uma solução de NaOH 100 mM (B) e água (Milli-Q) (A) (20:80 V/V). Para lavagem do sistema foi empregada solução de NaOH 500 mM (C).

Preparação da fase móvel: 2 L de água (Milli-Q) foram degaseificadas com hélio (ca. 70 kPa) durante 20 minutos. Em seguida foi adicionado o volume necessário de NaOH para preparação de cada uma das soluções.

Eluição: Para separação foi empregado sistema isocrático durante 20 minutos (B:A; 20:80; V/V), seguido de uma etapa de lavagem de 5 minutos (C) e recuperação da coluna durante 25 minutos com a própria fase móvel, totalizando assim 50 minutos, o que correspondeu ao intervalo entre as injeções.

Condições operacionais: A detecção foi realizada empregando um potencial de medida de +0,05 V/0,4 segundos (medida de 0,2 a 0,4 segundos); potencial de oxidação igual a +0,75 V/0,2 segundos e potencial de redução igual a -0,15 V/0,4 segundos. A temperatura da coluna foi ajustada em 22 °C e o fluxo em 1,0 mL/min.

Preparação das soluções de comparação: O teor de açúcar foi determinado com a ajuda de padrões externos (padrão FGS). Assim, foram pesadas, juntamente, frutose (F), glicose (G) e sacarose (S) e diluídas. Para minimizar erros de pesagem, cerca de 25 mg de cada padrão, exatamente pesados, foram diluídos a 100,0 mL. Desta solução mãe foi transferido 1,0 mL para balão volumétrico de 10 ml e diluído com água (Milli-Q). Numa segunda etapa de diluição, o mesmo procedimento foi realizado (1:10). Por fim 1,0 mL desta última foi diluído a 5 ml em balão volumétrico. Obtiveram-se então três diferentes soluções, nas concentrações: 25 mg/L, 2,5 mg/L e 0,5 mg/L de cada açúcar. Estas soluções foram utilizadas como soluções padrão.

Preparação da amostra: Cerca de 50,0 mg do produto seco por aspersão, exatamente pesados, foram diluídos com 20,0 mL de água (Milli-Q) em erlenmeyer de 50 mL, e submetidos a agitação de 150 rpm/min em um agitador mecânico durante 20 minutos. A suspensão obtida foi filtrada através de papel de filtro para outro erlenmeyer de 50 mL. Pelo menos 15,0 mL do filtrado foram submetidos à extração em fase sólida. O procedimento foi realizado sob vácuo, empregando bomba e sistema de vácuo LiChrolut. Como fases estacionárias foram empregados três cartuchos diferentes.

1 - Separação de compostos hidrofóbicos: Separtis Isolute 101 (200 mg/6mL)

2 - Separação de compostos aniônicos: Varian Bondelut SAX (500 mg/3mL)

3 - Separação de composto catiônicos : Varian Bondelut SCX (500 mg/3mL)

Condicionamento dos cartuchos: inicialmente o cartucho Separtis Isolute 101 foi lavado com metanol em quantidade correspondente a duas vezes seu volume (12 mL), seguido por lavagem com água em mesma proporção para equilíbrio. Para preparação dos cartuchos de troca iônica, o cartucho SAX foi conectado ao cartucho SCX com ajuda de um adaptador Bondelut. Assim, ambos foram lavados com água (6 mL). Para execução da separação, o cartucho Separtis Isolute 101 foi conectado sobre o cartucho SAX. Desta forma constituiu-se a seguinte seqüência de colunas: Isolute 101, SAX e SCX.

Extração: Para recolhimento das frações foi conectado um balão volumétrico de 25 mL sob o sistema de cartuchos. Com ajuda de uma pipeta volumétrica, 5,0 mL do filtrado foram transferidos para o sistema de cartuchos, o qual foi submetido à pressão reduzida. Para obtenção da fração de açúcares, a amostra foi eluída três vezes com 6,0 mL de água. O volume do balão foi completado com água e foi tomada uma alíquota e diluída de tal modo que as absorvâncias, para os três açúcares, se encontrassem na faixa de comportamento linear.

Volume injetado: Tanto as soluções amostra quanto as referências foram injetadas em volumes iguais, de 10 µL.

Integração e cálculos: A aquisição e os cálculos dos cromatogramas foram realizados com ajuda do programa Millenium (Waters).

Tempo de retenção: Glicose: cerca de 9,8 - 10,2 minutos, frutose cerca de 13,0 - 13,3 minutos e sacarose cerca de 16,0 a 16,8 minutos.

### 3.2.4.13.2 Ácidos orgânicos

Fase móvel: como fase móvel foi empregada solução de ácido trifluoracético 0,02 M (9,1 g TFA/ 4 litros de água desmineralizada - pH  $\cong$  1,75).

Condições operacionais: A detecção foi realizada utilizando sensibilidade 8, com temperatura da coluna ajustada em 22 °C, temperatura do detector igual a 60 °C, fluxo igual a 0,6 ml/min e a pressão igual a 34 kPa (nitrogênio).

Preparação das soluções de comparação: O teor de ácidos orgânicos foi determinado com o emprego de padrões externos. Para tanto foram preparadas três soluções para cada um dos padrões: ácido málico, ácido cítrico e ácido tartárico. As soluções continham, cada uma, cerca de 100,0; 300,0 e 500,0 mg/L de cada ácido. Para isso, cerca de 10,0; 30,0 e 50,0 mg de cada um dos ácidos foram pesados em balões volumétricos de 100 mL, adicionados com aproximadamente 50 mL de água e agitados até completa dissolução. Só então o volume foi completado e a solução foi filtrada (0,45  $\mu$ m).

Preparação da amostra: Para eliminar a influência de interferentes, a amostra foi submetida à extração em fase sólida segundo descrito a seguir:

Cerca de 300,0 mg do produto seco por aspersão, exatamente pesados, foram submetidos à agitação com 25,0 mL de água desmineralizada em um erlenmeyer de 50 mL, à uma velocidade de 150 rpm/min durante 20 minutos. A suspensão obtida foi filtrada através de papel de filtro para novo erlenmeyer de 50 mL. Pelo menos 15 mL do filtrado foram recuperados.

A extração em fase sólida foi realizada sob pressão reduzida utilizando dispositivo LiChrolut. O procedimento foi realizado empregando dois cartuchos diferentes:

- Separtis Isolute C18 (EC) (500 mg/6 ml) para separação da fração hidrofóbica;
- PE-AX (500 mg/3 ml) para concentração dos ácidos.

Para condicionamento do cartucho Separtis Isolute C18, foi realizada lavagem com aproximadamente 3 mL de metanol, seguida de estabilização com 3 mL de água desmineralizada. O cartucho PE-AX foi condicionado através da lavagem com 3 mL de água desmineralizada.

Extração: Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 5,0 mL da preparação foram eluídos com a ajuda de pressão reduzida e a fração resultante eliminada. Em

seguida o sistema foi lavado com 3 mL de água e a fração resultante, contendo substâncias polares não aniônicas, foi eliminada. O cartucho Isolute C18 foi desconectado e um balão volumétrico de 10 ml conectado sob o sistema. Empregando 9 mL de ácido trifluoracético 0,1 M (11,4 g/L) como sistema de eluição, os ácidos orgânicos foram removidos do cartucho PE-AX. O volume do balão volumétrico foi completado com a mesma solução de ácido trifluoracético. Foram realizadas duas extrações por preparação, para as quais foram realizadas duas determinações.

Volume injetado: Tanto as soluções amostra quanto as referências foram injetadas em volume igual a 20  $\mu$ L.

Integração e cálculos: A aquisição e cálculos dos cromatogramas foram realizados com ajuda do programa Millennium (Waters).

#### **3.2.4.14 Isotermas de sorção**

O estudo de sorção de umidade do produto seco por aspersão (PSA) foi realizado empregando dois métodos:

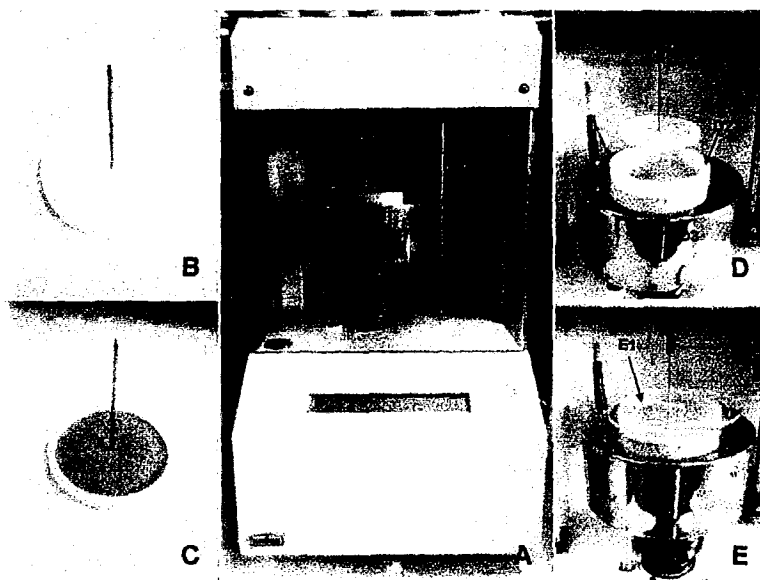
##### **3.2.4.14.1 Processador KRÜSS 121 (figura 3.2)**

Cerca de 2,0 g do produto seco por aspersão foram pesados sobre um disco de propileno em balança do próprio aparelho e submetidos a diferentes umidades relativas em ambiente termostaticado (20° C), protegido da umidade externa por dois discos de acrílico. A alteração de peso da amostra foi registrada pela balança até peso constante. O procedimento encerrou-se quando a variação de massa para a amostra foi inferior a 0,0005 g num período de 90 minutos.

As soluções para obtenção das atmosferas de umidade relativas foram preparadas em agitador magnético, onde 250 mL de água foram aquecidos, sob agitação, a 80° C. A agitação foi mantida até que, após a continua adição do respectivo sal, houvesse precipitação (tabela 3.2). Em frasco de boca rosqueada e fechado, a agitação foi mantida até resfriamento. A umidade relativa sobre a solução foi determinada com higrômetro digital.

**Tabela 3.2** Soluções saturadas com precipitado para obtenção das atmosferas de umidades relativas (STAHL, 1980).

Sal	Umidade Relativa (%)
Hidróxido de sódio	7 %
Cloreto de lítio	12 %
Cloreto de magnésio	33 %
Carbonato de potássio	44 %
Nitrato de magnésio	54,9 %
Nitrito de sódio	65 %
Cloreto de sódio	75 %
Cloreto de potássio	85 %

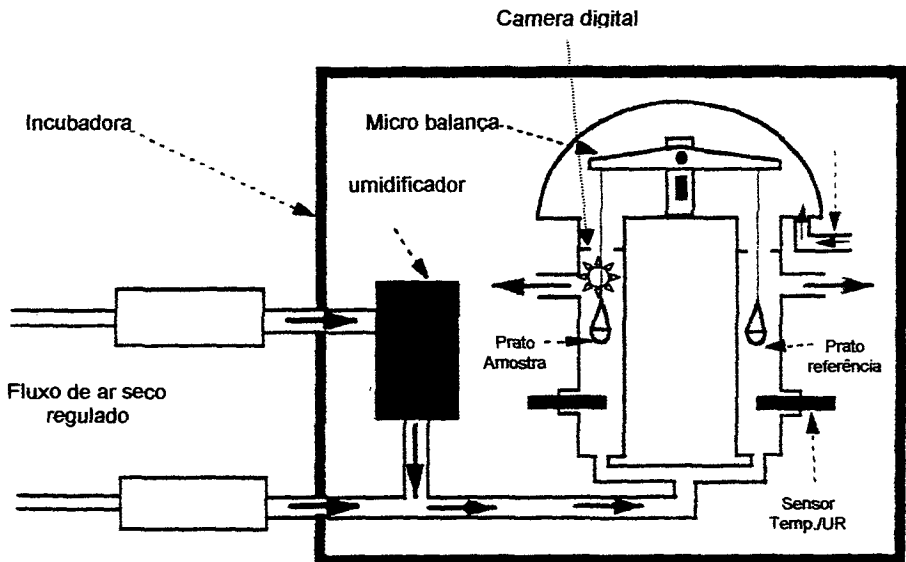


**Figura 3.2.** Tensiômetro KRÜSS - K121 (A) montado para determinação de isotermas de sorção de umidade (B - Suporte para a amostra, C - Amostra de PSA preparada para análise, D1 - braço da balança, D2 - recipiente para solução saturada, D3 - dispositivo para termostatização do ambiente, E1 - discos de acrílico para proteção contra umidade ambiente durante a análise).

### 3.2.4.14.2 Sorção dinâmica de umidade (figura 3.3)

Foram exatamente pesados 50,0 mg de extrato seco e colocados na câmara de incubação do aparelho. A temperatura foi ajustada a 25 °C. A amostra foi seca até peso constante no próprio aparelho utilizando ar seco (0 % de umidade relativa). A programação do aparelho foi a seguinte:

Sorção	0 – 60 % UR
Dessorção	60 – 0 % UR
Aumento de UR	10 %
Duração de cada etapa	4 horas



**Figura 3.3.** Representação esquemática do equipamento para avaliação dinâmica de sorção de umidade.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Material vegetal

O material vegetal apresentou, logo após sua recepção no laboratório e tratamento posterior por moagem, umidade residual de  $7,97 \pm 0,058$  % (0,73 %) (tabela 3.3). Este valor sofreu diminuição estatisticamente significativa no primeiro mês de armazenamento (abril/98), restabelecendo a média de umidade inicial nos meses seguintes. Apesar da média geral encontrar-se abaixo dos limites farmacopêicos preconizados, no geral, o perfil de umidade tem apresentado uma tendência a se estabelecer abaixo do limite máximo de 14 % recomendado pela literatura (ZHI-CHEN, 1980), indicando que a operação de secagem alcançou um resultado satisfatório e que o material vegetal moído se mantém estável, mesmo em condições leves de armazenamento, neste caso, em potes plásticos com tampas rosqueadas.

**Tabela 3.3.** Perda por dessecação (PD, % (m/m)) do material vegetal em função do tempo de armazenamento.

Armazenamento (meses)	PD $\pm$ s (CV %)
0	7,97 $\pm$ 0,058 (0,73)
1	6,96 $\pm$ 0,025 (0,36)
2	7,99 $\pm$ 0,029 (0,37)
3	8,00 $\pm$ 0,020 (0,25)
4	7,96 $\pm$ 0,032 (0,40)
6	8,02 $\pm$ 0,106 (1,03)
8	8,00 $\pm$ 0,035 (0,44)
PD média	7,85 $\pm$ 0,39* (4,96)

\* Desvio das médias



O teor de extrativos da matéria-prima vegetal compreende um parâmetro de padronização da qualidade. Através da avaliação do rendimento da extração de substâncias solúveis em um determinado líquido extrator, sem que signifique, necessariamente, a extração dos componentes ativos, pode-se caracterizar a matéria-prima, permitindo estabelecer mais um quesito de comparação entre matérias-primas de diversas procedências. Para a matéria-prima vegetal de *Maytenus ilicifolia*, fornecida pelo CPQBA/UNICAMP, coletada em abril de 1997, o teor de extrativos (TE) obtido encontra-se expresso na tabela 3.4.

**Tabela 3.4.** Teor de extrativos (TE) da matéria-prima vegetal.

Amostra (g)	Resíduo seco (g) x ± s (CV %)	TE (%;m/m) x ± s (CV %)
1,0033 ± 0,0019	0,0614 ± 0,0008 (1,26)	33,34 ± 0,42 (1,26)

FRANCO (1990) determinou o teor de extrativos em folhas de *M. ilicifolia* não procedentes do CPQBA/UNICAMP, encontrando um resultado de 27,04 ± 0,9216 % (m/m) (3,41 %). Já em estudo realizado por CARVALHO (1997) também com *M. ilicifolia*, o resultado obtido para o teor de extrativo, ao recepcionar material vegetal procedente do CPQBA/UNICAMP foi de 31,09 ± 0,39 (m/m) (0,93 %). Embora no trabalho realizado por FRANCO (1990) não esteja mencionado se a umidade residual foi considerada no cálculo, estes resultados sugerem que há diferenças entre as amostras vegetais. Entre os principais fatores que podem introduzir variações sobre este parâmetro destacam-se a granulometria da matéria prima, o estágio de desenvolvimento da planta e/ou as condições em que o material foi obtido (extrativismo/cultivo) (LIST e SCHMIDT, 1984).

## 4.2 Solução extrativa

A caracterização de soluções extrativas de origem vegetal tem início pela determinação do teor de resíduo seco. Da mesma maneira que o teor de extrativo para a matéria-prima vegetal, este parâmetro corresponde ao teor total de sólidos extraídos, sem representar especificamente substâncias de interesse ou responsáveis por atividade biológica. Além da função de caracterização da solução extrativa, o parâmetro pode ser empregado para otimização de condições de preparação, tais como da influência da proporção planta:solvente, da técnica de extração e/ou da duração da operação de extração (CARVALHO, 1997; LINDEN, 1998; SOARES *et al.*, 1998).

A determinação do teor de sólidos em soluções extrativas também tem papel importante para a operação de secagem. Só através do conhecimento do teor de sólidos nas soluções extrativas, é possível estabelecer o rendimento da operação. No caso de técnicas de secagem onde o emprego de adjuvantes, para viabilizar a operação ou os produtos obtidos, se faz necessária, as proporções são estabelecidas em função do total de sólidos presentes na solução extrativa.

Para a solução extrativa empregada neste trabalho, o valor do resíduo seco encontrado, em comparação com o resultado da literatura (CARVALHO, 1997), está representado na tabela 3.5.

**Tabela 3.5.** Resíduos secos de soluções extrativas aquosas de *M. ilicifolia*.

Resíduo seco ( $x \pm s$ ; CV %)	Época da coleta
2,41 $\pm$ 0,0465 g% (1,92 %)	julho/1995*
2,51 $\pm$ 0,0565 g% (2,25 %)	abril/ 1997

\* Material vegetal analisado por CARVALHO (1997).

O resultado obtido para o resíduo seco apresenta a mesma tendência observada para o teor de extrativos. Ambos os parâmetros apontam para uma homogeneidade entre as duas amostras de material vegetal, reforçando o carácter qualitativo destas determinações.

Um dos parâmetros mais importantes para caracterização de produtos de origem vegetal é a quantificação de compostos químicos. Para as folhas de *M. ilicifolia* e produtos derivados, os taninos condensados têm sido amplamente empregados como marcadores. Por não constar em códigos oficiais, a análise deste material vegetal tem sido realizada através de métodos adaptados da técnica preconizada pela farmacopéia alemã para *Krameria argentea* (raiz de ratânia) (DEUTSCHES 1976 e 1986), ou da técnica recomendada para determinação de taninos totais da AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) (HEBRICH, 1990). Embora os métodos sejam semelhantes, são empregadas diferentes equações para o cálculo do teor de taninos totais. Associado a este fator, encontra-se o emprego de substâncias referências distintas, as quais introduzem coeficientes de absorção diferentes. Assim, dependendo do princípio de cálculo empregado, a estimativa do teor de taninos totais em materiais vegetais pode resultar em variações importantes.

Embora metodologia para quantificação de catequina e epicatequina por HPLC tenha sido desenvolvida (capítulo II), o teor de taninos totais para a solução extrativa preparada neste trabalho também foi determinado através da técnica de precipitação, com intuito de comparar estes valores com os resultados obtidos anteriormente por CARVALHO (1997) e MARTINS (1998). Os resultados obtidos em comparação com os dados descritos na literatura estão representados na tabela 3.6.

**Tabela 3.6.** Teor de taninos totais para solução extrativa, em comparação com dados relatados na literatura.

Amostras	PFT	FNT	TT
CARVALHO (1997)	19,73	9,56	10,17
MARTINS (1998)	4,22	2,81	1,41
Atual <sup>1</sup>	8,48	5,62	2,86
Atual <sup>2</sup>	3,91	2,64	1,27

<sup>1</sup> = taninos totais calculados como catequina, <sup>2</sup> = taninos totais calculados como pirogalol

Embora CARVALHO (1997) e MARTINS (1998) tenham avaliado soluções extrativas provenientes do mesmo lote de material vegetal, os teores de taninos encontrados em cada trabalho foram distintos. Estes resultados foram decorrentes do emprego de equações diferentes para cálculo do teor de taninos.

Para efeito comparativo, o teor de taninos totais para solução extrativa preparada nesse trabalho, foi determinada através da técnica descrita por MARTINS (1998). Entretanto o emprego do coeficiente de absorção específica ( $A^{1\%}$ ) da catequina após reação com o reagente de Folin-Denis fez com que a resposta do método fosse cerca de 100 % superior ao valor de teor de taninos encontrado anteriormente (MARTINS, 1988). Isto ocorre porque a absorção específica do produto reacional da catequina é cerca da metade do valor da absorção específica do produto reacional do pirogalol (substância referência empregada por MARTINS). Quando os valores foram recalculados, empregando a absorção específica do pirogalol após reação com o reagente de Folin-Denis, observou-se que, na realidade, o teor de taninos foi muito semelhante ao obtido em trabalho anterior, o que demonstra que os materiais vegetais apresentam constituição semelhante, embora pertençam a lotes coletados em anos diferentes.

Juntamente com os resultados de teor de extrativos e resíduo seco, o teor de compostos marcadores vem corroborar com a hipótese de que as condições de cultivo, coleta e pós-tratamento do material vegetal (secagem, cominuição e extração) têm ocorrido em condições bastantes homogêneas, garantindo boa reprodutibilidade da qualidade dos produtos derivados.

### 4.3 Produto seco por aspersão

#### 4.3.1 Produção

Embora a secagem da solução extrativa tenha sido efetuada em torre de secagem diferente da empregada por CARVALHO (1997), o objetivo foi buscar um produto seco por aspersão (PSA) com proporções semelhantes para o teor de compostos ativos, porém com propriedades físicas, tais como tamanho e forma de partículas diferenciadas. Neste sentido, sempre que possível, foi estabelecida uma comparação entre os resultados deste trabalho e os obtidos anteriormente por CARVALHO (1997).

Quando comparado com a produção em escala laboratorial, a primeira exigência para secagem em escala piloto é que a solução extrativa apresente teor de sólidos elevado. Assim, há aumento no tamanho médio de partícula evitando perda de produto pelo sistema de exaustão. O tamanho de partícula também confere ao produto um conjunto de outras propriedades de relevante interesse farmacêutico e que serão discutidas mais adiante. A literatura relata que o material a ser aspergido deve apresentar um teor de sólidos de pelo menos 15 % para que a operação seja viável (LIST e SCHMIDT, 1984).

Entretanto, a solução extrativa utilizada apresentou um resíduo inicial de 2,51 % (m/m), inviabilizando a operação. Para contornar o problema, a solução foi submetida à concentração sob pressão reduzida até que o teor de sólidos mínimo necessário para realização da operação fosse alcançado. Assim, os 50,0 L da solução extrativa foram reduzidos a 17,66 L, e o teor de sólidos resultante foi de 15,86 % (m/m).

Para conferir características tecnológicas satisfatórias, tais como rendimento elevado e estabilidade contra umidade, foi adicionado o dióxido de silício coloidal (Aerosil 200®) como adjuvante de secagem. Tanto a escolha do adjuvante de secagem quanto a proporção em que este foi adicionado (20 % em função do resíduo seco da solução extrativa concentrada), não foram estabelecidos aleatoriamente. Tais decisões fundamentaram-se em resultados prévios obtidos por CARVALHO (1997).

O rendimento da operação de secagem da solução extrativa concentrada de *Maytenus ilicifolia* foi superior a 90 % (m/m) (tabela 3.7). Rendimento este, muito superior aos rendimentos alcançados por CARVALHO (1997) para os produtos secos preparados a partir de *Maytenus ilicifolia* com e sem a adição de adjuvantes de secagem, para os quais o rendimento corrigido encontrado ficou em torno de 70 % (m/m).

**Tabela 3.7.** Rendimento da operação de secagem por aspersão.

Massa teórica * (g)	Massa obtida (g)	Rendimento bruto (%)	Rendimento corrigido** (%)
3501,1	3293,0	94,96	90,31

\*Massa do resíduo seco + adjuvante (g). \*\* Rendimento bruto subtraindo a umidade residual

#### 4.3.2 Caracterização do produto seco por aspersão (PSA)

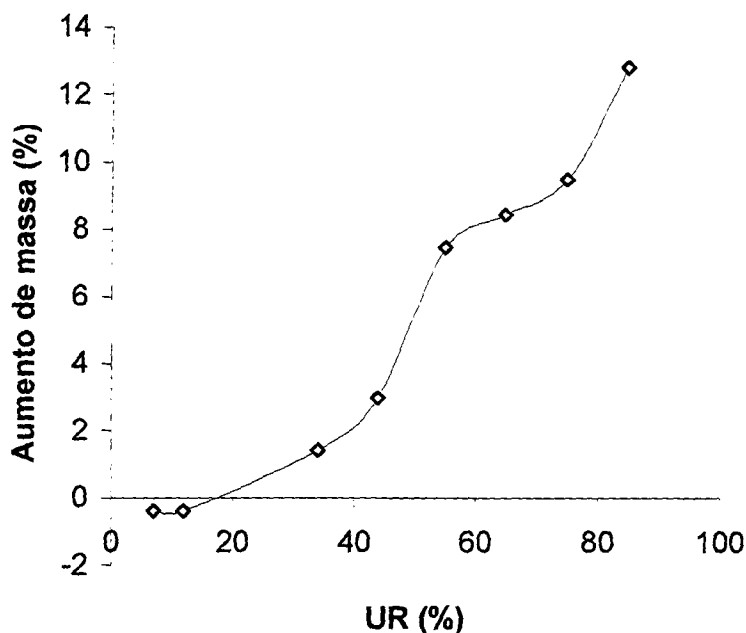
A umidade residual do PSA (tabela 3.8), se apresentou dentro dos limites preconizados pela literatura de 6 % para produtos secos armazenados em condições não herméticas (LIST e SCHMIDT, 1984). O acondicionamento deste produto mostrou-se satisfatório, não sendo detectada variação importante no teor de umidade.

**Tabela 3.8.** Umidade residual determinada do produto seco por aspersão em função do tempo de armazenamento.

Período de determinação	Umidade residual % (m/m)
Abril/2000	3,98 ± 0,015 (0,37)
Setembro/2001	4,02 ± 0,040 (1,01)

Além da umidade presente em materiais pulverizados, originada de sua natureza ou do modo de obtenção, a sorção de umidade da atmosfera pode proporcionar modificações importantes em muitos materiais.

A isoterma de sorção de umidade obtida para o PSA empregando o método do tensiômetro, está representada na figura 3.4.

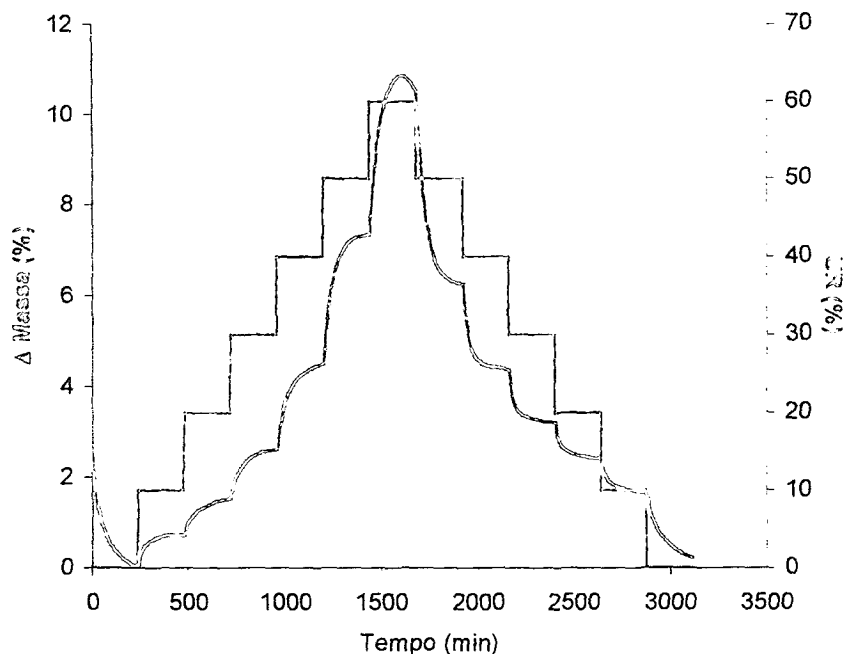


**Figura 3.4.** Isoterma de sorção de umidade para o PSA, empregando o tensiômetro Krüss-K121.

O PSA apresentou-se sensível às modificações da umidade atmosférica. Em umidades relativas inferiores a 12 % (m/m) foi observada perda de massa pela amostra. Este fenômeno, denominado de eflorescência, ocorre porque o material perde umidade durante o estabelecimento do equilíbrio. Porém, a partir de umidade relativa igual a 30 %, o aumento da massa da amostra foi mais pronunciado, atingindo um máximo no ganho de massa igual 12,83 % quando a umidade relativa foi igual a 85 %, revelando um comportamento típico para materiais higroscópicos.

A capacidade de sorção de umidade atmosférica do produto seco também foi avaliada empregando sistema gravimétrico automatizado. Como vantagens, estes sistemas apresentam a possibilidade de obtenção das isotermas de sorção e de dessorção.

A figura 3.5 mostra, de forma resumida, a operação durante a análise dinâmica de adsorção de umidade realizada para o PSA em estudo neste trabalho.



DVS - The Sorption Solution

© Surface Measurement Systems Ltd UK 1996-98

**Figura 3.5.** Variação na massa da amostra de PSA em função da umidade relativa.

O produto seco apresentou menor sensibilidade a umidades relativas inferiores a 20 %, aumentando sua massa significativamente entre umidades relativas de 30 a 60 %. A perda de massa (dessorção) mais intensa ocorreu entre 60 e 30 % de umidade relativa. Nesta região a perda de massa foi mais acelerada do que o ganho. Abaixo de 30 % de umidade relativa, a perda de massa foi menos intensa que na primeira etapa da desorção e a liberação de umidade sorvida foi mais lenta que a sorção na mesma região. SCHILLER e colaboradores (2001) observaram boa correlação entre o teor de açúcares livres em extratos secos e a umidade residual após ganho e perda de umidade, demonstrando que o teor elevado daqueles compostos favorece a manutenção da umidade sorvida.

Entretanto, como os próprios autores sugerem, apenas o teor de açúcares não pode esclarecer a diferença entre a higroscopicidade de diferentes extratos secos, podendo estar relacionado, ainda, à sua cristalinidade ou ao teor de ácidos

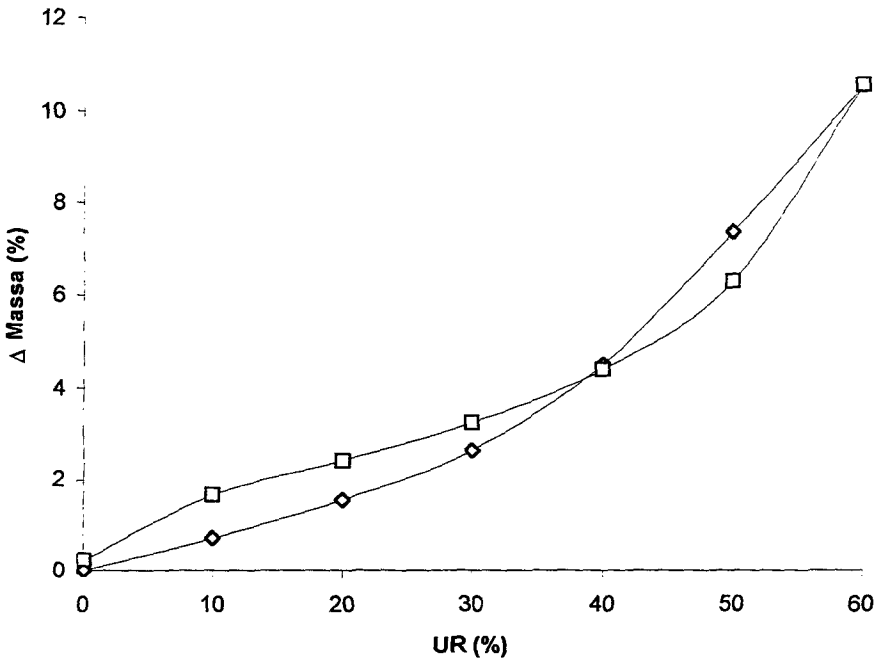


orgânicos. O comportamento observado para o PSA, aparentemente, concorda com a proposição do teor reduzido de açúcares e ácidos orgânicos (tabela 3.9).

**Tabela 3.9.** Teor de açúcares e ácidos orgânicos no produto seco por aspersão (PSA).

Açúcares	Teor (%)	Ácidos Orgânicos	Teor (%)
Glicose	0,52	Cítrico	3,30
Frutose	1,02	Málico	2,00
Sacarose	0,00	Tartárico	0,00
Total	1,54	Total	5,30

As isotermas de sorção e desorção do PSA estão representadas na figura 3.6.



**Figura 3.6.** Isotermas de sorção (◇) e de desorção de umidade (□) para o produto seco por aspersão.

As isotermas de sorção e dessorção de umidade pelo PSA apresentaram perfis distintos, demonstrando que a exposição do produto à umidade proporciona modificações importantes em sua estrutura. Durante a fase de sorção de umidade, foi observado um comportamento do tipo S (de "slow"). Este tipo de comportamento acontece quando a sorção é mais intensa em umidades relativas mais elevadas. Este fenômeno é típico para sistemas onde ocorrem interações fortes entre as moléculas de água e as partículas. Sob umidade reduzida, as moléculas de água se distribuem na superfície das partículas de forma aleatória. Com o aumento da umidade relativa há uma redistribuição espacial das moléculas de água sorvidas, favorecendo a adsorção (KREUTER, 1999).

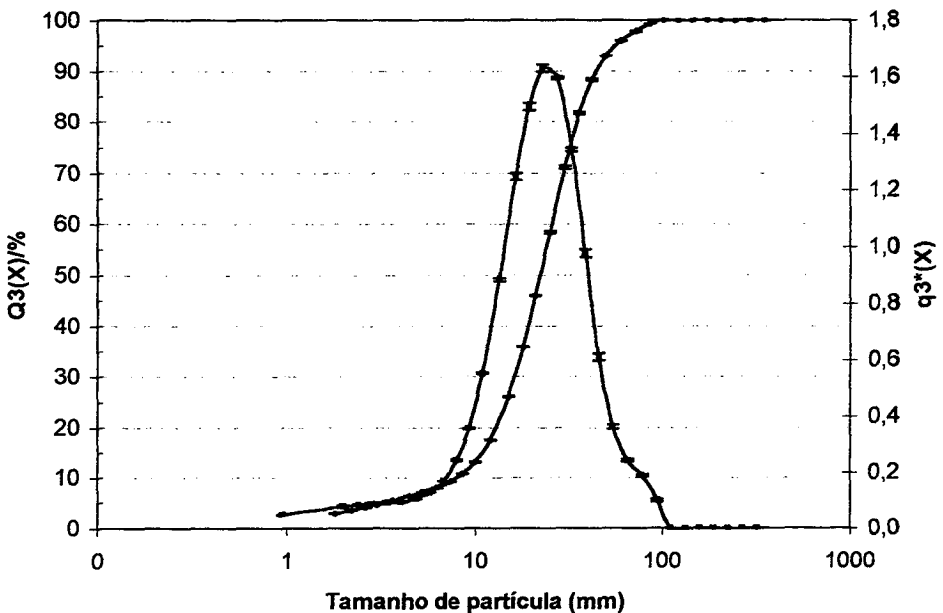
Durante o fenômeno de desorção há maior perda de massa na fase inicial, devida à menor interação entre as moléculas de água das camadas externas e a as partículas. Entretanto, com a perda de umidade, maior superfície fica disponível, favorecendo a redistribuição das moléculas restantes e estabelecendo interações mais intensas, o que leva a maior dificuldade para perda de umidade na fase final do processo de dessorção.

Embora o PSA tenha apresentado umidade residual próxima a zero após o processo de exposição a atmosferas controladas, pode-se observar através dos valores de histerese (tabela 3.10) que o material apresenta tendência a manutenção da umidade sorvida.

**Tabela 3.10.** Valores estimados para histerese da isoterma de dessorção de umidade em função da isoterma de sorção.

UR%	$\Delta$ Massa (%)		
	Sorção	Dessorção	Histerese
0,0	0,00	0,23	-
10,0	0,72	1,65	0,94
20,0	1,54	2,40	0,86
30,0	2,62	3,23	0,61
40,0	4,50	4,38	-0,12
50,0	7,34	6,27	-1,07
60,0	10,52	10,52	-

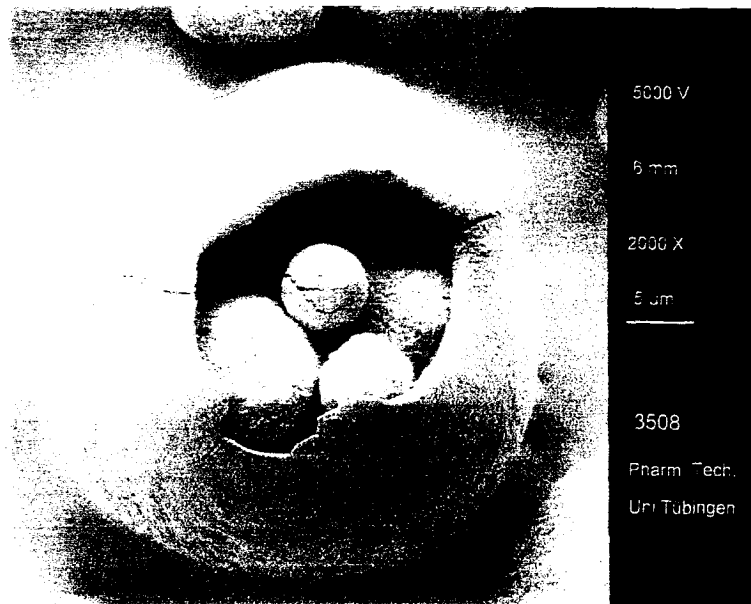
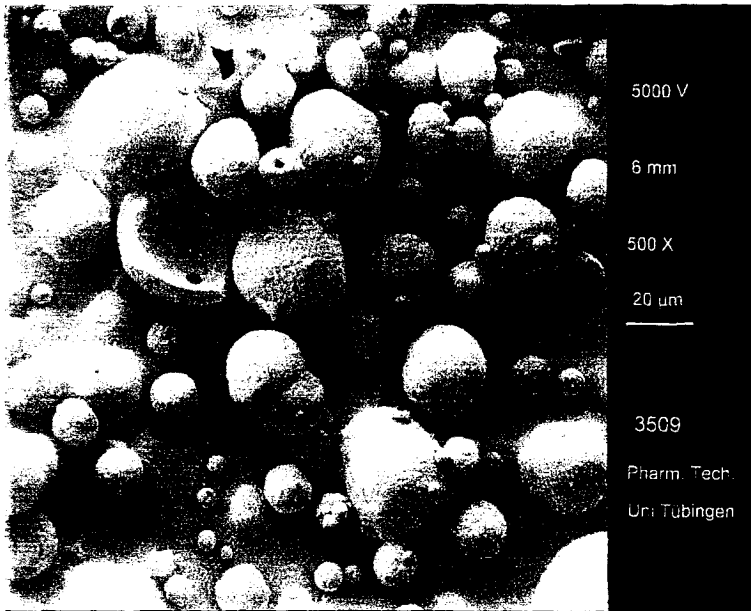
A análise granulométrica do PSA foi realizada por difração a laser. O resultado obtido demonstrou que o PSA apresenta partículas com tamanho médio de  $22,36 \pm 1,06 \mu\text{m}$  (4,75 %), dimensão superior a encontrada por CARVALHO (1997), que foi de aproximadamente  $7 \mu\text{m}$  para produto seco preparado em equipamento de bancada munido de aspersor pneumático. A distribuição granulométrica encontra-se representada na figura 3.7.



**Figura 3.7.** Representação gráfica da distribuição granulométrica do PSA obtida através de difração a laser.

A forma das partículas, visualizada na figura 3.8, não difere da obtida em escala laboratorial. As partículas se apresentaram dispersas, com forma esférica, superfície rugosa e, em sua maioria, são ocas. Tais resultados são decorrentes da forma de secagem, empregando suspensões/dispersões, características que não sofreram modificações com a mudança das condições de produção em virtude do emprego de equipamento com funcionamento totalmente diferente. Assim o

aumento no diâmetro médio foi a principal modificação observada para as partículas.



**Figura 3.8.** Fotomicrografias do produto seco por aspersão (PSA).

Entre os parâmetros importantes, para a caracterização tecnológica de materiais pulverizados, empregados na indústria farmacêutica, encontra-se a determinação de suas densidades.

Por se oporem a capacidade de movimentação das partículas, as forças interparticulares (fricção e/ou adesão), estimadas a partir das densidades bruta e de compactação, têm sido relacionadas às propriedades de fluxo ou escoamento destes sistemas. Fundamentando-se nesta relação, CARR (1965) e HAUSNER (1967) propuseram, respectivamente, o índice de compressibilidade ou de Carr (IC) e o fator de Hausner (FH). De acordo com os autores, em materiais particulados que apresentarem valores superiores aos limites de 21 % para IC e 1,25 para FH, as forças interparticulares de adesão e/ou atrito devem ser tão intensas que podem dificultar seriamente a capacidade de escoamento.

Embora os índices acima citados sejam largamente empregados como indicadores de escoamento para materiais particulados, a literatura tem sugerido o emprego de metodologias onde haja a determinação direta da fluidez.

Os resultados obtidos para caracterização tecnológica do produto seco por aspersão de *M. ilicifolia* (PSA) estão representados na tabela 3.11. A comparação destes resultados com as propriedades de extratos secos produzidos em equipamento de bancada por DE SOUZA (1999), demonstra que houve uma melhoria importante nas propriedades tecnológicas do PSA. O maior tamanho médio e a maior densidade das partículas são os principais responsáveis pela elevação nas densidades bruta e de compactação do material como um todo. Como consequência, os parâmetros derivados das densidades, como fator de Hausner e índice de Carr, apontam para uma redução significativa na resistência ao movimento das partículas, sugerindo empacotamento mais estável. Porém os resultados obtidos para o índice de Carr (IC) e fator de Hausner (FH) sugerem que o material deva apresentar problemas quanto à sua compressibilidade e capacidade de escoamento. Fenômenos desta natureza normalmente estão relacionados com o tamanho das partículas. Embora o tamanho de partícula encontrado para o PSA possa explicar os achados, este mecanismo não pode ser descrito de forma generalizada, pois também depende de outros fatores, tais com a superfície e a

forma das partículas, além de forças de natureza física (ZIMON, 1982; PODCZECK, 1998).

**Tabela 3.11.** Propriedades tecnológicas do PSA em comparação com os resultados obtidos por DE SOUZA (1999).

Parâmetros	PSA (CV %)	DE SOUZA (1999) (CV %)
Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	22,36 (4,75)	< 7,0
Densidade bruta (g/ml)	0,632 (0,74)	0,261 (0,75)
Densidade de compactação (g/ml)	0,830 (0,49)	0,445 (1,79)
Fator de Hausner	1,315 (1,07)	1,704 (1,95)
Compactabilidade (ml)	30,83 (4,68)	121,67 (2,37)
Índice de Carr (%)	23,94 (3,41)	41,30 (2,75)
Ângulo de repouso	nm*	54,18 (12,39)

\*não mensurável em função da elevada variabilidade.

A capacidade de escoamento do produto seco foi avaliada empregando um método estático (ângulo de repouso) e um dinâmico (escoamento em função do tempo).

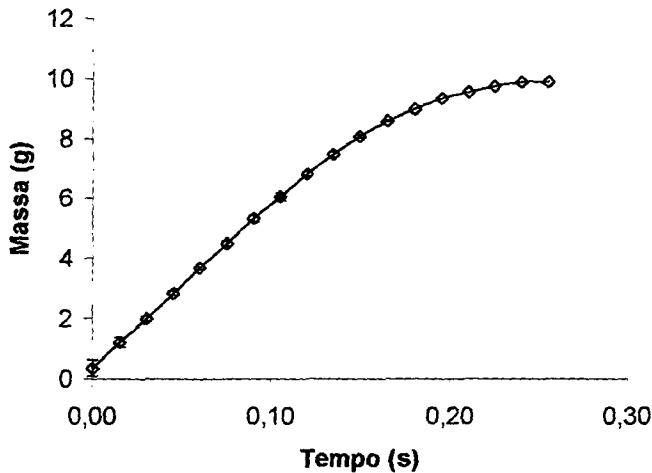
A determinação do ângulo de repouso para avaliar o escoamento do PSA, apresentou um elevado coeficiente de variação, o que inviabilizou a sua avaliação. De acordo com LIEBERMAN e colaboradores (1989), esta técnica é recomendada apenas para sistemas particulados contendo partículas com diâmetro superior a 150  $\mu\text{m}$ , pois, nestas condições, a ação das forças de coesão interparticulares sobre a fricção entre as partículas é sobrepujada pela massa do material analisado.

A curva representando o escoamento dinâmico do PSA encontra-se na figura 3.9. O material apresentou escoamento homogêneo e com velocidade de 54,68 g/s até passagem de 60 %. A partir deste ponto (ponto crítico) houve modificação no comportamento, com desaceleração no escoamento material, o qual foi melhor explicado através de um equação quadrática (tabela 3.12).

**Tabela 3.12.** Comportamento de escoamento do produto seco por aspersão.

Etapa	Equação	$r^2$
inicial	$y = 54,68x + 0,3622$	0,9998
final	$y = -178,74x^2 + 89,824x - 1,3986$	0,9996

A definição do ponto crítico ou de inflexão da curva (figura 3.10) foi estabelecida pela avaliação do coeficiente de correlação. A determinação do coeficiente de correlação da fase inicial foi inferior quando o ponto crítico foi incluído entre os dados. O efeito contrário foi observado para fase final, quando o coeficiente da equação quadrática foi maior quando o ponto crítico fez parte dos dados.



**Figura 3.9.** Escoamento dinâmico do PSA. (◆)Ponto de inflexão da curva.

O movimento inicial das partículas foi decorrente da ação das camadas superiores sobre as partículas mais próximas à abertura da válvula de descarga do funil, vencendo as forças interparticulares e impulsionando o deslocamento das partículas. Este fenômeno foi o principal responsável pela forma da curva de escoamento do PSA. Após a fase inicial, a movimentação das partículas passa a

sofrer dependência mais importante das interações interparticulares, o que tende a reduzir a velocidade de escoamento.

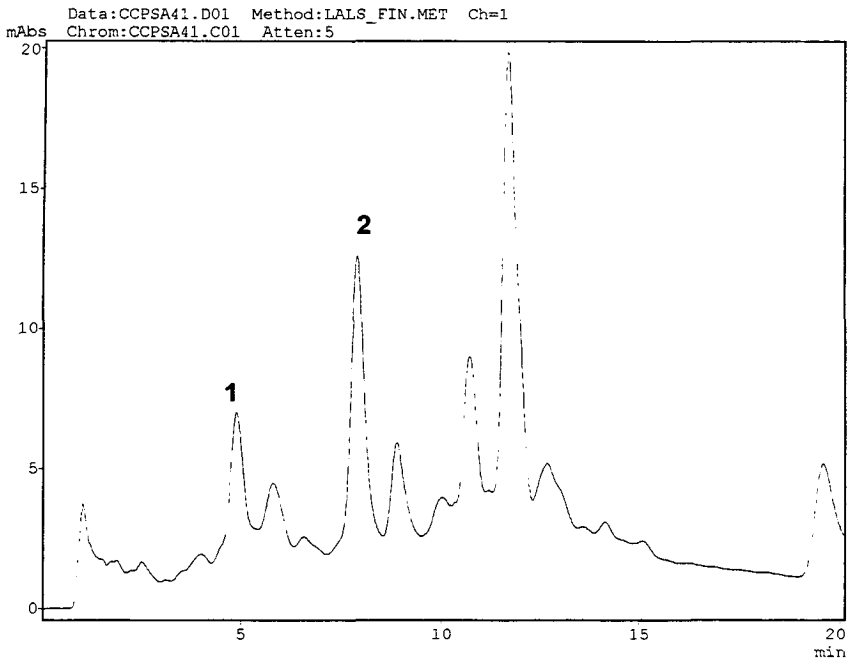
De uma forma mais geral, os resultados obtidos têm especial importância tecnológica. Embora os achados não permitam estabelecer conclusões mais específicas sobre os fatores determinantes da velocidade de escoamento das partículas, o PSA apresentou escoamento, em sua maior parte, constante e com velocidade de escoamento muito superior ao aconselhado na literatura (GUYOT *et al.*, 1995), permitindo a sua classificação como material de fluxo livre. Assim, problemas potenciais durante a preparação de cápsulas e comprimidos, tanto no que tange ao enchimento individual (matriz ou cápsula), quanto à movimentação do material no alimentador, seriam minimizados.

A avaliação da composição química do PSA foi realizada por CLAE, utilizando os picos da catequina e epicatequina como referência. As condições cromatográficas empregadas para análise do PSA foram as mesmas descritas anteriormente (capítulo II). A figura 3.10 representa o cromatograma do produto seco por aspersão, obtido naquelas condições cromatográficas.

As curvas de calibração dos picos correspondentes à catequina e à epicatequina (picos 1 e 2, respectivamente), estão representadas na figura 3.11. Para ambos os picos estudados, foram encontrados elevados coeficientes de correlação. Mais de 99 % da variabilidade experimental pôde ser explicada pela equação da reta (tabela 3.). Consequentemente, a análise da variância (ANOVA) revelou valores de F extremamente significativos para ambas as regressões.

Os limites de confiança calculados para a interseção demonstraram, através da inclusão do zero, que não há erros sistemáticos do tipo constante.

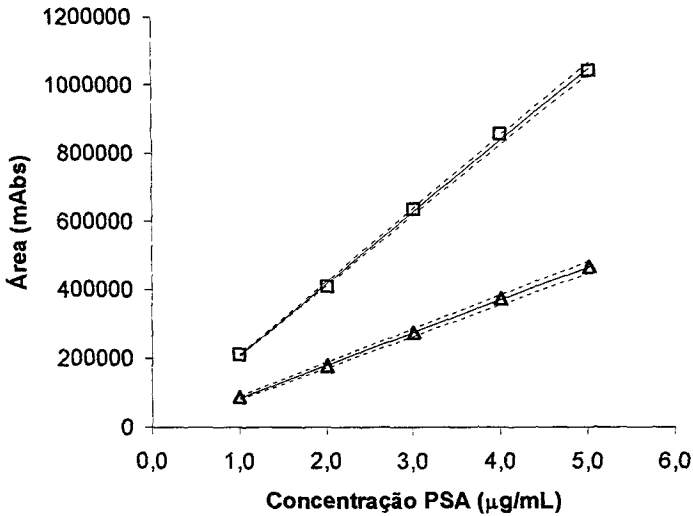




**Figura 3.10.** Cromatograma do produto seco por aspersão. Condições cromatográficas descritas no capítulo II. Pico 1 = catequina; pico 2 = epicatequina.

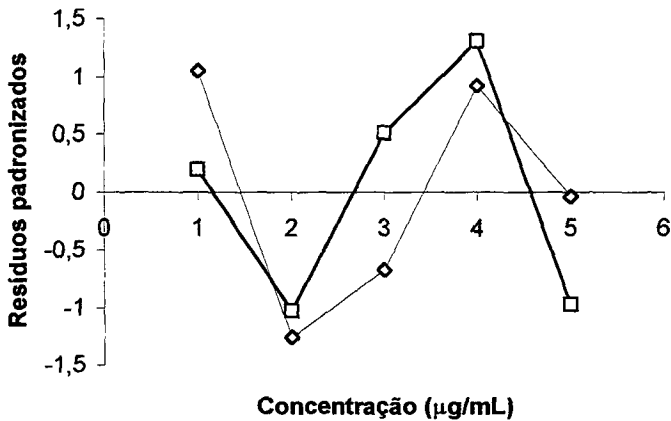
**Tabela 3.13.** Análise estatística das curvas de calibração dos picos correspondentes a catequina e epicatequina no produto seco por aspersão.

Parâmetros	Pico 1 (catequina)	Pico 2 (epicatequina)
Interseção	-9246,678	-768,389
(intervalos de confiança)	de -24865,71 a 6372,35	de -82066,3 a 80529,5
Inclinação	94808,77	209570,2
$r^2$	0,9998	0,9990
F regressão	16251,46	2930,92



**Figura 3.11.** Curvas de calibração e limites de confiança (.....) para ambos os picos correspondentes a catequina (△) e epicatequina (□) no produto seco por aspersão.

Através da análise dos resíduos, calculados para as curvas e representados na figura 3.12, não foi possível detectar tendência aparente que invalidasse os modelos.



**Figura 3.12.** Resíduos padronizados para as regressões das curvas de calibração para o pico 1 (catequina - ◇) e para o pico 2 (epicatequina - □).

O ensaio de exatidão demonstrou que não há influência significativa da matriz, em especial da presença de Aerosil 200, sobre a recuperação dos padrões. Embora tenha sido detectada para a epicatequina pequena redução no taxa de recuperação, este resultado não compromete a performance da metodologia (tabela 3.14).

A precisão intermediária do método foi estabelecida para três concentrações diferentes, preparadas a partir de diferentes soluções mães, e analisadas em dias diferentes. Os resultados para estes parâmetros estão representados na tabela 3.15.

**Tabela 3.14.** Resultados para o ensaio de recuperação para ambas substâncias referências presentes nas soluções extrativas de *Maytenus ilicifolia* (n = 3).

Padrão	Concentração teórica (µg)	Recuperado em %
catequina	12	99,09 (2,83)
epicatequina	12	95,18 (1,28)

(CV %)

**Tabela 3.15.** Resultados para o ensaio de precisão intermediária do método por CLAE para determinação de catequina e epicatequina no PSA (n = 3).

Concentração SE (µg/ml)	catequina		epicatequina	
	área média (mV·s)	CV %	área média (mV·s)	CV %
1,0	88045,0	0,24	211579,2	0,07
3,0	274805,2	1,21	635558,9	0,40
5,0	466384,2	0,51	1040407,3	0,22

Os ensaios de validação, realizados para a metodologia de separação e quantificação de catequina e epicatequina no produto seco por aspersão, demonstraram que a técnica apresenta exatidão, precisão e linearidade na região de concentração estudada.

Quando os resultados obtidos para as áreas do PSA foram comparados com os da solução extrativa padronizada por CARVALHO (1997), foi detectado aumento significativo nas áreas de ambas as substâncias referências (tabela 3.16). Para a catequina este aumento foi muito mais importante, chegando a 80 ou 90 % da área encontrada para o mesmo pico na solução extrativa. Já para epicatequina o incremento na área do pico correspondeu a cerca de 20 % da área do mesmo pico na solução extrativa (tabela 3.16).

Provavelmente este comportamento foi resultado das condições empregadas para preparação da solução extrativa. Embora tenha se partido das condições padronizadas por CARVALHO (1997), a operação de extração foi mais prolongada. Desta forma, o teor de substâncias extraídas teria sido maior, explicando inclusive, porque o teor de sólidos na solução concentrada foi superior ao esperado. É provável ainda que o fenômeno tenha sido favorecido pela despolimerização de derivados catéquicos quando submetidos as condições prolongadas de aquecimento durante o preparo e concentração da solução extrativa (MÜLLER-HARVEY, 2001).

**Tabela 3.16.** Comparação entre as áreas dos picos da catequina e epicatequina na solução extrativa e no PSA.

Conc.* (µg/mL)	Catequina			Epicatequina		
	SE**	PSA	(%)	SE**	PSA	(%)
2,0	104907,1	178461,6	70,11	362320,78	408904,2	12,86
3,0	153936,9	274805,2	78,52	539134,56	635558,9	17,89
4,0	191189,0	373208,1	95,20	672279,67	854326,8	27,08
5,0	257646,3	466384,2	81,02	909615,78	1040407,3	14,38

\* Concentrações calculadas como residuo seco tanto para solução extrativa (SE) quanto para PSA.

\*\* Solução extrativa preparada de acordo com CARVALHO (1997)

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de formas sólidas a partir de extratos vegetais secos tem sido uma alternativa tecnológica cada vez mais empregada na prática farmacêutica (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995; RENOUX *et al.*, 1996; PALMA *et al.*, 1999; ROCKSLOH *et al.*, 1999; LINDEN *et al.*, 2000). Esta escolha se justifica pelas diversas vantagens inerentes à comprimidos, tais como, densidade elevada, boa aceitação por pacientes, estabilidade e significativa capacidade de produção (BAUER *et al.*, 1999; VOIGT, 2000; LACHMAN *et al.*, 2001). Entretanto, em que pese a constatação das mencionadas vantagens, o desenvolvimento e produção deste tipo de comprimidos tem se apresentado como uma tarefa de elevada complexidade. Isto ocorre porque a maioria dos extratos secos não apresenta as propriedades satisfatórias de reologia e de compressibilidade, que favoreçam o processo de obtenção. Além disto, o emprego de proporções elevadas deste tipo de material, a fim de conter a dose terapêutica, acentua cada vez mais as dificuldades identificadas (PALMA *et al.*, 1999; ROCKSLOH, 1999; LINDEN *et al.*, 2000).

Na abordagem desta problemática, o emprego da operação de granulação tem se configurado como o principal mecanismo para modificar as propriedades de sistemas particulados com o objetivo de aumentar sua aptidão à compressão. Embora amplamente difundida na prática farmacêutica, a granulação por via úmida de extratos vegetais secos não é recomendada, devido a elevada higroscopicidade deste tipo de material. Por outro lado a utilização de solventes orgânicos sofre sérias restrições de natureza toxicológica e ambiental. Restando, desta forma, a operação por via seca a qual tem se consolidado o método mais apropriado para extratos secos vegetais (ROCKSLOH, 1999; COUTO, 2000; SOARES *et al.*, 2001).

Neste caso, a aglomeração de sistemas particulados ocorre através da aplicação de pressão mecânica elevada. Com a aproximação das partículas há intensificação das forças de van der Waals que originam aglomerados (BAKELE, 1992). Além disto, mantida a continuidade da aplicação de pressão é observada a formação de pontes sólidas decorrentes da fusão e solidificação do complexo farmacêutico conferindo-lhe maior resistência mecânica (KRISTENSEN e SCHAEFER, 1993; DILLIP, 1997).

As propriedades físicas e mecânicas dos grânulos são componentes de elevado interesse para a formulação, desenvolvimento e produção de formas farmacêuticas sólidas, pois podem afetar diversas propriedades dos produtos finais tais como resistência, friabilidade, tempo de desintegração, dissolução e tendência a laminação. Consequentemente, a avaliação de perfis compressionais de grânulos, bem como as possibilidades de modificar tais perfis com o objetivo de originar grânulos apropriados para produção de comprimidos, tem sido relatado na literatura (TUNÓN e ALDERBORN, 2001).

Embora a dureza de comprimidos corresponda a um indicador das propriedades de compactabilidade dos componentes da formulação, esta técnica fornece informações limitadas. Pois apenas a determinação da força final necessária para a destruição do comprimido não é capaz de descrever os fenômenos que ocorrem durante a compressão. Desta forma, a avaliação de materiais através de perfis de densificação em função da pressão de compressão aplicada, representam com maior propriedade tais fenômenos (JONES, 1981; MITREVEJ *et al.*, 1996; SOARES *et al.*, 1998).

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste capítulo foi obter comprimidos contendo alto teor de granulado do produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia*.

### Objetivos específicos

- avaliar a viabilidade da preparação de granulados contendo teor elevado do produto seco por aspersão (PSA) de *M. ilicifolia*
- determinar o perfil de densificação dos granulados empregando o modelo de Heckel
- investigar as propriedades físicas e mecânicas de granulados do PSA preparados em máquina de comprimir e em rolos compactadores
- avaliar o efeito das propriedades de cada granulado sobre as respostas de dureza e tempo de desintegração de comprimidos
- otimizar formulação de comprimidos contendo teor elevado de granulado do PSA



## **FÍSICA DA COMPRESSÃO**

**SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R.**

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

---

Artigo publicado no Caderno de Farmácia, v. 15, n. 2 p. 65-79, 1999.

## FÍSICA DA COMPRESSÃO

SOARES, L.A.L.<sup>1</sup>; PETROVICK, P.R.

Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da UFRGS, Porto Alegre/RS (<sup>1</sup> Aluno de Doutorado)

**RESUMO:** A avaliação do comportamento de complexos farmacêuticos quando submetidos a compressão tem sido como objetivo de diversos estudos tecnológicos. As principais técnicas para avaliar o perfil de compressão de complexos farmacêuticos são apresentados neste artigo. Além dos dispositivos de medição e de técnicas de interpretação tais como a equação de Heckel, energia de compactação, curvas força-deslocamento e força-tempo, e medidas de dureza e tenacidade, são apresentados as principais classes de adjuvantes de compressão.

**UNITERMOS:** compressão; física; equação de Heckel; diagrama de força, adjuvantes

**ABSTRACT:** *PHYSICS OF TABLETING.* The evaluation of pharmaceuticals materials behavior under compression, have been used as target of technological studies. The most used techniques to evaluate those behavior are presented in these article. Beyond the measurement tools and the techniques used to assess the compactional behavior such as Heckel equation; energy of compaction; force-displacement and force-time profiles; and, tensile strength and hardness measurements, are showed the principals classes of compression excipients.

**KEYWORDS:** tableting; compression; physics; Heckel plot; force profile, excipients

Preparações farmacêuticas sólidas em forma de comprimidos são conhecidas desde a antiguidade (ÇELIK, 1996). Denominavam-se como tais todas preparações sólidas destinadas a via oral. Os detalhes do processo de compressão como é conhecido hoje em dia foi publicado pela primeira vez por William Brockedon em 1843. Com o objetivo inicial de comprimir pó de grafite, rapidamente descobriu-se a viabilidade de empregar os mesmos princípios para obtenção de medicamentos em doses individualizadas (VOIGT, 1993; ÇELIK, 1996; MOSER, 1997).

A obtenção de comprimidos pode ser realizada por compressão direta de fármacos pulverizados, ou de sua mistura com adjuvantes, bem como por compressão de material previamente granulada.

O emprego do processo de granulação tem a finalidade de modificar as características do complexo farmacêutico, transformando partículas de pós cristalinos ou amorfos em agregados sólidos mais ou menos resistentes e porosos, denominados granulados.

Em relação às simples misturas de pós, os granulados apresentam algumas vantagens: melhor manutenção da homogeneidade; maior densidade; maior fluidez; maior compressibilidade; maior porosidade, facilitando a dissolução, entre outras. Estas propriedades podem ser controladas através da escolha de adjuvantes e do método de granulação.

Os métodos empregados na obtenção de granulados com maior frequência são a granulação por via úmida e a granulação por via seca. Na técnica de granulação por via úmida, um líquido é adicionado ao pó ou a mistura pulverosa em misturadores ou malaxadores. Entre os

solventes mais utilizados estão a água e o álcool. O líquido empregado deve promover apenas a dissolução parcial do pó. O excesso de solvente fará com que, após passar pelo granulador, os grânulos se aglomerem formando uma massa compacta. Da mesma forma, a deficiência de solvente fará com que não exista coesão suficiente, revertendo ao estado pulveroso após a secagem. Neste procedimento também são utilizados adjuvantes em solução ou pseudo-soluções, denominados aglutinantes, com o objetivo de promover a adesão interparticular após a evaporação. Na operação de granulação por desagregação todos os ingredientes são misturados para formar uma massa úmida que é dividida em granuladores. No processo conhecido por agregação, os grânulos são formados diretamente do rolamento de partículas ou pelo choque entre elas.

A granulação por via seca é empregada quando o fármaco apresenta instabilidade frente a umidade ou ao calor da operação de secagem, ou quando é excessivamente solúvel nos líquidos umectantes utilizados. Com o objetivo de assegurar a coesão adequada entre as partículas, geralmente são adicionados aglutinantes ao pó que se vai granular. Os aglutinantes empregados nesta operação são incorporados em estado seco. Em seguida a mistura é submetida à compressão ou compactação (através de máquina excêntrica ou de cilindros). O material compactado obtido é submetido a trituração e o granulado é selecionado por tamisação.

Como pode-se observar, a granulação é sempre uma operação complexa e implica em inúmeros passos, alguns deles muito delicados.

Desta forma, a tendência atual tem sido recorrer à compressão direta de misturas de pós.

Entretanto, alguns problemas potenciais estão relacionados com a sua aplicação: baixa propriedade de fluxo do pó, aderência do pó aos punções e à matriz, dureza elevada de comprimidos e longo tempo de desintegração. Para contornar os problemas que se opõem à compressão direta, tem se recorrido a otimização de diversos parâmetros tais como faixa granulométrica apropriada (tamanho e forma das partículas), emprego de adjuvantes (aglutinantes, reguladores de fluxo, desintegrantes) e/ou utilização de dispositivos mecânicos (intensidade e tempo de aplicação da força de compressão). Na prática, o desenvolvimento de novos adjuvantes, novos processos de obtenção e otimização de misturas de diferentes adjuvantes tem representado uma importante alternativa para a solução dos problemas relacionados com a compressão direta (PROFITLICH, 1990; VOIGT, 1993; SCHMIDT e RUBENS DÖRFER, 1994ab; LEHIR, 1995; MOSER, 1997).

O procedimento de compressão em uma máquina de comprimir excêntrica se resume a seis fases principais: (I) - alimentação (a matriz é preenchida mediante simples fluxo pelo complexo farmacêutico a ser comprimido); (II) - compactação (o punção superior inicia o movimento de decida compactando o complexo); (III) - compressão propriamente dita (o punção inferior permanece imóvel enquanto o punção superior desce e comprime o material com força); (IV) - ejeção (o punção superior retorna a sua posição inicial, o punção inferior ascende conduzindo o comprimido ao nível superior da matriz); (V) - expulsão (já completamente fora da matriz, o comprimido é expulso com o retorno do alimentador a posição inicial); (VI) - pré-alimentação (retorno do punção inferior e início da alimentação com o retorno parcial do alimentador) (figura 1).

A aplicação de uma força externa sobre as partículas de um pó ou de outro sistema particulado sólido resulta na transferência de força através dos pontos de contato interparticulares, promovendo uma deformação no material. Esta deformação pode apresentar comportamento do tipo elástico, plástico ou destrutivo, e está relacionado com a intensidade da força aplicada e a duração da ação da mesma, assim como as propriedades físicas do material (figura 2).

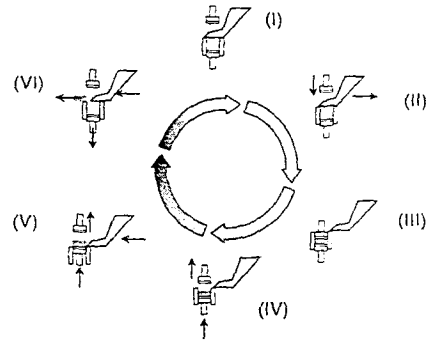


Figura 1. Etapas do processo de compressão em máquina excêntrica: (I) alimentação; (II) compactação; (III) compressão; (IV) ejeção; (V) expulsão; (VI) pré-alimentação (PETROVICK, 1999).

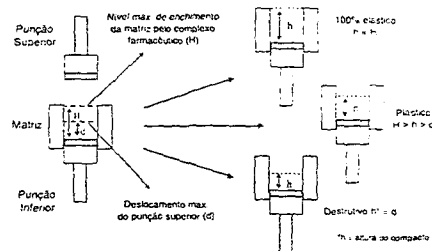


Figura 2. Representação das deformações do tipo elástica e plástica. Onde  $h$  = altura do comprimido

O comportamento elástico ocorre quando o material recupera o volume inicial após o término da aplicação de força. Enquanto que deformações plásticas se caracterizam pela manutenção da massa compactada não ocorrendo recuperação do volume inicial quando encerrada a aplicação de força. Em deformações destrutivas resultam rupturas. Neste caso a intensidade da força excede a capacidade de deformação plástica ou elástica do material, obtendo-se a ruptura estrutural como resposta (WRAY, 1992; VAN DER VOORT MAARSCHALK e BOLHUIS, 1999).

A tendência ao comportamento de deformação de uma material depende das suas propriedades físicas. Materiais cristalinos apresentam, em geral, tendência a deformação do tipo elástica, enquanto que os materiais amorfos tendem a deformação plástica (HIESTAND *et al.*, 1977; WRAY, 1992; LERK, 1993).

A intensidade das deformações plásticas e elásticas de materiais tem sido amplamente estudada (ARMSTRONG e HAINES NUTT, 1972; SHOTTON e OBIORAH, 1975; DAVID e AUGSBURGER, 1977; HIESTAND, 1977; ÇELIK, 1992; VOGEL e SCHMIDT, 1993; YLIRUU/SI, 1997). Na prática, a detecção da recuperação elástica de compactados tem grande importância

para a definição do comportamento de deformação. Problemas tais como descabeçamento, laminação e variação no peso dos comprimidos são consequências da recuperação elástica (VOGEL e SCHMIDT, 1993). A avaliação de tendências de deformação, bem como a determinação de sua intensidade, podem servir, de instrumentos para elaboração de formulações com proporções eficientes de adjuvantes (YLISUURI *et al.*, 1997).

Através da instrumentação de máquinas de comprimir é possível realizar uma medida exata das forças que intervêm no processo de compressão. Tal determinação permite avaliar tanto o parâmetro de plastoelasticidade, bem como as características do comprimido obtido (dureza, desintegração, etc.). Na compressão destacam-se as forças axial superior ( $F_{AS}$ ), axial inferior ( $F_{AI}$ ), radial ( $F_R$ ) e de fricção ou atrito ( $F_F$ ) (figura 3) (WRAY, 1992).

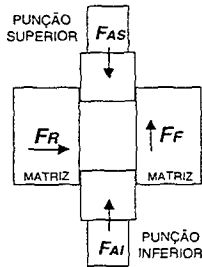


Figura 3. Representação da distribuição de forças durante o processo de compressão: ( $F_{AS}$ ) Força axial superior; ( $F_{AI}$ ) Força axial inferior/Força residual; ( $F_R$ ) Força radial; ( $F_F$ ) Força de fricção (WRAY, 1992).

O estudo do processo de compressão teve início com a utilização de máquinas instrumentadas por Higuchi em 1959, utilizando diferentes métodos elétricos. Através da utilização de máquinas instrumentadas é possível controlar o processo de compressão durante a produção e avaliar o perfil compressional dos produtos. Podem ser obtidas diferentes medidas de força tais como força de compressão, ejeção, residual, na parede da matriz e de aderência.

É possível também registrar o deslocamento dos punções. As fitas de alongamento são os dispositivos mais empregados para medição de força. Enquanto que determinações mais exatas de forças são obtidas utilizando os cristais piezoelétricos (figura 4).

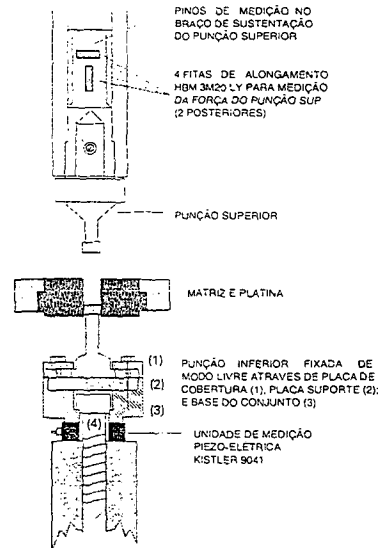


Figura 4. Representação esquemática de máquina de comprimir alternativa Korsch EK II instrumentada e as respectivas unidades de medição de força (PETROVICK, 1999).

As medidas do deslocamento dos punções é realizado através dos transdutores indutivos de deslocamento (SCHMIDT, 1989). Os sinais analógicos emitidos pelos transdutores, sejam eles fitas de alongamento, cristais piezoelétricos ou indutivos de deslocamento, são convertidos em sinais digitais e tratados por programas computacionais.

Os perfis de compressão, registrados graficamente (figura 5), podem ser utilizados como impressões digitais de formulações e ajudar a detectar problemas que possam ocorrer durante a produção. Várias características podem ser sugeridas para compor este perfil. Estas características podem ser descritas como observáveis (força de compressão, deslocamento de punção), e parâmetros derivados, os quais podem ser calculados diretamente das medidas da curva força-tempo, incluindo área sob a curva, relação área/altura, inclinação máxima e mínima, e largura a meia altura (HOLBLITZELL e RHODES, 1990; YLIRUUSI e ANTIKAINEN, 1997).

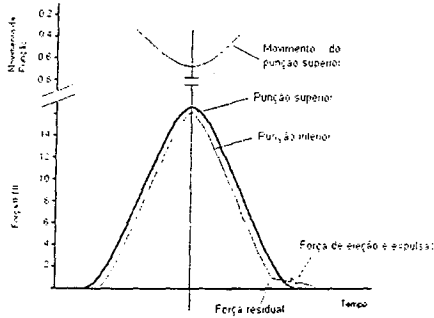


Figura 5. Representação gráfica da força e deslocamento da punção superior durante o processo de compressão em uma máquina de comprimir excêntrica (VILA JATO, 1997)

Também é possível a obtenção de curvas força de ejeção-tempo (VOGEL e SCHMIDT, 1993; ANTIKAINEN e YLIRUUSI, 1997; YLIRUUSI e ANTIKAINEN, 1997). DELACOURTE e colaboradores (1993 e 1995), utilizando curvas de ejeção, propuseram uma metodologia e avaliaram a eficiência de diferentes lubrificantes utilizados em tecnologia de compressão. A curva força-tempo foi dividida em três partes. Na primeira parte não há movimentação do punção inferior e corresponde a uma força residual (T1). Em seguida tem-se início a movimentação do punção inferior para expulsão do comprimido. Neste momento há um incremento instantâneo da força com o aparecimento de um pico de força característico para as curvas de ejeção. Após o pico, a força pode permanecer constante ou cair bruscamente, apresentando diferentes perfis. Esta segunda fase pode ainda ser subdividida em duas subpartes de acordo com a posição do comprimido: na primeira (T2a) o comprimido ainda se encontra totalmente dentro da matriz e na segunda (T2b) o comprimido começa a emergir da matriz. (figura 6).

MOREHEAD e RIPPPIE (1990) através da avaliação da curva força-tempo puderam demonstrar que o pico de força precede o pico de deslocamento máximo do punção superior. Tal comportamento, atribuído aos materiais viscoelásticos, é decorrente do relaxamento do compacto ainda sob força máxima.

A partir do gráfico força-tempo é possível estabelecer o comportamento plastoelástico de compostos, qualitativa e quantitativamente. O comportamento elástico é caracterizado por uma curva força-tempo simétrica (figura 7 curva 1), enquanto que o comportamento plástico se caracteriza por uma curva assimétrica (figura 7 curva 2).

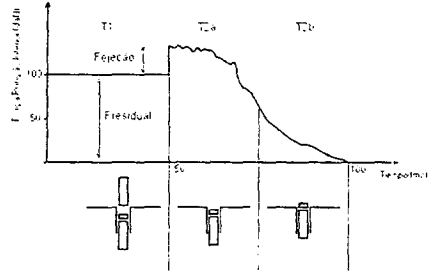


Figura 6. Representação gráfica de uma das curvas força de ejeção-tempo com respectivo movimento da punção inferior, construídas por DELACOURTE e colaboradores (1995), para avaliar a eficiência de lubrificantes.

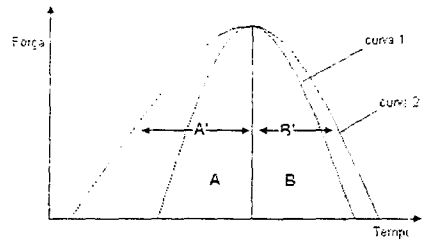


Figura 7. Curva força-tempo para materiais elásticos (curva 1) e plásticos (curva 2) (EMSCHERMANN e MÜLLER, 1981).

O índice de plastoelasticidade pode ser determinado pela razão das seções sob a curva (A e B). Quando a razão entre as áreas B/A tender ao valor 1, caracteriza um comportamento elástico, enquanto que o comportamento plástico apresenta valores próximo a 0 (EMSCHERMANN e MÜLLER, 1981).

Segundo STAMM e MATHIS (1976) a plasticidade de compostos pode ser determinada através de uma curva força-deslocamento (figura 8 A). A determinação da área total (ABC) corresponde a energia gasta no trabalho de compressão do pó, e pode ser dividida em três classes (figura 8 B): E1: energia necessária para promover o empacotamento das partículas apenas por rearranjo; E2: energia necessária para formação do comprimido; E3: energia decorrente da recuperação elástica do compacto.

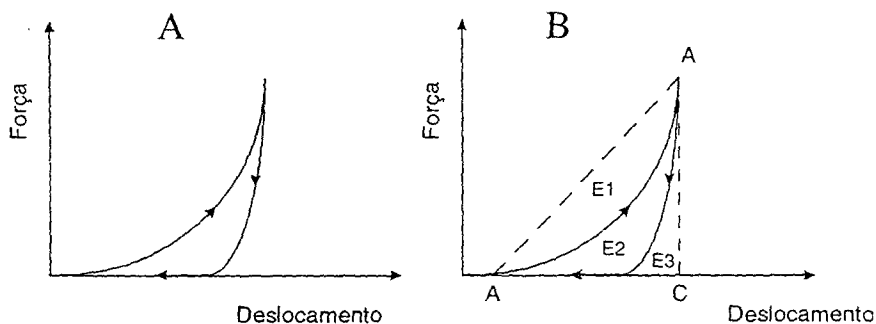


Figura 8. Representação esquemática da curva força-deslocamento do punção superior (VACHON e CHULIA, 1999)

A plasticidade para o complexo farmacêutico composto é calculado pela fórmula:

$$PI = \frac{100 \cdot E2}{E2 + E3}$$

A medida de força e deslocamento dos punções tem demonstrado ser uma ferramenta valiosa para a análise dos perfis de redução do volume de pós e a força aplicada. Um grande número de equações matemáticas tem sido desenvolvidas com o objetivo de avaliar os mecanismos de densificação e consolidação envolvidos durante a compressão de materiais sólidos. MACLEOD (1983) avaliou e comparou muitas destas equações (tabela 1).

Quatro equações, entre todas relatadas na literatura farmacêutica, recebem especial destaque: equação de WALKER; equação de KAWAKITA; equação de HECKEL e a equação de COOPER e EATON (ÇELIK, 1992).

As primeiras avaliações sobre o grau de consolidação de pós foram realizadas no campo da metalurgia. Utilizando materiais tais como o chumbo (para munição), WALKER (1923) observou uma relação logarítmica entre a pressão aplicada ( $P_a$ ) e o volume relativo ( $V_r$ ) do compacto, segundo a fórmula:

$$V_r = C_1 - K_1 \cdot \log P_a$$

onde  $C_1$  e  $K_1$  são constantes. Os valores encontrados para  $K_1$  foram elevados para materiais com deformação plástica quando comparados aos materiais que se deformavam por fragmentação. Walker relatou a razão  $C_1/K_1$  para o perfil de compactação de pós e descreveu ainda valores relativamente altos, quando os materiais produziam comprimidos frágeis.

A equação desenvolvida por KAWAKITA (1956) também tem especial importância no campo de compactação de pós.

$$C = \frac{V_i - V_p}{V_i} = \frac{a \cdot b \cdot P_a}{1 + P_a}$$

onde  $C$  é o grau de redução do volume,  $V_i$  é o volume aparente inicial,  $V_p$  é o volume ocupado pelo pó sob a pressão aplicada  $P_a$ , e "a" e "b" são constantes que podem ser calculadas do gráfico da pressão aplicada ( $P_a$ ) dividida pelo grau de redução de volume ( $C$ ) em função de  $P_a$ . A constante "a" não tem relação com as características do material a ser compactado enquanto a constante "b", definida como coeficiente de compressão, está relacionada com a plasticidade do material.

Entretanto, alguns autores demonstraram que a equação de Kawakita só é aplicável a materiais sob a forma de pó (VAN DER ZWEN e SISKEN, apud ÇELIK, 1992).

Certamente a equação de HECKEL (1961) corresponde à equação mais empregada nos estudos de compactação farmacêutica, a qual considera que a redução dos espaços vazios (porosidade) obedece uma cinética de primeira ordem com a aplicação de pressão. A equação de Heckel é expressa da seguinte forma:

$$\text{Log} \left[ \frac{1}{1-D} \right] = K \cdot P_a + A$$

onde  $D$  corresponde a densidade relativa do compacto,  $K$  e  $A$  são constantes que podem ser determinadas graficamente, respectivamente, da inclinação e interceptação da extrapolação linear a partir da curva de Heckel (figura 9)

**Tabela 1.** Resumo das equações para compactação de pós, fundamentadas na relação entre a pressão aplicada e o volume do compacto (MACLEOD, 1983)

No.	Equações	Autores
1	$\ln \frac{\rho_i - \rho_c}{\rho_i - \rho_c} = KP_A$	ATHY; SHAPIRO; HECKEL; KONOPICKY; SEELING
2	$\ln \frac{\rho_c}{\rho_i} \left( \frac{\rho_i - \rho_c}{\rho_i - \rho_c} \right) = KP_A$	BALHAUSEN
3	$\ln \frac{\rho_i}{\rho_i} \left( \frac{\rho_i - \rho_c}{\rho_i - \rho_c} \right) = KP_A$	SPENCER
4	$\ln \frac{\rho_i}{\rho_i} = KP_A$	NISHIHARA, NUTTING
5	$\ln \frac{\rho_i - \rho_c}{\rho_i} + K \left( \frac{\rho_c}{\rho_i - \rho_c} \right)^{1/3} = aP_A$	MURRAY
6	$\ln \frac{\rho_i}{\rho_c} \left( \frac{\rho_c - \rho_i}{\rho_i - \rho_i} \right) = \ln Ka - (b + c)P_A$	COOPER e EATON
7	$\frac{\rho_i}{\rho_c} = 1 - KP_A^a$	UMEYA
8	$\rho_c = KP_A$	JAKY
9	$\rho_c = K(1 - P_A)$	JENIKE
10	$\rho_c - \rho_i = KP_A^{1/3}$	SMITH
11	$\rho_c - \rho_i = KP_A^2$	SHALER
12	$\frac{\rho_c - \rho_i}{\rho_c} = \frac{K \times aP_A}{1 + KP_A}$	KAWAKITA
13	$\frac{\rho_c}{\rho_c} \left( \frac{\rho_c - \rho_i}{\rho_i - \rho_i} \right) = \frac{KP_A}{1 + KP_A}$	AKETA
14	$\frac{1}{\rho_c} = K - a \ln P_A$	WALKER; BAL'SHIN; WILLIAMS; HIGUCHI; TERZAGHI
15	$\rho_c - \rho_i = K + a \ln P_A$	GURNHAM
16	$\frac{1}{\rho_c} = K - a \ln P_A$	JONES
17	$\frac{1}{\rho_c} = K - a \ln (P_A - b)$	MOGAMI
18	$\frac{\rho_c - \rho_i}{\rho_c} = KP_A \rho_i + a \left( \frac{P_A}{P_A + b} \right)$	TANIMOTO
19	$\frac{\rho_c - \rho_i}{\rho_c} = \ln(KP_A + b)$	RIESCHEL

$\rho_i$  = densidade bruta do material;  $\rho_i$  = densidade aparente;  $\rho_c$  = densidade sob pressão  $P_A$ ;  $K$ ,  $a$ ,  $b$  e  $c$  são constantes

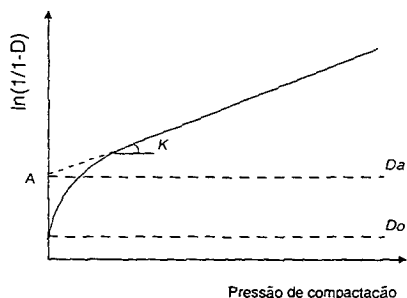


Figura 9. Representação gráfica da curva de HECKEL ( $D_a$  = densidade relativa,  $D_o$  = densidade relativa quando  $P = 0$ ) (ÇELIK, 1992).

Posteriormente Heckel propôs a relação entre a constante  $K$  e a resistência  $Y$  do material:

$$K = \frac{1}{3Y}$$

HERSEY e REES (1970) relacionaram a constante  $K$  com a pressão aplicada:

$$K = \frac{1}{P_y}$$

A partir de então,  $K$  é inversamente relacionada com a capacidade do material de se deformar plasticamente sob uma determinada pressão.

A constante  $A$  é função do volume inicial do compacto e pode ser relacionada à densificação durante o enchimento da matriz e com o rearranjo particular anterior a formação de ligações interparticulares (ÇELIK, 1992; NYSTRÖM *et al.*, 1993).

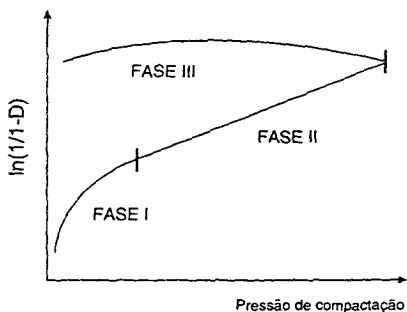


Figura 10. Representação gráfica do ciclo de compressão utilizando a função de HECKEL, separada em três fases para ser utilizada na avaliação do mecanismo de redução de volume envolvido na compactação de pós (NYSTRÖM *et al.*, 1993).

Utilizando a função pressão-porosidade (porosidade =  $1-D$ ), onde tanto as fases de compressão quanto de descompressão são analisadas (figura 10), é possível classificar os complexos farmacêuticos de acordo com o principal mecanismo de redução do volume. Durante a fase I, quando a pressão aplicada é relativamente baixa, a redução na porosidade pode ser aumentada por fragmentação de partículas. A altas pressões (fase II), deformações elásticas e/ou plásticas são os mecanismos principais. Nesta fase, baixos valores para  $P_y$  indicam um alto índice de deformação plástica. Durante a descompressão (fase III), propriedades elásticas das partículas podem resultar num aumento da porosidade. A curva de descompressão deve apresentar-se aproximadamente horizontal quando o componente de deformação elástica está presente. Além da elucidação do comportamento elástico, a fase III também avalia a contribuição da deformação elástica durante a fase II. Outra forma de examinar a fase III pode ser através da diferença de tempo em que ocorre o máximo de compressão e o mínimo de porosidade. Este comportamento é denominado de reflexão da deformação plástica, ou seja, o fluxo plástico não encerra ao máximo de carga, mas continua por um período quando a pressão é encerrada (NYSTRÖM *et al.*, 1993).

COOPER e EATON (1962) elaboraram uma equação relacionada a consolidação por fragmentação, definida como a diminuição dos espaços vazios em relação aos espaços originais, através de pressão para compactação de determinados pós:

$$\frac{V_i - V_p}{V_i - V_f} = C_3 \left( \frac{-k_3}{P_a} \right) + C_4 \left( \frac{-k_4}{P_a} \right)$$

onde  $C_3$ ,  $C_4$ ,  $K_3$  e  $K_4$  são constantes;  $V_i$  é o volume inicial;  $V_p$  o volume real por aproximação,  $V_f$  volume final e  $P_a$  a pressão aplicada. Os dois termos no lado direito da equação estão relacionados com a capacidade de deslizamento das partículas nos primeiros estágios de compactação e com a subsequente deformação elástica. Esses achados reforçam a proposição de que produção de força em compostos de metais pulverizados está relacionada com a porção linear do gráfico de Heckel.

A influência do tempo de aplicação de força (tempo de contato) sobre o comportamento de deformação de materiais já é bem conhecido e amplamente relatado na literatura (DAVID e AUGBURGUER, 1977; JONES, 1977; VOGEL e SCHMIDT, 1993; YLIRUUSI e ANTIKAINEN, 1997). A resistência mecânica de comprimidos aumenta com o aumento do tempo de contato da



força. Tal fenômeno está intimamente relacionado a diminuição da porosidade dos comprimidos ao passo que o tempo de contato é prolongado.

O método mais comum para avaliar a dureza de comprimidos é através da mensuração da força necessária para quebrar o comprimido em um teste de pressão radial. A dureza radial (*Tensile Strength* - TS) dos comprimidos pode ser calculado pela fórmula (FELL e NEWTON, 1970; ÇELIK e DRISCOLL, 1993; OKOR *et al.*, 1998):

$$TS = \frac{2F}{\pi \cdot D \cdot H}$$

Onde: F é a força aplicada; D = diâmetro do comprimido e H = altura do comprimido.

HIESTAND e colaboradores (1977) propuseram o índice de ruptura (*Brittle Fracture Index* - BFI) para comprimidos. Este índice é capaz de mensurar a tendência de laminação ou descabeçamento dos comprimidos durante a ejeção das câmaras de compressão, e é calculado pela seguinte expressão:

$$BFI = 0,5 \cdot \left( \frac{T}{T_0 - 1} \right)$$

Onde: T<sub>0</sub> e T são a dureza do comprimido obtida com e sem um orifício central.

O orifício central é um modelo experimental, com o qual pode-se simular espaços vazios nos compactos verdadeiros. Comprimidos que apresentam BFI ≥ 0,5 apresentam alta tendência a laminação e descabeçamento (OKOR *et al.*, 1998).

ROBERTS e ROWE (1985) avaliaram a sensibilidade de sistemas particulados a variações da velocidade de deformação (*Strain Rate Sensitivity* - SRS) a partir dos valores da pressão produzida a baixa velocidade (Py1) e a velocidade elevada (Py2) de compressão:

$$SRS = \frac{Py2 - Py1}{Py1} \times 100$$

Por sofrerem menor influência do tempo de contato da força, substâncias que se deformam por fragmentação apresentam valores de SRS próximos a zero, enquanto que substâncias que possuem deformação plástica apresentam valores elevados para SRS (DOELKER, 1993).

Além da importância do mecanismo de redução de volume (deformações elásticas e/ou plásticas e fragmentação), dois fatores podem ser considerados como primários para compactabilidade de pós (KAREHILL e NYSTRÖM, *apud* NYSTRÖM *et al.* 1993): o principal mecanismo de ligação interparticular e a área onde estas ligações são ativas. O termo área de superfície de ligação é frequentemente definido como a área de superfície que efetivamente toma parte na atração interparticular. Desta forma, a área de superfície de ligação é função de vários fatores secundários. Por sua complexidade de determinação, os fatores secundários (tabela 2) têm sido relacionados às características do comprimido, ao invés da área de superfície de ligação.

Os mecanismos gerais de ligação entre partículas foi classificada por RUMPF (1958 *apud* NYSTRÖM *et al.* 1993) em cinco tipos (figura 11): pontes sólidas (fusão parcial (1), cristalização (2) e aglutinantes (3)), capilaridade e tensão superficial (4), atração entre partículas sólidas (moleculares e forças eletrostáticas) (5).

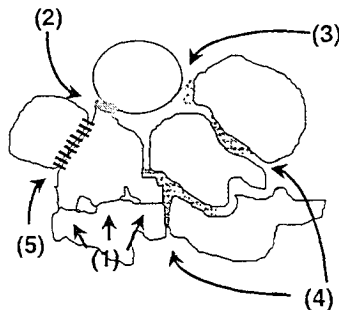


Figura 11. Representação gráfica dos principais mecanismos de interação interparticular (NYSTRÖM *et al.* 1993).

**Tabela 2.** Fatores que influenciam a área de superfície das partículas no comprimido e a área de superfície de ligação (NYSTRÖM *et al.*, 1993)

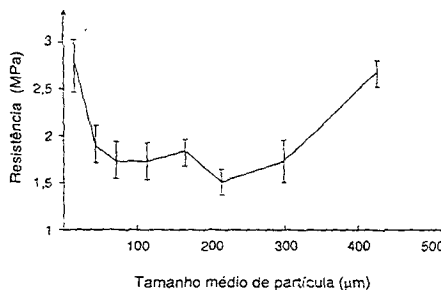
Área de superfície da partícula comprimida		Área de superfície de ligação	
Antes da compactação	Depois da compactação	Durante compactação	Após compactação
Tamanho de partícula	Tamanho de partícula	Tamanho de partícula	Tamanho de partícula
Forma da partícula	Forma da partícula	Forma da partícula	Forma da partícula
	Fragmentação	Fragmentação	Fragmentação
		Deformação Plástica	Deformação Plástica
		Deformação Elástica	Deformação Elástica
			Recuper. Elástica
			Propriedade de Atrito
			Força de ligação

Durante a compactação de pós, alguns fatores têm importante influência, seja durante as etapas envolvidas nas fases de fabricação de comprimidos, seja sobre o produto final, especialmente no que trata da resistência mecânica dos comprimidos e em menor escala, da sua velocidade de dissolução. Tais fatores podem ser agrupados em três categorias:

- 1 - Fatores relacionados aos materiais (pós): polimorfismo; tamanho e forma de partículas;
- 2 - Fatores relacionados as condições de fabricação: dimensão e forma dos comprimidos; velocidade de compressão;
- 3 - Fatores relacionados a presença de adjuvantes: diluentes; desagregantes; aglutinantes; lubrificantes.

Por polimorfismo se compreende a existência não somente de vários estados cristalinos de um mesmo composto químico (polimorfismo verdadeiro), mais também de seus solvatos (pseudopolimorfismo) e seu estado amorfo. As diferentes variedades de polimorfismo podem ser decorrentes de variações nos parâmetros de compactação, fazendo com que os comprimidos apresentem resistência mecânica e velocidade de dissolução que podem variar consideravelmente. De forma geral, materiais que apresentam estado amorfo ou cristalino instável apresentam deformação plástica produzindo comprimidos mais resistentes e que se dissolvem com maior velocidade (TULADHAR, *et al.*, 1983; DOELKER, 1997).

Partículas que apresentam tamanhos reduzidos proporcionam comprimidos com resistência superior. Tal comportamento se deve a grande superfície de contato das mesmas. Entretanto, o efeito é mais pronunciado em materiais frágeis, onde a fragmentação reduz a influência inicial do tamanho de partícula (figura 12).



**Figura 12.** Resistência mecânica-tamanho médio de partícula para diferentes frações de fosfato de cálcio dibásico (Bekapress® D2) (SCHMIDT, 1998).

Porém, abaixo de um determinado tamanho o material não pode mais se fragmentar, contudo há comportamento de deformação plástica. Partículas muito finas são mais suscetíveis a adsorção e/ou ao aprisionamento de ar, podendo favorecer o fenômeno de clivagem e descabeçamento do comprimido. Problemas de fluxo também estão relacionados com as partículas que apresentam tamanhos muito reduzidos. A pressão necessária aplicada é menor com partículas mais finas (DOELKER, 1997; SCHMIDT, 1998).

A obtenção de comprimidos, com os equipamentos atualmente disponíveis, requer que o material a comprimir possua características físicas e mecânicas específicas: capacidade de fluir livremente, coesividade e lubrificação. A maioria das substâncias não possuem todas estas propriedades, sendo necessária a adição de uma série de adjuvantes, que podem ser classificados de acordo com a função que exercem no comprimido. Desta forma, um primeiro grupo é constituído por materiais que tem o objetivo de proporcionar a formulação características adequadas para manipulação e compressão satisfatórias, tais como o fluxo e a coesividade. Neste grupo se enquadram os diluentes, aglutinantes, deslizantes e lubrificantes. Num segundo grupo de substâncias, que tem como fim conferir características físicas e biofarmacêuticas

desejáveis ao comprimido, encontram-se os desagregantes, umectantes e estabilizantes (VOIGT, 1993; LE HIR, 1995; VILA JATO, 1997).

Diluentes:

Dentre os diluentes mais empregados destaca-se a lactose. Facilmente solúvel em água, sabor agradável, baixa capacidade de absorver água e boas características de compressão, a lactose apresenta como desvantagem seu preço e sua baixa propriedade de fluxo. Quimicamente a lactose é constituída de uma unidade de galactose e uma unidade de glicose, e existe em duas formas isoméricas:  $\alpha$ - e  $\beta$ -lactose. A diferença entre as duas formas é decorrente da temperatura de cristalização. A  $\beta$ -lactose sólida só é encontrada na forma anidra e não higroscópica. A  $\alpha$ -lactose é obtida na forma monohidratada mas pode, através de dessecação ou desidratação térmica, se converter em cristais de lactose amorfa. Porém a absorção de umidade atmosférica proporciona a transformação da lactose amorfa em lactose cristalina. É possível ainda, com tratamento térmico empregando temperaturas entre 100 °C e 130 °C, a obtenção de um produto muito higroscópico denominado de  $\alpha$ -lactose anidra instável. Utilizando temperaturas acima de 130 °C é obtido um produto não higroscópico denominado  $\alpha$ -lactose anidra estável. A  $\alpha$ -lactose monohidratada é usualmente empregada como diluente na preparação de comprimidos que envolve o processo de granulação úmida. Algumas frações contendo partículas finas de cristais de lactose monohidratada são mais utilizadas para compressão direta. As frações que contém partículas de  $\alpha$ -lactose monohidratada de maior diâmetro possuem boas propriedades de fluxo, porém pobre capacidade aglutinante. A  $\alpha$ -lactose anidra obtida pela desidratação térmica da fração cristalina de  $\alpha$ -lactose monohidratada, apresenta um aumento significante em sua capacidade aglutinante sem promover alteração nas propriedades de fluxo do produto original. Os produtos comercializados conhecidos como lactose anidra, possui aproximadamente 80 % de  $\beta$ -lactose (anidra) e em torno de 20 % de  $\alpha$ -lactose anidra. Estes produtos são normalmente obtidos em túneis de secagem e exibem boa capacidade aglutinante mas baixa fluidez. Outra forma de obtenção de lactose é através da secagem por aspersão (*spray-drier*). Este processo resulta num produto constituído por cristais de  $\alpha$ -lactose monohidratada, unida por lactose amorfa. Lactose seca por aspersão é o adjuvante mais recomendado para compressão direta, possuindo boas características de fluxo e aglutinação (VAN KAMP *et al.*, 1988; LERK, 1993; WICKBERG e ALDERBORN, 1993; BOLHUIS e ZURMAN, 1995; SHESKEY, *et al.*, 1995; VILA JATO, 1997; SCHMIDT, 1998<sup>2</sup>).

O amido e seus derivados, compreendem os diluentes insolúveis mais utilizados devido a seu baixo custo e por suas propriedades desagregantes, adsorventes e aglutinantes. Sua maior desvantagem é a elevada umidade residual (11-18 %), favorecendo a absorção de umidade atmosférica. Atualmente se recorre ao emprego de amido de milho e certos derivados do mesmo, modificados por tratamento físicos ou químicos, com o intuito de melhorar características, como a compressibilidade, capacidade de desagregação e fluxo (Sta-Rx 1500<sup>®</sup>, Cellutab<sup>®</sup>, Primojel<sup>®</sup>). Estes têm sido aplicados na compressão direta (ARMSTRONG e PALFREY, 1988; PROFITICH 1990; NYSTRÖM *et al.*, 1993).

A celulose microcristalina (MCC) é uma celulose parcialmente despolimerizada por hidrólise em meio ácido após tratamento mecânico da  $\alpha$ -celulose. A MCC é muito usada como diluente para compressão direta devido a sua suscetibilidade a formação de compactos que mantém sua plasticidade. Tal comportamento se deve a própria natureza das moléculas que favorece a formação de pontes de hidrogênio. A característica não fibrosa, associada às boas propriedades de escoamento e à elevada área superficial, proporcionam poder aglutinante e boa característica de fluxo a MCC. Deste forma, quando as substâncias ativas não excedem a proporção de 20 % da formulação, os comprimidos podem ser obtidos sem emprego de lubrificantes. Diversos produtos contendo celulose microcristalina são comercializados como excipientes para compressão, entre eles se destacam a Avicel<sup>®</sup> PH (101; 102; 102; 105; 112; 200); Emcofel<sup>®</sup> e Microcel<sup>®</sup> MC (101; 1C2) (DOELKER *et al.*, 1987; DOELKER *et al.*, 1995; LIMA NETO e PETROVICK, 1997a).

Alguns sais inorgânicos também são empregados como diluentes, destacando-se o fosfato de cálcio, insolúvel em água, com boas propriedades de fluxo e menor capacidade de absorver água que a lactose. Uma variedade deste sal é o Emcompress<sup>®</sup>, que contém entre 5 e 20 % de outros compostos (amido, estearato de magnésio, celulose microcristalina e Primojel<sup>®</sup>), com os quais se consegue melhorar suas características de compactação e desagregação (ARMSTRONG e PALFREY, 1988).

LIN e PECK (1996) avaliaram a possibilidade da utilização do talco como diluente. Devido a sua baixa densidade e baixa granulometria, a adição em grande quantidade proporcionaria um comprimido friável e inaceitável. Porém, empregando aglomerados de talco obtidos por diferentes processos, os autores obtiveram resultados satisfatórios quanto ao emprego de aglomerados de talco como diluente.

Aglutinantes:

As substâncias que atuam como adesivas ou coesivas entre as partículas de materiais

pulvêreos submetidos à aglomeração para formar grânulos, recebem o nome de aglutinantes. Estes promovem o aumento da resistência à fratura e diminuem a friabilidade do comprimido. Normalmente são constituídos de macromoléculas de cadeia longa que, em forma de dispersão deixam, após evaporação do solvente, uma película de grande poder adesivo que favorece a agregação de partículas. Atualmente os aglutinantes mais utilizados são de origem sintética, entre os quais destacam-se a polivinilpirrolidona e diferentes derivados da celulose (metilcelulose, etilcelulose, carboximetilcelulose sódica e hidroxipropilmetilcelulose) (PESONEN *et al.*, 1992; VOIGT, 1993; LE HIR, 1995; SHESKEY, *et al.*, 1995; LIMA NETO e PETROVICK, 1997a; VILA JATO, 1997).

#### Desagregantes:

Os desagregantes são adicionados à formulação com o intuito de promover e acelerar a desintegração do comprimido quando em contato com meios de natureza aquosa ou sucos digestivos. O objetivo principal é provocar a rápida desagregação do comprimido, bem como aumentar a área superficial dos fragmentos do mesmo, com a finalidade de obter uma rápida liberação do fármaco (SCHMIDT e ZESSIN, 1997). O processo de desintegração consiste na ruptura das uniões formadas durante a compressão, tais como força de Van der Waals, uniões capilares, pontes de hidrogênio, uniões de fusão ou dissolução parcial de superfícies com posterior recristalização, etc. O processo de desagregação do comprimido está condicionada, fundamentalmente, à solubilidade do fármaco, a força de compressão aplicada, à porosidade do comprimido, e ao tipo e proporção de desagregante adicionado à formulação (VOIGT, 1993; LE HIR, 1995; VILA JATO, 1997; SCHMIDT e ZESSIN, 1997).

Os desagregantes utilizados nos comprimidos podem atuar por diferentes mecanismos:

- 1 - Aumentando o volume ao entrar em contato com líquidos aquosos, o que favorece a separação das partículas constituintes do comprimido, incrementando a superfície específica e, em consequência, a velocidade de dissolução;
- 2 - Dissolvendo-se em água e formando canaliculos ou capilares no comprimido, facilitando a penetração de fluidos e proporcionando a desintegração;
- 3 - Reagindo com a água e proporcionando a formação de um gás, geralmente o dióxido de carbono (DALLA COSTA, 1990; VOIGT, 1993; FAROONGSARNG e PECK, 1994; LE HIR, 1995; LIMA NETO, 1996; LIMA NETO e PETROVICK, 1997b; SCHMIDT e ZESSIN, 1997; VILA JATO, 1997).

Entre os desagregantes que atuam pelo primeiro mecanismo encontram-se o amido e seus derivados, o mais antigo e ainda hoje utilizado devido a sua boa propriedade de desintegração e

baixo custo. Entretanto a baixa compressibilidade associada a grande quantidade utilizada, entre 2 e 10 % do peso total, enfraquecem a estrutura do comprimido. Já os desagregantes modernos, apresentam grande poder desagregante em pequenas proporções (entre 0,5 - 5 %) e, por esta razão, são denominados de super-desagregantes. Nesta classe encontram-se o glicolato de amido sódico (Explotab<sup>®</sup>, Primojel<sup>®</sup>), a carboximetilcelulose sódica reticulada (Croscarmellose sódica; Ac-Di-Sol<sup>®</sup>) e a polivinilpirrolidona reticulada (Kollidon<sup>®</sup> CL; Kollidon<sup>®</sup> CL-M; Crospovidona<sup>®</sup> - M). Os princípios de obtenção e mecanismo de ação são semelhantes para todos super desagregantes (BÜHLER, 1996). Através do balanço entre a insolubilidade proporcionada pela formação de ligações cruzadas e a solubilidade oriunda de substituintes hidrofílicos, é possível obter um composto insolúvel com alta capacidade de intumescimento decorrente da hidrofiliidade dos substituintes. A croscarmelose sódica, por exemplo, apresenta um aumento de quase 200 % em seu tamanho quando em contato com a água, sem se dissolver (FAROONGSARNG e PECK, 1991; FAROONGSARNG e PECK, 1994; LIMA NETO e PETROVICK, 1997b; SCHMIDT, 1998). Entre os desagregantes que atuam por ação capilar destacam-se substâncias marcadamente solúveis como cloreto de sódio e lactose, utilizados com menor frequência que os anteriores. O terceiro grupo de desagregantes é composto pelas substâncias que, quando em contato com a água, formam um gás. Este gás é produzido pela reação de um bicarbonato em meio aquoso, com um ácido orgânico como o cítrico e o tartárico. As misturas ácido-base são incorporadas ao comprimido em um proporção de 10 %, que produz uma efervescência suficiente para provocar a desagregação (VOIGT, 1993; FAROONGSARNG e PECK, 1994; LE HIR, 1995; SCHMIDT e ZESSIN, 1997; VILA JATO, 1997).

#### Lubrificantes:

Durante as diferentes etapas do processo de compressão podem ocorrer problemas de fricção de diversas naturezas. Fricção entre os grânulos ou partículas no alimentador, fazendo com que o material apresente fluxo deficiente, fricção da superfície do comprimido com os punções e/ou com a parede da matriz. Para evitar os problemas derivados da fricção grânulo-grânulo ou grânulo-metal, são utilizados os lubrificantes ou agentes antifricção que, de acordo com a função que exercem, podem ser classificados em deslizantes (favorecem o fluxo pela diminuição da fricção entre grânulos); antiaderentes (evitam a aderência dos grânulos a matriz ou aos punções) e lubrificantes propriamente ditos (reduzem a fricção entre as partículas durante a compressão, assegurando melhor transmissão da força de compressão através da massa do pó ou granulado, reduzindo as forças de reação que aparecem nas paredes da

matriz) (LERK e SUCKER, 1988; VILA JATO, 1997). Entretanto, os lubrificantes podem apresentar as três propriedades simultaneamente, porém, não exercem com a mesma eficiência as três funções citadas.

Os agentes deslizantes atuam por interposição entre as partículas do granulado e formação de uma camada protetora que reduz a fricção interparticular e a tendência à adesão. O preenchimento da superfície rugosa dos grânulos, uniformiza a superfície, facilitando o enchimento homogêneo da matriz. O amido e o talco têm sido tradicionalmente os deslizantes mais empregados. Atualmente os derivados de silício, finamente divididos, são empregados com êxito como indutores de fluxo, com a vantagem de serem efetivos a proporções muito mais baixas que os anteriores. O talco e o amido de milho, bem como os derivados de silício (Aerosil<sup>®</sup>, Cab-O-sil<sup>®</sup> ou Syloid<sup>®</sup>), apresentam boas propriedades antiaderentes, evitando a aderência do material à matriz e aos punções.

O estearato de magnésio é o lubrificante hidrofóbico mais freqüentemente empregado na fabricação de comprimidos, em parte devido à sua tendência de migrar, durante o processo de compressão, até a interface com a parede da matriz, alcançando elevadas concentrações na superfície do comprimido. Devido à sua natureza hidrofóbica e sua predisposição a recobrir as partículas, os lubrificantes propriamente ditos, podem dificultar a penetração da água no comprimido retardando o tempo de desintegração, diminuindo a velocidade de dissolução e condicionando a biodisponibilidade do fármaco. Por outro lado, pode ocorrer uma redução nas forças de ligação interparticulares, diminuindo a consistência do comprimido. Esta tem sido uma das principais razões para o grande número de estudos avaliando a influência de lubrificantes hidrofóbicos durante a compressão (JOHANSSON, 1986; BAICHWALL e AUGSBURGUER, 1988; MARWAHA e RUBINSTEIN, 1988; LEINONEN *et al.*, 1992; MARQUEZ *et al.*, 1992; DELACOURTE *et al.*, 1993; DELACOURTE *et al.*, 1995). Quando se deseja uma completa dissolução em água dos comprimidos (comprimidos hipodérmicos e efervescentes), recorre-se ao emprego de lubrificantes solúveis tais como os sais orgânicos de sódio (acetato, benzoato e oleato) em proporções elevadas (> 4%), os polímeros de alto peso molecular (Carbowax<sup>®</sup> 4000 e 6000), DL-leucina e alguns agentes tensoativos do tipo alquil-sulfonatos, como o laurilsulfato de sódio (DALLA COSTA, 1990; VILA JATO, 1997). O talco apresenta boas características deslizantes e antiaderente, entretanto, a propriedade lubrificante é pobre. Também possui efeito abrasivo, a menos que se apresente finamente pulverizado (LERCK e SUCKER, 1988).

Atualmente, o emprego de adjuvantes multifuncionais tem representado uma alternativa relevante no desenvolvimento de comprimidos através da compressão direta. Isto se deve a possibilidade de combinação de diversas propriedades (diluyente, aglutinante, deslizante, desagregante, com bom fluxo) em um único adjuvante. A principal vantagem destes produtos está na homogeneidade lote-a-lote e na reduzida possibilidade de interação entre cada ingrediente da formulação, o que proporciona um grande incremento na transparência do processo. O Ludipress<sup>®</sup> é um exemplo de adjuvante multifuncional comercializado desde 1986 constituído por  $\alpha$ -lactose monodratada (93 % - diluyente), Kollidon<sup>®</sup> 30 (3,5 % - aglutinante) e Kollidon<sup>®</sup> CL (3,5% - desintegrante) (SCHMIDT e RUBENDÖRFER, 1994ab).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTIKAINEN, O.K.; YLIRUUSI, J.K. New Parameters Derived from Tablet Compression Curves. Part II. Force-Displacement Curve. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 23, p. 81-93, 1997.
- ARMSTRONG, N.A.; HAINES NUTT, R.F. Elastic Recovery and Surface Area Changes in Compacted Powder Systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 24 (suppl.), p. 135-136, 1972.
- ARMSTRONG, N.A.; PALFREY, L.P. The Effect of Machine Speed on the Consolidation of Four Directly Compressible Tablet Diluents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 41, p. 149-151: 1989.
- BAICHWAL, A.R.; AUGSBURGER, L.L.; Variations in the Friction Coefficients of Tablet Lubricants and Relationship to their Physicochemical Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 40, p. 569-571, 1988.
- BOLHUIS, G.K.; ZUURMAN, K. Tableting Properties or Experimental and Commercially Available Lactose Granulations for Direct Compression. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 21, n. -18, p. 2057-2071, 1995.
- BROCKEDON, W. *Shaping Pills, Lozenges and Black Lead by Pressure Dies*. British Patent No. 9977. 1943.
- BÜHLER, V. *Kollidon<sup>®</sup>: Polyvinylpyrrolidone for the pharmaceutical Industry*. BASF. 3.ed. 1996.
- ÇELIK, M. Overview of Compaction Data Analysis Techniques. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, p. 767-810, 1992.
- ÇELIK, M. The Past, Present, and Future of Tableting Technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 22, v. 1, p. 1-10, 1996.
- ÇELIK, M.; DRISCOLL, C.E. An overview of the effects of some physico-chemical and mechanical characteristics of particulates on the compaction and post-compaction properties of compacts. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19(17&18), p. 2119-2141, 1993.

- DAVID, S.T.; AUGSBURGER, L.L. Plastic Flow during Compression of Directly Compressible Fillers and its Effect on Tablet Strength. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 66, p. 155-159, 1977.
- DELACOURTE, A.; GUYOT, J.C.; COLOMBO, P.; CATELLI, P.L. Effectiveness of Lubricants and Lubrication Mechanism in Tablet Technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 21, p. 2187-2199; 1995.
- DELACOURTE, A.; PREDELLA, P.; LETERME, P.; PROVASI, D.; COLOMBO, P.; CONTE, U.; CATELLI, P.L.; GUYOT, J.C. A Method for Quantitative Evaluation of the Effectiveness of the Lubricants used in Tablet Technology. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 1047-1060; 1993.
- DOELKER, E. Comparative compaction properties of various microcrystalline cellulose types and generic products. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19 (17&18), p. 2399-2471, 1993.
- DOELKER, E. Physique de la compression. Module 7. DEA de pharmacotechnie, Université de Paris-Sud, 1997.
- DOELKER, E. MORDIER, D.; ITEN, H.; HUMBERT-DROZ, P. Comparative Tableting Properties of Sixteen Microcrystalline Celluloses. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 13, n. 9-11, p. 1847-1875, 1987.
- DOELKER, E.; MASSUELLE, D.; VEUILLEZ, F.; HUMBERT-DROZ, P. Morphological, packing, flow and tableting properties of new avicel types. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 21, p. 643-661; 1995.
- EMSCHERMANN, B.; MÜLLER, F. Auswertung der Kraftmessung beim Tablettieren. *Pharmazeutischer Industrie*, v. 43, p. 191-194, 1981.
- FAROONGSARNG, D.; PECK, G.E. The Swelling of Core Tablets during Aqueous Coating I: A Simple Model Describing Extent of Swelling and Water Penetration for Insoluble Tablets Containing a Superdisintegrant. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 17, v.18, p. 2439-2455, 1991.
- FAROONGSARNG, D.; PECK, G.E. The Swelling and Water Uptake of Tablets III: Moisture Sorption Behavior of Tablet Disintegrants. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 20, v.5, p. 779-798, 1994.
- FELL, J.; NEWTON, J.M. Determination of tablet strength by diametral compression test. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 59, p. 688-691, 1970.
- HERSEY, J.A.; REES, J.E. *Proceedings of the 2nd Particle Size Conf., Society for Analytical Chemistry*, Bradford, 1970.
- HIESTAND, E.N.; WELLS, J.L.; PEOT, C.B.; OCHS, J.F. Physical Processes of Tableting. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 66, p. 510-519, 1977.
- HOBLOITZELL, J.R.; RHODES, C.T. Instrumented tablet press studies on the effect of some formulation and processing variables on the compaction process. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 16, p. 469-507, 1990.
- JOHANSSON, M.E.; The Effect of Scaling-up of the Mixing Process on the Lubricating Effect of Powdered and Granular Magnesium Stearate. *Acta Pharmaceutica Technologica*, n. 32, v. 1, p. 39-42, 1986.
- JONES, T.M. in: POLDERMAN, J. (ed). *Formulation and Preparation of Dosage Forms*. Elsevier, North Holland, p. 29-22, 1977.
- KAREHILL, P.G.; NYSTRÖM, C. *International Journal of Pharmaceutics*. v.61, 1990; *International Journal of Pharmaceutics*. v.64, 1990; *International Journal of Pharmaceutics*. v.64, 1990 apud NYSTRÖM, C.; et al. Bonding Surface Area and Bonding Mechanism - Two Important Factors for the Understanding of Powder Compactability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 2143-2196, 1993.
- KRIEGER, M.; FÄHLER, F.J.; BAUMGARTNER, K. Determination of Tablet Hardness with Strain Gauge Equipped Instruments. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 21, n. 19, p. 2201-2212, 1995.
- LE HIR, A. *Farmacia Galénica*. Barcelona: Masson., 1995.
- LEINONEN, U.I.; JALONEN, H.U.; VIHervaara, P.A.; LAINE, E.S.U. Physical and Lubrication properties of Magnesium Stearate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, n. 12, v. 81, p. 1194-1198, 1992.
- LERK, C.F. Consolidation and Compaction of Lactose. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 2359-2398, 1993.
- LERK, P.C.; SUCKER, H. Interaction of Magnesium Stearate and Talc upon Tableting Mixtures, I: Effect on Ejection Force after Compaction. *Acta Pharm. Technol.*, n. 34, v. 2, p. 68-71, 1988.
- LIMA NETO, S.A. Determinação das características de intumescimento de adjuvantes. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. Dissertação (Mestrado em Farmácia).
- LIMA NETO, S.A.; PETROVICK, P.R. A celulose na Farmácia. *Caderno de Farmácia*, v. 13, n. 1, 0. 19-23, 1997a.
- LIMA NETO, S.A.; PETROVICK, P.R. Avaliação dinâmica do intumescimento de desintegrantes: croscaramelose sódica. *Revista Portuguesa de Farmácia*, v.7, n. 2, p. 49-54, 1997b.
- LIN, K.; PERCK, G.E. Development of Agglomerated Talc. III. Comparisons of the Physical Properties of the Agglomerated Talc Prepared by three Different Processing Methods. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, n. 5, p. 383-392, 1996.
- MACLEOD, H.M., in: STANLEY-WOOD, N.G. *Enlargement and Compaction of Particulate Solids*. Butterworths. London, 1983, p. 241.
- MALAMATARIS, S.; REES, J.E. Viscoelastic Properties of some Pharmaceutical Powders Compared using Creep Compliance, Extended Heckel Analysis and Tablet Strength Measurements. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 92, n. 3, p. 123-135, 1993.

- MARQUEZ, M.A.G.; MUÑOZ, A.; JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M.R. Influence de deux lubrifiants (stéarate de magnésium et pruv) dans l'élaboration de comprimés de quatre anti-ulcéreux au moyen de la com pression directe. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, v. 6, p. 50-56, 1992.
- MARWAHA, S.B.; RUBINSTEIN, M.H. Structure-lubricity Evaluation of Magnesium Stearate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 43, p. 249-255; 1988.
- MOREHEAD, W.T.; RIPPKE, E.G. Timing relationship among maxima of punch and die-wall stress and punch displacement during compaction of viscoelastic solids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 79, p. 1020-1022, 1990.
- MORETON, R.C. Tablet Excipients to the Year 2001: A Look into the Crystal Ball. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 22, v. 1, p. 11-23, 1996.
- MOSER, M. *Der Einsatz des Briegfestigkeitstests zur Bestimmung der Steigigkeit von Tabletten*. Tübingen: Falkutät für Chemie und Pharmazie, Eberhard-Karls-Universität, 1997. Tese (Doutorado em Ciências Naturais).
- NYSTRÖM, C.; ALDERBORN, G.; DUBERG, M.; KAREHILL, P.G. Bonding Surface Area and Bonding Mechanism - Two Important Factors for the Understanding of Powder Compactability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 2143-2196, 1993.
- OKOR, R.S.; EICHIE, F.E.; NGWA, C.N. Correlation Between Tablet Mechanical Strength and Brittle Fracture Tendency. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 4, p. 511-513, 1998.
- PESONEN, T.; PARONEN, P.; ILKKA, J. Dissolution Properties of Direct Compression Tablets Containing an Agglomerated Cellulose Powder. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 18, v. 2, p. 159-173, 1992.
- PETROVICK, P.R. *Tecnologia farmacêutica 1 - polígrafo de acompanhamento*. Porto Alegre: UFRGS, 1999.
- PROFITLICH, T. *Messung und Bedeutung von Matrizenwandkräften bei der Tablettierung*. Tübingen: Falkutät für Chemie und Pharmazie, Eberhard-Karls-Universität, 1990. Tese (Doutorado em Ciências Naturais).
- ROBERTS, R.J.; ROWE, R.C. The effect of punch velocity on the compaction of a variety of materials. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 37, p. 377-384, 1985.
- RUMPF, H. *Chem. Ing. Tech.* 30, 144, 1958 *apud* NYSTRÖM, C. *et al.*; Bonding Surface Area and Bonding Mechanism - Two Important Factors for the Understanding of Powder Compactability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 2143-2196, 1993.
- SCHMIDT, P.C. *Tableting and Tablet Machines*. Intensive course for graduate Students. Porto Alegre, 1998
- SCHMIDT, P.C. Instrumentierungs-möglichkeiten an Rundlaufabletten-pressen. *Chem. Ing. Tech.*, v. 61, p. 115-123, 1989.
- SCHMIDT, P.C.; RUBENS DÖRFER, C.J.W. Evaluation of Ludipress as a "Multipurpose Excipient" for Direct Compression Part I: Powder Characteristics and Tableting Properties. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 20, v. 18, p. 2899-2925, 1994a.
- SCHMIDT, P.C.; RUBENS DÖRFER, C.J.W. Evaluation of Ludipress as a "Multipurpose Excipient" for Direct Compression Part II: Interactive Blending and Tableting with Micronized Glibenclamide. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 20, v. 18, p. 2927-2952, 1994b.
- SCHMIDT, J.; ZESSIN, G. Investigation of Different Vegetable Cell Wall as Disintegrant in Direct Compressing of tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 23, v. 6, p. 527-532, 1997.
- SHAH, N.H.; PATEL, C.I.; INFELD, M.H.; MARGOLIS, R.J.; RAILKAR, A.M.; MALICK, A.W. Effect of Stearic Acid Particle Size on Surface Characteristics of Film-Coated Tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 22, v. 11, p. 1097-1103, 1996.
- SHEKLEY, P.J.; ROBB, R.T.; MOORE, R.D.; BOYCE, B.M. Effects of Lubricant Level, Method of Mixing, and Duration of Mixing on a Controlled-release Matrix tablet Containing Hydroxypropyl Methylcellulose. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 21, p. 2151-2165; 1995.
- SHOTTON, E.; OBIORAH, B.A. Effect of Physical Properties on Compression Characteristics. *Pharmaceutical Technology*, v. 64, p. 1213-1216, 1975.
- STAMM, A.; MATHIS, C. Verpressbarkeit von festen Hilfsstoffen für Direkttablettierung. *Acta Pharmaceutica Technologica*, S. 1, p. 7-16, 1976.
- TULADHAR, M. D.; CARLESS, J. E.; SUMMERS, M. P. The effects of polymorphism, particle size and compression pressure on the dissolution rate of phenylbutazone tablets. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 35, p. 269-274, 1982.
- VACHON, M.G.; CHULIA, D. The use of energy indices in estimating powder compaction functionality of mixtures in pharmaceutical tableting. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 177, p. 183-200, 1999.
- VAN DER VOORT MAARSCHALK, K.; BOLHUIS, G.K. Aprimoramento das propriedades de materiais para compressão direta. *Pharmaceutical Technology*. Agosto: 17-25, 1999.
- VAN KAMP, H.V.; BOLHUIS, G.K.; LERK, C.F. Optimization of a Formulation Based on Lactoses for Direct Compressin. *Acta Pharmaceutica Technologica*, n. 34, v. 11, p. 11-16, 1988.
- VAN DER ZWEN, J.; SISKEN, C. *Powder Technology*, v. 33, p.43, 1982. *apud* ÇELIK, M. Overview of Compaction Data Analysis Techniques. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, p. 767-810, 1992.

- VILA JATO, J.L. *Tecnologia Farmacéutica - Volume II: Formas Farmacéuticas*. Madrid: Síntesis., 1997.
- VOGEL, P.J.; SCHMIDT, P.C. Force-Time Curves of a Modern Rotary Tablet Machine II. Influence of Compression Force and Tableting Speed on the Deformation Mechanisms of Pharmaceutical Substances. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 1917-1930, 1993.
- VOIGT, R. *Pharmazeutische Technologie*. 7. überarb. Aufl., Berlin: Ullstein Mosby, 1993.
- WICKBERG, M.; ALDERBORN, G. Compression Characteristics of Granulated Materials. VII. The Effect of Intragranular Binder Distribution on the Compactibility of Some Lactose Granulations. *Pharmaceutical Research*, n. 1, v. 10, 1993.
- WRAY, P. E. The Physics of Tablet Compaction Revisited. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, p. 627-658, 1992.
- YLIRUUSI, J.K.; ANTIKAINEN, O.K. New Parameters Derived from Tablet Compression Curves. Part I. Force-Time Curve. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 23, p. 69-79, 1997.
- YLIRUUSI, J.K.; MERKKU, P.; HELLÉN, L.; ANTIKAINEN, O.K. A New Method to Evaluate the Elastic Behavior of Tablet During Compression. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 23, p. 63-68, 1997.

**Endereço para correspondência:**

Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick  
Laboratório de Desenvolvimento Galênico  
PPG-Ciências Farmacéuticas/F. Farmácia/UFRGS  
Av. Ipiranga, 2752  
90610-000 - Porto Alegre/RS  
e-mail: prpetrov@farmacia.ufrgs.br

recebido em: 15.8.1999

Aceito em: 23.10.1999



**Efeito da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato vegetal seco.**

Luiz Alberto Lira Soares<sup>1</sup>, George González Ortega<sup>1</sup>, Peter Christian Schmidt<sup>2</sup>, Pedro Ros Petrovick<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>PPGCF - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Technology, University of Tübingen

\* Correspondência

---

Artigo submetido à Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas

Neste trabalho foram obtidos comprimidos contendo alta concentração de extrato seco por aspensão de *Maytenus ilicifolia*. Os comprimidos foram preparados por compressão direta em máquina alternativa, empregando celulose microcristalina (material de enchimento/aglutinante), dióxido de silício coloidal (deslizante/absorvente de umidade) e estearato de magnésio (antiaderente) como adjuvantes. A influência da força (3 a 17 kN) e da velocidade de compressão (18 a 32 rpm) sobre as propriedades de dureza, tempo de desintegração e friabilidade dos comprimidos foi avaliada através de um Desenho Composto Central. O aumento da força de compressão proporcionou aumento da dureza e redução da friabilidade dos comprimidos. Para estes parâmetros não houve influência da velocidade de compressão. A força de compressão foi o fator predominante sobre o tempo de desintegração. O aumento da velocidade de compressão também causou redução no tempo de desintegração dos comprimidos.

Unitermos: *Maytenus ilicifolia*; Extratos vegetais secos; Compressão; Compressão direta; Desenho Composto Central; Fitomedicamentos

## INTRODUÇÃO

Os produtos de origem vegetal secos por aspersão podem ser utilizados como produtos intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas (Gaudy, Puech, Jacob, 1991; González Ortega, Schmidt, 1995; De Paula *et al.*, 1998; De Souza *et al.*, 2000; Linden *et al.*, 2000; De Souza *et al.*, 2001). Entretanto, seu emprego no desenvolvimento e na produção de comprimidos tem se apresentado como uma tarefa complexa. Muitos destes extratos não apresentam as propriedades satisfatórias de reologia e de compressibilidade, que permitam o processo de manufatura. Tais dificuldades se acentuam, uma vez que em formulações contendo extratos vegetais, freqüentemente, são necessárias proporções elevadas deste componente ativo. Isto ocorre porque as substâncias ativas encontram-se diluídas com outras substâncias co-extraídas (Palma, Manzo, Allemandi, 1999; Rocksloh *et al.*, 1999).

Além das propriedades relacionadas aos componentes da formulação do comprimido, o processo de compressão propriamente dito apresenta algumas variáveis capazes de causar modificações importantes sobre as propriedades dos comprimidos. Alguns autores demonstraram que o tempo de aplicação de força pode afetar a dureza dos comprimidos obtidos (Roberts e Rowe, 1985). Tal fenômeno ganha importância, especialmente, na passagem de escala de produção ou no emprego de máquinas de comprimir rotativas, as quais operam em maiores velocidades que as alternativas .

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de dureza, desintegração e friabilidade de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia*.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **MATERIAIS**

#### **Adjuvantes**

Celulose microcristalina (Avicel<sup>®</sup> PH 101, FMC); estearato de magnésio (Bärlocher); dióxido de silício coloidal (Aerosil<sup>®</sup> 200, Degussa). Os adjuvantes foram utilizados como recebidos.

#### **Extrato vegetal seco**

A secagem do extrato de *Maytenus ilicifolia* foi realizada por aspersão como descrito anteriormente por Petrovick e Carlini (2000).

### **MÉTODOS**

#### **Mistura**

O produto seco de *Maytenus ilicifolia* e a celulose microcristalina foram misturados na proporção ponderal 3,5:1 em misturador tipo Turbula modelo T2C

(Willy A. Bachofen) por 10 minutos. Em seguida foram adicionados à mistura obtida o dióxido de silício coloidal (2,2 %) e o estearato de magnésio (1,0 %) e misturados por mais 5 minutos.

### **Compressão**

Os comprimidos foram obtidos através da pesagem individual de 250 mg da mistura, transferidos diretamente para máquina de comprimir alternativa Korsch modelo EK 0. Como ferramentas de compressão foram utilizados punções com superfície plana e lisa, de diâmetro de 10 mm e respectiva matriz. O punção superior foi instrumentado com quatro fitas de alongamento modelo 3/120 LY 11 (HBM) para medida da força de compressão. Como ponte de frequência foi empregado amplificador HBM tipo K52 com dispositivo KWD 523D (HBM). Os dados foram apropriados em computador com auxílio do programa Messefix<sup>®</sup> v. 2.3 (Dr. R. Herzog, Tübingen, Alemanha).

### **Dureza**

A resistência radial dos comprimidos foi determinada utilizando durômetro Erweka modelo TBH-30. Os dados representam a média de seis determinações.

### **Tempo de desintegração**

A desintegração dos comprimidos foi analisada utilizando aparelho PharmTest modelo PTZ - 1, de acordo com o procedimento descrito na Farmacopéia Brasileira IV (1988), sem discos. O meio de desintegração foi água destilada, a 37 °C.

### **Friabilidade**

A friabilidade foi avaliada em friabilômetro tipo roche, a 25 r.p.m. Para tanto, 20 comprimidos foram pesados e, após 5 minutos de rotação, os finos foram removidos e o percentual de peso perdido calculado.

### **Desenho experimental e análise estatística**

Um desenho fatorial do tipo  $2^2$  sem replicações foi adicionado de cinco pontos centrais e quatro pontos axiais ou estrelas (figura 1), transformando-o num Desenho Composto Central (Myers, Montgomery, 1995).

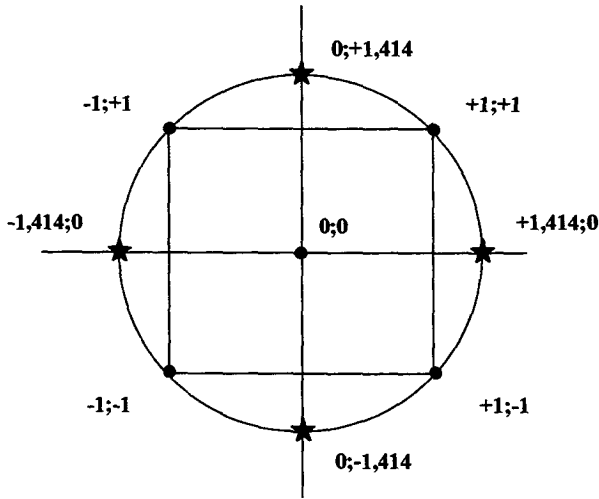


Figura 1. Representação esquemática do Desenho Composto Central

As variáveis independentes do desenho experimental foram a força de compressão e a velocidade da máquina comprimir. As variáveis dependentes foram a dureza, o tempo de desintegração e a friabilidade dos comprimidos obtidos. Para comparar o efeito das diferentes variáveis, os valores dos níveis do desenho experimental foram codificados (tabela 2).

Tabela 2. Matriz experimental do Desenho Composto Central com as variáveis naturais e codificadas

Experimento	Variáveis codificadas		Variáveis naturais	
	velocidade	força	velocidade (rpm)	força (kN)
1	-1	-1	20	5
2	-1	+1	20	15
3	+1	-1	30	5
4	+1	+1	30	15
5	0	0	25	10
6	0	0	25	10
7	0	0	25	10
8	0	0	25	10
9	0	0	25	10
10	- 1,414	0	17,93*	10
11	0	- 1,414	25	2,93*
12	+ 1,414	0	32,07*	10
13	0	+ 1,414	25	17,07*

\* Em virtude de limitação técnica, os valores dos pontos estrela foram arredondados.

Para determinar a relação entre as variáveis independentes e as variáveis dependentes, um modelo matemático de segunda ordem foi testado. A equação geral proposta é dada abaixo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1x + \beta_2y + \beta_{12}x.y + \beta_{11}(x)^2 + \beta_{22}(y)^2$$



onde: Y corresponde, segundo o caso, à resposta de dureza, tempo de desintegração ou friabilidade, e  $\beta_0 \dots \beta_{22}$  aos coeficientes da regressão.

A equação quadrática foi ajustada pelo método dos mínimos quadrados com auxílio do programa SigmaStat® versão 1.0 (Jandel Scientific) (Linden *et al.*, 2000). A validação do modelo foi realizada através de ANOVA com auxílio do programa Excel® 7.0 (Microsoft), respeitando os critérios propostos por Wherlé (1990) (tabela 3).

Tabela 3. Critérios adotados para validação dos modelos matemáticos (Wherlé, 1990)

ANOVA	$r^2$	Falta de ajuste	Validação
P < 0,05	$r^2 > 0,9$	-	sim
P < 0,05	$0,8 < r^2 < 0,9$	P > 0,05	sim
P < 0,05	$0,8 < r^2 < 0,9$	P < 0,05	não
P < 0,05	$r^2 < 0,8$	-	não
P < 0,05	-	-	não

Para obtenção das superfícies de respostas e dos gráficos de isorrespostas, foi utilizado o programa SigmaPlot® versão 4.0 (Jandel Scientific).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a dureza, tempo de desintegração e friabilidade do Desenho Composto Central encontram-se sumarizadas na tabela 4.

Tabela 4. Resultados para dureza, tempo de desintegração e friabilidade dos comprimidos obtidos

Experimento	velocidade (rpm)	força (kN)	dureza (N)	desintegração (min)	friabilidade (%, m/m)
1	20	5	59,8	20,83	1,17
2	20	15	209,0	34,18	0,12
3	30	5	57,2	20,28	1,61
4	30	15	209,4	26,77	0,10
5	25	10	148,2	28,83	0,26
6	25	10	155,0	25,80	0,32
7	25	10	157,2	29,32	0,27
8	25	10	159,4	28,00	0,26
9	25	10	159,0	27,7	0,36
10	18	10	163,6	28,82	0,20
11	25	3	22,0	16,25	5,65
12	32	10	152,2	24,50	0,20
13	25	17	230,6	29,67	0,13

## Dureza

Os dados de dureza (D) foram ajustados através de regressão linear empregando a equação geral. O modelo matemático que descreve o comportamento da variável estudada foi o seguinte:

$$D = -67,7375 + 1,184417V + 27,91165F + 0,030027VF - 0,03887(V)^2 - 0,68382(F)^2$$

onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores V e F.

A análise estatística para resposta de dureza estão contidos na tabela 5 (ANOVA) e na tabela 6 (teste-*t* para os coeficientes da equação). O coeficiente de regressão múltipla calculado  $r^2$  demonstrou que cerca de 99 % da variância experimental pode ser explicada pelo modelo de segunda ordem proposto ( $r^2 = 0,9951$ ). Em virtude da replicação do ponto central (cinco replicações), a soma dos quadrados total pôde ser particionada em dois outros componentes, soma dos quadrados do resíduo ou erro puro e soma dos quadrados da regressão ou falta de ajuste. O teste de falta de ajuste avalia a adequação do modelo matemático ao fenômeno em estudo. Com um resultado não significativo para estes testes, pode ser assumido que a variação está associada a erros aleatórios. Isto implica que o modelo quadrático testado foi adequado para explicar o comportamento de dureza dos comprimidos em função da força de compressão aplicada e da velocidade da máquina de comprimir.

Tabela 5. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento de dureza.

Fonte	SQ	gl	MQ	F <sub>calc</sub>	F <sub>tab</sub>
Regressão	46493,3	5	9298,66	278,13	3,97
Resíduo	234,0	7	33,43	-	-
Falta de ajuste	150,47	3	50,16	2,40	6,59
Erro puro	83,55	4	20,89	-	-
Total	46727,4	12	3893,95	-	-
r <sup>2</sup>	0,995	-	-	-	-

Tabela 6. Teste-t para os coeficientes do modelo quadrático que descreve o comportamento de dureza.

Termo	Coefficiente	Erro padrão	t
1	-67,74	63,71	1,063
Velocidade	1,184	4,614	0,257
Força	27,91	3,419	8,163*
Interação	0,03003	0,1156	0,259
(Velocidade) <sup>2</sup>	-0,03887	0,08896	0,437
(Força) <sup>2</sup>	-0,5998	0,08211	7,305*

\*significativo para p = 0,95

A tabela 6 mostra os resultados do teste-t para cada uma das variáveis analisadas. Apenas valores de t para os coeficientes da variável força de

compressão, tanto linear quanto quadrático, foram intensos o suficiente para demonstrar sua significância no modelo. Na faixa estudada, a variável velocidade da máquina de comprimir contribui apenas com peso insignificante.

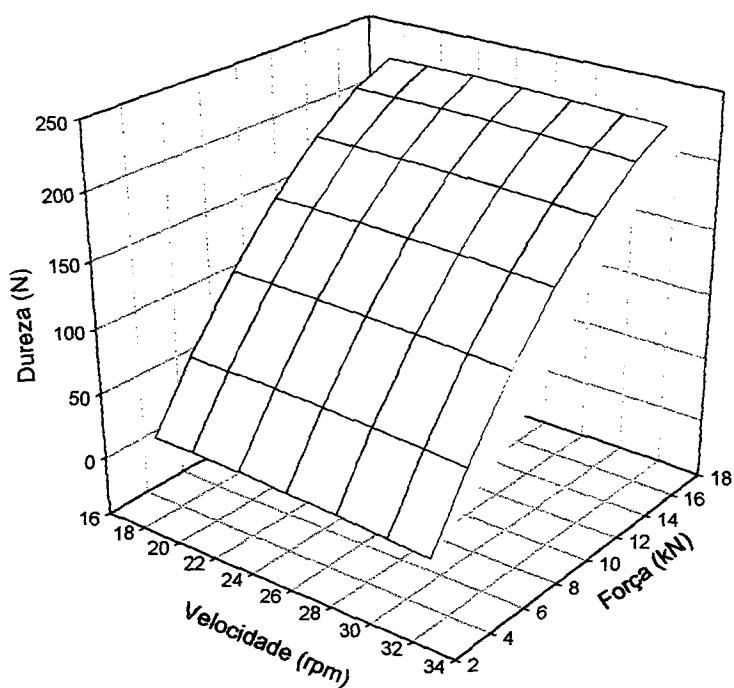


Figura 2. Superfície de resposta calculada para a dureza dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

A superfície de resposta estimada e a correspondente curva de isorrespostas apontam que a dureza dos comprimidos foi afetada apenas pela força de compressão (figura 2 e 3).

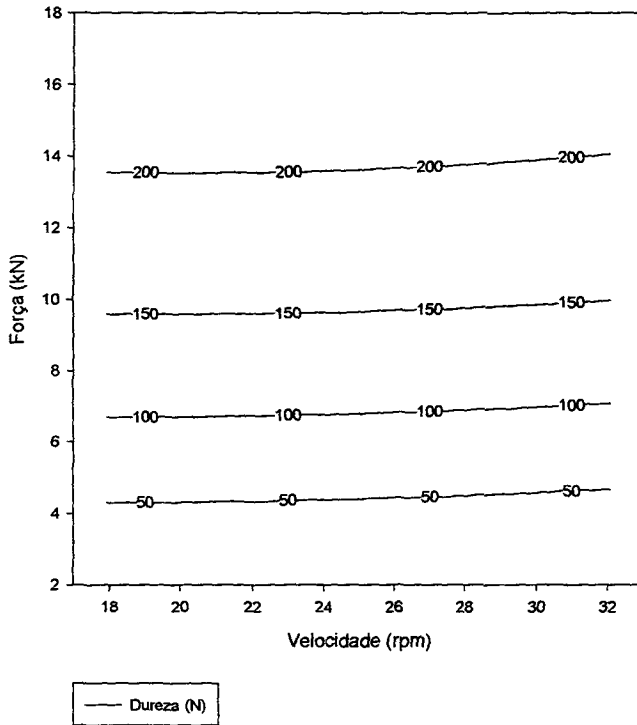


Figura 3. Curva de isorespostas calculada para a dureza dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

### Tempo de desintegração

O modelo matemático abaixo foi obtido do ajuste dos dados do tempo de desintegração (TD).

$$TD = -10,7027 + 1,23V + 4,56F - 0,0686VF + -0,018(V)^2 - 0,09346(F)^2$$

onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores

A análise estatística dos dados de tempo de desintegração encontram-se descritos na tabela 7 (ANOVA) e na tabela 8 (teste-*t* para os coeficientes da equação). De acordo com o coeficiente de regressão múltipla  $r^2$ , o modelo quadrático proposto foi capaz de explicar aproximadamente 97 % da variância experimental ( $r^2 = 0,972337$ ). O teste de falta de ajuste apresentou resultado estatisticamente não significativo. Assim pode-se aceitar que o modelo matemático proposto foi adequado para explicar o comportamento do tempo de desintegração dos comprimidos em função da força de compressão e da velocidade da máquina de comprimir. Desta forma, a variação observada entre os valores experimentais e os valores estimados através do modelos quadrático foi decorrente apenas de erros aleatórios.

Tabela 7. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento do tempo de desintegração

Fonte	SQ	gl	MQ	$F_{calc}$	$F_{tab}$
Regressão	262,03	5	52,41	40,84	3,97
Resíduo	8,98	7	1,28	-	-
Falta de ajuste	1,62	3	0,54	0,29	6,59
Erro puro	7,36	4	1,84	-	-
Total	270,76	12	22,56	-	-
$r^2$	0,9678	-	-	-	-

Tabela 8. Teste-*t* para os coeficientes do modelo quadrático que descreve o tempo de desintegração.

Termo	Coefficiente	Erro padrão	<i>t</i>
1	-10,7	12,5	0,859
Velocidade	1,23	0,902	1,363
Força	4,56	0,669	6,821*
Interação	-0,0686	0,0226	3,034*
(Velocidade) <sup>2</sup>	-0,0180	0,0174	1,032
(Força) <sup>2</sup>	-0,0935	0,0174	5,374*

\*significativo para  $p = 0,95$

De acordo com o teste-*t* para os coeficientes da equação (tabela 8), o tempo de desintegração foi influenciado principalmente pela força de compressão (componentes linear e quadrático, respectivamente), seguida da interação entre os fatores. Para a velocidade de compressão não foram observados termos significativos.

A superfície de resposta estimada e as curvas de isorrespostas demonstraram que o tempo de desintegração dos comprimidos foi primordialmente afetado pela força de compressão, seguida pela interação entre as variáveis estudadas (figuras 4 e 5).



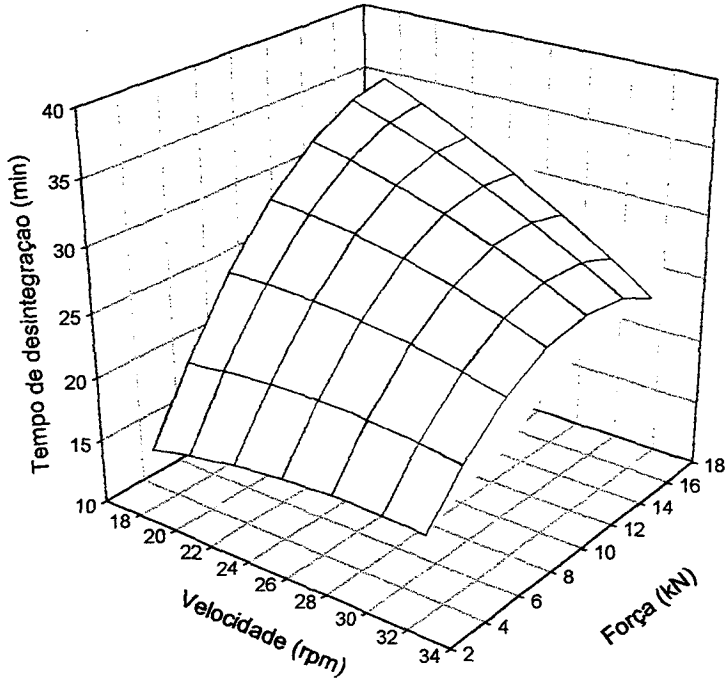


Figura 4. Superfície de resposta calculada para o tempo de desintegração dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

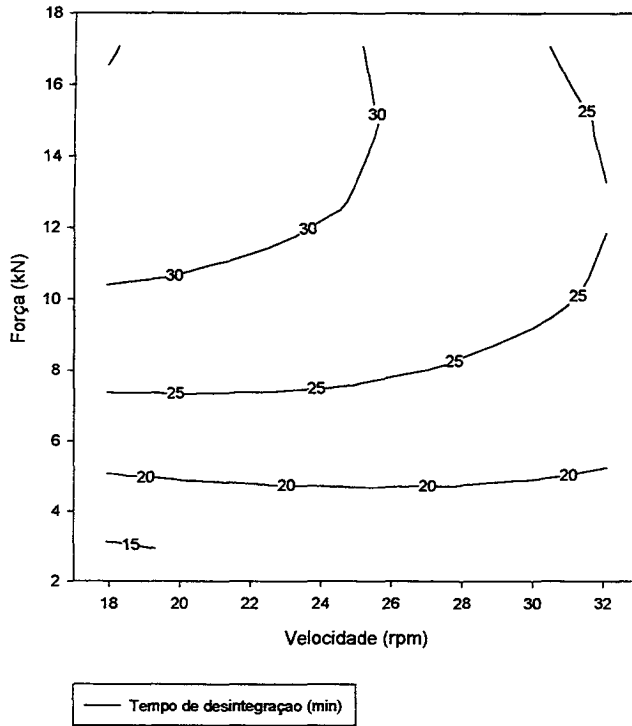


Figura 5. Curva de isorespostas calculada para o tempo de desintegração dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

### Friabilidade

A friabilidade dos comprimidos (F) foi descrita através da equação abaixo:

$$F = 0,2094 + 0,5191V - 1,058F - 0,0046VF - 0,00925(V)^2 + - 0,04565(F)^2$$

onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores V e F.

A análise estatística para os valores de friabilidade encontrados está representada na tabela 9 (ANOVA) e na tabela 10 (teste-*t* para os coeficientes da equação). De acordo com o coeficiente de correlação múltipla  $r^2$ , cerca de 85 % da variância experimental foi descrita pela equação proposta ( $r^2 = 0,8528$ ).

Tabela 9. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento de friabilidade.

Fonte	SQ	gl	MQ	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabelado</sub>
Regressão	22,86	5	4,57	6,60	3,97
Resíduo	4,85	7	0,69	-	-
Falta de ajuste	4,84	3	1,61	845,09	6,59
Erro puro	0,008	4	0,0019	-	-
Total	27,66	12	2,31	-	-
$r^2$	0,8528	-	-	-	-

Tabela 10. Teste-*t* para os coeficientes do modelo quadrático que descreve a friabilidade.

Termo	Coefficiente	Erro padrão	<i>t</i>
1	-0,5819	9,1790	-0,063
Velocidade	0,5776	0,6649	0,869
Força	-1,0340	0,4927	2,099*
Interação	-0,0046	0,0167	0,276
(Velocidade) <sup>2</sup>	-0,0104	0,0128	0,813
(Força) <sup>2</sup>	0,0445	0,0128	3,469*

\*significativo para  $p = 0,95$

O teste de falta de ajuste apresentou valor de F calculado significativo. Esta observação não satisfaz os parâmetros de validação preconizados pela literatura (Wherlé, 1990). De acordo com os resultados obtidos nos testes de validação do modelo matemático, foi possível concluir que a equação encontrada foi capaz de descrever satisfatoriamente os dados experimentais. Porém, a falta de ajuste revelou que o método de determinação da friabilidade apresenta uma variação intrínseca importante.

O teste-*t* para os coeficientes da equação, representado na tabela 10, demonstrou que a força de compressão foi o fator mais importante sobre a friabilidade dos comprimidos. De acordo com a importância estatística, o termo quadrático para a força de compressão foi o mais significativo, seguido pelo termo linear para o mesmo parâmetro. Para os demais termos não foi observada importância estatística.

A superfície de resposta estimada e a curva de isorrespostas demonstraram que a friabilidade satisfatória (inferior a 1 %) só foi alcançada quando empregada força de compressão superior a 8 kN (figuras 6 e 7).

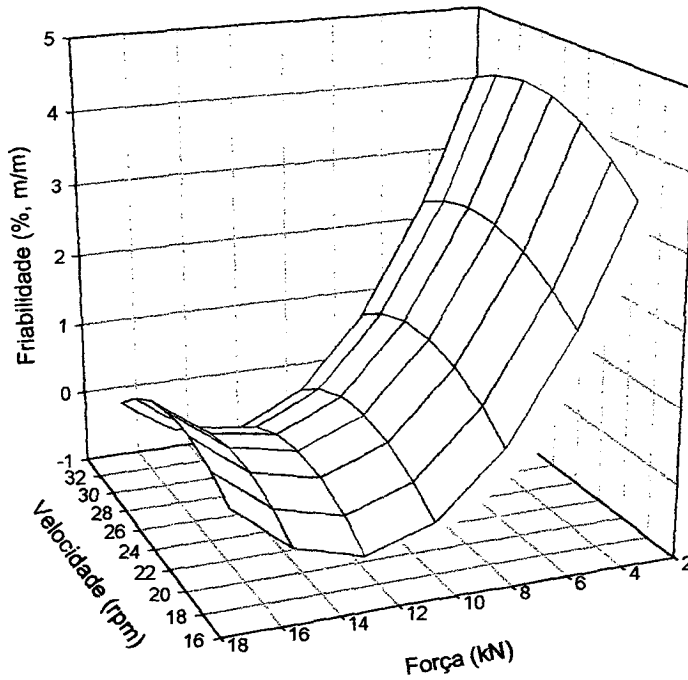


Figura 6. Superfície de resposta calculada para a friabilidade dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

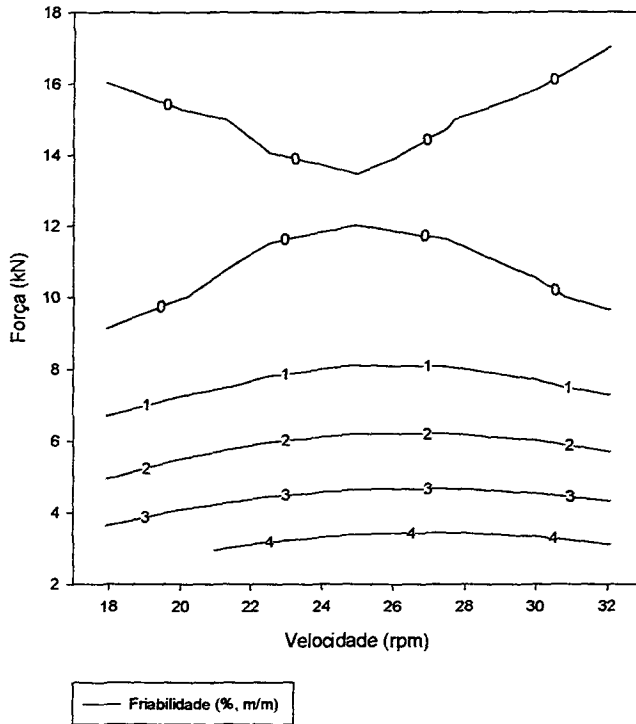


Figura 7. Curva de isorrespostas calculada para a friabilidade dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

## CONCLUSÕES

A força de compressão foi o fator que apresentou maior influência sobre as variáveis de resposta estudadas (dureza, tempo de desintegração e friabilidade).

Ao contrário do sugerido na literatura, o tempo de aplicação de força, inferido da velocidade de compressão, na faixa estudada (18 a 32 rpm), não apresentou

influência sobre as variáveis de resposta mais relacionadas com a resistência dos comprimidos (dureza e friabilidade). Aparentemente, o tempo de aplicação de força foi suficiente para formação de pontes capazes de manter a coesão dos comprimidos. Os resultados obtidos para friabilidade não permitiram a validação do modelo de segunda ordem. A falta de ajuste deste modelo se deve a variabilidade inerente ao experimento e ao aumento exacerbado dos valores de friabilidade em comprimidos obtidos com força de compressão reduzida. Porém, os dados permitem concluir que, empregando força de compressão superior a 8 kN, foi viável a obtenção de comprimidos com friabilidade satisfatória (inferior a 1 %, m/m). Juntamente com os resultados obtidos para a dureza, os resultados de friabilidade sugerem que o complexo farmacêutico analisado apresenta boa capacidade de coesão após aplicação de força.

O tempo de desintegração dos comprimidos foi influenciado por ambas as variáveis analisadas. Enquanto a força de compressão proporcionou aumento nos valores do tempo de desintegração, o aumento da velocidade de compressão, conseqüentemente a redução no tempo de aplicação de força, diminuiu significativamente o tempo de desintegração. Tal comportamento parece estar relacionado com o mecanismo de redução de volume do complexo farmacêutico durante a compressão. Assim comprimidos que foram submetidos à aplicação de força por menor tempo, apresentariam maior porosidade, e, portanto, a penetração de fluidos pode ter sido favorecida, explicando o fenômeno de redução do tempo de desintegração destes comprimidos.

## ABSTRACT

**Effect of compression force and tablet press speed on the properties of tablets containing high-dose of spray dried plant extracts.**

Tablets containing high-dose of spray-dried extracts from *Maytenus ilicifolia* were prepared by direct compression. Cellulose microcrystalline (filler/binder), colloidal silicon dioxide (glidant/moisture adsorbent) and magnesium stearate (lubricant) were used as excipients. The influence of compression force (3 to 17 kN) and machine speed (18 to 32 rpm) on the tablet properties (hardness, disintegration time and friability) were studied by a Central Composite Design. Compression force was the most influent factor. It increases the hardness and disintegration time, and decreases the friability of the tablets. The machine speed showed no effect on hardness and friability. However it influenced the disintegration time.

**Keywords:** *Maytenus ilicifolia*; Spray-Dried Extracts; Compression; Direct Compression, Central Composite Design; Phytopharmaceuticals; Phytomedicines.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao DAAD (Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico) pela concessão de bolsa de doutorado ao primeiro autor.



## REFERÊNCIAS

- DE PAULA, I.C., GONZÁLEZ ORTEGA, G., BASSANI, V.L., PETROVICK, P.R.  
Development of Ointment Formulations prepared with *Achyroclines satureioides*  
spray-dried Extracts. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* v.24(3), p.235-241, 1998.
- DE SOUZA, K.C.B., PETROVICK, P.R., BASSANI, V.L., GONZÁLEZ ORTEGA, G.  
The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P Influence on the Technological  
Characteristics of Spray-Dried Powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*.  
*Drug. Dev. Ind. Pharm.* v.26(3), p.331-336, 2000.
- DE SOUZA, T.P., BASSANI, V.L., GONZÁLEZ ORTEGA, G., DALLA COSTA,  
T.C.T., PETROVICK, P.R. Influence of Adjuvants on the Dissolution Profile of  
Tablets Containing High Doses of Spray-Dried Extract of *Maytenus ilicifolia*.  
*Pharmazie* v. 56(9), p. 730-733, 2001.
- GAUDY, D., PUECH, A., JACOB, M. Rôle de l'adjuvant dans l'optimisation de la  
production d'un extrait de Noix Vomique. *Pharm. Acta Helv.* v.66, p.5-10, 1991.
- GONZÁLEZ ORTEGA, G., SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo  
extractos atomizados de Flor de la Pasión (*Passiflora incarnata* L.). *Acta Farm.*  
*Bonaer.* v.14(3), p.173-180, 1995.
- LINDEN, R., GONZÁLEZ ORTEGA, G., PETROVICK, P.R., BASSANI, V.L.  
Response Surface Analysis Applied to the Preparation of Tablets Containing a  
High Concentration of Vegetables Spray-Dried Extract. *Drug Dev. Ind. Pharm.*  
v.26(4), p.441-446, 2000.
- LIST, P.H., SCHMIDT, P.C. *Phytopharmaceutical Technology*. Boca Raton: CRC,  
1989.

- MYERS, H.R., MONTGOMERY, D.C. *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. New York: John Wiley, 1995.
- PALMA, S.D., MANZO, R.H., ALLEMANDI, D.A. Dry Plant Extract Loaded on Fumed Silica for Direct Compression: Preparation and Preformulation. *Pharm. Dev. Tech.* v.4(4), p.523-530, 1999.
- PETROVICK, P.R., CARLINI, E.L. Antiulcerogenic Preparation from *Maytenus ilicifolia* and Obtaintion Process. BR PATENT PI 994502, mar.6,1999, *Revista INPI*, n. 1558 nov. 14, 2000.
- ROBERTS, R.J., ROWE, R.C. The Effect of Punch Velocity on the Compaction of a Variety of Materials. *J. Pharm. Pharmacol.* v.37, p.377-384, 1985.
- ROCKSLOH, K., RAPP, F.R., ABU ABED, S., MÜLLER, W., REHER, M., GAUGLITZ G., SCHMIDT, P.C. Optimization of Crushing Strength and Disintegration Time of a High-Dose Plant Extract Tablet by Neural Network. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v.25(9), p.1015-1025, 1999.
- WHERLÉ, P. *Aspects des analyses multifactoriales des plans d'expériences appliqués a l'optimisation et à la validation de formes et de procédés galéniques*. Paris: Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, 1990. 367 p. Tese.

**DRY GRANULATION AND COMPRESSION OF SPRAY-DRIED PLANT EXTRACTS.**

L.A.L. Soares<sup>1</sup>, G. González Ortega<sup>1</sup>, P.R.P. Petrovick<sup>1\*</sup>, P.C. Schmidt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFRGS, Av. Ipiranga  
2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>2</sup> Department of Pharmaceutical Technology, University of Tübingen, Auf der  
Morgenstelle 8, D – 72076, Tübingen, Germany

---

Artigo em preparação para ser submetido ao International Journal of Pharmaceutics

## Abstract

Spray dried extracts (SDE) from *Maytenus ilicifolia* were compacted to produce granules after slugging and roller compaction. The granulation parameters were kept constant and no differences were observed between particle size distribution of the granules. Each granule batch was compressed at different compression force levels and their crushing strengths were determined. The results showed a reduction in the crushing strength after recompression for all granules tested. The compressional behavior of SDE, as well of each granule batch were evaluated using the Heckel equation. SDE undergoes plastic deformation with a very low rearrangement tendency at early stage of compression. The granules showed an intensive fragmentation and rebound behavior. However, increasing compaction pressure, the granules undergoes plastic deformation. The mean yield pressure values showed that the granulation technique, as well the roller compaction force, reduced the material ability to undergo plastic deformation. These findings explain why the crushing strength of compacts from the pure granules decreases after recompression. Tablets containing high dose of each granules were produced. The tablet hardness and disintegration time were directly affected by both granule mechanical characteristics and manufacturing technology.

**Keywords:** Dry granulation; Slugging; Roller compaction; Spray dried extracts; Heckel analysis;

## **1. Introduction**

Direct compression of powders requires constituents exhibiting high flowability and compressibility. Such parameters became more critical when the formulation contains a large amounts of active substances with inadequate compressional properties. Spray dried extracts from medicinal plants are often used as active component in solid dosage forms due their better stability, however they are very fine, light and poorly compressible powders (Palma et al., 1998; De Souza et al., 2000; Linden et al., 2000). Additionally, many constituents are sensible to moisture and heat. To overcome such problems, granulation is indicated to enhance particle size and consequently to improve flowability and compressibility of such powders. Dry granulation is recommend for unstable compounds. It can be achieved either by slugging, using a tablet press, or by roller compaction. The desired particle size distribution can be adjusted by milling and sieving (Miller, 1997; Schlieout et al., 2000). The mechanical (i.e. compressional) properties of the granules should influence the subsequent tableting behavior and tablet characteristics (Sinko, 1997; Inghelbrecht and Remon, 1998; Murray et al., 1998; Airaksinen et al., 2000).

Heckel analysis has been widely used to evaluate material volume reduction upon an applied pressure (Heckel, 1961a,b). It assumed that the densification of the powder column follows a first order kinetics. Thus, the degree of material densification is related to its porosity. Although the literature relates some limitations to Heckel model (Rue and Rees, 1978; Roberts and Rowe, 1985), it has been often applied to evaluate powder mixtures (Duberg and Nyström, 1986; Ilkka and Paronen, 1993; Mitrevej et al., 1996), as well to study granule manufacture (Kochhar et al., 1995; Bozkir et al., 1997; Horisawa et al., 2000).

The aim of the present paper was to evaluate the physical and mechanical properties of granules constituted by high amount of a spray dried extract from *Maytenus ilicifolia*, prepared by slugging and roller compaction. The compressional behavior of the spray dried extract and granules were evaluated using the Heckel equation.

## 2. Material and Methods

### 2.1 Spray-Dried Extract (SDE)

The SDE from *Maytenus ilicifolia* was prepared according to a previous described methodology (Petrovick and Carlini, 1999).

### 2.2 Excipients

Avicel® PH 101 (FMC), Ac-Di-Sol® (FMC), Aerosil® 200 (Degussa), and magnesium stearate (Bärlocher), were used as received.

### 2.2 Pharmaceutical complex (PC)

The SDE from *M. ilicifolia* was blended in a Turbula mixer (type T2C, Willy Bachofen) for 5 minutes, with 1.5 % of Aerosil 200® and 2.8 % of magnesium stearate. Both excipients were previously sieved through a 315 µm sieve.

### *2.3 Slugging*

Slugs of 0.8 g from the PC were produced on a single punch tablet press EK 0 (Korsch) at a compression force of  $22.0 \pm 1.0$  kN using circular flat faced tooling of 17 mm in diameter. The upper punch was instrumented with four strain gauges to measure the compression force. As carrier-frequency bridge was used a Holtinger Baldwing Messtechnik amplifier (type K52 with A/D converter KWD 523D). The compressional data were analyzed using a Messefix<sup>®</sup> v. 2.3 software (Dr. R. Herzog, Tübingen, Germany).

### *2.4 Roller compaction*

The powder compacts were prepared using a roller compactor (GMP-Mini-Pactor<sup>®</sup>, Gerteis) at 5 (RC5), 10 (RC10) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15), with gap size of 1 mm (automatically adjusted).

### *2.5 Milling*

The milling conditions were kept constant for all compacts. A dry granulator (Erweka TG IIS coupled to an Erweka AR 400 multiuse motor) was used to obtain granules with a particle size below 2.00 mm. The crushed material was processed through an oscillating granulator (Erweka FGS coupled to an Erweka AR 400 multiuse motor) until all product was passed through a 1.0 mm sieve. The granule fraction between 250 and 1000  $\mu\text{m}$  was selected.

## *2.6 Particle size analysis*

The particle size distribution of 50 g of each granule was determined by sieve analysis on a sieve-shaker (Retak 3D, Retsch) using 250, 355, 500, 630, 710 and 900  $\mu\text{m}$  sieves. The cumulative size frequency was calculated and the mean particle size was estimated using a RRSB-Net (DIN 66145, 1997).

## *2.7 Scanning Electron Microscopy*

The photomicrographs from each granule were taken with a Philips XL20 mod. PW 6620/00 scanning electron microscope.

## *2.8 Bulk and tapped density [Hausner's ratio and Carr's compressional index]*

The density parameters were determined using 10.0 g of each material in a 50 ml graduated cylinder ( $n = 3$ ) (tapping device: J. Engelsmann) (Ph. Eur., 1997). The values were used for the calculation of Hausner's ratio (Hausner, 1967) and Carr's compressional index (Carr, 1965).

## *2.9 Flowability*

The flow properties of the sample were evaluated by the dynamic flow determination. The equipment used according to the European Pharmacopoeia consisted of a stainless steel funnel 110 mm in diameter, interface mouth of 30 mm in diameter and a wall angle of 40°. It was coupled to a discharge funnel with outflow



orifice of 10 mm in diameter and a wall angle of 40° (Guyot et al., 1995). The system also includes a support to the funnels with electronic outflow trigger and an analytical balance connected to a personal computer. Data was acquired by the MQbal<sup>®</sup> software (Microquímica). Each analysis was performed three times with 10.0 g of each sample.

### *2.10 Recompression of the granules*

0.200 g of SDE and each granule were recompressed at compression forces between 8 and 40 kN on a single punch tablet press EK0 (Korsch) using circular flat faced tooling of 10 mm diameter ( $n = 6$ ). Their crushing strengths were determined 24 h after production using a hardness tester (type TBH30, Erweka).

### *2.11 Density*

The density of the sample was measured with an air comparison pycnometer (model 930, Beckmann Instruments).

### *2.12 Evaluation of the granules recompressibility - Heckel analysis*

0.400 g of SDE and each granule were compressed at 120 MPa with an eccentric tablet press Korsch EK II using circular flat faced tooling of 10 mm in diameter by introducing preweighed material manually into the die. The upper punch holder was instrumented with a full Wheatstone bridge circuit of strain gauges to measure the compression force. An incremental displacement transducer (type MT

2571, Heidenhain) was used to determine the upper punch displacement. The compressional data were acquired by a MGC Plus system (Holting Baldwin Messtechnik) equipped with a ML10 B voltage amplifier module (Holting Baldwin Messtechnik) to measure the compressional force, and with two ML 60 B counter modules (Holting Baldwin Messtechnik) to record the signals from the incremental displacement transducer. A CATMAN® v. 3.0 software (Holting Baldwin Messtechnik) was used to store and evaluate the compressional data.

The compressional behavior of the samples was evaluated using the Heckel equation (1) (Heckel, 1961):

$$\ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = KP + A \quad (1)$$

Where  $D$  is the relative density of the compact at pressure  $P$ ,  $K$  the slope, and  $A$  is the intercept of the straight line obtained by linear regression from the Heckel plot. The relative densities  $D_A$  and  $D_0$  were respectively calculated from the equations:

$$D_A = 1 - e^{-A} \quad (2)$$

$$D_0 = 1 - e^{-A_0} \quad (3)$$

where  $A_0$  represents the intercept from the line at  $P = 0$ . The difference between  $D_A$  and  $D_0$  represents the extent of particle rearrangement ( $D_B$ ). For each sample 10 compressional cycles were performed.

### *2.13 Tablet preparation*

Tablets of 200 mg containing high dose of the granulated plant extracts were prepared. The ingredient proportions were keep constant. The granule (72.23 %), Avicel PH 101 (22.27 %) and Ac-Di-Sol (5.0 %) were mixed for 10 minutes in a Turbula mixer, then Aerosil 200 sieved through a 315  $\mu\text{m}$  sieve was added, and the final mixing was carried out for additional 5 minutes. The mixture was compressed on a single punch tablet press Korsch EK 0, using flat faced tooling of 10 mm in diameter. Each batch was compressed at different compression force levels between 8 and 22 kN.

The crushing strength was determined using 10 tablets from each test sample with a hardness tester (type TBH30, Erweka). The tablet disintegration time was measured according to the European Pharmacopoeia method without disks (type PTZ - 1, Pharmatest). Water at 37° C was used as a test medium. Six tablets from each batch were tested

## **3. Results and Discussion**

The granule size distribution is showed in figure 1. The roller compression force and granulation type tested in this work showed a little effect on particle size distributions of the granules. The mean particle size of the granules didn't differ significantly. Granules prepared by roller compaction had mean particle sizes of 700  $\mu\text{m}$  (RC5), 701  $\mu\text{m}$  (RC10) and 693  $\mu\text{m}$  (RC15), while granules prepared by slugging (slug) showed mean particle size of 713  $\mu\text{m}$ .

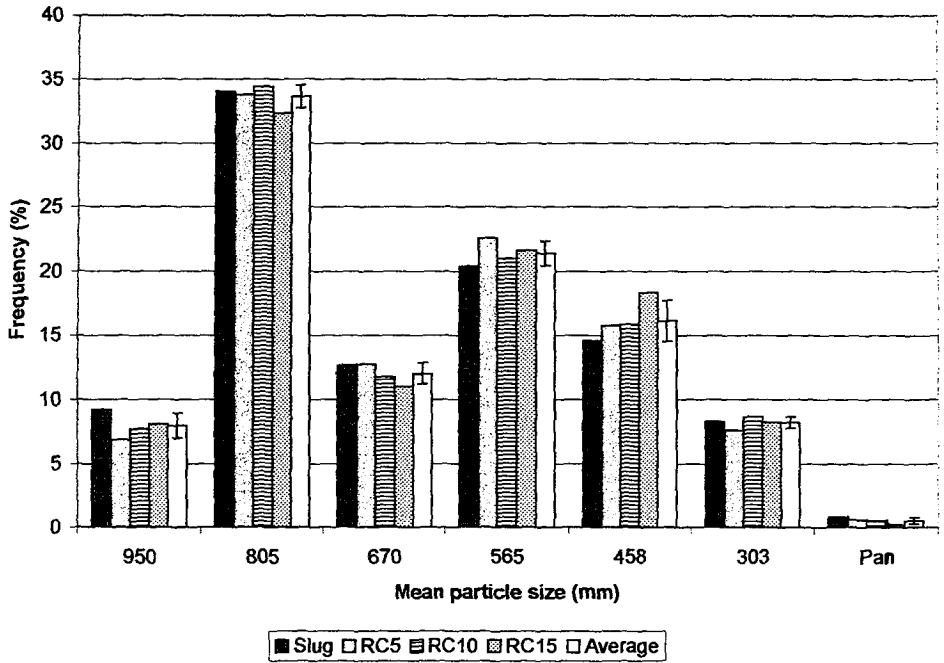


Figure 1. Particle size distribution of the granules. Slugged granulate (slug), roller compacted granulate at 5 (RC5), 10 (RC10) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15).

The morphology of the granules manufactured by slugging and by roller compaction at different compaction force levels were observed using electronic microscope (figures 2 to 5). Slug and RC5 granules have a coarse surface, due to the abundant amount of intact SDE particles (figures 2 and 3).

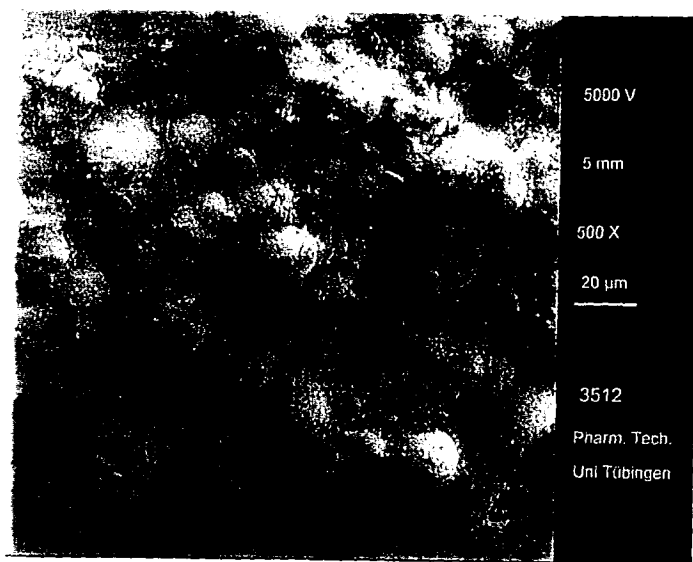
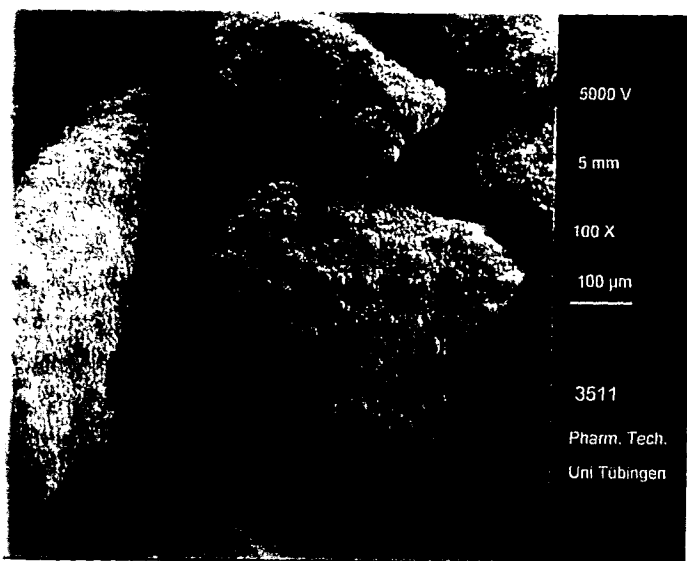


Figure 2. Scanning electron photomicrographs of slugged granules.

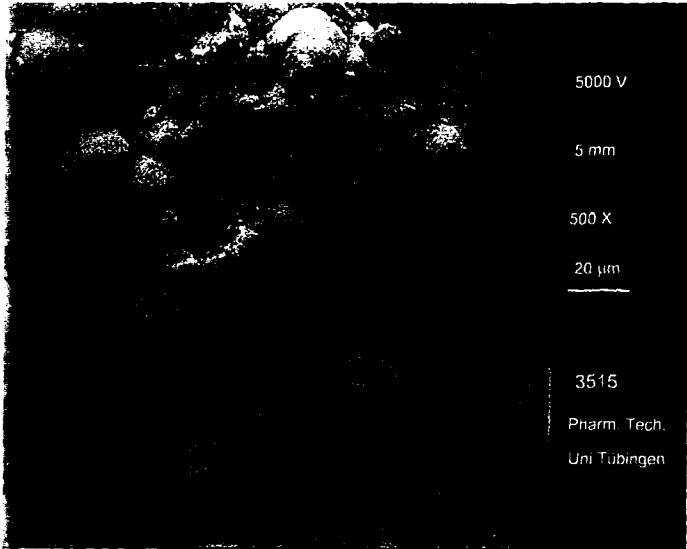
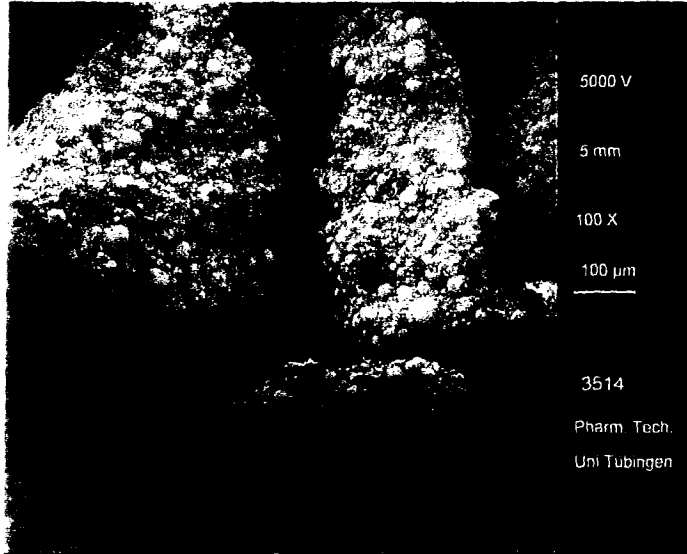


Figure 3. Scanning electron photomicrographs of roller compacted granules at 5 kN/cm<sup>2</sup>.

Granules RC10 and RC15 appeared to be denser and showed a more smooth surface than the others, resultant of higher densification of the pharmaceutical complex due to the roller compaction force (figures 4 and 5).

The physical properties of the SDE, pharmaceutical complex and granules are summarized in table 1. The granulation improved the technological properties of the SDE and pharmaceutical complex. The granules produced by roller compaction presented a slight increase in their bulk and tapped densities with increasing roller compression force (table 1).

Table 1. Physical properties of spray dried extract (SDE), pharmaceutical complex (PC), slugged granules (slug), and roller compacted granulates at 5 (RC5), 10 (RC10) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15).

Sample	Bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	Tapped density (g/cm <sup>3</sup> )	Hausner's ratio	Carr's index (%)
SDE	0.632	0.830	1.315	23.94
PC	0.500	0.690	1.375	27.50
Slug	0.659	0.706	1.071	6.59
RC5	0.645	0.714	1.107	9.68
RC10	0.690	0.741	1.074	6.90
RC15	0.741	0.800	1.080	7.41

The Hausner's ratio and Carr's index indicated higher compactability to the granules than to pharmaceutical complex or SDE. No differences were observed for these characteristics between the granule batches although the dependence of those parameters from particles shape and size.

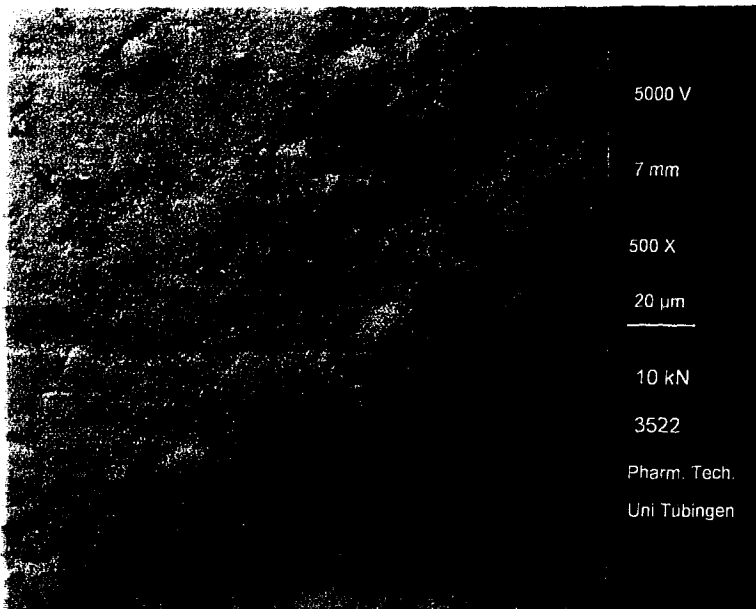
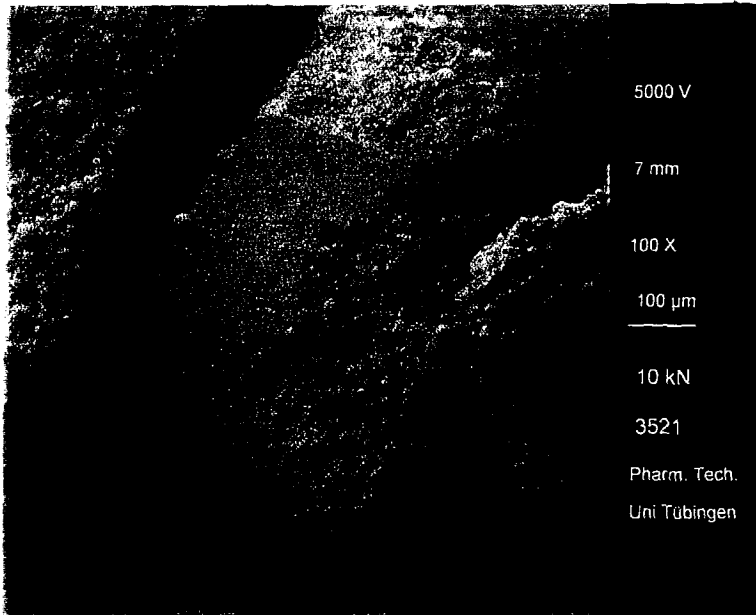


Figure 4. Scanning electron photomicrographs of roller compacted granules at 10 kN/cm<sup>2</sup>.



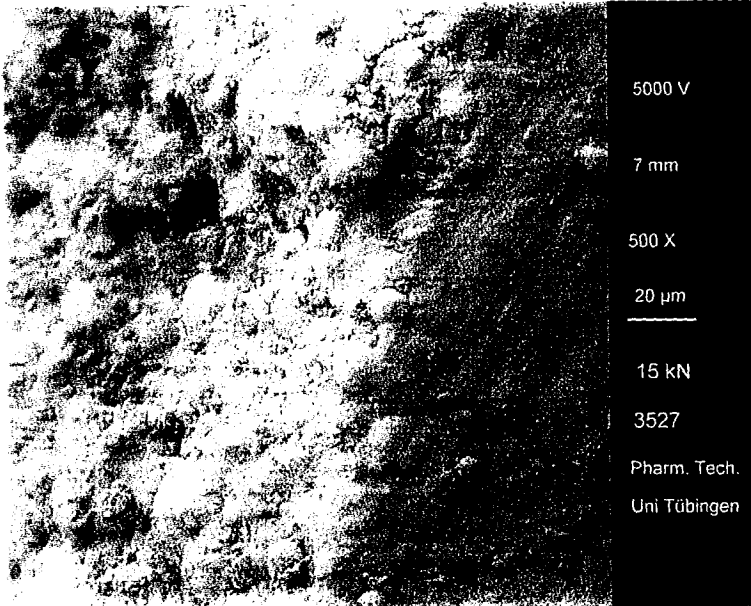
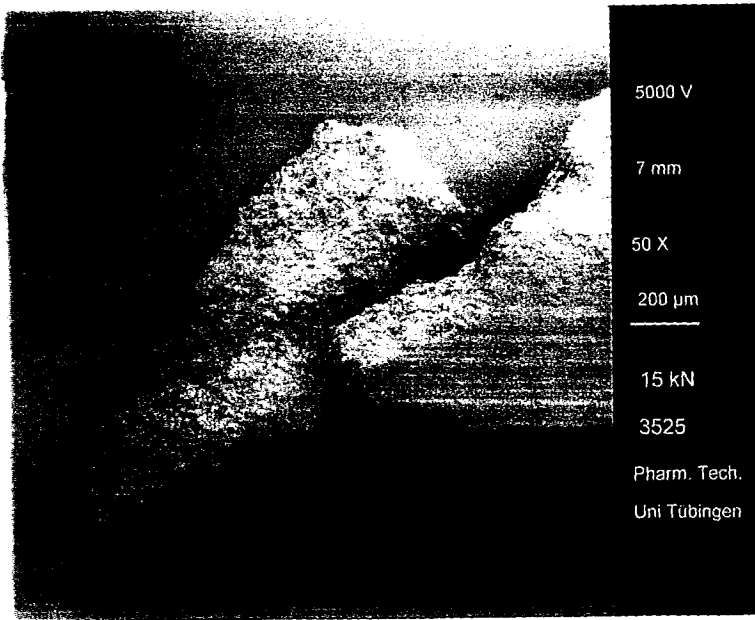


Figure 5. Scanning electron photomicrographs of roller compacted granules at 15 kN/cm<sup>2</sup>.

The flow behavior of the granules measured dynamically is showed in figure 6. Concerning the shape of the curves no differences were observed. The curves could be divided in two phases. Initially, the granules presented a higher mass flow which, probably, due to outflow valve opening. The second phase was characterized by slower flow velocities and corresponded to the most part of the sample mass.

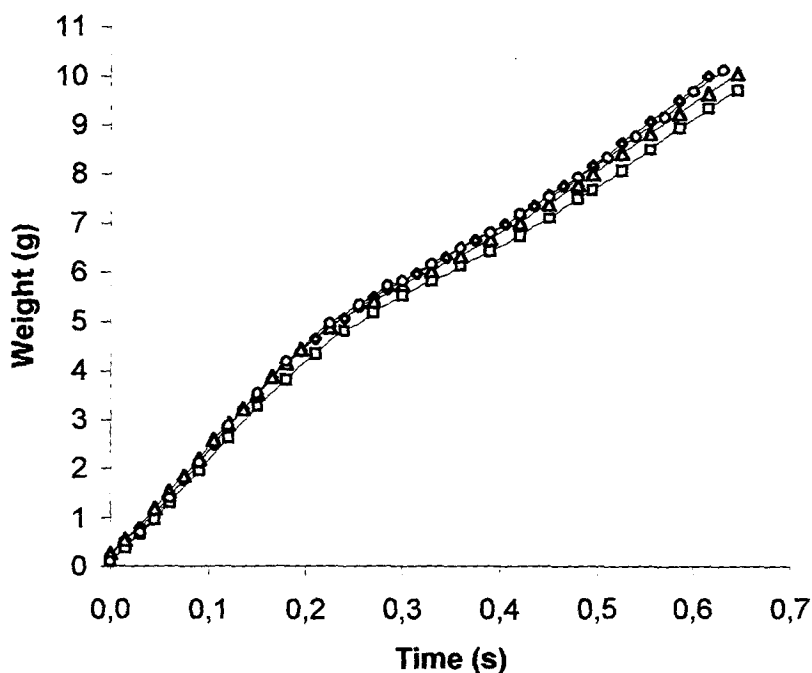


Figure 6. Flow profiles of the granules. Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

The flow velocities calculated by linear regression of both behavior phases are summarized in table 2.

Table 2. Flow data of the granules. Slugged granules (slug), and roller compacted granulates at 5 (RC5), 10 (RC10) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15).

Sample	Phase 1 (g/s ± sd)	r <sup>2</sup>	Phase 2 (g/s ± sd)	r <sup>2</sup>	Final flow (g/s)
<b>Slug</b>	22.411 (0.286)	0.9985	12.762 (0.336)	0.9970	16.26
<b>RC5</b>	20.642 (0.274)	0.9980	12.195 (0.228)	0.9956	15.50
<b>RC10</b>	22.157 (0.708)	0.9992	12.188 (0.404)	0.9966	15.50
<b>RCC15</b>	23.166 (0.613)	0.9978	12.398 (0.364)	0.9956	15.87

At the first phase a slight enhancement on the flow velocities was detected as a function of the roller compaction force increase, as a consequence of the gravity force action in the initial moving of the granules. Furthermore, the granules showed similar mean particle size and particle size distribution. Thus, denser granules showed tendency to moving faster.

The second phase showed slower velocities to all tested granules. At this phase, the particles movement was mainly conducted by interparticular interactions (i.e. friction). Due to the granules shape and size distribution similarities, no differences on the flow velocity in this phase were detected. The granules could be classified as free flowing materials according to Guyot et al. (1995), due to their total flow velocities higher than 10 g/s.

When the granules were recompactated, a decrease in the crushing strength of the obtained compacts was observed (figure 7). This reduction was similar within granules prepared by slugging and roller compaction at 5 and 10 kN/cm<sup>2</sup>, and more pronounced for granules obtained by roller compaction at 15 kN/cm<sup>2</sup>. The crushing strength data suggest that the increase of the compaction force (i.e. densification degree) during the granulation step, reduces the strength of the compacts. This reduction can be attributed to a decrease of material potential to undergo plastic deformation, which was dissipated during the previously work (granulation process). Thus, the re-working of the granules improved their resistance to deformation upon recompression, and higher compression force was necessary to obtain the same crushing strength of the initial pharmaceutical complex. These behavior was previously observed for sodium chloride (Rees and Rue, 1978), and more recently demonstrated for excipient mixtures (Kochhar et al., 1995).

The maximal granules crushing strengths were achieved when they were recompactated at 25 kN. Higher compression forces reveled a capping tendency during the crushing test.

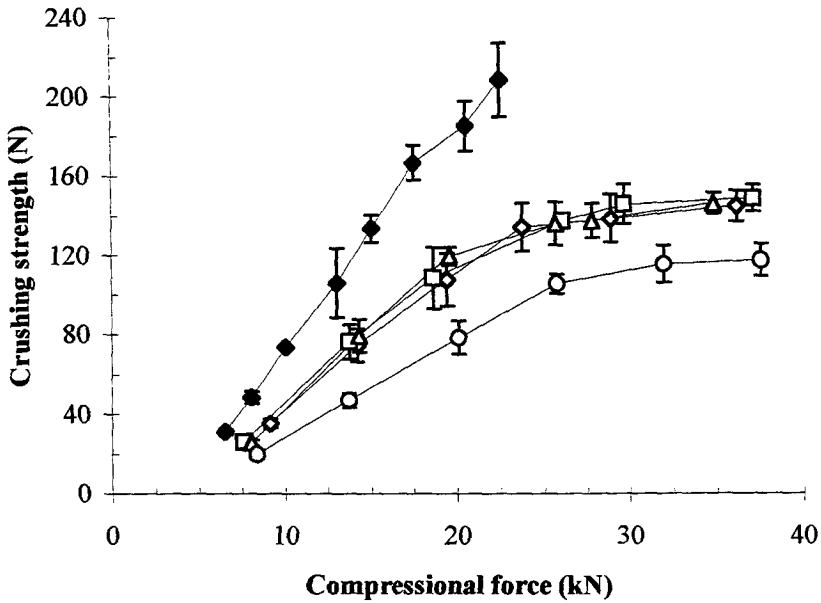


Figure 7. Crushing strength of recompactated granules at different compressional forces compared with the pharmaceutical complex (◆). Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

The Heckel plots for SDE, pharmaceutical complex (PC) and granules (figure 8), showed no linearity at the early stages of compression. It occurs due to particle rearrangement and fragmentation of large aggregates under low pressure (Ilkka and Paronen, 1993). With increasing compression force, the curves presented a linear range which could be attributed to a plastic deformation. At this region, Heckel parameters were calculated (table 3).

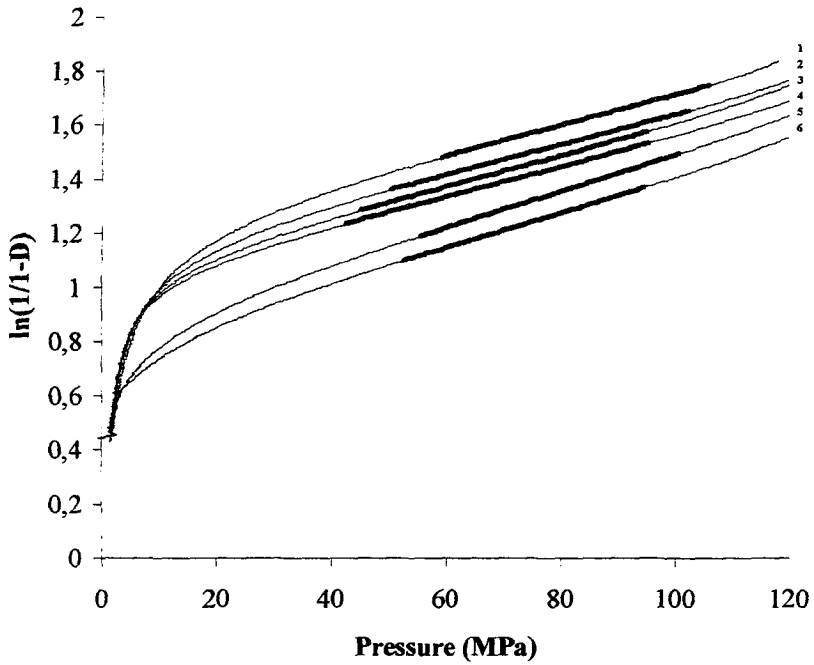


Figure 8. Heckel plots for spray dried extract (6), pharmaceutical complex (5), slugged granules (3), and roller compacted granulates at 5 (4), 10 (2) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (1). The linear portion of the compression phase is shown by dark gray lines.

Table 3. Heckel parameters calculated from the linear portion of the Heckel plots. Spray dried extract (SDE), pharmaceutical complex (PC), slugged granules (slug), roller compacted granules at 5 (RC5), 10 (RC10) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15).

Sample	K	A	Py (MPa)	Db	Density at pressure (g/cm <sup>3</sup> )	r <sup>2</sup>
<b>SDE</b>	0.0063	0.7567	158.52	0.083	1.356	0.9999
SD	0.0002	0.0062	5.94	-	0.002	0.00001
RSD %	3.74	0.82	3.75	-	0.11	0.001
<b>PC</b>	0.0068	0.8138	146.04	0.113	1.361	0.9999
SD	0.0001	0.0035	2.20	-	0.001	0.00002
RSD %	1.52	0.43	1.51	-	0.10	0.002
<b>Slug</b>	0.0057	1.0290	174.58	0.269	1.387	0.9999
SD	0.0001	0.0042	2.29	-	0.001	0.00001
RSD %	1.31	0.41	1.31	-	0.07	0.001
<b>CR5</b>	0.0057	0.9955	175.14	0.259	1.388	0.9999
SD	0.0001	0.0051	1.68	-	0.001	0.00001
RSD %	0.95	0.52	0.96	-	0.10	0.001
<b>CR10</b>	0.0056	1.0794	178.18	0.290	1.392	0.9999
SD	0.0000	0.0036	1.31	-	0.001	0.00002
RSD %	0.73	0.33	0.74	-	0.07	0.002
<b>CR15</b>	0.0058	1.1382	173.25	0.310	1.388	0.9999
SD	0.0001	0.0053	1.79	-	0.001	0.00001
RSD %	1.04	0.46	1.03	-	0.07	0.001

The Heckel parameters agree with the properties of the granules described by bulk and tapped densities. While  $K$ ,  $A$  and  $P_y$  values were very similar for both slug and RC5 granules, the more dense granules (RC10 and RC15) showed a tendency to increase the values of  $A$  (density in the die) and  $P_y$  (mean yield pressure).

The extent of particle rearrangement ( $D_B$ ) calculated from Heckel analysis depends of particle surface, size and shape, and represents the particle arrangement at early compression stages (Kochhar et al., 1995).  $D_B$  results from compression force action to overcome particle interactions (i.e. friction and cohesion) before particle slippage and/or arrangement. For SDE low  $D_B$  value was observed. Due to dominant spherical shape, small particle size (22.4  $\mu\text{m}$ ) and no aggregated structure, the SDE particle didn't undergo extensive particle rearrangement. The further arrangement may be due to fragmentation of individual particles followed by plastic deformation as principal mechanism. The presence of magnesium stearate in the pharmaceutical complex formulation caused a slight increase on  $D_B$ . Due to the high amount of magnesium stearate (2.8 %), the small increase observed from  $D_B$  of the pharmaceutical complex denoted the weak dependence of SDE from particles slippage at early stage of compression. However at high pressure the lubricant was effective and improve the densification of the powder bed. The granules showed the highest value of  $D_B$ . This implies that the granules undergone a more extensive particles rearrangement compared to the pharmaceutical complex. At low pressure the large granules are fractured into small one which facilitated the further rearrangement. With increasing compression pressure, the granules undergone plastic deformation.

The plastic deformation as principal mechanism is also suggested by the relative high  $P_y$  values. With exception of RC15, the results of  $P_y$  reflected a



reduction of the granule ability to undergo plastic deformation. For RC15 the work-hardening during granulation stage seems to be so high that it could be totally deformed. As observed by crushing strength test, granulation of SDE by roller compaction was more satisfactory between 5 and 10 kN/cm<sup>2</sup>. At these compression force levels, the working potential of the granules was enough for further re-working during the recompression. Using roller compaction force higher than 10 kN/cm<sup>2</sup>, the amount of deformation that the SDE is subject produces granules with low ability to a second compression.

The hardness results of tablets containing high dose of produced granules are shown in figure 9.

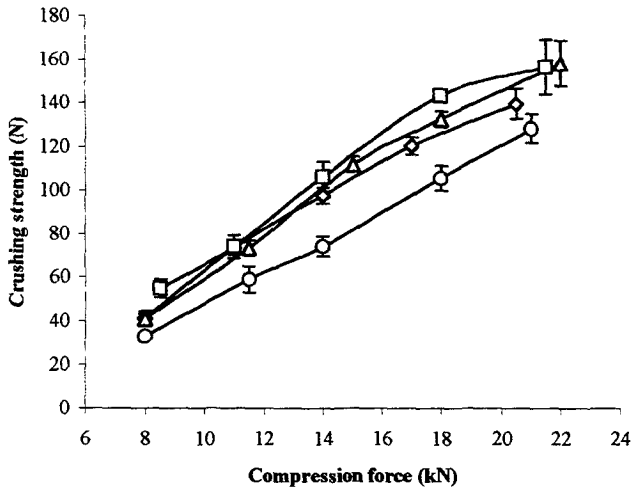


Figure 9. Tablets hardness. Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

The tablets hardness showed a linear dependence of compression force. Similar behavior between hardness profiles were observed for tablets contain slug,

RC5 and RC10 granules. For RC15 granules a reduction in tablets hardness was detected. As was observed previously for granules recompression data, the hardness results also suggest that the amount of material deformation during granules production increased the resistant to further deformation during tablet manufacturing. However, microcrystalline cellulose contained in the tablet blend enhanced its plastic potential, increasing the tablet hardness upon compression force when compared to recompactated granules.

Figure 10 shows the correlation between tablet hardness and crushing strength of recompactated granules.

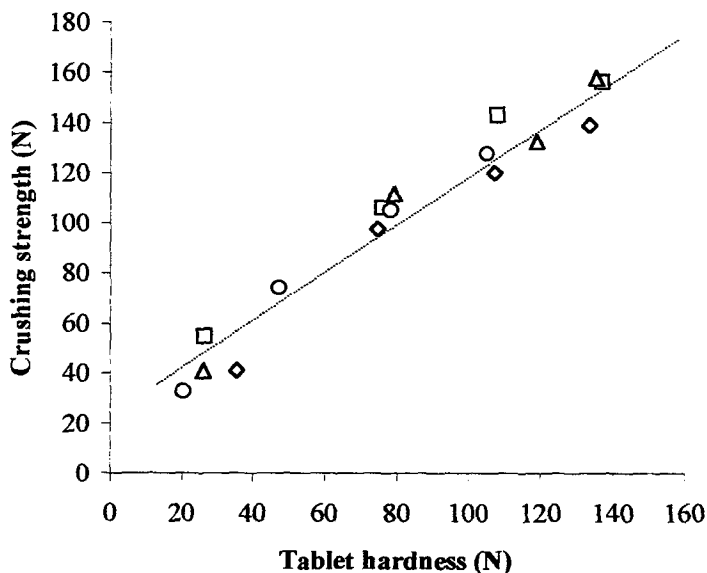


Figure 10. Relationship between tablet hardness and crushing strength of recompactated granules. Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

The results showed in figure 10 confirm that the final tablets hardness profiles were directly influenced by mechanical properties of the granules. Although the presence of tablet excipients, their concentrations weren't enough to modify the compressional behavior of the blends, which presented a similar behavior to recompact granules.

The results of tablet disintegration time are represented in Figure 11. The highest disintegration times were observed for tablets containing roller compacted granules. They were more sensible to compression force and showed a maximal disintegration time of 11 minutes. Roller compacted granules at 15 kN/cm<sup>2</sup> (RC15) presented a later enhancement in disintegration time. It occurred because this granulate needed higher compaction force to undergo similar deformation. However, at a compression force of 14 kN disintegration time of RC15 tablets was similar to other tablets containing roller compacted granulates. For tablets containing slugged granules was observed a linear dependence of disintegration time and compression force. Likewise to tablets containing roller compacted granules, tablets contained slugged granules showed maximal disintegration time at a compression force of 14 kN. For compression forces higher than 14 kN no variation of tablet disintegration time was observed.

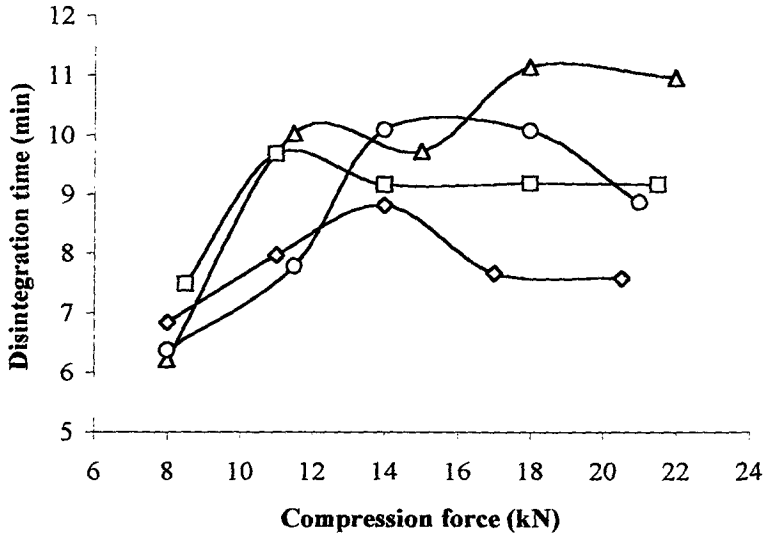


Figure 11. Disintegration time profiles for tablets containing high dose of granules. Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

Figure 12 represents the relationship between disintegration time and hardness for tablets containing the granules.

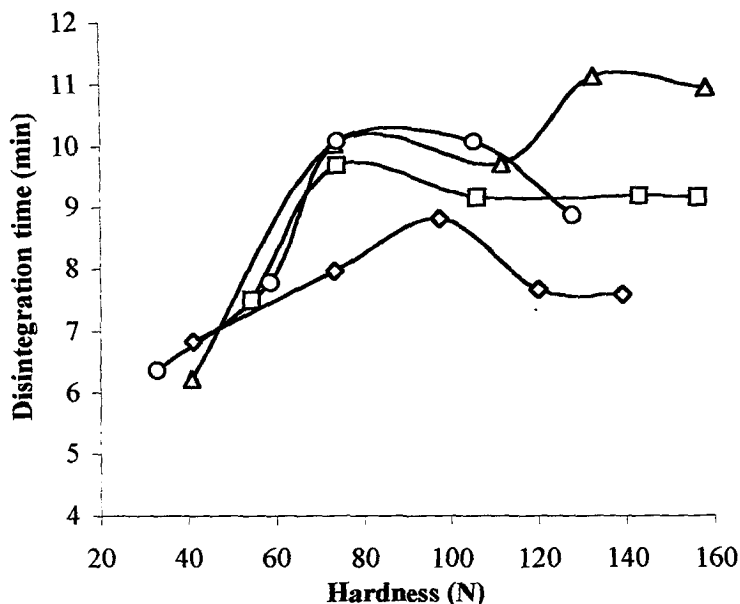


Figure 12. Relationship between disintegration time and hardness of tablets containing high dose of granules. Slugged granules (◇), roller compacted granules at 5 (□), 10 (△) and 15 kN/cm<sup>2</sup> (○).

For all tablets, the disintegration time increasing was proportional to the hardness. However, two trends could be detected. The first one suggests that the granulation technique (roller compaction or slugging) has a important influence on the tablet disintegration time. Thus, tablets containing roller compacted granules showed a faster increase of disintegration time with relative low hardness, while the disintegration time of tablets containing slugged granules were less sensible of their hardness. The second trend indicates that an enhancement in the tablet disintegration time was observed when the roller compaction force increased.

#### 4. Conclusions

The granulation of vegetable dried extracts demonstrated to be able to improve the compressibility of those extracts, especially by direct compression. For extracts from *Maytenus ilicifolia* either slugging or roller compaction could be used in the granulation process, however the roller compaction was faster and more cost-effective. The use of same granulation conditions (i.e. milling conditions) gave granules with similar particle size distribution independent of roller compaction force or granulation method. The volume reduction mechanisms of the samples could be described by Heckel equation. SDE was least sensible to undergo rearrangement upon compaction, however showed plastic deformation with increasing pressure. Fragmentation at early stage followed by plastic deformation characterized the compression behavior of the granules. The roller compaction force increased the mean yield pressure of the granule, improving the material's resistance to undergo deformation. Thus, a reduction in the crushing strength of recompacted granules as function of roller compaction force was observed. The higher the densification during the granulation process the lower the crushing strength of the compacts. A direct correlation between the crushing strength of recompacted granules and the hardness of tablets containing those granules was detected. However, the relationship between disintegration time and hardness of those tablets revealed a distinct behavior for each tablet batch. These results demonstrated that the tablet characteristics such as hardness and disintegration time, were direct dependent of granules mechanical properties and manufacturing technique. Thus the evaluation of individual granule properties such as densities, compressional behavior or recompressibility, and, manufacturing parameters such as manufacturing technology

(i.e. slugging or roller compaction), or compaction force, can be used to predict the characteristics of the final tablets containing high dose of those granulates.

### **Acknowledgements**

Gerteis Maschinen + Processengineering AG (Jona, Switzerland);

Dr. R.F. Lammens, Bayer AG, Leverkusen;

This work was supported by CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil) and DAAD (German Academic Exchange Service)

### **References**

Airaksinen, S., Antikainen, O., Rantanen, J., Yliruusi, J., 2000. Advanced testing of granules friability determined from size distribution data. *Pharm. Ind.*, 62(12) 999-1002.

Bozkir, A., Özdemir, N., Özyurt, C., Baykara, T., 1997. Kinetic evaluation of the mechanical strength of briquette granules. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 23(6), 589-594.

Carr, R.L., 1965. Evaluating flow properties of solids. *Chem. Engineer.*, 72 (2), 163-168.

De Souza, K.C.B., Petrovick, P.R., Bassani, V.L., González Ortega, G., 2000. The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics

of spray-dried powder from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. Drug. Dev. Ind. Pharm., 26(3), 331-336.

DIN 66145, 1997. *Darstellung von Korn-(teilchen-)größenverteilungen - RRSB-Netz*. In: DIN-Taschenbuch 133 - Particlemeßtechnik Normen. 3. Auf. Beuth, Berlin.

Dressler, J.A., Wagner, K.G., Wahl, M.A., Schmidt, P.C., 2001. Comparison of incremental and inductive displacement transducers on an eccentric tablet press. Pharm. Ind., 53(8) 886-893.

Duberg, M., Nyström, C., 1986. Studies on direct compression of tablets XVII. Porosity pressure curves for the characterization of volume reduction mechanisms in powder compression. Powder Technol., 46, 67-75.

Guyot, J.C., Arnaud, P., Becourt, P., Cassiere, J.P., Chulia, D., Duchêne, D., Ferrand, D., Gouaihardou, J., Langlois, C., Lequien, C., Malfroid, F., Purcelot, Y., Renoux, R., Sergot, S. Toure, P., 1995 . Commentaires relatifs aux méthodes générales d'analyse des formes orales solides récemment introduites dans les pharmacopées française et européenne. Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma Pratiques, 5 (6), 482-494.

Hausner, H.H., 1967. Friction conditions in a mass of metal powder. Int. J. Powder Metall., 3, 7-13.



Heckel, R.W., 1961a. Density-pressure relationship in powder compaction. *Trans. Metal. Sci. AIME*, 221, 671-675.

Heckel, R.W., 1961b. An analysis of powder compaction phenomena. *Trans. Metal. Sci. AIME*, 221, 1001-1008.

Horisawa, E., Danjo, K., Sunada, H., 2000. Influence of granulating method on physical and mechanical properties, compression behavior and compactibility of lactose and microcrystalline cellulose granules. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26(6) 583-593.

Ilkka, J., Paronen, P., 1993. Prediction of the compression behavior of powder mixtures by the Heckel equation. *Int. J. Pharm.*, 94, 181-187.

Kochhar, S.K., Rubinstein, M.H.; Barnes, D., 1995. The effects of slugging and recompression on pharmaceutical excipients. *Int. J. Pharm.*, 115, 35-43.

Linden, R., González Ortega, G., Petrovick, P.R., Bassani, V.L., 2000. Response surface analysis applied to the preparation of tablets containing a high concentration of vegetable spray-dried extract. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26(4), 441-446.

Mitrevej, A., Faroongsamg, D., Sinchaipanid, N., 1996. Compression behavior of spray dried starch. *Int. J. Pharm.*, 140, 61-68.

Miller, R.W., 1997. Roller compaction technology. In: D.M. Parikh, Ed., *Handbook of pharmaceutical granulation technology*, Marcel Dekker, New York.

Murray, M., Laohavichien, A., Habib, W., Skar, A., 1998. Effects of process variables on roller compacted ibuprofen tablets. *Pharm. Ind.*, 60 (3), 257-262.

Palma, S.D., Manzo, R.H., Allemandi, D.A., 1999. Dry plant extracts loaded on fumed silica for direct compression: preparation and preformulation. *Pharm. Dev. Technol.*, 4(4), 523-530.

Petrovick, P.R., Carlini, E. Antiulcerogenic preparation from *Maytenus ilicifolia* and obtaintion process. BR PATENT PI 994502, 6 March 1999.

Rees, J.E., Rue, P.J., 1978. Time-dependent deformation of some direct compression excipient. *J. Pharm. Pharmacol.*, 30, 601-607.

Roberts, R.J., Rowe, R.C., 1985. The effect of punch velocity on the compaction of variety of materials. *J. Pharm. Phamacol.*, 37, 377-384.

Rue, P.J.; Rees, J.E., 1978. Limitations of the Heckel relation for predicting powder compaction mechanisms. *J. Pharm. Pharmacol.*, 30, 642-643.

Shlieout, G.; Lammens, R.F., Kleinebudde, P., 2000. Dry granulation with a roller compactor. Part I: The functional units and operation modes. *Pharm. Technol. Europe*, (Nov) 24-35.

Sinko, C.M., 1997. Granulation characterization. In: D.M. Parikh, Ed., Handbook of pharmaceutical granulation technology, Marcel Dekker, New York, NY.

## **Optimization of Compression of Granulate Containing a Spray Dried Plant Extract**

L.A.L. Soares<sup>1</sup>, G. González Ortega<sup>1</sup>, P.C. Schmidt<sup>2</sup>, P.R. Petrovick<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>2</sup> Department of Pharmaceutical Technology, University of Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, D – 72076, Tübingen, Germany

\* Correspondence

---

Artigo em preparação para ser submetido a STP Pharma Sciences

Tablets containing high dose of granulated spray dried extract from *Maytenus ilicifolia* were prepared by using microcrystalline cellulose as filler/binder, colloidal silicon dioxide (CSD) as glidant and moisture adsorber, and cross-linked carboxymethylcellulose (CMC-Na) as disintegrant. The influences of CSD and CMC-Na on hardness, disintegration time and tablet friability were investigated by a Central Composite Design. The experimental data were analyzed by regression analysis, validated, and the response surfaces were generated using a quadratic model. The results indicated that the concentration of CSD reduced the tablet mechanical resistance, increasing the friability and decreasing the hardness, and CMC-Na was the mainly responsible for shortening the disintegration time. Best conditions for both studied responses were obtained with 1.2 % of CSD e 5.0 % of CMC-Na, with hardness of 107.9 N, friability of 0.56 % (w/w) and disintegration time of 6.8 min.

*Keywords: Optimization - Granulate - Spray-dried extracts - Tablets - Maytenus ilicifolia -Central Composite Design.*

The development and production of tablets containing high dose of active substances represents a well known complex and extensive technological effort. It is more critical when the active substance shows poor flowability and compressibility. Dried plant extracts are often used as therapeutically active material for manufacture of tablets. They could be constituted by very fine, poorly compressible and very hygroscopic particles. Additionally tablets containing high amount of dried extracts show difficulty to disintegrate and, therefore the release of the active constituents is affected (1). Some alternatives have been proposed to minimize these problems. The granulation seems to be the most appropriated technique to improved the technological properties of such products. However, due their high hygroscopicity, they can not be granulated with aqueous mixtures. Thus, dry granulation is the recommended technique to produce granules from plants dried extracts (2).

Experimental design is a widely used tool for the systematic and effective evaluation of differences between formulations (3, 4). The Central Composite Design (CCD) is the most employed second-order design to study and optimize this kind of challenge (5-7). With CCD, it is possible to build response surfaces, which allow the ranking of each variable influence according to its significance on the studied responses. Thus, it may possible the predict the formulation composition to reach the desired response within a reduced time and experiments (8-12).

The aim of this study was to evaluated the concentration of CMC-Na and CSD on the hardness, disintegration time and friability of tablets containing high dose of granules constituted mainly of spray dried plant extract, using a Central Compose Design approach.

## I MATERIALS AND METHODS

### 1. MATERIALS

#### 1.1 Spray dried extract (SDE)

The SDE from *Maytenus ilicifolia* was prepared according an early described methodology (13)

#### 1.2 Excipients

Avicel PH 101<sup>®</sup> (FMC Corp., Lehmannn and Voss, Germany), Ac-Di-Sol<sup>®</sup> (FMC Corp., Lehmannn and Voss, Germany), Aerosil 200<sup>®</sup> (Degussa, Germany), and magnesium stearate (Bärlöcher, Germany), were used without further treatments.

### 2. METHODS

#### 2.1 Compaction and Granulation

The SDE from *Maytenus ilicifolia* (97.2 %) was blended in a Turbula mixer (type T2C, Willy Bachofen, Switzerland) for 5 minutes, with Aerosil 200<sup>®</sup> (1.4 %) and magnesium stearate (1.4 %). Slugs of 0.8 g were produced at a compression force of  $22.0 \pm 1.0$  kN using flat faced tooling of 17 mm in diameter on a single punch tablet

press EK 0 (Korsch, Germany). The upper punch was instrumented with four strain gauges (Holtinger Baldwin, Germany) to measure the compression force. As carrier-frequency bridge was used a Holtinger Baldwin amplifier (type K52 with A/D converter KWD 523D, Germany). The compression data were acquired and processed using the Messesfix® v. 2.3 software (Dr. R. Herzog, Tübingen, Germany).

The slugs were crushed in a dry granulator (Erweka TG IIS coupled to a Erweka AR 400 multipurpose motor, Germany) to obtain granules with a particle size below 2.00 mm. Then the material was processed through an oscillating granulator (Erweka FGS coupled to a Erweka AR 400 multipurpose motor, Germany) until all product passed through a 1.0 mm sieve. The granule fraction between 250 e 1000 µm was selected for tablet optimization.

## **2.2 Experimental design and calculations**

The independent variables for the Central Composite Design (CCD) were the concentration of CSD and CMC-Na. The dependent variables (responses) were tablet hardness, disintegration time and friability. To compare the effect of the different variables, their values were normalized (Table I). A second-order model was established for the responses (Equation 1), and it was adjusted by last-square method using SigmaStat® V 1.0 (Jandel Scientific, USA). The validation of the mathematical model was performed through analysis of variance, multiple-correlation coefficients, and estimation of the lack of fit using Excel® 97 (Microsoft, USA) (5, 6, 8).

$$\text{Equation 1: } Y = \beta_0 + \beta_1.X_1 + \beta_2.X_2 + \beta_{12}.X_1.X_2 + \beta_{11}.(X_1)^2 + \beta_{22}.(X_2)^2 \quad (1)$$



where Y is the response (hardness, disintegration time or tablet friability), and  $\beta_0 \dots \beta_{22}$  are the regression coefficients.

Table I. Central Composite Design matrix.

Exp.	Aerosil (Coded)	Ac-Di-Sol (Coded)	Aerosil (%, w/w)	Ac-Di-Sol (%, w/w)
1	-1	-1	0.5	2.5
2	+1	-1	1.9	2.5
3	-1	+1	0.5	7.5
4	+1	+1	1.9	7.5
5	0	0	1.2	5
6	0	0	1.2	5
7	0	0	1.2	5
8	+ 1.414	0	2.19	5
9	- 1.414	0	0.21	5
10	0	+ 1.414	1.2	8.54
11	0	- 1.414	1.2	1.46

Tablets were prepared from each formulation described in Table I. The granule proportion was kept constant at 71.23 %. The CMC-Na and CSD amounts according to Table I and MCC in concentration sufficient 100 %. The different formulations were blended for 10 min in the Turbula mixer. Then CSD, was sieved through a 315  $\mu\text{m}$  sieve onto the mix, and the final mix was carried out for 5 min.

250.0 mg from each formulation were weighted ( $n = 40$ ) and compressed at  $11.0 \pm 0.5$  kN on a single punch tablet machine EK 0 using flat faced tooling of 10 mm in diameter.

### **2.3 Hardness**

The tablet hardness was measured using an Erweka apparatus type TBH-30. The data given represented the means of the determinations of randomly select 6 tablets.

### **2.4 Disintegration time**

Disintegration time was measured according to the European Pharmacopoeia method without disks (type PTZ - 1, Pharmatest, Germany). Water at 37° C was used as a test medium. For each formulation 6 tablets, randomly selected, were tested.

### **2.5 Friability**

Tablet friability was measured with a Roche apparatus: 20 tablets were weighted and after 5 min rotation and the removal of dust, the percentage of weight loss was calculated.

## II RESULTS AND DISCUSSION

The evaluation of the concentrations from CMC-Na and CSD (independent variables) on the hardness, disintegration time and tablet friability (dependent variables) containing granules from plant spray dried extracts, was performed by a Central Composite Design. The results for hardness, disintegration time and tablet friability are shown in Table II.

Table II. Experimental data for tablet hardness, disintegration time and friability.

Exp.	Hardness (N)	Disintegration time (min)	Friability (%,w/w)
1	124.0	9.60	0.47
2	97.7	7.20	0.58
3	115.2	6.68	0.52
4	96.7	6.10	0.61
5	108.2	6.38	0.54
6	110.3	7.37	0.57
7	105.2	6.73	0.56
8	106.0	6.33	0.58
9	126.8	8.13	0.52
10	101.7	5.75	0.58
11	107.0	10.05	0.52

The experimental data from Table II were used to generate appropriated second order models for each dependent variable. A resume of the regression analysis appears in Table III.

Table III. Resume of regression results for measured responses.

Variables	Hardness (N)		Disintegration time (min)		Friability (% w/w)	
	value	t-test	value	t-test	value	t-test
$\beta_0$	107.9	58.42*	6.827	25.02*	0.557	46.20*
$\beta_1$	-9.278	8.20*	-0.691	4.13*	0.036	4.83*
$\beta_2$	-2.162	1.91	-1.263	7.56*	0.021	2.79*
$\beta_{12}$	1.95	1.21	0.455	1.93	-0.005	0.48
$\beta_{11}$	3.757	2.79*	0.159	0.80	-0.0046	0.52
$\beta_{22}$	-2.27	1.68	0.492	2.48*	-0.0046	0.52
$r^2$	0.9425	-	0.9446	-	0.9902	-

\*Significant for  $p = 0.95$

The results of the validation tests for mathematical models are shown in Table IV.

Table IV. Statistical evaluation applied to analyze the quadratic models. The table shows F values to the dependents variables.

Error Source	Hardness	Disintegration	Friability
Regression	17.25*	16.88*	5.69*
Lack of fit	1.42	0.62	1.59

\*Significant for  $p = 0.95$  ( $F_{0.95(5,5)} = 5.05$ )

The proposed mathematical models showed good multiple correlation coefficients ( $r^2$ ). For both tablet hardness and disintegration time quadratic models, the calculated multiple correlation coefficients indicated that more than 94 % of the experimental variance could be explained by the proposed equations, while for tablet friability more than 99 % of the experimental behavior was described by the model. The calculated F-ratios of the regressions were significant when compared to the theoretical value (Table IV). As the lack-of-fit tests were non significant, the experimental variations could be attributed only to a randomized error. Thus, the fitted models provide an adequate approximation to the true values and no violation of the model assumptions occurred (12).

Concerning the tablet hardness, the most important effect was attributed to terms related to CSD. The terms related to CMC-Na and interaction between factors had minor importance. According to the *t*-test (Table III), the linear term of CSD was the main factor and had a negative effect (hardness decrease). It was followed by CSD quadratic term. The contribution of the second order term was interpreted as presence of curvature in order to describe the studied phenomena and represented the nature of the response surface system (maximum, minimum or saddle system) (12). Thus, the positive signal observed to CSD quadratic term revealed the concave form of the curve. The response surface and respective contour plot indicated that the response was inversely proportional to the CSD concentration. The increase of the CMC-Na concentration had statistically no effect on the tablet resistance. The maximal hardness was obtained for tablets containing lower concentration of CSD (figures 1 and 2).

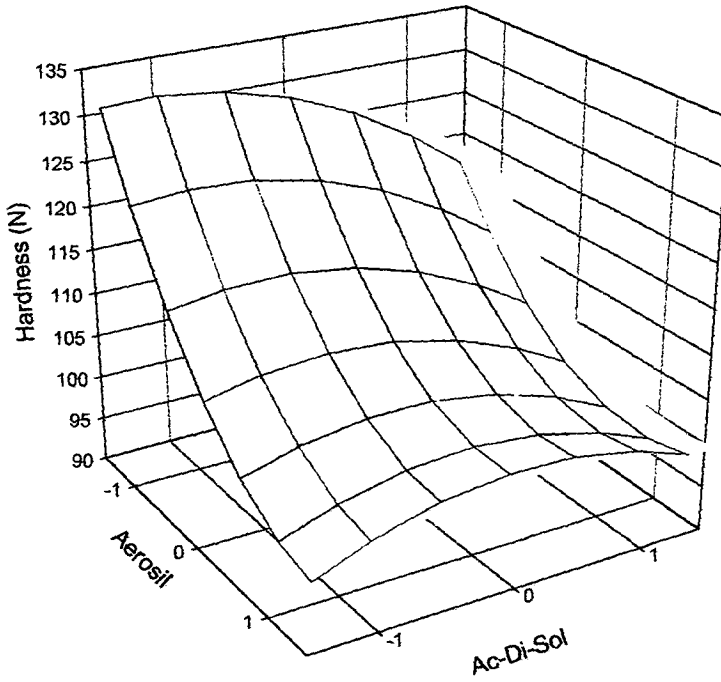


Figure 1. Response surface calculated to the tablet hardness.

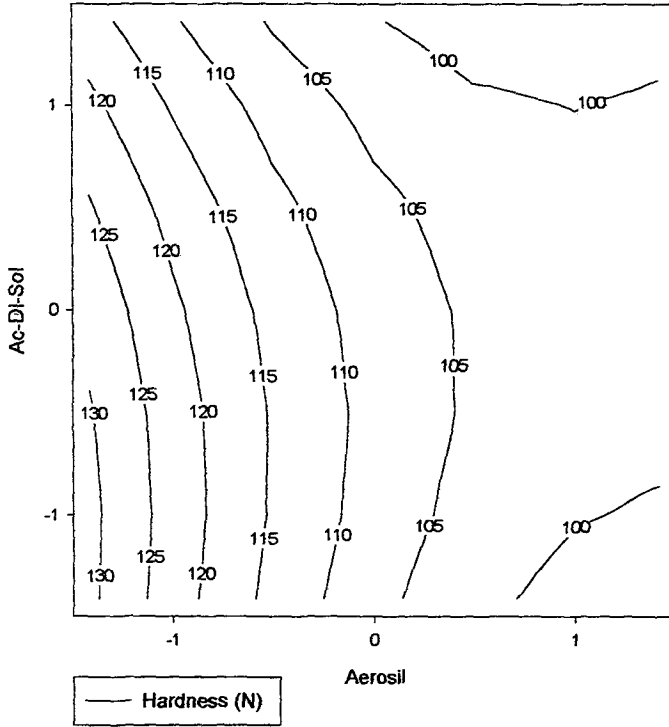


Figure 2. Contour-plot graphic calculated to the tablet hardness.

The response of tablet friability was only statistically affected by linear terms (Table III). According to *t*-test sequence, the CSD linear term was the main factor, followed by CMC-Na linear term, while the other terms had no significant influence. The concentration of CSD and CMC-Na was directly proportional to the tablet friability. However, all formulations showed tablets with satisfactory friability independent of the tested variables. The surface response demonstrated that lower friability was obtained when lower proportions of CMC-Na and CSA were used (Figures 3 and 4).

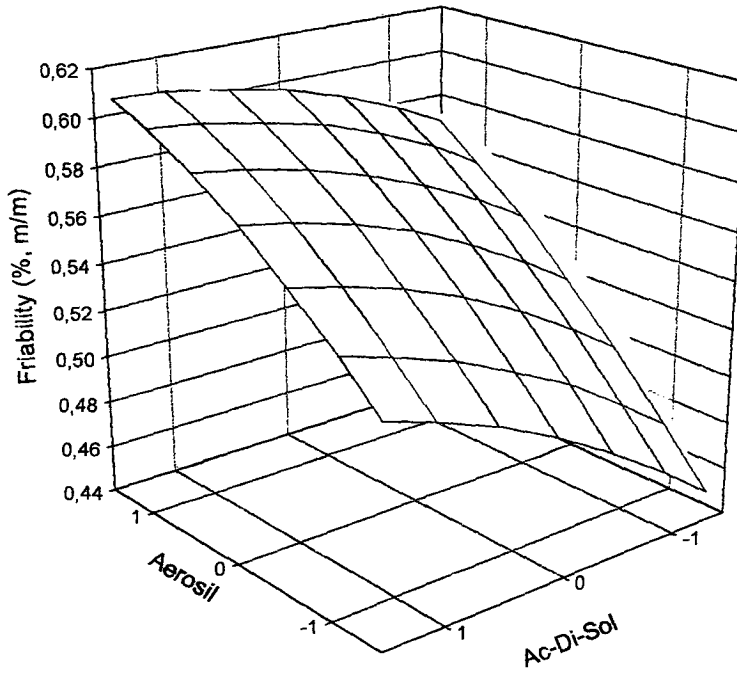


Figure 3. Response surface calculated to tablet friability.



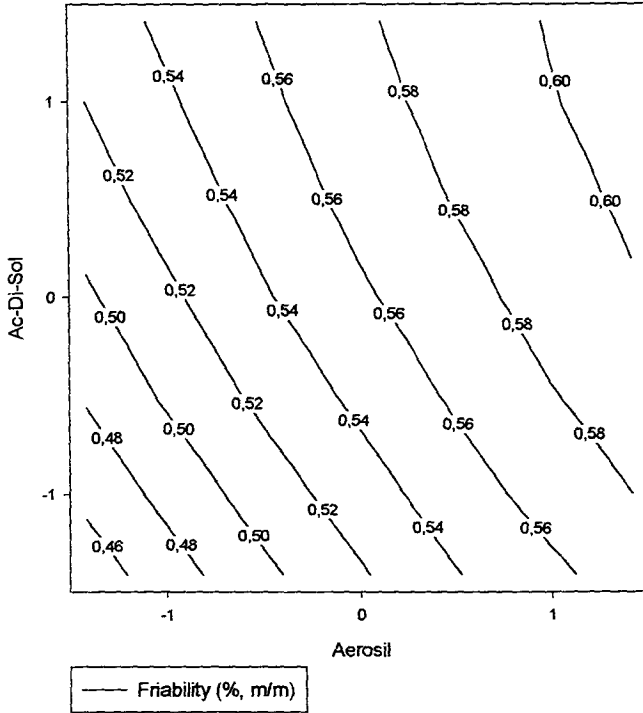


Figure 4. Contour-plot graphic calculated to the tablet friability.

The tablet disintegration time was primarily influenced by the amount of CMC-Na in the formulation. The CMC-Na linear term was the main responsible for the decreasing of tablet disintegration time. It was followed by CSD linear term that showed a similar effect over the response variable, and by the CMC-Na quadratic term. The interaction between the independent variables and Aerosil quadratic term had no influence on the tablet disintegration. The shortest disintegration time was achieved at higher concentration of CMC-Na. However, the increase of the CSD

concentration in absence of CMC-Na resulted in a negative effect, decreasing the disintegration time (Figures 5 and 6).

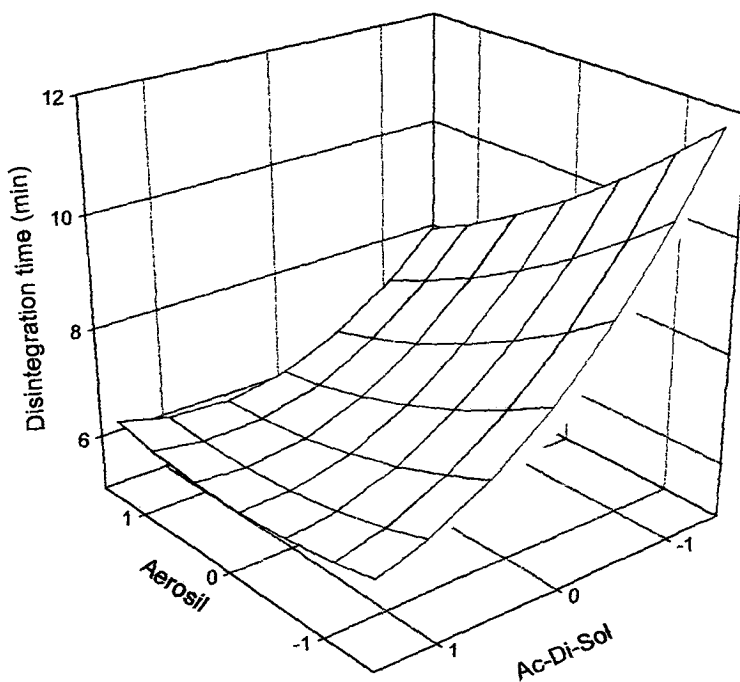


Figure 5. Response surface calculated to the tablet disintegration time.

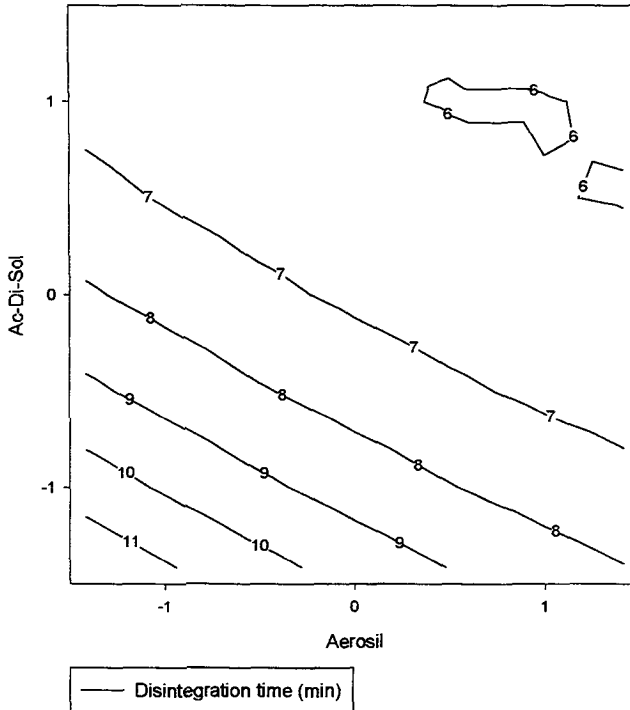


Figure 6. Contour-plot graphic calculated to the tablet disintegration time.

When the results were combined, no direct relationship among response variables could be observed. However, through the overlapping zones of the contour graphics it was possible to detect that the tablet hardness and friability were more sensitive to the concentration of CSD. It was the main responsible factor for the decrease of the tablet mechanical resistance. Thus, tablets containing lower concentration of CSD showed higher hardness and lower friability. The observed decrease in tablet hardness with increasing CSD concentration can be explained by the glidant distribution as small particles over the whole surfaces of the formulation

components, that works as a mechanical barrier interfering with the bond properties of the blend. Obviously, the disintegration time was dependent mainly from CMC-Na proportion. However, at higher concentration of CSD, an increasing in the stationary area at lower disintegration times was observed. The optimal conditions were selected to tablets with minimal disintegration time and friability, and maximal hardness. Thus, tablet should contain at least 1.2 % of CSD and 5.0 % of CMC-Na. At these conditions the tablet showed hardness of 107.9 N, friability of 0.56 % (w/w) and maximal disintegration time of 6.8 min.

## REFERENCES

1. ROCKSLOH K., 1999. - Rezepturoptimierung von Johanniskraut Extrakt-dragee-kernen unter Einbeziehung Neuronale Netze. Ph.D. Thesis, University of Tübingen, 1999.
2. ROCKSLOH K., RAPP F.R., ABU ABED S., MÜLLER W., REHER M., GAUGLITZ G. and SCHMIDT P. C., 1999. - Optimization of crushing strength and disintegration time of a high-dose plant extract tablet by neural network. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25 (9) 1015-1025.
3. EL-BANNA H. M. and MININA S. A. - The construction and uses of factorial designs in the preparation of solid dosage forms. Part 1: Effervescent acetylsalicylic acid tablets. *Pharmazie*, 36 (6), 417-419, 1981
4. AR RASHID H., HEINÄMÄKI J., ANTIKAINEN O.K. and YLIRUUSI J.K. - Povidone and maltodextrin as binders for the preparation of drug-layered pellets based on microcrystalline cellulose beads using centrifugal granulating process. *S.T.P. Pharma Sci.*, 10 (5), 355-366, 2000.

5. KHATTAB I., MENON A. and SAKR A. - A study of the effect of disintegrant distribution ratio on tablet characteristics using a central composite design. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 39 (6), 260-263, 1993.
6. GOHEL M. C. and PANCHAL M. K. - Formulation optimization of diltiazem HCl matrix tablets containing modified guar gum using a central composite design. *J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 331-338, 1999.
7. LINDEN R., GONZÁLEZ ORTEGA G., PETROVICK, P.R. and BASSANI V.L. - Response surface analysis applied to the preparation of tablets containing a high concentration of vegetable spray-dried extract. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 26 (4), 411-446, 2000.
8. BOX G.E., HUNTER W.G. and HUNTER J.S. - Response surface methods. - In: Box G.E., Hunter W.G. and Hunter J.S. Eds., Wiley, New York, 1978, pp. 510-539.
9. WEHRLÉ P. - Aspects des analysis multifactorielles et des plans d'expériences appliqués à l'optimisation et à la validation de formes et de procédés galéniques. Ph. D. Thesis, University of Paris XI, 1990.
10. GONZALEZ A. G. - Optimization of pharmaceutical formulations based on response-surface experimental design. *Int. J. Pharm.*, 97, 149-159, 1993.
11. WEHRLÉ P., NOBELIS P., CUINÉ A., and STAMM A. - Response surface methodology: an interesting statistical tool for process optimization and validation. Example of wet granulation in a high-shear mixer. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 19 (13), 1637-1653, 1993.
12. MYERS R.H. and MONTGOMERY D.C. - Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments. Wiley, New York, 1995.

13. PETROVICK P.R. and CARLINI E. Antiulcerogenic preparation from *Maytenus ilicifolia* and obtaintion process. - BR PATENT PI 994502, 1999.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This work was supported by CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil) and DAAD (German Academic Exchange Service).

A avaliação da povidona como agente complexante de taninos revelou que o emprego do polímero sob a forma solúvel não foi capaz de remover este tipo de compostos em solução. Embora a formação de complexos com este tipo de polímero seja relatada na literatura (BÜHLER, 1996), não foi observada sua precipitação, impossibilitando a separação seja por centrifugação ou seja por filtração. Tal comportamento não foi detectado quando foram utilizados polímeros insolúveis (decorrente de ligações cruzadas). Em virtude da insolubilidade deste tipo de povidona, a remoção da catequina (substância referência), presente na solução, foi realizada com sucesso. Desta forma, a povidona insolúvel foi eleita como agente complexante para os ensaio de complexação com taninos.

Os complexos formados entre a povidona e a catequina apresentaram-se estáveis em meio aquoso. Entretanto, o ensaio de complexação empregando condições diferentes de pH, revelou que a fração de catequina ligada ao polímero é máxima em água pura ou pH suficientemente baixo para suprimir a ionização das hidroxilas fenólicas (ANDERSEN e SOWERS, 1968; DONER *et al.*, 1993), o que permite a interação através da formação de pontes de hidrogênio com os monômeros de vinilpirrolidona.

Quando comparada com a caseína, agente complexante de taninos usualmente empregado no doseamento de *M. ilicifolia* (CARVALHO, 1997; MARTINS, 1998), a povidona foi muito mais eficiente na formação de complexos com a catequina. Assim, a povidona foi capaz de remover todo o padrão empregando uma proporção de 2,5:1 (polímero:catequina, m/m), enquanto que para caseína só foi possível remover cerca de 70 % do padrão, mesmo utilizando proporção de 200:1 (caseína:catequina, m/m).

O emprego da povidona para precipitação de taninos, presentes em solução extrativa de *Maytenus ilicifolia*, apresentou perfil semelhante ao obtido para a catequina pura. Os resultados encontrados demonstraram que o emprego de caseína como agente precipitante não é eficiente para eliminação das substâncias de interesse presentes no extrato.

Por outro lado, a utilização de concentrações elevadas de povidona proporcionou a remoção de outras substâncias presentes na solução, além dos taninos. O perfil de complexação observado sugere que a formação de complexos entre a povidona e os taninos devem ocorrer prioritariamente. Contudo, os resultados sugerem que o excedente de polímero interage também com os demais polifenóis, seguindo, porém, uma cinética mais lenta do que a observada para os taninos.

A formação indiscriminada de complexos entre o agente complexante e outros polifenóis que não taninos tem sido um dos maiores obstáculos para proposição de uma técnica que empregue a precipitação para determinação de taninos totais. Este fenômeno tem sido amplamente relatado na literatura para a maioria dos agentes complexantes, inclusive, para o pó de pele, que é o agente preconizado pelos formulários oficiais (MAKKAR *et al.*, 1993b).

Neste contexto, a cromatografia líquida de alta eficiência tem se destacado como uma alternativa importante para o estabelecimento de técnicas específicas para quantificação de derivados catéquicos (SCHOFIELD *et al.*, 2001).

Assim, um método analítico para quantificação de derivados catéquicos em solução extrativa de *M. ilicifolia* empregando a técnica de cromatografia líquida por alta eficiência foi desenvolvido e validado, empregando, para tanto, as recomendações da ICH (1996).

As condições cromatográficas otimizadas, após múltiplos ensaios preliminares, permitiram alcançar separação satisfatória dos picos das substâncias de interesse (catequina e epicatequina). Os resultados obtidos para os ensaios preconizados pela literatura para a validação do método demonstraram que a técnica é exata, precisa e apresenta comportamento linear na faixa de concentração estudada.



A operação de secagem da solução extrativa em torre de secagem por aspersão piloto munida de aspersor rotatório foi realizada com sucesso. A operação apresentou rendimento de 90 % (m/m), superior aos resultados obtidos anteriormente em aparelho de secagem laboratorial (CARVALHO, 1997).

O tamanho de partícula de 22,4  $\mu\text{m}$ , cerca de três vezes maior do que as partículas obtidas por CARVALHO (1997), foi a principal modificação estrutural observada para o produto seco obtido nesse trabalho.

A estabilidade do produto seco por aspersão (PSA) frente a atmosferas de umidade controladas foi avaliada através de método estático e dinâmico. As principais diferenças entre as duas técnicas são decorrentes, principalmente, das especificidades de cada técnica. No método estático não é possível eliminar a umidade presente no material e, portanto, evitar fenômenos de eflorescência. Além disto, para realizar as determinações nas diversas atmosferas, é necessário o emprego de diferentes amostras, permitindo apenas a construção da isoterma de sorção. Por fim, o método estático exige maior período para que o equilíbrio seja alcançado.

Embora os resultados dos dois métodos sejam diferentes, as isotermas de sorção de umidade para o PSA apresentaram semelhanças. Em ambos os casos, o aumento de massa apresentou um perfil mais lento até alcançar cerca de 3 % (m/m). A partir de então, as isotermas apresentaram uma inflexão, aumentando a velocidade de sorção de umidade, que se manteve constante até que a atmosfera de maior umidade fosse alcançada.

Enquanto a inflexão na isoterma de sorção obtida pelo método dinâmico ocorre em atmosfera próxima a 30 %, no método estático este fenômeno ocorre em atmosfera próxima a 40 %. Este comportamento parece ser decorrente da presença de umidade no PSA durante o emprego da técnica estática, que desloca a isoterma de sorção para atmosferas mais elevadas.

Os resultados obtidos através da determinação dinâmica das isotermas de sorção e dessorção de umidade sugerem que o PSA apresenta comportamento do tipo III descrito por BRUNNAUER e colaboradores (1938). Este tipo de abordagem assume que as propriedades de condensação/evaporação da segunda e

subsequentes camadas de água adsorvidas ocorrem sob condições isotérmicas nas superfícies livres.

Fenômeno de histerese foi observado entre as isotermas de sorção e dessorção. A intensidade do fenômeno, calculada como unidades de histerese, demonstrou que a umidade desorve facilmente da superfície das partículas de PSA em atmosfera de umidade superior a 40 %, com valor de histerese igual a -1,07. Porém, abaixo de 40 %, a dessorção de umidade apresentou maior resistência, com valor máximo igual a 0,94 unidades de histerese, em atmosfera controlada de 10 %. Esta resistência durante a etapa final da isoterma de dessorção de umidade pode ter sido intensificada pela eventual perda de água que tenha sido absorvida pelas partículas do PSA.

Quanto às propriedades tecnológicas, o produto neste trabalho em comparação àquele produzido por CARVALHO (1997), apresentou incremento nas densidades bruta e de compactação, aumento da propriedade de compactabilidade e empacotamento, determinadas através do fator de Hausner e índice de Carr, apresentando ainda boa capacidade de escoamento. Entretanto, o índices de compactabilidade demonstraram que o material ainda possui deficiência na estabilidade de empacotamento.

Tanto a instabilidade frente à umidade atmosférica, quanto as propriedades deficientes de compressibilidade, características de produtos secos por aspersão, têm dificultado o desenvolvimento de formulações de comprimidos contendo alto teor destes produtos. Assim, o emprego da operação de granulação, em especial por via seca, tem se revelado uma das principais alternativas para viabilizar a produção deste tipo de comprimidos (ROCKSLOH, 1999; ROCKSLOH *et al.*, 1999; COUTO, 2000).

Os parâmetros que podem ser otimizados durante a operação de granulação podem ser divididos em dois grupos: aqueles relacionados aos componentes da mistura, como tipos de adjuvantes, concentração e/ou pré-tratamentos, e aqueles relacionados à operação propriamente dita, tais como, força de compactação, modelo do equipamento, número de passos da operação, etc. (MILLER, 1997).

A granulação por via seca do PSA de *M. ilicifolia* foi, inicialmente, conduzida de acordo com COUTO (2000). Assim, a mistura a ser granulada continha, além do PSA como componente ativo, Aerosil 200, estearato de magnésio e Avicel PH 101. O granulado foi obtido após compactação através da produção de briquetes em máquina de comprimir, e, posterior redução e calibração. Embora a mistura tenha originado grânulos com boas propriedades tecnológicas, os ensaios preliminares para produção de comprimidos revelaram elevado tempo de desintegração, mesmo empregando na fase externa concentração elevada de Ac-Di-Sol.

Diante deste resultado, avaliou-se a possibilidade de produção de granulados empregando a metodologia descrita por ROCKSLOH (1999). Através deste procedimento, a mistura para granulação foi preparada contendo apenas o PSA, Aerosil 200 e estearato de magnésio. A operação de compactação da mistura foi realizada tanto por produção de briquetes em máquina de comprimir, quanto por rolos compactadores. As operações subsequentes de trituração, em granulador seco de rolos sulcados, e calibração, em granulador oscilatório com malha de 1 mm, foram realizadas da mesma maneira para todos os compactos.

Os resultados obtidos demonstraram que todos os granulados apresentaram propriedades tecnológicas satisfatórias. A manutenção das mesmas condições de granulação, como trituração e calibração, originaram granulados com distribuições granulométricas similares. Entretanto, os ensaios de caracterização do grânulos, tais como, densidades bruta e de compactação, velocidade de escoamento, recompressibilidade, perfis de densificação empregando a equação de Heckel, e a avaliação preliminar de comprimidos, revelaram que estas propriedades foram influenciadas tanto pela técnica de compactação durante a operação de granulação, isto é, através de máquina de comprimir ou rolos de compactação, quanto pela força de compactação empregada.

O aumento na força aplicada durante a granulação, empregando rolos compactadores, foi o principal fator influenciador sobre as propriedades físicas dos grânulos. Assim, maior aplicação de força de compactação originou grânulos com superfícies menos rugosas e mais densos.

A análise do perfil compressional dos granulados, utilizando o modelo de Heckel, sugere que o principal mecanismo de deformação dos granulados é plástico. O incremento na força dos rolos compactadores originou grânulos com maior resistência a sofrer deformação, comportamento sugerido pelos valores encontrados para a pressão média aplicada ( $P_y$ ). Entretanto, o emprego de força de compactação igual a  $15 \text{ kN/cm}^2$  revelou que a mistura sofreu maior parte de sua deformação ainda durante a operação de granulação, restando pouco potencial plástico para recompressão do granulado.

O ensaio preliminar para avaliar comprimidos contendo os granulados do PSA demonstrou que tanto o modo de compactação, em máquina de comprimir ou rolos, quanto a força aplicada, influenciaram as propriedades de desintegração e dureza dos comprimidos. Enquanto o tempo de desintegração foi influenciado especialmente pela operação de compactação, com comprimidos contendo granulados oriundos de rolos se desintegrando mais rapidamente, a dureza refletiu os fenômenos relacionados com a perda de capacidade para deformação plástica detectadas anteriormente durante o ensaio de recompressibilidade dos grânulos.

Estes achados revelaram que o monitoramento das condições operacionais durante a operação de granulação é fundamental para manutenção e reprodutibilidade das propriedades físicas e mecânicas do granulado, e que, estas respostas podem ser utilizadas para prever comportamentos tais como tempo de desintegração, dureza e/ou dissolução, de comprimidos que os contém.

A otimização de produtos ou processos empregando desenhos estatísticos apresenta como principal vantagem a possibilidade de obter-se o máximo de informações sobre as respostas analisadas, racionalizando os recursos e o tempo necessários para execução dos experimentos. Adicionalmente, é possível estabelecer modelos matemáticos que, devidamente validos, permitem prever comportamentos das variáveis de resposta no campo experimental estudado (MYERS e MONTGOMERY, 1995; ROCKSLOH *et al.*, 1999, BACKHAUS *et al.*, 2000; LINDEN *et al.*, 2000).

Um dos desenhos estatísticos mais empregados para fins de otimização é o Desenho Composto Central - DCC (MYERS e MONTGOMERY, 1995). Este tipo de

abordagem apresenta como aspecto favorável, a adequabilidade a geração de superfícies de respostas. Além disto, permite a obtenção de modelos matemáticos passíveis de validação através de técnicas pouco complexas (MYERS e MONTGOMERY, 1995; LINDEN, 1998).

Neste trabalho o DCC foi empregado para otimizar formulação de comprimido contendo dose elevada do PSA granulado. A proporção de granulado na formulação necessária para atender as exigências posológicas é de 375 mg (DE SOUZA, 1999; MARTINS, 1998). Considerando que o comprimido final deva apresentar 550 mg de massa, a proporção de PSA necessária seria correspondente a 68,2 % da formulação.

Embora, a avaliação das formulações tenha sido conduzida com comprimidos de 200 mg, a proporção de seus componentes foi mantida constante para reproduzir as condições reais de produção. Desta forma, 71,23 % de granulado correspondente a 69,23 % de PSA, foi escolhida para realização de estudo de otimização da formulação, utilizando como variáveis independentes as concentrações de Aerosil 200 (0,21 % a 2,19 %, m/m) e de Ac-Di-Sol (1,5 % a 8,5 %), e empregando Avicel PH 101 como material de enchimento.

Os modelos matemáticos obtidos a partir dos dados experimentais foram validados através de análise estatística apropriada, e utilizados para gerar superfícies de resposta e gráfico de isorespostas que descreveram o comportamento das variáveis dependentes: dureza, friabilidade e o tempo de desintegração dos comprimidos.

Os dados demonstraram não haver uma correlação direta entre as três variáveis de resposta estudadas. Entretanto, através da sobreposição dos gráficos, foi possível observar que as propriedades relacionadas à resistência dos comprimidos foram mais sensíveis às variações na concentração de Aerosil 200 presente na formulação. Este adjuvante exerceu influência negativa sobre a resistência do comprimido, reduzindo tanto a dureza quanto a sua friabilidade. Este fenômeno pode ser explicado pela distribuição do Aerosil sobre as partículas dos demais componentes da formulação atuando como uma barreira à formação de pontes (LERK *et al.*, 1977).

Quanto ao tempo de desintegração, a concentração de Ac-Di-Sol foi a principal responsável sobre as variações nesta resposta. Embora a interação entre Aerosil e Ac-Di-Sol não tenha sido significativa, em concentrações elevadas de Aerosil, houve ampliação da fase estacionária onde menores tempos de desintegração foram obtidos. Provavelmente a hidrofilição da mistura e/ou a redução na resistência dos comprimidos causados pelo Aerosil, podem ter sido os responsáveis pelo comportamento observado.

As condições ótimas para preparação de comprimidos contendo o granulado do PSA foram selecionadas como sendo aquelas que conduziram à obtenção de comprimidos de menor tempo de desintegração e friabilidade e com valor máximo de dureza. Assim, tais comprimidos devem conter, além de 71,23 % de granulado, 1,2 % de Aerosil e 5,0 % de Ac-Di-Sol, além de Avicel PH 101 como material de enchimento. Sob estas condições, os comprimidos apresentam dureza de 107,8 N, friabilidade de 0,56 % (m/m) e desintegração máxima em 6,8 minutos.

- os ensaios preliminares para avaliação da capacidade precipitante de povidonas solúveis e insolúveis demonstraram que os polímeros solúveis não perdem a solubilidade após complexação com o padrão, inviabilizando a sua remoção por centrifugação ou filtração;

- empregando povidonas insolúveis foi possível remover todo o padrão em solução. Não foram detectadas diferenças importantes entre os dois tipos de povidonas insolúveis utilizadas, quanto à capacidade de formar complexos com a catequina;

- quando comparada com a caseína, a povidona foi muito mais efetiva para remoção do padrão em solução. Os achados demonstraram que o derivado protéico foi incapaz de remover mais do 70 % do padrão, mesmo sendo empregado em proporção cerca de 100 vezes maior do que a povidona;

- a avaliação da interação de povidona insolúvel com taninos presentes em solução extrativa de *M. ilicifolia* revelou um perfil de complexação semelhante ao observado para a substância de referência. Entretanto, com a adição sucessiva do polímero, pôde-se observar que ocorre interação com outros compostos presentes na solução extrativa, revelando falta de especificidade do agente;

- de acordo com dados da literatura e resultados obtidos, é possível sugerir que a otimização das condições do meio, tais como, pH, força iônica e temperatura, podem possibilitar uma melhora na especificidade/estabilidade de complexos entre a povidona e taninos;

- as substâncias marcadoras, catequina e epicatequina, presentes na solução extrativa de *M. ilicifolia*, puderam ser separadas e quantificadas satisfatoriamente através de cromatografia líquida de alta eficiência;

- o método desenvolvido foi validado de acordo com as prerrogativas da ICH, o que permitiu afirmar que a técnica é exata, precisa, específica e apresenta comportamento linear na região de concentração estudada;

- o produto seco por aspensão (PSA) obtido em torre de secagem munida de aspensor rotatório apresentou melhoria das propriedades tecnológicas quando comparado com produto preparado em equipamento de escala laboratorial munido de aspensor pneumático;

- a principal modificação observada para o PSA obtido neste trabalho foi o aumento do tamanho de partícula. Entretanto, como consequência, o produto apresentou incremento em suas densidades bruta e de compactação, aumento das características de compactabilidade e empacotamento, apresentando boa capacidade de escoamento. Porém, os índices de compactabilidade demonstraram que o material ainda possui deficiência na estabilidade de empacotamento;

- no ensaio de estabilidade frente a atmosferas controladas, o PSA revelou-se sensível a atmosferas úmidas, especialmente aquelas superiores a 30 %. Embora as duas técnicas empregadas para avaliação das isotermas de sorção de umidade tenham apresentado resultados distintos, foi possível observar que as isotermas apresentaram forma semelhante;

- devido às propriedades deficientes de compressibilidade e a instabilidade em atmosferas úmidas, a compressão direta do PSA, preparado neste trabalho, não foi recomendável;

- a granulação por via seca do PSA foi realizada com sucesso. A obtenção de granulados do PSA foi possível tanto através da produção de briquetes quanto empregando rolos compactadores;



- os granulados apresentaram a mesma distribuição granulométrica, independente da operação de granulação empregando máquina de comprimir ou rolos compactadores, ou da força de compactação aplicada;

- a operação de granulação do PSA incrementou suas propriedades tecnológicas, aumentando a compressibilidade do material;

- os perfis compressionais dos granulados foram descritos pela equação de Heckel, demonstrando que deformação do tipo plástico é o mecanismo predominante durante a densificação deste material;

- os resultados obtidos demonstraram ainda que a utilização de força de 15 kN/cm<sup>2</sup> nos rolos compactadores originou grânulos com reduzido potencial para deformações plásticas posteriores;

- a avaliação preliminar de comprimidos contendo os granulados do PSA indicou que o tempo de desintegração e a dureza foram diretamente dependentes das características físicas e mecânicas de cada granulado;

- durante a otimização da formulação de comprimidos contendo alto teor de granulado do PSA, as respostas de dureza e friabilidade se mostraram sensíveis às variações nas concentrações de Aerosil;

- para a resposta de tempo de desintegração, o aumento na concentração do Ac-Di-Sol foi o principal responsável pela redução na variável estudada. Porém, quando foram empregadas concentrações mais elevadas de Aerosil, houve ampliação da fase estacionária onde menor tempo de desintegração foi característico;

- os modelos matemáticos que descrevem o comportamento das variáveis de resposta apresentaram elevados coeficientes de correlação e puderam ser validados;

- as equações validadas foram empregadas com êxito para elaborar superfícies de respostas e gráficos de contornos para todas as variáveis dependentes;

- as condições ótimas para as variáveis independentes foram selecionados através da sobreposição dos gráficos. Comprimidos que apresentaram simultaneamente melhores respostas para as três variáveis estudadas foram preparados empregando 1,2 % (m/m) de Aerosil, e 5,0 % (m/m) de Ac-Di-Sol.

- ADAM, K.P. *Analitik biogener Arzneistoffe*. 1. Auf. Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.
- AHMED, M.S.; FONG, H.H.S.; SOERJATO, D.D.; DOBBERSTEIN, R.H.; WALLER, D.P. High-performance liquid chromatographic separation and quantitation of mayntansinoids in *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Chromatography*, v. 312, p. 340-344, 1981.
- ANDALAUER, W.; MARTEN, M.J.; FÜRST, P. Determination of select phytochemicals by reverse-phase high-performance liquid chromatography combined with ultra-violet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, v. 849, p. 341-348, 1999.
- ANDERSEN, R. P.; SOWERS, J. A. Optimum conditions for bonding of plant phenols to insoluble polyvinilpyrrolidone. *Phytochemistry*, v. 7, p. 293-301, 1968.
- ARENAS, P.; AZORERO, R.M. Plants of Common Use in Paraguayan Folk Medicine for Regulating Fertility. *Economic Botany*, n. 31, p. 298-301, 1977.
- ASSUMPTÃO, R.M.V.; MORITA, T. *Manual de soluções, reagentes e solventes*. São Paulo: Edgard Blucher, 1968
- BACKHAUS, K.; ERICHSON, B.; PLINKLE, W.; WEIBER, R. *Multivariate Analysemethoden: eine anwendungsorientierte Einführung*. 9. überarb. Aufl. Berlin: Springer, 2000.
- BAKELE, W. Grundlagen, Methoden und Technik der Trockengranulierung. *Chemie Ingenieur Technick*, v. 64, p. 273-275, 1992.
- BASSANI, V.L. *Valorisation de formes galêniques végétales: desalcoolisation et concentration de solutions extractives sur membrane d'osmose inverse*. 1990. Tese (Doutorado em Farmácia)\_ Faculté de Pharmacie, Montpellier, 1990.
- BATE-SMITH, E.C. Haemanalysis of tannins: the concept fo relative astringency. *Phytochemistry*, v. 12, p. 907-912, 1973.
- BATE-SMITH, E.C. Phytochemistry of proanthocyanidins. *Phytochemistry*, v. 14, p. 1107-1113, 1975.
- BAUER, K.H.; FRÖMMING, K.H.; FÜHRER, C. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*. 6. überarb. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 1999.

- BÖHME, H.; HÄRTKE, K. (Hrsgb.). *Europäische Arzneibuch, Band I und II, Kommentar*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1976. p. 1114-1118.
- BOLHUIS, G.K.; CHOWHAN, Z.T. Materials for direct compaction. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). *Pharmaceutical powder compaction technology*. New York: Marcel Dekker, 1997. cap. 14, p. 419-500.
- BORNEMANN, Z.; GÖKMEN, V.; NIJHUIS, H.H. Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a single ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*. v. 22-23, p. 53-61, 2001.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária, Resolução n. 17 de 24 de fevereiro de 2000. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 24 abr. 2000.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 6, 30 de janeiro de 1995. Regulamenta o registro de produtos fitoterápicos no Brasil. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília. 1995.
- BROADHEAD, J.; ROUAN, S.K.E.; RHODES, C.T. The spray-drying of pharmaceuticals. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie - Phytochimie Plantes médicinales*. 2 Ed., Paris: Lavoisier, 1993.
- BRUNNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of American Chemical Society*, v. 60, p. 309-319, 1983.
- BÜHLER, V. *Kollidon®: Polyvinylpyrrolidone for the pharmaceutical Industry*. 3. Ed. Ludwigshafen: BASF. 1996.
- BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBÄNDE (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel - Codex. 1986*. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986. v.1: Codex - Probe 4, 9.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 33, n. 2; p. 179-189, 2000.
- CAMPOS, A.M. *Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hil. AQUIFOLIACEAE (Erva-mate)*. 1996. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.
- CARLINI, E.A. (coord.) *Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras (Maytenus ilicifolia "espineira-santa" e outras)*. Brasília: CEME/AFIP, 1988.

- CARLINI, E.A.; MACAUBAS, C.I.P.; OLIVERIA, M.G.M.; BARBOSA, V.P. Toxicologia pré-clínica da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). In: CARLINI, E.A. (coord.). *Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras (Maytenus ilicifolia "espinheira-santa" e outras)*. Brasília: CEME/AFIP, 1988. p. 49-66.
- CARR, R. L. Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering*, v. 72, n. 2, p. 163-168, 1965
- CARVALHO, E.L.S. *Desenvolvimento de produto seco nebulizado de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss - Celastraceae (espinheira-santa)*. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- CHEN, H.; ZUO, Y.; DENG, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compound in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 913, p. 387-395, 2001.
- CONTE, U.; CONTI, B.; GIUNCHEDI, P.; MAGGI, L. Spray dried polylactide microsphere preparation: influence of the technological parameters. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 20, n. 3, p. 235-258, 1994.
- COUTO, A. G. *Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado contendo produto seco nebulizado de Phyllanthus niruri L. Euphorbiaceae (quebra-pedra)*. 2000. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- DALLUGE, J.J.; NELSON, B.C. Determination of tea catechins. *Journal of chromatography A*, v. 881, p. 411-424, 2000.
- DE PAULA, I.C. *Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. Compositae - marcela*. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- DE SOUZA, K.C.B. *Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extratos secos nebulizados de Passiflora edulis forma flavicarpa*. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- DE SOUZA, K.C.B.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics of spray-dried powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000.
- DE SOUZA, T.P. *Influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características tecnológicas de compactos contendo alto teor de produto seco nebulizado de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss (Celastraceae)*. 1999. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências

- Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- DE SOUZA, T.P.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; DALLA COSTA, T.C.T.; PETROVICK, P.R. Influence of adjuvants on the dissolution profile of tablets containing high doses of spray-dried extract of *Maytenus ilicifolia*. *Pharmazie*, v. 56, n. 9, 2001.
- DEUTSCHES Arzenibuch. 8. Ausgabe. Stuttgart: Wissenschaftliche. 1976.
- DEUTSCHES Arzneibuch. 9. Ausgabe. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1986.
- DING, M.; YANG, H.; XIAO, S. Rapid, direct determination of polyphenols in tea by reverse-phase column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 849, p. 637-640, 1999.
- DONER, L.W.; BÉCARD, G.; IRWIN, P.L. Binding of flavonoids by polyvinylpyrrolidone. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 41, p. 753-757, 1993.
- DRESSLER, J.A.; WAGNER, K.G.; WAHL, M.A.; SCHMIDT, P.C. Comparison of incremental and inductive displacement transducers on an eccentric tablet press. *Pharmazeutische Industrie*, v. 63, n. 8, p. 886- 893.
- DUBERG, M.; NYSTRÖM, C. Studies on direct compression of tablets XVII. porosity pressure curves for the characterization of volume reduction mechanisms in powder compression. *Powder Technology*, v. 46, p. 67-75, 1986.
- ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M.C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, v. 427, p. 119-127, 2001.
- ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M.C. Optimization strategy and validation of one chromatographic method as approach to determine the phenolic compounds from different sources. *Journal of Chromatography A*, v. 897, p. 161-170, 2000.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 3rd. edn. Amtliche Deutsche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1997.
- EZAKI, N.; KATO, M.; TAKIZAWA, N.; NORIMOTO, S.; NONAKA, G.; NISHIKA, I. Pharmacological Studies on *Linderae umbellatae* Ramus, IV. Effects of Condensed Tannin Related Compounds on Peptic Activity and Stress-induced Gastric Lesions in Mice. *Planta medica*, v. 51, n.1, p. 34-38, 1985.
- EZAKI, N.; KATO, M.; TAKIZAWA, N.; NORIMOTO, S.; NONAKA, G.; NISHIKA, I. Pharmacological Studies on *Linderae umbellatae* Ramus, IV. Effects of Condensed Tannin Related Compounds on Peptic Activity and Stress-induced Gastric Lesions in Mice. *Planta medica*, v. 51, n.1, p. 34-38, 1985.
- FERREIRA, D.; BRANT, E.V.; COETZEE, J.; MALAN, E. Condensed tannins. In: HERZ, W.; FALK, H.; KIRBY, G.W.; MOORE, R.E. (Org.). *Progress in the*

*chemistry of organic natural products/Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, 1999. n. 77, p. 21-67.

- FRANCO, S.L. *Proposta tecnológica de macerados de Maytenus ilicifolia Martius Ex. Reiss.* 1990. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.
- FRÖMMING, K.H.; DITTER, W.; HÖRN, D. Sorption properties of cross-linked insoluble polyvinylpyrrolidone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 70, p. 738-743, 1981
- GAEDCKE, F.; STEINHOFF, B. *Phytopharmaka: wissenschaftliche und rechtliche Grundlagen für Entwicklung, Standardisierung und Zulassung in Deutschland und Europa.* Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.
- GAUDY, D.; PUECH, A.; JACOB, M. Rôle de l'adjuvant dans l'optimization de la production d'un extrait de Noix Vomique. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 66, p. 5-10, 1991.
- GONZÁLEZ ORTEGA, G. *Trockenextrakte aus Passionsblumenkraut. Herstellung, Standardisierung, Wirkungsnachweis.* 1993. Tese. (Doutorado em Ciências Naturais)\_Fakultät für Chemie und Pharmazie, Eberhard-Karls Universität, Tübingen, 1993.
- GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.). *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 14, n. 3, p. 173-180, 1995.
- GUTERRES, S.S. *Influência de adjuvantes sobre as características farmacêuticas de cápsulas de gelatina dura contendo hidroclorotiazida.* 1991. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- GUYOT, J.C.; ARNAUD, P.; BECOURT, P.; CASSIERE, J.P.; CHULIA, D.; DUCHÊNE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, C.; MAFROID, F.; POURCELOT, Y.; RENOUX, R.; SEGOT, S.; TOURE, P. Commentaires 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.
- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J. *The flavonoids: advances in research.* London: Chapman and Hall, 1982.
- HARTKE, K.; MUTSCHLER, E. (Hrsg.) *Deutscher Arzneibuch - 9. Ausgabe 1986 Kommentar.* Stuttgart : Wissenschaftliche, 1986. p. 305-306.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural Products*, v. 59, p. 205-215, 1996.

- HASLAM, E. Symmetry and prosmicity in procyanidin biochemistry. *Phytochemistry*, v. 16, p. 1625-1640, 1977.
- HASLAM, E. CAI, Y. Plant polyphenols (vegetable tannis): gallic acid metabolism. *Natural Products Report*, v. 11, p. 41-66, 1994.
- HASLAM, E. LILLEY, T.H.; CAI, Y.; MARTIN, R.; MAGNOLATO, P. Tradicional herbal medicines - The role of polyphenols. *Planta Medica*, v. 55, p. 1-8, 1989.
- HASLAM, E.; WILLIAMSON, M.P.; BAXTER, N.J.; CHARLTON, A.J. Astringency and polypherol protein interactions. In: *Phytochemical in human health protection, nutrition, and plant defense: recent advances in phytochemistry*. Ed. Romeo New York: Kluwer Academic/Plenum, 1999. cap. 11, p. 289-318.
- HAUSNER, H. H. Friction conditions in a mass of metal powder. *International Journal of Powder Metallurgy*, v.3, p 7-13, 1967.
- HEBERLÉ, G. *Desenvolvimento de produto seco por aspersão de Cecropia glaziovii Sneth.* (Cecropiaceae). 2000. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- HEBRICH, K. (ed.) *Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists*. 15. Ed. USA: AOAC, 1990. v. 2.
- HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase-solubility techniques. In: REILLEY, C. N. (Ed.). *Advances in analytical chemistry and instrumentation*. V. 4, New York: Wiley, 1965.
- HOLLENBECK, R.G. Moisture in pharmaceuticals products. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C (Ed.). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. v. 10. New York: Marcel Dekker, 1994., p. 31 - 65.
- HÖRN, D.; DITTER, W. Chromatografic study of interaction between polyvinylpyrrolidone and drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 71, p. 1021-1026, 1982.
- ICH4-International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q2B: *Validation of analytical procedures: Methodology*, 1996.
- JONES, T.M. The physical technical properties of starting materials used in tablet formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 2, n. 2, p. 17-24, 1981.
- KAWAMOTO, H.; NAKATSUBO, F.; MURAKAMI, K. Stoichiometric studies of tannin-protein co-precipitation. *Phytochemistry*, v. 41, n. 5, p. 1427-1431, 1996.
- KILLEN, M.J. Spray drying and spray congealing of pharmaceuticals. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. (Ed.). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. v. 14.:New York: Marcel Dekker, 1996. p. 207 - 222.



- KOTHARI, S.H.; KUMAR, V.; BANKER, G.S. Comparative evaluations of powder and mechanical properties of low crystallinity celluloses, microcrystalline celluloses, and powdered celluloses. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 232, p. 69-80, 2002.
- KREUTER, J. Sorption. In: HERZFELDT, C.D.; KREUTER, J. (Hrsgb.). *Grundlagen der Arzneiformenlehre: Galenik 2*. Berlin:Springer, 1999. p. 358.
- KRISTENSEN, H.G.; SCHAEFER, T. Granulations. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. (Ed.). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. v. 7. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 121 - 160.
- KROMIDAS, S. *Practical problem solving in HPLC*. Weinheim: Wiley-VCH, 1999a.
- KROMIDAS, S. *Validierung in der Analytik*. Weinheim: Wiley-VCH, 1999b.
- KUENTZ, M.; LEUENBERGER, H. pressure susceptibility of polymer tablets as critical property: a modified Heckel equation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 88, n. 2, p. 174-179, 1999.
- LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001.
- LANG, F.; WILHELM, E. Quantitative determination of proanthocyanidins in *Ginkgo biloba* special extracts. *Pharmazie*, v. 10, p. 734-737, 1996.
- LEE, B.L.; ONG, C.N. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of chromatography A*, v. 881, p. 439-447, 2000.
- LEMOSENNA, E.; PETROVICK, P.R.P.; GONZALEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L. Preparation and characterization of spray-dried powders from *Achyroclines satuireioides* (Lam.) DC Extracts. *Phytotherapy Research*, v. 11, p. 123-127, 1997.
- LERK, C.F.; BOLHIUS, G.K.; SMEDEMA, S.S. Interaction of lubricants and collidal silica during mixing with excipients. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 53, n. 3, p. 33-39, 1977.
- LIEBERMAN, H.A., LACHMAN, L.S., SCHWARTZ, J.B. (Ed.). *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2nd. ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 1.
- LINDEN, R. *Desenhos estatísticos e metodologia de análise de superfície de resposta aplicados a obtenção de formas farmacêuticas derivadas de Passiflora edulis Sims*. 1998. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- LIST, P.H.; SCHMIDT, P.C. *Technologie Pflanzlicher Arzneizubereitungen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984.

- LOEW, D.; HABS, M.; KLIM, H.D.; TRUNZLER, G. *Phytopharmaka Report - Rationale Therapie mit pflanzlichen Arzneimitteln*. 2. Aufl., Darmstadt: Steinkopf, 1999.
- LUCK, G.; LIAO, H.; MURRAY, N.J.; GRIMMER, H.R.; WARMINSKI, E.E.; WILLIAMSON, M.P.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, v. 37, n. 2, p. 327371, 1994.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Behaviour of tannic acid from various commercial sources towards redox, metal complexing and protein precipitation assays of tannins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 62, p. 295-299, 1993.
- MAKKAR, H.P.S.; SINGH, B.; VATS, S.K.; SOOD, R.P. Total phenols, tannins and condensed tannins in different parts of *Rumex hastatus*. *Biosource Technology*, v. 45, p. 69-71, 1993a.
- MAKKAR, H.P.S.; BLUMMEL, M.; BECKER, K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethyleneglycols and tannins, and their implication in gas-production and true digestibility in *in vitro* techniques. *British Journal of Nutrition*, v. 73, n. 6, p. 897-913, 1995.
- MAKKAR, H.P.S.; BLUMMEL, M.; BOROWY, N.K.; BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 61, n. 2, p. 164-165, 1993b.
- MARQUES, L.C.; PETROVICK, P.R. Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3ed. Porto Alegre:UFRGS, Florianópolis:UFSC, 2001. Cap. 14. p. 261-299.
- MARTINS, A. G. *Influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológica de extratos secos nebulizados de Maytenus ilicifolia martius ex Reiss.* 1998. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- MASTEAU, J.C.; THOMAS, G. Modelling to understand porosity and specific surface area changes during tableting. *Powder Technology*, v. 101, p. 240-248, 1999.
- MASTERS, K. *Spray drying*. 2nd. ed., New York: Wiley, 1976.
- MCMANUS, J.P.; DAVIS, K.G.; BEART, J.E.; GAFFNEY, S.H.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Polyphenols interactions. Part I. Introduction; some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society (Perkin Transaction 2)*, p. 1429-1438, 1994.
- MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.).

- Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Porto Alegre:UFRGS, Florianópolis:UFSC, 2001. Cap. 24. p. 527 - 544.
- MEYER, V.R. *Fallstricke und Fehlerquellen der HPLC in Bildern*. 2. Auf. Weinheim:Wiley-VCH, 1999.
- MILLER, R.W. Roller compaction technology. In: PARIKH, D.M. (Ed.). *Handbook of pharmaceutical granulation technology*, New York: Marcel Dekker, 1997.
- MITREVEJ, A.; FAROONGSARNG, D.; SINCHAIPANID, N. Compression behavior of spray dried rice starch. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 140, p. 61-68, 1996.
- MOURA, T.F.; GAUDY, D.; JACOB, M.; TEROL, A.; PAUVERT, B.; CAUVERT, A. Vitamin C spray drying: study of the thermal constraint. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, n. 5, p. 393-400, 1996.
- MÜLLER, C.R.; BASSANI, V.L.; POHLMANN, A.R.; MICHALOWSKI, C.B.; PETROVICK, P.R.; GUTERRES, S.S. Preparation and characterization of spray-dried polymeric nanocapsules. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 343-347, 2000.
- MÜLLER-HARVEY, I. Analysis of hidrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, 3-20, 2001.
- MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. New York: Willey, 1995.
- NACZK, M.; AMAROWICZ, R.; ZADERNOWSLI, R.; SCHAHIDI, F. Protein precipitating capacity of condensed tannins of beach pea, canola hulls, evening primrose and faba bean. *Food Chemistry*, v. 73, p. 467-471, 2001
- NIELSEN, F. Spray-drying of pharmaceuticals. *Manufacture, Chemical, Aerosol News*, v. 53, p. 38-39, 1982.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. New methods of analyzing tannins. *Journal of Natural Products*, v. 52, n. 1, p. 1-31, 1989.
- PALMA, S.D., MANZO, R.H., ALLEMANDI, D.A. Dry plant extracts loaded on fumed silica for direct compression: preparation and preformulation. *Pharmaceutical Development Technology*, v. 4, n. 4, p. 523-530, 1999.
- PALMIERI, G.F.; WEHRLÉ, P.; STAMM, A. Evaluation of spray-drying as a method to prepare microparticles for controlled drug release. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 20, n. 18, p. 2859-2879, 1994.
- PETROVICK, P.R.; JACOB, M.; GAUDY, D.; LOPES, C.H.C. Extrato seco por nebulização: avaliação cromatográfica de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. CELASTRACEAE. *Caderno e Farmácia*, v. 7, supl., p. L52-54, 1991.
- PETRY, R. D. *Desenvolvimento e validação de métodos de doseamento de flavonóides de Passiflora edulis Sims. (maracujá)*. 1999. Dissertação

(Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

PHARMACOPÉE Française. 10ème ed. Paris: Adrappharm, 1980.

PLAIZIER-VERCAVMEN, J.A.; BRUWIER, C. Evaluation of excipients for direct compression of the spray-dried extract of *Harpagophytum procumbens*. *S.T.P. Pharma Sciences*, v. 2, n. 17, p. 525-530, 1986

PODCZECK, F. *Particle-particle adhesion in pharmaceutical powder handling*. London: Imperial College, 1998.

PRATES DE LIMA, M.A.S.; ORTEGA, G.G.; SCHENKEL, E.P. Análise qualitativa e quantitativa dos taninos presentes em *Gomidesia palustris*. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 76, n. 1, p. 12-16, 1995.

PUECH, M.L. *Elaboration d'un extrait sec nebulisé de vigne rouge. Places des substances auxiliaires*. 1991. Tese (Doutorado em Farmácia)\_Faculté de Pharmacie, Montpellier, 1991.

REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.R.; CORRÊIA, J.B.C. Determinação espectrofotométrica de taninos pela reativo fosfotúngstico-fosfomolibdico. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 24, n. 4, 1981.

RENOUX, R.; DEIMAZIERES, J.A.; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally Designed Optimizations of Direct Compression Tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, n. 22, v.2, p. 103-109, 1996.

RENOUX, R.; DEIMAZIERES, J.A.; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally designed optimization of direct compression tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, n. 2, p. 103-109, 1996.

ROCKSLOH, K. *Rezepturoptimierung von Johanniskraut Extrakt Drageekernen unter Einbeziehung Neuronaler Netze*. 1999. Tese. (Doutorado em Ciências Naturais)\_Fakultät für Chemie und Pharmazie, Eberhard-Karls Universität, Tübingen, 1999.

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

RODRIGUEZ-DELGADO, M.A.; MALOVANÁ, S.; PEREZ, J.P.; BORGES, T.; GARCÍA MONTELONGO, F.J. Separation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorometric detection. *Journal of Chromatography A*, v. 912, p. 249-257, 2001.

SADEK, P.C. *Trout leshooting HPLC systems*. New York: Willey, 2000.

- SCHILLER, M.; VON DER HEYDT, H.; MÄRZ, F.; SCHMIDT, P. C. Determination of carbohydrate content of plant dry extracts and comparison with their water sorption behaviour. *Archiv der Pharmazie*, v. 333, (S 1/00), p.27, 2000.
- SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. Passionsblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von *Passiflorae herba*. *Deutscher Apotheker Zeitung*, n. 47, p. 17-26, 1993.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 21-40, 2001.
- SCHOLZ, E. Pflanzliche Gerbstoffe: Pharmakologie und Toxikologie. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 134, p. 3167, 1994.
- SCHULTZ, A.R. *Os nomes científicos e populares das plantas do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: PUC/EMMA, 1975.
- SCHWARTZMAN, J.B.; KRIMER, D.B.; AZORETO, R.M. Citotoxic Effects of Decoctions of the Medicinal Plant *Maytenus ilicifolia* (cancerosa). *Revista da Sociedad Científica del Paraguay*, v. 16, n. 1/2, p. 63-68, 1976.
- SENN, E.M.L. *Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. COMPOSITAE (marcela)*. 1993. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.
- SHANGRAW, R.F. Compressed tablets by direct compression. In: LIEBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARZ, J.B. (Ed.). *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2nd. ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v.2, cap. 3, p. 147-172.
- SIEBERT, K.J.; CARRASCO, A.; LYNN, P.Y. Formation of protein-polyphenol haze in beverages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 44, p. 1997-2005, 1996b.
- SIEBERT, K.J.; LYNN, P.Y. Haze-active protein and polyphenols in apple juice assessed by turbidimetry. *Journal of Food Science*, v. 62, n. 1, p. 79-84, 1997.
- SIEBERT, K.J.; TROUKHANOVA, N.T.; LYNN, P.Y. Nature of polyphenol-protein interactions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 44, p. 80-85, 1996a.
- SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVENZA, F.D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 69-81, 2001.
- SIMÕES, C. M. O; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. F.; STEHMANN, J. R. *Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul*. 5.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.
- SOARES, L.A.L. *Padronização do extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de Phyllanthus niruri L. - Euphorbiaceae (Quebra-Pedra)*. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em

- Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. SCHMIDT, P.C. Densification of plant extracts by slugging and roller compaction: In: VI PHARMATECH. 2001, *Abstracts...* PP01, Recife: Pernambuco, 2001.
- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri* L (Quebra-Pedra) empregando planejamento fatorial. *Caderno de Farmácia*, v. 14, n. 1/2, 19-24, 1998.
- SONAGLIO, D.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.P.; BASSANI, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2001. Cap. 13. p. 223 - 259.
- SPENCER, C.M.; CAI, Y.; MARTIN, R.; GAFFNEY, S.H.; GOULDING, P.N.; MAGNOLATO, D.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Polyphenol complexation - some thoughts and observations. *Phytochemistry*, v. 27, p. 2397, 1988.
- STAHL, P. F. *Feuchtigkeit und Trocken in der pharmazeutischen Technologie* Darmstadt: Steinkopf, 1980.
- STICHER, C. Phenolische Verbindungen. In: HÄNSEL, R.; STICKER, O.; STEINECKER, E. (Hrsgb.). *Pharmakognosie-Phytopharmazie*. 6. Auf. Berlin: Springer, 1999, Kap. 7, p. 771-934.
- SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. *Analytical Method Development and Validation*. New York: Marcel Dekker, 1997.
- SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de Métodos Cromatográficos. *Pharmaceutical Technology (edição brasileira)*, p. 12 - 20, 1998.
- TEIXEIRA, H.F. *Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. Compositae - Marceia*. 1996. Dissertação (Mestrado em Farmácia)\_Curso de Pós-graduação em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.
- TORRES-SUÁREZ, A.I.; GIL-ALEGRE, M.E. Wet granulation. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. (Ed.). *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. v. 7. New York: Marcel Dekker, 1997, p. 363 - 402.
- TUNÓN, A.; ALDERBORN, G. Granule deformation and densification during compression of binary mixtures of granules. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 222, p. 65-76, 2001.
- USP 22. UNITED STATES PHARMACOPEIA. 22 ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 1990.

- VOIGT, R. *Pharmazeutische Technologie*. 9. überarb. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie: 2. Drogen und ihre Inhaltsstoffe*, Stuttgart: Gustav Fischer, 1993.
- WAN, L.C.S.; HENG, P.H.S.; CHIA, C.G.H. Spray drying as a process for microencapsulation and the effect of different coating polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 9, p. 997-1011, 1992.
- WANG, H.; HELLIWELL, K.; YOU, X. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chemistry*, v. 68, p. 115-121, 2000.
- WENDEL, S.; ÇELIK, M. Uma visão geral sobre o uso da tecnologia de *Spray-drying*. *Pharmaceutical Technology (edição brasileira)*, p. 31-45, 1998.
- WHERLÉ, P. *Aspects des analyses multifactoriales des plans d'expériences appliqués à l'optimisation et à la validation de formes et de procédés galéniques*. 1990. Tese (Doutorado em Farmácia)\_ Université de Paris-Sud, Paris, 1990.
- WINTERTON, R.H.S. *Heat transfer*. Oxford: Zeneca Series, 1997.
- WORLD Health Organization. *Pautas para la evaluation de medicamentos herbários*. Geneva: WHO, 1991.
- WORLD Health Organization. *Quality control methods for medicinal plants materials*. Geneva: WHO, 1998.
- ZHI-CHEN, L. *General control methods for vegetable drugs*. Geneva: WHO, 1980.
- ZIMON, A. D. *Adhesion of dust and powder*. New York: Consultants Bureau, 1982.

## Anexos - Capítulo I

## Espectros de absorção

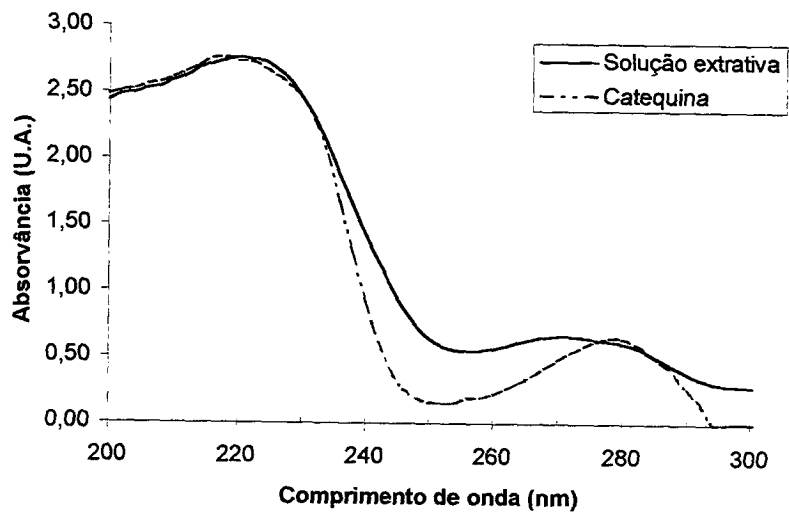


Figura A1. Espectros de varredura da catequina e da solução extrativa de *M. ilicifolia*.



### Matrizes experimentais e resultados do Desenho Composto Central

**Tabela A1.** Matriz experimental do desenho composto central para avaliação da complexação de catequina (CAT) e povidona (PVP) em diferentes concentrações.

Exp.	CAT	PVP	CAT( $\mu\text{g/mL}$ )	PVP( $\mu\text{g/ml}$ )	Abs (exp)	Abs (calc)	FCL
1	-1	1	100	300	0,143	0,233	0,387
2	-1	-1	100	100	0,207	0,233	0,113
3	1	1	300	300	0,569	0,708	0,197
4	1	-1	300	100	0,670	0,708	0,054
5	0	0	200	200	0,397	0,471	0,158
6	0	0	200	200	0,389	0,471	0,175
7	0	0	200	200	0,383	0,471	0,188
8	1,414	0	341,4	200	0,775	0,851	0,089
9	-1,414	0	58,6	200	0,008	0,138	0,939
10	0	1,414	200	341,4	0,319	0,471	0,322
11	0	-1,414	200	58,6	0,460	0,471	0,023

Abs (exp) = absorvância experimental. Abs (cal) = absorvância calculada. FCL = fração de catequina ligada

**Tabela A2.** Matriz experimental do desenho composto central para avaliação da complexação da solução extrativa (SE) e povidona (PVP) em diferentes concentrações.

Exp.	SE	PVP	SE ( $\mu\text{g/mL}$ )	PVP ( $\mu\text{g/ml}$ )	Abs (exp)	Abs (calc)	FCL
1	1	-1	3300	600	0,52	0,625	0,173
2	1	1	3300	3200	0,28	0,625	0,557
3	-1	-1	700	600	0,07	0,171	0,591
4	-1	1	700	3200	0,06	0,171	0,625
5	0	0	2000	1900	0,20	0,397	0,505
6	0	0	2000	1900	0,19	0,397	0,513
7	0	0	2000	1900	0,19	0,397	0,510
8	0	0	2000	1900	0,19	0,397	0,513
9	0	0	2000	1900	0,18	0,397	0,553
10	0	1,41	2000	3738,2	0,06	0,397	0,838
11	0	-1,41	2000	61,8	0,44	0,397	-0,120
12	1,41	0	3838,2	1900	0,01	0,078	0,847
13	-1,41	0	161,8	1900	0,36	0,720	0,499

Abs (exp) = absorvância experimental. Abs (cal) = absorvância calculada. FCL = fração de catequina ligada

## **CURRICULUM VITAE**

Nome: **Luiz Aberto Lira Soares**

### **FORMAÇÃO ACADÊMICA**

- 1991 - 1994                      Graduação em Farmácia: Departamento de Farmácia da UFPE - Recife, PE.
- 1993 - 1994                      Bolsista iniciação científica CNPq/PROPEQ - Laboratório de Farmacognosia - Departamento de Farmácia da UFPE. Orientador Prof. Dr. Haroudo S. Xavier
- 1995 - 1997                      Bolsista do CNPq nível mestrado pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Porto Alegre, RS.
- Outubro 1997                    Obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFRGS com a dissertação: Padronização do extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. - Euphorbiaceae (Quebra-Pedra).
- A partir de abril 1998            Doutorando pelo Programa Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS. Sob orientação do Prof. Tit. Dr. Pedro Ros Petrovick. Área de concentração: Tecnologia Farmacêutica.
- 2000/Jan - 2001/Abr              Bolsista DAAD. Departamento de Tecnologia Farmacêutica - Eberhard-Karl Universität, Tübingen - Alemanha. Sob orientação do Prof. Dr. Peter C. Schmidt.

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA

### Painéis Apresentados em Congressos

- MAIA, A.; OLIVEIRA, A.L.; SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R.P.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. Formação de complexos entre catequina e polivinilpirrolidona. In: SALAO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13, 2002, Porto Alegre, *Resumos...* 098, Porto Alegre - RS. UFRGS, 2002.
- OLIVEIRA, A.L.; MAIA, A.; SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.P. Avaliação do teor de taninos totais na matéria-prima vegetal e produtos derivados de *M. ilicifolia* Martius ex. Reiss (Celestraceae) - Espinheira santa. In: SALAO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13, 2002, Porto Alegre, *Resumos...* 099, Porto Alegre - RS. UFRGS, 2002.
- PETRY, R.D.; SOARES, L.A.L.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Otimização de doseamento de flavonóides totais para *Maytenus ilicifolia* ex Reiss. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15, 1998, Águas de Lindóia, *Resumos...* PT 08.014, Águas de Lindóia SP: UNIFESP, 1998.
- SOARES, L.A.L. D'ANGELO, L.C.A.; XAVIER, H.S. C-glicosilflavonóides de *Operculina macrocarpa* URBAN (Convolvulaceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. *Resumo 054*. Fortaleza: UFC, 1994.
- SOARES, L.A.L.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Some aspects about the assay of O-glycosylated flavonoids in spray dried powders from *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). In: WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS FOR HUMAN WELFARE, 2, 1997, Mendoza, *Abstracts...* P-459, Mendoza: Argentina, 1997.
- SOARES, L.A.L.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Utilização de CCD como parâmetro de diferenciação taxonômica entre espécies de *Phyllanthus*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15, 1998, Águas de Lindóia, *Resumos...* PT 08.011, Águas de Lindóia SP: UNIFESP, 1998.
- SOARES, L.A.L.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Doseamento de flavonóides como alternativa analítica no controle de qualidade da matéria-prima vegetal e produtos derivados de *Maytenus ilicifolia* ex Reiss. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15, 1998, Águas de Lindóia, *Resumos...* PT 08.012, Águas de Lindóia SP: UNIFESP, 1998.
- SOARES, L.A.L.; D'ANGELO, L.C.A. Estudo de compostos polifenólicos de *Lantana camara* L. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 2, 1994, Recife. *Resumos...* Recife: UFPE, 1994, p. 98.
- SOARES, L.A.L.; DE SOUZA, K.C.B.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Quantitative evaluation of glycosylated flavonoids in the crude drugs *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) and *Passiflora edulis* (Passifloraceae). In: WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC

- PLANTS FOR HUMAN WELFARE, 2, 1997, Mendoza, *Abstracts...* P-460, Mendoza: Argentina, 1997.
- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Estudo da viabilidade tecnológica de extratos secos por nebulização de *Phyllanthus niruri* L. - Euphorbiaceae - (Quebra-Pedra). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, 1996, Florianópolis, *Resumos...* M-059, Florianópolis: UFSC, 1996, p. 163.
- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Characterization of spray drying powders from *Phyllanthus niruri* L. aqueous extracts. In: PHARMATECH: New perspectives in Drug Delivery Systems, 3, 1998, Belo Horizonte, *Abstracts...* PS23, Belo Horizonte: Minas Gerais, 1998.
- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. SCHMIDT, P.C. Densification of Plant extracts by Slugging and Roller Compaction: In: VI PHARMATECH. 2001, *Abstracts...* PP01, Recife: Pernambuco, 2001.
- SOARES, L.A.L.; XAVIER, H.S. Presença de verbascosídeo em alguns taxons da flora nordestina. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 8, 1993, Caxambu. *Resumos...* 06.016.Caxambu - MG, 1993.
- WEHRMANN, L.; HEBERLÉ, G.; SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P. R. Determinação de substâncias químicas marcadoras para controle tecnológico de *Cecropia glaziovii* e produtos derivados. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10, Porto Alegre, 1998, *Resumos...* CS10, 1998. Porto Alegre: UFRGS, 1998, p. 299.
- WEHRMANN, L.; SOARES, L.A.L.; REGINATTO, F.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHENKEL, E.P.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P. R. Flavonóides de *Cecropia glaziovii* SNETH. In: IV JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 4, 1999, *Resumos...* 7.31, 1999. São Paulo: UNAERP, 1999, p. 86.

## Artigos

- SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri* L. (Quebra-Pedra) empregando planejamento fatorial. *Caderno de Farmácia*, v. 14, n. 1/2, 19-24, 1998.
- SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R. Física da compressão. *Caderno de Farmácia*, v. 15, n. 2, 65-79, 2000.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: *"Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de Maytenus ilicifolia Ex. Reiss. – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de Produtos intermediário e final"*

Doutorando: LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

**PARECER**

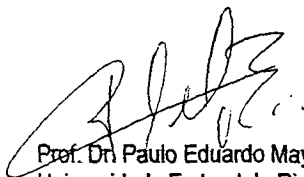
O trabalho apresentado por Luiz Alberto Lira Soares, intitulado *"Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de Maytenus ilicifolia Ex. Reiss. – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de Produtos intermediário e final"*, possui evidente relevância e mérito, trazendo diversas contribuições à evolução técnica relacionada ao desenvolvimento de fitomedicamentos.

É igualmente notória a capacidade científica do candidato e sua qualificação ao exercício da atividade de pesquisa. O candidato soube explorar os resultados obtidos, como demonstra a produção científica incluída na forma de vários artigos, além de demonstrar segurança e domínio da técnica durante a apresentação do trabalho.

As sugestões apresentadas por este membro da banca representam contribuição ao processo de formação do candidato, não constituindo qualquer objeção à aprovação do trabalho.

O presente parecer é, portanto, favorável à concessão do título de Doutor ao candidato.

Porto Alegre, 19 de julho de 2002.



Prof. Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Ex. P. Less. – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de Produtos intermediário e final"

Doutorando: LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

**PARECER**


O trabalho apresentado pelo doutorando Luiz Alberto Lira Soares teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização tecnológica de extratos secos por aspersão de *Maytenus ilicifolia*, bem como a obtenção de granulados e comprimidos preparados a partir dos produtos secos obtidos.

O tema abordado é relevante e atual, sendo de grande interesse para o desenvolvimento tecnológico de fitomedicamentos. A tese está dividida em quatro capítulos contemplando desde o desenvolvimento de metodologias analíticas originais para o doseamento dos constituintes de referência do vegetal até a otimização das condições de obtenção dos comprimidos preparados.

Os resultados estão apresentados de forma ordenada e discutidos com um bom nível de aprofundamento científico. Algumas modificações menores, já discutidas durante a defesa da tese, estão ser do enviadas em anexo. Tais modificações não comprometem a qualidade do trabalho.

Diante do exposto, sou de parecer favorável à concessão do título de doutor em Ciências Farmacêuticas ao candidato.

Porto Alegre, 15 de junho de 2002.

  
Prof. Dr. Helder P. Teixeira  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Ex. Reiss. - Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final"

Doutorando: LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver comprimidos contendo elevado teor de extrato seco de *Maytenus ilicifolia* e para tal quatro capítulos foram descritos: avaliação de agentes precipitantes para dosamento de taninos pelo método espectrofotométrico, desenvolvimento de metodologia de dosamento de derivados catequicos por UAG; produção e caracterização de extratos secos e desidratação e produção de comprimidos contendo extrato seco. O presente trabalho é de grande relevância científica e contribui significativamente para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos. Demonstra igualmente, que foi realizada uma grande quantidade de experimentos cujos resultados foram adequadamente analisados por métodos estatísticos e discutidos. Por estas razões sou de parecer favorável à concessão do título de Doutor a Luiz Alberto Lira Soares.

Data: 19.07.02

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



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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Olfração de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Ex Reiss. - Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final"

Doutorando: LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

O trabalho em questão foi desenvolvido com base em revisão bibliográfica pertinente e fez uso de equipamentos e metodologias adequadas. Os experimentos realizados permitiram atingir os objetivos propostos em cada um dos quatro capítulos apresentados.

Há que se considerar que além do grande volume de trabalho realizado e complexidade dos experimentos e das propostas de investigação no que diz respeito ao desenvolvimento e validação de metodologias analíticas, bem como o desenvolvimento de novos produtos secos por aspersão e de comprimidos contendo estes produtos secos, permitiram que se atinja os objetivos de formação doutoral.

Algumas correções e sugestões de alteração estão sendo entregues, cabendo ao orientador e ao doutorando avaliar o interesse das mesmas.

Diante do exposto sou de parecer favorável à concessão do título de "Doutor em Ciências Farmacêuticas".

Data:

19/07/2002

  
Prof. Dr. Ailton Monza da Silveira  
Universidade Luterana do Brasil